

VI KHUẨN TẠO CHẤT HOẠT HÓA BỀ MẶT SINH HỌC *Rhodococcus ruber* TD2 PHÂN LẬP TỪ NƯỚC Ô NHIỄM DẦU VEN BIỂN VŨNG TÀU

Lại Thúy Hiền*, Nguyễn Thị Yên, Vương Thị Nga

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn Lâm KH và CN Việt Nam, *hien.pm@ibt.ac.vn

TÓM TẮT: Chất hoạt hóa bề mặt sinh học (CHHBMSH) được tổng hợp chủ yếu bởi vi khuẩn thuộc chi *Rhodococcus* thường là glycolipids, trehalose lipids. Với các ưu điểm vượt trội hơn so với CHHBM hóa học và CHHBMSH từ vi sinh vật khác, thế giới đã có nhiều nghiên cứu về CHHBMSH từ chi này nhằm ứng dụng trong các lĩnh vực công nghệ mới như xử lý môi trường, cải thiện cấu trúc vật liệu polymer và y học. Chúng vi khuẩn TD2 phân lập từ nước biển nhiễm dầu Vũng Tàu có khả năng tạo chất hoạt hóa bề mặt sinh học. Chúng vi khuẩn TD2 có tế bào hình que, thuộc nhóm vi khuẩn gram dương, không tạo bào tử. Phân loại chúng vi khuẩn TD2 bằng phương pháp phân tích trình tự gen 16S-rRNA xác định chúng vi khuẩn này tương đồng 100% với loài *Rhodococcus ruber*. Nghiên cứu các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và tạo CHHBMSH cho thấy chủng TD2 tạo CHHBMSH cao ở điều kiện phù hợp với nhiệt độ 30°C, pH 8-9, nồng độ NaCl 1-2%, nguồn carbon là dầu oliu, chỉ số nhũ hóa E24 đạt 94%. Trên môi trường nuôi cấy phù hợp đã xác định trên, hàm lượng CHHBMSH thô do TD2 tạo ra là 13,7 g/l. Kết quả phân tích bằng GC-MS cho thấy, CHHBMSH do chủng TD2 tạo ra là ester của acid béo Hexadecenoic hoặc Hexanedioic acid bis 2-ethylhexyl với cấu trúc phân tử gồm nhiều nhóm -OH và C=O.

Từ khóa: *Rhodococcus ruber*, acid béo, chất hoạt hóa bề mặt sinh học, chỉ số nhũ hóa E24, dầu oliu.

MỞ ĐẦU

Chất hoạt hóa bề mặt sinh học (CHHBMSH) là những hợp chất có cấu trúc đa dạng về hoạt tính bề mặt được tổng hợp bởi vi sinh vật. Tất cả CHHBMSH là hợp chất lưỡng cực, có cấu tạo gồm một nhóm ưa nước (thường là phân tử đường hoặc amino acid) và một nhóm kỵ nước (thường là acid béo). Do cấu tạo phân cực, CHHBMSH có xu hướng co cụm tại bề mặt và mặt phân cách giữa 2 chất (có thể là chất lỏng-chất lỏng, chất lỏng-chất rắn), kết quả là làm giảm sức căng bề mặt (giữa chất lỏng và không khí) và giảm sức căng giữa 2 chất (chất lỏng-chất lỏng và chất lỏng-chất rắn) [12, 13]. Không giống như CHHBMMH thường phân loại theo bản chất các nhóm phân cực, CHHBMSH được phân loại dựa vào thành phần hóa học và nguồn gốc vi sinh vật tạo ra. Nhìn chung, CHHBMSH được chia làm các nhóm chính: glycolipid; lipopeptid và lipoprotein; phospholipid và acid béo; CHHBM trùng hợp và CHHBM dạng hạt [2].

CHHBMSH do loài *Rhodococcus ruber* tạo ra chủ yếu là dịch ngoại bào trên nguồn cơ chất hydrocarbon. Chúng thuộc nhóm glycolipid có chứa gốc trehalose như là carbonhydrat. Vai trò

của glycolipid rất đa dạng, từ việc thúc đẩy sự bám của tế bào vào bề mặt kỵ nước của cơ chất không tan trong nước, tới việc làm tăng khả năng đề kháng của vi khuẩn đối với các yếu tố lý hóa của môi trường...[6,12, 13]. Hơn nữa, glycolipid từ *Rhodococcus* ưu việt hơn so với CHHBM tổng hợp cũng như CHHBMSH từ các vi sinh vật khác bởi các đặc tính như sức căng bề mặt, khả năng nhũ hóa cao, tính kháng khuẩn và điều chỉnh miễn dịch [13]. Với các đặc tính ưu việt đó, CHHBMSH từ *Rhodococcus* ngày càng được nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều ngành công nghiệp đặc biệt là công nghiệp dầu khí và xử lý môi trường. Trong bài báo này, chúng tôi đề cập đến đặc điểm sinh học và khả năng tạo CHHBMSH của chủng *Rhodococcus ruber* TD2 phân lập từ bãi biển Thùy Dương, Vũng Tàu, nhằm đưa ra cơ sở dữ liệu để định hướng ứng dụng chủng TD2 trong xử lý ô nhiễm dầu ven biển Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu và môi trường nuôi cấy

Các mẫu nước biển nhiễm dầu lấy tại ven biển Vũng Tàu, Việt Nam.

Sử dụng môi trường khoáng Gost 9023-74

bổ sung 5% dầu diesel (DO) để phân lập và nghiên cứu khả năng tạo CHHBMSH của vi khuẩn. Môi trường hiếu khí tổng số 1% NaCl (HKTS1%) (API RP38) để quan sát hình thái khuẩn lạc chủng nghiên cứu.

Phương pháp

Phân lập vi khuẩn tạo CHHBMSH trên môi trường khoáng Gost 9023-74.

Nghiên cứu hình thái tế bào vi khuẩn dưới kính hiển vi điện tử SEM S4800 (Nhật Bản) tại phòng Hiển vi điện tử, viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

Đánh giá khả năng tạo CHHBMSH dựa trên chỉ số nhũ hoá E24 (Pruthi) [15].

Phân loại vi khuẩn dựa vào phân tích trình tự gen 16S rRNA.

Tách chiết CHHBMSH theo Kuyukina [11].

Phân tích thành phần hóa học của CHHBMSH bằng sắc ký khối phổ GC-MS tại viện Công nghệ môi trường, viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc điểm phân loại và khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2

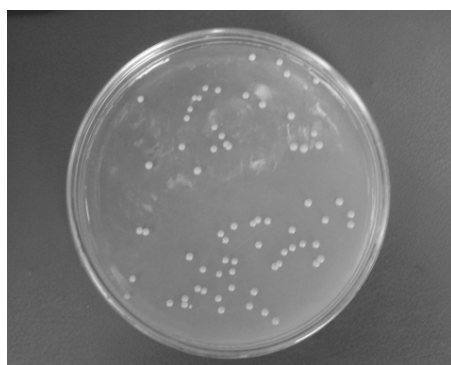
Từ các mẫu nước ô nhiễm dầu ven biển Vũng Tàu, chúng tôi tiến hành phân lập vi khuẩn có khả năng tạo CHHBMSH trên môi trường chọn lọc. Sau đó, đánh giá khả năng tạo CHHBMSH của chúng bằng chỉ số nhũ hóa E24. Kết quả, đã phân lập được chủng vi khuẩn TD2 có khả năng tạo CHHBMSH cao và chiếm ưu thế ở hầu hết các mẫu. Đặc điểm khuẩn lạc, hình thái tế bào, chỉ số nhũ hóa E24 của chủng này được trình bày ở bảng 1, hình 1 và 2.

Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc, tế bào và khả năng nhũ hóa với xylene của chủng TD2

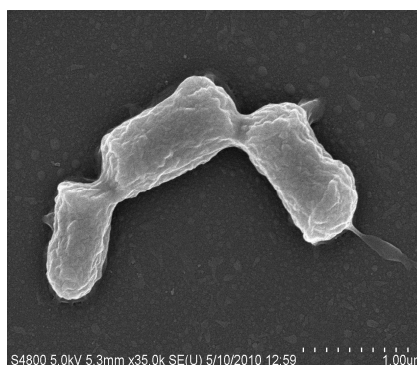
KH chủng	Đặc điểm hình thái khuẩn lạc	Đặc điểm tế bào	E24
TD2	Vàng cam, tròn lồi, bóng ướt, mép gọn, d = 1,5-2,0 mm	Que ngắn, Gram (+), không sinh bào tử	65%

Theo nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước, vi khuẩn biển tạo CHHBMSH thường gặp là thuộc nhóm vi khuẩn gram âm như *Pseudomonas*, *Acinetobacter* [2, 8, 9, 10, 15]. Tuy nhiên, ở vùng biển Vũng Tàu, nơi thường xảy ra các đợt ô nhiễm dầu ven biển thì các chủng vi khuẩn gram dương, như chủng TD2 lại chiếm ưu thế. Đây có thể do quá trình chọn lọc tự nhiên với các vi khuẩn ở những vùng ô

nhiễm dầu. Để xác định vị trí phân loại chủng này nhằm cung cấp dữ liệu về vi khuẩn tạo CHHBMSH phân lập tại ven biển Việt Nam, trình tự 16S rDNA của chủng TD2 được phân tích. Khi so sánh với ngân hàng dữ liệu gen chuẩn cho thấy, trình tự 16S rDNA của chủng TD2 tương đồng 100% với trình tự 16S rDNA của loài *Rhodococcus ruber* X 80625 (hình 3).



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc chủng TD2 trên môi trường HKTS1%

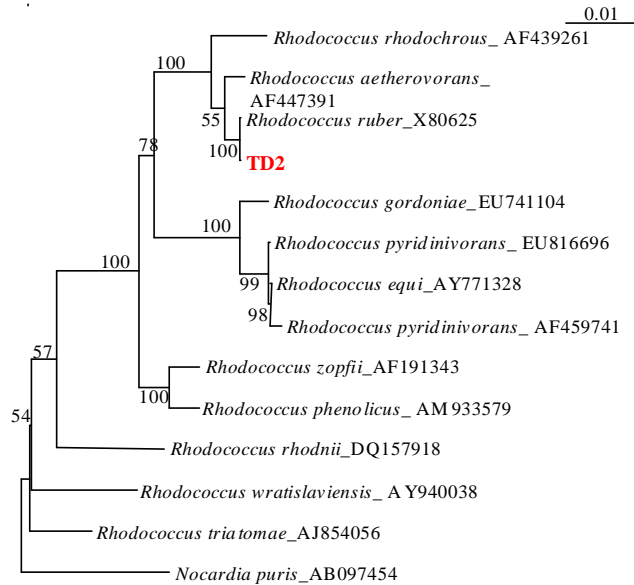


Hình 2. Hình thái tế bào chủng TD2 dưới kính HVĐT quét (SEM 4800)

Rhodococcus ruber là một trong những chủng vi khuẩn có khả năng tạo CHHBMSH được nghiên cứu nhiều trên thế giới [4, 5, 13]. Ở Việt Nam, đây là công bố đầu tiên về khả năng tạo CHHBMSH của loài vi khuẩn này.

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến sinh trưởng và tạo CHHBMSH của chủng TD2

Ở điều kiện thí nghiệm, khả năng nhũ hóa với xylên của CHHBMSH do TD2 tạo ra khá cao (65%). Tuy nhiên, để ứng dụng CHHBMSH do chủng này tạo ra cần phải nghiên cứu các yếu tố môi trường đến sinh trưởng và khả năng tạo CHHBMSH. Trong công trình này, ảnh hưởng của nhiệt độ, pH, nguồn carbon và nồng độ NaCl tới sinh trưởng và khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2 đã được nghiên cứu.

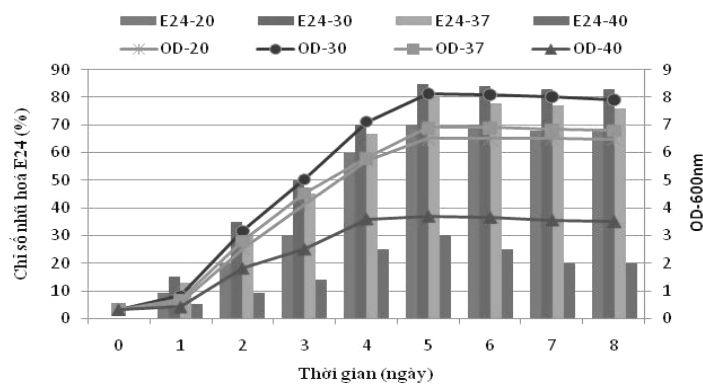


Hình 3. Vị trí phân loại của chủng TD2 và các loài có họ hàng gần

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ môi trường nuôi cấy có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp

CHHBMSH của vi khuẩn [4]. Nhiệt độ lựa chọn để nghiên cứu sinh trưởng và tạo CHHBMSH của chủng TD2 là 20, 30, 37 và 42°C. Kết quả được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng và tạo CHHBMSH của chủng TD2

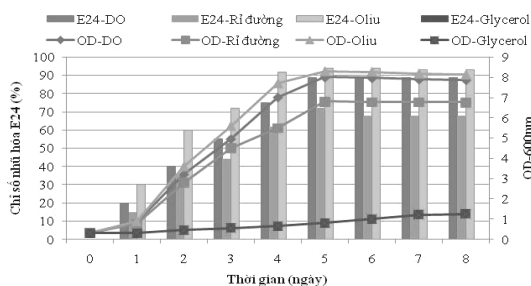
Như vậy, chủng TD2 sinh trưởng tốt và tạo CHHBMSH cao trong khoảng nhiệt độ từ 20 đến 37°C với chỉ số nhũ hóa E24 dao động 70-85% sau 5 ngày nuôi cấy. Trong đó, nhiệt độ tối ưu cho quá trình sinh tổng hợp CHHBMSH của chủng này là 30°C, chỉ số nhũ hóa E24 đạt 85% sau 5 ngày. Theo các công bố ở trong và ngoài nước, đây cũng là nhiệt độ thích hợp cho quá trình sinh tổng hợp CHHBMSH bởi vi khuẩn [4, 9, 10]. Ở nhiệt độ 42°C, TD2 sinh trưởng kém hơn với chỉ số nhũ hóa E24 chỉ đạt 30% sau 5 ngày nuôi cấy.

Ảnh hưởng của nguồn carbon

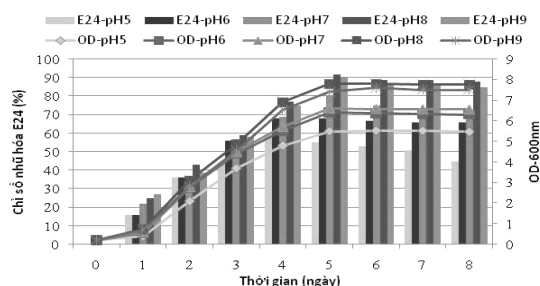
Nguồn carbon khác nhau có ảnh hưởng lớn đến khả năng tạo CHHBMSH của vi khuẩn cũng như thành phần cấu tạo của CHHBMSH tạo thành [3,4]. Nguồn carbon sử dụng cho vi khuẩn sinh tổng hợp CHHBMSH bao gồm carbohydrate (glycerol, các loại đường...), hydrocarbon và dầu thực vật. Một số loài vi

khẩn chỉ sử dụng một loại carbon cho sinh tổng hợp CHHBMSH, một số khác có thể sử dụng cả ba nguồn carbon kể trên [3, 7, 15]. Sinh trưởng và khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2 được khảo sát tại các nguồn carbon: glycerol, ri đường, DO và dầu oliu. Kết quả thể hiện ở hình 5.

Như vậy, chủng TD2 có khả năng sinh trưởng và tạo CHHBMSH trên các nguồn carbon là dầu oliu, DO và ri đường. Trong đó, dầu oliu là nguồn carbon thích hợp nhất cho sinh trưởng và tạo CHHBMSH của chủng này, chỉ số nhũ hóa E24 đạt 94% sau 5 ngày nuôi cấy. Với nguồn carbon là DO và ri đường, chủng này cũng cho thấy khả năng sinh trưởng khá tốt với chỉ số đo được E24 lần lượt đạt 89 và 72%. Tuy nhiên, TD2 không sinh trưởng và tạo CHHBMSH trên nguồn carbon là glycerol. Điều này khác biệt so với các chủng *Rhodococcus* đã được nghiên cứu trên thế giới [3, 4].



Hình 5. Ảnh hưởng của nguồn carbon đến sinh trưởng và tạo CHHBMSH chủng TD2



Hình 6. Ảnh hưởng của pH đến sinh trưởng và tạo CHHBMSH chủng TD2

Ảnh hưởng của pH

Sinh trưởng của vi khuẩn bị tác động mạnh bởi pH môi trường nuôi cấy, do đó sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình sinh tổng hợp CHHBMSH. Để nghiên cứu sự tác động này, sinh trưởng và khả năng tạo CHHBMSH của TD2 được khảo sát ở dải pH từ 5 đến 9 trong 8 ngày nuôi cấy (hình 6).

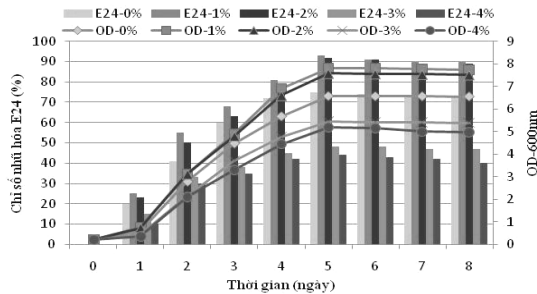
Kết quả cho thấy, chủng TD2 sinh trưởng và tạo CHHBMSH tốt ở dải pH từ 5 đến 9, tốt nhất ở pH kiềm (8-9). Tại dải pH này, chỉ số nhũ hóa E24 đo được lần lượt là 92 và 90% sau 5 ngày nuôi cấy. So với các nghiên cứu của các tác giả trên thế giới về pH thích hợp cho sinh tổng hợp

CHHBMSH của chi *Rhodococcus* là 6,8-7,0 [1, 5], thì chủng TD2 có khả năng sinh trưởng và tạo CHHBMSH trong dải pH khá rộng. Đây sẽ là yếu tố thuận lợi để ứng dụng chủng này trong quá trình phân hủy dầu ven biển Việt Nam.

Ảnh hưởng của nồng độ NaCl

Nồng độ muối cũng là yếu tố ảnh hưởng đến tính chất của CHHBMSH do vi khuẩn tạo ra [14]. Ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl đến sinh trưởng và tạo CHHBMSH của chủng TD2 được nghiên cứu với các nồng độ 0, 1, 2, 3 và 4% trong 8 ngày nuôi cấy (hình 7). Kết quả cho thấy, chủng TD2 có khả năng tạo CHHBMSH ở tất cả nồng độ NaCl khảo sát. Tuy nhiên, chủng

này sinh trưởng tốt nhất và tạo CHHBMSH cao nhất ở nồng độ NaCl từ 1-2% với chỉ số E24 lên tới 92-93%. Kết quả thu được cũng tương đồng với nghiên cứu của Chenggang et al. (2009)

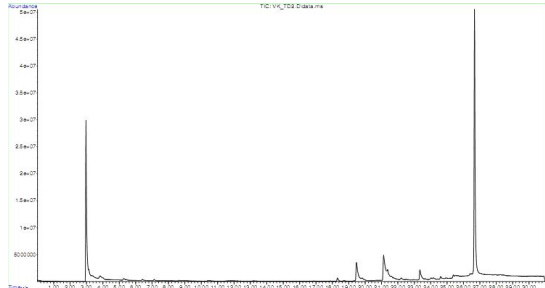


Hình 7. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl tới sinh trưởng và tạo CHHBMSH chủng TD2

Hàm lượng và thành phần của CHHBMSH do chủng TD2 tạo ra

Chủng TD2 được nuôi cấy trên môi trường với những yếu tố phù hợp như nguồn cơ chất là dầu oliu, nhiệt độ 30°C, pH 8-9, và nồng độ NaCl 1-2% để thu hồi CHHBMSH. Kết quả cho thấy, CHHBMSH thô do chủng TD2 tạo ra đạt hàm lượng 13,7 g/l. Theo công bố của Chenggang Zheng et al. (2009) [4], chủng *Rhodococcus ruber* Z25 phân lập từ nước nhiễm dầu có khả năng sinh tổng hợp 13,3 g/l CHHBMSH thô trên nguồn cơ chất alkane. Hàm lượng dầu thô tạo ra từ chủng TD2 không cao hơn nhiều so với chủng Z25, tuy nhiên, đây là kết quả nghiên cứu đầu tiên về khả năng tạo CHHBMSH của chủng *Rhodococcus ruber* phân lập tại Việt Nam. Vì vậy, cần tiếp tục nghiên cứu tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến

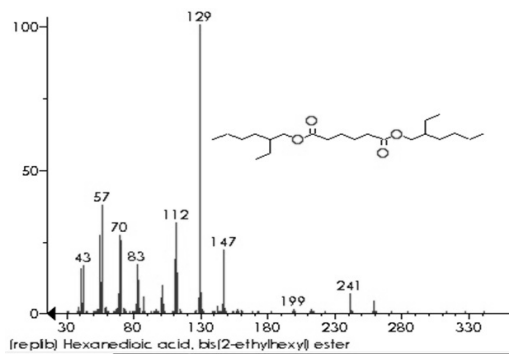
[4]. Tác giả đã xác định được nồng độ NaCl tối ưu cho khả năng tạo CHHBMSH của chủng *Rhodococcus ruber* Z25 là 2%.



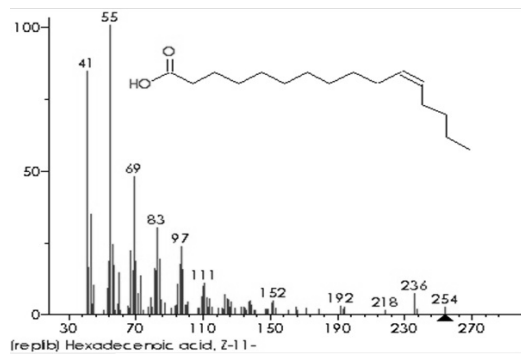
Hình 8. Sắc ký khối phổ của CHHBMSH do chủng vi khuẩn TD2 tạo ra

quá trình tạo CHHBMSH nhằm lựa chọn môi trường tối ưu cho chủng này tạo CHHBMSH cao hơn. Để ứng dụng hiệu quả CHHBMSH do từng loài vi sinh vật tạo ra thì việc tìm hiểu cấu trúc hóa học của chúng đóng vai trò rất quan trọng. Biết được cấu trúc hóa học của CHHBMSH sẽ giúp dự đoán cơ chế tác động của chúng trong việc tăng cường khả năng phân hủy hydrocarbon dầu mỏ, xử lý ô nhiễm môi trường. CHHBMSH do TD2 tạo ra được phân tích sắc ký khối phổ (GS-MS) để tìm hiểu bản chất hóa học của chúng.

Kết quả phân tích GC-MS (hình 8) cho thấy, có 13 phân đoạn trong CHHBMSH thô, tuy nhiên, chỉ có hai phân đoạn ở thời gian lưu là 21,127 phút và 23,337 phút có cấu trúc tương tự CHHBMSH học chuẩn.



Hình 9. Khối phổ CHHBMSH do chủng TD2 tạo ra tại thời gian lưu 23,337 và 21,127 phút



Phân tích phân đoạn có thời gian lưu 21,127 phút cho thấy, chất này có chứa các nhóm nguyên tố có trọng lượng phân tử (m/z) tương ứng: 41; 55; 69; 83; 97; 111; 123; 151; 180; 222; 264 và 282 (hình 9). So sánh với thư viện chất chuẩn, chất này là acid béo Hexadecenoic acid ($C_{16}H_{30}O_2$) với độ tương đồng 90%.

Tại phân đoạn có thời gian lưu 23,337 phút, CHHBMSH có chứa các nhóm nguyên tố có trọng lượng phân tử (m/z) tương ứng: 57; 70; 83; 112; 129; 147; 207 và 241 (hình 9). Mức độ tương đồng của chất này so với Hexanedioic acid bis 2-ethylhexyl ($C_{22}H_{42}O_4$) là 94% khi so sánh với thư viện chất chuẩn. Từ kết quả phân tích GC-MS, có thể nhận định CHHBMSH do chủng TD2 tạo ra là ester của acid Hexadecenoic hoặc Hexanedioic bis 2-ethylhexyl với cấu trúc phân tử gồm nhiều nhóm -OH và C=O.

KẾT LUẬN

Đã phân lập được chủng vi khuẩn *Rhodococcus ruber* TD2 (trùng đồng chủng chuẩn *Rhodococcus ruber* X 80625 100%) có khả năng tạo CHHBMSH từ các mẫu nước ô nhiễm dầu ven biển Vũng Tàu. Điều kiện tối ưu để tạo CHHBMSH của chủng này là nhiệt độ 30°C, pH 8-9, nồng độ NaCl từ 1-2%, sử dụng nguồn carbon là dầu oliu, chỉ số nhũ hóa E24 đạt 94%, hàm lượng CHHBMSH thô là 13,7g/l. CHHBMSH do chủng TD2 tạo ra có khả năng hoạt động bề mặt và là ester của acid béo mạch dài Hexadecenoic ($C_{16}H_{30}O_2$) hoặc Hexanedioic acid bis 2-ethylhexyl ($C_{22}H_{42}O_4$) với nhiều nhóm -OH và C=O trong cấu trúc phân tử.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài Độc lập cấp Nhà nước mã số ĐTĐL 2008 T.02. Các tác giả cảm ơn sự cộng tác giúp đỡ của Phòng Hiện vi điện tử, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương; Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội; Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abu-Ruwaida A. S., Banat I. M., Haditirto S., Khamis A., 1991. Nutritional

requirements and growth characteristics of a biosurfactant-producing *Rhodococcus* bacterium. World J. Microbiol. Biotechnol., 7(1): 53-60.

2. Banat M. I., Franzetti A., Gandolfi A., Bestetti G., 2010. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. Appl. Microbiol. Biotechnol., 87: 427-444.
3. Ciapina E. M., Melo W. C., Santa Anna L. M., Santos A. S., Freire D. M., Pereira N. Jr., 2006. Biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* grown on glycerol as sole carbon source. Appl. Biochem. Biotechnol., (1-3): 880-886.
4. Chenggang Z., Shuguang L., Li Y., Lixin H., Qinghong W., 2009. Study of the biosurfactant-producing profile in a newly isolated *Rhodococcus ruber* strain. Ann. Microbiol., 59 (4): 771-776.
5. Flavio C. B., Leonardo C. F., Marco A. Z. A., 1999. Production of biosurfactant by hydrocarbon degrading *Rhodococcus ruber* and *Rhodococcus erythropolis*. Revista Microbiol., 30: 231-236.
6. Franzetti A., Gandolfi I, Bestetti G., Smyth T. J., Banat I. M., 2010. Production and applications of trehalose lipid biosurfactants. Eur. J. Lipid. Sci. Tech., 112: 617-627.
7. Hamzah A., Sabturan N., Radiman S., 2013. Screening and optimization of biosurfactant production by the hydrocarbon-degrading bacteria. Sains Malaysiana, 42(5): 615-623.
8. Lại Thúy Hiền, Đỗ Thu Phương, Hoàng Hải, Phạm Thị Hằng, Lê Thị Nhi Công, Lê Phi Nga, Kiều Hữu Ánh, 2003. Chọn chủng vi sinh vật tạo CHHBMSH cao ứng dụng trong công nghiệp dầu khí và xử lý môi trường. Tạp chí Công nghệ sinh học, 1: 119-129.
9. Lại Thúy Hiền, Dương Văn Thắng, Trần Cẩm Vân, Doãn Thái Hoà, 2003. Vi khuẩn tạo chất hoạt hoá bề mặt sinh học phân lập từ biển Nha Trang. Tạp chí Sinh học, 25(4): 53-61.

10. Lại Thúy Hiền, Nguyễn Thị Thu Huyền, Đỗ Thu Phương, Phạm Thị Hằng, Kiều Quỳnh Hoa, Vương Thị Nga, Nguyễn Thị Yên, Hoàng Văn Thắng, Trần Đình Mẫn, 2011. Nghiên cứu đa dạng vi khuẩn biển tạo chất hoạt hóa bề mặt sinh học nhằm ứng dụng trong công nghiệp và xử lý ô nhiễm môi trường. Hội nghị Khoa học và Công nghệ biển toàn quốc, 5: 297-305.
11. Kuyukina M. S., Ivshina I., Philip J., Christofi N., Dunbar S., Ritchkava M., 2001. Recovery of *Rhodococcus* biosurfactants using methyl tertiary-butyl ether extraction. J. Microbiol, 46: 149-156.
12. Magdalena P. P., Grazyna A. P., Zofia P. S., Swaranjit S. C., 2011. Environmental applications of biosurfactants: Recent Advances. Int. J. Mol. Sci., 12: 633-654.
13. Maria S. K. and Irena B. I., 2010. *Rhodococcus* biosurfactants: Biosynthesis, Properties and Potential Application. Bio. *Rhodococcus*, 16: 291-313.
14. Maneerat S., Pheetrong K., 2007. Isolation of biosurfactant-producing marine bacteria and characteristics of selected biosurfactant. Songklanakarin J. Sci. Technol., 29(3): 781-791.
15. Pruthi V., Cameotra S. S., 1997. Rapid identification of biosurfactant-producing bacterial strains using a cell surface hydrophobicity technique. Biotechnol. Techniques, 11(9): 671-674.

BIOSURFACTANT-PRODUCING *Rhodococcus ruber* TD2 ISOLATED FROM OIL POLUTED WATER IN VUNG TAU COASTAL ZONE

Lai Thuy Hien, Nguyen Thi Yen, Vuong Thi Nga

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Thanks to their advantages compared with other microbial and synthetic surfactants, *Rhodococcus* biosurfactants are widely studied to apply in new advanced technologies, such as environmental bioremediation, improved polymeric material construction and biomedicine. A biosurfactant-producing strain TD2 was isolated from the oil polluted water at Vung Tau coastal zone. Strain TD2 was observed as rod-shaped, positive gram, non-spore bacterium. The strain was identified as *Rhodococcus ruber* TD2 (100% identity *Rhodococcus ruber* X 80625) based on 16S rDNA analysis. Investigation of influence of environmental conditions on cell growth and biosurfactant production showed that strain TD2 produced highest biosurfactant at 30°C, pH 8-9, 1-2% NaCl (w/v) and olive oil as carbon source. In this condition, *Rhodococcus ruber* TD2 exhibited to be a potential producer attaining 94% of emulsifying index E24 and the maximum yield of crude biosurfactant production was 13.7 g/l. GC-MS analysis revealed that biosurfactant of *Rhodococcus ruber* TD2 was ester of Hexadecenoic acid or Hexanedioic acid bis 2-ethylhexyl containing of many –OH and C=O groups in structural chemicals.

Keywords: *Rhodococcus ruber*, biosurfactant, emulsification index E24, olive oil, fatty acid.

Ngày nhận bài: 25-6-2013