

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science

ASSESSMENTS AND ENHANCEMENTS OF ANTIOXIDANTS PRODUCTION IN *Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana*, AND *Tetraselmis chuii*

NURUL SHAFIQA BINTI YUSOF

MAY 2023

Main Supervisor : Associate Professor Norhayati Binti Yusuf, Ph.D

Co-Supervisor I : Professor Yeong Yik Sung, Ph.D

Co-Supervisor II : Associate Professor Hazlina Binti Ahamad Zakeri, Ph.D

School/Institute : Institute of Marine Biotechnology

Microalgae have been in the centre of research for various purposes with potential natural antioxidants. However, selection of the culture conditions in enhancing microalgal antioxidants are the major challenges met by researchers which still demand to be addressed. Alteration of the culture conditions expose the microalgae to oxidative stress and boost the accumulated antioxidants, which can be exploited for commercialization purposes. Therefore, this study intends to evaluate the production of antioxidants comprising enzymatic (superoxide dismutase, SOD; catalase, CAT; ascorbate peroxidase, APX; guaiacol peroxidase, GPX; glutathione reductase, GR) and non-enzymatic (chlorophylls, Chls; carotenoids, CAR; ascorbic acid, AsA; α -tocopherol, TOC; total glutathione, GSH) in *Chlorella vulgaris* (UMT-M1), *Isochrysis galbana* (SWC002), and *Tetraselmis chuii* (SWC001) at different growth phases. The early stationary phase was observed as the significant increment phase for most of antioxidants throughout the cultivation period. At this phase, TOC was produced the highest in all studied species. Additionally, CAT and GPX were the highest in *C. vulgaris* and *I. galbana*, while *C. vulgaris* and *T. chuii* achieved the highest SOD and APX in this phase. Subsequently, *C. vulgaris*, *I. galbana*, and *T.*

chuii were subjected to different photoperiods (12-hour light, continuous light), light intensities (2,000, 4,000, 6,000 lux), concentrations of nitrate and phosphate (0× to 5×), as well as initial pH of culture media (pH 4 to 10) at the early stationary phase. In *C. vulgaris*, *I. galbana*, and *T. chuii*, 12-hour light of 2,000 lux boosted the SOD and GPX, but 12-hour light of 4,000 and 6,000 lux escalated the AsA formation. Interestingly, under macronutrients manipulation, the highest GR in all studies species was recorded in 4× nitrate and phosphate. At various initial pH levels, non-enzymatic GSH was produced higher in *C. vulgaris*, but APX and GR were higher in *I. galbana* and *T. chuii* at the range of pH 4 to 9. The obtained results show that the enhancement of antioxidants differed at various stressors, which give a huge gap to be discovered. This research provides an insight on the best selection of studied culture conditions to explore the most efficient antioxidants production in studied microalgae species.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu
sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Sarjana Sains

**PENILAIAN DAN PENINGKATAN PENGHASILAN ANTIOKSIDAN
DALAM *Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana*, DAN *Tetraselmis chuii***

NURUL SHAFIQA BINTI YUSOF

MEI 2023

Penyelia : **Profesor Madya Norhayati Binti Yusuf, Ph.D**

Penyelia Bersama I : **Profesor Yeong Yik Sung, Ph.D**

Penyelia Bersama II : **Profesor Madya Hazlina Binti Ahamad Zakeri, Ph.D**

Pusat Pengajian/Institut : **Institut Bioteknologi Marin**

Mikroalga telah menjadi tarikan dalam penyelidikan untuk pelbagai kegunaan dan berpontesi sebagai antioksidan semula jadi. Namun begitu, pemilihan keadaan kultur untuk meningkatkan antioksidan dalam mikroalga adalah cabaran besar yang dihadapi oleh penyelidik yang masih perlu ditangani. Perubahan keadaan kultur akan mendedahkan mikroalga kepada tegasan oksidatif dan meningkatkan penghasilan antioksidan, yang mana boleh dieksploitasi untuk tujuan pengkomersialan. Oleh itu, kajian ini bertujuan untuk menilai penghasilan antioksidan yang terdiri daripada enzim ('superoxide dismutase', SOD; 'catalase', CAT; 'ascorbate peroxidase', APX; 'guaiacol peroxidase', GPX; 'glutathione reductase', GR) dan bukan enzim (klorofil, Chl; karotenoid, CAR; asid askorbik, AsA; α -tokoferol, TOC; keseluruhan glutathione, GSH) dalam *Chlorella vulgaris* (UMT-M1), *Isochrysis galbana* (SWC002), dan *Tetraselmis chuii* (SWC001) pada fasa pertumbuhan berbeza. Fasa awal pegun diperhatikan sebagai fasa kenaikan yang ketara bagi kebanyakan antioksidan sepanjang tempoh kultur. Pada fasa ini, TOC telah dihasilkan paling tinggi dalam semua spesies yang dikaji. Selain itu, CAT

dan GPX adalah paling tinggi dalam *C. vulgaris* dan *I. galbana*, manakala *C. vulgaris* dan *T. chuii* telah menghasilkan SOD dan APX yang tertinggi pada fasa ini. Seterusnya, *C. vulgaris*, *I. galbana*, dan *T. chuii* telah didedahkan kepada pelbagai tempoh pencahayaan (12 jam cahaya, cahaya berterusan), intensiti pencahayaan (2,000, 4,000, 6,000 lux), kepekatan nitrat dan fosfat (0× ke 5×), serta pH awal media (pH 4 ke 10) pada fasa awal pegun. Dalam *C. vulgaris*, *I. galbana*, dan *T. chuii*, 12 jam cahaya pada 2,000 lux meningkatkan SOD dan GPX, tetapi rawatan 12 jam cahaya pada 4,000 dan 6,000 lux meningkatkan penghasilan AsA. Menariknya, dalam manipulasi makronutrien, aktiviti GR yang tertinggi dalam semua spesies yang dikaji telah direkodkan dalam 4× nitrat dan fosfat. Pada pelbagai tahap pH awal, antioksidan bukan enzim GSH dihasilkan tinggi dalam *C. vulgaris*, tetapi aktiviti APX dan GR adalah paling tinggi dalam *I. galbana* dan *T. chuii* pada julat pH 4 ke 9. Keputusan yang telah diperolehi menunjukkan bahawa peningkatan antioksidan berbeza dengan pelbagai tegasan yang memberikan jurang yang besar untuk diterokai. Kajian ini memberikan gambaran tentang pemilihan keadaan kultur terbaik yang dikaji untuk meneroka pengeluaran antioksidan paling berkesan dalam spesies mikroalga yang dikaji.