

## TỐI ƯU HÓA MÔI TRƯỜNG TẠO CHẤT HOẠT HÓA BỀ MẶT SINH HỌC CỦA CHỦNG *Rhodococcus ruber* TD2 BẰNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG

Vương Thị Nga\*, Kiều Quỳnh Hoa, Trần Đình Mẫn, Lại Thúy Hiền

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, \*ngavuon1978@gmail.com

**TÓM TẮT:** Với hoạt tính sinh học vượt trội như khả năng nhũ hóa cao, giảm sức căng bề mặt, đặc tính kháng u và điều chỉnh miễn dịch, chất hoạt hóa bề mặt sinh học (CHHBMSH) từ vi khuẩn thuộc chi *Rhodococcus* ngày càng thu hút sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học trên thế giới. Việc tìm ra quy trình tối ưu cho sinh tổng hợp chúng sẽ làm tăng tiềm năng ứng dụng CHHBMSH từ *Rhodococcus* trong các ngành công nghệ mới như tái tạo môi trường bằng phương pháp sinh học, y sinh học... Trong bài báo này, chúng tôi sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng để tối ưu hóa thành phần môi trường tạo CHHBMSH của chủng *Rhodococcus ruber* TD2 dựa vào 3 yếu tố có ảnh hưởng mạnh nhất đến quá trình sinh tổng hợp CHHBMSH: hàm lượng dầu DO,  $\text{NaNO}_3$  và pH. Kết quả phân tích bề mặt đáp ứng cho thấy, chủng TD2 có khả năng tạo CHHBMSH cao nhất trong môi trường tối ưu chứa 5,7% (v/v) dầu DO; 3,3 g/l  $\text{NaNO}_3$  và pH 8,3. Trong điều kiện môi trường này, chủng TD2 tạo 30,1 g/l CHHBMSH thô; gấp 2,23 lần so với môi trường chưa tối ưu (13,5 g/l) sau 5 ngày. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng phương pháp bề mặt đáp ứng có hiệu quả cao trong việc tối ưu hóa môi trường nuôi cấy tạo CHHBMSH của chủng *Rhodococcus ruber* TD2 phân lập tại ven biển Việt Nam.

*Từ khóa:* *Rhodococcus*, chất hoạt hóa bề mặt sinh học, phương pháp bề mặt đáp ứng, tối ưu môi trường.

### MỞ ĐẦU

Chất hoạt hóa bề mặt sinh học là các chất có hoạt tính bề mặt được tạo ra dưới dạng ngoại bào hoặc một phần gắn với màng tế bào bởi nhiều loài vi sinh vật như vi khuẩn, nấm men và nấm mốc. Do cấu trúc đa dạng, không độc và có khả năng tự phân hủy sinh học, CHHBMSH ngày càng được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như: công nghiệp dầu khí, xử lý môi trường, y dược, mỹ phẩm và công nghiệp chế biến thức ăn [5, 9, 13].

Về mặt cấu trúc hóa học, CHHBMSH được tạo ra bởi vi khuẩn thuộc chi *Rhodococcus* thường là trehalose lipid hoặc acid béo thuộc nhóm glycolipid [6, 10, 11]. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, chúng có hiệu quả cao hơn so với CHHBMSH hóa học trong việc làm giảm sức căng bề mặt (giữa chất lỏng và không khí) và giảm sức căng bề mặt giữa 2 chất (chất lỏng-chất lỏng; chất lỏng-chất rắn) [11, 12]. Ngày càng nhiều sản phẩm CHHBMSH từ các loài thuộc chi *Rhodococcus* được công bố có tiềm năng ứng dụng trong các ngành công nghiệp đặc biệt trong công nghiệp dầu khí và xử lý môi trường

[4, 12]. Điều này đã giúp CHHBMSH được tạo ra từ *Rhodococcus* dễ dàng xâm nhập vào thị trường. Tuy nhiên, trở ngại lớn nhất của việc thương mại hóa chúng là hiệu suất lên men sản phẩm còn thấp, dẫn đến giá thành sản phẩm cao. Do đó, để sản xuất ở quy mô lớn, việc nâng cao hiệu suất tạo CHHBMSH từ *Rhodococcus* là cần thiết. Một trong các phương pháp hiệu quả có thể đạt hiệu suất tạo CHHBMSH cao là lựa chọn môi trường nuôi cấy thích hợp và tối ưu hóa thành phần môi trường cho lên men. Trong khi phương pháp nghiên cứu 1 yếu tố tại 1 thời điểm không xác định được sự tác động qua lại giữa các yếu tố biến thiên của thành phần môi trường nuôi cấy để dự đoán điều kiện thuận lợi nhất cho sinh trưởng và tạo sản phẩm của vi sinh vật thì phương pháp bề mặt đáp ứng đã khắc phục được nhược điểm đó [15]. Với ưu điểm là có thể tìm được điều kiện tối ưu nhất cho sinh tổng hợp sản phẩm từ một số thực nghiệm tương đối nhỏ, phương pháp này ngày càng được ứng dụng rộng rãi để tối ưu hóa thành phần môi trường tạo CHHBMSH từ vi sinh vật [1, 3, 8, 14, 15]. Trong bài báo này,

chúng tôi xác định điều kiện môi trường tối ưu để nâng cao hiệu quả sinh tổng hợp CHHBMSH của chủng *Rhodococcus ruber* TD2 phân lập từ ven biển Việt Nam bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Đây là phương pháp đã được các tác giả sử dụng phổ biến trên thế giới nhằm nâng cao khả năng sinh tổng hợp CHHBMSH từ một số chủng vi khuẩn như: *Rhodococcus* spp. MTCC 2574 và *Rhodococcus erythropolis* MTCC 2794 [14, 15].

Sau khi nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường như: nguồn carbon, nguồn nitơ, nhiệt độ, pH và nồng độ NaCl đến khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2 [10], chúng tôi lựa chọn 3 yếu tố ảnh hưởng mạnh nhất đến quá trình sinh tổng hợp CHHBMSH là nguồn carbon, nguồn nitơ và pH để tối ưu thành phần môi trường. Đây cũng là các yếu tố đã được một số nghiên cứu chứng minh có ảnh hưởng mạnh đến quá trình tạo CHHBMSH của vi khuẩn [7, 15]. Kết quả thu được của bài báo sẽ là cơ sở dữ liệu cho việc nâng cao hiệu suất tạo CHHBMSH từ chủng *Rhodococcus ruber* TD2, góp phần giảm chi phí cho lên men sản phẩm.

**VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

Vật liệu là chủng vi khuẩn *Rhodococcus ruber* TD2 có khả năng tạo CHHBMSH phân lập từ nước ô nhiễm dầu ven biển Vũng Tàu,

nằm trong bộ sưu tập vi sinh vật biển của phòng Vi sinh vật dầu mỏ, Viện Công nghệ sinh học.

Môi trường và điều kiện nuôi cấy: chủng vi khuẩn TD2 được nuôi trong bình tam giác thể tích 500 ml với 100 ml môi trường khoáng Gost 9023-74 bổ sung 5% dầu DO, tốc độ lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ 30°C để đánh giá khả năng tạo CHHBMSH. Thành phần môi trường gồm có (g/l): Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,7; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,3; NaNO<sub>3</sub> 2; MgSO<sub>4</sub> 0,4; NaCl 10; pH 8.

**Phương pháp**

**Tách chiết CHHBMSH thô [2]:** Ly tâm dịch nuôi cấy tốc độ 6.000 rpm ở 15°C trong 15 phút để loại bỏ tế bào. Sau đó, dùng HCl 1N để hạ pH dịch nuôi cấy xuống 2 và ủ ở 4°C trong 24 giờ. Tác dụng của nhiệt độ và pH làm dịch nuôi cấy có sự phân pha rất rõ. Pha trên là CHHBMSH và pha dưới là dịch nuôi cấy. Sử dụng phễu chiết để thu hồi pha trên và làm khô sản phẩm bằng thiết bị cô quay chân không ở 50°C. Cân sản phẩm CHHBMSH thô thu được.

**Tối ưu hóa môi trường tạo CHHBMSH bằng quy hoạch thực nghiệm:** Xác định một số yếu tố ảnh hưởng bằng cách sử dụng quy hoạch trực giao đối xứng cho 3 yếu tố: dầu DO, NaNO<sub>3</sub> và pH, mỗi yếu tố tiến hành tại các mức (-1, 0, +1) như bảng 1. Quy hoạch thực nghiệm gồm 20 thí nghiệm với hàm mục tiêu là hàm lượng CHHBMSH tạo thành (m<sub>bs</sub>).

Bảng 1. Giá trị mã hóa của các yếu tố thực nghiệm

Biến số	Ký hiệu	Đơn vị	-1	0	+1
Dầu DO	X <sub>1</sub>	% (v/v)	3	5	7
NaNO <sub>3</sub>	X <sub>2</sub>	g/l	2	3	4
pH	X <sub>3</sub>		7	8	9

Xử lý số liệu thực nghiệm bằng phần mềm thống kê Design-Expert 7.1 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, Hoa Kỳ) để phân tích các hệ số quy hồi, bề mặt đáp ứng và tối ưu hóa với thuật toán hàm mong đợi.

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Quy hoạch thực nghiệm nghiên cứu tác động của 3 yếu tố môi trường đến khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2**

Từ kết quả nghiên cứu tác động của từng yếu tố dầu DO, NaNO<sub>3</sub> và pH (số liệu không đưa ra ở đây), dựa vào phần mềm DX 7.1, chúng tôi thiết lập mô hình nghiên cứu tác động của 3 yếu tố đến khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2. Phần mềm đã đưa ra mô hình gồm 20 thí nghiệm cho 3 yếu tố ảnh hưởng với hàm mục tiêu là m<sub>bs</sub>. Tiến hành thí nghiệm và tính toán hàm lượng m<sub>bs</sub> tạo thành, thu được kết quả như bảng 2.

Bảng 2. Các thí nghiệm tiến hành và kết quả thu được

STT	DO % (v/v)	NaNO <sub>3</sub> (g/l)	pH	m <sub>bs</sub> (g/l)
1	5,00	3,00	8,00	28,3
2	5,00	3,00	8,00	27,8
3	7,00	4,00	9,00	19,8
4	3,00	4,00	9,00	15,3
5	3,00	2,00	7,00	8,5
6	3,00	4,00	7,00	10,5
7	3,00	2,00	9,00	8,2
8	5,00	3,00	8,00	28,7
9	5,00	3,00	8,00	27,9
10	5,00	3,00	8,00	27,7
11	5,00	4,23	8,00	22,4
12	5,00	3,00	6,77	17,9
13	5,00	3,00	8,00	29,7
14	7,00	2,00	7,00	5,8
15	5,00	1,77	8,00	16,4
16	2,54	3,00	8,00	13,1
17	5,00	3,00	9,23	24,8
18	7,46	3,00	8,00	14,8
19	7,00	2,00	9,00	12,8
20	7,00	4,00	7,00	8,3

Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy-hàm lượng CHHBMSH tạo thành

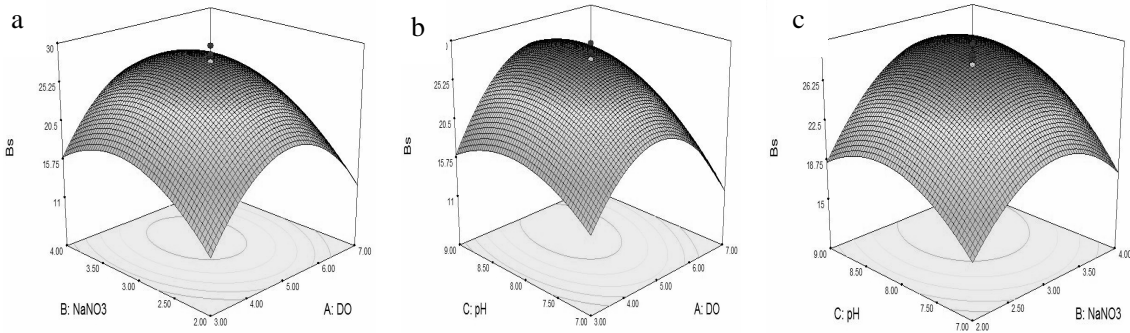
Thông số	Phương sai	Chuẩn F	Giá trị p (khả năng > F)
Model	139,51	119,10	< 0,0001
A – nồng độ DO	3,59	3,06	0,1106
B – Nồng độ NaNO <sub>3</sub>	61,22	52,26	< 0,0001
C – pH	89,92	76,76	< 0,0001
AB	0,020	0,017	0,8986
AC	24,50	20,92	0,0010
BC	11,52	9,83	0,0106
A <sup>2</sup>	408,63	348,84	< 0,0001
B <sup>2</sup>	136,25	116,32	< 0,0001
C <sup>2</sup>	74,25	63,38	< 0,0001
Không tương thích	1,77	3,07	0,1216

**Phân tích số liệu qua phần mềm thống kê Design-Expert 7.1**

Kết quả thu được từ 20 thí nghiệm nêu trong bảng 2 được đưa vào phần mềm thống kê Design-Expert 7.1 để đánh giá sự phù hợp và có nghĩa của mô hình. Sự có nghĩa của các hệ số và sự thích ứng của mô hình được tiến hành bằng phân tích hồi quy (bảng 3). Chuẩn F của mô hình là 119,10 cho thấy mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 99,99% (p<0,0001). Chuẩn F cho sự không tương thích

(Lack of fit) của mô hình là 3,07 (p=0,1216) cho thấy mô hình hoàn toàn tương thích với thực nghiệm. Hệ số tương quan bội (R-Squared) của mô hình bằng 0,9908 cho thấy mô hình mô phỏng đúng với thực nghiệm (bảng 4). Như vậy khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2 được biểu diễn bằng mô hình bậc 2 như sau:

$$m_{bs} = -269,47489 + 14,52331*A + 22,16844*B + 53,02385*C + 0,025000*A*B + 0,87500*A*C + 1,20000*B*C - 2,13130*A^2 - 4,92286*B^2 - 3,63394*C^2$$



Hình 1. Bề mặt đáp ứng của từng cặp các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2; (a): Hàm lượng DO (%v/v), hàm lượng NaNO<sub>3</sub> (g/l) thay đổi và pH cố định; (b): Hàm lượng DO (%v/v), pH thay đổi và hàm lượng NaNO<sub>3</sub> (g/l) cố định; (c): Hàm lượng NaNO<sub>3</sub> (g/l), pH thay đổi và hàm lượng DO (%v/v) cố định.

Bảng 4. Kết quả phân tích sự phù hợp của các yếu tố

Thông số	Giá trị
R-Squared	0,9908
Adj R-Squared	0,9824
Pred R-Squared	0,9581
Adeq Precision	29,169

Khi giải bài toán tối ưu hàm lượng CHHBMSH thu được từ môi trường nuôi cấy chủng TD2 bằng cách chấp mục tiêu theo thuật toán “hàm mong đợi” bởi phần mềm Design-Expert 7.1 đã tìm được 39 phương án (bảng 5). Trong đó, phương án tối ưu nhất cho chủng TD2 tạo CHHBMSH tối đa theo mô hình (đạt 28,1g/l) là phương án số 34 với các yếu tố môi trường: 5,7% DO; 3,3g/l NaNO<sub>3</sub> và pH 8,3.

Bảng 5. Kết quả chạy kiểm tra mô hình của thuật toán tối ưu

STT	DO % (v/v)	NaNO <sub>3</sub> (g/l)	pH	m <sub>bs</sub> (g/l)
1	5	3	8	27,3
2	7	4	7	7,9
3	3	2	9	7,8
4	7	2	9	12,3
5	3	2	7	8
6	7	4	9	19,6
7	3	4	9	14,8
8	7	2	7	5,5
9	3	4	7	10,2
10	5,6	2,5	7,2	20,3
11	5,2	2,4	7,5	22,6
12	5,8	3,5	7,2	21
13	5,5	2,1	8,3	21,7
14	3,7	3,3	8,9	23,1
15	5,9	3	8,7	26,9
16	6,9	2,3	8,1	16,9
17	4,9	2,7	8,5	26,6
18	5,8	3,6	7,9	25,9
19	4,2	3,5	8,1	26,1
20	3,8	2,8	8	23,8

21	5,2	2,8	7	20,7
22	4,7	3,9	7,9	25,3
23	6,9	3,2	7,1	13,8
24	6,2	2,3	7,6	19,2
25	6,7	3,3	8,5	23,9
26	3,9	2,7	8,2	24
27	3,4	2,3	8,5	17,3
28	4,7	4	7,4	21,4
29	6,7	2,8	7,2	15,9
30	5,6	3,7	8,7	27,2
31	5,2	2,4	7,3	21,2
32	5,6	2,3	8,5	23,5
33	3,3	2,3	7,5	16
34	5,7	3,3	8,3	28,1
35	6,1	3,7	8,9	25,9
36	4,1	3,3	8,2	26,1
37	3,9	4	8,8	22,5
38	4,6	2,7	8,7	25,9
39	5,2	3,1	7,5	25,5

Do phương pháp bề mặt đáp ứng được thiết lập dựa trên một số lượng hữu hạn các thực nghiệm, dẫn đến có những điểm không phản ánh đúng giá trị thực của hàm mục tiêu. Để kiểm tra tính đúng đắn của phương pháp, chúng tôi tiến hành kiểm chứng bằng thực nghiệm tại 5 điểm tối ưu bất kỳ từ 39 phương án mà thuật

toán đưa ra trong bảng 5. Chúng tôi đã lựa chọn các phương án số 1, 15, 17, 30 và 34 để tiến hành thực nghiệm với sự thay đổi của 3 yếu tố môi trường với hàm mục tiêu là  $m_{bs}$ . Sau đó, tiến hành so sánh  $m_{bs}$  của thực nghiệm với  $m_{bs}$  theo lý thuyết (bảng 6).

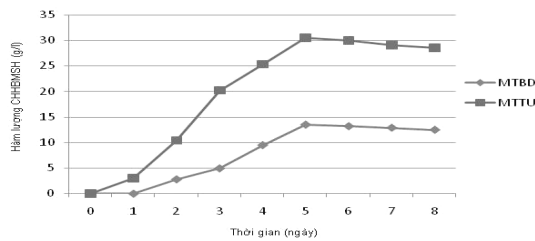
Bảng 6. So sánh kết quả tính toán theo mô hình và thực nghiệm

Phương án	DO (% v/v)	NaNO <sub>3</sub> (g/l)	pH	$m_{bs}$ (g/l) (mô hình)	$m_{bs}$ (g/l) (thực nghiệm)
1	5	3	8	27,3	28,6
15	5,9	3	8,7	26,9	27,6
17	4,9	2,7	8,5	26,6	27,1
30	5,6	3,7	8,7	27,2	28,2
34	5,7	3,3	8,3	28,1	30,1

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, sự sai khác về  $m_{bs}$  theo phương trình của mô hình và thực nghiệm tương đối nhỏ. Điều này chứng tỏ sự tính toán của mô hình và thực nghiệm tương đối thống nhất. Chúng tôi lựa chọn giá trị mà thuật toán đưa ra bao gồm: 5,7% DO; 3,3g/l NaNO<sub>3</sub> và pH 8,3 là giá trị tối ưu nhất cho khả năng tạo CHHBMSH của chủng TD2.

Khi nuôi cấy chủng TD2 trên hai môi trường bao gồm: môi trường ban đầu (MTBD) và môi trường tối ưu (MTTU) ở điều kiện nuôi lắc 200 vòng/phút, 30°C trong 8 ngày cho thấy,

trên cả hai môi trường, hàm lượng CHHBMSH tăng nhanh và đạt giá trị cực đại sau 5 ngày. Trong đó, hàm lượng CHHBMSH cực đại trên MTTU (30,1 g/l) cao hơn 2,23 lần so với MTBD (13,5 g/l) (hình 3). Như vậy, sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng trong tối ưu hóa thành phần môi trường nuôi cấy đã nâng cao hiệu quả tạo CHHBMSH của chủng TD2 một cách đáng kể. Phương pháp này cũng đã được Mutalik et al. (2008) [15] áp dụng thành công trong việc làm tăng khả năng tạo CHHBMSH của chủng *Rhodococcus* sp. MTCC 2574 lên 3,4 lần so với ban đầu.



Hình 2. Hàm lượng CHHBMSH do chủng TD2 tạo ra trên MTTU và MTBD

### KẾT LUẬN

Bằng phương pháp bề mặt đáp ứng, đã tìm được thành phần môi trường tối ưu cho chủng TD2 tạo CHHBMSH gồm: 5,7% (v/v) DO; 3,3g/l NaNO<sub>3</sub>; 0,7g/l Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,3g/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,4g/l MgSO<sub>4</sub> và pH 8,3. Khi nuôi cấy chủng TD2 trên môi trường tối ưu, hàm lượng CHHBMSH thô đạt 30,1g/l. Hàm lượng này ở giới hạn sai số cho phép so với giá trị mô hình dự đoán (28,1g/l). So với môi trường ban đầu, môi trường tối ưu đã tăng hiệu quả tạo CHHBMSH của chủng TD2 lên 2,23 lần.

**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.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Byungsoo K., Jiyeon K., 2013. Optimization of culture conditions for the production of biosurfactant by *Bacillus subtilis* JK-1 using response surface methodology. J. Korean Soci. Appl. Biological Chem., 56(3): 279-287.
- Carrillo P. G., Mardaraz C., Pitta-Alvarez S. I., Giulietti A. M., 1996. Isolation and selection of biosurfactant-producing bacteria. World J. Microbiol. Biotechnol., 12: 82-84.
- Chen J., Huang P. T., Zhang K. Y., Ding F. R., 2012. Isolation of biosurfactant producers, optimization and properties of biosurfactant produced by *Acinetobacter* sp. from petroleum-contaminated soil. J. Appl. Microbiol., 112: 660-671.
- Chenggang Z., Li Y., Lixin H., Jianlong X., Zhiyong H., 2012. Investigation of a hydrocarbon-degrading strain, *Rhodococcus ruber* Z25, for the potential of microbial enhanced oil recovery. J. Petroleum Sci. Eng., 81: 49-56.
- Erum S., Faiza A., Uzma B., Jameela A., Samina I., 2013. Classification and industrial applications of biosurfactants. Nat. App. Sci., 4(3): 243-252.
- 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.
- Graziela J. P., Elisa M. P. C., Edelvio B. G., Neu P. J., 2010. Biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* and its application to oil removal. Brazil. J. Microbiol., 41: 685-693.
- Habib A., Hakimeh S., Leila A., Atefe B., Hossein S. Z., Kambiz A. N., 2013. Response surface optimization of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* MAO1 isolated from spoiled apples. Preparative Biochem. Biotechnol., 43(4): 398-414.
- 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.
- Lại Thúy Hiền, Nguyễn Thị Yên, Vương Thị Nga, 2013. Vi khuẩn tạo chất hoạt hóa bề mặt sinh học *Rhodococcus ruber* TD2 phân lập từ nước ô nhiễm dầu ven biển Vũng Tàu. Tạp chí Sinh học, 35(4): 454-460.
- Kuyukina M. S., Ivshina I. B., 2010. *Rhodococcus* biosurfactants: biosynthesis, properties, and potential application. Microbiol. Monographs 16, DOI 10.1007/978-3-642-12937-7-11.
- Mahmoud S., Ghasemali M., Azam H., Heidar S., 2011. Emulsification potential of a newly isolated biosurfactant-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. strain TA6.

- Biointerfaces, 82: 477-482.
13. 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.
14. Moumita P. P., Bhalchandra K. V., Kiran M. D., Renuka M. J., Sanjay N. N., Bhaskar D. K., 2009. Media optimization for biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* MTCC 2794: artificial intelligence versus a statistical approach. *J. Ind Microbiol. Biotechnol.*, 36: 747-756.
15. Mutalik S. R., Vaidya B. K., Joshi R. M., Desai K. M., Nene S. N., 2008. Use of response surface optimization for the production of biosurfactant from *Rhodococcus* spp. MTCC 2574. *Bioresour Technol.*, 99(16): 7875-7880.

## MEDIUM OPTIMIZATION FOR BIOSURFACTANT PRODUCTION BY *Rhodococcus ruber* TD2 USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Vuong Thi Nga, Kieu Quynh Hoa, Tran Dinh Man, Lai Thuy Hien

Institute of Biotechnology, VAST

### SUMMARY

With the advanced properties such as excellent emulsifying activity, reducing surface tension, antitumor and immunomodulation, *Rhodococcus* biosurfactants have attracted a great deal of interest from biologists community. Development of optimized procedures for their biosynthesis would increased application potentials of *Rhodococcus* biosurfactants in new advanced technologies, such as environmental bioremediation, biomedicine, etc. The goal of this study is to determine the medium optimization for biosurfactant production by *Rhodococcus ruber* TD2 using response surface methodology (RSM) based on changes of medium component: diesel oil (DO), NaNO<sub>3</sub> and pH. All of three factors were the most significant influences on its biosurfactant biosynthesis. RSM analysis showed that the highest biosurfactant production was achieved with medium containing 5.7% (v/v) DO, 3.3 gL<sup>-1</sup> NaNO<sub>3</sub> and pH 8.3. In this condition, strain TD2 produced maximum yield of crude biosurfactant, which was 30.1 gL<sup>-1</sup> after 5 days. This value was 2.23-fold higher than before medium optimization. The data showed that RSM was highly efficient in optimizing biosurfactant production by *Rhodococcus ruber* TD2 isolated from coastal zone of Vietnam.

*Keywords:* *Rhodococcus*, biosurfactant, response surface methodology, medium optimization.

Ngày nhận bài: 15-2-2014