

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT**

NGUYỄN THANH BÌNH

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ CHỦNG VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG
SINH TỔNG HỢP CHẤT HOẠT ĐỘNG BỀ MẶT SINH HỌC
KHÁNG VI KHUẨN KHỬ SULFATE NHẪM ỨNG DỤNG
CHỐNG ĂN MÒN VÀ NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG DẦU**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Hà Nội - 2018

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

NGUYỄN THANH BÌNH

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ CHỦNG VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG
SINH TỔNG HỢP CHẤT HOẠT ĐỘNG BỀ MẶT SINH HỌC
KHÁNG VI KHUẨN KHỬ SULFATE NHẪM ỨNG DỤNG
CHỐNG ĂN MÒN VÀ NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG DẦU**

Chuyên ngành: Động vật học (Vi sinh vật học)

Mã số: 8 42 01 03

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

TS. Kiều Thị Quỳnh Hoa

Hà Nội – 2018

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan các số liệu sử dụng trong luận văn này là trung thực và chưa được nhóm nghiên cứu nào khác công bố dưới bất kỳ hình thức nào. Những số liệu trong các bảng biểu phục vụ cho việc phân tích, nhận xét, đánh giá được chính tác giả thu thập từ các nguồn khác nhau có ghi rõ trong phần tài liệu tham khảo.

Tác giả

Nguyễn Thanh Bình

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới TS. Kiều Thị Quỳnh Hoa, Trưởng phòng Vi sinh vật dầu mỏ, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đã tận tình hướng dẫn, truyền đạt những kiến thức và kinh nghiệm quý báu cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và làm luận văn tốt nghiệp.

Tôi xin trân trọng cảm ơn các thầy cô Khoa đào tạo sau đại học, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Đặc biệt là các thầy cô chuyên ngành Vi sinh vật học đã truyền đạt cho tôi những kiến thức quý báu trong quá trình học tập.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến tập thể cán bộ nghiên cứu Phòng Vi sinh vật dầu mỏ, Viện Công nghệ sinh học đã tận tình giúp đỡ tạo điều kiện cho tôi hoàn thành luận văn tốt nghiệp đúng thời hạn.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn tới gia đình, bạn bè, những người thân luôn bên cạnh động viên và là chỗ dựa vững chắc cho tôi hoàn thành tốt luận văn.

Hà Nội, ngày ...tháng... năm 2018

Nguyễn Thanh Bình

MỤC LỤC

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT	v
DANH MỤC BẢNG	vi
DANH MỤC HÌNH	vii
PHẦN 1. TỔNG QUAN.....	4
1.1. Vai trò của ngành công nghiệp dầu khí.....	4
1.2. Vi khuẩn khử sulfate (KSF).....	5
1.3. Ảnh hưởng của vi khuẩn khử sulfate đến quá trình ăn mòn thiết bị bằng kim loại và chất lượng dầu trong công nghiệp dầu khí	6
1.4. Các phương pháp hạn chế vi khuẩn khử sulfate thường dùng trong công nghiệp dầu khí.....	8
1.5. Chất hoạt động bề mặt sinh học.....	10
1.5.1. Khái niệm chất hoạt động bề mặt sinh học	10
1.5.2. Phân loại chất hoạt động bề mặt sinh học	10
1.5.3. Tính chất của chất hoạt động bề mặt sinh học.....	12
1.5.4. Vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp chất hoạt động bề mặt sinh học .	14
1.5.5. Ứng dụng của chất hoạt động bề mặt sinh học.....	15
1.6. Khả năng kháng vi khuẩn gây hại của chất hoạt động bề mặt sinh học tạo ra từ vi sinh vật.....	15
1.7. Tình hình nghiên cứu khả năng kháng vi khuẩn khử sulfate bằng chất hoạt động bề mặt sinh học tạo ra từ vi sinh vật.....	16
PHẦN 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	19
2.1. Vật liệu.....	19
2.2. Phương pháp nghiên cứu.	20
2.2.1. Xác định hình thái khuẩn lạc và tế bào của chủng vi sinh vật nghiên cứu...20	
2.2.2. Đánh giá khả năng sinh tổng hợp CHĐBMSH bằng chỉ số nhũ hóa E ₂₄ 21	
2.2.3. Sàng lọc tuyển chọn chủng vi khuẩn sinh tổng hợp CHĐBMSH có khả năng ức chế vi khuẩn KSF.....	22

2.2.4. Xác định đặc điểm sinh hóa của chủng nghiên cứu bằng kit chuẩn sinh hóa API.....	22
2.2.5. Phân loại chủng vi khuẩn nghiên cứu bằng phân tích trình tự gen 16S rRNA.....	22
2.2.6. Nuôi cấy và làm giàu vi khuẩn KSF.....	23
2.2.7. Xác định hàm lượng sulfide.....	23
2.2.8. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp CHĐBMSH của chủng vi khuẩn lựa chọn.....	24
2.2.9. Nghiên cứu động thái sinh trưởng và sự sinh tổng hợp CHĐBMSH từ chủng lựa chọn.....	24
2.2.10. Lên men, tách chiết CHĐBMSH.....	25
2.2.11. Đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn KSF của CHĐBMSH tạo ra từ chủng vi khuẩn lựa chọn.....	25
PHẦN 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	27
3.1. Lựa chọn chủng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp chất hoạt động bề mặt sinh học cao.....	27
3.2. Sàng lọc tuyển chọn chủng vi sinh vật tổng hợp CHĐBMSH ức chế vi khuẩn khử sulfate.....	28
3.3. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào và đặc điểm sinh hóa của chủng vi khuẩn 310-RP3-1.....	29
3.4. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình sinh tổng hợp chất hoạt động bề mặt sinh học của chủng vi khuẩn lựa chọn.....	32
3.5. Động thái sinh trưởng và hiệu quả sinh tổng hợp chất hoạt động bề mặt sinh học của chủng vi khuẩn lựa chọn.....	41
3.6. Khả năng ức chế vi khuẩn KSF của CHĐBMSH tạo ra từ chủng vi khuẩn lựa chọn.....	42
KẾT LUẬN.....	46
TÀI LIỆU THAM KHẢO	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

CHĐBMSH	Chất hoạt động bề mặt sinh học
KSF	Khử sulfate
VSV	Vi sinh vật
mN/m	Millinewton / meter (đơn vị đo sức căng bề mặt)
Cs	Cộng sự
IARC	Cơ quan nghiên cứu ung thư Quốc tế
GDP	Gross Domestic Product (tổng sản lượng quốc nội)
DO	Diesel Oil
CFU	Colony-forming unit

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Phân loại CHĐBMSH theo nguồn gốc VSV [36].	11
Bảng 3.1. Khả năng sinh tổng hợp CHĐBMSH của các chủng vi khuẩn và	27
Bảng 3.2. Khả năng ức chế vi khuẩn KSF của CHĐBMSH tổng hợp bởi 10 chủng VSV nghiên cứu	29
Bảng 3.3. Kết quả các phản ứng sinh hoá của kit chuẩn API 50 CHB của chủng 310-RP3-1	31
Bảng 3.4. Động thái sinh trưởng và hiệu quả sinh tổng hợp CHĐBMSH của chủng 310-RP3-1	41
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của CHĐBMSH nghiên cứu lên sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn KSF <i>D. vulgaris</i> DSM644 theo thời gian	43
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của CHĐBMSH nghiên cứu lên sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn KSF <i>Desulfovibrio</i> sp. RP3-303 theo thời gian	44

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Hình ảnh mô phỏng quá trình ăn mòn kim loại của vi khuẩn KSF	7
Hình 3.1 Hình thái khuẩn lạc của chủng 310-RP3-1	30
Hình 3.2. Chủng 310-RP3-1 sau khi sốc nhiệt (80°C, 15 phút).....	30
Hình 3.3. Hình thái tế bào của chủng 310-RP3-1 dưới kính hiển vi điện tử quét.....	30
Hình 3.4. Vị trí phân loại của chủng vi khuẩn 310-RP3-1	32
Hình 3.5. Khả năng sinh tổng hợp CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 trên các nguồn carbon khác nhau.....	33
Hình 3.6. CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với nguồn carbon	33
Hình 3.7. Khả năng sinh tổng hợp của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các nồng độ glucose khác nhau	34
Hình 3.8. CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các nồng độ glucose khác nhau.....	34
Hình 3.9. Khả năng sinh tổng hợp CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các nguồn nitơ khác nhau	35
Hình 3.10. CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các nguồn nitơ khác nhau.....	35
Hình 3.11. Khả năng sinh tổng hợp CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các nồng độ NaNO ₃ khác nhau.....	37
Hình 3.12. CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các nồng độ NaNO ₃ khác nhau.....	37
Hình 3.13. Khả năng sinh tổng hợp CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các giá trị pH khác nhau	38
Hình 3.14. CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các giá trị pH.....	38
Hình 3.15. Khả năng sinh tổng hợp CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các nhiệt độ khác nhau	40
Hình 3.16. CHĐBMSH của chủng <i>B. subtilis</i> 310-RP3-1 với các nhiệt độ	40

Hình 3.17. Động thái sinh trưởng và hiệu quả sinh tổng hợp CHĐBMSH của chủng 310-RP3-1 theo thời gian	41
Hình 3.18. Ảnh hưởng của CHĐBMSH nghiên cứu lên sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn KSF <i>D. vulgaris</i> DSM644 theo thời gian	43
Hình 3.19. Ảnh hưởng của CHĐBMSH nghiên cứu lên sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn KSF <i>Desulfovibrio</i> sp. RP3-303 theo thời gian	44