

Nghiên cứu ứng dụng đèn LEDs để kéo dài thời gian nuôi tảo xoắn *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) ở miền Bắc Việt Nam

Nguyễn Đức Bách*, Phí Thị Cẩm Miên, Kim Anh Tuấn, Nguyễn Thị Hiền, Vũ Lê Diệu Hương

Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 20/5/2021; ngày chuyển phản biện 26/5/2021; ngày nhận phản biện 30/6/2021; ngày chấp nhận đăng 5/7/2021

Tóm tắt:

Tảo xoắn *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) được nuôi ở Việt Nam chủ yếu làm thực phẩm chức năng cho người và thức ăn bổ sung cho thủy sản. Ở miền Bắc, thời điểm thích hợp nhất để nuôi trồng tảo *Spirulina* là từ đầu tháng 5 đến cuối tháng 9. Các thời điểm khác do cường độ ánh sáng và nhiệt độ giảm nên nuôi tảo cho năng suất thấp, đặc biệt là giai đoạn từ tháng 12 đến cuối tháng 2. Nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của đèn LED đến sự phát triển của tảo *Spirulina* trong các khoảng thời gian từ đầu tháng 3 đến cuối tháng 4 (T3-T4), từ đầu tháng 10 đến cuối tháng 11 (T10-T11) và từ đầu tháng 12 đến cuối tháng 2 (T12-T2) tại Hà Nội. Kết quả cho thấy, việc chiếu sáng đèn LED đỏ liên tục đã làm tăng năng suất và hàm lượng chlorophyll, carotenoid và phycocyanin trong hai giai đoạn (T3-T4) và (T10-T11). Việc bổ sung đèn LED đỏ và xanh không cho hiệu quả đáng kể ở giai đoạn T12-T2. Đèn LED xanh không có tác động đáng kể đến sự phát triển của *Spirulina*. Kết quả nghiên cứu tạo cơ sở ban đầu để ứng dụng đèn LED đỏ nhằm kéo dài thời gian nuôi tảo *Spirulina* ở miền Bắc Việt Nam.

Từ khóa: ánh sáng, đèn LED, miền Bắc Việt Nam, nhiệt độ, tảo xoắn *Spirulina*.

Chỉ số phân loại: 4.6

Đặt vấn đề

Tảo xoắn *Spirulina* là tên thường gọi chung của 2 loài vi khuẩn lam *Arthrospira platensis* và *Arthrospira maxima* có cấu trúc dạng sợi xoắn, phân bố rộng ở các thủy vực trên thế giới. Tảo xoắn *Spirulina* thuộc nhóm quang tự dưỡng, sinh trưởng tốt trong môi trường nước ấm, giàu khoáng và ưu kiềm. Tảo xoắn giàu protein (60-70% khối lượng khô) với thành phần axit amin cân đối và axit béo không no gamma-linolenic [1, 2]. Ngoài ra, tảo xoắn còn chứa nhiều sắc tố như chlorophyll, β -caroten, phycocyanin, xanthophyll, zeaxanthin, lutein, các khoáng chất như kẽm, sắt, magie và các loại vitamin nhóm B và E [3-5]. Chính vì vậy, tảo xoắn *Spirulina* được sử dụng làm thực phẩm chức năng hoàn hảo, giúp cân bằng nội tiết, tăng cường khả năng miễn dịch, ngăn ngừa lão hóa và giảm nguy cơ ung thư, được Tổ chức Y tế thế giới (WHO) công nhận là thực phẩm tốt nhất cho loài người trong thế kỷ XXI [5-8].

Ở miền Bắc Việt Nam, giai đoạn hè thu (tháng 5 đến tháng 10) tảo xoắn sinh trưởng tốt nhờ điều kiện ánh sáng và nhiệt độ phù hợp. Tuy nhiên, vào giai đoạn đông xuân (tháng 11 đến tháng 4) do thời tiết lạnh, cường độ ánh sáng thấp và thời gian chiếu sáng trong ngày giảm nên tảo sinh trưởng chậm. Trong đó, khoảng thời gian từ tháng 12 đến

cuối tháng 2 được coi là giai đoạn khó khăn nhất khi nuôi tảo ở miền Bắc do nhiệt độ xuống thấp và kéo trong nhiều ngày, dẫn đến hiệu ứng ức chế quang hợp (photoinhibition) xảy ra mạnh [9-11]. Để kéo dài thời gian nuôi tảo xoắn cần bổ sung ánh sáng và nâng nhiệt độ trong khu sản xuất tại các thời điểm cường độ ánh sáng giảm và nhiệt độ xuống thấp, chủ yếu ở giai đoạn đầu tháng 3 đến cuối tháng 4 và đầu tháng 11 đến cuối tháng 12. Tuy nhiên, trong thời điểm từ đầu tháng 1 đến cuối tháng 2 hàng năm, nhiệt độ và cường độ ánh sáng tụt giảm trong nhiều ngày, thậm chí xuống thấp hơn 15°C. Việc nâng nhiệt độ môi trường bể nuôi đòi hỏi nhiều giải pháp kỹ thuật và chi phí đầu tư lớn, đặc biệt là xây nhà kính khép kín, do đó, giải pháp bổ sung ánh sáng có tính khả thi hơn trong những giai đoạn khi nhiệt độ môi trường nuôi giảm nhưng vẫn ở mức cho phép tảo sinh trưởng [9-11]. Thực tế trong những năm gần đây cho thấy, mặc dù khoảng thời gian từ tháng 2 đến tháng 4 và từ tháng 11 đến tháng 12 cường độ ánh sáng và thời gian chiếu sáng tự nhiên giảm nhưng nhiệt độ vẫn ở trong phạm vi sinh trưởng của tảo xoắn, do đó có thể bổ sung chiếu sáng vào các khoảng thời gian này.

Đối với tảo xoắn *Spirulina*, sắc tố tham gia vào quang hợp bao gồm chlorophyll a (chlorophyll b chiếm tỷ lệ rất

*Tác giả liên hệ: Email: ndbach@vnua.edu.vn

Application of light-emitting diodes (LEDs) in the extension of the cultivation period of *Spirulina* in Northern Vietnam

Duc Bach Nguyen*, Thi Cam Mien Phi, Anh Tuan Kim, Thi Hien Nguyen, Le Dieu Huong Vu

Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture

Received 20 May 2021; accepted 5 July 2021

Abstract:

Spirulina (*Arthrospira platensis*) is cultured in Vietnam mainly as a functional food for humans and supplementary food for aquatic species. In the North, the most suitable time to cultivate *Spirulina* is from early May to late September. Other times, due to the decrease in light intensity and temperature, the growth of *Spirulina* significantly reduced and gave low yield, especially in the period from December to the end of February. This study investigated the influence of LEDs light on the growth of *Spirulina* during the periods from early March to late April (T3-T4), from early October to late November (T10-T11), and from early December to late February (T12-T2) in Hanoi. The results showed that the continuous irradiation of red LEDs increased the yield of *Spirulina* and pigments, phycocyanin, and chlorophyll in the two stages (T3-T4) and (T10-T11). The irradiation of both red and blue LEDs did not show a significant effect in the period T12-T2. Green LEDs did not significantly affect the growth of *Spirulina*. The research results provided an initial basis for the application of red LEDs to the extent of the cultivation time of *Spirulina* in the North of Vietnam.

Keywords: LED, light, Northern Vietnam, *Spirulina*, temperature.

Classification number: 4.6

nhỏ), carotenoid, phycocyanin. Trong đó, chlorophyll a là sắc tố quang hợp chủ yếu hấp thụ ánh sáng chủ yếu ở vùng ánh sáng xanh với đỉnh 430 nm và ánh sáng đỏ với đỉnh 662 nm; carotenoid hấp thụ ở vùng ánh sáng xanh với các đỉnh 440 và 470 nm; phycocyanin hấp thụ ở bước sóng đỉnh 605 nm [12, 13]. Do đó, việc bổ sung ánh sáng xanh và đỏ trong phạm vi đỉnh hấp thụ cực đại của các sắc tố sẽ góp phần tăng cường hiệu quả quang hợp của tảo xoắn.

Trong các loại đèn chiếu sáng hiện nay, đèn LED phát ra ánh sáng với bước sóng hẹp, hiệu suất chuyển đổi năng lượng cao nên có nhiều lợi thế trong việc sử dụng để nuôi tảo [14]. Gần đây, trên thế giới một số nghiên cứu đã sử dụng đèn LED để nuôi và sản xuất các hợp chất có giá trị từ tảo *Spirulina* trên cơ sở cung cấp ánh sáng đơn sắc ở vùng hấp thụ cực đại của các sắc tố quang hợp [15-21]. Ở Việt Nam, một số nghiên cứu ứng dụng đèn LED để nuôi tảo ở quy mô nhỏ và pilot đã được thực hiện [19-21]. Dựa trên cơ sở khoa học và điều kiện thực tiễn, nghiên cứu này đã khảo sát ảnh hưởng của đèn LED đỏ và đèn LED xanh ở các bước sóng 580 đến 720 nm (đỉnh 660 nm) và 430 đến 480 nm (đỉnh 460 nm) để nuôi tảo xoắn quy mô pilot trong các bể raceway ở các khoảng thời gian khác nhau tại huyện Gia Lâm, Hà Nội, nhằm đánh giá ảnh hưởng của đèn LED đến sự sinh trưởng của tảo xoắn, từ đó xác định được khoảng thời gian phù hợp để bổ sung đèn LED hiệu quả nhằm kéo dài thêm thời gian nuôi tảo trong năm ở miền Bắc Việt Nam.

Đối tượng và phương pháp

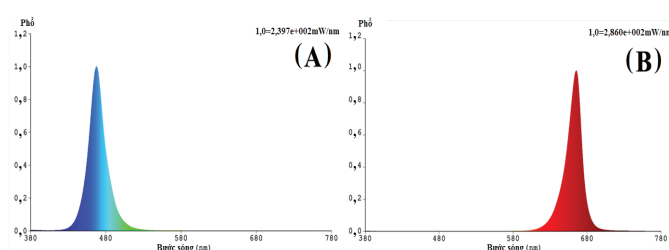
Đối tượng

Chủng giống tảo xoắn *Arthrospira platensis* NIES-46 được nhập từ Nhật Bản (Microbial Culture Collection/ National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Japan, 2018). Chủng *A. platensis* NIES-46 được nhân giống và nuôi trong môi trường Zarrouk [22] có hàm lượng (g/l): K_2HPO_4 (0,5), K_2SO_4 (1,0), $NaNO_3$ (2,5), $CaCl_2$ (0,04), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,2), $EDTA \cdot Na_2 \cdot 2H_2O$ (0,08), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,01), $NaHCO_3$ (16,8), vi lượng A5 (1 ml), B6 (1 ml). Trong đó, dung dịch A5 có thành phần (g/l): H_3BO_3 (2,88), $MnSO_4 \cdot H_2O$ (2,5), $ZnSO_4 \cdot 4H_2O$ (0,222), $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0,079), $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ (0,021) và dung dịch B6 (mg/l): NH_4VO_3 (22,96), $K_2Cr_2(SO_4)_4 \cdot 24H_2O$ (96,0), $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ (47,85), $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ (17,94), $TiOSO_4 \cdot H_2SO_4 \cdot 8H_2O$ (61,1), $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (43,98), pH môi trường khoảng 8,5-9,0. Thí nghiệm được triển khai tại huyện Gia Lâm, Hà Nội từ 2018 đến 2020.

Điều kiện nuôi cấy

Trong nghiên cứu này, đèn LED được cung cấp bởi Trung tâm R&D chiếu sáng, Công ty Cổ phần bóng đèn

phích nước Rạng Đông, gồm đèn huỳnh quang ánh sáng trắng T8 Deluxe 22 W 1,2 m, bóng thủy tinh, nguồn rời (model: BD TT01 NR M11/22Wx1). Đèn LED dài 1,2 mét, công suất 25 W gồm LED xanh (B) và LED đỏ (R) phát ra ánh sáng xanh từ 430 đến 480 nm (đỉnh 460 nm) và ánh sáng đỏ từ 580 đến 720 nm (đỉnh 660 nm) (hình 1). Trong khoảng thời gian thí nghiệm, đèn LED được chiếu bổ sung liên tục 24/24. Mức độ ảnh hưởng của đèn LED được đánh giá thông qua đường cong sinh trưởng, mật độ quang của huyền phù tảo được đo ở bước sóng 750 nm (A_{750}) và sinh khối tảo được quy đổi theo khối lượng tảo khô trong 1 lít huyền phù tảo (g/l).



Hình 1. Phổ phát quang của đèn LED xanh và đỏ. (A) Đèn LED xanh 25 W Rạng Đông, đỉnh 467 nm, cường độ PPF 26,643 $\mu\text{mol/s}$; (B) Đèn LED đỏ 25 W Rạng Đông, đỉnh 666 nm, cường độ PPF 41,371 $\mu\text{mol/s}$ (do bằng thiết bị HaasSuite (EVERFINE)).

Trong các thí nghiệm sử dụng đèn LED, khoảng cách đèn được đặt 20 cm từ nguồn sáng tới bình nuôi tảo hoặc bề mặt tảo nuôi trong 5 bể raceway (diện tích 50 m², 25x2 m, được đặt trong nhà lưới có mái che bằng nylon trong suốt) tại huyện Gia Lâm, Hà Nội. Tảo được nuôi trong bể raceway với mật độ tiếp giống ban đầu 0,12 g/l và khuấy trộn với tốc độ dòng chảy 20 cm/s bằng cánh khuấy.

Phương pháp nghiên cứu

Nhân tảo giống trong phòng thí nghiệm: chủng giống được nhân từ đĩa thạch, qua từng bước nâng dần thể tích trong môi trường Zarrouk ở nhiệt độ phòng (27 $\pm$ 2°C) bằng đèn huỳnh quang ánh sáng trắng, chu kỳ sáng:tối 16:8, sục khí qua màng lọc với tốc độ 5 l/phút. Sau đó, chủng giống được nâng lên thể tích 2,0 l trong bình thủy tinh Pyrex và nuôi trong nhà lưới có mái che cắt sáng (cường độ ánh sáng được điều chỉnh trong ngưỡng 15-25 klux, tương đương 270 đến 463 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Khi giống đạt độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 750 nm (A_{750}) là 0,8 (tương đương 0,85 g tảo khô/l) thì được chuyển sang bể raceway nhỏ (diện tích 2 m²) để tiếp tục nhân giống với tỷ lệ pha loãng giống 1:5 (v/v). Sau khi giống đạt mật độ tương tự như trên sẽ được chuyển sang bể giống lớn diện tích 50 m² với mật độ ban đầu 0,12 g/l. Môi trường Zarrouk được sử dụng cho tất cả các thí nghiệm và nhân sinh khối trong bể raceway. Môi trường được khử khuẩn qua đèn (12 giờ) trước khi tiếp giống bằng

cách sử dụng 6 đèn UV chìm công suất mỗi đèn 120 W đặt cách nhau 9 m.

Xác định năng suất sinh khối và tốc độ sinh trưởng riêng: tốc độ sinh trưởng của tảo *A. platensis* được xác định dựa vào khối lượng khô và mật độ quang (độ hấp thụ ánh sáng) ở bước sóng 750 nm (A_{750}) [23, 24]. Năng suất sinh khối được xác định theo phương trình: $PX=(X_t-X_0)/(t-t_0)$, trong đó: X_t là sinh khối (g/l) ở thời gian t (tính theo ngày) và X_0 là lượng sinh khối (g/l) ở thời điểm t_0 là thời điểm bắt đầu sau khi cấy giống. Tốc độ sinh trưởng riêng hay đặc trưng (μ) được xác định theo phương trình $\mu=\ln(X_t/X_0)/(t-t_0)$, khi tảo đang sinh trưởng ở trong pha logarit. Thời gian nhân đôi hay thời gian thế hệ (doubling time) $T_d=\ln(2)/\mu$ (theo ngày) [25].

Xác định mối tương quan giữa khối lượng tảo khô và mật độ quang A_{750} : khối lượng tảo khô được xác định như sau: lấy 100 ml huyền phù tảo nuôi ở giai đoạn cuối của pha logarit lọc qua giấy lọc (Whatman GF/C filter No. 1), sấy khô ở 60°C cho tới khi khối lượng không đổi (khoảng 10 giờ), và xác định khối lượng bằng cách cân trực tiếp (OHAUS PX225D, Trung Quốc). Khối lượng khô (g/l) được tính bằng sự chênh lệch giữa khối lượng của giấy lọc có chứa tảo trước và sau khi đã sấy khô. Mối tương quan giữa A_{750} với khối lượng tảo khô được xây dựng dựa vào phân tích tương quan giữa các giá trị A_{750} tương ứng với các mức độ pha loãng huyền phù tảo [23, 24]. Đồ thị tương quan được xây dựng theo phương trình tuyến tính dạng $y=ax+b$ với hệ số tương quan R.

Xác định ảnh hưởng của đèn LED: thí nghiệm được tiến hành trong 4 khoảng thời gian: i) từ tháng 3 đến hết tháng 4 (T3-T4); ii) từ tháng 5 đến hết tháng 9 (T5-T9); iii) từ tháng 10 đến hết tháng 11 (T10-T11) và (iv) từ tháng 12 đến hết tháng 2 (T12-T2) trong 3 năm (2018-2020). Theo chiều dài 25 m của mỗi bể raceway, 6 đèn LED đỏ hoặc LED xanh được đặt ở một phía của bể, khoảng cách các đèn cách nhau 3 m và đèn cách mặt nước nuôi tảo 20 cm. Cường độ ánh sáng phát ra của đèn LED đỏ và LED xanh với PPF (Photosynthetic Photon Flux) tương ứng 40,948 và 26,643 mmol/s. Trong thời gian thí nghiệm, các đèn LED được chiếu sáng liên tục (cả ngày và đêm) trong khi vẫn được chiếu sáng bằng ánh sáng tự nhiên vào ban ngày với mục tiêu đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung đèn LED trong quá trình nuôi tảo ở quy mô sản xuất pilot trong các khoảng thời gian nêu trên. Ảnh hưởng của đèn LED đến sinh trưởng của tảo được đánh giá thông qua năng suất tảo khô tính theo g/l, đường cong sinh trưởng, tốc độ sinh trưởng riêng (μ) và thời gian thế hệ. Trong đó, đường cong sinh trưởng được xác định dựa vào mối tương quan giữa thời gian nuôi và lượng sinh khối tính theo khối lượng tảo khô/thể tích huyền

phù tảo (g/l) khi theo dõi liên tục trong 20 ngày, tính từ ngày bắt đầu tiếp giống vào môi trường.

Xác định hàm lượng các sắc tố: hàm lượng các sắc tố được xác định theo phương pháp của Aouir và cs (2017) [26] như sau: bột tảo khô (1 g) được nghiền trong acetone và khuấy mạnh bằng máy khuấy từ (Model 85-2, Trung Quốc). Hỗn hợp được đặt trong tối ở 4°C và ly tâm ở 4000 g trong 10 phút (Centrifuge 5403, Eppendorf, Đức). Dịch trong chứa các sắc tố chlorophyll a (Chl_a), chlorophyll b (Chl_b) và carotenoid tổng số (C_t) được phân tích sử dụng máy đo quang phổ (Shimadzu, UV-2600, Nhật Bản). Hàm lượng Chl_a , Chl_b và C_t (mg/g) được xác định ở bước sóng 645, 662 và 470 nm theo công thức của Lichtenthaler: $Chl_a = 13,75.A_{664} - 5,19.A_{649}$, $Chl_b = 27,43.A_{649} - 8,12.A_{664}$, $C_t = 1000.A_{470} - 2,13.Chl_a - 97,64.Chl_b/209$ [27]. Trong đó, A_{662} , A_{645} và A_{470} là độ hấp thụ ở ánh sáng tương ứng với các bước sóng 662, 645 và 470 nm. Hàm lượng phycocyanin được xác định theo phương pháp của Yoshikawa (2008) [28]. Bột tảo khô (2 g) được ngâm trong dung dịch đệm phosphate 0,1 M chứa Na_2HPO_4 và KH_2PO_4 (pH 6,5), trộn đều và ủ ở trong bể ổn nhiệt 30°C trong 16 giờ. Sau đó, dung dịch được ly tâm trong 20 phút tại 10°C ở 4000 g và dịch nổi chứa PC được thu lại. Dịch nổi được đo độ hấp thụ ở bước sóng 620, 650 và 280 nm. Hàm lượng phycocyanin (mg/ml) được xác định theo công thức: $[PC] = [A_{620} - (0,72.A_{650})]/6,29$. Hàm lượng aphyocyanin (mg/ml) $= [A_{650} - (0,191.A_{620})]/5,79$ [25]. Trong đó, A_{620} và A_{650} là độ hấp thụ quang học ở các bước sóng 620 và 650 nm. Độ sạch của PC (c-phycocyanin) được đánh giá dựa vào tỷ lệ A_{620}/A_{280} , giá trị từ 0,65 đến 0,82 được coi là sạch [29]. Hàm lượng sau đó được quy đổi theo khối lượng tảo khô sử dụng để tách chiết tính theo mg/g.

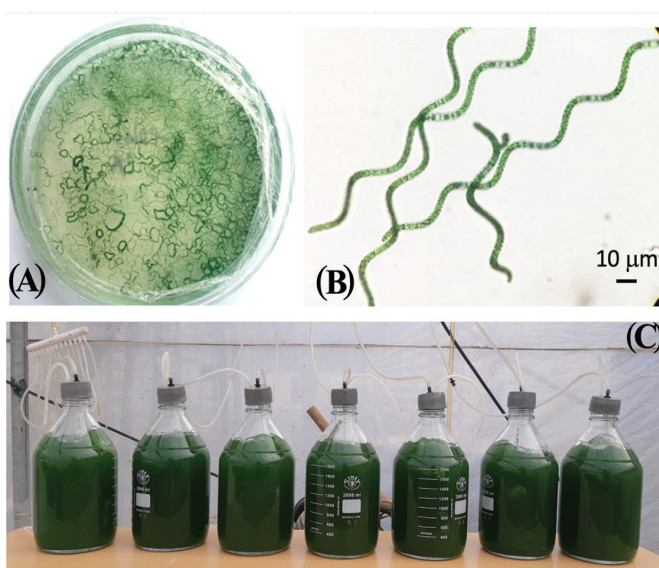
Phân tích số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần để phân tích giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD). Chương trình Microsolf Excel (2016) được sử dụng để vẽ các đồ thị. Sự sai khác giữa các giá trị trung bình được phân tích bằng phân tích phương sai (ANOVA) với mức ý nghĩa $p=0,05$. Hậu kiểm (Tukey's test) được áp dụng để xác định sự khác nhau giữa cặp các giá trị trung bình trong các thí nghiệm.

Kết quả và thảo luận

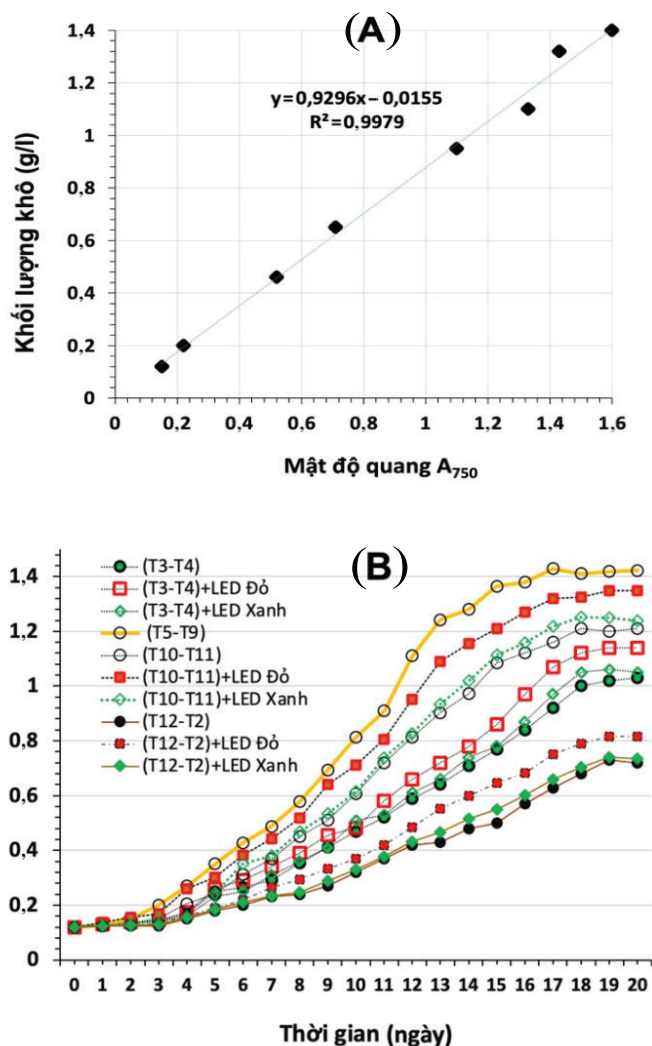
Xác định đường cong sinh trưởng và khối lượng tảo khô

Chủng giống *A. platensis* NIES-46 được nhân lên từ đĩa thạch bằng môi trường Zarrouk lỏng trong các bình thủy tinh với thể tích tăng dần từ 200 đến 1000 ml trong phòng thí nghiệm. Sau đó tảo giống tiếp tục được nhân lên trong các bình thủy tinh Pyrex 2 l trong nhà lưới (hình 2).



Hình 2. Chủng giống tảo xoắn *A. platensis* NIES-46. (A) Chủng giống được lưu giữ trên đĩa thạch, (B) Hình thái chủng giống dưới kính hiển vi quang học với độ khuếch đại 100 lần (thang 10 μ m), (C) Tảo giống được nhân trong bình thủy tinh Pyrex 2 l trong nhà lưới.

Các thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của đèn LED được thực hiện 3 mẻ liên tục từ đầu tháng 3 đến cuối tháng 4 với thời gian mỗi mẻ 20 ngày tính từ ngày tiếp giống. Khi phân tích đường cong sinh trưởng của chủng NIES-46 ở quy mô bể nuôi raceway 50 m² cho thấy, giai đoạn T3-T4, tảo sinh trưởng chậm, mật độ tảo đạt tối đa $1,07 \pm 0,05$ ở bể đối chứng (không chiếu bổ sung đèn LED đỏ), trong khi thí nghiệm chiếu bổ sung đèn LED đỏ mật độ tảo đạt $1,12 \pm 0,07$ (hình 3, bảng 1). Nguyên nhân của việc tăng mật độ tảo khi chiếu sáng bổ sung bằng đèn LED từ tháng 3 đến cuối tháng 4 chủ yếu là do cường độ và thời gian chiếu sáng trong ngày ở giai đoạn này tương đối thấp (từ 5-6 giờ/ngày), nhiệt độ trong bể nuôi thấp (dao động từ 18-25°C) và thời tiết biến động mạnh. Việc bổ sung đèn LED xanh mặc dù có tác dụng tăng mật độ tế bào nhưng mức độ tăng không có ý nghĩa thống kê. Tiếp đó, giai đoạn T5-T9, tảo sinh trưởng nhanh và cho năng suất cao nhất, đây cũng là khoảng thời gian lý tưởng nhất để nuôi tảo ở miền Bắc Việt Nam. Số liệu theo dõi liên tục trong 3 năm (2018-2020) cho thấy, năng suất tảo cao nhất trong giai đoạn T5-T9 đạt $1,41 \pm 0,08$ g/l, tương đương $A_{750} = 1,53$ (hình 3B, bảng 1). Trong 2 tháng, giai đoạn T10-T11, mặc dù nhiệt độ và cường độ ánh sáng đã giảm nhưng thời tiết tương đối ổn định, do đó, tảo vẫn sinh trưởng tốt, thời gian đạt pha cân bằng từ 17-18 ngày và năng suất cao nhất đạt $1,21 \pm 0,06$ g/l ở ngày thứ 18 (hình 3B). Tuy nhiên, khi chiếu ánh sáng LED liên tục trong giai đoạn này đã giúp tăng mật độ tảo lên $1,36 \pm 0,11$ vào ngày thứ 17 ($p < 0,01$). Thực tế qua khảo sát từ



Hình 3. Tương quan giữa mật độ quang với khối lượng khô và đường cong sinh trưởng. (A) Mối tương quan giữa khối lượng khô (g/l) và mật độ quang (A_{750}) đo ở bước sóng 750 nm, (B) Đường cong sinh trưởng của tảo theo thời gian ở các điều kiện nuôi khác nhau.

2018 đến 2020, trong giai đoạn T12-T2, cường độ ánh sáng và thời gian chiếu sáng trong ngày giảm mạnh, đồng thời nhiệt độ trong bể nuôi giảm xuống mức thấp hơn 15°C và kéo dài hàng tuần. Trong điều kiện này, việc nuôi tảo rất khó khăn bởi vì việc chiếu sáng bổ sung bằng đèn LED không có tác động tích cực do hiệu ứng quang ức chế trong điều kiện nhiệt độ thấp [9-11]. Chính vì vậy, nhiều cơ sở nuôi tảo trong nước và khu vực châu Á đã dừng nuôi trong giai đoạn này, do đó, thời gian nuôi tảo trong năm thường bị giảm đáng kể [30, 31]. Đường cong sinh trưởng của tảo ở giai đoạn T12-T2 biểu hiện tăng chậm, không thể hiện rõ pha sinh trưởng logarit và sau từ 18 đến 20 ngày tảo mới đạt pha cân bằng với mật độ tương đối thấp (0,6-0,7 g/l) (hình 3B).

Bảng 1. Khối lượng khô tối đa và hàm lượng sắc tố của chủng NIES-46 nuôi ở các điều kiện khác nhau.

Điều kiện nuôi	Khối lượng khô tối đa (g/l)	Hàm lượng các sắc tố (mg/g khô)			Tỷ lệ Chl/Ct
		Phycocyanin	Chlorophyll (Chl)	Carotenoid (Ct)	
(T3-T4)	$1,07 \pm 0,05^a$	$121,03 \pm 7,4^a$	$5,76 \pm 0,11^a$	$2,69 \pm 0,18^a$	2,14
(T3-T4) + LED đỏ	$1,16 \pm 0,08^b$	$137,46 \pm 9,37^b$	$5,85 \pm 0,10^b$	$2,52 \pm 0,08^a$	2,32
(T3-T4) + LED xanh	$1,12 \pm 0,07^a$	$125,63 \pm 7,22^a$	$5,54 \pm 0,12^c$	$2,78 \pm 0,13^a$	1,99
(T5-T9)	$1,41 \pm 0,08^c$	$158,98 \pm 8,78^c$	$6,53 \pm 0,13^c$	$2,85 \pm 0,16^b$	2,29
(T10-T11)	$1,21 \pm 0,06^b$	$135,03 \pm 9,75^b$	$5,96 \pm 0,07^b$	$2,63 \pm 0,09^a$	2,27
(T10-T11) + LED đỏ	$1,36 \pm 0,11^c$	$147,16 \pm 7,26^c$	$6,29 \pm 0,12^d$	$2,57 \pm 0,11^a$	2,45
(T10-T11) + LED xanh	$1,25 \pm 0,10^b$	$130,52 \pm 9,56^a$	$6,15 \pm 0,16^d$	$2,96 \pm 0,18^b$	2,08
(T12-T2)	$0,73 \pm 0,09^d$	$138,63 \pm 7,59^d$	$5,68 \pm 0,15^d$	$2,89 \pm 0,12^b$	1,97
(T12-T2) + LED đỏ	$0,82 \pm 0,07^d$	$138,51 \pm 9,12^d$	$5,47 \pm 0,10^d$	$2,75 \pm 0,09^a$	1,99
(T12-T2) + LED xanh	$0,76 \pm 0,09^d$	$136,47 \pm 8,96^d$	$5,34 \pm 0,09^d$	$3,02 \pm 0,12^b$	1,77

Ghi chú: các chỉ số a,b,c và d thể hiện sự khác biệt về mặt thống kê ($p < 0,05$) khi so sánh giá trị trung bình giữa các nhóm công thức thí nghiệm. Các giá trị khối lượng khô và hàm lượng các sắc tố được phân tích dựa vào số liệu thu được từ kết quả của 3 mẻ nuôi/năm qua các năm 2018, 2019 và 2020.

Ảnh hưởng của đèn LED đến sinh trưởng của tảo về hiệu quả kinh tế

Khi so sánh ảnh hưởng của việc chiếu bổ sung đèn LED liên tục (24/24) tới sinh trưởng của tảo khi nuôi trong nhà lưới ở các giai đoạn T3-T4 và T10-T11 cho thấy, việc bổ sung đèn LED đỏ ở bước sóng 580 đến 720 nm (đỉnh 660 nm) cho tốc độ sinh trưởng và năng suất cao hơn khoảng 10-12% so với không bổ sung ánh sáng (nuôi trong điều kiện ánh sáng tự nhiên) (hình 3B). Khi so sánh với đối chứng T5-T9, việc bổ sung đèn LED đỏ, mặc dù có kích thích sinh trưởng của tảo nhưng thời gian để đạt tới pha cân bằng vẫn kéo dài hơn từ 3 đến 4 ngày và năng suất thấp hơn tương ứng khoảng 10% ở giai đoạn T10-T11 và 18% ở giai đoạn T3-T4. Xét về mặt hiệu quả kinh tế, ở giai đoạn T10-T11, việc bổ sung đèn LED đỏ có tác động tích cực tới sự sinh trưởng của tảo, năng suất tăng 10-12%. Tuy nhiên, mức tăng này cũng chỉ bằng gần 80% so với đối chứng T5-T9. Ảnh hưởng của đèn LED đỏ và xanh đối với thành phần sắc tố phycocyanin, chlorophyll và carotenoid không rõ rệt đáng kể. Ở giai đoạn T10-T11, việc bổ sung đèn LED đỏ kích thích sinh trưởng của tảo đi kèm với việc tăng hàm lượng phycocyanin 8,2% và chlorophyll 5,5% so với việc không chiếu đèn. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu về tác động của đèn LED đỏ và xanh đến sản xuất phycocyanin [17, 32-34]. Trong điều kiện thí nghiệm, tác động của đèn LED xanh và LED đỏ đến hàm lượng sắc tố thuộc nhóm carotenoid không thực sự rõ rệt so với đối chứng (bảng 1).

Trong điều kiện thí nghiệm ở quy mô pilot, việc sử dụng đèn LED công suất 25 Wh chiếu sáng liên tục 24/24 khi nuôi theo dạng mẻ 15 ngày (thu sinh khối khi tảo phát triển

gần cuối pha logarit, với giá trị A_{750} khoảng 1,1-1,2) với 6 bóng đèn tiêu thụ 54 kWh cho mỗi bể raceway 50 m² (hình 4A, B). Tính trung bình thời gian nuôi tảo mỗi mẻ từ 12-13 ngày, lượng tảo thu được của mỗi bể diện tích 50 m² khoảng 4 kg tảo khô/mẻ. Tại thời điểm nghiên cứu (2018-2020), 1 kWh điện giá từ 1500 đến 2000 đồng thì chi phí điện năng khi bổ sung đèn LED cho 1 mẻ đối với 1 bể nuôi khoảng 80 đến 110 nghìn đồng. Nếu giá tảo dao động từ 1,0 đến 1,5 triệu đồng/kg khô thì với mức tăng năng suất 10-12% hoàn toàn có thể bù được năng lượng điện tiêu hao để duy trì sản xuất. Như vậy, xét ở khía cạnh chi phí điện năng và lợi ích đem lại, việc bổ sung chiếu sáng bằng đèn LED đỏ có hiệu quả về mặt kinh tế. Tuy nhiên, việc đầu tư đèn LED ban đầu là khá lớn, do đó hiệu quả kinh tế thực cần phải tính toán đến diện tích nuôi. Theo tính toán sơ bộ trong điều kiện nghiên cứu này, với diện tích nuôi thực 1000 m² (20 bể nuôi raceway với diện tích 50 m²/bể) thì việc đầu tư và sử dụng đèn LED hoàn toàn đem lại lợi ích về mặt kinh tế.

Ở giai đoạn T3-T4, mặc dù năng suất tảo tăng khoảng 10% khi sử dụng đèn LED đỏ so với không sử dụng nhưng năng suất so với đối chứng (T5-T9) là thời điểm thuận lợi nhất vẫn thấp hơn 18%. Do đó, việc áp dụng đèn LED ở giai đoạn này cần phải tính toán chặt chẽ đến các tham số như tổng chi phí điện năng, nhân công và giá thành thương mại. Qua khảo sát thị trường tảo xoắn tươi những năm gần đây, nhu cầu sử dụng tảo tươi ở giai đoạn T3-T4 vẫn khá cao, do đó vẫn có thể áp dụng đèn LED đỏ để duy trì nuôi tảo (số liệu không công bố). Tuy nhiên, nếu để thu tảo ở dạng bột khô thì việc duy trì sản xuất cần phải tính toán chi tiết hơn về quy mô, năng suất, công nghệ cũng như điều kiện nuôi tại mỗi cơ sở nuôi tảo, vì về cơ bản điều kiện thời tiết miền Bắc không thuận lợi so với các vùng khác trong cả nước.

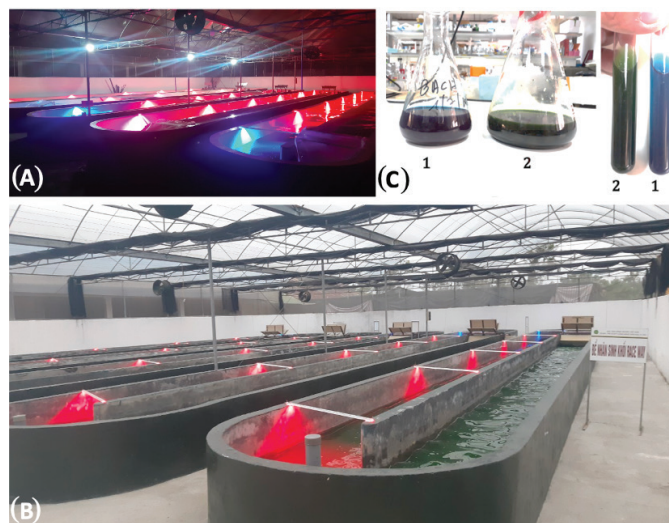
Phân tích ảnh hưởng của đèn LED xanh cho thấy, đèn LED xanh có tác dụng kích thích sự sinh trưởng của tảo xoắn *Spirulina* ở cả giai đoạn T3-T4 và T11-T12 nhưng không đáng kể (hình 3B và bảng 1). Tuy nhiên, trong điều kiện thử nghiệm này, việc chiếu sáng bổ sung liên tục bằng đèn LED xanh lại có tác dụng làm giảm đáng kể sự hình thành biofilm và mật độ động vật nguyên sinh trong bể raceway (dữ liệu chưa công bố) [19]. Điều này có thể do ánh sáng xanh ức chế một phần sự hoạt động của các vi khuẩn và nguyên sinh động vật. Tác động ức chế vi khuẩn, nguyên sinh động vật và các dạng ký sinh bởi đèn LED xanh cũng đã được mô tả bởi một số nghiên cứu [19, 34, 35]. Mặc dù vậy, xét về mặt năng suất và giá trị kinh tế, việc sử dụng đèn LED xanh để nuôi tảo trong các giai đoạn T3-T4 và T11-T12 cần phải tính toán chi phí nhân công, vật tư tiêu hao và chi phí đầu tư mua đèn.

Ở giai đoạn T12-T2, hiệu ứng của đèn LED không được thể hiện rõ rệt, nguyên nhân có thể là do hiện tượng quang ức chế (photoinhibition) nhiệt độ trong bể nuôi xuống thấp dưới ngưỡng hoạt động của hệ thống quang hợp. Đây cũng là hiện tượng phổ biến xảy ra không chỉ ở điều kiện khí hậu

miền Bắc Việt Nam mà còn ở nhiều vùng sinh thái khác trên thế giới [9, 10, 31, 36]. Do đó, việc kiểm soát nhiệt độ hoặc theo dõi nhiệt độ trong bể nuôi là điều kiện bắt buộc để duy trì sản xuất nếu nuôi tảo trong giai đoạn T12-T2.

Ảnh hưởng của đèn LED đến khối lượng khô tối đa và hàm lượng sắc tố

Phân tích khối lượng khô và hàm lượng các sắc tố cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về khối lượng khô khi nuôi ở các thời điểm khác nhau trong năm. Tảo nuôi ở giai đoạn T3-T4 cho khối lượng khô tối đa đạt 1,07 g/l sau 18 ngày nuôi, trong khi vào giai đoạn T5-T9, giá trị này đạt cao nhất 1,41 g/l (gấp 1,32 lần). Hàm lượng chlorophyll tỷ lệ với tốc độ sinh trưởng và mật độ của tảo, cao nhất vào giai đoạn T5-T9 6,53 mg/g (hình 3B và bảng 1). Trong 3 năm (2018-2020), cường độ ánh sáng có thể đạt mức 60 klux (1110 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) tại bề mặt bể nuôi vào thời điểm từ 13 đến 15 giờ, cường độ này vượt ngưỡng phù hợp cho tảo sinh trưởng từ 30-40 klux (556-740 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) [1, 37].



Hình 4. Nghiên cứu ảnh hưởng của đèn LED và tách chiết sắc tố từ tảo xoắn *Spirulina*. Hình ảnh minh họa ảnh hưởng của đèn LED đến sinh trưởng của chủng NIES-46 ban đêm (A) và ban ngày (B) trong khoảng thời gian từ T2-T4 năm 2019 thực hiện tại Gia Lâm, Hà Nội. Kết quả tách các sắc tố từ tảo xoắn *Spirulina* (C), trong đó dung dịch phycocyanin (1) và dung dịch chlorophyll (2).

Khi so sánh tỷ lệ chlorophyll/carotenoid ở các giai đoạn tháng T2-T4, T10-T12 và đối chứng T5-T9 cho thấy tỷ lệ tương ứng 2,14, 2,26 và 2,46 (bảng 1), chứng tỏ giai đoạn T5-T9 tốc độ sinh trưởng của tảo đạt cao nhất. Theo nghiên cứu của Valdés và cs (2016) [38], hàm lượng chlorophyll cao tỷ lệ với tốc độ sinh trưởng của vi tảo nói chung, trong đó có tảo xoắn *Spirulina*. Trong điều kiện thí nghiệm, tốc độ sinh trưởng riêng (μ) ở giai đoạn T5-T9 đạt cao nhất 0,176, tương đương với thời gian thế hệ (nhân đôi) của tảo khoảng 3,94 ngày/thế hệ (bảng 2). Việc chiếu đèn LED đỏ giúp tăng tỷ lệ chlorophyll/carotenoid ở tất cả các công thức

thí nghiệm (bảng 1), chứng tỏ ánh sáng LED đỏ có tác dụng kích thích tăng trưởng của tảo xoắn *Spirulina*, điều này cũng phù hợp với kết quả phân tích khối lượng khô tối đa trong các công thức thí nghiệm.

Bảng 2. Tốc độ sinh trưởng riêng và thời gian nhân đôi của tảo trong các điều kiện khác nhau.

Các điều kiện thí nghiệm	Tốc độ sinh trưởng riêng (μ)	Thời gian nhân đôi (ngày)
(T3-T4)	0,157 $\pm$ 0,023 ^a	4,41 $\pm$ 0,43 ^a
(T3-T4) + LED đỏ	0,171 $\pm$ 0,034 ^b	4,05 $\pm$ 0,31 ^b
(T3-T4) + LED xanh	0,163 $\pm$ 0,027 ^a	4,25 $\pm$ 0,58 ^a
(T5-T9)	0,176$\pm$0,043^b	3,94$\pm$0,43^c
(T10-T11)	0,163 $\pm$ 0,033 ^a	4,25 $\pm$ 0,53 ^a
(T10-T11) + LED đỏ	0,178 $\pm$ 0,042 ^b	3,89 $\pm$ 0,37 ^c
(T10-T11) + LED xanh	0,165 $\pm$ 0,018 ^a	4,20 $\pm$ 0,39 ^a
(T12-T2)	0,129 $\pm$ 0,024 ^c	5,37 $\pm$ 0,60 ^d
(T12-T2) + LED đỏ	0,142 $\pm$ 0,024 ^d	4,88 $\pm$ 0,51 ^c
(T12-T2) + LED xanh	0,13 $\pm$ 0,021 ^c	5,33 $\pm$ 0,42 ^d

Ghi chú: các chỉ số a, b, c, d và e thể hiện sự khác biệt về mặt thống kê ($p < 0,05$) khi so sánh giá trị trung bình giữa các nhóm công thức thí nghiệm. Các giá trị tốc độ sinh trưởng riêng (μ) và hàm lượng các sắc tố được phân tích dựa vào số liệu thu được từ kết quả của 3 mẻ nuôi/năm qua các năm 2018, 2019 và 2020.

Thực tế, dải phổ hấp thụ ánh sáng của các sắc tố của vi tảo bao gồm chủ yếu là chlorophyll a, phycocyanin và phycobilisome (một phần phycoerythrin) phổ hấp thụ ánh sáng đỏ từ 580 đến 720 nm (đỉnh 660 nm) thuộc quang hệ II. Đối với tảo xoắn *Spirulina*, thành phần Chl_a chiếm tỷ lệ lớn trong khi thành phần Chl_b chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ. Đỉnh hấp thụ của Chl_a chủ yếu ở bước sóng 662 nm và một phần ở vùng ánh sáng xanh với đỉnh 430 nm. Phycocyanin là nhóm sắc tố thuộc nhóm phycobiliprotein có mặt ở vi khuẩn lam, trong đó ở tảo xoắn *Spirulina*, tùy thuộc vào điều kiện nuôi mà tỷ lệ phycocyanin sẽ chiếm từ 9-20% khối lượng khô [39, 40]. Phycocyanin hấp thụ vùng ánh sáng đỏ, trong đó đỉnh hấp thụ ở bước sóng 605 nm. Chính vì vậy, việc sử dụng ánh sáng LED đỏ sẽ phù hợp cho cả hai loại sắc tố Chl_a và phycocyanin, giúp tảo sinh trưởng tốt và hiệu quả hơn.

Kết luận

Trong điều kiện ở miền Bắc Việt Nam, giai đoạn T5-T9 phù hợp nhất để nuôi tảo *Spirulina*. Ở mật độ cấy giống 0,12 g/l, sau 12 đến 13 ngày cho hiệu quả thu hoạch tốt nhất. Đèn LED đỏ từ 580-720 nm (đỉnh 660 nm) có tác dụng kích thích sinh trưởng và tăng hàm lượng chlorophyll ở tảo xoắn *Spirulina* trong giai đoạn T3-T4 và T10-T11 nuôi ở quy pilot tại Gia Lâm, Hà Nội. Việc bổ sung chiếu sáng bằng đèn LED đỏ giúp tăng năng suất và kéo dài thời gian nuôi thêm từ 2 đến 3 tháng/năm, đặc biệt ở giai đoạn T10-T12. Đèn LED xanh từ 430-480 nm (đỉnh 460 nm) mặc dù có tác động tăng sinh trưởng của tảo nhưng chưa thực sự hiệu quả

trong điều kiện thử nghiệm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được cấp kinh phí từ đề tài: “Nghiên cứu công nghệ sản xuất sản phẩm giàu chất chống oxy hóa từ 3 loài vi tảo *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis* và *Dunalliella salina*”, thuộc Dự án thành phần “Tăng cường năng lực khoa học công nghệ và đào tạo nguồn nhân lực phục vụ tái cơ cấu nông nghiệp và xây dựng nông thôn mới”, mã số ĐTKHCN.WB.10/20. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Vonshak (1997), *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology, CRC Press, DOI: 10.1201/9781482272970.
- [2] A.L.C. Menegotto, C. Luciane, C.E. Cristiane (2016), “Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **97**(3), pp.724-732.
- [3] W.S. Park, H.J. Kim, M. Li, D.H. Lim, J. Kim, J.J. Kwak, C.M. Kang, M.G. Ferruzzi, M.J. Ahn (2018), “Two classes of pigments, carotenoids and C-Phycocyanin, in *Spirulina* powder and their antioxidant activities”, *Molecules*, **23**(8), DOI: 10.3390/molecules23082065.
- [4] M.R. Farag, M. Alagawany, M.E.A.E. Hack, K. Dhama (2016), “Nutritional and health aspects of *Spirulina* (Arthrospira) for poultry, animals and human”, *International Journal of Pharmacology*, **12**, pp.36-51.
- [5] M.A.B. Habib, M. Parvin, T.C. Huntington, M.R. Hasan (2008), “A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals”, *F.A.O. Fisheries and Aquaculture Circular*, **1034**, 33pp.
- [6] Đặng Diễm Hồng (2019), *Nuôi trồng vi tảo giàu dinh dưỡng làm thực phẩm chức năng cho người và động vật nuôi ở Việt Nam, Chương 4. Bộ sách chuyên khảo Tài nguyên thiên nhiên và môi trường Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ, 750tr.
- [7] M. Mathur (2019), *Bioactive Molecules of Spirulina: a Food Supplement, Bioactive Molecules in Food*, Springer, DOI: 10.1007/978-3-319-54528-8_97-1.
- [8] N. Seyidoglu, S. Inan, C. Aydin (2017), “A prominent superfood: *Spirulina platensis*, superfood and functional food - The development of superfoods and their roles as medicine”, *IntechOpen*, DOI: 10.5772/66118.
- [9] A. Vonshak R. Guy (1992), “Photoadaptation, photoinhibition and productivity in the blue-green alga”, *Plant, Cell and Environment*, **15**, pp.613-616.
- [10] A. Vonshak (1994), “Effect of light and temperature on the photosynthetic activity of the cyanobacterium *Spirulina platensis*”, *Biomass and Bioenergy*, **6**(5), pp.399-403.
- [11] A. Vonshak, S. Laorawat, B. Bunnag, M. Tanticharoen (2014), “The effect of light availability on the photosynthetic activity and productivity of outdoor cultures of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*)”, *Journal of Applied Phycology*, **26**, pp.1309-1315.
- [12] E. Jacob-Lopes, M.I. Queiroz, L.Q. Zepka (2020), *Pigments from microalgae handbook*, Springer International Publishing, pp.1-80.

- [13] S. Akimoto, M. Yokono, F. Hamada, A. Teshigahara, S. Aikawa, A. Kondo (2012), "Adaptation of light-harvesting systems of *Arthrospira platensis* to light conditions, probed by time-resolved fluorescence spectroscopy", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, **1817**(8), pp.1483-1489.
- [14] H.S.G. Raqiba (2019), "Light emitting diode (LED) illumination for enhanced growth and cellular composition in three microalgae", *Advances in Microbiology Research*, **3**(1), pp.1-6.
- [15] G. Markou (2014), "Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode", *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **172**(5), pp.2758-2768.
- [16] D.D. Prates, E.M. Radmann, J.H. Duarte, M.G. Morais, J.A.V. Costa (2018), "*Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: enhanced cell growth and phycocyanin production", *Bioresour. Technol.*, **256**, pp.38-43.
- [17] E. Kilimtizi, S.C. Bermudez, G. Markou, K. Goiris, D. Vandamme, K. Muylaert (2019), "Enhanced phycocyanin and protein content of *Arthrospira* by applying neutral density and red light shading filters: a small-scale pilot experiment", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **94**(6), pp.2047-2054.
- [18] C.Y. Wang, C.C. Fu, Y.C. Liu (2007), "Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*", *Biochemical Engineering Journal*, **37**(1), pp.21-25.
- [19] Nguyễn Đức Bách, Nguyễn Phan Khuê, Phí Thị Cẩm Miên, Kim Anh Tuấn, Nguyễn Thị Hiền (2020), "Nghiên cứu ảnh hưởng của đèn LED đến sinh trưởng, hàm lượng sắc tố và khả năng thích ứng của một số chủng tảo xoắn *Arthrospira platensis* trong mùa đông ở miền bắc Việt Nam", *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, **18**(8), tr.637-648.
- [20] L.C. Kim, T.N.H. Huỳnh, Q.P. Trương (2018), "Ảnh hưởng của màu sắc ánh sáng lên sự phát triển của tảo *Spirulina platensis*", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **54**(9B), tr.75-81.
- [21] Võ Hồng Trung, Nguyễn Thị Bích Ngọc, Trần Huỳnh Phong, Nguyễn Thị Hồng Phúc (2017), "Ảnh hưởng của chất lượng ánh sáng lên sự tăng trưởng, hàm lượng carbohydrate và protein ở *Spirulina* sp.", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh*, **14**(12), tr.117-126.
- [22] C. Zarrouk (1966), *Contribution a l'etude d'une cyanobacterie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina maxima (Setchell et Gardner)* Geitler, Ph.D thesis, University of Paris, France.
- [23] M.J. Griffiths, C. Garcin, R.P. Hille, S.T.L. Harrison (2011), "Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density", *J. Microbiol. Methods*, **85**(2), pp.119-123.
- [24] G.F.P. da Silva de Castro, R.F. Rizzo, T.S. Passos, B.N.C. dos Santos, D. da Silva Dias, J.R. Domingues, K.G. de Lima Araújo (2015), "Biomass production by *Arthrospira platensis* under different culture conditions", *Food Sci. Technol. Campinas*, **35**(1), pp.18-24.
- [25] A.M. Wood, R.C. Everroad, L.M. Wingard (2005), "Chapter 18 Measuring growth rates in microalgal cultures", *Algal Culturing Techniques*, Elsevier Academic Press, pp.269-285.
- [26] M. Aouir, A. Amiali, A. Bitam, A. Benchabane, V. Raghavan (2017), "Comparison of the biochemical composition of different *Arthrospira platensis* strains from Algeria, Chad and the USA", *Journal of Food Measurement and Characterization*, **11**(2), DOI: 10.1007/s11694-016-9463-4.
- [27] H.K. Lichtenthaler (1987), "Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes", *Methods Enzymology*, **148**, pp.350-382.
- [28] O. Yoshikawa (2008), "Single-laboratory validation of a method for the determination of c-phycocyanin and allophycocyanin in *Spirulina* (*Arthrospira*) supplements and raw materials by spectrophotometry", *J. AOAC Int.*, **91**(3), pp.524-529.
- [29] A. Herrera, A. Napoleone, A. Hohlberg (1989), "Recovery of c-phycocyanin from the cyanobacterium *Spirulina maxima*", *Journal of Applied Phycology*, **1**, pp.325-331.
- [30] G.F.P. Castro, R.F. Rizzo, T.S. Passos, B.N.C. Santos, J.R. Dias, K.G. Domingues, L. Araújo (2015), "Biomass production by *Arthrospira platensis* under different culture conditions", *Food Science and Technology (Campinas)*, **35**(1), pp.18-24.
- [31] Y.M. Lu, W.Z. Xiang, Y.H. Wen (2011), "*Spirulina* (*Arthrospira*) industry in inner Mongolia of China: current status and prospects", *Journal of Applied Phycology*, **23**, pp.265-269.
- [32] F. Tian, D. Buso, T. Wang, M. Lopes, U. Niangoran, G. Zissis (2018), "Effect of red and blue LEDs on the production of phycocyanin by *Spirulina platensis* based on photosynthetically active radiation", *Journal of Science and Technology in Lighting*, **41**, pp.148-152.
- [33] M.B. Bachchhav, M.V. Kulkarni, A.G. Ingale (2016), "Enhanced phycocyanin production from *Spirulina platensis* using Light Emitting Diode", *Journal of the Institution of Engineers (India) Series E*, **98**(1), pp.41-45.
- [34] H.J. Roh, A. Kim, G. Kang, D.H. Kim (2018), "Blue light-emitting diode light at 405 and 465 nm can inhibit a protozoan infection in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*", *Aquaculture*, **493**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.04.045.
- [35] A.D. Lucca, C.C. Wientjes, K.A. Williams, D. Bhatnagar (2012), "Blue light (470 nm) effectively inhibits bacterial and fungal growth", *Letters in Applied Microbiology*, **55**(6), DOI: 10.1111/lam.12002.
- [36] J. Chen, Y. Wang, J.R. Benemann, X. Zhang, H. Hu, S. Qin (2015), "Microalgal industry in China: challenges and prospects", *J. Appl. Phycol.*, **28**, pp.715-725.
- [37] R.A. Soni, K. Sudhakar, R.S. Rana (2019), "Comparative study on the growth performance of *Spirulina platensis* on modifying culture media", *Energy Reports*, **5**, pp.327-336.
- [38] J.R. Benavente-Valdés, C. Aguilar, J.C. Contreras-Esquivel, A. Méndez-Zavala, J. Montañez (2016), "Strategies to enhance the production of photosynthetic pigments and lipids in chlorophyceae species", *Biotechnology Reports*, **10**, pp.117-125.
- [39] R. Chaiklahan, N. Chirasuwan, V. Loha, S. Tia, B. Bunnag (2018), "Stepwise extraction of high-value chemicals from *Arthrospira* (*Spirulina*) and an economic feasibility study", *Biotechnology Reports*, **20**, DOI: 10.1016/j.btre.2018.e00280.
- [40] Z. Cohen (1997), "The chemical of *Spirulina*", *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology, CRC Press, pp.175-204.