

# PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ ỨNG DỤNG MỘT SỐ VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI PROTEIN VÀO QUÁ TRÌNH XỬ LÝ NƯỚC RÒ RỈ CỦA BÃI RÁC NAM SƠN - HÀ NỘI

Trịnh Lê Hùng, Nguyễn Minh Nguyệt

*Khoa Hoá học, Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội*

## 1. Mở đầu

Trong môi trường tự nhiên, chính các vi sinh vật tham gia vào quá trình trao đổi chất, vì vậy chúng đóng vai trò quyết định vào quá trình làm sạch môi trường. Để có thể sử dụng được vi sinh vật trong quá trình xử lý các chất thải nói chung và nước thải nói riêng cần phải tìm ra các chủng loại vi khuẩn thích hợp, tiến hành nhân giống, nuôi trồng, tạo ra với số lượng lớn [1-6]. Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu phân lập, tuyển chọn và ứng dụng một số vi khuẩn có khả năng phân giải protein, góp phần xử lý nước thải có hàm lượng chất hữu cơ cao như nước rò rỉ từ bãi rác Nam Sơn - Hà Nội.

## 2. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

### *2.1. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn có khả năng phân giải Protein*

Phân lập từ các mẫu có nguồn khác nhau sau đây:

+ Mẫu 1: Tạo sinh khối tự nhiên. Cho vào bình nhựa nước, thay pepton bằng bổ sung thịt bò đã thuỷ phân, đường saccaro, các nguyên tố đa lượng và vi lượng, sục khí cho đến khi thấy nước đục (xuất hiện sinh khối của nhiều loại vi khuẩn có từ không khí).

+ Mẫu 2: Nước thải ra từ lò giết mổ súc vật ở Mai Động - Thanh Trì.

+ Mẫu 3: Nước rò rỉ từ bãi rác Nam Sơn - Sóc Sơn.

+ Mẫu 4: Nước trong bể nuôi cá cảnh.

+ Mẫu 5: Nguồn thải chứa nhiều chất tẩy rửa.

+ Mẫu 6: Nguồn nước thải gia đình.

Đã phân lập được 8 vi khuẩn có khả năng phân giải protein.

Bảng 1: Hình thái khuẩn lạc một số vi khuẩn phân giải protein

Mẫu	Kí hiệu vi khuẩn*	Đặc điểm hình thái
1	N	Màu trắng; bề mặt khô; mép tròn.
2	M	Màu vàng; bề mặt ướt, nhẵn, phẳng; mép tròn.
3	NS <sub>1</sub>	Màu trắng; bề mặt khô, nhẵn, lồi; mép chia thùy.
4	H1.1	Màu trắng; bề mặt ướt, nhẵn, phẳng; mép chia thùy
4	H1.2	Màu trắng; bề mặt ướt, nhẵn, phẳng; mép tròn.
5	H2.3	Màu trắng; bề mặt ướt, nhẵn, lồi; mép chia thùy.
5	H2.4	Màu trắng đục, chuyển thành màu nâu nếu để ra ngoài không khí; bề mặt ướt, nhẵn, lồi, mép tròn.
6	H3.3	Màu trắng; bề mặt ướt, nhẵn, phẳng; mép tròn.

\*Các kí hiệu vi khuẩn tạm thời được đánh dấu từ nguồn lấy

## 2.2. Xác định môi trường thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn

- Chuẩn bị các loại môi trường dịch thể vô trùng trong các bình tam giác, mỗi bình 30ml.

+ Môi trường 1: Thạch thường cải tiến.

+ Môi trường 2: Thịt bò đã thủy phân, các nguyên tố đa lượng, vi lượng.

(Thịt bò đã thủy phân do chúng tôi tự chế tạo, còn các nguyên tố đa lượng và vi lượng chúng tôi dùng “Phân bón tổng hợp” do Bộ môn Công nghệ hoá học - khoa Hoá học sản xuất)

- Dùng que cấy vô trùng, lấy vào mỗi bình tam giác đã có môi trường 1 khuẩn lạc của một loại vi khuẩn nhất định.

- Tiến hành lắc các bình đã cấy giống bằng máy lắc ( cung cấp oxi cho vi khuẩn phát triển ).

- Sau một ngày chúng tôi thấy các bình sử dụng môi trường 2 đục hơn bình sử dụng môi trường 1. Đếm vi khuẩn sống có mặt trong 1ml mẫu cho kết quả trình bày trong bảng 2.

Bảng 2: Số lượng vi khuẩn phát triển trong hai môi trường khác nhau.

Vi khuẩn	Môi trường 1	Môi trường 2
N	$2.10^6$	$9,2.10^7$
M	$1,7.10^6$	$5,7.10^7$
NS <sub>1</sub>	$3.10^5$	$7,2.10^6$

**Nhận xét:**

Qua bảng số liệu trên có thể khẳng định: Khả năng sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn trong môi trường 2 tốt hơn nhiều so với môi trường 1. Nguyên nhân là do môi trường này ngoài các axit amin đã được thủy phân từ thịt bò còn có thêm các nguyên tố đa lượng và vi lượng, là những chất cần thiết cho quá trình sinh trưởng và sinh sản của Vi sinh vật. Vì vậy, để tăng nhanh số lượng vi khuẩn cho mục đích của mình, chúng tôi đã sử dụng môi trường 2, để làm và rê tiến thay cho môi trường thạch thường cải tiến.

**2. 3. Xác định hoạt tính phân giải protein của các vi khuẩn**

Dùng phương pháp đặt thạch để xác định hoạt tính phân giải protein, đã thu được kết quả trong bảng 3.

**Bảng 3.** Khả năng phân giải của các vi khuẩn phân lập được.

Loại vi khuẩn	Đường kính phân giải	Khả năng phân giải
N	2,6cm	Tốt
M	1,6cm	Trung bình
NS <sub>1</sub>	1,2cm	Kém
H1.1	2,1cm	Tốt
H1.2	2,2cm	Tốt
H2.3	1,2cm	Kém
H2.4	1,4cm	Kém
H3.3	1,5cm	Trung bình

**2. 4. Kiểm tra khả năng phân huỷ chất hữu cơ của các vi khuẩn đối với nước thải Nam Sơn đã qua xử lý bằng phương pháp hoá học**

- Nước rò rỉ từ bãi rác Nam Sơn, xử lý qua vôi bão hoà, sục khí CO<sub>2</sub> để đưa pH về 8,5. Lọc bỏ kết tủa và chất rắn lơ lửng. Ký hiệu mẫu là NS1.

- Lấy vào các bình tam giác đã khử trùng bằng sức nóng ỨC, mỗi bình 30ml NS1.

- Cấy mỗi loại vi khuẩn vào một bình xác định.

- Đặt các bình trên máy lắc, cung cấp oxi cho vi khuẩn phát triển, sau đó theo dõi sự thay đổi chỉ số COD và nồng độ amôni để qua đó biết được khả năng phân huỷ các chất hữu cơ của từng loại vi khuẩn.

**Bảng 4.** Sự thay đổi COD và Amôni .

Vi khuẩn	Chỉ số COD(mg/l)				Hàm lượng Amôni(mg/l)			
	0 giờ	5 giờ	7 giờ	9 giờ	0 giờ	5 giờ	7 giờ	9 giờ
N	529	381	250	177	126,2	38,95	41,49	18,63
M	529			408	126,2			26,63
H1.1	529	357	310	230	126,2	37,13	38,58	24,74
H1.2	529	370	253	230	126,2	44,04	36,76	20,37
H2.3	529	395	255	230	126,2	40,04	34,22	19,94
H2.4	529	408	383	306	126,2	38,22	35,67	19,94
H3.3	529	395	480	357	126,2	36,76	34,22	15,58
NS <sub>1</sub>	529	495	467	459	126,2	35,67	35,67	19,50
Mẫu trắng	529	495	505		126,2	37,49	37,13	

Ghi chú: Một số ô trống là do các số liệu không xác định được.

*Nhận xét:*

Qua bảng số liệu trên chúng tôi thấy rằng:

Vi khuẩn N có khả năng oxy hoá các chất hữu cơ có trong nước thải tốt hơn cả. Các vi khuẩn H1.1, H1.2, H2.3 cũng có tác dụng tương đối tốt. Vi khuẩn NS<sub>1</sub> tồn tại ở trong nước thải Nam Sơn nhưng khả năng oxy hoá lại kém nhất.

Khả năng làm giảm amôni của các vi khuẩn chưa được làm rõ. Nguyên nhân có thể một phần do vi khuẩn sử dụng, một phần trong quá trình lãc làm cho amôni bay hơi, dẫn đến ở mẫu trắng cũng giảm đáng kể. Tuy vậy, vi khuẩn H3.3 vẫn là con có thể làm giảm amôni tốt nhất trong số này.

## 2. 5. Ứng dụng một vài vi khuẩn phân lập được để xử lý nước thải Nam Sơn

- Nước rò rỉ của bãi rác Nam Sơn đã qua tiền xử lý, được kí hiệu như sau:

NS1: Nước thải Nam Sơn đã xử lý qua vôi, sau đó sục khí CO<sub>2</sub> để đưa về môi trường trung tính.

NS2: Nước thải Nam Sơn đã xử lý qua vôi, thổi khí qua dàn mưa để đuổi amôni, sau đó sục khí CO<sub>2</sub> để đưa về môi trường trung tính.

NS3: Nước thải Nam Sơn đã xử lý qua bằng dung dịch phen nhôm và keo tụ.

- Chuẩn bị các bình nhựa, mỗi bình chứa 2 lít nước thải các loại. Bổ sung vào mỗi bình 200ml dịch vi khuẩn của một vài loại.

- Tiến hành sục khí ở điều kiện như nhau.

- Theo dõi sự thay đổi chỉ số COD và hàm lượng amôni và nitrat của các bình (theo thời gian). Kết quả được trình bày trong bảng 5 và bảng 6.

**Bảng 5.** Sự thay đổi chỉ số COD và hàm lượng Nitơ ( $\text{NH}_3$  và  $\text{NO}_3$ ) theo thời gian ở các mẫu khi sử dụng các vi khuẩn khác nhau.

Chỉ số	Thời gian (ngày)	NS1			NS2			NS3		
		V*	M	N	V*	M	N	V*	M	N
COD mg/l	0	1036	1036	1036	1161	1161	1161	1370	1370	1370
	1/2	813	1115	1042	865	1010	563	958	813	875
	2	716	508	498	571	571	539	861	788	654
	3	500	563	438	417	594	469	771	688	583
$\text{NH}_3$ mg/l	0	711	711	711	373	373	373	946	946	946
	1/2	327	324	150	127	219	253	797	836	824
	2	320	289	72,9	25,6	43,1	42,1	435	652	239
	3	129	112	32,3	28,1	52,0	24,0	295	448	87,0
$\text{NO}_3$ mg/l	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	0,76	1,38	0,83	0,77	0,89	0,58			
	2	0,82	0,74	1,90	0,77	0,74	0,85	2,65	1,71	0,92
	3	0,62	0,67	0,76	0,64	0,74	0,68	1,60	1,73	1,45

\*Sinh khối thu được từ Mẫu 1

**Bảng 6.** Khả năng giảm hàm lượng các chất hữu cơ và amôni theo thời gian (tính theo phần trăm đối với các mẫu)

Chỉ số	Thời gian (ngày)	NS1			NS2			NS3		
		V*	M	N	V*	M	N	V*	M	N
COD (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/2	22	-	-	26	13	52	30	41	36
	2	31	51	52	51	51	54	37	43	53
	3	52	46	58	64	49	60	44	50	58
$\text{NH}_3$ (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/2	54	54	79	66	41	32	16	12	13
	2	55	59	90	93	88	89	54	31	75
	3	82	82	96	93	86	94	69	53	91

\*Sinh khối thu được từ Mẫu 1

*Nhận xét:*

- Sinh khối V và vi khuẩn N, M có vai trò tích cực trong quá trình làm giảm chỉ số COD và nồng độ amôni ở tất cả các mẫu NS1, NS2, NS3.

- Ở cả 3 mẫu NS1, NS2, NS3 vi khuẩn N (Được phân lập từ mẫu của sinh khối V) có khả năng oxy hoá các chất hữu cơ và amôni lớn nhất, phù hợp với các kết quả nghiên cứu ở trên.

- Sinh khối V có khả năng làm giảm COD và amôni tương đối tốt, chỉ kém N vì V là hỗn hợp các vi sinh vật, không thuần khiết như N.

- Hàm lượng nitrat biến đổi không đáng kể.

**3. Kết luận**

Qua thực nghiệm, chúng tôi thu được một số kết quả sau:

1. Đã phân lập được một số loài vi khuẩn có khả năng phân giải protein và đã xác định được môi trường thuận lợi cho quá trình sinh trưởng và phát triển của chúng. Đó là môi trường gồm đường, thịt bò đã thuỷ phân và các nguyên tố đa lượng, vi lượng (Các chất này đều do Phòng nghiên cứu Công nghệ Hoá sinh- Bộ môn Công nghệ Hoá học - Khoa Hoá học - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà nội sản xuất).

2. Đã xác định được hoạt tính phân giải protein của các vi khuẩn mới được phân lập.

3. Một số vi khuẩn phân lập được đã tỏ ra có khả năng xử lý rất tốt nước rò rỉ từ bãi rác Nam Sơn, là loại nước có chỉ số COD và hàm lượng amôni đặc biệt cao.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty, *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*, Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật, Hà nội, 1976.
2. Glasgow, L.A, Particle size reduction by breakage in biological wastewater treatment, *Biotechnology and Bioengineering*, **25**(1983), pp. 901-918.
3. Fedorov, A. Y. et al., Bacterial utilization of phenolic wastewater components, *International Biodeterioration and Biodegradation*, **30**(1992), pp. 9-16.
4. Bruce E. Rittmanm, Perry L. McCatry, *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*, McGraw- Hill Higher Education, 2001.
5. Michael L. Shuler, Fikret Kargi, *Bioprocess Engineering*, Prentice Hall PTR New Jersey, 1992.
6. Winter J., *Environmental Processes 1* (Volume 11a), Wiley - VCH, 1999

**ISOLATION, SELECTION AND USE SOME PROTEOLYTIC  
MICROBES FOR TREATMENT OF LEACHATE FROM NAM SON  
LANDFILL AREA**

**Trinh Le Hung, Nguyen Minh Nguyet**

*Department of Chemical, College of Science, VNU*

Some microbes were isolated from wastewater. They were cultivated in the modified medium and used for treatment of leachate from Namson landfill area.