

## SINH TỔNG HỢP LIPID CỦA MÙI CHÙNG THRAUSTOCHYTRID PHÂN LẬP TỪ RỪNG NGẬP MẶN XUÂN THỦY, NAM ĐỊNH

Phạm Thị Bích Đào<sup>1</sup>, Nguyễn Đình Tuấn<sup>1</sup>, Trần Đăng Khoa<sup>2</sup>, Chử Thị Huyền<sup>1</sup>, Đỗ Hoàng Thành<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Hoài Hà<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup>Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài: 20.11.2015

Ngày nhận đăng: 20.4.2016

### TÓM TẮT

Các acid béo không no (PUFA) có các đặc điểm cấu trúc độc đáo tương ứng với từng chức năng riêng biệt như điều chỉnh sinh lý tế bào và điều chỉnh sự biểu hiện của các gen nhất định. Do đó, khi thiếu hụt PUFA sẽ xuất hiện những bất thường ở da, thận, mạng lưới thần kinh, các phản ứng miễn dịch và viêm, hệ tim mạch, hệ nội tiết, hệ hô hấp và hệ sinh sản. Trong dầu cá, tỷ lệ PUFA tương đối thấp gây khó khăn trong việc sản xuất trên quy mô lớn. Vì vậy, việc thăm dò các nguồn của PUFA đặc biệt là acid arachidonic-AA, acid eicosapentaenoic-EPA, acid docosapentaenoic-DPA/DHA thu hút được nhiều nghiên cứu. Vi tảo biển dị dưỡng (VTBDD) thraustochytrid có khả năng sản xuất lượng lớn DHA và thành phần PUFA đa dạng. DHA có thể được tổng hợp bởi sự chuyển hóa của AA, EPA hay DPA. Các dạng khác nhau của PUFA phản ánh mối quan hệ trong phân loại. Mùoi vi tảo biển dị dưỡng thraustochytrid phân lập được từ rừng ngập mặn Xuân Thủy, Nam Định chứa thành phần acid béo đa dạng từ C12 - C28, đặc biệt có chứa hai thành phần PUFA quan trọng là EPA và DPA. Tỷ lệ PUFA của mùoi chùng VTBDD thraustochytrid chiếm 8,95 - 49,62% lipid tổng số. DPA so với các PUFA khác đều cao nhất đối với cả mùoi VTBDD nghiên cứu, chiếm 20,22 - 39,35% TFA. Mùoi VTBDD thraustochytrid sinh trưởng tốt nhất đối với nguồn carbon là glucose, lipid tổng số đạt 7 - 12,35% trọng lượng khô sau 72 giờ. Tốc độ sinh trưởng và tổng hợp lipid trên nguồn nitrogen hữu cơ tốt hơn so với nguồn nitrogen vô cơ. Nguồn nitrogen tốt nhất cho sinh trưởng và tổng hợp lipid của VTBDD thraustochytrid là cao nấm men, với lipid tổng số đạt 8,57-18,87% trọng lượng khô sau 72 giờ.

**Từ khóa:** acid béo, lipid, rừng ngập mặn Xuân Thủy, thraustochytrid, vi tảo biển dị dưỡng

### GIỚI THIỆU

Thraustochytrid là nhóm VTBDD đa dạng của tập đoàn vi tảo biển, có quan hệ gần gũi với giới Straminipila. Giới này bao gồm một vài loài tảo có đôi dị dưỡng, nấm nấm, tảo cát và tảo nâu (Dick, 2001; Armenta, Valentine, 2012; Jain *et al.*, 2005). Thraustochytrid đóng một vai trò quan trọng trong hệ sinh thái biển. Chúng có khả năng phân hủy mảnh vụn biển, chất nhờn san hô và lá cây rừng ngập mặn (Miller, Jones, 1983; Raghukumar, 2008; Raghukumar, Balasubramanian, 1991; Sathe-Patak *et al.*, 1993).

Thraustochytrid có khả năng sinh acid béo không no, astaxanthin, carotenoid, đây là những hợp chất có vai trò quan trọng đối với sức khỏe con người và trong nuôi trồng thủy sản (NTTS) (Aki *et al.*, 2003; Lewis *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2001). Đặc biệt các acid béo không no đa nối đôi (PUFA)

như acid docosahexaenoic (DHA), acid docopentaenoic (DPA), acid eicosapentaenoic (EPA) không chỉ hỗ trợ quá trình phát triển chức năng bình thường của hệ thần kinh trung ương mà còn giúp chống lại các căn bệnh nguy hiểm như ung thư, xơ vữa động mạch (Crawford *et al.*, 1997; Li *et al.*, 2014). Trong NTTS, bổ sung DHA vào thành phần thức ăn của ấu trùng tôm, cá là cần thiết do khả năng tự tổng hợp DHA của những động vật này rất hạn chế (Muller-Feuga, 2004). Nguồn PUFA hiện nay chủ yếu từ một số loài cá biển, tuy nhiên, với thực trạng suy giảm nguồn cá trong thiên nhiên, vấn đề cấp thiết đặt ra là tìm một nguồn PUFA thay thế hiệu quả và bền vững. Nguồn PUFA từ vi sinh vật, đặc biệt là từ vi tảo là nguồn thay thế đầy hứa hẹn. Trong vài năm gần đây, các loài VTBDD thuộc chi *Labyrinthula*, *Ulkenia*, *Schizochytrium*, *Thraustochytrium* đã trở thành đối tượng nghiên cứu chính cho các nhà khoa học ở một số nước như Thái Lan, Nhật Bản sản xuất DHA làm thực phẩm chức

năng cho người, phối trộn chúng cùng nấm men và một số vi tảo biển khác làm thức ăn tươi sống hoặc nhân tạo trong NTTS (Chatdumrong *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2001; Yokoyama *et al.*, 2007). Ở Việt Nam, các nhà khoa học đang tiến hành nghiên cứu, lưu giữ nguồn gen vi tảo *thraustochytrid* tiềm năng này.

VTBDD *thraustochytrid* có khả năng sinh trưởng nhanh, dễ dàng duy trì điều kiện nuôi cấy ổn định, không bị ảnh hưởng bởi mùa vụ và khí hậu, kiểm soát được quá trình sản xuất và chất lượng sản phẩm khi nuôi ở quy mô công nghiệp. Nguồn carbon và nitrogen là hai nguồn dinh dưỡng không thể thiếu cho sinh trưởng và sinh tổng hợp lipid của vi tảo *thraustochytrids* (Fan, Chen, 2007). Lựa chọn được nguồn dinh dưỡng tối ưu sẽ thúc đẩy sự sinh trưởng và sinh tổng hợp các acid béo không no đa nối đôi (DHA, EPA, DPA) với hàm lượng cao.

## PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Đối tượng nghiên cứu

Mười chủng gồm VTBDD PT-268, PT-271, PT-272, PT-277, PT-279, PT-281, PT-278, PT-280, PT-283 và PT-286 phân lập từ rừng ngập mặn Xuân Thủy, Nam Định, được nuôi cấy trên môi trường GPY (Honda *et al.*, 1999). Nước biển dùng để pha môi trường lấy từ rừng ngập mặn Xuân Thủy, Nam Định, chất lượng nước không thay đổi trong thời gian tiến hành thí nghiệm.

### Phân tích lipid tổng số

Hàm lượng lipid được xác định theo phương pháp Bligh và Dyer (1959): mẫu  $m_1$ (g) đem ngâm chiết trong chloroform:methanol; sau đó lọc, loại cặn, thu dịch. Bổ sung nước cất vào dịch tổng số, lắc kỹ tạo dịch chiết. Để dịch chiết phân lớp, chiết lấy pha dưới và làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Cất loại dung môi dưới áp suất thấp và thu lipid tổng, cân trọng lượng  $m_2$ (g).

Hàm lượng lipid tổng tính theo công thức:

$$\text{Lipid tổng} = (m_2/m_1) \times 100 \text{ (\% trọng lượng khô)}$$

### Xác định thành phần acid béo bằng sắc ký khí theo tiêu chuẩn ISO/FDIS 5590:1998, LB Đức

Lipid được hoà tan với n-hexan, lắc kỹ trong lọ nhỏ nút kín. Methyl hóa bằng dung dịch  $\text{CH}_3\text{ONa}$  trong methanol và HCl trong 1 phút. Phân lớp bằng

ly tâm 3.000 vòng/phút. Chuyển mẫu đã methyl hoá sang ống mẫu đem phân tích thành phần acid béo bằng máy sắc ký khí: HP-6890, ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5973; Cột: HP-5MS ( $m \times 30m \times 0,25\text{mm}$ ); Khí mang He; chương trình nhiệt độ:  $80^\circ\text{C}$  (1 phút) -  $40^\circ\text{C}$ /phút. -  $150^\circ\text{C}$  (1 phút) -  $10^\circ\text{C}$ /phút -  $260^\circ\text{C}$  (10 phút). Thư viện phổ khối: WILEY275.L và NIST 98.L

### Ảnh hưởng của nguồn carbon và nitrogen đến sinh trưởng và tổng hợp lipid

VTBDD *thraustochytrid* nuôi lắc trong bình tam giác 500ml môi trường GPY, 200 vòng/phút, nhiệt độ  $28^\circ\text{C}$ , nồng độ muối 17,5%. Tỷ lệ giống ban đầu là 1%. Môi trường bổ sung 2% với các nguồn carbon khác nhau: glucose, fructose, maltose và lactose. Nguồn nitrogen được thay thế bằng 1% peptone, cao nấm men,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$  và  $\text{KNO}_3$ . Sau 72 giờ thu mẫu xác định trọng lượng khô (TLK) và hàm lượng lipid tổng.

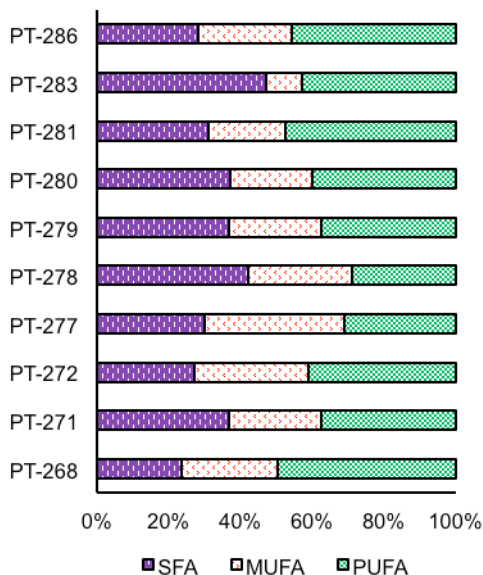
## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Thành phần acid béo của mười VTBDD *thraustochytrid*

Bảng 1 cho thấy tổng acid béo (Total Fatty Acid-TFA) của chủng PT-280 đạt 17,6 % TLK, cao nhất trong mười chủng nghiên cứu và cao hơn chủng *Thraustochytrium* sp. 20892 mà Singh và cộng sự đã công bố năm 1996. Với các chủng PT-281, PT-268 và PT-283 TFA lần lượt là 14,5; 12,8 và 10,9% TLK. Kết quả thu được TFA cao hơn so với các chủng mà Liada *et al.* (1996), Bowles *et al.* (1999) công bố trên đối tượng là *Thraustochytrium* thuộc hai loài *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 và *Thraustochytrium* sp. G13 chỉ đạt 8 và 7,3% TLK. Kết quả này bước đầu cho thấy, mười chủng VTBDD này đều có tiềm năng sinh tổng hợp lipid cao so với các chủng *thraustochytrid* khác đã được công bố của nhiều tác giả trên thế giới (Bảng 1).

Mười VTBDD *thraustochytrid* chứa thành phần acid béo đa dạng từ C12-C28 bao gồm các acid béo no (Saturated Fatty Acid-SFA), acid béo không no một nối đôi (Mono Unsaturated Fatty Acid-MUFA) và acid béo không no đa nối đôi (Poly Unsaturated Fatty Acid-PUFA). Đặc biệt có chứa các acid béo không no quan trọng như acid eicosatetraenoic (ETA), acid eicosapentaenoic (EPA), acid docosapentaenoic (DPA). Tỷ lệ % tổng acid béo không no của mười chủng VTBDD *thraustochytrid*

từ 53 - 76,4% TFA. Trong đó, PUFA của VTBDD *thraustochytrid* PT-268, 272, 281, 283 và PT-286 với tỷ lệ PUFA đạt lần lượt là 49,62; 40,99; 47,42; 42,77 và 45,61% TFA (Hình 1).



**Hình 1.** Tỷ lệ % tổng số acid béo no (SFA), acid béo không no một nối đôi (MUFA) và acid béo không no đa nối đôi (PUFA) của mười VTBDD *thraustochytrid*.

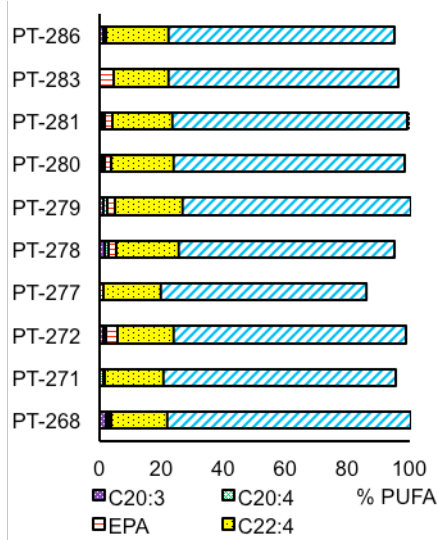
**Bảng 1.** So sánh trọng lượng khô và % TFA của 10 chủng nghiên cứu với một số chủng *thraustochytrid* khác đã được công bố.

Chủng	TLK (g/l)	%TFA	Nguồn tham khảo
<i>Schizochytrium</i> sp. ATCC 20888	20,0	33,0	Barclay <i>et al.</i> , 1994
<i>Thraustochytrium aureum</i> ATCC34304	5,7	8,0	liada <i>et al.</i> , 1996
<i>Thraustochytrium</i> sp. 20892	6,1	15,2	Singh <i>et al.</i> , 1996
<i>Schizochytrium limacinum</i> SR21	38,0	50,0	Yokochi <i>et al.</i> , 1998
<i>Thraustochytrium</i> sp. G13	7,5	7,3	Bowles <i>et al.</i> , 1999
<i>Thraustochytrium</i> sp. ONC-T18	26,0	81,7	Burja <i>et al.</i> , 2006
PT - 268	5,7	12,8	
PT - 271	7,3	5,6	
PT - 272	6,1	9,9	
PT - 277	9,3	5,0	
PT - 278	7,2	8,5	
PT - 279	9,0	8,0	
PT - 280	8,2	17,6	
PT - 281	7,8	14,5	
PT - 283	5,1	10,9	
PT - 286	6,3	7,8	

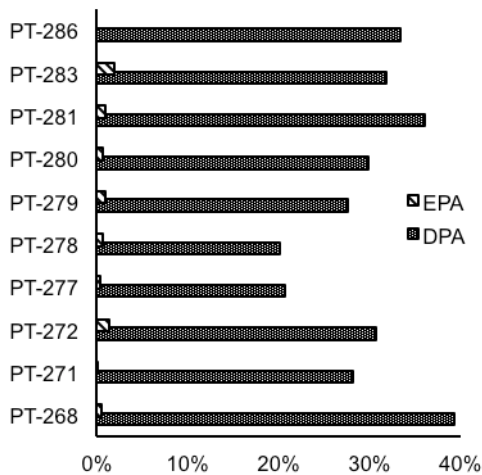
VTBDD *thraustochytrids* PT-271, 278, 280 chứa 5 acid béo không no quan trọng như oleic, linoleic, ETA, EPA và DPA. Tỷ lệ % acid oleic đạt cao nhất ở chủng PT-271 là 1,872% TFA. Với các chủng PT-

268, 272, 279 và 281 không phát hiện sinh tổng hợp acid linoleic. Với chủng PT-277, linoleic/TFA là 2,58% đạt cao nhất trong mười VTBDD, nhưng EPA thấp (0,44% TFA) và không tổng hợp ETA. Chủng

PT-283 sinh tổng hợp EPA cao nhất 1,949% TFA (Hình 2). Thành phần acid béo của chủng PT-286 không thu được EPA nhưng có chứa các acid béo như acid oleic, linoleic và DPA với tỷ lệ tương đối cao tương ứng là 0,85; 1,22 và 33,42% TFA. Chủng PT-268 chứa DPA, EPA và ETA đạt lần lượt là 39,35; 0,506 và 0,51% TFA, hàm lượng PUFA và DPA của chủng này cao nhất trong mười VTBDD nghiên cứu.



**Hình 2.** So sánh thành phần các acid béo không no đa nối đôi của mười VTBDD thraustochytrids.



**Hình 3.** Tỷ lệ % acid béo EPA, DPA so với tổng số acid béo (TFA) của mười VTBDD thraustochytrids.

Trong hàm lượng PUFA tổng số, DPA chiếm tỷ lệ cao nhất ở cả mười VTBDD nghiên cứu. Hàm lượng DPA trong khoảng 20,22-39,35% TFA (Hình 3); chiếm 66,7-79,3% PUFA và chủ yếu là n-3 DPA. Trong khi đó, VTBDD thraustochytrid PT-281 chứa cả n-3 DPA và n-6 DPA với tỷ lệ là 76,1 và 0,41% PUFA.

**Ảnh hưởng của nguồn carbon đến sinh trưởng và tổng hợp lipid**

Với hình thức dinh dưỡng là dị dưỡng hóa năng hữu cơ, các VTBDD thraustochytrid sử dụng nhiều loại hợp chất hữu cơ cung cấp carbon trong quá trình sinh trưởng như nguồn cung cấp năng lượng. Kết quả trình bày ở bảng 2.

Trong số bốn nguồn carbon khác nhau, mười VTBDD cho tỷ lệ sinh trưởng cao nhất khi bổ sung nguồn carbon là glucose và fructose với trọng lượng khô thu được sau 72 giờ nuôi đạt từ 9,00 – 18,48 g/l. Trọng lượng khô thu được cao nhất tại môi trường sử dụng nguồn carbon glucose đạt 13; 11,44; 17,68; 18,48; 15,15; 15,36 g/l tương ứng với các chủng PT-271, PT-272, PT-277, PT-278, PT-280, PT-283. Trong đó, với các chủng PT-268, PT-279, PT-281, PT-286 lại sinh trưởng tốt hơn khi sử dụng nguồn carbon là fructose, trọng lượng khô lần lượt là 15,48; 11,52; 17,88; 12,84 g/l. Mantose và lactose là hai nguồn carbon nghèo cho sinh trưởng của cả mười chủng VTBDD. Trọng lượng khô thu được giảm 2-8 lần so với môi trường bổ sung nguồn carbon là glucose và fructose. Trên nguồn carbon mantose, trọng lượng khô cao nhất thu được đối với chủng PT-268 là 7,25 g/l. Với chủng PT-281 chỉ đạt lượng thấp là 1,9 g/l. Trọng lượng khô thu được khi bổ sung nguồn carbon lactose của PT-277 là 6,1 g/l; thraustochytrid PT-286 là 4,7 g/l, tám chủng VTBDD còn lại đạt khoảng 2 - 3 g/l.

Lipid tổng số tăng dần khi sử dụng nguồn carbon lần lượt là lactose, mantose, fructose và glucose. Tỷ lệ dao động trong khoảng 1,01 – 12,35% TLK. Khả năng sinh tổng hợp lipid trên môi trường bổ sung nguồn glucose của các chủng PT-268, PT-277, PT-278, PT-279, PT-286 tương ứng là 12,35, 11,48, 10,53, 11,9 và 11,67% TLK. Từ các kết quả thu được cho thấy với nguồn carbon là mantose, lactose thì tốc độ sinh trưởng thấp, khả năng tổng hợp lipid không cao, chỉ đạt 2-6% TLK. Hai chủng PT-268, PT-286 sử dụng nguồn carbon là lactose cũng chỉ đạt 1,01 và 1,06% TLK.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của nguồn carbon đến sinh trưởng và lipid tổng số của mười VTBDD thraustochytrid.

Chủng	Nguồn carbon (2%)							
	Glucose		Fructose		Mantose		Lactose	
	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)
PT-268	14,56	12,35	15,48	9,30	7,25	4,68	2,00	1,01
PT-271	13,00	8,80	9,00	8,33	6,20	3,75	2,0	2,40
PT-272	11,44	9,62	8,16	9,19	3,80	6,91	2,10	2,86
PT-277	17,68	11,48	9,12	9,21	2,10	3,57	6,10	1,48
PT-278	18,48	10,53	10,50	10,83	3,35	2,57	2,80	6,43
PT-279	10,92	11,90	11,52	9,38	4,80	6,25	3,14	4,30
PT-280	15,15	8,07	9,04	2,12	2,10	9,52	2,73	4,35
PT-281	10,40	7,00	17,88	4,70	1,90	2,95	2,00	3,50
PT-283	15,36	9,47	12,24	9,80	5,40	1,56	2,50	5,00
PT-286	10,92	11,67	12,84	5,14	3,10	3,16	4,70	1,06

**Ảnh hưởng của nguồn nitrogen đến sinh trưởng và tổng hợp lipid**

Ngoài bổ sung nguồn carbon thì khả năng sinh trưởng và tổng hợp lipid của VTBDD cũng chịu sự ảnh hưởng của nguồn nitrogen. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.

Với nguồn nitrogen ban đầu là cao nấm men, tốc độ sinh trưởng và khả năng sinh lipid cao nhất so với 4 nguồn nitrogen khác. Lipid tổng số đạt 18,87%; 17,48% TLK với hai chủng PT-279, PT-272. Trọng lượng khô của cả mười VTBDD này đều tương đối cao, trong khoảng từ 9,01 đến 15,9 g/l. Trong khi đó với nguồn nitrogen thay thế là pepton tốc độ sinh trưởng giảm 0,5 – 2 (đơn vị) so với nguồn nitrogen là cao nấm men, nhưng lipid tổng số sau tách chiết thu được của chủng PT-286 đạt 18,03% TLK. Các chủng PT-271, PT-272, PT-277, PT-278, PT-281 và PT-283, lipid tổng số sau tách chiết lần lượt là 14,15; 15,81; 16,90; 14,31; 13,24 và 14,63% TLK. Kết quả này cho thấy cả tốc độ sinh trưởng và lipid tổng số

với nguồn nitrogen hữu cơ đều tốt hơn so với nguồn nitrogen vô cơ. Trên cả 3 nguồn nitrogen (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub> trọng lượng khô giảm 2-5 lần. Lipid tổng số thu được của chủng PT-279 chỉ đạt 9,2% TLK khi bổ sung (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Chủng PT-286 khi bổ sung nitrogen là NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> thì hàm lượng lipid không có sự chênh lệch nhiều, bằng 4,6% và 5,5% TLK. Điều đáng chú ý là, khi nuôi VTBDD này trên nguồn nitrogen (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> cho hàm lượng lipid thấp chỉ đạt 1,05%. Với VTBDD chủng PT-280, khi bổ sung nguồn nitrogen từ KNO<sub>3</sub> sẽ cho hàm lượng lipid thấp (1,21%). Nuôi VTBDD này trên các nguồn nitrogen khác như (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub> cho hàm lượng lipid có sự lênh lệch không đáng kể (6,45% và 6% TLK).

Từ kết quả của các nghiên cứu trên cho thấy khi bổ sung cao nấm men là nguồn nitrogen là thích hợp nhất cho các VTBDD. Những kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Shene et al. (2010), khi nuôi VTBDD trên nguồn nitrogen hữu cơ là cao nấm men khả năng sinh lipid cao hơn nguồn nitrogen vô cơ.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của nguồn nitrogen đến sinh trưởng và lipid tổng số của mừi VTBDD *thraustochytrid*.

Chủng	Nguồn nitrogen (1%)									
	Cao nấm men		Peptone		(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		KNO <sub>3</sub>		NaNO <sub>3</sub>	
	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)	TLK (g/l)	Lipid tổng số (%TLK)
PT-268	13,95	12,79	12,67	5,36	6,08	1,05	5,00	5,50	11,10	4,60
PT-271	15,90	11,79	7,00	14,15	5,70	3,18	4,50	8,56	2,46	3,00
PT-272	15,45	17,48	10,61	15,81	5,40	3,70	5,30	2,83	4,02	1,44
PT-277	13,35	14,61	8,34	16,90	2,57	5,60	4,30	4,65	4,30	3,63
PT-278	10,54	11,29	7,73	14,31	8,64	3,24	2,70	4,63	5,20	6,00
PT-279	9,01	18,87	7,11	6,96	3,50	9,20	3,20	6,25	4,80	5,83
PT-280	13,50	11,11	7,52	6,85	6,20	6,45	3,50	1,21	3,70	6,00
PT-281	12,60	11,90	8,76	13,24	6,40	5,47	3,70	2,16	6,80	7,35
PT-283	15,75	8,57	8,45	14,63	3,80	7,89	2,70	2,04	6,60	4,61
PT-286	10,35	10,14	6,28	18,03	7,07	5,45	2,80	3,57	2,60	6,46

## KẾT LUẬN

Sự sinh trưởng của cả mừi VTBDD đạt cao nhất khi sử dụng nguồn carbon là glucose, trọng lượng khô thu được sau 72 giờ nuôi đạt từ 9 đến 18,48 g/l và lipid tổng số là 7 – 12,35% TLK.

Mừi VTBDD *thraustochytrid* sinh trưởng tốt với nguồn nitrogen là cao nấm men, trọng lượng khô của mừi chủng VTBDD đạt từ 9,01 đến 15,9 g/l, lipid tổng số trong khoảng 8,57-18,87% TLK.

Mừi VTBDD *thraustochytrid* nghiên cứu có khả năng sinh tổng hợp TFA từ 5- 17,6% TLK, PUFA từ 28,95 – 49,62% TFA. PUFA đa dạng về thành phần. Hai thành phần PUFA quan trọng của mừi chủng VTBDD *thraustochytrid* đều được tìm thấy là EPA và DPA.

Cả mừi chủng VTBDD đều có khả năng sinh tổng hợp lượng lớn DPA (20,22-39,35% TFA) và EPA (0,2-1,95% TFA).

**Lời cảm ơn:** Nhóm tác giả chân thành cảm ơn đề tài Bảo tồn và lưu giữ nguồn gen, Bộ Khoa học và Công nghệ đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Aki T, Hachida K, Yoshinaga M, Katai Y, Yamasaki T, Kawamoto S, Kakizono T, Maoka T, Shigeta S, Suzuki O, Ono K (2003) *Thraustochytrid* as a potential source of carotenoids. *J Am Oil Chem Soc* 80: 789-794.

Armenta RE, Valentine MC (2012) Single-cell oils as a source of omega-3 fatty acids: an overview of recent advances. *J Am Oil Chem Soc* 90(2): 167-182.

Barclay WR, Meager KM, Abril JR (1994) Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acids utilizing algae and algae-like microorganisms. *J Appl Phycol* 6:123-129.

Bligh EG, Dyer WJ (1959) A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917.

Bowles RD, Hunt AE, Bremer GB, Duchars MG, Eaton RA (1999) Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid production by members of the marine protistan group the *thraustochytrids*: screening of isolates and optimization of docosahexaenoic acid production. *J Biotechnol* 70: 193-202.

Burja AM, Radianingtyas H, Windust A, Barrow CJ (2006) Isolation and characterization of polyunsaturated fatty acid producing *Thraustochytrium* species: screening of strains and optimization of omega-3 production. *Appl Microbiol Biotechnol* 72: 1161-1169.

Crawford MA, Costeloe K, Ghebremeskel K, Phylactos A, Skirvin L, Stacey F (1997) Are deficits of arachidonic and Acid Docosahexaenoics responsible for the neural and vascular complications of preterm babies. *Am J Clin Nutr* 66: 1032-1041.

Dick MW (2001) *Straminipilous Fungi*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.

Fan KW, Chen F (2007) Production of High-Value Products by Marine Microalgae *Thraustochytrids*, *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources*: 293-323.

- Honda D, Yokochi T, Nakahara T, Raghukumar S, Nakagiri A, Schaumann K, Higashihara T (1999) Molecular phylogeny of labyrinthulids and thraustochytrids based on the sequencing of 18S ribosomal RNA gene. *J Eukaryot Microbiol* 46(6): 637–647
- Huang J, Aki T, Hachida K, Yokochi T, Kawamoto S, Shigeta S, Ono K, Suzuki O (2001) Profile of polyunsaturated fatty acids production in a culture of *Thraustochytrium* sp. KK17-3. *J Am Oil Chem Soc* 78: 605-610.
- Iiada I, Nakahara T, Yokochi T, Kamisaka Y, Yagi H, Yamaoka M, Suzuki O (1996) Improvement of docosahexaenoic acid production in a culture of *Thraustochytrium aureum* by medium optimization. *J Ferment Bioeng* 81: 76-78.
- Jain R, Raghukumar S, Tharanathan R, Bhosle NB (2005) Extracellular polysaccharide production by thraustochytrid protists. *Mar Biotechnol* 7: 184-192.
- Lewis TE, Nichols PD, McMeekin TA (1999) The Biotechnological Potential of Thraustochytrids. *Mar Biotechnol* 1: 580-587.
- Li CC, Hou YC, Yeh CL, Yeh SL (2014) Effects of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Prostate Cancer Cell Migration and Invasion Induced by Tumor-Associated Macrophages. *PLoS ONE* 9(6): e99630.
- Miller JD, Jones EBG (1983) Observations on the association of thraustochytrid marine fungi with decaying seaweed. *Botanica Marina* 26: 345-351.
- Muller-Feuga A (2004) Microalgae for aquaculture - The current global situation and future trends. In Richmond, A. (ed.), Handbook of microalgal culture. Blackwell, Oxford: 352–364.
- Raghukumar S (2008) Thraustochytrid marine protists: production of PUFAs and other emerging technologies. *Mar Biotechnol* 10: 631-640.
- Raghukumar S, Balasubramanian R (1991) Occurrence of thraustochytrid fungi in corals and coral mucus. *Ind J Geo-Marine Sci* 20: 176-181.
- Sathe-Pathak V, Raghukumar S, Raghukumar C, Sharma S (1993) Thraustochytrid and fungal component of marine detritus. I. Field studies on decomposition of the brown alga *Sargassum cinereum*. *Ind J Geo-Marine Sci* 22: 159-167.
- Shene C, Leyton A, Esparza Y, Flores L, Quilodran B, Hinzpeter I, Rubilar M (2010) Microbial oils and fatty acids: Effect of carbon source on docosahexaenoic acid (C22:6 n-3, DHA) production by Thraustochytrids strains. *J Soil Sci Plant Nutr* 10(3): 207–216.
- Singh A, Wilson S, Ward OP (1996b) Docosahexaenoic acid (DHA) production by *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892. *World J Microbiol Biotechnol* 12: 76-81.
- Chatdumrong W; Yongmanitchai W; Limtong S; Worawattanamateekul W (2007) Optimization of docosahexaenoic acid (DHA) production and improvement of astaxanthin content in a mutant *Schizochytrium limacinum* isolated from mangrove forest in Thailand. *Kasetsart Journal (Natural Sciences, Thailand)* 41(2): 324-334.
- Yokochi T, Honda D, Higashihara T, Nakahara T (1998) Optimization of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium limacinum* SR21. *Appl Microbiol Biotechnol* 49: 72-76.
- Yokoyama R, Salleh B, Honda D (2007) Taxonomic rearrangement of the genus *Ulkenia* sensu lato based on morphology, chemotaxonomical characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes): emendation for *Ulkenia* and erection of *Botryochytrium*, *Parietichytrium*, and *Sicyoidochytrium* gen. nov. *Mycoscience* 48: 329-341.

## LIPID BIOSYNTHESIS OF TEN THRAUSTOCHYTRID STRAINS ISOLATED FROM MANGROVE XUAN THUY, NAM DINH

Pham Thi Bich Dao<sup>1</sup>, Nguyen Dinh Tuan<sup>1</sup>, Tran Dang Khoa<sup>2</sup>, Chu Thi Huyen<sup>1</sup>, Do Hoang Thanh<sup>1</sup>, Nguyen Thi Hoai Ha<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup>Institute of Microbiology and Biotechnology, Vietnam National University, Hanoi

<sup>2</sup>University of Engineering and Technology, Vietnam National University, Hanoi

### SUMMARY

The features of polyunsaturated fatty acid-PUFA structures were corresponded to each separate functions as adjusting the cellular physiology and gene expression. Therefore, lack of PUFA could lead to abnormalities in skin, kidney, neural networks, immune responses and inflammation; cardiovascular, endocrine, respiratory

✉ Authors for correspondence: E-mail: [nguyenhoaiha@gmail.com](mailto:nguyenhoaiha@gmail.com)

and reproductive systems. In fish oil, PUFA content were low, thus it was difficult to produce on a large scale. Therefore, the exploration of PUFA sources particularly as arachidonic acid-AA, eicosapentaenoic acid EPA, docosapentaenoic acid-DPA/DHA attracted many researches. Heterotrophic microalgae Thraustochytrids were capable of producing high amounts of DHA and PUFA composition varied. DHA can be synthesized by the metabolism of AA, EPA and DPA. The different types of PUFA reflected relationships in classification. Ten heterotrophic microalgae thraustochytrids isolated from mangrove Xuan Thuy, Nam Dinh contain fatty acid composition varied from C12 to C28. Especially, they had two important fatty acids of PUFA as EPA and DPA. Polyunsaturated fatty acids - PUFA content of ten thraustochytrid strains were from 28.95 to 49.62% total lipid. DPA compared to other PUFA were high for all thraustochytrid strains studied, accounting 20.22 to 39.35% TFA. Ten thraustochytrid strains had the highest growth with carbon source as glucose, total lipid reached 7 to 12.35 % dry weight biomass after 72 hours. Growth rate and lipid biosynthesis in organic nitrogen source were higher than in inorganic nitrogen sources. The best source of nitrogen for growth and lipid biosynthesis of ten thraustochytrid strains is yeast extract, total lipid were 8.57 to 18.87% dry weight biomass after 72 hours.

**Keywords:** *fatty acid, lipid, Xuan Thuy mangrove, thraustochytrids, marine heterotrophic*