

# ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN CHIẾU SÁNG ĐẾN SỰ SẢN XUẤT PHYCOCYANIN CỦA VI TẢO *SPIRULINA* TRONG PHA TÍCH LŨY

## EFFECTS OF LIGHT CONDITIONS ON PHYCOCYANIN PRODUCTION OF MICROALGAE *SPIRULINA* IN ACCUMULATION PHASE

Phan Nhật Trường<sup>1</sup>, Từ Văn Thái Nguyên<sup>1</sup>, Trần Thị Tường Vi<sup>1</sup>, Trần Nguyễn Quỳnh Anh<sup>1</sup>,  
Võ Văn Minh<sup>1,2</sup>, Trịnh Đăng Mậu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Nhóm nghiên cứu giảng dạy DN-EBR, Đại học Đà Nẵng

<sup>2</sup>Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

\*Tác giả liên hệ: tdm@ued.udn.vn

(Nhận bài: 21/6/2021; Chấp nhận đăng: 08/10/2021)

**Tóm tắt** - Nghiên cứu này đã được tiến hành để khảo sát ảnh hưởng của chu kỳ quang và phổ ánh sáng đến nồng độ phycocyanin - một hoạt chất có giá trị cao trong vi tảo *Spirulina*. Kết quả thí nghiệm chu kỳ quang cho thấy nồng độ phycocyanin lớn nhất khi được nuôi cấy trong điều kiện sáng:tối là 16:8, đạt  $0,072 \pm 0,001$  mgPC/mL. Việc không có pha tối (24S:0T) hay pha tối dài (12S:12T và 8S:16T) đều không thích hợp cho việc nâng cao năng suất sản xuất phycocyanin. Về phổ ánh sáng, sử dụng ánh sáng LED đỏ dường như kích thích sự gia tăng hàm lượng phycocyanin trong dịch tảo cao hơn so với LED xanh và LED trắng tại cường độ  $100 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ . Nồng độ phycocyanin cao nhất là  $0,046 \pm 0,001$  mgPC/mL được ghi nhận sau 4 ngày tích lũy. Sự tăng lên về hàm lượng phycocyanin trong dịch tảo *Spirulina* ở cả hai thí nghiệm là do sự gia tăng về sinh khối tảo và đồng thời là sự tích lũy phycocyanin ở mạnh hơn ở mỗi tế bào. Đây là những kết quả có tính ứng dụng cao trong việc tăng năng suất sản xuất hợp chất thứ cấp phycocyanin trong tảo *Spirulina*.

**Từ khóa** - Phycocyanin; *Spirulina*; chu kỳ quang; phổ ánh sáng

### 1. Đặt vấn đề

Phycocyanin (PC) - sắc tố tự nhiên có màu xanh lam - là một phycobiliprotein có đặc tính chống oxy hóa mạnh, chứa nhiều trong vi tảo lam *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* (từ đây gọi là *Spirulina*) [1]. Nhờ những công dụng đã được khoa học chứng minh, phycocyanin đang được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực như thực phẩm, mỹ phẩm hay y học [2]. Do đó, hiện nay nhu cầu đối với phycocyanin trên thị trường toàn cầu là rất lớn, giá có thể dao động từ 130\$ đến 2.5000\$/1kg khô tùy thuộc vào độ tinh khiết. Việc nuôi trồng vi tảo định hướng tích lũy phycocyanin được đánh giá là một hướng đi tiềm năng mang lại nhiều lợi ích kinh tế hơn so với dùng sinh khối khô làm thương phẩm.

Điều kiện chiếu sáng (chu kỳ sáng - tối, cường độ, bước sóng...) là một trong những yếu tố môi trường luôn được lưu tâm trong nuôi trồng vi tảo bên cạnh dinh dưỡng, nhiệt độ, pH... bởi những ảnh hưởng trực tiếp lên quá trình sinh trưởng và phát triển thông qua quang hợp [3]. Với vai trò sinh học chính là hấp thụ năng lượng ánh sáng ở các bước sóng mà chlorophyll hoạt động không hiệu quả nhằm hỗ trợ quang hợp, phycobiliprotein trong tảo lam, hay cụ thể

**Abstract** - This study was conducted to investigate the effects of light conditions on the phycocyanin production of *Spirulina* in the accumulation phase. Results from the experiment with the lighting regime showed that 16L:8D was the most appropriate regime, with the highest concentration of phycocyanin recorded being  $0,072 \pm 0,001$  mgPC/ml. The absence of a dark period or the presence of a long dark period were both unlikely to be applicable to enhance the production of phycocyanin. Regarding the light spectrum, red LED seemed to effectively stimulate a larger amount of phycocyanin in culture compared to results from treatment using blue LED and white LED at an intensity of  $100 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ . A maximum concentration of  $0,046 \pm 0,001$  mgPC/mL was recorded after 4 days of accumulation. The increase of phycocyanin concentrations in those 2 experiments were both observed to be attributed to the increase of total algal biomass and the higher accumulation in every algal cell. This result can be applied to improve the production of phycocyanin from *Spirulina*.

**Key words** - Phycocyanin; *Spirulina*; lighting regime; light spectrum

là phycocyanin, có thể bị thay đổi nồng độ tùy thuộc vào điều kiện chiếu sáng [3], [4]. Bài toán đặt ra là xác định được điều kiện chiếu sáng mà tại đó, nồng độ phycocyanin có thể thu được từ *Spirulina* là cao nhất.

Từ đó, nghiên cứu này đã được tiến hành để khảo sát ảnh hưởng của chu kỳ quang và phổ ánh sáng đến nồng độ phycocyanin trong vi tảo *Spirulina* trong pha tích lũy. Kết quả của nghiên cứu có thể được ứng dụng để cải thiện năng suất sản xuất hợp chất thứ cấp này và nâng cao giá trị sản phẩm từ vi tảo.

### 2. Phương pháp

#### 2.1. Giống và điều kiện sinh trưởng

Giống *Arthrospira platensis* được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Tảo, Khoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng. Tảo được phân lập và làm sạch trên môi trường thạch với công thức dinh dưỡng Zarrouk [5]. Sau 1 tuần, tảo được chuyển qua môi trường nuôi dạng lỏng và nhân lên trong bình 5L ở điều kiện phòng thí nghiệm với nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang với chu kỳ 16h sáng: 8h tối, cường độ dao động trong khoảng  $40 \pm 5 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ .

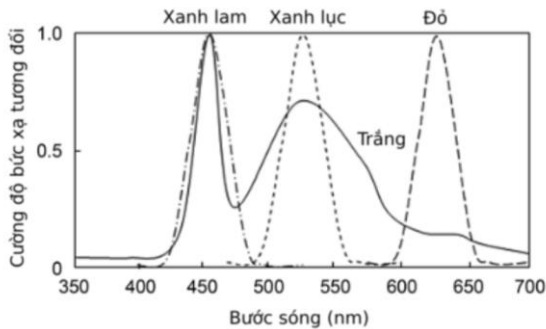
<sup>1</sup> DN-EBR Teaching Research Group, The University of Danang (Phan Nhật Trường, Từ Văn Thái Nguyên, Trần Thị Tường Vi, Trần Nguyễn Quỳnh Anh, Võ Văn Minh, Trịnh Đăng Mậu)

<sup>2</sup> The University of Danang - University of Science and Education (Võ Văn Minh, Trịnh Đăng Mậu)

## 2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành theo mô hình nuôi 2 pha: sinh trưởng và tích lũy. Ở pha sinh trưởng, *Spirulina* được nuôi trong môi trường Zarrouk trong các bình thủy tinh 500mL, dưới điều kiện ánh sáng, nhiệt độ của phòng thí nghiệm. Khi sinh khối trong dịch tảo đạt  $2,5 \pm 0,25$  mg/mL, tảo được chuyển qua pha tích lũy.

Trong pha tích lũy, với thí nghiệm ảnh hưởng của chu kỳ quang, cường độ ánh sáng được duy trì ở  $100 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  bằng đèn LED 6.500K trắng, 4 nghiệm thức về chu kỳ chiếu sáng được khảo sát bao gồm: Chiếu sáng liên tục (24S), 16 giờ sáng: 8 giờ tối (16S:8T), 12 giờ sáng: 12 giờ tối (12S:12T) và 8 giờ sáng: 16 giờ tối (8S:16T). Ba phổ màu từ đèn LED gồm xanh dương (gọi tắt trong nghiên cứu này là xanh), đỏ và trắng có cường độ là  $100 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$  và phổ phát xạ như Hình 1 đã được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của phổ ánh sáng đến khả năng tích lũy phycocyanin trong tảo *spirulina* ở pha sinh trưởng. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Thí nghiệm kéo dài trong vòng 6 ngày với ngày 0 là ngày bắt đầu pha tích lũy. Nồng độ phycocyanin và sinh khối tảo được xác định mỗi 2 ngày.



**Hình 1.** Phổ phát xạ của các loại ánh sáng được dùng trong thí nghiệm [4]

## 2.3. Phương pháp xác định nồng độ phycocyanin

Phycocyanin được chiết tách bằng cách kết hợp 2 phương pháp đông lạnh - rã đông sau 24h và chiết bằng dung môi nước cất có hỗ trợ sóng siêu âm ở  $30^\circ\text{C}$  trong 30 phút. Dịch chiết sau đó được ly tâm lạnh ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 30 phút, loại bỏ phần lắng, thu dịch nổi. Mật độ quang của dịch nổi được đo ở bước sóng 652nm ( $OD_{652}$ ) và 615nm ( $OD_{615}$ ) sử dụng máy đo quang phổ UV-VIS (Jasco V750). Nồng độ phycocyanin (C-PC [ $\text{mg}_{\text{PC}}/\text{mL}$ ]) được tính toán với công thức như sau [6]:

$$C - \text{PC} = \frac{OD_{615} - 0,474 \times OD_{652}}{5,34}$$

## 2.4. Phương pháp xác định sinh khối

Sự thay đổi nồng độ phycocyanin của dịch tảo có thể là do sự tăng lên về số lượng tế bào hoặc/và sự tích lũy hàm lượng phycocyanin trong mỗi tế bào. Do đó, sinh khối khô của tảo đã được khảo sát để hiểu rõ hơn về cơ chế diễn ra. Sinh khối của tảo được tính toán thông qua xác định giá trị mật độ quang của dịch tảo ở bước sóng 680nm sử dụng máy đo quang phổ UV - VIS. Đường chuẩn mối quan hệ giữa mật độ quang và khối lượng khô của tảo được xây dựng dựa trên phương pháp được đề xuất bởi Leduy và Therien [7]. Kết quả thực nghiệm cho thấy, giữa sự sinh trưởng và sinh khối khô của tảo có một mối tương quan

thuận chặt chẽ với nhau ( $r=0,98$ ). Do đó, dựa vào mật độ quang ( $OD_{680}$ ), có thể xác định được sinh khối khô ( $DW - [\text{mg}_{\text{skk}}/\text{mL}]$ ) thông qua phương trình:

$$DW = 0,208 \times OD_{680} + 0,084$$

## 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Mức độ thay đổi trong nồng độ phycocyanin và sinh khối vi tảo được tính dựa trên công thức:

$$X\% = \frac{X_t - X_{t_0}}{X_{t_0}} \times 100\%$$

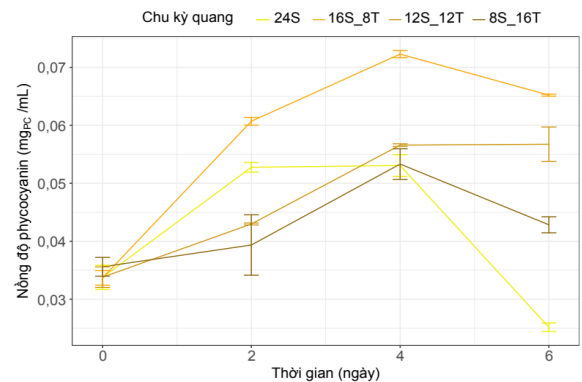
Trong đó, X% là tỉ lệ thay đổi của nồng độ phycocyanin hoặc sinh khối tại thời điểm khảo sát t ( $X_t$ ) so với thời điểm bắt đầu thí nghiệm ( $X_{t_0}$ ).

Các phép thống kê mô tả và kiểm định giả thuyết được thực hiện bằng phần mềm R [8]. Phân tích phương sai 1 yếu tố (ANOVA) được áp dụng để đánh giá sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức, giá trị  $p < 0,05$  được xác định là có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

## 3. Kết quả

### 3.1. Ảnh hưởng của chu kỳ quang đến sự thay đổi phycocyanin trong pha tích lũy

Hình 2 thể hiện sự biến động của nồng độ phycocyanin trong 1 đơn vị thể tích dịch tảo được nuôi cấy dưới các chu kỳ quang khác nhau.



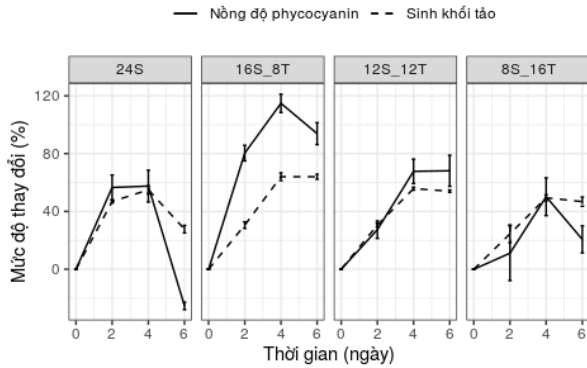
**Hình 2.** Sự thay đổi nồng độ phycocyanin theo thời gian ở các nghiệm thức chu kỳ quang khác nhau

Nhìn chung, nồng độ phycocyanin ở các nghiệm thức đều được ghi nhận tăng trong những ngày đầu, đạt tối đa ở ngày thứ tư, sau đó có xu hướng giảm. Nghiệm thức 16S:8T cho kết quả nồng độ phycocyanin cao hơn đáng kể so với các nghiệm thức khác ở mọi thời điểm khảo sát ( $p$ -values  $< 0,05$ , Bảng 1), cao nhất đạt  $0,072 \pm 0,001$   $\text{mg}_{\text{PC}}/\text{mL}$  ở ngày thứ 4 của pha tích lũy. Ở chu kỳ 24S, sự sụt giảm mạnh nồng độ phycocyanin được quan sát thấy từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 6, giảm từ  $0,053 \pm 0,002$  xuống còn  $0,025 \pm 0,001$   $\text{mg}_{\text{PC}}/\text{mL}$ , thấp hơn đáng kể so với các nghiệm thức khác và so với nồng độ lúc bắt đầu thí nghiệm là  $0,338 \pm 0,02$   $\text{mg}_{\text{PC}}/\text{mL}$ .

**Bảng 1.** Giá trị p-value của các cặp nghiệm thức vào ngày thứ 6 của thí nghiệm về chu kỳ quang

	24S	16S:8T	12S:12T
16S:8T	1E-8		
12S:12T	1E-8	0,008474	
8S:16T	1E-8	1E-8	1E-7

Sinh khối tảo cũng đã được khảo sát để đánh giá động học của sự thay đổi phycocyanin trong quần thể tảo được nuôi cấy.



**Hình 3.** Mức độ thay đổi của sinh khối tảo và nồng độ phycocyanin trong dịch tảo theo thời gian ở các nghiệm thức chu kỳ quang khác nhau

Xu hướng biến động trong nồng độ phycocyanin nhìn chung tương tự với xu hướng biến động của sinh khối tảo. Bên cạnh đó, mức độ thay đổi của chúng cũng là khá tương đương nhau trong các nghiệm thức 24S, 12S:12T, 8S:16T (Hình 3). Điều này chứng tỏ nồng độ phycocyanin tăng giảm trong các nghiệm thức này chủ yếu là do sự thay đổi của sinh khối tảo. Tuy nhiên, đó không phải là yếu tố duy nhất chi phối sự biến động nồng độ phycocyanin ghi nhận được.

Cụ thể, từ ngày thứ 4 đến thứ 6 của nghiệm thức 24S, mức độ thay đổi nồng độ phycocyanin giảm mạnh từ +57,52% xuống -25,38% so với nồng độ ban đầu trong khi sinh khối chỉ giảm từ +54,97% xuống +27,72%, cho thấy rằng tảo không chỉ giảm về số lượng mà hàm lượng phycocyanin trong mỗi tế bào cũng sụt giảm đáng kể trong khoảng thời gian này.

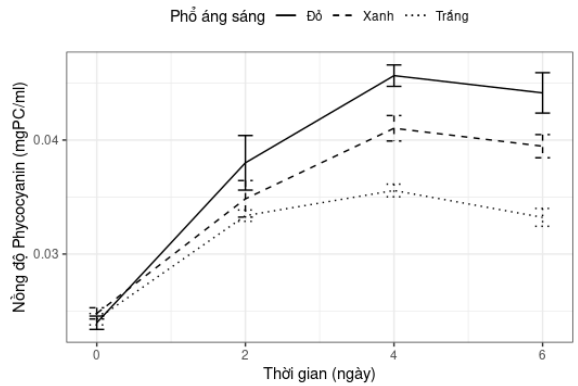
Tương tự, đối với 3 nghiệm thức có pha tối bao gồm 16S:8T, 12S:12T, 6S:18T, mức độ thay đổi của nồng độ phycocyanin tỉ lệ thuận với thời gian chiếu sáng mặc dù xu hướng thay đổi là tương đồng nhau. Nồng độ phycocyanin ghi nhận được tăng mạnh nhất khi được chiếu sáng với chu kỳ 16S:8T mức tăng tối đa lên đến +114,81%. Ở chu kỳ 12S:12T và 8S:16T, mức tăng tối đa là thấp hơn đáng kể, lần lượt đạt +68,11% và +50,16%. Đáng chú ý, sự thay đổi sinh khối tảo trong 3 nghiệm thức này là không có sự khác biệt đáng kể ( $p\text{-value} < 0,05$ ) trong suốt thời gian thí nghiệm, với mức thay đổi tối đa là khoảng +50% đến +60% so với sinh khối ban đầu. Do đó, có thể kết luận rằng, sự chênh lệch trong nồng độ phycocyanin của dịch tảo giữa các nghiệm thức chủ yếu là do sự chênh lệch hàm lượng phycocyanin trong các tế bào tảo.

**3.2. Ảnh hưởng của phổ ánh sáng đến sự thay đổi phycocyanin trong pha tích lũy**

Hình 4 thể hiện ảnh hưởng của các phổ ánh sáng đỏ, xanh, trắng đến nồng độ phycocyanin trong dịch tảo được nuôi cấy.

Nồng độ phycocyanin trong 3 nghiệm thức đều tăng đến ngày thứ 4, sau đó giảm nhẹ vào ngày thứ 6 với thứ tự không đổi trong suốt thời gian thí nghiệm: Đỏ > Xanh > Trắng. Nồng độ cao nhất ghi nhận được là ở ngày thứ 4 trong nghiệm thức chiếu sáng bằng ánh sáng đỏ, đạt giá trị  $0,046 \pm 0,001 \text{ mg}_{PC}/\text{mL}$ , cao hơn đáng kể so với 2 nghiệm

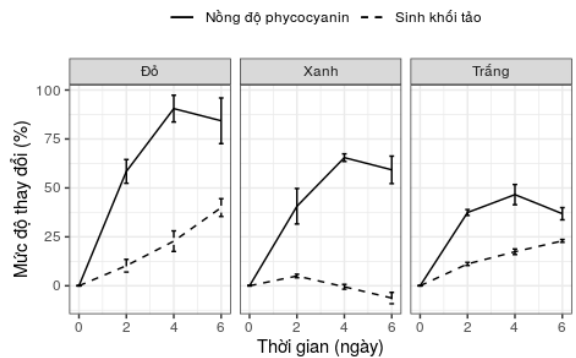
thức còn lại ( $p\text{-values} < 0,05$ ).



**Hình 4.** Sự thay đổi nồng độ phycocyanin theo thời gian ở các nghiệm thức phổ ánh sáng khác nhau

**Bảng 2.** Giá trị p-value của các cặp nghiệm thức vào ngày thứ 6 của thí nghiệm về phổ ánh sáng

	Đỏ - Xanh	Đỏ - Trắng	Xanh - Trắng
<b>p-value</b>	0,0027064	1E-8	0,0000542



**Hình 5.** Mức độ thay đổi của sinh khối tảo và nồng độ phycocyanin trong dịch tảo theo thời gian ở các nghiệm thức phổ ánh sáng khác nhau

Kết hợp với dữ liệu về sinh khối, có thể thấy không chỉ mức độ mà nguyên nhân của những thay đổi trong nồng độ phycocyanin ở các nghiệm thức cũng có sự khác biệt. Cụ thể, ở nghiệm thức ánh sáng đỏ và trắng, sinh khối tăng đều trong suốt khoảng thời gian khảo sát, tăng 39,94% và 22,93% so với sinh khối ban đầu sau 6 ngày. Trong khi đó, mức độ thay đổi của nồng độ phycocyanin là cao hơn nhiều với giá trị tối đa (ở ngày thứ 4) lên đến +90,5% và +46,57%. Sự chênh lệch lớn này cho thấy, có sự tích lũy phycocyanin trong tế bào tảo. Từ ngày thứ 4 đến thứ 6, nồng độ phycocyanin giảm trong khi sinh khối vẫn tăng, chỉ ra rằng hàm lượng phycocyanin đã bị mất đi đáng kể trong tế bào tảo trong khoảng thời gian này.

Ngược lại, ở nghiệm thức ánh sáng xanh, tảo dường như không sinh trưởng, sinh sản khi mức độ thay đổi của sinh khối là không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các thời điểm khảo sát ( $p\text{-value} > 0,05$ ). Sự tăng lên về nồng độ phycocyanin do đó chủ yếu là do sự tăng lên về hàm lượng phycocyanin trong tế bào tảo. Sự thay đổi nồng độ phycocyanin tối đa ghi nhận được là ở ngày thứ 4 của thí nghiệm, tăng 65,46% so với nồng độ ban đầu. Hai ngày tiếp theo chứng kiến sự suy giảm về số lượng tế bào tảo dẫn đến sự giảm nhẹ của nồng độ phycocyanin.

#### 4. Biện luận

Nghiên cứu này khảo sát sự thay đổi của nồng độ phycocyanin trong dịch tảo ở pha tích lũy trong mô hình nuôi cấy hai pha. Kết quả cho thấy chu kỳ quang và phổ ánh sáng có những ảnh hưởng rõ rệt đến lượng phycocyanin. Nồng độ phycocyanin tối đa ghi nhận được dao động trong khoảng 0,053 – 0,072 mg<sub>PC</sub>/mL ở thí nghiệm chu kỳ quang và 0,036 – 0,046 mg<sub>PC</sub>/mL ở thí nghiệm phổ ánh sáng. Sự chênh lệch này có thể là do nồng độ phycocyanin lúc bắt đầu thí nghiệm khác nhau. Các giá trị này là thấp hơn so với nồng độ phycocyanin tối đa được báo cáo trong nghiên cứu của Leema & cs. (0,07 - 0,15 mg<sub>PC</sub>/mL) [9] và Walter & cs. (0,144 - 0,237 mg<sub>PC</sub>/mL) [10], tương đương với kết quả nghiên cứu của Chen và cs. (khoảng 0,02 – 0,07 mg<sub>PC</sub>/mL) [16]. Sự biến động về giá trị nồng độ phycocyanin trong các nghiên cứu có thể do sự khác biệt trong chủng giống sử dụng, điều kiện thí nghiệm, mô hình nuôi cấy và phương pháp tách chiết.

##### 4.1. Ảnh hưởng của chu kỳ quang đến sự sinh trưởng và tích lũy phycocyanin ở *Spirulina*

Là một sắc tố quang hợp hỗ trợ trong vi tảo, phycocyanin rõ ràng bị ảnh hưởng bởi các điều kiện chiếu sáng. Cường độ ánh sáng quá cao hay chiếu sáng liên tục có thể dẫn đến sự quang ức chế làm giảm tốc độ sinh trưởng của tảo hay sự quang oxy hóa gây ra những tổn thương cho tế bào tảo, thậm chí là gây chết [11], [1]. Do đó, trong quá trình nuôi trồng vi tảo, chiếu sáng theo chu kỳ sáng tối luân phiên hoặc sử dụng ánh sáng tự nhiên là hiệu quả hơn, không chỉ duy trì được quần thể ở pha tăng trưởng và cân bằng lâu hơn mà còn tiết kiệm được lượng lớn điện năng [12].

Pha tối là rất cần thiết trong sự sinh trưởng của tảo bởi quá trình quang hợp bị chi phối bởi hai phản ứng, pha quang hóa phụ thuộc vào ánh sáng và pha sinh hóa độc lập với ánh sáng. Các sản phẩm của pha đầu tiên (ATP, NADPH) được sử dụng trong pha tối để tổng hợp các nguyên liệu cần thiết cho sự tăng trưởng và sinh sản [13]. Sự thay đổi trong chế độ sáng : tối có thể tạo ra sự thay đổi trong thành phần tế bào như hàm lượng và tỉ lệ protein, carbohydrate và lipid [12]. Tuy vậy, lưu ý rằng pha tối dài cũng gây hạn chế đến sự sinh trưởng và phát triển, bởi thời gian chiếu sáng là không đủ để tảo có thể có năng suất quang hợp tốt nhất. Theo Cuhel & cs., sinh vật quang tự dưỡng thường tích lũy năng lượng ánh sáng khi được chiếu sáng và sử dụng chúng cho các quá trình tổng hợp nội chất trong pha tối [14]. Điều này giải thích cho việc sinh khối đạt được ở chu kỳ 12S:12T và 8S:16T là thấp hơn so với chu kỳ 16S:8T (Hình 2). Bên cạnh đó, có thể thấy 2 đường biểu diễn sự biến thiên của sinh khối và nồng độ phycocyanin trong hai nghiệm thức này khá gần nhau và có xu hướng tương tự nhau, cho thấy phycocyanin thay đổi phần lớn là do sự tăng giảm về số lượng tế bào, hay nói cách khác là sự tích lũy phycocyanin trong tế bào tảo trong trường hợp này là thấp hoặc không đáng kể.

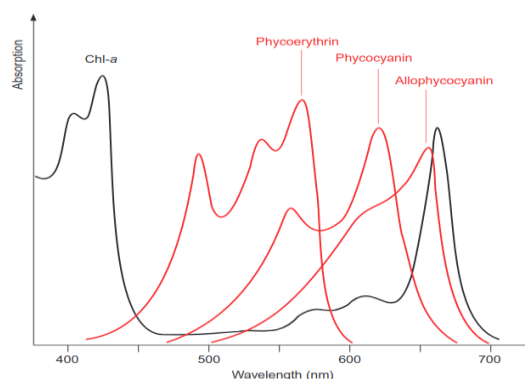
##### 4.2. Ảnh hưởng của phổ ánh sáng đến sự sinh trưởng và tích lũy phycocyanin ở *Spirulina*

Đối với thí nghiệm phổ ánh sáng, sinh khối tảo tăng mạnh trong nghiệm thức ánh sáng đỏ và trắng trong khi thay đổi rất ít và thậm chí giảm trong nghiệm thức ánh sáng xanh (Hình 4). Tuy vậy, nồng độ phycocyanin vẫn ghi nhận tăng đáng kể ở ánh sáng xanh với mức tăng là tối đa là +67% ở ngày thứ 4, chứng tỏ có sự tích lũy một lượng lớn

phycocyanin trong các tế bào tảo.

Hiện tượng này đã được báo cáo trong nhiều nghiên cứu tương tự trên *Spirulina*, điển hình như nghiên cứu của Wang & cs. [15], Chen & cs. [16] hay các nghiên cứu trên các loài tảo lam khác của Kim & cs. [17] hay Bland và Angenent [18]. Những nghiên cứu này cho thấy, LED đỏ thúc đẩy tốc độ sinh trưởng lớn nhất ở tảo lam trong khi dưới điều kiện chiếu sáng bằng LED xanh cùng cường độ, hiệu suất chuyển hóa năng lượng ánh sáng thành sinh khối lại thấp. Bên cạnh đó, ánh sáng xanh dương cũng được xác nhận có khả năng giúp tạo ra lượng sắc tố quang hợp hỗ trợ nhiều hơn so với ánh sáng đỏ.

Luimstra & cs. đã tiến hành nghiên cứu trên 1 loài tảo lam là *Synechocystis* sp. PCC 6803 và báo cáo rằng tảo lam hấp thụ ánh sáng xanh dương với mức độ tương đương với ánh sáng cam hay đỏ nhưng lại sử dụng năng lượng từ phổ này cho quang hợp và sinh trưởng kém hiệu quả hơn nhiều [19]. Tác giả khẳng định kết quả này ủng hộ giả thuyết cho rằng, ánh sáng xanh tạo ra sự mất cân bằng giữa 2 quang hệ (PSII và PSI) trong chuỗi truyền điện tử ở tảo lam, dẫn đến những hạn chế trong sinh trưởng [20]. Cụ thể, tảo lam có nhiều quang hệ PSI hơn gấp 2 - 5 lần quang hệ PSII. Bên cạnh đó, PSI lại chứa nhiều phân tử Chl-a hơn, do đó PSI hấp thụ nhiều photon ánh sáng hơn PSII. Điều này dẫn đến nhu cầu điện tử của PSI là lớn trong khi khả năng cung cấp điện tử bởi PSII lại không đủ. Trong trường hợp này, sự cân bằng giữa hai quang hệ được điều chỉnh bằng cách tăng số lượng các thể phycobilisomes – PBS liên kết với quang hệ PSII. PBS bao gồm thành phần chính là phycocyanin cùng với phycoerythrin và allophycocyanin, đóng vai trò là các sắc tố quang hợp hỗ trợ, bổ sung thêm năng lượng hấp thụ từ ánh sáng vào trung tâm phản ứng chlorophyll của PSII, giúp duy trì chuỗi truyền điện tử bằng hoạt động bình thường giữa 2 quang hệ, qua đó đảm bảo sự sản xuất ATP và NADPH cần thiết cho sự sinh trưởng [19]. Các phycobiliprotein này, có phổ hấp thụ ánh sáng tối ưu nằm trong vùng màu cam-đỏ, đặc biệt là phycocyanin có đỉnh ở bước sóng khoảng 620nm (Hình 5), do đó lượng photon được PSII thu hoạch từ ánh sáng đỏ là đủ để duy trì hoạt động quang hợp và sinh trưởng. Trong khi đó, các sắc tố này dường như không hấp thụ hoặc hấp thụ một lượng rất ít photon trong phổ ánh sáng xanh dương có bước sóng ngắn (400-500nm) [21]. Kết quả là PSII thiếu photon trầm trọng, quá trình quang hợp bị gián đoạn, năng lượng và nguyên liệu cần thiết tạo ra trong tế bào là không đủ cho sự tổng hợp sinh khối. Sự bất hoạt này của hệ thống quang hợp được thể hiện qua lượng O<sub>2</sub> sản sinh ra là rất thấp.



**Hình 6.** Phổ hấp thụ của chlorophyll a, phycoerythrin và allophycocyanin [21]

Hàm lượng phycocyanin trong tế bào tảo lam tăng lên, do đó được cho là kết quả của cơ chế thích nghi của tảo lam trong điều kiện được chiếu sáng với bước sóng và cường độ không phù hợp [19]. Kết quả từ nghiên cứu của nhóm tác giả ủng hộ nhận định trên khi nồng độ phycocyanin của dịch tảo vẫn tăng trong khi sinh khối không thay đổi đáng kể ở nghiệm thức ánh sáng xanh.

Một điểm đáng chú ý nữa là trong cả 2 thí nghiệm chu kỳ và phổ ánh sáng, nồng độ phycocyanin trong dịch tảo đều có xu hướng giảm từ ngày thứ 4 trở đi. Điều này có thể giải thích bởi lượng dinh dưỡng trong môi trường đã dần cạn kiệt và tảo bước vào pha cân bằng - suy vong. Sự suy giảm nồng độ phycocyanin là do hai nguyên nhân: Số lượng tế bào giảm sút hoặc/và phycocyanin trong các tế bào bị tiêu thụ như là nguồn nitơ thay thế để duy trì sự sinh trưởng [22]. Ở nghiệm thức chiếu sáng liên tục, nồng độ phycocyanin đã giảm nhiều nhất là do: (1) Stress quang oxy hóa gây chết tế bào; (2) Phycocyanin trong tế bào đã được sử dụng để duy trì lượng lớn sinh khối tạo ra trước. Ở nghiệm thức chiếu sáng bằng ánh sáng đỏ và trắng với chu kỳ 16S:8T, nồng độ phycocyanin giảm trong khi sinh khối vẫn tăng ở 2 ngày cuối thí nghiệm (Hình 4a, 4c) chứng tỏ tảo đang dùng nguồn nitơ dự trữ dưới dạng phycobiliprotein để tiếp tục tạo sinh khối. Đối với nghiệm thức ánh sáng xanh, sự tăng trưởng gần như bằng 0 cộng với việc tích lũy hàm lượng lớn phycocyanin trong tế bào đã dẫn đến nồng độ phycocyanin tích lũy là khá cao. Điều này cũng đã được quan sát bởi Chen & cs [23], Kim & cs [4].

## 5. Kết luận

Tóm lại, nghiên cứu đã chỉ ra được ảnh hưởng của chu kỳ quang cũng như phổ ánh sáng đến nồng độ phycocyanin trong dịch tảo được nuôi cấy theo mô Hình 2 pha: Tích lũy - sinh trưởng, đồng thời giải thích được cơ chế của những sự tác động này. Kết quả thí nghiệm chu kỳ quang cho thấy, nồng độ phycocyanin là lớn nhất khi được nuôi cấy trong điều kiện sáng: tối là 16:8, việc không có pha tối (nghiệm thức 24S) hay pha tối dài (12S:12T và 8S:16T) đều không thích hợp cho việc nâng cao năng suất sản xuất phycocyanin. Chu kỳ 16S:8T không chỉ đảm bảo cho sự tăng trưởng sinh khối mạnh mà còn kích thích sự tích lũy phycocyanin cao trong tế bào (Hình 2). Trong thí nghiệm 2, phổ ánh sáng đỏ kích thích sự gia tăng nồng độ phycocyanin trong dịch tảo mạnh nhất sau 4 ngày cho tích lũy do thúc đẩy cả gia tăng sinh khối và sự tích lũy phycocyanin ở các tế bào. Những kết quả này mang giá trị thực tiễn cao, có thể ứng dụng để tăng năng suất sản xuất hợp chất thứ cấp phycocyanin giàu giá trị từ tảo *Spirulina*, mang lại nhiều lợi nhuận hơn trong việc nuôi trồng vi tảo.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Vonshak, *Spirulina platensis arthrospira: physiology, cell-biology and biotechnology*. CRC press, 1997.
- [2] N. T. Eriksen, "Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 80, no. 1, pp. 1–14, 2008.
- [3] L. Barsanti and P. Gualtieri, *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. CRC press, 2014.
- [4] N. N. Kim, H. S. Shin, H. G. Park, J. Lee, G.-S. Kil, and C. Y. Choi, "Profiles of photosynthetic pigment accumulation and expression of photosynthesis-related genes in the marine cyanobacteria *Synechococcus* sp.: Effects of LED wavelengths", *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 19, no. 2, pp. 250–256, 2014.
- [5] C. Zarrouk, "Contribution a l'etude d'une Cyanophyce. Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina mixima*", *Thesis Univ. Paris Fr.*, 1966.
- [6] A. Bennett and L. Bogorad, "Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga", *J. Cell Biol.*, vol. 58, no. 2, pp. 419–435, 1973.
- [7] A. Leduy and N. Therien, "An improved method for optical density measurement of the semimicroscopic blue green alga *Spirulina maxima*", *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 19, no. 8, pp. 1219–1224, 1977.
- [8] R. C. Team, "R: A language and environment for statistical computing", 2013.
- [9] J. M. Leema, R. Kirubakaran, N. V. Vinithkumar, P. S. Dheenan, and S. Karthikayulu, "High value pigment production from *Arthrospira (Spirulina) platensis* cultured in seawater", *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 23, pp. 9221–9227, 2010.
- [10] A. Walter, J. C. de Carvalho, V. T. Soccol, A. B. B. de Faria, V. Ghiggi, and C. R. Soccol, "Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra", *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 54, no. 4, pp. 675–682, 2011.
- [11] S. Jensen and G. Knutsen, "Influence of light and temperature on photoinhibition of photosynthesis in *Spirulina platensis*", *J. Appl. Phycol.*, vol. 5, no. 5, pp. 495–504, 1993.
- [12] J. Seyfabadi, Z. Ramezanpour, and Z. A. Khoeyi, "Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes", *J. Appl. Phycol.*, vol. 23, no. 4, pp. 721–726, 2011.
- [13] R. Bouterfas, M. Belkoura, and A. Dauta, "The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake", *Limnetica*, vol. 25, no. 3, pp. 647–656, 2006.
- [14] R. L. Cuhel, P. B. Ortner, and D. R. Lean, "Night synthesis of protein by algae 1", *Limnol. Oceanogr.*, vol. 29, no. 4, pp. 731–744, 1984.
- [15] L. Wang, B. Pan, J. Sheng, J. Xu, and Q. Hu, "Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction", *Food Chem.*, vol. 105, no. 1, pp. 36–41, 2007.
- [16] H.-B. Chen *et al.*, "Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes", *Biochem. Eng. J.*, vol. 53, no. 1, pp. 52–56, 2010.
- [17] K. Kim, D. Hoh, Y. Ji, H. Do, B. Lee, and W. Holzapfel, "Impact of light intensity, CO<sub>2</sub> concentration and bubble size on growth and fatty acid composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis* KMMCC CY-007", *Biomass Bioenergy*, vol. 49, pp. 181–187, 2013.
- [18] E. Bland and L. T. Angenent, "Pigment-targeted light wavelength and intensity promotes efficient photoautotrophic growth of Cyanobacteria", *Bioresour. Technol.*, vol. 216, pp. 579–586, 2016.
- [19] V. M. Luimstra, J. M. Schuurmans, A. M. Verschoor, K. J. Hellingwerf, J. Huisman, and H. C. Matthijs, "Blue light reduces photosynthetic efficiency of cyanobacteria through an imbalance between photosystems I and II", *Photosynth. Res.*, vol. 138, no. 2, pp. 177–189, 2018.
- [20] K. A. Solhaug, L. Xie, and Y. Gauslaa, "Unequal allocation of excitation energy between photosystem II and I reduces cyanolichen photosynthesis in blue light", *Plant Cell Physiol.*, vol. 55, no. 8, pp. 1404–1414, 2014.
- [21] B. Piechulla and H. W. Heldt, *Plant biochemistry*. Academic Press, 2010.
- [22] S. Boussiba and A. E. Richmond, "C-phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*", *Arch. Microbiol.*, vol. 125, no. 1, pp. 143–147, 1980.
- [23] T.-F. Chen, W.-J. Zheng, Y.-S. Wong, and F. Yang, "Selenium-induced changes in activities of antioxidant enzymes and content of photosynthetic pigments in *Spirulina platensis*", *J. Integr. Plant Biol.*, vol. 50, no. 1, pp. 40–48, 2008.