

ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG CỦA VI SINH VẬT ĐẾN CHẤT LƯỢNG NHIÊN LIỆU DIESEL (L-0,05-62) TRONG ĐIỀU KIỆN NHIỆT ĐỚI

NGÔ CAO CƯỜNG

I. MỞ ĐẦU

Dầu mỏ và các sản phẩm từ dầu mỏ là nguồn năng lượng quan trọng cho sự phát triển kinh tế các nước trên thế giới, đảm bảo cho an ninh kinh tế, quốc phòng của mỗi quốc gia. Trong bảo quản và khai thác nhiên liệu, vi sinh vật (VSV) sử dụng nhiên liệu làm nguồn cacbon duy nhất để sinh trưởng, phát triển. Chúng có thể xuất hiện ở các bể chứa hay trong các thiết bị, máy móc sử dụng nhiên liệu [6, 9]. Dựa vào khả năng phân hủy dầu này của VSV, một số nghiên cứu đã tập trung vào ứng dụng để xử lý môi trường ô nhiễm dầu và các sản phẩm dầu mỏ. Tuy nhiên, sự phát triển của VSV trong nhiên liệu có thể dẫn đến sự thay đổi thành phần và chất lượng của nhiên liệu. Nghiên cứu của Livinhenko cho thấy VSV phát triển trong các sản phẩm dầu mỏ làm cho hàm lượng nhựa tăng gấp đôi, hàm lượng parafin giảm 9,5% - 10,4% so với đối chứng, đồng thời làm tăng chỉ số axit, hàm lượng nhựa, hàm lượng tro, tạp chất cơ học... [2, 4, 5]. Tác giả Lại Thúy Hiền cũng đã cho thấy VSV làm thay đổi thành phần của nhiên liệu JetA1 [3, 6]. Mặt khác, trong quá trình bảo quản, khai thác và sử dụng nhiên liệu, VSV lây nhiễm có thể bám vào các màng lọc, chi tiết bơm nhiên liệu, sinh trưởng và làm thay đổi tốc độ dòng, dẫn tới giảm công suất cũng như ảnh hưởng tới đặc tính kỹ thuật của thiết bị.

Hiện nay, nhiên liệu diesel (DO) mác L-0,05-62 được nhập từ nước ngoài để sử dụng cho các thiết bị chuyên dụng cần được bảo quản dài hạn trong điều kiện khí hậu nhiệt đới, sao cho các chỉ số kỹ thuật của nhiên liệu không bị thay đổi [3, 6, 7]. Bởi vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá khả năng tác động của VSV tới chất lượng và đặc tính kỹ thuật của nhiên liệu DO dùng cho tàu thuyền thông qua phân lập VSV xuất hiện trong quá trình bảo quản và thử nghiệm gia tốc để đánh giá tác động của các VSV phân lập được, làm cơ sở bước đầu cho việc tìm ra giải pháp bảo quản lâu dài.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nhiên liệu DO nhập khẩu mác L-0,05-62.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp làm giàu và phân lập VSV

Lọc 2 lít nhiên liệu DO qua bông thủy tinh, cho bông lọc vào 50 ml môi trường khoáng (thành phần: 3g KNO₃; 0,3g KH₂PO₄; 0,7g Na₂HPO₄; 0,4g MgSO₄; 1 lít nước máy; pH 7,2) đã khử trùng và bổ sung 5 ml nhiên liệu DO. Nuôi cấy ở điều kiện lắc 200 vòng/phút, nhiệt độ 30°C. Sau 7 ngày nuôi cấy, chuyển 5 ml dịch nuôi ở bình tam giác ban đầu sang bình tam giác chứa 45 ml môi trường khoáng mới có bổ sung 5 ml nhiên liệu DO như ban đầu. Sau ba lần làm giàu VSV tiến hành phân lập trên các môi trường đặc trưng cho nấm men, vi khuẩn và vi nấm [7].

2.2.2. Làm sạch và giữ giống VSV

Từ một khuẩn lạc trên môi trường đặc trưng, dùng que cấy thu một lượng tế bào vừa đủ, ria cấy trên môi trường đĩa thạch. Nuôi cấy các đĩa thạch trong tủ ẩm nhiệt độ 30°C/48 giờ và thu nhận những khuẩn lạc riêng rẽ. Bảo quản các chủng VSV theo phương pháp giữ giống của ATCC (American Type Culture Collection).

2.2.3. Nhuộm Gram và quan sát tế bào VSV trên kính hiển vi

Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường đặc trưng sau thời gian 48 giờ, lấy ra quan sát hình dạng, màu sắc, đặc tính bề mặt, làm tiêu bản và nhuộm theo phương pháp nhuộm Gram và quan sát hình thái tế bào dưới kính hiển vi có độ phóng đại từ 40 đến 1.500 lần [7].

2.2.4. Phương pháp thử nghiệm gia tốc độ bền sinh học của nhiên liệu theo tiêu chuẩn GOST 9023 - 74 trong điều kiện Việt Nam

Cho vào mỗi ống nghiệm 3 ml môi trường khoáng Gost đã khử trùng và 0,3 ml dịch huyền phù VSV, lắc đều VSV được bổ sung, cho tiếp vào đó 1 ml nhiên liệu DO, mỗi chủng cấy 3 ống nghiệm. Nuôi cấy ở cùng điều kiện nhiệt độ 30°C, với thời gian 7 ngày thử nghiệm ở hai trạng thái tĩnh và động (lắc tốc độ 200 vòng/phút). Kết quả thử nghiệm đánh giá theo quy định của tiêu chuẩn [9].

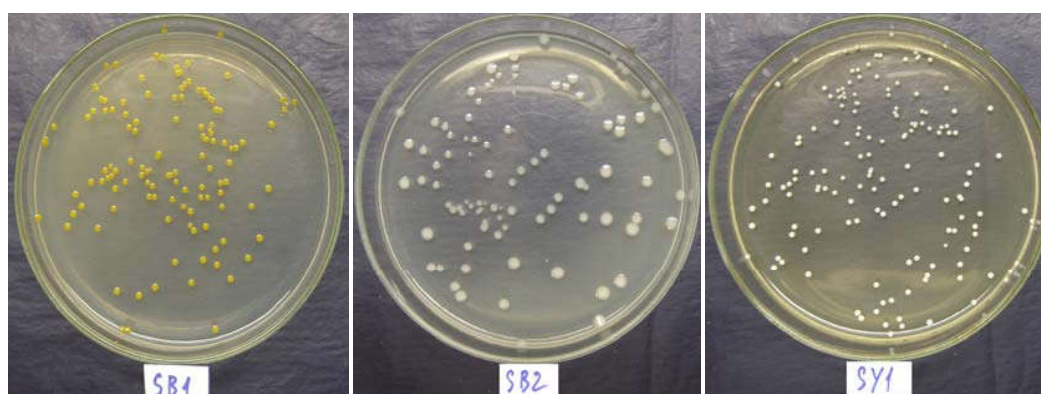
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập VSV có trong nhiên liệu DO

Đã tiến hành làm giàu VSV trên môi trường khoáng và cơ chất duy nhất là nhiên liệu DO nhập khẩu được bảo quản trong các kho chứa ở Việt Nam. Kết quả phân lập VSV trên những môi trường đặc trưng cho thấy có sự xuất hiện của 2 chủng vi khuẩn SB1, SB2 và 1 chủng nấm men SY1, không có sự xuất hiện của vi nấm. Nghiên cứu đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào và nhuộm Gram, chúng tôi thu được kết quả như trong bảng 1 và hình 1.

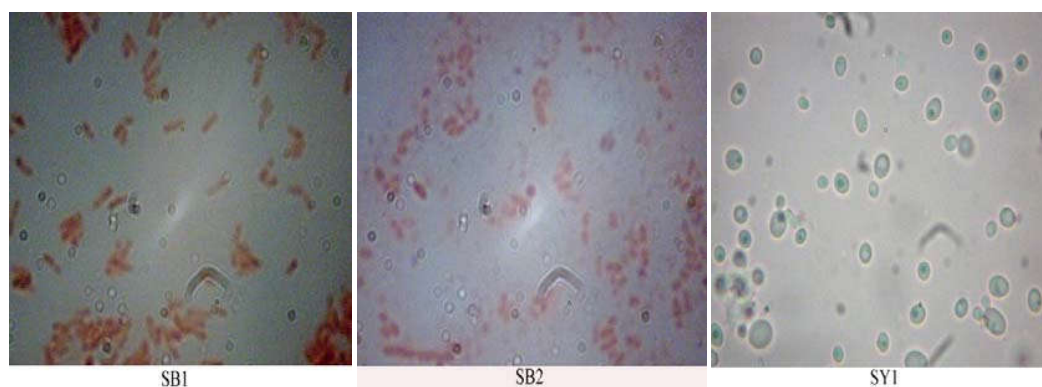
Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc các chủng phân lập

STT	Kí hiệu	Đặc điểm hình thái khuẩn lạc	Đặc điểm tế bào, nhuộm Gram	Ghi chú
1	SB1	Khuẩn lạc màu vàng, bề mặt trơn bóng	Hình que, Gram âm	Vi khuẩn
2	SB2	Khuẩn lạc trong, bề mặt bóng	Hình cầu, Gram âm	Vi khuẩn
3	SY1	Khuẩn lạc màu trắng đục, bề mặt trơn bóng	Hình cầu	Nấm men



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc chủng vi khuẩn SB1, SB2 và nấm men SY1

Đặc điểm hình thái tế bào của các chủng SB1, SB2 và SY1 được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Hình ảnh hiển vi của các VSV phân lập

Hai chủng vi khuẩn SB1, SB2 phân lập trong nhiên liệu DO đều thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm, với hình dạng tương ứng là hình que và hình cầu nhỏ. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây cho thấy các chủng vi khuẩn xuất hiện trong trong các sản phẩm dầu mỏ phần lớn đều thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm [6, 9]. Việc phân loại các chủng vi khuẩn này đến loài đang được nghiên cứu tiếp tục.

3.2. Thử nghiệm gia tốc độ bền sinh học của nhiên liệu theo tiêu chuẩn GOST 9023 - 74 trong điều kiện Việt Nam

Chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm mẫu nhiên liệu DO mác L-0,05-62 theo tiêu chuẩn GOST 9023 - 74. Việc thử nghiệm được tiến hành ở hai trạng thái tĩnh và động trên các chủng vi khuẩn SB1, SB2, nấm men SY1 và hỗn hợp (MIX) của ba chủng SB1, SB2, SY1. Riêng mẫu đối chứng ĐC không bổ sung VSV thử nghiệm. Kết quả thu được ở trạng thái tĩnh được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thử nghiệm mẫu nhiên liệu ở trạng thái tĩnh

TT	Mẫu thử nghiệm	Độ đục môi trường			Biến đổi màu môi trường			Khả năng tạo màng giữa pha nhiên liệu với môi trường			Khả năng tạo kết tủa		
1	SB1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	SB2	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
3	SY1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	MIX	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
5	ĐC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Còn kết quả thu được ở trạng thái động được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm mẫu nhiên liệu ở trạng thái động

TT	Mẫu thử nghiệm	Độ đục môi trường			Biến đổi màu môi trường			Khả năng tạo kết tủa		
1	SB1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	SB2	+	+	+	-	-	-	+	+	+
3	SY1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	MIX	+	+	+	-	-	-	+	+	+
5	ĐC	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: - Không xuất hiện; + Có xuất hiện

Kết quả thử nghiệm ở trạng thái tĩnh (bảng 2), các mẫu thử nghiệm với chủng SB2, MIX chủng đã có hiện tượng làm môi trường bị đục, tạo màng giữa pha nhiên liệu với môi trường, còn hai chủng SB1 và SY1 không làm xuất hiện những hiện tượng này. Như vậy chủng SB2 có khả năng sử dụng nhiên liệu DO làm nguồn cacbon duy nhất để sinh trưởng và phát triển. Mặt khác ở trạng thái tĩnh, MIX chủng có hiện tượng kết tủa còn SB2 thì không, sự kết tủa chứng tỏ lượng VSV trong mẫu thử nhiều. Có thể các chủng SB1, SY1 đã sử dụng các sản phẩm phân hủy nhiên liệu DO của SB2. Kết quả thử nghiệm ở trạng thái động (bảng 3) cho thấy, chủng SB2 và MIX chủng có tạo kết tủa, làm đục môi trường, trong khi đó chủng SB1, SY1 không có hiện tượng như trên. Kết quả này một lần nữa cho thấy chủng SB2 là chủng VSV có khả năng sử dụng nhiên liệu DO làm nguồn cơ chất. Khi so sánh thử nghiệm ở trạng thái tĩnh và trạng thái động đối với chủng SB2 ta thấy, trạng thái tĩnh không tạo kết tủa nhưng ở trạng thái động lại có kết tủa. Điều này có thể do việc nuôi cấy chủng SB2 có lắc đã tạo điều kiện cho sự tiếp xúc của vi khuẩn SB2 với nhiên liệu và oxy tốt hơn, làm số lượng tế bào chủng SB2 tăng nhanh và tạo kết tủa. Mặt khác, ở thử nghiệm tĩnh, chủng SB2 luôn tạo màng ở pha ngăn cách giữa dầu và môi trường

khoáng, chúng tỏ có sự phát triển của chủng SB2. Kết quả này cho thấy rất có thể chủng SB2 thuộc nhóm vi khuẩn hiếu khí tùy tiện và có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt trên nguồn nhiên liệu DO hơn những chủng còn lại. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu [6] về đa dạng VSV trong bể chứa nhiên liệu JetA1, các VSV thường tập trung ở cạn đáy, nơi tiếp giáp giữa lớp nước và nhiên liệu.

Căn cứ theo tiêu chuẩn GOST 9023 - 74, nhiên liệu mác L-0,05-62 được coi là không bền với VSV trong điều kiện Việt Nam.

3.3. Phân tích đánh giá ảnh hưởng của VSV đến chất lượng, chỉ tiêu kỹ thuật của nhiên liệu

Mẫu nhiên liệu thử nghiệm cho vào bình vô trùng, với tỷ lệ theo thể tích giữa môi trường khoáng : nhiên liệu : dịch huyền phù VSV là 30:10:3. Nuôi ở điều kiện tĩnh, nhiệt độ 30°C, sau thời gian 3 tháng đem đi phân tích kết quả. Từ các yêu cầu về chỉ tiêu của nhiên liệu DO mác L-0,05-62 do nhà sản xuất đưa ra phù hợp với động cơ tua bin khí dùng cho tàu hải quân và căn cứ vào điều kiện xác định các chỉ tiêu kỹ thuật tại Trung tâm Hóa nghiệm xăng dầu - Cục Xăng dầu, chúng tôi chọn phân tích 15 chỉ tiêu kỹ thuật đặc trưng cho chất lượng nhiên liệu. Kết quả phân tích các chỉ tiêu kỹ thuật (tại Trung tâm Hóa nghiệm xăng dầu - Cục Xăng dầu) của mẫu nhiên liệu sau thời gian thử nghiệm có mẫu đối chứng so với yêu cầu chỉ tiêu kỹ thuật của nhiên liệu DO mác L-0,05-62 do ПOCHEПTБ đưa ra cho thấy, trong 15 chỉ tiêu phân tích có 4 chỉ tiêu vượt mức quy định yêu cầu kỹ thuật nhiên liệu nghiên cứu. Các chỉ tiêu có sự thay đổi vượt ra ngoài quy định là độ nhớt động học, nhiệt độ chớp lửa, hàm lượng lưu huỳnh tổng số và độ axit của mẫu thử nghiệm với VSV (bảng 4). Điều này cho thấy khả năng tác động của VSV làm thay đổi chất lượng của nhiên liệu sau thời gian thử nghiệm gia tốc ở trong phòng thí nghiệm là rất cao. Hai chỉ tiêu về hàm lượng lưu huỳnh tổng số và độ axit có sự thay đổi lớn. Hàm lượng lưu huỳnh trong nhiên liệu tăng có thể do sự chuyển hóa từ môi trường bởi VSV. Theo như tài liệu đã công bố, hai chỉ tiêu này có sự ảnh hưởng lớn tới tính năng và độ bền động cơ khi sử dụng nhiên liệu DO dẫn tới làm gia tăng sự ăn mòn với các bộ phận và thiết bị trong động cơ, làm giảm tuổi thọ động cơ.

Bảng 4. Kết quả các chỉ tiêu vượt quá quy định

TT	Tên chỉ tiêu	Quy định	Mẫu thử nghiệm	Mẫu đối chứng
1	Độ nhớt động học ở 20°C	3,0 - 6,0	6,84	5,787
2	Nhiệt độ chớp lửa cốc kín, °C	Không thấp hơn 70	80	67
3	Hàm lượng lưu huỳnh tổng số mg/kg	Không quá 0,05	0,11	0,04
4	Độ axit, mg KOH/100ml	Không quá 5	6,336	4,01

Từ các dẫn liệu trên cho thấy sự phát triển của VSV trong nhiên liệu trong thử nghiệm gia tốc đã ảnh hưởng tới chất lượng nhiên liệu, làm thay đổi một số chỉ tiêu kỹ thuật của nhiên liệu, vượt ngưỡng cho phép của mức nhiên liệu. Điều này có nghĩa nhiên liệu này khi được bảo quản lâu dài trong điều kiện tự nhiên có thể bị suy giảm chất lượng

IV. KẾT LUẬN

1. Đã phân lập được hai chủng vi khuẩn và một chủng nấm men trong mẫu nhiên liệu DO mức L-0,05-62 được nhập khẩu từ Liên bang Nga; các chủng vi khuẩn đều thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm.

2. Việc thử nghiệm gia tốc độ bền vi sinh của nhiên liệu theo GOST 9023 - 74 cho thấy nhiên liệu mức L-0,05-62 được coi là không bền với VSV trong điều kiện nóng ẩm. VSV có mặt trong nhiên liệu DO đã làm một số thông số như độ nhớt động học, nhiệt độ chớp lửa cốc kín, hàm lượng lưu huỳnh tổng số và độ axit thay đổi vượt ngưỡng cho phép. Điều này có thể xem là dự báo về sự phá hủy sinh học của nhiên liệu DO mức L-0,05-62 khi được bảo quản lâu dài trong điều kiện nhiệt đới Việt Nam và cần được tính đến khi tìm biện pháp bảo quản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Ngọc, Báo cáo khoa học đề tài, *Nghiên cứu ảnh hưởng của sự thay đổi chỉ số màu sắc đến chất lượng nhiên liệu Jet A-1*, 2005, tr.1-30.
2. Đặng Phương Nga, Luận án thạc sĩ khoa học sinh học, *Nghiên cứu đặc điểm một số chủng vi khuẩn thường gặp trong nhiên liệu máy bay JetA1 và ảnh hưởng của chúng đến chất lượng các sản phẩm dầu mỏ*, Hà Nội, 1998, tr.1-14.
3. Kiều Đình Kiên, *Các sản phẩm dầu mỏ và hóa dầu*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1999, tr.113-131.
4. Lại Thúy Hiền, *Giáo trình sau đại học - vi sinh vật dầu mỏ*, NXB Khoa học tự nhiên và công nghệ, Hà Nội, 2011, tr7-179.
5. Lại Thúy Hiền, Đặng Cẩm Hà, Lý Kim Bảng, *Vi sinh vật trong xăng, diesel và dầu nhớt ở Việt Nam*, Hà Nội, 1989.
6. Nguyễn Thành Lương, *Động cơ đốt trong, phương tiện giao thông Tập 1*, Nhà xuất bản xây dựng, Hà Nội, 2002.
7. Egorov N.X (Nguyễn Lâm Dũng dịch), *Thực tập vi sinh vật học*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1976, tr.72-80; 145-165; 201-217.
8. Frederick J, Passman, *Fuel and fuel system Microbiology, fundamentals, dianosis and contamination control*, Mayfiel, PA 6-2003, tr.1-13; 29-31; 98-106.
9. ТОПЛИВА НЕФТЯНЫЕ, *Метод лабораторных испытаний биостойкости топлив, защищенных противомикробными присадками (ГОСТ 9.023 - 74)*, Государственный комитет стандартов совета министров ссср, Москва

SUMMARY

EVALUATION OF THE IMPACT OF MICROORGANISM ON THE QUALITY OF DIESEL FUEL (L-0.05-62) IN TROPICAL CONDITIONS

It is known that bacteria, yeast and fungi are potentially petroleum degrading microorganisms. In our study, we have found two bacterial strains and one yeast strain from imported diesel fuel grade L-0.05-62. The results of accelerated test according to the GOST 9023 - 74 in laboratory show that the diesel fuel can be affected by the microorganisms during long-term preservation in tropical conditions. After testing for 3 months the microorganisms change a number of parameters such as kinematic viscosity, closed cup flash point, sulfur and the acidity exceeding the threshold.

Từ khoá: Diesel fuel, microorganisms.

Nhận bài ngày 08 tháng 8 năm 2013

Hoàn thiện ngày 17 tháng 9 năm 2013

Phân viện Công nghệ sinh học, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga