PHÂN LẬP VÀ ỨNG DỤNG VI KHUẨN TÍA QUANG HỢP TRONG XỬ LÝ NƯỚC THẢI DỆT NHUỘM

Nguyễn Tiến Đạt[1], Đỗ Thị Liên[2], Trần Thị Huyền Nga[1*], Nguyễn Mạnh Khải[1], Trần Thị Đào[3], Cung Thị Ngọc Mai[2], Nguyễn Trọng Gia Khánh[4], Lê Thị Nhi Công[2]

[1]Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
[2]Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam
[3]Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[4]Trường PTTH Chuyên Khoa học Tự nhiên, Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

[*]Tác giả liên hệ: tranthihuyennga@hus.edu.vn

Ngày nhận bài: 01.02.2023 Ngày chấp nhận đăng: 27.03.2023

TÓM TẮT

Nước thải dệt nhuộm có độ pH kiềm, nhiệt độ đầu ra tương đối cao, tổng chất rắn hòa tan, hồ tinh bột và hàm lượng kim loại nặng cao gây độc cho thủy sinh và ảnh hưởng tới các hệ thống thoát nước. Để việc xử lý nước thải dệt nhuộm đạt hiệu quả cao trong điều kiện nhiệt độ nước thải đầu ra từ 40-50°C thì việc sử dụng vi sinh vật nhóm ưa ấm có khả năng phát triển trong điều này ví dụ như nhóm vi khuẩn tía quang hợp (VKTQH) sẽ là một giải pháp hữu hiệu và thân thiện với môi trường. Nghiên cứu này đã sử dụng một số phương pháp như nuôi cấy vi sinh vật truyền thống, phân loại định tên, đánh giá khả năng tạo màng sinh học và một số phân tích chỉ tiêu hoá học như COD, BOD5, TSS. Kết quả, từ mẫu nước thải đã phân lập ra được chủng DN62 và đã xác định được chủng DN62 thuộc loài *Rhodopseudomonas* sp. Bằng việc sử dụng VKTQH tạo màng sinh học trên chất mang sỏi keramizite, bước đầu cho thấy khả năng xử lý BOD5 và COD lần lượt đạt 67,77% và 81,99% sau 14 ngày xử lý dưới điều kiện nhiệt độ 40-50°C.

Từ khóa: Biofilm, nước thải dệt nhuộm, ưa ấm, vi sinh vật, sỏi keramizite.

Isolation and Application of Photosynthetic Purple Bacteria in Textile Wastewater Treatment

ABSTRACT

Textile dyeing wastewater with alkaline pH, high outlet temperature, high total dissolved solids, starch slurry, and heavy metal content is toxic to aquatic life and affects drainage systems. Towards a safe and environmentally friendly textile industry, utilization of mesophilic bacteria capable of growing at temperature of 40-50°C, such as photosynthetic purple bacteria is considered bio-friendly and effective solution for textile dyeing wastewater treatment. Photosynthetic bacterium was isolated based on its cell growth rate and biofilm forming capability. The isolate was genetically analyzed and its capability of dyeing wastewater degradation on keramizite gravel carriers was evaluated. As the results, from wastewater samples, the strain 62 was isolated and identified as *Rhodopseudomonas* sp. This photosynthetic purple bacterial strain was used to create biofilms on keramizite gravel carriers. It was initially shown that BOD5 and COD removal capacity of this strain reached 67.77 and 81.99%, respectively, after 14 days of treatment at temperature range 40-50°C.Keywords: Biofilm, textile wastewater, mesophilic, microorganisms, keramizite.

Keywords: Biofilm, textile wastewater, mesophilic, microorganisms, keramizite.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành dệt may là ngành công nghiệp có dây chuyền công nghệ phức tạp, áp dụng nhiều loại hình công nghệ khác nhau. Đồng thời trong quá trình sản xuất sử dụng các nguồn nguyên liệu, hoá chất khác nhau như sợi bông, sợi nhân tạo, lông thú, đay gai, tơ tằm và nhiều hóa chất

đi cùng... Quá trình sản xuất có thể liên quan tới rất nhiều hoạt động như kéo sợi, dệt vải, nhuộm hoàn tất, may... Tùy thuộc vào từng nhà máy, đặc thù của từng công đoạn sản xuất mà phát sinh ra nhiều dạng ô nhiễm như: bụi, tiếng ồn, nhiệt dư, chất thải rắn, khí thải và nước thải... Nguồn gốc các thành phần trong nước thải dệt nhuộm có thể là các chất dầu mỡ, tạp chất chứa nitơ, hóa chất trong hồ sợi, chất nhuộm, trợ màu, ngấm màu, chất tẩy giặt... Nước thải phát sinh từ quá trình sản xuất dệt nhuộm thường 12-300 m^3/tấn vải, chủ yếu từ công đoạn nhuộm và nấu tẩy. Đặc trưng chủ yếu của loại nước thải này là có pH kiềm, có nhiệt độ, BOD, COD, chất lơ lửng SS và độ màu khác cao. Độ kiềm cao làm tăng pH của nước, gây độc hại cho các loài thủy sinh. Muối trung tính làm tăng tổng hàm lượng chất rắn, gây độc hại cho các loài thủy sinh do tăng áp suất thẩm thấu, ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất của tế bào. Hồ tinh bột biến tính làm tăng BOD, COD làm giảm oxy hòa tan trong nước. Độ màu cao do dư lượng thuốc nhuộm trong nước thải gây màu cho nguồn tiếp nhận, ảnh hưởng tới quá trình quang hợp của các loài thuỷ sinh, ảnh hưởng tới cảnh quan (Trịnh Xuân Lai, 2009). Các chất độc nặng như sunfit kim loại nặng, các hợp chất halogen hữu cơ (AOX) có khả năng tích tụ trong cơ thể sinh vật với hàm lượng tăng dần theo chuỗi thức ăn trong hệ sinh thái nguồn nước, gây ra một số bệnh mãn tính đối với người và động vật. Nước thải từ các quá trình nhuộm, nếu không được xử lý, qua thời gian tích tụ và bằng con đường trực tiếp hay gián tiếp, chúng sẽ tồn đọng trong cơ thể con người và gây các bệnh nghiêm trọng, như viêm loét da, viêm đường hô hấp, eczEma, ung thư,... (Singh & Das, 2019).

Với nguồn phát thải có nhiều thành phần phức tạp và có khả năng gây độc thì các nhà máy dệt nhuộm bắt buộc phải có hệ thống xử lý nước thải riêng, xử lý đạt yêu cầu trước khi xả thải chung vào hệ thống của các khu công nghiệp hoặc xả thải ra môi trường. Cho đến nay, các hệ thống xử lý nước thải dệt nhuộm đã được nghiên cứu và phát triển rất đa dạng nhằm phù hợp với từng loại hình sản xuất, tuy nhiên cơ bản hầu hết các công nghệ xử lý đang được áp dụng đều sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp các phương pháp sau: phương pháp cơ học, phương pháp hóa học và phương pháp sinh học (Schiraldi & de Rosa, 2014; Singh & Das, 2019).

Ở nhiều hệ thống xử lý nước thải dệt nhuộm tại Việt Nam, tháp giải nhiệt đang chưa phát được hiệu quả giải nhiệt như mong muốn vào mùa hè nhiệt độ sau khi qua tháp giải nhiệt, qua bể hóa lý để chuyển sang bể vi sinh có thể lên tới 45°C, thậm chí có những ngày lên tới 50°C (Singh & Das, 2019). Nhiệt độ cao ảnh hưởng rất lớn để sự thích nghi và tồn tại của vi sinh vật trong bể, từ đó có thể dẫn tới việc chết bùn hoạt tính, hiệu suất xử lý thấp (Lin & cs., 2011). Do đó, phát triển được nhóm vi sinh vật có nhiệt độ sinh trưởng và phát triển phù hợp ở nhiệt độ 35-45°C có thể giải quyết được vấn đề này, các bể sinh học ở đây sẽ vẫn mang lại hiệu quả cao, nhà máy tiết kiệm được chi phí đầu tư thêm công nghệ ở tháp giải nhiệt. Do đó, việc chế tạo sản phẩm chứa các chủng vi sinh vật có khả năng thích nghi với điều kiện nhiệt độ ấm, có mật độ cao, dễ bảo quản, phân phối, áp dụng vào thực tiễn có ý nghĩa quan trọng. Trong nghiên cứu này, các chủng vi khuẩn tía quang hợp ưa ấm có khả năng tạo màng sinh học đã được phân lập, tuyển chọn và bước đầu thử nghiệm trên chất mang là sỏi keramizite để đánh giá hiệu suất phân huỷ nước thải dệt nhuộm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Mẫu nước thải: Mẫu nước thải được lấy từ nguồn hệ thống xử lý hiếu khí thuộc Công ty Cổ phần Dệt may Nam Định. Mẫu nước được lấy theo TCVN 6663-3:2016.

Hóa chất: Các hợp chất được sử dụng trong môi trường DSMZ27 Cao nấm men 0,3 g/l; Natri Acetat 0,5 g/l; KH_2PO_4 0,5 g/l; K_2HPO_4 1 g/l; $MgSO_4.7H_2O$ 0,4 g/l; $CaCl_2.2H_2O$ 0,05 g/l; NH_4Cl 0,4 g/l; vi lượng SL_6 1 ml/l; vitamin B12 0,4 ml/l. Môi trường DSMZ27 thạch là môi trường DSMZ27 bổ sung 2% agar. Các hóa chất sử dụng đều là hóa chất ngoại nhập của các hãng Sigma, Merk (Trung Quốc) sản xuất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nuôi cấy vi khuẩn tía quang hợp

Trong phòng thí nghiệm, vi khuẩn tía quang hợp (VKTQH) được nuôi trong ống thủy tinh có nắp đậy cao su hoặc trong các bình thủy tinh hình trụ chứa dịch môi trường DSMZ27. Môi trường trong các bình và các ống thủy tinh được sục khí nitơ qua màng lọc vô trùng thay thế khí oxy trong môi trường sao cho nồng độ oxy hòa tan ~ 0 mg/l. Giống VKTQH được nuôi trong ống thủy tinh V = 12ml hoặc bình thủy tinh V = 100ml chứa môi trường DSMZ27 ở điều kiện kị khí sáng và khi sinh trưởng của chúng ở pha log với mật độ tế bào khoảng 10^9 CFU/ml thì được cấy vào bình thí nghiệm với lượng giống cấy khoảng 5-10% để mật độ quang ban đầu tại λ = 800nm (OD_{800}) khoảng 0,1. Ngoài tự nhiên: VKTQH được nuôi trong các bình nhựa trong (PET) với các thể tích khác nhau: 500ml; 1,5l; 5l hoặc bể có thể tích 50-100m^3. VKTQH được nuôi trên môi trường DSMZ27 và bổ sung đậu tương với hàm lượng 1 g/l) được đặt ngoài trời và có khuấy đảo ngầm (Imhoff & Trueper, 1989).

2.2.2. Đánh giá sinh trưởng và xác định mật độ của VKTQH

Sinh trưởng của các chủng VKTQH được đánh giá bằng cách xác định độ hấp phụ của dịch huyền phù tế bào tại bước sóng 800nm (OD_{800}) (Imhoff & Trueper, 1989) vì trong tế bào VKTQH Bchl có cực đại hấp thụ ở 800nm và độ hấp thụ này tỷ lệ với hàm lượng Bchl, do vậy tỷ lệ thuận với sinh khối của tế bào. Các chỉ số này được đo trên máy quang phổ Novaspec II hoặc máy quang phổ UV - 1650PC.

Mật độ được xác định theo phương pháp pha loãng như sau: mẫu được pha loãng liên tục bằng nước cất vô trùng từ 10^1 đến 10^{14}. Dùng pipet vô trùng lấy 50µl dung dịch ở các nồng độ thích hợp nhỏ lên bề mặt đĩa thạch chứa môi trường DSMZ 27. Dùng que gạt vô trùng dàn đều dịch đó trên mặt thạch. Đặt các đĩa thạch chứa mẫu VKTQH trong điều kiện khí quyển nitơ, dưới ánh sáng đèn sợi đốt 60w, tiến hành đếm số khuẩn lạc sau 5-7 ngày.

Số lượng khuẩn lạc (CFU/ml) xuất hiện trên đĩa được đếm và tính theo công thức:

CFU/ml = (a × 1)/(v × n)

Trong đó: n là độ pha loãng mẫu, a là số khuẩn lạc đếm được trên bề mặt đĩa thạch được đếm, v là thể tích mẫu được cấy, 1/v thể tích mẫu qui về 1ml.

2.2.3. Đánh giá khả năng tạo màng sinh học của VKTQH

Để đánh giá khả năng tạo màng sinh học của các chủng đã phân lập được, chúng tôi tiến hành nhuộm với tím tinh thể theo phương pháp của O'Toole & Kolter (1998), Morikawa (2006). Phương pháp nhuộm tím tinh thể giúp phát hiện ra các tế bào bám dính trong một màng sinh học trên bề mặt giá thể, đồng thời cho phép định lượng mức độ hình thành màng sinh học mạnh hay yếu trong một khoảng thời gian nhất định bằng phương pháp đo độ hấp thụ ở bước sóng OD_{570}. Chỉ số OD_{570} đo lượng tím tinh thể bắt màu với tế bào thông qua biểu thị mật độ tế bào sống trong màng sinh học. Chỉ số OD_{570} càng cao chứng tỏ mật độ trong tế bào màng sinh học càng cao và ngược lại.

2.2.4. Nghiên cứu hệ sắc tố của vi khuẩn tía quang hợp

Phổ hấp thụ của Bacteriochlorophyll trong tế bào nguyên được xác định theo phương pháp quang phổ ở vùng 400-900nm trên máy quang phổ Novaspec II (Anh) và máy quang phổ UV - 1650PC (Nhật).

2.2.5. Tách chiết DNA genome của vi khuẩn tía quang hợp

Các chủng VKTQH được nuôi cấy trong môi trường DSMZ-27 trong khí nitơ và đặt dưới ánh đèn sợi đốt trong 3-4 ngày đến khi OD_{800} đạt 0,8-1 thì DNA của chúng được tách ra như sau: Hút dịch nuôi cấy vào ống eppendorf 1,5ml, thu tế bào bằng cách ly tâm 8.000 vòng/phút trong 10 phút; sau đó bổ sung 540µl extraction buffer, voltex 2.500 vòng/phút đến khi tế bào tan hết; tiếp theo bổ sung 20µl proteaza ủ tại 37°C trong 1 tiếng 30 phút; và bổ sung tiếp 60µl SDS 20% ủ tại 65°C trong 2 tiếng. Protein được loại bỏ bằng

600µl CI (24:1), ly tâm 12.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, thu dịch nổi và chuyển sang ống eppendorf mới, có thể lặp lại đến khi sạch. DNA được tủa bằng 500µl cồn 70% (lạnh), ly tâm 12.000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút và làm khô bằng máy hút chân không Mi-vac 110V, sau đó hòa tan DNA trong 30µl TAE 50X và bảo quản mẫu ở tủ lạnh sâu.

2.2.6. Phương pháp PCR

Trong phản ứng PCR có các thành phần sau: 8,5µl nước deion, 12,5µl master mix, 1µl mồi xuôi (10ng), 1µl mồi ngược (10ng), 2µl mẫu.

Chu trình nhiệt tiến hành phản ứng PCR nhân gen 16S: 95°C/5 phút; 30 chu kỳ (95°C/50 giây; 55,8°C/45 giây; 72°C/ 90 giây); 72°C/7 phút;

2.2.7. Điện di DNA trên gel agarose

Gel agarose 1% được chuẩn bị, mẫu DNA được trộn với 3µl loading dye và tra vào các giếng nhỏ và tra chỉ thị phân tử DNA chuẩn để xác định kích thước phân tử của mẫu DNA trên bản gel. Chạy điện di với điện thế 100V trong 35 phút. Sau khi kết thúc quá trình điện di, đưa bản gel vào nhuộm trong Ethidium bromide trong 10 phút. Bản gel được rửa lại bằng nước và mang đi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254nm trên máy soi DNA và chụp ảnh (Sambrook & Rusell, 2001).

2.2.8. Thử nghiệm khả năng xử lý nước thải dệt nhuộm qui mô phòng thí nghiệm

Vi khuẩn tía quang hợp sau khi được phân lập và nghiên cứu một số đặc điểm sinh học thì được nuôi cấy trong môi trường DSMZ27 tới giá trị OD_{800} đạt 0,8-1. Bổ sung 100g sỏi keramizite vào các bình có thể tích 500ml. Tỉ lệ môi trường và nước thải dệt nhuộm trong các bình thí nghiệm được bổ sung như sau: 0MT:1NT; 1MT:1NT; 1MT:3NT; 1MT:5NT; 1MT:10NT (MT: môi trường; NT: nước thải). Sau các thời gian khác nhau (0, 4, 8 và 14 ngày) nước thải được lấy để đánh giá các chỉ tiêu như COD, BOD_5, TSS (tổng chất rắn lơ lửng), chất hoạt động bề mặt. Cần có đánh giá về khả năng tạo màng sinh học của chủng vi khuẩn được tuyển chọn (trong bài này là của chủng vi khuẩn 62).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và sàng lọc các chủng vi khuẩn tía quang hợp

Từ các mẫu nước thải lấy từ nhà máy dệt nhuộm Nam Định, đã phân lập được 4 chủng vi khuẩn ưa ấm, trong đó chủng DN62 là có các đặc điểm hình thái tròn, bề mặt lồi, khô, màu đỏ tía, đường kính khuẩn lạc d = 1-2mm đã được lựa chọn. Kết quả được thể hiện ở hình 1.

Chủng vi khuẩn DN62 được quan sát hình thái khuẩn lạc dưới kính hiển vi điện tử quét. Thí nghiệm này được thực hiện tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương. Kết quả được thể hiện ở hình 2.

Chủng DN62 sau đó được nghiên cứu về khả năng sinh trưởng dưới các điều kiện kỵ khí sáng và hiếu khí tối. Kết quả cho thấy, chủng phát triển và sinh trưởng tốt trong môi trường DSMZ dịch với điều kiện kỵ khí, đặt dưới đèn chiếu sáng 5.000lux. Từ 1-2 ngày đầu chủng VKTQH bắt đầu thích nghi với môi trường (mật độ đạt 15×10^3 CFU/ml). Từ ngày 2-6 là thời gian phát triển mạnh mẽ của chủng (84×10^9 CFU/ml), sau ngày 6 là thời gian của pha cân bằng. Sau ngày 7 chính là pha suy thoái (16×10^6 CFU/ml). Từ đó ta thấy để thu được sinh khối cao nhất, cần tiến hành vào khoảng thời gian từ ngày thứ 5 đến ngày thứ 7. Trong khi đó, ở điều kiện hiếu khí sáng, sự sinh trưởng có diễn ra, tuy nhiên sinh khối thấp hơn rất nhiều.

Bên cạnh đó, ngoài khả năng cố định CO_2, VKTQH còn có khả năng sử dụng các nguồn cacbon khác nhau cho sinh trưởng. Môi trường được lựa chọn ban đầu để nghiên cứu và nuôi cấy vi khuẩn tía quang hợp là môi trường DSMZ 27 vì ở đó chúng phát triển tối ưu. Tuy nhiên với mục đích nghiên cứu và chế tạo chế phẩm trên quy mô lớn, lựa chọn đó không hợp lý do giá thành cao nấm men cao. Vì vậy để sản xuất chế phẩm có giá thành thấp nhất phục vụ cho nghiên cứu hiện tại và nghiên cứu phát triển sau này, khả năng sinh trưởng của VKTQH trong môi trường có bổ sung các nguồn cơ chất khác nhau như: metanol, glycerol, etanol, malate, sobitol, succinate, acetate, isopropanol,

formate đã được thực hiện. Kết quả thu được cho thấy chủng DN62 có khả năng sinh trưởng trên môi trường có nguồn cacbon đơn giản thay thế cao nấm men như glycerol, malate, sobitol, etanol,... Trong môi trường nuôi cấy chứa nguồn cơ chất glycerol chủng phát triển tốt nhất. Đây là nguồn cacbon dễ tìm và có giá thành vừa phải, khả năng sinh trưởng của VKTQH tương đương với môi trường DSMZ.

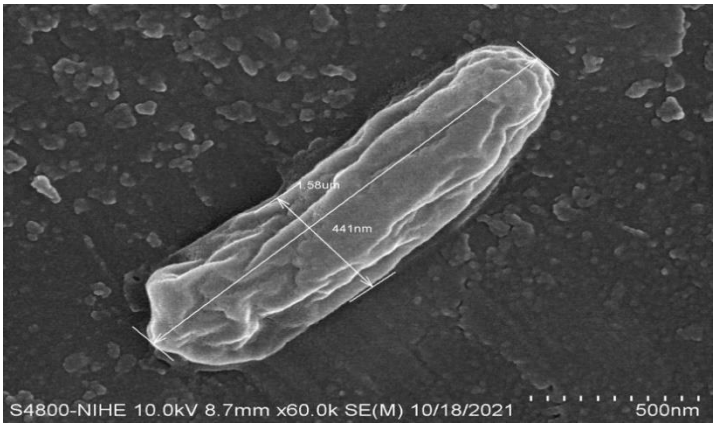
3.2. Đánh giá khả năng tạo màng sinh học của chủng DN62

Chủng DN62 được đánh giá khả năng tạo màng sinh học (biofilm) theo phương pháp của Morikawa & cs. (2006). Khả năng tạo màng của vi sinh vật cho biết được khả năng bám dính của chúng trên bề mặt nhất định như các giá thể, chất mang trong quá trình tạo chế phẩm xử lý. Nếu khả năng tạo màng tốt đồng nghĩa với việc vi sinh vật đó có khả năng bám dính và phát triển tốt trên giá thể (Hình 3). Kết quả nhận được từ hình 3 cho thấy, chủng DN62 có khả năng tạo màng sinh học rất tốt.

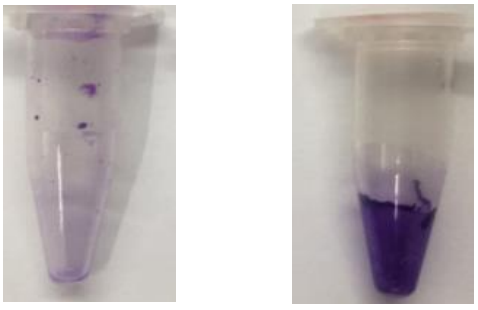
3.3. Nghiên cứu hệ sắc tố của chủng DN62

Kết quả xác định phổ hấp phụ *bacteriochlorophyll* trong vùng 400-900nm được thể hiện trên hình 4. Kết quả cho thấy chủng DN62 có cực đại tại 441,5; 499; 529; 592,5; 807; 870nm. Trong vùng phổ 700-900nm, chủng DN62 có cực đại tại bước sóng 807 và 870nm đều ở vùng 800-890nm đặc trưng cho *bacteriochlorophyll a*. Kết quả này cho thấy chủng DN62 có chứa Bchl a.

Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của chủng DN 62



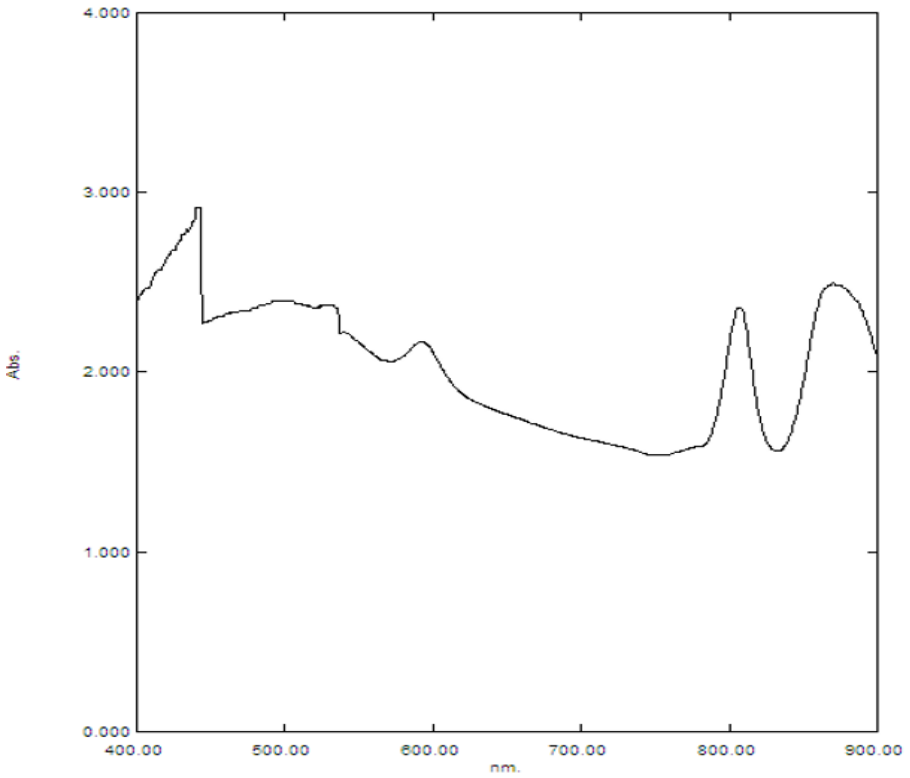
Hình 2. Hình thái tế bào của chủng vi khuẩn DN62 dưới kính hiển vi điện tử quét



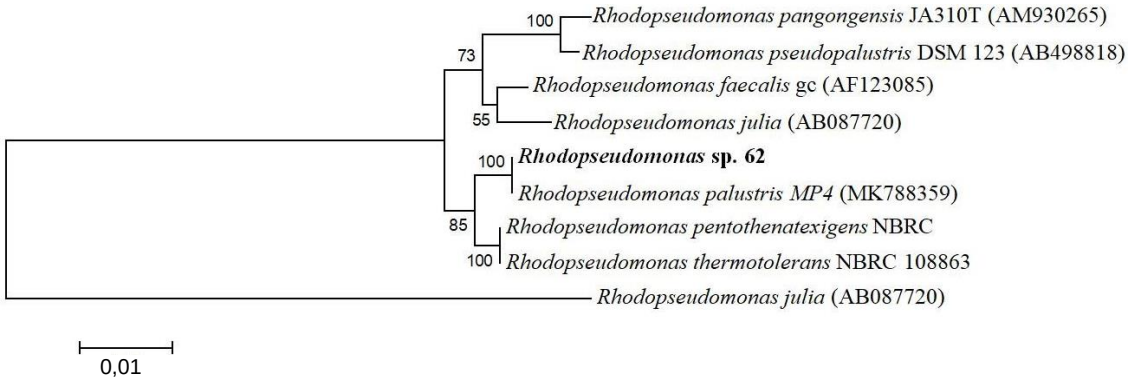
(a) (b)

Ghi chú: (a): Đối chứng không có vi sinh vật; (b): Chủng DN62.

Hình 3. Khả năng tạo biofilm của chủng DN62



Hình 4. Phổ hấp phụ huỳnh quang chủng 62



Ghi chú: Sử dụng phần mềm MEGA X với phương pháp phân tích Neighbor- Joining. Giá trị bootstrap (%) dựa trên 1.000 lần lặp.

Hình 5. Cây phát sinh chủng loại dựa trên trình tự 16S rDNA của chủng DN62 với các loài có quan hệ gần gũi

3.4. Xác định trình tự gen 16S rRNA của chủng lựa chọn

Để định danh chính xác chủng vi khuẩn DN62, chúng tôi đã giải trình tự đoạn gen 16S rRNA và so sánh trên ngân hàng dữ liệu NCBI. Kết quả cho thấy: theo cơ sở dữ liệu Eztax, trình tự 16S rRNA của chủng DN62 có độ tương đồng cao nhất (100%) so với trình tự 16S rRNA của chủng chuẩn *Rhodopseudomonas palustris* MP4 (MK788359) (Hình 5).

Từ cây phát sinh chủng cho thấy, chủng DN62 và chủng *Rhodopseudomonas palustris* MP4, có mã số đăng ký trên Ngân hàng Gen Quốc tế là MK788359 (100%) nằm trên cùng một nhánh và có tỷ lệ tương đồng là 100%. Vì

vậy, chủng DN62 đã được đặt tên là *Rhodopseudomonas palustris* 62.

Rhodopseudomonas palustris là chủng có sắc tố đỏ đến nâu đỏ, hình que, đã được tìm thấy ở các vùng địa lý khác nhau trên thế giới, trong tế bào của chúng đều có chứa *carotenoid* và *bacteriochlorophyll*. Loài *Rh. palustris* đã được công bố là có khả năng sử dụng đa dạng các hợp chất hydrocarbon khó phân huỷ (Imhoff & Trueper, 1989). Do vậy, chủng DN62 rất có tiềm năng trong xử lý nước thải dệt nhuộm.

3.5. Thử nghiệm khả năng xử lý nước thải dệt nhuộm qui mô phòng thí nghiệm

Nước thải dệt nhuộm sử dụng trong thí nghiệm được lấy từ công ty Cổ phần Dệt may Nam Định có thông số BOD_5 và COD ban đầu được trình bày ở bảng 1.

Trong ba mẫu nước thải này, nồng độ BOD_5 và COD của NT2 là cao nhất, do đó, mẫu nước thải này được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo. Thí nghiệm được thực hiện bằng cách sử dụng chế phẩm là sỏi keramizite đã cố định chủng DN62 thử nghiệm với nước thải ở các nồng độ khác nhau để tìm ra nồng độ phù hợp cho các nghiên cứu tiếp theo. Môi trường bổ sung bao gồm NH_4Cl 0,2 g/l; vi lượng AT 5ml/70l; K_2HPO_4 0,5 g/l; KH_2PO_4 0,5 g/l; cao nấm men 0,1 g/l. Sau 14 ngày thử nghiệm ở 40-50°C, kết quả được thể hiện ở bảng 2 và hình 6.

Từ kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy, tỉ lệ môi trường và nước thải phù hợp cho thí nghiệm là 1:3. Hiệu quả xử lý COD đạt 81,99% và xử lý BOD_5 đạt 67,77%; cao hơn các tỉ lệ thí nghiệm khác.

Vi sinh vật ưa ấm (mesophilic microorganism) là nhóm các vi sinh vật có nhiệt độ phù hợp để sinh trưởng và phát triển khoảng từ 20-45°C, nhiệt độ tối ưu thường khoảng 35-45°C. Chúng thường là các nhóm vi khuẩn, vi khuẩn cổ hoặc một số vi sinh vật nhân thực và nhiều loài trong số có khả năng phân giải các chất hữu cơ. Một số ví dụ về nhóm vi sinh vật ưa ấm có thể kể đến như *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*, ngoài ra còn có *Clostridium kluyveri, Pseudomonas maltophilia, Thiobacillus novellus, Streptococcus pyogenes* và *Streptococcus pneumoniae*.

Bảng 1. Thông số BOD_5 và COD trong nguồn nước thải

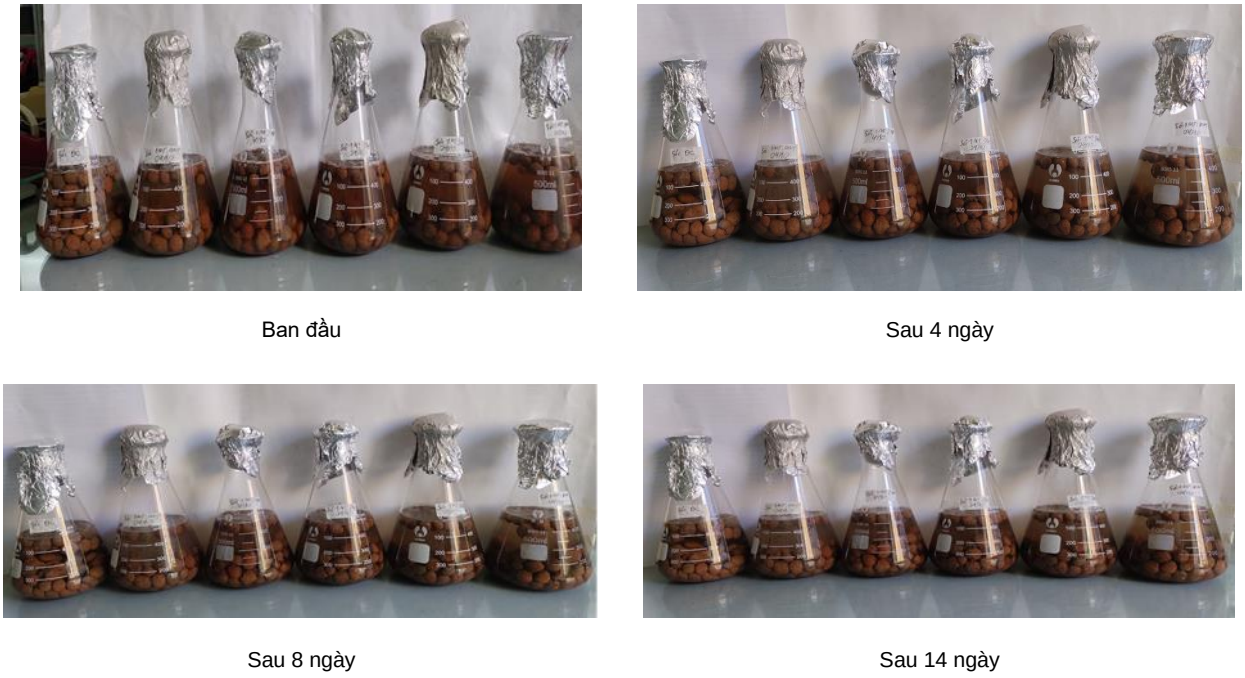
Chỉ tiêu	Đơn vị	Kết quả phân tích			Phương pháp phân tích
		NT1	NT2	NT3	
BOD_5	mg/l	24,6	**250,7**	179,2	TCVN 6001-1:2008
COD	mg/l	316,8	**432**	259,2	SMEWW 5220C:2017
pH		7,6	8,1	7,9	
Nhiệt độ	°C	55	61	54	

Ghi chú: NT1, NT2 và NT3 là kí hiệu ba mẫu nước thải lấy ở ba vị trí khác nhau trong khu xử lý của công ty.

Bảng 2. Kết quả phân tích các thành phần có trong nước thải với các tỉ lệ môi trường và nước thải khác nhau trên chất mang sỏi keramizite

	COD (mg/l)	BOD_5 (mg/l)	TSS (g/l)	Chất hoạt động bề mặt (cm)
ĐC MT + sỏi	432	250,7	0,07	1,4/0
Sỏi keramizite 0MT:1NT	87,8	79,5	0,025	1,4/0
Sỏi keramizite 1MT:1NT	78,0	78,9	0,025	1,4/0
Sỏi keramizite 1MT:3NT	77,8	80,8	0,017	1,4/0
Sỏi keramizite 1MT:5NT	119,5	80,5	0,022	1,4/0
Sỏi keramizite 1MT:10NT	60,9	80,8	0,022	1,4/0

Ghi chú: Kí hiệu 0MT:1NT nghĩa là chỉ có nước thải không có môi trường; 1MT:1NT là thể tích nước thải và môi trường DSMZ27 là 1:1; tương tự cho các kí hiệu khác.



Hình 6. Chế phẩm với chất mang sỏi keramizite

Nhiều loài vi sinh vật trong nhóm ưa ấm đã được biết đến là các vi sinh vật gây bệnh, nhóm vi sinh vật tham gia vào quá trình sản xuất bia, rượu hay phô mai nổi tiếng trên thế giới và đặc biệt ngày nay người ra đã phát hiện ra nhiều vi sinh vật ưa ấm có thể tham gia vào quá trình phân hủy các chất trong môi trường ô nhiễm có nhiệt độ ấm, sản xuất biogas, phân bón sinh học... (Nakasaki & cs., 1985). Theo Singh & Das (2019), tiềm năng sản xuất hydro bằng lên men trong điều kiện tối, sử dụng các nhóm vi sinh vật ưa ấm là rất lớn, có nhiều ưu điểm hơn nhóm vi sinh vật ưa nhiệt, quy trình ứng dụng nhóm vi sinh vật này dễ tiến hành và hiệu quả cao hơn. Ren & cs. (2007) đã phân lập và ứng dụng vi sinh vật ưa ấm *C. acetobutylicum* và *C. populeti* trong xử lý cellulose để thu được hydro với hiệu suất 2,3mol đường/mol chất xơ. Bolzonella & cs. (2002) đã ứng dụng nhóm vi sinh vật ưa ấm trong hệ thống lên men bán liên tục kị khí để xử lý các chất thải hữu cơ có nguồn gốc từ rau quả, cho hiệu quả tạo biogas tới 75% với 64% là khí metan. Trong các ứng dụng xử lý nước thải chứa chất hữu cơ, hệ vi sinh vật ưa ấm đã được ứng dụng rất nhiều và so sánh với hệ vi sinh vật ưa nhiệt, cho thấy, hiệu quả xử lý khi có mặt vi sinh vật ưa ấm là rất tốt, giảm được nhiều chi phí (Ortega & cs., 2008; Ren & cs., 2007; Schiraldi & de Rosa, 2014; Suvilampi & cs., 2005). Từ những công bố về các vi sinh vật ưa ấm đã được biết đến, chúng ta có thể thấy rằng tiềm năng ứng dụng của nhóm vi sinh vật rất lớn, có thể thử nghiệm để xử lý các chất hữu cơ có trong nước thải dệt nhuộm ở điều kiện nhiệt độ 40-55°C từ đó giải quyết được vấn đề nhiệt độ ở bể vi sinh trong các hệ thống xử lý nước thải của một số nhà máy dệt nhuộm tại Việt Nam.

4. KẾT LUẬN

Đã phân lập được 4 chủng vi khuẩn ưa ấm từ mẫu nước thải lấy từ công ty Dệt may Nam Định, trong đó chủng đặc trưng nhất là DN62. Bằng phương pháp phân loại hình thái tế bào, các đặc điểm về phổ hấp phụ huỳnh quang và giải trình tự gen 16S rDNA chủng DN62 được xác định là thuộc loài *Rhodopseudomonas* sp. Thử nghiệm chế phẩm VKTQH ở quy mô phòng thí nghiệm cho hiệu suất xử lý COD đạt 81,99% và xử lý BOD_5 đạt 67,77%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tiến hành trong khuôn khổ đề tài QG 21.22 "Nghiên cứu chế tạo chế phẩm chứa vi sinh vật ưa ấm nhằm nâng cao hiệu quả xử lý nước thải dệt nhuộm" của ĐHGQHN và phối hợp sử dụng trang thiết bị tại Phòng Công nghệ sinh học Môi trường, Viện Công nghệ sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bolzonella D., Innocenti L. & Cecchi F. (2002). Biological nutrient removal wastewater treatments and sewage sludge anaerobic mesophilic digestion performances. Water Sci Technol. 46(10): 199-208.

Imhoff J.F. & Trueper H.G. (1989). Purple non-sulfur bacteria (Rhodospirillaceae Pfening and Trueper 197, 17AL), In: Staley J.T.B.M., Pfening N. & Holt J.G. (Eds.). Bergey' manual of Systematic Bacteriology. 3: 1438-1680. Williams and Wilkins. Bantimore.

Lin Y., Wang D., Li Q. & Xiao M. (2011). Mesophilic batch anaerobic co-digestion of pulp and paper sludge and monosodium glutamate waste liquor for methane production in a bench-scale digester. Bioresour Technol. 102(4): 3673-8. doi:10.1016/j.biortech.2010.10.114. Epub 2010 Oct 28.

Morikawa M., Kagihiro S., Haruki M., Takano K., Branda S., Kolter R. & Kanaya S. (2006). Biofilm formation by a *Bacillus subtilis* strain that produces gamma-polyglutamate. Microbiology. 152: 2801-7.

Nakasaki K., Sasaki M., Shoda M. & Kubota H. (1985). Characteristics of Mesophilic Bacteria Isolated during Thermophilic Composting of Sewage Sludge. Appl Environ Microbiol. 49(1): 42-45.

Ortega L., Barrington S. & Guiot S.R. (2008). Thermophilic adaptation of a mesophilic anaerobic sludge for food waste treatment. J. Environ Manage. 88(3): 517-25.

O'Toole G.A., Kaplan H.B. & Kolter R. (2000). Biofilm formation as microbial development. Annual Review Microbiology. 54: 49-79.

Ren Z., Ward T.E., Logan B.E. & Regan J.M. (2007). Characterization of the cellulolytic and hydrogen-producing activities of six mesophilic *Clostridium* species. J. Appl Microbiol 103(6): 2258-2266. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03477.

Sambrook J. & Russell D.W. (2001). Molecular cloning: a laboratory manual, Vol. 1. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.

Schiraldi C. & de Rosa M. (2014). Mesophilic Organisms. Encyclopedia of Membranes. 1-2. doi:10.1007/978-3-642-40872-4_1610-2.

Singh V. & Das D. (2019). Potential of hydrogen production from biomass. In: de Miranda P.E.V. (Ed). Science and Engineering of Hydrogen-Based Energy Technologies. Academic Press. 123-164. doi:10.1016/b978-0-12-814251-6.00003-4.

Suvilampi J., Lehtomäki A. & Rintala J. (2005). Comparative study of laboratory-scale thermophilic and mesophilic activated sludge processes. Water Res. 39(5): 741-50.

Trịnh Xuân Lai (2009). Xử lý nước thải công nghiệp. Nhà xuất bản Xây Dựng, Hà Nội.