

APPLICATION OF BIOFILM FORMING BACTERIA ON FINE SAWDUST AS A BIO-PRODUCT FOR TREATING OIL – CONTAMINATED WATER

Le Thi Nhi Cong^{1,2*}, Tran Thi Huyen Nga³, Cung Thi Ngoc Mai¹, Do Thi Lien¹, Nguyen Kieu Huong², Tran Thi Mai¹, Hoang Thi Phuong Hong⁴, Vuong Thi Nga¹, Quach Thi Lien¹

¹Institute of Biology – VAST, ²Graduate University of Science and Technology - VAST

³VNU University of Science, Vietnam National University, Hanoi, ⁴College of Economics, Technology and Fisheries

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 05/02/2026 Revised: 28/02/2026 Published: 28/02/2026 KEYWORDS Biofilm Biodegradation Fermentation Oil pollution Sawdust	Recently, the use of biofilm-forming bacteria on carriers to remove oil pollution has drawn increasing research interest. In this study, two biofilm-forming bacterial strains identified as <i>Bacillus</i> sp. B1 and <i>Rhodococcus</i> sp. B3 were isolated from the oil-contaminated samples taken from coastal zone in Thanh Hoa province. Both strains exhibited good growth in the presence of 250 ppm of a mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons consisting of anthracene, pyrene and phenanthrene; as well as 300 ppm diesel oil. The strains formed stable biofilm at temperatures ranging from 25 to 45 °C, NaCl concentrations from 0 to 2% and pH values among 3 and 8. A bio-product was subsequently prepared by immobilizing the selected strains onto fine sawdust as a carrier material. The product degraded > 85 and 82% of the total diesel oil and mixture aromatic hydrocarbons in wastewater with an initial concentration of 250 and 200 ppm after 7 day-incubation, respectively. The viable cell density of the bio-product was 21×10^7 and 5×10^7 CFU/g at the beginning and after 6 months of preservation. In addition, fine sawdust is an abundant, inexpensive and biodegradable raw material. These findings may lead to the potential application of this bio-product for the oil pollution treatment in Vietnam.

ỨNG DỤNG VI KHUẨN TẠO MÀNG SINH HỌC TRÊN MÙN CƯA DẠNG MỊN ĐỂ TẠO CHẾ PHẨM XỬ LÝ NƯỚC Ô NHIỄM DẦU

Lê Thị Nhi Công^{1,2*}, Trần Thị Huyền Nga³, Cung Thị Ngọc Mai¹, Đỗ Thị Liên¹, Nguyễn Kiều Hương², Trần Thị Mai¹, Hoàng Thị Phương Hồng⁴, Vương Thị Nga¹, Quách Thị Liên¹

¹Viện Sinh học - VAST, ²Học viện Khoa học và Công nghệ - VAST

³Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội, ⁴Trường Cao đẳng Kinh tế, Kỹ thuật và Thủy sản

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 05/02/2026 Ngày hoàn thiện: 28/02/2026 Ngày đăng: 28/02/2026 TỪ KHÓA Màng sinh học Phân hủy sinh học Lên men Ô nhiễm dầu Mùn cưa	Việc sử dụng vi khuẩn tạo màng sinh học trên vật liệu mang để xử lý ô nhiễm dầu đã và đang được quan tâm nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, hai chủng vi khuẩn tạo màng gồm <i>Bacillus</i> sp. B1 và <i>Rhodococcus</i> sp. B3 đã được phân lập từ các mẫu nhiễm dầu lấy tại biển Thanh Hóa. Các chủng này có khả năng sinh trưởng tốt ở hỗn hợp hydrocarbon thơm gồm anthracene, pyrene và phenanthrene với nồng độ là 250 ppm; và 300 ppm dầu diesel. Các chủng này tạo màng tốt ở nhiệt độ 25 đến 45 °C, nồng độ NaCl từ 0 đến 2% và pH từ 3 đến 8. Tạo chế phẩm từ các chủng này trên chất mang mùn cưa dạng mịn, chế phẩm có khả năng phân hủy hơn 85 và 82% hàm lượng dầu tổng số và hỗn hợp hydrocarbon thơm có trong nước thải với nồng độ ban đầu tương ứng là 250 và 200 ppm sau bảy ngày thử nghiệm. Mật độ vi sinh vật của chế phẩm ở thời điểm ban đầu và sau sáu tháng bảo quản là 21×10^7 CFU/g và 5×10^7 CFU/g. Hơn thế nữa, nghiên cứu này còn đồng thời tận dụng được nguồn nguyên liệu sẵn có, rẻ tiền và không gây ô nhiễm thứ cấp là mùn cưa. Kết quả mở ra tiềm năng ứng dụng của chế phẩm trong xử lý ô nhiễm dầu mỏ tại Việt Nam.

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.14741>

* Corresponding author. Email: lenhicong@gmail.com; lenhicong@ib.ac.vn

1. Giới thiệu

Dầu mỏ và các sản phẩm từ dầu mỏ đóng vai trò vô cùng quan trọng trong đời sống xã hội và nền kinh tế của các nước trên thế giới trong đó có Việt Nam. Khoảng 200 triệu tấn dầu được vận chuyển hàng năm qua các vùng biển ngoài khơi Việt Nam từ Trung Đông tới Nhật Bản và Triều Tiên [1]. Các hoạt động thông thường kèm theo việc khai thác và vận chuyển dầu gây ra tình trạng ô nhiễm nghiêm trọng do dầu. Ví dụ các tàu chở dầu làm thoát ra biển tới 0,7% tải trọng của chúng trong quá trình vận chuyển thông thường [1]. Sóng biển và gió đều có chiều hướng đưa lượng dầu thoát ra tấp vào bờ biển Việt Nam. Theo thống kê, từ năm 1992 đến nay có 190 sự cố tràn dầu xảy ra tại Việt Nam, trong đó có 37 vụ ngoài khơi chiếm 19%, 88 vụ ven bờ chiếm 47% và 65 vụ trên đất liền chiếm 34% [1]. Đây là nguyên nhân lớn gây ô nhiễm đất và nước. Theo thống kê của Hiệp hội các chủ hàng chở dầu quốc tế, trong số 39 quốc gia được thống kê, Việt Nam là một trong 3 quốc gia (cùng với Trung Quốc và Hoa Kỳ) có số lượng sự cố tràn dầu nhiều nhất với số lượng từ 10 sự cố trở lên, trong 5 năm trở lại đây [1]. Đặc biệt, do sự phát triển của đô thị hóa, công nghiệp hóa và nhu cầu năng lượng ngày càng tăng, việc khắc phục và phục hồi môi trường tại các khu vực bị ô nhiễm dầu đang là một trong những vấn đề nhận được nhiều sự quan tâm và cần phương pháp hiệu quả an toàn để bảo tồn hệ sinh thái [2].

Trong số các giải pháp xử lý ô nhiễm dầu một cách hiệu quả và bền vững, việc sử dụng vi sinh vật tạo màng sinh học trên các vật liệu mang để tạo ra các chế phẩm xử lý ô nhiễm dầu đã và đang được quan tâm nghiên cứu [3], [4]. Các vật liệu mang này có các cấu trúc rỗng và xốp, có vai trò là chất hấp phụ dầu và các thành phần của dầu. Nhờ đó, các vi sinh vật tạo màng sinh học tồn tại trên bề mặt của các vật liệu mang này sẽ dễ dàng tiếp cận với các chất gây ô nhiễm và nhanh chóng sử dụng các chất như nguồn carbon và năng lượng cho quá trình sinh trưởng của chúng [5]-[8]. Đây chính là điểm khác biệt với các sản phẩm hóa học và sinh học đang có trên thị trường. Một số vật liệu mang như than sinh học, sỏi nhẹ,... đã được sử dụng làm chế phẩm xử lý ô nhiễm dầu [3], [8]. Tuy nhiên, than sinh học có nhược điểm về mặt thẩm mỹ khi sử dụng tại các kho xăng dầu; còn sỏi nhẹ gây khó khăn trong vận hành tại một số khu vực tự nhiên. Đồng thời, việc tìm kiếm các vật liệu mang sinh học mới luôn được chú trọng để gia tăng hiệu quả xử lý và giảm chi phí sản xuất.

Vì vậy, trong nghiên cứu này, mùn cưa đã được lựa chọn để làm chất mang cho các chủng vi khuẩn tạo màng sinh học có khả năng phân hủy dầu. Từ đó tạo ra chế phẩm sinh học và thử nghiệm hiệu quả xử lý ô nhiễm dầu của chế phẩm.

2. Vật liệu và Phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Các mẫu đất và nước bị ô nhiễm dầu lấy ở một số vùng ven biển Thanh Hóa như cảng Nghi Sơn, xã Hoàng Thanh,...

Mùn cưa được thu mua từ cơ sở chế biến gỗ ở Hà Nội. Kích thước hạt từ 0,5-4 mm. Mùn cưa có đặc tính xốp, tỷ trọng thấp, dễ giữ ẩm và kháng mốc.

Môi trường Meat-Peptone-Agar (MPA): cao thịt: 5 (g/L), peptone: 10 (g/L), NaCl: 5 (g/L), pH 7. Môi trường MPA thạch thì bổ sung 18 g/L agar.

Môi trường khoáng Gost: KNO₃: 3 (g/L), MgSO₄: 0,4 (g/L), KH₂PO₄: 0,3 (g/L), NaHPO₄: 0,7 (g/L), NaCl: 1 (g/L), pH 7-7,2.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Lấy mẫu

Sử dụng các phương pháp thông thường để lấy các mẫu đất và nước ở những điểm bị ô nhiễm dầu theo TCVN 7538-6:2010 [9] và TCVN 663-1:2011[10]. Các mẫu này sẽ được bảo quản ở 4 °C nhằm phục vụ cho các công việc sau đó.

2.2.2. Nuôi cấy bằng phương pháp làm giàu

Các mẫu thu thập về sẽ được nuôi cấy trong môi trường muối khoáng có bổ sung 100 ppm dầu diesel hoặc 50 ppm hỗn hợp hydrocarbon thơm đa vòng (PAH) gồm anthracene, pyrene và phenanthrene [11].

2.2.3. Phân lập và tuyển chọn các chủng có khả năng phân hủy các thành phần dầu mỏ

Sau một thời gian nuôi cấy làm giàu các mẫu, các chủng vi khuẩn có trong các mẫu đó sẽ được phân lập trên các môi trường tương ứng để chọn ra các chủng có khả năng phân hủy dầu diesel (DO) hoặc PAH [11].

2.2.4. Phương pháp xác định khả năng tạo biofilm của các chủng vi sinh vật và xác định ảnh hưởng của một số điều kiện như pH, nhiệt độ, nồng độ NaCl lên khả năng tạo biofilm

Để đánh giá khả năng tạo màng sinh học của các chủng vi sinh vật phân lập được, phương pháp [12] đã được sử dụng bằng cách đưa chủng nuôi cấy non vào môi trường MPA lỏng. Màng sinh học tạo thành sẽ được rửa bằng nước cất vô trùng để loại bỏ hoàn toàn môi trường nuôi cấy và cố định bằng dung dịch tím tinh thể 0,1%. Màng hình thành này sẽ được rửa lại bằng dimethyl sulfoxide (DMSO) và đo ở bước sóng 570 nm. Các chủng có mật độ quang học cao sẽ được lựa chọn. Chủng *Acinetobacter calcoaceticus* P23 được cung cấp bởi GS. Morikawa (Đại học Hokkaido, Nhật Bản) đã được dùng làm đối chứng dương.

Các giá trị pH, nhiệt độ, nồng độ NaCl khác nhau đã được sử dụng để xác định ảnh hưởng của chúng lên khả năng tạo biofilm của các chủng phân lập được.

2.2.5. Phân loại vi khuẩn

Chủng vi khuẩn được định tên bằng phương pháp giải trình tự một phần gen mã hóa cho tiểu phần ribosome 16S. So sánh trình tự nucleotide 16S rRNA của chủng vi khuẩn mục tiêu với trình tự nucleotide của các chủng vi khuẩn chuẩn trên Danh sách các tên gọi sinh vật nhân sơ có vị trí trong danh pháp (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature - LPSN), dựa vào phần mềm Clustal X và Treeview để xây dựng cây phát sinh chủng loại của chủng vi khuẩn này [12].

2.2.6. Phương pháp tạo chế phẩm

Các vật liệu mang được khử trùng trước khi tiến hành cố định vi sinh vật chuyển hóa dầu. Các chủng vi sinh vật lựa chọn sẽ được nhân nuôi trong 500 ml môi trường MPA lỏng. Dịch nuôi cấy sau đó được ly tâm loại bỏ môi trường nuôi và được rửa 2 lần bằng nước cất. Tiến hành đo OD ở bước sóng 600 nm và đồng thời đếm mật độ tế bào để xây dựng đường chuẩn. Pha loãng dịch sinh khối vi khuẩn sao cho đạt mật độ tế bào là 10^8 CFU/ml và bổ sung mùn cưa vào. Ủ hỗn hợp sinh khối vi sinh vật và vật liệu mang ở $28^\circ\text{C} \pm 2$ trong 5 ngày. Chế phẩm được lên men xốp ở các nhiệt độ và độ ẩm khác nhau thích hợp cho quá trình lên men xốp. Sau 5 ngày lên men, chế phẩm được sấy ở nhiệt độ 40°C để tạo chế phẩm [3].

2.2.7. Phương pháp đánh giá mật độ vi sinh vật

Mật độ tế bào vi sinh vật được xác định theo phương pháp đếm số lượng khuẩn lạc CFU [12].

2.2.8. Đánh giá khả năng phân hủy dầu DO và các thành phần hydrocarbon thơm

Cân 10 g chế phẩm phù hợp vào 100 ml nước chứa 200 ppm hỗn hợp PAH hoặc 250 ppm dầu diesel vào bình tam giác 1000 ml. Đảo nhẹ rồi để tĩnh ở 30°C . Sau 7 ngày nuôi cấy, tiến hành kiểm tra mật độ tế bào của màng sinh học tạo thành trên mùn cưa, chụp ảnh hiển vi điện tử quét. Lượng dầu DO trong các mẫu nước trước và sau xử lý được xác định bằng phương pháp phân tích khối lượng theo tiêu chuẩn TCVN 4582-88 [13]. Hàm lượng hydrocarbon thơm còn lại bằng phương pháp phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao.

Các thí nghiệm đối chứng bao gồm thí nghiệm chỉ sử dụng hỗn hợp nuôi 2 chủng vi khuẩn mà

không có chất mang và thí nghiệm chỉ sử dụng chất mang mà không có vi sinh vật.

2.2.9. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography - HPLC)

Mẫu nuôi cấy sẽ được chiết xuất ba lần bằng dung môi ethylacetat với tỷ lệ 1:1. Dịch chiết xuất sẽ được phân tích HPLC trên máy Hewlett-Packard (Bad Homburg, Germany). Nhờ hệ thống LiChroCart 125-4 RP-18 end-capped (5- μ m) column (Merck, Darmstadt, Germany), các sản phẩm của quá trình chuyển hoá các thành phần dầu mỏ sẽ được phân tách. Nồng độ dung môi chạy mẫu ban đầu gồm 30% methanol-70% phosphoric acid (0,1%), sau 14 phút thì đạt 100% methanol, tốc độ chảy 1 ml/phút. Tùy vào điều kiện cụ thể, các chương trình chạy để phân tích mẫu sẽ có những thay đổi cho phù hợp.

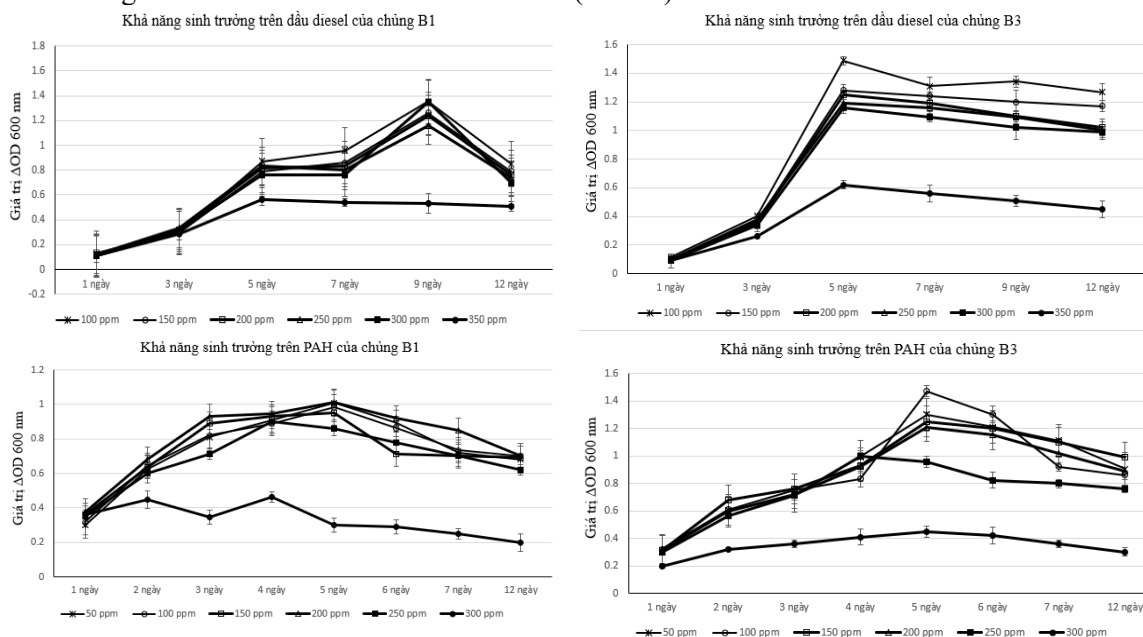
2.2.10. Phương pháp xử lý số liệu

Các kết quả, số liệu thu được sẽ được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học. Dựa vào phần mềm Excel để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và vẽ đồ thị. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần để tính trung bình mẫu.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Làm giàu và phân lập vi khuẩn DO hoặc PAH

Các mẫu đất và nước bị nhiễm dầu sau khi được lấy về đã được làm giàu 3 lần trên môi trường khoáng Gost có bổ sung các cơ chất khác nhau như 100 ppm DO, 50 ppm hỗn hợp PAH gồm anthracene, pyrene, phenanthrene. Kết quả, đã phân lập được chủng B1 và B3 có khả năng sinh trưởng tốt trên các cơ chất dầu DO và PAH (Hình 1).



Hình 1. Khả năng sinh trưởng của 2 chủng vi khuẩn B1 và B3 trên dầu diesel (DO) và PAH

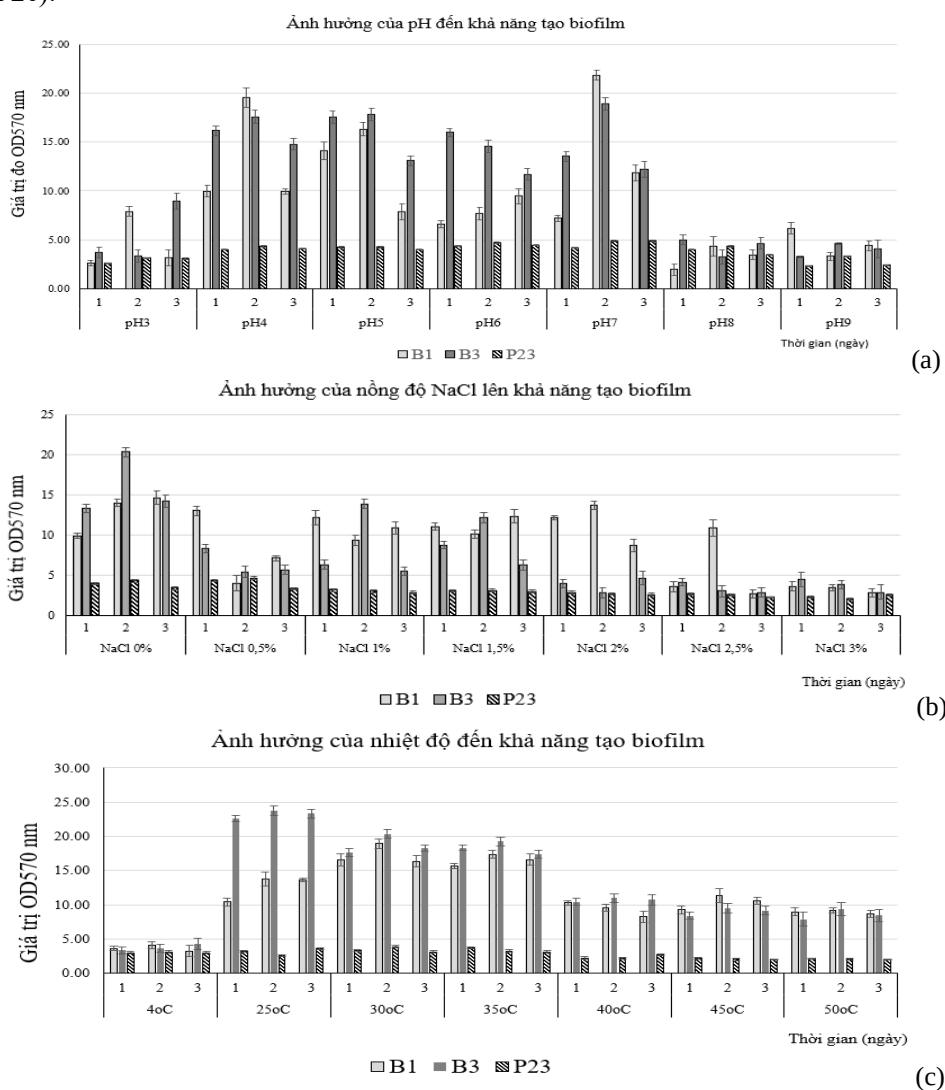
Tiếp tục thử nghiệm khả năng sinh trưởng của 2 chủng này trên DO và PAH với các nồng độ 100, 150, 200, 250, 300 và 350 ppm. Kết quả cho thấy, cả 2 chủng này có khả năng sinh trưởng tốt ở 250 ppm PAH; và 300 ppm DO (Hình 1). Do đó, để thử nghiệm các nghiên cứu tiếp theo, các nồng độ 200 ppm PAH và 250 ppm DO đã được sử dụng để đánh giá hiệu quả phân hủy. Các chủng này đã được sử dụng để nghiên cứu khả năng tạo biofilm và một số yếu tố ảnh hưởng tới khả năng này.

3.2. Khả năng tạo biofilm của các chủng vi sinh vật và xác định ảnh hưởng của một số điều kiện như pH, nhiệt độ, nồng độ NaCl lên khả năng tạo biofilm

Các giá trị pH từ 3 đến 9, nhiệt độ từ 4 đến 50 °C và nồng độ NaCl từ 0 đến 3% đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Màng sinh học tạo thành của các chủng được quan sát sau 1, 2 và 3 ngày. Kết quả được trình bày ở Hình 2 a, b và c.

Kết quả ở Hình 2a cho thấy, chủng B1 trong các thí nghiệm ở ngày thứ 2 đều có khả năng tạo màng sinh học tốt trong dải pH từ 3 đến 8. Ở giá trị pH 9 thì ngày đầu tiên biofilm tốt nhưng 2 ngày tiếp theo có sự suy giảm nhẹ. Nhìn chung, với giá trị pH từ 3 đến 8, cả 2 chủng này đều tạo biofilm tốt.

Tương tự như trên, dải nồng độ NaCl từ 0-3% đã được lựa chọn để nghiên cứu, nhằm mục đích tạo ra chế phẩm có thể ứng dụng được cả môi trường nước ngọt và nước mặn. Kết quả cho thấy, khi so sánh với đối chứng dương (chủng P23), các chủng có khả năng tạo biofilm tốt ở các giá trị NaCl từ 0-2%; và chủng B1 tạo màng tốt ở nồng độ 2,5% ở ngày thứ 2 (Hình 2b). Ngoài ra, cả 2 chủng B1 và B3 có khả năng tạo màng sinh học tốt ở phổ nhiệt độ khá rộng từ 25 đến 50 °C (Hình 2c).

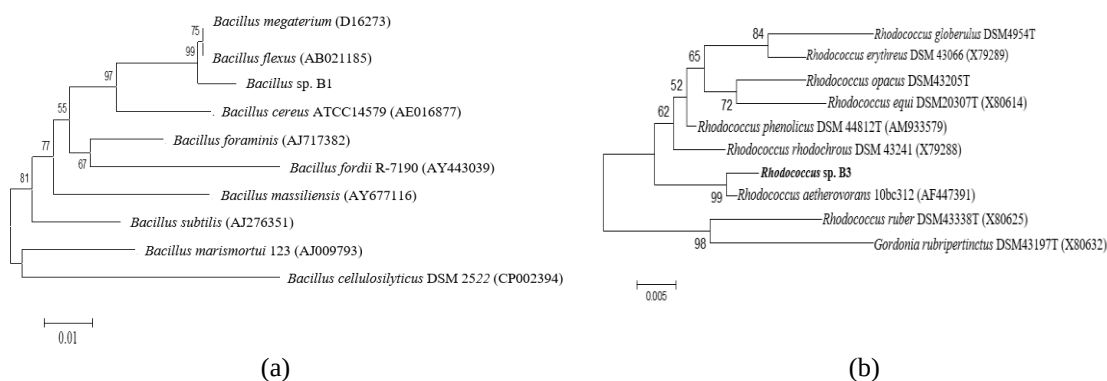


Hình 2. Ảnh hưởng của một số yếu tố như nhiệt độ (a); pH (b) và nồng độ NaCl (c) lên khả năng tạo biofilm của các chủng

Nghiên cứu [14] cũng cho thấy nồng độ muối, pH và nhiệt độ tác động lên sự hình thành màng sinh học của *L. monocytogenes*. Ở 37°C, lượng màng sinh học giảm dần ở hầu hết các chủng *L. monocytogenes* khi nồng độ NaCl tăng từ 0,05 đến 15%, nhưng tất cả các chủng đều có thể hình thành màng sinh học ngay cả ở 1°C. Không có sự khác biệt đáng kể nào về khả năng hình thành màng sinh học giữa pH 4, 5 và 6, ngoại trừ một số chủng. Khi thử nghiệm kết hợp các điều kiện stress, việc bổ sung 15% NaCl đã ức chế đáng kể sự phát triển của *L. monocytogenes* ở 1°C và 4°C, và các chủng hình thành màng sinh học yếu ít nhạy cảm hơn với nhiệt độ và xử lý NaCl so với các chủng hình thành màng sinh học mạnh. Bisht và cộng sự [15] cũng như Giacomucci và cộng sự [16] đã chứng minh nhiệt độ ảnh hưởng tới sự biểu hiện thực thể khuẩn của loài *Pseudomonas aeruginosa* tạo màng sinh học.

3.3. Phân loại định danh vi khuẩn

Hai chủng B1 và B3 đã được định danh bằng phương pháp giải trình tự một phần gen mã hóa cho tiểu phần ribosome 16S. So sánh trình tự 16S rRNA của chủng vi khuẩn mục tiêu với các chủng vi khuẩn chuẩn trên LPSN, dựa vào phần mềm Clustal X và Treeview. Kết quả 2 chủng đã được định danh là *Bacillus* sp. B1 và *Rhodococcus* sp. B3. (Hình 3).



Hình 3. Cây phát sinh chủng loại của chủng B1 (a) và B3 (b)

Dựa trên kết quả phân loại và so sánh với các trình tự gene trên ngân hàng gene, kết quả cho thấy chủng B1 có độ tương đồng 99% so với chủng *Bacillus flexus* (AB021185), còn chủng B3 có độ tương đồng 99% so với chủng *Rhodococcus aetherovorans* 10bc312 (AF447391).

Các loài *Bacillus flexus* và *Rhodococcus aetherovorans* đã được công bố có khả năng phân hủy và chuyển hóa tốt các hợp chất khó phân hủy như polyvinyl chloride hay các hợp chất có chứa nhóm phenol [17], [18]. Bên cạnh đó, các chi *Bacillus* và *Rhodococcus* đều là những chi có khả năng phân hủy tốt các thành phần hydrocarbon có trong dầu mỏ [6].

3.4. Đánh giá hiệu quả của chế phẩm tạo thành

Việc sử dụng chất mang để tăng hiệu quả xử lý từ lâu đã được quan tâm ứng dụng. Các chủng này được lên men trên mùn cưa dạng mịn để tạo chế phẩm sinh học. Hình ảnh hiển vi điện tử quét của chế phẩm và của chất mang được thể hiện ở Hình 4. Kết quả cho thấy, trên vật liệu mang không xuất hiện hình ảnh của các chủng vi khuẩn (Hình 4a), còn trong chế phẩm, các tế bào vi khuẩn rất rõ nét và có mật độ cao.

Thử nghiệm chế phẩm với 200 ppm hỗn hợp PAH và 250 ppm DO. Sau 7 ngày, kết quả cho thấy chế phẩm có khả năng phân hủy > 85% hàm lượng dầu tổng số và 82% hỗn hợp PAH. Bên cạnh đó, mật độ vi sinh vật trong chế phẩm đã được ở thời điểm ban đầu và sau 6 tháng bảo quản là 21×10^7 CFU/g và 5×10^7 CFU/g.

Dmitrieva và cộng sự [7] khi thử nghiệm biofilm từ loài *Alcnivorax borkumensis* để phân hủy hexadecane thì cũng thấy rằng 90% cơ chất đã bị xử lý sau 5 ngày thử nghiệm. Trong 1 nghiên cứu trước đó, nhóm tác giả này cũng chứng minh được biofilm của *Alcnivorax borkumensis* hình

thành trên hạt đất sét có khả năng phân hủy 90% hexadecane sau 6 ngày đánh giá. Bhatt và cộng sự [5] đã thử nghiệm tạo chế phẩm từ nấm men *Candida tropicalis* trên sỏi và cũng thấy hiệu quả xử lý dầu DO là 97% sau 10 ngày thí nghiệm. Chủng *Pseudomonas aeruginosa* LNR1 cũng đã được chứng minh có khả năng chuyển hóa dầu DO tốt hơn khi ở dạng tạo màng sinh học. Chandran và Das [8] đã chứng minh biofilm từ chi *Rhodococcus* có khả năng oxy hóa các hợp chất hydrocarbon dầu mỏ tạo ra các chất bề mặt và acid humic do đó làm tăng cường khả năng phân hủy dầu của chúng. Juárez và cộng sự [18] đã tổng quan về ứng dụng của biofilm từ vi sinh vật trong xử lý các hóa chất độc hại và tiềm năng ứng dụng ở quy mô lớn trong thực tiễn. Các nghiên cứu đều cho thấy biofilm có nhiều áp dụng để xử lý các hợp chất gây ô nhiễm này.



Hình 4. Chế phẩm tạo thành dưới kính hiển vi điện tử quét (a) và chất mang (b)

Hơn thế nữa, trong nghiên cứu này còn sử dụng mùn cưa làm chất mang. Đây được xem là nguồn nguyên liệu sẵn có, rẻ tiền và không gây ô nhiễm thứ cấp là mùn cưa. Vì vậy, chế phẩm có giá thành rẻ và hiệu quả cao. Đồng thời, việc sử dụng mùn cưa làm chất mang sẽ linh hoạt sử dụng ở các điều kiện địa hình khác nhau và không gây mất thẩm mỹ về mặt màu sắc. Kết quả mở ra tiềm năng ứng dụng của chế phẩm trong xử lý ô nhiễm dầu mỏ tại các vùng ven biển, các kho xăng dầu,... ở Việt Nam.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã tạo ra chế phẩm sinh học xử lý ô nhiễm dầu từ 2 chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. B1 và *Rhodococcus* sp. B3 tạo màng sinh học trên mùn cưa. Các chủng này được phân lập từ mẫu ô nhiễm dầu lấy tại bờ biển Thanh Hóa và chúng có khả năng tạo biofilm tốt ở các điều kiện nhiệt độ, pH và nồng độ NaCl khác nhau. Chế phẩm tạo thành có mật độ vi sinh vật đạt 21×10^7 CFU/g và 5×10^7 CFU/g tại thời điểm ban đầu và sau 6 tháng bảo quản. Hiệu quả xử lý dầu DO và PAH của chế phẩm đạt tương ứng là hơn 85 và 82% sau 7 ngày thử nghiệm với các nồng độ cơ chất là 250 và 200 ppm. Trong thời gian tới, có thể thử nghiệm trên các mô hình trong và ngoài phòng thí nghiệm; cũng như có thể nghiên cứu để tăng thời gian bảo quản.

Lời cảm ơn

Công trình được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ Dự án Sản xuất thử nghiệm mã số UDSXTN.02/2025-2026 do Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) tài trợ và sử dụng các trang thiết bị tại Phòng Công nghệ sinh học môi trường, Viện Sinh học, VAST.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. Q. Nguyen, D. T. Nguyen, and M. T. Ngo, "Assessing the impact of environmental pollution on marine biodiversity and proposing mitigation solutions," (in Vietnamese), *Environmental Journal*, vol. 4, pp. 30-33, 2022.

- [2] X. Chunyan, M. A. Qaria, X. Qi, and Z. Daochen, "The role of microorganisms in petroleum degradation: Current development and prospects," *Science of the Total Environment*, vol. 865, 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.161112.
- [3] T. L. Tran, T. L. Do, T. N. M. Cung, T. D. Tran, P. M. Tran, and T. N. C. Le, "An initial study on oil pollution removal product using biofilm forming bacteria attached on husk biochar," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, vol. 21, no. 2, pp. 207-214, 2023.
- [4] R. Mahmoudkhani, A. M. Azar, A. Dehghani, and H. Ghoreishi, "Treatment of contaminated waters with petroleum by moving bed biofilm reactor (MBBR)," *Interational Conference on Life Science and Engineering*, vol. 45, pp. 12-16, 2012.
- [5] P. Bhatt, K. Bhatt, Y. Huang, J. Li, S. Wu, and S. Chen, "Biofilm formation in xenobiotic-degrading microorganisms," *Critical Reviews in Biotechnology*, vol. 43, no. 8, pp. 1129-1149, 2023.
- [6] M. Omarova, L. T. Swientoniewski, I. K. Mkam Tsengam, D. A. Blake, V. John, A. McCormick, *et al.*, "Biofilm formation by hydrocarbon-degrading marine bacteria and its effects on oil dispersion," *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, vol. 7, no. 17, pp. 14490-14499, 2019.
- [7] D. Dmitrieva, V. I. Grinevich, and M. M. Gertsen, "Degradation of oil and petroleum products by biocompositions based on humic acids of peats and oil-degrading microorganisms," *Russian Journal of General Chemistry*, vol. 92, no. 12, pp. 2920-2930, 2022.
- [8] P. Chandran and N. Das, "Degradation of diesel oil by immobilized *Candida tropicalis* and biofilm formed on gravels," *Biodegradation*, vol. 22, no. 6, pp. 1181-1189, 2011.
- [9] Vietnam Ministry of Science and Technology, *National Standard TCVN 7538-6:2010 – Sampling, collection, processing and preservation of soil sample*, 2010.
- [10] Vietnam Ministry of Science and Technology, *National Standard TCVN 663-1:2011 – Sampling and collection of water sample*, 2011.
- [11] T. N. M. Cung, T. T. D. Thai, V. B. Nguyen, T. T. H. Nguyen, and N. M. Nghiem, "Taxonomy of th bacterial strain BTL P1 can degrade phenol by analysing the nucleotit sequence of the 16S rRNA gene," (in Vietnamese), *Journal of Science and Technology*, vol. 50, no. 1, 2012, doi: [10.15625/0866-708X/50/1/9467](https://doi.org/10.15625/0866-708X/50/1/9467).
- [12] T. M. Tran, T. N. M. Cung, T. L. Do, T. D. Tran, H. A. Nguyen, and T. N. C. Le, "Degradation of hydrocarbon components by biofilm-forming *Rhizobium* sp. DG2 isolated from petroleum storage tank in Ducgiang, Hanoi," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, vol. 22, no. 2, pp. 252-260, 2024.
- [13] Vietnam Ministry of Science and Technology, *National Standard TCVN 4582-88 – Waste wate – Method for the determination of oil and grease content*, 1988.
- [14] S. Labidi, A. Jánosity, A. Yakdhane, E. Yakdhane, B. Surányi, C. Mohácsi-Farkas, and G. Kiskó, "Effects of pH, sodium chloride, and temperature on the growth of *Listeria monocytogenes* biofilms," *Acta Alimentaria*, vol. 52, no. 2, pp. 270-280, 2023.
- [15] K. Bisht, J. L. Moore, R. M. Caprioli, E. P. Skaar, and C. A. Wakeman, "Impact of temperature-dependent phage expression on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation," *npj Biofilms and Microbiomes*, vol. 7, no. 1, 2021, Art. no. 22.
- [16] L. Giacomucci, N. Raddadi, M. Soccio, N. Lotti, and F. Fava, "Polyvinyl chloride biodegradation by *Pseudomonas citronellolis* and *Bacillus flexus*," *New Biotechnology*, vol. 52, pp. 35-41, 2019.
- [17] T. Nogina, M. Fomina, T. Dumanskaya, L. Zelena, L. Khomenko, S. Mikhalovsky, *et al.*, "A new *Rhodococcus aetherivorans* strain isolated from lubricant-contaminated soil as a prospective phenol-biodegrading agent," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 104, no. 8, pp. 3611-3625, 2020.
- [18] K. Juárez, L. Reza, L. Bretón-Deval, D. Morales-Guzmán, M. R. Trejo-Hernández, F. García-Guevara, and P. Lara, "Microaerobic degradation of crude oil and long chain alkanes by a new *Rhodococcus* strain from Gulf of Mexico," *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 39, no. 10, 2023, Art. no. 264.