ASSESSMENT OF PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS AFFECTING THE GROWTH RATE AND PROTEIN SYNTHESIS OF SPIRULINA PLATENSIS DAS5

Nguyen Thi Hong[1] Do Ngoc Hieu[2]
Nguyen Ha Ngan[3] Mai Thi Lan Anh[4] Pham Thi Bich Dao[5]

[1, 2, 3, 4, 5]Thanh Do University
Email: *hn3920082@gmail.com[1]; hieudongoc123@gmail.com[2]; nganhan090106@gmail.com[3]; mailananh2603@gmail.com[4]; ptbdao@thanhdouni.edu.vn[5]*
Received: 15/11/2025; Reviewed: 14/01/2026; Revised: 30/01/2026; Accepted: 7/5/2025
DOI: *https://doi.org/10.58902/nckhpt.e-v2i1.318*

Abstract: *This study investigates the effects of physical (light intensity, temperature) and chemical (pH, $NaHCO_3$ concentration) factors on the growth rate and protein synthesis of Spirulina. Cultivation was conducted for 10 days under three levels of each factor. Growth was monitored via optical density (OD560) and dry biomass, while protein content was determined by the Lowry method. Results showed that all four factors significantly affected biomass production ($p < 0.05$). Optimal growth was achieved at 50 µmol/m²/s light intensity, 30 °C, pH 9.5, and 16.8 g/L $NaHCO_3$, yielding a maximum biomass of 2.619 g/L. Protein content also increased markedly and reached a maximum of 64.80% at the optimal $NaHCO_3$ concentration. ANOVA indicated that pH was the most influential factor affecting growth ($F = 317.059$), followed by light intensity ($F = 143.005$), both with highly significant effects ($p < 0.001$). For protein content, $NaHCO_3$ concentration ($F = 35.392$) and temperature ($F = 13.009$) were the two most impactful factors. This study provides essential baseline data for optimizing Spirulina cultivation, particularly for local strains and supports future applications in biomass and protein production at pilot and industrial scales.*

Keywords: *Spirulina platensis; Growth rate; Protein Synthesis.*

1. Giới thiệu

Spirulina (Arthrospira platensis) là vi tảo lam dạng xoắn được công nhận rộng rãi như một nguồn nguyên liệu sinh học có giá trị cao nhờ hàm lượng protein vượt trội 55–70% khối lượng khô, giàu acid amin thiết yếu, vitamin, khoáng chất và sắc tố sinh học như phycocyanin (Delrue và c.s., 2017; Musa và c.s., 2025). Spirulina đã được ứng dụng trong thực phẩm chức năng, dược phẩm, mỹ phẩm, chăn nuôi thủy sản và là một trong những ứng viên quan trọng trong công nghệ sinh học xanh và phát triển bền vững. Do đó, nhu cầu nghiên cứu tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy Spirulina trong phòng thí nghiệm và quy mô sản xuất ngày càng tăng.

Trong nuôi cấy vi tảo nói chung và Spirulina nói riêng, các yếu tố môi trường đóng vai trò then chốt. Các yếu tố vật lý như cường độ chiếu sáng và nhiệt độ quyết định trực tiếp đến hiệu suất quang hợp, tốc độ cố định CO_2 và năng lượng sinh học của tế bào (Arora Soni và c.s., 2019). Đồng thời, các yếu tố hóa học như pH và nồng độ $NaHCO_3$ ảnh hưởng đến cân bằng bicarbonate–carbonate và khả năng hấp thu carbon vô cơ thông qua cơ chế CCM (Carbon Concentrating Mechanism), từ đó ảnh hưởng mạnh đến tốc độ sinh trưởng và tích lũy protein (Zhang và c.s., 2023). Những thay đổi nhỏ của các yếu tố này có thể làm tăng đáng kể sinh khối hoặc ngược lại gây ức chế tăng trưởng, ảnh hưởng đến chất lượng sinh khối thu được.

Nhiều nghiên cứu đề cập đến tối ưu hoá, song phần lớn tập trung vào từng yếu tố riêng lẻ, chưa có đánh giá tổng hợp và định lượng tác động đồng thời của các yếu tố này trong cùng điều kiện nuôi cấy chuẩn Zarrouk. Trong thực tế sản xuất, nhiều cơ sở nuôi cấy Spirulina vẫn áp dụng các điều kiện môi trường dựa trên kinh nghiệm hoặc dựa trên dữ liệu từ các chủng nước ngoài, trong khi đặc điểm sinh lý của từng chủng Spirulina có thể khác biệt đáng kể tùy theo nguồn gốc phân lập. Chủng DAS5 được thu thập trong điều kiện đặc trưng tại Việt Nam, tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu khoa học đánh giá chi tiết ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến khả năng sinh trưởng và tổng hợp protein của chủng này. Việc xác định các điều kiện tối ưu cho chủng DAS5 có ý nghĩa quan trọng

cả về lý luận hiểu rõ sự đáp ứng sinh lý của chủng địa phương lẫn thực tiễn tối ưu hóa điều kiện nuôi trong phòng thí nghiệm và quy mô sản xuất (Phan và c.s., 2024).

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm cung cấp một đánh giá có hệ thống về ảnh hưởng của các yếu tố vật lý – hóa học đến tốc độ sinh trưởng và tích lũy protein của Spirulina platensis DAS5, góp phần xây dựng bộ dữ liệu khoa học nền tảng phục vụ tối ưu hóa quy trình nuôi cấy ở mức độ phòng thí nghiệm và hướng đến ứng dụng thực tiễn.

2. Tổng quan nghiên cứu

Trong những năm gần đây, nhu cầu ứng dụng sinh khối vi tảo trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm, mỹ phẩm và nông nghiệp ngày càng tăng mạnh, kéo theo nhu cầu phát triển các quy trình nuôi cấy có hiệu suất cao và ổn định. Trong số các loài vi tảo có giá trị kinh tế, Spirulina platensis nổi bật nhờ hàm lượng protein, sắc tố và hợp chất sinh học phong phú. Tuy nhiên, hiệu suất sinh trưởng và hàm lượng protein của Spirulina biến động mạnh theo điều kiện môi trường (Arora Soni và c.s., 2019; Delrue và c.s., 2017; Musa và c.s., 2025; Zhang và c.s., 2023). Việc thiết lập bộ điều kiện tối ưu cho nuôi cấy Spirulina vì thế trở thành một nhu cầu thiết yếu, đặc biệt đối với các chủng phân lập tại địa phương, vốn có thể mang đặc điểm sinh lý riêng biệt và chưa được nghiên cứu đầy đủ.

Nhiều nghiên cứu đã khảo sát điều kiện tối ưu nuôi cấy Spirulina và các yếu tố môi trường ảnh hưởng. Delrue và cộng sự (2017) cho thấy cường độ ánh sáng 40–60 µmol/m²/giây giúp tối ưu hóa tốc độ cố định CO_2 và năng suất sinh khối (Delrue và c.s., 2017). Khi ánh sáng vượt quá ngưỡng bão hòa, tảo bắt đầu xuất hiện hiện tượng quang ức chế, làm giảm hiệu quả PSII và tăng sản sinh ROS (Reactive Oxygen Species) (Arora Soni và c.s., 2019; Chaiklahan và c.s., 2022) Các nghiên cứu gần đây như Zhang và cộng sự (2020) ghi nhận ánh sáng mạnh làm giảm hàm lượng phycocyanin do sự thu nhỏ anten quang hợp nhằm giảm hấp thụ photon quá mức. Tại Việt Nam, Vũ Nguyệt và cộng sự (2017) cũng cho thấy mức ánh sáng khoảng 50 µmol/m²/giây cho hiệu suất sinh trưởng cao nhất trong các hệ thống nuôi thử nghiệm (Vu và c.s., 2017).

Nhiệt độ là một yếu tố vật lý quan trọng khác ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng enzyme và sự ổn định của cấu trúc màng thylakoid. Soni và cộng sự (2019) xác định khoảng 28–32 °C là thích hợp cho sự phát triển của đa số chủng A. platensis, trong khi nhiệt độ cao trên 35 °C gây biến tính một phần protein và làm giảm hoạt tính Rubisco (Arora Soni và c.s., 2019). Nghiên cứu của Chen và cộng sự (2013) chứng minh rằng khi nhiệt tăng, tảo gia tăng sản sinh ROS, dẫn đến stress oxy hóa làm giảm hiệu suất quang hợp. Ở chiều ngược lại, nhiệt độ thấp hơn giới hạn tối ưu làm giảm tốc độ chuyển hóa nội bào và hạn chế tổng hợp protein (Delrue và c.s., 2017). pH giữ vai trò trung tâm trong cơ chế hấp thu carbon vô cơ của Spirulina thông qua hệ thống CCM (Carbon Concentrating Mechanism). Vì Spirulina sử dụng bicarbonate (HCO_3^-) làm nguồn carbon chính, pH của môi trường có ảnh hưởng trực tiếp đến tỷ lệ CO_2–HCO_3^-–CO_3^{2-}. Theo AlFadhly và cộng sự (2016), pH 9–10 là vùng tối ưu giúp duy trì cân bằng ion phù hợp và tăng hoạt động carbonic anhydrase, từ đó nâng cao tốc độ cố định carbon (AlFadhly và c.s., 2022). Môi trường kiềm không chỉ thúc đẩy sinh trưởng mà còn giúp giảm tạp nhiễm vì nhiều vi sinh vật khác không thể phát triển được trong pH cao. Nồng độ $NaHCO_3$, thành phần quan trọng của môi trường Zarrouk, ảnh hưởng trực tiếp đến tốc độ cung cấp HCO_3^- dạng carbon ưa dùng của Spirulina. Chojnacka và cộng sự (2012) cho rằng mức $NaHCO_3$ 15–20 g/L có thể giúp tối ưu tốc độ cố định CO_2 và sinh trưởng. Tuy nhiên, khi nồng độ vượt quá 25–30 g/L, áp suất thẩm thấu tăng cao dẫn đến rối loạn ion nội bào và giảm sinh trưởng. Zhang và cộng sự (2023) còn cho thấy dư thừa bicarbonate có thể gây tăng pH mạnh và tạo áp lực kiềm lên tế bào, ảnh hưởng đến cấu trúc màng (Zhang và c.s., 2023). Dữ liệu trong nước về nồng độ $NaHCO_3$ vẫn còn hạn chế và chưa có nghiên cứu đánh giá một cách hệ thống mức độ ảnh hưởng lên cả sinh trưởng và protein.

Mặc dù nhiều công bố đã chỉ ra tầm quan trọng của các yếu tố như ánh sáng, nhiệt độ, pH và nguồn carbon vô cơ đối với Spirulina, phần lớn nghiên cứu chỉ khảo sát một hoặc hai yếu tố môi trường, trong khi chưa có công trình nào đánh giá đồng thời bốn yếu tố cốt lõi theo thiết kế đơn yếu tố chuẩn hóa, đi kèm phân tích ANOVA để xác định mức độ ảnh hưởng thống kê mạnh nhất. Ngoài ra, hiện chưa có báo cáo nào mô tả sự thay đổi hàm lượng protein dưới tác động của cả bốn yếu tố trên chủng DAS5 trong môi trường

Zarrouk.Trong bối cảnh đó, việc đánh giá bốn yếu tố này một cách hệ thống trên chủng Spirulina platensis DAS5, một chủng địa phương là cần thiết để xác định khả năng thích nghi và tiềm năng ứng dụng của chủng. Dữ liệu thực nghiệm thu được từ chủng DAS5 có ý nghĩa quan trọng giúp hiểu rõ hơn về sinh lý học và nhu cầu dinh dưỡng của chủng bản địa, tạo nền tảng cho việc tối ưu hóa nuôi cấy phòng thí nghiệm và quy mô pilot, và hỗ trợ định hướng xây dựng mô hình sản xuất Spirulina bền vững tại Việt Nam.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng giống vi tảo Spirulina platensis DAS5 được cung cấp bởi Công ty TNHH Công nghệ Dalitra.

3.2. Môi trường và điều kiện nuôi cấy

Spirulina platensis DAS5 được nuôi cấy trong môi trường Zarrouk gồm NaCl (1,0 g/L), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,04 g/L), $NaNO_3$ (2,5 g/L), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,01 g/L), EDTA-Na (0,08 g/L), K_2SO_4 (1,0 g/L), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,2 g/L), $NaHCO_3$ (16,8 g/L) và K_2HPO_4 (0,5 g/L). Môi trường được bổ sung thêm 1 mL/L dung dịch vi lượng A5 (H_3BO_3, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 4H_2O$, Na_2MoO_4 và $CuSO_4 \cdot 5H_2O$). Nuôi cấy được duy trì nhiệt độ 28 ± 3°C; chiếu sáng bằng đèn LED trắng 50 µmol/m^2/giây (đèn LED trắng công suất 16 W, phổ ánh sáng 420-660 nm (đỉnh 460 nm), chu kỳ sáng tối 12/12 giờ; sục khí 1 L/phút bằng máy khí nén có lọc 0,22 µm.

3.3. Phương pháp nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng

3.3.1. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng

Tảo Spirulina platensis DAS5 được nuôi trong 500 mL môi trường Zarrouk (bình tam giác 1 L) với ba mức cường độ ánh sáng 30, 50 và 85 µmol/m^2/s; các điều kiện khác được cố định (30°C, pH 9,0, $NaHCO_3$ 20 g/L). Chiếu sáng 12 giờ/ngày bằng đèn LED trắng đặt cách 30 cm. OD_{560} được đo mỗi 2 ngày; sinh khối khô ngày 10 và hàm lượng protein xác định theo phương pháp Lowry nhằm đánh giá mức ánh sáng tối ưu.

3.3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Các mẫu tảo được nuôi trong 500 mL môi trường Zarrouk dưới cường độ sáng cố định 50 µmol/m^2/s; nhiệt độ thay đổi ở ba mức 25°C, 30°C và 35°C, trong khi pH 9,0, $NaHCO_3$ 20 g/L và sục khí 1 L/phút được giữ ổn định. OD_{560} đo định kỳ mỗi 2 ngày, sinh khối và protein xác định vào ngày 10 để xác định nhiệt độ tối ưu.

3.3.3. Ảnh hưởng của pH

pH môi trường (500 mL Zarrouk) được điều chỉnh ở ba mức 8,0; 9,5; và 11 thông qua thay đổi tỷ lệ $NaHCO_3/Na_2CO_3$ và hiệu chỉnh bằng NaOH/HCl. Các điều kiện khác cố định (50 µmol/m^2/s, 30°C, $NaHCO_3$ 20 g/L, sục khí 1 L/phút). OD_{560} được đo mỗi 2 ngày; sinh khối và protein xác định ngày 10 để xác định pH tối ưu.

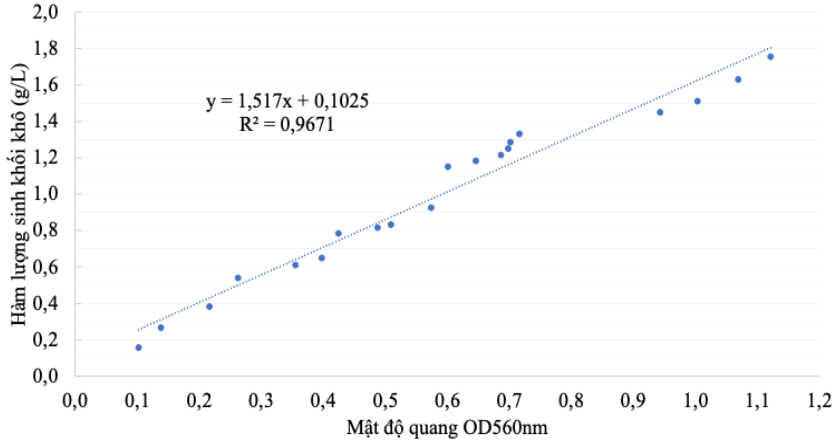
3.3.4. Ảnh hưởng của nồng độ $NaHCO_3$

Nồng độ $NaHCO_3$ thay đổi ở ba mức 10, 20 và 30 g/L; các điều kiện khác cố định (50 µmol/m^2/s, 30°C, pH 9,0, sục khí 1 L/phút). Tốc độ sinh trưởng được theo dõi qua OD_{560} mỗi 2 ngày, sinh khối khô và protein được xác định vào ngày 10 nhằm xác định nồng độ $NaHCO_3$ tối ưu.

3.4. Phương pháp xác định sinh trưởng và sinh khối

Tăng trưởng tế bào được theo dõi bằng OD_{560} sử dụng máy quang phổ UV–Vis (Shimadzu UV-1900i). Đồng thời xây dựng đường hồi quy giữa OD và sinh khối khô (hình 1).

Hình 1. Đường hồi quy tuyến tính giữa OD_{560} và sinh khối khô của S. platensis DAS5



Sinh khối được xác định bằng phương pháp trọng lượng: lấy 30 mL mẫu, lọc qua giấy lọc GF/C đã sấy và cân trước (W_1), sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi (W_2). Giấy lọc được xử lý và cân bằng trước theo quy trình tiêu chuẩn.

Nồng độ sinh khối khô cuối cùng X_f (g/L), được tính theo công thức:

$$W_f = \frac{\overline{M_f}}{V_s}$$

trong đó:

M_f là khối lượng trung bình của sinh khối khô tảo thu được ở thời điểm cuối nuôi cấy (g),

V_s là thể tích mẫu tảo sử dụng để xác định (L).

Mức tăng sinh khối (ΔW) được xác định theo công thức:

$$\Delta W = W_f - W_0$$

trong đó:

W_f là nồng độ sinh khối cuối ($g \cdot L^{-1}$) tại thời điểm t_f,

W_0 là nồng độ sinh khối ban đầu ($g \cdot L^{-1}$) tại thời điểm t_0.

Năng suất sinh khối thể tích trung bình (Q_X) được tính theo biểu thức:

$$Q_X = \frac{W_f - W_0}{t_f - t_0}$$

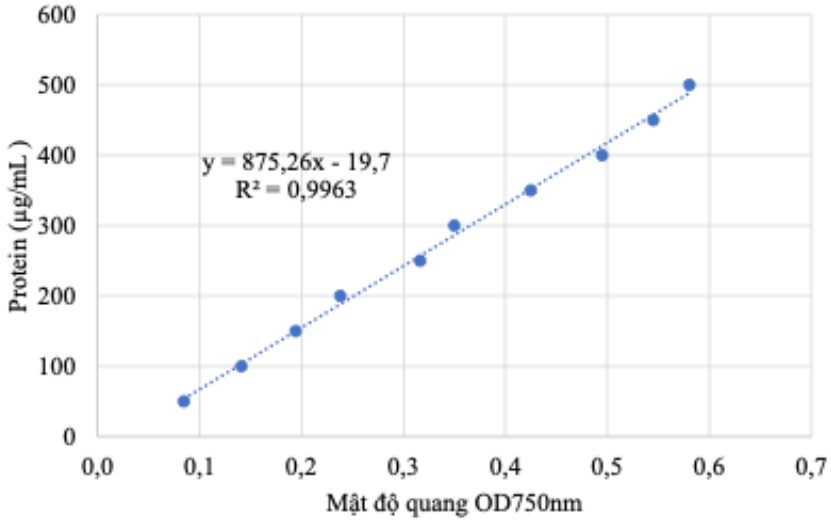
Tốc độ tăng trưởng trung bình (μ) được xác định theo công thức:

$$\mu = \frac{\ln\frac{W_f}{W_0}}{t_f - t_0} = \frac{\ln\frac{W_f}{W_0}}{\Delta t}$$

3.5. Phân tích hàm lượng protein

Protein được xác định theo phương pháp Lowry cải biến (Lowry và c.s., 1951). Sinh khối đông khô (2 mg) được huyền phù trong 5 mL nước cất; lấy 0,5 mL để phân tích. Mẫu được xử lý với NaOH 1 N, đun 100°C trong 5 phút; sau khi nguội, thêm hỗn hợp thuốc thử kiềm (tartrat kali–natri 1% + Na_2CO_3/NaOH), phản ứng 10 phút; sau đó thêm thuốc thử Folin–Ciocalteu, ủ tối 30 phút. Độ hấp thu đo tại 750 nm. Đường chuẩn được xây dựng từ BSA (0–500 µg/mL) (hình 2).

Hình 2. Đường chuẩn BSA (0–500 µg/mL)



Hàm lượng protein (mg BSA/g sinh khối khô) được tính từ đường chuẩn và quy đổi:

$$\%\,Protein = 0.25 \times [P]$$

trong đó: [P] là nồng độ protein (µg/mL) được tính dựa theo đường chuẩn protein.

Tất cả các phép đo được lặp lại ba lần và trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD).

3.6. Phân tích số liệu

Tất cả kết quả được biểu thị dưới dạng trung bình ± SD (n = 3). Ảnh hưởng của các yếu tố (cường độ chiếu sáng, nhiệt độ, pH, $NaHCO_3$) đến OD_{560}, sinh khối, tốc độ tăng trưởng và hàm lượng protein được đánh giá bằng One-way ANOVA (α = 0,05). Khi ANOVA cho thấy có sự khác biệt, các cặp mức được so sánh bằng t-Test hai mẫu độc lập kèm hiệu chỉnh Bonferroni. Các mức không khác biệt thống kê được gộp vào cùng một nhóm (a, b, c) và trình bày trong bảng Mean ± SD kèm cột nhóm Tukey. Tất cả các phân tích và biểu đồ được thực hiện bằng Microsoft Excel 16.89-2021.

4. Kết quả nghiên cứu

4.1. Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng đến sinh trưởng và tổng hợp protein

Bảng 1. Ảnh hưởng của yếu tố vật lý – hoá học đến sinh trưởng và tổng hợp protein của tảo xoắn Spirulina platensis DAS5

Yếu tố	OD_{560} ngày 10	Sinh khối (g/L)	Tốc độ tăng trưởng μ ($ngày^{-1}$)	Nhóm Tukey sinh khối	Protein (%)	Nhóm Tukey Protein
Cường độ chiếu sáng (μmol/m^2/giây)						
30	0,938 ± 0,015	1,526 ± 0,022	0,226 ± 0,001	a	49,49 ± 2,60	a
50	1,390 ± 0,026	2,211 ± 0,040	0,263 ± 0,002	b	58,02 ± 3,16	a
85	1,102 ± 0,014	1,774 ± 0,021	0,241 ± 0,001	c	56,93 ± 0,81	a
Nhiệt độ (°C)						
25	0,889 ± 0,019	1,451 ± 0,029	0,221 ± 0,002	a	51,89 ± 1,02	a
30	1,374 ± 0,029	2,187 ± 0,044	0,262 ± 0,002	b	60,35 ± 1,48	b
35	1,147 ± 0,039	1,842 ± 0,060	0,245 ± 0,003	c	55,83 ± 0,96	ab
pH						
8	0,731 ± 0,013	1,211 ± 0,019	0,203 ± 0,002	a	49,49 ± 2,60	a
9,5	1,481 ± 0,008	2,349 ± 0,013	0,269 ± 0,001	b	58,02 ± 3,16	a
11	1,061 ± 0,033	1,712 ± 0,050	0,238 ± 0,003	c	56,93 ± 0,81	a
Nồng độ $NaHCO_3$ (g/L)						
10	0,675 ± 0,029	1,126 ± 0,044	0,196 ± 0,004	a	48,17 ± 1,97	a
20	1,659 ± 0,065	2,619 ± 0,098	0,280 ± 0,004	b	64,80 ± 0,74	b
30	0,883 ± 0,032	1,443 ± 0,049	0,220 ± 0,003	c	57,00 ± 1,21	a
Các chữ cái khác nhau (a, b, c) chỉ ra các mức khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$, hiệu chỉnh Bonferroni) theo Tukey HSD						

Bảng 1 cho thấy cường độ chiếu sáng là một yếu tố có ảnh hưởng mạnh và rõ rệt đến khả năng sinh trưởng của Spirulina platensis DAS5. Khi tăng cường độ ánh sáng từ 30 lên 50 μmol/m^2/s, giá trị OD_{560}, sinh khối và tốc độ tăng trưởng đều tăng đáng kể, trong đó mức 50 μmol/m^2/s cho hiệu suất cao nhất với OD_{560} đạt 1,390 và sinh khối đạt 2,211 g/L. Đây là mức cao nhất trong ba nghiệm thức, phản ánh rằng cường độ ánh sáng trung bình là phù hợp cho hoạt động quang hợp và tích lũy vật chất của tảo. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng cường độ ánh sáng lên 85 μmol/m^2/s, cả OD_{560} và sinh khối đều giảm xuống còn 1,102 và 1,774 g/L. Điều này cho thấy ánh sáng quá mạnh có thể gây quang ức chế, làm giảm hoạt động của hệ thống anten quang hợp (phycobilisomes) và ảnh hưởng đến hiệu suất sử dụng năng lượng.

Tốc độ tăng trưởng μ phản ánh rõ xu hướng này, tăng từ 0,226 $ngày^{-1}$ ở mức 30 μmol/m^2/s lên 0,263 $ngày^{-1}$ tại 50 μmol/m^2/s, sau đó giảm còn 0,241 $ngày^{-1}$ khi ánh sáng đạt 85 μmol/m^2/s. Phân tích ANOVA cho sinh khối cho kết quả F =

143,005 và p < 0,001, khẳng định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê rất mạnh giữa các mức ánh sáng (bảng 2). Kiểm định hậu nghiệm Tukey HSD phân các mức ánh sáng thành ba nhóm riêng biệt (a, b, c), chứng minh 50 µmol/m²/s là cường độ tối ưu trong phạm vi thí nghiệm.

Bảng 2. Phân tích phương sai ANOVA của các yếu tố ảnh hưởng trên sinh khối của tảo xoắn S. platensis DAS5

Yếu tố	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*
Ánh sáng	0,722	2,000	0,361	143,005	<0,001
Nhiệt độ	0,815	2,000	0,408	64,139	<0,001
pH	1,953	2,000	0,976	317,059	<0,001
Nồng độ $NaHCO_3$	3,713	2,000	1,856	132,971	<0,001

Đối với hàm lượng protein, mặc dù giá trị trung bình tăng từ 49,49% (30 µmol/m²/s) lên 58,02% (50 µmol/m²/s) và 56,93% (85 µmol/m²/s), sự khác biệt này không đạt ý nghĩa thống kê (F = 3,718; p = 0,089) (bảng 1, 3). Nguyên nhân có thể do protein của Spirulina chủ yếu gồm phycocyanin và các protein quang hợp, vốn được điều hòa tự động theo cường độ ánh sáng để tránh tổn thương quang hóa, dẫn đến tỷ lệ protein theo phần trăm không thay đổi rõ rệt mặc dù sinh khối tăng đáng kể (Arora Soni và c.s., 2019; Chaiklahan và c.s., 2022).

Bảng 3. Phân tích phương sai ANOVA của các yếu tố ảnh hưởng đến tổng hợp protein của tảo xoắn S. platensis DAS5

Yếu tố	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*
Ánh sáng	129,372	2,000	64,686	3,718	0,089
Nhiệt độ	107,549	2,000	53,775	13,009	0,007
pH	129,372	2,000	64,686	3,718	0,089
Nồng độ $NaHCO_3$	415,354	2,000	207,677	35,392	<0,001

Trong điều kiện thí nghiệm, 50 µmol/m²/s là mức ánh sáng tối ưu cho tăng trưởng của Spirulina, trong khi hai mức ánh sáng thấp và cao đều làm giảm hiệu suất sinh trưởng theo cơ chế sai lệch năng lượng quang hợp và stress ánh sáng.

4.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng và tổng hợp protein

Nhiệt độ là một trong những yếu tố quyết định hiệu suất nuôi cấy Spirulina platensis DAS5. Trong khoảng nhiệt độ khảo sát từ 25 đến 35 °C, giá trị OD_{560}, sinh khối và tốc độ tăng trưởng đều đạt mức cao nhất tại 30 °C. Cụ thể, sinh khối tăng từ 1,451 g/L ở 25 °C lên 2,187 g/L ở 30 °C, tương ứng với mức tăng gần 50%. Tốc độ tăng trưởng µ cũng tăng từ 0,221 ngày^{-1} lên 0,262 ngày^{-1}, cho thấy hoạt động chuyển hóa và quang hợp ở 30 °C diễn ra mạnh mẽ nhất.

Khi tăng nhiệt độ lên 35 °C, các chỉ số sinh trưởng giảm rõ rệt: sinh khối giảm còn 1,842 g/L và µ giảm còn 0,245 ngày^{-1}. Đây là biểu hiện điển hình của stress nhiệt. Dưới tác động của nhiệt cao, các enzyme quang hợp (đặc biệt là Rubisco) bị giảm hoạt tính, màng thylakoid kém ổn định, tăng sản sinh ROS, dẫn đến giảm hiệu suất cố định carbon.

ANOVA bảng 2 cho sinh khối cho kết quả F = 64,139; p < 0,001, khẳng định sự khác biệt có ý nghĩa giữa ba mức nhiệt. Kiểm định Tukey phân ba mức thành ba nhóm riêng biệt, cho thấy Spirulina phản ứng rất nhạy cảm với thay đổi nhiệt độ. Đối với protein, hàm lượng tăng từ 51,89% (25 °C) lên 60,35% (30 °C) và giảm xuống 55,83% (35 °C). ANOVA cho biến protein cho F = 13,009; p = 0,007, khẳng định sự khác biệt có ý nghĩa (bảng 3). Kết quả này phù hợp với báo cáo của Soni và cộng sự (2019), khi các tác giả ghi nhận Arthrospira đạt sinh trưởng cao nhất tại 30 °C và giảm rõ khi nhiệt độ tăng vượt 35 °C (Arora Soni và c.s., 2019). Vonshak (1997) cũng nhấn mạnh vùng nhiệt tối ưu 28–32 °C đối với hiệu suất quang hợp và cấu trúc phycobilisome (Avigad Vonshak, 1997).

Như vậy, nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng và tổng hợp protein của Spirulina DAS5 là 30 °C, trong khi các mức ngoài vùng tối ưu đều dẫn đến rối loạn hoạt động quang hợp và giảm năng suất.

4.3. Ảnh hưởng của pH đến sinh trưởng và tổng hợp protein

Kết quả trong bảng 1 cho thấy pH ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng của Spirulina platensis

DAS5. Trong ba mức pH khảo sát (8, 9,5 và 11), giá trị sinh khối và tốc độ tăng trưởng đều đạt cực đại tại pH 9,5. Sinh khối tại pH 8 chỉ đạt 1,211 g/L (μ = 0,203 ngày^{-1}), trong khi ở pH 9,5 tăng mạnh lên 2,349 g/L (μ = 0,269 ngày^{-1}). Khi tăng pH lên 11, sinh khối giảm còn 1,712 g/L và μ giảm còn 0,238 ngày^{-1}. Điều này cho thấy Spirulina ưa môi trường kiềm nhẹ (9–10), nhưng pH quá cao (>10,5) lại gây stress kiềm, giảm hoạt động enzyme và hiệu suất hấp thu carbon.

ANOVA cho sinh khối cho F = 317,059; p < 0,001, khẳng định pH là yếu tố có ảnh hưởng rất mạnh (bảng 2). Tukey HSD phân ba mức thành ba nhóm, nhấn mạnh sự khác biệt rõ rệt giữa chúng. Đối với protein, mặc dù có xu hướng tăng từ 49,49% (pH 8) lên 58,02% (pH 9,5) và giảm nhẹ còn 56,93% (pH 11), sự khác biệt này không đạt ý nghĩa thống kê (F = 3,718; p = 0,089) (bảng 3). Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Vonshak (1997) cũng ghi nhận rằng pH cao gây ức chế khả năng cố định carbon và phá vỡ cấu trúc protein của thylakoid (Avigad Vonshak, 1997).

pH 9,5 được xác định là tối ưu cho sinh trưởng Spirulina, đồng thời đảm bảo hiệu suất tổng hợp protein cao, mặc dù tỷ lệ protein (%) không thay đổi đáng kể giữa các mức pH.

4.4. Ảnh hưởng của nồng độ $NaHCO_3$ đến sinh trưởng và tổng hợp protein

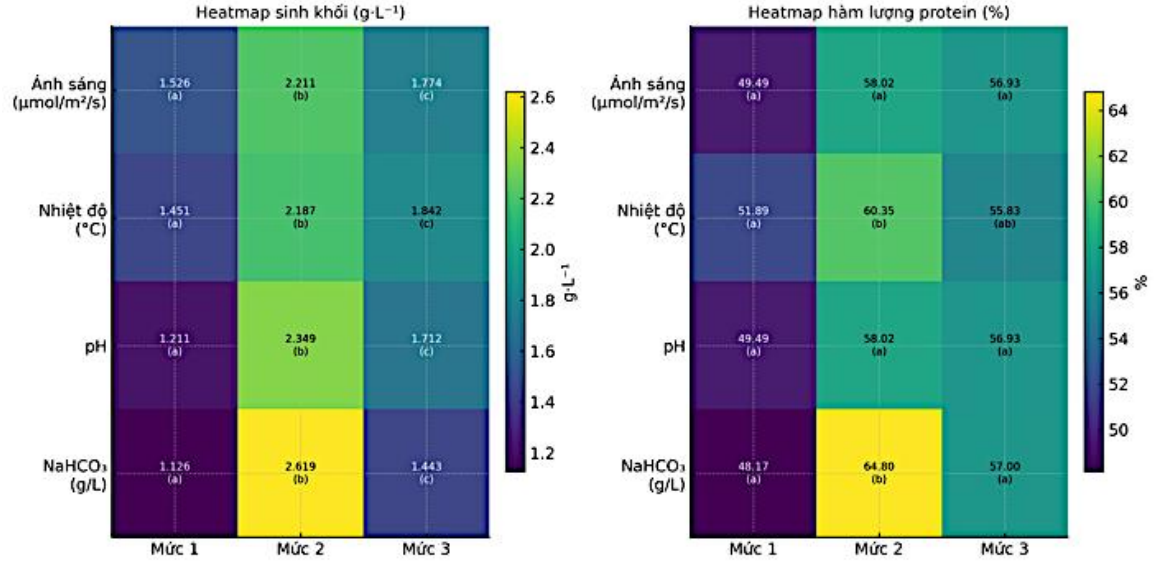
$NaHCO_3$ là nguồn carbon vô cơ chính trong môi trường Zarrouk, và kết quả bảng 1 cho thấy sự thay đổi nồng độ $NaHCO_3$ gây tác động rất mạnh đến cả sinh trưởng và tổng hợp protein. Khi tăng nồng độ $NaHCO_3$ từ 10 lên 20 g/L, sinh khối tăng từ 1,126 g/L lên 2,619 g/L và μ tăng từ 0,196 lên 0,280 ngày^{-1}. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ lên 30 g/L, sinh khối giảm xuống còn 1,443 g/L và μ giảm còn 0,220 ngày^{-1}. Điều này phản ánh cơ chế phụ thuộc carbon vô cơ của Spirulina: nồng độ quá thấp gây thiếu hụt carbon, trong khi nồng độ quá cao gây tăng áp suất thẩm thấu và stress kiềm.

ANOVA cho sinh khối cho F = 132,971; p < 0,001, chứng minh sự khác biệt mạnh giữa các nghiệm thức (bảng 2). Hàm lượng protein đạt cao nhất tại 20 g/L (64,80%), thấp hơn tại 30 g/L (57,00%) và thấp nhất tại 10 g/L (48,17%). Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Zhang và cộng sự (2023) khi bổ sung bicarbonate giúp tăng sinh trưởng nhưng vượt ngưỡng sẽ gây stress kiềm (Zhang và c.s., 2023).

Do đó, nồng độ $NaHCO_3$ 20 g/L là tối ưu cho sinh trưởng và tích lũy protein của Spirulina DAS5.

4.5. Tổng hợp mức độ ảnh hưởng của các yếu tố qua Heatmap và ANOVA Effect Size

Hình 3. Heatmap tổng hợp biểu diễn sinh khối (g·L^{-1}) và hàm lượng protein (%) của Spirulina platensis DAS5 tại ba mức của bốn yếu tố môi trường (ánh sáng, nhiệt độ, pH và $NaHCO_3$)



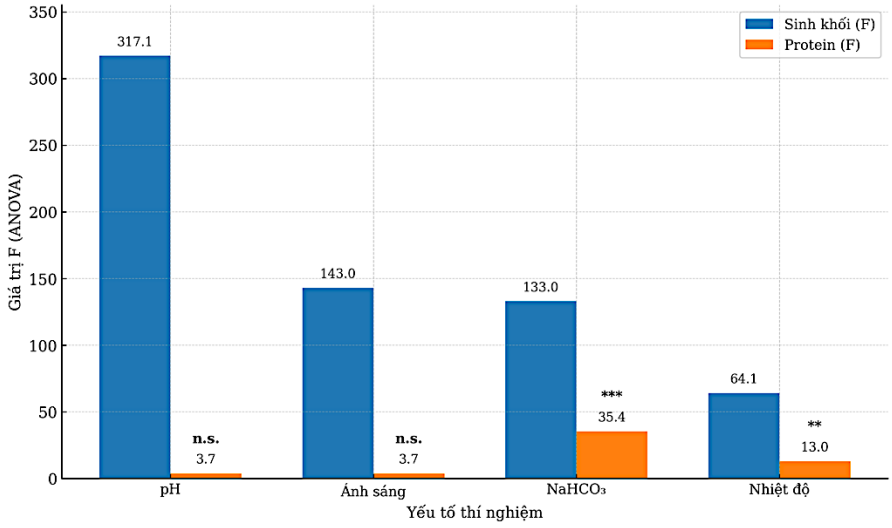
Màu sắc thể hiện cường độ đáp ứng, giá trị cao hơn được tô đậm.

Các ký tự a, b, c biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo kiểm định Tukey (p < 0,05).

Heatmap tổng hợp (hình 3) thể hiện rõ mô hình đáp ứng của sinh khối và hàm lượng protein đối với ba mức của bốn yếu tố môi trường gồm ánh sáng, nhiệt độ, pH và nồng độ $NaHCO_3$. "Mức 1 – Mức 2

– Mức 3" tương ứng với các giá trị khảo sát của từng yếu tố (ánh sáng: 30–50–85 µmol/m²/s; nhiệt độ: 25–30–35 °C; pH: 8,0–9,5–11; $NaHCO_3$: 10–20–30 g/L). Kết quả cho thấy các ô màu đậm nhất đều tập trung tại Mức 2, xác định nhóm điều kiện tối ưu đồng nhất gồm: 50 µmol/m²/s ánh sáng, 30 °C, pH 9,5 và 20 g/L $NaHCO_3$. Đây cũng là các điều kiện mang lại sinh trưởng mạnh nhất và hàm lượng protein cao nhất của *S. platensis* DAS5. Ngược lại, các mức cực trị (mức 1 và mức 3) thể hiện màu sắc nhạt hơn, phản ánh sự suy giảm hiệu suất sinh trưởng khi điều kiện môi trường lệch khỏi vùng tối ưu. Đặc biệt, pH và $NaHCO_3$ cho thấy sự chuyển màu mạnh nhất giữa ba mức, gợi ý hai yếu tố này gây biến thiên lớn nhất đối với cả sinh khối và protein. Điều này được củng cố bởi phân tích ANOVA effect size (hình 4). Giá trị F cho sinh khối cho thấy pH có ảnh hưởng lớn nhất (F = 317,06), tiếp theo là ánh sáng (143,01), $NaHCO_3$ (132,97) và nhiệt độ (64,14). Như vậy, pH là yếu tố chi phối toàn bộ động lực tăng trưởng của chủng DAS5. Đối với hàm lượng protein, $NaHCO_3$ (F = 35,39) và nhiệt độ (F = 13,01) là hai yếu tố có ý nghĩa thống kê cao, trong khi ánh sáng và pH không tạo ra khác biệt đáng kể (p > 0,05), cho thấy quá trình tích lũy protein nhạy cảm hơn với nguồn carbon và điều kiện nhiệt.

Hình 4. Giá trị F trong phân tích ANOVA biểu diễn mức độ ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sinh khối và hàm lượng protein của Spirulina platensis DAS5



*n.s. = không có ý nghĩa (p > 0,05); ** = p < 0,01; *** = p < 0,001*

Sự thống nhất giữa Heatmap và giá trị F cho thấy phân tích trực quan và phân tích thống kê đều khẳng định pH và $NaHCO_3$ là hai yếu tố ảnh hưởng mạnh nhất, trong khi ánh sáng và nhiệt độ đóng vai trò điều chỉnh nhưng mức ảnh hưởng nhỏ hơn. Điều này giúp xác định thứ tự ưu tiên khi tối ưu hóa nuôi cấy Spirulina và là cơ sở khoa học quan trọng cho thiết kế thí nghiệm ở quy mô pilot.

5. Bàn luận

Kết quả nghiên cứu đã xác định rõ bốn yếu tố môi trường cường độ ánh sáng, nhiệt độ, pH và nồng độ $NaHCO_3$ đều có ảnh hưởng đáng kể đến sinh trưởng và tổng hợp protein của Spirulina platensis DAS5. Trong đó, các điều kiện tối ưu ghi nhận được bao gồm: ánh sáng 50 µmol/m²/s, nhiệt độ 30 °C, pH 9,5 và $NaHCO_3$ 20 g/L. Đây đều là các giá trị nằm trong khoảng tối ưu đã được nhiều nghiên cứu trước đây đề cập, cho thấy sự tương đồng về đặc điểm sinh lý – sinh hóa của chủng DAS5 với phần lớn các chủng Arthrospira/Spirulina được nuôi cấy.

Điểm nổi bật đầu tiên là sinh trưởng của Spirulina phản ứng rất nhạy với ánh sáng và nhiệt độ, hai yếu tố trực tiếp ảnh hưởng đến hiệu suất quang hợp. Mức ánh sáng 50 µmol/m²/s cho sinh khối cao nhất, phù hợp với ngưỡng ánh sáng bão hòa của nhiều chủng Spirulina, thường dao động 40–60 µmol/m²/s. Ánh sáng cao hơn 85 µmol/m²/s gây giảm sinh trưởng do xuất hiện các cơ chế quang ức chế, như giảm kích thước phycobilisome, tăng ROS và giảm hiệu suất PSII (Delrue và c.s., 2017). Tương tự, nhiệt độ 30 °C được xác nhận là tối ưu, phù hợp với mức tối ưu 28–32 °C đã được báo cáo bởi Vonshak và nhiều

tác giả khác (Arora Soni và c.s., 2019; Avigad Vonshak, 1997; Truong và c.s., 2022). Nhiệt độ thấp gây giảm hoạt tính enzym, trong khi nhiệt độ cao làm mất ổn định cấu trúc protein và gây stress nhiệt làm giảm hiệu suất quang hợp.

Thứ hai, pH và $NaHCO_3$ hai yếu tố liên quan đến hệ đệm và cơ chế cố định carbon của tảo cũng thể hiện vai trò quyết định đến sinh trưởng. pH tối ưu 9,5 phản ánh khả năng hoạt động hiệu quả của hệ thống vận chuyển bicarbonate và carbonic anhydrase trong môi trường kiềm nhẹ. pH thấp hạn chế cung cấp CO_2/HCO_3^-, trong khi pH cao (>10,5) gây tổn hại đến cân bằng ion và dẫn đến stress kiềm. Nồng độ $NaHCO_3$ tối ưu (20 g/L) cũng phù hợp với cơ chế sinh lý của Spirulina, vốn sử dụng bicarbonate làm nguồn carbon chính thông qua CCM (Carbon Concentrating Mechanism) (Delrue và c.s., 2017; Zhang và c.s., 2023). Nồng độ quá thấp gây hạn chế carbon, trong khi nồng độ quá cao làm tăng áp suất thẩm thấu và gây rối loạn cân bằng pH nội bào.

Một điểm đáng chú ý là trong cả bốn thí nghiệm, tỷ lệ protein theo % khối lượng khô không biến động đáng kể ở một số yếu tố ánh sáng, pH, dù tổng sinh khối thay đổi mạnh. Điều này cho thấy hàm lượng protein của Spirulina tương đối ổn định về tỷ lệ, nhưng tổng lượng protein tính theo g/L phụ thuộc chủ yếu vào sinh khối. Điều này gợi ý rằng các yếu tố môi trường trước hết tác động lên tốc độ tăng trưởng, và từ đó ảnh hưởng gián tiếp đến sản lượng protein.

Nghiên cứu khảo sát yếu tố độc lập theo thiết kế OFAT (One-Factor-At-a-Time), cần đánh giá tiếp theo tương tác giữa các yếu tố, vốn có thể ảnh hưởng mạnh khi thực hiện trên quy mô lớn. Tiếp tục nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố khác như chu kỳ chiếu sáng, cường độ sục khí, tỷ lệ N:P hay vi lượng các yếu tố được ghi nhận có tác động đáng kể đến hiệu suất cũng như hàm lượng sắc tố trong tảo nuôi Spirulina như nhiều công trình nghiên cứu khác (Delrue và c.s., 2017; Musa và c.s., 2025). Đồng thời, nghiên cứu này là tiền đề cho mở rộng các nghiên cứu trên quy mô pilot hoặc hệ quang sinh công nghiệp để đánh giá độ ổn định và độ lặp lại của điều kiện tối ưu trong môi trường sản xuất thực tế.

6. Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá một cách có hệ thống ảnh hưởng của bốn yếu tố môi trường cường độ ánh sáng, nhiệt độ, pH và nồng độ $NaHCO_3$ đến sinh trưởng và tổng hợp protein của Spirulina platensis DAS5 trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy cả bốn yếu tố đều ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến sinh trưởng, trong đó ánh sáng và $NaHCO_3$ có ảnh hưởng mạnh nhất, thể hiện qua các giá trị F cao trong phân tích ANOVA. Tốc độ tăng trưởng và sinh khối đạt cực đại khi nuôi cấy tảo ở 50 µmol/m²/s (ánh sáng), 30 °C (nhiệt độ), pH 9,5 và 20 g/L $NaHCO_3$. Đây được xác định là bộ điều kiện tối ưu để đạt được sinh trưởng cao nhất và protein tích lũy lớn nhất.

Hàm lượng protein theo % khối lượng khô có xu hướng tăng ở mức điều kiện tối ưu nhưng sự khác biệt không phải lúc nào cũng có ý nghĩa thống kê, phản ánh rằng tỷ lệ protein của Spirulina tương đối ổn định, phụ thuộc chủ yếu vào tốc độ tăng trưởng tế bào hơn là vào bản thân từng yếu tố môi trường. Kết quả này phù hợp với nhiều công bố quốc tế, khẳng định tính phổ quát của các cơ chế sinh lý - quang hợp và chuyển hóa carbon của Spirulina.

Nghiên cứu góp phần bổ sung dữ liệu thực nghiệm quan trọng cho việc tối ưu hóa quy trình nuôi Spirulina trong điều kiện phòng thí nghiệm, đồng thời làm cơ sở cho việc nâng quy mô lên các hệ thống nuôi cấy lớn hơn. Các hướng nghiên cứu tiếp theo nên mở rộng theo mô hình đa nhân tố để đánh giá sự tương tác giữa các yếu tố môi trường, đồng thời kiểm tra tính ổn định của các điều kiện tối ưu trong hệ thống pilot hoặc bán công nghiệp. Kết quả của nghiên cứu có ý nghĩa thực tiễn trong việc cải thiện quy trình sản xuất sinh khối và protein từ Spirulina phục vụ chế phẩm thực phẩm, dược phẩm và nguyên liệu sinh học.

Tài liệu tham khảo

AlFadhly, N. K. Z., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., & Cacciola, F. (2022). Tendencies Affecting the Growth and Cultivation of Genus Spirulina: An Investigative Review on Current Trends. *Plants*, *11*(22), 3063. https://doi.org/10.3390/plants11223063.

Arora Soni, R., Sudhakar, K., & Rana, R. (2019). Influence of Temperature and Light Intensity on the Growth Performance of Spirulina

platensis. *International Journal on Emerging Technologies*, *10*(2), 19–22. www.researchtrend.net

Avigad Vonshak. (1997). *Spirulina platensis arthrospira* (A. Vonshak, B.t.v). CRC Press. https://doi.org/10.1201/9781482272970.

Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., Srinorasing, T., Attasat, S., Nopharatana, A., & Bunnag, B. (2022). Enhanced biomass and phycocyanin production of *Arthrospira (Spirulina) platensis* by a cultivation management strategy: Light intensity and cell concentration. *Bioresource Technology*, *343*, 126077. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126077.

Delrue, F., Alaux, E., Moudjaoui, L., Gaignard, C., Fleury, G., Perilhou, A., Richaud, P., Petitjean, M., & Sassi, J.-F. (2017). Optimization of *Arthrospira platensis (Spirulina)* Growth: From Laboratory Scale to Pilot Scale. *Fermentation*, *3*(4), 59. https://doi.org/10.3390/fermentation3040059.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, *193*(1), 265–275. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6.

Musa, M. N., Jirgi, G. M., Zango, Z. U., Isah, M. N., Abdurrazak, M., Adamu, A. A., Wadi, I. A., Adeleke, A. A., Garba, Z. N., Bello, U., Adamu, H., Hosseini-Bandegharaei, A., & Bokov, D. O. (2025). A review on techno-economic assessment of *Spirulina* for sustainable nutraceutical, medicinal, environmental, and bioenergy applications. *Bioresources and Bioprocessing*, *12*(1), 51. https://doi.org/10.1186/s40643-025-00888-3.

Phan, T. T. N., Phạm, M. D., Trần, M. A., & Phạm, T. B. Đ. (2024). Hoạt tính kháng khuẩn của sắc tố sinh học chiết xuất từ tảo xoắn *Spirulina platensis* nuôi cấy trong phòng thí nghiệm. *Tạp chí Nghiên cứu Khoa học và Phát triển*, 89–96. https://doi.org/10.58902/tcnckhpt.v3i4.178.

Vu, N. T., Dang, K. D., Nguyen, C. H., Vu, T. T. T., Tran, H. P., Pham, C. V., Ton That Huu, D., Hoang, N. P. B., & Nguyen, T. T. T. (2017). Experimental cultivation of *Spirulina platensis* using My An mineral water, Thua Thien Hue province. *Vietnam Journal of Science and Technology*, *55*(5), 548. https://doi.org/10.15625/2525-2518/55/5/9374.

Zhang, P., Sun, Q., Dong, Y., & Lian, S. (2023). Effects of different bicarbonate on *Spirulina* in CO2 absorption and microalgae conversion hybrid system. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *10*. https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1119111.

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ VẬT LÝ – HOÁ HỌC ĐẾN TỐC ĐỘ SINH TRƯỞNG VÀ TỔNG HỢP PROTEIN CỦA SPIRULINA PLATENSIS DAS5

Nguyễn Thị Hồng[1] Đỗ Ngọc Hiếu[2]
Nguyễn Hà Ngân[3] Mai Thị Lan Anh[4] Phạm Thị Bích Đào[5]

[1, 2, 3, 4, 5]Trường Đại học Thành Đô
Email: *hn3920082@gmail.com[1]; hieudongoc123@gmail.com[2]; nganhan090106@gmail.com[3]; mailananh2603@gmail.com[4]; ptbdao@thanhdouni.edu.vn[5]*
Ngày nhận bài: 15/11/2025; Ngày phản biện: 14/01/2026; Ngày tác giả sửa: 30/01/2026;
Ngày duyệt đăng: 7/5/2026
DOI: *https://doi.org/10.58902/nckhpt.e-v2i1.318*

Tóm tắt: *Nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố vật lý (ánh sáng, nhiệt độ) và hoá học (pH, nồng độ $NaHCO_3$) đến tốc độ sinh trưởng và tổng hợp protein của Spirulina platensis. Các thí nghiệm được thực hiện trong 10 ngày với 3 mức biến thiên cho mỗi yếu tố. Sinh trưởng được theo dõi qua mật độ quang (OD560) và sinh khối khô, hàm lượng protein xác định bằng phương pháp Lowry. Kết quả cho thấy cả bốn yếu tố đều ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến sinh khối ($p < 0,05$). Sinh trưởng đạt tối ưu tại 50 µmol/m²/s ánh sáng, 30 °C, pH 9,5 và 20 g/L $NaHCO_3$, sinh khối đạt 2,619 g/L, đồng thời hàm lượng protein cũng tăng đáng kể và đạt tối đa 64,80% tại cùng mức $NaHCO_3$ tối ưu. Phân tích ANOVA cho thấy pH là yếu tố ảnh hưởng mạnh nhất đến sinh trưởng ($F = 317,059$), tiếp theo là cường độ chiếu sáng ($F = 143,005$), cả hai đều có ý nghĩa thống kê rất cao ($p < 0,001$). Đối với hàm lượng protein, $NaHCO_3$ ($F = 35,392$) và nhiệt độ ($F = 13,009$) là hai yếu tố ảnh hưởng quan trọng. Nghiên cứu góp phần mang lại dữ liệu nền tảng quan trọng để tối ưu hóa nuôi cấy Spirulina, đặc biệt là các chủng bản địa, hướng đến ứng dụng trong sản xuất sinh khối và protein ở quy mô pilot và công nghiệp.*

Từ khóa: *Spirulina platensis; Tốc độ sinh trưởng; Tổng hợp Protein.*