



## TĂNG TRƯỞNG VÀ KHẢ NĂNG CHỐNG OXY HÓA CỦA *DUNALIELLA SALINA* DƯỚI ĐIỀU KIỆN ỨC CHẾ ÁNH SÁNG

Võ Hồng Trung<sup>1\*</sup>, Bùi Văn Lễ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bộ môn Hóa sinh - Độc chất, Khoa Dược – Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

<sup>2</sup> Bộ môn Hóa sinh, Khoa Công nghệ Sinh học - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG TP HCM

Ngày nhận bài: 05-3-2018; ngày nhận bài sửa: 17-4-2018; ngày duyệt đăng: 19-6-2018

### TÓM TẮT

*Dunaliella salina* là vi tảo lục đơn bào, có khả năng tích lũy hàm lượng lớn  $\beta$ -carotene dưới các điều kiện ức chế như ánh sáng, độ muối cao, cạn kiệt dinh dưỡng. Điều kiện ức chế ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  riêng rẽ và kết hợp UV-A 5  $\text{W/m}^2$  liên tục ảnh hưởng lên sự tăng trưởng của các chủng *D. salina* như gây ra sự ức chế tăng trưởng ở *D. salina* A9 và kích thích tăng trưởng ở *D. salina* CCAP 19/18 và *D. bardawil* DCCBC 15. Đồng thời các điều kiện ức chế ánh sáng cao còn gây ra sự tích lũy hàm lượng lớn các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa như carotenoid, phenolic ở các chủng *D. salina*.

**Từ khóa:** *Dunaliella*, *Dunaliella salina*, carotenoid, phenolic tổng và khả năng chống oxy hóa.

### ABSTRACT

**The growth and antioxidant capacity of *Dunaliella salina* cultivated under light stress conditions**

*Dunaliella salina* is a unicellular green microalgae, accumulating large  $\beta$ -carotene content when cultivated under stress conditions including high light intensity, salinity, nutrient starvation. Separately high light density of 500  $\mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  and combined with UV-A radiation of 5 $\text{W.m}^{-2}$  caused growth inhibition for *D. salina* A9 as well as smaller increase in growth for *D. salina* CCAP and *D. bardawil*. At the same time, large amounts of carotenoids, phenolic, were accumulated in *D. salina* cells.

**Keywords:** *Dunaliella*, *Dunaliella salina*, carotenoid, total phenolic and antioxidant capacity.

### 1. Giới thiệu

*Dunaliella* là vi tảo lục đơn bào, có khả năng chống chịu với các độ muối khác nhau. *Dunaliella* lần đầu tiên được tìm thấy trong các ruộng muối vào năm 1838 bởi Michael Felix Dunal và được đặt tên bởi Teodoresco năm 1905. Sau khi phát hiện *Dunaliella* đã trở thành một sinh vật mô hình sử dụng cho nghiên cứu thích ứng muối ở thực vật. Tế bào *Dunaliella salina* có kích thước lớn và trong một số điều kiện nuôi cấy nó tổng hợp một lượng lớn các sắc tố carotenoid làm cho tế bào có màu đỏ tươi [1].

*Dunaliella salina* được coi là một trong những nguồn  $\beta$ -carotene tốt và quan trọng nhất trong số các sinh vật quang hợp. Chúng có thể tích lũy  $\beta$ -carotene lên đến 50 mg/g

\* Email: vohongtrung2503@gmail.com

trọng lượng khô trong điều kiện ức chế thích hợp. Trong điều kiện ánh sáng cao, độ muối cao và sự cạn kiệt dinh dưỡng, hàm lượng có thể lên đến 10% trọng lượng khô [2], [3], [4].

Cường độ ánh sáng có vai trò quan trọng trong việc kiểm soát sự tích lũy  $\beta$  – carotene ở tế bào tảo. Sự chiếu sáng liên tục ở 2300 lux được sử dụng trong suốt ức chế ánh sáng. Hàm lượng diệp lục tố thấp và hàm lượng  $\beta$  – carotene cao khi cường độ ánh sáng cao. Sự tích lũy  $\beta$  – carotene liên quan đến vai trò bảo vệ chống lại sự sản xuất oxy singlet trong điều kiện ánh sáng cao. Sự tích lũy các hạt  $\beta$  – carotene trong các khoảng gian màng thylakoid của lục lạp và giúp chống lại tổn thương gây ra bởi cường độ ánh sáng cao trong điều kiện tăng trưởng bị giới hạn [5].

Ngoài các bước sóng nhìn thấy, bức xạ tia cực tím (UV) cũng ảnh hưởng đến sự tích lũy  $\beta$ -carotene. Ánh sáng nhìn thấy gồm 9% tia UV gần (UV-A và UV-B: 290-400 nm) tại bề mặt Trái Đất, trong đó UV-B được hấp thụ bởi ozone ở tầng bình lưu còn lại các tia UV-A chiếu đến Trái Đất. Quang hợp ở nhiều loài thực vật phù du bị ức chế bởi các bức xạ UV tự nhiên, đặc biệt UV-A đã được nghiên cứu [6]. Khi bức xạ UV-A kết hợp với PPFĐ cao tỉ lệ carotenoid và diệp lục tố trên protein tăng lên 80-310% [7]. Trong điều kiện tiếp xúc với UV-A trong 84h kích thích sự gia tăng hàm lượng carotene tổng, trong đó lutein và zeaxanthin tăng gấp 3-5 lần. Bức xạ UV-A có lợi thế là ứng dụng dễ dàng nhưng trong các nuôi cấy hệ thống mở việc kiểm soát nó sẽ trở nên khó khăn [8]. Thí nghiệm nhằm đánh giá khả năng tăng trưởng và tích lũy các chất chống oxy hóa như carotenoid, phenolic ở các chủng *Dunaliella salina* làm cơ sở khoa học trong nuôi trồng *Dunaliella* trong tương lai ở Việt Nam.

## 2. Vật liệu và phương pháp

### 2.1. Chủng *Dunaliella salina*

Hai chủng *Dunaliella salina* var. *bardawil* DCCBC 15 (*D. bardawil* DCCBC 15) và *Dunaliella salina* CCAP 19/18 được cung cấp bởi Juergen E. W. Polle - Phòng Sinh học, Trường Đại học Brooklyn, New York, Hoa Kỳ. *D. salina* A9 được phân lập từ mẫu thu thập ở vùng ruộng muối Vĩnh Hảo, Bình Thuận tại Phòng Công nghệ Tảo, Đại học Quốc tế - Đại học Quốc gia TPHCM [9].

### 2.2. Thiết kế thí nghiệm

*D. salina* được nuôi cấy trên môi trường MD4 1,5M NaCl gồm 2 giai đoạn:

Giai đoạn nuôi tăng trưởng: Các chủng *Dunaliella salina* nuôi trên điều kiện ánh sáng xanh dương (450 – 495 nm) tối ưu tương ứng với từng chủng, *D. salina* A9 ở 50  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ , *D. salina* CCAP 19/18 ở 100  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  và *D. bardawil* DCCBC 15 ở 30  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ .

Giai đoạn nuôi ức chế: sau 6 ngày nuôi cấy tăng trưởng *D. salina* được chuyển sang điều kiện ức chế ánh sáng, cường độ ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  liên tục (PAR-500), kết hợp ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  và UV-A 5  $\text{W/m}^2$  liên tục (PAR-500+UV). Các thí nghiệm thực hiện ở nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  và được lặp lại 3 lần.

### 2.3. Quan sát hình thái tế bào *Dunaliella salina*

Hình thái tế bào *Dunaliella* được quan sát dưới KHV quang học (X40).

### 2.4. Xác định sự tăng trưởng tế bào *Dunaliella salina*

Mật độ tế bào tảo được đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu. 200  $\mu$ L mẫu tảo được lấy và cố định bằng lugol mỗi 2-3 ngày. Số lượng tế bào được đếm bằng buồng đếm hồng cầu có độ sâu 0,1 mm và diện tích ô vuông 1 mm<sup>2</sup>. Mật độ tế bào trong 1 mL được tính theo công thức [10].

$$D = \frac{n}{i} \cdot 10^4 \times \text{hệ số pha loãng}$$

n: tổng số tế bào đếm được  
i: số lần đếm tế bào  
D: mật độ tế bào (tế bào/mL)

### 2.5. Xác định hàm lượng carotenoid tổng

Lấy 1 mL dịch nuôi cấy, li tâm ở 1000×g trong 5 phút, phần tảo bên dưới được li trích với 3 mL ethanol: hexane (2:1 v/v). Thêm vào 2 mL H<sub>2</sub>O và 4 mL hexane, lắc mạnh. Hỗn hợp li trích này được li tâm 1000×g trong 5 phút. Lớp sắc tố có hexane bên trên được đọc ở các bước sóng 450 nm. Hàm lượng carotenoid tổng được xác định theo công thức: Carotenoid ( $\mu$ g/mL) = A<sub>450</sub> × 25,2 [11], [12].

### 2.6. Xác định hàm lượng phenolic tổng

Lấy 1 mL dịch nuôi cấy, li trích với 1 mL methanol, sau đó thêm vào 0,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu's phenol, lắc đều. Sau 3 phút, thêm 0,5 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10% vào hỗn hợp, để trong tối 1,5h và hỗn hợp được đọc ở bước sóng 750 nm [13], [14, 15], [16]. Hàm lượng phenolic tương đương với lượng acid gallic/g [17].

### 2.7. Xác định khả năng chống oxy hóa

Lấy 1 mL dịch nuôi cấy, li trích với 1 mL ethanol tuyệt đối. Dung dịch DPPH được pha loãng bằng cách hòa tan 0,004 g DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) trong 100 mL methanol [18], [19]. Dùng 0,5 mL dịch trích trộn với 1 mL dung dịch DPPH, để trong tối khoảng 30 phút và đọc ở bước sóng 517 nm. Mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự như trên nhưng dùng ethanol tuyệt đối thay cho mẫu. Khả năng chống oxy hóa (I%) được tính dựa trên khả năng ức chế của các bức xạ tự do của DPPH theo công thức sau [20], [21].

$$I\% = (A_{\text{Đối chứng}} - A_{\text{Mẫu}}) / A_{\text{Đối chứng}} \times 100$$

### 2.8. Xử lý số liệu

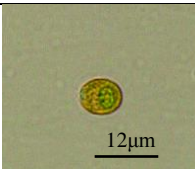
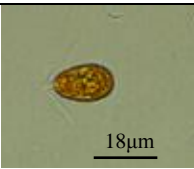
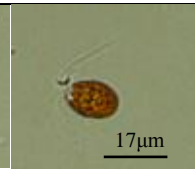







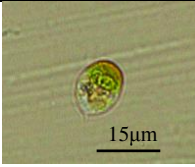



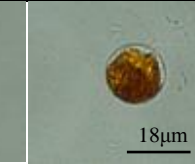
Số liệu được xử lý bằng Microsoft office Excel 2013 và phân tích one way ANOVA bằng phần mềm SPSS 20.0 với sai số ý nghĩa p < 0,05.

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Hình thái tế bào *Dunaliella salina*

Tế bào 3 chủng *D. salina* nuôi trong điều kiện ánh sáng xanh dương thích hợp (trước ức chế) có màu xanh và hình trứng. Sau khi ức chế ánh sáng trắng 500  $\mu$ mol photon/m<sup>2</sup>/s

riêng rẽ và kết hợp UV, tế bào bắt đầu chuyển sang màu vàng (hoặc da cam), kích thước tế bào lớn hơn và hình dạng thay đổi, hình cầu đối với *D. bardawil* DCCBC 15 và hình trứng kéo dài hơn đối với *D. salina* A9 và *D. salina* CCAP 19/18; các tế bào trong điều kiện ánh sáng kết hợp UV màu đậm hơn so với không kết hợp (Hình 1). Những thay đổi này cũng chính là dấu hiệu cho thấy sự tổng hợp carotenoid của *D. salina* sau ức chế ánh sáng cao (Hình 3) và kết quả phù hợp với các nghiên cứu của Park và cs.[22]. Kích thước tế bào *D. salina* CCAP 19/18 tăng lên trong khoảng 1 ngày sau mỗi lần tăng cường độ ánh sáng và không đổi sau đó và tương ứng với sự tăng hàm lượng  $\beta$ -carotene của tế bào, trong khi đó hàm lượng diệp lục tố tổng thì ngược lại [23].

Nghiệm thức  Chủng	Ngày 6 – Trước ức chế	Ngày 9 – Sau ức chế 3 ngày		Ngày 12 – Sau ức chế 6 ngày	
		ĐC (500 $\mu\text{mol}$ photon/ $\text{m}^2/\text{s}$ )	UV-A (5 $\text{W}/\text{m}^2$ )	ĐC (500 $\mu\text{mol}$ photon/ $\text{m}^2/\text{s}$ )	UV-A (5 $\text{W}/\text{m}^2$ )
<i>D. salina</i> A9					
<i>D. salina</i> CCAP 19/18					
<i>D. bardawil</i> DCCBC 15					

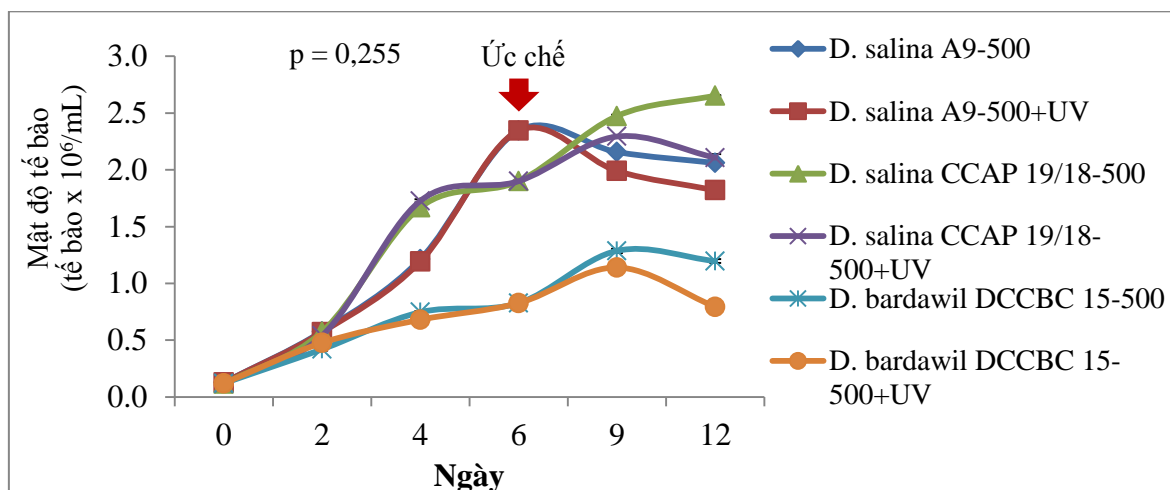
**Hình 1.** Hình thái tế bào của 3 chủng *D. salina* nuôi ở cường độ ánh sáng xanh thích hợp và ức chế ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol}$  photon/ $\text{m}^2/\text{s}$  riêng rẽ và kết hợp UV-5  $\text{W}/\text{m}^2$  liên tục sau 6 ngày nuôi cấy

### 3.2. Sự tăng trưởng của *Dunaliella salina*

Sự tăng trưởng của 3 chủng *D. salina* được thể hiện ở Hình 2. Kết quả cho thấy sự tăng trưởng của *D. salina* A9 và *D. bardawil* DCCBC 15 giảm sau khi bị ức chế. Ngược lại, *D. salina* CCAP 19/18 sự tăng trưởng tăng sau khi ức chế. Ở điều kiện ức chế kết hợp 500  $\mu\text{mol}$  photon/ $\text{m}^2/\text{s}$  và UV-5  $\text{W}/\text{m}^2$  làm giảm sự tăng trưởng mạnh hơn so với điều kiện ức chế ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol}$  photon/ $\text{m}^2/\text{s}$  riêng rẽ.

Bức xạ UV-A không có hoạt tính quang hợp nhưng có ảnh hưởng to lớn đến điều hòa năng suất sinh học trong các hệ thống thủy sinh, có khả năng ảnh hưởng đến sự đồng hóa các chất dinh dưỡng, quang hợp và sửa chữa tổn thương do ánh sáng của các phân tử ở tảo [24], [25]. ADN là mục tiêu chính của các bức xạ bước sóng ngắn ở tảo. Sự hình thành nhiều CPD (cyclobutane–pyrimidine dimer) là những tổn thương chính khi tiếp xúc với

ánh sáng UV-B gây ra sự ức chế quá trình tái bản của ADN [26]. Như vậy sự tăng trưởng của các chủng *D. salina* dưới các điều kiện ức chế ánh sáng có xu hướng đáp ứng khác nhau, điều này có thể là do sự đáp ứng khác về hệ thống sửa chữa những tổn thương quang ức chế và hệ thống di truyền là khác nhau tùy loài.



**Hình 2.** Mật độ tế bào của 3 chủng *D. salina* nuôi ở cường độ ánh sáng xanh thích hợp và ức chế ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  riêng rẽ và kết hợp UV-5  $\text{W/m}^2$  liên tục sau 6 ngày nuôi cấy

### 3.3. Hàm lượng carotenoid tổng

Sự tích lũy carotenoid ( $\mu\text{g/mL}$  và  $\text{pg/tb}$ ) của 3 chủng *D. salina* tăng mạnh sau ức chế ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  riêng rẽ (*D. salina* A9:  $p = 0,000$ ; *D. salina* CCAP19/18:  $p = 0,000$ ; *D. bardawil* DCCBC 15:  $p = 0,000$ ) và kết hợp UV 5  $\text{W/m}^2$  (*D. salina* A9:  $p = 0,000$ ; *D. salina* CCAP19/18:  $p = 0,000$ ; *D. bardawil* DCCBC 15:  $p_{\mu\text{g/mL}} = 0,001$ ,  $p_{\text{pg/tb}} = 0,003$ ) (Hình 3).

*D. salina* A9 sự tích lũy carotenoid sau ức chế tăng và cao hơn so với *D. bardawil* DCCBC 15. Ở điều kiện ức chế kết hợp ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  và UV 5  $\text{W/m}^2$  hàm lượng carotenoid (14,213  $\text{pg/tb}$  ngày 12) cao hơn so với đối chứng (12,413  $\text{pg/tb}$  ngày 12) (trừ ngày thứ 3 sau ức chế, 7,249  $\text{pg/tb}$ ) (Hình 3).

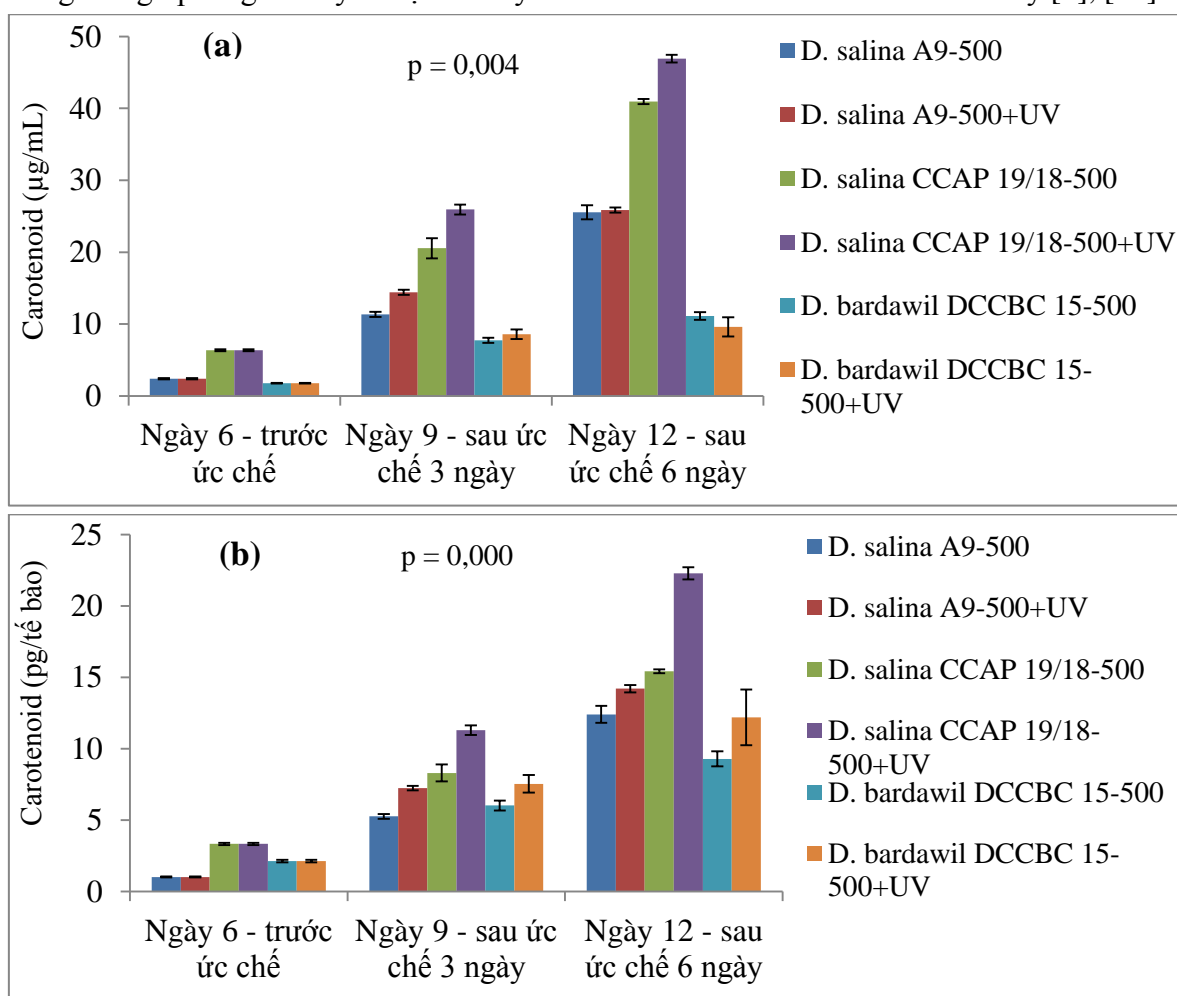
*D. bardawil* DCCBC 15 sự tích lũy carotenoid ( $\mu\text{g/mL}$ ,  $\text{pg/tb}$ ) tăng sau ức chế, nhưng thấp hơn so với 2 chủng còn lại. Hàm lượng carotenoid trong điều kiện ức chế kết hợp ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  và UV 5  $\text{W/m}^2$  (12,200  $\text{pg/tb}$  ngày 12) cao hơn so với đối chứng (9,298  $\text{pg/tb}$  ngày 12) (Hình 3).

*D. salina* CCAP 19/18 sự tích lũy carotenoid ( $\mu\text{g/mL}$  và  $\text{pg/tb}$ ) sau ức chế tăng và cao hơn so với 2 chủng còn lại. Hàm lượng carotenoid trong điều kiện ức chế kết hợp ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  và UV 5  $\text{W/m}^2$  (22,287  $\text{pg/tb}$  ngày 12) cao hơn so với đối chứng (15,434  $\text{pg/tb}$  ngày 12) (Hình 3).

Hàm lượng carotenoid phụ thuộc vào loài dưới ảnh hưởng ức chế của ánh sáng UV. UV-A rõ ràng gây ra sự tích lũy lượng lớn  $\beta$ -carotene ở *D. salina*. Theo Mogedas và cs.

(2009) [27] trong các loại carotenoid,  $\beta$ -carotene là thành phần chính có hàm lượng cao, tiếp đến violaxanthin và zeaxanthin có hàm lượng thấp hơn khi tế bào *Dunaliella* được nuôi cấy trong các điều kiện ức chế có UV-A. Việc tăng hàm lượng zeaxanthin giúp tế bào đáp ứng lại với những stress oxy hóa. Zeaxanthin và violaxanthin là các sắc tố chính liên quan đến chu trình xanthophyll phổ biến ở thực vật bậc cao có vai trò bảo vệ chống lại những tổn thương do ánh sáng. Zeaxanthin đóng vai trò là một chất chống oxy hóa trong các phản ứng của tế bào chống lại các tổn thương oxy hóa gây ra bởi ánh sáng cao và có khả năng giải phóng năng lượng dư thừa bằng cách tỏa nhiệt. Ngoài ra, hiệu quả chống oxy của chu trình xanthophyll với zeaxanthin đóng vai trò như một chất khử oxy singlet.

Ánh sáng UV, đặc biệt ánh sáng UV-A có ảnh hưởng lên sinh lí, sự phát triển và tích lũy carotenoid của *Dunaliella* [28]. Ngoài ra sự kết hợp giữa ánh sáng UV-A và ánh sáng trắng còn giúp tăng và duy trì sự tích lũy carotenoid cao ở *D. salina* khi nuôi cấy [7], [29].



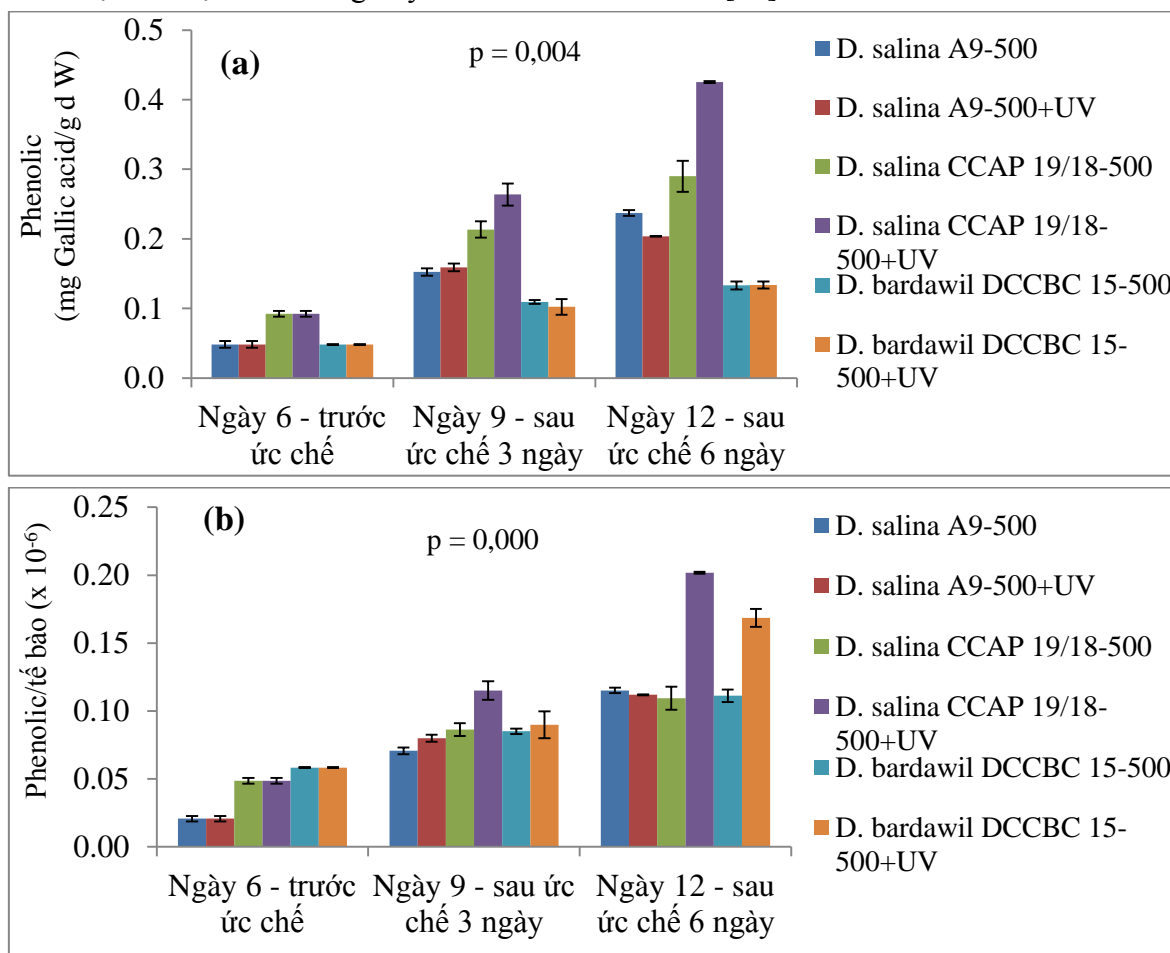
**Hình 3.** Hàm lượng carotenoid trên thể tích (a) và tế bào (b) của *D. salina* trước và sau ức chế ánh sáng trắng  $500 \mu\text{mol photon}/\text{m}^2/\text{s}$  riêng rẽ và kết hợp UV  $5 \text{ W}/\text{m}^2$  liên tục

### 3.4. Hàm lượng phenolic tổng

Hàm lượng phenolic tổng của 3 chủng *D. salina* trong điều kiện ức chế ánh sáng cao thể hiện ở Hình 4. Kết quả cho thấy, hàm lượng phenolic tổng của 3 chủng tăng lên sau ức chế. Ở *D. salina* A9 và *D. bardawil* DCCBC 15 hàm lượng phenolic tổng trong điều kiện ức chế kết hợp UV không có sự khác biệt so với đối chứng.

*D. salina* CCAP 19/18 hàm lượng phenolic tổng cao hơn so với 2 chủng còn lại; trong điều kiện ức chế kết hợp, hàm lượng phenolic tổng ( $0,202 \times 10^{-6}$  phenolic/tb) cao hơn so với đối chứng ( $0,109 \times 10^{-6}$  phenolic/tb) (Hình 4).

*Dunaliella* tăng trưởng dưới điều kiện ức chế muối gây ra sự tích lũy nhiều các chất chống oxy hóa enzyme và không enzyme [30]. *Chlorella vulgaris* và *Scenedesmus obliquus* có sự tương quan dương giữa hàm lượng phenolic tổng và khả năng chống oxy hóa dưới các điều kiện nuôi cấy khác nhau. Các hợp chất phenolic là những thành phần chính tạo ra hoạt tính chống oxy hóa của các loài vi tảo [31].



**Hình 4.** Hàm lượng phenolic tổng trên thể tích (a) và tế bào (b) của *D. salina* trước và sau ức chế ánh sáng trắng  $500 \mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  riêng rẽ và kết hợp UV  $5 \text{ W/m}^2$  liên tục

### 3.5. Khả năng chống oxy hóa

Khả năng chống oxy hóa của 3 chủng *D. salina* tăng lên sau ức chế ánh sáng cao. Ở *D. salina* A9 khả năng chống oxy hóa trong điều kiện ức kết hợp ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  và UV 5  $\text{W/m}^2$  (18,906 I%/tb ngày 12) không có sự khác biệt ý nghĩa so với đối chứng (18,490 I%/tb ngày 12) (Hình 5).

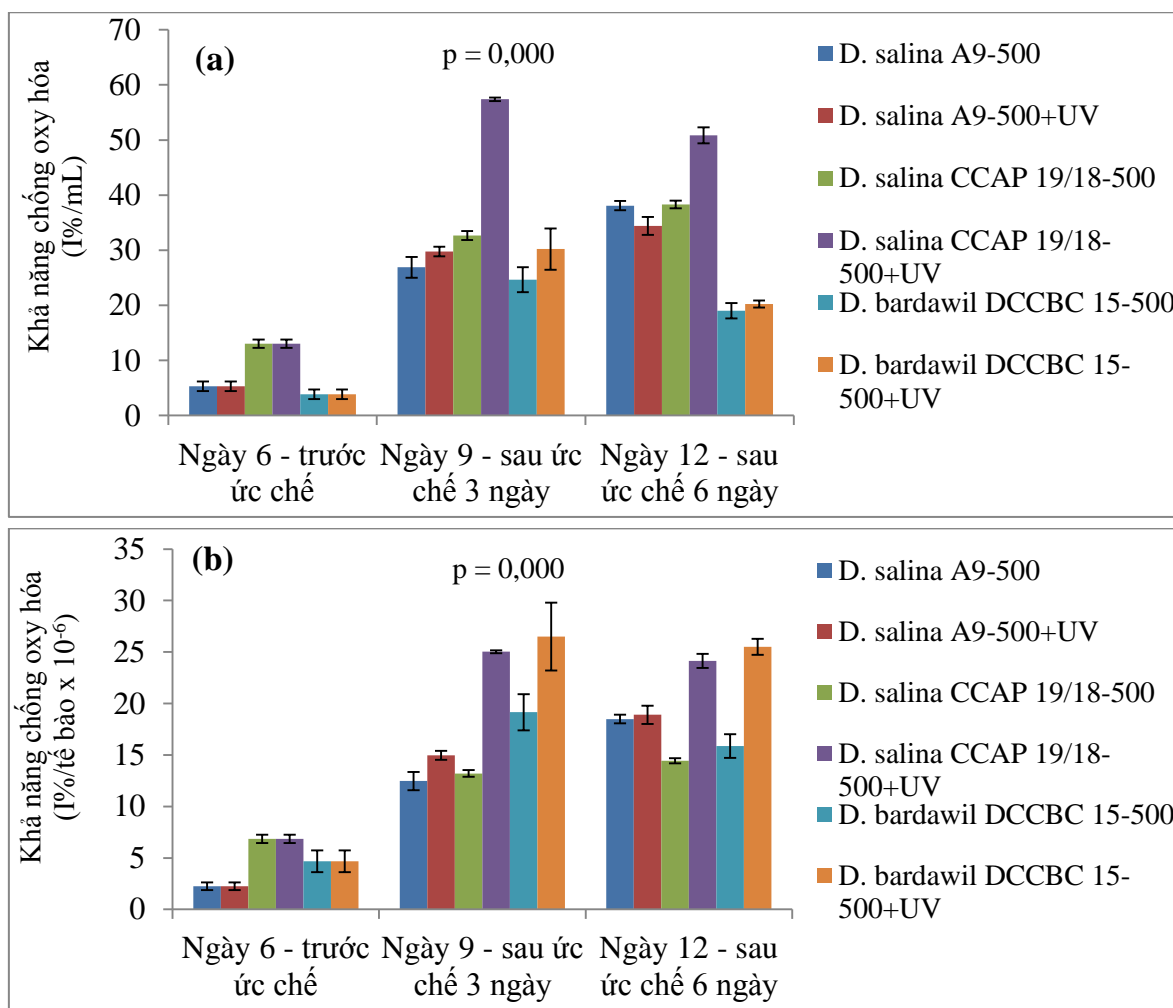
*D. bardawil* DCCBC 15 khả năng chống oxy hóa trên thể tích (I%/mL) giảm sau 6 ngày ức chế ánh sáng cao (Hình 5a), tuy nhiên khả năng chống oxy hóa trên tế bào (I%/tb) ổn định sau ức chế ánh sáng cao. Sau 6 ngày ức chế khả năng chống oxy hóa của *D. bardawil* DCCBC 15 trong điều kiện kết hợp (25,489 I%/tb) cao hơn so với đối chứng (15,873 I%/tb và 101,042 I%/dlt) (Hình 5b).

*D. salina* CCAP 19/18 trong điều kiện ức chế kết hợp khả năng chống oxy hóa (I%/mL) giảm sau 6 ngày ức chế. Tuy nhiên, trong điều kiện ức chế kết hợp khả năng chống oxy hóa của *D. salina* CCAP 19/18 (24,318 I%/tb) cao hơn so với đối chứng (14,437 I%/tb) (Hình 5).

*D. salina* nuôi cấy dưới điều kiện ức chế như cạn kiệt nitrogen kết hợp với ức chế muối và ánh sáng UV-B gây tích lũy hàm lượng lớn các chất chống oxy hóa tan trong lipid (carotenoids và  $\alpha$ -tocopherol), tan trong nước (glutathione và ascorbic acid) và tăng hoạt tính các enzyme chống oxy hóa (superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) và peroxidase (POD)). Sự tăng hàm lượng các chất chống oxy hóa này cho thấy tế bào tạo thích nghi với các stress quang oxy hóa bằng cách điều hòa sự tổng hợp và sửa chữa các protein và tăng cường hệ thống chống oxy hóa [32]. Khả năng chống oxy hóa của 3 chủng *D. salina* tăng lên sau ức chế ánh sáng cao (Hình 5) tương ứng với sự tăng hàm lượng carotenoid (Hình 3) và phenolic (Hình 4) cũng như phù hợp với các nghiên cứu trước đó [33].

Như vậy, dưới các điều kiện ức chế ánh sáng cao 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  riêng rẽ và kết hợp UV 5  $\text{W/m}^2$  gây ra sự tổng hợp hàm lượng lớn các chất carotenoid, phenolic và khả năng chống oxy hóa của dịch li trích của *D. salina* tăng cao. Kết quả này cho thấy, mối quan hệ dương tính của hàm lượng carotenoid, phenolic và khả năng chống oxy hóa, cũng như với sự tăng của cường độ ánh sáng trong nuôi cấy *D. salina*.





**Hình 5.** Khả năng chống oxy hóa trên thể tích (a), tế bào (b) và diệp lục tố (c) của *D. salina* trước và sau ức chế ánh sáng trắng 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  riêng rẽ và kết hợp UV 5  $\text{W/m}^2$  liên tục

#### 4. Kết luận

*Dunaliella salina* là vi tảo lục có khả năng tổng hợp lượng lớn các hợp chất chống oxy hóa như carotenoid đặc biệt là  $\beta$ -carotene và phenolic khi được nuôi cấy dưới điều kiện ức chế như ánh sáng cao, UV, độ muối cao, cạn kiệt dinh dưỡng. Trong điều kiện nuôi cấy ức chế ánh sáng cao 500  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$  kết hợp với ánh sáng UV-A 5  $\text{W/m}^2$  liên tục gây ra sự ức chế tăng trưởng (*D. salina* A9) và kích thích tăng trưởng (*D. salina* CCAP 19/18 và *D. bardawil* DCCBC 15). Đồng thời điều kiện ức chế này tích lũy hàm lượng lớn carotenoid, phenolic, khả năng chống oxy hóa tăng ở các chủng *D. salina* cao hơn so với các điều kiện nuôi cấy ức chế khác. Nghiên cứu này làm cơ sở cho việc nuôi cấy ứng dụng bằng pilot sử dụng điều kiện ức chế ánh sáng tự nhiên giúp tăng năng suất sản xuất các hợp chất chống oxy hóa ở *D. salina*.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Oren, "A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005," *Saline Systems*, vol. 1, p. 2, Jul 04 2005.
- [2] A. Ben-Amotz and M. Avron, "On the factors which determine massive  $\beta$ -carotene accumulation in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil*," *Plant Physiology*, vol. 72, pp.593-597, 1983.
- [3] S. Boussiba and A. Vonshak, "Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*," *Plant and cell Physiology*, vol. 32, pp.1077-1082, 1991.
- [4] H. Chen and J. G. Jiang, "Osmotic responses of *Dunaliella* to the changes of salinity," *J Cell Physiol*, vol. 219, pp.251-8, May 2009.
- [5] D. S. Pisal and S. Lele, "Carotenoid production from microalga, *Dunaliella salina*," 2005.
- [6] H. Herrmann, D. P. HÄDER, and F. Ghetti, "Inhibition of photosynthesis by solar radiation in *Dunaliella salina*: relative efficiencies of UV-B, UV-A and PAR," *Plant, Cell & Environment*, vol. 20, pp.359-365, 1997.
- [7] L. S. Jahnke, "Massive carotenoid accumulation in *Dunaliella bardawil* induced by ultraviolet-A radiation," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 48, pp.68-74, 1999/01/01/ 1999.
- [8] A. Salguero, R. Leon, A. Mariotti, B. de la Morena, J. M. Vega, and C. Vilchez, "UV-A mediated induction of carotenoid accumulation in *Dunaliella bardawil* with retention of cell viability," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 66, pp.506-11, Feb 2005.
- [9] D. Tran, T. Mai, T. Vo, A. Ward, H. Nguyen, and X. Hoang, "Lipid Signal Can Be An Additional Marker For The Detection Of *Dunaliella Salina*."
- [10] R. A. Andersen, *Algal Culturing Techniques*: Academic Press, 2005.
- [11] A. Shaish, A. Ben-Amotz, and M. Avron, "[41] Biosynthesis of  $\beta$ -carotene in *Dunaliella*," in *Methods in Enzymology*. vol. 213, ed: Academic Press, 1992, pp.439-444.
- [12] A. Prieto, J. Pedro Canavate, and M. Garcia-Gonzalez, "Assessment of carotenoid production by *Dunaliella salina* in different culture systems and operation regimes," *J Biotechnol*, vol. 151, pp.180-5, Jan 20 2011.
- [13] S. Lim, P. Cheung, V. Ooi, and P. Ang, "Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, pp.3862-3866, 2002.
- [14] H.-B. Li, K.-W. Cheng, C.-C. Wong, K.-W. Fan, F. Chen, and Y. Jiang, "Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae," *Food chemistry*, vol. 102, pp.771-776, 2007.

- [15] M. S. Stankovic, "Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts," *Kragujevac J Sci*, vol. 33, pp. 63-72, 2011.
- [16] K. Goiris, K. Muylaert, I. Fraeye, I. Foubert, J. De Brabanter, and L. De Cooman, "Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content," *Journal of applied phycology*, vol. 24, pp.1477-1486, 2012.
- [17] A. Hemalatha, K. Girija, C. Parthiban, C. Saranya, and P. Anantharaman, "Antioxidant properties and total phenolic content of a marine diatom, *Navicula clavata* and green microalgae, *Chlorella marina* and *Dunaliella salina*," *Adv. App. Sci. Res*, vol. 4, pp.151-157, 2013.
- [18] R. M. Romeilah, S. A. Fayed, and G. I. Mahmoud, "Chemical compositions, antiviral and antioxidant activities of seven essential oils," *J Appl Sci Res*, vol. 6, pp.50-62, 2010.
- [19] B. Das, B. Das, F. Arpita, M. Morshed, A. Uddin, R. Bhattacharjee, *et al.*, "Phytochemical screening and antioxidant activity of *Leucas aspera*," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 2, p. 1746, 2011.
- [20] T. Yaltirak, B. Aslim, S. Ozturk, and H. Alli, "Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 47, pp. 2052-2056, 2009.
- [21] S. Albayrak, A. Aksoy, O. Sagdic, and E. Hamzaoglu, "Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey," *Food Chemistry*, vol. 119, pp. 114-122, 2010/03/01/ 2010.
- [22] S. Park, Y. Lee, and E. Jin, "Comparison of the responses of two *Dunaliella* strains, *Dunaliella salina* CCAP 19/18 and *Dunaliella bardawil* to light intensity with special emphasis on carotenogenesis," *Algae*, vol. 28, p. 203, 2013.
- [23] P. P. Lamers, C. C. van de Laak, P. S. Kaasenbrood, J. Lorier, M. Janssen, R. C. De Vos, *et al.*, "Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*," *Biotechnol Bioeng*, vol. 106, pp.638-48, Jul 01 2010.
- [24] M. T. Arts, H. Rai, and V. P. Tumber, "Effects of artificial UV-A and UV-B radiation on carbon allocation in *Synechococcus elongatus* (cyanobacterium) and *Nitzschia palea* (diatom)," *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, vol. 27, pp.2000-2007, 2000.
- [25] W. Zhou, X. Tang, H. Xiao, Y. Wang, and R. Wang, "Response of marine microalgae, heterotrophic bacteria and their relationship to enhanced UV-B radiation," *Journal of Ocean University of China*, vol. 8, pp.35-38, 2009.
- [26] C. Garcia-Gomez, M. L. Parages, C. Jimenez, A. Palma, M. T. Mata, and M. Segovia, "Cell survival after UV radiation stress in the unicellular chlorophyte *Dunaliella tertiolecta* is mediated by DNA repair and MAPK phosphorylation," *J Exp Bot*, vol. 63, pp.5259-74, Sep 2012.
- [27] B. Mogedas, C. Casal, E. Forján, and C. Vilchez, "β-Carotene production enhancement by UV-A radiation in *Dunaliella bardawil* cultivated in laboratory reactors," *Journal of bioscience and bioengineering*, vol. 108, pp.47-51, 2009.

- [28] L. S. Jahnke, A. L. White, and P. Sampath-Wiley, "The effects of ultraviolet radiation on *Dunaliella*: growth, development and metabolism," *The Alga Dunaliella: biodiversity, physiology, genomics and biotechnology*. Science Publishers, Enfield, pp.231-272, 2009.
- [29] B. Mogedas, A. Salguero, C. Casal Bejarano, and C. Vílchez Lobato, "UV-A promotes long-term carotenoid production of *Dunaliella* in photobioreactors with retention of cell viability," 2007.
- [30] A. A. Tammam, E. M. Fakhry, and M. El-Sheekh, "Effect of salt stress on antioxidant system and the metabolism of the reactive oxygen species in *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta*," *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, pp.3795-3808, 2011.
- [31] V. Shetty and G. Sibi, "Relationship between total phenolics content and antioxidant activities of microalgae under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth," *Journal of Food Resource Science*, vol. 4, pp.1-9, 2015.
- [32] H. A. El-Baky, F. K. El-Baz, and G. S. El-Baroty, "Production of antioxidant by the green alga *Dunaliella salina*," *Int. J. Agric. Biol*, vol. 6, pp.1560-8530, 2004.
- [33] M. Chen, H. Tang, H. Ma, T. C. Holland, K. Y. Ng, and S. O. Salley, "Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*," *Bioresour Technol*, vol. 102, pp.1649-55, Jan 2011.