



DOI:10.22144/ctu.jvn.2019.123

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN TRONG Bùn LẮNG CỦA BỂ CHỨA NƯỚC THẢI NHÀ MÁY LỌC HÓA DẦU CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY HỖN HỢP BENZENE, TOLUENE VÀ XYLENE

Võ Phát Tài¹ và Nguyễn Thị Phi Oanh^{2*}

¹Học viên Cao học Khóa 24, Ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Thị Phi Oanh (email: ntpoanh@ctu.edu.vn)

ABSTRACT

Hydrocarbons such as benzene, toluene, and xylene (BTX) have been widely used in life and especially, they are the major components in many petroleum products. BTX have been considered as the environmental contaminants as they pose harmful effects on living organisms as well as on human health. The aims of this study were isolation and screening for indigenous bacteria capable of effectively degrading BTX compounds. Twenty-one bacterial isolates isolated from five sediment samples in a wastewater tank of a petroleum refining plant grew in minimal salt medium supplemented with BTX compounds as the only carbon source. Among these, two bacterial isolates BTX-S21 and BTX-S22 were capable of producing higher biomass as compared to others on minimal salt medium supplemented with different concentrations of BTX including 0.01; 0.025; 0.05; 0.1; 0.25; 0.5 and 1% (v/v) for each compound. In the liquid media containing four different concentrations of BTX compounds such as 0.01; 0.05; 0.1 and 0.25% (v/v), BTX-S21 degraded 100% benzene, 100% toluene and more than 92% xylene after 24 hours of inoculation.

TÓM TẮT

Benzene, toluene và xylene (BTX) là các hydrocarbon được sử dụng rộng rãi trong đời sống, đặc biệt các hợp chất này là thành phần chính trong xăng và dầu. Khi lưu tồn trong đất và nước, BTX gây ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng. Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn vi khuẩn bản địa có khả năng phân hủy hỗn hợp BTX. Từ 5 mẫu bùn lắng được thu tại bể chứa nước thải của nhà máy lọc hóa dầu, 21 dòng vi khuẩn có khả năng phát triển tạo sinh khối trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung BTX như nguồn carbon duy nhất đã được phân lập. Kết quả cho thấy 2 dòng vi khuẩn BTX-S21 và BTX-S22 có khả năng tạo sinh khối cao hơn các dòng vi khuẩn còn lại trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung 0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 và 1% (v/v) từng hydrocarbon khảo sát, trong đó dòng BTX-S21 có khả năng phân hủy hoàn toàn benzene và toluene; phân hủy hơn 92% xylene với nồng độ từng hydrocarbon là 0,01; 0,05; 0,1 và 0,25% (v/v) sau 24 giờ nuôi cấy.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 22/05/2019

Ngày nhận bài sửa: 01/08/2019

Ngày duyệt đăng: 30/10/2019

Title:

Isolation and selection of benzene, toluene and xylene degrading bacteria from sediment of wastewater tank of a petroleum refining plant

Từ khóa:

Benzene, phân hủy sinh học, toluene, vi khuẩn, xylene

Keywords:

Bacteria, benzene, biodegradation, toluene, xylene

Trích dẫn: Võ Phát Tài và Nguyễn Thị Phi Oanh, 2019. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn trong bùn lắng của bể chứa nước thải nhà máy lọc hóa dầu có khả năng phân hủy hỗn hợp benzene, toluene và xylene. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(5A): 18-23.

1 GIỚI THIỆU

Benzene, toluene và xylene (BTX) là các hydrocarbon có cấu trúc mạch vòng hay còn được gọi là hydrocarbon thơm. Các hợp chất này hiện diện trong dầu mỏ và các sản phẩm dầu mỏ như xăng và dầu. Trong công nghiệp, BTX được sử dụng rộng rãi trong pha sơn, thuốc nhuộm,... Trong quá trình sản xuất, tinh lọc xăng dầu và trong công nghiệp, nước thải có chứa BTX nếu không được xử lý sẽ gây ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng. Sự ô nhiễm BTX trong nước thải từ nhà máy lọc và sản xuất dầu cũng như trong công nghiệp hóa chất là mối quan tâm lớn vì khả năng phát tán và độc tính của chúng (Paixão *et al.*, 2007; Farhadian *et al.*, 2009). Những bệnh lý ở người có thể bắt nguồn từ sự tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với đất hoặc nước bị ô nhiễm BTX. Phơi nhiễm với BTX trong thời gian dài có thể gây ra các bệnh lý về phổi, tim, gan, thận, tổn thương tủy xương và là nguyên nhân gây ra ung thư (Mandri and Lin, 2007).

Phương pháp sinh học thông qua việc sử dụng vi sinh vật có khả năng phân hủy hiệu quả độc chất có thể được ứng dụng để xử lý môi trường đất và nước bị nhiễm BTX (Jean *et al.*, 2002; Farhadian *et al.*, 2009). Những nghiên cứu về vi sinh vật phân hủy BTX trước đây cho thấy vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* M, *Pseudomonas aeruginosa* MN và *Bacillus subtilis* DM-04 được phân lập từ đất ô nhiễm xăng, dầu có khả năng phân hủy hỗn hợp BTX (Das and Mukherjee, 2007). Nghiên cứu của Shuguang *et al.* (2010) đã chứng minh vi khuẩn *Pseudomonas putida* CCMI852 được phân lập từ bể xử lý nước thải có khả năng phân hủy đồng thời xylene và toluene. Ngoài ra, theo Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Vũ Bích Triệu (2017), dòng vi khuẩn *Rhodococcus* sp. XL6.2 được phân lập từ hệ thống xử lý nước thải có khả năng phân hủy xylene cao. Cho đến nay, những nghiên cứu về sự phân hủy sinh học hydrocarbon thơm ở Việt Nam nói chung và ở Đồng bằng sông Cửu Long chỉ tập trung vào vi khuẩn phân hủy từng hợp chất riêng lẻ, chưa có nghiên cứu về sự phân hủy sinh học hỗn hợp hydrocarbon thơm được công bố. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn bản địa có khả năng phân hủy hỗn hợp BTX làm tiền đề cho những nghiên cứu ứng dụng tiếp theo về xử lý sinh học hỗn hợp hydrocarbon thơm trong nước thải từ các nhà máy lọc và sản xuất dầu ở Đồng bằng sông Cửu Long.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Phân lập vi khuẩn từ bùn lắng có khả năng phân hủy hỗn hợp BTX

Năm mẫu bùn lắng được thu tại bể chứa nước thải của nhà máy lọc hóa dầu ở Cần Thơ để phân lập

vi khuẩn có khả năng phân hủy hỗn hợp BTX. Mẫu sau khi thu được bảo quản ở 4°C cho đến khi sử dụng. Phương pháp phân lập vi khuẩn được thực hiện như sau: Cho 5 g mẫu bùn lắng vào bình tam giác chứa 50 mL môi trường khoáng tối thiểu (MM) gồm 1,4196 g Na₂HPO₄; 1,3609 g KH₄PO₄; 0,3 g (NH₄)₂SO₄; 0,0985 g MgSO₄.7H₂O; 5,75 mg CaCl₂.2H₂O; 2,75 mg FeSO₄.7H₂O; 1,7 mg MnSO₄.H₂O; 1,16 mg H₃BO₃; 1,15 mg ZnSO₄.7H₂O; 0,24 mg CuSO₄; 3,2 mg Na₂.EDTA; 0,235 mg CoCl₂.6H₂O; 0,125 mg (NH₄)₆Mo₂₄.4H₂O; 1000 mL H₂O; pH=7±0,2 và bổ sung 1% (v/v) từng loại hydrocarbon (BTX). Mẫu được lắc 200 vòng/phút trên máy lắc tròn và ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Sau một tuần, chuyển 1 mL mẫu sang môi trường MM mới có bổ sung 1% (v/v) từng loại hydrocarbon và tiếp tục nuôi cấy cùng một điều kiện thí nghiệm như đợt 1 trong một tuần. Sau đó, mẫu được để yên 30 phút, hút phần dịch lỏng và pha loãng với môi trường MM đến 10⁻⁵ (hệ số pha loãng 10). Một trăm µL dịch vi khuẩn của từng độ pha loãng được trải lên môi trường MM đặc có bổ sung 1% (v/v) từng loại hydrocarbon, mẫu được ủ ở 32°C. Sau một tuần, chọn những khuẩn lạc rời rạc, khác nhau về hình thái để phân lập thuần bằng phương pháp cấy ria trên môi trường Trypticase soy agar (30 g/L trypticase soy broth, 15 g/L agar). Vi khuẩn sau khi phân lập thuần sẽ được ghi nhận đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào sau 3 ngày nuôi cấy trên môi trường TSA (Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Vũ Bích Triệu, 2017).

2.2 Khảo sát sự tăng trưởng của vi khuẩn trong môi trường MM có bổ sung hỗn hợp BTX ở các nồng độ khác nhau

Chung một khuẩn lạc sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường TSA của mỗi dòng vi khuẩn phân lập được vào môi trường Trypticase soy broth (30 g/L) và lắc mẫu 200 vòng/phút trên máy lắc tròn trong 12 giờ. Sau đó, điều chỉnh mật độ quang của mẫu (OD_{600nm}) về 0,7 (tương đương 10⁹ CFU/mL). Chung 10 µL dịch vi khuẩn sau khi điều chỉnh mật độ quang vào ống nghiệm chứa 4 mL môi trường MM lỏng có bổ sung cả 3 loại hydrocarbon với nồng độ của từng loại hydrocarbon lần lượt là 0; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 và 1% (v/v). Mẫu được lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Mỗi dòng vi khuẩn tương ứng với mỗi nồng độ của từng hydrocarbon khảo sát được xem là một nghiệm thức thí nghiệm và được lặp lại 3 lần tương ứng với 3 ống nghiệm. Nghiệm thức đối chứng được thực hiện tương tự nhưng không bổ sung BTX. Sau 5 ngày nuôi cấy, so sánh sự khác nhau về độ đục (có tạo sinh khối) của từng nghiệm thức so với nghiệm thức đối chứng có chung vi khuẩn nhưng không bổ sung BTX. Các dòng vi khuẩn tạo nhiều sinh khối (độ đục

cao) khi có bổ sung BTX và không tạo sinh khối khi không bổ sung BTX sẽ được sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo (Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Vũ Bích Triệu, 2017).

2.3 Thiết lập đường chuẩn về mối tương quan giữa mật số vi khuẩn và giá trị mật độ quang (OD_{600nm})

Chung một khuẩn lạc sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường TSA của mỗi dòng vi khuẩn (được tuyển chọn từ kết quả ở Mục 2.2) vào môi trường TSB. Mẫu được lắc 200 vòng/phút trên máy lắc tròn trong 12 giờ. Pha loãng huyền phù của mỗi dòng vi khuẩn thành các độ pha loãng 1/2, 1/4, 1/8 và 1/16 của mẫu gốc. Sau đó, mật độ quang của các huyền phù vi khuẩn đã pha loãng được đo ở bước sóng 600 nm, đồng thời mật số vi khuẩn ở từng độ pha loãng được xác định bằng phương pháp đếm sống nhỏ giọt.

2.4 Khảo sát khả năng phân hủy hỗn hợp BTX của vi khuẩn trong môi trường MM lỏng

Chung một khuẩn lạc sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường TSA của mỗi dòng vi khuẩn (được tuyển chọn từ kết quả ở Mục 2.2) vào môi trường TSB. Mẫu được lắc 200 vòng/phút trên máy lắc tròn trong 12 giờ. Điều chỉnh mật độ quang (OD_{600nm}) về 0,7. Chung 10 µL vi khuẩn vào 4 mL môi trường MM lỏng có bổ sung BTX (dựa vào kết quả thí nghiệm ở Mục 2.2 để chọn nồng độ hydrocarbon thích hợp bổ sung vào thí nghiệm). Mẫu được lắc 200 vòng/phút trên máy lắc tròn và ở nhiệt độ phòng. Mỗi dòng vi khuẩn tương ứng với mỗi nồng độ của từng hydrocarbon khảo sát được xem là một nghiệm thức thí nghiệm và được lặp lại 3 lần tương ứng với 3 ống nghiệm. Nghiệm thức đối chứng được thực hiện tương tự nhưng không chung vi khuẩn. Sau 24 giờ nuôi cấy, tiến hành xác định độ đục của môi trường nuôi cấy (OD_{600nm}) đồng thời định lượng mỗi hydrocarbon còn lại trong môi trường nuôi cấy bằng phương pháp sắc ký khí GC-FID (Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Vũ Bích Triệu, 2017).

Phương pháp xác định nồng độ BTX trong môi trường nuôi cấy lỏng được thực hiện như sau: Sau

24 giờ nuôi cấy, mẫu được thu và ly tâm 13.000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút. Chuyển 500 µL dịch trong vào eppendorf 1,5 mL chứa 500 µL hexane. Mẫu được lắc 200 vòng/phút trong 5 phút trên máy lắc tròn. Sau đó, hút 500 µL pha lỏng nằm phía trên (BTX còn lại trong mẫu nuôi cấy sẽ hoà tan trong hexane) và cho vào eppendorf 2 mL. Lặp lại các bước trích BTX bằng dung môi hexane trong 3 lần liên tục cho mỗi ống nghiệm. Hàm lượng BTX còn lại trong mẫu được định lượng bằng phương pháp sắc ký khí GC-FID (GC-2014, Shimadzu) với cột SPBTM-5 fused silica capillary column (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm). Các thông số phân tích bao gồm nhiệt độ bơm 250°C, nhiệt độ phát hiện 250°C, khí mang N₂, tốc độ dòng 1,1 mL/phút, tỉ lệ chia dòng 30, thể tích bơm 1 µL. Chu trình nhiệt độ gồm: nhiệt độ ban đầu là 50°C (giữ 5 phút), sau đó nhiệt độ được tăng dần với tốc độ 10°C/phút cho đến 200°C thì dừng lại. Thời gian lưu của benzene là 3,3 phút, toluene là 5,2 phút, *p*-xylene là 7,8 phút, *m*-xylene là 8,0 phút và *o*-xylene là 8,6 phút.

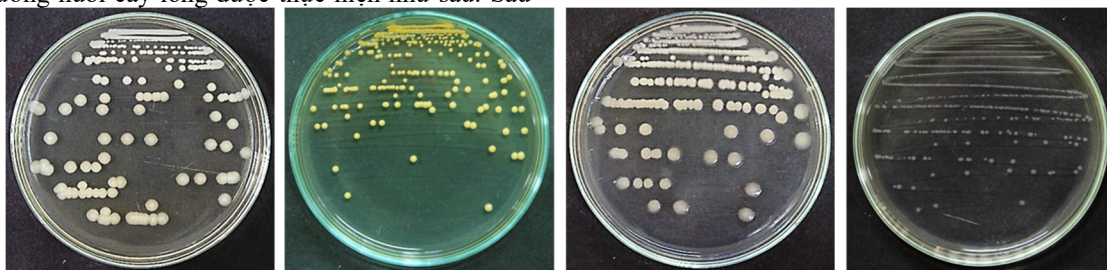
2.5 Phương pháp phân tích số liệu

Phần mềm Microsoft Excel 2010 được sử dụng để nhập và xử lý số liệu thô, tính các trung bình và vẽ biểu đồ. Phần mềm Minitab 16 được dùng để phân tích ANOVA và kiểm định trung bình các nghiệm thức bằng kiểm định Tukey.

3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Vi khuẩn có khả năng phân hủy hỗn hợp BTX

Từ 5 mẫu bùn lắng được thu tại bể nước thải của nhà máy lọc hóa dầu ở Cần Thơ, 21 dòng vi khuẩn có khả năng phát triển trên môi trường MM có bổ sung 1% (v/v) từng hợp chất khảo sát gồm BTX đã được phân lập. Khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn phân lập có hình tròn, bìa nguyên, màu cam, trắng sữa hoặc trắng ngà, bề mặt trơn hoặc nhẵn. Tế bào của tất cả các dòng vi khuẩn đều có hình que. Hình thái khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn đại diện được trình bày ở Hình 1.



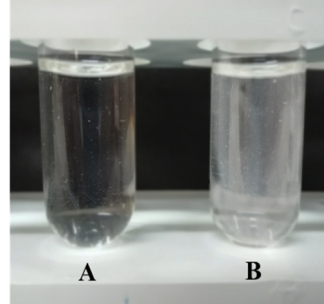
Hình 1: Hình thái khuẩn lạc của một số dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy BTX

3.2 Sự tăng trưởng của vi khuẩn trong môi trường MM có bổ sung hỗn hợp BTX ở các nồng độ khác nhau

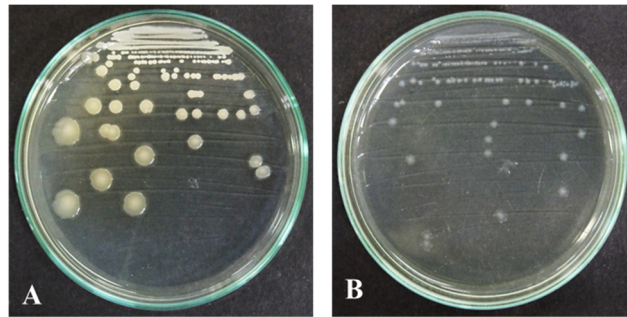
Trong 21 dòng vi khuẩn phân lập, 2 dòng BTX-S21 và BTX-S22 có khả năng sinh trưởng và tạo sinh khối trong môi trường MM có bổ sung hỗn hợp BTX ở tất cả các nồng độ khảo sát và khác biệt so với nghiệm thức đối chứng (không bổ sung BTX) sau 5 ngày nuôi cấy. Cả 2 dòng vi khuẩn này đều phát triển và tạo sinh khối cao nhất ở nồng độ từng loại BTX từ 0,01 - 0,25% (v/v). Sự khác biệt về sinh khối của vi khuẩn trong môi trường có bổ sung hỗn hợp BTX so với nghiệm thức đối chứng có chủng vi khuẩn và không bổ sung hỗn hợp BTX được thể hiện ở Hình 2.

Vì vậy, nồng độ 0,01; 0,05; 0,1 và 0,25 % (v/v) của từng hydrocarbon được bổ sung để khảo sát sự phân hủy hỗn hợp BTX của 2 dòng vi khuẩn BTX-S21 và BTX-S22. Về đặc điểm khuẩn lạc và tế bào, cả hai dòng vi khuẩn đều có khuẩn lạc tròn, bia nguyên, lồi, tế bào có hình que. Dòng vi khuẩn

BTX-S21 có khuẩn lạc màu trắng ngà, bề mặt trơn, kích thước 4 mm, tế bào có kích thước 4 x 0,5 μm. Dòng vi khuẩn BTX-S22 có khuẩn lạc màu trắng sữa, bề mặt nhẵn, kích thước 3 mm, tế bào có kích thước 3,5 x 1 μm. Hình thái khuẩn lạc của 2 dòng vi khuẩn trên môi trường TSA sau 3 ngày nuôi cấy được trình bày ở Hình 3.



Hình 2: Sự khác nhau về độ đục của dòng vi khuẩn BTX-S21 trong môi trường MM lỏng ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung BTX (A) và có bổ sung BTX (B)

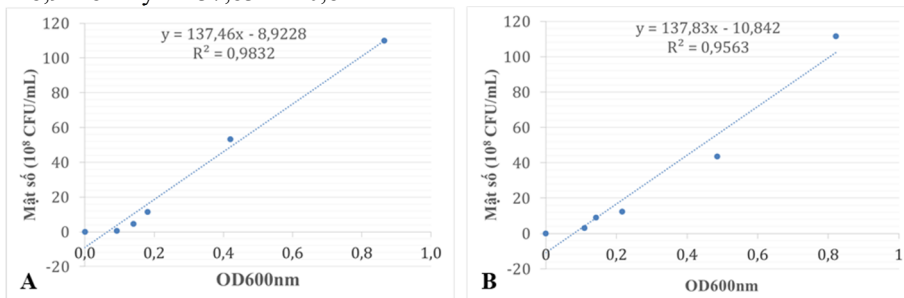


Hình 3: Hình thái khuẩn lạc của 2 dòng vi khuẩn BTX-S21 (A) và BTX-S22 (B) có khả năng sinh trưởng tạo sinh khối cao trong môi trường MM có bổ sung BTX ở các nồng độ khác nhau

3.3 Đường chuẩn về mối tương quan giữa mật số vi khuẩn và giá trị mật độ quang (OD_{600nm})

Từ kết quả đếm sống và giá trị OD_{600nm} đo được, đường chuẩn thể hiện mối tương quan giữa mật số vi khuẩn và giá trị OD_{600nm} được thiết lập (Hình 4). Theo đó, phương trình hồi quy của 2 dòng vi khuẩn BTX-S21 và BTX-S22 lần lượt là $y = 137,46x - 8,9228$ và $y = 137,83x - 10,842$. Cả 2

phương trình hồi quy đều có độ tin cậy trên 95%, nên mật số đếm sống của 2 dòng vi khuẩn BTX-S21 và BTX-S22 ở OD_{600nm} = 0,7 lần lượt là $87,30 \pm 1,47 \times 10^8$ và $85,64 \pm 3,74 \times 10^8$ CFU/mL. Như vậy, khi chủng 10 μL huyền phù từng dòng vi khuẩn BTX-S21 và BTX-S22 vào 4 mL môi trường MM lỏng thì mật số vi khuẩn tương đương 2×10^7 CFU/mL.

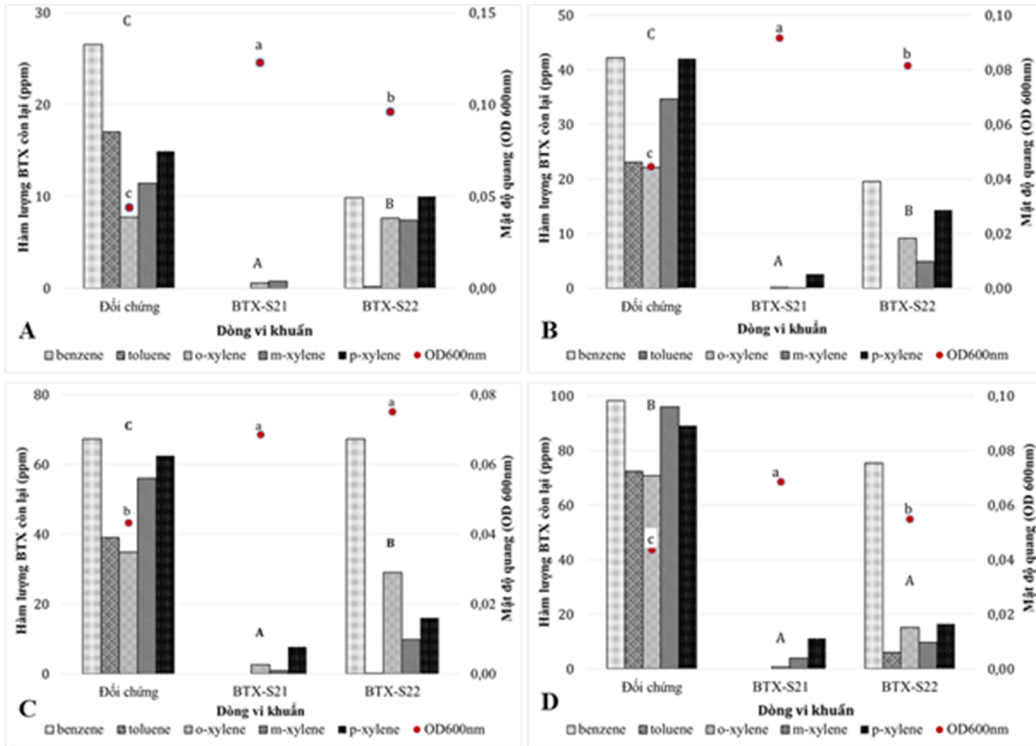


Hình 4: Đường chuẩn thể hiện mối tương quan giữa mật số vi khuẩn khi đếm sống và giá trị OD_{600nm} tương ứng của 2 dòng vi khuẩn BTX-S21 (A) và BTX-S22 (B)

3.4 Khả năng phân hủy hỗn hợp BTX của vi khuẩn

Hai dòng vi khuẩn BTX-S21 và BTX-S22 được nuôi cấy trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung hỗn hợp BTX với nồng độ từng hợp chất là 0,01; 0,05; 0,1 và 0,25 % (v/v) như là nguồn carbon

độc nhất. Sau 24 giờ nuôi cấy, cả 2 dòng vi khuẩn đều tạo sinh khối khác biệt có ý nghĩa thống kê (độ tin cậy 95%) so với nghiệm thức đối chứng. Điều này chứng tỏ cả 2 dòng vi khuẩn đều có khả năng sử dụng BTX để tăng trưởng, trong đó, dòng vi khuẩn BTX-S21 tạo sinh khối cao nhất ở 3 trong 4 nồng độ BTX khảo sát (Hình 5).



Hình 5: Mối liên hệ giữa hàm lượng BTX còn lại và mật độ quang của vi khuẩn sau 24 giờ nuôi cấy trong môi trường MM có bổ sung BTX ở các nồng độ khác nhau

A: nồng độ 0,01%; B: nồng độ 0,05%; C: nồng độ 0,1%; D: nồng độ 0,25%

Sự khác biệt về phần trăm phân hủy và mật độ quang ở độ tin cậy 95% của từng dòng vi khuẩn lần lượt được thể hiện bằng các kí tự viết hoa (A, B, C) và kí tự viết thường (a, b, c). Các số liệu đi theo chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%

Kết quả phân tích sắc ký khí cũng cho thấy hàm lượng BTX giảm đáng kể sau 24 giờ nuôi cấy. Trong đó, dòng vi khuẩn BTX-S21 có khả năng phân hủy hoàn toàn benzene, toluene ở cả 4 nồng độ khảo sát, xylene được phân hủy 95,42%; 97,78%; 92,87% và 94,14% lần lượt ở nồng độ 0,01; 0,5; 0,1 và 0,25% (v/v) BTX sau 24 giờ nuôi cấy. Dòng vi khuẩn BTX-S22 có khả năng phân hủy hơn 90% toluene ở cả 4 nồng độ khảo sát sau 24 giờ nuôi cấy, trong khi dòng này chỉ phân hủy được trung bình 35,04% benzene và 58,57% xylene trong cùng một điều kiện nuôi cấy. Cụ thể, dòng vi khuẩn BTX-S22 phân hủy được 98,96%, 100%, 99,80% và 91,68% toluene lần lượt ở 4 nồng độ khảo sát sau 24 giờ nuôi cấy. Như vậy, dòng vi khuẩn BTX-S22 phân hủy hiệu quả toluene, trong khi dòng vi khuẩn BTX-S21 phân hủy hỗn hợp BTX hiệu quả nhất (Hình 5).

Theo Otenio *et al.* (2005), dòng vi khuẩn *Pseudomonas putida* CCM1852 được phân lập tại hệ thống xử lý nước thải (Frilas, Bò Đào Nha) có khả năng phân hủy 0,03% (v/v) BTX với hiệu suất lần lượt là 0, 57 và 49% sau 16 giờ nuôi cấy. Dòng vi khuẩn *Pseudomonas putida* F1 phân hủy 100% benzene và toluene, 75% xylene sau 14 giờ nuôi cấy. Dòng vi khuẩn *Pseudomonas stutzeri* OX1 phân hủy 100% benzene và toluene, 90% xylene sau 24 giờ nuôi cấy ở nồng độ 0,13 - 0,22% (v/v) (Nagarajan and Loh, 2015). Ngoài ra, nghiên cứu của Kamal *et al.* (2017) cũng chứng minh dòng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. BTEX-30 có khả năng phân hủy 99% benzene, 99% toluene, 86% ethylbenzene và 82% xylene với nồng độ 0,125% (v/v) sau 45 giờ nuôi cấy. Trong nghiên cứu này, dòng vi khuẩn BTX-S21 có khả năng phân hủy hoàn toàn benzene và toluene, phân hủy xylene từ 92,87% đến 97,78%

sau 24 giờ nuôi cấy ở các nồng độ của từng hydrocarbon thơm trong hỗn hợp khảo sát là 0,01; 0,05; 0,1 và 0,25% (v/v). Như vậy, dòng vi khuẩn BTX-S21 có khả năng phân hủy BTX hiệu quả hơn với thời gian nhanh hơn và phân hủy được nhiều nồng độ BTX hơn so với các nghiên cứu trước đây. Do đó, dòng vi khuẩn BTX-S21 là dòng vi khuẩn bản địa tiềm năng sẽ làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo để tìm ra giải pháp làm sạch BTX trong nước thải theo phương pháp sinh học.

4 KẾT LUẬN

Từ 5 mẫu bùn lắng được thu trong bể chứa nước thải của nhà máy lọc hóa dầu, 21 dòng vi khuẩn có khả năng phát triển trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung 1% từng hydrocarbon khảo sát đã được phân lập, trong đó 2 dòng vi khuẩn BTX-S21 và BTX-S22 có khả năng tạo sinh khối nhanh khi môi trường được bổ sung BTX ở các nồng độ khác nhau sau 5 ngày nuôi cấy. Sau 24 giờ nuôi cấy, cả 2 dòng vi khuẩn này đều thể hiện khả năng phân hủy BTX cao, trong đó dòng vi khuẩn BTX-S21 có khả năng phân hủy hiệu quả BTX ở các nồng độ khảo sát (100% benzene, 100% toluene và xylene được phân hủy từ 92,87% đến 97,78%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Das, K., and Mukherjee, A. K., 2007. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from petroleum oil contaminated soil from North-East India. *Bioresource Technology*, 98 (7): 1339-1345.

Farhadian, M., Duchez, D., Vachelard, C., and Larroche, C., 2009. Accurate quantitative determination of monoaromatic compounds for the monitoring of bioremediation processes. *Bioresource Technology*, 100(1): 173-178.

Jean, J. S., Tsai, C. L., Ju, S. H., Tsao, C. W., and Wang, S. M., 2002. Biodegradation and transport

of benzene, toluene, and xylenes in a simulated aquifer: comparison of modelled and experimental results. *Hydrological Processes*, 16(16): 3151-3168.

- Kamal, K., Hamid, R. N., Mahnaz, M. A., Hossein, M., and Mojtaba, G. M., 2017. BTEX biodegradation on contaminated groundwater using a novel strain (*Pseudomonas* sp. BTEX-30). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 116: 234-242.
- Mandri, T., and Lin, J., 2007. Isolation and characterization of engine oil degrading indigenous microorganisms in Kwazulu-Natal, South Africa. *African Journal of Biotechnology*, 6(1): 23-27.
- Nagarajan, K., and Loh, K. C., 2015. Formulation of microbial cocktails for BTEX biodegradation. *Biodegradation*, 26(1): 51-63.
- Nguyễn Thị Phi Oanh và Nguyễn Vũ Bích Triệu, 2017. Phân lập vi khuẩn phân hủy xylene từ hệ thống xử lý nước thải. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 52a: 99-103.
- Otenio, M. H., Lopes da Silva, M. T., Oliveira Marques, M. L., Roseiro, J. C., and Bidoia, E. D., 2005. Benzene, toluene, xylene biodegradation by *Pseudomonas putida* CCM 852. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36(3): 258-261.
- Paixão, J. F., Nascimento, I. A., Pereira, S. A., Leite, M. B. L., Carvalho, G. C., Silveira, J. S. C. Jr., Rebouças, M., Matias, G. R. A., and Rodrigues, I. L. P., 2007. Estimating the gasoline components and formulations toxicity to microalgae (*Tetraselmis chuii*) and oyster (*Crassostrea rhizophorae*) embryos: an approach to minimize environmental pollution risk. *Environmental Resource*, 103(3): 365-374.
- Shuguang, X., Sun, W., Luo, C., and Cupples, A. M., 2010. Novel aerobic benzene degrading microorganisms identified in three soils by stable isotope probing. *Biodegradation*. 22(1): 71-81.