

TUYỂN CHỌN VI KHUẨN SINH PECTINASE ỨNG DỤNG TRONG XỬ LÝ NƯỚC THẢI LÀNG NGHỀ SẢN XUẤT TINH BỘT DONG RIỀNG

Trần Liên Hà¹, Nguyễn Thị Linh², Nguyễn Như Ngọc³, Nguyễn Văn Cách⁴

^{1,2,4}Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội

³Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Hiện nay, sản xuất tinh bột từ củ dong riềng (*Canna edulis*) đang ngày càng được mở rộng và phát triển khắp cả nước, đóng góp đáng kể vào sự phát triển kinh tế của địa phương. Tuy nhiên, việc sản xuất này chưa có nhà máy lớn mà chỉ ở các làng nghề, do vậy chưa có hệ thống xử lý nước thải và bã thải rắn nên các chất thải này thường đổ thẳng ra môi trường gây tình trạng ô nhiễm môi trường nghiêm trọng, bức xúc cho người dân và xã hội. Nước thải của quá trình sản xuất bột dong riềng chứa pectin, do đó trong quá trình xử lý nước thải này bằng phương pháp hiếu khí tạo ra rất nhiều bọt khí gây tràn bể, kéo theo bùn và sinh khối vi sinh vật. Điều này gây cản trở lớn tới việc sục khí và làm giảm hiệu quả của quá trình xử lý. Để phát triển giải pháp xử lý nước thải làng nghề sản xuất tinh bột dong riềng hiệu quả hơn, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm tuyển chọn chủng vi khuẩn bản địa có năng lực sinh pectinase để phân giải pectin trong nước thải. Kết quả đã tuyển chọn được chủng N3 sinh pectinase với hoạt lực cao nhất đạt 29,4 U/ml. Chủng N3 được định danh bằng đặc tính sinh lý, sinh hóa và bằng kỹ thuật 16S - RNA, kết quả chủng N3 có tương đồng 99% với chủng *Bacillus mojavensis* IFO 15718 và có tên *Bacillus mojavensis* N3. Thử nghiệm xử lý nước thải làng nghề bổ sung chế phẩm có chủng N3 bước đầu đã làm giảm lượng bọt tạo ra và hiệu suất xử lý COD đạt 85,6%.

Từ khóa: *Bacillus mojavensis*, *Canna edulis*, pectinase, xử lý nước thải làng nghề.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các làng nghề sản xuất tinh bột dong riềng ở Việt Nam đang phát triển mở rộng trên khắp cả nước. Lợi ích kinh tế từ hoạt động sản xuất này đã đóng góp phần lớn vào sự phát triển nền kinh tế đất nước. Mặt trái của các hoạt động này là tình trạng ô nhiễm môi trường ngày càng nghiêm trọng. Nguồn nước thải sau quá trình nghiền củ, lắng, lọc bột thường kéo theo các hợp chất: tinh bột, cellulose, xylan, protein và pectin vốn chứa trong củ dong riềng (Zhang J. và cộng sự, 2010). Do các hợp chất hữu cơ này làm chỉ số ô nhiễm của nước thải cao, đặc biệt là BOD₅; COD; SS; tổng N; tổng P cao hơn TCVN 5945-2005 hàng chục lần. Đặc biệt sau khâu lắng, lọc, tách bã và bột đen từ củ dong riềng có pH thấp, chỉ số ô nhiễm cao, BOD₅, COD vượt tiêu chuẩn cho phép đến 200 lần. Theo đánh giá của Trần Văn Thế (2010), thiệt hại kinh tế do chất thải phát sinh từ các làng nghề sản xuất tinh bột từ 2,9 đến 5,6 tỷ đồng/làng nghề/năm, như làng nghề chế biến tinh bột Quế Dương (5,7 tỷ đồng/năm); làng nghề bún khô Minh Hòa (4,3 tỷ đồng/năm); làng nghề miến dong thôn Phương (4,04 tỷ đồng/năm); làng nghề bún ướt thôn Thượng (3,79 tỷ đồng/năm) (Trần Văn Thế và cộng sự, 2010).

Trong những năm gần đây, một số nhà khoa học đã nghiên cứu áp dụng các giải pháp sinh học để xử lý hiệu quả nguồn chất thải này. Tác giả Đỗ Thị Thúy Hằng và cộng sự (2015) đã phân lập được chủng *Bacillus amyloliquefaciens* H12 có hoạt tính amylase cao để áp dụng xử lý nước thải làng nghề chế biến tinh bột (Đỗ Thị Thúy Hằng và cộng sự, 2015). Trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Như Ngọc (2016) cũng đã phân lập được chủng *Bacillus* NT1 có khả năng phân giải các hợp chất hữu cơ xylan; cellulose; tinh bột, protein) và ứng dụng xử lý nước thải giảm COD từ 80 đến 90% (Nguyễn Như Ngọc và cộng sự, 2016). Tuy nhiên, trong củ dong riềng, thành phần pectin chứa từ 0,8 – 1,0% trọng lượng củ (Nông Thế Cận, 1981) nên trong giai đoạn đầu của quá trình xử lý hiếu khí nước thải làng nghề sản xuất tinh bột dong riềng thường tạo lượng bọt lớn, gây cản trở cho quá trình sục khí và kéo dài thời gian khởi động hệ thống. Mặt khác, bọt trào ra ngoài bể còn kéo theo bùn, xác vi sinh vật gây mất mỹ quan và ảnh hưởng tới các hộ dân xung quanh hệ thống xử lý (Ha L.T và cộng sự, 2016).

Mục tiêu của nghiên cứu này là tuyển chọn vi khuẩn sinh pectinase, góp phần xử lý bọt tạo thành trong quá trình xử lý nước thải làng nghề

sản xuất tinh bột dong riềng, tăng hiệu quả chung của quá trình xử lý.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu nước thải: được thu thập từ Làng Minh Hồng - Minh Quang - Ba Vì - Hà Nội và làng Cộng Hòa - Quốc Oai - Hà Nội.

Môi trường Czapeck - pectin: Pectin (10g/l); Cao nấm men (5g/l); Peptone (10g/l); NaCl (5g/l); agar (15g/l) được sử dụng để phân lập vi sinh vật phân giải pectin.

Môi trường xác định khả năng phân giải pectin: Pectin tan (5,0g/l), agar: (20g/l), MgSO₄.7H₂O (0,5g/l); NaNO₃ (3,0g/l); K₂HPO₄ (1g/l); KCl (0,5g/l); cao nấm men (1,0g/l).

Môi trường lỏng NB lên men thu pectinase: pepton (10g/l); cao thịt (10g/l); NaCl (10g/l) bổ sung 1% (w/v) pectin.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu

Phương pháp lấy mẫu, vận chuyển và bảo quản mẫu để phân tích các tính chất hóa lý cho nước thải, theo TCVN 4556 – 88.

2.2.2. Phương pháp xác định hoạt độ pectinase

Hoạt lực pectinase từ chủng tuyển chọn được xác định theo phương pháp DNS (Miller, G.L. và cộng sự, 1969). Theo đó, chủng vi khuẩn được nuôi trong môi trường NB ở 37°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút trong 48 giờ. Dịch lên men được ly tâm ở tốc độ 10000 vòng/phút trong 10 phút để loại sinh khối, thu dịch nổi. Dịch nổi được sử dụng như nguồn pectinase thô, được xác định hoạt tính như sau:

Phản ứng enzyme cơ chất: 150 µL dịch enzyme bổ sung 300 µL dịch pectin (1mg/ml trong đệm acetat pH 5) lắc đều và để trong bể ổn nhiệt ở 45°C trong 5 phút. Bổ sung 600 µL dung dịch DNS để dừng phản ứng và thực hiện phản ứng tạo màu giữa sản phẩm phản ứng enzyme với DNS trong 10 phút ở nhiệt độ 95 - 100°C. Làm nguội và đo OD_{540nm}. Mẫu đối chứng tiến hành với thành phần như thí nghiệm nhưng vô hoạt enzyme bằng cách bổ sung DNS trước khi bổ sung dịch pectin. Các giá trị OD_{540nm} được đối chiếu với đồ thị đường chuẩn galacturonic. Một đơn vị hoạt độ

Pectinase là lượng enzyme cần thiết để xúc tác chuyển hóa pectin tạo thành 1 µmol acid galacturonic trong thời gian 1 phút ở những điều kiện hoạt động thích hợp của enzyme (Motwani D. R và cộng sự, 2013).

Hoạt độ pectinase được xác định bằng công thức:

$$H = \frac{X \cdot f \cdot 1000}{600 \cdot t} \text{ (U/ml)}$$

Trong đó:

X: hàm lượng đường khử sau thủy phân (mg/ml);

f: hệ số pha loãng;

1000: hệ số quy đổi;

600: khối lượng phân tử pectin;

t: thời gian thủy phân (05 phút).

2.2.3. Phương pháp định danh chủng tuyển chọn

+ Phương pháp hóa sinh:

Chủng tuyển chọn được nuôi trên các môi trường khác nhau để thử các phản ứng sinh hóa như: khả năng sử dụng các loại đường, phân giải catalase, phân giải protein, phân giải CMC, nhuộm Gram, sử dụng citrat, nitrat, khả năng di động, indol, tan huyết...

+ Phương pháp sinh học phân tử:

Dựa trên phân tích, xác định trình tự 16S rRNA của vi khuẩn theo Sakiyama và cộng sự (2009). Sau khi tách chiết ADN, phản ứng PCR trên máy Perkin Elmer 9700, với mỗi xuôi 27F: 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3', mỗi ngược 1492R: 5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3'. Thành phần phản ứng PCR thể tích 25µl: taq buffer 10X: 2,5µl; DNA 100ng/µl: 1µl; dNTP 5mM: 1,5µl; mỗi xuôi 27F: 1µl; mỗi ngược 1492R: 1µl; Taq polymerase: 0,5µl; H₂O: 17,5µl. Chu trình nhiệt: biến tính ở 95°C trong 5 phút, bắt mỗi ở 52°C trong 1 phút, kéo dài ở 72°C trong 30 giây, hoàn thiện ở 72°C trong 5 phút, thực hiện 35 chu kỳ và giữ sản phẩm ở 4°C.

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% sau đó được giải trình tự theo phương pháp Sanger cải tiến trên máy tự động ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer. Sử dụng chương trình BLAST xác định tương đồng trình tự 16S rARN trên ngân hàng gen NCBI, xây dựng cây phát sinh loài.

2.2.4. Phương pháp thử nghiệm năng lực xử lý nước thải của chủng tuyển chọn

Lấy 0,7 lít nước thải vào bình dung tích 1,5 lít. Thí nghiệm lần lượt: mẫu kiểm chứng không bổ sung chế phẩm, mẫu TN1 bổ sung chế phẩm *Bacillus* bản địa, mật độ 10^5 CFU/ml và mẫu TN2 bổ sung chế phẩm *Bacillus* bản địa (Ngoc, N.N. và cộng sự, 2016) với mật độ 10^5 CFU/ml và chủng N3 nồng độ 10^5 CFU/ml ở các bình, thiết lập chế độ sục khí ở mỗi bình là như nhau. Theo dõi hiện tượng sinh bọt trong quá trình xử lý đồng thời xác định hàm lượng COD (mg/l) ban đầu và những ngày tiếp theo của nước thải.

2.2.5. Xác định hiệu suất xử lý theo chỉ số COD nước thải (Huỳnh Ngọc Phương Mai và cộng sự, 2015)

Lấy 2 ml mẫu nước thải + 1 ml $K_2Cr_2O_7$ 2,5N + 3 ml hỗn hợp $H_2SO_4-Ag_2SO_4$ vào ống COD, đậy kín và trộn đều mẫu. Nung mẫu ở $150^\circ C$, đun lưu kín trong 2 giờ. Chuẩn độ bằng dung dịch muối Mo (FAS) với chỉ thị màu feroin. Mẫu trắng thay nước thải bằng nước cất. Chỉ số COD tính theo công thức:

$$COD = \frac{(A - B) \times M \times 8000}{V_m}$$

Trong đó: A: Thể tích muối Mo dùng chuẩn mẫu trắng (ml); B: Thể tích muối Mo dùng chuẩn mẫu thử (ml); M: Nồng độ của muối Mo dùng để chuẩn độ; 8000: Hệ số chuyển đổi; V_m : Thể tích mẫu phân tích (ml).

$$HS = \frac{COD_0 - COD_1}{COD_0} 100\%$$

với COD_0 : chỉ số trước khi xử lý và COD_1 là chỉ số sau khi xử lý.

2.2.6. Phương pháp xử lý kết quả

Kết quả thu thập được xử lý bằng phần mềm thống kê trên Excel, thí nghiệm đủ 3 lần lặp với số lượng mẫu đủ lớn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

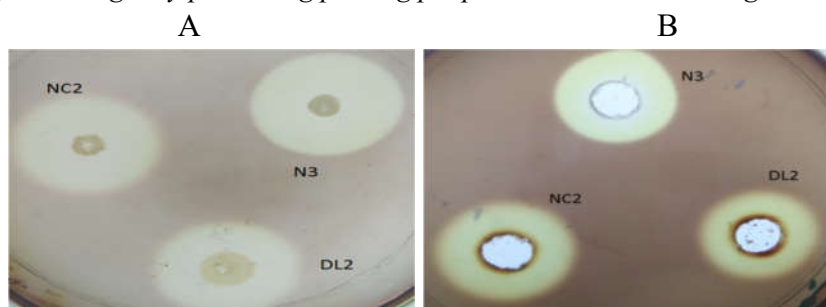
3.1. Tuyển chọn chủng vi khuẩn có khả năng phân giải pectin

Từ các mẫu nước thải của làng nghề chế biến tinh bột dong riềng, 21 chủng có khả năng phân giải pectin được phân lập trên môi trường Czapeck – pectin. Để lựa chọn chủng có khả năng sinh pectinase cao nhất, 3 phương pháp đã được sử dụng: cấy chấm điểm, đục lỗ thạch và xác định hoạt độ của pectinase thô trong môi trường lên men lỏng thông qua phản ứng với thuốc thử DNS. Kết quả tuyển chọn các chủng có khả năng phân giải pectin được thể hiện trên bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Khả năng phân giải Pectin của các chủng chọn lọc

Chủng	D1/d1	D2-d2 (mm)	Hoạt độ enzyme pectinase (U/ml)
NC2	4,17 ± 0,13	17 ± 0,51	27,47 ± 0,09
N3	4,33 ± 0,11	17 ± 0,42	29,4 ± 0,08
DL2	3,38 ± 0,15	15 ± 0,45	17,18 ± 0,07

D1: Đường kính khuẩn lạc; d1: Đường kính vòng thủy phân bằng phương pháp cấy chấm điểm; D2: Đường kính vòng thủy phân bằng phương pháp khuếch tán; d2: Đường kính lỗ đục.



Hình 1. Khả năng phân giải pectin của các chủng tuyển chọn

A: Phương pháp cấy chấm điểm ; B: Phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch.

Kết quả trong bảng 1 và hình 1 cho thấy chủng N3 có khả năng phân giải cơ chất pectin (vòng phân giải đạt đường kính khá lớn, 17 mm) và khi xác định hoạt độ phân giải cơ chất pectin của pectinase thô thu được từ dịch canh trường lên men cho thấy: chủng N3 có khả năng tiết ra môi trường lỏng lượng pectinase có hoạt độ cao, đạt tới 29,4 U/ml. Đối với công bố về pectinase của một số tác giả, như: Tripathi, pectinase thu được từ chủng *Bacillus subtilis* có hoạt độ 4,5 U/mg (Tripathi G. D và cộng sự, 2014) hay trong công bố của tác giả Kumar, pectinase từ chủng *Cocci sps* đạt 13,96 U/ml (Kumar A. và cộng sự, 2012) thì chủng

N3 có hoạt độ pectinase khá cao. Như vậy, chủng N3 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Định tên chủng vi khuẩn tuyển chọn

Chủng N3 được định danh theo đặc tính hình thái sinh lý sinh hóa, sinh học phân tử. Kết quả thể hiện ở bảng 2 và hình 2.

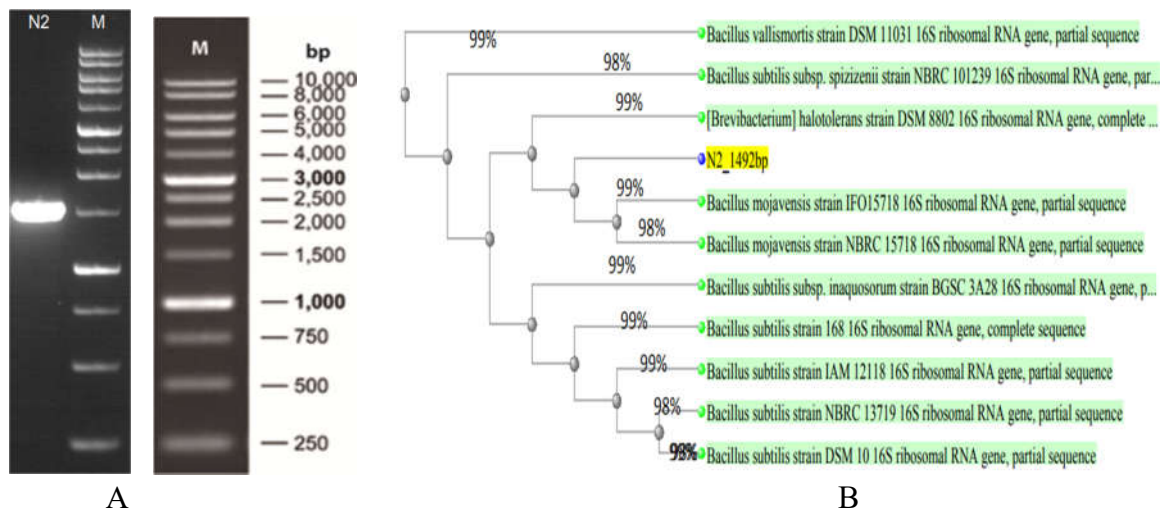
Từ kết quả về hình thái khuẩn lạc, hình dạng tế bào và một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa của chủng N3 đã tuyển chọn được hoàn toàn trùng khớp khi so sánh với mô tả của tác giả Roberts về đặc tính sinh lý và sinh hóa của chủng *Bacillus mojavensis* sp. đã được nghiên cứu (Michaels và cộng sự, 1994).

Bảng 2. Đặc tính sinh lý - sinh hóa chủng N3

Đặc tính sinh lý - sinh hóa	Kết quả	Đặc tính sinh lý - sinh hóa	Kết quả
Hình dạng tế bào	Trục khuẩn, bào tử	Lactose	-
Hình dạng khuẩn lạc	Bề mặt nhẵn nhèo	Indol	-
Catalase	+	Sinh H ₂ S	-
Di động	-	Phản ứng Voges-Proskauer	+
Phân giải huyết	+	Ure	+
D-Xylose	-	Lysine decarboxylase	-
Sucrose	+	Ornithine decarboxylase	-
D-Mannitol	+	Arginine dihydrolase	-
Glucose	+	Amylase (U/ml)	32,4

Để định tên chính xác chủng N3, nghiên cứu đã tiến hành tách chiết DNA tổng số, tinh

sạch, chạy PCR và giải trình tự. Kết quả thể hiện trong hình 2.



Hình 2. Định danh chủng N3 (A: Điện di sản phẩm PCR, B: Sơ đồ cây phát sinh loài chủng N3)

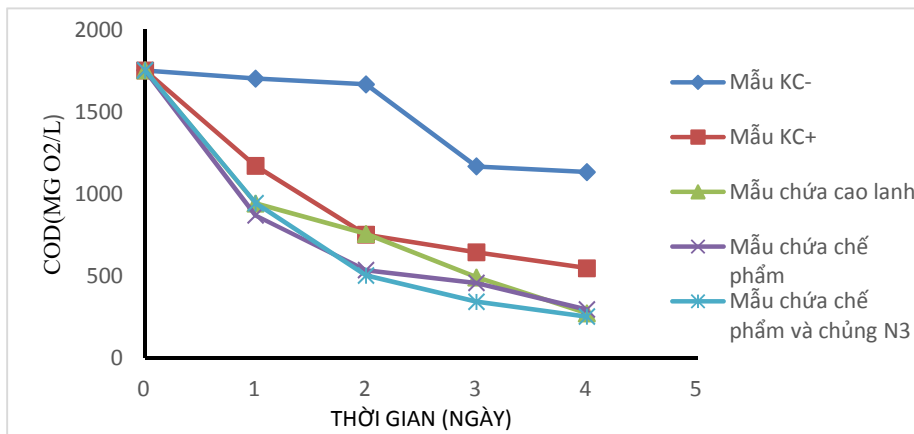
Sản phẩm PCR 16s rRNA sau khi tinh sạch được giải trình tự bằng máy ABM 3100, kết quả thu được chạy trên chương trình Blast để xem mức độ tương đồng với các chủng trong ngân hàng gen, kết quả trên cho thấy chủng N3 có độ tương đồng 99% với *Bacillus mojavensis*. Dựa vào đặc điểm hình thái của chủng N3 mà ta đã khảo sát ở trên (trực khuẩn, gram +, có bào tử, có hoạt tính catalase, protease, amylase) do vậy tên chủng N3 là *Bacillus mojavensis* N3.

Trong những năm gần đây loài *Bacillus mojavensis* được nghiên cứu khá nhiều trên thế giới. Như chủng *Bacillus mojavensis* KJS-3 có khả năng kích thích sự phát triển của cây do sinh các chất hormone sinh trưởng thực vật

(Kim K.M và cộng sự, 2015). Ngoài ra, với khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase hoạt lực cao, *Bacillus mojavensis* cũng được ứng dụng vào xử lý dịch nước quả và xử lý môi trường (Eskandari S. và cộng sự, 2017). Bên cạnh đó, với khả năng kháng nấm *Fusarium moniliforme* gây bệnh ở cây nông nghiệp, loài này cũng đã được nghiên cứu với vai trò như một nhân tố kiểm soát sinh học (Blacutt A.A và cộng sự, 2016).

3.3. Thử nghiệm xử lý nước thải ở quy mô 700 ml

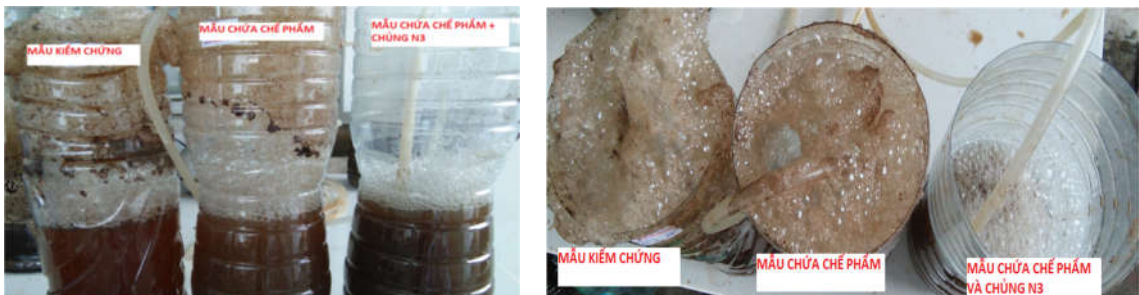
Kết quả thí nghiệm với mẫu kiểm chứng không bổ sung chế phẩm và mẫu bổ sung các loại chế phẩm trong hình 3.



Hình 3. Biến đổi giá trị COD theo thời gian xử lý ở quy mô 700 ml

Thử nghiệm khả năng xử lý ô nhiễm hữu cơ có trong nước thải dung riêng, sau khi bổ sung chế phẩm tiến hành đo sự biến đổi COD trong các mẫu theo từng ngày. Các mẫu thí nghiệm có cùng tốc độ sục khí, pH ban đầu 6,5 - 7, nhiệt độ môi trường 15 - 20°C. Kết quả cho thấy khả năng xử lý COD của chế phẩm với sự kết hợp của chủng *B. mojavensis* N3 đã mang lại kết quả xử lý hiệu suất cao. Từ nồng độ COD của mẫu ban đầu là 1753 mgO₂/L, sau 4

ngày xử lý còn 252,2 mgO₂/L, tương ứng với hiệu quả xử lý 85,6%. Kết quả này cao hơn hẳn so với mẫu kiểm chứng là 68,8% (không bổ sung chế phẩm). Còn đối với mẫu chỉ có chứa chế phẩm *Bacillus* bản địa (Nguyễn Như Ngọc và cộng sự, 2016) thì hiệu suất xử lý COD đạt được là 83,2%. Tuy nhiên để nâng cao hơn nữa hiệu quả xử lý cần nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng khác như: nhiệt độ môi trường xử lý, hoạt hóa chủng, tốc độ sục khí...



Hình 4. Kết quả xử lý bọt sau 1 ngày

Hình 4 cho thấy sau 1 ngày xử lý, ở mẫu kiểm chứng và mẫu chỉ chứa chế phẩm xử lý nước thải dong riềng có hiện tượng sinh bọt đáng kể. Bọt sinh ra dâng cao, tràn ra khỏi miệng bình, kéo theo các mảng bám tối màu, cản trở việc sục khí, đồng thời gây mất mỹ quan. Điều này tương đồng với công bố của tác giả Gholamreza và cộng sự về tác hại của bọt trong quá trình xử lý nước thải (Asadollahfardi G. và cộng sự, 2015). Đối với mẫu chứa chế phẩm xử lý nước thải dong riềng kết hợp chủng *B. mojavensis* N3, lượng bọt sinh ra ít hơn hẳn so với các mẫu đem so sánh, bên cạnh đó bọt trắng, tan ngay sau khi hình thành. Từ đó có thể thấy rõ vai trò của chủng *B. mojavensis* N3 trong việc mang lại hiệu quả xử lý bọt một cách rõ rệt. Có thể bước đầu khẳng định vai trò của vi sinh vật trong việc xử lý pectin có trong nước thải dong riềng nói riêng và trong xử lý ô nhiễm ở nguồn nước thải dong riềng nói chung.

4. KẾT LUẬN

Từ các mẫu nước thải làng nghề sản xuất tinh bột dong riềng, đã phân lập và tuyển chọn được chủng N3 sinh pectinase với hoạt lực cao nhất đạt 29,4 U/ml. Chủng N3 được xác định các đặc điểm sinh lý sinh hóa cho thấy trùng với các đặc điểm của chủng *Bacillus mojavensis*. Kết quả định danh bằng sinh học phân tử qua kỹ thuật 16S-RNA xác định chủng N3 tương đồng 99% với chủng *Bacillus mojavensis* IFO 15718 và được đặt tên là *Bacillus mojavensis* N3. Thử nghiệm xử lý nước thải làng nghề có bổ sung chế phẩm vi khuẩn bản địa và thêm chủng N3 bước đầu đã làm giảm đáng kể lượng bọt tạo ra và hiệu suất xử lý COD đạt 85,6%.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này nằm trong khuôn khổ của đề tài mã số ĐT.08.17/CNSHCB, Bộ Công thương. Các tác giả chân thành cảm ơn Chương trình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ajit Kumar, Rita Sharma (2012). Production of alkaline pectinase by bacteria (Cocci sps.) isolated from decomposing fruit materials. *Journal of Phytology* 4(1): 01-05.

2. Asadollahfardi G. (2015). Removal of foaming from industrial wastewater treatment plants. *Wastewater practice* 10 (3) 415-423.

3. Blacutt, A.A, Mitchell,R.T, Bacon, C.W and Golf, S.E (2016). *Bacillus mojavensis* RRC101 lipopeptides provoke physiological and metabolic changes during antagonism against *Fusarium verticillioides*. *Molecular plant microbe interaction*, 29(9)713-723.

4. Đỗ Thúy Hằng, Trần Liên Hà, Nguyễn Như Ngọc (2015). Phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật có khả năng phân giải tinh bột trong nước thải làng nghề sản xuất và chế biến tinh bột. *Tạp chí Khoa học & Công nghệ* 28, tr. 57-60.

5. Eskandari S., Mehran H., Arezoo T., Atousa A., Mohammadian T. (2017). Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Bacillus Licheniformis* ATHE9 and *Bacillus Mojavensis* ATHE13 as Newly Strains Isolated from Oil-Contaminated Soil *Journal of Geography. Environment and Earth Science International* 11(2): 1-11, 2017.

6. Gyan Datta Tripathi, Zoya Javed, Sushma, Adarsh Kumar Singh (2014). Pectinase production and purification from *Bacillus subtilis* isolated from soil. *Advances in Applied Science Research* 5(1) 103-105.

7. Ha L. T and Cach. N V. (2016). Status environment of trade village in Hanoi and some solutions. *The 7th Forum on studies of enviromental and public health issues in Asian mega-cities*, Hokaido, September1-2 2016.

8. Huỳnh Ngọc Phương Mai, Nguyễn Trung Việt, Trần Thị Mỹ Diệu, Nguyễn Thị Phương Loan, Hồ Phùng Ngọc Thảo, Đỗ Lâm Như Ý (2015). *Các phương pháp phân tích cơ bản nước và nước thải*. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật.

9. Kim K M., Liu. J, Suk Go. Y and Seon K.J (2015). Characterization of *Bacillus mojavensis* KJS-3 for the Promotion of Plant. *Journal of Life Science* 25(8) 910-916.

10. Michaels. Roberts, L. K. Nakamura, Frederick M (1994). *Bacillus mojavensis* sp. nov., Distinguishable from *Bacillus subtilis* by Sexual Isolation, Divergence in DNA Sequence, and Differences in Fatty Acid Composition. *International journal of systematic bacteriology* 44(2) 256-264.

11. Miller, G. L. (1969). *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical 11- Chemistry*, 31(3), 426-428.

12. Motwani D. R, Meshram V.G, Jambhulkar V.S (2013). Partial characterization of pectinase produced by *Aspergillus niger* grown on wheat bran. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 4(12), 345-365.

13. Ngọc, N.N., Cach, N.V., Ha, T.L., Giang, P.T.T., (2016). Microbiological characterization and potential application of indigenous *B.Methylotraphycus* Ba₁ in handling of *Canna Edulis*. Ker processing craft village wastewater. *Journal of Forestry Science and Technology*, 5, pp. 3-9.

14. Nguyễn Như Ngọc, Nguyễn Văn Cách, Nguyễn Thị Diệp. (2016). Phân lập, tuyển chọn chủng vi khuẩn *Bacillus* bản địa có khả năng phân giải chất hữu cơ trong nước thải làng nghề chế biêt tinh bột dong riềng. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn* tập 1, số 2: 101-107.

15. Nông Thế Cận (1981). *Hoa màu tập 1- Sơ chế và bảo quản*. Nxb. Nông nghiệp, Hà Nội.

16. Trần Văn Thế, Nguyễn Tuấn Sơn, Nguyễn Nghĩa Biên (2010). Đánh giá thiệt hại kinh tế do chất thải phát sinh từ hoạt động sản xuất tại làng nghề chế biến nông sản vùng Đồng bằng sông Hồng. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 2013, tập 11, số 8: 1223-1231

17. Zhang J., Wang Z.W, Shi X. M, (2010). *Canna edulis* Ker By-product: Chemical Composition and Characteristics of the Dietary Fiber. *Food Sci Tech Int*, 16(4):305-313.

SCREENING OF PECTINASE PRODUCING BACTERIA FOR ITS APPLICATION IN WASTEWATER TREATMENT OF *CANNA EDULIS*. KER PROCESSING

Tran Lien Ha¹, Nguyen Thi Linh², Nguyen Nhu Ngọc³, Nguyen Van Cach⁴

^{1,2,4}*Hanoi University of Science and Technology*

³*Vietnam National University of Forestry*

SUMMARY

Today, more and more starch processed from (*Canna edulis*) has been expanded in Vietnam, which contributes significantly to the rural economy and employment. However, the growth of craft villages and their production capacity, especially the huge amount of solid waste and wastewater had been associated with severe environmental pollution. Because of the significant local impacts, some studies have been carried out. Nevertheless, the major obstacle in the operation of aerobic activated sludge system is the presence of foam on the surface of aeration and settling tanks. Foaming phenomena on the surface of settling or aeration tanks may be caused by the aeration and pectin content in wastewater. The presence of foam in systems can decrease the efficiency of the treatment process and increase the treatment efficiency. In addition, the large amount of foam can result in a multitude of operational problems such as blockage of pipes, a reduction in oxygen transfer, and possibly damaged mechanical equipment. Besides that, a considerable fraction of the active biomass can be trapped in thick foam layers and therefore be excluded from the intended biological processes. The present study deals with the screening and identification of indigenous bacteria strains for the hydrolysis of pectin in wastewater. The screening was done by plating method, and the N3 strain was screened with high pectinase activity at 29.4 U/ml. The features of the strain was identified by biochemical physiological and 16S-RNA technique leading to the result that N3 strain was 99% homology with *Bacillus mojavensis* IFO 15718. Furthermore, the wastewater treatment ability of N3 strain was tested and showed that it could not only decrease the amount of foaming on the surface but also gain high COD removal efficiency at 85.6%.

Keywords: *Bacillus mojavensis*, *Canna edulis*, craft village wastewater treatment, pectinase.

Ngày nhận bài : 28/9/2018

Ngày phản biện : 31/10/2018

Ngày quyết định đăng : 09/11/2018