

# HƯỚNG DẪN THỰC HIỆN MỘT ĐỀ TÀI (DỰ ÁN) NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

## Về Lĩnh vực Vi sinh vật

Người biên soạn: PGS.TS. Nghiêm Ngọc Minh

Phó Viện trưởng Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt

### I. GIỚI THIỆU CHUNG

#### 1. *Khái quát chung về lĩnh vực nghiên cứu về Vi sinh vật*

Nghiên cứu Vi sinh vật là nghiên cứu các cơ thể vi sinh vật bao gồm vi khuẩn, virus, nấm, nhóm nhân giả và nhân thật đơn giản cũng như các chất kháng khuẩn và chất kháng sinh. Vì vậy, trong lĩnh vực Vi sinh học, theo yêu cầu của cuộc thi ISEF, các tác giả có thể chọn 1 trong 7 tiểu lĩnh vực sau để đăng ký tham gia:

- *Chất kháng khuẩn và chất kháng sinh (ANT)*: Nghiên cứu các chất có khả năng diệt hoặc ức chế sự phát triển của vi sinh vật.
- *Vi sinh vật ứng dụng (APL)*: Nghiên cứu các vi sinh vật có tiềm năng ứng dụng cho sức khỏe của con người, động vật hoặc thực vật hoặc sử dụng vi sinh vật trong việc tạo nguồn năng lượng.
- *Vi trùng học (BAC)*: Nghiên cứu về vi khuẩn, bệnh của vi khuẩn và những vi sinh vật gây bệnh.
- *Vi sinh vật môi trường (ENV)*: Nghiên cứu về cấu trúc, chức năng, đa dạng và mối quan hệ của các vi sinh vật liên quan tới môi trường sống của chúng. Điều này bao gồm cả những nghiên cứu về màng sinh học (biofilms).
- *Di truyền vi sinh vật (GEN)*: Nghiên cứu những gene nào của vi sinh vật được cấu thành, điều khiển và sự tham gia của chúng trong chức năng của tế bào.
- *Virus (VIR)*: Nghiên cứu về virus và bệnh virus.
- *Các lĩnh vực khác (OTH)*: Là những nghiên cứu không thể xếp được vào một trong các tiểu lĩnh vực của lĩnh vực Vi sinh vật học.

#### 2. *Những yêu cầu chung để thực hiện một đề tài nghiên cứu khoa học*

- Điều đầu tiên chúng ta phải chọn được ý tưởng của đề tài, trên cơ sở đó đặt tên cho đề tài. Để chọn được đề tài mang tính khoa học và thực tiễn cao và có tính khả thi, chúng ta cần phải dựa vào những vấn đề sau:
- Trên cơ sở những kiến thức chúng ta đang có kết hợp tìm kiếm các thông tin trên sách, báo, tài liệu và tham khảo ý kiến của các thầy cô giáo, các nhà khoa học... để chọn hướng nghiên cứu cho phù hợp với bản thân.

- Nên quan sát, tìm hiểu tình hình thực tế trong đời sống, xã hội, trong thực tế lao động sản xuất... xem xét những vấn đề nào xã hội đang quan tâm, và cần có những phương án để giải quyết, ví dụ như vấn đề ô nhiễm môi trường, vấn đề các bệnh do vi sinh vật gây ra... từ đó sẽ đặt ra hướng nghiên cứu cụ thể của đề tài.
- Trên cơ sở tên đề tài đã có, chúng ta cần phải làm rõ được tính cấp thiết của đề tài để trả lời cho câu hỏi tại sao chúng ta lại chọn đề tài nghiên cứu này, tính mới tính sáng tạo là gì? và xác định được mục tiêu của đề tài cho phù hợp (gồm mục tiêu chung và mục tiêu cụ thể).
- Sau khi xác định được mục tiêu nghiên cứu rõ ràng, chúng ta phải trả lời cho những câu hỏi nghiên cứu đó là phải làm gì để thực hiện những mục tiêu này. Đây chính là những nội dung nghiên cứu cụ thể của đề tài.
- Để thực hiện được các nội dung của đề tài như đã đặt ra, chúng ta phải lựa chọn và xác định được các nguồn nguyên liệu, hóa chất phù hợp. Đặc biệt phải chọn được các phương pháp nghiên cứu chuẩn, phù hợp thì kết quả nhận được mới có tính khả thi và độ tin cậy cao.
- Sau khi xác lập được đầy đủ các yếu tố trên, chúng ta phải xây dựng được kế hoạch nghiên cứu phù hợp. Điều này để trả lời cho câu hỏi làm thế nào? Thường thì trong vấn đề này, chúng ta phải dự tính được về thời gian và tiến độ thực hiện các nội dung nghiên cứu sao cho hợp lý và logic.
- Tiếp theo chúng ta bắt tay vào tiến hành thực hiện các nội dung nghiên cứu như trong kế hoạch nghiên cứu. Trong phần này thường bao gồm các bước:
  - Thu thập, chọn lọc, xác định nguồn mẫu sử dụng cho nghiên cứu.
  - Phân tích sơ bộ các tiêu chí cơ bản của các mẫu đầu vào. Đây là cơ sở để so sánh với kết quả sau khi đã thực hiện nghiên cứu thực nghiệm.
  - Các kết quả thực nghiệm nhận được cần có sự phân tích, so sánh và đánh giá về giá trị khoa học và giá trị ứng dụng (nếu có) để từ đó rút ra được những điểm mới, điểm sáng tạo trong nghiên cứu của mình so với những kết quả nghiên cứu của các tác giả khác có liên quan.
- Phần cuối của đề tài đưa ra những kết luận ngắn gọn về các kết quả nghiên cứu đã nhận được và những kiến nghị cho giai đoạn nghiên cứu tiếp theo (nếu cần thiết). Cuối cùng trích dẫn một số tài liệu tham khảo có liên quan mang tính cập nhật và chọn lọc.

## II. Ví dụ minh họa về một đề tài nghiên cứu về Vi sinh vật môi trường

### 1. Tên đề tài:

*Phân lập và tuyển chọn một số chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy phenol trong nước thải công nghiệp*

### 2. Đặt vấn đề:

- Nêu tác hại của phenol đối với sức khỏe con người và động thực vật. Tình trạng ô nhiễm phenol hiện nay trong nước thải công nghiệp...
- Tính ưu việt của việc sử dụng vi sinh vật trong xử lý nước thải có phenol. Từ đó làm rõ lý do chọn đề tài này. Ở đây chính là trả lời câu hỏi tại sao ta lại chọn hướng nghiên cứu về phân hủy sinh học phenol có trong nước thải công nghiệp sử dụng vi sinh vật.

### 3. Mục tiêu

Phải làm rõ mục tiêu của đề tài, có nghĩa phải chỉ ra được đích cuối cùng cần đạt được là gì? Ví dụ như đối với đề tài này là:

Phân lập và tuyển chọn được một số chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy phenol với nồng độ cao làm nguồn nguyên liệu cho việc thử nghiệm xử lý nước thải công nghiệp ô nhiễm phenol bằng vi sinh vật.

### 4. Nội dung nghiên cứu

Với mục tiêu nghiên cứu đặt ra ở trên, để hoàn thành được vấn đề nghiên cứu đó, chúng ta cần phải tiến hành thực hiện các nội dung thực nghiệm theo thứ tự sau đây:

- a. Lấy mẫu nước thải công nghiệp ở một số nhà máy
- b. Làm giàu, phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng sử dụng phenol trong nước thải công nghiệp.
- c. Thử nghiệm khả năng phân hủy phenol của một số chủng vi khuẩn phân lập được ở một số nồng độ khác nhau bằng công nghệ xử lý sinh học.
- d. Phân loại, định tên hai chủng vi khuẩn đã chọn lọc được dựa vào đặc điểm hình thái và so sánh trình tự gen 16S rRNA.
- e. Phân tích khả năng phân hủy sinh học phenol của hai chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy mạnh phenol.

### 5. Kế hoạch và phương pháp nghiên cứu

#### a. Kế hoạch:

Xây dựng, sắp xếp kế hoạch và tiến độ thực hiện từng phần của đề tài nghiên cứu cho phù hợp. Ví dụ theo đề tài này cần bố trí kế hoạch như bảng sau:

TT	Các nội dung, công việc chủ yếu cần được thực hiện (các mốc đánh giá chủ yếu)	Kết quả phải đạt
1	Lấy mẫu nước thải ở một số nhà máy thuộc Khu CN	Phân tích một số chỉ tiêu nước thải công nghiệp đầu vào (trong đó có phenol)
2	Làm giàu, phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng sử dụng phenol trong nước thải công nghiệp.	Phân tích số lượng vi sinh vật trong nguồn nước thải công nghiệp
3	Phân lập một số chủng vi khuẩn có khả năng sử dụng phenol	2-3 chủng vi khuẩn
4	Phân tích khả năng phân hủy sinh học phenol của tập đoàn và một vài chủng đơn có khả năng phân hủy mạnh phenol.	2-3 chủng
5	Tách dòng, xác định trình tự và xây dựng cây phát sinh chủng loại của 1 số chủng đại diện.	Phân loại 2-3 chủng vi sinh vật. xây dựng cây phát sinh chủng loại
6	Viết báo cáo tổng kết đề tài	1 báo cáo

**a. Phương pháp nghiên cứu:**

Đối với đề tài này, để có được những kết quả thực nghiệm có giá trị tốt, chúng ta cần phải sử dụng các phương pháp sau:

- Các kỹ thuật nghiên cứu vi sinh vật truyền thống như: Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng sử dụng phenol, quan sát hình thái khuẩn lạc, tế bào.
- Nghiên cứu khả năng phân hủy phenol của một số chủng vi khuẩn lựa chọn dựa trên phương pháp đo quang.
- Sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử như: PCR, kỹ thuật cloning để xác định trình tự và định tên các chủng vi khuẩn nghiên cứu dựa vào việc so sánh trình tự gen 16S rRNA.
- Các phần mềm tin sinh học như Bio-Edit, Clustal X, Treeview để xây dựng cây phát sinh chủng loại của các chủng vi khuẩn đại diện.

- Các phương pháp phân tích các chỉ tiêu môi trường để chứng minh khả năng phân hủy sinh học phenol của các chủng vi khuẩn chọn lọc

## 6. Kết quả nghiên cứu cần đạt

Trên cơ sở các nội dung đã đặt ra, chúng ta phải tiến hành các thí nghiệm và trình bày những kết quả đã nhận được (có thể minh họa bằng hình ảnh, các bảng biểu, đồ thị, sơ đồ...). Ví dụ trong đề tài này, cần trình bày các kết quả cụ thể như sau:

### a/ Lấy mẫu nước thải công nghiệp ở một số nhà máy

Mẫu sử dụng trong thí nghiệm cần được mô tả rõ ràng lấy từ đâu. Có đặc điểm gì cả về cảm quan và các chỉ tiêu phân tích. Ví dụ như:

Mẫu nước thải được lấy từ các khu công nghiệp, nhà máy ở hai khu vực Hà Nội và Thái Nguyên (hình 1), các mẫu thu thập được có đặc điểm như sau:

- Mẫu 1: Nước thải của khu công nghiệp vừa và nhỏ Từ Liêm, Hà Nội có màu đen, có váng dầu, mùi hôi.
- Mẫu 2: Nước thải tại Cửa xả sản xuất vào bể lọc dầu của Nhà máy Cốc Hóa, phường Cam Giá, thành phố Thái Nguyên có màu vàng nâu và có nhiều váng dầu.
- Mẫu 3: Nước rửa bể chứa kho xăng Đỗ Xá, Thường Tín, Hà Tây đực, có nhiều váng xăng dầu, mùi hắc.

Riêng mẫu 1 và mẫu 2 được chọn gửi phân tích các chỉ tiêu của nước thải đầu vào, kết quả được thể hiện ở bảng 1 (đây là kết quả phân tích, xác định các chỉ tiêu của mẫu đầu vào).



Hình 1. Mẫu nước thải tại các vị trí lấy mẫu khác nhau

Bảng 1. Một số chỉ tiêu phân tích mẫu nước thải đầu vào

TT	Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Kết quả		QCVN cột B 24:2009/BTNMT
			Mẫu 1	Mẫu 2	
1	PH	-	7,84	9,8	5,5-9
2	BOD <sub>5</sub>	mg/l	532	489	50
3	COD	mg/l	1077	3940	100
4	TSS	mg/l	1234	193	100
5	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/l	0,062	0,35	-
6	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg/l	0,038	0,23	-
7	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg/l	72,87	1481,13	10
8	Tổng Nito	mg/l	108,7	1983,46	30
9	Tổng Phospho	mg/l	2,077	3,15	6
10	Muối hoà tan	mg/l	1120,1	2134,8	-
11	Phenol	mg/l	10,83	630	0,5

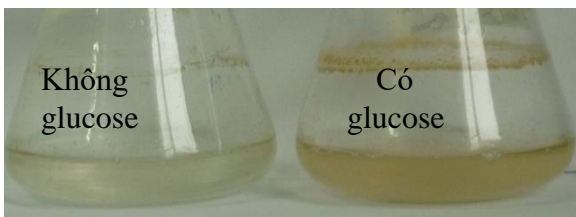
*b/ Làm giàu, phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng sử dụng phenol trong nước thải công nghiệp.*

Trong ví dụ minh họa này chúng tôi chỉ trích dẫn kết quả nghiên cứu nhận được từ mẫu 1 (Nước thải của khu công nghiệp vừa và nhỏ Từ Liêm, Hà Nội).

- **Làm giàu vi sinh vật**

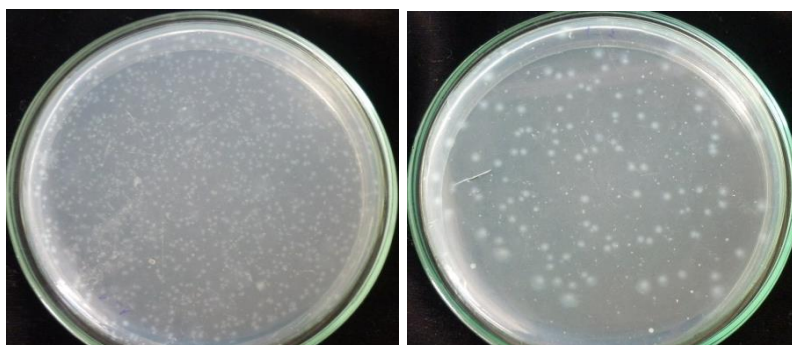
Mô tả thí nghiệm về làm giàu vi sinh vật và đưa ra kết quả cuối cùng về làm giàu vi sinh vật. Ví dụ như bảng 2

Bảng 2. Kết quả làm giàu VSV trên môi trường chứa phenol ở mẫu 1

Tên mẫu	Mẫu làm giàu lần 3
Mẫu 1	

- Sự phát triển của tập đoàn vi sinh vật trên môi trường khoáng Gost thạch có bổ sung phenol

Sau khi tiến hành làm giàu lần 3, các mẫu được pha loãng rồi cấy gạt trên môi trường muối khoáng có bổ sung phenol để tách rời các khuẩn lạc. Kết quả chỉ ra ở hình 2.



Hình 2. Tập đoàn vi khuẩn sau khi làm giàu lần 3 ở mẫu 1

Dựa vào màu sắc và hình thái khuẩn lạc, chúng tôi thu đã thu được một số chủng vi khuẩn có khả năng phát triển trên cả 2 môi trường chứa cơ chất phenol, có và không có glucose trong đó loại vi khuẩn có màu trắng, lồi bóng chiếm ưu thế (Bảng 3)

Bảng 3. Hình thái khuẩn lạc trên môi trường gost thạch ở mẫu 1

TT	Tên chủng	Hình thái khuẩn lạc
1	BTL1 (BTLP1)	Tròn bề mặt hơi dẹt, hồng, bóng nhớt, không ăn sâu vào thạch, D: 2-3mm
2	BTL2	Nhỏ, hồng, tròn, bóng, không ăn sâu vào thạch, D: 1-1,5mm
3	BTL6	Trắng trong, bề mặt hơi khô, mọc lan, ăn sâu vào thạch, D: 2,5-3mm
TT	Tên chủng	Hình thái khuẩn lạc trên môi trường có glucose

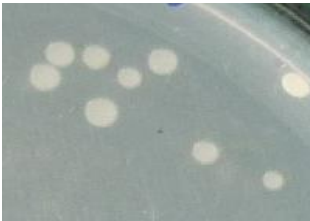
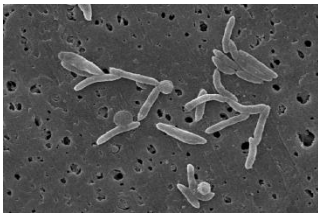
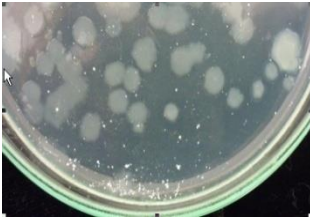
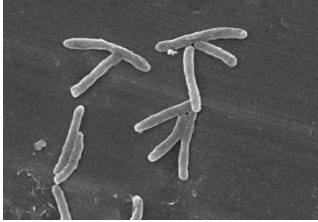
4	BPL9	Tròn, trắng, tâm đục hơn, bóng nhót, không ăn sâu vào thạch, D: 2,5 mm
5	BTL10	Tròn, trắng ngà đậm, bóng nhót, không ăn sâu vào thạch, D:1,2-1,5 mm
6	BTL11	Trắng đục, D: 3-5 mm, mọc lan trên mặt thạch

Trong 6 chủng vi khuẩn được phân lập, chúng tôi nhận thấy chủng BTLP1, BTL11, lượng sinh khối tạo ra nhanh và nhiều nhất (sau 48 h) do vậy chúng tôi đã lựa chọn 2 chủng trên để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

***c/ Hình thái tế bào trên kính hiển vi điện tử quét***

Hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào của 5 chủng vi khuẩn BTLP1, BTL11, được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào của 2 chủng BTLP1, BTL11

Tên chủng	Hình thái khuẩn lạc	Hình thái tế bào	Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào
BTLP1			Khuẩn lạc màu hồng, tròn, bóng nhót, không ăn sâu vào thạch, D: 2 - 3 mm. Quan sát bằng kính hiển vi với độ phóng đại 7.500 lần tế bào có dạng hình que, kích thước (0,6 - 0,8) $\mu\text{m}$ x (3,6 - 4,4) $\mu\text{m}$ .
BTL11			Khuẩn lạc màu trắng đục, đường kính từ 3 - 5 mm và mọc lan trên mặt thạch. Quan sát bằng kính hiển vi với độ phóng đại 15.000 lần tế bào có dạng hình que, kích thước (0,39-0,46) $\mu\text{m}$ x (2,59-2,86) $\mu\text{m}$



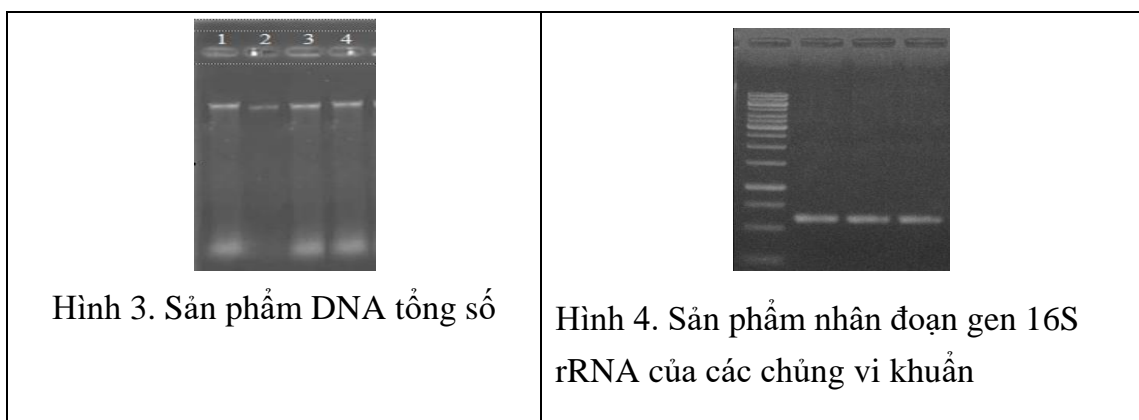
**d/ Xác định trình tự đoạn gen mã hóa 16S rRNA của 2 chủng vi khuẩn BTLP1, BTL11.**

+ Tách chiết DNA tổng số của hai chủng BTLP1, BTL11.

DNA tổng số được tách chiết theo hướng dẫn của bộ kit QIAmp DNA mini và Blood Hard Book của nhà sản xuất Qiagen. Kết quả được mô tả trong hình 3.

+ Nhân dòng và xác định trình tự đoạn gen 16S rRNA của hai chủng vi khuẩn BTLP1, BTL11.

Kết quả nhân dòng gen 16S rRNA của hai chủng BTLP1 và BTL11 được trình bày trong hình 4.



Hình 3. Sản phẩm DNA tổng số

Hình 4. Sản phẩm nhân đoạn gen 16S rRNA của các chủng vi khuẩn

Kết quả xác định trình tự gen 16S rRNA của hai chủng BTLP1 và BTL11 được trình bày trong hình 5 và 6.

```

1 cctacaacag gcagcctgat gcagcgacgc cgcgtgaggg atgacggcct tcgggttgaa
61 acctctttca cccatgacga agcgcaagtg acggtagtgg gagaagaagc accggccaac
121 tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg gtgcgagcgt tgtccggaat tactgggct
181 aaagagctcg taggcggtt gtcgcgtcgt ctgtgaaatc ccgcagctca actgcgggct
241 tgcagcgcat acgggcagac tcgagtactg caggggagac tggaaattcct ggtgtagcgg
301 tgaatgctgc agatatcagg aggaacacgg gtggcgaagg cgggtctctg ggcagtaact
361 gacgctgagg agcgaagcgg tgggtagcga acaggattag ataccctggg agtccacgcc
421 gtaaaccggt ggcgctaggt gtgggtttcc ttccacggga tccgtgccgt agccaacgca
481 ttaagcggcc cgcctgggga gtacggccgc aaggctaaaa ctaaaaggga attgacgg

```

Hình 5. Trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng vi khuẩn BTLP1

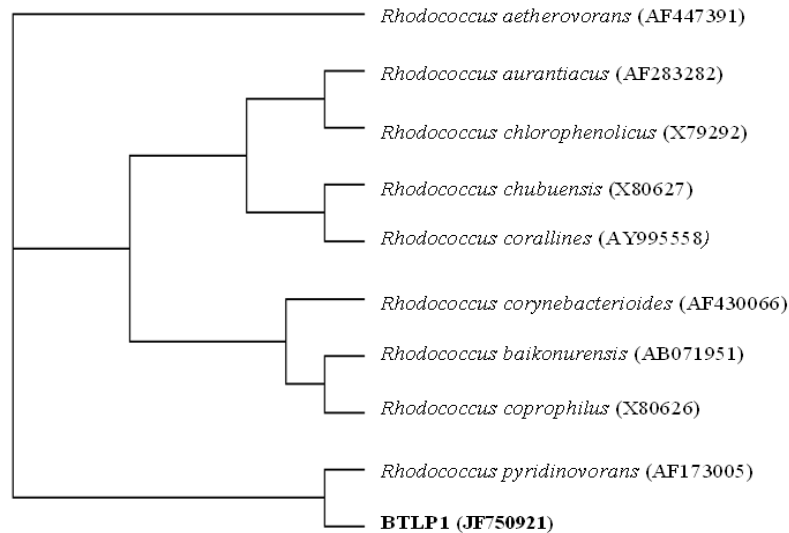
```

1 ccgtcaattc cttttagttt taaccttgcg gccgtactcc ccaggcggtc aacttaatgc
61 gttagctgcg ccaactaaaat ctcaaggatt ccaacggcta gttgacatcg tttacggcgt
121 ggactaccag ggtatctaata cctgtttgct ccccaacgctt tcgcacctca gtgtcagtat
181 cagtccaggt ggtcgccttc gccactgggt ttctctccta tatctacgca ttfcacgcgt
241 acacaggaaa ttccaccacc ctctaccgta ctctagctcg ccagttttgg atgcagttcc
301 caggttgagc ccggggcttt cacatccaac ttaacgaacc acctacgcgc gctttacgcc
361 cagtaattcc gattaacgct tgcacccttc gtattaccgc ggctgctggc acgaagttag
421 ccggtgcttt ttctgtcggg aacgtcaaaa cactaacgta ttaggttaat gcccttcctc
481 ccaacttaaa gtgctttaca tccgaagacc ttcttcacac acgcggcatg gctggatcag
541 gcgtgcg

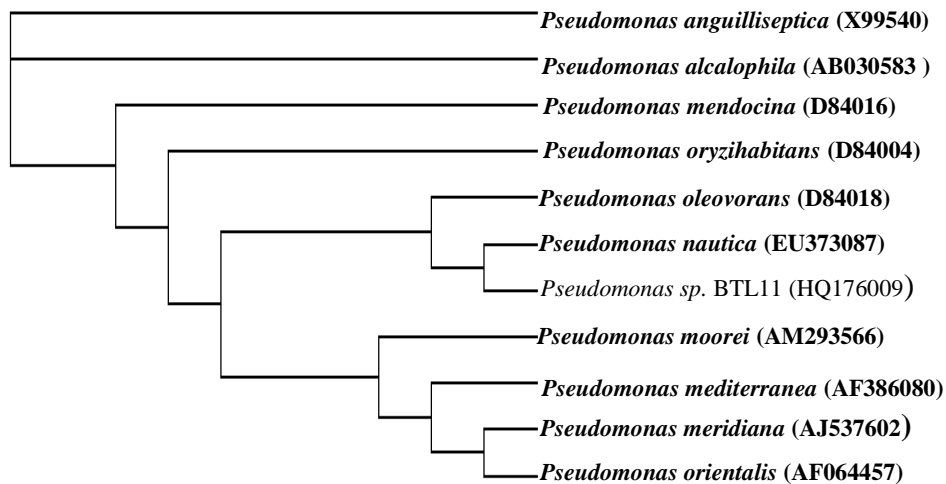
```

Hình 6. Trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng vi khuẩn BTL11

Dựa vào việc so sánh trình tự đoạn gen 16S rRNA của 2 chủng BTLP1, BTL11 với trình tự của các vi sinh vật prokaryote khác được công bố trên GenBank, chúng tôi đã xây dựng được cây phát sinh chủng loại của hai chủng BTLP1, BTL11 (Hình 7 và 8)



Hình 7. Cây phát sinh chủng loại của chủng vi khuẩn BTLP1



Hình 8. Cây phát sinh chủng loại của chủng vi khuẩn BTL11

Quan sát trên hình 7 và 8, chúng tôi nhận thấy:

- Trình tự đoạn gen 16S rRNA chủng BTLP1 có quan hệ gần gũi với các chủng thuộc chi *Rhodococcus*. Đặc biệt, chủng vi khuẩn này đều tương đồng tới 99% lần lượt tương ứng với loài *Rhodococcus pyridinovorans* (AF173005) và *Rhodococcus ruber* DSM43338T (X80625). Do đó, chúng tôi tạm đặt tên chủng vi khuẩn này là *Rhodococcus* sp. BTLP1
- Trình tự đoạn gen 16S rRNA chủng BTL11 (khoảng 550 bp) và BXC4 (khoảng 1500 bp) có quan hệ gần gũi với các chủng thuộc chi *Pseudomonas*. Đặc biệt, chủng vi

khuẩn BTL11 có độ tương đồng tới 89% với chủng vi khuẩn *Pseudomonas nautica* (EU373087) và được đặt tên là *Pseudomonas* sp. BTL11.

#### e/ Khả năng phân hủy phenol của hai chủng vi khuẩn BTLP1 và BTL11

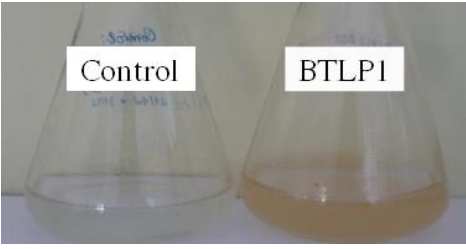
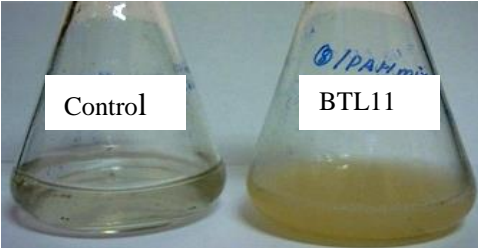
Với mục đích là tìm kiếm ra các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy phenol cao có trong nước thải công nghiệp để phục vụ cho việc xử lý nước thải ô nhiễm tại những khu vực này, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng phân hủy phenol của 2 chủng vi khuẩn của mẫu số 1 với hy vọng chủng này sẽ có hiệu suất phân hủy cao, góp phần vào việc xử lý nguồn nước thải ô nhiễm sau này.

Các điều kiện được sử dụng để đánh giá khả năng phân hủy phenol của 2 chủng vi khuẩn này là:

- Chủng BTLP1 được nuôi trên môi trường khoáng dịch bổ sung 150 ppm phenol, nuôi lắc ở nhiệt độ 30°C với vận tốc 200 vòng/phút trong 7 ngày.
- Chủng BTL11 được nuôi trên môi trường khoáng dịch bổ sung 100 ppm phenol và 0,1% glucose, nuôi lắc ở nhiệt độ 30°C với vận tốc 200 vòng/phút trong 14 ngày.

Kết quả sinh trưởng và phân hủy phenol của hai chủng nghiên cứu được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5. Khả năng sinh trưởng và phân hủy phenol của 2 chủng BTLP1, BTL11

Chủng VK	Nồng độ ban đầu (ppm)	Hình ảnh minh họa	Hiệu suất phân hủy
BTLP1	150		92,5%
BTL11	100		99,34%

## Một số ý kiến so sánh, thảo luận

Hiện nay, trên thế giới cũng có một số chủng vi khuẩn thuộc chi *Rhodococcus* có khả năng phân hủy phenol đã được công bố. Năm 2004, Amanda L. Jones và cộng sự đã phân lập thành công chủng *Rhodococcus gordoniae* có khả năng phân hủy phenol từ đất nhiễm phenol [8]. Tương tự như vậy, trên thế giới cũng có một số chủng vi khuẩn thuộc chi *Pseudomonas* có khả năng phân hủy phenol cũng đã được công bố. Năm 2008, Lin và cộng sự đã phân lập được chủng vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* có khả năng phân hủy phenol cao được phân lập từ nguồn nước thải công nghiệp [26]...

Ở Việt Nam, Tô Kim Anh (2004) trong báo cáo đề tài đã phân lập được 6 chủng vi khuẩn từ mẫu bùn thải của công ty xăng dầu Đức Giang và Xí nghiệp Dược phẩm TWI có khả năng phân hủy 94,36% phenol. Năm 2010, Cung Thị Ngọc Mai và cộng sự đã phân lập được chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy phenol 86,86% sau 7 ngày nuôi cấy.

Như vậy, cùng với các chủng vi sinh vật khác, chủng *Rhodococcus* sp. BTLP1 và *Pseudomonas* sp. BTL11 mà chúng tôi phân lập được đã góp phần làm phong phú thêm số lượng các chủng vi khuẩn thuộc chi *Rhodococcus* và *Pseudomonas* nói riêng và hệ vi sinh vật có khả năng phân hủy phenol nói chung, phục vụ cho công nghệ phân hủy sinh học nguồn nước thải sau này.

## 7. Kết luận và kiến nghị

### a) Kết luận

Rút ra những kết luận ngắn gọn phản ánh các kết quả chính đã thu được trong quá trình thực nghiệm. Ví dụ trong nghiên cứu này cần kết luận như sau:

- Đã thu thập được 3 mẫu nước thải ở các khu công nghiệp, nhà máy ở Hà Nội, Thái Nguyên và phân tích một số chỉ tiêu của nước thải đầu vào.
- Làm giàu được tập đoàn vi sinh vật ở mẫu nước thải thu thập được.
- Từ mẫu nước thải khu công nghiệp vừa và nhỏ Từ Liêm, đã phân lập được 6 chủng vi khuẩn có khả năng phát triển trên môi trường khoáng thạch có bổ sung Phenol (có và không bổ sung glucose với nồng độ 0,1%) với các hình dạng và màu sắc khác nhau. Trong đó có hai chủng BTLP1, BTL11 có khả năng phát triển mạnh nhất trên môi trường gost thạch có bổ sung phenol.
- Khuẩn lạc của chủng BTLP1 màu hồng, tròn, bóng nhót, không ăn sâu vào thạch, D: 2 - 3 mm. Hình dạng tế bào được quan sát bằng kính hiển vi với độ phóng đại 7.500 lần. Tế bào có dạng hình que, kích thước (0,6 - 0,8)  $\mu\text{m}$  x (3,6 - 4,4)  $\mu\text{m}$ . Khuẩn lạc của chủng BTL11 có màu trắng đục, đường kính từ 3 - 5 mm và mọc lan

trên mặt thạch, tế bào có dạng hình que, kích thước (0,39-0,46)  $\mu\text{m}$  x (2,59-2,86)  $\mu\text{m}$ .

- Bằng kỹ thuật phân loại phân tử sử dụng trình tự đoạn gen 16S rRNA, chủng BTLP1 có quan hệ gần gũi với các chủng thuộc chi *Rhodococcus* được đặt tên là *Rhodococcus* sp. BTLP1. Chủng BTL11 có quan hệ gần gũi với các chủng thuộc chi *Pseudomonas* được đặt tên là *Pseudomonas* sp. BTL11.
- Chủng BTLP1 có khả năng sử dụng 92,3% phenol sau 7 ngày nuôi cấy. Chủng BTL11 có khả năng sử dụng 99,34% phenol sau 14 ngày nuôi cấy

#### ***b) Kiến nghị***

Tiếp tục nghiên cứu tối ưu hóa các điều kiện môi trường để tăng cường khả năng phân hủy phenol của 2 chủng BTLP1 và BTL11 nhằm tạo nguồn nguyên liệu phục vụ cho việc xử lý nước thải công nghiệp nhiễm phenol bằng vi sinh vật.

#### **8. Tính mới, tính sáng tạo**

- Phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn ở chính nguồn nước thải bị ô nhiễm phenol (vi sinh vật bản địa) để phục vụ cho mục đích phân hủy sinh học.
- Nghiên cứu một cách có hệ thống và toàn diện từ việc làm giàu, phân lập, tuyển chọn, phân loại định tên, nghiên cứu khả năng phân hủy với mục đích chọn được những chủng vi sinh vật chuẩn, có khả năng phân hủy phenol cao nhất, thích ứng được với chính môi trường ô nhiễm phenol trong nước thải công nghiệp. Điều này rất thuận lợi cho việc tạo nguồn nguyên liệu sản xuất chế phẩm sinh học phục vụ cho xử lý nước thải công nghiệp nhiễm phenol bằng công nghệ sinh học.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tiếng Việt

1. Tô Kim Anh (2004), “*Nghiên cứu giải pháp sinh học phân giải phenol và một số dẫn xuất của phenol*”, Báo cáo đề tài cấp nhánh Nhà nước KC-04.
2. Cung Thị Ngọc Mai, Trần Thị Khánh Vân, Nghiêm Ngọc Minh, (2010) “*Hình thái tế bào và khả năng phân hủy PAH và phenol của chủng vi khuẩn BTL6 phân lập từ nước thải khu công nghiệp*”, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Số 6, tập 68, pp. 101-106.

### Tiếng Anh

3. Amanda L. Jones, June M. Brown, Vachaspati Mishra, John D. Perry, Arnold G. Steigerwalt and Michael Goodfellow, (2004), “*Rhodococcus gordoniae* sp. nov., an actinomycete isolated from clinical material and phenol-contaminated soil”, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 407- 411.
4. Ghadi, S. and Sangodkar, U.M.X. (1994) “*Identification of a meta-cleavage pathway for metabolism of phenoxyacetic acid and phenol in Pseudomonas cepacia AC1100*”, *Biochemical Biological Physical Research Communications*, 204, pp. 983-993.
5. Hideshi Y., Kazuyoshi Z., Keiko K., Satoshi S., Nobuo K. (1992), “*Degradation of phenol by thermophilic and halophilic bacteria isolated from a marine brine sample*”, *Journal of Fermentation and bioengineering*, 74, pp. 297-300.
6. Marc Rehfuss , James Urban, (2005), “*Rhodococcus phenolicus* sp. nov., a novel bioprocessor isolated actinomycete with the ability to degrade chlorobenzene, dichlorobenzene and phenol as sole carbon sources”, *Systematic and Applied Microbiology* 28, 695-701
7. Sambrook J., Rusell D.W (2001). *Molecular cloning. A laboratory manual*, 3<sup>rd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold spring Habor, New York