

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT



NGUYỄN VĂN TUYẾN ANH

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN VÀ HÀM LƯỢNG LIPID,
AXIT BÉO CỦA MỘT SỐ LOÀI RONG NÂU
TẠI VÙNG BIỂN VIỆT NAM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

HÀ NỘI, 11/2018

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

NGUYỄN VĂN TUYẾN ANH

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN VÀ HÀM LƯỢNG LIPID,
AXIT BÉO CỦA MỘT SỐ LOÀI RONG NÂU
TẠI VÙNG BIỂN VIỆT NAM**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm - Hóa sinh

Mã ngành: 8.42.01.14

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

Hướng dẫn khoa học : TS. Lê Tất Thành

Đơn vị : Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên

HÀ NỘI, 11/2018

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan:

Đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi dưới sự hướng dẫn khoa học của TS. Lê Tất Thành. Các kết quả nghiên cứu thu được trong luận văn hoàn toàn trung thực và chưa được công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận văn

Nguyễn Văn Tuyên Anh

LỜI CẢM ƠN

Với lòng biết ơn chân thành và sâu sắc, tôi xin gửi lời cảm ơn tới TS. Lê Tất Thành, người thầy đã tận tình hướng dẫn khoa học, chỉ ra hướng nghiên cứu cho tôi, cũng như động viên và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn GS.TS. Phạm Quốc Long, Viện trưởng Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên đã động viên, tạo điều kiện cho tôi học tập và làm việc để tôi có thể thực hiện tốt các công việc và đạt được kết quả báo cáo luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các anh chị, các bạn đồng nghiệp của Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển các sản phẩm thiên nhiên, Phòng Hoá sinh hữu cơ - Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên đã giúp đỡ, đóng góp nhiều ý kiến quý báu trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn các đồng nghiệp của Phòng Hoá sinh so sánh – Trung tâm Khoa học Quốc gia về Sinh học biển, Phân viện Viễn Đông, Viện Hàn lâm Khoa học LB Nga đã hỗ trợ tôi trong quá trình thực nghiệm.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn gia đình và bạn bè đã động viên tôi hoàn thành tốt bản luận văn này.

Luận văn hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài “*Nghiên cứu thành phần, hàm lượng lipid, axit béo và các dẫn xuất của chúng từ một số sinh vật biển vùng Bắc Trung bộ tới Trung Trung bộ Việt Nam*,” VAST.TĐ.DLB.05/16-18.

Xin trân trọng cảm ơn!

MỤC LỤC

| | |
|---|----|
| LỜI CAM ĐOAN | i |
| LỜI CẢM ƠN | ii |
| DANH MỤC BẢNG | v |
| DANH MỤC HÌNH, SƠ ĐỒ VÀ BIỂU ĐỒ | vi |
| MỞ ĐẦU | 1 |
| CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN..... | 3 |
| 1.1. Rong biển | 3 |
| 1.1.1. Giới thiệu chung..... | 3 |
| 1.1.2. Rong Nâu | 5 |
| 1.1.2.1. Nghiên cứu rong Nâu trên thế giới | 6 |
| 1.1.2.2. Nghiên cứu rong Nâu ở Việt Nam | 7 |
| 1.2. Lipid | 9 |
| 1.2.1. Các lớp chất lipid | 10 |
| 1.2.2. Ứng dụng phương pháp khối phổ trong phân tích cấu trúc lipid | 11 |
| 1.2.3. Phương pháp khối phổ (Mass Spectrometry - MS) | 12 |
| 1.2.4. Một số nghiên cứu về lớp chất lipid trong rong, cỏ biển | 14 |
| CHƯƠNG 2: THỰC NGHIỆM | 19 |
| 2.1. Dụng cụ, thiết bị, hóa chất..... | 19 |
| 1.1.3. Dụng cụ, thiết bị..... | 19 |
| 2.1.3. Dung môi, hóa chất | 19 |
| 2.2. Đối tượng nghiên cứu..... | 19 |
| 2.3. Phương pháp nghiên cứu..... | 22 |
| 2.3.1. Phương pháp thu và bảo quản mẫu | 22 |
| 2.3.2. Phương pháp chiết lipid tổng..... | 22 |
| 2.3.3. Phân tích thành phần và hàm lượng các lớp chất lipid | 23 |
| 2.3.4. Phương pháp xác định thành phần và hàm lượng các axit béo trong lipid tổng..... | 24 |
| 2.3.5. Phương pháp xác định dạng phân tử và cấu trúc của các hợp chất | 25 |
| CHƯƠNG III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU | 26 |
| 3.1. Hàm lượng lipid tổng trong các mẫu rong Nâu nghiên cứu..... | 26 |
| 3.2. Kết quả nghiên cứu thành phần và hàm lượng các lớp chất lipid trong lipid tổng của các mẫu rong nghiên cứu | 27 |
| 3.3. Kết quả định lượng thành phần và hàm lượng các lớp chất lipid trong lipid tổng của các mẫu rong nghiên cứu | 32 |

| | |
|---|----|
| 3.4. Thành phần và hàm lượng các axit béo trong lipid tổng các mẫu rong Nâu nghiên cứu..... | 34 |
| 3.5. Kết quả xác định dạng phân tử của lớp chất | 38 |
| 3.5.1. Dạng phân tử của lớp monogalactosyldiacylglycerol (MGDG)..... | 39 |
| 3.5.2. Dạng phân tử của lớp digalactosyldiacylglycerol (DGDG) | 41 |
| 3.5.3. Dạng phân tử của lớp sulfoquinovosyldiacylglycerol (SQDG) | 43 |
| 3.5.4. Dạng phân tử của lớp phosphatidylglycerol (PG) | 45 |
| 3.5.5. Dạng phân tử của lớp phosphatidylinositol (PI) | 48 |
| 3.5.6. Dạng phân tử của lớp phosphatidylcholine (PC) | 50 |
| CHƯƠNG IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ..... | 54 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO..... | 55 |

DANH MỤC BẢNG

| | |
|---|----|
| Bảng 1.1. Thành phần loài và phân bố rong Nâu Khánh Hòa..... | 8 |
| Bảng 2.1. Danh sách 11 mẫu rong Nâu nghiên cứu | 20 |
| Bảng 3.1. Hàm lượng lipid tổng trong các mẫu rong Nâu nghiên cứu (% khối lượng mẫu tươi) | 26 |
| Bảng 3.2. Định tính thành phần và hàm lượng các lớp chất trong lipid tổng..... | 28 |
| Bảng 3.3: Kết quả hàm lượng các lớp chất lipid trong lipid tổng | 32 |
| Bảng 3.4. Thành phần và hàm lượng các axit béo trong các mẫu nghiên cứu | 34 |
| Bảng 3.5: Thành phần các dạng phân tử trong phân lớp MGDG của mẫu rong 1KT40 | |
| Bảng 3.6. Thành phần các dạng phân tử trong phân lớp DGDG của mẫu rong 1KT 42 | |
| Bảng 3.7. Thành phần các dạng phân tử trong phân lớp SQDG của mẫu rong 1KT . | 44 |
| Bảng 3.8. Thành phần các dạng phân tử trong phân lớp PG của mẫu rong biển 1KT47 | |
| Bảng 3.9. Thành phần các dạng phân tử trong phân lớp PI của mẫu rong 1KT | 50 |
| Bảng 3.10. Thành phần các dạng phân tử trong phân lớp PC của mẫu rong 1KT..... | 52 |

DANH MỤC HÌNH, SƠ ĐỒ VÀ BIỂU ĐỒ

| | |
|--|----|
| Hình 1.1. Một số loài rong biển..... | 4 |
| Hình 1.2. Cấu tạo phân tử lipid | 9 |
| Hình 1.3. Cấu tạo lipid trên cơ sở glycerol | 10 |
| Hình 1.4. Cấu tạo lipid trên cơ sở sphingozin | 10 |
| Hình 1.5. Lựa chọn kiểu tạo ion..... | 12 |
| Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của dạng phân tử MGDG | 39 |
| Hình 3.2. Sắc ký đồ của dạng phân tử MGDG..... | 39 |
| Hình 3.3. Phổ MS1[E+] và [E-] của lớp chất MGDG..... | 39 |
| Hình 3.4. Phổ MS2 [E+] của dạng phân tử MGDG 18:4/20:5..... | 40 |
| Hình 3.5. Cấu trúc hóa học của dạng phân tử DGDG..... | 41 |
| Hình 3.6. Sắc ký đồ của dạng phân tử DGDG | 41 |
| Hình 3.7. Phổ MS1 [E+] và MS1 [E-] của lớp chất DGDG..... | 42 |
| Hình 3.8. Phổ MS2 [E-] của dạng phân tử DGDG 16:0/18:1 | 42 |
| Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của dạng phân tử SQDG | 43 |
| Hình 3.10. Sắc ký đồ của dạng phân tử SQDG..... | 43 |
| Hình 3.11. Phổ MS1 [E-] của lớp chất SQDG | 43 |
| Hình 3.12. Phổ MS2 [E-] của dạng phân tử SQDG 16:0/18:1 | 44 |
| Hình 3.13. Cấu trúc hóa học của dạng phân tử PG | 45 |
| Hình 3.14. Sắc ký đồ của dạng phân tử PG..... | 46 |
| Hình 3.15. Phổ MS1 [E-] của lớp chất PG | 46 |
| Hình 3.16. Phổ MS2 [E-] của dạng phân tử PG 16:1/18:1 | 47 |
| Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của dạng phân tử PI..... | 48 |
| Hình 3.18. Sắc ký đồ của dạng phân tử PI | 48 |
| Hình 3.19. Phổ MS [E-] của lớp chất PI..... | 49 |
| Hình 3.20. Phổ MS2 [E-] của dạng phân tử PI 16:0/18:1 | 49 |
| Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của dạng phân tử PC | 50 |
| Hình 3.22. Sắc ký đồ của dạng phân tử PC | 51 |
| Hình 3.23. Phổ MS [E+] của lớp chất PC | 51 |
| Hình 3.24. Phổ MS [E-] và MS2 [E-] của dạng phân tử PC 16:0/18:1 | 52 |
| Sơ đồ 2.1. Thực nghiệm chiết lipid tổng | 23 |
| Sơ đồ 2.2. Thực nghiệm phân tích thành phần và hàm lượng các lớp chất lipid | 24 |
| Biểu đồ 3.1. Hàm lượng lipid tổng trong các mẫu | 27 |
| Biểu đồ 3.2. Thành phần và hàm lượng các lớp chất lipid trong các mẫu rong biển | 33 |

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

| | | |
|-------|--------------------------------------|-------------------------------|
| Pol | Polar lipid | Lipid phân cực |
| ST | Sterol | Sterol |
| FFA | Free fatty acid | Axit béo tự do |
| TG | Triacylglycerol | Triacylglycerol |
| DG | Diacylglycerol | Diacylglycerol |
| MADG | Monoalkyldiacylglycerol | Monoalkyldiacylglycerol |
| HW | Hydrocarbon wax | Hydrocarbon và sáp |
| MUFA | Monounsaturated fatty acids | Axit béo không no 1 nối đôi |
| PUFA | Polyunsaturated fatty acids | Axit béo đa nối đôi |
| EPA | Eicosapentaenoic acid | Axit Eicosapentaenoic |
| DHA | Docosahexanoic acid | Axit Docosahexanoic |
| GC | Gas chromatography | Sắc ký khí |
| GC-MS | Gas chromatography mass spectroscopy | Sắc ký khí khối phổ |
| MGDG | Monogalactosyldiacylglycerol | Monogalactosyldiacylglycerol |
| DGDG | Digalactosyldiacylglycerol | Digalactosyldiacylglycerol |
| SQDG | Sulfoquinovosyldiacylglycerol | Sulfoquinovosyldiacylglycerol |
| PG | Phosphatidylglycerol | Phosphatidylglycerol |
| PC | Phosphatidylcholine | Phosphatidylcholine |
| PI | Phosphatidylinositol | Phosphatidylinositol |
| TLC | Thin layer chromatography | Sắc ký lớp mỏng |

MỞ ĐẦU

Lipid là một trong những thành phần sinh hóa cơ bản của động thực vật, cùng với protein, axit nucleic, carbohydrat, lipid tạo thành cấu trúc cơ sở của tất cả các tế bào. Lipid đóng vai trò quan trọng như nguồn cung cấp năng lượng cho cơ thể sinh vật với khoảng 8-9 kcal/gam, đồng thời chứa các vitamin tan trong dầu cũng như các axit béo thiết yếu.

Định nghĩa lipid theo nghĩa rộng là một hợp chất hữu cơ có nguồn gốc sinh học có thể chiết ra từ vật liệu hữu cơ bằng các dung môi khác nhau. Theo nghĩa hẹp, lipid chỉ các dẫn xuất của axit béo mạch dài. Hiện chưa có sự thống nhất chung về hệ thống phân loại lipid. Theo phân loại của Bloor, lipid được chia thành các loại: lipid đơn giản là este của axit béo với các alcol khác nhau (ví dụ: glyceride, sáp ong, steroid). Lipid phức tạp là dạng este khi thủy phân giải phóng ngoài alcol và axit béo còn có các thành phần khác như axit phosphoric, các đường... Phospholipid là các loại lipid phức tạp trong đó nhóm hydroxyl bậc 1 của hợp phần alcol (glycerol, sphingosine, diol...) được este hóa với axit phosphoric hoặc monoester của axit phosphoric. Bao gồm glycerophospholipid và sphingophospholipid; glycolipid là lipid phức tạp có chứa một axit béo, shingosin và cacbohydrat; các lipid phức tạp khác: sulfolipid, aminolipid. Tiền chất của lipid và dẫn xuất của lipid bao gồm các axit béo, glycerol và các alcol khác, steroid, sterol, aldehyde của chất béo và các thể cetone, hydrocarbon, vitamin và hormone. Trong tất cả các màng sinh học bên cạnh hàng loạt các loại lipid khác nhau, hàm lượng phospholipid thường chiếm ưu thế với tỉ lệ 40-90% lipid tổng số của cấu trúc màng. Trong đó nhiều hơn cả là phosphatidylcholin, phosphatidylethanolamin, phosphatidylserine và cardiolipin.

Trong các hoạt chất từ sinh vật biển, lipid cũng là hợp chất có hoạt tính sinh học cao, được nghiên cứu khá nhiều, đặc biệt là phần lipid phân cực. Nghiên cứu của Khotimchenko chỉ ra các hợp chất glycolipid ở một số loài hải miên có hoạt tính gây độc tế bào, kháng nấm, kháng khuẩn, kháng virus, tăng cường miễn dịch, hoạt tính chống sốt rét. Các hợp chất sphingolipid từ sinh vật biển có khả năng kháng virus, ức chế DNA polymerase ức chế sự tăng trưởng của tế bào ung thư... Ngoài ra các phân lipid phân cực trong thực vật, động vật, sinh vật biển cũng được chỉ ra là có hoạt tính chống oxy hóa.

Lipid trong rong biển được biết đến có chứa nhiều axit béo thiết yếu là các axit béo không no nhiều nối đôi PUFA (Poly Unsaturated Fatty Acids). Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra trong rong biển có chứa đầy đủ các lớp chất cơ bản là lipid phân cực, sterol, diacylglycerol, axit béo tự do, triacylglycerol, monoalkyldiacylglycerol, hydrocarbon và sáp. Tuy nhiên, việc phân lập và nghiên cứu các lớp chất chưa có