

Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn có khả năng khử màu nước thải dệt nhuộm

Nguyễn Huy Thuần¹, Nguyễn Văn Giang^{2*}, Lê Thị Vân Anh²

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Trường Đại học Duy Tân

²Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 22/10/2019; ngày chuyển phản biện 30/10/2019; ngày nhận phản biện 30/12/2019; ngày chấp nhận đăng 3/1/2020

Tóm tắt:

Nước thải dệt nhuộm không qua xử lý, xả trực tiếp vào nguồn nước sẽ gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng. Nhiều phương pháp vật lý, hoá học như lọc, kết tủa, keo tụ đã được tiến hành, tuy nhiên giá thành cao, tiêu thụ nhiều năng lượng, tạo ra chất thải khó xử lý, ảnh hưởng tới hệ sinh thái. Sử dụng vi sinh vật để xử lý nước thải dệt nhuộm được xem là phương pháp thay thế vì giá thành không cao, thân thiện với môi trường. Nhiều chủng vi sinh vật thuộc các chi vi khuẩn, vi nấm, xạ khuẩn và tảo có khả năng phân huỷ thuốc nhuộm. Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích khảo sát khả năng khử màu thuốc nhuộm Red FN2BL của một số chủng vi khuẩn được phân lập từ nước thải dệt nhuộm. Ba chủng vi khuẩn A2, A9 và A14 có hiệu quả khử màu đã được tuyển chọn. Hiệu quả khử màu của chủng A9 (80,6%)>A14 (67,5%)>A2 (34,6%) trong điều kiện nuôi tĩnh; trong điều kiện nuôi lắc, hiệu quả phân huỷ thuốc nhuộm của chủng A9 (63,3%)>A14 (34,9%)>A2 (26,9%). Chủng A9 được chọn để khảo sát ảnh hưởng của một số điều kiện môi trường nuôi cấy. Hiệu quả khử màu của chủng A9 mạnh nhất khi trong môi trường nuôi cấy có nguồn carbon là tinh bột, nguồn nitơ là $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4Cl hay cao nấm men, mật độ vi khuẩn 5-15%, pH môi trường trong khoảng 6-7, nhiệt độ 35°C. Chủng A9 có tiềm năng ứng dụng xử lý nước thải dệt nhuộm.

Từ khóa: khử màu, nước thải, phân huỷ sinh học, thuốc nhuộm.

Chỉ số phân loại: 2.7

Đặt vấn đề

Trong ngành công nghiệp dệt nhuộm, hàng năm khoảng 200.000 tấn thuốc nhuộm các loại được thải ra dưới dạng nước thải trong quá trình nhuộm và hoàn thiện sản phẩm [1]. Phần lớn các loại thuốc nhuộm tồn tại rất lâu trong tự nhiên do tính ổn định cao của chúng đối với ánh sáng, nhiệt độ. Xả trực tiếp nước thải từ quá trình dệt nhuộm, in vào nguồn nước sẽ gây ô nhiễm nghiêm trọng. Thuốc nhuộm trong nước làm tăng độ đục, không chỉ gây giảm độ hòa tan oxy trong nước mà còn làm giảm khả năng xuyên qua nước của ánh sáng mặt trời, do đó ảnh hưởng đến quang hợp và toàn bộ hệ sinh thái dưới nước [2]. Xả nước thải dệt nhuộm vào ao, hồ, sông sẽ làm thay đổi pH và tăng nhu cầu oxy sinh hoá, nhu cầu oxy hoá học và tổng carbon hữu cơ [3]. Một số thuốc nhuộm như azo và các sản phẩm phân huỷ chúng có tính độc, có khả năng gây ung thư, ảnh hưởng tới sức khoẻ con người. Nhiều phương pháp vật lý, hoá học như lọc, kết tủa, keo tụ đã được tiến hành, tuy nhiên giá thành cao, tiêu thụ nhiều năng lượng, tạo ra chất thải khó xử lý cũng như ảnh hưởng tới hệ sinh thái [4, 5]. Phương pháp sinh học được xem là giải pháp thay thế hiệu quả vì giá thành không cao, thân thiện với môi trường [6]. Khử màu nước thải dệt nhuộm có thể diễn ra theo hai cách: hấp phụ

trên sinh khối vi sinh vật hay phân huỷ sinh học bởi tế bào vi sinh vật [1]. Hiện nay, biện pháp phân huỷ sinh học được ứng dụng để loại bỏ nhiều chất gây ô nhiễm. Nhiều loài vi sinh vật, gồm vi nấm, vi khuẩn, vi tảo, nấm men có khả năng loại bỏ nhiều dạng thuốc nhuộm [6]. Các loài vi sinh vật sinh tổng hợp nhiều enzyme cần thiết cho quá trình làm mất màu và khoáng hoá thuốc nhuộm trong các điều kiện môi trường thích hợp [4]. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được tiến hành với mục đích phân lập, tuyển chọn chủng vi khuẩn từ nước thải làng nghề dệt nhuộm và khảo sát ảnh hưởng của một số điều kiện môi trường tới khả năng làm mất màu thuốc nhuộm trong điều kiện *in vitro*.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Trong nghiên cứu này thuốc nhuộm Red FN2BL (Reactive dye) với $\lambda=526$ nm đã được sử dụng. Nước thải dệt nhuộm được lấy từ làng nghề dệt nhuộm phường Vạn Phúc, quận Hà Đông, TP Hà Nội.

Sàng lọc lần đầu các chủng vi khuẩn khử màu thuốc nhuộm

Phân lập vi khuẩn từ nước thải dệt nhuộm được tiến hành

*Tác giả liên hệ: Email: nvgiang@vnua.edu.vn

Isolation and characterisation of decolorising bacterial strains isolated from textile dyeing wastewater

Huy Thuan Nguyen¹, Van Giang Nguyen^{2*},
Thi Van Anh Le²

¹Institute of Research and Development, Duy Tan University

²Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture

Received 22 October 2019; accepted 3 January 2020

Abstract:

Directed discharge into water sources of untreated textile dyeing wastewater will cause seriously environmental contamination. Various kinds of physico-chemical methods have been in use for the treatment of the wastewater. However, these methods are not environment friendly and cost-effective, and hence become commercially unattractive. Many microorganisms strains belonging to the different taxonomic groups of bacteria, fungi, actinomycetes, and algae have been reported for their ability to decolourise dyes. This study was conducted to investigate the decolorisation of Red FN2BL by using bacterial strains isolated from textile dyeing wastewater. Three different bacterial strains A2, A9 and A14 exhibited high decolorization effects were selected. Decolorisation effect of strain A9 was 80.6% > A14 (67.5%) > A2 (34.6%) in stable cultural condition and was A9 (63.3%) > A14 (34.9%) > A2 (26.9%) in shaking cultural condition. The strain A9 was selected for evaluating the effects of some cultural conditions. Strain A9 showed maximum decolorisation ability at pH between 6 and 7, temperature of 35°C, and bacterial density of 5-15%. Starch and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4Cl or yeast extract were found to be the optimum condition for decolorisation. In brief, the strain A9 reveals a great potential for application in the textile dyeing wastewater treatment.

Keywords: biodegradation, decolorisation, dyes, wastewater.

Classification number: 2.7

bằng cách pha loãng mẫu nước thải trong nước cất và cấy chang trên đĩa thạch dinh dưỡng. Các đĩa thạch này được ủ ở $37 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 24h. Những khuẩn lạc với hình thái khác nhau được tách riêng và nuôi cấy làm thuần [7]. Các mẫu vi khuẩn sau khi đã được làm thuần được nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng lỏng NB (gồm (g/l): Peptone 10, Beef extract 10, NaCl 5, pH=7,3±0,1) trong 24h trước khi cấy chuyển sang môi trường muối khoáng tối thiểu (gồm (g/l): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2, K_2HPO_4 1, KH_2PO_4 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1, NaCl 5, glucose 3, nước cất 1000 ml, pH=7). Sau 24h nuôi, 10% (v/v) dịch nuôi các chủng vi khuẩn được chuyển sang ống nghiệm có chứa 200 mg/l dung dịch thuốc nhuộm. Quan sát sự khử màu của các chủng vi khuẩn sau 48h ủ các ống thí nghiệm ở $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Chủng nào biểu hiện tiềm năng khử màu mạnh nhất được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo [8].

Sàng lọc lần cuối và đánh giá hiệu quả khử màu thuốc nhuộm của các chủng vi khuẩn phân lập

Thí nghiệm này được tiến hành bằng cách sử dụng thuốc nhuộm Red FN2BL trong môi trường MS lỏng. Mỗi chủng vi khuẩn được chọn được nuôi 24h trong môi trường NB, sau đó chuyển 5% (v/v) của mỗi chủng sang bình Erlenmeyer (V=250 ml) chứa 50 ml môi trường MS và 100 mg/l thuốc nhuộm Red FN2BL. Các bình này sẽ được nuôi cấy ở $30 \pm 2^\circ\text{C}$, trong thời gian 24-72h, điều kiện tĩnh và lắc (150 vòng/phút). Độ hấp thụ ánh sáng của các mẫu thí nghiệm được đo tại $\lambda=526$ nm ở thời điểm 24 và 72h [8]. Dựa trên kết quả giảm độ hấp thụ, % khử màu thuốc nhuộm được tính toán, chủng vi khuẩn có tiềm năng khử màu thuốc nhuộm cao sẽ được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Hiệu quả khử màu thuốc nhuộm được biểu hiện bằng %. 5 ml mẫu thí nghiệm đã khử màu được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 15 phút và đo độ hấp thụ ánh sáng tại $\lambda=526$ nm. Ống đối chứng chỉ chứa thuốc nhuộm và môi trường nuôi chủng vi khuẩn. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hiệu quả loại bỏ màu của các chủng vi khuẩn thí nghiệm được xác định theo công thức sau [8]:

$$\text{Hiệu quả khử màu (\%)} = [(I - F) \times 100] / I \quad (1)$$

Trong đó: I là độ hấp thụ của ống đối chứng; F là độ hấp thụ của ống thí nghiệm.

Khảo sát ảnh hưởng của một số chỉ tiêu đến khả năng khử màu của các chủng vi khuẩn thí nghiệm [5]

Ảnh hưởng của nồng độ thuốc nhuộm Red FN2BL: các chủng vi khuẩn thí nghiệm được nuôi 24h trong môi trường NB, sau đó 5% (v/v) dịch nuôi vi khuẩn được chuyển sang bình Erlenmeyer (V=250 ml) chứa 50 ml môi trường MS được bổ sung 100, 200 và 300 mg/l thuốc nhuộm, pH=7. Các bình này sẽ được nuôi cấy ở $30 \pm 2^\circ\text{C}$, trong thời gian 72h, điều kiện tĩnh. Hiệu quả khử màu được tính theo công thức (1).

Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống: các chủng vi khuẩn thí nghiệm được nuôi 24h trong môi trường NB, sau đó lần lượt bổ sung vi khuẩn ở các nồng độ khác nhau (v/v): 1, 5, 10 và 15% vào bình Erlenmeyer (V=250 ml) có chứa 50 ml môi trường MS và 100 mg/l thuốc nhuộm, chuẩn độ môi trường về pH=7. Các bình này sẽ được nuôi cấy ở $30\pm 2^\circ\text{C}$, trong thời gian 72h, điều kiện tĩnh. Hiệu quả khử màu được tính như công thức (1).

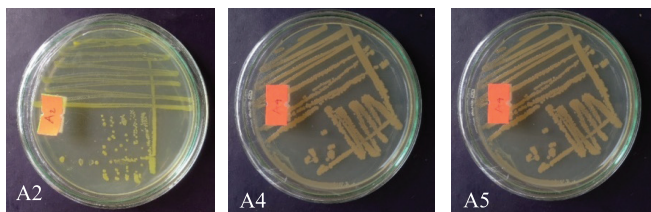
Ảnh hưởng của pH, nhiệt độ: các chủng vi khuẩn thí nghiệm được nuôi 24h trong môi trường NB, sau đó 5% (v/v) dịch nuôi vi khuẩn được chuyển vào bình Erlenmeyer (V=250 ml) chứa 50 ml môi trường MS được bổ sung 100 mg/l thuốc nhuộm. pH của các bình thí nghiệm được điều chỉnh đạt 5, 6, 7 và 8. Các bình này được nuôi cấy ở $30\pm 2^\circ\text{C}$, trong thời gian 72h, điều kiện tĩnh. Tương tự như vậy, chỉnh pH của bình thí nghiệm để đạt giá trị pH=7, nhưng các bình được ủ ở nhiệt độ 15, 25, 30 và 40°C , trong thời gian 72h, điều kiện tĩnh. Hiệu quả khử màu được tính theo công thức (1).

Ảnh hưởng của nguồn carbon và nitơ: các chủng vi khuẩn thí nghiệm được nuôi 24h trong môi trường NB, sau đó 5% (v/v) dịch nuôi vi khuẩn được chuyển vào bình Erlenmeyer (V=250 ml) chứa 50 ml môi trường MS được bổ sung 100 mg/l thuốc nhuộm, nguồn đường glucose trong môi trường MS được thay thế bằng Saccarose, tinh bột, Lactose, Xylose, Maltose và Fructose. Tiến hành thí nghiệm tương tự, nhưng thay nguồn $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trong môi trường MS bằng NH_4Cl , NaNO_3 , KNO_3 và peptone, cao thịt, cao nấm men. Các bình này được nuôi cấy ở $30\pm 2^\circ\text{C}$, trong thời gian 72h, ở điều kiện tĩnh. Hiệu quả khử màu được tính theo công thức (1).

Kết quả và thảo luận

Kết quả phân lập chủng vi khuẩn từ nước thải dệt nhuộm

Một số khuẩn lạc có hình thái, màu sắc khác nhau đã xuất hiện trên đĩa môi trường thạch dinh dưỡng sau khi để đĩa ở 37°C sau 24h (hình 1). Các chủng vi khuẩn phân lập từ mẫu nước thải thu tại làng nghề dệt nhuộm phường Vạn Phúc, quận Hà Đông, TP Hà Nội được lần lượt đặt tên là A1 đến A14.

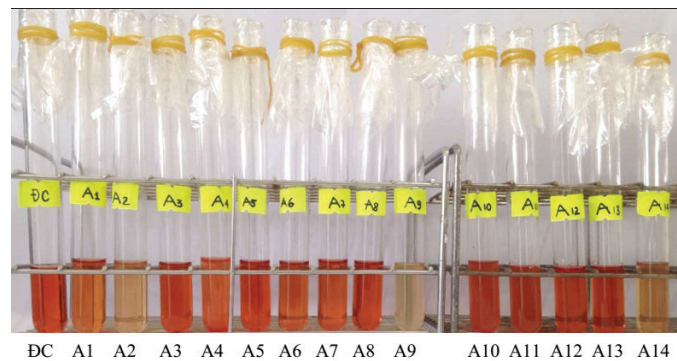


Hình 1. Khuẩn lạc chủng A2, A4 và A5 phân lập được từ nước thải dệt nhuộm.

Nhiều nhà nghiên cứu đã phân lập thành công các chủng vi khuẩn khử màu nước thải nhuộm [1, 6, 9] và từ đất nhiễm thuốc nhuộm azo [8]. Kết quả này cho thấy khả năng thích nghi tự nhiên của các chủng vi khuẩn phân lập với môi trường bị nhiễm thuốc nhuộm và khả năng sống sót trong điều kiện có thuốc nhuộm độc hại.

Sàng lọc lần đầu các chủng vi khuẩn khử màu thuốc nhuộm

Các khuẩn lạc với hình thái khác nhau được tách riêng và nuôi cấy làm thuần [7]. Các mẫu vi khuẩn sau khi đã được làm thuần được nuôi cấy 24h trong môi trường dinh dưỡng lỏng NB trước khi cấy chuyển sang môi trường muối khoáng tối thiểu. Sau 24h nuôi, 10% (v/v) dịch nuôi các chủng vi khuẩn được chuyển sang ống nghiệm có chứa 200 mg/l dung dịch thuốc nhuộm. Kết quả khử màu của các chủng vi khuẩn sau 48h ủ các ống thí nghiệm ở $30\pm 2^\circ\text{C}$ được thể hiện ở hình 2.

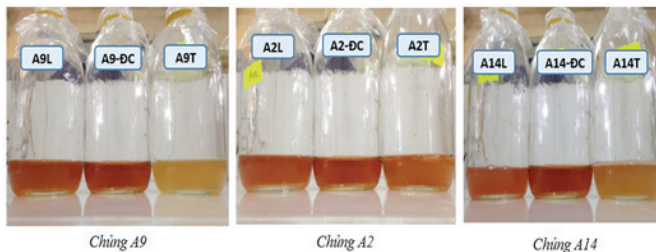


Hình 2. Kết quả sàng lọc các chủng vi khuẩn có khả năng khử màu thuốc nhuộm.

Kết quả quan sát cho thấy, chủng A2, A9 và A14 biểu hiện hiệu quả khử màu thuốc nhuộm mạnh nhất, được chọn để tiến hành đánh giá hiệu quả khử màu trong thí nghiệm tiếp theo. Anamika và cs (2013) [8] cũng đã sàng lọc được nhiều chủng vi khuẩn có khả năng khử màu một số loại thuốc nhuộm như Balck WNN, Blue FRN, Blue RC, TURQ blue, nhưng chỉ sàng lọc được một chủng vi khuẩn khử màu thuốc nhuộm Red FN2BL là thuốc nhuộm được sử dụng trong thí nghiệm này. Ogugbue và Sawidis (2011) [1] đã tuyển chọn được 5 chủng vi khuẩn có khả năng khử màu thuốc nhuộm Basic violet 3. Trong thí nghiệm của mình, Ken Meerbergen và cs (2018) [2] đã tuyển chọn được các chủng vi khuẩn thuộc chi *Acinetobacter* và *Klebsiella* biểu hiện tiềm năng khử màu thuốc nhuộm azo. Từ các mẫu nước thải thu thập tại vùng bị nhiễm thuốc nhuộm, Maulin và cs (2013) [4] cũng đã phân lập được 50 chủng vi khuẩn có thể loại bỏ thuốc nhuộm. Như vậy có thể kết luận rằng, các chủng vi khuẩn mới được phân lập từ nước thải dệt nhuộm có thể sống và sinh trưởng trong môi trường có các loại thuốc nhuộm khác nhau.

Sàng lọc lần cuối và đánh giá hiệu quả khử màu thuốc nhuộm của các chủng vi khuẩn mới phân lập

Chủng vi khuẩn A2, A9 và A14 được nuôi 24h trong môi trường NB, sau đó chuyển 5% (v/v) của mỗi chủng sang bình Erlenmeyer (V=250 ml) chứa 50 ml môi trường MS và 100 mg/l thuốc nhuộm Red FN2BL. Các bình này sẽ được ủ tại $30 \pm 2^\circ\text{C}$, trong thời gian 24-72h, ở điều kiện tĩnh và lắc (150 vòng/phút). Hiệu quả khử màu (hình 3) của chủng A9 (80,6%) > A14 (67,5%) > A2 (34,6%) trong điều kiện nuôi tĩnh, còn trong điều kiện nuôi lắc, hiệu quả phân hủy thuốc nhuộm của chủng A9 (63,3%) > A14 (34,9%) > A2 (26,9%). Kết quả sàng lọc cho thấy, hiệu quả loại bỏ thuốc nhuộm của các chủng vi khuẩn thí nghiệm trong điều kiện tĩnh cao hơn trong điều kiện lắc. Thí nghiệm của Anamika và cs (2013) [8] cũng cho thấy, khả năng khử màu thuốc nhuộm của các chủng vi khuẩn trong điều kiện tĩnh cao hơn trong điều kiện lắc. Theo công bố của Chen và cs (2003) [10], vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* khử màu thuốc nhuộm (80%) trong điều kiện tĩnh (kỵ khí hay hiếu khí). Wang và cs (2009) [11] cũng ghi nhận hiệu quả khử màu thuốc nhuộm của chủng vi khuẩn đạt 96% trong điều kiện kỵ khí, và chỉ đạt 13% trong điều kiện hiếu khí, lắc 150 vòng/phút. Tuy nhiên, một số kết quả nghiên cứu của Ogugbue và Sawidis (2011) [1], Saad El-Din Hassan và cs (2015) [5] cho thấy, hiệu quả khử màu thuốc nhuộm của các chủng vi khuẩn thí nghiệm cao nhất trong điều kiện hiếu khí (nuôi lắc). Như vậy, hiệu quả khử màu thuốc nhuộm của các chủng vi khuẩn không chỉ phụ thuộc vào điều kiện hiếu khí hay kỵ khí, có thể còn phụ thuộc vào các yếu tố khác như khả năng sinh trưởng, tổng hợp enzyme phân hủy thuốc nhuộm của chủng vi khuẩn.



Hình 3. Khả năng khử màu thuốc nhuộm của chủng A2, A9 và A14 sau 72h trong điều kiện tĩnh (T) và lắc (L).

Kết quả thí nghiệm này cho thấy 3 chủng vi khuẩn A2, A9 và A14 là các chủng vi khuẩn kỵ khí không bắt buộc, oxy cần thiết cho sinh trưởng của vi khuẩn, nhưng ức chế hiệu quả khử màu của chúng. Dựa trên hiệu quả khử màu, chủng A9 được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo và được nuôi trong điều kiện tĩnh.

Khảo sát ảnh hưởng của một số chỉ tiêu đến khả năng khử màu của chủng vi khuẩn A9

Ảnh hưởng của nồng độ thuốc nhuộm Red FN2BL: sau

72h nuôi cấy với các nồng độ thuốc nhuộm khác nhau, hiệu quả khử màu của chủng A9 đạt 76,7-81,3% phụ thuộc vào nồng độ thuốc nhuộm (bảng 1). Khi tăng nồng độ thuốc nhuộm, hiệu quả khử màu của chủng A9 giảm. Hiệu quả khử màu thuốc nhuộm của các chủng vi khuẩn giảm khi tăng nồng độ thuốc nhuộm đã được nhiều nhà nghiên cứu công bố. Saad El-Din Hassan và cs (2015) [5] khi khảo sát ảnh hưởng của nồng độ thuốc nhuộm tới hiệu quả khử màu của các chủng vi khuẩn *Klebsiella* đã ghi nhận kết quả khi nồng độ thuốc nhuộm tăng, hiệu quả khử màu của các chủng vi khuẩn giảm rõ rệt. Nồng độ thuốc nhuộm Reactive Black 5 nhiều hơn 200 mg/l đã giảm hiệu quả khử màu của chủng vi khuẩn *Enterobacter* sp. [11]. Hai chủng vi khuẩn *Enterococcus faecalis* và *Klebsiella variicola* đã giảm khả năng khử màu thuốc nhuộm khi tăng nồng độ thuốc nhuộm từ 50 đến 100 mg/l [6]. Nồng độ cao các loại thuốc nhuộm ức chế khả năng loại bỏ màu từ cơ chất của vi khuẩn và ảnh hưởng tới sinh trưởng, trao đổi chất và tổng hợp enzyme của tế bào vi khuẩn [1, 5].

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ thuốc nhuộm tới khả năng khử màu của chủng vi khuẩn A9.

Nồng độ thuốc nhuộm (mg/l)	Giá trị OD		% khử màu
	Đối chứng	Thí nghiệm	
100	0,209	0,039	81,3
200	0,694	0,151	77,6
300	1,439	0,335	76,7

Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống: hiệu quả khử màu thuốc nhuộm của vi sinh vật phụ thuộc vào nhiều quá trình như phân hủy sinh học, hấp phụ sinh học, kết tủa [5]. Vì thế, sinh khối tế bào có vai trò quan trọng trong quá trình khử màu nước thải. Kết quả thí nghiệm của chúng tôi (bảng 2) cho thấy, khi mật độ vi khuẩn tăng từ 1 đến 15%, hiệu quả khử màu tăng tương ứng từ 40,0 đến 88,0%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống tới khả năng khử màu của chủng vi khuẩn A9.

Tỷ lệ tiếp giống (%)	Nồng độ thuốc nhuộm	Giá trị OD		% khử màu
		Đối chứng	Thí nghiệm	
1	100 mg/l	0,209	0,130	40,0
5			0,039	81,3
10			0,035	83,3
15			0,025	88,0

Hiệu quả khử màu cao nhất (88,0%) đạt được khi lượng giống vi khuẩn ban đầu là 15%. Mohan và cs (2013) [12] ghi nhận chủng *Bacillus* sp. và *Planococcus* sp. đạt hiệu quả khử màu cao nhất khi nồng độ chủng giống ban đầu là 10% và thấp hơn ở các nồng độ 1, 2 và 5%. Kết quả tương tự cũng đã được công bố bởi Kumar và cs (2009) [13].

Ảnh hưởng của pH, nhiệt độ: pH của môi trường nuôi

cây đóng vai trò quan trọng đối với hoạt động sinh lý của các tế bào vi khuẩn và sự trao đổi của các thành phần dinh dưỡng khác nhau qua màng. Hiệu quả khử màu của chủng vi khuẩn A9 đạt cao nhất tại pH=6-7, khi tăng hay giảm giá trị pH so với 6-7, hiệu quả khử màu đều giảm (bảng 3). Saad El-Din Hassan và cs (2015) [5] đã kết luận rằng, pH tối ưu để đạt hiệu quả khử màu cao nhất của 2 chủng vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* và *Klebsiella variicola* là 5-7, nếu tăng hay giảm pH so với giá trị này, hiệu quả khử màu giảm. Maulin và cs (2013) [4] trong thí nghiệm của mình đã khẳng định, pH môi trường tăng từ 5 đến 7, hiệu quả khử màu tăng và đạt hiệu quả cao nhất tại pH=7, nếu tiếp tục tăng pH tới 9, hiệu quả khử màu giảm. Nghiên cứu của Kumar và cs (2009) [13], Ken Meerbergen và cs (2018) [2] cũng cho kết quả tương tự, hiệu quả khử màu cao nhất của hỗn hợp vi sinh vật đạt được khi môi trường có giá trị pH=7-8. pH môi trường ảnh hưởng tới hiệu quả khử màu của các chủng vi sinh vật, pH tối ưu để loại bỏ màu nhiều loại thuốc nhuộm thường trong ngưỡng từ 6 đến 10 [5]. Từ kết quả nghiên cứu này, có thể kết luận pH=6-7 thích hợp cho hoạt động khử màu thuốc nhuộm Red FN2BL của chủng vi khuẩn A9.

Bảng 3. Ảnh hưởng của giá trị pH tới khả năng khử màu của chủng vi khuẩn A9.

pH	Nồng độ thuốc nhuộm	Giá trị OD		% khử màu
		Đối chứng	Thí nghiệm	
5	100 mg/l	0,209	0,082	60,8
6			0,030	85,6
7			0,040	81,0
8			0,095	54,5

Hiệu quả khử màu thuốc nhuộm Red FN2BL của chủng vi khuẩn A9 cao nhất (81,3%) tại nhiệt độ 35°C (bảng 4). Tại nhiệt độ 25 và 40°C hiệu quả loại bỏ màu thuốc nhuộm của chủng A9 không khác nhau nhiều. Hiệu quả khử màu thấp nhất (34,2%) khi nhiệt độ môi trường là 15°C. Khả năng khử màu của chủng vi khuẩn thí nghiệm giảm tại 45°C có thể do giảm khả năng sinh trưởng của tế bào hoặc biến tính enzyme chịu trách nhiệm khử màu tại 45°C. Chủng vi khuẩn A9 sinh trưởng tốt tại 35°C và tăng cường tổng hợp enzyme phân hủy, do đó hiệu quả phân hủy thuốc nhuộm tăng. Kết quả này cũng tương tự kết quả nghiên cứu của một số nhà khoa học khác.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới khả năng khử màu của chủng vi khuẩn A9.

Nhiệt độ (°C)	Nồng độ thuốc nhuộm	Giá trị OD		% khử màu
		Đối chứng	Thí nghiệm	
15	100 mg/l	0,209	0,138	34,2
25			0,096	54,3
35			0,039	81,3
40			0,095	52,4

Kumar và cs (2009) [13] đã kết luận, hỗn hợp chủng vi sinh vật loại bỏ màu thuốc nhuộm tốt nhất tại 30 và 35°C, hiệu quả loại bỏ màu giảm dần khi nhiệt độ tăng lên và bị giảm đáng kể tại 45°C. Chủng vi khuẩn *Planococcus* sp. và *Bacillus* sp. trong nghiên cứu của Mohan và cs (2013) [12] đạt hiệu quả khử màu cao nhất tại 37°C, khi tăng nhiệt độ tới 45°C hay giảm về 27°C hiệu quả khử màu giảm. Trong thí nghiệm của Hadi Eslami và cs (2019) [6], hai chủng vi khuẩn *Enterococcus faecalis* và *Klebsiella variicola* đạt hiệu quả khử màu cao nhất tại 37°C, nếu tăng nhiệt độ tới 45°C, hiệu quả khử màu giảm. Ken Meerbergen và cs (2018) [2] cũng khẳng định các chủng vi khuẩn *Acinetobacter* (ST16.16/164) và *Klebsiella* (ST16.16/034) biểu hiện khả năng khử màu mạnh nhất trong dải nhiệt độ 20-40°C. Kết quả nghiên cứu của Maulin và cs (2013) [4] cho thấy, các chủng vi khuẩn ETL-1 và ETL-2 đạt hiệu quả khử màu thuốc nhuộm cao nhất tại 35°C và thấp nhất tại 45°C.

Ảnh hưởng của nguồn carbon và nitơ: carbon là nguồn năng lượng cần thiết cho sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật và tác động như chất nhường điện tử cần thiết để bề gãy các cầu nối trong phân tử thuốc nhuộm. Chủng A9 biểu hiện khả năng khử màu tốt nhất khi nguồn carbon là tinh bột (bảng 5), tiếp theo là saccarose và lactose. Khi sử dụng nguồn carbon là xylose, hiệu quả khử màu của chủng A9 thấp nhất (41,6%). Nguồn carbon khác nhau đã ảnh hưởng tới hiệu quả khử màu. Kết quả này tương tự với kết quả được công bố bởi Palanivelan và cs (2014) [14]. Các chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. (ESL-52), *Micrococcus* sp. (TSL-7) và *Lactobacillus* sp. (TS-5) trong nghiên cứu của Palanivelan biểu hiện khả năng khử màu cao nhất khi trong môi trường nuôi vi khuẩn có tinh bột, các chủng vi khuẩn *Staphylococcus* sp. (ES-37), *Pseudomonas* sp. (M-1) và *Bacillus* sp. (TSL-9) biểu hiện tối đa khả năng khử màu khi nguồn carbon là lactose. Chủng *Bacillus* sp. trong thí nghiệm của Pushpa và cs (2017) [15] khử màu tốt nhất khi môi trường nuôi có chứa tinh bột, ngược lại maltose và saccarose cho hiệu quả khử màu thấp.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nguồn carbon tới khả năng khử màu của chủng vi khuẩn A9.

Nguồn carbon	Nồng độ thuốc nhuộm	Giá trị OD		% khử màu
		Đối chứng	Thí nghiệm	
Saccarose	100 mg/l	0,625	0,097	84,5
Tinh bột			0,080	87,2
Lactose			0,151	75,8
Maltose			0,239	61,8
Fructose			0,213	65,9
Xylose			0,365	41,6

Để đánh giá ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng làm mất màu thuốc nhuộm của chủng A9, các nguồn nitơ vô cơ và hữu cơ đã được sử dụng (bảng 6). Kết quả thí nghiệm cho

thấy, nguồn nitơ vô cơ NH_4Cl và cao nấm men giúp chủng A9 khử màu tốt hơn các nguồn nitơ khác, tuy nhiên không bằng nguồn $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Saad El-Din Hassan và cs (2015) [5] kết luận cao nấm men và NaNO_3 đã làm tăng khả năng khử màu thuốc nhuộm disperse yellow (D4) của chủng vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* và *Klebsiella variicola*. Mohan và cs (2013) [12] đã ghi nhận peptone là nguồn nitơ thích hợp nhất để chủng *Planococcus* sp. khử màu của thuốc nhuộm Coractive Blue P-3R, nhưng cao nấm men lại là nguồn nitơ ưa thích để khử màu của chủng *Bacillus* sp.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nguồn nitơ tới khả năng khử màu của chủng vi khuẩn A9.

Nguồn nitơ	Nồng độ thuốc nhuộm	Giá trị OD		% khử màu
		Đối chứng	Thí nghiệm	
Nitơ vô cơ	NH_4Cl		0,185	70,3
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		0,117	81,25
	NaNO_3		0,434	30,4
	KNO_3	100 mg/l	0,499	20,0
Nitơ hữu cơ	Cao thịt		0,603	3,3
	Cao nấm men		0,302	51,6
	Peptone		0,522	16,3

Kết luận

Ba chủng vi khuẩn A2, A9 và A14 có khả năng khử màu đã được phân lập từ mẫu nước thải dệt nhuộm, hiệu quả khử màu của chủng A9 cao nhất.

Hiệu quả khử màu thuốc nhuộm Red FN2BL của chủng A9 cao nhất khi sử dụng nguồn carbon là tinh bột, nguồn nitơ là $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4Cl và cao nấm men, nhiệt độ 35°C và pH thích hợp trong khoảng 6-7. Chủng A9 có tiềm năng loại bỏ màu của nước thải chứa thuốc nhuộm Red FN2BL từ các cơ sở dệt nhuộm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C.J. Ogugbue, T. Sawidis (2011), "Bioremediation and detoxification of synthetic wastewater containing triarylmethane dyes by *Aeromonas hydrophila* isolated from industrial effluent", *Biotechnology Research International*, **967925**, p.11, DOI: 10.4061/2011/967925.
- [2] Ken Meerbergen, et al. (2018), "Isolation and screening of bacterial isolates from wastewater treatment plants to decolorize azo dyes", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **125(4)**, pp.448-456.
- [3] H.S. Lade, et al. (2012), "Enhanced biodegradation and

detoxification of disperse azo dye Rubine GFL and textile industry effluent by defined fungal-bacterial consortium", *Int. Biodeterior. Biodegradation*, **72**, pp.94-107.

[4] Maulin P. Shah, et al. (2013), "Selection of bacterial strains efficient in decolorization of Remazol Black-B", *Romanian Archives of Microbiology and Immunology*, **72(4)**, pp.234-241.

[5] Saad El-Din Hassan, et al. (2015), "Biological decolorization of different azo dyes using two bacterial strains of *Klebsiella* spp. and their consortium", *International Journal of Environmental Biology*, **5(4)**, pp.104-114.

[6] Hadi Eslami, et al. (2019), "Decolorization and biodegradation of reactive Red 198 Azo dye by a new *Enterococcus faecalis* - *Klebsiella variicola* bacterial consortium isolated from textile wastewater sludge", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **35(3)**, p.38, DOI: 10.1007/s11274-019-2608-y.

[7] J.G. Cappuccino, et al. (2014), *Microbiology: A Laboratory Manual*, Spiral Bound.

[8] Anamika Pokharia, Sarabjeet Singh Ahluwalia (2013), "Isolation and screening of dye decolorizing *Bacterial Isolates* from contaminated sites", *Textiles and Light Industrial Science and Technology*, **2(2)**, pp.54-61.

[9] Rashid Mahmood, et al. (2014), "Biodegradation of textile dye by indigenously isolated bacteria *Bacillus* and *Pseudomonas* sp. and their discard after bio-treatment", *Asian Journal of Chemistry*, **26(10)**, pp.2945-2948.

[10] K.C. Chen, J.Y. Wu, D.J. Liou (2003), "Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains", *Journal of Biotechnology*, **101**, pp.57-68.

[11] H. Wang, et al. (2009), "Bacterial decolorization and degradation of the reactive dye reactive red 180 by *Citrobacter* sp. CK3q", *Int. Biodeterioration Biodegradation*, **63**, pp.395-399.

[12] V. Mohan, et al. (2013), "Isolation and screening of potential dye decolorizing bacteria from textile dye effluents in Tamil Nadu, India", *Journal of Academia and Industrial Research (JAIR)*, **2(2)**, pp.74-79.

[13] Kumar Kapil, et al. (2009), "Effect of process parameters on aerobic decolorization of reactive azo dye using mixed culture", *International Journal of Biomedical and Biological Engineering*, **3(10)**, pp.525-528.

[14] R. Palanivelan, S. Rajakumar, P.M. Ayyasamy (2014), "Effect of various carbon and nitrogen sources on decolorization of textile dye remazol golden yellow using bacterial species", *Journal of Environmental Biology*, **35**, pp.781-787.

[15] V. Pushpa, et al. (2017), "Effect of carbon and nitrogen sources for the degradation of red 2G by *Bacillus* sp.", *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, **47(1)**, pp.108-113.