

Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển; Tập 15, Số 3; 2015: 273-279
DOI: 10.15625/1859-3097/15/3/7223
<http://www.vjs.ac.vn/index.php/jmst>

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG DỮ LIỆU CÁC AXIT BÉO TRONG PHÂN LOẠI HOÁ HỌC THỰC VẬT (*CHEMOTAXONOMY*) ĐỐI VỚI CÁC LOÀI RONG ĐỎ

Lê Tất Thành^{1*}, Phạm Minh Quân¹, Nguyễn Văn Tuyền Anh¹, Đàm Đức Tiến²,
Đỗ Trung Sỹ³, Phạm Thu Huế⁴, Phạm Quốc Long¹

¹Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Tài nguyên và Môi trường biển-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện Hóa học-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁴Học viện Hải quân

*E-mail: thanh.biotech@gmail.com

Ngày nhận bài: 28-5-2015

TÓM TẮT: Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu thành phần và hàm lượng các axit béo trong dịch chiết lipit tổng của 69 mẫu rong đỏ *Rhodophyta* thuộc 9 họ *Gracilariaceae*, *Hypneaceae*, *Ceramiales*, *Bangiaceae*, *Hylamaniaceae*, *Phylloporaceae*, *Rhodymeniaceae*, họ *Halymeniaceae*. Kết quả đã xác định được 56 axit béo trong đó có 12 axit béo là C14:0, C15:0, C16:0, C16:1n-7, C18:0, C18:1n-9, C18:1n-7, C18:2n-6, C20:3n-6, C20:4n-6, C20:5n-3 và C22:0 được sử dụng là những chất đánh dấu cho việc phân loại hoá học thực vật (*Chemotaxonomy*) đối với các loài rong đỏ. Sử dụng phương pháp phân tích cấu tử chính (PCA), kết quả thể hiện qua giản đồ hai chiều, các họ rong đỏ phân định thành các vùng riêng rẽ. Chúng tôi cũng đưa ra sơ đồ cây phân loại của các loài rong đỏ theo thành phần axit béo chính yếu.

Từ khoá: Phân tích cấu tử chính, phân loại hoá học thực vật, axit béo đánh dấu ...

MỞ ĐẦU

Hàm lượng lipit tổng số trong các loài thuộc ngành rong đỏ *Rhodophyta* chiếm tỷ lệ thấp so với nhóm các chất khác (từ 1 - 10% trọng lượng khô) [1]. Tuy nhiên, việc sinh tổng hợp các axit béo có tính chất đặc trưng cho một loài và được định trước trong bộ gen của loài sinh vật đó. Ngoài ra, đối với rong đỏ, việc sinh tổng hợp các axit béo phụ thuộc vào nhiệt độ, điều kiện địa lý, môi trường sống ... Thành phần và hàm lượng các axit béo là một trong những yếu tố quan trọng nhất quyết định tính chất của lipit, nó còn được sử dụng như dấu vân ngón tay (*fingerpfrint*) để phân loại theo hoá học (*chemotaxonomy*) cho các nhóm sinh vật phức tạp như vi khuẩn, nấm, vi tảo và tảo lớn [2-4]. Một số tác giả trên thế giới cũng đã

nhận định thành phần và hàm lượng các axit béo cũng được sử dụng là các dấu hiệu đánh dấu “markers” để phân loại hóa học (*chemotaxonomy*) đối với các loài rong tảo biển [2]. Tuy nhiên các nghiên cứu cũng chưa chỉ ra các axit béo nào là dấu hiệu phân loại hóa học đối với các loài rong đỏ [5].

Cho đến nay, các số liệu nghiên cứu về thành phần axit béo của rong đỏ thu được hoặc là tản mạn ở nhiều công trình khác nhau hoặc là nhận được từ nhiều phương pháp phân tích khác nhau, điều này khiến cho việc so sánh các thông tin làm cơ sở cho phân loại hoá học các loài rong đỏ không thể thực hiện được. Qua các nghiên cứu gần đây, bằng các phương pháp phân tích hiện đại như GC, GC-MS, chúng tôi đã thực hiện các nghiên cứu về thành phần và

hiện ở nhiều mẫu rong đỏ. Chúng tôi đã sử dụng các dữ liệu về thành phần và hàm lượng của 12 axit béo này làm dấu hiệu phân loại hoá

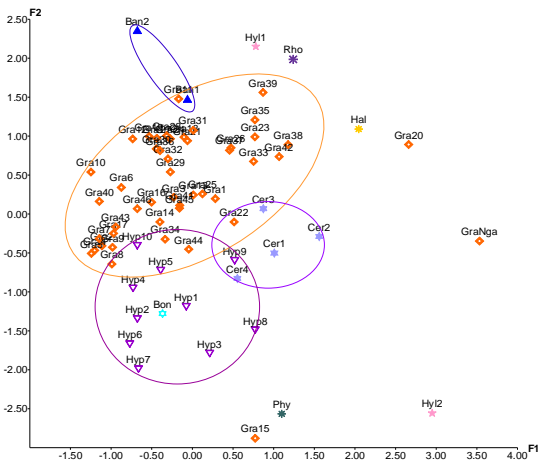
học các loài rong đỏ. Số liệu phân tích trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần và hàm lượng 12 axit béo của các mẫu rong đỏ (% so với tổng axit béo)

TT	Tên mẫu rong	14:0	15:0	16:0	16:1 n-7	18:0	18:1 n-9	18:1 n-7	18:2 n-6	20:3 n-6	20:4 n-6	20:5 n-3	22:0
Họ Gracilariaceae													
1	<i>Gracilaria tenuistipitata</i>	8,39	1,16	51,52	1,79	2,95	6,40	3,21	1,49	1,66	13,28		
2	<i>G.tenuistipitata</i>	8,06	0,48	65,64	4,40	1,95	9,51	3,25	0,41		1,83		
3	<i>G.tenuistipitata</i>	6,05	0,35	60,79	2,70	2,10	10,27	3,52	1,69		7,38		
4	<i>G.tenuistipitata</i>	9,13	0,55	66,94	2,77	2,00	8,84	5,63			1,46		
5	<i>G.tenuistipitata</i>	5,34		59,68	1,24	1,93	6,20		1,37		6,83		
6	<i>G.tenuistipitata</i>	5,09	0,38	71,86	1,66	3,50	7,23	4,09	0,93		2,96		
7	<i>G.tenuistipitata</i>	7,83		65,17	5,34	2,65	9,98	3,32	0,36		1,59	0,30	
8	<i>G.tenuistipitata</i>	8,26	0,67	59,48	4,01	2,34	13,74	5,01	0,52		1,60		
9	<i>G.tenuistipitata</i>	7,29	0,45	64,21	5,27	2,23	11,16	3,02	0,58		3,34		
10	<i>G.tenuistipitata</i>	6,36	0,61	64,57	2,87	2,12	10,91	3,99	0,43		2,28		
11	<i>G.tenuistipitata</i>	4,23		67,53		2,37	5,64		1,64		10,24		
12	<i>G.tenuistipitata</i>	4,75	0,58	65,82	1,86	2,33	8,51	3,42	1,55		4,59		
13	<i>G.tenuistipitata</i>	6,53	0,51	54,01		1,64	15,09	3,45	1,76		7,93	1,10	
14	<i>G.tenuistipitata</i>	0,51	0,50	57,85	7,86	2,03	10,37	3,19	0,95	0,26	1,10	0,48	
15	<i>G.tenuistipitata</i>	14,17	0,94	41,96	1,26	0,95	7,02	1,05	1,39		7,11	18,44	
16	<i>G.tenuistipitata</i>	8,07		55,47	4,55	2,15	13,46		1,42		3,67		4,74
17	<i>G.tenuistipitata</i>	10,29	0,52	66,55	1,49	1,38	3,30	1,63		0,37			
18	<i>G.tenuistipitata</i>	4,02	0,21	60,29		2,21	10,14	2,87	2,01	0,19	4,03	0,22	0,21
19	<i>G.tenuistipitata</i>	4,61	0,38	66,10		2,25	8,51	2,19	1,98		2,94	0,21	
20	<i>G.tenuistipitata</i>	4,09	0,27	51,77		2,18	9,42	1,88	2,17	3,20	12,18	2,75	
21	<i>G.tenuistipitata</i>	6,00		59,66		1,82	12,77	3,24	2,55		6,70		
22	<i>G.tenuistipitata</i>	5,75	0,33	56,33	3,15	1,96	7,82	2,41	1,51	0,51	9,79	0,50	
23	<i>G.tenuistipitata</i>	5,49		54,58		1,70	10,04	2,78	2,91	0,40	10,45	0,39	
24	<i>G.tenuistipitata</i>	5,04	0,16	64,97		2,39	8,61	2,35	2,06	0,23	3,53	0,22	
25	<i>G.tenuistipitata</i>	3,14		45,10		3,61	13,46	6,74			6,84		
26	<i>G.tenuistipitata</i>	4,30	0,37	58,77		2,19	8,30	2,99	2,32	0,52	7,22	0,56	0,25
27	<i>G.tenuistipitata</i>	5,03	0,33	66,05		2,47	7,85	2,36	1,68	0,16	3,90		0,2
28	<i>G.tenuistipitata</i>	4,66	0,25	66,32		2,26	9,80	2,41	2,09	0,22	3,74		
29	<i>G.tenuistipitata</i>	5,50	0,28	56,68		2,52	13,65	2,88	1,75	0,20	2,65	0,35	
30	<i>G.tenuistipitata</i>	5,22	0,27	62,75		2,16	9,57	2,43	2,00		2,70		
31	<i>G.tenuistipitata</i>	4,3	0,29	63,96		2,48	6,85	2,25	2,22	0,23	5,18		1,55
32	<i>G.tenuistipitata</i>	4,85	0,43	63,24		2,84	8,90	2,27	1,50	0,24	4,30	0,28	
33	<i>G.tenuistipitata</i>	3,34	0,38	61,67	1,90	2,19	7,52	2,48	1,89	0,91	9,95	2,24	
34	<i>G.tenuistipitata</i>	5,73	0,51	51,19	2,87	1,84	15,59	5,80	1,34		2,20		0,30
35	<i>G.gigas</i>	5,02	0,27	60,85		2,17	9,92	2,78	2,78	0,18	5,30	0,25	
36	<i>G.gigas</i>	4,34	0,28	61,87		2,17	9,84	2,52	1,27	0,18	2,64	0,22	
37	<i>G.gigas</i>	4,79	0,36	56,11		2,58	10,57	3,40	1,91	1,23	2,08	0,24	0,83
38	<i>G.gigas</i>	5,10	0,28	53,88		1,73	7,13	2,08	2,05	0,73	15,08		
39	<i>G.gigas</i>	0,57		64,54		2,51	9,07	2,05	0,86	0,20	7,59	0,27	
40	<i>G. eucheumoides</i>	15,73	0,64	58,05	3,87	2,19	8,02		0,76		1,54	3,65	
41	<i>G. busas-pastoris</i>	5,78	0,42	53,11		2,02	11,96	6,19	1,76		1,54		0,36
42	<i>G. busas-pastoris</i>	4,74	0,20	53,67	1,39	1,29	7,86	2,58	1,96	0,18	18,56	0,20	
43	<i>G.blodgettii</i>	6,85	0,60	68,29	2,00	3,85	7,93	3,75	1,06		1,70	0,24	
44	<i>G.blodgettii</i>	6,31	0,48	58,22		2,10	11,09	1,05	1,05		5,24	8,17	
45	<i>G.heterocladia</i>	4,11		51,27	2,86	1,59	4,58		0,52		1,62	1,59	
46	<i>G.salicornia</i>	9,01	0,43	63,69	1,00	1,46	13,86	3,04	1,30	0,18	3,80		
47	<i>G.vemiculophylla</i>	4,66	0,64	27,85	3,13	0,83	2,98	2,87	0,68	2,03	33,30	2,08	
Họ Hypneaceae													
48	<i>Hypnea japonica</i>	4,23	1,30	69,56	1,33	1,90	9,87		0,83		3,17	1,55	
49	<i>H. japonica</i>	11,81	1,63	54,88	2,65	2,95	7,44	2,49	2,48				
50	<i>H. esperi</i>		1,02	43,08	1,03	7,76					22,35		

51	<i>H. flagelliformis</i>	8,75	1,08	59,74	3,09	1,28	10,65	6,95	1,38		1,57
52	<i>H. flagelliformis</i>	8,10	1,46	56,01		2,91	11,83	3,44	0,92	0,33	
53	<i>H. flagelliformis</i>	9,26	2,50	53,59	1,85	3,83	8,47	1,16	1,55	0,10	0,84
54	<i>H. cervicornis</i>	8,60	1,62	49,61	5,99	5,60	9,24	2,95	1,50	0,82	1,20
55	<i>H. pannosa</i>	9,21	1,61	44,78		1,47	13,30	8,40	1,05	4,67	5,94
56	<i>Hypnea sp.</i>	8,71	0,83	49,61	4,59	1,30	13,32	6,06	3,64	4,15	1,80
57	<i>H. charoides</i>	7,59	0,79	55,59	2,72	1,79	13,36	4,35	1,56	2,05	0,45
Họ Ceramiaceae											
58	<i>Laurencia tropica</i>	12,13	1,34	48,43		1,74	7,00		1,68	1,68	3,34
59	<i>L. heteroclada</i>	3,55	0,52	45,73	5,86	2,04	13,46	8,79	4,37	1,03	7,92
60	<i>L. tropica</i>	5,02	0,31	52,53	1,51	2,81	14,81	4,50	2,36	5,56	0,92
61	<i>Acanthophora muscoides</i>	6,96	2,28	61,84	2,46	2,64	13,42		1,72	1,72	1,21
Họ Bangiaceae											
62	<i>Liagora sp1.</i>	7,45		62,76	2,95	3,14	6,32		1,64	1,70	6,34
63	<i>Liagora sp2.</i>		0,53	68,86	3,71	1,93	6,06	2,02	1,35	0,32	4,32
Họ Hylamaniaceae											
64	<i>Grateloupia lithophila</i>	5,02	0,39	54,45	2,24	1,77	9,66	4,43	2,27	16,10	0,41
65	<i>G.lithophila</i>	2,37	2,24	32,69	3,36	1,29	7,48	4,05	1,79	1,45	14,45
Họ Bonnemaioniaceae											
66	<i>Asparagopsis taxiformis</i>	13,14	0,51	55,69	3,62	2,31	8,27	3,88	1,55	2,24	2,49
Họ Phylloporaceae											
67	<i>Gymnogongrus flabellifotmis</i>	10,82	0,80	40,98	1,27	7,15	7,08	1,52	1,63	0,90	5,55
Họ Rhodymeniaceae											
68	<i>Coelarthrum opuntia</i>	0,45	0,41	54,34		1,91	11,50		1,26	1,27	7,98
Họ Halymeniaceae											
69	<i>Halymenia dilatata</i>	5,77		53,26	2,29	2,10	11,57	5,33	4,10	1,43	6,99

Bằng phương pháp phân tích cấu tử chính (PCA) kết hợp với phần mềm STATISTICA sử dụng 12 axit béo đánh dấu như ở trên, chúng tôi đưa ra sơ đồ phân bố các họ rong đỏ trong biểu đồ hai chiều ở hình 2 dưới đây.



Hình 2. Kết quả phân tích PCA 69 mẫu rong đỏ

Ghi chú: Các mẫu thuộc họ Gracilariaceae: kí hiệu từ Gra1 đến Gra46 và GraNga, hình thoi màu cam; Họ Hypneaceae: Hyp1-Hyp10, hình tam giác

màu tím; Họ Ceramiaceae: Cer1-Cer4, hình sao màu xanh; Họ Bangiaceae: Ban1, Ban2, hình tam giác màu xanh; Họ Hylamaniaceae: Hyl1 và Hyl2, hình sao màu hồng; Họ Phylloporaceae (Phy) hình hoa thị màu xanh; Họ Rhodymeniaceae (Rho), hình hoa thị màu xanh tím; Họ Halymeniaceae (Hal), hình hoa thị màu vàng.

Kết quả phân tích cho thấy, đối với các họ có số lượng mẫu ít Hylamaniaceae, họ Phylloporaceae, họ Rhodymeniaceae, họ Halymeniaceae nằm rải rác, tách biệt nhau trong biểu đồ và không phân bố trong các vùng của các họ rong đỏ khác. Điều này chứng minh trước đây sự khác biệt của các họ rong này về phát sinh loài. Riêng họ Bonnemaioniaceae có 1 mẫu nằm trong vùng phân bố của họ Hypneaceae. Sự phân bố này có thể là ngẫu nhiên. Để có cơ sở khẳng định các nhận định trên cần thu thập số lượng mẫu lớn.

Đối với các họ rong đỏ có số lượng mẫu lớn kết quả trên biểu đồ 2 chiều cho thấy chúng phân bố thành những vùng riêng cho mỗi họ rong đỏ. Họ rong câu Gracilariaceae phân bố ở vùng có giá trị trên trục tung từ -1 đến +1,5 và

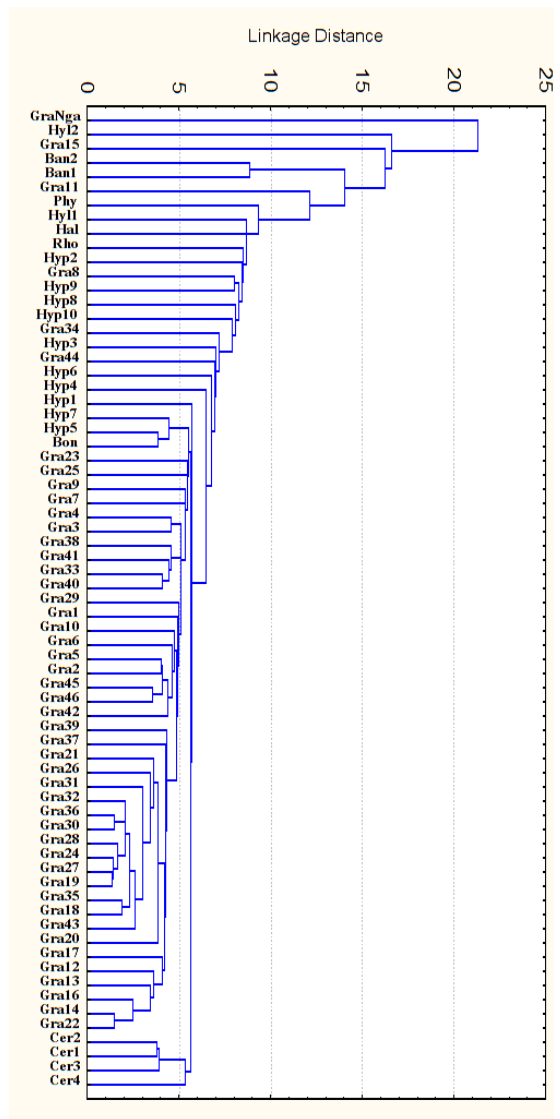
trục hoành là -1,5 đến +1,5. Tuy nhiên có 3 mẫu nằm xa vùng trên là mẫu có mã hoá GraNga là mẫu rong câu *Gracilaria vermiculophylla* của Liên bang Nga. Đây là mẫu có thành phần và hàm lượng axit béo rất khác biệt so với các mẫu rong đỏ thu ở vùng biển của Việt Nam.

Mẫu rong câu GraNga tuy vẫn có thành phần các axit béo tương tự như các mẫu thuộc họ rong câu của Việt Nam nhưng chúng có hàm lượng các axit béo rất khác biệt so với các mẫu rong câu khác thu ở vùng nhiệt đới của Việt Nam. Điều này phù hợp với nhận định của tác giả V. E. Vaskovsky, S. V. Khotimchenko “Thành phần và hàm lượng các axit béo phụ thuộc vào nhiều yếu tố như nhiệt độ, môi trường sống ... [5]. Ngoài ra có 2 mẫu rong câu chỉ vàng *Gracilaria tenuistipitata* kí hiệu Gra15 và Gra20 nằm xa nhau và xa vùng xuất hiện của các mẫu của họ rong câu khác. Đây là 2 mẫu khác biệt các mẫu khác do hàm lượng axit béo C16:0 thấp hơn hẳn, còn hàm lượng C20:4n-6 và C20:5n-3 cao hơn hẳn các mẫu khác. Tìm lý giải cho sự khác biệt này, chúng tôi thấy mẫu Gra15 là mẫu được rong câu duy nhất được thu tháng 11/2011 ở biển Hải Phòng, đây là thời kì cuối của mùa rong câu nên sự chuyển hoá các axit béo trong rong khác các mẫu thu vào đầu và giữa vụ thu hoạch (tháng 3 đến tháng 5). Nguyên nhân khác biệt của mẫu Gra20 có thể do các yếu tố về môi trường biển nơi rong sống. Chúng tôi sẽ tiếp tục tìm hiểu sự khác biệt của mẫu rong này trong các nghiên cứu tiếp theo.

Tương tự như vậy, các họ rong đỏ có số lượng mẫu lớn như Hypneaceae và Ceramiaceae cũng phân bố thành những vùng riêng biệt. Tuy nhiên có sự giao nhau giữa các vùng của hai họ này với họ rong câu. Cụ thể, vùng giao nhau giữa họ Hypneaceae và họ Gracilariaceae có 5 mẫu trong đó có 2 mẫu Hyp5 và Hyp10 của họ Hypneaceae và 3 mẫu Gra8, Gra34 và Gra44 của họ rong Gracilariaceae. Họ Ceramiaceae và họ Hypneaceae có 2 mẫu nằm trong vùng giao nhau là mẫu Hyp9 và Cer4. Họ Ceramiaceae và họ Gracilariaceae có 2 mẫu nằm trong vùng giao nhau là mẫu Cer3 và Gra22. Họ Bangiaceae và họ Gracilariaceae có 2 mẫu nằm trong vùng giao nhau là Ban1 và Gra11. Chúng

tôi cho rằng, có sự giao nhau của các vùng phân bố của các họ rong đỏ là do đây là đối tượng sinh vật gần gũi nhau về phát sinh loài. Tuy nhiên, qua kết quả phân tích PCA cũng xác định được các họ rong đỏ nằm trong các vùng phân bố khác biệt nhau trên biểu đồ 2 chiều, điều này bổ sung thông tin cho các nhà phân loại rong biển.

Sử dụng phần mềm SURFER 32, chúng tôi đã biểu diễn sơ đồ cây phân loại 69 loài rong đỏ theo các dữ liệu về thành phần và hàm lượng các axit béo đánh dấu như hình 3 dưới đây.



Hình 3. Sơ đồ cây phân loại 69 loài rong đỏ dựa vào các axit béo đánh dấu

Sơ đồ cây phân loại một lần nữa cho thấy sự phù hợp với các nhận định trên về phát sinh loài rong đỏ. Các mẫu nằm trong vùng giao nhau giữa các họ trên biểu đồ ở hình 2 có sự liên quan đến phát sinh loài như ở cây phân loại ở hình 3.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự tài trợ của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Đề tài “Nghiên cứu thành phần, hàm lượng các hoạt chất Lipit, axit béo và Oxilipin của một số loài San hô và sinh vật biển vùng Đông Bắc Việt Nam”, mã số: VAST.ĐD.ĐAB.05/13-15.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Nor Salmi Abdullah*, 2013. Fatty acids profiles of red seaweed, *Gracilaria manilaensis*. *The Experiment*, **11**(5): 726-732
2. *Bergé, J. P., and Barnathan, G.*, 2005. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects. In *Marine biotechnology I*, **96**, 49-125.
3. *Dunstan, G. A., Brown, M. R., and Volkman, J. K.*, 2005. Cryptophyceae and Rhodophyceae; chemotaxonomy, phylogeny, and application. *Phytochemistry*, **66**(21): 2557-2570.
4. *Volkman, J. K., Barrett, S. M., Blackburn, S. I., Mansour, M. P., Sikes, E. L., and Gelin, F.*, 1998. Microalgal biomarkers: a review of recent research developments. *Organic Geochemistry*, **29**(5): 1163-1179.
5. *Vaskovsky, V. E., Khotimchenko, S. V., Xia, B., and Hefang, L.*, 1996. Polar lipids and fatty acids of some marine macrophytes from the Yellow Sea. *Phytochemistry*, **42**(5): 1347-1356.
6. ISO/DIS 659:1998, Germany.
7. *Bligh, E. G., and Dyer, W. J.*, 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, **37**(8): 911-917.
8. *Livingstone, D.*, 1995. Data analysis for chemists: applications to QSAR and chemical product design.

STUDY ON USING DATA OF FATTY ACIDS IN BOTANICAL CLASSIFICATION (*CHEMOTAXONOMY*) FOR RED SEAWEED SPECIES

Le Tat Thanh¹, Phạm Minh Quân¹, Nguyen Van Tuyen Anh¹, Dam Duc Tien², Do Trung Sy³, Phạm Thu Hue⁴, Phạm Quốc Long¹

¹*Institute of Natural Products Chemistry-VAST*

²*Institute of Marine Environment and Resources-VAST*

³*Institute of Chemistry-VAST*

⁴*Vietnam Academy of Navy*

ABSTRACT: In this paper, the compositions and contents of fatty acids in the total lipid extracts of 69 red seaweed samples belonging to 9 families (*Gracilariaceae*, *Hypneaceae*, *Ceramiales*, *Bangiaceae*, *Hylamaniaceae*, *Bonnemaisoniaceae*, *Phylloporaceae*, *Rhodymeniaceae* and *Halymeniaceae*) are studied. According to the results, 56 fatty acids are identified, in which 12 fatty acids were considered “fatty acid markers” for the botanical classification (*Chemotaxonomy*) of red seaweed species such as C14:0, C15:0, C16:0, C16:1n-7, C18:0, C18:1n-9, C18:1n-7, C18:2n-6, C20:3n-6, C20:4n-6, C20:5n-3 and C22:0. By using principal component analysis method (PCA), the analysis result on two-dimensional chart showed

that families of red seaweed are distributed into separate regions. Classification tree diagram of the red seaweed species based on essential fatty acid composition is also given.

Keywords: *PCA, chemotaxonomy, markers ...*

Lê Tất Thành, Phạm Minh Quân, ...