

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY TRÊN MÔI TRƯỜNG LỒNG CHỨNG *SCHIZOCHYTRIUM* SP. PQ6 PHÂN LẬP ĐƯỢC TẠI HUYỆN ĐẢO PHÚ QUỐC, TỈNH KIÊN GIANG

NGÔ THỊ HOÀI THU, HOÀNG THỊ LAN ANH, ĐẶNG ĐIỂM HỒNG

Viện Công nghệ sinh học

Các chủng vi tảo biển dị dưỡng mới thuộc chi *Schizochytrium* đã được phát hiện và phân lập thành công ở huyện đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang [1]. Theo khóa phân loại của Porter (1990) *Schizochytrium* thuộc họ Thraustochytriidae (Thraustochytrids), lớp Labyrinthulea, ngành Heterokontophyta. Các tế bào *Schizochytrium* có dạng hình cầu, có mạng lưới ngoại chất xuất phát từ bề mặt tế bào [5, 6, 10]. Chúng phân bố ở các lá cây đang trong giai đoạn phân hủy và trôi dạt ở ven bờ rừng ngập mặn. Chúng có hàm lượng DHA (docosahexaenoic acid, C22: 6n-3) và n-6 DPA (docosapentaenoic acid, C22: 5n-6) rất cao (gấp 5-10 lần so với tất cả các vi sinh vật và vi tảo biển hiện đã biết ở Việt Nam) [1-3]. Đây là những acid béo không bão hòa đa nối đôi (LCPUFAs) có vai trò quan trọng trong hoạt động của não, thị giác và tim mạch... [3-9, 11, 12]. Nhằm mục đích thu sinh khối giàu hàm lượng các LCPUFAs như DHA và n-6 DPA trong các chủng *Schizochytrium* phân lập được tại Việt Nam để làm thuốc chữa bệnh, thực phẩm chức năng cho người và thức ăn bổ sung cho động vật nuôi, chúng tôi đã nghiên cứu tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy chúng trên môi trường lỏng. Trong bài báo này trình bày các kết quả nghiên cứu về tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy trên môi trường lỏng chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 phân lập tại huyện đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang.

Từ khoá: DHA, n-6 DPA, EPA, polyunsaturated fatty acid-PUFAs, *Schizochytrium* sp.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Mẫu vật là các lá cây đước (*Rhizophora apiculata* Blume, thuộc họ Đước - Rhizophoraceae) trôi dạt vào bờ và đang trong

giai đoạn phân hủy (có màu vàng hoặc nâu) được thu thập ở vùng bờ biển huyện đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang vào tháng 6-7/2006. Các mẫu vật được rửa sạch, cho vào túi ni-lông, ghi địa điểm thu mẫu và được xử lý ngay trong ngày [1].

Môi trường phân lập và nuôi cấy *Schizochytrium* được kí hiệu là GPYc (glucose 0,2%, polypepton 0,1%, cao nấm men 0,05%, agar 1,5%, muối biển nhân tạo có hàm lượng NaCl là 1,5% và chloramphenicol 50mg/l) và môi trường nuôi lỏng M1 (glucose 3%, cao nấm men 1%, muối biển nhân tạo có hàm lượng NaCl là 1,5%).

Các thiết bị được sử dụng gồm: kính hiển vi quang học Olympus Model CHS; Nikon eclipse 50i (Nhật Bản) để quan sát hình thái tế bào tạo trong quá trình phân lập; buồng đếm số lượng tế bào Burker - Turk (Đức) để xác định mật độ tế bào; cân phân tích Precisa XT2200A (Thụy Điển), tủ nuôi cấy (Binder, Đức), máy lắc IKA KS 260 basic (Đức) dùng cho việc pha môi trường và nuôi cấy *Schizochytrium*. Máy sắc kí khí HP-6890, ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5973; Cột HP-5MS (0,25 m x 30m x 0,25mm); Khí mang He; Chương trình nhiệt độ: 80 (1 phút) - 40/phút- 150 (1 phút)- 10/phút-260m (10 phút). Thư viện phổ khối: WILEY275.L và NIST 98.L cho việc xác định thành phần acid béo.

2. Phương pháp

Phân lập chủng Schizochytrium sp. PQ6: *Schizochytrium* được phân lập theo phương pháp của Honda và cs. (1998) [5]; Yokochi và cs. (2001) [12] và Đặng Điểm Hồng và cs. (2007, 2008) công bố [1, 2].

Tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy chủng PQ6: Để tìm ra các điều kiện nuôi cấy tối ưu

cho chủng PQ6 sinh trưởng và có hàm lượng acid béo không bão hòa (đặc biệt là DHA và n-6 DPA) cao, chúng tôi đã nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố như nguồn carbon và nitrogen, nhiệt độ, pH và nồng độ muối NaCl lên sinh trưởng của chủng PQ6 như sau:

Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố như nhiệt độ, pH, nồng độ cao nấm men và glucose đến hàm lượng LCPUFA của chủng PQ6 được kiểm tra trong khoảng nhiệt độ từ 20-37°C, pH từ 4,0-9,0, nồng độ muối (NaCl) từ 0-3%, nồng độ cao nấm men từ 0,4-1,2% và nồng độ glucose từ 1,5-18%.

Nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau đến hàm lượng LCPUFA: Để nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau, môi trường thí nghiệm M1 được thay thế 3% glucose (công thức đối chứng) bằng nguồn carbon khác nhau như: saccharose, maltose, glycerol, fructose cũng ở nồng độ này. Chủng PQ6 được nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C, lắc ở tốc độ 200 rpm, hàm lượng LCPUFA được phân tích sau 5 ngày nuôi cấy.

Nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn nitrogen khác nhau lên hàm lượng LCPUFA: Môi trường đối chứng có chứa glucose (3%), cao nấm men (1%), nước biển nhân tạo - ASW (có hàm lượng NaCl là 1,5%). Còn ở các công thức thí nghiệm, môi trường M1 có chứa 0,1% cao nấm men và 0,2% thành phần các nguồn nitrogen khác nhau như (NH₄)₂SO₄, CH₃COONH₄, NH₄NO₃, NaNO₃, phân N-P-K. Ngoài ra, các điều kiện khác vẫn được duy trì như ở các thí nghiệm nêu trên.

Phân tích hàm lượng lipid tổng số: Hàm lượng lipid tổng số được phân tích theo tiêu chuẩn ISO/DIS 659:1988, LB Đức như sau: Mẫu tươi được cân tổng khối lượng (ml) và ngâm chiết trong 100 ml chloroform: methanol (1: 2). Bã được lọc và loại bỏ thu dịch chiết 1. Dịch chiết 1 sau đó được bổ sung thêm 100 ml nước, lắc kỹ để tạo dịch chiết 2. Sau khi dịch chiết 2 phân lớp triệt để, chiết lấy pha dưới, làm khan bằng Na₂SO₄, cất loại dung môi dưới áp suất thấp thu lipid tổng và cân khối lượng gram (m₂). Hàm lượng Lipit tổng số được tính theo công thức sau:

$$\text{Lipit tổng (\%)} = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

Phân tích thành phần và hàm lượng PUFA bằng phương pháp sắc kí khí (Viện Hóa học Các hợp chất thiên nhiên) theo mô tả trong công trình của Hoàng Lan Anh và cs. (2005) [3] và Đặng Diễm Hồng và cs. (2007) [2] theo tiêu chuẩn ISO/ FDIS 5590: 1998, LB Đức: 10 mg mẫu được hoà tan với 1 ml n-hexan, lắc kỹ trong lọ nhỏ đậy nút kín. Sau đó bổ sung 25 µl dung dịch CH₃ONa trong methanol (2 mol/l), lắc kỹ trong 1 phút. Bổ sung 1 ml nước cất, lắc kỹ, phân lớp bằng ly tâm 3000 vòng/phút và lớp sáp không phản ứng ở dưới bị loại bỏ. Tiếp tục bổ sung 100 µl HCl, lắc kỹ, phân lớp bằng ly tâm 3000 vòng/phút. Sau khi loại bỏ lớp bản dưới đáy, lớp dung môi trên được làm khan bằng Na₂SO₄ và phân lớp bằng ly tâm 3000 vòng/phút. Mẫu đã được methyl hóa được chuyển sang ống phân tích thành phần acid béo bằng máy sắc kí khí HP-6890, ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5973; Cột HP-5MS (0,25 m × 30 m × 0,25 mm); khí mang He; chương trình nhiệt độ: 80 (1 phút) - 40/phút - 150 (1 phút) - 10/phút - 260 m (10 phút). Thư viện phổ khối: WILEY275.L và NIST 98.L.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ những mẫu lá cây được (*Rhizophora apiculata* Blume, thuộc họ Đước - Rhizophoraceae) đang trong giai đoạn phân hủy trôi dạt ở bìa rừng ngập mặn ven biển huyện đảo Phú Quốc (gồm An Thới, Hàm Ninh, Gành Dầu) thuộc tỉnh Kiên Giang vào tháng 6 và 7 năm 2006, chúng tôi đã phân lập và nuôi cấy ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm 10 chủng *Schizochytrium*, trong đó có chủng PQ6. Thành phần acid béo chính của chủng PQ6 đã được phân tích và có kết quả như sau: C14:0 (chiếm 2,5% trong tổng số acid béo), C15:0 (8,41%), C16:1 n-7 (0,25%), C16:0 (37,71%), C17:0 (1,84%), C18:1 n-9 (0,69%), C18:0 (1,27%), C20:4 n-6 (0,92%), C20:5 n-3 (0,75%), C20:0 (0,28%), C22:6 n-3 (43,58%) và hàm lượng LCPUFA trên acid béo tổng số là 46,12%.

Kết quả phân tích chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 cho thấy hàm lượng lipit tổng số chiếm 6,26% sinh khối tươi; DHA chiếm đến 43,58% tổng số acid béo; hàm lượng EPA (acid eicosapentaenoic, C20:3n-3), chiếm 0,75% tổng số acid béo; acid béo tổng số chiếm đến 90%

lipit tổng số; hàm lượng DHA chiếm 14,11% trọng lượng (g); và khả năng tạo DHA là 1,57g DHA/lít.

Để tìm ra điều kiện nuôi cấy tối ưu cho chủng PQ6 sinh trưởng và có khả năng sinh hàm lượng acid béo không bão hoà, đặc biệt là DHA cao, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến chủng PQ6. Khả năng sinh trưởng của chủng PQ6 được đánh giá thông qua giá trị mật độ tế bào, trọng lượng khô. Chúng tôi cũng đã xác định được

mối tương quan giữa hai đại lượng này với hệ số $R = 0,96$ (kết quả không chỉ ra ở đây). Vì vậy, chúng tôi chọn giá trị mật độ tế bào để đánh giá khả năng sinh trưởng của *Schizochytrium* trong các thí nghiệm tiếp theo.

1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng, lượng sinh khối khô, hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 được chỉ ra trên bảng 1.

Bảng 1

Ảnh hưởng của nhiệt độ lên mật độ tế bào, lượng sinh khối khô và hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6.

Nhiệt độ (°C)	Mật độ (10^6 tb/ml)	Sinh khối khô (g/l)	Hàm lượng DHA và n-6 DPA (g/l)
20	36,21	9,01	0,51
25	42,93	11,83	0,70
28	42,93	12,88	1,32
30	37,57	9,59	0,73
37	5,50	2,94	0,62

Kết quả trên bảng 1 cho thấy, chủng PQ6 có mật độ tế bào, sinh khối khô và hàm lượng DHA và n-6 DPA đạt giá trị cao nhất tại 28°C. Do vậy, nhiệt độ này sẽ được chúng tôi sử dụng để nuôi trồng *Schizochytrium* trong các thí nghiệm tiếp sau.

2. Ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl

Do chúng tôi đã chọn được vị trí địa lý rất đặc biệt của địa điểm thu mẫu là ven bìa rừng ngập mặn của vùng biển huyện đảo Phú Quốc, có sự dao động rất lớn về nồng độ muối khi

nước thủy triều lên xuống trong ngày (từ 0-3,0%), nên bản thân chủng PQ6 phân lập được tại địa điểm nêu trên đã có bản chất tự nhiên là có khả năng sống thích nghi trong môi trường nước biển có độ mặn dao động trong một khoảng rất rộng. Chính vì vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ muối (từ 0-3,0%) lên sinh trưởng, lượng sinh khối khô, hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6. Kết quả được chỉ ra trên bảng 2.

Bảng 2

Ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl lên mật độ tế bào, lượng sinh khối khô và hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6

Nồng độ muối (%)	Mật độ (10^6 tb/ml)	Sinh khối khô (g/l)	Hàm lượng DHA và n-6 DPA (g/l)
0,00	29,13	8,26	0,71
0,75	31,73	10,91	0,82
1,50	42,10	12,01	1,29
2,25	38,37	11,18	0,72
3,00	29,10	11,27	0,51

Kết quả trên bảng 2 cho thấy, nồng độ muối tối ưu cho sinh trưởng của chủng PQ6 là 1,5%.

Nồng độ muối này sẽ được chúng tôi sử dụng cho nuôi cấy các chủng này trong các thí

thực nghiệm tiếp sau. Với nồng độ muối tối ưu cho môi trường nuôi cấy chủng PQ6 là 1,5% sẽ là một ưu việt lớn của chủng vì khi triển khai nuôi trồng trên qui mô lớn để thu sinh khối tảo, lượng muối trong môi trường càng thấp sẽ giảm chi phí và giảm khả năng ăn mòn các hệ thống lên

men nuôi cấy sau này.

3. Ảnh hưởng của nguồn carbon

Ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau lên khả năng sinh trưởng của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 được thể hiện trên bảng 3.

Bảng 3

Ảnh hưởng của nguồn carbon lên mật độ tế bào, lượng sinh khối khô và hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6

Nguồn carbon	Mật độ (10 ⁶ tb/ml)	Sinh khối khô (g/l)	Hàm lượng DHA và n-6 DPA (g/l)
Glucose	40,10	10,63	1,20
Saccharose	9,25	3,21	0,68
Maltose	8,25	3,12	0,52
Glycerol	39,75	10,75	1,18
Fructose	6,25	3,01	0,71

Kết quả trên bảng 3 cho thấy, chủng PQ6 có thể sử dụng glycerol làm nguồn carbon như glucose với sinh khối khô đạt 10,7 g/l với hàm lượng DHA và n-6 DPA đạt 1,18 g/l.

4. Ảnh hưởng của pH

Ảnh hưởng của pH lên khả năng sinh trưởng của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 được thể hiện

trên bảng 4. Kết quả trong bảng 4 cho chúng ta thấy mật độ tế bào vi tảo biển *Schizochytrium* đạt được khá cao trong dải pH từ 5-9. ở tất cả các công thức thí nghiệm. sau 5-7 ngày, môi trường nuôi cấy có sự dịch chuyển pH về 7,5 - 8,0. Như vậy, pH ban đầu từ 7,0 đến 8,0 là tối ưu cho sự phát triển của chủng PQ6 và pH này sẽ được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 4

Ảnh hưởng của pH môi trường lên khả năng sinh trưởng của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6

pH môi trường trước khi nuôi	pH môi trường sau khi nuôi	Mật độ (10 ⁶ tb/ml)	Sinh khối khô	Hàm lượng DHA và n-6 DPA (g/l)
4	4,83	26,10	8,89	0,42
5	5,99	32,23	9,62	0,58
6	7,26	36,34	10,66	0,76
6,8-7 (pH đạt được khi pha môi trường M1, được giữ nguyên)	7,38	40,14	11,89	1,10
8	7,52	37,13	11,16	0,79
9	7,86	31,52	9,19	0,42

5. Ảnh hưởng của nồng độ cao nấm men

Ảnh hưởng của nồng độ cao nấm men lên sự biến đổi hình thái, sinh trưởng và hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 được thể hiện trên bảng 5.

Kết quả bảng 5 cho thấy, mật độ tế bào, sinh khối khô và hàm lượng DHA, n-6 DPA của chủng PQ6 tăng khi nồng độ cao nấm men tăng từ 0,4 đến 1,0% và đạt giá trị cực đại tại nồng độ 1%. Do vậy, nồng độ cao nấm men 1% được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo sau.

Ảnh hưởng của nồng độ cao nấm men lên sự biến đổi hình thái, sinh trưởng và hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6

Cao nấm men (%)	Mật độ (10^6 TB/ml)	Sinh khối khô (g/l)	Hàm lượng DHA và n-6 DPA (g/l)	Hình thái tế bào
0,4	29,00	10,27	0,61	Bình thường
0,6	29,99	11,02	0,82	Bình thường
0,8	32,00	11,55	1,00	Bình thường
1,0	39,67	12,15	1,47	Bình thường
1,2	29,50	12,39	1,10	Bình thường

6. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Ảnh hưởng của nguồn nitrogen lên sinh trưởng, hàm lượng lipid, hàm lượng DHA và n-6 DPA và sự biến đổi hình thái của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 được trình bày trên bảng 6. Kết quả trên bảng 6 cho thấy, chủng PQ6 có thể sử dụng nguồn nitrogen là cao nấm men, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, NaNO_3 , phân N-P-K. Với các nguồn nitrogen nêu trên, tảo có khả năng sinh trưởng tương đối tốt, hình dạng tế bào bình

thường. Còn với nguồn nitrogen là $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và NH_4NO_3 , tế bào tảo bị biến dạng, kích thước tế bào nhỏ đi. Với đặc điểm vi tảo biến *Schizochytrium* có khả năng sử dụng các nguồn nitrogen là NaNO_3 , $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ và phân N-P-K có ý nghĩa quan trọng trong việc thay thế nguồn nitrogen ở dạng cao nấm men bằng các nguồn nitrogen khác, nhằm giảm giá thành sinh khối vi tảo biển giàu hàm lượng DHA là định hướng ứng dụng quan trọng khi nuôi trồng quy mô lớn sau này.

Bảng 6

Ảnh hưởng của nguồn nitrogen khác nhau lên hình dạng tế bào, khả năng sinh trưởng, hàm lượng lipid (% TLK và g/l) và hàm lượng DHA và n-6 DPA (g/l) của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6

Nguồn nitrogen	Mật độ (10^6 tb/ml)	Sinh khối khô (g/l)	Lipid (% Sinh khối khô)	Hàm lượng lipid (g/l)	Hàm lượng DHA và n-6 DPA (g/l)	Hình thái tế bào
Cao nấm men	36,13	11,91	37,05	4,21	1,41	tế bào bình thường
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	15,33	3,22	14,43	1,56	0,32	tế bào biến dạng
$\text{CH}_3\text{COONH}_4$	31,67	9,81	26,21	2,57	1,02	tế bào bình thường
NH_4NO_3	11,67	2,01	16,31	1,89	0,17	tế bào biến dạng, nhỏ đi
NaNO_3	29,12	9,47	16,42	1,55	0,81	tế bào bình thường
N-P-K	35,33	10,72	25,66	2,75	0,92	tế bào bình thường

7. Ảnh hưởng của nồng độ glucose

Chủng PQ6 được nuôi trên môi trường M1 có nồng độ glucose thay đổi từ giá trị 1,5 đến 18% với các điều kiện thí nghiệm khác được duy trì như các thí nghiệm trên. Ảnh hưởng của nồng độ glucose lên sự thay đổi hình thái, khả năng sinh trưởng, hàm lượng lipid và hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 được trình bày ở bảng 7.

Kết quả cho thấy mật độ tế bào, sinh khối khô tăng khi tăng nồng độ glucose trong môi

trường nuôi M1. Các giá trị nêu trên đạt giá trị cao nhất tại nồng độ glucose 6 - 9%. Tuy nhiên, so với mật độ tế bào thu được ở nồng độ 3% glucose thì khi nồng độ đường tăng gấp 2 hay 3 lần, khả năng sinh trưởng của tảo tăng không theo tỷ lệ thuận với nồng độ đường. Nồng độ glucose cao hơn 12% làm giảm khả năng sinh trưởng, đi kèm theo hình thái tế bào biến đổi khác thường so với đối chứng (3% glucose). Như vậy, với những thí nghiệm tiếp theo, chúng tôi sẽ sử dụng môi trường M1 có nồng độ glucose có giá trị từ 6-9%.

Ảnh hưởng của nồng độ glucose lên sự thay đổi hình thái, khả năng sinh trưởng, hàm lượng lipid và hàm lượng DHA và n-6 DPA của chủng *Schizochytrium* sp. PQ6

Glucose (%)	Mật độ tế bào (10 ⁶ TB/ml)	Sinh khối khô (g/l)	Hàm lượng lipid (g/l)	Hàm lượng DHA và n-6 DPA (g/l)	Hình thái tế bào
1,5	18,45	6,86	2,93	0,70	Bình thường
3,0	37,25	12,74	4,32	1,39	Bình thường
6,0	50,51	19,50	3,77	1,42	Bình thường
9,0	48,52	17,59	11,97	1,29	Bình thường
12,0	36,32	12,35	9,81	1,01	Khác thường
15,0	33,35	10,64	8,62	0,82	Khác thường
18,0	29,65	9,41	6,34	0,63	Khác thường

Nếu so sánh với chủng *Schizochytrium limacinum* SR21 của Nhật Bản [11, 12] - một chủng đã được chọn nuôi trồng để thương mại hóa sản phẩm DHA hiện nay, khi được nuôi trong các bình tam giác (tương tự như thí nghiệm của chúng tôi) lại có TLK và hàm lượng DHA cao hơn 3 và 2,7 lần (tính trên 1 lít), so với chủng PQ6 tương ứng [1]. Tuy nhiên, nếu tính hàm lượng DHA trên giá trị TLK (gr) thu được của chủng PQ6 lại đạt 14,11%, có giá trị cao hơn so với chủng *Schizochytrium limacinum* SR21 nói trên (11,67%). Điều này cho thấy, chủng PQ6 phân lập được ở vùng biển huyện đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang là một chủng có tiềm năng cao cho việc sản xuất sinh khối tảo giàu DHA sau này với mục đích làm thực phẩm chức năng cho người hay làm thức ăn bổ sung cho vật nuôi thủy sản.

III. KẾT LUẬN

Điều kiện nuôi cấy tối ưu chủng *Schizochytrium* sp. PQ6 trên môi trường lỏng là môi trường M1 chứa glucose 3%, cao nấm men 1%, muối biển nhân tạo có nồng độ NaCl là 1,5%; nhiệt độ 28°C; pH 7-8; sử dụng tốt các nguồn các bon là glucose (6-9%) và glycerol; sử dụng tốt nguồn nitrogen là cao nấm men (1%), song có thể thay thế bằng CH₃COONH₄, NaNO₃ và phân N-P-K để giảm giá thành môi trường nuôi cấy.

Lời cảm ơn: Công trình được hỗ trợ trích từ kinh phí của đề tài "Nghiên cứu đánh giá và khai thác các hoạt chất từ tảo biển" thuộc đề tài cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam 2007-2008, đề tài "Nghiên cứu xây dựng tập

đoàn giống vi tảo biển quang tự dưỡng, dị dưỡng của Việt Nam và nuôi sinh khối một số loài tảo dị dưỡng làm thức ăn trong nuôi trồng thủy sản" cấp Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn năm 2008-2010. Chương trình Nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên, Bộ Khoa học và Công nghệ, mã số 6-113-06.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Diễm Hồng và cs., 2008: Tạp chí Sinh học, 30(2): 50-55.
2. Đặng Diễm Hồng và cs., 2007: Tạp chí Khoa học và công nghệ, 45(1B): 144-153.
3. Hoàng Lan Anh và cs., 2005: Tạp chí Công nghệ Sinh học, 3(3): 373-379.
4. Hoàng Minh Hiền và cs., 2006: Tạp chí Sinh học, 28(3): 54-60.
5. Honda D. et al., 1998: Mycol. Res., 102(4): 439-448.
6. Honda D. et al., 1999: J. Eukaryot Microbiol., 46(6): 637-647.
7. Jiang Y., Fan K. W., Wong R. T., Chen F., 2004: J Agric. Food Chem., 52(5):1196-200.
8. Kumon Y. et al., 2003: Appl. Microbiol. Biotechnol., 63: 22-28.
9. Kumon Y. et al., 2002: Appl. Microbiol. Biotechnol., 60: 275-280.
10. Porter D., 1990: Handbook of protictistol., 38:127-145.
11. Unagul P. et al., 2007: Bioresource Technol., 98(2): 281-287.
12. Yokochi T. T. et al., 1998: Appl. Microbiol. Biotechnol., 49: 72-79.

OPTIMIZATION OF CULTURAL CONDITIONS IN LIQUID MEDIA OF *SCHIZOCHYTRIUM* SP. PQ6 ISOLATED FROM PHU QUOC ISLAND, KIEN GIANG PROVINCE

NGO THI HOAI THU, HOANG THI LAN ANH, DANG DIEM HONG

SUMMARY

Schizochytrium sp. - a new heterotrophic marine microalgae was found in Vietnam since 2005 with biological characteristics as its capacity of the synthesis of high content of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) more 5 times than that in *Labyrinthula* [3]. PUFAs are known as essential components of the cell membranes of various tissues and as precursors of the eicosanoids that have special importance in the brain and blood vessels, and are considered as essential for pre- and post - natal brain and retinal development. Among the PUFFAs, docosahexanoic acid (DHA, C22: 6n-3), docosapentaenoic acid (n-6 DPA, C22: 5n-6) and eicosapentaenoic acid (EPA, C20: 5n-3) can be used for medicine, functional food and as well as for aquaculture feed (e.g. for rotifer, krill's, shrimp's larvae etc.). In this study, we present the results of research on optimal conditions of strain PQ6 of *Schizochytrium* sp. isolated from Phu Quoc island, Kien Giang province in liquid medium. The obtained results indicated that the optimal conditions of *Schizochytrium* sp. PQ6 in shaking flask (250 ml volume) are M1 media; temperature 28°C, salinity 1.5%, pII 7-8, the best use of glucose (6-9%) and glycerol as carbon source, good use of yeast extract (1%) as nitrogen source, yeast extract can be replaced $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, NaNO_3 and fertilizer N-P-K for decrease in cost of biomass, the content of total lipid reached up 6.26% of fresh weight, DHA content - 43.58% of total fatty acid, EPA content - 0.75% of total fatty acid; total fatty acid makes up more than 90% of total lipid, the content of DHA makes up 14.11% of dry weight; the capacity of DHA synthesis was 1.57g per liter.

Ngày nhận bài: 4-1-2008