

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN NẤM SỢI ẢNH HƯỞNG ĐẾN KHẢ NĂNG BẢO VỆ KIM LOẠI CỦA VẬT LIỆU MỠ THỬ NGHIỆM TẠI HÒA LẠC

NGÔ CAO CƯỜNG ⁽¹⁾, ĐỖ THỊ TUYẾN ⁽¹⁾, NGUYỄN THỊ KIM THANH ⁽¹⁾,
NGUYỄN THU HOÀI ⁽¹⁾, NGUYỄN VIỆT THẮNG ⁽²⁾, NGHIÊM XUÂN BÁCH KHOA ⁽¹⁾,
БЕЛЬСКИЙ СЕРГЕЙ ВИКТОРОВИЧ ⁽²⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê, hàng năm trên thế giới có từ 10 - 30% kim loại sản xuất ra bị ăn mòn [1]. Ăn mòn kim loại được hiểu là sự phá hủy vật liệu khi có sự tương tác hóa học với môi trường gây ăn mòn [2]. Ăn mòn được chia thành hai loại đó là ăn mòn hóa học và ăn mòn điện hóa học [1, 2]. Một số tác nhân gây ăn mòn như HCl trong điều kiện ống lò hơi [3], hay SO₂, Cl⁻, nhiệt độ và độ ẩm trong điều kiện khí quyển, amoniac ăn mòn đồng [2]. Ngoài ra, vi sinh vật cũng được cho là tác nhân gây ăn mòn kim loại [3].

Để hạn chế ăn mòn kim loại, một số giải pháp đã được đưa ra như: bảo quản bằng khí khô [4], cải tiến vật liệu như thép không gỉ kháng khuẩn [5], sử dụng một số loại lớp phủ để cách ly bề mặt kim loại với các tác gây ăn mòn [1]. Hiện nay, áp dụng lớp phủ để bảo vệ bề mặt vật liệu nói chung và kim loại nói riêng được nhiều nhà khoa học chú ý [1]. Trong số các vật liệu bảo vệ bề mặt, mỡ đang được áp dụng để bảo vệ kim loại khỏi sự ăn mòn do các tác nhân có trong nước biển, hoặc bảo vệ bề mặt kim loại có hình học phức tạp tiếp xúc với không khí hoặc môi trường nước [6].

Mỡ cấu tạo chủ yếu từ các hydrocacbon và có thể bị phân hủy bởi các vi sinh vật [7]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh vi sinh vật có khả năng phân hủy các hợp chất có nguồn gốc hydrocacbon như dầu, mỡ [7], gây tiêu hao về mặt số lượng và ảnh hưởng đến đặc tính kỹ thuật của dầu, mỡ. Nghiên cứu của Rodrigues và cs cho thấy, nấm có thể đồng hóa mỡ làm nguồn cơ chất và thay đổi đặc tính kỹ thuật của mỡ [9]. Khả năng sử dụng mỡ làm cơ chất xuất phát từ khả năng sinh tổng hợp một số loại axit hữu cơ, enzyme trong quá trình sinh trưởng của nấm sợi [8]. Đây là tác nhân gây ăn mòn điện hóa đối với kim loại [2]. Ngoài ra, nấm còn sinh tổng hợp một số enzyme ngoại bào [9], trong đó, một số thuộc nhóm hydrolase như lipase có khả năng phân hủy dầu mỡ, PAHs và các chất hữu cơ phức tạp [9]. Một số chi nấm như *Giberella*, *Mortierella*, *Fusarium*, *Trichoderma* và *Penicillium* có khả năng sinh enzyme và phân hủy dầu mỡ [7].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi bước đầu đánh giá (1) mức độ đa dạng của nấm sợi có trên các mẫu mỡ phoi tại sân thử nghiệm Hòa Lạc, (2) khả năng sinh một số enzyme ngoại bào có liên quan đến phân hủy dầu mỡ và (3) mức độ gây hại của nấm sợi đến mỡ; qua đó, đánh giá sự sinh trưởng và phát triển của nấm sợi ảnh hưởng đến khả năng bảo vệ chống ăn mòn của mỡ đối với kim loại thử nghiệm. Những kết quả này sẽ cung cấp thông tin để xây dựng quy trình thay thế vật liệu mỡ bảo vệ hoặc bổ sung các chất diệt nấm để kéo dài thời gian bảo vệ của vật liệu mỡ trong điều kiện thực tế.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

04 mẫu mỡ: Mỡ GOI/(VN; mỡ chịu mặn AMC-3/VN; mỡ PVK/VN do Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga sản xuất và mỡ PVK/Nga được phủ trên thép mác CT3 kích thước (50x100x2)mm treo trên giá trong nhà có mái che không có tường bao tại Trạm thử nghiệm tự nhiên Hòa Lạc (Thạch Thất/ Hà Nội) trong 24 tháng. Các mẫu mỡ có dấu hiệu hiệu nhiễm nấm (xuất hiện các đốm trắng, xanh và đen trên bề mặt) được thu thập, đựng trong túi vô trùng, vận chuyển về phòng thí nghiệm và bảo quản ở 4°C cho đến khi tiến hành phân lập.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp lấy và xử lý mẫu: Sử dụng tấm bông đã vô trùng quét toàn bộ bề mặt mẫu mỡ bị nhiễm nấm, thu đầu tấm và cho vào bình chứa sẵn nước cất khử trùng đã bổ sung Tween 80 nồng độ 0,005%, lắc 200 vòng/phút trong 30 phút [8].

Phương pháp phân lập nấm: Mẫu tấm bông được phân lập bằng cách phết đều trên đĩa chứa môi trường Czapek-Dox. Các chủng nấm được tách riêng rẽ trên môi trường Czapek-Dox [10].

Nghiên cứu đặc điểm sinh học nấm: Các chủng nấm được nuôi cấy trong tủ ấm 28-30°C trên môi trường Czapek-Dox cấy lamên nghiêng. Sau 72 giờ, lamên được lấy ra quan sát hình thái cuống sinh bào tử và bào tử bằng kính hiển vi quang học [11].

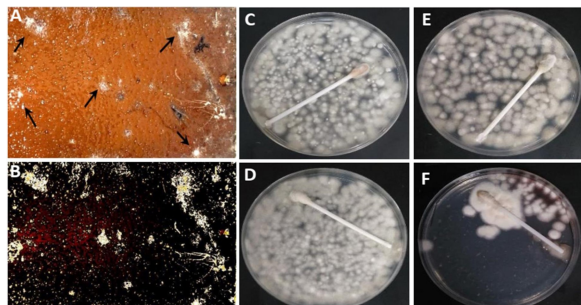
Đánh giá khả năng sinh một số enzyme của các chủng nấm: Để xác định hoạt tính của cellulase, amylase, protease và lipase dùng phương pháp đục lỗ thạch. Các chủng nấm được nuôi cấy trên môi trường thạch cơ chất (bổ sung 1% CMC, tinh bột, casein và tween 80). Hoạt tính enzyme được đo bằng hiệu số D - d (trong đó D là đường kính vòng phân giải (mm), d là đường kính của lỗ thạch (mm) [12].

Phân loại nấm dựa trên phân tích trình tự gen ITS1-5,8S-ITS2: DNA tổng số của nấm được tách chiết bằng kit Fungi/Yeast DNA Extraction (Norgen, Canada). Trình tự ITS1-5,8S-ITS2 được nhân lên từ DNA tổng số với cặp mồi ITS1F (5'- CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A - 3'); ITS4 (5' - TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC - 3'). Sản phẩm PCR được tinh sạch, giải trình tự trên máy đọc trình tự động ABI PRISM® 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) tại công ty 1st BASE (Singapore). Các trình tự được xử lý bằng phần mềm BioEdit (ver. 6.0.7, Mỹ) và so sánh với các trình tự tương ứng của các chủng đã được đăng ký trên GenBank bằng công cụ BLAST trên NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Cây phả hệ được xây dựng bằng phần mềm Mega (ver.7) [8].

Đánh giá mức độ gây hại của nấm sợi: mẫu mỡ nhiễm nấm được chụp bằng máy ảnh Canon EOS 3000D, tiến hành phân tích mức độ bao phủ của các khuẩn lạc nấm trên hình ảnh bằng phần mềm ImageJ v.1.51 software. Các mẫu vật liệu được bảo vệ (thép mác CT3) được chụp ảnh sau khi loại bỏ lớp mỡ bảo vệ bằng dung dịch Extrem (Mỹ), đánh giá mức độ ăn mòn bằng phần mềm ImageJ v.1.51 software [8].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định nấm sợi trên mẫu mỡ phủ kim loại thử nghiệm tại Hòa Lạc



Hình 1. A và B - Mẫu GOI/VN nhiễm nấm được chụp bằng máy ảnh, mũi tên chỉ một số vị trí nhiễm nấm điển hình; C-hình ảnh phân lập nấm mỡ GOI/VN, D-hình ảnh phân lập nấm mỡ AMC-3/VN, E-hình ảnh phân lập nấm trên mẫu mỡ PVK/VN, F- hình ảnh phân lập nấm trên mẫu mỡ PVK/Nga

Nấm phát triển hình thành khuẩn lạc trải rộng bề mặt mẫu mỡ (Hình 1A và 1B). Phân lập các mẫu mỡ GOI/VN, mỡ AMC-3/VN, mỡ PVK/VN và mẫu mỡ PVK/Nga thu được các khuẩn lạc nấm sợi thể hiện trên Hình 1C, 1D, 1E và 1F. Dựa vào màu sắc, đặc điểm bề mặt khuẩn lạc các chủng nấm được kiểm đếm và phân vào các nhóm khác nhau (bảng 1).

Kết quả phân lập bốn mẫu mỡ thử nghiệm đều xuất hiện nấm sợi, mẫu mỡ M3 ghi nhận số khuẩn lạc cao nhất trong bốn mẫu nghiên cứu (mật độ nấm sợi đạt 8 CFU/cm²). Mẫu M1 ghi nhận có số lượng và mật độ khuẩn lạc cao thứ hai (7,2 CFU/ cm²), tiếp đến là mẫu M2 (5,2/cm²), mẫu M4 ghi nhận số lượng và mật độ khuẩn lạc nhỏ nhất trong bốn mẫu (bảng 1). So sánh kết quả hai mẫu mỡ cùng loại PVK/VN (mẫu M3) và PVK/Nga (mẫu M4) sản xuất cho thấy có sự khác biệt về số lượng và mật độ khuẩn lạc, tổng số khuẩn lạc thu được trên mẫu M3 cao gấp 9,3 lần so với mẫu M4. Về mức độ đa dạng chủng loại, trên ba mẫu mỡ M1, M3, M4 ghi nhận được 3 chủng có hình thái khác biệt trong khi mẫu M2 ghi nhận được 2 chủng (bảng 1).

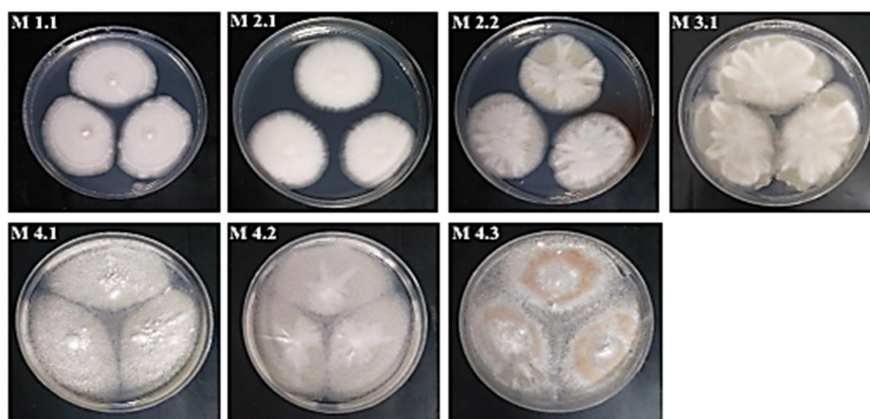
Bảng 1. Kết quả phân lập nấm sợi từ 4 mẫu mỡ nhiễm nấm thu thập tại sân thử nghiệm Hòa Lạc

Kí hiệu mẫu	Tên mỡ	Tổng số khuẩn lạc (CFU)	Kí hiệu chủng	Số lượng	Mật độ (CFU/cm ²)
M1	Mỡ GÔI/VN	360	M1.1	175	7,2
			M1.2	155	
			M1.3	130	
M2	Mỡ AMC-3/VN	260	M2.1	106	5,2
			M2.2	154	
M3	Mỡ PVK/VN	400	M3.1	60	8
			M3.2	260	
			M3.3	80	
M4	Mỡ PVK/Nga	43	M4.1	12	0,86
			M4.2	5	
			M4.3	26	

Trong điều kiện mẫu phối đồng nhất sự sai khác về kết quả giữa các mẫu do các mẫu mỡ có thành phần hydrocacbon khác nhau. Mẫu mỡ M4 có số khuẩn lạc và mật độ thấp nhất trong bốn mẫu có thể là do chất kháng khuẩn bổ sung đã hạn chế sự sinh trưởng của nấm sợi. Mật độ nấm sợi ghi nhận trên các mẫu mỡ thấp hơn so với kết quả phân lập nấm sợi trên vật liệu kính ống nhôm, đạt trên 100 CFU/cm² [8].

Theo một số nghiên cứu, bào tử nấm xâm nhiễm vào bề mặt vật liệu từ không khí [13], phát triển hệ sợi và tạo thành khuẩn lạc. Do đặc tính bám dính của mỡ làm cho sợi nấm không lan rộng mà chỉ hình thành khuẩn lạc tại một điểm (hình 1A).

Từ mẫu M1 thu được 03 chủng nấm ký hiệu M1.1, M1.2 và M1.3 có khuẩn lạc hình tròn mịn, sợi trắng, bào tử mịn, tâm khuẩn lạc lõm, gần mép khuẩn lạc có vòng trắng hơi lõm, mặt trái trắng. Từ mẫu M2 thu được 02 chủng nấm ký hiệu là M2.1 và M2.2 có khuẩn lạc hình tròn, dạng len mịn, màu xanh lục, có những vết trắng trên bề mặt, mặt trái màu trắng có vết vàng. Từ mẫu M3 thu được 03 chủng ký hiệu là M3.1, M3.2 và M3.3 có khuẩn lạc mịn, lúc đầu màu trắng sau chuyển sang màu xám xanh xen lẫn trắng, mặt trái màu trắng có vết vàng. Mẫu M4 ghi nhận 03 chủng được ký hiệu là M4.1, M4.2 và M4.3 có khuẩn lạc tròn, bông xốp, tâm hơi lõm màu trắng xung quanh màu cam đến xám, mặt trái màu vàng (Hình 2). Qua đặc điểm hình thái nhận thấy chủng M1.2 tương đồng với chủng M2.1 phân lập ở mẫu M2 và chủng M3.3 phân lập ở mẫu M3, trong khi đó chủng M1.3 tương đồng với chủng M2.2 phân lập ở mẫu M2 và chủng M3.2 phân lập ở mẫu M3. Dựa vào đặc điểm khuẩn lạc và màu sắc 7 chủng nấm sợi đại diện đã được lựa chọn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo (hình 2). Để biết về thành phần loài nấm sợi phân lập, định danh bằng so sánh trình tự ITS đã được thực hiện.

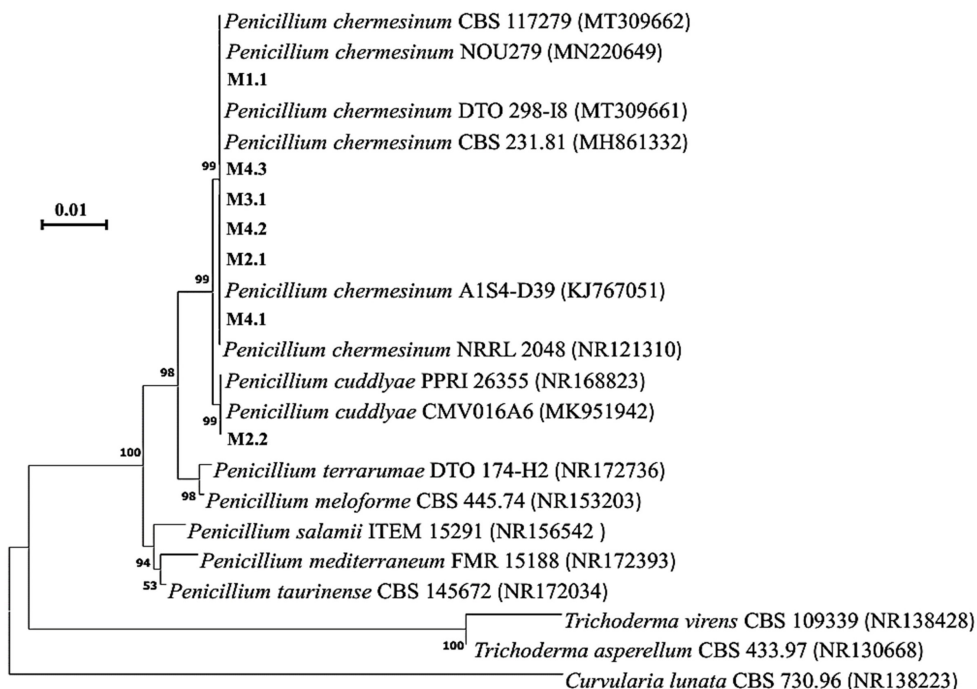


Hình 2. Đặc điểm khuẩn lạc 7 chủng nấm sợi điển hình phân lập từ 4 mẫu mỡ nhiễm nấm

Phân tích vùng trình tự ITS cho thấy chủng M1.1 có độ tương đồng cao với *Penicillium chermesinum* DTO 298-I8 (99,61%), chủng M2.2 có độ tương đồng cao với *Penicillium cuddlyae* CMV016A6 (98,43%), các chủng M2.1, M3.1, M4.2, M4.3 cùng một nhóm trên cây và tương đồng cao với chủng *Penicillium chermesinum* CBS 231.81 và *Penicillium chermesinum* A1S4-D39 (hình 3). Có thể

thấy đặc điểm khuẩn lạc 7 chủng phân lập khác nhau (hình 2), tuy nhiên khi phân tích trình tự vùng ITS cho thấy 7 chủng nấm sợi đều thuộc chi *Penicillium*. Chủng M2.2 được định danh thuộc loài *Penicillium cuddlyae* và đăng ký trên ngân hàng Genbank với mã số MZ817948, các chủng M1.1, M2.1, M3.1, M4.1, M4.2, M4.3 được định danh thuộc loài *Penicillium chermesinum* và đăng ký trên ngân hàng Genbank (NCBI) với mã số lần lượt là MZ817946, MZ817947, MZ817949, MZ817950, MZ817951, MZ817952.

Các công bố cho thấy *Penicillium chermesinum* là loài nấm có thể cộng sinh trong thực vật [14], bắt gặp trên vật liệu vải ở Mỹ [15]. *Penicillium chermesinum* phân lập từ mẫu đất nhiễm dầu mỏ tại Indonesia được chứng minh có khả năng phân hủy một số hợp chất hydrocacbon có nguồn gốc dầu mỏ dạng mạch thẳng và mạch vòng [16]. Ngoài ra, *Penicillium chermesinum* được sử dụng để phân hủy dầu mỡ từ động thực vật để sản xuất axit béo [17]. Hiện chúng tôi chưa thấy có nghiên cứu nào công bố *Penicillium chermesinum* sinh trưởng trên vật liệu mỡ bảo quản.



Hình 3. Cây phát sinh loài của các chủng M1.1; M2.1; M2.2; M3.1; M4.1; M4.2; M4.3 và các chủng đại diện tham chiếu với giá trị Bootstrap 1000 sử dụng thuật toán Gamma và Kimura 2. Chủng *Curvularia lunata* CBS 145672, *Trichoderma virens* CBS 109339 và *Trichoderma asperellum* CBS 433.97 sử dụng làm nhóm ngoài

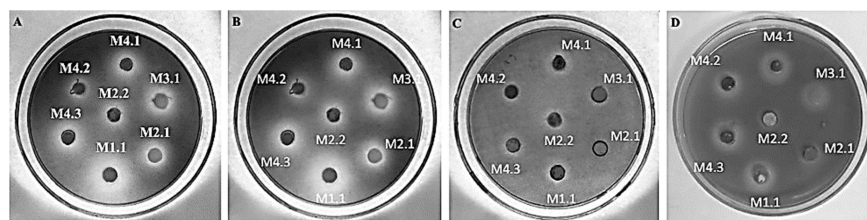
3.2. Xác định khả năng sinh enzyme ngoại bào

Hoạt tính sinh tổng hợp bốn loại enzyme của 7 chủng nấm sợi được tiến hành thử hoạt tính đồng thời khả năng phân giải tinh bột, CMC, casein và tween 80, kết quả được thể hiện trong bảng 2 và hình 4.

Bảng 2. Khảo sát khả năng sinh tổng hợp một số enzym ngoại bào của nấm sợi phân lập trên các mẫu mỡ tại Hòa Lạc

Kí hiệu	Đường kính vòng phân giải (mm)			
	Protease	Amylase	Cellulase	Lipase
M1.1	$5 \pm 0,5$	$10 \pm 0,5$	$5 \pm 0,5$	$8 \pm 0,5$
M2.1	-	$5 \pm 0,5$	-	+
M2.2	$3 \pm 0,5$	$3 \pm 0,5$	$4 \pm 0,5$	+
M3.1	+	$6 \pm 0,5$	+	$6 \pm 0,5$
M4.1	$5 \pm 0,5$	$4 \pm 0,5$	$6 \pm 0,5$	$8 \pm 0,5$
M4.2	$4 \pm 0,5$	+	$4 \pm 0,5$	$7 \pm 0,5$
M4.3	$5 \pm 0,5$	$7 \pm 0,5$	$5 \pm 0,5$	$7 \pm 0,5$

Ghi chú: - không có vòng phân giải; + có vòng phân giải <2mm



Hình 4. Khả năng sinh tổng hợp enzym của 7 chủng nấm sợi: hình 4A- enzym protease; hình 4B- enzym amylase; hình 4C- enzym cellulase; hình 4D- enzym lipase

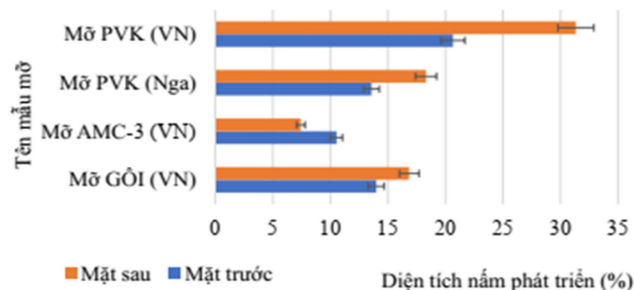
Kết quả bảng 2 và hình 4, cho thấy 7 chủng nấm sợi có khả năng sinh tổng hợp từ 1 đến 4 enzyme ngoại bào trong số bốn enzym khảo sát. Chủng M2.1 sinh một enzym (Amylase), có hai chủng sinh cả bốn loại enzym khảo sát (M1.1 và M4.1), có hai chủng sinh ba loại enzym (M2.2 và M4.2), chủng M3.1 ghi nhận sinh tổng hợp hai loại enzym. Có 71,43% (5/7) số chủng có khả năng sinh tổng hợp enzym protease, amylase ghi nhận 85,71% số chủng (6/7) số chủng, cellulase ghi nhận 57,14% (4/7) số chủng và lipase ghi nhận số chủng thấp nhất 42,86% (3/7) chủng khảo sát.

Có ít công bố về khả năng sinh tổng hợp enzym của nấm *Penicillium chermesinum*, chủ yếu nghiên cứu về khả năng tạo một số hợp chất chống oxy hóa và polyketide từ chủng này [18]. Có thể thấy ba chủng M1.1, M2.2 và M4.3 là các chủng nấm có khả năng phá hủy mỡ mạnh hơn các chủng còn lại.

3.3. Đánh giá mức độ phá hủy vật liệu mỡ và khả năng bảo vệ kim loại

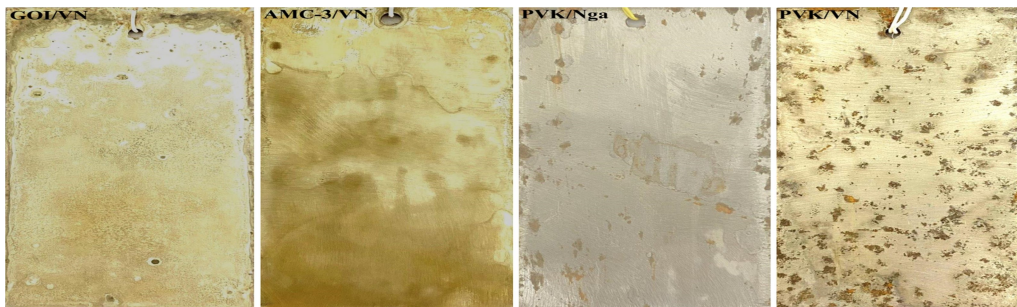
Kết quả phân tích ảnh chụp các mẫu mỡ nhiễm nấm thấy mẫu mỡ PVK/VN ghi nhận sợi nấm phát triển 31% diện tích bề mặt, trong khi đó mẫu mỡ PVK/Nga sản xuất ghi nhận sợi nấm phát triển 18,3%, mẫu mỡ AMC-3/VN và mỡ GOI/VN có diện tích nấm lần lượt là 7,4 % và 16,8% (hình 5). Đánh giá theo GOST 9089-89 mỡ PVK/VN

có cấp độ nấm phát triển đạt cấp 3, là cấp không bền trong điều kiện thử nghiệm. Mẫu mỡ chịu mặn AMC-3/VN đạt cấp độ 1, hai mẫu mỡ GOI/VN, PVK/Nga đạt cấp độ 2 theo GOST [19].

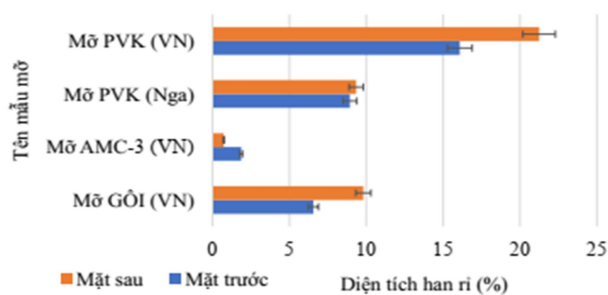


Hình 5. Mức độ nhiễm nấm của các mẫu mỡ thử nghiệm tại Hòa Lạc sau thời gian 24 tháng

Theo Benbouzid và cs, các trường hợp ăn mòn đối với kim loại xác định chủ yếu do các sản phẩm sinh tổng hợp bởi nấm sợi [20]. Kết quả đánh giá mức độ ăn mòn của mẫu thép thử nghiệm được thể hiện trong Hình 6 và Hình 7.



Hình 6. Ảnh đánh giá mức độ ăn mòn trên bề mặt tấm kim loại sau khi tẩy mỡ bảo vệ, mẫu được chụp bằng máy ảnh và tính diện tích ăn mòn bằng phần mềm ImageJ



Hình 7. Mức độ ăn mòn của các mẫu thép sau khi loại lớp mỡ phủ sau 24 tháng

Kết quả hình 7 cho thấy mức độ ăn mòn của mẫu thép được bảo vệ bởi PVK/VN ghi nhận hơn 18,66% tổng diện tích bề mặt, tiếp đến là mẫu thép bảo vệ bởi mỡ PVK/Nga, mỡ GOI/VN và mỡ chịu mặn AMC-3/VN lần lượt là 9,14%; 8,18% và 1,3%. Khi đánh giá mức độ phát triển của nấm trên mỡ và mức độ ăn mòn của các mẫu thép có sự tương quan tuyến tính (bảng 3).

Bảng 3. Tổng hợp mức độ nấm sợi phát triển trung bình trên 4 mẫu mỡ thử nghiệm và mức độ bảo vệ của mỡ đối với vật liệu bảo vệ sau thời gian 24 tháng

Tên mỡ	Diện tích trung bình nấm trên bề mặt mẫu (%)	Mức gây hại	Diện tích trung bình ăn mòn trên bề mặt mẫu (%)	Mức gây hại
Mỡ GOI/VN	15,42	2	8,18	1
Mỡ AMC-3/VN	8,98	1	1,30	1
Mỡ PVK/Nga	15,94	2	9,14	1
Mỡ PVK/VN	25,99	3	18,66	2

Kết quả nghiên cứu cho thấy 4 mẫu mỡ sau 24 tháng thử nghiệm đều xuất hiện nấm mốc, các chủng nấm mốc có khả năng sinh tổng hợp một đến bốn loại enzym. Mỡ AMC-3/VN có mức bền đạt cấp 1 đối với nấm, mẫu mỡ PVK/VN, hai mẫu mỡ còn lại ở cấp độ 2 không bền. Khi xem xét sự ăn mòn trên các mẫu thép thử nghiệm thấy có sự tương đồng vị trí phát hiện khuẩn lạc nấm với vị trí ăn mòn trên tấm thép.

Theo một số nghiên cứu cho thấy, nấm sợi có khả năng sinh tổng hợp axit hữu cơ và được cho là có khả năng hòa tan kim loại [8]. Tuy nhiên để khẳng định điều này cần có các nghiên cứu sâu hơn. Diện tích ăn mòn trên bề mặt mẫu thép dao động từ 1,30% -18,66% và nhỏ hơn diện tích sợi nấm ghi nhận trên bề mặt mỡ. Đánh giá theo GOST, các mẫu thép được phủ bởi mỡ PVK/VN ghi nhận mức ăn mòn cấp độ 2, các mẫu thép được phủ bởi mỡ GOI/VN, AMC-3/VN và PVK/Nga ghi nhận mức ăn mòn cấp độ 1.

4. KẾT LUẬN

- Từ 04 mẫu mỡ thử nghiệm tại Hòa Lạc; đã phân lập được 07 chủng nấm sợi có khác biệt về hình thái khuẩn lạc, có quan hệ gần gũi với các loài: *Penicillium chermesinum*, *Penicillium cuddlyae* với độ tương đồng trên 98%. Trong đó, 02 chủng (M1.1 và M4.1) sinh 4 loại enzym ngoại bào. Mẫu mỡ AMC-3/VN đạt độ bền cấp 1 với nấm sau 24 tháng thử nghiệm, hai mẫu đạt cấp 2-GOI/VN, PVK/Nga và mẫu mỡ PVK/VN đạt cấp 3.

- Đánh giá mức độ ăn mòn các tấm thép sau khi loại lớp mỡ bằng phần mềm Image J cho thấy, diện tích ăn mòn trên các mẫu thép dao động từ 1,30%-18,66%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. DELTA-CNC, *Ăn mòn kim loại và các phương pháp bảo vệ*, Available, 2019, from: <http://delta-cnc.vn/nang-luc-chong-an-mon/an-mon-kim-loai-va-cac-phuong-phap-bao-ve.html>.
2. Trịnh Xuân Sén, *Ăn mòn và bảo vệ kim loại*, Nxb. Đại học quốc gia Hà Nội, 2006.
3. Hagarová M., et al., *Effect of flue gases' corrosive components on the degradation process of evaporator tubes*, Materials, 2021, **14**(14):3860.
4. Sereda V. N., Nguyễn Hồng Dư, Svitich A. A, Phạm Duy Nam, Nguyễn Hồng Phong, *Bảo vệ bổ sung khoang thiết bị của máy bay Su-C bằng công nghệ khí khô trong điều kiện nhiệt đới Việt Nam*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ nhiệt đới, 2018, **17**(12):56-62.

5. Nan L., et al., *Microbiological influenced corrosion resistance characteristics of a 304L-Cu stainless steel against Escherichia coli*, Materials Science and Engineering: C, 2015, **48**:228-234.
6. Lim A. T. O., et al., *Self-healing microcapsule-thickened oil barrier coatings*, Research, 2019.
7. Horel A. and Schiewer S., *Microbial degradation of different hydrocarbon fuels with mycoremediation of volatiles*, Microorganisms, 2020, **8**(2):163.
8. Ngo C. C., et al., *Identification of fungal community associated with deterioration of optical observation instruments of museums in Northern Vietnam*, Applied Sciences, 2021, **11**(12):5351.
9. Cammarota M. and Freire D., *A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content*, Bioresource technology, 2006, **97**(17):2195-2210.
10. ССР, *Единая система защиты от коррозии и старения. Материалы неметаллические и изделия с их применением. Метод испытаний на микробиологическую стойкость в природных условиях в атмосфере.*, in ГОСТ 9.053-75*, 1995.
11. Seifert K. A. and Gams W., *The genera of hyphomycetes-2011 update*, Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 2011, **27**:119.
12. Vedashree S., et al., *Screening and assay of extracellular enzymes in Phomopsis azadirachtae causing die-back disease of neem*, J Agricultural Technol, 2013, **9**(4):915-927.
13. Kaarakainen P., et al., *Microbial content of house dust samples determined with qPCR*, Science of the Total Environment, 2009, **407**(16):4673-4680.
14. Wei G., et al., *Endophytes isolated from Panax notoginseng converted ginsenosides*, Microbial Biotechnology, 2021.
15. Schoch C. L., et al., *Finding needles in haystacks: linking scientific names, reference specimens and molecular data for Fungi*, Database, 2014.
16. Rossiana N., et al., *Growth profile of Penicillium chermesinum Biourge in function of total petroleum hydrocarbon and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) compounds in oily sludge*, World Scientific News, 2020, **141**:103-114.
17. Kumari A., et al., *Biodegradation of waste grease by Penicillium chrysogenum for production of fatty acid*, Bioresource technology, 2017, **226**:31-38.
18. Darsih, C., et al., *A new polyketide from the endophytic fungus Penicillium chermesinum*, Indonesian Journal of Chemistry, 2017. **17**(3):360-364.
19. GOST, *Unified system of corrosion and ageing protection. Technical items, Methods of laboratory tests for mould resistance* - M: Print-house of standards, 1989.
20. Génin J. M., et al., *Products obtained by microbially-induced corrosion of steel in a marine environment: Role of green rust two*, Hyperfine Interactions, 1994, **93**(1):1807-1812.

SUMMARY

DETERMINATION OF FUNGAL COMPOSITION AFFECTING PROTECTIVE ABILITY OF OIL-BASED STEEL COATINGS IN HOALAC AREA

In this study, the consortium of filamentous fungi affecting the metal protection of 04 types of grease (GOI/VN grease, salt-tolerant grease AMC-3/VN, PVK/VN grease, Russian PVK grease) was identified. Six steel-covering grease types exhibiting protection against fungal infections were taken for fungal isolation. Seven strains of filamentous fungi were isolated, characterized by colony morphology, analysis of ITS1-5,8S-ITS2 sequences, and abilities to produce extracellular enzymes (protease, amylase, cellulase, lipase). Besides, the influence of filamentous fungi on metal protection was evaluated by measurement of rust portfolio on metal surface after degreasing by using images ImageJ v.1.51 software. Among isolated strains, 07 isolates of filamentous fungi showing varieties in morphological colonies were selected and taxonomically identified as *Penicillium chermesinum*, *Penicillium cuddlyae* with over 98% similarity of ITS1-5,8S-ITS2 sequences compared with related ones deposited on GenBank (NCBI). Of those, 02 strains (M1.1 and M4.1) were capable of producing 4 types of extracellular enzymes. When utilizing Image J software to examine the effects of fungal isolates on the protective capabilities of grease covering materials against metal corrosion, rust spots with variable densities between 1.30%-18.66% appearing on the surface of CT5 steel were found to be formed by fungal attacks. The findings in present study therefore provide a fundamental basis for the effects of fungal growth on grease decomposition at the Hoa Lac Thach That/ Ha Noi testing area and further studies on damages caused by fungi to steel-covering greases as well as corrosion of the metal surface.

Keywords: *Penicillium*, grease, filamentous fungi, biological destruction, ITS sequences, mốc, nấm sợi, phá hủy sinh học.

Nhận bài ngày 10 tháng 7 năm 2022

Phản biện xong ngày 10 tháng 8 năm 2022

Hoàn thiện ngày 19 tháng 10 năm 2022

⁽¹⁾ *Phân viện Công nghệ sinh học, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga*

⁽²⁾ *Viện Độ bền Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga*

Liên hệ: Ngô Cao Cường

Phân viện Công nghệ Sinh học, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Số 63 Nguyễn Văn Huyền, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Điện thoại: 0982010336; Email: cuongnc@vrtc.org.vn