Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2026.016

KHẢO SÁT ĐẶC TÍNH STRESS MUỐI KCL, NACL ĐẾN KHẢ NĂNG THU NHẬN HÀM LƯỢNG CAROTENOID Ở CHỦNG *Rhodotorula mucilaginosa*

Ngô Đại Nghiệp[1*] và Nguyễn Hoàng Thảo Ly[2]
[1]*Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*
[2]*Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): ndnghiep@hcmus.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 16/05/2025
Sửa bài (Revised): 25/07/2025
Duyệt đăng (Accepted): 17/12/2025

Title: *Characterization of KCl - NaCl induced salt stress on carotenoid biosynthesis in Rhodotorula mucilaginosa*

Author(s): *Ngo Dai-Nghiep[1*] and Nguyen Hoang Thao Ly[2]*

Affiliation(s): *[1]Vietnam National University Ho Chi Minh city – University of Science, Ho Chi Minh City, Viet Nam; [2]Nong Lam University Ho Chi Minh City, Viet Nam*

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của stress thẩm thấu do muối KCl, NaCl và tổ hợp KCl – NaCl đến sinh trưởng, khả năng sinh tổng hợp carotenoid và hoạt tính kháng oxy hóa của nấm men Rhodotorula mucilaginosa. Kết quả cho thấy nồng độ KCl 0,5 M và NaCl (0,5 – 1,5 M) duy trì sinh khối ở mức khá cao, đồng thời cảm ứng tích lũy carotenoid. Tổ hợp muối KCl 0,5 M – NaCl 1,0 M cho kết quả tối ưu, đạt hàm lượng carotenoid cao nhất (230,40 µg/g) mà vẫn giữ được sinh khối đáng kể. Việc phân tích bằng sắc ký lớp mỏng giúp xác định sự hiện diện của astaxanthin và β-carotene, với cường độ astaxanthin tăng rõ ở mẫu stress muối. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa cho thấy mẫu carotenoid có năng lực khử và khả năng bắt gốc tự do $ABTS^+$ vượt trội so với Trolox, với giá trị IC_{50} của mẫu stress muối thấp hơn gấp ba lần. Những kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng của carotenoid từ R. mucilaginosa như chất chống oxy hóa tự nhiên trong thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm.

Từ khóa: *Carotenoid, KCl – NaCl, Rhodotorula mucilaginosa, stress muối.*

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the effects of osmotic stress induced by KCl, NaCl, and their combination on the growth, carotenoid biosynthesis, and antioxidant activity of the yeast Rhodotorula mucilaginosa. The results indicated that 0.5 M KCl and 0.5 – 1.5 M NaCl maintained relatively high biomass levels while promoting carotenoid accumulation. The combination of 0.5 M KCl and 1.0 M NaCl yielded optimal results, achieving the highest carotenoid content (230.40 µg/g) while sustaining considerable biomass. Thin-layer chromatography confirmed the presence of astaxanthin and β-carotene, with a noticeably enhanced astaxanthin band in the salt-stressed sample. Antioxidant activity assays revealed that the carotenoid extract exhibited significantly stronger reducing power and $ABTS^+$ radical scavenging capacity than the standard Trolox, with the IC_{50} of the salt-stressed sample being more than three times lower. These findings highlight the potential of carotenoids from R. mucilaginosa as natural antioxidants for applications in food, pharmaceutical, and cosmetic industries.

Keywords: *Carotenoid, KCl – NaCl, osmotic stress, Rhodotorula mucilaginosa*

1. GIỚI THIỆU

Nấm men đỏ thuộc chi *Rhodotorula* là nhóm vi sinh vật không chỉ nổi bật bởi khả năng sinh trưởng nhanh, dễ nuôi cấy mà còn được biết đến là nguồn sinh học quan trọng trong sản xuất các hợp chất thứ cấp có giá trị, đặc biệt là carotenoid. Trong đó, *Rhodotorula mucilaginosa* (*R. mucilaginosa*) được xem là chủng tiềm năng nhờ khả năng sinh tổng hợp mạnh mẽ các sắc tố tự nhiên như β-carotene, torularhodin, astaxanthin, các hợp chất có hoạt tính sinh học cao với khả năng kháng oxy hóa, bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa, tia cực tím và các tác nhân gây viêm (Mosqueda-Martínez et al., 2024; Chen et al., 2024).

So với nguồn carotenoid từ thực vật, việc khai thác từ nấm men có nhiều ưu thế: không phụ thuộc mùa vụ, thời gian sinh trưởng ngắn, hiệu suất ổn định, dễ kiểm soát thông số nuôi cấy và có thể sử dụng các nguồn carbon giá rẻ từ phụ phẩm nông nghiệp (Fraser & Bramley, 2004). Đặc biệt, các loài *Rhodotorula* còn có thể tổng hợp đồng thời nhiều loại carotenoid có giá trị thương mại, mở ra triển vọng lớn trong ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm (Kot et al., 2019).

Tuy nhiên, trong điều kiện nuôi cấy tiêu chuẩn, lượng carotenoid tích lũy thường không cao. Kết quả các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng việc áp dụng stress sinh lý, đặc biệt là stress thẩm thấu do muối có thể cảm ứng mạnh mẽ con đường sinh tổng hợp carotenoid. Stress muối kích thích tế bào gia tăng sản xuất các chất kháng oxy hóa nội sinh, đồng thời hoạt hóa các enzyme quan trọng trong chuỗi carotenogenesis như CrtYB, CrtI, CrtZ và Tor (Oliveira de Lima et al., 2025). Từ đó, điều này làm tăng hàm lượng carotenoid, đặc biệt là các sắc tố oxy hóa mạnh như torularhodin và astaxanthin (Chen et al., 2024).

NaCl và KCl là hai tác nhân gây stress phổ biến trong các nghiên cứu vi sinh vật. Trong khi K^+ là ion thiết yếu, đóng vai trò trong duy trì áp suất thẩm thấu và cân bằng điện tích nội bào, thì Na^+ có thể gây stress mạnh hơn và khó điều hòa hơn. Việc sử dụng các nồng độ muối ở mức trung bình được cho là có thể cân bằng giữa cảm ứng sinh tổng hợp sắc tố và duy trì sinh trưởng tế bào, tránh tình trạng ức chế toàn hệ khi stress quá mức (Rivera-Araya et al., 2019).

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm hiểu về tác động của stress muối đến một số chủng *Rhodotorula*, việc khảo sát đồng thời cả KCl, NaCl và tổ hợp KCl – NaCl ở các giai đoạn nuôi cấy khác nhau vẫn còn hạn chế, đặc biệt đối với *R. mucilaginosa*. Việc xác định điều kiện stress muối phù hợp là cần thiết nhằm tối ưu hóa quy trình nuôi cấy và thu nhận carotenoid sinh học hiệu quả.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nấm men *Rhodotorula mucilaginosa* được phân lập từ đất ở quận 12, Thành phố Hồ Chí Minh và được định danh tại Công ty TNHH DV và TM Nam Khoa (số LC12286).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của stress muối (KCl, NaCl và tổ hợp) đến khả năng tích lũy carotenoid của Rhodotorula mucilaginosa

Để đánh giá ảnh hưởng của stress muối đến khả năng sinh trưởng và tích lũy carotenoid của *Rhodotorula mucilaginosa*, các thí nghiệm được tiến hành theo hai giai đoạn. Ở giai đoạn đầu, nấm men được nuôi tăng sinh trong 20 mL môi trường Hansen đến ba thời điểm sinh trưởng khác nhau: giữa pha tăng trưởng, đầu pha cân bằng và giữa pha cân bằng. Sau đó, tế bào được chuyển sang 180 mL môi trường Hansen trong bình nuôi 250 mL có bổ sung muối và tiến hành khảo sát trong 72 giờ ở nhiệt độ phòng. Ba nhóm thí nghiệm được thực hiện gồm: (1) bổ sung KCl với các nồng độ 0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 M; (2) bổ sung NaCl với các nồng độ tương tự và (3) tổ hợp KCl – NaCl với các mức được lựa chọn dựa trên kết quả tối ưu từ hai thí nghiệm đơn muối, điển hình là tổ hợp KCl 0,5 M – NaCl 1,0 M. Sau nuôi cấy lắc 200 rpm/phút, sinh khối được thu bằng ly tâm 4000 vòng/phút trong 10 phút, sấy khô ở 50°C và chiết tách carotenoid bằng dung dịch DMSO. Các chỉ tiêu được đánh giá bao gồm trọng lượng sinh khối khô và hàm lượng carotenoid tích lũy, điều này nhằm xác định nồng độ muối hoặc tổ hợp muối phù hợp giúp cân bằng giữa sinh trưởng và hiệu suất sinh tổng hợp sắc tố

2.2.2. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của carotenoid được thu nhận từ R. mucilaginosa

Việc thu nhận sinh khối từ các thí nghiệm trên đã được tiến hành. Sau đó carotenoid được định tính bằng sắc ký lớp mỏng và khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa thông qua năng lực khử và hoạt tính bắt gốc tự do $ABTS^+$.

2.2.3. Phương pháp phân tích một số chỉ tiêu

Khối lượng sinh khối khô được xác định bằng cách sấy đến khối lượng không đổi sử dụng cân sấy ẩm Ohaus MB25.

Hàm lượng carotenoid được xác định bằng phương pháp chiết bằng DMSO và đo quang phổ ở bước sóng 468 nm (Le et al., 2015).

Carotenoid được định tính bằng sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ dung môi acetone:n-hexane (1:4, v/v) (Le Vu ., 2015).

Năng lực khử được xác định theo phương pháp khử Fe^{3+}, đo mật độ quang tại OD700nm (Bibhabasu et al., 2008).

Khả năng bắt gốc tự do được xác định thông qua khả năng bắt gốc tự do ABTS, giá trị IC_{50} dựa trên khả năng bắt gốc 50% tự do ở bước sóng 734 nm (Shimada et al., 1992).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng nồng độ muối KCl đến sinh trưởng và khả năng sinh tổng hợp carotenoid

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy nồng độ KCl ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng của *R. mucilaginosa*, thể hiện qua sự suy giảm hàm lượng sinh khối khô khi nồng độ muối tăng, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức tại cùng một giai đoạn nuôi cấy. Việc xét trong cùng một nồng độ ở cả 03 giai đoạn cho thấy có sự giảm lượng sinh khối vì do nấm men đang chuyển từ trạng thái tăng trưởng mạnh sang trạng thái ổn định, dẫn đến giảm tốc độ sinh khối, có thể còn do thiếu dinh dưỡng và bắt đầu quá trình ly giải tế bào.

Ở cả ba giai đoạn, sinh khối cao nhất luôn đạt được ở nghiệm thức không bổ sung muối, sau đó giảm dần theo chiều tăng nồng độ KCl. Tuy nhiên, tại nồng độ 0,5 M, sinh khối vẫn được duy trì ở mức khá cao và chỉ giảm nhẹ so với đối chứng. Cụ thể, sinh khối lần lượt đạt 3,14; 2,47 và 1,85 g/l tại ba giai đoạn, cao hơn rõ rệt so với các nghiệm thức từ 1,0 M trở lên. Điều này cho thấy mức độ stress thẩm thấu tại 0,5 M là đủ để kích hoạt cơ chế thích nghi của tế bào mà không gây ức chế nghiêm trọng đến sinh trưởng. Khi nồng độ muối vượt quá 1,0 M, sinh khối giảm mạnh, đặc biệt ở mức 2,0 M chỉ còn 0,88 – 0,39 g/l, điều này phản ánh rõ tác động ức chế do mất cân bằng áp suất thẩm thấu và rối loạn ion nội bào. Xu hướng này cũng cho thấy tác động của muối không chỉ phụ thuộc vào nồng độ mà còn liên quan đến thời gian tiếp xúc. Ở mỗi nồng độ KCl, sinh khối luôn cao nhất tại giai đoạn 1 và giảm dần ở các giai đoạn tiếp theo. Điều này được lý giải là do kéo dài stress khiến hoạt động chuyển hóa bị suy giảm và tế bào mất dần khả năng duy trì sinh khối. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Garcia-Cortes et al. (2021), cho thấy stress thẩm thấu do muối gây rối loạn cân bằng ion, làm mất nước tế bào và làm chậm tốc độ sinh trưởng. Buzzini et al. (2007) cũng khẳng định rằng các chủng *Rhodotorula* bị ức chế rõ rệt ở nồng độ muối ≥ 1,5 M. Từ những kết quả trên, có thể thấy rằng nồng độ 0,5 M KCl là phù hợp để duy trì sinh trưởng hiệu quả trong khi vẫn tạo áp lực thẩm thấu vừa đủ để cảm ứng sinh tổng hợp carotenoid. Việc lựa chọn mức stress trung bình như 0,5 M là cần thiết nhằm cân bằng giữa tốc độ sinh trưởng và khả năng chuyển hóa thứ cấp, hướng tới tối ưu hóa quy trình nuôi cấy cho mục tiêu khai thác carotenoid từ nấm men đỏ.

Bảng 1. Hàm lượng sinh khối khô (g/l) theo nồng độ muối KCl và giai đoạn nuôi cấy

Nồng độ KCl (M)	Giai đoạn 1	Giai đoạn 2	Giai đoạn 3
0	$4,20^{a} \pm 0,31$	$3,28^{a} \pm 0,24$	$2,79^{a} \pm 0,24$
0,5	$3,14^{b} \pm 0,29$	$2,47^{b} \pm 0,46$	$1,85^{b} \pm 0,14$
1,0	$2,43^{c} \pm 0,16$	$1,94^{c} \pm 0,06$	$1,37^{c} \pm 0,08$
1,5	$1,58^{d} \pm 0,16$	$1,55^{cd} \pm 0,13$	$1,04^{d} \pm 0,06$
2,0	$0,88^{e} \pm 0,05$	$0,70^{d} \pm 0,12$	$0,39^{e} \pm 0,07$

Chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy nồng độ KCl ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tích lũy carotenoid của *R. mucilaginosa*, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức trong cùng một giai đoạn. Các nghiệm thức xử lý muối (0,5 – 1,0 M) đều cho hàm lượng carotenoid cao hơn đối chứng không stress, chứng tỏ stress thẩm thấu có vai trò kích thích tích lũy sắc tố sinh học. Đặc biệt, tại nồng độ 0,5 M KCl, hàm lượng carotenoid đạt mức cao và ổn định ở cả ba giai đoạn (169,69; 158,10; 153,20 µg/g), tiệm cận với nghiệm thức 1,0 M (168,64; 166,62; 156,90 µg/g) nhưng không gây suy giảm sinh khối mạnh, do đó mang lại hiệu quả toàn hệ vượt trội. Kết quả này phù hợp với ghi nhận của Kot et al. (2019), điều này chỉ ra rằng nồng độ muối từ 0,4 đến 0,6 M KCl có thể kích hoạt mạnh mẽ các enzyme trong chuỗi tổng hợp carotenoid mà không gây tổn hại đến hệ thống màng của tế bào. Tương tự, Oliveira de Lima et al. (2025) cho thấy stress thẩm thấu nhẹ có thể làm tăng biểu hiện của các gen liên quan đến sinh tổng hợp torularhodin và torulene ở *Rhodotorula glutinis*. Ngược lại, khi nồng độ muối tăng quá cao (1,5 – 2,0

M), khả năng tổng hợp sắc tố giảm rõ rệt, đặc biệt ở giai đoạn 3, với chỉ 117,86 và 100,05 µg/g, điều này phản ánh sự ức chế enzyme CrtYB và CrtI trong môi trường ion quá đậm đặc, theo như Illarionov et al. (2021) đã mô tả trong các nghiên cứu về ức chế enzyme isoprenoid trong stress muối. Từ đó, kết quả này cho thấy 0,5 M KCl là nồng độ tối ưu để cảm ứng sinh tổng hợp carotenoid ở *R. mucilaginosa*, vừa kích thích sinh tổng hợp sắc tố ở mức cao, vừa đảm bảo hiệu quả sinh trưởng, phù hợp cho các quy trình lên men ứng dụng sinh học có kiểm soát.

Bảng 2. Hàm lượng carotenoid (µg/g sinh khối khô) theo nồng độ muối KCl và giai đoạn nuôi cấy

Nồng độ KCl (M)	Giai đoạn 1	Giai đoạn 2	Giai đoạn 3
0	$143,91^{de} \pm 0,62$	$144,35^{de} \pm 0,78$	$136,04^{e} \pm 0,55$
0,5	$169,69^{a} \pm 0,58$	$158,10^{ab} \pm 0,67$	$153,20^{cd} \pm 0,80$
1,0	$168,64^{a} \pm 0,72$	$166,62^{ab} \pm 0,63$	$156,90^{ab} \pm 0,65$
1,5	$157,34^{ab} \pm 0,69$	$156,63^{bc} \pm 0,76$	$117,86^{f} \pm 0,60$
2,0	$121,66^{f} \pm 0,55$	$125,05^{f} \pm 0,73$	$100,05^{g} \pm 0,52$

Chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

3.2. Ảnh hưởng nồng độ muối NaCl đến quá trình thu nhận carotenoid

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy nồng độ NaCl ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng sinh trưởng của *R. mucilaginosa*, được thể hiện qua sự suy giảm đáng kể trọng lượng sinh khối khô khi nồng độ muối tăng. Ở cả ba giai đoạn, nghiệm thức đối chứng luôn cho sinh khối cao nhất, sau đó giảm dần theo mức tăng nồng độ muối. Tuy nhiên, các nghiệm thức trong khoảng 0,5 – 1,5 M vẫn duy trì được mức sinh khối ở mức chấp nhận được, đặc biệt là ở nồng độ 0,5 và 1,0 M. Tại giai đoạn 1, sinh khối đạt 3,04 g/l và 2,20 g/l ở các nghiệm thức 0,5 và 1,0 M NaCl, tương ứng với 65,9% và 47,7% so với đối chứng. Mức độ suy giảm này vẫn thấp hơn nhiều so với nghiệm thức 2,0 M NaCl (0,97 g/l, tương đương 21%). Ở giai đoạn 2 và 3, xu hướng này tiếp tục duy trì, cho thấy mức stress ở 0,5 – 1,5 M tuy có tác động ức chế nhưng không gây tổn hại nghiêm trọng như ở mức 2,0 M. Ngoài ra, sinh khối trong khoảng này vẫn đủ lớn để đảm bảo hiệu suất sản phẩm trong các quy trình lên men có ứng dụng stress cảm ứng. Việc so sánh với các nghiên cứu trước đây đã được thực hiện, Kot et al. (2019) cho thấy nồng độ NaCl từ 0,5 đến 1,0 M là vùng kích thích thích nghi điển hình của nhiều chủng nấm men sinh sắc tố, trong đó stress ion nhẹ giúp tế bào tái cấu trúc màng, tăng tích lũy chất kháng oxy hóa, mà không làm rối loạn chuyển hóa cơ bản. Byrtusová et al. (2025) cũng nhận định rằng *Rhodotorula* có thể duy trì khả năng sinh trưởng ở vùng nồng độ NaCl đến 1,5 M, nhưng vượt quá ngưỡng này sẽ làm gián đoạn quá trình phân bào và tổng hợp sinh khối. Điều này phù hợp với xu hướng suy giảm mạnh sinh khối tại 2,0 M được ghi nhận trong nghiên cứu hiện tại. Tóm lại, khoảng nồng độ 0,5 – 1,5 M là phù hợp để duy trì sinh trưởng tương đối ổn định của *R. mucilaginosa* trong điều kiện stress thẩm thấu, đồng thời là nền tảng để cảm ứng tích lũy carotenoid trong các giai đoạn kế tiếp.

Bảng 3. Hàm lượng sinh khối khô (g/l) theo nồng độ muối NaCl và giai đoạn nuôi cấy

Nồng độ NaCl (M)	Giai đoạn 1	Giai đoạn 2	Giai đoạn 3
0	$4,61^{a} \pm 0,30$	$3,16^{a} \pm 0,12$	$2,43^{a} \pm 0,19$
0,5	$3,04^{b} \pm 0,15$	$2,56^{b} \pm 0,26$	$1,47^{b} \pm 0,21$
1,0	$2,20^{c} \pm 0,13$	$1,85^{c} \pm 0,11$	$1,24^{c} \pm 0,05$
1,5	$1,87^{d} \pm 0,08$	$1,59^{cd} \pm 0,09$	$1,00^{d} \pm 0,09$
2,0	$0,97^{e} \pm 0,05$	$0,81^{d} \pm 0,05$	$0,62^{e} \pm 0,06$

Chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy, trong khoảng nồng độ 0,5 – 1,5 M, hàm lượng carotenoid tăng cao hơn so với đối chứng ở hầu hết các giai đoạn, phản ánh vai trò cảm ứng sinh học của stress ion trung bình đối với sinh tổng hợp sắc tố. Tại giai đoạn 1, nghiệm thức 1,0 M đạt giá trị cao nhất (226,48 µg/g), tuy nhiên nghiệm thức 0,5 M (185,53 µg/g) và 1,5 M (181,51 µg/g) cũng ghi nhận hàm lượng carotenoid cao. Tại giai đoạn 2 và 3, mặc dù hàm lượng ở 1,0 M vẫn giữ ở mức cao, nhưng nghiệm thức 0,5 M và 1,5 M vẫn duy trì được lượng sắc tố đáng kể, đặc biệt là ở giai đoạn 3, thời điểm thường ghi nhận xu hướng suy giảm do kéo dài stress. Điều này cho thấy khoảng 0,5 – 1,5 M là vùng kích hoạt hiệu quả quá trình cảm ứng carotenoid mà vẫn duy trì ổn định theo thời gian tiếp xúc. Việc so với nghiên cứu của El-Banna et al. (2012) trên *R. glutinis* cho thấy kết quả hiện tại là

tương đồng khi nhóm tác giả cũng ghi nhận mức sinh sắc tố tăng rõ rệt trong khoảng 0,4 – 1,2 M NaCl. Tương tự, Oliveira de Lima et al. (2025) chỉ ra rằng stress thẩm thấu nhẹ đến trung bình có thể hoạt hóa các enzyme trong chuỗi carotenogenesis như CrtYB và Tor, từ đó làm tăng tích lũy astaxanthin và torularhodin. Ngoài ra, Ochoa-Viñals et al. (2024) cũng quan sát thấy xu hướng tương tự khi khảo sát *R. minuta*, trong đó 0,6 – 1,5 M NaCl là vùng tạo sắc tố cao, nhưng vượt 1,5 M thì tốc độ tổng hợp giảm nhanh. Điểm quan trọng là trong khoảng 0,5 – 1,5 M, quá trình sinh tổng hợp carotenoid vẫn diễn ra mạnh mẽ, trong khi mức độ ức chế sinh khối chưa vượt ngưỡng giới hạn. Vì vậy, điều này cho thấy khoảng NaCl từ 0,5 đến 1,5 M là phù hợp cho quá trình lên men cảm ứng sắc tố từ *R. mucilaginosa*, trong đó lựa chọn cụ thể sẽ tùy thuộc vào ưu tiên giữa sinh khối và sản lượng carotenoid mong muốn.

Bảng 4. Hàm lượng carotenoid (µg/g sinh khối khô) theo nồng độ muối NaCl và giai đoạn nuôi cấy

Nồng độ NaCl (M)	Giai đoạn 1	Giai đoạn 2	Giai đoạn 3
0	$153,85^{bc} \pm 0,67$	$129,48^{cd} \pm 0,63$	$118,40^{cd} \pm 0,62$
0,5	$185,53^{b} \pm 0,41$	$155,08^{bc} \pm 0,65$	$144,75^{cd} \pm 0,80$
1,0	$226,48^{a} \pm 0,73$	$168,54^{bc} \pm 0,80$	$161,02^{bc} \pm 0,67$
1,5	$181,51^{b} \pm 0,74$	$132,49^{cd} \pm 0,36$	$139,80^{cd} \pm 0,76$
2,0	$159,85^{bc} \pm 0,26$	$93,97^{d} \pm 0,57$	$64,04^{d} \pm 0,65$

Chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

3.3. Ảnh hưởng của sự kết hợp muối KCl và NaCl đến quá trình thu nhận carotenoid

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy tổ hợp muối KCl – NaCl ảnh hưởng rõ rệt đến cả sinh trưởng và khả năng tích lũy carotenoid của *R. mucilaginosa*. Trong bốn tổ hợp khảo sát, nghiệm thức đối chứng (0 M KCl – 0 M NaCl) đạt sinh khối cao nhất (4,89 g/l) nhưng chỉ cho hàm lượng carotenoid ở mức thấp (142,60 µg/g), cho thấy điều kiện không stress ít kích thích tổng hợp sắc tố. Ngược lại, nghiệm thức KCl 0,5 M – NaCl 1,0 M tuy có sinh khối thấp hơn (3,60 g/l), nhưng lại đạt hàm lượng carotenoid cao nhất (230,40 µg/g), tăng gần 62% so với đối chứng. Đây là bằng chứng cho thấy tổ hợp stress ion trung bình có khả năng cảm ứng mạnh quá trình sinh tổng hợp sắc tố mà vẫn duy trì được sinh trưởng ở mức chấp nhận được. Nghiệm thức KCl 0,5 M – NaCl 0,5 M cũng cho kết quả tích cực với sinh khối khá cao (4,20 g/l) và hàm lượng carotenoid đạt 187,45 µg/g, tuy nhiên vẫn thấp hơn khoảng 18,6% so với nghiệm thức NaCl 1,0 M. Ngược lại, ở tổ hợp KCl 0,5 M – NaCl 1,5 M, mặc dù hàm lượng carotenoid vẫn ở mức khá cao (180,44 µg/g), nhưng sinh khối chỉ còn 2,16 g/l giảm hơn 55% so với đối chứng, điều này phản ánh rõ tác động ức chế sinh trưởng khi tổng nồng độ muối vượt ngưỡng chịu đựng của tế bào. Xu hướng này phù hợp với nghiên cứu của Kot et al. (2019) trong đó các tổ hợp muối trung bình có thể hoạt hóa con đường carotenogenesis thông qua kích hoạt biểu hiện các gen như crtYB và tor, đồng thời thúc đẩy bảo vệ màng tế bào khỏi stress oxy hóa. Trong khi đó, tổ hợp có nồng độ muối cao hơn (như 1,5 M NaCl) lại gây mất cân bằng ion nội bào, làm suy yếu hoạt động sinh lý và rối loạn tổng hợp protein, dẫn đến giảm sinh khối và hiệu quả tích lũy sắc tố. Tóm lại, tổ hợp muối KCl 0,5 M – NaCl 1,0 M là tốt nhất vì vừa đảm bảo hàm lượng carotenoid cao nhất, vừa duy trì sinh khối ở mức đủ lớn để đạt hiệu suất sản phẩm cao toàn hệ. Tổ hợp này là lựa chọn phù hợp để triển khai quy trình lên men cảm ứng sắc tố từ *R. mucilaginosa* hướng đến ứng dụng trong thực phẩm và dược liệu tự nhiên.

Bảng 5. Ảnh hưởng của tổ hợp muối KCl – NaCl đến sinh trưởng và tích lũy carotenoid

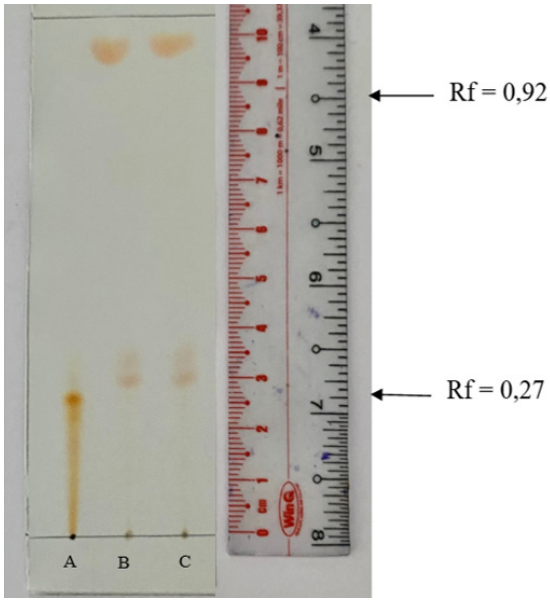
Thành phần muối (M)	Hàm lượng sinh khối (g/l)	Hàm lượng carotenoid (µg/g)
KCl 0,0 – NaCl 0,0	$4,89^{a} \pm 0,39$	$142,60^{c} \pm 0,21$
KCl 0,5 – NaCl 0,5	$4,20^{b} \pm 0,18$	$187,45^{b} \pm 0,36$
KCl 0,5 – NaCl 1,0	$3,60^{c} \pm 0,21$	$230,40^{a} \pm 0,71$
KCl 0,5 – NaCl 1,5	$2,16^{d} \pm 0,08$	$180,44^{b} \pm 0,76$

Chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $p < 0,05$.

3.4. Hoạt tính kháng oxy hóa của carotenoid được thu nhận từ *R. mucilaginosa*

3.4.1. Định tính carotenoid bằng sắc ký lớp mỏng

Kết quả phân tích bằng sắc ký bản mỏng cho thấy có sự hiện diện của ít nhất hai hợp chất carotenoid chính. Trên bản sắc ký, mẫu chuẩn astaxanthin (mẫu A) xuất hiện ở vị trí có giá trị Rf = 0,27. Các mẫu thử nghiệm bao gồm mẫu trên môi trường Hansen (mẫu B) và mẫu xử lý stress muối NaCl – KCl (mẫu C) đều xuất hiện vạch tại vị trí Rf tương ứng, cho thấy sự hiện diện rõ ràng của astaxanthin trong cả hai mẫu. Ngoài ra, cả hai mẫu B và C đều xuất hiện thêm một vạch ở vị trí Rf = 0,92, không trùng với mẫu chuẩn astaxanthin. Kết quả định tính được báo cáo bởi Machado et al. (2019) cho thấy giá trị Rf này phù hợp với β-carotene, một carotenoid không phân cực thường xuất hiện trong các loài nấm men đỏ. Sự hiện diện đồng thời của hai vạch sắc ký này cho thấy mẫu chứa cả astaxanthin và β-carotene, phản ánh sự tồn tại song song của carotenoid không phân cực và các carotenoid oxy hóa hơn trong tế bào. Đáng chú ý, cường độ vạch sắc ký của astaxanthin trong mẫu stress muối (C) rõ nét hơn so với đối chứng (B), gợi ý rằng stress muối đã thúc đẩy quá trình chuyển hóa β-carotene thành astaxanthin. Điều này phù hợp với cơ chế cảm ứng stress đã được chứng minh trong các nghiên cứu trước đây, trong đó stress thẩm thấu kích hoạt enzyme β-carotene ketolase và β-carotene hydroxylase, xúc tác quá trình oxy hóa β-carotene thành astaxanthin (Garcia-Cortes et al., 2021; Chen et al., 2024). Đây là phản ứng bảo vệ của tế bào nhằm chống lại tác hại của các gốc oxy hóa sinh ra dưới điều kiện bất lợi. Tóm lại, kết quả định tính bằng sắc ký lớp mỏng cho thấy trong các mẫu có cả astaxanthin (Rf = 0,27) và β-carotene (Rf = 0,92), với sự tăng cường sắc tố astaxanthin rõ rệt khi xử lý stress muối. Điều này khẳng định hiệu quả của chiến lược cảm ứng stress NaCl – KCl trong thúc đẩy sinh tổng hợp carotenoid có hoạt tính sinh học cao, đồng thời hỗ trợ cho kết quả định lượng đã ghi nhận ở các thí nghiệm trước.

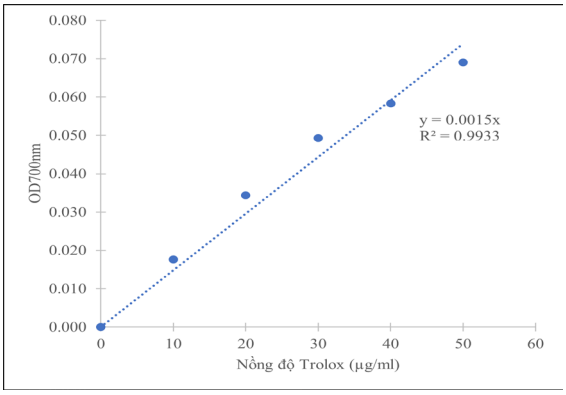


Hình 1. Kết quả định tính carotenoid bằng sắc ký lớp mỏng

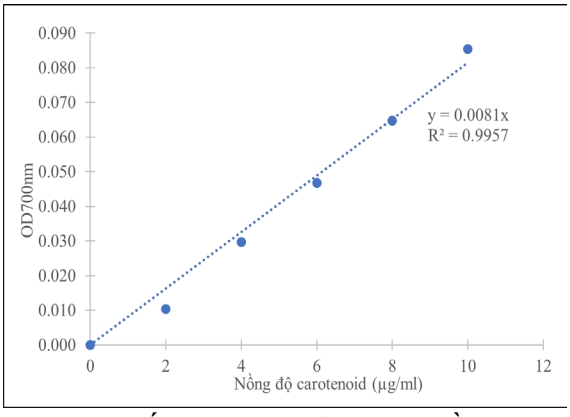
Ghi chú: A - mẫu chuẩn astaxanthin, B - mẫu nuôi trên môi trường Hansen và C - mẫu xử lý stress muối NaCl – KCl.

3.4.2. Năng lực khử của carotenoid được thu nhận từ R. mucilaginosa

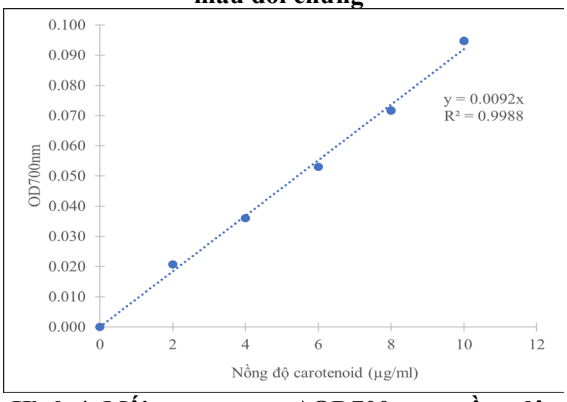
Kết quả ở Bảng 6 cho thấy các mẫu carotenoid tách chiết từ *R. mucilaginosa* có hoạt tính khử gốc tự do mạnh hơn đáng kể so với chất chuẩn Trolox. Cụ thể, để đạt được giá trị hấp thụ quang học OD700nm = 0,02, mẫu Trolox cần nồng độ 13,333 µg/mL, trong khi mẫu carotenoid đối chứng chỉ cần 2,469 µg/mL và mẫu được xử lý stress muối (K^+ 0,5 M – Na^+ 1,0 M) chỉ cần 2,174 µg/mL. Điều này cho thấy cả hai mẫu carotenoid đều thể hiện khả năng bắt gốc tự do cao gấp hơn 5 lần so với Trolox, trong đó mẫu stress muối đạt hiệu quả cao hơn mẫu đối chứng. Sự cải thiện hoạt tính khử gốc tự do có thể liên quan đến quá trình cảm ứng stress thẩm thấu, vốn được biết là kích thích con đường sinh tổng hợp các carotenoid oxy hóa mạnh như astaxanthin và torularhodin, các hợp chất có khả năng trung hòa gốc tự do rất hiệu quả nhờ cấu trúc chứa nhóm ketone và hydroxyl (Chen et al., 2024). Việc so sánh với các dữ liệu ở Hình 3 và Hình 4 cho thấy mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ và OD700nm rất cao ($R^2 > 0,99$), điều này cho thấy kết quả đo đáng tin cậy và có thể sử dụng để đánh giá định lượng khả năng chống oxy hóa của các mẫu.



Hình 2. Mối tương quan ΔOD700nm – nồng độ chứng dương trolox



Hình 3. Mối tương quan ΔOD700 – nồng độ mẫu đối chứng



Hình 4. Mối tương quan ΔOD700nm – nồng độ mẫu stress muối

Bảng 6. Nồng độ mẫu carotenoid và Trolox cần thiết để đạt OD700nm = 0,02

Mẫu	Nồng độ cần thiết (µg/mL)
Trolox	13,333
Đối chứng	2,469
Stress KCl + NaCl	2,174

3.4.3. Khả năng bắt gốc tự do ABTS⁺ của carotenoid được thu nhận từ R. mucilaginosa

Kết quả Bảng 7 cho thấy các mẫu carotenoid tách chiết từ *R. mucilaginosa* thể hiện khả năng bắt gốc tự do $ABTS^+$ vượt trội so với chất chuẩn Trolox, thông qua giá trị IC_{50}, nồng độ cần thiết để ức chế 50% gốc tự do.

Bảng 7. Giá trị IC_{50} của mẫu carotenoid và Trolox

Mẫu	Giá trị IC_{50} (µg/mL)
Trolox	15,375
Đối chứng	5,712
Stress KCl + NaCl	5,539

Mẫu Trolox có IC_{50} là 15,375 µg/mL, trong khi mẫu carotenoid đối chứng chỉ cần 5,712 µg/mL và mẫu xử lý stress muối (KCl 0,5 M – NaCl 1,0 M) còn thấp hơn, đạt 5,539 µg/mL. Điều này chứng minh rằng cả hai mẫu sắc tố đều có hoạt tính chống oxy hóa mạnh gấp gần 3 lần so với Trolox và stress muối có thể góp phần tăng cường hiệu lực này. Sự cải thiện hoạt tính ở mẫu stress muối có thể là kết quả của quá trình cảm ứng sinh học dưới điều kiện bất lợi, vốn được chứng minh là kích hoạt con đường sinh tổng hợp các carotenoid có nhóm chức oxy hóa mạnh như astaxanthin và torularhodin, những hợp chất nổi bật với khả năng trung hòa gốc tự do do có cấu trúc chứa nhóm ketone và hydroxyl ở hai đầu mạch polyene (Chen et al., 2024). Điều này cũng phù hợp với kết quả đo năng lực khử (OD_{700}) trước đó, cho thấy mối tương quan giữa cấu trúc hóa học carotenoid và hiệu lực kháng oxy hóa. Việc so với các nghiên cứu trước cho thấy giá trị IC_{50} trong nghiên cứu hiện tại tương đồng với kết quả của El-Banna et al. (2012), khi ghi nhận IC_{50} của chiết xuất carotenoid từ *R. glutinis* ở khoảng 5,2 – 6,0 µg/mL. Ngoài ra, Ochoa-Viñals et al. (2024) cũng báo cáo rằng carotenoid tự nhiên từ nấm men đỏ cho hiệu quả kháng oxy hóa cao hơn đáng kể so với các chất chuẩn tổng hợp, đặc biệt trong các hệ thống gốc tự do $ABTS^+$ và $DPPH^+$. Như vậy, kết quả IC_{50} củng cố rõ ràng rằng carotenoid từ *R. mucilaginosa*, đặc biệt khi được cảm ứng bởi stress muối, là nguồn chất kháng oxy hóa tiềm năng và có thể cạnh tranh hoặc vượt trội so với các hợp chất chuẩn hiện nay như Trolox trong ứng dụng thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm tự nhiên.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã xác định rằng stress thẩm thấu do muối ở nồng độ thích hợp không chỉ duy trì sinh trưởng của *R. mucilaginosa* mà còn kích thích

mạnh mẽ quá trình sinh tổng hợp carotenoid. Trong các điều kiện khảo sát, nồng độ KCl 0,5 M và NaCl 0,5 – 1,5 M là tối ưu để cân bằng giữa hiệu suất sinh khối và hàm lượng carotenoid tích lũy. Đặc biệt, tổ hợp KCl 0,5 M – NaCl 1,0 M cho thấy hiệu quả vượt trội, đạt hàm lượng carotenoid cao nhất mà không làm giảm mạnh sinh trưởng. Các phân tích hóa học và sinh học cho thấy carotenoid thu được có cấu trúc đặc trưng của astaxanthin và β-carotene, với hoạt tính kháng oxy hóa mạnh gấp gần 3 lần so với chất chuẩn Trolox, cả về năng lực khử và khả năng bắt gốc tự do $ABTS^{+}$. Điều này mở ra hướng ứng dụng thực tế cho *R. mucilaginosa* trong sản xuất sắc tố sinh học chức năng có giá trị cao, đồng thời góp phần phát triển các quy trình nuôi cấy nấm men cảm ứng stress hiệu quả, thân thiện với môi trường và dễ kiểm soát ở quy mô công nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

Bibhabasu, H., Santanu, B., Nripendranath, M. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata. BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8, 63. https://doi.org/10.1186/1472-6882-8-63

Buzzini, P., Innocenti, M., & Turchetti, B. (2007). Production of yeast carotenoids by using agro-industrial by-products. *Bioresource Technology*, *98*(13), 2708–2717.

Byrtusová, D., Zimmermann, B., Kohler, A., & Shapava, V. (2025). Enhanced co-production of extracellular biopolymers and intracellular lipids by *Rhodotorula* using lignocellulose hydrolysate and fish oil by-product urea. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, *18*(61), 1-19. https://doi.org/10.1186/s13068-025-02664-z

Chen, Q., Lyu, L., Xue, H., Shah, A. M., & Zhao, Z. K. (2024). *Engineering a non-model yeast Rhodotorula mucilaginosa for terpenoids synthesis*. *Synthetic and Systems Biotechnology*, *9*(3), 569–576. https://doi.org/10.1016/j.synbio.2024.04.015

El-Banna, A. A., El-Razek, A. M. A., & El-Mahdy, A. R. (2012). Some environmental factors affecting the production of carotenoids by *Rhodotorula glutinis*. *Food and Nutrition Sciences*, *3*(5), 64–71. https://doi.org/10.4236/fns.2012.31011

Fraser, P. D., & Bramley, P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*, *43*(3), 228–265. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2003.10.002

Garcia-Cortes, A., Garcia-Vásquez, J. A., Aranguren, Y., & Ramirez-Castrillón, M. (2021). Pigment production improvement in Rhodotorula mucilaginosa AJB01 using design of experiments. *Microorganisms*, *9*(2), 387,1-14. https://doi.org/10.3390/microorganisms9020387

Illarionov, A., Lahtvee, P.-J., & Kumar, R. (2021). Potassium and Sodium Salt Stress Characterization in the Yeasts Saccharomyces cerevisiae, Kluyveromyces marxianus, and Rhodotorula toruloides. *Applied and Environmental Microbiology*, *87*(13), e03100-20. https://doi.org/10.1128/AEM.03100-20

Kot, A. M., Błażejak, S., Kieliszek, M., Gientka, I., Bryś, J., Reczek, L., & Pobiega, K. (2019). Effect of exogenous stress factors on the biosynthesis of carotenoids and lipids by Rhodotorula yeast strains in media containing agro-industrial waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *35*(157), 1-10. https://doi.org/10.1007/s11274-019-2732-8

Le, V. K. T., Vo, T. H. T., Ngo, D. N. (2015). Investigation of Astaxanthin Production from Yeast *Rhodosporidium* sp. *British Microbiology Research Journal*, *9*(5), 1-7. https://doi.org/10.9734/BMRJ/2015/19368

Machado, W. R. M., Silva, L. G., Vanzela, E. S. L., & Del Bianchi, V. L. (2019). Production of carotenoids by Rhodotorula toruloides isolated from Brazilian tropical savannah. *International Food Research Journal*, *26*(4), 1259–1267.

Mosqueda-Martínez, E., Chiquete-Félix, N., Castañeda-Tamez, P., Ricardez-García, C., Gutiérrez-Aguilar, M., Uribe-Carvajal, S., & Mendez-Romero, O. (2024). In *Rhodotorula mucilaginosa*, active oxidative metabolism increases carotenoids to inactivate excess reactive oxygen species. *Frontiers in Fungal Biology*, 5, 13.78590. https://doi.org/10.3389/ffunb.2024.1378590

Ochoa-Viñals, N., Alonso-Estrada, D., Pacios-Michelena, S., García-Cruz, A., Ramos-González, R., Faife-Pérez, E., Michelena-Álvarez, L. G., Martínez-Hernández, J. L., & Iliná, A. (2024). Current advances in carotenoid production by Rhodotorula sp. *Fermentation*, *10*(4), 190. https://doi.org/10.3390/fermentation10040190

Oliveira de Lima, J. G., Veríssimo, N. V. P., Lima, C. A., Picheli, F. P., de Paula, A. V., & Santos-Ebinuma, V. C. (2025). Improvement of torularhodin production by Rhodotorula glutinis through the stimulation of physicochemical stress and application of the bioproduct as an additive in the food industry. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 48, 543–563. https://doi.org/10.1007/s00449-024-03126-w

Rivera-Araya, J., Pollender, A., Huynh, D., Schlömann, M., Chávez, R., & Levicán, G. (2019). Osmotic imbalance, cytoplasm acidification and oxidative stress induction support the high toxicity of chloride in acidophilic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2455. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02455

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *40*(6), 945–948. https://doi.org/10.1021/jf00018a005