Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Phần A: Khoa học tự nhiên, Công nghệ và Môi trường
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2023.228

PHÂN LẬP VI KHUẨN TRONG NƯỚC THẢI CHẾ BIẾN THỦY SẢN CÓ KHẢ NĂNG HẤP THU SULFIDE

Phạm Anh Tuấn[1], Trần Ngọc Quế Linh[2], Võ Phát Tài[3], Nguyễn Đắc Khoa[4] và Nguyễn Thị Phi Oanh[3*]

[1]*Học viên ngành Công nghệ Sinh học Khóa 28, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ*
[2]*Sinh viên ngành Sinh học Khóa 45, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ*
[3]*Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ*
[4]*Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ*
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): ntpoanh@ctu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 24/07/2023
Sửa bài (Revised): 22/08/2023
Duyệt đăng (Accepted): 13/09/2023

Title: *Isolation of sulfide absorbing bacteria from seafood processing wastewater*

Author(s): *Pham Anh Tuan, Tran Ngoc Que Linh, Vo Phat Tai, Nguyen Dac Khoa and Nguyen Thi Phi Oanh[*]*

Affiliation(s): *Can Tho University*

TÓM TẮT

Trong tự nhiên, sulfide được tạo ra do vi khuẩn phân giải các hợp chất hữu cơ có chứa lưu huỳnh hoặc vi khuẩn khử sulfate. Nước thải chế biến thủy sản chứa sulfide dưới dạng H_2S, nếu không xử lý, sẽ gây ảnh hưởng đến môi trường, sinh vật thủy sinh và sức khoẻ cộng đồng. Từ mẫu nước thải thu ở các công ty chế biến thủy sản, 15 dòng vi khuẩn có khả năng hấp thu sulfide đã được phân lập. Các dòng vi khuẩn được khảo sát khả năng hấp thu sulfide trong môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung sulfide ở các nồng độ 40, 80 và 160 mg/L trong 24 giờ nuôi cấy. Dòng vi khuẩn SIN4.2 hấp thu sulfide hiệu quả nhất ở cả 3 nồng độ khảo sát và được được định danh là Pseudomonas sp. SIN4.2 dựa vào trình tự gen 16S-rRNA.

Từ khoá: *Hấp thu, nước thải chế biến thủy sản, Pseudomonas sp. SIN4.2, sulfide*

ABSTRACT

Sulfides are naturally formed by bacteria capable of decomposing sulfur-containing organic compounds or sulfate-reducing bacteria. Seafood processing wastewater contains sulfide in the form of H_2S, if untreated, it can affect the water environment, aquatic organisms, and public health. From wastewater samples collected at the seafood processing plants, 15 bacterial strains capable of absorbing sulfide were isolated and examined for their ability to absorb sulfide in the minimal medium supplemented with sulfide at concentrations of 40, 80, and 160 mg/L after 24 hours of incubation. Strain SIN4.2 performed the most effective absorption of sulfide at 3 concentrations and was identified as Pseudomonas sp. SIN4.2 based on 16S-rRNA gene sequence analysis.

Keywords: *Absorption, Pseudomonas sp. SIN4.2, seafood processing wastewater, sulfide*

1. GIỚI THIỆU

Chế biến thủy sản là một trong những ngành kinh tế chính của vùng đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Theo ước tính của Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu thủy sản Việt Nam, ĐBSCL có sản lượng xuất khẩu thủy sản cao nhất nước, chiếm 60%, trong đó, hai tỉnh Sóc Trăng và Cà Mau đứng đầu toàn vùng (Công Thương, 2021). Tuy nhiên, nước thải trong quá trình chế biến thủy sản cũng được quan tâm do chứa các hợp chất có khả năng gây ô nhiễm môi trường. Nước thải chế biến thủy sản chưa qua xử lý có hàm lượng chất hữu cơ cao và chứa nhiều hợp chất có mùi như amoniac (NH_3), hydrogen sulfide (H_2S) gây ảnh hưởng đến môi trường và sức khoẻ cộng đồng. Trong đó, mùi của các hợp chất chứa lưu huỳnh, chẳng hạn mùi trứng thối của H_2S là đặc trưng nhất (Rabbani et al., 2016).

Sulfide được tạo ra từ quá trình phân giải các hợp chất hữu cơ có chứa lưu huỳnh và quá trình khử sulfate (SO_4^{2-}) nhờ các vi sinh vật khử lưu huỳnh (Widdel et al., 2007). Ở nồng độ thấp, sulfide không tác động đáng kể nhưng gây mùi khó chịu. Ở nồng độ cao hơn, sulfide ảnh hưởng đến vi sinh vật, đặc biệt ảnh hưởng đến người. Ở nồng độ 150 đến 200 ppm, sulfide gây ức chế sinh trưởng ở nhiều loài vi khuẩn (Bitton, 2005). Ở người, tiếp xúc với sulfide nồng độ từ 5 đến 10 mg/L trong thời gian dài gây nhức đầu, mất ngủ; từ 20 đến 50 mg/L có thể gây kích ứng mắt, rối loạn tiêu hóa và chán ăn; tiếp xúc sulfide ở nồng độ từ 100 đến 200 mg/L gây tê liệt khứu giác, tổn thương mắt và phổi nghiêm trọng (Guidotti, 2010). Ngoài ra, sulfide còn là chất ăn mòn kim loại và các công trình cống bằng bê tông (Kahyarian et al., 2020).

Trong tự nhiên, vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh (sulphur oxidizing bacteria, SOB) có vai trò chính trong quá trình hấp thu H_2S và các hợp chất vô cơ có chứa lưu huỳnh khác như thiosulfate, sulfite và lưu huỳnh nguyên tố do các hợp chất này được vi khuẩn sử dụng như nguồn năng lượng hoặc nguồn carbon cho sự biến dưỡng của chúng. Tùy vào khả năng biến dưỡng, SOB được chia thành các nhóm như dị dưỡng, hỗn dưỡng, hóa dưỡng, quang tự dưỡng (Ehrlich & Newman, 2009). Vi khuẩn hấp thu H_2S được ứng dụng nhiều nhất là các loài hóa dưỡng vô cơ thuộc chi *Thiobacillus* như *Thiobacillus thioparus* (Chung et al., 2007). Ngoài ra, các loài SOB hóa dưỡng hữu cơ thuộc chi *Pseudomonas* và *Xanthomonas* cũng có khả năng oxy hóa H_2S (Chung et al., 1996; Ho et al., 2008; Xu et al., 2016).

ĐBSCL là nơi tập trung nhiều nhà máy chế biến thủy sản. Sự phát triển của ngành chế biến thủy sản dẫn đến vấn đề về nước thải chứa các chất gây ô nhiễm đang được quan tâm xử lý, đặc biệt ứng dụng biện pháp sinh học để xử lý nitrite (Luân và ctv., 2022) và phosphate (Uyên và ctv., 2023). Tuy nhiên, mùi hôi trong nước thải chế biến thủy sản phần lớn do hydrogen sulfide gây ra cũng cần được xử lý. Cho đến nay, chưa có nhiều nghiên cứu về xử lý sinh học sulfide ở ĐBSCL đã được công bố. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập các dòng vi khuẩn có khả năng hấp thu sulfide từ nước thải chế biến thủy sản, làm tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng về xử lý sinh học sulfide trong nước thải.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu mẫu

Mẫu nước được thu tại hệ thống xử lý nước thải của ba công ty chế biến thủy sản gồm Công ty Cổ phần Thủy sản Hải Sáng, Thới Thạnh, Thới Thuận, Thốt Nốt, Cần Thơ (10.3071922, 105.5034429), Công ty Cổ phần Thủy sản Trường Phát, Khu công nghiệp Trà Nóc, Bình Thủy, Cần Thơ (10.1019933, 105.7093094) và Công ty Cổ phần Thực phẩm Thái Hòa, An Hiệp, Châu Thành, Sóc Trăng (9.6434285, 105.9538377). Ở mỗi điểm, mẫu nước thải đầu vào của hệ thống xử lý nước thải được thu thập. Đối với công ty Hải Sáng, mẫu nước ở bể hiếu khí cũng được thu để phân lập vi khuẩn. Mẫu nước sau khi thu được chứa trong falcon 50 mL vô trùng và bảo quản ở 4ºC khi chuyển về phòng thí nghiệm để phân lập vi khuẩn.

2.2. Phân lập vi khuẩn trong nước thải có khả năng hấp thu sulfide

Mẫu nước (5 mL) được cho vào bình tam giác chứa 45 mL môi trường khoáng tối thiểu (MM) gồm 1,5 g/L K_2HPO_4, 1,5 g/L KH_2PO_4, 0,4 g/L NH_4Cl, 0,8 g/L $MgCl_2.6H_2O$, 0,1 g/L $CaCl_2.2H_2O$ (Hidayat et al., 2017) có bổ sung 2 g/L glucose và 0,25 g/L sodium sulfide (Na_2S), pH của môi trường được điều chỉnh để đạt giá trị 7,5±0,2. Vi khuẩn được nuôi cấy tĩnh (để yên) ở nhiệt độ phòng thí nghiệm (30±2ºC). Sau một tuần, 5 mL mẫu được chuyển sang môi trường tương tự và tiếp tục nuôi cấy trong cùng điều kiện như ban đầu. Mẫu sau khi chuyển và nuôi cấy 3 lần liên tiếp được sử dụng để phân lập vi khuẩn.

Dung dịch huyền phù vi khuẩn (100 µL) được hút và trải lên môi trường MM đặc có bổ sung 2 g/L glucose và 0,25 g/L Na_2S, mẫu được nuôi cấy ở 32ºC. Sau một tuần, những khuẩn lạc rời rạc, khác

nhau về hình thái được chọn để phân lập bằng phương pháp cấy ria trên môi trường Tryptone soya agar (TSA 30g/L tryptone soya broth, 15 g/L agar). Vi khuẩn sau khi phân lập thuần được ghi nhận đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào sau 3 ngày nuôi cấy trên môi trường TSA (Oanh & Triệu, 2017).

2.3. Khảo sát khả năng hấp thu sulfide của vi khuẩn phân lập

Chủng một khuẩn lạc của mỗi dòng vi khuẩn sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường TSA vào môi trường TSB và lắc mẫu 200 vòng/phút trên máy lắc tròn trong 18 giờ. Sau đó, mật độ quang (OD_{600nm}) của huyền phù vi khuẩn được điều chỉnh về 0,7 (tương đương 10^8 CFU/mL). Tiếp theo, chủng 40 µL huyền phù vi khuẩn (đã điều chỉnh mật độ quang) sang 4 mL môi trường MM có bổ sung 2 g/L glucose và Na_2S sao cho nồng độ sulfide được bổ sung vào môi trường lần lượt là 40, 80 và 160 mg/L. Nghiệm thức đối chứng được thực hiện tương tự nhưng không chủng vi khuẩn. Mẫu được để yên ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng sulfide còn lại trong môi trường nuôi cấy được xác định ở thời điểm 24 giờ.

2.4. Định lượng sulfide

Thiết lập đường chuẩn sulfide bằng phương pháp quang phổ với các nồng độ sulfide chuẩn gồm 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 và 160 mg/L, sử dụng Na_2S. Sulfide (200 µL) của từng nồng độ được cho vào 1 mL dung dịch zinc acetate 5 g/L. Sau đó, 400 µL thuốc thử p-aminodimethylaniline 0,75 g/L được bổ sung vào dung dịch acid sulfuric 2M, để yên hỗn hợp trong 5 - 10 phút. Sau đó, 100 µL dung dịch ferric chloride 12 g/L được hòa tan trong acid sulfuric 15 mM và để yên hỗn hợp trong 5 - 10 phút. Độ hấp thu quang phổ (ABS) của dung dịch được đo tương ứng với các nồng độ sulfide ở bước sóng 665 nm (Kushkevych et al., 2019 có hiệu chỉnh).

2.5. Giải trình tự gen 16S-rRNA của vi khuẩn có khả năng hấp thu sulfide hiệu quả

Dòng vi khuẩn có khả năng hấp thu sulfide hiệu quả được tuyển chọn và giải trình tự gen 16S-rRNA. Khuẩn lạc vi khuẩn sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường TSA được ly trích DNA và giải trình tự tại Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa, TP. Hồ Chí Minh, sử dụng cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') và 1492R (5'-TACGGYTACCTTG-TTACGACTT-3') (Frank et al., 2008) để khuếch đại gen 16S-rRNA. Thành phần của một phản ứng PCR 25 µL gồm 12,5 µL master mix; 0,5 µL cả hai loại mồi; 5 µL DNA; 7 µL nước. Chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR gồm 95°C (6 phút); 40 chu kỳ nhân số lượng DNA với nhiệt độ và thời gian tương ứng là 95°C (30 giây), 55°C (30 giây), 72°C (30 giây) và 72°C (5 phút). Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di trên gel agarose 1,5% và được giải trình tự bằng phương pháp Sanger. Trình tự nucleotide của gen 16S-rRNA ở vi khuẩn phân lập được so sánh với gen tương ứng của các vi khuẩn hiện có trong cơ sở dữ liệu NCBI bằng công cụ BlastN.

2.6. Xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Excel 2016 được sử dụng để lưu trữ và xử lý số liệu thô, tính các trung bình và vẽ biểu đồ. Phần mềm Minitab 18 được dùng để thống kê số liệu, phân tích ANOVA một nhân tố bằng kiểm định Tukey's.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

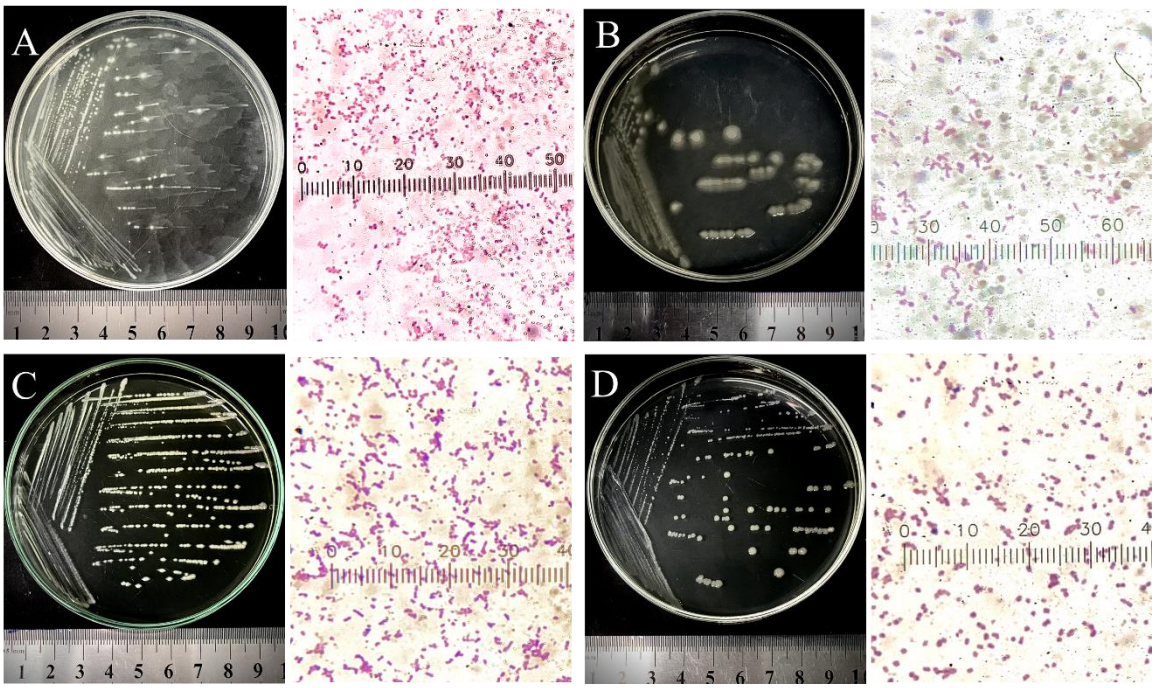
3.1. Phân lập vi khuẩn trong nước thải có khả năng hấp thu sulfide

Từ các mẫu nước được thu tại hệ thống xử lý nước thải của 3 công ty chế biến thủy sản, 15 dòng vi khuẩn có khả năng hấp thu sulfide đã được phân lập, trong đó, 9 dòng được phân lập từ Công ty Cổ phần Thủy sản Hải Sáng, 3 dòng được phân lập từ Công ty Cổ phần Thủy sản Trường Phát và 3 dòng được phân lập từ Công ty Cổ phần Thực phẩm Thái Hòa. Các dòng vi khuẩn được quan sát hình dạng, màu sắc, kích thước khuẩn lạc, hình dạng tế bào và nhuộm Gram. Về hình thái, vi khuẩn có khuẩn lạc tròn hoặc không đều, màu trắng hoặc vàng, bìa nguyên hoặc chia thùy, độ nổi lài hoặc mô, kích thước dao động từ 1,5 mm đến 9 mm, ngoại trừ 2 dòng vi khuẩn SAE6.3 và SIN3.1 có kích thước khuẩn lạc lớn hơn, từ 12 mm đến 24 mm. Tế bào của các dòng vi khuẩn có hình cầu hoặc hình que, tất cả đều Gram âm. Đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của các dòng vi khuẩn sau 3 ngày nuôi cấy trên môi trường TSA được thể hiện ở Bảng 1. Hình thái khuẩn lạc và tế bào của một số dòng vi khuẩn đại diện được trình bày ở Hình 1.

Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập

TT	Nguồn gốc	Ký hiệu dòng	Đặc điểm khuẩn lạc				Đặc điểm tế bào			
			Hình dạng	Màu sắc	Bìa	Độ nổi	Kích thước (mm)	Hình dạng	Kích thước (µm)	Gram
1	Hải Sáng (Cần Thơ)	SAE6.1	tròn	trắng ngà	nguyên	lài	4	cầu	0,5	-
2		SAE6.2	tròn	trắng sữa	nguyên	lài	2	que	0,5x1	-
3		SAE6.3	không đều	trắng sữa	nguyên	lài	24x18	cầu	0,5	-
4		SIN5.1	tròn	trắng ngà	chìa thùy	lài	9	cầu	0,5	-
5		SIN5.2	không đều	trắng ngà	nguyên	lài	4x3	cầu	1	-
6		SIN6.1	tròn	trắng sữa	nguyên	mô	1,5	que	0,5x1	-
7		SIN6.2	tròn	trắng ngà	nguyên	mô	4	cầu	0,5	-
8		SIN6.3	tròn	trắng sữa	nguyên	lài	3	cầu	1	-
9		SIN6.4	không đều	trắng sữa	chia thùy	lài	4x2	que	0,5x2,5	-
10	Trường Phát (Cần Thơ)	SIN4.1	không đều	vàng	chia thùy	mô	3x4	cầu	0,5	-
11		SIN4.2	không đều	trắng ngà	nguyên	lài	4x4,5	que	0,5x1,5	-
12		SIN4.3	tròn	trắng ngà	nguyên	lài	4	cầu	1	-
13	Thái Hòa (Sóc Trăng)	SIN3.1	không đều	trắng ngà	chìa thùy	lài	12x15	cầu	0,5	-
14		SIN3.2	không đều	trắng sữa	chìa thùy	lài	3x6	cầu	1	-
15		SIN3.3	không đều	vàng	chia thùy	lài	2x3	que	0,5x3	-

Ghi chú: AE: nước thải thu ở bể xử lý hiếu khí, IN: nước thải đầu vào.



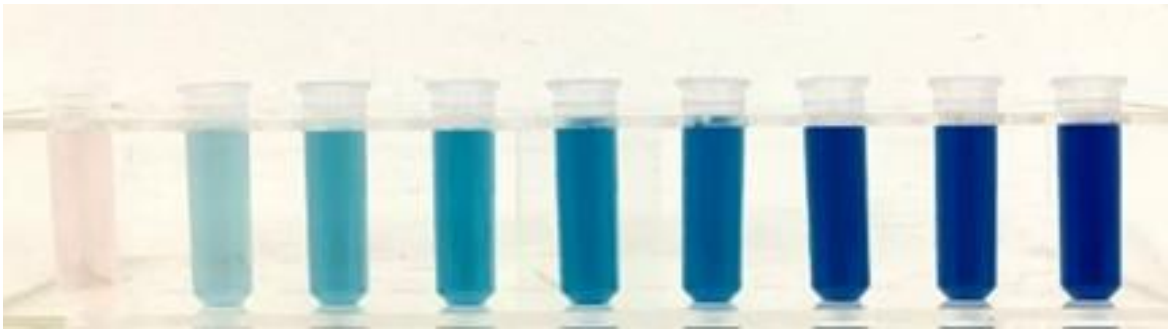
Hình 1. Hình thái khuẩn lạc và tế bào (phóng đại 1000 lần) của 4 dòng vi khuẩn đại diện

Ghi chú: A: SAE6.3, B: SIN4.2, C: SIN5.2, D: SIN6.3

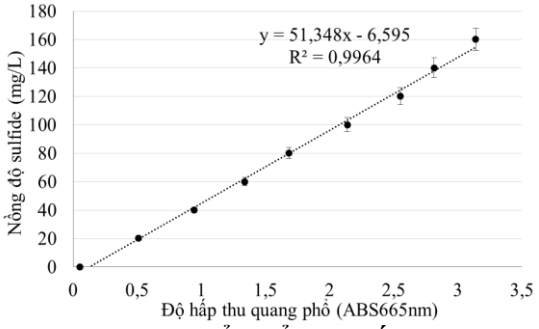
3.2. Thiết lập đường chuẩn định lượng sulfide

Khả năng hấp thu sulfide của các dòng vi khuẩn được xác định dựa vào phản ứng giữa sulfide với kẽm acetate, p-aminodimethylaniline và $FeCl_3$ tạo phức màu xanh. Phức màu của hỗn hợp từ xanh nhạt đến đậm tương ứng với nồng độ sulfide trong mẫu từ thấp tới cao (Hình 2).

Đường chuẩn thể hiện mối liên hệ giữa nồng độ sulfide (mg/L) và độ hấp thu quang phổ (ABS_{665nm}) của phức màu được minh họa ở Hình 3. Phương trình hồi quy tuyến tính có dạng y = 51,348x – 6,595 với độ tin cậy 99,64%, trong đó x là độ hấp thu quang phổ của dung dịch ở bước sóng 665 nm và y là nồng độ sulfide.



Hình 2. Phản ứng đổi màu của dung dịch sulfide ở các nồng độ (mg/L) khác nhau khi tạo phức với kẽm acetate, p-aminodimethylaniline và $FeCl_3$



Hình 3. Đường chuẩn thể hiện mối liên hệ giữa nồng độ sulfide (mg/L) và độ hấp thu quang phổ (ABS_{665nm})

3.3. Khảo sát khả năng hấp thu sulfide của các dòng vi khuẩn phân lập

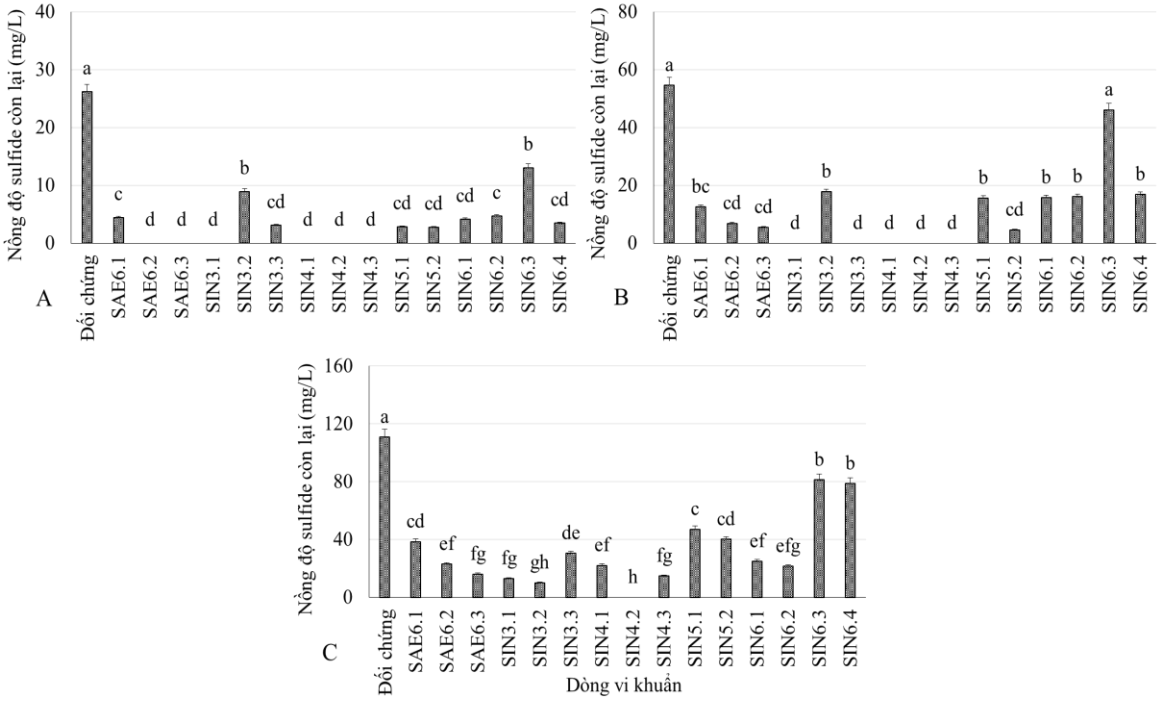
Kết quả khảo sát hấp thu sulfide của 15 dòng vi khuẩn phân lập cho thấy có sự khác biệt về khả năng hấp thu giữa các dòng vi khuẩn khi được nuôi cấy trong môi trường MM có bổ sung glucose và sulfide với các nồng độ 40, 80, 160 mg/L và với nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn ở thời điểm 24 giờ nuôi cấy. Ở cả 3 nồng độ khảo sát thì sulfide trong các nghiệm thức đối chứng đều giảm. Sự giảm nồng độ này có lẽ do Na_2S khi vào môi trường đã được chuyển hóa thành H_2S có khả năng bay hơi. Tuy nhiên, sự hấp thu sulfide của tất cả các dòng vi khuẩn ở các nồng độ khảo sát đều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không chủng vi khuẩn, ngoại trừ dòng SIN6.3 ở nồng độ 80 mg/L (Hình 4).

Khi được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung 40 mg/L sulfide, tất cả các dòng khảo sát đều có khả năng hấp thu sulfide, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Sáu dòng vi khuẩn gồm SAE6.2, SAE6.3, SIN3.1, SIN4.1, SIN4.2, SIN4.3 có khả năng hấp thu hiệu quả nhất ở thời điểm 24 giờ nuôi cấy.

Ở nồng độ 80 mg/L, các dòng vi khuẩn đều có khả năng hấp thu sulfide, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng, ngoại trừ dòng SIN6.3. Năm dòng vi khuẩn gồm SIN3.1, SIN3.3, SIN4.1, SIN4.2, SIN4.3 hấp thu sulfide hiệu quả nhất ở thời điểm 24 giờ nuôi cấy.

Khi khảo sát ở nồng độ 160 mg/L, tất cả các dòng vi khuẩn đều hấp thu sulfide, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Khả năng hấp thu của các dòng vi khuẩn cũng khác nhau, khác biệt ý nghĩa thống kê đối với một số dòng vi khuẩn. Trong 15 dòng vi khuẩn khảo sát, dòng vi khuẩn SIN4.2 có khả năng hấp thu sulfide hiệu quả nhất ở nồng độ 160 mg/L.

Như vậy, trong các nồng độ khảo sát, hai dòng vi khuẩn SIN4.1 và SIN4.3 được phân lập từ nước thải của Công ty Cổ phần Thủy sản Trường Phát và dòng SIN3.1 được phân lập từ nước thải của Công ty Cổ phần Thực phẩm Thái Hòa có khả năng hấp thu hiệu quả sulfide ở 2 nồng độ 40 mg/L và 80 mg/L. Cả ba dòng vi khuẩn này đều được phân lập từ mẫu nước thải đầu vào của hệ thống xử lý. Đặc biệt, dòng vi khuẩn SIN4.2 cũng được phân lập từ nước thải đầu vào của Công ty Cổ phần Thủy sản Trường Phát có khả năng hấp thu hiệu quả nhất ở cả 3 nồng độ sulfide khảo sát vào thời điểm 24 giờ nuôi cấy. Kết quả nghiên cứu cho thấy vi khuẩn được phân lập từ nước của bể xử lý hiếu khí có khả năng hấp thu sulfide ở nồng độ thấp (40 mg/L), chẳng hạn, 2 dòng vi khuẩn SAE6.2 và SAE6.3 được phân lập từ nước của bể hiếu khí ở Công ty Cổ phần Thủy sản Hải Sáng. Các dòng vi khuẩn có khả năng hấp thu sulfide ở nồng độ cao hơn (80 mg/L và 160 mg/L) là những dòng vi khuẩn được phân lập từ nước thải đầu vào có lẽ do nguồn nước thải này có chứa hàm lượng sulfide cao và vi khuẩn nơi đây đã thích nghi với nồng độ cao của sulfide. Đặc biệt, dòng vi khuẩn SIN4.2 được phân lập từ nước thải đầu vào của Công ty Cổ phần Thủy sản Trường Phát có khả năng hấp thu sulfide hiệu quả nhất ở nồng độ thấp (40 mg/L) đến cao (160 mg/L).



Hình 4. Khả năng hấp thu sulfide của các dòng vi khuẩn sau 24 giờ nuôi cấy

Ghi chú: A: Nồng độ 40 mg/L, B: Nồng độ 80 mg/L và C: Nồng độ 160 mg/L. Trong cùng một nồng độ, các ký tự chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Theo nghiên cứu của Chen et al. (2010), dòng vi khuẩn H7 được nuôi cấy 24 giờ ở điều kiện vi hiếu khí trong môi trường có bổ sung sulfide có khả năng oxy hóa sulfide. Khi sulfide được bổ sung 100 mg/L và 200 mg/L, dòng H7 hấp thu sulfide hoàn toàn. Ở nồng độ 280 mg/L, dòng H7 bị ức chế và hiệu suất hấp thu sulfide chỉ đạt 22,96%. Chen et al. (2022) đã nuôi cấy dòng vi khuẩn LYH-2 trong môi trường có chứa 100 - 400 mg/L sulfide trong 50 giờ. Kết quả cho thấy ở nồng độ 100 và 200 mg/L, dòng LYH-2 có khả năng hấp thu sulfide hiệu quả. Ở nồng độ 300 và 400 mg/L, khả năng tăng trưởng của vi khuẩn giảm. Như vậy, các kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy nồng độ sulfide 100 và 200 mg/L là phù hợp cho sự hấp thu của vi khuẩn. Trong nghiên cứu này, nồng độ sulfide được khảo sát tối đa là 160 mg/L và dòng vi khuẩn SIN4.2 có khả năng hấp thu sulfide hiệu quả nhất. Như vậy, khả năng hấp thu sulfide của dòng vi khuẩn SIN4.2 cũng phù hợp với kết quả của các nghiên cứu đã công bố.

3.4. Định danh vi khuẩn hấp thu sulfide hiệu quả

Trong các dòng vi khuẩn phân lập, dòng vi khuẩn SIN4.2 có khả năng hấp thu sulfide hiệu quả nhất ở các nồng độ khảo sát nên được chọn để giải trình tự gen 16S-rRNA. Kết quả giải trình tự cho thấy dòng SIN4.2 có trình tự gen 16S-rRNA tương đồng 99,93% với loài *Pseudomonas otitidis* nên được định danh là *Pseudomonas* sp. SIN4.2. Behera et al. (2014) đã phân lập vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh, các dòng này cũng thuộc chi *Pseudomonas* và được định danh là *Pseudomonas* spp. SOB-3, *Pseudomonas* spp. SOB-4, *Pseudomonas* spp. SOB-5 và *Pseudomonas* spp. SOB-12. Theo nghiên cứu của Hidayat et al. (2019), trong 3 dòng vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh tiềm năng AH18, AH25 và AH28 thì dòng AH18 cũng được định danh thuộc chi *Pseudomonas*, 2 dòng AH25 và AH28 thuộc chi *Achromobacter* dựa vào trình tự gen 16S-rRNA. Các kết quả này chứng tỏ *Pseudomonas* ngoài khả năng phân hủy các hợp chất hữu cơ gây ô nhiễm môi trường như polyethylene (Tamnou et al., 2021), các hydrocarbon hiện diện trong xăng dầu (Baig et al., 2022), phenol (Mahgoub et al., 2023) còn có khả năng hấp thu hợp chất có mùi như H_2S trong nước thải. Chính vì vậy, vi khuẩn thuộc chi *Pseudomonas* là vi khuẩn tiềm năng có thể ứng dụng vào xử lý môi trường bằng phương pháp sinh học.

4. KẾT LUẬN

Từ mẫu nước thải được thu ở các công ty chế biến thủy sản ở Cần Thơ và Sóc Trăng, 15 dòng vi

khuẩn có khả năng hấp thu sulfide đã được phân lập. Dòng vi khuẩn SIN4.2 được phân lập từ nước thải đầu vào được xem là vi khuẩn tiềm năng do có khả năng hấp thu sulfide hiệu quả nhất ở cả 3 nồng độ khảo sát trong số các dòng vi khuẩn được phân lập và khảo sát. Dựa vào kết quả phân tích và so sánh trình tự gen 16S-rRNA, dòng vi khuẩn SIN4.2 được được định danh là *Pseudomonas* sp. SIN4.2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Baig, Z. T., Abbasi, S. A., Memon, A. G., Naz, A., & Soomro, A. F. (2022). Assessment of degradation potential of *Pseudomonas* species in bioremediating soils contaminated with petroleum hydrocarbons. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 97(2), 455-465. https://doi.org/10.1002/jctb.6820

Behera, B. C., Patra, M., Dutta, S. K., & Thatoi, H. N. (2014). Isolation and characterization of sulphur oxidizing bacteria from mangrove soil of Mahanadi river delta and their sulphur oxidizing ability. *Journal Applied and Environmental Microbiology*, *2*(1), 1-5. https://doi.org/10.12691/ajmr-2-1-6

Bitton, G. (2005). Wastewater *Microbiology*. John Wiley & Sons. https://doi.org/10.1002/0471717967

Chen, C., Wang, A., Ren, N., Zhao, Q., Liu, L., Adav, S. S., Lee, D. J., & Chang, J. S. (2010). Enhancing denitrifying sulfide removal with functional strains under micro-aerobic condition. *Process Biochemistry*, *45*(6), 1007-1010. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.02.013

Chen, L., Li, W., Zhao, Y., Zhou, Y., Zhang, S., & Meng, L. (2022). Isolation and application of a mixotrophic sulfide-oxidizing *Cohnella* thermotolerans LYH-2 strain to sewage sludge composting for hydrogen sulfide odor control. *Bioresource Technology*, *345*, 126557. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126557

Chung, Y. C., Ho, K. L., & Tseng, C. P. (2007). Two-stage biofilter for effective NH_3 removal from waste gases containing high concentrations of H_2S. *Journal of the Air & Waste Management Association*, *57*(3), 337-347. https://doi.org/10.1080/10473289.2007.10465332

Chung, Y. C., Huang, C., & Tseng, C. P. (1996). Biodegradation of hydrogen sulfide by a laboratory-scale immobilized *Pseudomonas putida* CH11 biofilter. *Biotechnology Progress*, *12*(6), 773-778. https://doi.org/10.1021/bp960058a

Công Thương. (2021). *Xuất khẩu thủy sản Đồng bằng sông Cửu Long đứng đầu cả nước*. https://congthuong.vn/xuat-khau-thuy-san-dong-bang-song-cuu-long-dung-dau-ca-nuoc-159125.html.

Ehrlich, H. L., & Newman, D. K. (2009). Geomicrobiology of sulfur. *Geomicrobiology* , (pp.439-489). 5th ed. CRC Press, Boca Raton. https://doi.org/10.1201/9780849379079.ch19

Frank, J. A., Reich, C. I., Sharma, S., Weisbaum, J. S., Wilson, B. A., & Olsen, G. J. (2008). Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S-rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(8), 2461-2470. https://doi.org/10.1128/AEM.02272-07

Guidotti, T. L. (2010). Hydrogen sulfide: advances in understanding human toxicity. *International Journal of Toxicology*, *29*(6), 569-581. https://doi.org/10.1177/1091581810384882

Hidayat, M. Y., Saud, H. M., & Samsudin, A. A. (2017). Isolation and characterisation of sulphur oxidizing bacteria isolated from hot spring in Malaysia for biological deodorisation of hydrogen sulphide in chicken manure. *Media Peternakan*, *40*(3), 178-187. https://doi.org/10.5398/medpet.2017.40.3.178

Hidayat, M. Y., Saud, H. M., & Samsudin, A. A. (2019). Reduction of hydrogen sulphide in chicken manure by immobilized sulphur oxidising bacteria isolated from hot spring. *Microbiology and Biotechnology Letters*, *47*(1), 116-124. https://doi.org/10.4014/mbl.1801.01005

Ho, K. L., Chung, Y. C., Lin, Y. H., & Tseng, C. P. (2008). Microbial populations analysis and field application of biofilter for the removal of volatile-sulfur compounds from swine wastewater treatment system. *Journal of Hazardous Materials*, *152*(2), 580-588. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.021

Kahyarian, A., Brown, B., & Nešić, S. (2020). The unified mechanism of corrosion in aqueous weak acids solutions: A review of the recent developments in mechanistic understandings of mild steel corrosion in the presence of carboxylic acids, carbon dioxide, and hydrogen sulfide. *Corrosion*, 76(3), 268-278. https://doi.org/10.5006/3474

Kushkevych, I., Dordević, D., & Vítězová, M. (2019). Toxicity of hydrogen sulfide toward sulfate-reducing bacteria *Desulfovibrio piger* Vib-7. *Archives of Microbiology*, *201*(3), 389-397. https://doi.org/10.1007/s00203-019-01625-z

Luân, T. V., Phú, P. C., Trang, P. T., Tài, V. P., & Oanh, N. T. P. (2022). Phân lập vi khuẩn trong

nước thải chế biến thủy sản có khả năng hấp thu nitrite. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 58* (CĐ Khoa học tự nhiên), 217-224. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2022.140

Mahgoub, S. A., Qattan, S. Y., Salem, S. S., Abdelbasit, H. M., Raafat, M., Ashkan, M. F., Al-Quwaie, D. A., Motwali, E. A., Alqahtani, F. S., & Abd El-Fattah, H. I. (2023). Characterization and biodegradation of phenol by *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella variicola* strains isolated from sewage sludge and their effect on soybean seeds germination. *Molecules*, *28*(3), 1203. https://doi.org/10.3390/molecules28031203

Oanh, N. T. P., & Triệu, N. V. B. (2017). Phân lập vi khuẩn phân hủy xylene từ hệ thống xử lý nước thải. *Tạp chí Khoa học* Đại *học Cần Thơ*, *52*, 99-103. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2017.115

Rabbani, K. A., Charles, W., Kayaalp, A., Cord-Ruwisch, R., & Ho, G. (2016). Pilot-scale biofilter for the simultaneous removal of hydrogen sulphide and ammonia at a wastewater treatment plant. *Biochemical Engineering* Journal, *107*, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.11.018

Tamnou, E. B. M., Arfao, A. T., Nougang, M. E., Metsopkeng, C. S., Ewoti, O. V. N., Moungang, L. M., Nana, P. A., Takang-Etta, L. R. A., Perrière, F., Sime-Ngando, T., & Nola, M. (2021). Biodegradation of polyethylene by the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* in acidic aquatic microcosm and effect of the environmental temperature. *Environmental Challenges*, *3*, 100056. https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100056

Uyên, C. T., Qui, N. V., Tài, V. P., Liên, N. T. P., Anh, H. Đ. K., & Oanh, N. T. P. (2023). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn trong nước thải chế biến thủy sản có khả năng hấp thu và hóa hướng động theo sodium tripolyphosphate. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, *59*(6), 25-33. https://doi.org/10.22144/ctujos.2023.217

Widdel, F., & Bak, F. (1992). Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria. In *The prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications* (pp. 3352-3378). New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2191-1_21

Xu, X. J., Chen, C., Guo, H. L., Wang, A. J., Ren, N. Q., & Lee, D. J. (2016). Characterization of a newly isolated strain *Pseudomonas* sp. C27 for sulfide oxidation: Reaction kinetics and stoichiometry. *Scientific Reports*, *6*(1), 21032. https://doi.org/10.1038/srep21032