

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA DẦU DO VÀ BDF TỚI MỘT SỐ VI SINH VẬT TRONG NƯỚC BIỂN Ở VIỆT NAM

Đến tòa soạn 16 – 7 – 2015

Nguyễn Hoàng Phương Lan, Nguyễn Thế Đông

Tổng Cục Môi trường, Bộ Tài nguyên Môi trường

Nguyễn Quang Trung

Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

SUMMARY

STUDY ON EFFECTS OF DO OIL AND BDF TO SOME MARINE ORGANISMS IN SEA WATER OF VIETNAM

This paper presents the results of studying the effects of natural mineral oils DO and biodiesel fuels BDF1 of Vietnam and BDF2 of Japan to the development of some types of marine organisms. The some aerobic bacteria, yeast and mold in sea water were selected for study. The results showed that the present of DO (from 200mg/L to 500mg/L) has inhibition of growth of aerobic bacteria. Biodiesel fuel contents of BDF1 and BDF2 become a food source, causing the growth of aerobic bacteria from 10 to 15 times higher than the control sample. The present of DO make the development of the yeast 2 times higher, while BDF1 and BDF 2 make the development of yeast about 12 times higher. DO make the mold growth is 1.4 times higher, but BDF1 and BDF2 make the mold growth about 2.6 times higher compared with reference sample in about 27 days the survey. The biological effects of oil BDF1 of Vietnam and BDF2 of Japan were similar in experiments.

Key word: *biodiesel fuel, bacteria, diesel oil, impact, sea water.*

1. MỞ ĐẦU

Việt Nam đã và đang nghiên cứu, sử dụng chế phẩm dầu sinh học (BDF-Biodiesel Fuel) nhằm giảm nhẹ áp lực khai thác cạn kiệt dầu mỏ DO (Diesel Oil). Mức tiêu thụ hai nguồn nhiên liệu BDF và DO cho nền công nghiệp vận tải hàng hóa và du lịch biển là rất lớn. Bên cạnh sự hoạt động

thường xuyên trên biển, các sự cố đáng kể như đắm tàu, dầu tràn, đổ thải bừa bãi, xúc rửa lan can, hầm tàu, đều có thể gây nguy cơ ô nhiễm môi trường biển do việc sử dụng các loại nhiên liệu dầu DO và BDF gây ra (C.L.Peterson,Gregory Moler ,Juli 2007 ^[1], Randall von Wedel,1999^[2], Arnold

V.Hallare, Paulo Loeno S. S.Ruiz, J.C.Earl D.Carino 2014)^[3].

Hiện nay còn rất ít công trình nghiên cứu về khả năng gây ô nhiễm môi trường nước, đặc biệt là nước biển do sử dụng DO và BDF. Sự biến đổi của chúng trong tự nhiên, trong môi trường nước biển, những ảnh hưởng của chúng đối với môi trường sống, đặc biệt là môi trường vi sinh vật biển còn là những câu hỏi bức xúc đối với các nhà khoa học hiện nay.

Trong nước biển có nhiều chủng thủy vi sinh vật khác nhau, mỗi loại vi sinh vật có khả năng phân hủy một nhóm hydrocacbon cụ thể nào đó (Kasai,Y et al, 2014)^[4], Các vi sinh vật có thể phân hủy 0.03-0.5g dầu /24h/1m²

(Oilandgastechology.net,2014)^[5], (Dan Gunderson, 2014)^[9]. Khi dầu rơi xuống nước, các chủng vi sinh phân hủy các loại dầu này như là thức ăn để sinh trưởng. Nếu khuếch tán tốt thì sự phân hủy dầu của các vi sinh vật nhanh, mạnh hơn. Điều kiện để các vi sinh vật phân hủy dầu được là phải có oxy. Do đó trên bề mặt nước, dầu dễ bị vi sinh phân hủy hơn là khi đã chìm xuống đáy. Khả năng phân hủy vi sinh phụ thuộc vào thành phần của dầu, loại dầu, diện tích dầu tràn trên mặt nước và nhiệt độ môi trường.

Các nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng dầu DO và dầu BDF tới các loại vi khuẩn hiếu khí, nấm men, và nấm mốc trong nước biển đã được thực hiện trong bài báo này.

2. THỰC NGHIỆM VÀ MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM.

2.1.Nguyên liệu, đối tượng nghiên cứu, hóa chất

Nguyên liệu: Dầu nhiên liệu khoáng DO của Việt Nam; dầu sinh học BDF1 của Việt nam do dự án JASTREP cung cấp và dầu BDF2 của Nhật Bản, do trường đại học Osaka cung cấp; Nước biển vịnh Hạ Long, Quảng Ninh, Việt nam, cách bờ 350m: 100lít; Bùn đáy biển cách bờ 350m (để khô ở nhiệt độ phòng 18-20°C trong thời gian 48h rồi cân bùn để làm mầm vi sinh).

Đối tượng nghiên cứu : sự sinh trưởng của vi khuẩn hiếu khí, nấm men, nấm mốc trong nước biển tại vịnh Hạ long, Việt Nam.

Thời gian khảo sát: từ 2013/01/04 đến 2013/01/31

Hoá chất: Cloroform, pA, Nhật Bản ; Hexan, pA, Nhật Bản

Phương pháp xác định: TCVN 4884:2005,ISO 4833:2003: Tổng số vi khuẩn hiếu khí^[7], TCVN 1566- Sản phẩm thực phẩm: xác định tổng số bào tử nấm men, nấm mốc^[8]

2.1.2. Dụng cụ, trang thiết bị

Dụng cụ: Can nhựa trắng đã vô trùng 20 lít, để lấy mẫu nước biển; 19 bình chứa thể tích 5L màu nâu cùng loại và giống nhau có nắp đậy kín; Máy xục không khí loại dùng cho xục khí cho bể cá cảnh, đã vô trùng. Bình chiết 1L, 2L; Tủ sấy; Bình hút chân không; Bình hút ẩm.Máy cất quay chân không; Bình quả lê thể tích 200ml, cốc làm bay hơi và cân dầu. Cân phân tích 5 chữ số: Ohaus DV 215 CD: 0.00001g. Tủ nuôi cấy vi sinh ESCO IFA-110L-8, Indonesia.

2.2. Mô hình thực nghiệm.

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của dầu đến các vi khuẩn hiếu khí, nấm men, nấm mốc trong nước biển

- *Chuẩn bị mẫu, bố trí thí nghiệm phản ứng và theo dõi thực nghiệm*

Chuẩn bị 10 bình mẫu nâu, thể tích 5L: Cho vào mỗi bình 2 lít nước biển vịnh Hạ Long, Việt Nam. Bổ sung 20g bùn biển để tạo nguồn vi sinh vật cho nước biển.

Khảo sát dầu DO: Bổ sung 500mg dầu DO vào bình 1 và 2, (kí hiệu mẫu M1 và mẫu M2)

Bổ sung 200mg dầu DO vào bình 3, (kí hiệu mẫu M3)

Khảo sát dầu BDF1: Bổ sung 500mg dầu BDF1 vào bình 4 và 5, (kí hiệu mẫu M4 và mẫu M5)

Bổ sung 200mg dầu BDF vào bình 6, (kí hiệu mẫu M6)

Khảo sát dầu BDF2: Bổ sung 500mg dầu BDF2 vào bình 7 và 8, (kí hiệu M7 và mẫu M8)

Bổ sung 200mg dầu BDF2 vào bình 9, (kí hiệu mẫu M9)

Mẫu đối chứng. M10: chỉ có nước biển và bùn, không bổ sung dầu

Điều kiện hiếu khí: Xục khí hàng ngày bằng thiết bị xục khí bể cá cảnh

- *Tiến hành phân tích*

Mẫu sau khi nuôi cấy vi sinh bùn biển từ ngày thứ nhất đến ngày thứ 3 thì bắt đầu lấy mẫu nước để phân tích, các mẫu lấy để phân tích vi sinh được thực hiện vào các ngày thứ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 và 27 sau khi chuẩn bị mẫu và xục khí. Mỗi lần lấy 10ml mẫu cho vào các ống nghiệm 20ml đã vô trùng để phân tích các chỉ tiêu vi khuẩn hiếu khí, nấm men, nấm mốc.

Các mẫu phân tích vi sinh được thực hiện tại Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của dầu DO và BDF1, BDF2 tới vi sinh vật trong nước biển

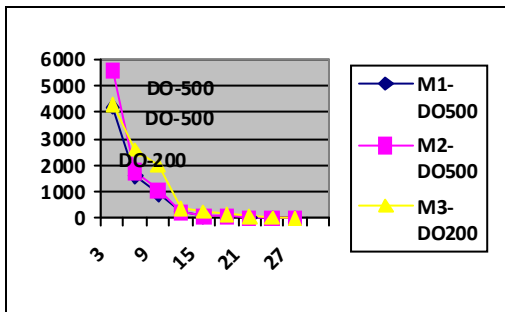
Do tác động của gió và sóng nên nước biển luôn có hàm lượng oxy hoà tan lớn, các vi khuẩn kỵ khí sẽ không tồn tại trên nước biển bề mặt. Vì vậy thí nghiệm chỉ được thực hiện với vi khuẩn hiếu khí. Tất cả 10 bình chứa 2L mẫu nước biển, gây ô nhiễm dầu cường bức bằng cách bổ sung lượng dầu DO, BDF1 và BDF2 nhất định, bổ sung thêm 20g bùn đáy biển vào từng bình nhằm tạo mầm cho lượng vi sinh vật trong nước biển và cho cung cấp oxy qua bơm khí cường bức tạo môi trường hiếu khí. Các vi sinh vật chịu tác động của điều kiện môi trường và thí nghiệm này là vi khuẩn hiếu khí, nấm men và nấm mốc. Sự phát triển của các vi sinh vật trong nước biển ở điều kiện hiếu khí được khảo sát trong thời gian 27 ngày, vào các ngày thứ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 và 27, ba ngày lấy mẫu phân tích một lần. Nồng độ các vi sinh vật trong các mẫu thay đổi theo thời gian thể hiện sự tăng trưởng của vi khuẩn hiếu khí, nấm men và nấm mốc dưới tác động của dầu khoáng DO, BDF1 và BDF2.

3.1.1. Kết quả khảo sát tác động của dầu DO và BDF1, BDF2 lên vi khuẩn hiếu khí

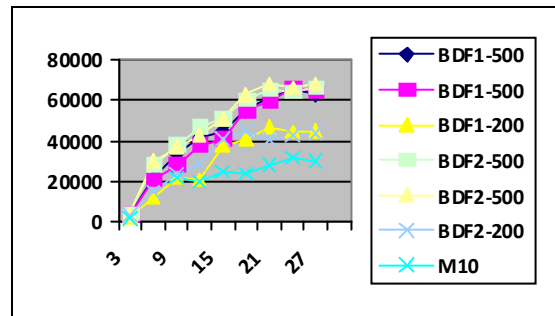
Hàm lượng các loại dầu được sử dụng trong nghiên cứu này là 200mg và 500mg trong thể tích 2 lít nước biển. Các mẫu sử dụng 500mg/L đều được làm hai lần để có kết quả lặp lại. Kết quả phân tích tổng vi khuẩn hiếu khí được thể hiện trong hình 1.

Nhận xét: Từ kết quả hình 2 cho thấy, Dầu DO ảnh hưởng tới sự sinh trưởng của vi khuẩn hiếu khí trong quá trình khảo nghiệm, nồng độ DO càng cao thì càng ức chế sự sinh

trường của vi khuẩn hiếu khí (Aerobic Bacteria). Lượng dầu DO được bổ sung cao (500mg) có tác dụng ức chế vi khuẩn hiếu khí hơn hẳn so với bổ sung chỉ lượng 200mg dầu DO. Sau khoảng thời gian 24-27 ngày, 99% vi khuẩn hiếu khí bị ức chế bởi dầu DO, từ gần 5000 con xuống còn khoảng 20-30 con. Dầu BDF1 và BDF2 không ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn hiếu khí trong quá trình khảo nghiệm, nồng độ càng cao thì mật độ vi



(1a)- Ảnh hưởng của dầu DO



1b)- Ảnh hưởng của dầu BDF1 và BDF2

Hình 1. Ảnh hưởng của dầu DO(a), BDF1, BDF 2(b) đến sự tăng trưởng của VKHK trong nước biển

Lượng vi khuẩn hiếu khí trong các mẫu có bổ sung dầu BDF1 và BDF2 đều đạt mức tăng trưởng cân bằng, lượng vi khuẩn trong mẫu không tăng mạnh như các ngày trước. Lượng BDF1 và BDF2 dù có bổ sung nhiều, sức tăng trưởng của vi khuẩn hiếu khí cũng đạt cân bằng đến giá trị nhất định. Nếu lượng dầu BDF nhiều, sẽ gây ô nhiễm nước, ức chế sự phát triển của vi khuẩn hiếu khí, tác dụng xấu đến môi trường. Mẫu đối chứng (M10) không bổ sung dầu cho thấy vi sinh vật trong mẫu bùn biển phát triển, tăng trưởng bình thường trong điều kiện nước biển và được cấp không khí, nhưng sự tăng trưởng không mạnh bằng khi có mặt của dầu BDF trong môi trường.

3.1.2. Kết quả khảo sát tác động của dầu lên tổng nấm men

khuẩn hiếu khí càng lớn, có thể do các vi khuẩn có khả năng phân hủy và chuyển hóa dầu BDF1 và BDF2 thành nguồn cung cấp cacbon cho sự sinh trưởng của chúng. Lượng vi khuẩn hiếu khí trong các mẫu bổ sung dầu BDF1 và BDF2 tăng khoảng hơn 10 -15 lần. Có thể thấy rằng vào các ngày từ thứ 3 đến ngày thứ 21, vi khuẩn hiếu khí tăng trưởng nhanh, đến ngày từ thứ 23 đến 27.

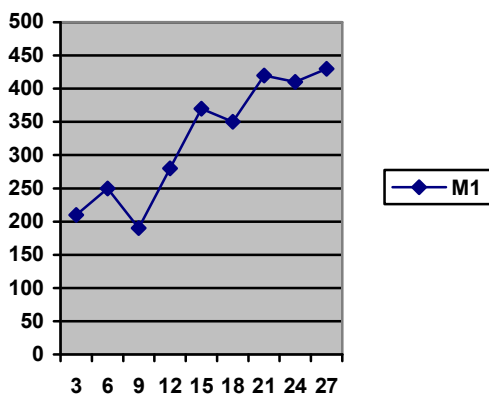
Nấm men cũng sử dụng các hợp chất hữu cơ làm thức ăn để tăng trưởng. Hình 2, (2a) và (2b) thể hiện khả năng phân hủy các loại dầu DO và BDF1, BDF2 của nấm men trong thời gian 27 ngày. Các mẫu M1, M4 và M 7 bổ sung 500mg mỗi loại dầu DO, BDF1 và BDF2 được đưa đi phân tích nấm men, kết quả so sánh với nấm men của mẫu đối chứng M10. Các kết quả khảo sát về tác động lên tổng nấm men được trình bày ở hình 2.

Nhận xét. Từ hình 2 cho thấy, nấm men chỉ xuất hiện trong các mẫu thí nghiệm có bổ sung bùn và không có trong các mẫu thí nghiệm chỉ sử dụng nước biển (M10). Nồng độ của BDF1, BDF2 và DO (500mg/ L) không ảnh hưởng tới sự sinh trưởng của nấm men trong suốt quá trình thử nghiệm.

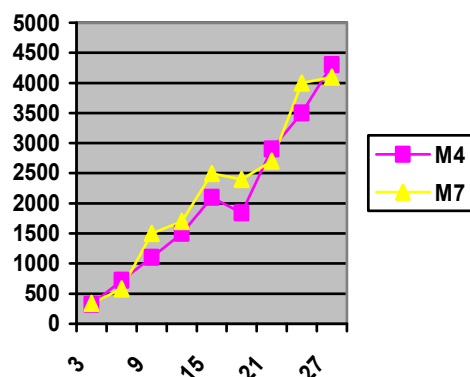
Ngược lại, hàm lượng DO, BDF1 và BDF2 còn có tác dụng làm tăng trưởng nấm men, trong thời gian

khoảng 27 ngày thí nghiệm, các nấm men tăng trung bình hơn 2 lần khi có mặt của DO, tăng 12 lần khi có mặt của BDF1 và BDF2. Khi không có dầu, mà chỉ có bùn biển, các nấm men trong nước biển cũng có

thể tăng trưởng 1.3 lần. Điều đó cho thấy nấm men không những không bị dầu DO, BDF1 và BDF2 ức chế, chậm phát triển hay chết mà còn có khả năng sử dụng dầu DO, BDF1 và BDF2 làm nguồn thức ăn cung cấp cacbon cho chúng phát triển, tuy nhiên mức độ tăng trưởng là khác nhau.



(2a)- Ảnh hưởng của dầu DO



2b)- Ảnh hưởng của dầu BDF1 và BDF2

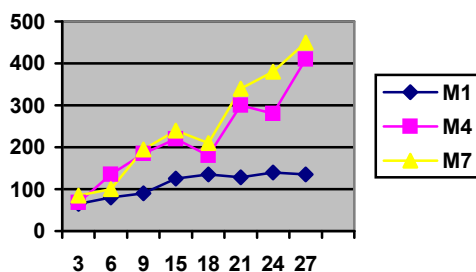
Hình 2. Ảnh hưởng của dầu DO(2a), BDF1, BDF2(2b) đến sự tăng trưởng của nấm men trong nước biển

Sự tăng trưởng khi có mặt BDF1 và BDF2 của nấm men trong nước biển cao hơn khi có mặt của DO khoảng gần 10 lần.

3.1.3. Kết quả khảo sát tác động của dầu lên tổng nấm mốc

Tương tự như trong thí nghiệm của nấm men, nấm mốc cũng được khảo sát với các mẫu M1, M4, M7 có bổ sung 500mg các dầu DO, BDF1 và BDF2 và mẫu M10 làm đối chứng. Kết quả được thể hiện trong hình 3. Các loại dầu trên cũng không gây ức chế hay làm chết các loại nấm mốc, ngược lại còn trở thành nguồn thức ăn cacbon cho sự phát triển của nấm mốc. Các kết quả cũng chỉ ra rằng sự có mặt của DO

không làm cho sự tăng trưởng lớn lên đáng kể, nhưng đối với BDF1 và BDF2 là khá rõ ràng, điều đó cho thấy sự phù hợp là cacbon của dầu sinh học dễ bị phân hủy vi sinh hơn dầu mỡ khoáng.



Hình 3. Ảnh hưởng của các loại dầu đến nấm mốc trong nước biển

Từ thực nghiệm cho thấy, nấm mốc không có trong các mẫu thử nghiệm khi sử dụng nước biển (mẫu M10), nấm mốc chỉ có trong các mẫu thí nghiệm có bổ sung bùn. Các loại dầu DO, BDF1 và BDF2 không ức chế sự phát triển của nấm mốc khi bổ sung 500mg vào môi trường nước biển.

Tương tự đối với nấm mốc, dầu DO làm tăng trưởng gấp 1.4 lần và dầu BDF 1 và BDF 2 làm tăng trưởng khoảng 2.6 lần (hình 3).

So sánh giữa 2 loại dầu BDF1 và BDF2, cho thấy tác động của chúng trong môi trường hợp là tương tự nhau.

Từ các hình 1,2 và 3 cho thấy trong các môi trường có dầu BDF, các vi khuẩn hiếu khí lớn hơn sự nấm men hơn 10 lần và lớn hơn nấm mốc gần 150 lần.

Đây là một kết quả khả quan hướng tới khả năng nghiên cứu ra một loại chế phẩm sinh học chứa vi sinh vật có khả năng phân hủy dầu BDF như thức ăn để vi sinh vật tăng trưởng, nhằm sử dụng để xử lý ô nhiễm dầu trong thực tế.

4. KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu, khảo sát thực nghiệm và đánh giá ảnh hưởng của hai loại dầu DO và BDF tới một số vi sinh vật như vi khuẩn hiếu khí, nấm men, nấm mốc trong nước biển, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

- Trong điều kiện hiếu khí, kết quả cho thấy dầu DO có tác động loại bỏ các vi sinh vật hiếu khí còn dầu BDF1 và BDF2 không những không gây ảnh hưởng tới các vi khuẩn hiếu khí mà còn tạo thành nguồn nguyên liệu cacbon cho các loại vi sinh vật biển.

- Trong điều kiện hiếu khí, cả ba loại dầu DO, BDF1 và BDF2 đều không ảnh hưởng đến sự phát triển, sinh trưởng của nấm men, nấm mốc; đặc biệt là các loại dầu BDF1 và BDF2 đều là nguồn nguyên liệu cacbon cho nấm men, nấm mốc phát triển. Dầu DO cũng là

nguồn thức ăn cung cấp cacbon cho nấm men, nấm mốc nhưng sự phát triển hạn chế hơn.

Có thể nghiên cứu để hướng tới việc sử dụng các chế phẩm dầu sinh học này để tạo ra một loại chế phẩm sinh học nhằm mục đích xử lý ô nhiễm dầu BDF khi sự cố ô nhiễm môi trường do dầu sinh học gây ra.

Xin trân trọng cảm ơn GS. Yasuaki Maeda và GS. Otsuka Kouji, trường Đại Học Osaka Prefecture, Nhật Bản vì sự giúp đỡ quý báu trong quá trình thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1-C.L.Peterson,Gregory moler: Juli (2007): Biodiesel Biodegradability, BOD₅,COD and toxicity of biodiesel fuel.
- 2-Randall von Wedel: Technical Handbook for Marine Second Edition, April 22,(1999).
- 3-Arnold V.Hallare, Paulo Loeno S. S.Ruiz, J.C.Earl D.Carino:Environmental Science and Pollution Research, Vol.21, p6044-6056,(2014) Assessment ở Jatropha curcas L. biodiesel seed cake toxicity using the zebrafish embryo toxicity test.
- 4 Kasai,Y et al: Environmental Microbiology 4.3, pag 141-147:Predominant Growth of Alcanivorax strains in Oil- contaminated and nutrient- supplemented Sea Water)
- 5- WW.oilandgastechnology.net.April 30, (2014):Oil and natural gas eating bacteria to clear-up spills.
- 6- Dellagnezze, B. M., de Sousa, G. V., Martins, L. L. et al. (2014).News Alert. Issue 403, Bioremediation potential of microorganisms derived from petroleum reservoirs.
- 7- TCVN 4884:2005,ISO 4833:2003: Tổng số vi khuẩn hiếu khí.
- 8- TCVN 1566- Sản phẩm thực phẩm: xác định tổng số bào tử nấm men, nấm mốc.
- 9- Dan Gunderson. Bemidji, minn. Jun 4,2014: At an old minnesota oil spill site, scientists discover oil- eating microbes.