

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



TRẦN QUANG VINH

THU NHẬN ASTAXANTHIN TỪ VI TẢO *HAEMATOCOCCUS*
PLUVIALIS VÀ NẤM MEN *RHODOSPORIDIUM SP.*,
THỬ NGHIỆM MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học

Mã số: 9 42 02 01

Thành phố Hồ Chí Minh – 2022

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Người hướng dẫn khoa học 1: PGS. TS. Ngô Đại Nghiệp
Người hướng dẫn khoa học 2: GS. TS. Hoàng Nghĩa Sơn

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi ... giờ ...', ngày ... tháng ... năm 2023

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Ngày nay, các hợp chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên đang là mối quan tâm hàng đầu, astaxanthin đang được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu và ứng dụng, bởi nó được phát hiện có hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn β -caroten, lycopene, lutein hay vitamin E, astaxanthin có thể ngăn ngừa sự phát triển của các tế bào ung thư, làm giảm cholesterol máu, bảo vệ da khỏi tia cực tím, ngăn ngừa sự lão hóa da, thoái hóa điểm vàng...

Hiện nay, hầu hết astaxanthin thương mại là các sản phẩm tổng hợp hóa học hoặc là carotenoid. Tuy nhiên, do nhu cầu sử dụng các sản phẩm tự nhiên tăng nhanh và giá thành cao của các sản phẩm nhân tạo nên việc tìm kiếm và khai thác nguồn astaxanthin tự nhiên đang được đặc biệt quan tâm.

Vì vậy, luận án này nghiên cứu nuôi cấy, gây stress để tích lũy astaxanthin cao trong tế bào tảo *Haematococcus pluvialis*, Ngoài ra, nấm men *Rhodospiridium toruloides* là đối tượng mới, do nhóm nghiên cứu phân lập và định danh có khả năng sinh tổng hợp astaxanthin từ tự nhiên, trong điều kiện Việt Nam, được dùng để nghiên cứu thu nhận và tách chiết astaxanthin dùng để thử nghiệm một số hoạt tính sinh học nhằm ứng dụng cho ngành y dược, mỹ phẩm và thủy sản.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

Tối ưu hóa được quy trình nuôi cấy tảo *H. pluvialis* và nấm men *Rhodospiridium toruloides* sinh tổng hợp astaxanthin có hàm lượng cao.

Thu nhận, tách chiết astaxanthin từ tảo *H. pluvialis* và nấm men *Rhodospiridium toruloides*; Đánh giá được một số hoạt tính sinh học

của astaxanthin, nhằm định hướng ứng dụng cho ngành y dược, mỹ phẩm, chăn nuôi và thủy sản.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Nghiên cứu, tối ưu hóa và nâng cấp quy trình nuôi cấy tảo *H. pluvialis* thu nhận astaxanthin; thí nghiệm gây stress bằng ánh sáng đơn sắc và hàm lượng Nitơ nhằm thu nhận hàm lượng astaxanthin cao.

- Nghiên cứu, tối ưu hóa quy trình nuôi cấy nấm men *Rhodospiridium toruloides* thu nhận hàm lượng astaxanthin cao; Nâng cấp quy trình nuôi cấy ở quy mô 10 lít, nhằm tách chiết thu nhận astaxanthin.

- Thu nhận, tách chiết astaxanthin từ sinh khối tảo *H. Pluvialis* và nấm men *Rhodospiridium toruloides*.

- Thử nghiệm đánh giá một số hoạt tính sinh học của astaxanthin thu nhận từ 02 đối tượng trên như: tính khử, tính oxy hóa, tính kháng khuẩn và khả năng tăng cường sắc tố trên cá đĩa đỏ *Symphysodon* sp.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tình hình nghiên cứu astaxanthin trên tảo *Haematococcus pluvialis*

1.1.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Theo nghiên cứu của Esra Imamoglu và cộng sự (2009), ban đầu quá trình tăng sinh tế bào *H. pluvialis* được thực hiện trong môi trường BG11 đến khi tế bào đạt mật độ cao nhất thì được chuyển môi trường RM với những thay đổi về thành phần dinh dưỡng và cường độ chiếu sáng để gây stress. Kết quả thu được là trong môi trường RM không có sự hiện diện của nitơ dưới cường độ chiếu sáng 546 $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ thì hàm lượng astaxanthin tích lũy cao nhất (30,07 mg/g) vào ngày thứ 13 (Ye và cs., ctv, 2012).

Trong khi đó, tế bào *H. pluvialis* trong môi BBM (đối chứng) bắt đầu tích lũy astaxanthin vào ngày thứ 9, và hàm lượng astaxanthin tối đa là 4,17 mg/g. Li và cs., (2011) đã đánh giá hiệu quả kinh tế của việc sản xuất astaxanthin từ nuôi trồng *Haematococcus* ở quy mô lớn tại Trung Quốc với một mô hình nuôi trồng hai giai đoạn loài vi tảo này.

1.1.2. Tình hình nghiên cứu trong nước

Kết quả nghiên cứu của Đặng Diễm Hồng và cs., (2012) cho thấy, khi nồng độ nitrate trong môi trường nuôi cấy tăng lên gấp 4 lần thì mật độ tế bào cực đại tăng 25%, đạt $0,95 \times 10^6$ TB/ml. Đồng thời, nuôi cấy *H. pluvialis* trong môi trường có nồng độ nitrate cao và kết hợp với việc điều chỉnh chế độ chiếu sáng, làm mới môi trường đã được chứng minh là phương pháp hiệu quả để đạt mật độ tế bào cao. Mật độ tế bào cực đại của *H. pluvialis* đạt $3,2 \times 10^6$ TB/ml sau 22 ngày nuôi ở môi trường RM - 4X (nồng độ NaNO_3 là 1.200 mg/l), kết hợp chiếu ánh sáng trắng và UV với cường độ chiếu tương ứng là 4,3 klux và 1,4 klux, chu kỳ sáng tối 16:8 giờ trong đó 10 giờ chiếu ánh sáng trắng và 6 giờ chiếu ánh sáng trắng kết hợp UV là 6 giờ.

Lê Thị Thơm và cs., (2013) đã nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ nitrate trong môi trường nuôi cấy lên sinh trưởng của *H. pluvialis* Flotow ở cấp độ bình tam giác 250 mL. Các nồng độ nitrate thí nghiệm lần lượt là: 219 mg/L, 438 mg/L, 876 mg/L, 1314 mg/L, 1752 mg/L và 2190 mg/L, trong đó nồng độ nitrate 876 mg/L (nồng độ nitrate cao gấp 4 lần so với môi trường RM cơ bản), được xác định là thích hợp nhất cho sinh trưởng của loài vi tảo này. Tại nồng độ nitrate thích hợp nêu trên, mật độ tế bào, hàm lượng chlorophyll a và astaxanthin đạt cao nhất là $1,74 \times 10^6$ TB/mL, 2.081 $\mu\text{g/L}$, 1.053 $\mu\text{g/L}$, tương ứng.

Nghiên cứu của Trịnh Thị Lan Chi (2010), về thử nghiệm bổ sung sắc tố astaxanthin và canthaxanthin vào thức ăn cho cá chép Nhật (cá chép koi – *cyprinus carpio*) kết quả cho thấy: Với hàm lượng bổ sung > 25 mg/kg thức ăn, astaxanthin có tác dụng tích cực trong việc cải thiện màu sắc ở cá chép Nhật, trong đó hàm lượng hiệu quả nhất là $78,22 \pm 5,84$ mg/kg thức ăn.

1.2. Tình hình nghiên cứu astaxanthin từ *Rhodospiridium toruloides*

1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thể giới

Yang và cs., (2011) sử dụng bã sắn - phế phụ phẩm công nghiệp, dùng cho quá trình lên men chủng *Phaffia rhodozyma* nhằm thu nhận astaxanthin. Các yếu tố thích hợp như sau: hàm lượng đường tổng trong bã sắn là 40 g/l, KH_2PO_4 là 1,5 g/l, MgSO_4 là 0,5 g/l. Cao nấm men và $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ với tỷ lệ 3:2 (w:w) được cho là nguồn nitơ tốt nhất cho sự phát triển của nấm men *Phaffia rhodozyma*. Hàm lượng astaxanthin thu nhận được có thể lên đến **2,98 mg/l**.

Ferraro và Garg (2012) cũng tập trung vào khảo sát 2 yếu tố ảnh hưởng chính là carbon và nitơ đến sự thu nhận β -carotene ở chủng *Rhodotorula graminis*. Nghiên cứu cho thấy manitol (đóng vai trò là nguồn cung cấp carbon) có tác động tích cực đến sự tích lũy sinh khối và hàm lượng β -carotene, với hàm lượng manitol dao động từ 10 – 20 g/l và nguồn nitơ được chọn là cao nấm men với hàm lượng dao động trong khoảng 9,5 – 10 g/l, kết quả trọng lượng sinh khối khô tối đa đạt được là 3,8 - 4,3 g/l và hàm lượng β -carotene tối đa là 190 - 220 mg/l.

Anfeng Xiao và cs., (2015) nghiên cứu về mối liên quan giữa chất chuyển hoá nội bào và tích lũy astaxanthin trong quá trình lên men 4 chủng đột biến *Phaffia rhodozyma*. Kết quả cho thấy, sự tích lũy ethanol, protein nội bào, và các acid béo tác động cạnh tranh trên

sự tổng hợp astaxanthin. Trong đó, chủng *P. rhodozyma* JMU-VDL668 và JMU-7B12 đạt sản lượng thấp (**1.7 và 1.2 mg/L**) hơn so với 2 chủng JMU-MVP14 và JMU-17W (**20.4 và 3.9 mg/L**).

Carla Dias và cs., 2016 đã nghiên cứu ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy (3,5-6,0) trên carotenoid và lipid (như axit béo) sản xuất bởi các men *Rhodospiridium toruloides* NCYC 921, kết quả cho thấy nồng độ sinh khối nấm men và lipid là cực đại ở pH 4,0 (5,90 g/L và 21,85% w/w, tương ứng), trong khi hàm lượng carotenoid tối đa (63,37 mg/g) thu được ở pH 5,0. Các kết quả báo cáo có thể đóng góp cho quá trình tối ưu hóa lên men về *Rhodospiridium toruloides*.

1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước

Võ Thị Hồng Triệu (2015) đã tiến hành khảo sát các nguồn cacbon khác nhau sử dụng để nuôi cấy chủng *Rhodospiridium toruloides* bao gồm rỉ đường, glucose, saccharose và glycerol nhằm thu nhận được hàm lượng carotenoid cao nhất. Kết quả cho thấy khi nuôi chủng *Rhodospiridium toruloides* với rỉ đường là nguồn cacbon thu được hàm lượng carotenoid cao nhất (2,5 ml/L dịch nuôi cấy).

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nghiên cứu môi trường và điều kiện nuôi cấy thu nhận astaxanthin trên tảo *H. pluvialis*

- Chủng tảo *H. pluvialis* có khả năng sinh tổng hợp astaxanthin được cung cấp bởi Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II.

Chọn lọc môi trường, thiết lập điều kiện nhân sinh khối *H. pluvialis*

Khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đến vòng đời tăng trưởng của *H. pluvialis*.

Bảng 2.1. Thành phần dinh dưỡng của môi trường C, RM, F/2 và B

Thành phần môi trường	Môi trường (mg/l)			
	C	RM	F/2	B
NaNO ₃	-	300	75	250
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	-	-	5	-
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	-	-	30	-
Na ₂ EDTA	2,71	-	4,36	-
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,012	-	0,01	-
CuSO ₄ .5H ₂ O	-	0,08	0,01	0,06
FeCl ₃ .6H ₂ O	5,888	17	3,15	-
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,108	-	0,18	-
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0075	-	0,006	-
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,066	0,1	0,022	0,2
HCl Thiamin	0,01	-	0,1	-
Biotin	0,0001	-	0,0005	-
B ₁₂	0,0001	-	0,0005	-
K ₂ HPO ₄	-	80	-	75
KH ₂ PO ₄	-	20	-	175
CaCl ₂	-	-	-	25
NaCl	-	20	-	25
MgSO ₄ .7H ₂ O	40	10	-	75
FeCl ₃	-	-	-	0,3
MnSO ₄ .4H ₂ O	-	-	-	0,3
H ₃ BO ₃	-	0,3	-	0,2
Ca(NO ₃) ₂	150	-	-	-
KNO ₃	100	-	-	-
β	-	50	-	-
Na ₂ glycerolphosphate				
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	-	58,5	-	-

Thành phần môi trường	Môi trường (mg/l)			
	C	RM	F/2	B
EDTA	-	7,5	-	-
MnSO ₄ . H ₂ O	-	1,5	-	-
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ . 4 H ₂ O	-	0,3	-	-
Co(NO ₃). 6 H ₂ O	-	0,26	-	-
Trisaminomethiane	500	-	-	-

2.2. Nghiên cứu gây stress bằng ánh sáng đơn sắc và hàm lượng Nitơ nhằm thu nhận astaxanthin

Khảo sát ảnh hưởng của chế độ ánh sáng đến hiệu quả tích lũy astaxanthin của *H. pluvialis*.

Khảo sát ảnh hưởng các nguồn nitơ và nồng độ nitơ thích hợp cho sự sinh trưởng của tảo *H. pluvialis*

2.3. Nghiên cứu các điều kiện môi trường nuôi cấy thu nhận astaxanthin trên nấm men *Rhodospiridium toruloides*

Chủng nấm men *Rhodospiridium toruloides* có khả năng sinh tổng hợp astaxanthin được giải trình tự gen rDNA-ITS với một cặp mồi ITS1-ITS4-5.8S rDNA tại Nam Khoa BioTek.

2.4. Tối ưu hóa quy trình nuôi cấy nấm men *Rhodospiridium toruloides* thu nhận astaxanthin

Tối ưu hóa quy trình bằng phương pháp đáp ứng bề mặt Box – Behnken và dùng phần mềm Design Expert nhằm thu nhận carotenoid chứa astaxanthin cao.

2.5. Nâng cấp quy trình nuôi cấy, tách chiết và thu nhận astaxanthin từ sinh khối tảo *H. Pluvialis* và nấm men *Rhodospiridium toruloides*

Nâng cấp ở quy mô 20 lít trên tảo *H. Pluvialis* và quy mô 10 lít trên nấm men *Rhodospiridium toruloides*.

Tiến hành tách chiết bằng tác nhân cơ học, dung môi, acid HCl và enzyme nhằm thu astaxanthin cao nhất.

2.6. Thử nghiệm đánh giá một số hoạt tính sinh học của astaxanthin thu nhận từ tảo *H. Pluvialis* và nấm men *Rhodosporidium toruloides*

Đánh giá tính khử, tính oxy hóa, tính kháng khuẩn và khả năng tăng cường sắc tố trên cá đĩa đỏ *Symphysodon* sp.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thu nhận astaxanthin trên tảo *H. pluvialis*

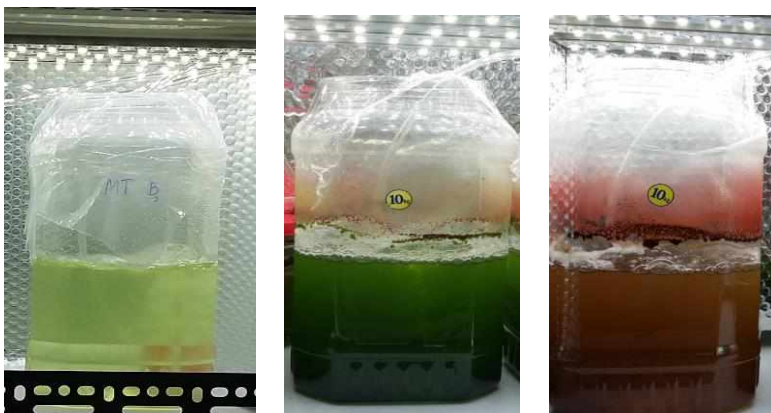
Vòng đời của vi tảo *H. pluvialis* trải qua 4 giai đoạn với hình thái, kích thước và hàm lượng sắc tố khác nhau. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã quan sát được 4 giai đoạn sinh trưởng cơ bản của tảo: giai đoạn tế bào (TB) sinh dưỡng, giai đoạn tạo bào nang, giai đoạn TB nang hoàn chỉnh và giai đoạn nảy mầm.

Môi trường RM tảo đạt mật độ tế bào cực đại, hàm lượng astaxanthin, trọng lượng khô là cao nhất với các giá trị tương ứng $5,13 \times 10^5$ TB/ml, 487 $\mu\text{g/l}$, 2,32 g/l. Tảo phát triển kém nhất là môi trường F2.

Trong 14 ngày nuôi cấy đầu mật độ tế bào (MĐTĐ) tăng dần và đạt cực đại vào ngày nuôi thứ 14, sau đó giảm dần. Ngược lại, trọng lượng khô của tảo lại có xu hướng tăng dần theo thời gian nuôi. Điều này được giải thích là khi MĐTĐ tảo vào pha ổn định (ngày nuôi thứ 14), tế bào tảo giảm phân chia và tảo chuyển từ giai đoạn tế bào sinh dưỡng sang giai đoạn tạo bào nang nên kích thước tế bào giai đoạn này bắt đầu tăng lên do vậy mà trọng lượng khô của tảo cũng tăng dần. Sau thời gian nuôi cấy sau 18 ngày, đây là lúc môi trường trở nên thiếu

dinh dưỡng thích hợp cho quá trình tích lũy astaxanthin trong tế bào tảo.

Tảo *H. pluvialis* sinh trưởng và phát triển mạnh nhất ở ánh sáng trắng (MĐTB cực đại là $5,53 \times 10^5$ TB/ml, hàm lượng astaxanthin 469,33 $\mu\text{g/l}$ và trọng lượng khô 2,35 g/l và thấp nhất là ánh sáng đỏ (MĐTB cực đại là $2,6 \times 10^5$ TB/ml, hàm lượng astaxanthin 66,67 $\mu\text{g/l}$ và trọng lượng khô 0,62 g/l).



Hình 3. 1: Sự thay đổi màu sắc của tảo *Haematococcus pluvialis* (quy mô nuôi 10 lít)

3.2. Stress bằng cường độ ánh sáng đến hiệu quả tích lũy astaxanthin của *H. pluvialis*

Khi có sử dụng tác nhân gây sốc là cường độ ánh sáng càng cao ở pha II thì hàm lượng astaxanthin càng tăng đột biến và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa công thức đối chứng và thí nghiệm. Sau bốn ngày gây stress, ở nghiệm thức cường độ chiếu sáng 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ thì hàm lượng astaxanthin cao nhất với giá trị là 4618,67 $\mu\text{g/l}$, ở nghiệm thức đối chứng với cường độ chiếu sáng 90 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ thì hàm lượng astaxanthin thu được là 1073,6 $\mu\text{g/l}$. Tuy nhiên, nghiệm

thức có cường độ chiếu sáng là 180 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ thì hàm lượng astaxanthin lại giảm nhanh do đa phần tảo bị lắng đáy và chết dần. Như vậy, với cường độ chiếu sáng 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, nhiệt độ là 35 $^{\circ}\text{C}$ là điều kiện phù hợp cho sự tích lũy astaxanthin. Vậy khi gây stress tảo ở cường độ chiếu sáng 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ trong thời gian 4 ngày (pha II) thì hàm lượng astaxanthin cao nhất tương ứng 4.618,67 $\mu\text{g}/\text{l}$ và trọng lượng khô thu được là cao nhất là 4,44 g/l (nhiệt độ là 35 $^{\circ}\text{C}$).

Bảng 3. 1: Hàm lượng astaxanthin của *H. pluvialis* khi gây sốc bằng cường độ chiếu sáng khác nhau

Ngày	Nghiệm thức		
	ĐC ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)	120 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)	180 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)
14	324,8 \pm 0,00 ^a	324,8 \pm 0,00 ^a	324,8 \pm 0,00 ^a
1	558,93 \pm 26,06 ^b	724,27 \pm 16,03 ^a	752,53 \pm 33,57 ^a
2	628,27 \pm 16,11 ^b	942,4 \pm 31,96 ^a	360 \pm 54,19 ^c
3	968,53 \pm 54,19 ^b	1891,2 \pm 3,2 ^a	96 \pm 135,1 ^c
4	1073,6 \pm 66,7 ^b	4618,67 \pm 12,1 ^a	0,00 \pm 0,00 ^c

Số liệu trình bày trong bảng là giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn của từng nghiệm thức, số liệu trên cùng hàng có các chữ cái khác nhau thể hiện sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

3.3. Stress bằng hàm lượng nitơ trong quá trình nuôi cấy tảo *H. pluvialis* và thu nhận astaxanthin

Trong suốt quá trình tảo *H. Pluvialis* tăng trưởng làm tiêu tốn một lượng lớn nitơ, cụ thể ở cả bốn lô thí nghiệm đều cho kết quả tương đồng nhau, hàm lượng nitơ trong ngày nuôi cấy đầu tiên ở lô thứ 2 và thứ 3 là 112,14 mg/L và 112,42 mg/L còn ở lô 1 và lô 4, hàm lượng nitơ là 111,07 mg/L. Sau khi chúng tôi chuyển sang nuôi tảo *H. Pluvialis* trong pha 2, các giá trị này giảm dần cho đến khi tế bào tảo *H. Pluvialis* chuyển từ trạng thái bào nang sang bào nang hoàn chỉnh, tức tích lũy một lượng lớn astaxanthin, lúc này hàm lượng nitơ ở lô

thứ 2 giảm xuống còn 63,38 mg/L, lô 1 và lô 3 là 63,05 mg/L, riêng lô thứ 4 hàm lượng nitơ giảm còn 60,23 mg/L.

Dựa vào kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng astaxanthin sau khi ly trích dao động từ 5.144 µg/L – 7.535,8 µg/L tương ứng với 2,34 – 2,61 %/SKK.

Bảng 3. 2: Hàm lượng astaxanthin sau khi ly trích

Thông số	lô 1	lô 2	lô 3	lô 4
Sinh khối khô (g/L)	0,25	0,3	0,22	0,3
Hàm lượng astaxantin (µg/L)	6.530,5	7.520	5.144	7.535,8
Astaxanthin trong sinh khối khô (%)	2,61	2,51	2,34	2,51

3.4. Thử nghiệm hoạt tính khử và oxy hóa và khả năng tăng cường sắc tố đỏ trên cá đĩa của astaxanthin từ vi tảo *H. pluvialis*

Dịch chiết astaxanthin thu được từ tảo *H. Pluvialis* có hoạt tính kháng oxy hóa và có khả năng kháng oxy hóa cao hơn chứng dương là BHA, kết quả có khả năng khử mạnh hơn BHA 1,17 lần và khả năng bắt gốc ABTS⁺ mạnh gấp 1,53 lần so với mẫu BHA.

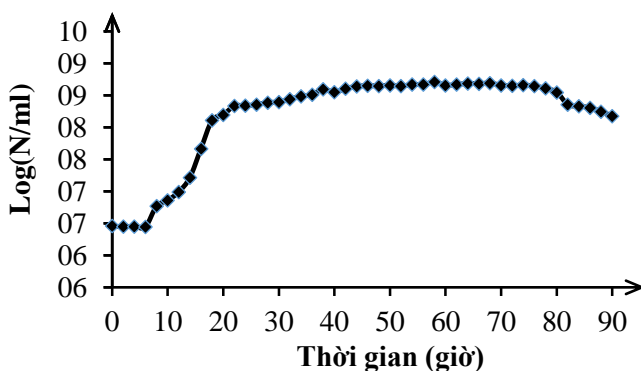
Kết quả nghiên cứu tăng màu sắc trên cá đĩa với liều lượng 75 mg/kg thức ăn của astaxanthin thu nhận từ tảo *Haematococcus pluvialis*, cho kết quả tăng cường sắc tố đỏ trên cá đĩa.

3.5. Thu nhận astaxanthin trên nấm men *Rhodospiridium toruloides*

3.5.1. Xác định một số thành phần trong rỉ đường trước và sau khi xử lý cần cho quá trình nuôi cấy nấm men *Rhodospiridium toruloides* để thu nhận astaxanthin

Kết quả cho thấy thành phần khoáng bổ sung vào môi trường rỉ đường như $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 3 g/l, urea 0,5 g/l, KH_2PO_4 1 g/l, tỷ lệ giống so với môi trường nuôi cấy là 10% (mật độ tế bào từ 8 đến 10×10^6 tế bào/ml), hàm lượng đường tổng trong rỉ đường là 25 g/l. Thời điểm thu nhận astaxanthin từ *Rhodospiridium toruloides* là 82 giờ.

3.5.2. Kết quả xây dựng đường cong tăng trưởng của chủng *Rhodospiridium sp.* trên môi trường rỉ đường đã khảo sát các yếu tố thích hợp



Dựa vào các giá trị OD_{610nm} từ 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 và số lượng tế bào nấm men tương ứng với các giá trị OD_{610nm} để tính mật độ tế bào trong 1 ml môi trường log (N/ml).

Kết quả nghiên cứu đã xây dựng được đường tương quan tuyến tính giữa mật độ tế bào và OD_{610nm}, trên cơ sở đó xây dựng đường cong tăng trưởng của chủng *Rhodospiridium toruloides* ở trong môi trường rỉ đường đã khảo sát. Chủng nấm men *Rhodospiridium toruloides* trên môi trường rỉ đường cho thấy khung thời gian của các giai đoạn sinh trưởng khác nhau như sau: Pha tiềm tàng trong khoảng 6 giờ đầu, pha tăng trưởng hàm mũ vào khoảng giờ thứ 8 đến giờ thứ 30, pha ổn định từ giờ thứ 32 đến giờ thứ 80, pha suy tàn từ giờ thứ 82 trở về sau.

3.5.3. Tối ưu hóa Thành phần môi trường bằng phần mềm Design Expert

Thành phần môi trường tối ưu được dự đoán để thu nhận astaxanthin cao nhất ở chủng nấm men *Rhodospiridium toruloides* được thể hiện ở bảng 3.6. Chúng tôi tiến hành nuôi chủng nấm men trên môi trường dự đoán và thu được kết quả ở bảng sau.

Bảng 3.3: Kết quả thực nghiệm và dự đoán hàm lượng astaxanthin trong môi trường tối ưu

	Hàm lượng đường tổng (g/l)	Urea (g/l)	MgSO ₄ .7H ₂ O (g/l)	KH ₂ PO ₄ (g/l)	pH	Hàm lượng carotenoid (µg/g)
Dự đoán	26,04	1,04	3,0	2,0	5,96	183,162
Thực nghiệm	26,04	1,04	3,0	2,0	5,96	186,48

Kết quả chúng tôi thu nhận được sau khi tối ưu hóa thành phần môi trường là khi nuôi chủng nấm men *Rhodospiridium toruloides* trong môi trường rỉ đường với hàm lượng đường tổng là 26,04 g/l, hàm

lượng urea 1,04 g/l, MgSO₄.7H₂O 3 g/l, KH₂PO₄ 2g/l, pH 5,96 và tỷ lệ giống 10%, thời gian 82 giờ nuôi cấy (v/v) thu được hàm lượng carotenoid cao nhất là 186,48 µg/g.

3.6. Nâng cấp và khảo sát điều kiện nuôi cấy thu nhận astaxanthin ở hệ thống lên men 10 lít.

Trọng lượng sinh khối khô và hàm lượng astaxanthin trong hệ thống nuôi cấy 10 lít với tỉ lệ giống 10% của *Rhodospodium toruloides* trên môi trường rỉ đường tối ưu.

Quá trình khảo sát các yếu tố thích hợp cho nuôi cấy nấm men *Rhodospodium toruloides* (thể tích 100 ml) để thu nhận astaxanthin hiệu quả nhất với hàm lượng đường tổng là 25 g/l, urea công nghiệp 0,5 g/l, MgSO₄.7H₂O công nghiệp 3 g/l, KH₂PO₄ 0 g/l, tỷ lệ giống 10% so với thể tích dịch nuôi cấy được nuôi trong 80 giờ thu hàm lượng astaxanthin là 1.186,88 µg/l và trọng lượng sinh khối khô 6,3312 g/l.

Bảng 3. 4: Hàm lượng astaxanthin thu được trong thể tích nuôi cấy 100 ml

Trọng lượng sinh khối khô thu được (g/l)	Hàm lượng astaxanthin	
	(µg/g sinh khối khô)	(µg/l dịch nuôi cấy)
6.3312 ± 0.0507	187.666 ± 3.695	1186.88 13.638

Dựa vào kết quả trên ta thấy khi nuôi cấy chủng nấm men *Rhodospodium toruloides* trên môi trường rỉ đường nâng cấp trong hệ thống 10 lít, trọng lượng sinh khối khô thu được là 6,3682 (g/l), hàm lượng astaxanthin tính trên thể tích dịch nuôi cấy tương ứng là 1932,21(µg/l).

3.7. Tách chiết astaxanthin bằng acid HCl/DMSO/enzyme cellulase

Hàm lượng astaxanthin thu nhận bởi các phương pháp tách chiết là khác nhau. Trong đó, tách chiết bằng DMSO cho lượng astaxanthin cao nhất (287,159 $\mu\text{g/g}$), tiếp đến là HCl cho lượng astaxanthin thấp hơn (133,428 $\mu\text{g/g}$). Tách chiết bằng enzyme cellulase thấp nhất (82,319 $\mu\text{g/g}$).

Tách chiết bằng DMSO cho hàm lượng astaxanthin cao nhất vì DMSO có khả năng liên kết kỵ nước với lớp phospholipid của màng tế bào, sự gắn kết này làm giãn nở màng, thậm chí có thể dẫn đến trương phồng tế bào, hơn nữa DMSO còn phá vỡ tương tác lipid và protein làm ảnh hưởng chức năng của màng tế bào. Một số dung môi hòa tan trong nước như acetone, ethanol và methanol có thể thâm nhập vào lớp nước bên ngoài một cách dễ dàng và có thể trích xuất astaxanthin ra khỏi nấm men hồng hiệu quả, trong đó acetone là dung môi chiết rút astaxanthin hiệu quả phù hợp với nghiên cứu của Hui và cs. (Hui Ni, 2008).

3.8. Thử nghiệm hoạt tính khử và oxy hóa và khả năng tăng cường sắc tố đỏ trên cá đĩa của astaxanthin từ nấm men *Rhodospodium toruloides*.

Từ dịch chiết astaxanthin bằng DMSO, đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn (hàm lượng astaxanthin xác định bằng HPLC/MS là 5,09 $\mu\text{g/mg}$). Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa được thể hiện qua năng lực khử bắt gốc tự do ABTS+ và DPPH. Khả năng bắt gốc tự do DPPH, trong đó IC50 vitamin C và BHA cao hơn so với dịch chiết astaxanthin lần lượt là 2,62 lần 1,93 lần. Bắt gốc tự do ABTS+ của dịch chiết astaxanthin có giá trị IC50 là 14,83 $\mu\text{g/ml}$ tương đương vitamin C và BHA lần lượt là 14,33 $\mu\text{g/ml}$ và 14,43 $\mu\text{g/ml}$, năng lực khử của dịch chiết astaxanthin 25 $\mu\text{g/ml}$ cao gấp 1,28 lần so với đối chứng vitamin C gấp 1,16 lần so với BHA. Như vậy astaxanthin là

chất có hoạt tính kháng oxi hóa cao và cao hơn so với chất chuẩn là vitamin C và BHA.

Astaxanthin có khả năng kháng khuẩn cao: Đạt đường kính (mm) kháng khuẩn khoảng 16 đến 18 mm (tùy theo phương pháp tách chiết) tại nồng độ astaxanthin 100 µg/ml đối với các chủng *Bacillus subtilis*, *E.coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Staphylococcus aureus*. Kháng sinh chloramphenicol làm đối chứng dương có đường kính (mm) kháng khuẩn cao nhất từ 20 mm đến 35 mm tùy theo chủng.

Dịch chiết astaxanthin thu nhận từ nấm men hồng *Rhodospiridium sp.* có khả năng ức chế lên đường cong tăng trưởng của vi khuẩn: *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* ngay từ nồng độ đầu tiên 12,5 µg. Như vậy nồng độ ức chế tối thiểu của astaxanthin lên nấm chủng vi khuẩn mà chúng tôi nghiên cứu (MIC) đạt được là 12,5 µg/ml.

Kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng tăng cường màu sắc sắc tố đỏ trên cá đĩa của astaxanthin thu nhận từ nấm men *Rhodospiridium toruloides* với liều lượng 90 mg/kg thức ăn.

3.9. So sánh kết quả trên tảo *H. pluvialis* và nấm men *Rhodospiridium toruloides*

Kết quả so sánh đối chiếu kết quả về astaxanthin thu nhận từ Tảo *Haematococcus pluvialis* và nấm men *Rhodospiridium toruloides*, cũng như thử nghiệm một số hoạt tính sinh học được thể hiện ở bảng 3.3.3.

Bảng 3.3: Đối chiếu kết quả về thu nhận và hoạt tính sinh học của astaxanthin chiết suất từ tảo *Haematococcus pluvialis* và nấm men *Rhodospiridium toruloides*

Nội dung	Vi tảo <i>Haematococcus pluvialis</i>	Nấm men <i>Rhodosporidium toruloides</i>
Nuôi cấy thu nhận astaxanthin	<p>Vòng đời của tảo <i>Haematococcus pluvialis</i>: Từ 12 đến 14 ngày nuôi tiếp theo, tảo dạng tế bào hình khối cầu, màu xanh, mất hai roi, không có khả năng chuyển động. Từ 14 đến 20 ngày nuôi tiếp theo, tảo chuyển sang giai đoạn tạo bào nang, nội chất bên trong tế bào có màu nâu do tảo bắt đầu tích lũy astaxanthin.</p> <p>Môi trường RM tảo đạt mật độ tế bào cực đại, hàm lượng astaxanthin, trọng lượng khô là cao nhất với các giá trị tương ứng $5,13 \times 10^5$ TB/ml, 487 μg/l, 2,32 g/l.</p>	<p>Vòng đời của nấm men <i>Rhodosporidium toruloides</i>: trên môi trường rỉ đường chia làm 4 pha, pha tiềm tàng trong khoảng 6 giờ đầu, pha tăng trưởng hàm mũ vào khoảng giờ thứ 8 đến giờ thứ 30, pha ổn định từ giờ thứ 32 đến giờ thứ 80, pha suy tàn từ giờ thứ 82 trở về sau.</p> <p>Thành phần khoáng bổ sung vào môi trường rỉ đường như $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 3 g/l, urea 0,5 g/l, KH_2PO_4 1 g/l, tỷ lệ giống so với môi trường nuôi cấy là 10% (mật độ tế bào từ 8 đến 10×10^6 tế bào/ml), hàm lượng đường tổng trong rỉ đường là 25 g/l. Thời điểm thu nhận astaxanthin từ</p>

	<p>Tảo <i>H. pluvialis</i> sinh trưởng và phát triển mạnh nhất ở ánh sáng trắng (mật độ tế bào cực đại là $5,53 \times 10^5$ TB/ml, hàm lượng astaxanthin 469,33 $\mu\text{g/l}$ và trọng lượng khô 2,35 g/l và thấp nhất là ánh sáng đỏ (mật độ tế bào cực đại là $2,6 \times 10^5$ TB/ml, hàm lượng astaxanthin 66,67 $\mu\text{g/l}$ và trọng lượng khô 0,62 g/l).</p>	<p><i>Rhodospiridium toruloides</i> là 82 giờ. Tối ưu để thu nhận carotenoid từ chủng nấm men <i>Rhodospiridium toruloides</i>, thành phần môi trường tối ưu hóa ri đường thu nhận carotenoid gồm hàm lượng đường tổng là 26,04 g/l, hàm lượng urea 1,04 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3 g/l, KH_2PO_4 2 g/l, pH 5,96 và tỷ lệ giống 10% (v/v), thời gian nuôi cấy là 80 giờ, thu được hàm lượng carotenoid cao nhất là 186,48 $\mu\text{g/g}$.</p>
Tách chiết	<p>Tách chiết bằng DMSO có hàm lượng astaxanthin là cao hơn mẫu được chiết bằng thủy tinh</p>	<p>Tách chiết bằng DMSO có hàm lượng astaxanthin là cao nhất (287,159 $\mu\text{g/g}$), tiếp đến là bằng HCl (133,428 $\mu\text{g/g}$) và thấp nhất là thu nhận bằng enzyme 82,319 \pm 4,4823 $\mu\text{g/g}$.</p>
Thử nghiệm hoạt tính sinh học	<p>Dịch astaxanthin tách chiết từ tảo <i>H. pluvialis</i> có hoạt tính</p>	<p>Dịch chiết astaxanthin từ nấm men <i>Rhodospiridium</i></p>

	<p>kháng oxi hóa qua năng lực khử gốc ABTS⁺ mạnh gấp 1,53 lần so với mẫu BHA và mẫu astaxanthin thu được có khả năng khử mạnh hơn BHA 1,17 lần.</p> <p>Kết quả nghiên cứu tăng màu sắc trên cá đĩa với liều lượng 75 mg/kg thức ăn, cho kết quả tăng cường sắc tố đỏ trên cá đĩa.</p>	<p><i>toruloides</i> có hoạt tính kháng oxi hóa mạnh gấp 2,62 lần và DPPH là 1,93 lần; năng lực khử của dịch chiết astaxanthin 25 µg/ml cao gấp 1,28 lần so với đối chứng vitamin C gấp 1,16 lần so với BHA.</p> <p>Dịch chiết ức chế lên đường cong tăng trưởng của vi khuẩn: <i>Bacillus subtilis</i>, <i>E. coli</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Salmonella typhi</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> ngay từ nồng độ đầu tiên 12,5 µg.</p> <p>Kết quả với liều lượng 90 mg/kg thức ăn, cho kết quả tăng cường sắc tố đỏ trên cá đĩa.</p>
--	--	---

CHƯƠNG IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Đối với vi tảo *Haematococcus pluvialis*

- Môi trường RM tảo đạt mật độ tế bào cực đại, hàm lượng astaxanthin, trọng lượng khô là cao nhất với các giá trị tương ứng 5,13x10⁵ TB/ml, 487 µg/l, 2,32 g/l. Tảo phát triển kém nhất là môi trường F2.

- Tảo *H. pluvialis* sinh trưởng và phát triển mạnh nhất ở ánh sáng trắng (mật độ tế bào cực đại là $5,53 \times 10^5$ TB/ml, hàm lượng astaxanthin 469,33 $\mu\text{g/l}$ và trọng lượng khô 2,35 g/l và thấp nhất là ánh sáng đỏ (mật độ tế bào cực đại là $2,6 \times 10^5$ TB/ml, hàm lượng astaxanthin 66,67 $\mu\text{g/l}$ và trọng lượng khô 0,62 g/l).

- Khi stress tảo ở cường độ chiếu sáng 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ trong thời gian 4 ngày (pha 2) thì hàm lượng astaxanthin tương ứng 4.618,67 $\mu\text{g/l}$ và trọng lượng khô thu được là cao nhất là 4,44 g/l (nhiệt độ là 35°C); Còn khi gây stress thêm bằng thời gian chiếu sáng lên 24 giờ thì hàm lượng astaxanthin là 3.076,8 $\mu\text{g/l}$ và trọng lượng khô thu được là cao nhất là 3,72 g/l (nhiệt độ cao 33°C).

- Đã xây dựng được quy trình nuôi sinh khối tảo *H. Pluvialis* ở quy mô 20 lít theo quy trình nuôi tảo 2 pha: pha I sử dụng môi trường lỏng RM, mật độ tảo ban đầu 10^5 TB/ml, ánh sáng đèn led màu trắng với cường độ chiếu sáng 90 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, thời gian chiếu sáng 12 giờ, sục khí liên tục, cung cấp khí CO₂ với hàm lượng 18ppm cho tảo quang hợp; pha 2 cường độ chiếu sáng 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, thời gian chiếu sáng 12 giờ. Hàm lượng astaxanthin sau ly trích đạt từ 5.144 – 7.535,8 $\mu\text{g/L}$ chiếm từ 2,34 - 2,61%/SKK.

- Dịch chiết astaxanthin thu được từ tảo *H. Pluvialis* có hoạt tính kháng oxy hóa và có khả năng kháng oxy hóa cao hơn chứng dương là BHA, kết quả có khả năng khử mạnh hơn BHA 1,17 lần và khả năng bắt gốc ABTS⁺ mạnh gấp 1,53 lần so với mẫu BHA. Ngoài ra, dịch chiết astaxanthin từ tảo *H. Pluvialis* với liều lượng 75 mg/kg thức ăn làm tăng cường sắc tố đỏ trên cá đĩa.

Đối với Nấm men *Rhodospodium toruloides*

- Thành phần khoáng bổ sung vào môi trường ri đường như MgSO₄.7H₂O 3 g/l, urea 0,5 g/l, KH₂PO₄ 1 g/l, tỷ lệ giống so với

môi trường nuôi cấy là 10% (mật độ tế bào từ 8 đến 10×10^6 tế bào/ml), hàm lượng đường tổng trong rỉ đường là 25 g/l. Thời điểm thu nhận astaxanthin từ *Rhodospiridium toruloides* là 82 giờ.

- Nuôi cấy chủng nấm men *Rhodospiridium toruloides* trên môi trường rỉ đường trong hệ thống 10 lít trọng lượng sinh khối khô thu được là 6,3682 (g/l), hàm lượng astaxanthin tính trên thể tích dịch nuôi cấy tương ứng là 1.243,13 ($\mu\text{g/l}$).

- Đã tối ưu hóa thành phần môi trường để thu nhận astaxanthin từ chủng nấm men *Rhodospiridium toruloides*, thành phần môi trường tối ưu hóa rỉ đường thu nhận astaxanthin gồm hàm lượng đường tổng là 26,04 g/l, hàm lượng urea 1,04 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3 g/l, KH_2PO_4 2 g/l, pH 5,96 và tỷ lệ giống 10% (v/v), thời gian nuôi cấy là 80 giờ, thu được hàm lượng astaxanthin cao nhất là 186,48 $\mu\text{g/g}$. So sánh kết quả thực nghiệm với kết quả dự đoán khi nuôi trong môi trường tối ưu, hàm lượng carotenoid ở môi trường tối ưu trong thực nghiệm là 186,48 $\mu\text{g/g}$, cao hơn so với hàm lượng carotenoid dự đoán 3,318 $\mu\text{g/g}$.

- Tách chiết astaxanthin bằng dung môi DMSO, HCl 0,4N và enzyme cellulase để thu nhận astaxanthin từ nấm men *Rhodospiridium toruloides* kết quả DMSO là cao nhất (287,159 $\mu\text{g/g}$), tiếp đến là bằng HCl 0,4N (133,428 $\mu\text{g/g}$) và thấp nhất là thu nhận bằng enzyme 82,319 \pm 4,4823 $\mu\text{g/g}$.

- Từ dịch chiết astaxanthin bằng DMSO, đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn (hàm lượng astaxanthin xác định bằng HPLC/MS là 5,09 $\mu\text{g/mg}$). Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa qua năng lực khử bắt gốc tự do ABTS⁺ và DPPH. Khả năng bắt gốc tự do DPPH, trong đó IC₅₀ vitamin C và BHA cao hơn so với dịch chiết astaxanthin lần lượt là 2,62 lần 1,93 lần. Bắt gốc tự do ABTS⁺ của dịch chiết astaxanthin có giá trị IC₅₀ là 14,83 $\mu\text{g/ml}$ tương đương vitamin C và

BHA lần lượt là 14,33 $\mu\text{g/ml}$ và 14,43 $\mu\text{g/ml}$, năng lực khử của dịch chiết astaxanthin 25 $\mu\text{g/ml}$ cao gấp 1,28 lần so với đối chứng vitamin C gấp 1,16 lần so với BHA. Như vậy astaxanthin là chất có hoạt tính kháng oxi hóa cao và cao hơn so với chất chuẩn là vitamin C và BHA.

- Astaxanthin có khả năng kháng khuẩn cao: Đạt đường kính (mm) kháng khuẩn tại nồng độ astaxanthin 100 $\mu\text{g/ml}$ lần lượt: Chủng *Bacillus subtilis*, *E.coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Staphylococcus aureus* khoảng 16 đến 18 mm (tùy theo phương pháp tách chiết). Kháng sinh chloramphenicol làm đối chứng dương có đường kính (mm) kháng khuẩn cao nhất từ 20 mm đến 35 mm tùy theo chủng.

- Dịch chiết astaxanthin thu nhận từ nấm men hồng *Rhodospiridium* sp. có khả năng ức chế lên đường cong tăng trưởng của vi khuẩn: *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* ngay từ nồng độ đầu tiên 12,5 μg . Như vậy, nồng độ ức chế tối thiểu của astaxanthin lên nấm chủng vi khuẩn mà chúng tôi nghiên cứu (MIC) đạt được là 12,5 $\mu\text{g/ml}$.

- Astaxanthin được chiết xuất từ sinh khối nấm men có tác dụng cải thiện màu sắc trên cá đĩa đỏ *Symphysodon* sp. ở liều 90 mg/kg thức ăn sau khi cho cá ăn trong ba tháng.

4.2. Kiến nghị

- Cần nghiên cứu thêm hoạt tính kháng ung thư trên các dòng tế bào của astaxanthin. Nghiên cứu tạo nano-astaxanthin để tăng tính tan trong nước của astaxanthin ứng dụng trong dược phẩm và trong nuôi trồng thủy sản.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Nghiên cứu sâu vào quy trình và cơ chế sinh tổng hợp astaxanthin trong tế bào vi tảo *Haematococcus pluvialis* và áp dụng công nghệ ánh sáng đơn sắc (LEDs) và ảnh hưởng của nitơ đến sự sinh trưởng và tích lũy astaxanthin ở vi tảo *Haematococcus pluvialis* trên quy trình phòng thí nghiệm và nâng cấp Quy mô pilot 20 lít.

- Từ chủng nấm men *Rhodospiridium toruloides* mới phân lập và định danh tại Việt Nam, nghiên cứu sâu việc tận dụng phụ phế phẩm rỉ đường làm môi trường nuôi cấy và tối ưu hóa quy trình nuôi cấy nhằm sinh tổng astaxanthin có hàm lượng cao từ tự nhiên và nâng cấp quy trình nuôi cấy ở quy mô 10 Lít nhằm nâng cao sinh khối và tách chiết thu nhận astaxanthin ứng dụng thực tiễn.

- Nghiên cứu so sánh astaxanthin thu từ tự nhiên (từ tảo và nấm men *Rhodospiridium turoloides*) so với astaxanthin tổng hợp hóa học về hoạt tính sinh học: tính kháng oxy hóa DPPH, tính oxy hóa với khả năng bắt gốc tự do ABTS⁺ và năng lực khử; tính kháng khuẩn định hướng phục vụ ngành Dược, Mỹ phẩm; cũng như đánh giá tăng cường màu sắc trên cá cảnh định hướng phục vụ nuôi trồng thủy sản nói chung và nghề nuôi cá cảnh nói riêng.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. Quang-Vinh Tran, Quoc-Cuong Duong, Dang-Khoa Tran, Dai-Nghiep Ngo, *Rhodospiridium sp. growth in molasses medium and extraction of its astaxanthin by using Hcl*, Journal of Science and Technology, 2017-55 (1A) (2017) 8-18.

2. Tuyet Nhung Tran, Quang-Vinh Tran, Hao Thanh Huynh, Nghia-Son Hoang, Hoang Chinh Nguyen, Dai-Nghiep Ngo,

Astaxanthin Production by Newly Isolated Rhodosporidium toruloides: Optimization of Medium Compositions by Response Surface Methodology, Not Bot Horti Agrobo, 2019, 47(2):320-327.

3. Trần Quang Vinh, Nguyễn Thị Kim Liên, Ngô Đại Nghiệp, 2020, *Nghiên cứu ảnh hưởng của việc bổ sung astaxanthin và β -glucan được ly trích từ sinh khối nấm men Rhodospridium sp. vào thức ăn cho cá đĩa đỏ Symphysodon sp.*, Tạp chí Khoa học-Công nghệ Thủy sản, số 3/2020, ISSN:1859 – 2252.

4. Trần Quang Vinh, Hoàng Nghĩa Sơn, Ngô Đại Nghiệp, *Hoạt tính khử và bắt gốc dpph của astaxanthin tách chiết từ Rhodosporidium sp. bằng cellulase*, Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng, chuyên san Năm và Công nghệ sinh học – 2020, ISSN:0866-8566.

5. Trần Quang Vinh, Dương Quốc Cường, Ngô Đại Nghiệp, Hoàng Nghĩa Sơn, *Nghiên cứu tách chiết và khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn của dịch chiết astaxanthin từ Rhodosporidium sp. bằng DMSO*, Tạp chí Trường Đại học Tây Nguyên -Số 47/2021, ISSN 1859-4611.