

Bài báo nghiên cứu

**PHÂN BÓN NPK TRONG NUÔI CẤY TĂNG TRƯỞNG,
TÍCH LŨY SẮC TỐ VÀ BETA-CAROTEN
Ở VI TẢO *DUNALIELLA SALINA***

Võ Hồng Trung*, Nguyễn Thị Hồng Phúc

Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Võ Hồng Trung – Email: vohongtrung2503@gmail.com

Ngày nhận bài: 18-8-2022; ngày nhận bài sửa: 07-11-2022; ngày duyệt đăng: 18-11-2022

TÓM TẮT

Vi tảo *Dunaliella salina* được sử dụng như một nguồn sắc tố tự nhiên quan trọng, đặc biệt là carotenoid. Sự tăng trưởng và tích lũy sắc tố như diệp lục tố, carotenoid, β -caroten của *D. salina* ảnh hưởng bởi thành phần dinh dưỡng trong môi trường và điều kiện nuôi cấy. Phân bón NPK (Đầu trâu MK 501) là nguồn dinh dưỡng giá thành thấp được sử dụng khảo sát sự tăng trưởng, sắc tố và tích lũy β -caroten ở bốn chủng *D. salina* N, O, J, CCAP 19/18 nuôi cấy trên môi trường MD4 1.5M NaCl ở các nồng độ 0,05, 0,1 và 0,15 g/L. Kết quả cho thấy, *D. salina* đạt mật độ tế bào, tốc độ tăng trưởng và hàm lượng diệp lục tố cao ở môi trường bổ sung NPK 0,15 g/L so với các nồng độ thấp ($p < 0,05$). Tuy nhiên, sự tích lũy carotenoid và β -caroten cao ở môi trường bổ sung NPK nồng độ thấp 0,05 g/L ($p < 0,05$). Nghiên cứu này đã chứng minh rằng *Dunaliella salina* tăng trưởng tối ưu trong môi trường bổ sung NPK 0,15 g/L và tích lũy carotenoid và β -caroten ở nồng độ thấp 0,05 g/L.

Từ khóa: *Dunaliella salina*; phân bón NPK; sắc tố và β -caroten

1. Giới thiệu

Vi tảo lục đơn bào *Dunaliella salina* tích lũy một lượng lớn β -caroten (hơn 14% trọng lượng khô); β -caroten và lutein là những carotenoid chính của *D. salina* lần lượt chiếm 90% và 5% carotenoid tổng. Nitơ, lưu huỳnh và phosphor là những chất dinh dưỡng đa lượng cần thiết cho cây trồng. Hàm lượng diệp lục tố a và b thay đổi khi thiếu hụt chất dinh dưỡng, ở các điều kiện -N, -N-S, -N-P, -N-S và -N-P-S, hàm lượng diệp lục tố giảm trong 3 ngày đầu và tăng lên ở vài ngày tiếp sau. Hàm lượng carotenoid tổng và β -caroten của *D. salina* tăng trong điều kiện thiếu dinh dưỡng (Lv et al., 2016). Tiềm năng của phân bón vô cơ như một nguồn dinh dưỡng thay thế cho việc nuôi cấy vi tảo *Scenedesmus* sp. IMMTCC-6 đã được nghiên cứu bởi Nayak và cộng sự (2016). Vi tảo được nuôi cấy trong môi trường chứa 0,1 g/L urê và 1,0 g/L phân bón NPK (Nitơ: Phosphor: Kali) cho thấy kết quả đầy hứa hẹn về

Cite this article as: Vo Hong Trung, & Nguyen Thi Hong Phuc (2022). NPK fertilizer for culturing the growth, pigments, and beta-carotene accumulation of *Dunaliella salina* microalgae. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 19(11), 1830-1841.

năng suất sinh khối. Trong quá trình nuôi cấy quy mô photobioreactor, tốc độ tăng trưởng đặc hiệu (μ /ngày), năng suất sinh khối (g/L) và tổng năng suất sinh khối (mg/L/ngày) đạt được là 0,265, 1,19 và 66,1 (Nayak, Thirunavoukkarasu, & Mohanty, 2016).

Vi tảo lục *Desmodesmus subspicatus* MB. 23 được nuôi cấy ở các nồng độ phân bón NPK (19: 19: 19) khác nhau, cho thấy mật độ tế bào tảo tối đa (5290×10^4 tế bào/ml), năng suất và năng suất sinh khối (2,72 g/L, 60,87 mg/L/ngày) đạt được trong môi trường phân bón NPK 2 g/L, trong khi môi trường 1g/L thể hiện tăng sản xuất diệp lục tố (diệp lục tố a, 4,7 mg/g d wt, diệp lục tố b, 1,7 mg/g d wt). Sự tích lũy carotenoid cao (4,6 mg/g d wt) và tích lũy lipid (29,5%) trong môi trường phân bón 0,5 g/L và methyl ester của acid béo (Fatty acid methyl ester) nhiều acid béo C16 và C18 (Abdulsamad, Varghese, & Thajudeen, 2021). Theo Lathifah và cs. (2021), vi tảo *Navicula* sp. và *Nannochloropsis* sp. có thể phát triển mạnh trong môi trường F/2-NPK dưới ánh sáng liên tục, trong khi môi trường chỉ NPK không cho thấy bất kỳ sự gia tăng đáng kể nào về tăng trưởng và tích lũy sinh khối đối với cả hai chủng so với mật độ tế bào ban đầu (Lathifah et al., 2021).

Theo Sarpal và cộng sự (2019), phân bón NPK (Nitơ, Phosphor, Kali) chứa các chất dinh dưỡng có giá thành thấp được sử dụng để chuẩn bị môi trường nuôi cấy vi tảo *Tetraselmis* sp. Môi trường với công thức NPK chỉ làm giảm nhẹ năng suất sinh khối, lipid tổng và carotenoid. Việc sử dụng phân bón NPK dẫn đến tăng PUFA và giảm acid béo bão hòa được sử dụng để sản xuất dầu diesel sinh học (Sarpal et al., 2019). Nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng sử dụng phân bón NPK lên tăng trưởng và tích lũy β -caroten ở các chủng *D.salina* nuôi cấy ở môi trường MD4 1.5M NaCl. Kết quả thu được làm tiền đề để sản xuất sinh khối *D. salina* tích lũy lượng lớn lipid và β -caroten trong các môi trường giá thành thấp ở Việt Nam trên quy mô pilot.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dunaliella salina CCAP 19/18 được cung cấp bởi Juergen E. W. Polle – Phòng Sinh học, Trường Đại học Brooklyn, New York, Hoa Kỳ.

Dunaliella salina J, *Dunaliella salina* N phân lập ở Khánh Hòa, *Dunaliella salina* O phân lập ở Vĩnh Hảo, Bình Thuận (Tran et al., 2014).

Môi trường nuôi cấy vi tảo là MD4 1,5M NaCl gồm các thành phần dinh dưỡng: NPK 0,1 g/L, MgSO₄ 1,86 g/L, EDTA 8,76 mg/L, FeCl₃ 0,49 mg/L, MnCl₂ 1,89 mg/L, NaHCO₃ 3,15 g/L, pH = 7,5 (Tran et al., 2013).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định mật độ tế bào

Mật độ tế bào tảo được đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu. Lấy 200 μ L mẫu tảo được lấy và cố định bằng lugol. Số lượng tế bào được đếm bằng buồng đếm hồng cầu có độ sâu 0,1 mm và diện tích ô vuông 1 mm². Mật độ tế bào trong 1 mL được tính theo công thức (Andersen, 2005):

$$D = \left(\frac{n}{i} \times 10^4 \times \text{hệ số pha loãng} \right)$$

trong đó, n: tổng số tế bào đếm được

i: diện tích đếm

D: mật độ tế bào (tế bào/mL)

2.2.2. Xác định tốc độ tăng trưởng đặc hiệu

Mật độ tế bào tảo ở hai thời điểm khác nhau trong giai đoạn tăng trưởng của mẫu được dùng để tính tốc độ tăng trưởng đặc hiệu (μ : tế bào/ngày) trong khoảng thời gian đó theo công thức (Levasseur, Thompson, & Harrison, 1993):

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{N_2}{N_1}\right)}{t_2 - t_1}$$

trong đó: N_1, N_2 : mật độ tế bào tại ngày 1 và ngày 2;

t_1, t_2 : thời điểm ngày 1 và ngày 2

2.2.3. Phân tích hàm lượng sắc tố

Lấy 1 mL dịch nuôi cấy, li tâm ở 13.000 vòng trong 5 phút, phần tảo bên dưới được li trích với 3 mL ethanol: hexane (2:1 v/v), trộn đều. Thêm vào 4 mL hexane, trộn đều. Hỗn hợp li trích này được li tâm 3000 vòng trong 5 phút. Lớp sắc tố có hexane bên trên được đo ở các bước sóng 450 nm, 662 nm và 645 nm.

Hàm lượng carotenoid tổng được xác định theo công thức (Shaish, Ben-Amotz, & Avron, 1992), (Prieto, Canavate & García-González, 2011):

$$\text{Carotenoid } (\mu\text{g/mL}) = A_{450} \times 25,2$$

Hàm lượng diệp lục tố a và b được xác định theo (Lichtenthaler & Wellburn, 1983)

$$\text{Diệp lục tố a } (\mu\text{g/mL}) = 11,75 (A_{662}) - 2,35 (A_{645})$$

$$\text{Diệp lục tố b } (\mu\text{g/mL}) = 18,61 (A_{645}) - 3,96 (A_{662})$$

Diệp lục tố tổng ($\mu\text{g/mL}$) = diệp lục tố a + diệp lục tố b

trong đó: A_{645} : độ hấp thụ ở bước sóng 645 nm

A_{662} : độ hấp thụ ở bước sóng 662 nm

2.2.4. Phân tích hàm lượng β -caroten

Mẫu *D. salina* được thu nhận bằng phương pháp li tâm (6000 vòng/phút) và lưu giữ ở -20 °C cho quá trình phân tích

Điều kiện sắc kí (Rodriguez-Amaya, 2001):

- Cột sắc kí: Luna® C18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m) Phenomenex

- Đầu dò PDA: bước sóng 476 nm

- Tốc độ dòng: 0,7 ml/phút

- Thể tích tiêm: 30 μ l

Pha động: Dicloromethan: acetonitril: methanol (20: 45: 35)

Dung dịch chuẩn: Hoà tan 10,0 mg beta caroten chuẩn trong 50,0 ml *n-hexan* (TT) và pha loãng thành 20,0 ml bằng pha động. Lọc qua màng lọc 0,45µm.

Dung dịch thử: Hoà tan một lượng chế phẩm trong 20,0 ml *n-hexan* (TT) và pha loãng thành 20,0 ml bằng pha động. Lọc qua màng lọc 0,45µm.

Hàm lượng beta caroten (µg/g) được tính theo công thức:

$$HL (\mu g / g) = \frac{S_t}{S_c} \times m_c \times C\% \times \frac{d_t}{m_t}$$

trong đó:

S_t, S_c : Diện tích pic beta caroten trên sắc kí đồ dung dịch thử và dung dịch chuẩn

C (%): Hàm lượng phần trăm beta caroten chuẩn

d_t : Độ pha loãng của dung dịch thử

m_c : Khối lượng beta caroten chuẩn (mg)

m_t : Khối lượng chế phẩm (g)

2.2. Thiết kế thí nghiệm

Các chủng vi tảo *D.salina* được nuôi cấy và duy trì trong môi trường 1,5M (MD4).

Thí nghiệm được tiến hành: Ba chủng *D. salina* được nuôi cấy trong erlen 500ml với 450 ml môi trường MD4 (1,5M NaCl) ở các nồng độ phân bón NPK (Đầu trâu MK 501) 0,05 g/L; 0,10 g/L; 0,15 g/L. Điều kiện nuôi cấy: sục khí liên tục, cường độ ánh sáng 150 µmol photon/m²/s (với chu kì sáng: tối, 12 giờ: 12 giờ) sử dụng đèn huỳnh quang trắng, nhiệt độ 25 ± 2°C.

Xác định mật độ tế bào sau mỗi 3 ngày nuôi cấy

Sau mỗi 3 ngày nuôi cấy, tiến hành phân tích các nghiệm thức.

2.3. Xử lý số liệu

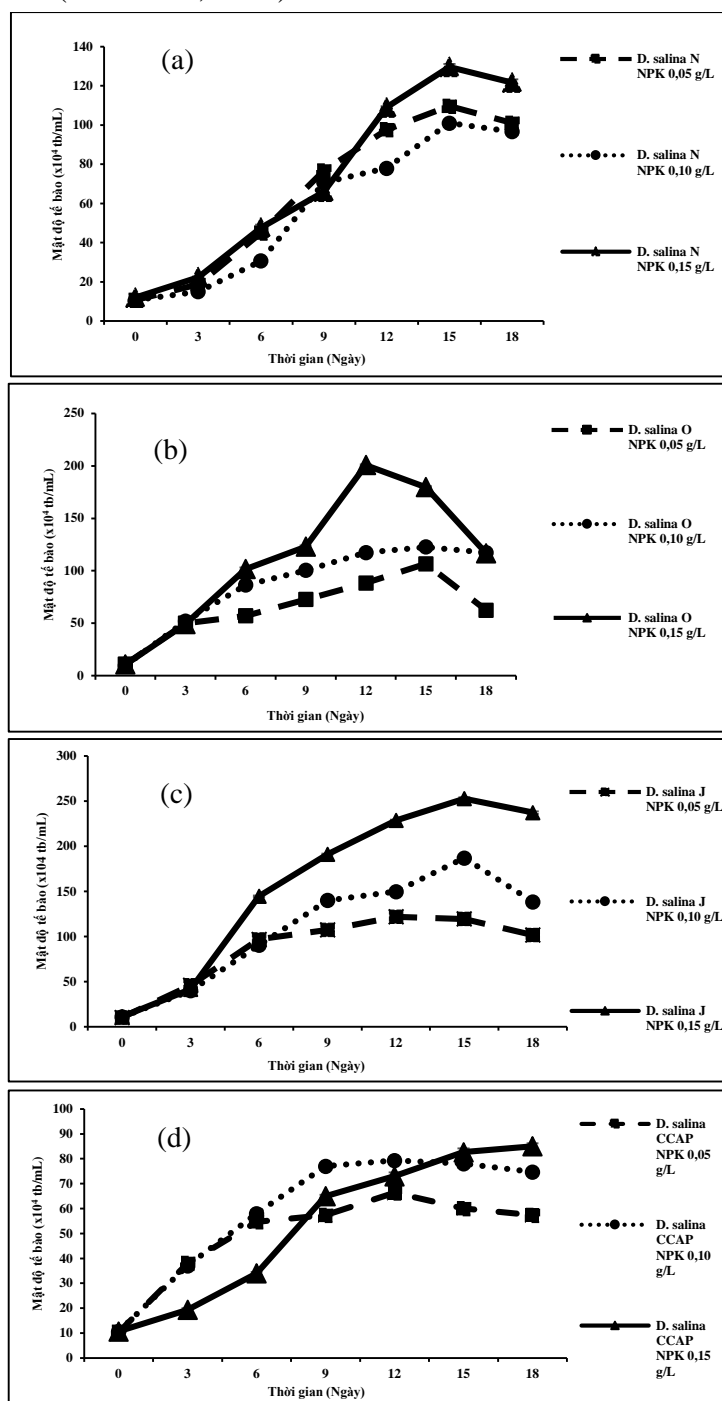
Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng Microsoft office Excel 2019 và phân tích one way ANOVA bằng phần mềm SPSS 20.0 với sai số ý nghĩa p ≤ 0,05.

3. Kết quả và thảo luận

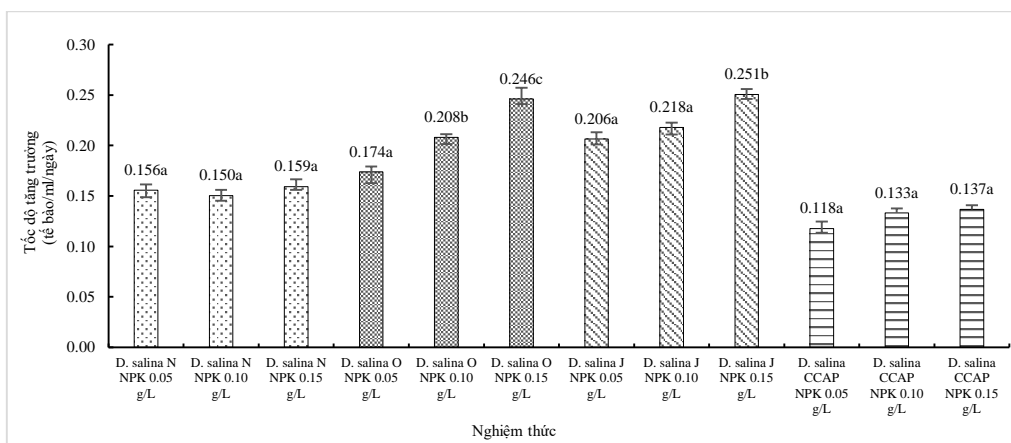
3.1. Mật độ tế bào và tốc độ tăng trưởng đặc hiệu

Môi trường MD4 bổ sung NPK từ 0,05 đến 0,15 g/L mật độ tế bào của 4 chủng *D. salina* đạt cực đại sau 12 ngày nuôi cấy. Mật độ tế bào của 4 chủng *D. salina* đạt giá trị cao ở nồng độ NPK 0,15 g/L như 129 x 10⁴ tế bào/ml ngày 15 của *D. salina* N, 237 x 10⁴ tế bào/ml ngày 18 của *D. salina* O (p < 0,05) (Hình 1). Tốc độ tăng trưởng đặc hiệu ở các môi trường MD4 bổ sung NPK 0,15 g/L đạt giá trị cao và đặc biệt ở chủng *D. salina* O, J cao nhất, tương ứng 0,246 và 0,251 tế bào/ml/ngày (p < 0,05) (Hình 2). Nồng độ phân bón NPK (0,15 g/L) giúp *D. salina* duy trì tăng trưởng và đạt mật độ tế bào cao. Nguồn dinh dưỡng đa lượng ảnh hưởng lên sự tăng trưởng và tích lũy các hợp chất hữu cơ bao gồm carotenoid, lipid và protein trên nhiều loại vi tảo như *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Nanochloropsis*, *Scenedesmus* và *Picochlorum*. Nitơ là yếu tố quan trọng giới hạn sự tăng trưởng và tích lũy lipid của loài vi sinh vật. Tốc độ tăng trưởng của *Haematococcus pluvialis*

TMU1 tăng tới 86% cũng như mật độ tế bào thu được cao nhất với môi trường BBM biến đổi chứa phosphat cao gấp 3 lần (Nahidian, Ghanati, Shahbazi, & Soltani, 2018). Ngoài những yếu tố này trong thành phần phân bón NPK (Đầu trâu MK 501) có khoáng Kali, phytohormon GA3, α NAA và các tạp khác cũng đóng vai trò quan trọng kích thích sự tăng trưởng của *D. salina* (Tran et al., 2013).



Hình 1. Mật độ tế bào của các chủng *D. salina* N (a), *D. salina* O (b), *D. salina* J (c), *D. salina* CCAP 19/18 (d) dưới các nồng độ NPK khác nhau

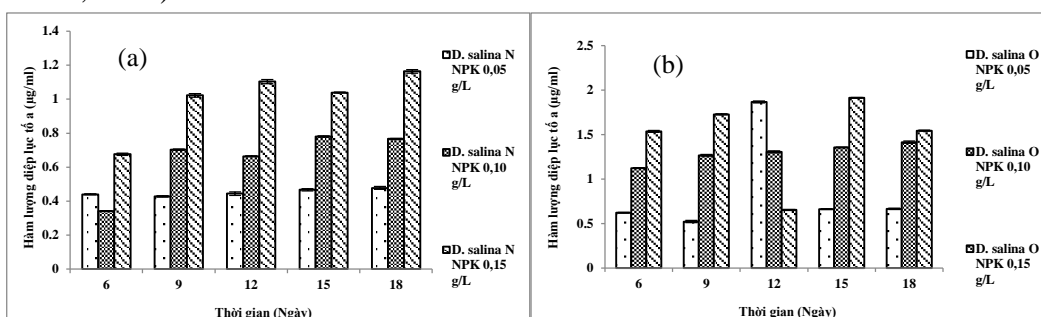


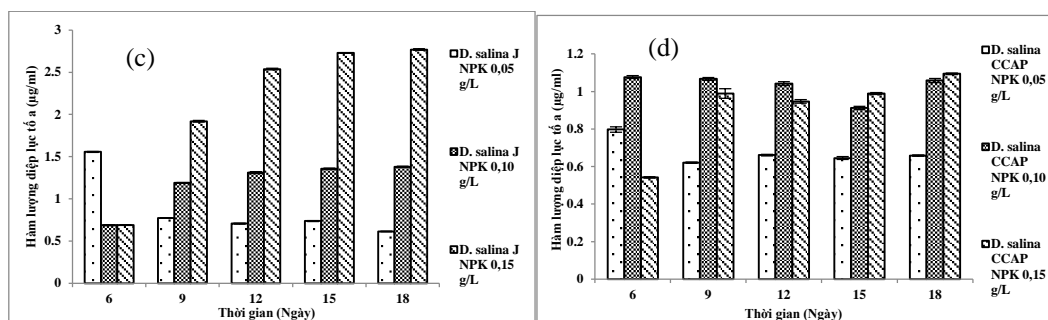
Hình 2. Tốc độ tăng trưởng đặc hiệu của các chủng *D. salina* dưới các nồng độ NPK khác nhau

3.2. Hàm lượng diệp lục tố

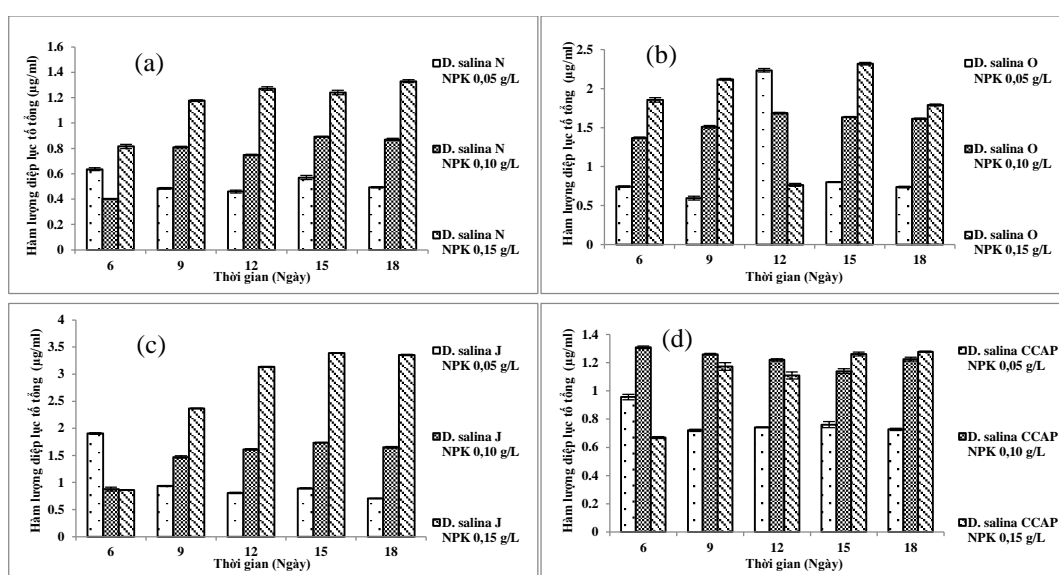
Hàm lượng diệp lục tố a và diệp lục tố tổng của bốn chủng *D. salina* ở môi trường MD4 1,5 M NaCl bổ sung phân bón NPK tăng trong quá trình nuôi cấy. Trong đó, ở môi trường MD4 bổ sung NPK 0,15 g/L đạt giá trị cao nhất ở hầu hết các chủng ($p < 0,05$) (Hình 3, 4). Diệp lục tố là sắc tố quang hợp quan trọng ở thực vật phù du, hàm lượng diệp lục tố bị suy giảm trong điều kiện giới hạn dinh dưỡng do đó gây ra sự giảm quang hợp và tích lũy sinh khối. Như vậy, ở nồng độ NPK 0,15 g/L giúp tổng hợp diệp lục tố và tốc độ tăng trưởng của các chủng *D. salina* cao hơn so với ở nồng độ NPK thấp hơn.

Hạn chế về chất dinh dưỡng cũng ảnh hưởng lớn đến cấu trúc tế bào và chất chuyển hóa. Sau sự phân hủy diệp lục tố và protein, quá trình phân chia tế bào bị giảm và tạo ra các tế bào hình cầu, dẫn đến giảm khối lượng khô. Sự tích lũy trọng lượng khô có liên quan chặt chẽ với nồng độ của nitơ và phosphor trong môi trường. Hàm lượng nitơ giảm dẫn đến sự tắc nghẽn hoặc thay đổi quá trình quang hợp do sự phân hủy chất diệp lục. Hiệu ứng này được tăng cường rõ rệt bằng cách giảm nồng độ phosphor, do đó ảnh hưởng đến việc lưu trữ năng lượng. Đói nitơ gây ra sự suy giảm tăng trưởng, giảm trọng lượng khô và sản xuất dầu (Almutairi, 2020).





Hình 3. Hàm lượng diệp lục tố a trên đơn vị thể tích của các chủng *D. salina* N (a), *D. salina* O (b), *D. salina* J (c), *D. salina* CCAP 19/18 (d) dưới các nồng độ NPK khác nhau



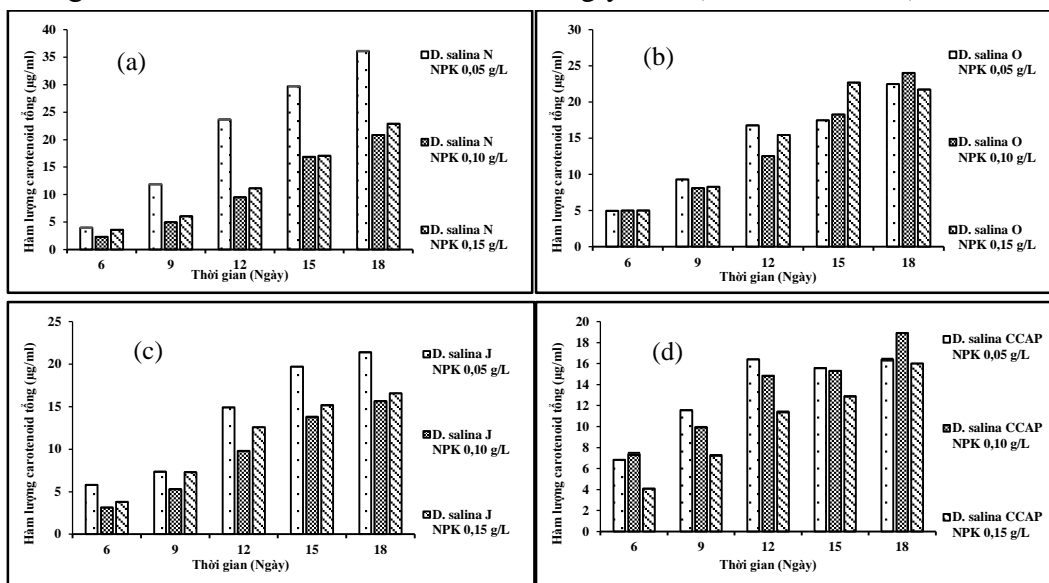
Hình 4. Hàm lượng diệp lục tố a trên tế bào của các chủng *D. salina* N (a), *D. salina* O (b), *D. salina* J (c), *D. salina* CCAP 19/18 (d) dưới các nồng độ NPK khác nhau

3.3. Hàm lượng carotenoid

Ở môi trường MD4 1,5 M bổ sung NPK thấp 0,05 g/L, *D. salina* đạt hàm lượng carotenoid cao hơn so với môi trường bổ sung NPK nồng độ cao 0,1 và 0,15 g/L ($p < 0,05$) (Hình 5, 6). Điều này cho thấy trong điều kiện dinh dưỡng NPK thấp gây ra sự cạn kiệt dinh dưỡng nhanh làm tăng tổng hợp carotenoid. Nitơ và phosphor là hai chất dinh dưỡng đa lượng quan trọng cho sự phát triển và trao đổi chất của tế bào tảo. Nitơ là một nguyên tố cơ bản cấu trúc protein và acid nucleic. Phosphat rất cần thiết các đại phân tử cho tất cả các tế bào sống và rất quan trọng đối với xây dựng xương sống DNA và RNA. Phosphor là cũng là thành phần chính của phospholipid. Ở vi tảo sự sản xuất carotenoid liên quan đến cơ chế đáp ứng tổn thương oxy hóa của tế bào; trong điều kiện ức chế ánh sáng cao và cạn kiệt nitrogen hoặc kết hợp cả hai điều kiện có thể làm tăng tổn thương oxy hóa gây ra tăng tổng hợp carotenoid *D. bardawil* (Prieto et al., 2011).

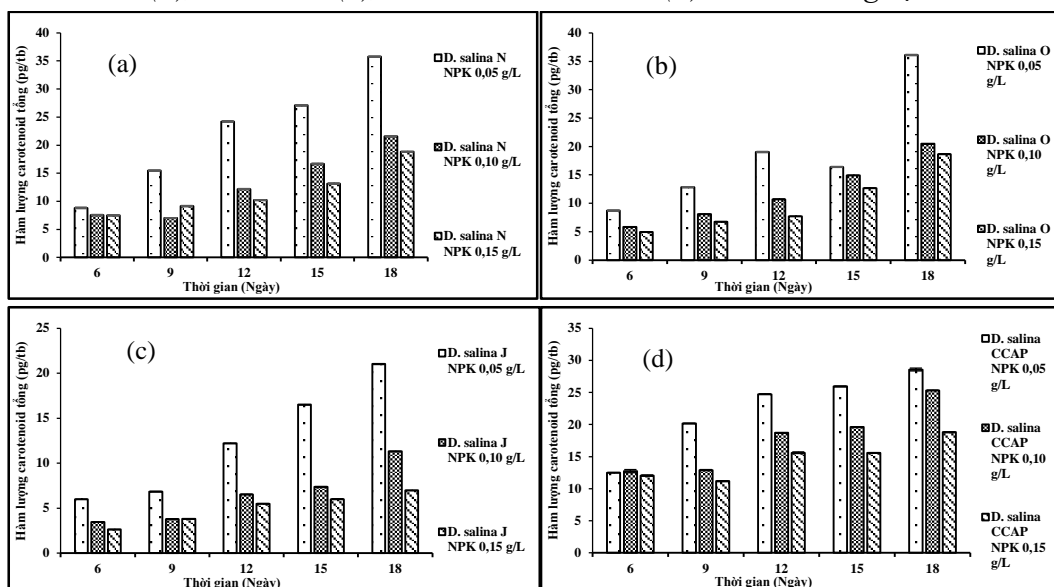
Sự suy giảm và mất cân bằng chất dinh dưỡng đã được hiểu khá rõ, nhưng ảnh hưởng

của chúng khác nhau giữa các loài tảo, với các mô hình tăng trưởng khác nhau là do các yếu tố sinh tổng hợp carotenoid. Sinh tổng hợp carotenoid, được định nghĩa là sự tích tụ lượng lớn của caroten và carotenoid liên quan đến sự tích tụ của dầu tảo, được tăng cường bởi sự suy giảm nitơ và phosphor và bởi mối quan hệ của chúng. Trong những điều kiện như vậy, quá trình trao đổi chất của tảo có xu hướng chuyển sang sản xuất dầu và caroten được tiến hành suốt vòng đời của chúng hoặc tăng cường quá trình quang hợp bằng cách tích tụ các hợp chất giàu carbon để tạo thành dầu, acid và triglycerid (Almutairi, 2020).



Hình 5. Hàm lượng carotenoid trên đơn vị thể tích của các chủng *D. salina* N

a), *D. salina* O (b), *D. salina* J (c), *D. salina* CCAP 19/18 (d) dưới các nồng độ NPK khác nhau

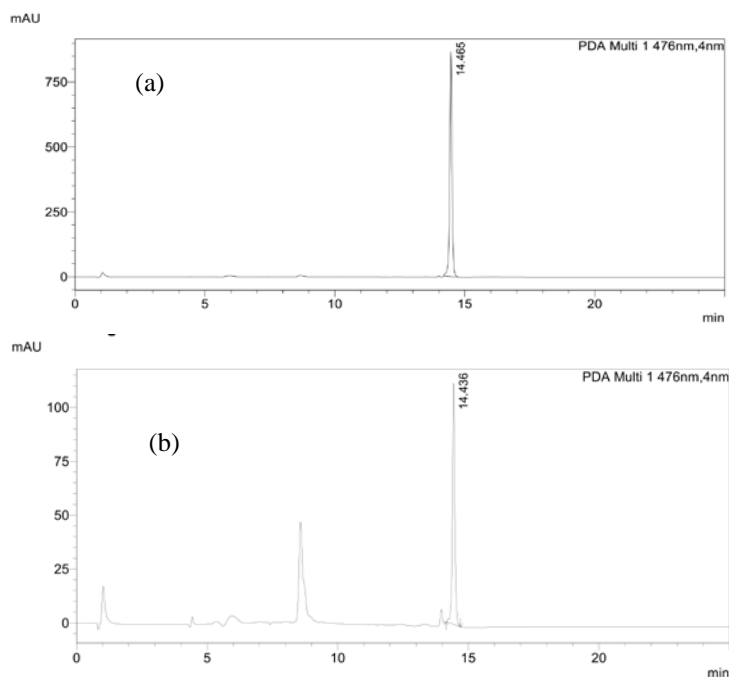


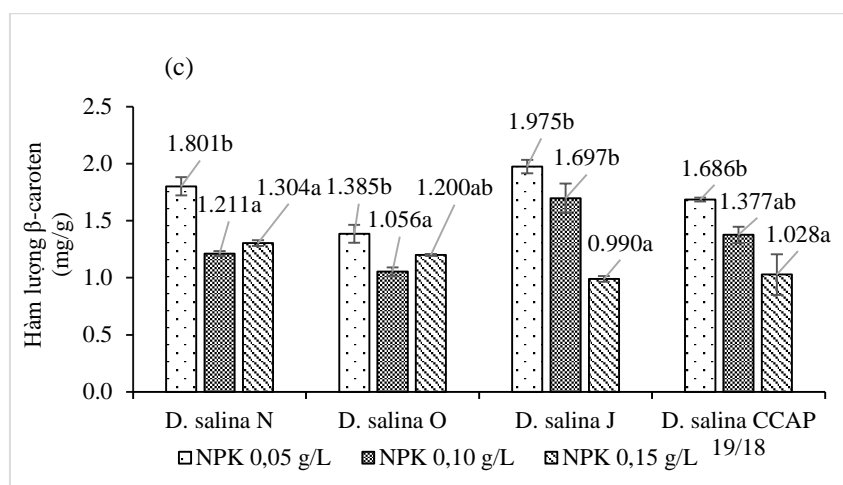
Hình 6. Hàm lượng carotenoid trên tế bào của các chủng *D. salina* N (a), *D. salina* O (b), *D. salina* J (c), *D. salina* CCAP 19/18 (d) dưới các nồng độ NPK khác nhau

3.4. Hàm lượng β -caroten

Sinh khối tế bào của 4 chủng *D. salina* được thu hoạch và phân tích hàm lượng β -caroten ở ngày thứ 18 của quá trình nuôi cấy (Hình 7a,b). Kết quả cho thấy, hàm lượng β -caroten đạt giá trị cao ở môi trường MD4 bổ sung nồng độ phân bón NPK thấp 0,05 g/L (*D. salina* N, O) và 0,10 g/L (*D. salina* J, CCAP 19/18) ($p < 0,05$) (Hình 7c). Điều này có thể do sự cạn kiệt nguồn dinh dưỡng nitơ và phosphor trong môi trường sớm, gây ra stress dinh dưỡng dẫn đến tăng sự tích lũy carotenoid, đặc biệt là β -caroten ở các tế bào *D. salina*. Theo Lamers và cộng sự (2012), khi môi trường cạn kiệt nitơ, β -caroten bắt đầu tích lũy đến hàm lượng nội bào cuối cùng là 14 mg/LCV (tức là 2,7% AFDW). Việc sản xuất β -caroten này chiếm 6% sự gia tăng mật độ tế bào, cho thấy rằng các thành phần sinh hóa khác cũng được tích lũy (Lamers et al., 2012).

Sự tích lũy carotenoid hoặc caroten phụ thuộc vào việc tối ưu hóa các điều kiện dinh dưỡng và sinh lí. Các điều kiện ức chế cũng tăng cường tích cực quá trình sinh tổng hợp carotenoid hoặc caroten trong *Dunaliella*. Các điều kiện ức chế phi sinh học gây tích tụ một mức ROS cao có thể làm hỏng bộ máy quang hợp bình thường, dẫn đến sản xuất caroten cao xảy ra. Ngoài ra, điều kiện ức chế dinh dưỡng có thể kích hoạt hoặc biểu hiện quá mức một số gen tổng hợp carotenoid như phytoene synthase, phytoene desaturase, 4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase và lycopene β -cyclase (Goswami, Agrawal, & Verma, 2021).





Hình 7. HPLC β -caroten chuẩn (a), *D. salina* N ở môi trường NPK 0,05 g/L (b) và hàm lượng β -caroten của các chủng *D. salina* (c) dưới các nồng độ NPK khác nhau

4. Kết luận

Phân bón NPK là nguồn dinh dưỡng giá thành thấp có ý nghĩa rất quan trọng trong nuôi cấy thu nhận sinh khối vi tảo *D. salina* quy mô pilot ở Việt Nam. Môi trường MD4 1.5M NaCl bổ sung phân bón NPK 0,15 g/L kích thích tế bào *D. salina* tăng trưởng mạnh và tổng hợp diệp lục tố đạt hàm lượng cao. Tuy nhiên, sự tích lũy carotenoid và β -caroten cao ở tế bào *D. salina* xảy ra khi nuôi cấy trong môi trường MD4 1.5M NaCl bổ sung phân bón NPK nồng độ thấp 0,05 g/L.

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

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdulsamad, J. K., Varghese, S. A., & Thajudeen, J. (2021). Cost effective cultivation and biomass production of green microalga *Desmodesmus subspicatus* MB. 23 in NPK fertilizer medium. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 599-604.
- Almutairi, A. W. (2020). Effects of nitrogen and phosphorus limitations on fatty acid methyl esters and fuel properties of *Dunaliella salina*. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(26), 32296-32303.
- Andersen, R. A. (2005). *Algal culturing techniques*: Elsevier.
- Goswami, R. K., Agrawal, K., & Verma, P. (2021). Microalgae *Dunaliella* as biofuel feedstock and β -carotene production: An influential step towards environmental sustainability. *Energy Conversion and Management*: X, 100154.
- Lamers, P. P., Janssen, M., De Vos, R. C., Bino, R. J., & Wijffels, R. H. (2012). Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga. *J Biotechnol*, 162(1), 21-27. doi:10.1016/j.jbiotec.2012.04.018

- Lathifah, W., Fikri, R., Hidayati, N., Anggraini, I., Putri, N., Prabowo, B., & Marno, S. (2021). *Effect of commercial NPK fertilizer on growth and biomass of Navicula sp. and Nannochloropsis sp.* Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Levasseur, M., Thompson, P. A., & Harrison, P. J. (1993). Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources 1. *Journal of Phycology*, 29(5), 587-595.
- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. In: Portland Press Ltd.
- Lv, H., Cui, X., Wahid, F., Xia, F., Zhong, C., & Jia, S. (2016). Analysis of the Physiological and Molecular Responses of *Dunaliella salina* to Macronutrient Deprivation. *PLoS One*, 11(3), e0152226. doi:10.1371/journal.pone.0152226
- Nahidian, B., Ghanati, F., Shahbazi, M., & Soltani, N. (2018). Effect of nutrients on the growth and physiological features of newly isolated *Haematococcus pluvialis* TMU1. *Bioresource technology*, 255, 229-237.
- Nayak, M., Thirunavoukkarasu, M., & Mohanty, R. C. (2016). Cultivation of freshwater microalga *Scenedesmus* sp. using a low-cost inorganic fertilizer for enhanced biomass and lipid yield. *The Journal of general and applied microbiology*, 62(1), 7-13.
- Prieto, A., Canavate, J. P., & García-González, M. (2011). Assessment of carotenoid production by *Dunaliella salina* in different culture systems and operation regimes. *Journal of biotechnology*, 151(2), 180-185.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). A guide to carotenoid analysis in foods.
- Sarpal, A., Teixeira, C., Costa, C., Ferreira, L., Silva, R., Cunha, S., & Daroda, R. (2019). Evaluation of low cost medium for the production of lipids for biodiesel and carotenoids from microalgae *Tetraselmis aff. chunii*. *World J Aquac Res Dev*, 1, 1006.
- Shaish, A., Ben-Amotz, A., & Avron, M. (1992). [41] Biosynthesis of β -carotene in *Dunaliella*. *Methods in enzymology*, 213, 439-444.
- Tran, D. N., Doan, N. N. T., Ho, K. Q. M., Nguyen, T. M. L., Sixto, P., Hoang, T., & Duong, D. T. (2013). A potential low cost medium for cultivation of *Dunaliella salina* DCCBC15 in Vietnam. *Journal of Biology*, 35(3), 328-332.
- Tran, D., Mai, T., Vo, T., Ward, A., Nguyen, H., & Hoang, X. (2014). Lipid Signal Can Be An Additional Marker For The Detection Of *Dunaliella Salina*. *Wolfenia journal*, 21(12), 216-233.

**NPK FERTILIZER FOR CULTURING THE GROWTH, PIGMENTS,
AND BETA-CAROTENE ACCUMULATION OF DUNALIELLA SALINA MICROALGAE****Vo Hong Trung^{*}, Nguyen Thi Hong Phuc**

Nguyen Tat Thanh Univesity, Vietnam

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

Received: August 18, 2022; Revised: November 07, 2022; Accepted: November 18, 2022

ABSTRACT

The microalgae *Dunaliella salina* has been used as an important source of natural pigments, especially carotenoids. The growth and accumulation of pigments such as chlorophyll, carotenoids, and β -carotene of *D. salina* are influenced by nutrient composition in the medium and cultural conditions. NPK fertilizer (Dau trau MK 501) is a low-cost nutrient source used to investigate the growth, pigments and β -carotene contents of four *D. salina* N, O, J, and CCAP 19/18 strains cultured in MD4 1.5M NaCl medium containing 0.05, 0.1 and 0.15 g/L NPK. The results showed that *D. salina* obtained high cell density, growth rate, and chlorophyll content in the medium with 0.15 g/L NPK compared to low concentrations ($p < 0.05$). However, the accumulation of carotenoids and β -carotene was high in the medium at a lower NPK concentration of 0.05 g/L ($p < 0.05$). This study demonstrated that *Dunaliella salina* grew optimally in the medium with 0.15 g/L NPK and accumulated carotenoids and β -carotene at a low concentration of 0.05 g/L.

Keywords: *Dunaliella salina*; NPK fertilizer; pigments and β -carotene