

## CÁC ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY TỐI ƯU CHỨNG VI TẢO BIỂN *LABYRINTHULA SP. HL78* TRÊN MÔI TRƯỜNG RẮN

HOÀNG THỊ MINH HIỀN, HOÀNG SỸ NAM, ĐẶNG ĐIỂM HỒNG

*Viện Công nghệ sinh học*

*Labyrinthula*, một loại vi tảo biển đơn bào, sống theo kiểu dị dưỡng. Tế bào của chúng có dạng hình thoi và chuyển động liên tục dọc theo mạng lưới ngoại chất. Mạng lưới ngoại chất của nó có thể tiêu hóa được vi khuẩn, nấm men và các cơ thể vi sinh vật khác [4, 7]. Trước đây, *Labyrinthula* chỉ được biết đến như là loại gây bệnh tàn phá thảm cỏ *Zostera marina* [6, 9]. Tuy nhiên, trong một vài năm gần đây, *Labyrinthula* được tập trung nghiên cứu để sử dụng làm thực phẩm chức năng cho người và động vật ở nhiều nước như Nhật Bản, Ô-xtrây-li-a... do khả năng sinh tổng hợp các axit béo không bão hòa, có mạch các bon dài trên C22 (long - chain polyunsaturated fatty acids - LCPUFAs) của chúng [3, 4, 5]. Đây là những axit béo không bão hòa, có vai trò quan trọng trong hoạt động của não và mắt [1, 8]. Theo Kumon và cs. (2005), thành phần LCPUFAs của các loài *Labyrinthula* chiếm trên 50% tổng số axit béo. Ví dụ như trong một số chủng *Labyrinthula*, tỷ lệ giữa axit docosahexaenoic (DHA; C22: 6n-3) và/hoặc n-6 docosapentaenoic (n-6 DPA; C22: 5n-6) trên tổng số LCPUFA chiếm từ 25,4% đến 48,1% [5]. Ở Việt Nam, *Labyrinthula* mới được phát hiện và phân lập tại ven bờ biển của một số tỉnh phía Bắc từ năm 2005. Chúng có hàm lượng DHA và n-6 DPA rất cao (gấp 5-10 lần so với tất cả các vi sinh vật và vi tảo biển hiện đã biết của Việt Nam) [2]. Nhằm mục đích tăng tốc độ sinh trưởng và nâng cao hàm lượng các axit béo không bão hòa, có mạch các bon dài như DHA và n-6 DPA trong các chủng *Labyrinthula* phân lập được tại Việt Nam, chúng tôi tiến hành nghiên cứu và tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy chúng trên môi trường rắn.

### I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Vật liệu

- Mẫu vật là các lá cây trôi dạt vào bờ và đang trong giai đoạn phân hủy (có màu vàng hoặc nâu) được thu thập ở vùng bờ biển Vịnh Hạ Long, tỉnh Quảng Ninh vào tháng 7/2002. Các mẫu vật được rửa sạch, cho vào túi ni-lông, ghi địa điểm thu mẫu và được xử lý ngay trong ngày.

- Vi khuẩn *Vibrio sp.* và *Psychrobacter phenylpyruvicus* được phân lập từ nước biển của đảo Iriomote, Nhật Bản. Môi trường dùng để nuôi cấy các loại vi khuẩn này được ký hiệu là GPY, có các thành phần như sau: 2 g/l glucoza, 1 g/l polypepton, 0,5 g/l cao nấm men và 1,5% NaCl (sử dụng nước biển nhân tạo - ASW).

- Môi trường dùng để phân lập *Labyrinthula* được ký hiệu là GPYA, có thành phần như sau: 2 g/l glucoza, 1 g/l polypepton, 0,5 g/l cao nấm men, 10 g/l thạch và 1,5% NaCl (sử dụng nước biển nhân tạo - ASW).

- Môi trường được sử dụng để nuôi và cấy chuyển *Labyrinthula* được ký hiệu là PYA-SBO, có thành phần giống với môi trường GPYA nhưng nguồn cacbon glucoza được thay thế bằng dầu đậu tương (SBO) có nồng độ 0,5%.

- Các hóa chất sử dụng cho việc phân lập và nuôi cấy *Labyrinthula* là những hóa chất chuyên dụng trong phòng thí nghiệm như: glucoza, polypepton, cao nấm men, thạch... Ngoài ra, còn sử dụng nước biển nhân tạo (ASW) của hãng Tropic Marine Aquientechnick, Wartenberg, Đức; dầu đậu tương (SBO), dầu

---

*Công trình được hỗ trợ về kinh phí của đề tài cấp Viện Công nghệ sinh học và của Chương trình nghiên cứu cơ bản.*

lêxithin (SBL) của hãng Wako Pure Chemical Industries, Tokyo, Nhật Bản; Tween 80 của hãng Nacalai Tesque. Hàm lượng axit béo không bão hòa n-6 DPA và DHA được tính theo hàm lượng của chất chuẩn là axit arachidonic (C20: 0).

- Các thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: kính hiển vi quang học (Olympus Model CHS; Nikon eclipse 50i, Nhật Bản), buồng đếm số lượng tế bào Burkner - Turk (Đức), cân phân tích (Precisa XT2200A, Thụy Điển), tủ nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C (Binder, Đức), máy lắc IKA KS 260 basic (Đức). Máy sắc ký khí lỏng ((GLC) - GC - 17 - A - Shimadzu Kyoto, Nhật Bản) có cột mao dẫn TC - 70 (GL Science, Tokyo, Nhật Bản) hoạt động với chương trình nhiệt độ 180°C - 220°C, trong đó nhiệt độ tăng 4°C/1 phút.

## 2. Phương pháp

### a. Phân lập chủng *Labyrinthula* sp. HL78

Chủng *Labyrinthula* sp. HL78 (chủng HL78) được phân lập từ Vịnh Hạ Long, theo phương pháp của Yokochi và cs. (2001) [10]. Trong quá trình phân lập, chúng tôi sử dụng kính hiển vi quang học (Olympus Model CHS; Nikon eclipse 50i, Nhật Bản) có độ phóng đại 1000 lần.

### b. Tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy chủng HL78

Để tìm ra các điều kiện nuôi cấy tối ưu cho chủng HL78 sinh trưởng và có hàm lượng axit béo không bão hòa (đặc biệt là DHA và n-6 DPA) cao, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố như: loại vi khuẩn được sử dụng làm yếu tố kích thích sinh trưởng cho chủng HL78 trong quá trình nuôi cấy trên môi trường rắn, các nguồn cacbon và nitơ, nhiệt độ, pH và nồng độ muối lên chủng HL78.

- **Nghiên cứu ảnh hưởng của các loại vi khuẩn khác nhau (*Vibrio* sp. và *Psychrobacter phenylpyruvicus*) đến hàm lượng n-6 DPA, DHA và các thành phần axit béo khác**

Với mỗi đĩa môi trường PYA-SBO, chúng tôi cấy trải 100 µl vi khuẩn *Vibrio* sp. và *Psychrobacter phenylpyruvicus* tương ứng với 50 µg trọng lượng khô của tế bào vi khuẩn được sử dụng như là một yếu tố kích thích sinh trưởng của chủng HL78.

- **Nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn cacbon đến hàm lượng LCPUFA**

Để nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn cacbon, môi trường thí nghiệm được bổ sung polypepton (1 g/l), cao nấm men (0,5 g/l) là nguồn nitơ. Các nguồn cacbon như glucoza (2 g/l), fructoza (2 g/l), glyxêrol (2 g/l), axit linolenic (2 g/l), dầu đậu tương (5 g/l) được bổ sung vào môi trường PYA. Chủng HL78 được nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C. Phân tích hàm lượng LCPUFA sau 7 ngày nuôi cấy.

- **Nghiên cứu ảnh hưởng của các loại dầu khác nhau đến hàm lượng LCPUFA**

Chúng tôi sử dụng các nguồn dầu như dầu dừa, dầu cọ, dầu đậu tương, dầu lêxithin hoặc dầu vừng bổ sung vào môi trường PYA với hàm lượng 5 g/l (sử dụng Tween 80 để tăng khả năng nhũ hóa cho dầu trong môi trường với nồng độ 25% (w/w) so với dầu) và glucoza (2 g/l) làm đối chứng.

- **Nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn nitơ đến hàm lượng LCPUFA**

Môi trường thí nghiệm ở đây có chứa polypepton (1 g/l), cao nấm men (0,5 g/l) và 10g SBO hoặc SBL/l. Urea, KNO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>Cl được bổ sung ở nồng độ 1,5 g/l thay thế polypepton và cao nấm men vào môi trường có chứa 10 g SBO hoặc SBL/l.

- **Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố như nhiệt độ, pH, nồng độ muối và hàm lượng dầu đến hàm lượng LCPUFA**

Ảnh hưởng của một số yếu tố đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 được kiểm tra trong khoảng nhiệt độ từ 15°C- 40°C, pH từ 5,0 - 10, nồng độ muối (NaCl) từ 0 - 4,5% và nồng độ dầu (SBO hoặc SBL) từ 0,5 - 1,5 g/l.

### c. Phân tích thành phần axit béo không bão hòa

Thành phần axit béo không bão hòa có mạch cacbon dài được phân tích bằng sắc ký khí lỏng (GLC) theo phương pháp của Kumon và cs. (2003) [5] trên máy GC-17-A (Shimadzu, Kyoto, Japan) với cột TC-70 (GL Science, Tokyo, Japan), với chương trình nhiệt độ 180°C - 220°C, nhiệt độ tăng 4°C/1 phút.

## II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ những mẫu lá cây thu thập tại Vịnh Hạ Long, chúng tôi đã phân lập và nuôi cấy ổn định

trong điều kiện phòng thí nghiệm chủng HL78. Thành phần axit béo chính của chủng HL78 như sau: C12: 0 (chiếm 15,3% trong tổng số axit béo), C16: 0 (12,8%), C18: 1 (3,4%), C18: 2 (12,2%), C20: 5n-3 (3,8%), C22: 5n-6 (7,3%) và C22: 6n-3 (11,5%) và hàm lượng LCPUFA trên axit béo tổng số là 22,6%.

Để tìm ra các điều kiện nuôi cấy tối ưu cho chủng HL78 sinh trưởng và có khả năng sinh hàm lượng axit béo không bão hòa, đặc biệt là DHA và n-6 DPA cao, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố đến

chủng HL78 như đã trình bày trong phần phương pháp nghiên cứu. Do hàm lượng LCPUFA hoặc là tổng số n-6 DPA và DHA tỷ lệ tương ứng với sự phát triển của chủng HL78, nên chúng tôi đánh giá sự phát triển của chủng HL78 gián tiếp thông qua các chỉ tiêu này.

### 1. Ảnh hưởng của các loài vi khuẩn *Vibrio sp.* và *Psychrobacter phenylpyruvicus*

Ảnh hưởng của các loại vi khuẩn lên hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1

**Ảnh hưởng của các loài vi khuẩn *Vibrio sp.* và *Psychrobacter phenylpyruvicus* lên hàm lượng của n-6 DPA, DHA và các thành phần axit béo khác của chủng HL78**

Công thức thí nghiệm	n-6 DPA (%)	DHA (%)	Các thành phần axit béo khác (%)
PYA - SBO - <i>Vibrio sp.</i>	0,00	0,00	100,00
PYA - SBO - <i>Psychrobacter</i>	0,00	0,00	100,00
PYA - SBO - chủng HL78	3,21	6,21	90,58
PYA - SBO - <i>Vibrio sp.</i> - chủng HL78	6,72	8,16	86,12
PYA - SBO - <i>Psychrobacter</i> - chủng HL78	7,28	11,53	81,17

Từ kết quả ở bảng 1, chúng tôi thấy có sự khác nhau về hàm lượng (%) của n-6 DPA và DHA được tạo ra trong chủng HL78 khi có mặt và không có mặt của vi khuẩn. Trên môi trường đối chứng chỉ có PYA-SBO và vi khuẩn *Vibrio sp.* hoặc *Psychrobacter phenylpyruvicus*, thành phần axit béo như sau: C16: 0 (11,1%); C18: 0 (2,7%); C18: 1 (21,8%); C18: 2n-6 (54,6%); C18: 3n-6 (4,2%) và không phát hiện thấy bất cứ một thành phần axit béo không bão hòa có

mạch các bon dài nào ( $C > C20$ ). Khi có mặt của vi khuẩn *Vibrio sp.*, hàm lượng của n-6 DPA, DHA của chủng HL78 là 6,72% và 8,16% tương ứng; còn khi có mặt *P. phenylpyruvicus*, hàm lượng của chúng là 7,28% và 11,53%, tương ứng. Như vậy, có thể sử dụng vi khuẩn *P. phenylpyruvicus* như là một yếu tố kích thích sinh trưởng của chủng HL78 trên môi trường rắn.

### 2. Ảnh hưởng của các nguồn các bon

Bảng 2

**Ảnh hưởng của các nguồn các bon khác nhau đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78**

Nguồn các-bon	LCPUFA (g/l)
Glucosa	0,04
Fructoza	0,08
Glyxêrol	0,06
Axit linolenic	0,09
Dầu đậu tương	0,23

Ảnh hưởng của các nguồn các bon đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 được thể hiện trong bảng 2. Kết quả thí nghiệm cho thấy khi sử dụng các loại đường đơn như glucosa,

fructoza, glyxêrol và axit linolenic, hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 có thể phát hiện được song không cao. Với nguồn các bon là dầu đậu tương (SBO), chủng HL78 có tốc độ sinh

trường và hàm lượng LCPUFA là cao nhất (gấp 5,75 lần so với môi trường chỉ có glucoza).

### 3. Ảnh hưởng của các loại dầu

Bảng 2 cho thấy khi bổ sung dầu đậu tương vào môi trường nuôi cấy, hàm lượng LCPUFA

được tạo ra ở chủng HL78 cao hơn nhiều so với các nguồn các bon khác. Do đó, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các loại dầu khác nhau lên hàm lượng axit béo không bão hòa của chủng HL78 (bảng 3). Môi trường PYA có bổ sung glucoza được xem như là đối chứng.

Bảng 3

**Ảnh hưởng của các loại dầu khác nhau đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 sau 7 ngày nuôi cấy**

Các loại dầu	LCPUFA (g/l)	LCPUFA (%)
Glucoza	0,04	19,21
Dầu dừa	0,19	22,10
Dầu đậu tương	0,23	23,10
Dầu cọ	0,21	21,20
Dầu lèxithin	0,28	27,91
Dầu vừng	0,12	15,21

Qua kết quả thu được ở bảng 3, chúng tôi khẳng định rằng việc bổ sung thêm dầu vào môi trường nuôi đã làm tăng hàm lượng LCPUFA so với đối chứng. Khi có mặt dầu dừa, dầu đậu tương, dầu lèxithin, dầu cọ và dầu vừng, hàm lượng LCPUFA tăng gấp từ 3 đến 7 lần so với khi chỉ có glucoza. Vì thành phần axit béo của các loại dầu khác nhau, nên ảnh hưởng của chúng lên việc làm tăng hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 cũng khác nhau. Khi có mặt

dầu lèxithin và dầu đậu tương, hàm lượng axit béo không bão hòa có mạch dài cao nhất là 27,91% và 23,1%, tương ứng.

### 4. Ảnh hưởng của các nồng độ dầu

Ảnh hưởng của các nồng độ dầu lèxithin và dầu đậu tương lên hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 đã được tiến hành thử nghiệm với dải nồng độ từ 0,5 đến 1,5 g/l (bảng 4).

Bảng 4

**Ảnh hưởng của nồng độ dầu lèxithin và dầu đậu tương đến hàm lượng axit béo không bão hòa của chủng HL78 sau 7 ngày nuôi cấy**

Loại dầu	Nồng độ dầu (g/l)	LCPUFA (g/l)	LCPUFA (%)
Đậu tương	0,5	0,23	22,44
	1	0,28	16,71
	1,5	0,48	12,65
Lèxithin	0,5	0,28	27,90
	1	0,35	15,72
	1,5	0,56	11,23

Kết quả trên bảng 4 chỉ ra rằng, khi hàm lượng dầu tăng thì hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 cũng tăng lên. Ở cùng một nồng độ, dầu lèxithin cho hàm lượng LCPUFA cao hơn so với dầu đậu tương. Điều này có thể được giải thích là do sự khác nhau về thành phần của dầu lèxithin và dầu đậu tương. Thành phần lipit của dầu lèxithin có chứa 40,8% phốtpholipit (gồm 16,6% phốtphatidylcholin, 9,8% phốtphatidy-

linositol, 8,1% phốtphatidylethanolamin và 6,3% phốtphatidylaxit), 40,0% triaxylgryxêrol (TG) và các thành phần khác chiếm 19,2%. Theo Kumon và cs. (2005) [5], phốtpholipit là yếu tố đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển của *Labyrinthula*. Bên cạnh đó, sự có mặt và hàm lượng của TG trong dầu lèxithin có thể là tác nhân thiết yếu cho sự sinh trưởng theo không gian 3 chiều (khi đó các tế bào

*Labyrinthula* mọc cả trên bề mặt môi trường và trong lòng môi trường). Trong thành phần của dầu lèxithin, ngoài lipit ra, còn có chứa rất nhiều các thành phần khác (ở dạng vết - tức là có hàm lượng thấp), trong đó có carotenoid. Một vài dạng của carotenoid lại chính là các chất chống oxy hoá đối với lipit (antioxydant). Các yếu tố này có thể trở thành một trong những tác nhân làm cho *Labyrinthula* có hàm lượng LCPUFA trên môi trường này cao hơn trên môi trường có dầu đậu tương. Ngoài ra, so với dầu đậu tương, các giọt dầu lèxithin trong môi trường có kích thước nhỏ hơn. Có thể chính sự khác nhau về tính chất vật lý như vậy đã tạo nên hiệu quả khác nhau về tốc độ sinh trưởng và hàm lượng

LCPUFA của chủng HL78 khi nuôi trong môi trường có dầu lèxithin và dầu đậu tương. Tuy nhiên, do các sắc tố trong dầu lèxithin có màu vàng đỏ, nên các tế bào *Labyrinthula* trong môi trường PYA có bổ sung dầu này rất khó quan sát thấy dưới kính hiển vi quang học. Do đó, để dễ dàng cho việc quan sát tế bào *Labyrinthula* dưới kính hiển vi quang học, chúng tôi sẽ sử dụng môi trường PYA có bổ sung dầu đậu tương (PYA-SBO) cho các thí nghiệm tiếp theo.

## 5. Ảnh hưởng của các nguồn nitơ

Ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 được thể hiện trong bảng 5.

Bảng 5

### Ảnh hưởng của các nguồn nitơ đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 sau 7 ngày nuôi cấy

Nguồn nitơ	LCPUFA (g/l)
Polypepton	0,23
Cao nấm men	0,13
Urea	0,002 (vết)
KNO <sub>3</sub>	0,11
NH <sub>4</sub> Cl	0,00

Kết quả ở bảng 5 cho thấy polypepton và cao nấm men có thể dùng rất tốt cho nuôi cấy chủng HL78. Thí nghiệm này của chúng tôi cho thấy chủng HL78 có thể sử dụng nguồn nitơ dưới dạng KNO<sub>3</sub> chứ không thể sử dụng được NH<sub>4</sub>Cl. Tuy nhiên, tại sao chủng HL78 chỉ có thể sử dụng được nitơ dưới dạng N-NO<sub>3</sub> vẫn còn

là điều đang được tiếp tục tìm hiểu.

## 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Dải nhiệt độ từ 15°C - 40°C được dùng để đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78. Kết quả được chỉ ra trên bảng 6.

Bảng 6

### Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 sau 7 ngày nuôi cấy

Nhiệt độ (°C)	LCPUFA (g/l)	LCPUFA (%)
15	0,04	4,27
20	0,12	6,12
25	0,26	27,91
28	0,28	26,62
30	0,25	25,1
35	0,08	18,2
40	0,03	15,56

Các kết quả thu được ở bảng 6 cho thấy nhiệt độ tối ưu cho hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 nằm trong khoảng từ 25°C đến 30°C. Trong

đó, tại nhiệt độ 28°C hàm lượng LCPUFA đạt giá trị cao nhất. Do vậy, nhiệt độ 28°C được sử dụng để nuôi cấy chủng HL78 sau này.

## 7. Ảnh hưởng của pH

Ảnh hưởng của các pH khác nhau đến hàm

lượng LCPUFA của chủng HL78 được chỉ ra trên bảng 7.

Bảng 7

Ảnh hưởng của pH đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 sau 7 ngày nuôi cấy

pH ban đầu	LCPUFA (g/l)	LCPUFA (%)
5,0	0,06	5,21
6,0	0,09	10,10
6,5	0,15	17,2
7,0	0,19	19,72
7,5	0,21	20,01
8,0	0,23	22,40
8,5	0,24	22,61
9,0	0,22	19,92
10,0	0,19	16,20

Kết quả thu được ở bảng 7 cho thấy hàm lượng LCPUFA đều phát hiện được trong dải pH từ 5-10. Tuy nhiên, pH ban đầu nhỏ hơn 5 cho hàm lượng LCPUFA rất thấp (kết quả không chỉ ra ở đây). Ở tất cả các công thức thí nghiệm sau 7 ngày, môi trường nuôi cấy có sự dịch chuyển pH về 7. Như vậy, pH ban đầu từ 7,5 đến 8,0 là

tối ưu cho sự phát triển của chủng HL78 và sẽ được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

## 8. Ảnh hưởng của các nồng độ muối

Ảnh hưởng của các nồng độ muối từ 0% đến 4,5% đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78 được chỉ ra trên bảng 8.

Bảng 8

Ảnh hưởng của các nồng độ muối đến hàm lượng LCPUFA của chủng HL78

Nồng độ muối (%)	LCPUFA (g/l)	LCPUFA (%)
0	0,00	0,00
0,75	0,14	16,72
1,5	0,28	27,91
3	0,30	29,21
4,5	0,26	26,20

Kết quả trên bảng 8 cho thấy tại nồng độ muối 0%, không thấy sự có mặt của các axit béo không bão hòa ở chủng HL78. Ở nồng độ muối từ 1,5% đến 4,5%, hàm lượng LCPUFA của chủng này thay đổi không nhiều. Do đó, chúng tôi sẽ chọn nồng độ muối là 1,5% cho tất cả các thí nghiệm tiếp theo.

## III. KẾT LUẬN

- Khi nuôi cấy trên môi trường rắn, vi khuẩn *Psychrobacter phenylpyruvicus* được sử dụng như là yếu tố kích thích sinh trưởng để chủng *Labyrinthula* sp. HL78 phát triển.

- Môi trường rắn để nuôi cấy tối ưu

chủng HL78 là môi trường PYA-SBO hoặc PYA-SBL có thành phần tương tự như môi trường GPYA nhưng thay thế glucoza bằng SBO hoặc SBL như sau: dầu đậu tương hoặc dầu lèxithin với nồng độ từ 0,5% trở lên, polypepton 1 g/l, cao nấm men 0,5 g/l, nồng độ muối là 1,5% NaCl, thạch 10 g/l và sử dụng vi khuẩn *Psychrobacter phenylpyruvicus* làm yếu tố kích thích sự sinh trưởng của chủng HL78; nhiệt độ nuôi cấy thích hợp là 28°C; pH ban đầu nằm trong khoảng từ 7,5 đến 8,0.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dyer J. R. and Carol C. E., 1991: J. Neurochem., 56: 1921- 1931.

2. **Hoàng Lan Anh và cs.**, 2005: Tạp chí Công nghệ sinh học, 3(3): 381-387.
3. **Honda D. et al.**, 1999: J. Eukaryot Microbiol., 46(6): 637- 647.
4. **Inouye I.**, 2004: Proceedings of the Tenth International Congress for culture Collections. Tsukuba, Japan 10-15 October 2004: 179-186.
5. **Kumon Y. et al.**, 2005: Appl. Microbiol. Biotechnol., 69: 253- 258.
6. **Muehlstein L. K.** and **Porter D.**, 1991: Mycologia, 83: 180-191.
7. **Porter D.**, 1990: Handbook of protoctista: 388-398. Jones and Bartlett, Boston.
8. **Uauy R. D. et al.**, 1990: Pediatr. Res., 28: 485-492.
9. **Vergeer L. H. T.** and **Develi A.**, 1997: Aquatic Botany, 58: 65-72.
10. **Yokochi T. et al.**, 2001: Mar. Biotechnol., 3: 68-73.

#### Lời cảm ơn

Chúng tôi cảm ơn ThS. Kumon Y., Viện nghiên cứu Khoa học và Công nghệ công nghiệp tiên tiến, Tsukuba, Nhật Bản, đã giúp đỡ trong việc xác định axit béo không bão hoà DHA và n-6 DPA.

## OPTIMUM CULTURAL CONDITIONS OF THE *LABYRINTHULA* sp. STRAIN HL78 IN STIFF MEDIA

HOANG THI MINH HIEN, HOANG SY NAM, DANG DIEM HONG

### SUMMARY

In this paper, the *Labyrinthula* sp. strain HL78 was isolated from leaves floating on the seawater at the coastal area of Halong bay, Quangninh province. This strain has the high growth rate and long chain polyunsaturated fatty acid (LCPUFA) production. The main fatty acid composition of this strain was: C12: 0 (15.3%), C16: 0 (12.8%), C18: 1 (3.4%), C18: 2 (12.2%), C20: 5n-3 (3.8%), C22: 5n-6 (7.3%) and C22: 6n-3 (11.5%). The ratio of LCPUFA to the total of fatty acids was 22.6%. The effects of various cultural conditions such as bacteria, sources of carbon and nitrogen, oil concentrations, temperature, pH, salt concentrations (NaCl)... on the cell growth and the LCPUFA contents were tested. As the previous report of Hoàng Lan Anh et al., (2005), the basic medium for the isolation of isolated *Labyrinthula* sp., GPYA medium, contained glucose (2 g/l), polypepton (1 g/l), yeast extract (0.5 g/l) and agar (10 g/l) in a 50% salt concentration of ASW (50% ASW, approximately 1.5% NaCl). For the cultivation of the isolated *Labyrinthula* sp. strain HL78, therefore, we used PYA-SBO or PYA-SBL medium which contained soybean oil (SBO) or soybean lecithine oil (SBL) (5 g/l) instead of the glucose in GPYA medium. GPYA medium without agar was called GPY medium. A bacterial suspension (100 µl, containing 50 µg of cell dry weight which have grown in the GPY medium) was spread on the PYA-SBO medium. The obtained results in this present allowed us to conclude that the optimum conditions for the cultivation of the *Labyrinthula* sp. strain HL78 were the PYA-SBO (or SBL) medium using the bacterial suspension of *Psychrobacter phenylpyruvicus* as a stimulating element for the growth of *Labyrinthula*, at pH from 7.5 to 8.0 and at temperature of 28°C.

Ngày nhận bài: 15- 6- 2006