

MỘT SỐ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ ĐỘC TÍNH CẤP CỦA VI TẢO *Amphiprora alata*

Dương Thị Thắm¹, Đỗ Thị Hồng², Nguyễn Thị Hằng² và Lê Thị Phương Hoa^{2*}

¹Trường THCS Archimedes Academy, Hanoi

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, Hanoi

Tóm tắt. Vi tảo *Amphiprora alata* có nguồn gốc từ rừng ngập mặn Giao Thủy, Vườn Quốc gia Xuân Thủy, tỉnh Nam Định. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định một số thành phần hoá học như các amino acid, lipid, khoáng, hợp chất thứ cấp (phenol, flavonoid, carotenoid) và độc tính cấp của *A. alata* để đánh giá khả năng ứng dụng làm thực phẩm chức năng của vi tảo này. *A. alata* có đa dạng các amino acid không thay thế như His, Arg, Thr, Val, Lys, Met, Ile, Leu, Phe, trong đó His có hàm lượng cao nhất (1264,7mg/100g sinh khối khô) và cao hơn nhiều loài vi tảo tiềm năng. Hàm lượng một số nguyên tố vi lượng của vi tảo này cũng tương đối cao, đặc biệt là Fe (1683,33 mg/kg sinh khối khô). *A. alata* chứa một lượng nhỏ hợp chất thứ cấp như phenol, flavonoid, β -carotene. Liều tương đối an toàn của *A. alata* dùng cho thực nghiệm được lý ban đầu vào khoảng 6g bột/kg thể trọng.

Từ khóa: *Amphiprora alata*, vi tảo, amino acid, β -carotene, khoáng, độc tính cấp.

1. Mở đầu

Ngày nay trên thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng, việc nghiên cứu các vi sinh vật có lợi nhằm ứng dụng chúng trong việc nâng cao năng suất cây trồng, vật nuôi và tăng sức khỏe con người đang được chú trọng. Vi tảo là một trong những tác nhân có khả năng cao, được kỳ vọng là đối tượng hữu ích cho con người và có ảnh hưởng đến sản xuất nông nghiệp. Chúng phân bố ở khắp nơi, trên tất cả các lục địa và các thuỷ vực trên trái đất. Vi tảo được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như làm nguồn thức ăn chính hoặc bổ sung cho động vật, người, làm nguyên liệu trong sản xuất mỹ phẩm, dược phẩm dinh dưỡng, thành phần bổ sung, nguồn nhiên liệu sinh học [1]. Đó là do vi tảo chứa rất nhiều các hợp chất có giá trị như các acid béo không no đa nối đôi (PUFA) như DHA (acid docosahexaenoic), EPA (acid eicosapentaenoic), các hợp chất chống oxy hóa như các carotenoid, các chuỗi polysaccharide như beta-glucan, sterol, vitamin và nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học khác [2,3,4]. Chúng là nguồn tiềm năng những hoạt tính có lợi cho sức khỏe con người như hoạt tính kháng ung thư, kháng vi sinh vật, kháng virus, chống oxy hoá, kháng viêm, bảo vệ gan, điều hoà miễn dịch... [2,4]. Bên cạnh đó, vi tảo thích hợp với việc nuôi sinh khối trên quy mô lớn nên chúng có lợi thế hơn so với các tảo lớn ở tiềm năng sản xuất các hợp chất với cấu trúc phức tạp và khó tổng hợp hóa học.

Amphiprora alata là một loài tảo silic thuộc họ Naviculaceae [5]. Trên thế giới và ở Việt Nam có rất ít công trình nghiên cứu về *A. alata*. Các nghiên cứu trước đó mới chỉ tập trung vào sự phân bố tự nhiên của loài này ở một số vùng sinh thái như vùng ven biển đông nam Ấn Độ [5], rừng ngập mặn Sundarban, Bangladesh [6]. *A. alata* cũng được nghiên cứu trong nuôi trồng

Ngày nhận bài: 15/8/2019. Ngày sửa bài: 24/9/2019. Ngày nhận đăng: 4/10/2019.

Tác giả liên hệ: Lê Thị Phương Hoa. Địa chỉ e-mail: lephhoa@gmail.com

thủy hải sản như làm thức ăn cho cá nác hoa (*Boleophthalmus pectinirostris*) [7], ấu trùng bào ngư (*Haliotis diversicolor supertexta*) [8]. *A. alata* là loài phổ biến nhất, chiếm đến 31,6% tổng số các vi tảo làm thức ăn cho ấu trùng bào ngư [8]. Chủng vi tảo *Amphiprora alata* VACC-007 được phân lập từ rừng ngập mặn Vườn Quốc gia Xuân Thủy (Nam Định) có tiềm năng kháng tế bào ung thư biểu mô KB ($IC_{50} = 29,82 \mu\text{g/ml}$) [9] và có tỷ lệ cao các acid béo PUFA, chiếm khoảng 27,16% tổng số acid béo [10]. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu thêm một số thành phần hóa học và độc tính cấp của chủng *A. alata* VACC-007 để đánh giá khả năng ứng dụng làm thực phẩm chức năng của loài này.

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Chủng *Amphiprora alata* VACC-007 được cung cấp bởi phòng Công nghệ Tảo và Sinh học Môi trường, Viện Vi sinh vật và công nghệ sinh học, Đại học Quốc Gia Hà Nội.

Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng chủng Swiss (*Mus musculus*), khỏe mạnh, trọng lượng 18-20 gam do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị sinh khối vi tảo

Vi tảo được nuôi cấy trong các bình có dung tích 20L chứa môi trường f/2, được sục khí liên tục và được chiếu sáng bằng đèn neon với cường độ sáng 3000-5000 lux theo chu kỳ 10h chiếu sáng và 14h tối. Sinh khối vi tảo được làm khô bằng thiết bị đông khô chân không và bảo quản ở -20°C trước khi tiến hành các thí nghiệm.

Xác định hàm lượng các amino acid

Hàm lượng các amino acid được phân tích tại Khoa Thực phẩm – Vệ sinh an toàn thực phẩm, Viện Dinh dưỡng Quốc gia. Mẫu tảo được thủy phân trong HCl 6N có sục khí nitơ 1 phút, ở 110°C trong 16 h. Hỗn hợp được phân tích trên máy sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC, Alliance, Waters, Mỹ) với cột phân tích amino acid AccQ-Tag (4,6mm x 150mm, 5 μm , Waters, Mỹ), pha động: A: đệm AccQ-Tag; B: acetonitrile, C: H_2O , chế độ gradient, tốc độ dòng: 1 ml/phút, nhiệt động buồng cột 37°C , cảm biến huỳnh quang ($E_m = 250 \text{ nm}$, $E_x = 395 \text{ nm}$).

Xác định hàm lượng lipid tổng số

Hàm lượng lipid tổng số được xác định bằng phương pháp Soxhlet, sử dụng ether (diethyl ether) làm dung môi [11].

Xác định hàm lượng khoáng

Hàm lượng khoáng được xác định bằng phương pháp tro hóa và quang phổ hấp thụ nguyên tử. Mẫu tảo được tro hoá trong dung dịch H_2SO_4 đậm đặc và H_2O_2 đậm đặc với tỷ lệ 3:2, ở nhiệt độ 300°C đến khi dung dịch mất màu. Dịch tro hoá được pha loãng bằng nước khử ion và lọc bằng giấy lọc. Nồng độ kim loại được xác định trên máy quang phổ hấp thụ nguyên tử.

Xác định thành phần một số hợp chất thứ cấp

Chiết mẫu

Mẫu tảo được ngâm trong methanol và chloroform (1:1) trong 2-3 ngày và được chiết 3 lần trong bể siêu âm, mỗi lần 30 phút, ở nhiệt độ phòng, lọc bằng giấy lọc và cô cạn ở máy cô quay chân không, thu được cao chiết.

Sắc kí bản mỏng

Dịch chiết có nồng độ 10 mg/ml (pha trong methanol) được tiến hành chạy sắc kí trên bản mỏng tráng sẵn silicagel 60F₂₅₄ với hệ dung môi n-hexane/ethylacetate với tỷ lệ 5:1. Các vạch trong bản sắc kí được hiện màu bằng cách soi dưới đèn cực tím ở bước sóng 365nm và 254nm và dưới ánh sáng thường khi phun H₂SO₄ 10%.

Xác định hàm lượng phenol tổng số

Hàm lượng phenol tổng số được xác định theo phương pháp của Waterhouse (2002), sử dụng thuốc thử Folin – Ciocalteu và chất chuẩn là acid gallic [12].

Dung dịch acid gallic chuẩn được pha bằng ethanol với nồng độ: 0; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 mg/ml. Mẫu được pha với nồng độ 10 mg/ml. Hỗn hợp với thuốc thử Folin – Ciocalteu và Na₂CO₃ 10% được đo trên máy quang phổ ở bước sóng 765 nm. Từ đồ thị chuẩn, tính toán được hàm lượng phenol tổng số của mẫu nghiên cứu theo mg đương lượng acid gallic (GAE)/g cao chiết khô.

Xác định hàm lượng flavonoid tổng số

Hàm lượng flavonoid tổng số được xác định theo phương pháp của Sapkota và cộng sự (2010) dựa trên sự hình thành phức hợp Al – flavonoid [13] với chất chuẩn là quercetin.

Mẫu và chất chuẩn được pha trong dung dịch ethanol 80%. Dung dịch quercetin được pha với dãy nồng độ: 0; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2 mg/ml. Mẫu có nồng độ 10 mg/ml. Hỗn hợp phản ứng gồm chất chuẩn hoặc mẫu với Al(NO₃)₃ 10%, kali acetate 1M được đo ở máy quang phổ với bước sóng 415nm. Từ đồ thị chất chuẩn, tính toán hàm lượng flavonoid tổng số của mẫu nghiên cứu theo mg đương lượng quercetin (QE)/g cao chiết khô.

Xác định hàm lượng β-carotene

Hàm lượng β-carotene từ mẫu tảo khô được phân tích tại Khoa Thực phẩm – Vệ sinh an toàn thực phẩm, Viện Dinh dưỡng quốc gia. Mẫu tảo được chiết bằng hỗn hợp ethanol : ether. Cặn chiết được hoà tan với dung môi pha động acetonitrile/methanol/dichloromethane và phân tích trên hệ thống HPLC (Alliance, Waters, Mỹ) với cột Symmetry Shield RP 18 (4,6mm x 150mm, 5µm), tốc độ dòng 1 ml/phút, nhiệt độ buồng cột 30°C và cảm biến PDA 450nm.

Thử độc tính trên chuột – xác định liều an toàn

Sinh khối vi tảo khô được nghiền nhỏ, toi, mịn. Chuột được chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con, trong đó có 1 lô đối chứng và 4 lô thí nghiệm với các liều khác nhau được nuôi thích nghi trong 3 ngày với điều kiện phòng thí nghiệm. Trước khi thí nghiệm, chuột nhịn đói 16 giờ, nhưng vẫn uống theo nhu cầu. Mẫu tảo được pha với nước cất và bơm vào dạ dày chuột với thể tích 0,2-0,4 ml dịch chiết/10 g thể trọng chuột. Lô đối chứng chỉ được bơm nước cất. Sau đó theo dõi chuột trong thời gian 3 ngày, quan sát biểu hiện hành vi, hoạt động, ăn uống, bài tiết và số chuột sống chết. Xác định liều gây chết 50 % (LD₅₀) và liều dưới chết (LD₀). Trong trường hợp không xác định được LD₅₀ nhưng vẫn xác định được LD₀, liều tương đối an toàn dùng cho thực nghiệm được lý ban đầu được lấy giá trị 1/5 LD₀ [14].

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel.

2.2. Kết quả và thảo luận

Hàm lượng các amino acid

Nhìn chung các loài vi tảo thường có hàm lượng protein cao (40-60%) và cao hơn so với nhiều nguồn thức ăn của động vật và người [2,15,18]. Để tìm hiểu chất lượng protein của *A. alata*, chúng tôi đã tiến hành phân tích thành phần amino acid.

Kết quả phân tích cho thấy trong số 16 amino acid được phân tích, *A. alata* có nhiều loại amino acid không thay thế, chiếm khoảng hơn 50% tổng số các amino acid. Histidine có hàm

lượng cao nhất so với các loại amino acid khác, chiếm khoảng 12,4%. Sau đó là acid aspartatic và acid glutamic. Nghiên cứu trước đây cho thấy acid aspartatic và acid glutamic là những amino acid chiếm tỷ lệ cao nhất còn histidine ở trong số các amino acid chiếm tỷ lệ thấp nhất [15]. Hàm lượng histidine của *A. alata* cao hơn hàm lượng histidine trong các chủng tảo đã nghiên cứu kể cả *Spirulina* sp. (2,50 – 10,55 mg/g sinh khối khô) [16].

Bảng 1. Hàm lượng các amino acid của *A. alata*

TT	Amino acid	Hàm lượng (mg/100g sinh khối khô)
1	Acid aspartatic	1197,6
2	Acid glutamic	995,6
3	Alanine	584,3
4	Arginine	871,1
5	Glycine	105,1
6	Histidine*	1264,7
7	Isoleucine*	469,8
8	Leucine*	764,1
9	Lysine*	548,3
10	Methionine*	302,3
11	Phenylalanine*	564,9
12	Proline	946,5
13	Serine	142,1
14	Threonine*	500,5
15	Tyrosine	422,3
16	Valine*	483,8

(*Amino acid không thay thế ở người)

Hàm lượng lipid

Dầu vi tảo là một sự lựa chọn đáng tin cậy để thay thế một phần các loại dầu thực vật đang sử dụng hiện nay. Trong nhiều trường hợp, phần trăm acid linoleic (18:2 n-6) và α -linolenic (18:3 n-3) ở vi tảo cao hơn so với dầu hạt cải, đậu tương và hướng dương [2].

Hàm lượng lipid của *A. alata* vào khoảng $5,13 \pm 0,75\%$ khối lượng khô, thấp hơn so với một số loài tảo silic [15] và sản phẩm thương mại của một số loài vi tảo như *S. maxima*, *S. platensis*, *Chlorella vulgaris* (6,4 – 8,6%) [17]. Tuy nhiên, hàm lượng lipid của *A. alata* cao hơn hoặc tương đương với hàm lượng lipid của một số loài vi tảo tiềm năng được nuôi cấy như *S. maxima* (3,6%), *C. vulgaris* (5,1%) [18] và cao hơn rất nhiều so với thực phẩm chế biến từ một số loài tảo lớn (0,7 - 1,9%). Theo nghiên cứu trước, tỷ lệ PUFA của *A. alata* chiếm tới khoảng 27% tổng số acid béo. Trong số các PUFA này, đa số là các PUFA mạch dài như arachidonic (AA), EPA và đặc biệt là DHA. Đây là những acid béo cần thiết cho sự sinh trưởng, phát triển và hoạt động của tế bào [10]. Như vậy, hàm lượng lipid của *A. alata* có giá trị về mặt dinh dưỡng.

Thành phần khoáng

Hàm lượng một số nguyên tố đại lượng và vi lượng của *A. alata* đã được phân tích.

Bảng 2. Hàm lượng một số nguyên tố khoáng của *A. alata*

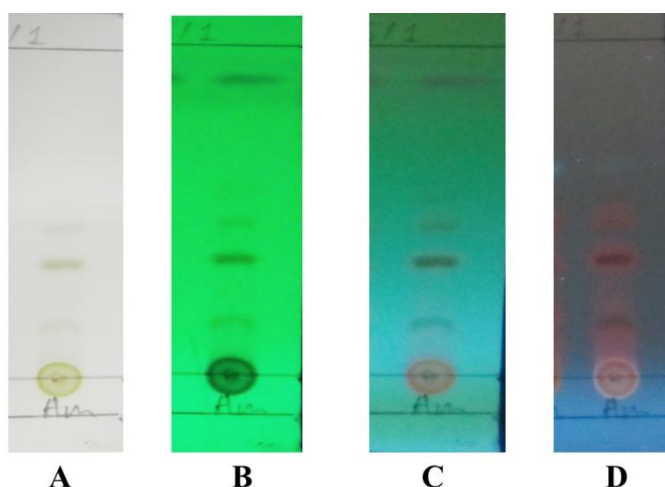
Nguyên tố	Na	K	Mg	Cu	Fe	Zn
Hàm lượng (mg/kg sinh khối khô)	12749,65	4094,52	658,32	147,67	1683,33	17,15

Kết quả cho thấy *A. alata* có hàm lượng Na cao và hàm lượng K và Mg tương đối thấp hơn so với một số loài vi tảo có tiềm năng ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm *S. maxima*, *C. vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, *Isochrysis galbana*. Tuy nhiên, tỉ lệ Na/K của *A. alata* (3,11) thấp hơn so với *S. maxima* (3,31) [18]. Kết quả cũng cho thấy *A. alata* có hàm lượng đáng kể Cu, Fe, Zn, cao hơn nhiều loài vi tảo tiềm năng. Đặc biệt, hàm lượng Fe trong *A. alata* cao hơn tất cả các loài vi tảo tiềm năng, gần gấp 2 lần so với loài *H. pluvialis* có hàm lượng Fe cao nhất (822,7 mg/kg sinh khối khô) [18]. Như vậy, *A. alata* là nguồn nguyên liệu quý nguyên tố vi lượng Fe, thành phần quan trọng của nhiều protein và enzyme, đặc biệt là hemoglobin.

Thành phần một số hợp chất thứ cấp

Phân tích thành phần hóa học bằng sắc kí bản mỏng

Chúng tôi tiến hành khảo sát sơ bộ thành phần một số hợp chất thứ cấp của cao chiết methanol-chloroform từ *A. alata* (Hình 1).



Hình 1. Ảnh sắc kí bản mỏng của cao chiết *A. alata* dưới ánh sáng thường (A),

ở bước sóng 254 nm (B), 302 nm (C), 365 nm (D) với hệ dung môi hexane/ethyl acetate (5:1)

Kết quả cho thấy dịch chiết *A. alata* chứa nhiều diệp lục (vạch màu xanh lá cây dưới ánh sáng thường, màu đỏ ở bước sóng 365 nm). Ở bước sóng 365 nm, bản sắc kí có nhiều băng vạch và màu rõ nét nhất. Đặc biệt có băng màu xanh dương nhạt phía trên các băng diệp lục biểu thị cho hợp chất phenol.

Hàm lượng phenol và flavonoid tổng số

Bảng 3. Hàm lượng phenol và flavonoid tổng số của cao chiết *A. alata*

Hàm lượng	Cao chiết <i>A. alata</i>
Phenol tổng số (mg GAE/g)	5,48 ± 0,07
Flavonoid tổng số (mg QE/g)	5,01 ± 1,06

GAE: đương lượng acid gallic, QE: đương lượng quercetin

Các hợp chất phenol và flavonoid có vai trò đa dạng như chống oxy hóa nhờ hoạt động khử, trung hòa các gốc tự do, phá hủy gốc oxy đơn và ba, hoặc phân hủy peroxide và một số hoạt tính khác như kháng viêm, kháng vi sinh vật [4].

Kết quả thí nghiệm cho thấy *A. alata* chứa hàm lượng thấp các hợp chất phenol và flavonoid. Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy hàm lượng thấp các hợp chất phenol trong các cao chiết của nhiều loài vi tảo. Cao chiết methanol của *S. platensis* được nuôi cấy ở các điều kiện nhiệt độ và nguồn nitơ khác nhau có hàm lượng các hợp chất phenol chỉ khoảng 2,42 – 4,99 mg/g đương lượng tyrosine [19]. Cao chiết ethanol/nước của các loài *Botryococcus braunii*, *Chaetoceros calcitrans*, *C. vulgaris*, *H. pluvialis*, *Isochrysis* ISO-T, *Nannochloropsis oculata*... đều có hàm lượng phenol rất thấp, chỉ từ 0,54 – 4,57 mg GAE/g [20]. Tuy nhiên, các hợp chất phenol đóng vai trò quan trọng trong hoạt tính chống oxy hoá của các loài tảo này như quét gốc tự do ABTS và khử Fe³⁺ thông qua việc chuyển điện tử đơn và chuyển nguyên tử hydro [20].

Hàm lượng β -carotene

Các hợp chất carotenoid như β -carotene, astaxanthin, zeaxanthin... đóng vai trò quan trọng đối với cơ thể người và động vật. Hiện nay, các carotenoid được sử dụng làm chất màu tự nhiên trong thực phẩm, chất phụ gia trong thức ăn của cá, gia cầm và trong mỹ phẩm [3].

Kết quả phân tích cho thấy chủng *A. alata* có hàm lượng β -carotene là 15,39mg/100g sinh khối khô. Đây là một yếu tố quan trọng tạo nên giá trị dinh dưỡng của *A. alata*. Beta-carotene vừa đóng vai trò là tiền chất của vitamin A đồng thời là chất chống oxy hóa hiệu quả, có khả năng kháng viêm. Do vậy, β -carotene thường được đưa vào công thức vitamin hỗn hợp, các được phẩm dinh dưỡng, thực phẩm bổ dưỡng. Ở *S. platensis*, β -carotene chiếm khoảng 80% carotenoid [21]. Một số nghiên cứu cho thấy việc bổ sung β -carotene hàng ngày ở động vật có vú có tác dụng làm giảm lượng lipid tổng số, cholesterol và triglyceride. Beta-carotene còn góp phần tăng cường hoạt động hệ miễn dịch. Liều cao β -carotene đã làm tăng tỷ lệ tế bào lympho CD4/CD8 mà thường ở mức thấp ở những người nhiễm HIV [22].

Độc tính cấp

Theo các kết quả nghiên cứu trên, *A. alata* có thành phần các chất dinh dưỡng như amino acid thiết yếu, nguyên tố vi lượng và một số hợp chất thứ cấp như các hợp chất phenol, β -carotene, nguồn cung cấp các hoạt tính sinh học có giá trị. Ngoài ra, *A. alata* còn có hàm lượng PUFA, DHA đáng kể và hoạt tính kháng ung thư [10, 11]. Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu độc tính cấp của *A. alata* nhằm đánh giá khả năng ứng dụng làm thực phẩm chức năng.

Bảng 4. Độc tính cấp của *A. alata*

Lô chuột	Liều uống (g bột/kg thể trọng)	Số chuột chết
Đối chứng	0	0
1	25	0
2	30	0
3	32,5	2
4	37,5	3

Theo dõi chuột uống mẫu vi tảo với các liều khác nhau, chúng tôi thấy rằng với những chuột uống liều 25-30g bột/kg thể trọng, chuột khỏe mạnh bình thường. Với những chuột được uống liều cao, 32,5 và 37,5 g bột/kg thể trọng, thì có chuột chết sau hai ngày uống. Khi mổ quan sát nội tạng, không phát hiện thấy bất thường. Với những chuột còn sống, các hành vi, hoạt động, ăn uống bình thường. Liều 37,5 g bột/kg thể trọng là liều tối đa có thể cho con chuột nhất trắng uống trong 1 ngày. Do đó, không thể xác định được LD50 của mẫu vi tảo này. LD0 của *A.*

alata là 30g bột/kg thể trọng. Như vậy, liều tương đối an toàn dùng cho thực nghiệm được lý ban đầu được lấy giá trị là 6g bột/kg thể trọng.

3. Kết luận

Nghiên cứu cho thấy sinh khối của *A. alata* có nhiều loại amino acid không thay thế như His, Arg, Thr, Val, Lys, Met, Ile, Leu, Phe. Trong đó His có hàm lượng cao nhất (1264,7mg/100g sinh khối khô), cao hơn nhiều so với các loài vi tảo tiềm năng ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm. *A. alata* cũng chứa hàm lượng Fe cao (1683,33 mg/kg sinh khối khô). Chúng này chứa phần lớn diệp lục và một lượng nhỏ các hợp chất thứ cấp như các hợp chất phenol, flavonoid và có hàm lượng β -carotene là 15,39 mg/100g sinh khối khô. Liều tương đối an toàn của *A.alata* dùng cho thực nghiệm được lý ban đầu khoảng 6g bột/kg thể trọng. Các kết quả cho thấy giá trị dinh dưỡng của *A. alata* và đặt ra yêu cầu cần có thêm nghiên cứu về các hoạt tính sinh học như chống oxy hoá, kháng vi sinh vật và độc tính bán trường diễn của vi tảo *A.alata* nhằm ứng dụng trong sản xuất thực phẩm chức năng phục vụ cho nhu cầu chăm sóc sức khỏe của con người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Khan M.I., Shin J.H. and Kim J.D., 2018. *The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products*. Microbial Cell Factories, Vol 17, pp. 1-21.
- [2] Buono S., Langellotti A.L., Martello A., Rinna F. and Fogliano V., 2014. *Functional ingredients from microalgae*. Food and Function, Vol. 5, pp. 1669-1685.
- [3] Gouveia L., Marques A.E., Sousa J.M., Moura P. and Bandarra N.M., 2010. *Microalgae-source of natural bioactive molecules as functional ingredients*. Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods, Vol. 7, pp. 21-37.
- [4] Matos J., Cardoso C., Bandarra, N.M., Afonso C., 2017. *Microalgae as a healthy ingredient for functional food: A review*. Food and Function, 8(8), pp. 2672-2685.
- [5] Sahu G., Satpathy K.K., Mohanty A.K. and Sarkar S.K., 2012. *Variations in community structure of phytoplankton in relation to physicochemical properties of coastal waters, southeast coast of India*. Indian Journal of Geo-Marine Sciences, Vol. 41 (3), pp. 223-241.
- [6] Aziz A., Rahman M. and Ahmed A., 2012. *Diversity, distribution and density of estuarine phytoplankton in Sundarban mangrove forests, Bangladesh*. Bangladesh Journal of Botany, Vol. 41, pp. 87-95.
- [7] Yang K.Y., Lee S.Y. and Williams G.A., 2003. *Selective feeding by the mudskipper (*Boleophthalmus pectinirostris*) on the microalgal assemblage of a tropical mudflat*. Marine Biology, Vol. 143, pp. 245-256.
- [8] Zhang Y., Gao Y., Liang J., Chen C., Zhao D., Li X., Li Y. and Wu W., 2010. *Diatom diet selectivity by early post – larval abalone *Haliotis diversicolor supertexta* under hatchery conditions*. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, Vol. 6, pp. 1187-1194.
- [9] Hoa L.T.P., Quang D.N., Ha N.T.H. and Tri N.H., 2011. *Isolating and screening mangrove microalgae for anticancer activity*. Research Journal of Phytochemistry, Vol. 5, pp. 156-162.
- [10] Hoa L.T.P., Quang D.N. and Ha N.T.H., 2012. *Selection and isolation of some microalgae strains from mangrove in Xuan Thuy national park as food for bivalve larvae*. Journal of Science of HNUE, Chemical and Biological Science, Vol. 57, pp. 56-65.
- [11] Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thị Hiền, Phùng Gia Tường, 1998. *Thực hành hóa sinh học*. Nxb Giáo dục Việt Nam, Hà Nội, tr. 73-75.

- [12] Waterhouse A.L., 2002, *Determination of total phenolics*, In Current protocols in food analytical chemistry (Eds. R.E. Wrolstad, T.E. Acree, H. An, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D.M. Smith, and P. Sporns), II.1.1 - II.1.8.
- [13] Sapkota K., Park S.E., Kim J.E., Kim S., Choi H.S., Chun H.S., and Kim S.J., 2010. *Antioxidant and antimelanogenic properties of chestnut flower extract*. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, Vol. 74 (8), pp. 1527 – 1533.
- [14] Đỗ Trung Đàm, 1996. *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*. NXB Y học, Hà Nội, tr. 11-137.
- [15] Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K., Dunstan G.A., 1997. *Nutritional properties of microalgae for mariculture*. Aquaculture, Vol. 151, pp. 315-331.
- [16] Ahlgren G., 1992. *Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae*. Journal of Phycology, Vol. 28, pp. 37-50.
- [17] Ortega-Calvo J.J., Mazuelos C., Hermosin B. and Saiz-Jimenez C., 1993. *Chemical composition of Spirulina and eukaryotic algae food products marketed in Spain*. Journal of Applied Phycology, Vol. 5, pp. 425 – 435.
- [18] Batista A.P., Gouveia L., Bandarra N.M., Franco J.M., and Raymundo A., 2013. *Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products*. Algal Research, Vol. 2(2), pp. 164–173.
- [19] Colla L.M., Reinehr C.O., Reichert C., Costa J.A.V., 2007. *Production of biomass and nutraceutical compounds by Spirulina platensis under different temperature and nitrogen regimes*. Bioresource Technology, Vol. 98, pp. 1489-1493.
- [20] Goiris K., Muylaert K., Fraeye I., Foubert I., De Brabanter J., and De Cooman L., 2012. *Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content*. Journal of Applied Phycology, Vol. 24(6), pp. 1477–1486.
- [21] De Morais M.G., Vaz B.da S., de Morais E.G., and Costa J.A.V., 2015. *Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae*. BioMed Research International, Vol. 2015, pp. 1–15.
- [22] Vílchez C., Forján E., Cuaresma M., Bédmar F., Garbayo I. and Vega J.M., 2011. *Marine carotenoids: biological functions and commercial applications*. Marine Drugs, Vol. 9, pp. 319-333.

ABSTRACT

Some chemical constituents and acute toxicity of *Amphiprora alata*

Duong Thi Tham¹, Do Thi Hong², Nguyen Thi Hang² and Le Thi Phuong Hoa^{2*}

¹Archimedes Academy Secondary School, Hanoi, Vietnam

²Hanoi National University of Education, Hanoi, Vietnam

Amphiprora alata, a microalga collected from Giao Thuy mangrove, Xuan Thuy National Park, Nam Dinh province was used for this study. In this study, we determined some chemical components such as amino acids, lipid, minerals, secondary metabolites (phenolics, flavonoids, carotenoids) as well as the acute toxicity of *A. alata* for its application in functional food production. The result showed that *A. alata* had various essential amino acids such as His, Arg, Thr, Val, Lys, Met, Ile, Leu, Phe, of which His accounted for the highest level (1264.7 mg/100g dry mass), higher than many potential microalgae. This microalga also possessed a remarkably high amount of microelement, especially Fe (1683.33 mg/kg dry mass). *A. alata* had a small amount of secondary metabolites such as phenolics, flavonoids and β -carotene. A recommended safe dose of *A. alata* for initial pharmacological experiment is about 6g dry powder/kg body mass.

Keywords: *Amphiprora alata*, microalgae, amino acid, β -carotene, mineral, acute toxicity.