

Ghi nhận bước đầu về lipid và dinh dưỡng từ một số loài vi tảo có nguồn gốc Việt Nam



✧ ĐÀO THANH SƠN^{1*}, PHAN THỊ THANH NHÀN², LƯU THANH PHƯỚC³, LÊ PHI NGÀ², BÙI BÁ TRUNG⁴

¹ Trường Đại học Bách Khoa TP. HCM; ² Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP. HCM;

³ Trường Đại học Công nghiệp TP. HCM; ⁴ Viện Môi trường và Tài nguyên

* Email: dao.son@hcmut.edu.vn

1. GIỚI THIỆU:

Thực trạng thiếu hụt nguồn năng lượng trong tương lai là một trong những mối quan tâm hàng đầu của các quốc gia hiện nay và nhiên liệu sinh học được xem là một giải pháp khả thi nhằm thay thế cho nguồn nhiên liệu hóa thạch. Trong sản xuất nhiên liệu sinh học, vi tảo được xem là đối tượng rất tiềm năng nhờ vào khả năng tạo ra lượng sinh khối lớn, nhanh và nguồn lipid thu nhận từ vi tảo cũng khá phù hợp để điều chế nhiên liệu sinh học. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy (i) hàm lượng lipid nội bào chủ yếu được tìm thấy ở các ngành tảo lục, tảo silic trong khi đó hàm lượng này thấp hơn ở vi khuẩn lam, (ii) các chủng vi tảo khác nhau của một loài cũng có sự biến thiên đáng kể về hàm lượng lipid nội bào và (iii) sự tích tụ hàm lượng lipid trong vi tảo bị chi phối của các yếu tố môi trường. Ở Việt Nam, công bố về lipid trong vi tảo có nguồn gốc nội địa hiện nay rất hiếm. Theo hiểu biết của chúng tôi, cho đến nay chưa có công bố chính thức về hàm lượng lipid (mang tính định lượng) từ vi tảo có nguồn gốc Việt Nam.

Trong vài thập kỷ gần đây, suy dinh dưỡng đang là một trong những vấn nạn lớn ở các nước đang phát triển trên thế giới. Do đó, việc tìm kiếm những nguồn thực phẩm tự nhiên có hàm lượng dinh dưỡng cao là nhu cầu tất yếu. Vi khuẩn lam *Arthrospira* là một trong những nguồn nguyên liệu cho ngành thực phẩm mới, không những vì có giá trị dinh dưỡng cao, mà còn bởi chúng có nhiều tác dụng tích cực cả trong

y học lẫn sinh học. Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hiệp Quốc (FAO) đã công nhận loài vi khuẩn lam này là nguồn thực phẩm chức năng bổ sung cho người rất tốt. Ở nước ta, *Arthrospira* được nhập nội từ Pháp năm 1972 và trở thành một đối tượng cho nghiên cứu sinh lý, sinh hóa. Các thủy vực nội địa ở nước ta hiện diện nhiều loài *Arthrospira*, tuy nhiên giá trị dinh dưỡng của chúng vẫn chưa được nghiên cứu, tài nguyên sinh học và tiềm năng kinh tế chưa được khai thác đầy đủ và đúng mức.

Trong bài viết này, chúng tôi xin giới thiệu đến quý độc giả một trong những kết quả đầu tiên (đã được công bố trên Tạp chí khoa học và Công nghệ, năm 2013, số 51(5C), trang 371-375) về định tính và định lượng lipid từ 9 chủng vi tảo được phân lập từ một số thủy vực ở miền Nam nước ta. Bên cạnh đó loài vi khuẩn lam *Arthrospira massartii* được phân lập từ một số thủy vực thuộc sông Sài Gòn và kênh rạch TP.HCM nhằm đánh giá hàm lượng nitơ/protein của chúng trong điều kiện phòng thí nghiệm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU:

2.1. Phân lập vi tảo và nuôi tăng sinh khối phục vụ nghiên cứu:

Các loài vi tảo sử dụng cho nghiên cứu lipid bao gồm *Skeletonema costatum*, *Odontella sp.*, *Cyclotella sp.*, *Kirchneriella sp.*, *Scenedesmus sp.* và *Arthrospira massartii*. Các loài vi tảo này được phân lập từ một số thủy vực ở miền Nam Việt Nam. Tổng cộng có 9 chủng vi tảo được dùng trong nghiên cứu xác định lipid, trong đó

loài *S. costatum* có 4 chủng (S1-S4), các loài còn lại, mỗi loài có 1 chủng. Hai loài tảo lục (*Scenedesmus sp.* và *Kirchneriella sp.*) và loài vi khuẩn lam *A. massartii* được nuôi trong môi trường Z8. Các chủng còn lại được nuôi trong môi trường F/2. Vi tảo được nuôi trong phòng thí nghiệm ở điều kiện 25±1°C, 1500 Lux, chu kỳ sáng tối 12 giờ:12 giờ.

2.2. Khảo sát hàm lượng lipid trong vi tảo:

Định tính lipid trên tế bào vi tảo bằng cách sử dụng phương pháp nhuộm tế bào bằng thuốc nhuộm Nile Red theo hướng dẫn của Bioquest, Inc. (AAT Bioquest, Inc. - Nile Red Protocol) và quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang (Olympus BX51) ở bước sóng 515-560 nm. Việc xác định lipid tổng được tiến hành theo phương pháp so màu sulfo-phospho-vanilin theo Chabrol và Charonnat (1937) trong đó dầu ăn (Tường An) được sử dụng làm chất chuẩn, Trixon X100 được dùng làm chất tạo nhũ dầu chuẩn và đo hấp thụ chất chuẩn và mẫu chiết từ vi tảo bằng so màu ở bước sóng 540 nm. Hàm lượng lipid trong vi tảo được xác định nhờ vào đường chuẩn và sinh khối của vi tảo trong mẫu, được tính toán theo hướng dẫn của Olrik và cộng sự (1998).

2.3. Khảo sát hàm lượng nitơ/protein trong vi khuẩn lam *Arthrospira massartii*:

Mẫu được lọc bằng màng lọc sợi thủy tinh (Fioroni, Pháp) để thu sinh khối, sau đó đem sấy ở 60°C trong vòng 24 giờ. Mẫu sau khi

sấy khô được xác định khối lượng bằng cân phân tích và được cất giữ trong tủ đông sâu (-70°C) cho đến khi dùng để ly trích mẫu, phục vụ phân tích nitơ/ protein. Hàm lượng nitơ được phân tích Kjeldahl theo hướng dẫn của APHA (2005). Đạm tổng số hay protein tổng số là nitơ tổng số nhân với hệ số chuyển đổi. Hệ số này phụ thuộc vào hàm lượng nitơ trong protein. Thông thường nitơ chiếm 16% protein nên hệ số chuyển đổi thường được sử dụng là $100/16 = 6,25$.

2.4. Xử lý số liệu: các số liệu sau khi thu thập được phân tích bằng Excel và phần mềm SAS nhằm xác định chủng vi khuẩn lam *A. massartii* có hàm lượng dinh dưỡng cao nhất.

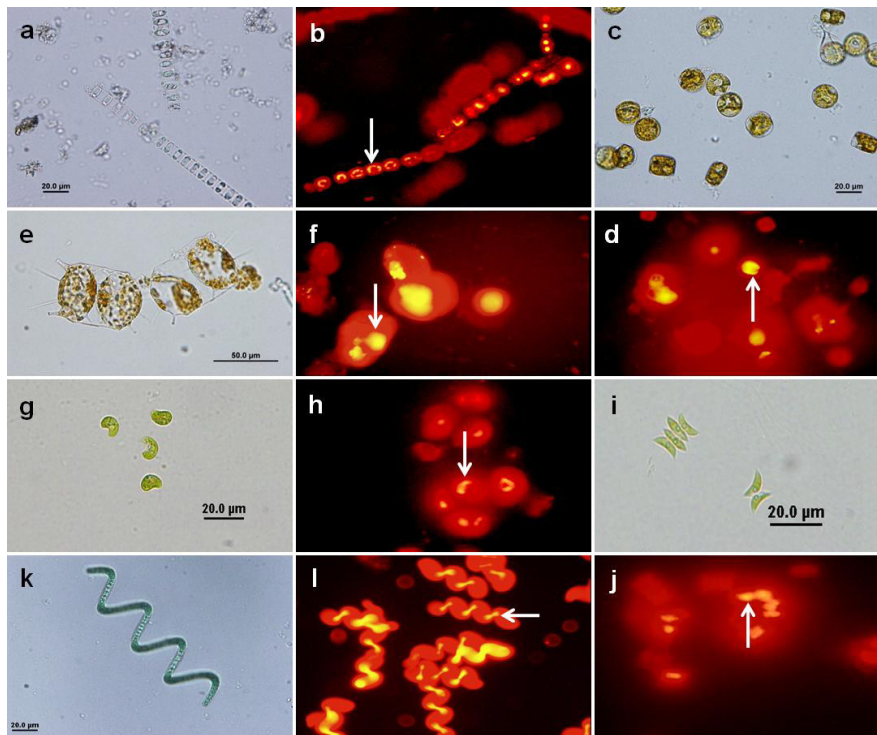
3. KẾT QUẢ:

3.1. Xác định sự hiện diện lipid trong vi tảo có nguồn gốc Việt Nam:

Kết quả nhuộm màu với Nile Red và quan sát trên kính hiển vi huỳnh quang cho thấy các chủng vi tảo sử dụng trong thí nghiệm đều có chứa lipid, giọt màu vàng sáng. Các loài vi tảo khác nhau có hình dạng, diện tích giọt dầu (lipid) khác nhau trong tế bào (hình 1). Việc phát hiện lipid trong các chủng vi tảo này không nằm ngoài dự kiến vì lipid là thành phần cơ bản trong tế bào nên nó có mặt trong tất cả vi tảo. Mặc dù vậy, hình ảnh trong nghiên cứu này là ghi nhận đầu tiên về sự hiện diện lipid trong vi tảo phân lập từ Việt Nam qua nhuộm màu với Nile Red.

3.2. Hàm lượng lipid trong sinh khối khô của vi tảo phân lập được:

Kết quả định lượng hàm lượng lipid trong các chủng vi tảo cho thấy, các chủng thuộc ngành tảo silic có hàm lượng lipid từ 8-66% trọng lượng khô, cao nhất ở chủng *S. costatum* S3 và thấp nhất ở chủng *Odontella sp.* Hai chủng vi tảo lục *Kirchneriella sp.* và *Scenedesmus sp.* có hàm lượng lipid lần lượt là 70 và 31% trọng lượng khô. Loài vi khuẩn lam *A. massartii* có hàm lượng lipid khiêm tốn, 9% trọng lượng khô (bảng 1).



Hình 1: Các loài vi tảo silic trong nghiên cứu. a, b: *Skeletonema costatum*; c, d: *Cyclotella sp.*; e, f: *Odontella sp.*; g, h: *Kirchneriella sp.*; i, j: *Scenedesmus sp.*; k, l: *Arthrospira massartii*. Các ảnh có nền màu xanh xám: vi tảo chưa được nhuộm màu; các ảnh có nền màu đen: vi tảo đã được nhuộm màu với Nile Red. Mũi tên màu trắng chỉ vị trí của lipid trong vi tảo khi nhuộm màu với Nile Red.

Bảng 1: Hàm lượng lipid trong các chủng vi tảo nghiên cứu

STT	Loài vi tảo	Chủng	Hàm lượng lipid (% trọng lượng khô)
1	<i>Skeletonema costatum</i>	S1	29
2	<i>Skeletonema costatum</i>	S2	36
3	<i>Skeletonema costatum</i>	S3	66
4	<i>Skeletonema costatum</i>	S4	39
5	<i>Odontella sp.</i>	-	8
6	<i>Cyclotella sp.</i>	-	54
7	<i>Kirchneriella sp.</i>	-	70
8	<i>Scenedesmus sp.</i>	-	31
9	<i>Arthrospira massartii</i>	-	9

Hàm lượng lipid trong bốn chủng *S. costatum* (S1-S4, bảng 1) biến thiên rất nhiều nhưng không mang tính ngoại lệ vì hiện tượng này đã từng được ghi nhận trong một vài nghiên cứu trước đây. Mặc dù vậy, hàm lượng lipid trong chủng *S. costatum* S3, *Cyclotella sp.* và *Kirchneriella sp.* trong nghiên cứu này có giá trị lần lượt là 66, 54 và 70% trọng lượng khô vượt

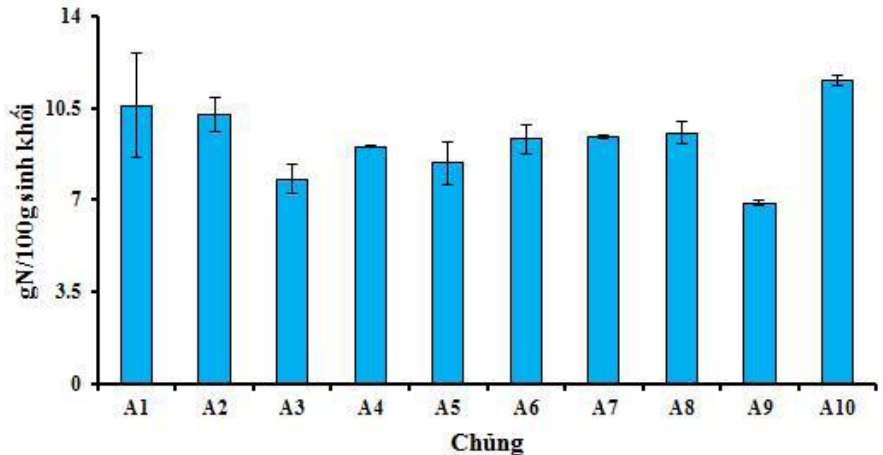
trên mức thường gặp của hàm lượng lipid trong tảo silic (40% trọng lượng khô) và tảo lục (45% trọng lượng khô) trên thế giới. Để có độ chính xác cao hơn, hàm lượng lipid trong các chủng vi tảo này nên được phân tích bằng những phương pháp hiện đại hơn (HPLC, LC-MS, GC-MS). Mặc dù đây chỉ là kết quả ghi nhận từ phân tích của mẫu nuôi ở cấp độ phòng thí nghiệm, ba

chủng vi tảo có hàm lượng lipid cao này có thể xem như một trong những nguồn chủng vi tảo rất khả quan trong việc đưa vào sản xuất thử nghiệm để thu nhiên liệu sinh học. Ngoài ra, việc khảo sát sự tích tụ hàm lượng lipid của các chủng vi tảo từ nghiên cứu này, trong điều kiện stress của các yếu tố môi trường, nhằm tìm ra điều kiện tối ưu hóa hàm lượng lipid trong sinh khối nên được thực hiện trong những nghiên cứu sau.

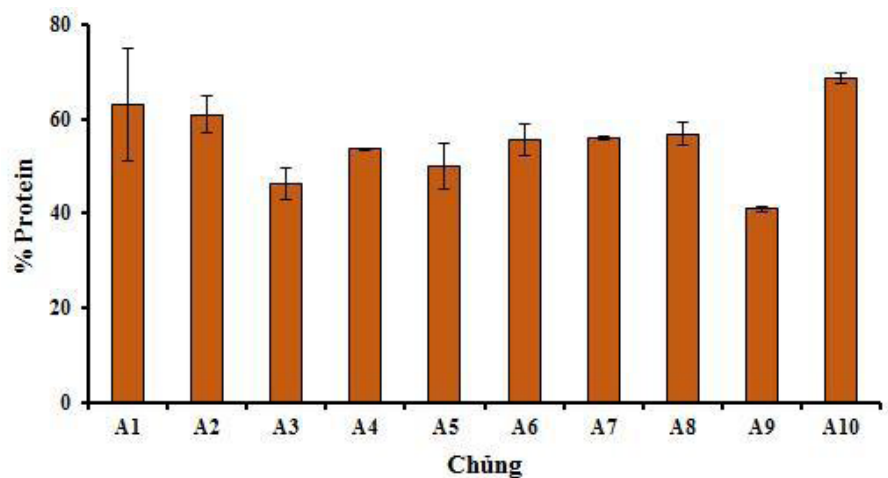
3.3. Hàm lượng nitơ trong các chủng *Arthrospira massartii*

Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng nitơ trong 100g sinh khối khô của vi khuẩn lam *A. massartii* có giá trị từ 6,9 – 11,5g (hình 2) cao nhất ở chủng A10 và thấp nhất ở chủng A9. Hàm lượng protein trong 10 chủng *A. massartii* có giá trị từ 41% - 69% sinh khối khô (hình 3). Xử lý số liệu bằng phần mềm SAS cho thấy nồng độ nitơ/protein giữa các chủng có sự khác biệt về mặt thống kê. Theo đó hàm lượng nitơ/protein trong chủng A10 cao hơn chủng A9 (P < 0,05).

Từ kết quả trên có thể thấy hàm lượng protein trung bình của *A. massartii* khoảng 55% hoàn toàn cao hơn protein của thịt động vật và cá tươi (15 – 25% trọng lượng tươi), đậu nành (35% trọng lượng khô), sữa bột (35% trọng lượng khô), trứng (12% trọng lượng tươi), đậu phộng (25% trọng lượng khô), lúa gạo (8 – 14% trọng lượng khô), sữa (3% trọng lượng tươi), tảo đỏ (22,62% trọng lượng khô), tảo nâu (14,248% trọng lượng khô). Bên cạnh đó, kết quả phân tích hàm lượng protein của 10 chủng *A. massartii* hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu trên thế giới đối với hai loài *Spirulina pacifica* và *Spirulina platensis* (lần lượt là 58% và 56% sinh khối khô), và hàm lượng nitơ trong *Arthrospira platensis* (8,87% sinh khối khô). Như vậy khả năng hấp thu, tổng hợp và tích lũy nitơ và protein trong *A. massartii* phân lập từ sông Sài Gòn và kênh rạch TP. HCM tương đương với một số loài vi khuẩn lam đã được nghiên cứu trên thế giới. Bên cạnh đó, hàm



Hình 2: Hàm lượng nitơ của 10 chủng *A. massartii* trong 100g sinh khối khô (giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn).



Hình 3: Hàm lượng protein của 10 chủng *A. massartii* (giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn).

lượng protein với tỷ lệ cao trong các chủng vi khuẩn lam *A. massartii* trong nghiên cứu này là nguồn dinh dưỡng hứa hẹn phục vụ cho con người.

4. THAY LỜI KẾT:

Chín chủng vi tảo thuộc 6 loài *Skeletonema costatum*, *Cyclotella sp.*, *Odontella sp.*, *Kirchneriella sp.*, *Scenedesmus sp.* và *Arthrospira massartii*, phân lập từ một số thủy vực ở miền Nam đã được sử dụng trong khảo sát định tính và định lượng lipid. Kết quả nhuộm màu với thuốc nhuộm Nile Red đã xác định, 9 chủng vi tảo này đều có chứa lipid bên trong tế bào. Phân tích định lượng lipid cho kết quả rất khả

quan về hàm lượng lipid trong các chủng *S. costatum* S3, *Cyclotella sp.* và *Kirchneriella sp.* Hàm lượng nitơ của *Arthrospira massartii* có nguồn gốc Việt Nam khá cao. Hàm lượng dinh dưỡng protein trong loài vi khuẩn lam trong nghiên cứu này biến thiên từ 41% – 69%, thích hợp để ứng dụng nghiên cứu làm thực phẩm cho con người. Theo hiểu biết của chúng tôi, đây là những công bố đầu tiên về sự hiện diện, hàm lượng lipid và hàm lượng nitơ/protein trong vi tảo có nguồn gốc Việt Nam. Kết quả nghiên cứu chỉ mới ở bước đầu nhưng mở ra triển vọng cho việc sử dụng vi tảo Việt Nam vào việc sản xuất nhiên liệu sinh học và thực phẩm chức năng phục vụ con người. □