

Phân lập và nhận diện một số dòng vi sinh vật có hoạt tính sinh học phân giải lipid trong nước thải của các cơ sở chế biến thủy sản

Giang Cẩm Tú*, Mai Tân Đạt, Ngô Thanh Nhân

Khoa Công nghệ Sinh học - Môi trường, Đại học Nguyễn Tất Thành

*gcamtu@gmail.com

Tóm tắt

Đề tài “Phân lập một số dòng vi sinh vật có hoạt tính sinh học phân giải lipid trong nước thải của các cơ sở chế biến thủy sản” với mục tiêu xác định được các dòng vi sinh vật có khả năng phân giải được lipid có trong nước thải của các công ty chế biến thủy sản. Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên. Qua 6 mẫu nước thải thu từ 3 công ty: Công ty Cổ phần Kinh doanh Thủy Hải sản Sài Gòn, Công ty TNHH Chế biến Thủy sản Thanh Hải, Công ty Cổ phần Chế biến Thủy sản Trung Sơn và 8 mẫu nước thải từ Công ty Thủy sản Miền Nam, Cần Thơ phân lập được 33 dòng vi sinh vật. Trong số 33 dòng vi sinh vật phân lập được, sau khi kiểm tra hoạt tính phân giải lipid có 22 dòng có khả năng kết tủa tạo vòng halo trên môi trường Tween 20, chứng tỏ 22 dòng vi sinh vật này có khả năng sinh *lipase*, chiếm tỉ lệ: 66,6% (22/33). Trong đó có 5 dòng có khả năng phân giải lipid cao là: TSB1, SGA1, SGA2; M1A2-2 và M2A2-1. 5 dòng triển vọng này, sau khi giải trình tự 16S rRNA định danh được 3 dòng vi khuẩn là *Pseudomonas otitidis*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Acinetobacter tandoii*.

Nhận 06.09.2018
Được duyệt 03.09.2018
Công bố 20.09.2018

Từ khóa
vi sinh vật, phân giải,
lipid,
nước thải thủy sản

© 2018 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Nước ta có lợi thế rất lớn trong ngành đánh bắt và chế biến thủy hải sản, do nằm tiếp giáp với bờ biển trải dài 3.260km từ Bắc tới Nam. Chính vì vậy mà ngành công nghiệp thủy sản rất phong phú, đa dạng từ các loại thủy sản tự nhiên đến nuôi công nghiệp, đồng thời các nhà máy chế biến thủy sản cũng trở nên phát triển. Do sự đa dạng về chủng loại, hình thức chế biến, nên các thành phần trong nước thải của thủy sản hết sức phức tạp. Nước thải thủy sản chứa phần lớn các chất thải hữu cơ có nguồn gốc từ động vật và có thành phần chủ yếu là protein, lipid. Trong hai thành phần này, lipid gây ảnh hưởng lớn đến môi trường vì lipid không tan trong nước. Khi xả vào nguồn nước, lớp váng lipid còn tồn tại trên mặt nước sẽ làm suy giảm nồng độ oxy hòa tan trong nước và ảnh hưởng đến vi sinh vật sử dụng oxy hòa tan để phân hủy các chất hữu cơ.

Hiện nay, có nhiều phương pháp được thực hiện loại bỏ lớp váng lipid từ nước thải thủy sản như phương pháp vật lí, phương pháp hóa học cũng mang lại hiệu quả tốt. Tuy nhiên, cả hai phương pháp này tốn nhiều chi phí khi phát triển trên qui mô lớn. Dựa vào hoạt động sống của vi sinh

vi sinh vật mà các kĩ thuật xử lí chất thải bằng vi sinh thu hút rất nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học trong qui mô phòng thí nghiệm. Để nghiên cứu được thành công, điều cần thiết là phải phân lập và chọn được loại vi sinh có khả năng phân giải lipid cao dưới điều kiện chọn môi trường dinh dưỡng, nồng độ pH và nhiệt độ phát triển của vi sinh vật.

Các nghiên cứu ngoài nước như Nhật Bản, Ấn Độ, Anh, Iran đã phát hiện ra một số loài vi sinh có khả năng phân giải lipid như các chủng vi khuẩn *Acinetobacter* sp. SOD - 1 từ nghiên cứu của Sugimori et al., 2002 [1]; *Acinetobacter* sp. SS - 192 và *Pseudomonas aeruginosa* SS - 219 của Sugimori và Utsue (2012) [2] hay *Bacillus* sp. của Okuda et al., 1991 [3] có khả năng phân giải lipid. Các chi *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Sarcine*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*,... có khả năng sản sinh ra enzym *lipase* nội bào và ngoại bào, chuyển triglyceride trong phản ứng thủy phân thành sản phẩm glycerin và acid béo. Sau đó, glycerin và acid béo lại được chuyển hóa thành nhiều sản phẩm khác. Ở trong nước, chỉ có một vài nghiên cứu về vi sinh phân giải lipid như nghiên cứu của Nguyễn Văn Trương (2014) [4], Võ Hồng Chi (2011) [5], Ngô



Thanh Phong (2014) [6], tuy nhiên vẫn còn hạn chế. Vì vậy, việc nghiên cứu, phân lập một số dòng vi khuẩn để ứng dụng các vi sinh vật vào việc xử lý nước thải lipid là một việc cần thiết và mang tính ứng dụng cao.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu

Mẫu nước thải được lấy trực tiếp từ ống thải của các công ty chế biến thủy sản xuống kênh Tham Lương, KCN Tân Tạo, Tân Tạo A, Bình Tân, Tp.HCM, như Công ty Cổ phần Kinh doanh Thủy Hải sản Sài Gòn (Đ/c: 4-8 Đường 1A, Tân Tạo A, Bình Tân, Tp.HCM), Công ty TNHH chế biến thủy sản Thanh Hải (Đ/c: Đường số 1, Tân Tạo A, Bình Tân, Tp.HCM), Công ty Cổ phần Chế biến Thủy sản Trung Sơn (Đ/c: 2, Song hành, Tân Tạo A, Bình Tân, Tp.HCM), mẫu nước thải ở bể chứa và khu vực đóng gói sản phẩm ở Công ty Thủy sản Miền Nam, Cần Thơ.

2.2 Hóa chất:

Bảng 1 Môi trường phân lập vi sinh [7]

Thành phần	Hàm lượng
Dầu thực vật	10g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5g
MgSO ₄ .7H ₂ O	5g
KH ₂ PO ₄	1g
Nước	1 lít
Khử trùng và chỉnh pH= 6,5 - 7,5	

Bảng 2 Môi trường Luria Bertani (LB) (Bennasar et al., 1998)[6]

Thành phần	Hàm lượng
peptone	10g
yeast extract	5g
NaCl	5g
agar	20g
nước	1 lít
Khử trùng và chỉnh pH=6,5-7,5.	

Bảng 3 Môi trường Tween 20 (El- Bestawy et al., 2005)[8]

Thành phần	Hàm lượng
peptone	10g
NaCl	5g
agar	20g
nước	1 lít
Bổ sung 1 % Tween 20 (Tween 20 được khử trùng nhiệt ướt ở 121 ⁰ C trong 20 phút trước khi được bỏ vào môi trường) và điều chỉnh pH = 7,5.	

Hóa chất nhuộm Gram: crystal violet, dung dịch lugol, cồn 96%, fushin.

2.3 Phương pháp thí nghiệm

2.3.1 Thu mẫu và phân lập các dòng vi sinh vật

14 mẫu gồm 6 mẫu được thu tại các ống xả nước thải của các công ty chế biến thủy sản thuộc KCN Tân Tạo A, Tp.HCM và 8 mẫu thu trong các bể chứa nước thải ở các khu vực chế biến và đóng gói thuộc Công ty Thủy sản Miền Nam, Cần Thơ.

Mẫu lấy được sẽ lưu trữ trong lọ nhựa có nắp, sau khi thu về được bảo quản trong tủ mát và được sử dụng trong vòng 3 ngày kể từ ngày thu.

Mẫu nước thải được thu về tiến hành lắc đều để các thành phần trong mẫu được xáo trộn giúp dễ dàng thu hết mẫu vi khuẩn mà không bỏ sót. Rút 1ml dung dịch gốc cho vào 5ml môi trường phân lập sau đó đem ủ ở 30⁰C trên máy lắc 120rpm trong 72 tiếng.

Dùng micropipette P200 hút 100μl mẫu từ môi trường phân lập vào tâm của đĩa môi trường LB, trải mẫu nước vừa nhỏ ra khắp các bề mặt của môi trường cấy. Thao tác này rất quan trọng vì khi trải kỹ sẽ thu được nhiều khuẩn lạc rời khác nhau tăng hiệu suất phân lập.

Sau đó tiến hành bảo quản trong tủ ủ 30⁰C trong khoảng 1-2 ngày để vi khuẩn có thời gian thích nghi với môi trường và phát triển.

2.3.2 Đặc điểm hình thái tế bào vi khuẩn

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào vi khuẩn được nhuộm Gram và kiểm tra dưới kính hiển vi vật kính 40X.

2.3.3 Khảo sát khả năng phân giải lipid trên môi trường Tween 20

Mẫu khuẩn lạc sau khi đã làm rỗng sẽ được nuôi trong môi trường LB không có agar ở nhiệt độ 30⁰C, lắc 120 vòng/phút trong 3 ngày để tăng sinh khối. Sau 3 ngày nuôi lỏng, các chủng vi khuẩn sẽ được thử trên môi trường Tween 20. Lấy 20μl mẫu nhỏ vào đĩa môi trường Tween 20 đã được đục giếng. Quan sát và đo đường kính vòng halo trên môi trường Tween qua 3 mốc thời gian 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày.

2.3.4 Định danh các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lipid tốt nhất

Tuyển chọn những dòng vi sinh vật có khả năng phân giải lipid tốt nhất thông qua số liệu đường kính vòng halo đã đo được. Tiến hành gửi mẫu để định danh chủng vi khuẩn được chọn. Sử dụng phần mềm BLAST để so sánh mức độ tương đồng của chuỗi trình tự vùng 16S rRNA với dữ liệu trên ngân hàng gene của NCBI (National Center for Biotechnology Information) để xác định tên loài của chủng vi khuẩn.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm trong qui mô phòng thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần và được tính toán thống kê bằng phần mềm SAS 9.1

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Thu mẫu và phân lập các dòng vi sinh vật từ mẫu nước thải

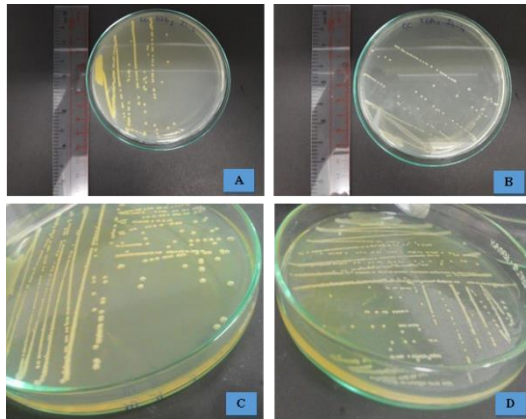
Từ những mẫu nước thải lấy tại các ống nước thải của các công ty phân lập được 33 dòng vi sinh vật có đặc điểm và hình dạng khác nhau. Các dòng vi khuẩn này có chung đặc tính là sinh trưởng và phát triển trong điều kiện hiếu khí.

3.2 Đặc điểm hình thái tế bào vi khuẩn

Phần lớn các dòng vi khuẩn có khuẩn lạc dạng tròn, bìa nguyên, độ nổi mô, màu trắng đục hoặc trắng trong; một số ít khuẩn lạc có dạng không đều, độ nổi lồi, màu vàng đục và nâu đục. Đặc điểm màu sắc, hình dạng, độ nổi và dạng bìa của các dòng vi khuẩn trên môi trường LB được quan sát sau khi nuôi cấy sau 2 ngày.

Bảng 4 Đặc điểm hình thái của khuẩn lạc

Đặc điểm hình thái		Số lượng	Tỉ lệ %
Hình dạng	Tròn	25	75,8
	Không đều	8	24,2
Màu sắc	Trắng trong	1	3,0
	Trắng đục	22	66,7
	Vàng chanh	9	27,3
	Nâu	1	3,0
Độ nổi	Mô	20	60,6
	Lồi	13	39,4
Dạng bìa	Nguyên	24	72,7
	Răng cưa	9	28,3



Hình 1 Một số khuẩn lạc của vi khuẩn phân lập được trên môi trường LB

- A: Dòng TSA1: khuẩn lạc tròn, có bìa nguyên, màu trắng đục, lồi
- B: Dòng SGB2: khuẩn lạc tròn, có bìa nguyên, màu vàng chanh, mô.
- C: Dòng M1A1- 2: khuẩn lạc trắng đục, tròn, bìa nguyên, độ nổi mô
- D: Dòng M1A1- 1: khuẩn lạc trắng đục, tròn, bìa nguyên, độ nổi mô

Bảng 5 Kết quả nhuộm Gram

STT	Tên mẫu	Hình dạng	Gram
1	THA1	Que	+
2	THA2	Que	+
3	THB1	Cầu	-

4	THB2	Que	-
5	TSA1	Cầu	+
6	TSA2	Que	-
7	TSB1	Que	-
8	TSB2	Cầu	-
9	SGA1	Que	-
10	SGA2	Que	-
11	SGB1	Cầu	+
12	SGB2	Cầu	-
13	SGB3	Que	-
14	M ₁ A ₁ - 1	Que	-
15	M ₁ A ₁ - 2	Cầu	-
16	M ₁ A ₂ - 1	Que	+
17	M ₁ A ₂ - 2	Que	-
18	M ₂ A ₁ - 1	Que	-
19	M ₂ A ₁ - 2	Cầu	-
20	M ₂ A ₂ - 1	Que	-
21	M ₂ A ₂ - 2	Que	+
22	M ₃ A ₁ - 1	Cầu	+
23	M ₃ A ₁ - 2	Cầu	-
24	M ₃ A ₁ - 3	Cầu	-
25	M ₃ A ₁ - 4	Que	+
26	M ₃ A ₂ - 1	Cầu	-
27	M ₃ A ₂ - 2	Que	+
28	XKA ₁ - 1	Cầu	-
29	XKA ₁ - 2	Que	-
30	XKA ₁ - 3	Cầu	-
31	XKA ₂ - 1	Que	+
32	XKA ₂ - 2	Que	-
33	XKA ₂ - 3	Cầu	+

Chú thích: (+): Gram dương (-): Gram âm

Trong tổng số 33 dòng có 14 dòng tế bào vi sinh vật hình cầu và 19 dòng tế bào vi sinh vật hình que và trong đó 11 dòng là vi khuẩn Gram (+) 22 dòng là Gram (-)

3.3 Khảo sát khả năng phân giải lipid trên môi trường Tween 20

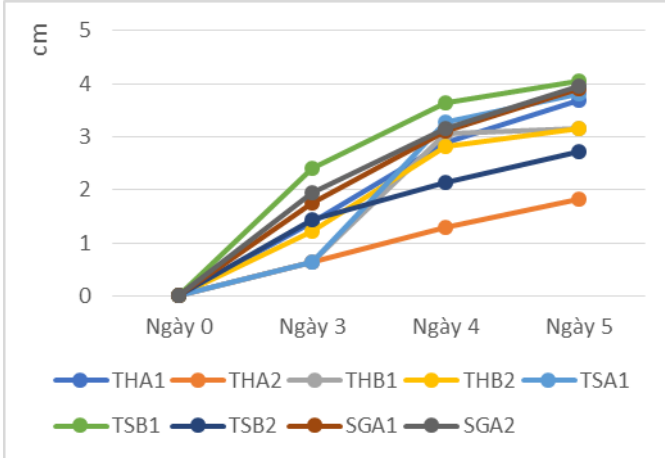
3.2.1. Đối với các dòng vi khuẩn phân lập từ nước thải ở KCN Tân Tạo A, Tp.HCM

Với kết quả sau 2 ngày một số mẫu đã xuất hiện những điểm kết tủa quanh giếng nhưng chưa có hình dạng rõ rệt. Tiếp tục thử hoạt tính sau 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, cho thấy có 9 mẫu xuất hiện vòng kết tủa halo rõ rệt. Tiến hành đo đường kính vòng halo của 9 mẫu.

Bảng 6 Kết quả thử hoạt tính của các dòng vi khuẩn sau 3, 4, 5 ngày

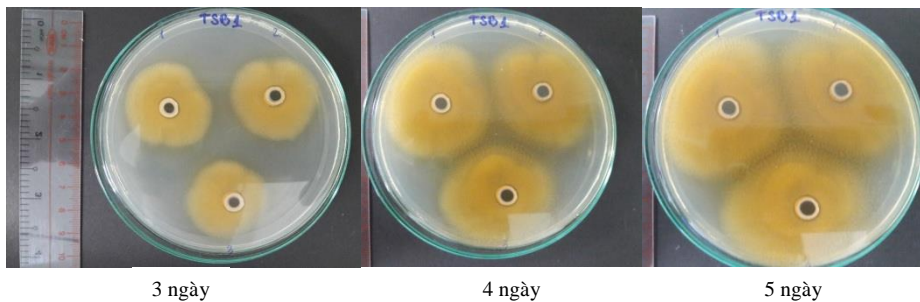
STT	Tên mẫu	Đường kính vòng halo (cm)		
		3 ngày	4 ngày	5 ngày
1	THA1	1.4 ^{cd}	2.9 ^b	3.7 ^{ab}
2	THA2	0.63 ^c	1.3 ^d	1.83 ^d
3	THB1	0.63 ^e	3.06 ^{ab}	3.15 ^{bc}
4	THB2	1.23 ^d	2.83 ^{ab}	3.16 ^{bc}

5	TSA1	0.63 ^c	3.28 ^{ab}	3.8 ^{ab}
6	TSB1	2.4 ^a	3.65 ^a	4.05 ^a
7	TSB2	1.43 ^{cd}	2.13 ^c	2.73 ^c
8	SGA1	1.76 ^{bc}	3.11 ^{ab}	3.9 ^{ab}
9	SGA2	1.96 ^{ab}	3.15 ^{ab}	3.95 ^{ab}
	CV%	15.745	10.727	10.959
	Lsd 0.01	0.497	0.722	0.867



Hình 2 Biểu đồ đường kính trung bình vòng halo của các dòng vi khuẩn sau 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày.

Qua ngày thứ 3 đường kính các vòng halo giữa các dòng vi khuẩn có khác biệt rõ rệt. Ở dòng TSB1 có đường kính lớn nhất (tương ứng với đường kính là 2.4cm) kế tiếp là dòng SGA2 (đường kính 1.96cm), hai dòng này có giá trị tương



Hình 3 Kết quả thử hoạt tính của dòng TSB1

3.2.2. Đối với các dòng vi khuẩn phân lập từ nước thải ở Công ty Thủy sản Miền Nam, Cần Thơ

Kết quả theo dõi ngày thứ nhất, các vi sinh vật chưa phát triển rõ rệt. Tiếp tục thử hoạt tính sau 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, cho thấy có 13/20 mẫu xuất hiện vòng kết tủa halo rõ rệt. Do khi chuyển từ môi trường này sang môi trường khác, vi sinh vật cần có thời gian thích nghi với môi trường, sau đó mới tiến hành sinh trưởng và phát triển. Do đó, trong ngày đầu tiên vi sinh vật chưa thể hiện hoạt tính rõ rệt. Đến những ngày tiếp theo, các dòng vi sinh vật đã bắt đầu thích nghi nên đã sinh trưởng và sinh sản mạnh với vậy mà hàm lượng lipase để sinh ra cũng tăng dần.

đương nhau về ý nghĩa thống kê. Bên cạnh đó, các dòng vi khuẩn SGA1, TSB2, THA1, THB2 có đường kính dao động khoảng 1.3 – 1.76cm. Những dòng vi khuẩn còn lại TSA1, THA2, THB1 có đường kính bằng nhau (đường kính 0.63) có ý nghĩa về mặt thống kê.

Đến ngày thứ 4 đường kính của vòng phân giải halo giữa các dòng tăng đột biến. Dòng THB1 và dòng TSA1 lần lượt tăng từ 0.63cm lên thành 3.06cm và 3.28cm. Sự khác biệt này là do đặc tính sinh trưởng và phát triển khác nhau giữa các dòng vi khuẩn nên đường kính vòng halo cũng khác nhau. Kết quả thử hoạt tính ở ngày thứ 4 cũng cho thấy dòng TSB1 có vòng halo lớn nhất (tương đương đường kính 3.65cm).

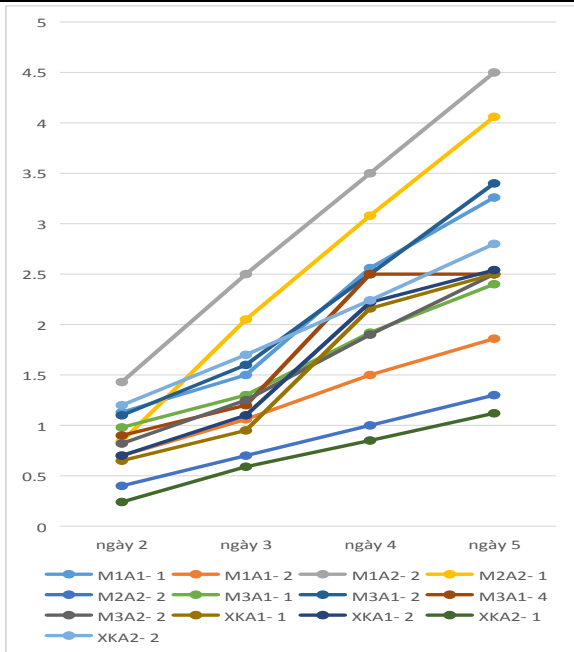
Sang ngày thứ 5, dựa vào số liệu từ Bảng 6 cho thấy đường kính vòng halo của các dòng vi khuẩn tăng chậm lại. Đường kính vòng halo giữa các dòng vi khuẩn dao động từ 2.73cm – 3.95cm. Riêng dòng TSB1 vẫn có đường kính lớn nhất 4.05cm và dòng THA2 có mức tăng thấp nhất, từ ngày thứ 3 đường kính 0.63cm sang ngày thứ 5 đường kính 1.83cm.

Tóm lại, kết quả thử hoạt tính lipase trên môi trường Tween 20 cho thấy dòng TSB1 có khả năng tạo vòng halo có đường kính cao nhất (4.05cm) ở ngày thứ 5, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với phần còn lại. Qua kết quả trên, ta chọn được 3 dòng có khả năng tạo vòng halo cao nhất là: TSB1, SGA1, SGA2 để tiến hành định danh bằng phương pháp sinh học phân tử.

Bảng 7 Kết quả thử hoạt tính các dòng vi khuẩn sau 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày sau khi đã được xử lý thống kê

STT	Tên mẫu	Đường kính vòng halo (cm)			
		2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày
1	M ₁ A ₁ - 1	1.13 ^b	1.50 ^d	2.56 ^{bc}	3.26 ^{bc}
2	M ₁ A ₁ - 2	0.70 ^e	1.06 ^{ih}	1.50 ^{ef}	1.86 ^e
3	M ₁ A ₂ - 2	1.43 ^a	2.50 ^a	3.50 ^a	4.50 ^a
4	M ₂ A ₂ - 1	0.84 ^d	2.05 ^b	3.08 ^{ab}	4.06 ^a
5	M ₂ A ₂ - 2	0.40 ^f	0.70 ^j	1.0 ^{fg}	1.30 ^f
6	M ₃ A ₁ - 1	0.98 ^c	1.30 ^e	1.92 ^{de}	2.40 ^{de}
7	M ₃ A ₁ - 2	1.10 ^b	1.60 ^{cd}	2.50 ^c	3.40 ^b

8	M ₃ A ₁ - 4	0.90 ^{cd}	1.20 ^{fg}	2.50 ^c	2.50 ^b
9	M ₃ A ₂ - 2	0.82 ^d	1.25 ^{ef}	1.90 ^{de}	2.50 ^d
10	XKA ₁ - 1	0.65 ^e	0.95 ⁱ	2.16 ^{cd}	2.50 ^d
11	XKA ₁ - 2	0.70 ^e	1.10 ^{gh}	2.22 ^{cd}	2.56 ^d
12	XKA ₂ - 1	0.24 ^g	0.59 ^j	0.85 ^g	1.12 ⁱ
13	XKA ₂ - 2	1.20 ^b	1.70 ^c	2.24 ^{cd}	2.80 ^{cd}
CV%		5,25	3,81	11,60	8,82
LSD 0,01		0,10	0,12	0,57	0,55



Hình 4 Biểu đồ đường thể hiện hoạt tính phân giải lipid của các chủng vi khuẩn theo các ngày (từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 5).

Ở ngày thứ 2 thử hoạt tính, đường kính các vòng halo giữa các dòng vi khuẩn có khác biệt rõ rệt. Ở dòng M1A2- 2 có đường kính lớn nhất (tương ứng với đường kính là 1,43cm), kế tiếp là 3 dòng M1A1- 1, M3A1- 2, XKA2- 2 đường kính trong khoảng 1,10cm đến 1,20cm, các dòng này có giá trị tương đương nhau về ý nghĩa thống kê. Bên cạnh đó, những dòng vi khuẩn còn lại có đường kính dao động trong khoảng 0,24cm đến 0,98cm, có ý nghĩa về mặt thống kê.

Đến ngày thứ 3, đường kính của vòng phân giải halo giữa các dòng tăng khác biệt rõ rệt. Dòng M1A2- 2 tăng từ 1,43cm lên thành 2,50cm và kế tiếp dòng M2A2- 1 tăng đột biến từ 0,84cm lên thành 2,05cm. Sự khác biệt này là do đặc tính sinh trưởng và phát triển khác nhau giữa các dòng vi khuẩn nên đường kính vòng halo cũng khác nhau từ ngày thứ 2, dòng M1A2-2 có đặc tính sinh trưởng nhanh và mạnh nhất so với những dòng còn lại. Các dòng còn lại tăng dao động trong khoảng 0,59cm đến 1,70cm

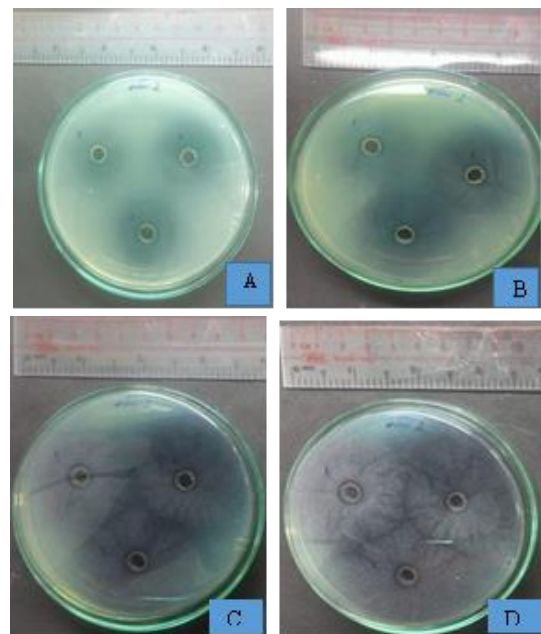
Sang ngày thứ 4, ta thấy đường kính vòng halo của các dòng vi khuẩn tăng đều. Đường kính vòng halo giữa các dòng vi khuẩn dao động từ 1,0cm – 2,56cm. Riêng dòng M1A2- 2 vẫn có đường kính lớn nhất 3,50cm và hai dòng M2A2- 2, XKA2- 1 có mức tăng thấp nhất. Từ ngày thứ 2

sang ngày thứ 4, đường kính dao động trong khoảng 0,24cm đến 1,0cm.

Dựa vào Bảng 7 cho thấy, ngày thứ 5 các dòng vi khuẩn vẫn tăng đều, thể hiện rõ nhất ở hai dòng có đường kính lớn là M1A2- 2 (đường kính từ ngày thứ 3 là 3,50cm lên thành 4,50cm ở ngày thứ 5) và M2A2- 1 (đường kính từ ngày thứ 3 là 3,08cm lên thành 4,06cm ở ngày thứ 5), hai dòng có giá trị tương đương nhau về ý nghĩa thống kê. Các dòng M1A1- 2, M2A2- 2, XKA2- 1 phát triển chậm, có đường kính dao động trong khoảng 0,24cm đến 1,86cm từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 5. Sự phát triển chậm này do đặc điểm sinh trưởng và phát triển của chúng.

Tóm lại, kết quả thử hoạt tính lipase trên môi trường Tween 20 cho thấy dòng M1A2- 2 và M2A2- 1 có khả năng tạo vòng halo có đường kính cao nhất (lần lượt là 4,50cm và 4,06cm, giá trị tương đương nhau về ý nghĩa thống kê). Ở ngày thứ 5, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với phần còn lại. Qua kết quả trên, ta chọn được 2 dòng có khả năng tạo vòng halo cao nhất là: M1A2- 2, M2A2- 1 để tiến hành định danh bằng phương pháp sinh học phân tử.

Khả năng sinh trưởng và phát triển của các dòng vi sinh vật sản sinh lipase qua các ngày thứ 2, thứ 3, thứ 4 và thứ 5 đã thể hiện rõ ở Hình 5



Hình 5 Kết quả thử hoạt tính của dòng M1A2- 2
A: 2 ngày; B: 3 ngày; C: 4 ngày; D: 5 ngày

3.4 Định danh các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải lipid tốt nhất

Dựa trên việc giải trình tự gen 16S rRNA và so sánh với dữ liệu trên ngân hàng gen BLAST SEARCH, định danh được vi khuẩn có khả năng phân giải lipid của 3 mẫu được chọn: TSB1, SGA1, SGA2, kết quả đều là vi khuẩn *Pseudomonas otitidis*; M1A2-2 và M2A2-1 kết quả định danh là vi khuẩn

Pseudomonas aeruginosa và *Acinetobacter tandoii*. Kết quả này phù hợp với những nghiên cứu trước đây về một số chủng thuộc chi *Pseudomonas* và *Acinetobacter* có khả năng phân giải lipid.

4 Kết luận và kiến nghị

4.1 Kết luận

Qua các kết quả nhận được trong quá trình thực nghiệm, đi đến một số kết luận: Từ 6 mẫu nước thải thu ở 3 công ty: Công ty Cổ phần Kinh doanh Thủy Hải sản Sài Gòn, Công ty TNHH Chế biến Thủy sản Thanh Hải, Công ty Cổ phần Chế biến Thủy sản Trung Sơn và 8 mẫu nước thải từ Công ty Thủy sản Miền Nam, Cần Thơ phân lập được 33 dòng vi sinh vật. Trong số 33 dòng vi sinh vật phân lập được, sau khi kiểm tra hoạt tính phân giải lipid có 22 dòng có khả năng kết tủa tạo vòng halo trên môi trường Tween 20, chúng tỏ 22 dòng vi sinh vật này có khả năng sinh lipase, chiếm tỉ lệ: 66,6% (22/33). Trong đó có 5 dòng có khả năng

phân giải lipid cao là: TSB1, SGA1, SGA2; và M1A2-2 và M2A2-1. Sau khi giải trình tự 16S rRNA, định danh được 3 dòng vi khuẩn là *Pseudomonas otitidis*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Acinetobacter tandoii*.

4.2 Kiến nghị

Tiếp tục khảo sát các điều kiện cần, thích hợp cho quá trình sinh trưởng của các dòng có khả năng phân giải lipid để tiến hành nuôi tăng sinh khối các dòng vi sinh vật này.

Tiếp tục định danh và trừ những dòng vi sinh vật có khả năng phân giải lipid.

Tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của pH đến hoạt tính các dòng có khả năng phân giải lipid còn lại để tìm ra điều kiện pH tối ưu.

Tiến hành thí nghiệm hoạt tính ở qui mô lớn hơn làm nền tảng cho những nghiên cứu sản xuất ra chế phẩm sinh học xử lí lipid trong nguồn nước thải.

Tài liệu tham khảo

1. Sugimori D, Nakamura M, Mihara Y, 2002. Microbial degradation of lipid by *Acinetobacter* sp. strain SOD-1.
2. Sugimori D and Utsue T, 2012 . A study of the efficiency of edible oils degraded in alkaline conditions by *Pseudomonas aeruginosa* SS-219 and *Acinetobacter* sp. SS-192 bacteria isolated from Japanese soi
3. Okuda et al.,1991..Study the treatment of lipid wastewater by using bacteria to lipid assimilate
4. Nguyễn Văn Trương, 2014. Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải lipid trong nước thải từ quán ăn, cơ sở chế biến ở phường An Thới, Long Xuyên và Thới An Đông, Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ
5. Võ Hồng Chi, 2011. Quá trình phân hủy chất thải hữu cơ giàu dầu mỡ trong điều kiện kỵ khí. Tạp chí công nghệ sinh học 9(1)1-11
6. Ngô Thanh Phong, 2014, “Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn phân hủy chất béo từ nước thải ở thành phố Cần Thơ”, Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ
7. Lê Thị Ánh Hồng, 2015. Giáo trình môn học thực hành vi sinh vật môi trường. Viện Kỹ thuật công nghệ cao NTT, trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh
8. El- Bestawy et al.,2005. Biodegradation of palm oil mill effluent (POME) by bacterial.

Isolation and identification of microorganisms degrading lipids from wastewater of seafood factory

Cam Tu Giang*, Tan Dat Mai, Thanh Nhan Ngo
Biotechnology & Environment, Nguyen Tat Thanh University
*gcamtu@gmail.com

Abstract Topics: "Isolation and identification of microorganisms degrading lipids from wastewater of seafood factory" with the aim of identifying microorganisms capable of decomposing lipids. Through 14 samples of wastewater collected at seafood companies in Ho Chi Minh City and Can Tho city, 33 microorganisms were isolated. From 33 strains of microorganisms isolated, 22 were capable of precipitating Halo ring formation on Tween 20, which showed that 22 strains of this microorganism were able to produce lipase , accounting for 66.6% (22/33). There are 5 lines capable of high resolution lipids: TSB1, SGA1, SGA2; M1A2-2 and M2A2-1. After sequencing 16S rRNA, identified three strains of *Pseudomonas otitidis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter tandoii*.

Keywords microorganisms, decomposition, lipids, wastewater of seafood facto

