

KHẢ NĂNG TẠO CHẤT HOẠT ĐỘNG BỀ MẶT SINH HỌC CỦA VI KHUẨN *GORDONIA* PHÂN LẬP TỪ MÔI TRƯỜNG Ô NHIỄM DẦU TẠI PHÍA NAM VIỆT NAM

NGUYỄN VĂN THÀNH NAM ⁽¹⁾, MAI THỊ DIỄM KIỀU ⁽²⁾, TRẦN VĂN TIỀN ⁽³⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, tìm kiếm và ứng dụng chất hoạt hoá bề mặt sinh học do vi khuẩn tạo ra (CHHBMSH, microbial surfactant) đang được quan tâm trong nhiều lĩnh vực như công nghệ sinh học, hoá sinh và vi sinh vật. CHHBMSH có cấu trúc lưỡng cực gồm đuôi kỵ nước và đầu ưa nước. Theo khối lượng phân tử, CHHBMSH chia làm hai nhóm chính: Nhóm CHHBMSH có khối lượng phân tử thấp dưới 1500 dalton (Da) như glycolipid, lipopeptide, phospholipid, acid béo tự do; nhóm CHHBMSH cao phân tử như liposaccharide, lipoprotein, polysaccharide. Để phân biệt hai nhóm trên, thường dựa vào hoạt tính bề mặt và khả năng nhũ hóa. CHHBMSH thuộc nhóm khối lượng phân tử thấp có hoạt tính bề mặt cao và khả năng tạo nhũ hóa với các chất lỏng ít tan hoặc không tan trong nước. Ngược lại nhóm CHHBMSH cao phân tử có khả năng tạo nhũ hóa cao và bền vững, nhưng có thể không có khả năng làm giảm sức căng bề mặt giữa pha lỏng - khí và sức căng giữa hai pha lỏng - lỏng, lỏng - rắn [18]. Hiện nay, glycolipid và lipopeptid là những CHHBMSH được nghiên cứu và công bố phổ biến nhất. Dựa trên cấu trúc đường trong phân tử, glycolipid chia như sau: rhamnolipid (chứa đường rhamnose), sophorolipid (sophorose), trehalolipid (trehalose), mannosylerythritol lipid (MEL, mannosylerythritol). Các giống vi sinh vật sản sinh ra glycolipid là khác nhau và đặc thù. Các chủng *Pseudomonas* sản sinh rhamnolipid, các vi sinh vật thuộc họ Actinomycete, điển hình là *Rhodococcus* - trehalose lipids, nấm *Candida* - sophorolipid, nấm *Pseudozyma* - MEL. Lipopeptide do *Bacillus* sinh ra, có hoạt tính kháng sinh cao, trong đó surfactin có cấu trúc điển hình và được ứng dụng rộng rãi nhất [13].

CHHBMSH có nguồn gốc từ vi sinh vật có nhiều đặc điểm ưu việt so với chất hoạt hoá tổng hợp hoá học, như tính chất hoạt động bề mặt (giảm sức căng bề mặt giữa chất lỏng - không khí, giảm sức căng giữa hai bề mặt chất lỏng - chất lỏng, chất lỏng - chất rắn) và khả năng nhũ hoá cao, ít độc hại, thân thiện với môi trường, khả năng tương hợp sinh học cao [11]. Dựa trên những tính chất đó, CHHBMSH được sử dụng trong nhiều lĩnh vực như: Công nghệ thực phẩm, hoá - mỹ phẩm, công nghệ dược, nghiên cứu y - sinh học, sử dụng trong khai thác dầu mỏ, cải tạo môi trường ô nhiễm do các chất thải độc hại... Trong tương lai, CHHBMSH có thể thay thế chất hoạt hoá tổng hợp hoá học dựa trên đánh giá các yếu tố gây ô nhiễm môi trường toàn cầu và phương hướng giải quyết thích hợp như tái sử dụng nguồn nguyên vật liệu, tăng cường chế biến và sử dụng “thực phẩm xanh”, phát triển công nghệ “hóa học xanh” theo hướng thân thiện với môi trường và giảm thiểu nguy cơ ô nhiễm chất thải độc hại đến sức khỏe con người [10].

Hiện nay, các công trình công bố về thành phần, cấu trúc, tính chất của CHHBMSH do vi khuẩn *Gordonia* tạo ra, cũng như những ứng dụng của chúng còn hạn chế. Franzetti công bố kết quả nghiên cứu đầu tiên về khả năng tạo CHHBMSH (glycolipid) của *Gordonia* sp. và vai trò của chúng trong phân huỷ n-hexadecan [4]. Tương tự, tác giả [6] phân lập và đánh giá khả năng phân huỷ paraffin của chủng *Gordonia amicalis* LH3, nhóm tác giả Nga công bố khả năng phân huỷ dầu của *Gordonia* sp., có khả năng chịu nhiệt độ cao, phân lập từ một số vùng đất bị ô nhiễm dầu tại Nga [21]. Matsuura đánh giá khả năng tạo lipopeptide của *G. amicalis* phân lập từ đất ô nhiễm dầu tại Brazil [9]. Ngoài ứng dụng trên, công trình nghiên cứu của Sowani bước đầu đánh giá hoạt tính sinh học của các hạt nano bạc và vàng tạo thành với glycolipid do *G. amicalis* sinh ra trong môi trường nghèo dinh dưỡng bổ sung hexadecan với mục đích ứng dụng trong y học [15]. Silva chứng minh khả năng vi khuẩn *G. alkanivorans* 1B tạo carotenoid nhằm sử dụng trong hóa mỹ phẩm, công nghệ thực phẩm [14].

Trong nghiên cứu này, khả năng tạo CHHBMSH của chủng vi khuẩn 3.7 được đánh giá thông qua chỉ số nhũ hóa và sức căng bề mặt của môi trường nuôi cấy vi khuẩn. Phân tích định tính một số nhóm chức và xác định thành phần acid béo trong CHHBMSH thô nhằm bổ sung vào cơ sở dữ liệu về thành phần, tính chất của CHHBMSH của *Gordonia* sinh ra. Trên cơ sở đó, đưa ra định hướng ứng dụng chủng 3.7 trong các quá trình công nghệ sinh học và xử lý môi trường.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng: Các chủng vi sinh vật được phân lập từ môi trường đất và nước bị nhiễm dầu trên môi trường khoáng Bushnell Haas (BH) [1] có bổ sung 2% n-hexadecan là nguồn carbon duy nhất và cung cấp năng lượng.

Phương pháp: Các vi khuẩn tạo CHHBMSH được nuôi cấy trong bình giác 500ml chứa môi trường BH có pH = 7, có bổ sung 2% (v/v) n-hexadecan, được lắc với tốc độ 180 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trên máy Titramax 1000 (Heidolph, Germany). Sau 6 ngày nuôi cấy, dịch vi khuẩn được ly tâm ở tốc độ 10 000 g trên máy Mikro 22R (Hettich, Germany) để loại bỏ tế bào. Tách chiết CHHBMSH từ dịch ly tâm, xác định chỉ số nhũ hóa và hàm lượng đường. Sức căng bề mặt của dịch ly tâm đo bằng phương pháp vòng Du Nouy trên thiết bị Surface Tensiometer 20 (Cole-Parmer) tại Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng (Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam). Chỉ số nhũ hóa hexadecan của dịch ly tâm được xác định theo phương pháp của Cooper và Goldenberg [2] bằng cách lấy 4ml dịch ly tâm và 4ml hexadecan cho vào ống nghiệm, lắc ở tốc độ cao trong hai phút, để ở nhiệt độ phòng. Sau 24 giờ, đo chiều cao cột chất lỏng, chiều cao cột nhũ hóa, chỉ số nhũ hóa sau 24 giờ (E24) được tính theo công thức:

$$E24 = \frac{H(E)}{H(0)} \times 100\%$$

Trong đó: H(E): chiều cao cột nhũ hóa (mm).

H(0): chiều cao cột chất lỏng (mm).

Hàm lượng đường trong dịch ly tâm được xác định theo Dubois [3]. Trong mẫu đối chứng sử dụng nước cất thay cho dịch ly tâm. Chất sử dụng để xây dựng đường chuẩn là trehalose.

Quy trình tách chiết CHHBMSH thực hiện theo Kuyukina [8] tại Phòng Phân tích môi trường/Chi nhánh Phía Nam. Để xác định sơ bộ CHHBMSH do chủng vi khuẩn tạo ra, sử dụng kỹ thuật sắc ký giấy bản mỏng (TLC). Pha động là hỗn hợp dung môi chloroform: methanol: nước theo tỷ lệ 65:15:2, chất hiển thị màu nhận biết gốc đường là α -naphthol và acid sulfuric loãng (10%), nhận biết gốc amin bằng nynydrin (pha 0,25g trong 100ml acetone), gốc phosphat là dung dịch amonium molybdat, xác định acid béo không no là dung dịch potassium manganat (KMnO_4). Mẫu chứa gốc đường sẽ xuất hiện vệt màu tím xanh, chứa gốc amin - hồng tím, gốc phosphat - xanh. Bản mỏng sau khi tra mẫu (5 μ l), xịt thuốc thử, thổi khô và sấy ở 110°C trong 5÷10 phút (nhận biết đường và nhóm amin), rửa dưới vòi nước cho hết KMnO_4 để xác định acid béo không no.

Xác định acid béo trong thành phần CHHBMSH bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC-MS) trên máy sắc ký Agilent 7890A (Agilent Technologies Inc., USA) gắn đầu dò MS, cột HP (30m x 25 mm x 25 μ m) tại Trung tâm Công nghệ Môi trường tại thành phố Hồ Chí Minh (Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam). Lấy 30mg CHHBMSH thô tạo phản ứng este hóa với methanol, với sự có mặt của acid sulfuric (H_2SO_4) đậm đặc. Đun ở 80°C trong vòng 3h, dùng nước rửa H_2SO_4 đến pH = 7, sau đó tách dẫn xuất acid béo bằng dimethyl ether, cô quay đến khô. Định danh acid béo bằng phần mềm AMDIS và cơ sở dữ liệu NIST/EPA/NIH Mass Spectral library [22].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đặc điểm phân loại và khả năng tạo CHHBMSH của chủng vi khuẩn 3.7

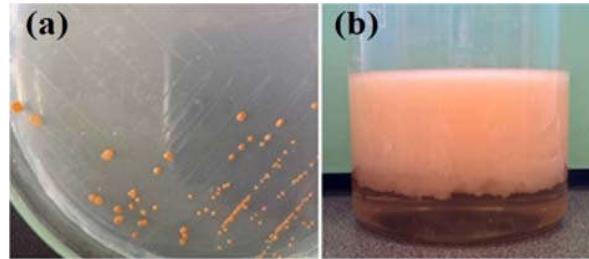
Tổng cộng đã phân lập được 6 chủng vi sinh vật có khả năng sinh trưởng mạnh trên môi trường khoáng bổ sung hydrocarbon (hexadecan, diesel oil) là nguồn carbon và cung cấp năng lượng (bảng 1). Một trong những thông số để đánh giá khả năng tạo CHHBMSH của vi khuẩn ra môi trường là xác định chỉ số nhũ hóa của dịch ly tâm với hydrocarbon (hexan, xylene, hexadecan). Trên cơ sở đó lựa chọn chủng có khả năng nhũ hóa cao nhất làm đối tượng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 1. Chỉ số nhũ hóa của các chủng có khả năng sinh trưởng trên hexadecan

Kí hiệu chủng	Chỉ số nhũ hóa E24, %
1.1	16
1.4	33
1.6	20
2.4	46
3.1	11
3.7	67

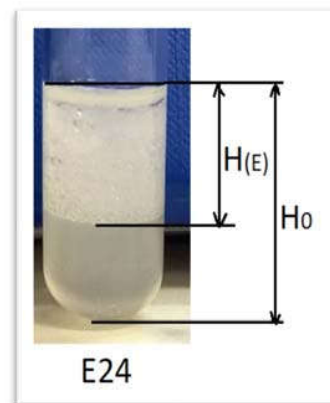
Chủng vi khuẩn 3.7 (hình 1) được phân lập từ mẫu đất tại Khu vực trạm rửa xe Cảng Cát Lái - Thành phố Hồ Chí Minh, vi khuẩn thuộc nhóm Gram (+), khuẩn lạc màu đỏ cam, hình tròn lồi, bề mặt khuẩn lạc bóng ướt, viền nhẵn. Quan sát dưới kính hiển vi thấy tế bào hình cầu, đứng đơn lẻ hoặc từng đôi, không sinh bào tử.

Định danh vi khuẩn được thực hiện tại công ty Nam Khoa bằng phương pháp giải trình tự 16S rRNA. So sánh kết quả giải trình tự với cơ sở dữ liệu trên Genbank cho thấy chủng vi khuẩn 3.7 có tỷ lệ tương đồng 100% với vi khuẩn *Gordonia amicalis* LH3 (Accession no. EF424581.1).



Hình 1. Khuẩn lạc chủng vi khuẩn 3.7 trên môi trường thạch BH chứa 2% hexadecan (a), dịch môi trường vi khuẩn 3.7 (b) sau 6 ngày nuôi cấy trong môi trường BH chứa hexadecan

Để đánh giá khả năng tạo CHHBMSH của chủng vi khuẩn 3.7 thông qua xác định sức căng bề mặt và chỉ số nhũ hóa E24 của dịch ly tâm sau 6 ngày nuôi cấy. Kết quả đo sức căng bề mặt là 56mN/m, giảm không đáng kể so với sức căng bề mặt của nước (72 mN/m). Tuy nhiên, chỉ số nhũ hóa của dịch ly tâm sau 24h đạt 67% (hình 2), cột nhũ hóa ổn định ở nhiệt độ phòng sau 120h (E không thay đổi). Dạng nhũ hóa phụ thuộc vào sự cân bằng giữa đầu ưa nước và đuôi kỵ nước (hydrophilic-lipophilic balance, HLB). Đuôi kỵ nước càng lớn thì HLB càng nhỏ, khi đó dạng nhũ hóa ở dạng nước trong dầu (water in oil, w/o). Đây là tính chất quan trọng để lựa chọn CHHBMSH phù hợp với mục đích sử dụng trong công nghiệp và đời sống [5]. Trong nghiên cứu về CHHBMSH do *Gordonia*



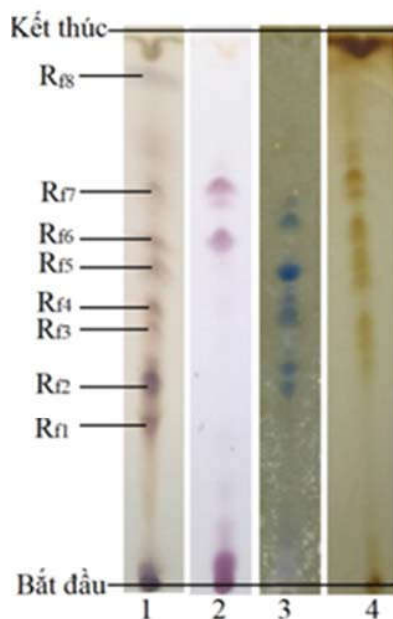
Hình 2. Khả năng nhũ hóa hexadecan của dịch ly tâm vi khuẩn 3.7

tổng hợp, nhóm tác giả [4] xác định chỉ số nhũ hóa hexadecan của dịch ly tâm môi trường sau 7 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C là 40% (*Gordonia* sp. BS29), 41.5% (*Gordonia* sp. BS25), và 52.5% (*Gordonia* sp. M22). Kết quả thu được khi nuôi cấy *Gordonia* sp 3.7 tương đối cao (67%) so với kết quả của các nghiên cứu khác. Sự chênh lệch này có thể do ba nguyên nhân chính, thứ nhất: khả năng tạo CHHBMSH của mỗi chủng là khác nhau; thứ hai: sự khác biệt về phương pháp nuôi cấy (liên tục hay gián đoạn), điều kiện nuôi cấy (lượng oxy cung cấp, điều kiện đã tối ưu hóa, nhiệt độ); thứ ba: thành phần CHHBMSH do mỗi chủng tạo ra khác nhau.

Kết quả xác định hàm lượng đường do chủng 3.7 tạo ra môi trường nuôi cấy là 63 mg/l, chứng tỏ thành phần CHHBMSH do vi khuẩn này sinh ra có chứa nhóm đường. So với vi sinh vật khác trong cùng nhóm xạ khuẩn (*Actinobacteria*), ví dụ *Rhodococcus*, vi khuẩn đặc thù tạo trehalolipid ra môi trường khi nuôi cấy trên alkan, thì hàm lượng đường do *Gordonia amicalis* 3.7 tạo ra thấp hơn rất nhiều (63 mg/l so với 250 mg/l) [12, 19]. Tuy vậy, kết quả này, một mặt khẳng định CHHBMSH do chủng 3.7 sinh ra có chứa gốc đường; mặt khác, phần nào giải thích được sự khác biệt về khả năng nhũ hóa, sức căng bề mặt đã nêu ở trên. Ngoài giá trị định lượng, nhóm chức chứa trong CHHBMSH thô có thể phân tích định tính bằng TLC.

3.2. Xác định nhóm chức trong CHHBMSH

Kết quả phân tích TLC cho thấy trong quá trình lên men, chủng 3.7 tạo ra môi trường CHHBMSH chứa các nhóm chức khác nhau (hình 3). Trên bản mỏng nhận biết đường xuất hiện 8 vệt, giá trị R_f từ 0,3÷0,9; cường độ từ đậm đến nhạt, cường độ (độ đậm) mạnh nhất tại vệt có R_{f1} , R_{f2} nên có thể xác định đây là thành phần chính trong CHHBMSH chứa nhóm đường. Trên tấm nhận biết gốc amin, xuất hiện 2 vệt có R_f tương đương R_{f6} , R_{f7} của tấm nhận biết đường (hình 3, *tấm 1*, *tấm 2*). Nhận định chủng 3.7 sinh sống trong môi trường chứa hexadecane tạo ra CHHBMSH có bản chất lipopeptide, glycolipid, hoặc là hợp chất cao phân tử (*bioemulsifier*) mà trong thành phần của nó có chứa gốc đường và nhóm amin. Một số nghiên cứu trước đây công bố kết quả rằng, khi nuôi cấy *Gordonia* trên alkan thì có khả năng tạo ra glycolipid [4, 16], lipopeptid [9].

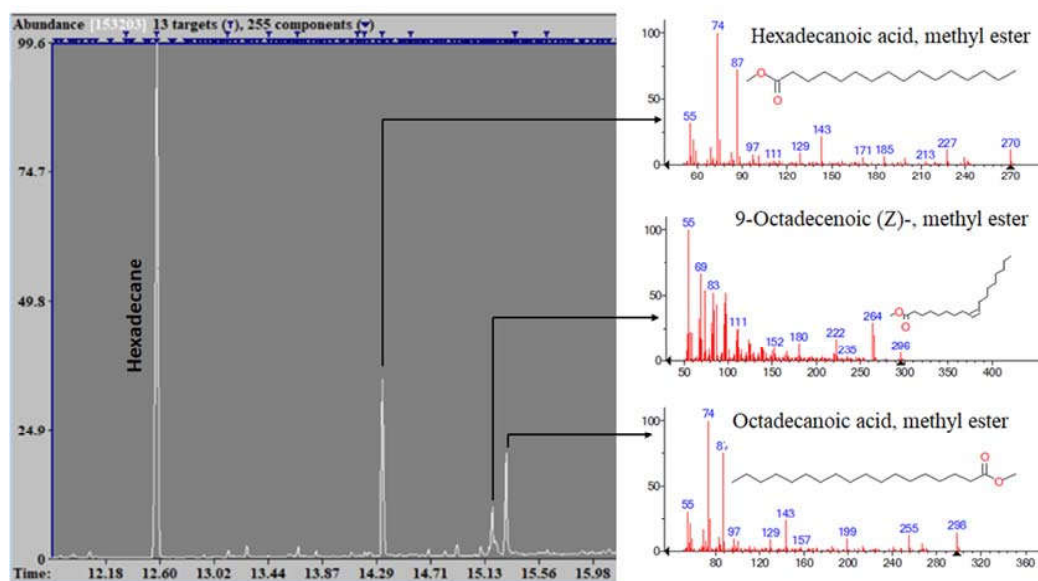


Hình 3. Hình ảnh sắc ký lớp mỏng của hợp chất hữu cơ được tách chiết từ môi trường nuôi cấy *G. amicalis* 3.7 (1- α -naphthol; 2- ninhydrin; 3- ammonium molybdat; 4- KMnO_4)

Kết quả xác định nhóm phosphat trong dịch ly tâm cho thấy xuất hiện vết dương với gốc phosphat, trong đó 1 vết chính (đậm) và 5 vết phụ (mờ). Để xác định cụ thể chủng 3.7 có tạo phospholipid như CHHBMSH ra môi trường hay không, cần có các nghiên cứu khác rõ ràng hơn. Như đã biết, phospholipid là thành phần không thể thiếu trong màng tế bào vi khuẩn. Do đó, sau 6 ngày nuôi cấy, tế bào có thể đã đến giai đoạn chết, phân hủy và phát tán phospholipid của màng tế bào ra môi trường. Đến thời điểm này chưa có nghiên cứu nào khẳng định vi khuẩn *Gordonia* tạo ra phospholipid ngoại tế bào. Hơn nữa vi sinh vật đặc thù tạo ra phospholipid được cho là *Acinetobacter*, *Aspergillus*, *Corynebacterium lepus* [13]. Trên tấm nhận biết acid béo không no, cho thấy hoặc trong đuôi kỵ nước của CHHBMSH chứa acid béo không no, hoặc chủng 3.7 có thể tạo acid béo không no tự do qua quá trình oxy hóa hydrocarbon ra môi trường. Để xác định cụ thể thành phần của acid béo tiến hành phân tích các mẫu đã este hóa bằng kỹ thuật GC-MS.

3.3. Thành phần acid béo trong CHHBMSH

Kết quả phân tích GC-MS cho thấy trên sắc ký đồ xuất hiện 04 pic chính có thời gian lưu lần lượt là 12,577; 14,334; 15,192 và 15,296 phút (hình 4).



Hình 4. Sắc ký đồ dẫn xuất acid béo do chủng 3.7 sinh ra trong môi trường nuôi cấy

Chất có thời gian lưu 12,577 phút có chứa các nhóm nguyên tố có trọng lượng phân tử (m/z): 57, 71, 85, 99,..., 226; khoảng cách giữa các m/z là 14 Da, tương đương liên kết ($-CH_2$), đặc trưng cho alkane mạch thẳng, no. So sánh với thư viện chất chuẩn và sắc ký đồ của n-hexadecan... cho thấy đây là n-hexadecan còn lại trong mẫu do quá trình tách chiết CHHBMSH từ môi trường nuôi cấy vi khuẩn không sử dụng hexan để loại bỏ chúng.

Phân tích pic có thời gian lưu 14,334 phút cho thấy, chất này có chứa các nhóm nguyên tố có trọng lượng phân tử (m/z) tương ứng: 55; 74; 87; 97; 111; 129; 143; 171; 185; 213; 227 và 270 (hình 4). So sánh với thư viện chất chuẩn, đây là methyl ester của acid hexadecanoic với độ tương đồng 93,7%.

Tương tự, phân tích pic có thời gian lưu 15,192 phút cho thấy, chất này có chứa các nhóm nguyên tố có trọng lượng phân tử (m/z): 55; 69; 83; 123; 180; 222; 264; 296 (hình 4). So sánh với thư viện chất chuẩn, đây là methyl ester của acid 9-octadecenoic với độ tương đồng 96,9%.

Ở pic có thời gian lưu 15,296 phút cho thấy chất này có chứa các nhóm nguyên tố có trọng lượng phân tử (m/z): 55; 74; 87; 97; 143; 157; 199; 255 và 298 (hình 4). So sánh với thư viện chất chuẩn, đây là methyl ester của acid octadecanoic với độ tương đồng 94,1%.

Kết quả phân tích thành phần của acid béo trên sắc ký đồ GC-MS do *G. amicalis* 3.7 tạo ra cho thấy phần lớn là acid hexadecanoic (53%), còn lại là các acid 9-octadecenoic (15%), octadecanoic (32%). Acid hexadecanoic là chất chuyển hóa trung gian của tế bào vi khuẩn trong quá trình oxy hóa từng phần (partial β -oxidation) hexadecan [17, 20]. Các acid béo khác có thể là sản phẩm trung gian trong quá trình oxy hóa acid hexadecanoic thành dạng Acetyl-CoA. Acid béo có mạch carbon lớn hơn C16 (trong trường hợp này là C18:1n-9, C18; trong đó C18:1n-9 thể hiện acid béo không no có 18C, bao gồm 1 nối đôi ở vị trí C thứ 9) có thể là sản phẩm trung gian của quá trình oxy hóa hoàn toàn (complete β -oxidation) acid hexadecanoic dưới dạng Acetyl-CoA, rồi sau đó theo con đường tổng hợp de novo để tạo ra mạch mới dài hơn C16 [7]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, *G. amicalis* 3.7 có khả năng phân hủy hexadecan cao và chuyển hóa chúng thành các CHHBMSH có bản chất khác nhau được giải phóng ra môi trường nuôi cấy.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu khẳng định: *G. amicalis* 3.7 được phân lập từ đất nhiễm dầu có khả năng sử dụng hexadecan là nguồn carbon và năng lượng. Trong quá trình chuyển hóa hexadecan, chủng 3.7 tạo CHHBMSH dạng ngoại tế bào có khả năng nhũ hóa hydrocarbon cao, có tác dụng làm tăng khả năng hấp thụ nguồn dinh dưỡng khó tan hoặc không tan trong nước của vi khuẩn. Kết quả nghiên cứu bổ sung vào cơ sở dữ liệu về các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy dầu tại Việt Nam và sử dụng chúng như nguồn vi sinh vật tạo CHHBMSH cho các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bushell L. D., Haas H. F., *The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms*, J Bacteriol, 1941, **41**(5):653-673.

2. Cooper D. G., Goldenberg B. G., *Surface-active agents from two Bacillus species*, Appl Environ Microbiol, 1987, **53**:224-229.
3. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F., *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*, Anal Chem, 1956, **28**(3):350-356.
4. Franzetti A., Bestetti G., Caredda P., La Colla P., Tamburini E., *Surface-active compounds and their role in the access to hydrocarbons in Gordonia strains*, FEMS Microbiol Ecol, 2008, **63**(2):238-248.
5. Griffin W. C., *Classification of Surface-Active Agents by "HLB"*, J Soc Cosmet Chem, 1949, **1**:311-326.
6. Hao D. H., Lin J. Q., Song X., Lin J. Q., Su Y. J., Qu Y. B., *Isolation, identification, and performance studies of a novel paraffin-degrading bacterium of Gordonia amicalis LH3*, Biotechnol Bioproc E, 2008, **13**(1):61-68.
7. Kitamoto D., Isoda H., Nakahara T., *Functions and potential applications of glycolipid biosurfactants-from energy-saving materials to gene delivery carriers*, J Biosci Bioeng, 2002, **94**(3):187-201.
8. Kuyukina M. S., Ivshina I. B., Philp J. C., Christofi N., Dunbar S. A., Ritchkova M. I., *Recovery of Rhodococcus biosurfactants using methyl-tertiary butyl ether extraction*, J Microbiol Methods, 2001, **46**:149-156.
9. Matsuura A. B. J., Santos L., Marcos N. E., Andreia F. F., Matsuura T., Grossman M., Durrant L., *Production and characterization of surface-active compounds from Gordonia amicalis*, Braz Arch Biol Technol, 2014, **57**(1):138-144.
10. Mnif I., Ghribi D., *Microbial derived surface active compounds: properties and screening concept*. World J Microbiol Biotechnol, 2015, **31**(7):1001-1020.
11. Paulino B. N., Pessoa M. G., Mano M. C., Molina G., Neri-Numa I. A., Pastore G. M., *Current status in biotechnological production and applications of glycolipid biosurfactants*, Appl Microbiol Biotechnol, 2016, **100**(24):10265-10293.
12. Petrikov K., Delean Ya., Surin A., Ponamoreva O., Puntus I., Filonov A., Boronin A., *Glycolipids of Pseudomonas and Rhodococcus oil-degrading bacteria used in bioremediation preparations: Formation and structure*, Process Biochem, 2013, **48**(5-6):931-935.

13. Santos D. K., Rufino R. D., Luna J. M., Santos V. A., Sarubbo L. A., *Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules of the 21st Century*, Int J Mol Sci, 2016, **17**(3):1-31.
14. Silva T. P., Paixao S. M., Alves L., *Ability of Gordonia alkanivorans strain IB for high added value carotenoids production*, RSC Advances, 2016, **6**(63):58055-58063.
15. Sowani H., Mohite P., Munot H., Shouche Y., Bapat T., Kumar A. R., Zinjarde S., *Green synthesis of gold and silver nanoparticles by an actinomycete Gordonia amicalis HS-11: Mechanistic aspects and biological application*, Process Biochem, 2016, **51**(3):374-383.
16. Supattra L., Witchaya R., Nichakorn K., Nanthorn P., Suwat S., Onruthai P., Ekawan L., *Production and Application of Gordonia westfalica GY40 Biosurfactant for Remediation of Fuel Oil Spill*, Water Air Soil Pollut, 2016, **227**(9):227-325.
17. Tokumoto Y., Nomura N., Uchiyama H., Imura T., Morita T., Fukuoka T., Kitamoto D., *Structural characterization and surface-active properties of a succinoyl trehalose lipid produced by Rhodococcus sp. SD-74*, J Oleo Sci, 2009, **58**:97-102.
18. Uzoigwe C., Burgess J. G., Ennis C. J., Rahman P. K., *Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches*, Front in Microbiol, 2015, **6**:1-6.
19. White D. A., Hird L. C., Ali S. T., *Production and characterization of a trehalolipid biosurfactant produced by the novel marine bacterium Rhodococcus sp., strain PML026*, J Appl Microbiol, 2013, **115**(3):744-755.
20. Whyte L. G., Slagman S. J., Pietrantonio F., Bourbonniere L., Koval S. F., Lawrence J. R., Greer C. W., *Physiological adaptations involved in alkane assimilation at a low temperature by Rhodococcus sp. strain Q15*, Appl Environ Microbiol, 1999, **65**(7):2961-2968.
21. Делеган Я. А., Ветрова А. А., Титок М. А., Филонов А. Е., *Разработка консорциума термотолерантных бактерий как основы биопрепарата для ремедиации нефтезагрязненных грунтов и вод в жарком климате*, Биотехнология, 2016, **1**:53-64.
22. <http://www.nist.gov/srd/nist1a.cfm>

SUMMARY

BIOSURFACTANTS PRODUCED BY A NOVEL *GORDONIA* BACTERIUM ISOLATED FROM OIL-CONTAMINATED SAMPLES TAKEN IN SOUTHERN VIETNAM

Novel bacterial strain 3.7 was isolated from oil-contaminated soil in Southern Vietnam that is capable to grow on hexadecane as sole carbon and energy sources. This isolate was identified as *Gordonia amicalis* (with related 100%) based on 16S rRNA sequence analysis. The strain 3.7 produces at least two classes of biosurfactants (glycolipid, lipopeptid) those possess high emulsifying activity ($E_{24} = 67\%$). Fatty acid composition in organic extract was determined by GC-MS, most of them are hexadecanoic acid (53%). Thus, *G. amicalis* 3.7 could be used as component in biopreparation for clean up of oil-contaminated areas and as potential producer of surface active compounds.

Keywords: *Gordonia*, biosurfactant, fatty acid, oil-degrading bacteria, chất hoạt hóa bề mặt sinh học, acid béo, vi sinh vật phân hủy dầu.

Nhận bài ngày 20 tháng 8 năm 2017

Phản biện xong ngày 10 tháng 5 năm 2018

Hoàn thiện ngày 26 tháng 5 năm 2018

⁽¹⁾ Chi nhánh Phía Nam, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

⁽²⁾ Bộ môn Công nghệ sinh học, Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

⁽³⁾ Phòng Sinh thái, Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam