

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN DINH DƯỠNG CỦA VI TẢO *CHLORELLA ELLIPSOIDEA* TẠI VƯỜN QUỐC GIA XUÂN THỦY

Nguyễn Thị Thanh Nhân^{1*}, Phó Thị Thúy Hằng²

¹Trường Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương,

²Trường Đại học Y Dược – ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Hiện nay, trong các nguồn nguyên liệu từ thiên nhiên, vi tảo được tập trung nghiên cứu nhiều và đem lại rất nhiều lợi ích cho con người. *Chlorella* là một loài vi tảo lục đặc biệt quý giá kích thước nhỏ, nhưng chứa đầy đủ các axit amin, vitamin và các khoáng chất. Người khi sử dụng vi tảo *Chlorella* có tác dụng tăng sức đề kháng, làm sạch máu, gan, thận và ruột, kích thích sinh sản tế bào hồng cầu, tăng oxy cho các tế bào và não... Với mục đích bảo tồn nguồn gen của vi tảo *Chlorella* phục vụ cho các nghiên cứu ứng dụng sau này, chúng tôi đã tiến hành phân lập các mẫu vi tảo thu tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy, Nam Định. Kết quả nghiên cứu đã xác định được loài *Chlorella ellipsoidea* sinh trưởng tốt nhất trong môi trường BG11. Loài *Chlorella ellipsoidea* có thành phần dinh dưỡng chứa các axit béo không no khá cao (gồm axit linoleic 13,867% và axit alpha-linoleic 17,457%). Carbohydrate ở mức trên giá trị trung bình. Các sắc tố quan trọng như chlorophyll a, chlorophyll b và carotenoid.

Từ khoá: Carbohydrate; *Chlorella ellipsoidea*; phân lập, vi tảo; Vườn Quốc Gia Xuân Thủy.

Ngày nhận bài: 21/01/2020; **Ngày hoàn thiện:** 31/7/2020; **Ngày đăng:** 31/7/2020

ISOLATE AND IDENTIFY THE NUTRITIONAL INGREDIENT OF *CHLORELLA ELLIPSOIDEA* MICROALGE IN XUAN THUY NATIONAL PARK

Nguyen Thi Thanh Nhan^{1*}, Pho Thi Thuy Hang²

¹Hai Duong Medical Technical University,

²TNU - University of Medicine and Pharmacy

ABSTRACT

Nowadays, in the material from nature, microalge is studied very much and carried a lots of benefit to the human. *Chlorella* is the precious special microalge. It is small size but it is full of amino acids, vitamins and minerals. *Chlorella* is absorbed in human body to increase resist, cleaning blood, liver, kidney and bowel, including red blood cell are produced, and increase oxy to brain, cell... For the purpose of preserving the gene source for application studies later, we isolated on the microalgae collected in the Xuan Thuy national park, Nam Dinh. The results obtained by *Chlorella ellipsoidea* grow the best in the BG11 medium. *Chlorella ellipsoidea* has non-fatty acids components are high (linoleic acid 13.867% and alpha-linoleic acids 17.457%). The carbohydrates are above average. There are important elements such as chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid.

Keywords: Carbohydrate; *Chlorella ellipsoidea*; isolate; microalge; Xuan Thuy park national

Received: 21/01/2020; **Revised:** 31/7/2020; **Published:** 31/7/2020

* Corresponding author. Email: ntthanhnhan89@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Trong các nguồn nguyên liệu từ thiên nhiên, vi tảo (microalgae) được tập trung nghiên cứu nhiều và cũng đem lại rất nhiều lợi ích cho con người. Vi tảo là đối tượng khai thác các hợp chất chống oxi hóa như các carotenoid, các axit béo không no đa nối đôi, các chuỗi polysaccharide như beta - glucan dominate và đặc biệt các hợp chất có hoạt tính kháng tế bào ung thư [1]. *Chlorella* là một loài vi tảo lục đặc biệt quý giá. Mặc dù kích thước nhỏ, nhưng *Chlorella* chứa đầy đủ các axit amin, vitamin và các khoáng chất. Các protein của loài tảo này có chứa tất cả các axit amin cần thiết cho nhu cầu dinh dưỡng của người và động vật. Vi tảo *Chlorella* khi được hấp thụ vào cơ thể người có tác dụng tăng sức đề kháng cho cơ thể, làm sạch máu, gan, thận và ruột, kích thích sinh sản tế bào hồng cầu, tăng oxy cho các tế bào và não; giúp tăng pH máu để đạt trạng thái kiềm hơn; giữ cho tim hoạt động bình thường; giúp tăng cường sản phẩm của các khu hệ sinh vật trong đường tiêu hóa. Vi tảo *Chlorella* được xem như là một chất trao đổi ion trong đường ruột, loại bỏ Hg trong máu [2]. Các nghiên cứu ở Mỹ và Châu Âu đã chỉ ra rằng vi tảo *Chlorella* có khả năng giúp cơ thể bề gãy các hydrocacbon bền và loại các độc tố kim loại nặng cũng như thuốc diệt cỏ. Ngoài ra, vi tảo *Chlorella* còn có khả năng chống tia phóng xạ Gama, do vách tế bào của vi tảo *Chlorella* có khả năng hấp thụ và bám với nguyên tử riêng biệt như uranium và chì [2]. Chưa có thực vật quang hợp nào dưới ánh sáng mặt trời lại có nhiều ích lợi đối với con người như *Chlorella*, vì vậy loài tảo này trở thành một phần không thể thiếu trong khẩu phần ăn hàng ngày của chúng ta.

Vườn Quốc Gia (VQG) Xuân Thủy nằm trong hệ thống các VQG của Việt Nam và là vùng tiêu biểu cho hệ sinh thái đất ngập nước cửa sông ven biển đồng bằng châu thổ sông Hồng. Vùng rừng ngập mặn tại VQG Xuân Thủy là khu vực có ý nghĩa quan trọng cả về

sinh thái và phát triển ngư nghiệp, đặc biệt là sản lượng hải sản khai thác như tôm, cua, động vật thân mềm... Những công bố về vi tảo ở VQG Xuân Thủy chưa nhiều, và chủ yếu tập trung ở mức độ đa dạng thành phần loài.

Với mong muốn góp phần bảo tồn các loài vi tảo, tạo tiền đề cho những nghiên cứu ứng dụng tiếp theo, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Phân lập và xác định thành phần dinh dưỡng của vi tảo *Chlorella elipsoidea* tại vườn quốc gia Xuân Thủy”.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các loài vi tảo lục được phân lập tại VQG Xuân Thủy, tỉnh Nam Định.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu

Dụng cụ lấy mẫu: Vợt sinh vật phù du, panh, kẹp... Mẫu được để trong các ống falcon có nắp nhựa đậy kín. Lấy mẫu nước ở tầng mặt cách mặt nước ở độ sâu 30 - 60 cm. Lấy mẫu bùn đại diện cho tầng cần ít không khí. Lấy mẫu trên các thân và rễ cây ở rừng ngập mặn như: trang, sú, vẹt...

2.2.2. Phương pháp phân lập và thuần khiết trên đĩa thạch

Quá trình phân lập được tiến hành theo phương pháp của Shirai có cải tiến [3]. Các vi tảo được xác định dưới kính hiển vi sẽ được nuôi cấy trên đĩa thạch chứa môi trường GB11. Sau 7-10 ngày, khuẩn lạc sẽ được quan sát trên kính hiển vi với độ phóng đại 100, để xác định sơ bộ hình dạng của vi tảo. Sau đó, khuẩn lạc được phân lập bằng tăm vô trùng. Chuyển đầu tăm có chứa khuẩn lạc loài vi tảo vào trong lọ penicillin có chứa dịch thể của môi trường BG11. Trong 5-10 ngày, khi sinh khối vi tảo phát triển, tiến hành quan sát kiểm tra độ tinh sạch của mẫu vi tảo phân lập.

2.2.3. Phương pháp phân loại theo hình thái

Các chủng vi tảo sẽ được định danh dựa theo khóa phân loại của các tài liệu định loại của Shirota (1966) và Dương Đức Tiến, Võ Hành

(1997) [4], [5].

2.2.4. Khảo sát thời gian sinh trưởng của vi tảo trong các loại môi trường nuôi cấy

Các loài vi tảo đã phân lập, được nuôi cấy trong các môi trường BBM (bảng 1), BG11 (bảng 2) và C (bảng 3), sau mỗi 2 ngày nuôi cấy, tiến hành đếm số lượng tế bào để lựa chọn thời gian sinh trưởng và môi trường nuôi cấy tối ưu.

Bảng 1. Thành phần môi trường BBM

TT	Hóa chất	Khối lượng
1	NaNO ₃	0,25 g
2	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,075 g
3	KH ₂ PO ₄	0,175 g
4	NaCl	0,025 g
5	K ₂ HPO ₄	0,075 g
6	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,025g
7	TE- Solution	1 ml
8	Dung dịch EDTA gốc	1 ml
9	Dung dịch Fe	1 ml
10	Nước cất	997 ml

Bảng 2. Thành phần môi trường BG11

TT	Hóa chất	Hàm lượng/L
1	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,04 g
2	NaNO ₃	0,15 g
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,075 g
4	Acid citric	0,006 g
5	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,036 g
6	Na ₂ EDTA	0,001 g
7	Na ₂ CO ₃	0,02 g
8	Feric amoni nitrat	0,006 g
9	Vi lượng A ₅	1 ml
10	Nước cất	999 ml

Bảng 3. Thành phần môi trường C

TT	Hóa chất	Hàm lượng
1	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	15 mg
2	KNO ₃	10 mg
3	β-Na ₂ glycerolphosphate.5H ₂ O	5 mg
4	MgSO ₄ .7H ₂ O	4 mg
5	PIV metals	0,3 ml
6	Trishydroximethyl aminoethanol	50 mg
7	B ₁₂	0,01 µg
8	H	0,01 µg
9	B ₁	1 µg
10	Nước cất	99,7 ml

2.2.5. Phương pháp đếm tế bào bằng buồng đếm Neubauer

Số lượng tế bào vi tảo được đếm trên buồng đếm Neubauer và được tính theo công thức:

$$D = X.(a/64).10^{-6} \quad (1)$$

Trong đó: D: số lượng tế bào (số tế bào /ml),
a: số tế bào trung bình trong một buồng đếm

X: hệ số pha loãng

2.2.6. Phương pháp nhân nuôi và thu sinh khối vi tảo

Vi tảo được nhân nuôi và thu sinh như sau: 5 ml mẫu giống được cấy chuyển vào bình nhân giống 250 ml, sau đó cấy chuyển vào bình tăng sinh khối có thể tích 1 lít, cấy chuyển vào bình tăng sinh khối có thể tích 4 lít, 8 lít và 20 lít. Sau 28 ngày tiến hành làm lắng và thu sinh khối vi tảo.

2.2.7. Xác định khối lượng tươi và khối lượng khô

Tế bào được đếm thường xuyên 2 ngày/lần, sinh khối vi tảo được thu vào giai đoạn đầu của pha cân bằng. Sau đó ly tâm sinh khối tảo thu được (sau khi để lắng) với tốc độ 5000 vòng/phút trong 10 phút và rửa bằng nước cất. Sấy khô mẫu ở 60-70°C trong khoảng 48 h.

Khối lượng tươi: mg (sinh khối tảo)/l (dung dịch nuôi cấy)

Khối lượng khô: mg (sinh khối tảo khô)/l (dung dịch nuôi cấy)

2.2.8. Xác định thành phần axit béo của loài vi tảo nghiên cứu [6]

Mẫu nuôi sinh khối vi tảo được ly tâm 10000 vòng/phút, 15 phút, 2°C để thu sinh khối tươi. Sau đó sẽ được xử lý bằng metanol/chlorofooc (1:1, v/v) để phá vỡ thành tế bào. Dịch chiết thu được sẽ được cô quay chân không để thu cặn chiết. Cặn chiết được hòa tan bằng metanol: acid sulfuric (95:5, v/v) và đun ở 80°C trong 4 h để este hóa các axit béo. Các axit béo sau khi được methyl este hóa được chiết 2 lần với 2 ml n-hexan. Hỗn hợp metyl este của các axit béo được phân tích trên máy sắc ký khí (GC, gas chromatography, Finnigan Trace GC, cột BPX70 (50 M). Các axit béo được xác định bằng cách so sánh về thời gian lưu (retention time) với dung dịch chất chuẩn và được định lượng bằng cách so sánh các peak với chuẩn.

2.2.9. Xác định hàm lượng carbohydrate của các loài vi tảo nghiên cứu [2]

Mẫu khô được thủy phân trong dung dịch 2,5 N HCl trong 2 giờ. Sau đó mẫu được pha loãng 4 lần và ly tâm ở 4000 v/phút trong 15 phút. Dung dịch mẫu được phân tích theo phương pháp phenol – axit sulfuric, sử dụng 5% phenol, 96% H₂SO₄ với glucose làm chất chuẩn và đo ở bước sóng 490 nm.

2.2.10. Xác định hàm lượng sắc tố

Hàm lượng sắc tố được xác định theo phương pháp của Jeffrey [7]. 200 mg mẫu tươi được ngâm trong acetone 90%. Sau đó ngâm trong bể siêu âm khoảng 5-7 phút. Quá trình chiết sắc tố diễn ra trong vòng 2 h hoặc để qua đêm, sau đó lấy ra ly tâm 5000 vòng/phút trong thời gian 10 phút. Dung dịch sau ly tâm được đo ở các bước sóng 750 nm, 664 nm, 647 nm, 630 nm và 480 nm.

2.2.11. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu sau khi thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phân lập và thuần khiết các loài vi tảo

Mẫu tự nhiên lấy về cần làm tăng mật độ tế bào để phục vụ các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả thực nghiệm cho thấy nuôi vi tảo trong lọ penicillin nhỏ là thích hợp nhất cho quá trình làm giàu mẫu (hình 1). Sau 4-6 ngày đã thấy vi tảo xuất hiện.



Hình 1. Lọ penicillin làm giàu mẫu

Quá trình phân lập và thuần khiết vi tảo được thực hiện trên đĩa thạch, mỗi chủng vi tảo được cấy trải trên môi trường đặc BG11. Sau

khoảng 5-7 ngày, các khuẩn lạc xuất hiện, quan sát và tách khuẩn lạc dưới kính hiển vi Olympus với độ phóng đại 10 lần. Kết quả chúng tôi thu được 12 loài vi tảo ứng với 12 khuẩn lạc khác nhau và tiến hành định danh theo phương pháp hình thái. Dựa theo khóa phân loại của Shirora (1966), Dương Đức Tiến và Võ Hành (1997) mười hai loài vi tảo là *Ankistrodesmus obtusus*, *Ankistrodesmus gracilis*, *Ankistrodesmus longissimus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella ellipsoidea*, *Oocystis* sp., *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus denticulatus*, *Golenkinia radiata*, *Chlorococcum* sp., *Pleodorina* sp., *Fristchiella tuberosa*. 12 loài vi tảo này thuộc 8 chi *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Oocytis*, *Scenedesmus*, *Golenkinia*, *Chlorocococum*, *Pleodorina*, *Fritschiella*. Các loài thuần khiết được lưu giữ trong môi trường thạch nghiêng và bảo quản ở 4°C. Sau đó chúng tôi chọn ra loài *Chlorella ellipsoidea* để tiếp tục nghiên cứu.



Hình 2. Hình dạng khuẩn lạc của loài vi tảo *Chlorella ellipsoidea* trên đĩa thạch

3.2. Khảo sát thời gian và môi trường nuôi cấy loài *Chlorella ellipsoidea*

Loài tảo *Chlorella ellipsoidea* được nuôi cấy trong 3 môi trường BG11, C và BBM trong 32 ngày và tiến hành xác định mật độ tế bào sau mỗi 2 ngày nuôi. Sau xác định mật độ tế bào 2 ngày/ lần.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, loài *C. ellipsoidea* sinh trưởng phát triển tốt trên cả 3 môi trường dinh dưỡng, mật độ tế bào đều đạt tối đa vào khoảng ngày nuôi cấy thứ 24 đến 28, khi đó mật độ tế bào cao hơn gấp nhiều lần so với khi cấy mẫu (khoảng 36 lần). Mật độ vi tảo

đạt cao nhất trong môi trường BG11 sau 28 (đạt $58,35 \times 10^6$ tế bào/ml), gấp hơn 40 lần so với mật độ ban đầu. Trong môi trường C, loài *C. ellipsoidea* có mật độ thấp hơn so với hai môi trường BG11 và BBM (đạt $40,20 \times 10^6$ tế bào/ml) sau 26 ngày nuôi cấy. Như vậy, loài *C. ellipsoidea* có khả năng sinh trưởng tốt nhất trong môi trường BG11.

Bảng 4. Tốc độ phát triển của loài vi tảo *C. ellipsoidea* trong môi trường BBM, BG11 và C ở các khoảng thời gian

Thời gian nuôi (ngày)	Mật độ tế bào vi tảo <i>C.ellipsoidea</i> ($\times 10^6$ tế bào) trong môi trường		
	BG11	C	BBM
1	1,35 $\pm$ 0,01	1,35 $\pm$ 0,01	1,35 $\pm$ 0,01
2	1,3 $\pm$ 0,02	1,35 $\pm$ 0,1	1,25 $\pm$ 0,02
4	2,05 $\pm$ 0,01	1,75 $\pm$ 0,01	1,95 $\pm$ 0,01
6	3,35 $\pm$ 0,01	2,85 $\pm$ 0,01	3,1 $\pm$ 0,01
8	4,95 $\pm$ 0,01	3,40 $\pm$ 0,01	3,75 $\pm$ 0,01
10	6,3 $\pm$ 0,02	4,2 $\pm$ 0,02	5,25 $\pm$ 0,2
12	8,2 $\pm$ 0,02	5,0 $\pm$ 0,01	6,35 $\pm$ 0,01
14	10,5 $\pm$ 0,01	7,4 $\pm$ 0,03	9,0 $\pm$ 0,02
16	15,45 $\pm$ 0,1	10,80 $\pm$ 0,01	13,15 $\pm$ 0,01
18	21,15 $\pm$ 0,02	14,50 $\pm$ 0,03	17,45 $\pm$ 0,01
20	27,15 $\pm$ 0,01	19,05 $\pm$ 0,01	21,65 $\pm$ 0,01
22	35,0 $\pm$ 0,03	26,35 $\pm$ 0,04	29,9 $\pm$ 0,02
24	43,8 $\pm$ 0,01	34,65 $\pm$ 0,01	38,80 $\pm$ 0,1
26	53,05 $\pm$ 0,02	40,20$\pm$0,01	44,65 $\pm$ 0,01
28	58,35$\pm$0,01	37,45 $\pm$ 0,01	48,35$\pm$0,01
30	55,3 $\pm$ 0,05	34,8 $\pm$ 0,1	43,85 $\pm$ 0,03
32	52,4 $\pm$ 0,05	33,55 $\pm$ 0,05	41,55 $\pm$ 0,04

Như vậy, môi trường BG11 được sử dụng để nuôi cấy thu sinh khối loài vi tảo lục *C. ellipsoidea* trong thời gian 28 ngày để phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Kết quả nhân nuôi sinh khối của loài *C. ellipsoidea* ở quy mô lớn



Hình 3. Nuôi sinh khối vi tảo trong bình 4 lít

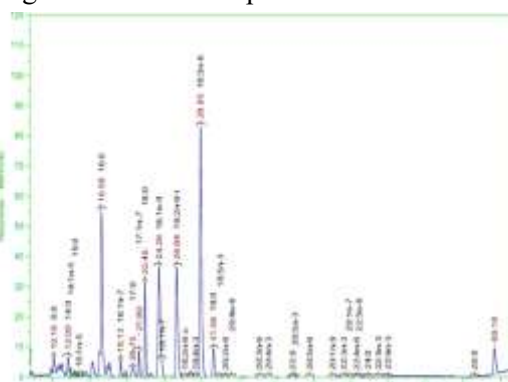
Lượng sinh khối vi tảo tươi được xử lý qua quá trình chiết vi tảo. Kết quả thu được sinh

khối, khối lượng tươi và khối lượng khô của loài *C. ellipsoidea* lần lượt đạt $4,12 \pm 0,005$ mg/l và $0,79 \pm 0,001$ mg/l

Như vậy khối lượng vật chất khô ở loài *C.ellipsoide* chiếm khoảng 19,17% so với khối lượng tươi (Hình 3).

3.4. Thành phần axit béo của loài *C. ellipsoidea*

Chúng tôi tiến hành chiết mẫu tảo của loài *C. ellipsoidea*, sau đó este hóa và phân tích trên máy sắc kí khí. Các axit béo được xác định bằng cách so sánh các peak với chuẩn.



Hình 4. Sắc kí đồ thành phần axit béo của loài *Chlorella ellipsoidea*

Bảng 5. Thành phần axit béo của loài *C. ellipsoidea*

TT	Axit béo	Tên thường gọi	Tỷ lệ %
1	14:0	Myristic	2,146 $\pm$ 0,001
2	15:0	Convolvulinolic	-
3	16:0	Palmitic	17,815 $\pm$ 0,05
4	16:1n-7	Palmitoleic	1,288 $\pm$ 0,001
5	17:0	Margric	1,67 $\pm$ 0,001
6	17:1n-7	Heptadecenoic	2,14 $\pm$ 0,05
7	18:0	Stearic	7,354 $\pm$ 0,01
8	18:1n-9	Oleic	15,516 $\pm$ 0,03
9	18:2n-6-t	Linoleic	13,867 $\pm$ 0,05
10	18:3n-3	Anpha-Linolenic	17,457 $\pm$ 0,05
11	19:0	Isoarachidic	3,284 $\pm$ 0,001
12	20:0	Arachidic	-

Sắc kí đồ hình 4 cho thấy, loài *C. ellipsoidea* có thành phần axit thuộc loại alpha-linolenic (18:3n-3) có tỷ lệ cao nhất, tiếp đến là oleic (18:1n-9) và linoleic (18:2n-6-t). Ngoài ra axit palmitic (16:0) và stearic (18:0) cũng chiếm tỉ lệ đáng kể. Trong đó axit béo không no mạch dài đều không thấy rõ. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với đặc điểm về thành phần axit béo của loài tảo lục

với các axit C16 và C18 chiếm đa số còn các axit C20 và C22 thì chiếm tỉ lệ rất nhỏ [8].

Thành phần axit béo của loài *C. ellipsoidea* khá đa dạng. Có 5 axit béo no chiếm tỉ lệ 50% và 5 axit béo không no chiếm tỉ lệ 50%. Trong đó axit béo no chủ yếu là palmitic (16:0), axit béo không no chủ yếu là axit béo không no đa nối đôi linoleic (18:2n-6-t) và alpha-linolenic (18:3n-3). Vi tảo *C. ellipsoidea* không có axit docosahectanoic (DHA), eicosapentaenoic (EPA), arachidonic (AA) nhưng tỉ lệ axit béo cần thiết (EFA) bao gồm axit linoleic và alpha-linolenic lại khá cao, chiếm tới 31,32% (Bảng 5). Tỉ lệ này ở loài *C. ellipsoidea* cao hơn loài *C. vulgaris* (25,87%) [9]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nhiều nhận định trước đó là tảo lục thiếu hoặc có rất ít EPA và DHA nhưng lại có hàm lượng EFA cao. Những axit béo này là tiền chất của các axit đông ω -3 và ω -6 như AA (20:4 ω -6) và EPA (20:5 ω -6); DHA (22:6 ω -3). AA và EPA còn có vai trò làm tiền chất tổng hợp nên một loạt chất có hoạt tính sinh học cao như các loại prostaglandin, leukotriene, thromboxane. Mặt khác những EFA này có vai trò quan trọng với sự phát triển của não bộ, hàm lượng LA còn là tiêu chuẩn để đánh giá giá trị sinh học của chất béo.

Với hàm lượng các EFA cao, loài *C. ellipsoidea* có thể được dùng để kết hợp với các loài vi tảo silic giàu EPA, DHA để tạo ra nguồn thức ăn giàu dinh dưỡng cho động vật trong nuôi trồng thủy sản [10].

3.5. Hàm lượng carbohydrate của loài vi tảo *C. ellipsoidea*

Hàm lượng carbohydrate của loài vi tảo *C. ellipsoidea* đạt 13,261%, hàm lượng carbohydrate của loài *C. ellipsoidea* cao hơn các loài *Navicula tuscua*, *Nannochloropsis oculata*, *Chlorella vulgaris*, *Chaetoceros muelleri*, *Amphiprora alata*, *Chlorella ellipsoide*, và thấp hơn loài *Chlorococcum* sp. Từ biểu đồ còn có thể thấy được hàm lượng carbohydrate của các loài tảo silic không cao,

kết hợp với kết quả về thành phần axit béo, từ đó có thể phối trộn tảo lục và tảo silic trong khẩu phần ăn của các loài động vật nhằm bổ sung đầy đủ chất dinh dưỡng.

3.6. Hàm các lượng sắc tố của loài vi tảo *C. ellipsoidea*.

Thành phần sắc tố trong loài *C. ellipsoidea* là chlorophyll a,b và carotenoid. Hàm lượng chlorophyll a cao nhất đạt 5,86; tiếp đến là carotenoid 3,3 và thấp nhất là chlorophyll b (0,85).

Chlorophyll b của *Chlorella ellipsoidea* tương đối thấp. Điều này là có thể do chúng tôi thu sinh khối vào cuối pha log, lúc này số lượng tế bào cao nhất nhưng hàm lượng nitrat giảm nên hàm lượng chlorophyll b cũng giảm [9]. Mặt khác, hàm lượng chlorophyll sẽ thay đổi khi nuôi ở các điều kiện khác, một phần là các chế độ ánh sáng khác nhau. Vì vậy, tùy mục đích nghiên cứu nhằm ứng dụng thực tiễn mà người ta có thể tiến hành thu sinh khối tại các thời điểm khác nhau.

Ngoài chlorophyll, thì carotenoid cũng là sắc tố quan trọng tìm thấy ở *C. ellipsoidea*. Hàm lượng carotenoid ở *C. ellipsoidea* đạt mức trung bình. Hiện nay, trên thị trường có hàng loạt các chế phẩm bổ sung carotenoid được sản xuất chuyên biệt cho con người. Những carotenoid trong các chế phẩm dinh dưỡng được hấp thu tốt hơn carotenoid trong thực phẩm tự nhiên. Lý do là carotenoid trong thực phẩm tự nhiên bị giữ trong lưới sợi xơ rất khó tiêu hóa. Việc nấu chín thức ăn có thể phá vỡ lưới sợi này, giúp tăng cường hấp thu carotenoid, nhưng cũng có thể làm hỏng nó. Vì vậy, việc chiết xuất carotenoid từ vi tảo nhằm tạo ra những chế phẩm dinh dưỡng là hướng nghiên cứu sẽ tạo ra được nhiều ứng dụng trong thực tiễn.

Các chủng vi tảo nghiên cứu có thành phần axit béo, carbohydrate và các sắc tố đặc trưng cho từng loài. Việc kết hợp các loài vi tảo này sẽ tạo nguồn thức ăn tương đối đầy đủ thành phần dinh dưỡng với tỷ lệ cao các axit béo

chưa no đa nối đôi (DHA, EPA) đồng thời cung cấp lượng protein và carbohydrate dồi dào cho các chuyển hoá quan trọng của sinh vật. Cùng với sự đa dạng về kích thước, nếu biết phối hợp hiệu quả các loài vi tảo này sẽ tạo nguồn thức ăn giàu dinh dưỡng trong nuôi thủy sản đối với cả giai đoạn ấu trùng và cá thể bố mẹ khi nuôi chung bể.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập được 12 chủng vi tảo từ VQG Xuân Thủy và được xếp vào 8 chi. Loài *C. ellipsoidea* được lựa chọn và khảo sát sinh trưởng tốt nhất trên môi trường BG11 sau 28 ngày nuôi cấy. Loài *C. ellipsoidea* có thành phần dinh dưỡng phong phú gồm axit béo đặc thù của các loài tảo lục, axit béo không no loại axit linoleic và axit anpha-linoleic lần lượt đạt 13,867% và 17,457%. Hàm lượng carbohydrate đạt trên giá trị trung bình. Có các sắc tố quan trọng như chlorophyll a, chlorophyll b và carotenoid.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. M. J. Abada, and P. Bermejo, "Bioactive natural products from marine sources", Attaur-Rahman (Ed.) Studies in Natural Products Chemistry, vol. 25, pp. 638-775, 2001.
- [2]. M. R. Brown, S. W. Jeffrey, J. K. Volkman, and G. A. Dunstan, "Nutritional properties of microalgae for mariculture," *CSIRO Division of Marine Research, GPO Box 1538, Hobart, Tas. 7001, Australia, Aquaculture*, vol. 151, pp. 315-333, 1997.
- [3]. S. Makato, M. Katsumi, O. Aikio, T. Yoshichika, A. Tokujiro, and N. Masayasu, "Development of a solid medium for growth and isolation of axenic microcystis strains (Cyanobacteria)," *Apply Environ Microbiol*, vol. 55, no. 10, pp. 2569-2571, 1989.
- [4]. A. Shirora, *The plankton of south Viet Nam Fresh Water and Marine Plankton*. Overseas Technical Cooperation Agency Japan, 1966.
- [5]. D. T. Duong, and H. Vo, *Vietnam fresh algae - taxonomy of order chlorococcales*. Agricultural publisher, 1997.
- [6]. I. A. Guschina, and J. L. Harwood, "Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae," *Progress in lipid research*, vol. 2006, pp. 160-186, 2006.
- [7]. S. W. Jeffrey, and G. F. Humphrey, "New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton," *Biochem. Physiol. Pflanz.*, vol. 167, pp. 191-194, 1975.
- [8]. J. K. Volkman, S. W. Jeffrey, P. D. Nichols, G. I. Rogers, and C. D. Garland, "Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture," *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, vol. 128, pp. 219-240, 1989.
- [9]. T. Q. H. Nguyen, "Influence of some environmental factors for the growth and nutrient composition of microalgae species *Amphiprora alata*, *Chaetoceros muelleri*, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, *Navicula tuscua* isolate from mangrove forest Giao Thuy district, Nam Dinh," M.S thesis, Ha Noi national university of education, 2010.
- [10]. M. Piorreck, and P. Pohl, "Formation of biomass, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids in green and blue-green algae during one growth phase", vol. 23, pp. 217-223, 1984.