

Bài báo nghiên cứu**ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ NPK LÊN HÀM LƯỢNG PROTEIN
VÀ KHẢ NĂNG CHỐNG OXY HÓA CỦA *SPIRULINA* SP.
NUÔI CÂY BẰNG HỆ THỐNG PLASTIC BAG PHOTO – BIOREACTOR***Võ Hồng Trung**, *Nguyễn Mộng Thảo Uyên*,*Phạm Lương Anh Tuấn, Đỗ Anh Thu, Nguyễn Thị Hồng Phúc**Bộ môn Hóa sinh, Độc chất, Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Việt Nam***Tác giả liên hệ: Võ Hồng Trung – Email: vohongtrung2503@gmail.com**Ngày nhận bài: 02-12-2019; ngày nhận bài sửa: 11-3-2020, ngày chấp nhận đăng: 05-6-2020***TÓM TẮT**

Spirulina sp. là tảo lam có cấu trúc xoắn, hàm lượng protein chiếm 60-70% trọng lượng khô và ứng dụng làm thực phẩm chức năng giúp ngăn ngừa lão hóa và ung thư. Dinh dưỡng nitơ và phosphor trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng mạnh lên hàm lượng protein và khả năng chống oxy hóa của *Spirulina* sp. Nghiên cứu ảnh hưởng ba nồng độ phân bón NPK (0,1g/L; 0,5g/L; 1g/L) lên hàm lượng protein, hàm lượng phenolic tổng và khả năng chống oxy hóa (I%, IC₅₀ và AAI) của *Spirulina*. Kết quả cho thấy trong môi trường Zarrouk bổ sung NPK 0,5g/L có hàm lượng protein, phenolic và khả năng chống oxy hóa cao hơn so với môi trường bổ sung NPK 0,1g/L và 1g/L. Ngoài ra khả năng chống oxy hóa (IC₅₀ và AAI) của *Spirulina* sp. trong môi trường Zarrouk bổ sung NPK 0,1g/L cao hơn môi trường bổ sung NPK 0,5g/L; 1g/L.

Từ khóa: *Spirulina* sp., môi trường Zarrouk; hàm lượng protein; phenolic; chống oxy hóa

1. Giới thiệu

Spirulina sp. là một loại vi tảo dạng sợi xoắn, màu xanh lục có những đặc tính ưu việt và giá trị dinh dưỡng cao. Do đó gần đây, sự quan tâm đến *Spirulina* chủ yếu nằm ở giá trị dinh dưỡng của nó. *Spirulina* được nghiên cứu, sản xuất và ứng dụng trong nhiều lĩnh vực đời sống và sức khỏe của con người. *Spirulina* được xem là một nguồn thực phẩm chức năng do chứa một hàm lượng cao dinh dưỡng (protein, acid amin và acid béo thiết yếu, polysaccharid, carotenoid, vitamin và sắt) (Miranda, Cintra, Barros, & Mancini Filho, 1998). Nhiều nghiên cứu cho thấy *Spirulina* chứa khoảng 61,57% protein, acid amin thiết yếu (38,81% của protein), vitamin B12 (193 µg/10g) và acid folic (9,66 mg/100g), calci (1043,62 mg/100g) và sắt (338,76 mg/100g) (Morsy, Sharoba, & HEM, 2014).

Cite this article as: Vo Hong Trung, Nguyen Mong Thao Uyen, Pham Luong Anh Tuan, Do Anh Thu, & Nguyen Thi Hong Phuc (2020). Effects of npk concentration on protein content and antioxidant capacity of *Spirulina* sp. Cultured by plastic bag photo – bioreactor. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 17(6), 977-988.

Theo Danesi và cộng sự (2002) đã nghiên cứu nguồn nitrate từ urea làm tăng tốc độ tăng trưởng của tảo *Spirulina*, cũng như giúp cho tảo sản xuất lượng lớn diệp lục tố (Danesi, Rangel-Yagui, De Carvalho, & Sato, 2002). Theo nghiên cứu của Ffried và cộng sự (2003), việc tăng nồng độ nitrate và phosphate trong quá trình nuôi *Spirulina* dẫn đến việc tăng sản xuất diệp lục tố ở tảo. Nghiên cứu cũng chỉ ra trong cùng một nồng độ nitrate, nồng độ phosphate tăng lên 1,3 lần thì lượng diệp lục tố trên sinh khối khô tăng gần 2 lần (Fried, Mackie, & Nothwehr, 2003). Sự tăng trưởng của *Spirulina* và thành phần của sinh khối phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó quan trọng nhất là nguồn dinh dưỡng, nhiệt độ và ánh sáng (Cornet, Dussap, & Dubertret, 1992).

Sinh khối của *Spirulina* cho thấy chứa hàm lượng lớn carotenoid, protein, vitamin (như tiền vitamin A, B1, B2, B6, B12, E và D), khoáng chất, acid béo thiết yếu và các thành phần khác có hoạt tính chất chống oxy. Những chất này có khả năng khử các gốc tự do thông qua tác dụng chống oxy hóa, làm chậm sự lão hóa của tế bào (Miranda et al., 1998), (Shabana, Gabr, Moussa, El-Shaer, & Ismaiel, 2017). Một cơ chế điều hòa đã được phát triển ở tảo để kiểm soát sự hình thành ROS bao gồm các chất chống oxy hóa không enzyme như prolin, phenol; và các chất chống oxy hóa enzyme như superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POD), và glutathione reductase (Shabana et al., 2017).

Vì vậy, nghiên cứu nuôi cấy *Spirulina* bằng hệ thống Plastic bag photo – bioreactor nhằm mục đích khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ phân bón NPK trong môi trường nuôi cấy lên sự tích lũy protein, phenolic và khả năng chống oxy hóa của *Spirulina* sp.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. *Chủng Spirulina* sp. và môi trường nuôi cấy

Spirulina sp. (nguồn gốc từ Nhật Bản) được cung cấp bởi Phòng Công nghệ Tảo, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh. *Spirulina* sp. được nuôi cấy trên môi trường Zarrork pH 9 ±10% (Madkour, Kamil, & Nasr, 2012a, 2012b)

2.2. Các phương pháp phân tích

2.2.1. Xác định hàm lượng protein bằng phương pháp Bradford

Thuốc thử: Cân 10 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 hòa tan trong 50 mL ethanol 95%. Thêm 100 mL H₃PO₄ 85%, thêm nước cất vừa đủ 1000 mL (Bradford, 1976).

Cân 0,005g tảo *Spirulina* sp. khô cho vào eppendorf 1,5 ml, thêm 1ml ethanol tuyệt đối, vortex. Đun cách thủy ở 50-60°C trong 5 phút. Li tâm 10000 rpm trong 3 phút, loại bỏ dịch lấy cặn. Sau đó thêm 200 µl nước cất hấp vô trùng, thêm 1ml thuốc thử, vortex trong 3 phút. Ủ trong vòng 10 phút. Đo quang ở bước sóng 595nm.

Đường chuẩn protein: protein BSA (Bovine serum albumin) chuẩn pha với nồng độ từ 10 đến 120 µg/mL, xác định nồng độ protein trong mẫu *Spirulina* sp. từ phương trình đường chuẩn $y = 0,003x + 0,0124$; $R^2 = 0,9951$.

2.2.2. Xác định hàm lượng phenolic tổng

Cân 0,005g tảo *Spirulina* sp. khô cho vào eppendorf 1,5mL thêm 1mL methanol tuyệt đối, vortex cẩn thận. Li tâm 10.000 rpm trong 3 phút, bỏ cấn thu dịch chiết. Hút 500µl dịch chiết chuyển vào eppendorf 2ml, thêm 500µl thuốc thử Folin-Ciocalteu's phenol, vortex trong 3 phút, thêm 500µl Na₂CO₃ 10%. Ủ tối 1,5 giờ. Đo quang ở bước sóng 750nm (Lim, Cheung, Ooi, & Ang, 2002; Hajimahmoodi et al., 2010; Goiris et al., 2012).

Đường chuẩn phenolic: Acid gallic chuẩn với nồng độ từ 10 đến 200 mg/L và xác định nồng độ phenolic trong mẫu *Spirulina* sp. bằng phương trình: $y = 30,263x - 0,0638$; $R^2 = 0,9948$

2.2.3. Khả năng chống oxy hóa của *Spirulina* sp.

- **Khả năng chống oxy hóa**

Thuốc thử DPPH (1,1-diphenyl-2picryl hidrazyl): pha dung dịch thuốc thử DPPH với nồng độ 0,004% trong. Cân 0,005g tảo *Spirulina* sp. khô cho vào eppendorf 1,5mL, thêm 1mL ethanol tuyệt đối, vortex và ủ 4 giờ ở 4°C. Li tâm 10.000 rpm trong 3 phút. Hút 500µl dịch chiết chuyển vào eppendorf 2, thêm 1mL thuốc thử DPPH, ủ tối 30 phút và đo quang ở bước sóng 517nm.

Mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự như trên nhưng dùng ethanol tuyệt đối thay cho mẫu thử. Khả năng chống oxy hóa (I%) được tính theo công thức (Albayrak, Aksoy, Sagdic, & Hamzaoglu, 2010; Tran, Doan, Louime, Giordano, & Portilla, 2014; Yaltirak, Aslim, Ozturk, & Alli, 2009):

$$I\% = \frac{A_{\text{đối chứng}} - A_{\text{mẫu thử}}}{A_{\text{đối chứng}}} \times 100$$

Trong đó:

I%: Tỷ lệ phần trăm hoạt tính chống oxy hóa (Percentage inhibition)

A_{đối chứng}: độ hấp thu của mẫu trắng tại bước sóng 517 nm

A_{mẫu thử}: độ hấp thu của mẫu thử tại bước sóng 517 nm.

- **Xác định giá trị IC₅₀**

Pha thuốc thử DPPH (1,1-diphenyl-2picryl hidrazyl): pha dung dịch thuốc thử DPPH với nồng độ 0,004% trong methanol (Tran et al., 2014; Yaltirak et al., 2009).

Cân 0,1g tảo *Spirulina* sp. khô cho vào falcon 10mL, thêm 10mL ethanol tuyệt đối, vortex trong 5 phút. Ủ lạnh 1,5 giờ ở 4°C. Li tâm 3000 rpm trong 5 phút. Hút dịch có nồng độ 20µg/mL đến 200µg/mL cho vào eppendorf 2mL. Thêm thể tích ethanol tuyệt đối vừa đủ 500µl.

Mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự như trên nhưng dùng ethanol tuyệt đối thay cho mẫu thử.

Tỷ lệ phần trăm hoạt tính chống oxy hóa được xác định theo công thức sau:

$$I\% = \frac{A_{\text{đối chứng}} - A_{\text{mẫu thử}}}{A_{\text{đối chứng}}} \times 100$$

Trong đó:

I%: Tỷ lệ phần trăm hoạt tính chống oxy hóa

A_{đôi chứng}: độ hấp thụ của mẫu trắng tại bước sóng 517 nm

A_{mẫu thử}: độ hấp thụ của mẫu thử tại bước sóng 517 nm.

Từ tỉ lệ % hoạt tính chống oxy hóa, xây dựng phương trình tương quan tuyến tính: $y = ax + b$. Từ đó xác định giá trị IC₅₀ (μg/mL) (nồng độ mà tại đó khử 50% gốc tự do DPPH) (Agustini, Suzery, Sutrisnanto, & Ma'ruf, 2015).

- *Chỉ số chống oxy hóa AAI (Antioxidant activity index)*

Chỉ số AAI được xác định bằng công thức: $\frac{C_{DPPH} (\mu\text{g/mL})}{IC_{50} (\mu\text{g/mL})}$ (Scherer, & Godoy, 2009)

Trong đó:

C_{DPPH} (μg/mL): Nồng độ cuối của thuốc thử DPPH

IC₅₀ (μg/mL): Nồng độ mà tại đó khử 50% gốc tự do.

2.3. Phương pháp thiết kế thí nghiệm

Spirulina sp. đạt giai đoạn tăng trưởng sau khoảng 7 ngày nuôi cấy trên môi trường Zarrouk, pH = 8,5 – 9,0; với cường độ ánh sáng 30 μmol/phonton/m²/s (chu kỳ sáng: tối = 12: 12 giờ), nhiệt độ 25 ± 2°C được sử dụng để bố trí thí nghiệm.

Spirulina sp. được nuôi trên môi trường Zarrouk bổ sung NPK với 3 nồng độ 0,1g/L; 0,5g/L; 1g/L bằng hệ thống Plastic bag photo – bioreactor với thể tích 5 lít, sục khí liên tục và được chiếu sáng trong điều kiện ánh sáng tự nhiên với cường độ ánh sáng đo được vào các thời điểm: sáng:trưa:chiều khoảng 25:93:52 μmol photon/m²/s (Hình 2.1).

Sau 10 ngày nuôi cấy tiến hành thu sinh khối tảo. Lọc dịch tảo qua túi lọc nylon monofilament với đường kính lỗ lọc là 25 μm. Sau đó rửa tảo nhiều lần với nước cất hấp vô trùng, lấy tảo trải đều trên giấy bạc và sấy khô ở nhiệt độ 60°C. Tảo sau khi sấy khô được bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho phân tích hàm lượng protein, phenolic tổng và khả năng chống oxy hóa.



Hình 2.1. *Spirulina* sp. được nuôi bằng hệ thống Plastic bag photo – bioreactor

2.4. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng Microsoft office Excel 2016 và phân tích one way ANOVA bằng phần mềm SPSS 20.0 với sai số ý nghĩa $p < 0,05$. Tất cả các số liệu trong thí nghiệm được trình bày dưới dạng: Trung bình (Mean) \pm Sai số chuẩn (SE).

3. Kết quả và thảo luận

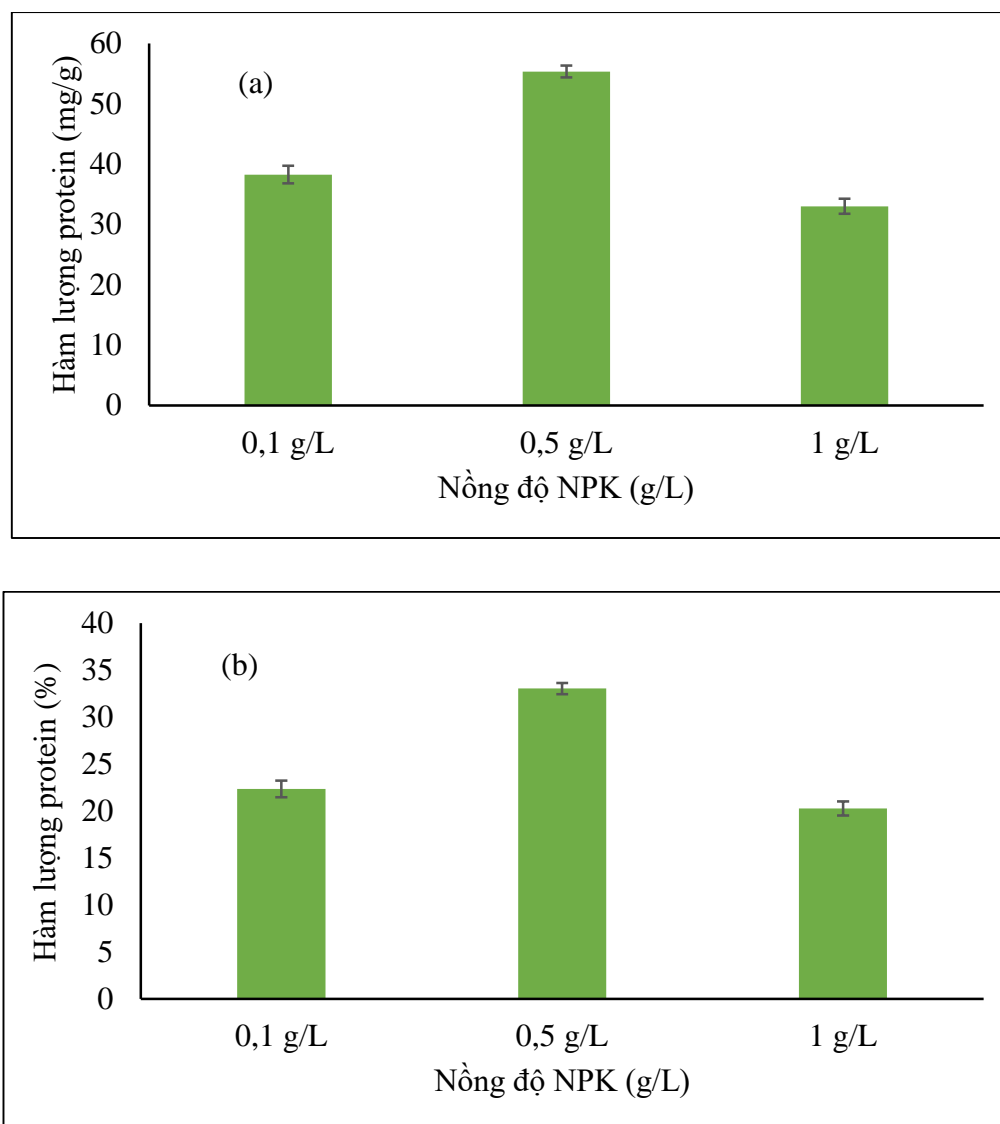
3.1 Hàm lượng protein

Hình 3.1 cho thấy hàm lượng protein của *Spirulina* sp. trong môi trường Zarrouk bổ sung NPK ở 3 nồng độ 0,1g/L; 0,5g/L; 1g/L sau 10 ngày nuôi cấy. *Spirulina* sp. nuôi cấy ở nồng độ NPK 0,5g/L có hàm lượng protein (55,329 mg/g, 33,024%) cao hơn so với nuôi cấy ở nồng độ NPK 0,1g/L và 1g/L (38,240 mg/g và 32,996 mg/g), (22,344% và 20,264%) ($p \leq 0,05$). Kết quả cho thấy môi trường Zarrouk bổ sung NPK 0,5 g/L kích thích sự tăng trưởng và tổng hợp protein, tuy nhiên ở môi trường bổ sung NPK 0,1g/L và 1g/L sự tăng trưởng và tổng hợp protein thấp. Điều này có thể là do ở nồng độ NPK 0,1g/L không đủ cho sự tăng trưởng và tổng hợp protein, còn ở nồng độ cao NPK 1 g/L gây ức sự tăng trưởng và tổng hợp protein của *Spirulina* sp.

Nitơ là một trong những yếu tố chính của môi trường tăng trưởng cho bất kỳ tế bào nào. Sự thiếu hoặc đói nitơ được coi là yếu tố ức chế của các sinh vật. Tăng nồng độ nitơ lên đến 0,04 M làm tăng đáng kể sinh khối, hàm lượng protein, phycocyanin và lipid của tảo *Spirulina*, trong khi hàm lượng carotenoid tổng và β -carotene giảm so với đối chứng. Ngược lại, sinh khối, hàm lượng protein, phycocyanin và lipid giảm trong điều kiện đói nitơ cho thấy nhu cầu nitơ để tổng hợp acid amin để tổng hợp protein và các thành phần tế bào khác như phycocyanin. Sự tích lũy carotenoid khi thiếu nitơ có thể là do sản xuất một lượng lớn acetyl-CoA, đóng vai trò là tiền chất để tổng hợp carotenoid (KAND, 2013).

Dinh dưỡng NPK có ảnh hưởng lớn đến quá trình tổng hợp protein ở *Spirulina*. Theo Kumari và các cộng sự (2014), nồng độ NPK (10:26:26) tối ưu giúp tảo *Spirulina* đạt được sinh khối khô và tốc độ tăng trưởng cực đại là 0,76 g/L. Bên cạnh đó, kali cũng đóng vai trò trong sự phát triển của tế bào tảo. Nồng độ ion K^+ luôn hiện hữu trong tế bào chất của tảo, nó tăng lên khi sinh khối tế bào tăng và khi sinh khối tế bào đến giai đoạn bão hòa thì nồng độ K^+ xuống mức thấp hơn giá trị cơ bản (Kumari, Kumar, Pathak, & Guria, 2014).

Theo Uslu và cộng sự (2011), sự giảm nồng độ nitơ trong môi trường nuôi cấy dẫn đến sự thay đổi đáng kể trong thành phần của tế bào, tăng tích lũy thành phần lipid và giảm hàm lượng protein *S. platensis* trong nuôi cấy mẻ (Uslu, Içik, Koç, & Göksan, 2011).



Hình 3.1. Hàm lượng protein mg/g (a) và % (b) của *Spirulina sp.* trong môi trường Zarrouk bổ sung NPK ở các nồng độ khác nhau

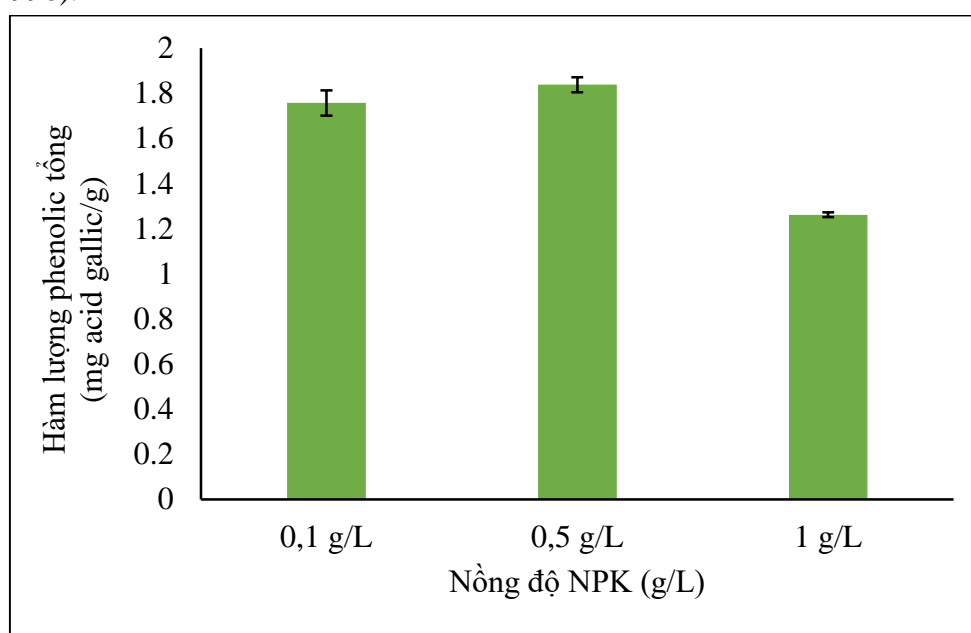
3.2 Hàm lượng phenolic tổng

Hàm lượng phenolic tổng của *Spirulina sp.* ở môi trường bổ sung NPK 0,1 g/L (1,757 mg/g) và 0,5g/L (1,838 mg/g) không có sự khác biệt ($p > 0,05$) và cao hơn so với môi trường bổ sung NPK 1g/L (1,262 mg/g) ($p \leq 0,05$) (Hình 3.2). Kết quả này cho thấy ở nồng độ NPK thấp (0,1 g/L và 0,5 g/L) kích thích *Spirulina sp.* tổng hợp nhiều các hợp chất phenolic hơn so với điều kiện nuôi cấy nồng độ NPK cao (1 g/L). Điều này có thể do sự cạn kiệt nguồn dinh dưỡng nitơ và phosphor trong môi trường nuôi cấy.

Sự tăng khả năng tích lũy hợp chất phenolic và các chất chống oxy hóa khác trong tế bào tảo được xem là sự phản ứng của tế bào với sự đối nitrate trong môi trường. Việc gia tăng khả năng tích lũy polyphenol dưới tình trạng stress là cần thiết nhằm cải thiện áp lực

áp suất thủy tĩnh, để duy trì cân bằng ion trong tình trạng stress thẩm thấu do nitrat và các yếu tố quá mặn gây nên (Mukherjee et al., 2019).

Theo Gershwin và Belay (2007), các hợp chất phenolic được biết là có khả năng chống oxy hóa và tương tác với các gốc tự do, chúng có khả năng ức chế quá trình peroxy bằng khả năng cô lập các gốc tự do (Gershwin, & Belay, 2007). Ngoài ra, Mirada và cộng sự (1998) đã chứng minh hoạt động chống oxy hóa của các phycobiliprotein, phycocyanin và allophycocyanin có trong sinh khối *Spirulina* (Miranda, Cintra, Barros, & Mancini-Filho, 1998).



Hình 3.2. Hàm lượng phenolic trên khối lượng khô của *Spirulina* sp. trong môi trường Zarrouk bổ sung NPK ở các nồng độ khác nhau

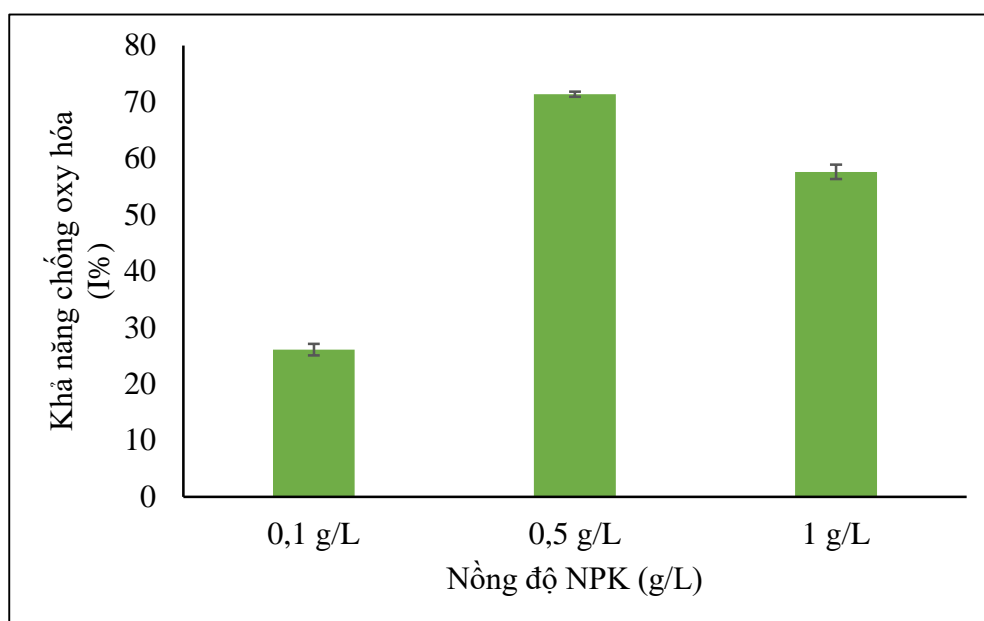
3.3 Khả năng chống oxy hóa của *Spirulina* sp.

Sau 10 ngày nuôi cấy, khả năng chống oxy hóa của *Spirulina* sp. trong môi trường bổ sung NPK 0,1g/L, 0,5g/L và 1g/L lần lượt là 26,102%, 71,372% và 57,603%. Kết quả cho thấy khả năng chống oxy hóa của *Spirulina* sp. trong môi trường bổ sung NPK 0,5g/L cao hơn so với các nồng độ còn lại ($p \leq 0,05$) (Hình 3.3).

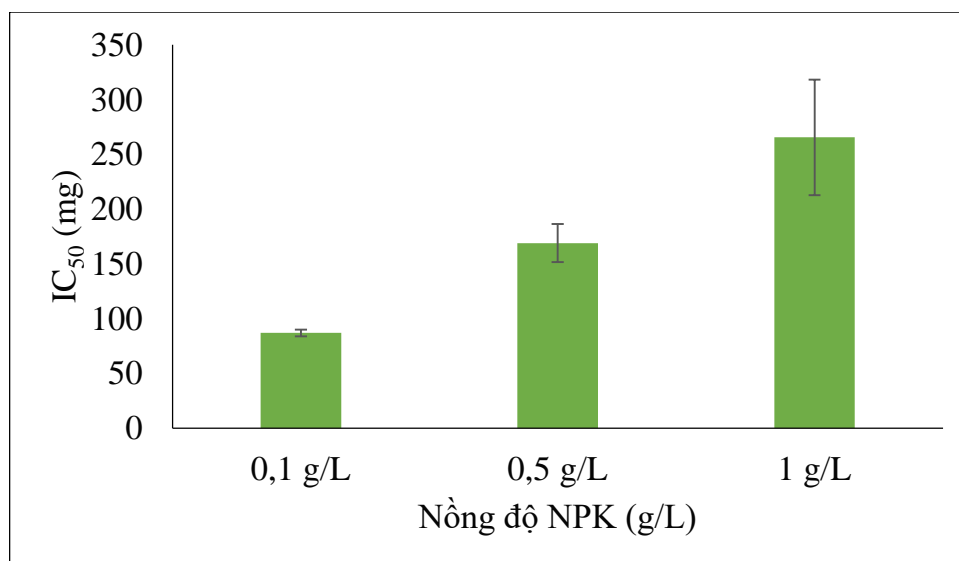
Spirulina sp. nuôi cấy ở môi trường bổ sung NPK 0,1 g/L có giá trị IC_{50} (83,9369 mg) thấp hơn so với các môi trường nuôi cấy còn lại ($p \leq 0,05$) (Hình 3.4). Giá trị IC_{50} là thước đo hiệu quả của một chất trong việc ức chế chức năng sinh học hoặc sinh hóa cụ thể. Theo kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính chống oxy hóa này là do sự hiện diện của phycocyanin có trong *Spirulina*, chiếm khoảng 14% trong tảo *Spirulina* (El Baky, El Baroty, & Ibrahim, 2015).

Chỉ số chống oxy hóa AAI phụ thuộc vào khả năng ức chế 50% gốc tự do của chất chống oxy hóa. Kết quả cho thấy *Spirulina* sp. nuôi cấy trong môi trường bổ sung NPK 0,1g/L có chỉ số chống oxy hóa AAI (0,031) cao hơn so với các nồng độ NPK còn lại ($p \leq 0,05$) (Hình 3.5).

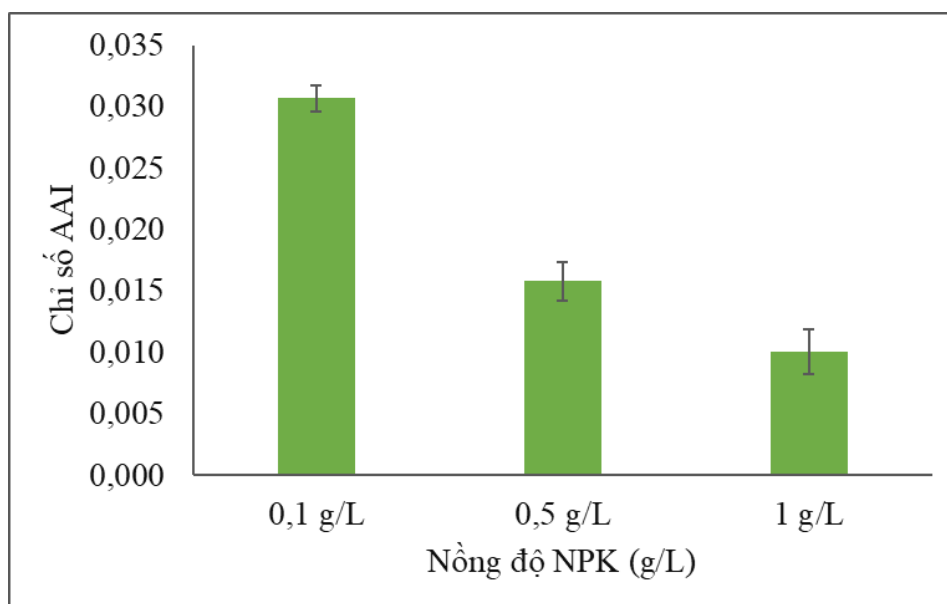
Spirulina chứa các hợp chất có chức năng acid phenolic, tocopherol, phycocyanin, polysaccharide và β -carotene là các hợp chất có khả năng chống oxy hóa, chống viêm và kích thích miễn dịch (Miranda et al., 1998; Finamore, Palmery, Bensehaila, & Peluso, 2017). *Spirulina* chứa phycobiliprotein có khả năng chống oxy hóa và chống tăng sinh tế bào. Một nhóm hoạt chất có tác dụng sinh học quan trọng khác của *Spirulina* là các carotenoid, tổng lượng chất này là 346 mg/100g trọng lượng chất khô. Đặc biệt, tảo *Spirulina* là loại thực vật chứa hàm lượng β - carotene, chiếm 52% trong tổng hàm lượng carotenoid (tiền Vitamin A) cao nhất, gấp 10 lần hàm lượng β -carotene có trong cà rốt. β -carotene trong *Spirulina* là chất chống oxy hóa mạnh, giúp tiêu diệt các gốc tự do (Konicková et al., 2014).



Hình 3.3. Khả năng chống oxy hóa I% của *Spirulina* sp. trong môi trường Zarrouk bổ sung NPK ở các nồng độ khác nhau.



Hình 3.4. Khả năng chống oxy hóa IC₅₀ của *Spirulina* sp. trong môi trường Zarrouk bổ sung NPK ở các nồng độ khác nhau



Hình 3.5. Chỉ số chống oxy hóa AAI của *Spirulina* sp. trong môi trường Zarrouk thay thế NPK ở các nồng độ khác nhau

4. Kết luận

Spirulina sp. nuôi cấy bằng hệ thống Plastic bag photo – bioreactor trong môi trường Zarrouk bổ sung nồng độ NPK ảnh hưởng lên hàm lượng protein, phenolic và khả năng chống oxy hóa của tảo. Sự tích lũy protein, phenolic và khả năng chống oxy hóa của *Spirulina* sp. tại nồng độ NPK 0,5g/L cao hơn môi trường bổ sung nồng độ NPK 0,1g/L và 1g/L. Ngoài ra hàm lượng phenolic của 2 môi trường bổ sung nồng độ NPK 0,1g/L và 0,5g/L có kết quả tương đương và cao hơn môi trường bổ sung nồng độ NPK 1g/L.

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

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Agustini, T. W., Suzery, M., Sutrisnanto, D., & Ma'ruf, W. F. (2015). Comparative Study of Bioactive Substances Extracted from Fresh and Dried Spirulina sp.. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 282-289.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., & Hamzaoglu, E. (2010). Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of Helichrysum (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food chemistry*, 119(1), 114-122. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.003
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72, 248-254.
- Cornet, J. F., Dussap, C. G., & Dubertret, G. (1992). A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium Spirulina platensis in photobioreactors: I. Coupling between light transfer and growth kinetics. *Biotechnol Bioeng*, 40(7), 817-825. doi:10.1002/bit.260400709
- Danesi, E., Rangel-Yagui, C. d. O., De Carvalho, J., & Sato, S. (2002). An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by Spirulina platensis. *Biomass and Bioenergy*, 23(4), 261-269.
- El Baky, H. H. A., El Baroty, G. S., & Ibrahem, E. A. (2015). Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from Spirulina and Spirulina biomass. *Nutricion Hospitalaria*, 32(1), 231-241.
- Finamore, A., Palmery, M., Bensehaila, S., & Peluso, I. (2017). Antioxidant, Immunomodulating, and Microbial-Modulating Activities of the Sustainable and Ecofriendly Spirulina. *Oxid Med Cell Longev*, 3247528. doi:10.1155/2017/3247528
- Fried, S., Mackie, B., & Nothwehr, E. (2003). Nitrate and phosphate levels positively affect the growth of algae species found in Perry Pond. *Tillers*, 4, 21-24.
- Gershwin, M. E., & Belay, A. (2007). *Spirulina in human nutrition and health*: CRC press.
- Goiris, K., Muylaert, K., Fraeye, I., Foubert, I., De Brabanter, J., & De Cooman, L. (2012). Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *Journal of Applied Phycology*, 24(6), 1477-1486.
- Hajimahmoodi, M., Faramarzi, M. A., Mohammadi, N., Soltani, N., Oveisi, M. R., & Nafissi-Varcheh, N. (2010). Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 22(1), 43-50.
- KAND, S. (2013). Effect of different nitrogen concentrations on the biomass and biochemical constituents of Spirulina platensis [Geitler]. *Asian Journal of Bio Science*, 8(2), 245-247.
- Koníčková, R., Vanková, K., Vaníková, J., Vánová, K., Muchová, L., Subhanová, I., . . . Kolár, M. (2014). Anti-cancer effects of blue-green alga Spirulina platensis, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. *Annals of Hepatology*, 13(2), 273-283.

- Kumari, A., Kumar, A., Pathak, A. K., & Guria, C. (2014). Carbon dioxide assisted *Spirulina platensis* cultivation using NPK-10: 26: 26 complex fertilizer in sintered disk chromatographic glass bubble column. *Journal of CO2 Utilization*, 8, 49-59.
- Lim, S., Cheung, P., Ooi, V., & Ang, P. (2002). Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3862-3866.
- Madkour, F. F., Kamil, A. E.-W., & Nasr, H. S. (2012a). Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *The egyptian journal of aquatic research*, 38(1), 51-57.
- Madkour, F. F., Kamil, A. E.-W., & Nasr, H. S. (2012b). Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38, 51-57.
- Miranda, M., Cintra, R., Barros, S. B. d. M., & Mancini-Filho, J. (1998). Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Brazilian Journal of Medical and biological research*, 31(8), 1075-1079.
- Miranda, M. S., Cintra, R. G., Barros, S. B., & Mancini Filho, J. (1998). Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Braz J Med Biol Res*, 31(8), 1075-1079.
- Morsy, O., Sharoba, A. E.-D., & HEM, B. (2014). Production and evaluation of extruded food products by using spirulina algae. *Annals of Agric. Sci., Moshtohor ISSN*, 1110-0419.
- Mukherjee, P., Gorain, P. C., Paul, I., Bose, R., Bhadoria, P., & Pal, R. (2019). Investigation on the effects of nitrate and salinity stress on the antioxidant properties of green algae with special reference to the use of processed biomass as potent fish feed ingredient. *Aquaculture International*, 1-24.
- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food chemistry*, 112(3), 654-658.
- Shabana, E. F., Gabr, M. A., Moussa, H. R., El-Shaer, E. A., & Ismaiel, M. M. S. (2017). Biochemical composition and antioxidant activities of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in response to gamma irradiation. *Food Chem*, 214, 550-555. doi:10.1016/j.foodchem.2016.07.109
- Tran, D., Doan, N., Louime, C., Giordano, M., & Portilla, S. (2014). Growth, antioxidant capacity and total carotene of *Dunaliella salina* DCCBC15 in a low cost enriched natural seawater medium. *World J Microbiol Biotechnol*, 30(1), 317-322. doi:10.1007/s11274-013-1413-2
- Uslu, L., İçik, O., Koç, K., & Göksan, T. (2011). The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of *Spirulina platensis*. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 386-389.
- Yaltirak, T., Aslim, B., Ozturk, S., & Alli, H. (2009). Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr. *Food Chem Toxicol*, 47(8), 2052-2056. doi:10.1016/j.fct.2009.05.029

**EFFECTS OF NPK CONCENTRATION ON PROTEIN CONTENT
AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF SPIRULINA SP. CULTURED
BY PLASTIC BAG PHOTO – BIOREACTOR**

*Vo Hong Trung**, *Nguyen Mong Thao Uyen,*

Pham Luong Anh Tuan, Do Anh Thu, Nguyen Thi Hong Phuc

Department of Biochemistry and Toxicology, Nguyen Tat Thanh University, HCM City, Vietnam

**Corresponding author: Vo Hong Trung – Email: vohongtrung2503@gmail.com*

Received: December 02, 2019; Revised: March 11, 2020; Accepted: June 05, 2020

ABSTRACT

Spirulina sp. is blue-green algae with spiral-shape. The protein content varies between 60 and 70% of its dry weight. It is usually used as a functional food to prevent aging and cancer. Nitrogen and phosphor as nutrients in a culture medium strongly influence the protein content and the antioxidant ability of Spirulina sp. This paper reports a study on the effect of three levels of concentration of NPK fertilizer ($0.1g.L^{-1}$; $0.5g.L^{-1}$; $1g.L^{-1}$) on protein content, total phenolic content, and antioxidant capacity ($I\%$, IC_{50} and AAI) of Spirulina. The results showed that with $0.5g.L^{-1}$ NPK added Zarrouk medium protein, phenolic content and antioxidant capacity were higher than $0.1 g.L^{-1}$ and $1 g.L^{-1}$ concentrations of NPK. Besides, it was found that the antioxidant ability (IC_{50} and AAI values) of Spirulina sp. in a Zarrouk medium containing $0.1g.L^{-1}$ concentration of NPK was higher than the medium containing $0.5g.L^{-1}$ and $1g.L^{-1}$ concentrations of NPK.

Keywords: *Spirulina sp.*; Zarrouk medium; protein content; phenolic; antioxidant capacity