

PHÂN HUỖ SINH HỌC HYDROCARBON THƠM ĐA VÒNG CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN PHÂN LẬP TỪ NƯỚC THẢI NHIỄM DẦU

NGUYỄN NGỌC BẢO, ĐÀM THUYẾT HẰNG, VŨ ĐỨC LỢI, ĐẶNG THỊ THU, ĐẶNG THỊ CẨM HÀ

1. MỞ ĐẦU

PAH là thành phần vốn có của dầu mỏ, nước thải nhiễm dầu và sinh ra từ các hoạt động sản xuất công nghiệp đang ngày càng được quan tâm đặc biệt do ảnh hưởng nguy hiểm của nó tới sức khỏe con người. Nhiều tập đoàn và các chủng vi sinh vật như vi khuẩn, xạ khuẩn, nấm có khả năng phân huỷ mạnh PAH từ nhiều nguồn ô nhiễm đã được phân lập, nghiên cứu như đại diện của các chi *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Aeromonas*, *Rhodococcus* và *Bacillus* v.v. Các chủng *Cycloclostridium* N3 và *Cycloclostridium* W do Gelsenbrecht và cộng sự, 1998, phân lập từ vùng biển nhiễm PAH ở Vịnh MEXICO, sau 7 ngày có khả năng loại bỏ hoàn toàn Naphtalen, 1-Methylnaphtalen, 2-Metylnaphthalen, Phenanthren, Fluoren và 2,6-Dimethylnaphtalen, Anthracen.

Nhiều tác giả đã phân lập và nghiên cứu khả năng phân huỷ PAH của các chủng vi sinh vật từ các nguồn ô nhiễm khác nhau của Việt Nam. Kết quả cho thấy chúng phân huỷ PAH ở mức độ khác nhau. Nguyễn Bá Hữu và cộng sự (2000) đã phân lập được 7 chủng vi khuẩn từ mẫu bùn cát tại Khe Chè, Quảng Ninh trong đó chủng vi khuẩn KCP8 có khả năng chuyển hoá 6 loại PAH sau 7 ngày nuôi cấy. Năm 2004, cũng sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường khoáng có bổ sung glucoza, hai chủng xạ khuẩn XKDN12 và XKDN13 phân lập từ đất nhiễm chất độc hoá học của tác giả Nguyễn Dương Nhã, 2004, có khả năng sử dụng Phenanthren, Anthracen và Fluoranthren. Chủng vi khuẩn *Sphingomonas yanoikuyae* MXL-9 của tác giả La Thị Thanh Phương, 2003, phân lập từ cặn dầu thô khai thác từ mỏ Bạch Hổ cũng thể hiện khả năng phân huỷ Phenanthren và Anthracen. Việc nghiên cứu các tập đoàn, cũng như các chủng vi khuẩn đã được tách sạch có khả năng phân huỷ PAH là cơ sở cho việc thiết lập và kiểm soát các quá trình công nghệ xử lý làm sạch chất ô nhiễm này đồng thời các vi sinh vật được nghiên cứu sẽ là nguồn chủng giống cho xử lý hydrocacbon thơm đa vòng trong các hệ thống bioreactor hiếu khí. Để tiếp tục phát triển và nâng cao hiệu quả công nghệ sinh học xử lý ô nhiễm dầu trong đó có việc giảm thiểu tối đa hàm lượng PAH thì các nghiên cứu đánh giá về số lượng, đặc điểm sinh học và khả năng phân huỷ PAHs của vi sinh vật trong nước thải nhiễm dầu là rất cần thiết.

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu một số đặc điểm sinh học, khả năng chuyển hoá PAHs của tập đoàn vi khuẩn và chủng vi khuẩn HNBCd1 phân lập từ nước và cặn thải nhiễm xăng dầu của kho chứa xăng dầu Hà Nam.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Nguyên liệu nghiên cứu là các mẫu nước thải (kí hiệu HNBC) và bùn thải (kí hiệu HNBU) thu thập tại bể chứa nước thải nhiễm dầu và bể bùn cặn dầu của kho xăng dầu Hà Nam.

Các hydrocacbon thơm đa vòng như Naphtalen, Phenanthren, Anthracen, Fluoren, Fluoranthren, Pyren, Chrysen ở nồng độ ban đầu 100ppm đã được sử dụng như là nguồn cacbon và năng lượng duy nhất để đánh giá khả năng phân huỷ sinh học của các vi khuẩn phân lập được trong môi trường muối khoáng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Số lượng vi sinh vật dị dưỡng trên môi trường hiếu khí tổng số (HKTS), vi sinh vật sử dụng dầu DO, PAHs trên các môi trường muối khoáng đã được tiến hành theo phương pháp xác định số lượng có thể nhất (MPN-most probable number). Phân lập và đánh giá khả năng sử dụng PAH, hỗn hợp xăng và dầu DO của các chủng vi khuẩn theo các phương pháp đã mô tả trước đây [10].

Sự chuyển hoá, phân huỷ hydrocacbon thơm đa vòng bởi vi sinh vật được đánh giá sơ bộ bằng sự tạo sinh khối, kết hợp với sự thay đổi màu sắc của môi trường nuôi cấy. Phụ thuộc vào mỗi loại vi sinh vật, màu môi trường có thể đổi từ vàng nhạt, vàng chanh, vàng đậm đến nâu nhạt, nâu đậm v.v.

Phương pháp xác định khả năng chuyển hoá PAHs

Phương pháp xác định khả năng chuyển hoá PAHs là phương pháp đo quang phân tử, dựa trên sự dịch chuyển điện tử trên các orbital π của các nối đôi liên kết trong vòng thơm của phân tử hợp chất PAH. Khả năng chuyển hoá PAHs của vi khuẩn trong dịch nuôi cấy được xác định trên máy quang phổ tử ngoại khả kiến UV-VIS GBC - CINTRA 4.

Lấy 20 ml dịch nuôi cấy vi sinh vật tách chiết PAH bằng 180 ml cồn tuyệt đối, sau đó lọc toàn bộ, thu dịch lọc bơm vào máy phân tích. Sử dụng mẫu đối chứng (không có vi sinh vật) đo song song với mẫu nghiên cứu. Nồng độ của mỗi PAHs trong mẫu đối chứng được so sánh với mẫu nuôi cấy vi sinh vật ở cùng điều kiện được xử lý tính toán dựa vào chiều cao Peak hấp thụ tại bước sóng 275 nm đối với Pyren và 205nm đối với Phenanthren, Anthracen, Fluoranthren, Chrysen, Naphthalen, Fluoren.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Số lượng vi sinh vật dị dưỡng và sử dụng hỗn hợp xăng và dầu diesel (DO) trong nước thải nhiễm dầu

Bảng 1: Số lượng VSV hiếu khí và sử dụng hỗn hợp xăng và dầu DO trong nước thải nhiễm dầu và cặn dầu

Mẫu	Số lượng vi sinh vật (MPN/ml)	
	Vi sinh vật dị dưỡng	Vi sinh vật sử dụng xăng + DO (1:1)
HNBUH1	$1,1 \times 10^9$	$2,4 \times 10^3$
HNBUH2	$2,4 \times 10^7$	$4,3 \times 10^2$
HNBCH3	$2,4 \times 10^5$	$4,6 \times 10^3$
HNBCH4	$2,4 \times 10^5$	$1,5 \times 10^3$

Từ mẫu nước thải nhiễm dầu thu thập từ hệ thống bể chứa nước thải lẫn dầu và cặn dầu, số lượng của vi sinh vật dị dưỡng, vi sinh vật sử dụng hỗn hợp xăng và DO (5%) và vi sinh vật sử dụng PAH đã được xác định (bảng 1).

Kết quả bảng 1 cho thấy trong mẫu nước thải nhiễm dầu tại địa điểm khảo sát, số lượng vi sinh vật (VSV) hiếu khí dị dưỡng là từ 10^5 đến 10^9 MPN/ml. Vi sinh vật sử dụng hỗn hợp xăng và DO là từ 10^2 đến 10^3 MPN/ml. Mặc dù số lượng VSV phân huỷ xăng và DO nhỏ hơn nhiều so với số lượng VSV dị dưỡng nhưng cũng chứng tỏ tại các vị trí lấy mẫu này có quá trình phân huỷ ô nhiễm xảy ra. Số lượng vi sinh vật sử dụng xăng và DO ở hai mẫu bùn thấp hơn trong bể chứa cho thấy sự phân huỷ sinh học xăng dầu trong bùn cặn từ các bể chứa bùn xảy ra yếu hơn so với trong các bể chứa nước ô nhiễm.

Số lượng VSV có khả năng phân huỷ xăng dầu là một trong những chỉ thị sinh học giúp nhận biết môi trường đó có bị ô nhiễm dầu hay không. Nhiều công bố cho thấy ở các môi trường không bị ô nhiễm dầu, số lượng VSV phân huỷ hydrocarbon chỉ chiếm dưới 1% trong quần thể VSV trong khi ở những vùng ô nhiễm, giá trị này là từ 1 – 10%. Tuy nhiên trong một số trường hợp đặc biệt, giá trị này có thể đạt tới 90% số lượng quần thể VSV [5,6]. Theo công bố gần đây, hiện nay có khoảng trên 30 chi VSV có khả năng phân huỷ hydrocarbon dầu mỏ và phân bố rộng rãi trong tự nhiên. Trong môi trường nước vi khuẩn đóng vai trò quyết định còn ở đất nấm sợi và vi khuẩn là những cơ thể đóng vai trò chủ yếu. Các chi vi sinh vật sử dụng hydrocarbon thường gặp trong môi trường có thể kể đến *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Candia*, *Rhodororula*, *Mycobacterium* và *Sporobolomyces*. Ngoài ra còn gặp *Rhodococcus*, và nấm sợi như *Aspegillus*, *Penecilium*, *Mucor*, *Fusarium*, trong môi trường biển [5, 6]. Một nghiên cứu gần đây về đa dạng vi khuẩn trong hệ thống phân huỷ sinh học đất nhiễm hydrocarbon dầu khoáng cho thấy bên cạnh các chi chiếm ưu thế là *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Sphingomonas*, *Acidovorax* và *Thiobacillus*, sự có mặt của các đại diện thuộc chi *Zymomonas* và *Rhodoferax* là các phát hiện mới của đất nhiễm hydrocarbon dầu mỏ [8]. Cernilia và cộng sự (1981) khi nghiên cứu điều tra vi khuẩn lam và tảo đã phát hiện 9 chi vi khuẩn lam, 5 chi tảo đỏ và 2 chi tảo silic có khả năng oxy hoá Naphthalene.

Như đã đề cập ở trên, trong dầu ô nhiễm, ngoài các thành phần hydrocarbon mạch thẳng, no và không no thì PAH được quan tâm nhiều nhất bởi độc tính của nó. Vì vậy, các đánh giá về khả năng phát triển của vi khuẩn trên môi trường chứa các PAH khác nhau đã được tiến hành. Bảng 2 thống kê số lượng vi sinh vật từ nước thải phát triển trên môi trường muối khoáng chứa PAH khác nhau.

Bảng 2. Số lượng VSV hiếu khí phát triển trên môi trường chứa PAH

TT	PAH	Số lượng (CFU/ml)
1.	Phenanthrene	3×10^6
2.	Anthracene	$3,6 \times 10^5$
3.	Fluorene + Fluoranthene	3×10^4
4.	Pyrene + Chrysene	$3,2 \times 10^5$
5.	Naphtalene	1×10^6

Các nghiên cứu trước đây tại Việt Nam chưa tập trung nhiều về phân tích số lượng của nhóm vi sinh vật sử dụng PAH trong nước thải nhiễm xăng dầu. Kết quả bảng.2 chỉ ra rằng có

sự tồn tại nhiều vi sinh vật sử dụng và chuyển hoá PAH trong nước thải nhiễm dầu. Chúng không chỉ sử dụng một mà nhiều loại PAH khác nhau trong đó có cả những PAH khó phân huỷ như Pyren, Chrysen, Fluoren hay Fluoranthren. Do có cấu trúc phân tử chứa 4 vòng thơm nên số lượng vi sinh vật phát triển trong môi trường chứa hỗn hợp Fluoren và Fluoranthren là 3.10^4 CFU/ml và hỗn hợp Pyren và Chrysen là $3,2.10^5$ CFU/ml thấp hơn con số đó ở nhóm VSV sử dụng Naphthalen, Phenanthren và Anthracen là từ 10^5 đến 10^6 CFU/ml.

Sự đa dạng vi sinh vật sử dụng PAH không cao, chỉ xác định được từ 2 đến 4 loại vi khuẩn có hình thái khác nhau trên mỗi PAH đơn lẻ và hỗn hợp. Trong đó loại vi khuẩn có kích thước < 1 mm hình tròn, lõi bóng màu vàng nhạt chiếm ưu thế.

3.2. Phân lập và nghiên cứu khả năng sử dụng PAHs của một số vi khuẩn

VSV sử dụng PAHs được phân lập theo phương pháp làm giàu trên môi trường muối khoáng chứa các nguồn PAHs trên như là nguồn cacbon và năng lượng duy nhất. Kết quả phân lập cho thấy VSV sử dụng PAHs trong nước thải nhiễm dầu không đa dạng, trên mỗi loại PAHs chỉ có từ 2 đến 4 loại khuẩn lạc, trong đó loại vi khuẩn có màu trắng, mép trong, lõi bóng và nhỏ chiếm ưu thế.



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của vi khuẩn phân lập từ mẫu nước thải nhiễm dầu HNBC trên môi trường muối khoáng chứa Phenanthren

Bảng 3. Số lượng vi khuẩn phân lập được và khả năng chuyển hoá PAHs

TT	Môi trường chứa PAH và hỗn hợp PAH	Số lượng vi khuẩn phân lập và khả năng chuyển hoá PAHs					
		Bể chứa			Cặn bùn		
		Khả năng phát triển			Khả năng phát triển		
		Mạnh	Trung bình	Yếu	Mạnh	Trung bình	Yếu
1.	Phenanthrene	1	3	4	-	-	2
2.	Anthracene	-	-	3	-	-	2
3.	Fluorene + Fluoranthene	-	-	2	-	-	2
4.	Pyrene + Chrysene	-	-	2	-	-	3
5.	Naphtalene	-	-	3	-	-	4

Chú thích: Phát triển mạnh (môi trường đổi màu sau 1 ngày); Phát triển trung bình (môi trường đổi màu sau 3 ngày); Phát triển yếu (môi trường không đổi màu sau 7 ngày).

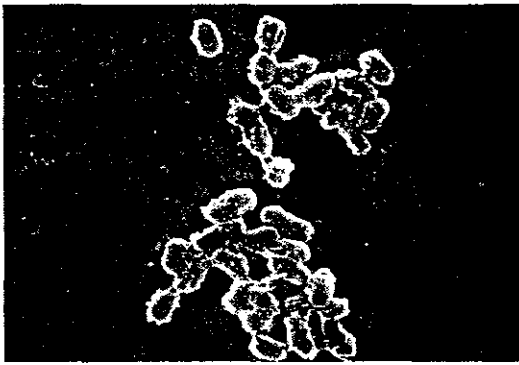
Khả năng phân huỷ PAHs được đánh giá sơ bộ bằng sự thay đổi màu môi trường. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Từ các mẫu nước thải nhiễm dầu 31 chủng vi khuẩn sử dụng PAH đã được phân lập. Sự tồn tại của các vi khuẩn bản địa này cho thấy tiềm năng áp dụng công nghệ phân huỷ sinh học xử lý ô nhiễm dầu và PAH sẽ mang lại hiệu quả (cao) bằng kích thích sinh học hay làm giàu sinh học. Khả năng phân huỷ PAH khác nhau của các chủng vi khuẩn đã được nghiên cứu và kết quả trình bày ở bảng 3. Trong số 31 chủng sạch, 4 chủng trên nguồn Phenanthrene là HNBCd, HNBCd1, HNBCe và HNBCg có khả năng loại PAH mạnh hơn cả. Môi trường nuôi cấy chuyển màu vàng nâu, và một trong số 4 chủng đó là HNBCd1 phân huỷ mạnh nhất, môi trường đổi màu chỉ sau một ngày. Các chủng vi khuẩn còn lại chuyển hoá ở mức độ yếu hơn, hình thành ít sinh khối (VSV), môi trường không đổi màu sau nhiều ngày. Chủng HNBCd1 đã được chọn để nghiên cứu và xác định khả năng phân huỷ hydrocarbon thơm đa vòng.

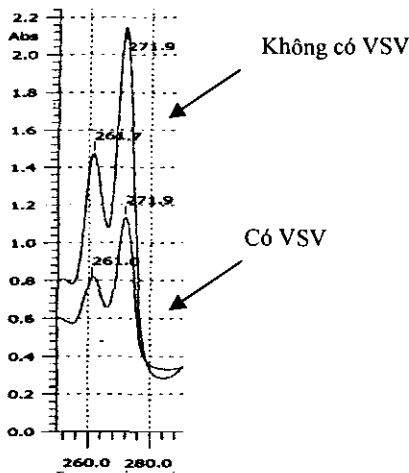
Hình thái vi khuẩn HNBCd1



Hình 2. Hình thái khuẩn lạc vi khuẩn HNBCd1 trên Phenanthren



Hình 3. Hình thái tế bào vi khuẩn HNBCd1 trên kính hiển vi điện tử JEOL 5410 LV có độ phóng đại 10.000 lần



Hình 4. Phổ UV đo khả năng chuyển hoá Pyren sau 3 ngày của đơn chủng HNBCd1 trên môi trường khoáng. Peak trên biểu thị hàm lượng Pyren của mẫu đối chứng; Pic dưới biểu thị hàm lượng Pyren còn lại trong mẫu có VSV

Sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường muối khoáng bổ sung hydrocarbon ba vòng thơm là Phenanthrene, khuẩn lạc chủng HNBCd1 có hình tròn, trong, màu vàng đậm, kích thước từ 1 - 2 mm. Kết quả nhuộm Gram cho thấy chúng thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm, dưới kính hiển vi điện từ quét JEOL 5410 LV, có hình hạt đậu bề mặt tế bào sần sùi như gai kích thước 0,4 - 0,57 $\mu\text{m} \times 1 - 1,7 \mu\text{m}$.

Bảng 4. Khả năng sử dụng 7 loại PAH khác nhau của chủng HNBCd1

TT	Loại PAH (nồng độ 100 ppm)	Hiệu suất chuyển hoá (%)	Sự thay đổi màu môi trường nuôi cấy
1	Phenanthrene	41	Môi trường chuyển màu vàng đậm, hơi đỏ
2	Anthracene	KPT	Môi trường chuyển màu hồng nhạt
3	Fluoranthene	40	Môi trường chuyển màu da cam
4	Naphthalene	38	Môi trường chuyển màu vàng hơi đậm
5	Pyrene	52	Môi trường chuyển màu vàng đậm, hơi nâu
6	Chrysene	KPT	Môi trường chuyển màu vàng nhạt
7	Fluorene	40	Môi trường không chuyển màu

Chú thích: KPT: không phân tích.

Các mẫu nuôi có vi sinh vật được phân tích song song bằng UV – VIS với từng đối chứng không có vi sinh vật. Kết quả bảng 4 cho thấy sau 2 ngày nuôi cấy trên môi trường khoáng có chứa bảy PAH khác nhau, chủng HNBCd1 sử dụng tất cả 7 loại PAH: 38% Naphthalen, 41% Phenanthren, 40% Fluoren, 40% Fluoranthen và 52% Pyren với nồng độ ban đầu 100 ppm mỗi PAHs và sau 2 ngày nuôi cấy. Với mỗi PAHs khác nhau, màu của môi trường đổi màu khác nhau. Hai PAHs là Anthracen và Chrysen chưa có điều kiện phân tích khả năng phân huỷ.

Các nghiên cứu quốc tế về phân lập và đánh giá khả năng phân huỷ đã được công bố rất nhiều. Một nghiên cứu về chủng *Mycobacterium* sp PYR-1 công bố có khả năng phân huỷ 74% hỗn hợp PAH gồm Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen, Pyren, Chrysen và Benzo[a]pyren sau 7 ngày nuôi cấy tuy nhiên nồng độ ban đầu rất thấp, chỉ là 17 mg/l [4]. Weissenfels, 2000, công bố chủng *Alcaligenes denitrificans* ww1 phân huỷ Fluoranthen rất mạnh với tốc độ 300 mg/l mỗi ngày đồng thời có khả năng đồng trao đổi chất với các loại PAH khác như Pyren, Benz[a]anthracen [2].

Xue-Jing Zheng và cộng sự (2007) đã nghiên cứu khả năng chuyển hoá sinh học của tập đoàn vi sinh vật hiếu khí có trong bùn cống, bổ sung chất hoạt động bề mặt Tween 80 cho hiệu quả loại bỏ PAH trên 95% đối với PAH chứa 3 vòng thơm và tăng tốc độ loại bỏ PAH chứa 4 vòng thơm sau 21 ngày. Cũng bổ sung Tween 80 (0,5%). Dhenain và cộng sự [1] đã cho thấy khả năng loại bỏ từ 35 - 50% Benzo(a)anthracene, Benzo(a)pyrene, Bbenzo(b)fluoranthene, Benzo(j)fluoranthene, Benzo(k)Fluoranthene, Fluoranthene trong bùn đen của công nghiệp nhôm.

Chủng BPQ1 của tác giả Nguyễn Bá Hữu và cộng sự (2007) chỉ có thể sử dụng Phenathren và Fluoren mà không sử dụng được các PAH khác. Cũng tác giả này và cộng sự đã phân lập được 7 chủng vi khuẩn từ mẫu bùn cát tại Khe Chè, Quảng Ninh trong đó chủng vi khuẩn KCP8

có khả năng chuyển hoá 6 loại PAH sau 7 ngày nuôi cấy là Phenanthren 80,0%, Anthracen 71,1%, Fluoranthen 41,0%, Naphthalen, Fluoren, Pyren và 76,1% hỗn hợp Phenanthren, Anthracen và Fluoranthen [15]. Chủng nấm *Aspergillus* sp FVX5 của tác giả Hoàng Thị Mỹ Hạnh và cộng sự (2003) phân lập từ khu xử lý làm sạch cặn dầu thô của tàu Chí Linh, có khả năng phân huỷ 266,69 mg/l Phenanthren, 33,34 mg/l Anthracen, 19,16 mg/l Fluoranthen sau 7 ngày nuôi cấy ở điều kiện 370C [10]. Sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường khoáng có bổ sung glucose, hai chủng xạ khuẩn XKDN12 và XKDN13 phân lập từ đất nhiễm chất độc hoá học của tác giả Nguyễn Đương Nhã, 2004, cũng có khả năng sử dụng PAH, 32,7% và 45,0% với Phenanthren, 39,0% và 52,2% với Anthracen, 23,3% và 41,4% với Fluoranthen. Vi khuẩn *Sphingomonas yanoikuyae* MXL-9 của tác giả La Thị Thanh Phương và cộng sự (2003) có khả năng phân huỷ 64,5% Phenanthren và 61,4% Anthracen ở nồng độ ban đầu 12mg/l.

So sánh khả năng phân huỷ PAH thấy khả năng phân huỷ Phenanthren, Anthracen, Naphthalen, Fluoren, Fluoranthen, Pyren, Chrysen của HNBCd1 là ở mức cao so với các chủng có khả năng phân huỷ PAH mạnh đã công bố.

4. KẾT LUẬN

Từ mẫu nước và cặn thải nhiễm dầu của kho xăng dầu Hà Nam, VSV dị dưỡng có số lượng từ 10^5 đến 10^9 MPN/ml, vi sinh vật sử dụng hỗn hợp xăng và DO là 10^3 MPN/ml và VSV sử dụng PAH từ 10^4 đến 10^6 CFU/ml.

Ba mươi một chủng vi khuẩn sử dụng PAH đã được phân lập có khả năng sử dụng 7 hydrocacbon thơm đa vòng ở mức độ khác nhau trong đó chủng HNBCd1 thể hiện khả năng phân huỷ PAH tốt nhất đã được chọn để nghiên cứu.

Chủng HNBCd1 thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm, khuẩn lạc tròn, màu vàng đậm, trong, lõi bóng, kích thước từ 1 – 2 mm. Tế bào chủng HNBCd1 hình hạt đậu, bề mặt không nhẵn, có gai, kích thước $0,4 - 0,6 \mu\text{m} \times 1 - 1,7 \mu\text{m}$.

Chủng HNBCd1 có khả năng sử dụng 7 hydrocacbon thơm đa vòng như Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen, Fluoranthen, Naphthalen, Fluoren, Pyren trong đó Naphthalen bị phân huỷ 38%, Phenanthren 41%, Fluoren 40%, Fluoranthen 40% và Pyren là 52% với nồng độ ban đầu 100 ppm mỗi PAHs và sau 2 ngày nuôi cấy ở điều kiện lắc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A Dhenain, G. Mercier, J. F. Blais, M. Bergeron - PAH removal from black sludge from aluminium industry by flotation using non-ionic surfactants, *Environ. Technol. Sep.* **27** (9) (2006) 1019-1030.
2. Air Quality Guidelines (Second Edition) - Chapter 5.9. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs), WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, 2000.
3. Allison D. Gelsenbrecht, Brian P. Hedlund, Mary A. Tichi, and J. T. Staley - Isolation of Marine Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degrading *Cycloclasticus* Strain from Gulf of Mexico and Comparison of Their PAH Degradation Ability with That of Puget Sound *Cycloclasticus* Strains, *Applied and Environmental Microbiology* **64** (12) (1998) 4703-4710.
4. Armengaud J. and Timmis K. N. - Biodegradation of dibenzo-P-dioxin and Dibenzofuran by bacteria, *J. Microbiol.* **35** (1997) 241-252.

5. Atlats R.M. and R.Bartha - Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. *Advances in Microbial Ecology*, K. C. Marshall (Ed.) Plenum Press, New York 12, 1992, pp. 287-338
6. Atlats R. - Microbial biodegradation of petroleum hydrocarbon: an environment perspective, *Microbiology Review* **45** (1981) 180-209.
7. C. Lors, A.Ryngaert, F. Perie, L. Diels - Evolution of the bacterial diversity during a biological treatment of PAHs contaminated soils. Centre National de Recherche sur les Sites et Sols Pollues (CNRSSP), 930, Boulevard Lahure, B.P.537, 59505 Douai Cedex, France, 2000.
8. Nicole Popp, Michael Schlomann, and Margit Mau - Bacterial diversity in the active stage of a bioremediation system for mineral oil hydrocarbon-contaminated soils, *Microbiology* **152** (2006) 3291-3304.
9. Xue-Jing Zheng, Jean-Francois Blais, Guy Mercier, Mario Bergeron, Patrick Drogui - PAH removal from spiked municipal wastewater sewage sludge using biological, chemical and electrochemical treatments, *Chemosphere*. Mar 2, 17337031, Bioinfobank Library, 2007.
10. Hoàng Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Đương Nhã, Đặng Thị Cẩm Hà - Nấm sợi phân huỷ hydrocarbon thơm đa nhân phân lập từ cặn dầu thô của giếng khai thác dầu, Vũng Tàu, *Tạp chí Công nghệ sinh học* **1** (2003) 255-264.
11. La Thị Thanh Phương, Nguyễn Bá Hữu, Đặng Thị Cẩm Hà - Nghiên cứu phân huỷ sinh học hydrocarbon thơm đa nhân bởi chủng vi khuẩn MXL-9 từ cặn dầu thô của mỏ Bạch Hổ, Vũng Tàu, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* (1) (2003) 109-117.
12. Nguyễn Bá Hữu, Trần Thị Tường Vi, Nghiêm Ngọc Minh, Đặng Thị Cẩm Hà - Phân huỷ sinh học dầu diesel và hydrocarbon thơm đa nhân của một số chủng vi khuẩn phân lập từ nước thải nhiễm dầu kho cảng B12, Quảng Ninh, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên* **42** (2) (2007).
13. Nguyễn Bá Hữu, Trần Như Hoa, Đặng Thị Cẩm Hà - Phân bố của vi sinh vật sử dụng Cacbuahydro và các nhóm vi sinh vật khác trong quá trình phân huỷ sinh học nước thải nhiễm dầu ở điều kiện phòng thí nghiệm, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* **37** (5) (1999) 1-6.
14. Nguyễn Đương Nhã - Nghiên cứu đặc điểm sinh học và khả năng phân huỷ dibenzofuran, hydrocarbonthơm đa nhân của hai chủng xạ khuẩn phân lập từ đất ô nhiễm chất độc hoá học. Luận văn thạc sĩ sinh học, Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật, Viện Khoa học và công nghệ Việt Nam, 2004.
15. Nguyễn Bá Hữu - Nghiên cứu các nhóm vi sinh vật và khả năng phân huỷ hydrocarbon thơm đa nhân của một số chủng vi khuẩn trong quá trình xử lý ô nhiễm dầu tại Khe Chè, Quảng Ninh, Luận văn Thạc sĩ sinh học, Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật, 2002.

SUMMARY

BIODEGRADATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON OF SOME BACTERIAL STRAINS ISOLATED FROM OIL CONTAMINATED WASTEWATER AND SLUDGE IN HANAM DEFINE PETROLEUM STORAGE

Bioremediation technology has been successfully applied in Oil Contaminated Wastewater Treatment Plant. In order to improve the effectiveness of biotechnology in oil cleaning up, especially in reduction of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs), microbial enumeration as well as degradation ability of indigenous microorganism in oil contaminated sludge and wastewater in HaNam define petroleum product storage were carried out. The number of heterotrophs, diesel oil-gasoline degrading microorganisms are from 2.4×10^5 to 1.1×10^9 MPN/ml, 4.3×10^2 to 4.6×10^3 MPN/ml respectively. The PAH degrader are from 3×10^4 to 3×10^6 CFU/ml. Thirty one PAH degrading bacterial strains were isolated, among those HNBCd1 was selected to study. HNBCd1 colony is round, convex, smooth, dark yellow and 1 - 2 mm diameter. HNBCd1 cells are bean shape and 0,4 - 0,6 μ m width and 1 - 1,7 μ m length. HNBCd1 is able to degrade 7 PAHs such as Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen, Fluoranthen, Naphthalen, Fluoren, Pyren in different levels, in which Naphthalen 38%, Phenanthren 41%, Fluoren 40%, Fluoranthen 40% and Pyren 52% with initial concentration of each PAHs was 100 ppm after 48 hour shaking incubation.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 12 tháng 10 năm 2007

Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam