

NGHIÊN CỨU TỐI ƯU HÓA CÁC ĐIỀU KIỆN THỦY PHÂN ĐẾN QUÁ TRÌNH THU NHẬN R-PHYCOERYTHRIN TỪ *GRACILARIA GRACILIS*

OPTIMIZATION OF HYDROLYSIS CONDITIONS TO OBTAIN R-PHYCOERYTHRIN EXTRACTION FROM *GRACILARIA GRACILIS*

Nguyễn Hữu Phước Trang

Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật - Đại học Đà Nẵng; nhptrang@ute.udn.vn

Tóm tắt - R-phycoerythrin (R-PE) là sắc tố màu tự nhiên, là phycobiliprotein được chiết xuất từ loài tảo đỏ. R-phycoerythrin được ứng dụng trong các ngành công nghiệp thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm, đánh dấu tế bào trong quá trình phân tích. Mục đích của nghiên cứu này nhằm nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp xử lý sơ bộ tảo *Gracilaria gracilis* và ảnh hưởng của các điều kiện thủy phân bằng enzyme đến quá trình thu nhận R-PE. Nghiên cứu đầu tiên của bài báo tập trung vào giai đoạn xử lý sơ bộ nguyên liệu, năng suất R-PE thu được đạt hiệu quả cao từ mẫu tảo biển được sấy thăng hoa kết hợp với phương pháp nghiên cứu bằng nồi lồng. Sau đó, bài báo nghiên cứu chiết xuất R-phycoerythrin bằng các enzyme thủy phân polysaccharide (xylanase, cellulase, glucanase). Kết quả nghiên cứu cho thấy, enzyme cellulase đã cải thiện được năng suất thu nhận R-PE từ *Gracilaria gracilis* (12,76 mg/g). Cuối cùng, nghiên cứu tiếp tục tối ưu hóa điều kiện thủy phân bằng enzyme cellulase theo phương pháp tối ưu hóa bề mặt đáp ứng, năng suất R-phycoerythrin thu được đạt giá trị cao 15,75 mg/g.

Từ khóa - Tảo đỏ; R-phycoerythrin; Phycobiliprotein; Enzyme; *Gracilaria gracilis*.

1. Đặt vấn đề

Phycobiliprotein là phức hợp protein mang sắc tố được thu nhận từ lục lạp của tảo đỏ và vi khuẩn lam. Phycobiliprotein được phân chia thành ba loại phụ thuộc vào đặc tính hấp thụ của chúng: phycoerythrin (PE; $\lambda_{\max} = 490\text{-}570$ nm), phycocyanin (PC; $\lambda_{\max} = 610\text{-}625$ nm) và allophycocyanins (AP; $\lambda_{\max} = 650\text{-}660$ nm). Trong đó, phycoerythrin (PE) được chia thành ba loại chính, phụ thuộc vào phổ hấp thụ: B-phycoerythrin (B-PE; $\lambda_{\max} = 545\text{-}563$ nm), R-phycoerythrin (R-PE; $\lambda_{\max} = 498\text{-}565$ nm) và C-phycoerythrin (C-PE; $\lambda_{\max} = 565$ nm) [1].

R-phycoerythrin là phycobiliprotein chính trong tảo biển đỏ. Cấu trúc tiểu đơn vị của R-PE phổ biến nhất là $(\alpha\beta)_6\gamma$. R-PE có khối lượng phân tử khoảng 240.000 Da. R-PE hiện đang được sử dụng trong sản xuất thực phẩm và mỹ phẩm như chất tạo màu tự nhiên [1]. Nó cũng thường được sử dụng như một phần trong chuyên giao năng lượng huỳnh quang, trong miễn dịch học và lưu lượng tế bào. Hơn nữa, R-PE còn được sử dụng như chất chống oxy hóa, chất chống ung thư, ức chế miễn dịch và hạ huyết áp. Hiện nay, giá thành của sắc tố R-PE trên thị trường rất cao (408€/mg, Sigma Aldrich 2018).

Gracilaria là giống tảo đỏ mang lại giá trị kinh tế cao cho ngành thực phẩm, mỹ phẩm, công nghệ sinh học. *Gracilaria* là nguồn cung cấp agar, khoảng 60% các sản phẩm agar được thu nhận và sản xuất từ giống tảo biển này. *Gracilaria* phân bố tại các vùng nhiệt đới, á nhiệt đới và ôn đới [2]. Chúng được nuôi trồng theo quy mô lớn ở một số quốc gia, bao gồm Trung Quốc, Đài Loan, Chile, Việt Nam... Gần đây, *Gracilaria gracilis* đã được nghiên cứu và

Abstract - R-phycoerythrin (R-PE) is a natural pigment and a phycobiliprotein extracted from red macroalgal. R-phycoerythrin has been widely used in food, cosmetics, pharmaceuticals and analytical reagents. This research presents an efficient algal pretreatment and an analysis of the results of the hydrolysis conditions by enzyme for the extraction of R-phycoerythrin from the seaweed *Gracilaria gracilis*. The first work- the material pretreatment - is one important stage and the highly effective extraction of R-phycoerythrin from the *Gracilaria gracilis* is achieved with freeze-dried sample and then ground with liquid nitrogen. Then, the paper use polysaccharide-degrading enzymes (xylanase, cellulase, β -glucanase) for the extraction of R-phycoerythrin. In this study, enzyme cellulase enhances the extraction yield of R-phycoerythrin from *Gracilaria gracilis* (12.76 mg/g). Finally, results of analysis by the response surface methodology show that the maximum yield of R-phycoerythrin obtains 15.75 mg/g with the optimal hydrolysis conditions from enzyme cellulase.

Key words - Red seaweed; R-phycoerythrin; Phycobiliprotein; Enzyme; *Gracilaria gracilis*.

báo cáo là nguồn nguyên liệu chứa nhiều hợp chất có giá trị với các ứng dụng như: polyme agar được sử dụng làm vật liệu mao quản và mẫu sinh học trong sản xuất hạt nano, sản xuất protein cho công nghiệp thực phẩm [3], [4], [5].

Theo các nghiên cứu trước đó, R-phycoerythrin có thể được chiết xuất bằng phương pháp cổ điển: ngâm nguyên liệu trong dung môi (nước, nước cất, dung dịch đệm...) [6]. Tuy nhiên, lớp vỏ thành tế bào của tảo là nguyên nhân gây cản trở cho quá trình chiết xuất nên phương pháp này chưa mang lại hiệu quả cao [7]. Hiện nay, enzyme thủy phân đã được nghiên cứu và chứng minh mang lại những thuận lợi cho quá trình thu nhận R-PE đối với một số loài tảo [1], [6], [7]. Trong nghiên cứu này, các enzyme polysaccharides được sử dụng trong quá trình chiết xuất protein và R-phycoerythrin từ *Gracilaria gracilis* nhằm thủy phân và phá vỡ các liên kết polysaccharide của vỏ tế bào tảo.

Tối ưu hóa bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology, RSM) là phương pháp bao gồm một nhóm các kỹ thuật toán học thống kê dựa trên sự phù hợp của mô hình thực nghiệm và thí nghiệm thiết kế để đưa ra các thông số tối ưu [1]. Mục đích của nghiên cứu này nhằm tối ưu hóa các điều kiện thủy phân bằng enzyme nhằm thu nhận R-PE với năng suất cao.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Gracilaria gracilis được thu hoạch tại bờ biển Đại Tây Dương, Pháp. Tảo được rửa sạch và loại bỏ các thực vật biểu sinh. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả tiến hành khảo sát quy trình chiết xuất R-PE từ các mẫu nguyên liệu đã được xử lý sơ bộ, bao gồm: tảo tươi (được cắt nhỏ thành miếng,

kích thước trung bình < 1cm), tảo sấy (sấy thăng hoa và được nghiền mịn (<10mm) bằng dung dịch nitơ lỏng).

Enzyme thủy phân: cellulase, xylanase và β -glucanase từ *Trichoderma longibrachiatum* mua từ Sigma-Aldrich.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất R-PE bằng phương pháp thủy phân enzyme

Thí nghiệm thủy phân enzyme được thực hiện bằng một bộ phản ứng thủy tinh thể tích 500 ml trong điều kiện kiểm soát (nhiệt độ và tốc độ khuấy). Tảo tươi (4g) và tảo sấy (2g) được đồng nhất cùng với enzyme (20 mg/g tảo, trọng lượng khô) trong 200 ml dung dịch đệm acetate 50 mM, pH 5. Hệ thống liên tục được khuấy ở 150 vòng/phút, 35°C trong 6 giờ, thực hiện trong bóng tối [1], [7].

Các thí nghiệm được thực hiện ba lần lặp và một mẫu chứng (mẫu không có enzyme) được thực hiện đồng thời trong cùng điều kiện. Sau khi thủy phân, các mẫu được ly tâm ở 15.000 vòng/phút trong 20 phút ở 4°C và thu dịch chiết thô [1], [7].

2.2.2. Xác định R-phycoerythrin

a. Hàm lượng R-PE

R-phycoerythrin có phổ hấp thụ ánh sáng cực đại ở 565 nm, độ hấp thụ ở bước sóng này biểu thị cho cường độ sắc tố phycoerythrin hay lượng phycoerythrin có trong dung dịch. Dựa vào tính chất này người ta đo các giá trị hấp thụ và xác định lượng R-phycoerythrin [1]:

$$[R-PE] = [(A_{565} - A_{592}) - (A_{455} - A_{592}) \times 0,20] \times 0,12 \text{ (mg/ml)}$$

b. Độ tinh khiết R-PE

Chỉ số tinh khiết R-PE: PI = A_{565}/A_{280}

Trong đó: A_{455} , A_{592} , A_{565} , A_{280} lần lượt là mật độ quang tại các bước sóng 455 nm, 592 nm, 565 nm, 280 nm [1].

2.2.3. Xác định protein hòa tan

Tổng số protein hòa tan trong dịch chiết thô được phân tích và xác định bằng phương pháp Bradford. Thuốc thử Bradford (Sigma) (200 μ L) được thêm vào 800 μ L dung dịch mẫu thô (mẫu thu được sau khi chiết xuất và ly tâm). Sau khi đồng nhất dung dịch mẫu cùng thuốc thử và để mẫu ở nhiệt độ phòng trong thời gian 5 phút. Đo độ hấp thụ của mẫu ở 595 nm. Dung dịch mẫu chuẩn trong phương pháp này protein BSA (Bovine Serum Albumin). Lập đường chuẩn và tiến hành xác định hàm lượng protein của mẫu dịch chiết thô [1].

2.2.4. Tối ưu hóa các điều kiện thủy phân bằng enzyme

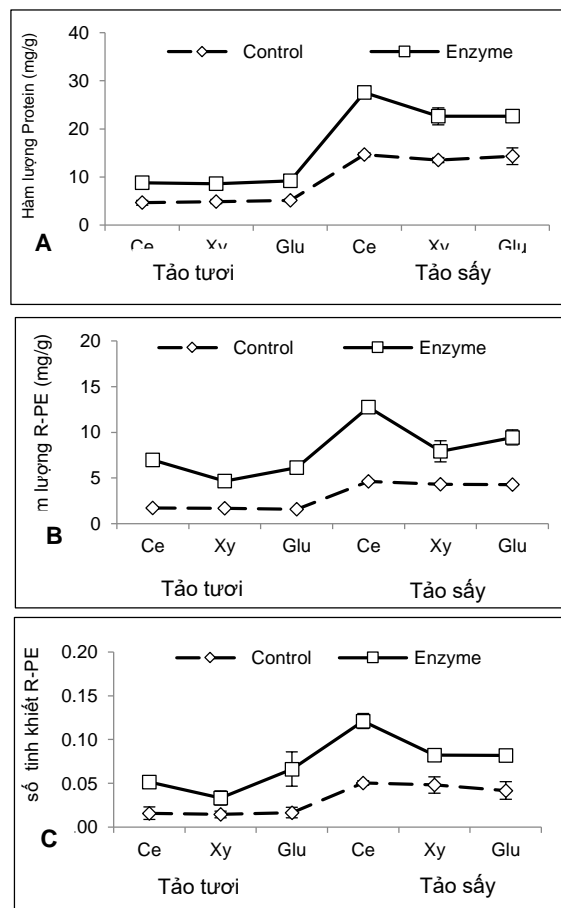
Sau khi nghiên cứu thủy phân, các điều kiện chiết R-PE từ tảo *Gracilaria gracilis* được tối ưu hóa bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM), xác định ảnh hưởng của các biến thủy phân, bao gồm: thời gian thủy phân (120 đến 360 phút), nhiệt độ thủy phân (20 đến 50°C) và enzyme/chất nền (E/S) tỷ lệ (20 đến 40 mg/g). Trong nghiên cứu này, 19 thí nghiệm đã được thực hiện và thiết kế bao gồm: 2^3 giai thừa trực giao, sáu điểm sao và năm điểm trung tâm. Ma trận thiết kế phức hợp trung tâm CCD 2^3 (CDD), nhiệt độ thủy phân, thời gian thủy phân và tỷ lệ E/S thay đổi một cách có hệ thống ở mức cao và thấp (Bảng 1). Ngoài ra, mức trung bình của cả ba yếu tố trong nghiên cứu này được sử dụng để kiểm tra mối quan hệ tuyến tính giữa mức cao và thấp của các biến được thử nghiệm.

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả sử dụng phần mềm Statgraphics Plus v.5 Experiment Design đối với phương pháp RSM. Ngoài ra, phân tích thống kê cũng được tiến hành bằng cách sử dụng Minitab 16, ANOVA ($p < 0,05$).

3. Kết quả nghiên cứu và biện luận

3.1. Nghiên cứu chiết xuất R-phycoerythrin bằng enzyme thủy phân

3.1.1. Hàm lượng protein thu nhận sau quá trình thủy phân



Hình 1. Ảnh hưởng của quá trình tiền xử lý nguyên liệu và thủy phân bằng enzyme đến quá trình chiết xuất: hàm lượng protein (A), sản lượng chiết R-PE (B), chỉ số độ tinh khiết PI (C) từ tảo đỏ *Gracilaria gracilis* ($n = 3$, bars = s.d.)

Hàm lượng protein thu được sau quá trình chiết bằng enzyme từ tảo tươi và tảo sấy được thể hiện theo Hình 1A.

Kết quả thu được cho thấy, hàm lượng protein được chiết xuất từ tảo khô hay tảo sấy thăng hoa và được nghiền mịn bằng nitơ lỏng cho năng suất cao hơn so với các thí nghiệm được thực hiện cùng điều kiện nhưng sử dụng nguyên liệu tảo tươi. Trong nghiên cứu này, hàm lượng protein thu nhận đạt trung bình từ 4,65-9,17 mg/g đối với mẫu tảo tươi và đạt từ 14,62-27,53 mg/g đối với mẫu tảo sấy ($p < 0,05$). Điều này cho thấy, quá trình tiền xử lý nguyên liệu là một công đoạn quan trọng trong chiết xuất protein từ tảo biển đỏ.

Bên cạnh đó, thủy phân bằng enzyme ở cả 2 mẫu tảo đều đạt giá trị cao hơn so với các mẫu đối chứng (mẫu control) từ 1,5 đến 2 lần. Đối với mẫu tảo ướt, hàm lượng của chúng dao động từ 4,65 - 5 mg/g (mẫu đối chứng) đến

9-9,17 mg/g (xử lý bằng enzyme). Đối với mẫu tảo sấy, nồng độ protein thu được đạt từ 14,65-15 mg/g (mẫu đối chứng) đến 22-27,53 mg/g (xử lý bằng enzyme). Kết quả thu được đạt tốt nhất khi thủy phân bằng enzyme cellulase đối với tảo sấy (27,53 mg/g).

3.1.2. Hàm lượng R-phycoerythrin

Năng suất chiết R-phycoerythrin thu nhận được mô tả theo Hình 1B. Tương tự như hàm lượng protein sau quá trình chiết xuất, năng suất R-PE thu được từ tảo sấy (4,26-12,76 mg/g) cao hơn so với mẫu tảo tươi (1,56 - 6,97 mg/g). Trong nghiên cứu này, tất cả các thí nghiệm thủy phân đều cho thấy giá trị R-PE đạt được từ tảo sấy cao hơn đáng kể so với tảo tươi ($p < 0,05$).

Ngoài ra, kết quả thu được còn cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các mẫu đối chứng và mẫu xử lý bằng enzyme ($p < 0,05$). Ví dụ, nồng độ R-PE dao động từ 1,69 mg/g (mẫu đối chứng, tảo tươi) đến 6,97 mg/g (cellulase, tảo tươi) và 4,62 mg/g (mẫu đối chứng, tảo sấy) đến 12,76 mg/g (cellulase, tảo sấy). Do đó, nghiên cứu này có thể chứng minh năng suất R-PE có thể được cải thiện và gia tăng bằng cách sử dụng enzyme, đặc biệt thực hiện bởi enzyme cellulase. Hơn thế nữa, đối với mẫu tảo sấy, hàm lượng R-PE thu khi thủy phân bằng cellulase (12,76 mg/g) tốt hơn so với xử lý bằng xylanase (7,92 mg/g) hoặc β -glucanase (9,44 mg/g).

3.1.3. Chỉ số tinh khiết R-phycoerythrin thu nhận sau quá trình thủy phân

Chỉ số tinh khiết R-PE (PI) được trình bày theo Hình 1C. Quá trình tiền xử lý tảo và xử lý enzyme cũng dẫn đến sự gia tăng đáng kể giá trị PI ($p < 0,05$). Đối với mẫu đối chứng, giá trị PI thu được từ 0,02 (tảo tươi) đến 0,04 (tảo sấy). Đối với tảo biển được thủy phân bằng enzyme cellulase, PI tăng từ 0,05 (tảo tươi) lên 0,12 (tảo sấy).

Từ những kết quả nghiên cứu cho thấy, năng suất R-PE hay protein thu nhận có giá trị khác nhau giữa các mẫu chiết là do quá trình tiền xử lý tảo. Sấy thăng hoa tảo đỏ *Gracilaria gracilis* kết hợp nghiền mẫu trong nitor lỏng giúp cho quá trình chiết xuất thuận lợi hơn do bột tảo mịn, nhỏ, tăng diện tích tiếp xúc với dung môi chiết, cấu trúc thành tế bào bị phá vỡ khi nghiền. Theo các nghiên cứu trước đó, một số loài tảo sấy thăng hoa kết hợp nghiền trong nitor lỏng đã mang lại hiệu quả cao cho quá trình chiết xuất và thu nhận R-PE như: *Grateloupia turuturu* [6], *Palmaria palmata* [1], *Mastocarpus stellatus* [7].

Hơn thế nữa, nghiên cứu này cũng đã chứng minh rằng thủy phân bằng enzyme mang lại hiệu quả trong quá trình chiết xuất chất màu R-PE từ *Gracilaria gracilis*. Nghiên cứu ảnh hưởng của các enzyme thủy phân đến cấu trúc polysaccharid của thành tế bào đã được nghiên cứu trong một số các nghiên cứu trước đây và họ cũng đã kết luận rằng việc sử dụng enzyme có thể hỗ trợ hiệu quả cho quá trình khai thác R-PE [1], [6], [7], [8], [9].

Ngoài ra, kết quả thí nghiệm cũng cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các mẫu đối chứng (không bổ sung enzyme) và mẫu bổ sung enzyme, đặc biệt là enzyme cellulase. *Gracilaria* được xem là nguồn sinh khối cellulose để sản xuất sản phẩm ethanol sinh học [10]. Trong nghiên cứu này, kết quả thí nghiệm cho thấy sự xuất hiện của cellulose trong cấu trúc thành tế bào có vai trò rất quan trọng. Hợp

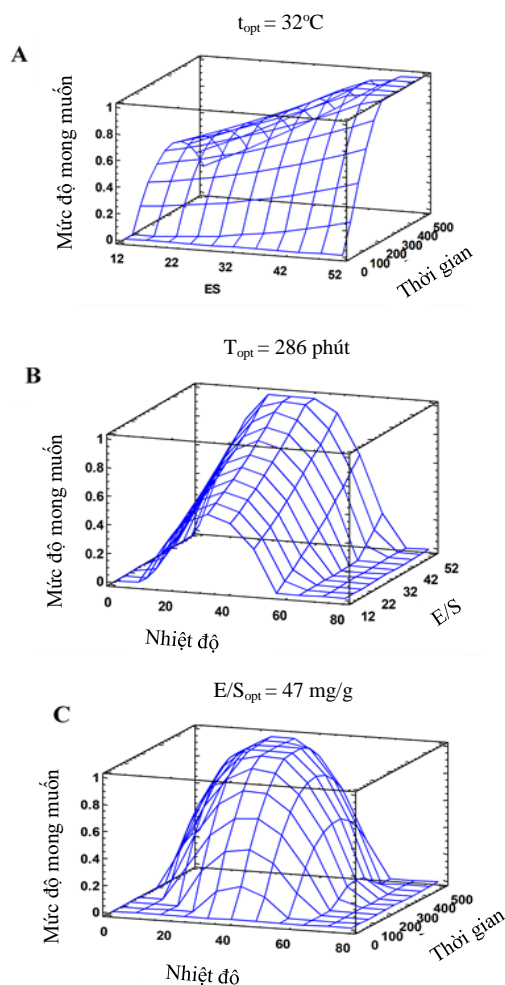
chất này được xem là một thành phần kết nối với các polysaccharides khác. Nghiên cứu của Martin (1988) đã chỉ ra rằng, khi sử dụng enzyme cellulase đối với tảo đỏ đã tạo ra các vết nứt nhỏ trên bề mặt thành tế bào, có thể là do sự phá vỡ và thủy phân cellulose đối với nguyên liệu này [11]. Do đó, sử dụng enzyme cellulase có thể tăng hiệu quả chiết của các hợp chất hòa tan trong nước như R-phycoerythrin từ nguồn tảo đỏ *Gracilaria gracilis*.

Nghiên cứu này cho thấy quá trình thủy phân bằng enzyme rõ ràng rất phù hợp để làm suy thoái và phá vỡ thành tế bào của tảo *Gracilaria gracilis* và tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chiết xuất protein cũng như R-PE. Do đó, trong các thí nghiệm tiếp theo, enzyme cellulase và tảo sấy sẽ được sử dụng để nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến việc chiết xuất, khai thác và tối ưu hóa quá trình.

3.2. Tối ưu hóa điều kiện chiết xuất bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM)

Các thí nghiệm được mô tả và bố trí theo Bảng 1.

Sau khi nhận được hàm lượng R-PE từ mỗi thí nghiệm theo bố trí như ma trận Bảng 1, thu nhận được kết quả tối ưu hóa các điều kiện thủy phân thể hiện ở Hình 2.



Hình 2. Biểu đồ bề mặt đáp ứng năng suất R-PE (mg/g) theo thời gian thủy phân, ES và nhiệt độ thủy phân. A: mật đáp ứng tương tác giữa thời gian và tỷ lệ ES; B: mật đáp ứng tương tác giữa nhiệt độ và tỷ lệ ES; C: mật đáp ứng tương tác giữa nhiệt độ và thời gian thủy phân

Phân tích các số liệu thu thập theo phương pháp RSM, năng suất R-PE đạt giá trị cao khi thực hiện ở các điều kiện tối ưu như sau: nhiệt độ thủy phân (32⁰C), thời gian thủy phân (286 phút), tỷ lệ enzyme/chất nền (47 mg/g).

Ngoài ra, kết quả thu được sau quá trình thủy phân và tối ưu các thông số công nghệ được thể hiện qua bảng tóm tắt (Bảng 2).

Bảng 1. Ma trận thí nghiệm theo phương pháp thiết kế phức hợp trung tâm CCD (n=3)

STT	Điều kiện thủy phân		
	t (°C)	E/S (mg/g)	T (phút)
1	20,0	40,0	360,0
2	20,0	20,0	360,0
3	35,0	30,0	240,0
4	60,0	30,0	240,0
5	50,0	40,0	120,0
6	50,0	20,0	120,0
7	50,0	40,0	360,0
8	35,0	46,82	240,0
9	35,0	30,0	240,0
10	35,0	30,0	38,19
11	50,0	20,0	360,0
12	35,0	13,18	240,0
13	35,0	30,0	240,0
14	35,0	30,0	240,0
15	20,0	40,0	120,0
16	35,0	30,0	240,0
17	35,0	30,0	441,82
18	20,0	20,0	120,0
19	10,0	30,0	240,0

(Lưu ý: Các thí nghiệm tại tâm được in đậm)

Bảng 2. Tổng kết hàm lượng R-PE, chỉ số tinh khiết R-PE thu được từ tảo sấy *Gracilaria gracilis*

	Control (Đối chứng)	Thủy phân bằng enzyme cellulase	
		Trước tối ưu	Sau tối ưu
t (°C)	35	35	32
T (phút)	360	360	286
E/S (mg/g)	0	20	47
R-PE (mg/g)	4,62 ± 0,93	12,76 ± 0,58	15,75 ± 0,11
PI (A _{565nm} /A _{280nm})	0,05 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,17 ± 0,01

Từ Bảng 2 cho thấy, thủy phân bằng enzyme cellulase có thể gia tăng hàm lượng R-phycoerythrin khoảng 2,7 lần so với mẫu đối chứng (không sử dụng enzyme), tối ưu hóa các thông số công nghệ (nhiệt độ, thời gian, ES) cải thiện năng suất R-PE khoảng 3,5 lần so với mẫu đối chứng. Hàm lượng R-PE đạt 15,75 mg/g đạt 29,30 mg/g khi chiết xuất tại nhiệt độ thủy phân (32⁰C), thời gian thủy phân (286 phút), tỷ lệ E/S (47 mg/g).

Theo phương pháp tối ưu hóa đáp ứng bề mặt, độ tin cậy D tối đa sau khi thực hiện ma trận các thí nghiệm thu được là 91.38%. Điều này cho thấy, giữa kết quả dự đoán theo phương pháp này và kết quả thu được thực tế có thể đạt được mức độ mong muốn tối đa. Mỗi tham số và sự tương tác giữa chúng sẽ có những ảnh hưởng nhất định đến hàm lượng

R-PE thu nhận. Phân tích ảnh hưởng của các biến đổi với hàm lượng R-PE cho thấy thời gian thủy phân và tỷ lệ E/S có ảnh hưởng mạnh và tác động tích cực đến năng suất R-PE thu nhận.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, enzyme thủy phân đã nâng cao hiệu quả chiết xuất R-phycoerythrin từ *Gracilaria gracilis*. Sau khi tối ưu hóa các thông số công nghệ bằng RSM, hàm lượng R-PE tăng so với các thí nghiệm chưa được tối ưu với thời gian thủy phân giảm đáng kể (286 phút thay vì 360 phút). Cellulase mang lại hiệu quả thủy phân cao, phá vỡ cấu trúc thành tế bào tảo và phản ứng thủy phân của enzyme này thường xảy ra mạnh mẽ trong giờ đầu [11]. Thời gian thủy phân kéo dài có thể ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme, enzyme có khả năng hấp thụ đảo ngược và không phục hồi trong quá trình thủy phân dẫn đến hoạt động của enzyme có thể bị giảm [11]. Thời gian thủy phân bằng enzyme cellulase (6h) không cải thiện được hàm lượng R-PE đối với tảo *Gracilaria gracilis*. Hơn nữa, sau quá trình tối ưu hóa, nhiệt độ thủy phân giảm (32⁰C thay vì 35⁰C) có thể giúp giảm chi phí và mang lại lợi ích về mặt kinh tế.

Theo công bố của các nghiên cứu trước đó, R-phycoerythrin được thu nhận từ các nguồn tảo đỏ khác nhau như *Grateloupia turuturu* (1,6 – 4,39 mg/g) [6]; *Palmaria palmata* (4 mg/g-12,36 mg/g) [1]; *Mastocarpus stellatus* (0,27-1,99 mg/g) [7]... Trong nghiên cứu này, hàm lượng R-PE thu nhận từ tảo *Gracilaria gracilis* đạt 1,56-15,75 mg/g.

4. Kết luận

Nghiên cứu này cho thấy, giai đoạn tiền xử lý nguyên liệu rất quan trọng đối với quá trình chiết xuất R-PE, năng suất R-PE được chiết từ tảo sấy thăng hoa và nghiền nitơ lỏng tăng 2.8 lần so với mẫu chiết từ tảo tươi. Hơn nữa, nghiên cứu đã chứng minh được hiệu quả của quá trình thủy phân dưới sự hỗ trợ của enzyme đối với tảo đỏ *Gracilaria gracilis*. Thủy phân bằng enzyme cellulase thu được hàm lượng R-PE tăng 3 lần so với mẫu không xử lý enzyme. Phương pháp tối ưu hóa bề mặt đáp ứng cung cấp các thông số tối ưu nhằm nâng cao năng suất R-PE thu nhận và năng suất R-PE tăng 3,4 lần so với mẫu không xử lý enzyme. Vì vậy, ngoài những sản phẩm đã được ứng dụng hiện nay trên thị trường từ loài tảo *Gracilaria gracilis*, R-PE có thể là một sản phẩm mang lại một nguồn lợi nhuận mới từ loài tảo này. Bên cạnh đó, cần tinh sạch chất màu R-PE trong các nghiên cứu tiếp theo bằng các phương pháp như sắc ký trao đổi ion, sắc ký lọc gel...

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng trong đề tài có mã số B2018-ĐN-06-14.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Dumay, J.; Clément, N.; Morançais, M.; Fleurence, J., "Optimization of hydrolysis conditions of *Palmaria palmata* to enhance R-phycoerythrin extraction", *Bioresour Technol*, 131, 2013, 21-27.
- [2] Capo, T. R.; Jaramillo, J. C.; Boyd, A. E.; Lapointe, B. E.; Seraf, J. E., "Sustained high yields of *Gracilaria* (Rhodophyta) grown in intensive large-scale culture", *J Appl Phycol*, 11(2), 1999,143-147.
- [3] Santelices, B.; Doty, M. S., "A review of *Gracilaria* farming",

- Aquaculture*, 78 (2),1989, 95-133.
- [4] Francaville, M.; Pineda, A.; Romero, A. A.; Colmenares, J. C.; Vargas, C.;Monteleone, M.; Luque, R., "Efficient and simple reactive milling preparation of photocatalytically active porous ZnO nanostructures using biomass derived polysaccharides", *Green Chemistry*16(5), 2014, 2876-2885.
- [5] Francavilla, M.; Franchi, M.; Monteleone, M.; Caroppo, C., "The red seaweed *Gracilaria gracilis* as a multi products source", *Mar Drugs*, 11(10), 2013, 3754-3776.
- [6] Denis, C.; Le-Jeune, H.; Gaudin, P.; Fleurence, J., "An evaluation of methods for quantifying the enzymatic degradation of red seaweed *Grateloupia turuturu*", *J Appl Phycol*, 21, 2009, 153-159.
- [7] Nguyen, H.P.T; Michèle, M.; Fleurence, J.; Dumay, J., "Mastocarpus stellatus as a source of R-phycoerythrin: optimization of enzyme assisted extraction using response surface methodology", *J Appl Phycol*, 29(3), 2017, 1563-1570.
- [8] Wijesinghe, W. A. J. P.; Jeon Y. J., "Enzyme-assistant extraction (EAE) of bioactive components: A useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds: A review", *Fitoterapia*, 83(1), 2012, 6-12.
- [9] Fleurence, J., "R-Phycoerythrin from red macroalgae: Strategies for extraction and potential application in Biotechnological area" *Applied Biotechnology, Food Science and Policy*, 1, 2013, 63-68.
- [10] Ahmad, Q., "Bioethanol production from cellulose in red algae *Gracilaria verrucosa* by separated hydrolysis and fermentation system using *Trichoderma viride* and *Zymomonas mobilis*", *IntJ Pharm Biol Sci*, 2, 2014, 445-452.
- [11] Martin, R. S; Aguilera, J. M.; Hohlberg, A. L., "Effect of cellulase pretreatment on red algae agar extractability", *Carbohydr Polym*, 8(1), 1998, 33-43.

(BBT nhận bài: 01/10/2018, hoàn tất thủ tục phản biện: 19/10/2018)