



PHÂN LẬP VÀ NHẬN DIỆN VI KHUẨN SẢN XUẤT CHẤT KẾT TỤ SINH HỌC TRONG NƯỚC RỈ RÁC VÀ ỨNG DỤNG TRONG XỬ LÝ NƯỚC RỈ RÁC

Cao Ngọc Điệp¹ và Phạm Sĩ Phúc²

¹ Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

² Trường Phổ thông Trung học Thạnh An, huyện Vĩnh Thạnh, Thành phố Cần Thơ

ABSTRACT

Biofloculants produced by microorganisms can flocculate and settle dispersed organic particles so that they can be used for wastewater treatment and it is not toxic to human and the environment. Fifty-five biofloculant-producing bacterial isolates were isolated from ten leachate samples of five landfills from Vinh Long, Can Tho and Hau Giang. Two isolates (P1.1 and P2.4) in 55 isolates had the highest flocculant rate and they were chosen to sequence randomly by automatic sequencer. DNA sequencing were compared with Gen Bank database of NCBI by BLAST N software. The results showed that P1.1 isolate was 99% of the identify with *Klebsiella* sp. NBRC 100048 and FJ577970 *Klebsiella* sp. T-6-1; P2.4 isolate was 98% of the identify with *Enterobacter* sp. A2 and JN695719 *Enterobacter* sp. TX2 (2011). The optimal medium consists of starch, YE, CaCl₂ for P1.1 isolate; sucrose, NH₄Cl, K₂HPO₄+KH₂PO₄ for P2.4 isolate with kaolin solution after 5 minutes at pH=4 (P1.1 isolate) and pH=5 (P2.4 isolate) together with CaCl₂, 0.1% inoculant (bacterial liquid). Applying these two isolates for landfill leachate treatment showed that they reduced the total solid suspension (TSS) and Chemical Oxygen Demand (COD) by 12.09% and 19.84% (P1.1 isolate); 12.4% and 21.89% (P2.4 isolate), respectively.

TÓM TẮT

Chất kết tụ sinh học được sản xuất từ vi sinh vật, chúng kết bông và lắng tụ các chất hữu cơ để xử lý nước thải và không độc hại cho con người và môi trường. Năm mươi lăm dòng vi khuẩn có khả năng tạo chất kết tụ sinh học đã được phân lập từ 10 mẫu nước rỉ rác thu thập ở 5 bãi rác các tỉnh Vĩnh Long, Cần Thơ và Hậu Giang. Trong đó có hai dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4 tạo chất kết tụ sinh học protein có tỉ lệ kết tụ cao và chúng được chọn để giải trình tự và sử dụng phần mềm BLAST N so sánh trình tự các dòng vi khuẩn này với trình tự các dòng vi khuẩn có trong ngân hàng dữ liệu NCBI, kết quả cho thấy dòng P1.1 có tỉ lệ đồng hình với dòng *Klebsiella* sp. NBRC 100048 và FJ577970 *Klebsiella* sp. T-6-1 là 99%, dòng P2.4 có tỉ lệ đồng hình với dòng *Enterobacter* sp. A2 và JN695719 *Enterobacter* sp. TX2 (2011) là 98%. Môi trường tối ưu cho dòng P1.1 là tinh bột, yeast extract, CaCl₂ cho tỉ lệ kết tụ đến 88,58%; dòng P2.4 là sucrose, NH₄Cl, K₂HPO₄+KH₂PO₄ cho tỉ lệ kết tụ là 86,81% với dung dịch kaolin sau 5 phút để lắng ở pH=4 (dòng P1.1) và pH=5 (dòng P2.4), bổ sung CaCl₂ và 0,1% liều lượng dung dịch chứa vi khuẩn. Ứng dụng hai dòng vi khuẩn này trong xử lý nước rỉ rác làm giảm lượng TSS và COD là 12,09% và 19,84% (dòng P1.1); 12,4% và 21,89% (dòng P2.4).

Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/05/2013

Ngày chấp nhận: 29/10/2013

Title:

Isolation and Identification biofloculant - producing bacteria in landfill leachate and their application for leachate treatment

Từ khóa:

Enterobacter sp., *Klebsiella* sp., kết tụ sinh học, nước rỉ rác, tỉ lệ kết tụ

Keywords:

Bioflocculation, *Enterobacter* sp., flocculating rate, *Klebsiella* sp., sewage water

1 GIỚI THIỆU

Kết tụ sinh học là sản phẩm của hợp chất cao phân tử được hình thành trong quá trình phát triển của vi sinh vật (Shih *et al.*, 2001). Vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học là những loài vi khuẩn có thể sử dụng các chất dinh dưỡng trong môi trường để tổng hợp các hợp chất đa phân tử trong tế bào dưới sự hoạt động của các enzyme đặc biệt, sau đó chúng có thể được bài tiết ra ngoài và tồn tại trong môi trường hoặc trên bề mặt vô tế bào vi khuẩn, các hợp chất này có khả năng tạo sự kết tụ với các chất khác nhau và tạo thành một khối nhầy lắng xuống đáy.

Chất kết tụ được phân loại thành ba nhóm chính: chất kết tụ vô cơ như aluminum sulfate và polyaluminum chloride, chất kết tụ tổng hợp hữu cơ như là dẫn xuất của polyacrylamide và polyethyleneimine, chất kết tụ xảy ra trong tự nhiên như: chitosan, sodium alginate và kết tụ sinh học bởi vi khuẩn (Zhi-qiang *et al.*, 2007). Các chất kết tụ vô cơ và chất kết tụ tổng hợp hữu cơ có khả năng gây ung thư, tác động mạnh đến thần kinh, có thể gây ra ô nhiễm thứ cấp trong quá trình áp dụng thực tế và chúng khó bị phân hủy trong tự nhiên (Yokoi *et al.*, 1994). Gần đây, kết tụ sinh học bởi vi sinh vật được ngành công nghệ sinh học môi trường chú ý bởi vì chúng có khả năng phân giải sinh học và không độc hại (Lu *et al.*, 2005). Theo Sheng *et al.* (2006) chất kết tụ sinh học có tác động nhanh chóng và an toàn, không độc hại cho con người và môi trường. Chất kết tụ sinh học có nhiều loại nhưng được quan tâm nghiên cứu nhiều là polysaccharide, protein và glycoprotein.

Trong xử lý nước thải, chất kết tụ sinh học từ các nguồn vi sinh vật được sử dụng để xử lý dung dịch thuốc nhuộm (Zang *et al.*, 2002; Deng *et al.*, 2005), các chất lơ lửng vô cơ (bentonite, đất sét, Ca(OH)₂, aluminum oxide) (Levy *et al.*, 1992; Shih *et al.*, 2001; Yim *et al.*, 2007), acid humic (Zouboulis *et al.*, 2004) và các chất lơ lửng khác (Salehizadeh *et al.*, 2000). Sự kết tụ các vật chất này giúp làm giảm các chỉ tiêu như COD và một phần độ đục của nước thải trước khi nước thải được xử lý bằng phương pháp khác (Gong *et al.*, 2008). Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập, hiệu quả kết tụ của các dòng vi khuẩn vừa phân lập, tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả kết tụ sinh học của hai dòng vi khuẩn có tỉ lệ kết tụ cao (> 80%) và ứng dụng chúng trong xử lý nước rỉ rác, đặc biệt làm giảm hàm lượng COD và TSS trong thành phần nước rỉ rác.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

- Nước rỉ rác thu từ 05 bãi rác của Hoà Phú, Trà Ôn (tỉnh Vĩnh Long), Thốt Nốt, Cờ Đỏ (Thành phố Cần Thơ), Tân Long (tỉnh Hậu Giang)
- Môi trường phân lập vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học polysaccharide (Deng *et al.*, 2002) và môi trường phân lập vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học protein (Hazana *et al.*, 2008).

2.2 Phương pháp

2.2.1 Phân lập vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học

Mười mẫu nước rỉ rác được pha loãng từ 10² – 10⁴; mỗi độ pha loãng hút 20 µl trải đều trên môi trường thạch, sau đó ủ 2 – 3 ngày ở 30°C. Tách rông từng khuẩn lạc bằng cách cấy chuyển tiếp sang môi trường thạch vài lần, quan sát thấy khuẩn lạc rời đều tiến hành cấy chuyển sang ống. Kế tiếp kiểm tra rông trên kính hiển vi, xem như một dòng (isolate) riêng biệt.

2.2.2 Kiểm tra hiệu quả kết tụ sinh học của các dòng vi khuẩn phân lập

Mỗi dòng vi khuẩn được nuôi trong 50 ml môi trường lỏng trong bình tam giác 100 ml (môi trường dùng để phân lập không bổ sung agar). Lắc trên máy lắc xoay vòng ở tốc độ 150 vòng/phút. Nuôi trong 4 ngày ở nhiệt độ phòng cho vi khuẩn phát triển sản sinh chất kết tụ sinh học.

Kiểm tra khả năng kết tụ của các dòng vi khuẩn bằng hỗn hợp gồm 90 ml dung dịch Kaolin (5 g/l), 10 ml dung dịch CaCl₂ 1%, pH =7, 100 µl dịch vi khuẩn nuôi có mật số >10⁹ tế bào/ml (tỉ lệ 0,1%). Hỗn hợp được khuấy đều, để lắng 5 phút, sau đó lấy phần trong ở trên đem đo OD ở bước sóng 550 nm. Mẫu đối chứng thực hiện tương tự nhưng không chủng vi khuẩn. Tỷ lệ kết tụ được tính theo công thức:

$$\frac{OD_{\text{đối chứng}} - OD_{\text{mẫu}}}{OD_{\text{đối chứng}}} \times 100\%$$

2.2.3 Nhận diện dòng vi khuẩn tạo kết tụ sinh học cho hiệu quả cao bằng phương pháp sinh học phân tử

Những dòng vi khuẩn có tỉ lệ kết tụ sinh học cao được chọn để nhận diện bằng cách thực hiện các phản ứng PCR để xác định gen 16S rRNA với cặp mồi 27F và 1492R (Kim *et al.*, 2010); sản phẩm PCR sẽ điện di trên gel agarose 0,8% và phổ

điện di sản phẩm PCR được chụp hình qua GelDoc với thang chuẩn 100 bp sau đó chúng được giải trình tự ở công ty MACROGEN (Hàn Quốc), kết quả trình tự được so sánh với dòng vi khuẩn chuẩn ở ngân hàng dữ liệu của NCBI bằng phần mềm BLAST N để nhận diện dòng vi khuẩn được giải trình tự gen 16S rRNA. Xây dựng cây phả hệ của chúng bằng phần mềm MEGA 5.05 (Tamura *et al.*, 2011) với phương pháp neighbor-joining dựa trên 1000 lần lặp lại (bootstraps).

2.2.4 Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả kết tụ sinh học

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của pH môi trường, các muối kim loại bổ sung, môi trường nuôi cấy, liều lượng vi khuẩn đến hiệu quả kết tụ sinh học. Từ đó xác định được điều kiện thích hợp

Bảng 1: Các nguồn carbon, nitrogen và muối khoáng dùng để nuôi vi khuẩn

Nguồn carbon	Nguồn nitrogen	Nguồn khoáng
Glucose (1%)	Acid Glutamate (5%)	KCl (0.5%)
Sucrose (1%)	Yeast extract (0.05%)	FeCl ₃ (0.5%)
Tinh bột (1%)	Urea (0.05%)	CaCl ₂ (0.5%)
	(NH ₄) ₂ SO ₄ (0.05%)	0.2% K ₂ HPO ₄ + 0.5% KH ₂ PO ₄

2.2.5 Ứng dụng vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học vào xử lý nước rỉ rác

Áp dụng các điều kiện thích hợp đã tìm được cho dòng vi khuẩn được tuyển chọn đem xử lý nước rỉ rác quy mô phòng thí nghiệm (bình 5 lít). Quy trình như sau: cho vào bình có thể tích 10 lít chứa 5 lít nước rỉ rác, bổ sung khoáng kim loại, dung dịch vi khuẩn, điều chỉnh pH theo các giá trị tối ưu đã tìm được; khuấy 200 vòng/phút trong 2 phút, để yên 30 phút. Lấy phần trong đo chỉ tiêu TSS và COD.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

cho hiệu quả kết tụ cao nhất. Tỷ lệ kết tụ được tính giống như mô tả ở trên. Độ pH của dung dịch Kaolin được chỉnh trong khoảng từ 3-9 bằng HCl và NaOH. Các muối KCl, NaCl, CaCl₂, MgSO₄, MnSO₄, FeCl₃, Al₂(SO₄)₃ được sử dụng như nguồn cation với nồng độ và liều lượng như CaCl₂. Liều lượng dịch vi khuẩn nuôi được bổ sung điều chỉnh tương ứng với các tỉ lệ 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 và 0,1(%). Chuẩn bị môi trường nuôi cấy vi khuẩn với sự phối hợp ba nguồn carbon, nitrogen và muối khoáng theo đúng tỉ lệ các thành phần trong Bảng 1, ta được 48 nghiệm thức khác nhau về môi trường nuôi vi khuẩn. Nuôi vi khuẩn trong ống nghiệm loại 10 ml ở nhiệt độ phòng, lắc 160 vòng/phút. Sau 4 ngày, kiểm tra hiệu quả kết tụ sinh học với Kaolin.

3.1 Kết quả phân lập vi khuẩn

Từ 10 mẫu nước rỉ rác phân lập được 55 dòng vi khuẩn, trong đó: 19 dòng vi khuẩn phân lập từ môi trường polysaccharide (chiếm 34,55%) và 36 dòng vi khuẩn từ phân lập từ môi trường protein (chiếm 65,45%).

Đa số các dòng vi khuẩn có dạng khuẩn lạc tròn, màu trắng, có bề mặt trơn, nhầy và ướt, chính độ nhầy và ướt làm khuẩn lạc có đặc điểm khác nhau như: khuẩn lạc mô cao rắn chắc (Hình 1A), khuẩn lạc ướt nhiều và chảy lan xung quanh (Hình 1C), dạng que ngắn, kích thước từ 0,8 x 1,25 µm (Hình 1C).

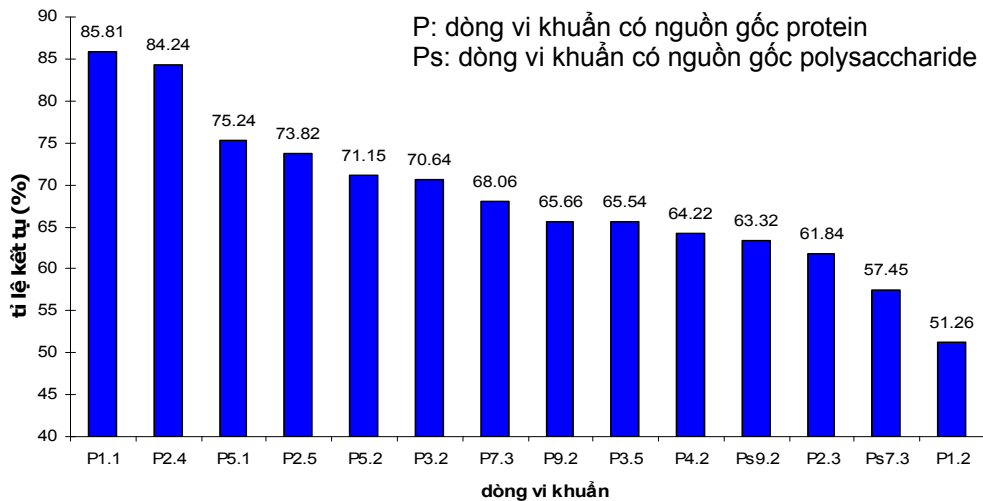


Hình 1: Đặc điểm một số dạng khuẩn lạc của vi khuẩn và hình dạng vi khuẩn chụp ở kính hiển vi điện tử quét với độ phóng đại 7.500 lần

3.2 Hiệu quả kết tụ của các dòng vi khuẩn phân lập

Kết quả ghi nhận trong 55 dòng vi khuẩn đã phân lập, có 15 dòng có tỉ lệ kết tụ > 50% (chiếm 27,27%), 40 dòng có tỉ lệ kết tụ < 50% (chiếm tỉ lệ 72,73%). Các dòng vi khuẩn có tỉ lệ kết tụ môi

trường polysaccharide rất thấp (<50%) trong khi đó các dòng vi khuẩn phân lập từ môi trường protein có dòng P1.1 có tỉ lệ kết tụ cao nhất (85,81%) rồi đến dòng P2.4 (84,24%) và hai dòng P1.1 và P2.4 này được chọn để tối ưu hóa các điều kiện thích hợp cho hiệu quả kết tụ cao nhất (Hình 2).

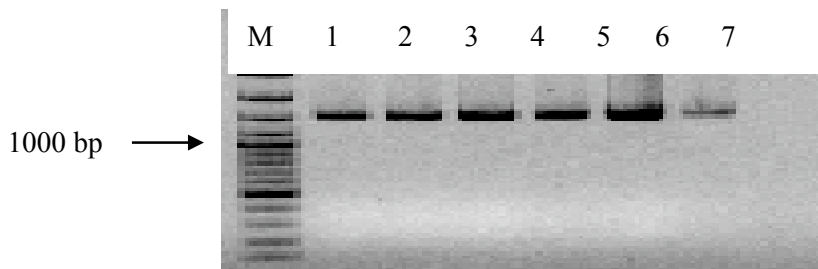


Hình 2: Mười lăm dòng vi khuẩn có tỉ lệ kết tụ (%) lớn hơn 50%

3.3 Nhận diện vi khuẩn dòng P1.1 và P2.4 bằng phương pháp sinh học phân tử

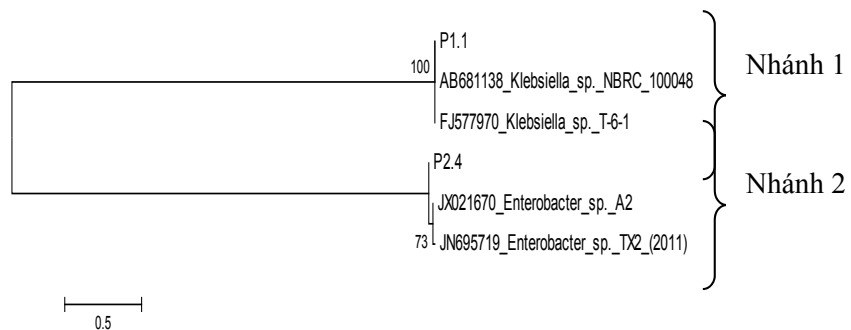
Tất cả 2 dòng vi khuẩn đều được nhận diện ở băng 1500 bp trên phổ điện di của PCR-16S rRNA được nhân lên từ DNA của chúng (hình 3) và được xác định dòng P1.1 đồng hình với AB681138

Klebsiella sp. NBRC 100048 và FJ577970 *Klebsiella* sp. T-6-1 mức độ 99% và dòng P2.4 tương đồng ở mức 98% với dòng JX021670 *Enterobacter* sp. A2 và dòng JN695719 *Enterobacter* sp. TX2 (2011) được xác định trên cây phá hệ (Hình 4) chia thành 2 nhánh rõ rệt.



Hình 3: Phổ điện di của sản phẩm PCR được nhân lên từ DNA của hai dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4

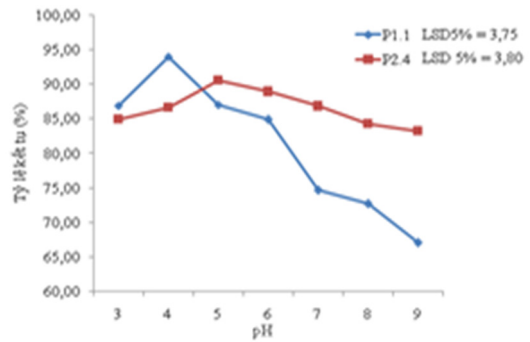
Ghi chú: M: thang chuẩn 100bp, 1,2,3: dòng P1.1, 4,5,6: dòng P2.4, 7: đối chứng âm



Hình 4: Cây phá hệ trình bày mối quan hệ giữa các dòng vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học có nguồn gốc protein dựa trên trình tự 16S rRNA (phương pháp neighbor-joining) với 1000 lặp lại (bootstrap)

3.4 Tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả kết tụ của hai dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4

Đối với dòng P1.1: Nguồn carbon, nitrogen và khoáng vô cơ tối ưu dùng để nuôi vi khuẩn cho tỉ lệ kết tụ cao nhất (82,4%) là tinh bột, yeast và CaCl₂ (Bảng 2); pH tối ưu là 4 (93,96%) (Hình 5); muối kim loại bổ sung cho tỉ lệ kết tụ cao nhất là CaCl₂ (90,08%) (Hình 6). Đối với dòng P2.4: Nguồn carbon, nitrogen và khoáng vô cơ tối ưu dùng để nuôi vi khuẩn cho tỉ lệ kết tụ cao nhất (81,28%) là sucrose, NH₄Cl và K₂HPO₄ + KH₂PO₄ (Bảng 2); pH tối ưu là 5 (90,57%) (Hình 5); muối kim loại bổ sung cho tỉ lệ kết tụ cao nhất là NaCl (93,60%) (Hình 6) chỉ sau 30 phút.

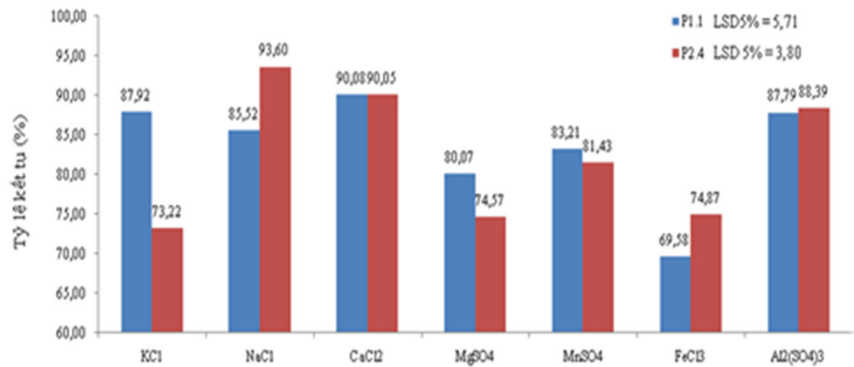


Hình 5: Ảnh hưởng của pH đến hiệu quả kết tụ của 2 dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4

Bảng 2: Ảnh hưởng của nguồn carbon, nitrogen và khoáng vô cơ đến khả năng kết tụ sinh học của hai dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4

Dòng	Nguồn carbon	Nguồn nitrogen				Nguồn khoáng vô cơ
		Glutamate (5%)	Yeast (0,05%)	Ure (0,05%)	NH ₄ Cl (0,05%)	
P1.1 LSD (5%) 4,14	Glucose (1%)	71,95	47,42	54,26	26,21	KCl (0,5%)
		36,89	51,34	39,88	10,19	FeCl ₃ (0,5%)
		52,57	48,24	49,00	18,92	CaCl ₂ (0,5%)
		35,70	32,70	58,66	27,42	K ₂ HPO ₄ (0,5%) + KH ₂ PO ₄ (0,2%)
	Sucrose (1%)	37,70	50,24	40,58	53,04	KCl (0,5%)
		32,63	44,96	21,52	40,53	FeCl ₃ (0,5%)
		49,13	72,73	66,74	54,80	CaCl ₂ (0,5%)
		52,47	44,65	57,96	56,23	K ₂ HPO ₄ (0,5%) + KH ₂ PO ₄ (0,2%)
	Tinh bột (1%)	61,63	64,30	75,03	52,51	KCl (0,5%)
		47,00	56,98	61,02	39,93	FeCl ₃ (0,5%)
		70,89	82,40	58,57	77,92	CaCl ₂ (0,5%)
		48,61	62,68	44,82	65,45	K ₂ HPO ₄ (0,5%) + KH ₂ PO ₄ (0,2%)
P2.4 LSD (5%) 3,95	Glucose (1%)	58,48	43,1	42,41	12,63	KCl (0,5%)
		41,79	40,1	48,03	12,99	FeCl ₃ (0,5%)
		42,98	52,31	44,73	22,81	CaCl ₂ (0,5%)
		36,68	38,66	56,48	23,58	K ₂ HPO ₄ (0,5%) + KH ₂ PO ₄ (0,2%)
	Sucrose (1%)	49,44	47,36	46,58	41,59	KCl (0,5%)
		29,89	43,8	48,58	32,61	FeCl ₃ (0,5%)
		80,86	76,7	52,60	57,84	CaCl ₂ (0,5%)
		67,79	42,58	64,17	81,28	K ₂ HPO ₄ (0,5%) + KH ₂ PO ₄ (0,2%)
	Tinh bột (1%)	57,90	62,73	78,42	77,08	KCl (0,5%)
		59,01	49,32	60,89	75,31	FeCl ₃ (0,5%)
		64,05	69,62	77,70	78,93	CaCl ₂ (0,5%)
		63,65	62,95	78,73	78,89	K ₂ HPO ₄ (0,5%) + KH ₂ PO ₄ (0,2%)

Hình 6: Ảnh hưởng của muối kim loại đến hiệu quả kết tụ của 2 dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4



Trong Bảng 2 trình bày sự tổ hợp các nguồn dinh dưỡng (carbon, nitơ, khoáng) để có tỉ lệ kết tụ cao nhất như dòng P1.1 với 1% tinh bột, 0,05% yeast extract, 0,5% CaCl₂ cho tỉ lệ kết tụ cao nhất (82,4%) tương tự dòng P2.4 là 1% sucrose, 0,05% NH₄Cl, K₂HPO₄ (0,5%) + KH₂PO₄ (0,2%) cho tỉ lệ kết tụ cao nhất là 81,28%.

3.5 Ứng dụng 2 dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4 vào trong xử lý nước rỉ rác

Kết quả xử lý nước rỉ rác cho thấy cả hai dòng P1.1 và P2.4 làm giảm hàm lượng TSS không khác biệt (12,09% với dòng P1.1 và 12,4% với dòng P2.4); Dòng P2.4 làm giảm lượng COD tốt hơn dòng P1.1 (21,89% so với 19,84%); Khi phối hợp cả hai dòng lại thì hiệu quả xử lý lượng TSS tốt hơn (giảm 26,37%)(Bảng 3).

Từ 20 mẫu nước thải được thu ở tỉnh Tiền Giang, chúng tôi phân lập được 53 dòng vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học trong đó tuyển chọn và nhận diện được 2 dòng vi khuẩn *Cronobacter sakazakii* T2a (có nguồn gốc từ môi trường polysaccharide) và dòng *Cronobacter sakazakii* P11b (có nguồn gốc từ môi trường protein) và cả

hai đều có khả năng xử lý nước thải tinh bột, làm giảm 95,85% COD và 66,5% TSS và nước thải protein là 90,43% COD và 50% TSS sau 30 phút để lắng so với đối chứng (Cao Ngọc Diệp *et al.* 2010). Bùi Thế Vinh *et al.* (2010) phân lập, tuyển chọn hai dòng vi khuẩn *Enterobacter aerogenes* P11 và P14 từ chất thải nhà máy sữa và trại chăn nuôi bò sữa, hai dòng có khả năng xử lý nước thải sữa và nước rỉ rác trong đó làm giảm hàm lượng TSS và COD lên đến 43,6% và 39%; 63,9% và 67% theo thứ tự sau 30 phút để lắng; kết quả của chúng tôi cũng nhận thấy hai dòng vi khuẩn tạo chất kết tụ sinh học *Enterobacter* sp. P2.4 (nguồn gốc protein) cũng có khả năng làm giảm 21,9% COD và 12,4% TSS của nước rỉ rác trong cùng thời gian, sở dĩ có sự khác biệt giữa các dòng vi khuẩn có tỉ lệ giảm lượng COD và TSS ở các loại nước thải khác nhau là vì ở nước thải tinh bột (xưởng sản xuất bún) chỉ có tinh bột là chất lơ lửng tạo nên nước thải đặc nên hiệu quả vi khuẩn tạo chất kết tụ sinh học làm giảm lượng TSS và COD cao so với 2 loại nước thải còn lại, chứa nhiều tạp chất hơn và các kết quả này góp phần vào xử lý chung nước rỉ rác.

Bảng 3: Kết quả xử lý nước rỉ rác của 2 dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4

Chỉ tiêu	P1.1			P2.4			P1.1 + P2.4		
	Trước xử lý	Sau xử lý	Tỉ lệ giảm (%)	Trước xử lý	Sau xử lý	Tỉ lệ giảm (%)	Trước xử lý	Sau xử lý	Tỉ lệ giảm (%)
COD, mg O/lít	1270	1018	19,84	1270	992	21,89	1270	1028	19,06
TSS, mg/lít	637	560	12,09	637	558	12,40	637	469	26,37

4 KẾT LUẬN

– Hai dòng vi khuẩn P1.1 và P2.4 phân lập từ nước rỉ rác cho tỉ lệ kết tụ với dung dịch kaolin bổ sung CaCl₂ lần lượt là 85,81% và 84,24% và hai dòng P1.1 có tỉ lệ đồng hình gen 16S rDNA lần lượt với AB681138 *Klebsiella* sp. NBRC 100048 và FJ577970 *Klebsiella* sp. T-6-1 (99%) và dòng

P2.4 với JX021670 *Enterobacter* sp. A2 và JN695719 *Enterobacter* sp. TX2 (2011)(98%).

– Các điều kiện tối ưu cho hiệu quả kết tụ cao nhất gồm: pH 4 (dòng P1.1), pH 5 (dòng P2.4); ion khoáng bổ sung là 0,5% CaCl₂ (dòng P1.1) và 0,5% NaCl (dòng P2.4); nguồn carbon, nitrogen và khoáng vô cơ cho môi trường nuôi cấy lần lượt là 1% tinh bột, 0,05% yeast extract và 0,055 CaCl₂

(dòng P1.1) và 1% sucrose, 0,05% NH₄Cl và 0,5% K₂HPO₄ + 0,2% KH₂PO₄.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Thế Vinh, Phan Thanh Quốc và Cao Ngọc Điệp. 2010. Phân lập và nhận diện vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học trong chất thải sữa và ứng dụng trong xử lý nước thải. Tạp chí Công nghệ Sinh học 8 (3A): 805-809.
- Cao Ngọc Điệp, Lê Thị Loan và Trần Ngọc Nguyên. 2010. Phân lập và nhận diện vi khuẩn sản xuất chất kết tụ sinh học và ứng dụng trong xử lý nước thải. Tạp chí Công nghệ Sinh học 8(2): 253-264.
- Deng S. B., R. Bai and X. Hu. 2002. Characteristics of a bioflocculant produced by *Bacillus mucilaginosus* and its use in starch wastewater treatment. Appl. Microbial Biotechnol. 60: 588-593.
- Gong W.X., S.G. Wang., X.F. Sun., X.W. Liu., Q.Y. Yue and B.Y. Gao. 2008. Bioflocculant production by culture of *Serratia ficaria* and its application in wastewater treatment. Bioresour. Technol. 99: 4668-4674.
- Hazana R and I. Norli. 2008. Flocculating activity of bioflocculant producing bacteria isolated from Closed drainage system at Prai industrial Zone, Penang, Malaysia. International conference on Environmental Research and Technology. pp. 422-425.
- Kim, J.M., H. J. Lee, S. Y. Kim, J. J. Song, W Park, and C. O. Jeon. 2010. Analysis of the Fine-Scale Population Structure of "Candidatus *Accumulibacter phosphatis*" in Enhanced Biological Phosphorus Removal Sludge, Using Fluorescence In Situ Hybridization and Flow Cytometric Sorting. Applied and Environmental Microbiology, 76(12): 3825-3835.
- Levy N., S. Magdass and Y. Bar-Or. 1992. Physico-chemical aspects in flocculation of bentonite suspensions by a cyanobacterial bioflocculant. Water Res., 26: 249-254.
- Lu W. Y., T. Zhang ., D. Y. Zhang ., C. H. Li ., J. P. Wen and L. X. Du. 2005. A novel bioflocculant produced by *Enterobacter aerogenes* and its use in defecating the trona suspension. J. Biochem. Eng., 27: 1-7.
- Salehizadeh H., M. Vossoughi and I. Alemzadeh. 2000. Some investigations on bioflocculant-producing bacteria. Biol. Chem., 5: 39-44.
- Sheng Y., Q. Zang and H. Wang. 2006. Screening and flocculating of bioflocculant producing microorganisms. Science and Technology Beijing, 13: 289.
- Shih I. L., Y.T. Van., L. C. Yeh., H. G. Lin and Y. N. Chang. 2001. Production of a biopolymer flocculant from *Bacillus licheniformis* and its flocculation properties. Bioresour. Technol., 78: 267-272.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. Mol. Biol. Evol., 28: 2731-2739.
- Yim J.H., S.J. Kim., S.H Ahn and H.K. Lee. 2007. Characterization of a novel bioflocculant, p-KG03, from a marine dinoagellate *Gyrodinium impudicum* KG03. Bioresour. Technol., 98:361-367.
- Yokoi H., O. Natsuda and J. Hirose. 1994. Characteristics of a bio-polymer flocculant produced by *Bacillus* sp. PY-90. Ferment. Bioeng., 79: 378- 380.
- Zang J., Z. Liu, S. Wang, P. Jiang. 2002. Characterization of a bioflocculant produced by the marine myxobacterium *Nannocystis* sp. NU-2. Appl Microbiol Biotechnol ., 59: 517-522.
- Zhi-qiang Z., L. Bo., X. Si-qing, W. Xue-jiang and Y. A-ming. 2007. Production and application of a novel bioflocculant by multiple-microorganism consortia using brewery wastewater as carbon source. Journal of Environmental Sciences, 19: 667-673.
- Zouboulis A. I., X. L. Chai and I.A. Katsoyiannis. 2004. The application of bioflocculant for the removal of humic acids from stabilized landfill leachates. J. Environ. Manage., 70: 35-41.