

DOI:10.22144/ctu.jvn.2023.096

TUYỂN CHỌN CHỦNG NẤM *Monascus purpureus* CÓ KHẢ NĂNG SINH SẮC TÓ ĐỎ, SẮC TÓ VÀNG CAO NHẤT VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, KHÁNG OXY HÓA CỦA DỊCH CHIẾT SẮC TÓ

Nguyễn Minh Lý* và Lê Thị Mai

Khoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư phạm – Đại học Đà Nẵng

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Minh Lý (email: nmly@ued.udn.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 20/02/2023

Ngày nhận bài sửa: 31/03/2023

Ngày duyệt đăng: 08/05/2023

Title:

Selection of *Monascus purpureus* strain with the highest production of red and yellow pigments, and study on the antibacterial and antioxidant activities of the pigment extracts

Từ khóa:

Chống oxy hóa, kháng khuẩn, màu thực phẩm, *Monascus purpureus*, sắc tố đỏ

Keywords:

Antimicrobial, antioxidative activity, food coloring, *Monascus purpureus*, red pigment

ABSTRACT

The study was carried out to isolate and select a *Monascus* strain capable of producing pigment from rice and soil samples in Da Nang City. The antibacterial and antioxidant activities of the pigment extracts were investigated by the agar well diffusion method and the ABTS+ free radical scavenging ability. The results showed that 9 strains belonging to the genus *Monascus* were isolated, in which, strain M4 had the highest red and yellow pigment content, respectively, 1271.12 ± 96.58 AU/g and 3996.3 ± 2.413 AU/g. Strain M4 was identified as *Monascus purpureus* by using ITS gene sequencing. In addition, the pigment extract of strain M4 showed strong antioxidant activity ($87.86 \pm 0.40\%$) and antagonistic ability to *Escherichia coli* and *Samonella typhirinum*.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn chủng nấm thuộc chi *Monascus* có khả năng sinh sắc tố từ các mẫu gạo, mẫu đất tại thành phố Đà Nẵng. Bên cạnh đó, hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của dịch chiết sắc tố cũng được khảo sát bằng phương pháp đục lỗ thạch và khả năng bắt gốc tự do ABTS+. Kết quả cho thấy đã phân lập được 9 chủng nấm thuộc chi *Monascus*, trong đó, chủng M4 cho hàm lượng sắc tố đỏ và sắc tố vàng cao nhất lần lượt là $1.271,12 \pm 96,58$ AU/g và $3.996,3 \pm 2,413$ AU/g. Chủng M4 đã được định danh thuộc loài *Monascus purpureus* bằng phương pháp giải trình tự gene ITS. Ngoài ra, dịch chiết sắc tố của chủng M4 có hoạt tính chống oxy hóa khá mạnh ($87,86 \pm 0,40\%$) và đồng thời có khả năng kháng *Escherichia coli* và *Samonella typhirinum*.

1. GIỚI THIỆU

Sắc tố có vai trò quan trọng đối với sức khỏe của con người và động vật nhờ khả năng tăng cường đáp ứng miễn dịch, bắt các gốc oxy hóa và bảo vệ tế bào. Việc sử dụng sắc tố tự nhiên được người tiêu dùng chấp nhận hơn so với sắc tố tổng hợp vì tính an toàn của nó. Sự đa dạng hóa các nguồn sắc tố tự nhiên sẽ hỗ trợ việc sử dụng các sắc tố an toàn cho sức khỏe con người và cải thiện hàm lượng chất dinh dưỡng

của sản phẩm. Sản xuất các sắc tố tự nhiên như carotenoids, anthocyanin và diệp lục có thể đạt được thông qua việc chiết xuất từ thực vật, động vật hoặc bằng cách tổng hợp lên men nấm men và tảo (Mapari et al., 2009; Dufossé et al., 2014).

Một trong những lựa chọn thay thế của nguồn sắc tố tự nhiên là sản phẩm thứ cấp của *Monascus* spp. Sắc tố có trong *Monascus* spp. là hỗn hợp của nhiều loại sắc tố khác nhau. Trong đó, monascin và

ankaflavin (sắc tố vàng), rubropunctatin và monascorubrin (sắc tố da cam), rubropunctamine và monascorubramine (sắc tố đỏ) là các loại sắc tố quan trọng được chú ý. Các nấm thuộc chi *Monascus* tổng hợp các sắc tố thông qua con đường sinh tổng hợp polyketide, đặc biệt polyketide synthase và synthase axit béo có vai trò thiết yếu (Jůzlová et al., 1996; Hajjaj et al., 2012).

Feng et al. (2012) đã chỉ ra các sắc tố được tổng hợp từ *Monascus* spp. có nhiều hoạt tính sinh học, như chống viêm, chống ung thư, chống vi khuẩn, chữa bệnh tiêu đường và chống béo phì (Akihisa et al., 2005). Theo Xu et al. (2017) cho thấy statin, monacolin L, và sắc tố đỏ, rubropunctatin từ gạo lên men đỏ thể hiện tác dụng ức chế tăng sinh tế bào ung thư rất mạnh; rubropunctatin có thể so sánh với thuốc chống ung thư *cis*-platinum, taxol và 10-hydroxy-camptothecin (HCPT) trong các giá trị IC₅₀ của chúng. Monacolin L và rubropunctatin phát huy tác dụng chống ung thư thông qua tác dụng ức chế telomerase. Monacolin L và rubropunctatin có tác dụng ức chế telomerase tương tự như thuốc chống ung thư *cis*-platinum, trong khi thuốc chống ung thư HCPT có tác dụng ức chế telomerase yếu trong xét nghiệm TRAP-PCR. Trong khi đó, rubropunctatin và *cis*-platinum không thể hiện hoạt tính cảm ứng chết theo chương trình mạnh như monacolin L và HCPT. Tại Việt Nam, hiện chưa có nhiều các nghiên cứu về khả năng tạo sắc tố của các vi nấm thuộc *Monascus*. Với mong muốn tuyển chọn thêm các loài nấm *Monascus* có khả năng sinh sắc tố cao, nghiên cứu tuyển chọn chủng *Monascus* sp có khả năng tạo sắc tố đỏ và sắc tố vàng cao được thực hiện đồng thời khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của dịch chiết sắc tố đỏ và sắc tố vàng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Ba mẫu gạo mốc đỏ của giống lúa VNR20, VNR88, HN6 được trồng tại thôn Phong Nam, xã Hòa Châu, huyện Hòa Vang và 05 mẫu đất trồng ngô của hợp tác xã La Hường, thành phố Đà Nẵng. Các mẫu được thu thập trong các lọ tiệt trùng và chuyển đến phòng thí nghiệm trong điều kiện vô trùng.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phân lập và định danh sơ bộ

Một gram mẫu (mẫu gạo hoặc mẫu đất) được đồng nhất trong 99 mL nước sinh lý vô trùng 0,85% và tiến hành pha loãng theo dãy nồng độ 10⁻² đến 10⁻⁷; hút 0,1 ml dịch huyền phù đã pha loãng ở các nồng độ cấy trên môi trường PDA có chứa 200 g/L khoai

tây; 20 g/L glucose; 20 g/L agar, chloramphenicol 30 mg/mL và giữ ở 28°C trong 3 ngày.

Tất cả các khuẩn lạc phân lập được xác định bằng các phương pháp truyền thống bao gồm quan sát hình thái khuẩn lạc, quan sát dưới kính hiển vi quang học như cuống bào tử đỉnh (conidiophores), bào tử đỉnh (conidia), sợi nấm (hyphae) và sử dụng khóa phân loại của Barbosa et al. (2017) và Jia et al. (2017). Các khuẩn lạc được làm thuần bằng cách nuôi cấy liên tiếp trong môi trường lỏng, môi trường đĩa và được bảo quản ở 4°C.

2.2.2. Tuyển chọn các chủng nấm *Monascus* spp. có khả năng sinh tổng hợp sắc tố đỏ, vàng và nuôi cấy các chủng nấm *Monascus* spp. trên các đĩa môi trường PDA

Dịch huyền phù bào tử được tạo ra bằng cách chuyển 3 mL nước cất vô trùng vào đĩa nuôi cấy, dùng que cấy cạo trên bề mặt khuẩn lạc để thu huyền phù bào tử với mật độ 10⁷ bào tử/mL. Tiếp theo, một mL dịch huyền phù bào tử được cấy vào 250 mL môi trường PDA với tốc độ lắc 120 vòng/phút ở 28°C trong 7 ngày. Sinh khối nấm được lọc và rửa hai lần, mỗi lần với 20 mL nước cất. Sau đó, sinh khối nấm được sấy khô 24 giờ ở nhiệt độ 50°C và nghiền nhỏ; bổ sung ethanol 70% vào mẫu đã nghiền theo tỷ lệ 1:20 và ủ ở 30°C trong 12 giờ; ly tâm 5000 vòng/phút trong 10 phút để thu dịch nổi. Dịch nổi được pha loãng với 70% ethanol. Độ hấp thụ được đo ở các bước sóng 410 nm (sắc tố vàng) và 505 nm (sắc tố đỏ) với mẫu đối chứng âm là 70% ethanol. Kết quả được tính bằng đơn vị hấp thụ (AU/g) theo công thức: AU/g = Abs x (10/0,5) x df, trong đó: AU/g: Tổng số sắc tố hấp thụ trên gram, Abs: độ hấp thụ mẫu, df: hệ số pha loãng.

2.2.3. Định danh chủng nấm dựa trên việc giải trình tự ITS

Sau khi chọn ra chủng nấm *Monascus* sp. có khả năng sinh tổng hợp sắc tố đỏ và sắc tố vàng cao nhất, định danh bằng phương pháp giải trình tự vùng ITS được tiến hành thực hiện. Để thu được sinh khối sợi nấm, các chủng nấm *Monascus* sp. tuyển chọn được nuôi cấy trong môi trường PDA lỏng đã khử trùng ở 28°C trong 3 ngày. Dung dịch nuôi cấy được ly tâm ở 4°C, 8000 vòng/phút trong 10 phút. Kết tủa được thu thập và rửa ba lần bằng nước muối. Việc tách chiết DNA tổng số được tiến hành theo phương pháp CTAB.

Phản ứng khuếch đại vùng gene ITS được thực hiện bằng phản ứng PCR có chứa 2X master mix (Phusa Biochem); 1 pmol mỗi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'), 1 pmol mỗi ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), 80-

100 ng DNA. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR bao gồm, 95°C trong 5 phút; 35 chu kỳ gồm: 95°C trong 30 giây, 55°C trong 30 giây, 72°C trong 2 phút; và kết thúc ở 72°C trong 15 phút. Giải trình tự gene được tiến hành tại Công ty First BASE - Malaysia. Công cụ BLASTn trên website NCBI được sử dụng để tìm kiếm trình tự tương đồng cho kết quả.

2.2.4. Phương pháp khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn

Khả năng loại bỏ gốc tự do được xác định bằng phương pháp khử màu ABTS+ (Re et al., 1999). Dung dịch ABTS+ bao gồm dung dịch ABTS 7 mM và 10 mL dung dịch K₂S₂O₈ 2,45 mM. Dung dịch được ủ trong tối 16 giờ, sau đó pha loãng bằng ethanol để thu được mật độ quang 0,7±0,05 ở bước sóng 734 nm. Hoạt động trung hòa gốc tự do ABTS+ được tiến hành khảo sát bằng cách cho 10 µL dịch chiết sắc tố của *Monascus* spp. vào 990 µL ABTS+. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong thời gian 6 phút và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm.

Khả năng bắt gốc tự do ABTS của dịch chiết carotenoid được biểu diễn thông qua tỉ lệ ức chế (I%) và được tính theo công thức: $I\% = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100\%$, trong đó A₀: giá trị mật độ quang của mẫu trắng; A_s: giá trị mật độ quang của mẫu thử).

Các chủng vi sinh vật kiểm định: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Samonella typhirinum*

13.100816 được cung cấp bởi Khoa Y - Dược, Đại học Đà Nẵng.

Sắc tố của *Monascus* spp. được hòa tan trong DMSO. Trong thí nghiệm, các đối chứng được sử dụng bao gồm: đối chứng âm là DMSO, đối chứng dương là tetracyclin; hút 100 µL chất thử nghiệm cho vào lỗ thạch, ủ các đĩa petri trong vòng 24 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, đánh giá đường kính vòng vô khuẩn. Nếu có vòng vô khuẩn chứng tỏ chất thử nghiệm có khả năng kháng được chủng vi khuẩn được thử nghiệm (Ferdes et al., 2009).

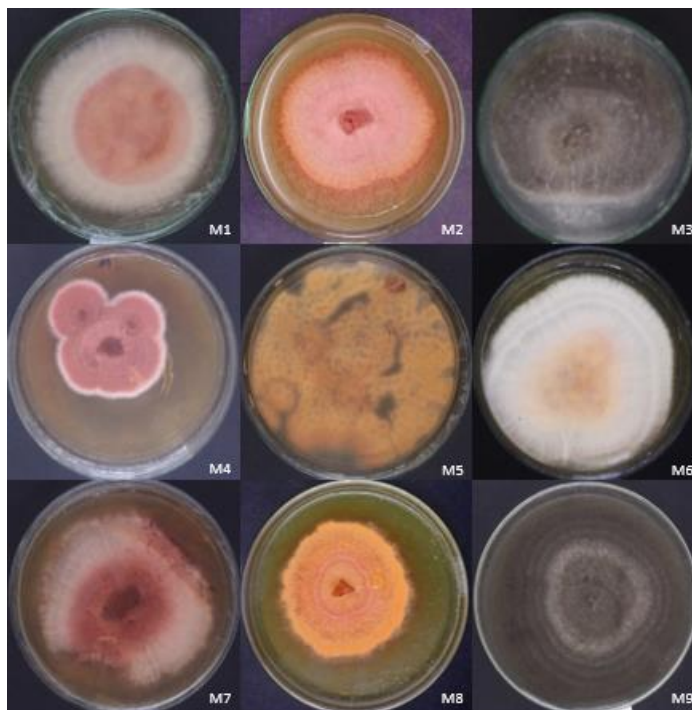
2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu.

Các số liệu được xử lý và xác định ý nghĩa thống kê ANOVA và T-test bằng phần mềm xử lý số liệu SPSS 22.0, với giá trị p<0,05.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập chủng nấm *Monascus* spp.

Từ các mẫu gạo và đất trên môi trường PDA có bổ sung chloramphenicol (30 mg/mL) đã phân lập được 9 chủng nấm thuộc chi *Monascus*. Các chủng nấm được kí hiệu M1-M9 dựa vào đặc điểm quan sát dưới kính hiển vi về hình dạng hệ sợi nấm, chuỗi bào tử (conidia chain), quả thể, bào tử và sử dụng khóa phân loại của Barbosa et al. (2017), Jia et al. (2017) (Bảng 1).



Hình 1. Hình thái và màu sắc khuẩn lạc của các chủng nấm *Monascus* spp. trên môi trường PDA

Bảng 1. Các chủng nấm *Monascus* spp. phân lập được từ gạo và mẫu đất tại Đà Nẵng

KH	Nguồn mẫu	Màu sắc khuẩn lạc trên môi trường PDA	Đặc điểm hình dạng và kích thước bào tử nang (µm)	Đặc điểm hình dạng bào tử vô tính	Số lượng bào tử trên chuỗi
M1	Gạo đỏ	Ban đầu có màu trắng sau đó chuyển sang hồng ở chính giữa, xung quanh viền màu trắng.	Hình elip, 3-4×2,5-3	Hình cầu đến hình trứng	Hình thành chuỗi ngắn, có từ 4 đến 6 bào tử
M2	Gạo đỏ	Ban đầu có màu trắng sau đó chuyển sang đỏ cam.	Hình elip, 4-5×1,7-2,5	Hình cầu, hoặc gần giống hình cầu	Dạng đơn độc hoặc hình thành chuỗi ngắn từ 2 đến 5 bào tử
M3	Đất trồng ngô	Ban đầu có màu trắng sau đó chuyển sang xám đen	Hình elip, 2,5-3,5×1-2	Hình quả lê ngược	Dạng đơn độc hoặc hình thành trong chuỗi ngắn (tối đa 6 bào tử)
M4	Gạo đỏ	Ban đầu có màu trắng sau đó chuyển sang đỏ đậm với viền màu trắng	Hình elip, 5-6×3-3,5	Hình cầu hoặc gần giống hình cầu	Dạng đơn độc hoặc hình thành chuỗi từ 7 đến 10 bào tử
M5	Gạo đỏ	Ban đầu có màu trắng sau đó chuyển sang vàng cam	Hình elip, 6-7×4-5	Hình cầu hoặc hình quả lê ngược	Dạng đơn độc hoặc hình thành chuỗi từ 6 đến 8 bào tử
M6	Gạo đỏ	Màu trắng, xuất hiện màu vàng cam ở trung tâm	Hình elip, 3-4×2,5-3	Hình cầu, hoặc gần giống hình cầu	Dạng đơn độc hoặc hình chuỗi ngắn
M7	Gạo đỏ	Viền trắng, trung tâm màu đỏ	Hình elip, 5-7×2,5-3	Hình cầu hoặc hình trứng	Dạng đơn độc hoặc chuỗi ngắn 3 - 5 bào tử
M8	Gạo đỏ	Màu cam	Hình elip, 3,5-4,5×2-3	Hình cầu, hoặc gần giống hình cầu	Dạng đơn độc hoặc chuỗi 8 bào tử
M9	Đất trồng ngô	Màu xám nâu	Hình elip, 3,5-4×2,5-3	Hình cầu hoặc hình quả lê ngược	Dạng đơn độc hoặc hình chuỗi ngắn

Kết quả cho thấy, số mẫu nấm *Monascus* spp. phân lập được từ các mẫu gạo nhiều hơn ở trong các mẫu đất. Bảy chủng nấm phân lập từ gạo có khuẩn lạc ban đầu là màu trắng, sau đó chuyển sang màu cam hoặc màu đỏ, còn 2 chủng nấm phân lập từ đất không sinh sắc tố đỏ (Hình 1). Nhận thấy rằng các chủng nấm *Monascus* spp. đều có sợi nấm dài, phân nhánh, không màu, có vách ngăn, hệ sợi dài và mảnh, chuỗi bào tử sinh ra từ một cuống nhỏ bên cạnh sợi khuẩn ty. Các bào tử nang có hình elip. Bào tử vô tính có hình cầu hoặc gần giống hình cầu, hình trứng hoặc hình quả lê ngược, có thể tồn tại ở dạng đơn độc hoặc hình thành chuỗi ngắn. Số bào tử trong chuỗi thường không vượt quá 10.

3.2. Tuyển chọn chủng nấm *Monascus* sp. có khả năng sinh sắc tố đỏ và sắc tố vàng cao nhất

Trong số 9 chủng nấm *Monascus* spp. được phân lập đã chọn ra 7 chủng M1, M2, M4, M5, M6, M7, M8 có sắc tố đỏ, vàng cam và cam để tiến hành khảo sát khả năng sinh sắc tố (Bảng 2).

Bảng 2. Hàm lượng sắc tố tạo thành của các chủng nấm *Monascus* spp

Kí hiệu	Sắc tố vàng (AU/g)	Sắc tố đỏ (AU/g)
M1	364,70±19,54 ^b	401,30±30,71 ^a
M2	843,48±9,48 ^c	2.760,60±10,41 ^d
M4	1.271,20±51,76 ^e	3.996,30±8,41 ^g
M5	1.250,20±5,64 ^e	3.058,90±15,6 ^f
M6	230,75±0,54 ^a	678,13±11,71 ^c
M7	383,17±0,94 ^b	452,93±5,77 ^b
M8	1.200,00±3,48 ^d	2.796,00±26,04 ^e

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa với $p \leq 0,05$

Kết quả cho thấy cả 7 chủng nấm *Monascus* spp. đều có khả năng sinh tổng hợp sắc tố đỏ và sắc tố vàng. Trong đó, chủng M4 và cho khả năng tổng hợp sắc tố đỏ và sắc tố vàng cao nhất lần lượt là 1.271,20±51,76AU/g và 3.996,30±8,41 AU/g. Chủng M1 cho khả năng thấp nhất đạt hàm lượng

364,70 ± 19,54 AU/g và sắc tố vàng là 401,30 ± 30,71AU/g.

Như vậy, chủng M4 với khả năng sinh sắc tố đỏ và sắc tố vàng cao sẽ được lựa chọn để nghiên cứu một số đặc điểm sinh học nhằm ứng dụng trong tạo màu thực phẩm và sản xuất các hợp chất thứ cấp làm dược phẩm.

3.3. Định danh chủng nấm M4 bằng phân tích trình tự ITS

Kết quả giải trình tự trên đoạn gene ITS của chủng M4 có độ dài 545 nucleotide (GTGCGGGTCCCTTCGTGGGACCAACCTCCCACCCGTGATTATTGTACCTCCTGTTGCTTCGGCGGCCCCCGGGGCCCGCCGGAGACA TCTTCTCGAACGCTGTCTTTGAAAAGGATTGCTGTCTGAGTAAACATACCAAATCGGTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA

TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTGTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTACTGCCCTCAAGCGCGGCTTGTGTGTTGGGCCGCCGTCCCCTGCGCCTCCGGCAAGGGGGACGGGGCCCCGAAAGGCAGTGGCGGCGCCCGGTCCGGTCTCGAGCGTATGGGCTTTGTACCCCGCTCAGTAGGTCCGGCCGGGGCCTTTGCCCTCTCCAACCTTTTTTTTCTTAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGAGGA).

Trình tự đoạn gene của chủng M4 được so sánh với các gene ITS của nấm *Monascus* trên NCBI với công cụ BLASTn. Kết quả nhận được cho thấy trình tự gene ITS của chủng M4 độ tương đồng đến 99,63% so với trình tự gene ITS của chủng *Monascus purpureus* strain BCRC31501. Như vậy, có thể khẳng định chủng M4 thuộc loài *Monascus purpureus*.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Monascus purpureus strain BCRC31501 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal 1...	Monascus purpu...	989	989	99%	0.0	99.63%	547	AY750723.1
Monascus ruber genomic DNA containing ITS1, 5.8S rRNA gene and ITS2, isolate TUHT64	Monascus ruber	987	987	99%	0.0	99.45%	557	LN482460.1
Monascus purpureus isolate FG6 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene an...	Monascus purpu...	987	987	99%	0.0	99.45%	557	MN787514.1
Monascus sp. (in: Fungi) isolate BB-3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...	Monascus sp. (in...	985	985	100%	0.0	99.27%	588	MT584824.1
Monascus sp. (in: Fungi) isolate 2018-Red small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transc...	Monascus sp. (in...	985	985	100%	0.0	99.27%	587	MT584823.1

Hình 2. Kết quả tìm kiếm trình tự tương đồng chủng M4

3.4. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của sắc tố đỏ và sắc tố vàng từ *M. purpureus* M4

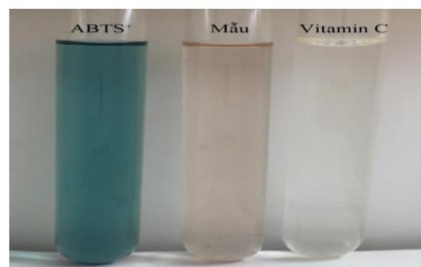
3.4.1. Hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS+

Mật độ quang của mẫu dịch chiết từ *Monascus purpureus* M4 thấp hơn so với mẫu đối chứng âm, chứng tỏ dịch có khả năng bắt gốc tự do (Bảng 3, Hình 4). Mật độ quang và hiệu suất bắt gốc tự do của mẫu dịch chiết từ *M. purpureus* M4 lần lượt đạt được là 0,085 ± 0,003 và 87,86% ± 0,40%. Tuy nhiên, khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết từ *M. purpureus* thấp hơn vitamin C (chất kháng oxy hóa cao) 4,65%. Chen et al. (2021) đã khảo sát khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết sắc tố từ xương cá lên men với *M. purpureus* trong 3 và 6 ngày với hiệu suất bắt gốc tự do lần lượt đạt 92% và 93%. Kết quả này đã cao hơn so với kết quả của nghiên cứu này. Điều này có thể là do sự gia tăng tổng hàm lượng phenolic và amino acid trong quá trình lên men đã hỗ trợ khả năng kháng oxy hóa của của dịch chiết sắc tố từ xương cá.

Bảng 3. Hoạt tính chống oxy hóa của *M. purpureus* M4

Tên mẫu	Mật độ quang	Hiệu suất %
Mẫu đối chứng (-)	0,622 ± 0,003 ^c	0
Mẫu dịch chiết sắc tố	0,085 ± 0,003 ^b	87,86% ± 0,40 ^b
Vitamin C (400 µg/mL) (+)	0,052 ± 0,001 ^a	92,51% ± 0,11 ^c

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa với p ≤ 0,05



Hình 3. Sự thay đổi màu ABTS+ của mẫu chiết sắc tố và vitamin C

Khả năng kháng oxy hóa của sắc tố đỏ và sắc tố vàng của chủng *M. purpureus* có thể được liên quan tới monasfluore B, monascin và rubropunctamine. Các sắc tố này được biết đến là các hợp chất chống oxy hóa mạnh (Dahle et al., 2007).

3.5. Hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết sắc tố của chủng *M. purpureus* M4

Kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết sắc tố của chủng *M. purpureus* M4 có khả năng kháng với *E. coli* và *S. typhirinum*. Đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là $7,50 \pm 0,96$ mm và $12,00 \pm 0,50$ mm. Theo Ferdes et al. (2009), sắc tố màu vàng của chủng *M. purpureus* M5 chiết xuất bằng n-hexane có khả năng ức chế *B. subtilis* B1, *B. subtilis* B2, *P. aeruginosa* P1, *P. aeruginosa* P2, *E. coli* với đường kính vòng kháng khuẩn tương ứng là 11, 12, 9, 9, 9 mm. Kaur et al. (2023) khi nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn của chủng *M. purpureus* CPEF02 đã thực hiện bằng cách sử dụng xét nghiệm khuếch tán đĩa cho thấy các vùng ức chế chống lại bốn mầm bệnh vi khuẩn, cụ thể là *S. aureus*, *S. typhimurium*, *S. aureus* kháng methicillin và *V. cholerae* với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là $9,33 \pm 0,33$ mm, $7,68 \pm 0,2$ mm, $6,42 \pm 0,15$ mm, $6,9 \pm 0,33$ mm.

Bảng 4. Hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết carotenoid từ chủng *M. Purpureus*

Mẫu dịch	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhirinum</i>
Dịch chiết sắc tố	$7,50 \pm 0,96^a$	$12,00 \pm 0,50^a$
DMSO (-)	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
Kháng sinh (+)	$21,0 \pm 0,15^b$	$18,00 \pm 2,08^b$

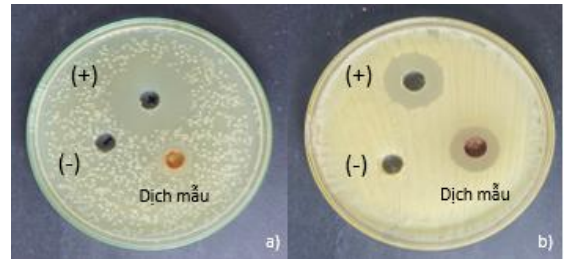
Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa với $p \leq 0,05$

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Akihisa, T., Tokuda, H., Yasukawa, K., Ukiya, M., Kiyota, A., Sakamoto, N., Suzuki, T., Tanabe, N., & Nishino, H. (2005). Azaphilones, Furanoisophthalides, and Amino Acids from the Extracts of *Monascus pilosus*-Fermented Rice (Red-Mold Rice) and Their Chemopreventive Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (3), 562-565. <https://doi.org/10.1021/jf040199p>

Barbosa, R. N., Leong, S. L., Vinnere-Petersson, O., Chen, A. J., Souza-Motta, C. M., Frisvad, J.C., Samson, R. A., Oliveira, N. T., & Houburaken, J. (2017). Phylogenetic analysis of *Monascus* and new species from honey, pollen and nests of stingless bees. *Studies in Mycology*, 86, 29-51. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.04.001>

Cơ chế tác dụng kháng khuẩn của các sắc tố *Monascus* hiện chưa rõ ràng, tuy nhiên có một số giả thuyết được đặt ra, ví dụ như thông qua phản ứng với các enzyme trong bào tử nảy mầm và tế bào sinh dưỡng, hạn chế khả năng sử dụng sắt, tính thấm của màng tế bào tính thấm màng, giảm vận chuyển chất dinh dưỡng, oxy và các chất chuyển hóa (Despphande, 2002; Ray, 2005).



Hình 4. Khả năng kháng khuẩn của dịch chiết sắc tố của chủng *M. purpureus* M4

(a): *E. coli* (b): *S. typhirinum*

4. KẾT LUẬN

Chín chủng nấm *Monascus* spp. được phân lập từ các mẫu gạo mốc đỏ của giống lúa VNR20, VNR88, HN6 trồng tại thôn Phong Nam, xã Hòa Châu, huyện Hòa Vang và mẫu đất trồng ngô của hợp tác xã La Huỳnh, thành phố Đà Nẵng. Trong đó, bảy chủng có khả năng sinh sắc tố đỏ, vàng cam và cam. Chủng M4 được xác định thuộc loài *Monascus purpureus* và tổng hợp được hàm lượng sắc tố đỏ và sắc tố vàng cao nhất lần lượt là $1271,12 \pm 96,58$ AU/g và $3996,30 \pm 2,41$ AU/g. Dịch chiết sắc tố của chủng *M. purpureus* có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh với hiệu suất $87,86 \pm 0,40\%$ và đồng thời có khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* và *S. typhirinum*.

Chen, Y. T., Hsieh, S. L., Gao, W. S., Yin, L. J., Dong, C. D., Chen, C. W., Singhanian, R. R., Hsieh, S., & Chen, S. J. (2021) Evaluation of Chemical Compositions, Antioxidant Capacity and Intracellular Antioxidant Action in Fish Bone Fermented with *Monascus purpureus*. *Molecules*, 26(17), 5288. <https://doi.org/10.3390/molecules26175288>

Despphande, S. S. (2002). *Handbook of Food Toxicology*, Marcel Dekker, Inc., New York.

Dahle, M. A., Divakar, S., Kumar, S. U., & Vijayalakshmi, G. (2007) Isolation and Characterization of Dihydromonacolin-MV from *Monascus purpureus* for Antioxidant Properties. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 73(5), 1197-1202. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0578-0>

- Dufossé, L., Fouillaud, M., Caro, Y., Mapari, S. A., & Sutthiwong, N. (2014). Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 56-61. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.09.007>
- Feng, Y., Shao, Y., & Chen, F. (2012). *Monascus* pigments. *Appl Microbiol Biotechnol*, 96, 1421-1440. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4504-3>
- Ferdes, M., Ungureanu, C., Radu, N., & Chirvase, A. (2009). Antimicrobial effect of *Monascus* spp. red rice against some bacterial and fungal strains. *Chemical Engineering Transaction*, 17, 1149-1154. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2009.06.119>
- Jia, R., Guo, W., Zhou, W., Jiang, Y., Zhu, F., Chen J., Li, Y., Liu, B., Chen, S., Chen, J., Ni, L., Rao, P., & Lv, X. (2017). Screening and identification of *Monascus* strain with high TMP production and statistical optimization of its culture medium composition and liquid state fermentation conditions using response surface methodology (RSM). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31(4), 828-838. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1335176>
- Júzlová, P., Martínková, L., & Křen, V. (1996). Secondary metabolites of the fungus *Monascus*: A review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 16 (3), 163-170. <https://doi.org/10.1007/BF01569999>
- Hajjaj, H., François, J. M., Goma, G. & Blanc, P. J. (2012). Effect of amino acids on red pigments and citrinin production in *Monascus ruber*. *Journal of Food Science*, 77(3), 156-159. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02579.x>
- Kaur, M., Goel, M., Mishra, R. C., Lahane, V., Yadav, A. K., & Barrow, C. J. (2023) Characterization of the Red Biochromes Produced by the Endophytic Fungus *Monascus purpureus* CPEF02 with Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Fermentation*, 9(4), 328. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040328>
- Mapari, S. A., Meyer, A. S., Thrane, U., & Frisvad, J. C. (2009). Identification of potentially safe promising fungal cell factories for the production of polyketide natural food colorants using chemotaxonomic rationale. *Microbial Cell Factories*, 8(24). DOI: 10.1186/1475-2859-8-24.
- Ray, B. (2005). *Fundamental Food Microbiology*, 3rd Ed.. CRC Press, Washington, DC.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Xu, B., Wang, Q., & Sung, C. (2017). Telomerase Inhibitory Effects of Red Pigment Rubropunctatin and Statin Monacolin L Isolated from Red Yeast Rice. *Genes*, 8(5), 129. <https://doi.org/10.3390/genes8050129>