

KHẢ NĂNG TẠO CHẤT HOẠT HÓA BỀ MẶT SINH HỌC VÀ PHÂN HỦY DẦU THÔ CỦA CHỦNG NẤM MEN 1214-BK14 PHÂN LẬP TỪ GIẾNG KHAI THÁC DẦU Ở MỎ BẠCH HỔ, VŨNG TÀU

Kiều Thị Quỳnh Hoa*, Nguyễn Thị Yên, Đặng Thị Yên

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *ktquynhhoa@ibt.ac.vn

TÓM TẮT: Việc tìm kiếm vi sinh vật (VSV) tạo các chất hoạt hóa bề mặt sinh học (CHHBMSH) giúp tăng cường khả năng phân hủy dầu đang được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm bởi các ưu điểm vượt trội so với chất hoạt hóa bề mặt hóa học như khả năng tự phân hủy, không gây độc với môi trường, có thể duy trì hoạt tính ổn định trong các điều kiện khắc nghiệt (nhiệt độ, pH, độ muối...). Từ các chủng nấm men phân lập được tại các giếng khai thác dầu ở mỏ Bạch Hổ, Vũng Tàu, chúng tôi đã chọn lọc được chủng 1214-BK14 có khả năng sử dụng dầu thô như nguồn carbon duy nhất và tạo CHHBMSH cao. Theo phân loại bằng kit chuẩn sinh hóa API 20C AUX, chủng 1214-BK14 thuộc loài *Candida tropicalis* với độ tương đồng 99%. Hiệu quả tạo CHHBMSH của chủng 1214-BK14 tăng với chỉ số nhũ hóa E₂₄ từ 57% lên 71% khi được nuôi cấy ở các điều kiện phù hợp: pH6, 37°C, nồng độ dầu thô và (NH₄)₂SO₄ lần lượt là 4% và 0,45% (w/v). Kết quả phân tích GC/MS cho thấy, khả năng phân hủy dầu thô tổng số và các n-alkan từ C₁₀ đến C₄₃ của chủng 1214-BK14 đạt lần lượt là 83,37% và 74,54-97,46%. Kết quả nghiên cứu minh chứng tiềm năng ứng dụng của chủng nấm men *Candida tropicalis* 1214-BK14 trong việc phân hủy dầu ô nhiễm cũng như nâng cao hiệu suất khai thác dầu.

Từ khóa: Chất hoạt hóa bề mặt sinh học, chỉ số nhũ hóa (E₂₄), nấm men, phân hủy dầu thô

MỞ ĐẦU

Hiện nay, ô nhiễm môi trường do dầu thô (thành phần chủ yếu là hydrocarbon) gây ảnh hưởng không nhỏ đến hệ sinh thái và con người. Nguyên nhân chủ yếu gây ô nhiễm dầu thô là do hoạt động khai thác và vận chuyển dầu. Trong số các phương pháp xử lý dầu ô nhiễm, phương pháp phân hủy dầu thô bằng VSV đang được quan tâm nghiên cứu bởi các ưu điểm như xử lý triệt để, giá thành thấp, không gây ô nhiễm thứ cấp và thân thiện với môi trường.

Việc phân hủy hydrocarbon (HC) dầu mỏ của VSV có thể xảy ra theo hai hướng: (1) Vi sinh vật hấp thụ HC bằng cách tương tác trực tiếp giữa tế bào và giọt dầu; hoặc (2) tạo CHHBMSH để đưa hợp chất HC không tan về dạng nhũ tương giúp VSV dễ dàng tiếp xúc, sau đó sử dụng các enzyme trong tế bào để phân hủy [7]. Do đó, CHHBMSH đóng vai trò quan trọng trong quá trình xử lý dầu của VSV. Chất hoạt hóa bề mặt sinh học là hợp chất có chứa cả nhóm chức ưa nước và ưa dầu trong cùng một phân tử do VSV như vi khuẩn, nấm men và nấm mốc tạo ra. Với đặc tính như hoạt động bề mặt, nhũ tương hóa, tạo bọt, chúng có thể tập trung

lại, tác động tương hỗ lẫn nhau làm giảm sức căng bề mặt giữa pha dầu và nước, giúp VSV dễ tiếp xúc với các phân tử dầu và dễ dàng phân hủy dầu. Hơn nữa, CHHBMSH còn có thể duy trì hoạt tính khi thay đổi nhiệt độ, pH, NaCl, Ca²⁺ và Mg²⁺ trong các điều kiện khắc nghiệt. Vì vậy, CHHBMSH tạo ra được ứng dụng trong ngành công nghiệp dầu khí như làm sạch bồn chứa dầu, thu hồi cặn dầu, nâng cao hiệu suất khai thác dầu [4, 8].

Trên thế giới đã có những công bố về khả năng tạo CHHBMSH của vi khuẩn với nguồn cơ chất dầu thô như *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*.... [12]. Tuy nhiên, nghiên cứu về nấm men và khả năng tạo CHHBMSH trên nguồn cơ chất dầu thô vẫn còn hạn chế, các nghiên cứu mới chỉ tập trung trên các nguồn cơ chất dễ phân hủy như sucrose, saccharose, dầu oliu và dầu đậu nành.... CHHBMSH có nguồn gốc từ nấm men hiện đang được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực nông nghiệp, công nghiệp và xử lý ô nhiễm môi trường vì ngoài những ưu điểm như có khả năng tự phân hủy, độ độc thấp và có thể sản xuất dựa trên các nguồn cơ chất rẻ tiền,

chúng còn có khả năng tạo ra lượng sinh khối lớn và dễ nuôi cấy [2, 4, 8, 10, 14]. Ở Việt Nam, khả năng tạo CHHBMSH của nấm men mới chỉ được nghiên cứu trên các nguồn carbon là DO, ri đường, dầu oliu mà chưa có công bố nào về khả năng tạo CHHBMSH và sử dụng dầu thô như nguồn carbon duy nhất của nhóm VSV này [11]. Vì vậy, việc tìm kiếm các chủng nấm men vừa có khả năng sử dụng dầu thô như nguồn carbon duy nhất, vừa có khả năng tạo CHHBMSH trên nguồn cơ chất này có ý nghĩa về mặt khoa học và ứng dụng.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành định danh, xác định các điều kiện nuôi cấy phù hợp cho quá trình tạo CHHBMSH, đồng thời đánh giá khả năng phân hủy dầu thô của chủng nấm men 1214-BK14 phân lập tại giếng khai thác dầu ở mỏ Bạch Hổ, Vũng Tàu.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng nấm men 1214-BK14 được phân lập từ giếng khai thác dầu 1214 giàn BK14 ở mỏ Bạch Hổ, Vũng Tàu.

Môi trường Hansen:(g/l): glucose 30; K₂HPO₄ 3; NaCl 5; MgSO₄ 2; pepton 5; cao men 1, agar 20, pH6. Đánh giá khả năng tạo CHHBMSH của chủng nghiên cứu trên môi trường khoáng (g/l): (NH₄)HPO₄ 3,5; KH₂PO₄ 0,5; NaCl 5; MgCl₂ 1, MgSO₄ 0,5, pH6,5, bổ sung nguồn carbon và nitơ với nồng độ thích

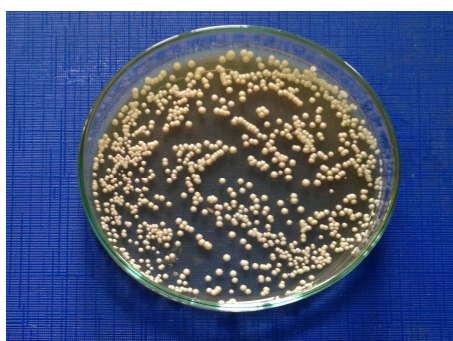
hợp. Chủng nghiên cứu được nuôi cấy trong 14 ngày với tốc độ 180 v/p ở 30°C.

Đánh giá khả năng tạo CHHBMSH của chủng nghiên cứu bằng chỉ số nhũ hóa với xylen (E₂₄) sau 14 ngày nuôi cấy [5]. Phân loại chủng nấm men 1214-BK14 bằng kit chuẩn sinh hóa API 20C AUX (bioMerieux, Pháp) với phần mềm API. Quan sát hình thái tế bào chủng nấm men nghiên cứu bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM-Scanning Electron Microscope) (S-4800, Nhật Bản với hiệu điện thế là 10kv). Đánh giá ảnh hưởng của thành phần môi trường và điều kiện nuôi cấy như nguồn carbon (dầu thô), nitơ, pH, và nhiệt độ đến sự tạo thành CHHBMSH của chủng nghiên cứu sau 14 ngày nuôi cấy. Xác định hàm lượng CHHBMSH của chủng nấm men nghiên cứu [3]. Xác định khả năng phân hủy dầu thô bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ GC/MS (Gcms 2010 Shimadzu).

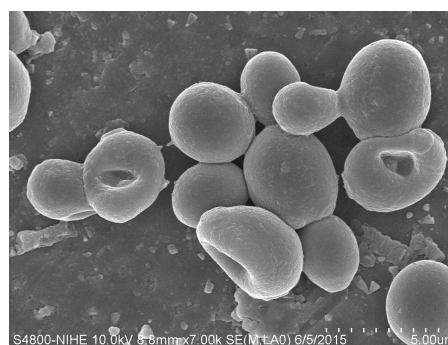
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của chủng 1214-BK14

Trên môi trường Hansen, khuẩn lạc chủng 1214-BK14 có màu trắng sữa, tròn, mép gọn, bề mặt lồi, có chóp nhọn, đường kính 0,6 mm (hình 1). Dưới kính hiển vi điện tử quét, tế bào của chủng này hình tròn, nảy chồi, bề mặt có những vết lõm (hình 2).



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của chủng 1214-BK14



Hình 2. Hình thái tế bào của chủng 1214-BK14

Phân loại chủng 1214-BK14

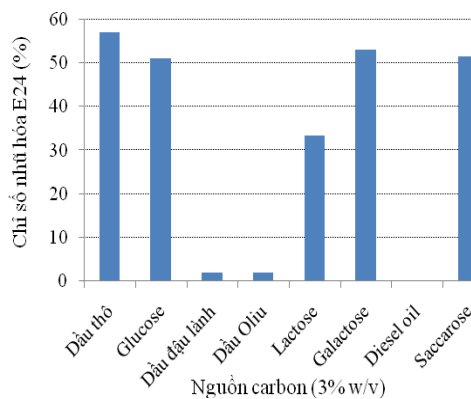
Kết quả phân loại bằng kit chuẩn sinh hóa API 20C AUX cho thấy, chủng 1214-BK14

thuộc loài *Candida tropicalis* với độ tương đồng là 99%. Trên thế giới, những công bố về khả năng sử dụng dầu thô như nguồn carbon duy

nhất cũng như khả năng tạo CHHBMSH trên nguồn cơ chất dầu thô của loài nấm men này còn hạn chế [1, 17]. Ở Việt Nam, Nguyễn Bá Tú và nnk. (2010) đã tìm thấy loài *Candida tropicalis* trong nước biển. Tuy nhiên, nhóm tác giả mới chỉ đánh giá được khả năng sử dụng và tạo CHHBMSH của chủng nghiên cứu trên hai nguồn cơ chất dễ phân hủy là ri đường và dầu oliu mà chưa đánh giá được khả năng sử dụng và tạo CHHBMSH trên nguồn cơ chất là dầu thô của chúng [11]. Vì vậy, việc phát hiện chủng *Candida tropicalis* 1214-BK14 trong nghiên cứu này sẽ mở ra triển vọng mới về khả năng sử dụng dầu thô của nấm men ở nước ta.

Ảnh hưởng của thành phần môi trường và điều kiện nuôi cấy tới khả năng tạo CHHBMSH của chủng 1214-BK14

Ảnh hưởng của nguồn carbon

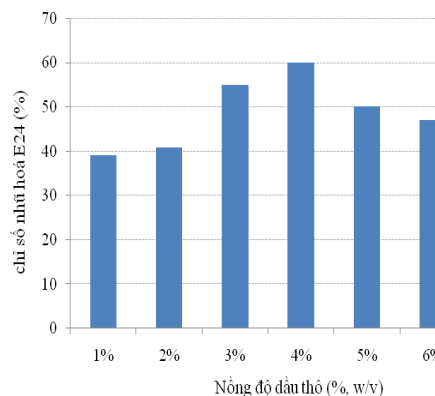


Hình 3. CHHBMSH của chủng 1214-BK14 với các nguồn carbon khác nhau

Ảnh hưởng của nồng độ carbon (dầu thô)

Để xác định nồng độ dầu thô phù hợp, chủng 1214-BK14 được tiến hành nuôi cấy trên môi trường khoáng pH 6,5 và 30°C với các nồng độ dầu thô khác nhau (1, 2, 3, 4, 5 và 6%; w/v). Kết quả (hình 4) cho thấy, ở nồng độ dầu thô 1, 2, 5 và 6% (w/v), chủng 1214-BK14 tạo nhũ hóa với xylene không cao với, chỉ số E₂₄ đạt được từ 39 đến 50%. Hàm lượng CHHBMSH cao khi nồng độ dầu thô là 3 và 4% (w/v), đặc biệt với nồng độ 4% (w/v), chỉ số E₂₄ đạt cao nhất là 60%. Như vậy, nồng độ dầu thô 4% (w/v) phù hợp với sự tạo thành CHHBMSH của

Để tìm nguồn carbon phù hợp cho quá trình tạo CHHBMSH, chủng 1214-BK14 được nuôi cấy trên môi trường khoáng ở 30°C, pH6,5 với 3% (w/v) các nguồn carbon khác nhau (dầu thô, glucose, dầu đậu nành, dầu olive, lactose, galactose, DO và saccarose và 0,35% (w/v) nguồn nitơ ((NH₄)₂SO₄). Kết quả (Hình 3) cho thấy, chủng 1214-BK14 không tạo CHHBMSH trên các nguồn carbon là dầu đậu nành, dầu oliu và DO. Chủng 1214-BK14 có khả năng tạo CHHBMSH trên nguồn cơ chất là glucose, lactose, galactose và saccarose với chỉ số nhũ hóa E₂₄ từ 33 đến 53%. Riêng với nguồn carbon là dầu thô, CHHBMSH tạo ra cao hơn cả so với các nguồn carbon khác, chỉ số nhũ hóa E₂₄ đạt 57%. Để mang lại hiệu quả xử lý cao, giảm giá thành khi ứng dụng xử lý ô nhiễm dầu, dầu thô được lựa chọn như nguồn carbon cho các nghiên cứu tiếp theo.

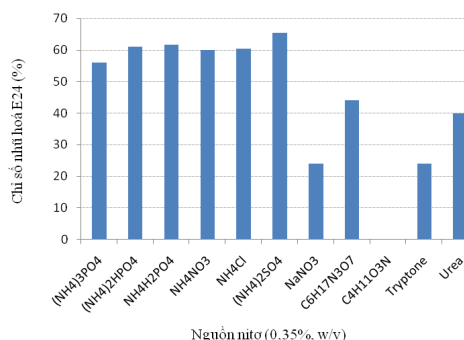


Hình 4. CHHBMSH của chủng 1214-BK14 với các nồng độ dầu thô khác nhau

chủng nấm men 1214-BK14 và được lựa chọn cho những nghiên cứu tiếp theo.

Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Để xác định ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng tạo CHHBMSH của chủng nấm men 1214-BK14, 11 nguồn nitơ khác nhau ((NH₄)₃PO₄; (NH₄)₂HPO₄; NH₄H₂PO₄; NH₄NO₃; NH₄Cl; C₄H₁₁O₃N; C₆H₁₇N₃O₇; (NH₄)₂SO₄; NaNO₃; tryptone và ure) được bổ sung riêng rẽ vào môi trường khoáng pH 6,5 và 30°C với nồng độ 0,35% (w/v). Dầu thô được bổ sung vào môi trường như nguồn carbon duy nhất với nồng độ phù hợp là 4% (w/v).

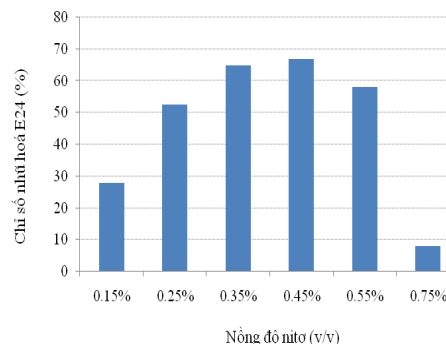


Hình 5. CHHBMSH của chủng 1214-BK14 với các nguồn nitơ khác nhau

Kết quả ở hình 5 cho thấy, chủng 1214-BK14 không tạo CHHBMSH trên nguồn nitơ là amonium citrate (C₆H₁₇N₃O₇). Với các nguồn nitơ khác như NaNO₃, tryptone hay ure chủng 1214-BK14 có khả năng tạo nhũ hóa nhưng chỉ số E₂₄ không cao chỉ đạt dưới 40%. Chủng 1214-BK14 tạo nhũ hóa khá cao với các nguồn nitơ gốc amoni (NH₄⁺) với chỉ số E₂₄ từ 56 đến 65%. Đặc biệt, với nguồn nitơ là (NH₄)₂SO₄, chủng tạo nhũ hóa cao nhất với chỉ số E₂₄ là 65%. Như vậy, nguồn nitơ ban đầu trong môi trường khoáng là (NH₄)₂HPO₄ sẽ được thay thế bằng (NH₄)₂SO₄ cho các nghiên cứu tiếp theo. Nguồn nitơ này cũng được sử dụng cho chủng *Candida albican* no.13 trong nghiên cứu của Mahdy et al. (2012) [9].

Ảnh hưởng của nồng độ nitơ ((NH₄)₂SO₄)

Để xác định nồng độ (NH₄)₂SO₄ phù hợp cho quá trình tạo CHHBMSH, chủng 1214-BK14 được tiến hành nuôi cấy trên môi trường khoáng pH6,5 và 30°C với nồng độ dầu thô là 4% và nồng độ (NH₄)₂SO₄ khác nhau (0,15; 0,25; 0,35; 0,45; 0,55 và 0,75%; w/v). Kết quả (hình 6) cho thấy, ở nồng độ (NH₄)₂SO₄ là 0,15% và 0,75% (w/v), chủng 1214-BK14 tạo CHHBMSH thấp với chỉ số E₂₄ lần lượt là <30% và <10%. Nồng độ (NH₄)₂SO₄ phù hợp cho chủng 1214-BK14 là từ 0,25 đến 0,55% với chỉ số E₂₄ là 52,7 đến 67%. Đặc biệt, ở nồng độ 0,45 %, chủng 1214-BK14 tạo CHHBMSH cao nhất với chỉ số E₂₄ là 67%. Đây là nồng độ phù hợp nhất cho quá trình tạo CHHBMSH của chủng nấm men này. Nồng độ nitơ phù hợp của



Hình 6. CHHBMSH của chủng 1214-BK14 với các nồng độ (NH₄)₂SO₄ khác nhau

các loài nấm men khác nhau không giống nhau. Điều này được Mahdy et al. (2012) [9] chứng minh qua kết quả nghiên cứu với nồng độ (NH₄)₂SO₄ phù hợp cho quá trình tạo CHHBMSH của *Candida albican* no.13 là 1%.

Ảnh hưởng của pH

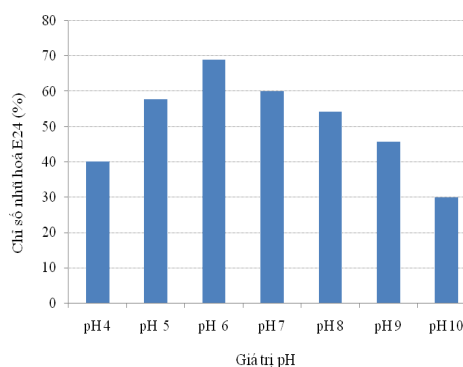
Để xác định giá trị pH phù hợp cho quá trình tạo CHHBMSH, chủng 1214-BK14 được nuôi cấy trong môi trường khoáng bổ sung 4% (w/v) dầu thô và 0,45% (w/v) (NH₄)₂SO₄ với các giá trị pH khác nhau (pH4, pH5, pH6, pH 7, pH8, pH9 và pH10) ở 30°C. Kết quả (hình 7) cho thấy, ở giá trị pH 4 và pH 10, hiệu quả tạo CHHBMSH của chủng 1214-BK14 thấp với chỉ số nhũ hóa E₂₄ dưới 40%. Ở giá trị pH từ 5 đến 8, hiệu quả tạo CHHBMSH của chủng 1214-BK14 khá cao với chỉ số nhũ hóa E₂₄ đạt từ 54 đến 69%. Đặc biệt, ở pH6, CHHBMSH được tạo ra mạnh nhất với chỉ số nhũ hóa là 69%. Do đó, pH của môi trường khoáng được điều chỉnh từ 6,5 xuống 6,0 cho các nghiên cứu tiếp theo. Padmapriya et al. (2013) [13] đã thông báo khả năng tạo CHHBMSH của chủng nấm men *Candida tropicalis* tốt ở pH8.

Ảnh hưởng của nhiệt độ

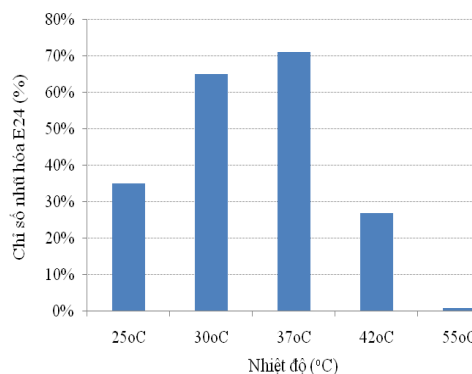
Để xác định nhiệt độ phù hợp cho quá trình tạo CHHBMSH, chủng 1214-BK14 được nuôi cấy trong môi trường khoáng bổ sung 4% (w/v) dầu thô, 0,45% (w/v) (NH₄)₂SO₄, pH6 với nhiệt độ khác nhau (25, 30, 37, 42 và 55°C). Kết quả ở hình 8 cho thấy, chủng 1214-BK14 không tạo CHHBMSH với nguồn cơ chất dầu thô ở 55°C và tạo CHHBMSH thấp ở nhiệt độ 25 và 42°C

với chỉ số E_{24} từ 27 đến 35%. Ở 30 và 37°C, hiệu quả tạo CHHBMSH của chủng 1214-BK14 là cao nhất với chỉ số E_{24} cao lần lượt là 65 và 71%. Do đó, nhiệt độ 37°C sẽ được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo. Padmapriya et al.

(2013) và Mahdy et al. (2012) đã chỉ ra rằng nhiệt độ phù hợp nhất cho hai chủng nấm men *Candida tropicalis* và *Candida albical* no.13 là 40°C [9, 13].



Hình 7. CHHBMSH của chủng 1214-BK14 với các giá trị pH khác nhau



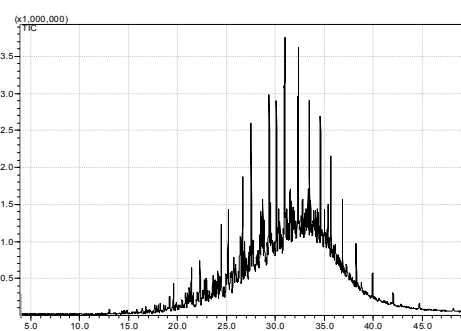
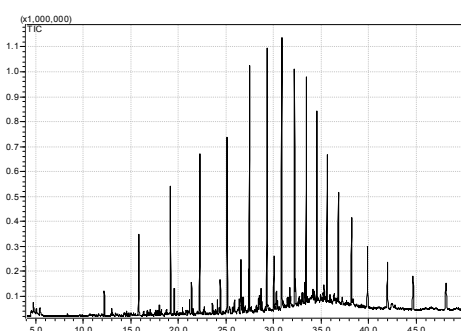
Hình 8. CHHBMSH của chủng 1214-BK14 với nhiệt độ khác nhau

Hàm lượng CHHBMSH tạo bởi chủng 1214-BK14 ở điều kiện phù hợp

Chủng 1214-BK14 được lên men trên môi trường khoáng bổ sung 4% (w/v) dầu thô, 0,45% (w/v) $(NH_4)_2SO_4$, pH6, ở 37°C. Sau 14 ngày, chỉ số nhũ hóa E_{24} của chủng này đạt được là 71%. Khopade et al. (2012) đã thông báo khả năng tạo CHHBMSH của nấm men *Nocardiopsis* với chỉ số nhũ hóa tương đương, tuy nhiên nguồn cơ chất mà chủng nấm men

trong nghiên cứu này sử dụng là dầu oliu chứ không phải dầu thô [6]. Hàm lượng CHHBMSH của chủng 1214-BK14 đạt được sau khi tách chiết bằng phương pháp của Amezcua-Veja [3] là 1,2 g/l, tương đương với chủng nấm men *Candida lipolytica* trong nghiên cứu của Santos et al. (2013) [16] khi sử dụng cùng phương pháp tách chiết.

Khả năng phân hủy dầu thô của chủng 1214-BK14



Hình 9. Kết quả phân tích GC/MS mẫu dầu thô của chủng 1214-BK14 (A) và mẫu đối chứng (chỉ có dầu thô) (B) sau 14 ngày nuôi cấy

Khả năng phân hủy dầu thô của chủng 1214-BK14 được đánh giá bằng GC/MS sau 14

ngày nuôi cấy với các điều kiện phù hợp (hình 9). Kết quả cho thấy, hiệu quả phân hủy dầu thô

tổng số của chủng 1214-BK14 đạt 83,37%. Bên cạnh đó, hiệu quả phân hủy n-alkan từ C₁₀ đến C₄₃ của chủng này đạt từ 74,54 đến 97,64%. Hiệu quả phân hủy dầu thô cao của chủng 1214-BK14 có thể là do chủng này vừa có khả năng sử dụng dầu thô như nguồn carbon duy nhất vừa có khả năng tạo CHHBMSH trên nguồn carbon này. Theo Zhang et al. (2011) [18], CHHBMSH ramnolipids có vai trò giúp VSV phân hủy HC tổng số có mặt trong đất đạt 86,97%. Khả năng phân hủy dầu thô của chủng nấm men *Pseudozyma putida* cũng đã được Sajna et al. (2015) [15] chứng minh khi bổ sung CHHBMSH. Tuy nhiên, mạch HC mà chủng này phân hủy được là từ C₁₀ đến C₂₃ ngắn hơn so với mạch HC mà chủng 1214-BK14 phân hủy được trong nghiên cứu này.

KẾT LUẬN

Từ các chủng nấm men phân lập được ở các giếng khai thác dầu ở mỏ Bạch Hổ, chúng tôi đã lựa chọn và phân loại được chủng 1214-BK14 thuộc loài *Candida tropicalis* với độ tương đồng 99% bằng kit chuẩn sinh hóa API 20C AUX. Hiệu quả tạo CHHBMSH của chủng 1214-BK14 cao nhất trong điều kiện nuôi cấy phù hợp là 4% (w/v) dầu thô, 0,45% (w/v) (NH₄)₂SO₄, pH6 và 37°C. Sau 14 ngày nuôi cấy, chủng 1214-BK14 tạo ra 1,2 g CHHBMSH với chỉ số nhũ hóa E₂₄ là 71%. Kết quả GS/MS cho thấy, hiệu quả phân hủy dầu thô tổng số của chủng 1214-BK14 là 83,37%. Khả năng phân hủy n-alkan từ C₁₀ đến C₄₃ đạt từ 74,54 đến 97,46%. Kết quả cho thấy chủng 1214-BK14 có tiềm năng ứng dụng trong việc phân hủy ô nhiễm dầu cũng như nâng cao hiệu suất khai thác dầu vì vừa có khả năng tạo CHHBMSH cao vừa có khả năng phân hủy dầu thô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Accorsini R., Mutton M. J. R., Lemos E. G. M., Maria B. M., 2012. Biosurfactants production by yeasts using soybean and glycerol oil and glycerol as low cost substrate. Brazilian J. of Microbiol., 116-125.
2. Amaral P. F., Coelho M. A., Marrucho I. M., Coutinho J. A., 2010. Biosurfactants from yeasts: characteristics, production and application. Adv. Exp. Med. Biol., 672: 236-49.
3. Amezcua-Veja C., Poggi H. M., Esparza G. F., Rios L. E., Rodrigues V. R., 2007. Effect of culture conditions on fatty acids composition of a biosurfactant produced by a *Candida ingens* and changes of surface tension of culture media. Biores. Technol., 98: 237-240.
4. Cassia F. S. S., Almeida G. D., Rufino D. R., Luna M. J., Santos A. V., Sarubbo A. A. L., 2014. Applications of Biosurfactants in the Petroleum Industry and the Remediation of Oil Spills. Int. J. Mol. Sci., 15: 12523-12542.
5. Cooper D. G., Cavaleiro D. A., 2003. The effect of medium composition on the structure and physical state of sophorolipids produced by *Candida bombicola* ATCC 22214. J. Biotechnol., 103: 31-41.
6. Khopade A., Biao R., Liu X., Mahadik K., Zhang L., Kokare C., 2012. Production and stability studies of the biosurfactant isolated from marine *Nocardiopsis* sp. B4. Desalination, 285: 198-204.
7. Lại Thúy Hiền, 2011. Giáo trình vi sinh vật dầu mỏ. Nxb. Khoa học tự nhiên và Công nghệ. tr 99-100.
8. Liu F. J., Mbadanga M. S., Yang Z. S., Gu D. J. Zhong B., 2015. Chemical Structure Property and Potential Applications of Biosurfactants Produced by *Bacillus subtilis* in Petroleum Recovery and Spill Mitigation. Int. J. Mol. Sci., 16: 4814-4837.
9. Mahdy M. H., Mohamed A. F., Mohamed N. H., 2012. Production of Biosurfactant from Certain *Candida* strains Under Special Conditions. Researcher, 4(7): 39-55.
10. Matvyeyeva O. L., Vasylenko A. O., Aliieva R. O., 2014. Microbial Biosurfactants Role in Oil Products Biodegradation. Inter. J. of Environ. Bio. & Biodegra., 2(2): 69-74.
11. Nguyễn Bá Tú, Lại Thúy Hiền, Lê Thị Nhi Công, Phạm Thị Bích Hợp, Trần Đình Mẫn

2010. Nghiên cứu sản xuất chất hoạt hóa bề mặt sinh học từ các chủng nấm men phân lập tại vùng biển Cát Bà và Vũng Tàu. Tạp chí Công nghệ Sinh học, 8(3B): 1573-1582.
12. Obayori S. O., Ilori O. M., Adebusoye A. S., Oyetibo O. G., Omotayo E. A., Amund O. O., 2009. Degradation of hydrocarbons and biosurfactant production by *Pseudomonas sp.* strain LP1. World J Microbiol. Biotechnol., 25: 1615-1623.
13. Padmapriya B., Suganthi S., 2013. Antimicrobial and Anti Adhesive Activity of Purified Biosurfactants Produced by *Candida* species. Middle-East J. of Scien. Research., 14 (10): 1359-1369.
14. Rufino D.R., Luna M.J, Galba M., Asfora S., 2014. Characterization and properties of the biosurfactant produced by *Candida lipolytica* UCP 0988. Elec. J. of Biotech., 17: 34-38.
15. Sajna K. V., Sukumaran R. K., Gottumukkala L. D., Pandey A., 2015. Crude oil biodegradation aided by biosurfactants from *Pseudozyma sp.* NII 08165 or its culture broth. Bioresour Technol., 191: 133-9.
16. Santos K. F. D., Rufino D. R., Luna M. J., Santos A. V., Salguero A. A., Sarubbo A. L., 2013. Synthesis and evaluation of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using animal fat and corn steep liquor. J. of Petro. Sci. and Engi., 105: 43-50.
17. Solaiman D. K.Y., Ashby R. D., Nunez A., Foglia T. A., 2004. Production of sophorolipids by *Candida bombicola* grown on soy molasses as substrate. Biotechnol. Lett., 26: 1241-5.
18. Zhang W. L, Huang C., Song W., Huang Y., 2011. An experiment study on the bio-surfactant-assisted remediation of crude oil and salt contaminated soils. J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng., 46: 306-313.

THE ABILITY OF CRUDE OIL DEGRADATION AND BIO-SURFACTANT PRODUCTION BY AN YEAST STRAIN (1214-BK14) ISOLATED FROM PRODUCING OIL WELL AT WHITE TIGER OIL FIELD, VUNG TAU, VIETNAM

Kieu Thi Quynh Hoa, Nguyen Thi Yen, Dang Thi Yen

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

The interest in microbial surfactants has been steadily increasing in recent years, as the microbial surfactants have numerous advantages compared to chemical surfactants, such as a lower toxicity, better environmental compatibility and effective properties at extreme temperature, pH levels and salinity. A highly biosurfactant-producing strain of yeast, 1214-BK14 was selected among the isolated strains from producing oil wells at White Tiger oil field in Vung Tau, Vietnam. The identification using API 20C AUX showed that the 1214-BK14 strain similar 99% with *Candida tropicalis*. The suitable condition for the biosurfactant production by the strain 1214-BK14 were found to be 37°C, pH6, 4% and 0,45% (w/v), for temperature, initial solution pH, initial concentration of carbon substrate (crude oil), and initial concentration of nitrogen substrate ((NH₄)₂SO₄), respectively, and the emulsification index (E₂₄) measured in the conditions was 71%. The total crude oil and C₁₀ - C₄₃ alkanes degradation efficiency by the strain 1214-BK14 estimated using GC/MS were 83,37% and 74,54-97,46%, respectively. These results revealed that the strain 1214-BK14 exhibited a tremendous potential for contaminated-crude oil degradation and microbial enhanced oil recovery (MEOR).

Keywords: Bio-surfactant, emulsification index (E₂₄), yeast, crude oil degradation.

Ngày nhận bài: 28-9-2015