

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM PHÂN LOẠI CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN GRAM DƯƠNG THƯỜNG GẶP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CHÚNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG CỦA NHIÊN LIỆU MÁY BAY JET A1

ĐẶNG PHƯƠNG NGA, LẠI THÚY HIỀN

Viện Công nghệ sinh học

Trước đây đã có một số công trình nghiên cứu về sự phát triển của vi khuẩn gây ra những ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng của nhiên liệu máy bay [7, 8]. Bên cạnh những vi khuẩn có khả năng phân hủy, làm hỏng nhiên liệu, còn hay gặp những vi khuẩn Gram dương có thể sử dụng các sản phẩm trung gian của quá trình oxi hóa nhiên liệu làm nguồn cơ chất để phát triển. Trong bài này chúng tôi sẽ đưa ra kết quả phân loại một số vi khuẩn Gram dương thường gặp và ảnh hưởng của chúng đến chất lượng của nhiên liệu máy bay jet A1 ở Việt Nam.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Các chủng vi khuẩn gram dương được phân lập từ các mẫu nhiên liệu máy bay jet A1 ở kho Nội Bài, Hà Nội.

- Các môi trường nuôi cấy: môi trường MPA, môi trường sinh bào ở [11] và môi trường khoáng Gost [9023-74].

- Các chủng vi khuẩn được nghiên cứu hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử Jem 1010, xác định khả năng sinh bào tử [11], nhuộm bào tử (Shaffer và Fulton).

- Phân loại vi khuẩn *Bacillus* theo kit chuẩn API 50CHB.

- Đánh giá khả năng phân hủy nhiên liệu và đầu thô dựa trên kết quả đếm số lượng vi khuẩn trước và sau khi nuôi, cân trọng lượng và sắc ký khí nhiên liệu, nhờ sử dụng cột mao quản CP5 xử lý theo Pros Nelson 87.

- Đánh giá khả năng sử dụng các sản phẩm trung gian của quá trình oxi hóa nhiên liệu ở trên kết quả đếm số lượng vi khuẩn và phân tích dịch nuôi cấy bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại trên máy Impact 410.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

I. Phân loại các chủng vi khuẩn:

- Hình thái khuẩn lạc và tế bào của chủng khuẩn được trình bày ở bảng 1.

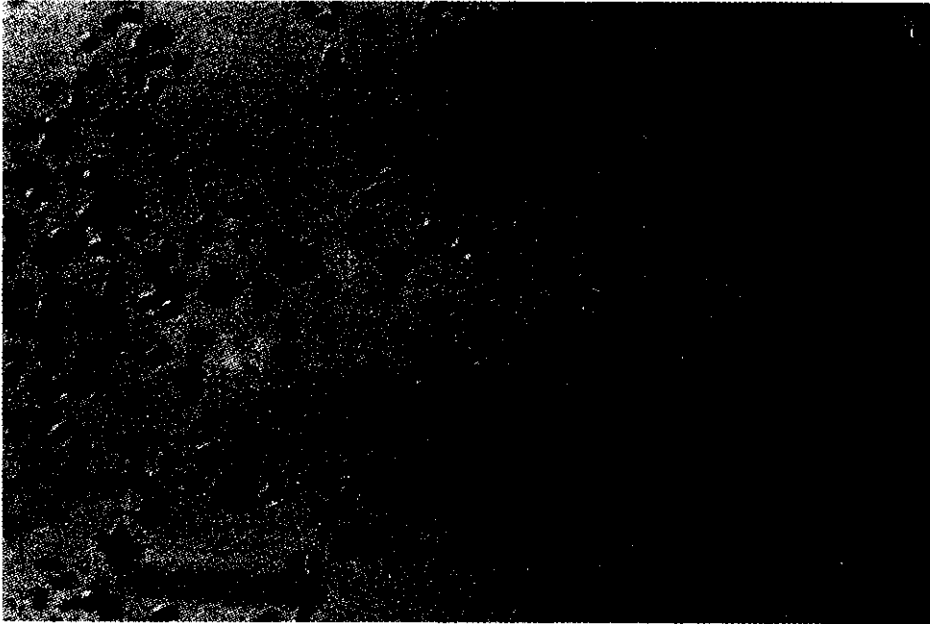
Trong đó hai chủng BC3 và MB10 có điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào hoàn toàn khác. Các chủng MB8, MB9 và MB11 đều có bào hình ovan và có chu mao.

- Các chủng vi khuẩn được tiến hành sinh nhiệt để xác định khả năng sinh bào tử. Kết quả cho thấy chỉ có các chủng: MB8, MB9 và MB11 là sống sót và có khả năng tạo bào tử. Các chủng này được nuôi cấy trên môi trường sinh bào nhuộm bào tử và quan sát dưới kính hiển vi quang học và kính hiển vi điện tử (hình 1, 2). Bào tử các chủng vi khuẩn này đều có hình ovan.

- Kết quả phân loại các chủng vi khuẩn sinh bào tử nhờ kit chuẩn A PI 50 CHB được trình bày ở bảng 2.

Đối chiếu các kết quả thu được với đặc điểm của các chủng khuẩn có thể xếp các chủng này vào chi *Bacillus*. Chủng MB9 có các đặc điểm phù hợp để xếp vào loài *Bacillus circulans*, chủng MB11 có thể được xếp vào loài *Bacillus coagulans*.

Công trình được hỗ trợ kinh phí của Chương trình nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên.



Hình 1. Tế bào và bào tử chủng MB11 ($\times 1500$)
(Tế bào vi khuẩn màu đỏ, bào tử màu xanh)



Hình 2. Ảnh hiển vi điện tử tế bào và bào tử chủng MB11 ($\times 16.000$)

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của các chủng vi khuẩn

STT	Ký hiệu chủng	Gram	Hình thái khuẩn lạc (Kích thước, màu sắc, hình dáng)	Hình thái tế bào (Kích thước, hình dáng)
1	BC3	+	1-2 mm, vàng đục, bóng lồi, mép gọn	1,1×0,67 μm , ovan ngắn, tiên mao ở hai cực
2	MB8	+	6-7 mm, trắng ngà, đục, mép răng cưa	1,7 ×0,9 μm , ovan, chu mao
3	MB9	+	2-3 mm, trắng đục, đục, mép gọn	1,75×0,65 μm , ovan dài, chu mao
4	MB10	+	< 1 mm, trắng ngà, bóng, lồi, mép gọn	1,75×0,75 μm , ovan tròn, kết đám, không có tiên mao
5	MB11	+	3 mm, vàng đục, bóng, đục, mép gọn	1,2×0,55 μm , ovan, chu mao

Bảng 2

Khả năng lên men trên các nguồn cacbon khác nhau của các chủng vi khuẩn (phép thử API 50 CHB)

STT	Cơ chất	Chủng vi khuẩn		
		MB8	MB9	MB11
1	2	3	4	5
0	Đối chứng	-	-	-
1	Glyxerol	+	+	+
2	Erythritol	-	-	-
3	D-A rabinosa	-	-	-
4	L- A rabinosa	-	+	+
5	Riboza	+	+	+
6	D-Xyloza	-	+	-
7	L-Xyloza	-	-	-
8	Adonitol	-	-	-
9	β -metyl-D-glucozit	-	-	-
10	Galactoza	+	+	+
11	Glucoza	+	+	+
12	Fructoza	+	+	+
13	Manoza	+	+	+
14	Sorboza	-	-	-

1	2	3	4	5
15	Rhamnoza	-	-	-
16	Dulxitol	-	-	-
17	Inozitol	+	+	+
18	Mannitol	+	+	+
19	Sorbitol	-	+	-
20	α -metyl-D-manozit	-	-	-
21	α -metyl-D-glucozit	+	+	+
22	N-axetyl-glucozamin	+	+	+
23	Amygdalin	+	+	+
24	Arbutin	-	+	+
25	E sculin	-	+	+
26	Salixin	+	+	+
27	Xelobioza	+	+	+
28	Mantoza	+	+	+
29	Lactoza	+	+	+
30	Melibioza	+	+	+
31	Saccaroza	+	+	+
32	Trehaloza	+	+	+
33	Inulin	-	-	-
34	Melezitoza	+	-	+
35	Rafinoza	+	+	+
36	Tinh bột	+	+	+
37	Glycogen	+	+	+
38	Xylitol	-	+	-
39	Gentiobioza	-	+	+
40	D-turanoza	+	+	+
41	D-lyxoza	-	-	-
42	D-Tagatoza	-	-	-
43	D-fucoza	-	-	-
44	L-fucoza	-	-	-
45	D-A rabilol	-	-	-
46	L-A rabilol	-	-	-
47	Gluconat	+	-	+
48	2-ketogluconat	-	-	+
49	5-ketogluconat	+	-	-

2. Ảnh hưởng của vi khuẩn đến chất lượng nhiên liệu máy bay jet A1, dầu DO và dầu thô:

Sau 10 ngày nuôi với các loại dầu, các chủng vi khuẩn BC3, MB8, MB9, MB10 và MB11 không phát triển, biểu hiện ở số lượng vi khuẩn không tăng lên so với trước khi nuôi (bảng 3).

Bảng

Số lượng vi khuẩn trước và sau khi nuôi với jet A1, dầu DO và dầu thô

STT	Chủng vi khuẩn	Số lượng vi khuẩn nuôi với jet A1		Số lượng vi khuẩn nuôi với dầu DO		Số lượng vi khuẩn nuôi với dầu thô	
		Ban đầu	Sau thí nghiệm	Ban đầu	Sau thí nghiệm	Ban đầu	Sau thí nghiệm
1	BC3	$1,0 \times 10^7$	$5,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^6$
2	MB8	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$
3	MB9	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^4$
4	MB10	$3,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
5	MB11	$1,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$5,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^6$

Như vậy các chủng vi khuẩn này không có khả năng phân hủy nhiên liệu jet A1, như chúng vẫn tồn tại được trong nhiên liệu như thế nào ?

3. Khả năng sử dụng các sản phẩm trao đổi chất của quá trình oxy hóa nhiên liệu ở các chủng không phân hủy nhiên liệu:

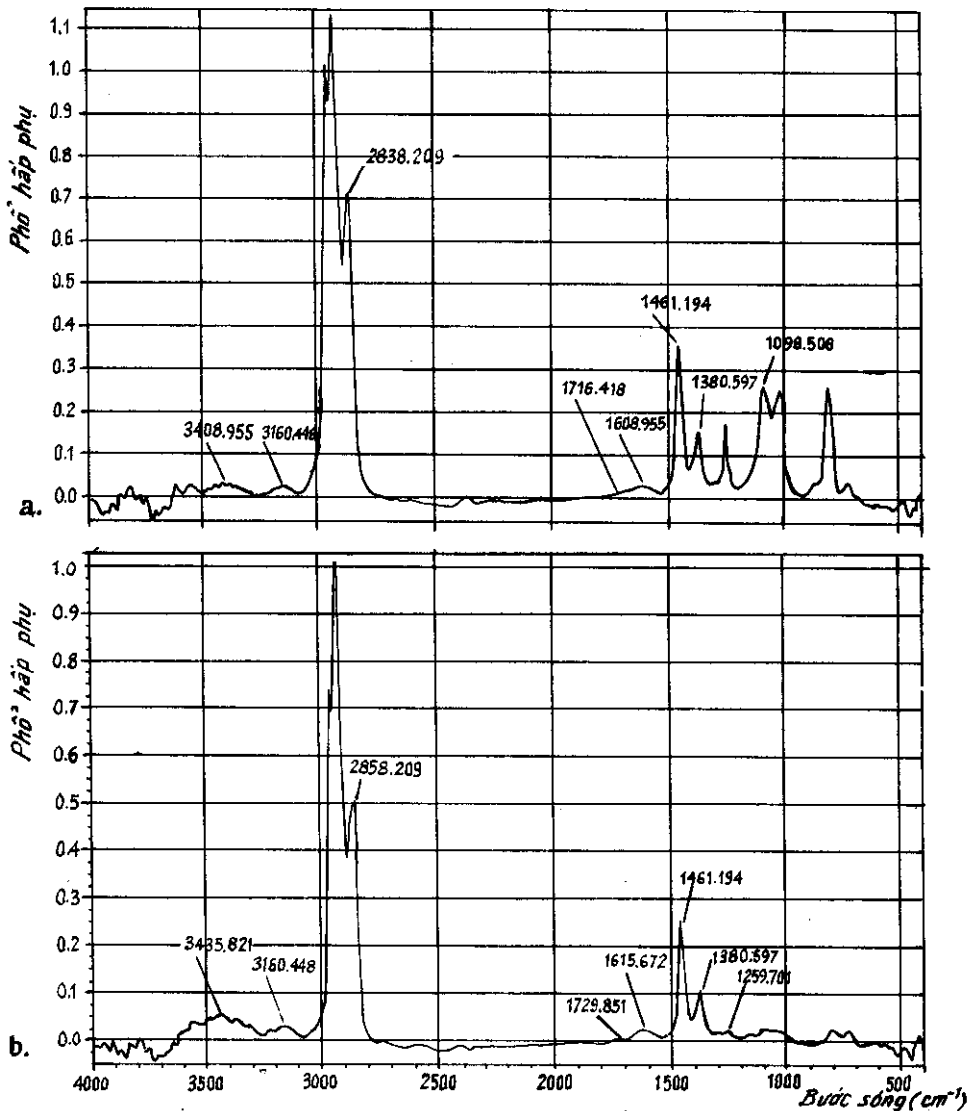
Sau khi nuôi các chủng vi khuẩn trên với dịch nuôi cấy jet A1 đã bị vi khuẩn phân hủy, đư khử trùng, thì thấy: số lượng các chủng BC3, MB8, MB9 tăng lên, rõ nhất là chủng MB9 tăng 1 lần (bảng 4).

Bảng 4

Số lượng vi khuẩn trước và sau khi nuôi với dịch nuôi cấy jet A1 đã vô trùng

STT	Chủng vi khuẩn	Số lượng vi khuẩn lúc ban đầu (tế bào/ml)	Số lượng vi khuẩn sau thí nghiệm (tế bào/ml)
1	BC3	$2,4 \times 10^7$	$1,2 \times 10^{10}$
2	MB8	$1,0 \times 10^5$	$4,0 \times 10^6$
3	MB9	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^{10}$
4	MB10	$8,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$
5	MB11	$1,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^6$

Kết quả nghiên cứu chứng tỏ các chủng vi khuẩn trên đã sử dụng các sản phẩm trung gian của quá trình oxy hóa jet A1 để sinh trưởng và phát triển. Kết quả phân tích dịch nuôi cấy chủ MB9 đã chứng minh thêm cho điều này. Ở bước sóng từ 500-1500 mm đã có một số thành phần phân hủy so với đối chứng (hình 3).



Hình 3. Khả năng sử dụng các sản phẩm trung gian của quá trình phân hủy jet A1 ở chủng MB9. a. Đối chứng; b. Chủng MB9

III. KẾT LUẬN

Các chủng Gram dương thường gặp trong nhiên liệu máy bay jet A1 phần lớn thuộc chi *Bacillus*: *B. circulans* và *B. coagulans*. Các chủng này tuy không có khả năng phân hủy nhiên liệu, dầu DO cũng như dầu thô nhưng lại có khả năng sử dụng các sản phẩm trung gian do các chủng phân hủy nhiên liệu sinh ra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aelion M. C., Bradley M. P., 1991: Aerobic biodegradation potential of subsurface microorganisms from a jet fuel-contaminated aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1: 57-63.
2. Arnold J. B., 1984: Effects of microbial growth and its by products on coalescing/filtration of hydrocarbon fuel and oil. *Filtr. and separ.*, 21, 2: 108-111.
3. Atlas R. M., Bartha R., 1987: *Microbial Ecology: Fundamentals, Applications*. The Benjamin/Cummings publishing Co: 413-416.
4. Becker P. M., Dott W., 1995: Functional Analysis of communities of aerobic heterotrophic bacteria from hydrocarbon-contaminated sites. *Microb. Ecol.*, 30: 285-

- 296.
5. **Christopher A. B., Colin R.**, 1984: The physiology of hydrocarbon-utilizing microorganisms. Proceedings 1984 National Center for Genetic Engineering and Biotechnology: 11-77.
 6. **IATA Guidance material for aviation turbine fuels**, April 1987: Canada Appl. Environ. Microbiol., 64, 1: 359-362.
 7. **Lại Thúy Hiền, Đặng Cẩm Hà, Lý Kim Bằng**, 1989: Vi sinh vật trong nhiên liệu TC1 ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, 10(1): 5-9.
 8. **Lại Thúy Hiền, Đặng Cẩm Hà, Lý Kim Bằng**, 1989: Vi sinh vật trong xăng, diesel và dầu nhớt ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, 11(3): 4-6.
 9. **Leahy J. G., Colwell R. R.**, 1990: Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiol. Reviews, 54, 3: 305-315.
 10. **Murray G. E. R., Holt G. J.**, 19: Bergey's manual of Systema Bacteriology. Williams and Wiki Baltimore, London, 1.
 11. **Murray G. E. R., Holt G. J.**, 19: Bergey's manual of Systema Bacteriology. Williams and Wiki Baltimore, London, 2.
 12. **Tiêu chuẩn kỹ thuật nhiên liệu, dầu bôi trơn, chất lỏng chuyên dùng**. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, 1989: 5-7.
 13. **Tiwari K. C.**, 1977: Microbiological growth in aviation turbine fuel. Indian. Exp. Biol., 15, 7: 597-581.
 14. **Tortora J. G., Berdell R.**, 19: Microbiology. The Benjamin/Cummings Publishing Co.: 250-293.
 15. Turbine fuel, aviation kerosene type, jet. Defense Standard, 8th May, 1996.

TAXONOMIC CHARACTERISTICS OF SOME ACQUAINTED POSITIVE GRAM BACTERIA STRAINS AND THEIR EFFECTS ON THE QUALITY OF JET A1 FUEL

DANG PHUONG NGA, LAI THUY HIEN

SUMMARY

The development of microorganisms generally and bacteria particularly caused many serious effects on airplane fuel. Beside the fuel-degrading bacteria, some acquainted positive Gram bacteria strains were capable of utilizing the metabolites of the fuel oxidation as sources of the nutrient source. Most of them belong to the genus *Bacillus*.

Ngày nhận bài: 10-12-2