

ISOLATION AND SELECTION OF SULFUR-OXIDIZING BACTERIA FROM DOMESTIC WASTEWATER IN CAN THO CITY

Nguyen Duy Khang, Hong Nhu Bang, Tran Thi Giang*

Institute of Food and Biotechnology - Can Tho University

ARTICLE INFO		ABSTRACT
Received:	20/5/2025	Toxic sulfide compounds generated from polluted domestic wastewater have caused negative impacts on the ecosystem and human health. This study was conducted to isolate and select bacterial strains capable of sulfide oxidation. From the collected waste water samples, 28 bacterial strains capable of sulfide oxidation were isolated. The result of evaluating the sulfide-oxidizing ability using the drop culture method on TSM agar medium supplemented with bromothymol blue revealed that four bacterial strains, which formed halo zones and reduced the pH of the medium on the first day, were selected. Monitoring the sulfate ion concentration produced by the bacterial strains at different times showed that all selected bacterial strains were capable of oxidizing sulfide. Notably, two bacterial strains, including STCT.12 and STCT.24, exhibited significantly higher sulfate ion production than other strains. The results of 16S-rRNA sequencing revealed that bacterial strains STCT.12 and STCT.24 were closely related to <i>Acinetobacter baumannii</i> and <i>Acinetobacter junii</i> , respectively.
Revised:	30/10/2025	
Published:	31/10/2025	
KEYWORDS		
<i>Acinetobacter</i>		
Domestic wastewater		
Sulfur oxidation		
Isolation		
Selection		

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG OXY HÓA LƯU HUỖNH TỪ NƯỚC THẢI SINH HOẠT TẠI THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Nguyễn Duy Khang, Hồng Như Băng, Trần Thị Giang*

Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm - Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO		TÓM TẮT
Ngày nhận bài:	20/5/2025	Hợp chất sulfide độc hại sinh ra từ các nguồn nước thải sinh hoạt bị ô nhiễm đã gây ra tác động tiêu cực đến hệ sinh thái và sức khỏe con người. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn có khả năng oxy hóa sulfide. Từ các mẫu nước thải thu thập, 28 dòng vi khuẩn có khả năng oxy hóa sulfide đã được phân lập. Sau khi đánh giá khả năng oxy hóa sulfide bằng phương pháp cấy nhỏ giọt trên môi trường thạch TSM có bổ sung bromothymol blue, 4 dòng vi khuẩn có khả năng hình thành vòng halo và làm giảm pH môi trường ngay ngày đầu tiên đã được tuyển chọn. Việc theo dõi hàm lượng ion sulfate do các dòng vi khuẩn sản sinh ra tại các thời điểm khác nhau cho thấy tất cả các dòng vi khuẩn tuyển chọn đều có khả năng oxy hóa sulfide. Đặc biệt, hai dòng vi khuẩn STCT.12 và STCT.24 đã cho thấy khả năng sinh ra hàm lượng ion sulfate cao hơn rõ rệt so với các dòng vi khuẩn còn lại. Kết quả giải trình tự 16S-rRNA cho thấy dòng vi khuẩn STCT.12 và STCT.24 tương đồng lần lượt với <i>Acinetobacter baumannii</i> và <i>Acinetobacter junii</i> .
Ngày hoàn thiện:	30/10/2025	
Ngày đăng:	31/10/2025	
TỪ KHÓA		
<i>Acinetobacter</i>		
Nước thải sinh hoạt		
Oxy hóa lưu huỳnh		
Phân lập		
Tuyển chọn		

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12839>

* Corresponding author. Email: ttgiang@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Trong hầu hết các hoạt động sinh hoạt thường ngày cũng như các hoạt động sản xuất đều cần sử dụng nguồn nước, nước sạch không chỉ có tầm quan trọng đối với cơ thể mà còn quan trọng đối với đời sống con người. Hiện nay, nguồn nước đang ngày càng ô nhiễm do tiếp nhận trực tiếp rác thải và nước thải từ sinh hoạt và sản xuất. Phần lớn lượng thải này chưa qua xử lý, chứa nhiều chất độc hại. Chúng gây ra mùi hôi khó chịu và ảnh hưởng đến môi trường xung quanh. Tình trạng này đang lan rộng và cần được kiểm soát kịp thời. Có nhiều hợp chất gây mùi, trong đó đáng kể nhất các loại khí có hợp chất NH_3 và lưu huỳnh như H_2S [1].

Sulfide được tạo ra bởi các vi khuẩn có khả năng sử dụng lưu huỳnh (S), sulfate (SO_4^{2-}), thiosulfate ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) và tetrathionate ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$) làm chất nhận điện tử cuối cùng trong quá trình hô hấp kỵ khí [2]. Các thành phần hóa học chính của sulfide bao gồm hydrogen sulfide (H_2S), ion bisulfide (HS^-) và ion sulfide (S^{2-}), trong đó cả ba đều có mức độ độc tính tương đương, nhưng H_2S là dạng phổ biến và chiếm ưu thế hơn so với hai ion còn lại. Sự phân bố của các dạng sulfide này phụ thuộc vào độ pH của môi trường: trong khoảng pH từ 6 đến 7, H_2S chiếm từ 60% đến 95% tổng lượng sulfide, trong khi ở pH khoảng 7,5 trở lên, tỷ lệ H_2S giảm xuống còn khoảng 30%, và phần còn lại chủ yếu là HS^- [3]. H_2S có thể được hình thành từ cả nguồn hữu cơ và vô cơ, trong đó khí H_2S sinh ra từ các hợp chất hữu cơ chủ yếu thông qua hoạt động của các vi khuẩn khử sulfate (SRB – sulfate-reducing bacteria) trong điều kiện kỵ khí [4].

Sulfide là một trong những mối nguy hiểm đã được nghiên cứu từ rất lâu, là nguyên nhân phổ biến thứ 2 gây tử vong khi hít phải (chiếm 7,7% chỉ sau carbon monoxide 36%), nồng độ sulfide càng cao mức độ gây độc càng lớn [5]. Phương pháp sinh học dựa trên hoạt động của vi sinh vật để chuyển đổi các chất ô nhiễm dễ bay hơi thành dạng ít độc hại hơn đang được quan tâm bởi tính hiệu quả cao và thân thiện với môi trường [6]. Từ các mẫu nước và bùn ao nuôi tôm tại huyện Kiên Lương, tỉnh Kiên Giang, 6 vi khuẩn tía không lưu huỳnh đã được phân lập và tuyển chọn, kết quả thu được 4 chủng vi khuẩn có khả năng xử lý sulfide tốt [7]. Hay từ nước thải của các công ty chế biến thủy sản, 15 dòng vi khuẩn có khả năng hấp thu sulfide đã được phân lập và khảo sát khả năng hấp thu sulfide ở các nồng độ 40, 80 và 160 mg/L trong 24 giờ [8].

Là một trong 13 tỉnh của Đồng bằng sông Cửu Long, thành phố Cần Thơ - nơi có vị trí quan trọng với nguồn sông Mê Kông, đem lại nguồn nước phục vụ cho sản xuất. Cùng với sự tăng trưởng mạnh mẽ của nền công nghiệp và đô thị hóa đã dẫn đến nguồn nước trong thành phố cũng bị ảnh hưởng khá nghiêm trọng. Bài báo này công bố kết quả khảo sát và tuyển chọn các dòng vi khuẩn có khả năng oxy hóa sulfide (SOB) từ các nguồn nước thải sinh hoạt tại thành phố Cần Thơ, làm tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng về xử lý sinh học sulfide.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu

Các mẫu nước thải được thu ở phường Ninh Kiều, phường Tân An, phường An Bình, phường Long Xuyên, phường Cái Khế, phường Bình Thủy; được lấy từ các bờ kè, kênh rạch tại cầu Rạch Ngỗng 2, Hoàng Văn Thụ, Mạc Thiên Tích, cầu Đầu Sấu, rạch Cái Sơn, rạch Ngã Bát, rạch Khoán Châu, rạch Bình Thủy, rạch Ông Kinh, rạch Miếu Ông và rạch Súc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu nước thải

Mẫu nước thải được thu thập tại các vị trí tập trung đông dân cư và có nhiều hoạt động sinh hoạt liên quan trực tiếp đến nguồn nước. Trước khi lấy mẫu phải quan sát mặt nước nhằm đánh giá sơ bộ chất lượng, mẫu được lấy tại các vị trí có dòng chảy, màu nước khác thường như xanh rêu đậm hoặc đen đục, mặt nước có thể xuất hiện bọt khí, váng dầu li ti hoặc rác thải chưa phân hủy.

Quy trình lấy mẫu gồm: vệ sinh dụng cụ, dùng chai nhựa 500 mL thu nước thải ở độ sâu từ 15-20 cm và cách bờ khoảng 1 m, sau đó đậy kín nắp, đánh dấu mẫu và trữ lạnh trong thùng giữ nhiệt. Sau khi hoàn tất việc lấy mẫu tại 11 địa điểm, các mẫu được nhanh chóng vận chuyển về phòng thí nghiệm, chuyển vào ống falcon đã khử trùng và bảo quản lạnh để phục vụ cho quá trình phân tích sau đó.

2.2.2. Phân lập vi khuẩn oxy hóa sulfide

Vi khuẩn có trong các mẫu nước thải thu về được tăng sinh bằng cách cho 1 mL mẫu lỏng vào bình tam giác 250 mL chứa 50 mL môi trường TSM (1,5 g/L K_2HPO_4 ; 1,5 g/L KH_2PO_4 ; 0,4 g/L NH_4Cl ; 0,8 g/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$; 0,1 g/L $CaCl_2$; 10 g/L $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) đã khử trùng [6], đậy bằng nút gòn và ủ ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^\circ C$) với tốc độ lắc 160 vòng/phút trong 14 ngày. Hút 1 mL dung dịch huyền phù trong bình tam giác cho vào ống nghiệm chứa 9 mL nước cất vô trùng, lắc đều để thu được dung dịch pha loãng 10^{-1} . Sau đó, hút 1 mL dung dịch trong ống nghiệm 10^{-1} cho vào ống nghiệm chứa 9 mL nước cất vô trùng, lắc đều để thu được dung dịch pha loãng 10^{-2} , thực hiện các thao tác tương tự để có được các ống nghiệm có nồng độ pha loãng 10^{-3} và 10^{-4} . Tiến hành hút 0,1 mL mẫu đã được pha loãng cấy trải lên đĩa môi trường thạch TSM ủ ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^\circ C$) trong 72 giờ. Quan sát và cấy rìa các khuẩn lạc rời rạc và khác biệt về hình thái sang môi trường thạch TSM mới có bổ sung chất chỉ thị pH Bromothymol blue [6]. Từ các đĩa thạch thực hiện cấy chuyển nhiều lần cho đến khi đồng nhất dạng khuẩn lạc, đồng thời màu môi trường nuôi cấy chuyển từ xanh lá sang vàng. Độ thuần của các dòng vi khuẩn phân lập được xác định sau 3 ngày bằng cách quan sát dưới kính hiển vi quang học để ghi nhận hình thái khuẩn lạc và đặc điểm tế bào vi khuẩn. Xác định đặc tính sinh hóa của các dòng vi khuẩn được phân lập qua các thử nghiệm sinh hóa catalase, oxydase và KOH 3%.

2.2.3. Đánh giá khả năng oxy hóa sulfide

Các khuẩn lạc làm giảm pH môi trường thạch TSM sẽ được nuôi tăng sinh bằng cách lấy 1 khuẩn lạc cho vào ống falcon chứa 20 mL môi trường TSM lỏng đã khử trùng, đậy nắp và ủ ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^\circ C$) với tốc độ lắc 160 vòng/phút trong 14 ngày cho đến khi môi trường trở nên đục. Hút 100 μL dung dịch huyền phù đã tăng sinh nhỏ lên trên môi trường thạch TSM có bổ sung bromothymol blue. Để khô tự nhiên dưới ngọn lửa đèn cồn, đậy nắp và ủ ở nhiệt độ phòng ($28 \pm 2^\circ C$), thí nghiệm lặp lại 3 lần [9]. Quan sát và ghi nhận tốc độ khả năng hình thành khuẩn lạc và tạo vòng halo trên đĩa tại các thời điểm 24, 48 và 72 giờ [10].

2.2.4. Định lượng ion sulfate

Các dòng vi khuẩn đã tuyển chọn được tăng sinh trong môi trường nuôi cấy 14 ngày sẽ thực hiện hiệu chỉnh mật độ quang (OD_{660}) về đồng nhất. Sau đó, chuyển 200 μL huyền phù vi khuẩn (đã hiệu chỉnh mật độ) sang 20 mL môi trường TSM lỏng, lắc với tốc độ 160 vòng/phút ở nhiệt độ phòng, lặp lại 3 lần. Hàm lượng ion sulfate tạo ra được xác định vào ngày 0, ngày 3, ngày 5 và ngày 7.

Dung dịch sulfate chuẩn được tạo ra bằng cách hoà tan kali sulfate (K_2SO_4) trong nước khử ion với nồng độ từ 0 đến 10 mM và sau đó được thêm dung dịch $BaCl_2$ tạo thành dung dịch màu trắng [11]. Cho dung dịch $BaCl_2$ (10% w/v) vào dung dịch mẫu theo tỉ lệ 1:1 và trộn mạnh đến khi tạo ra dung dịch bari sulfate ($BaSO_4$) màu trắng đục. Sau đó, dung dịch $BaSO_4$ được đo ở bước sóng 480 nm bằng máy đo quang phổ. Các giá trị thu được sẽ so sánh với đường chuẩn sulfate [6].

2.2.5. Định danh dòng vi khuẩn tiềm năng được tuyển chọn

Dòng vi khuẩn có khả năng chuyển hoá sulfide hiệu quả được tuyển chọn và giải trình tự vùng 16S-rRNA để định danh. Khuẩn lạc vi khuẩn sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường TSM được ly trích DNA và được khuếch đại vùng 16S-rRNA với cặp mồi 27F và 1492R [12]. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di trên gel agarose 1,5% và gửi giải trình tự ở Công ty Trách nhiệm hữu hạn DNA Sequencing - thành phố Cần Thơ. Trình tự nucleotide của vùng 16S-rRNA ở

vi khuẩn phân lập được so sánh với các vi khuẩn hiện có trong cơ sở dữ liệu National Center for Biotechnology Information (NCBI) bằng công cụ BlastN. Sơ đồ phả hệ của dòng vi khuẩn phân lập được xây dựng bằng phần mềm Mega 6.

2.3. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2016 để lưu trữ, xử lý các số liệu thô và xây dựng biểu đồ. Số liệu thu thập được xử lý thống kê bởi phần mềm Minitab 16, phân tích ANOVA một nhân tố bằng kiểm định Tukey's.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn oxy hóa lưu huỳnh

Kết quả phân lập, xác định đặc tính sinh hóa và hình thái tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Đặc tính sinh hóa và hình thái tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập từ nước thải sinh hoạt tại thành phố Cần Thơ

Mẫu nước	Dòng vi khuẩn	Khuẩn lạc	Tế bào	Cat	Oxy	Di động	Gram
Cầu Rạch Ngỗng 2	STCT.01	Vàng nhạt, tròn, phẳng, bìa nguyên	Que	+	-	-	+
	STCT.02	Trắng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	-	+
	STCT.03	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Que	+	-	-	+
Bờ kè Hoàng Văn Thụ	STCT.04	Vàng cam, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	+	+	-
	STCT.05	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	-	-
	STCT.06	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	-	+
	STCT.07	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	+	-
Bờ kè Mạc Thiên Tích	STCT.08	Vàng, tròn, lồi, bìa sợi	Cầu	+	-	-	+
	STCT.09	Trắng, tròn, phẳng, bìa nguyên	Que	+	+	+	+
	STCT.10	Vàng nhạt, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	-	+
	STCT.11	Trắng trong, tròn, phẳng, bìa nguyên	Que	+	-	-	+
Cầu Đầu Sáu	STCT.12	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	-	-
	STCT.13	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	+	-
Rạch Cái Sơn	STCT.14	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Que	-	-	-	+
	STCT.15	Trắng đục, tròn, lồi, bìa nguyên	Que	-	-	-	+
	STCT.16	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Que	+	-	+	+
Rạch Ngã Bát	STCT.17	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	+	+
	STCT.18	Trắng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	+	-	-
	STCT.19	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	-	+
Rạch Khoán Châu	STCT.20	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Que	-	-	-	+
Rạch Bình Thủy	STCT.21	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Que	+	-	-	+
	STCT.22	Trắng, không đều, lồi, bìa chia thùy	Que	+	-	+	+
	STCT.23	Trắng, tròn, lồi, bìa nguyên	Que	+	-	-	+
Rạch Ông Kinh	STCT.24	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	-	-
	STCT.25	Trắng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	-	-	-	+
Rạch Miếu Ông	STCT.26	Trắng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	-	-
	STCT.27	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	+	-	+	+
Rạch Súc	STCT.28	Vàng, tròn, lồi, bìa nguyên	Cầu	-	-	+	+

Ghi chú: (+): Dương tính, (-): Âm tính, "Cat": Catalase, "Oxy": Oxidase

Kết quả trình bày trong Bảng 1 cho thấy từ 11 mẫu nước thải ban đầu đã phân lập được tổng cộng 28 dòng vi khuẩn có khả năng oxy hóa sulfide. Các chủng vi khuẩn này làm giảm pH môi trường thạch TSM (có bổ sung chất chỉ thị pH bromothymol blue), dẫn đến sự chuyển màu của

môi trường từ xanh sang vàng. Về hình dạng khuẩn lạc, có 27 dòng vi khuẩn tạo khuẩn lạc dạng tròn, 1 dòng tạo khuẩn lạc không đều. Khuẩn lạc màu trắng có 9 dòng và màu vàng có 19 dòng, có 18 dòng vi khuẩn có độ nổi lồi, 7 dòng có độ nổi lồi và 3 dòng tạo bề mặt khuẩn lạc phẳng. Bìa khuẩn lạc được tạo bởi 28 dòng vi khuẩn có 3 dạng, trong đó có 26/28 dòng vi khuẩn là bìa nguyên, 1 dòng có bìa sợi và 1 dòng bìa chia thùy. Về hình thái tế bào khi quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại của vật kính 40X ghi nhận được 17 dòng vi khuẩn có tế bào hình cầu và 11 dòng có dạng hình que, đồng thời ghi nhận được 9 dòng có khả năng di động và 19 dòng không di động. Kết quả thử nghiệm sinh hóa với 28 dòng vi khuẩn phân lập được cho thấy có 8 dòng vi khuẩn thuộc Gram âm và 20 dòng vi khuẩn thuộc Gram dương, 23 dòng vi khuẩn dương tính với catalase và 3 dòng dương tính với oxydase.

3.2. Kết quả định tính khả năng oxy hóa lưu huỳnh

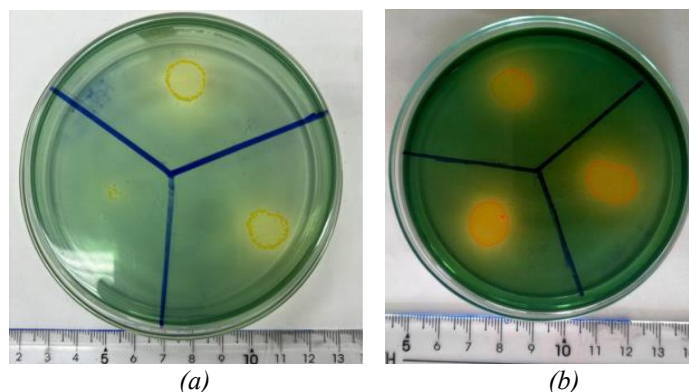
Các dòng vi khuẩn được tiến hành đánh giá khả năng oxy hóa sulfide bằng phương pháp cấy nhỏ giọt (Hình 1). Kết quả được ghi nhận và trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả định tính khả năng oxy hóa lưu huỳnh của các dòng vi khuẩn

STT	Dòng vi khuẩn	Thời gian (giờ)		
		24	48	72
1	STCT.01	-	-	-
2	STCT.02	-	-	-
3	STCT.03	-	-	-
4	STCT.04	-	+	+
5	STCT.05	+	+	++
6	STCT.06	+	++	++
7	STCT.07	-	+	++
8	STCT.08	-	-	+
9	STCT.09	-	-	-
10	STCT.10	-	-	-
11	STCT.11	-	-	-
12	STCT.12	+	++	++
13	STCT.13	-	+	+
14	STCT.14	-	-	-
15	STCT.15	-	+	+
16	STCT.16	-	-	+
17	STCT.17	-	-	-
18	STCT.18	-	-	-
19	STCT.19	-	-	-
20	STCT.20	-	-	-
21	STCT.21	-	-	-
22	STCT.22	-	-	-
23	STCT.23	-	-	-
24	STCT.24	+	+	++
25	STCT.25	-	+	+
26	STCT.26	-	-	+
27	STCT.27	-	-	-
28	STCT.28	-	-	-

Ghi chú: (+): Có hình thành vòng chuyển hóa, (++): Chuyển hóa hết đĩa petri, (-): Chưa xuất hiện vòng chuyển hóa.

Qua kết quả ghi nhận trong Bảng 2 cho thấy trong tổng số 28 dòng vi khuẩn được phân lập có 4 dòng vi khuẩn hình thành vòng chuyển hóa sulfide sau 24 giờ là SCTC.05, SCTC.06, SCTC.12 và SCTC.24, chiếm tỷ lệ 14,29%. Các dòng vi khuẩn khác tuy có sự hình thành khuẩn lạc nhưng không có xuất hiện vòng chuyển hóa. Do đó, 4 dòng vi khuẩn đã làm giảm pH môi trường dẫn đến sự hình thành vòng chuyển hóa sau 24 giờ được tuyển chọn để thực hiện thí nghiệm khảo sát hàm lượng ion sulfate.



Hình 1. Vòng halo tạo bởi vi khuẩn trên môi trường TSM: (a) dòng STCT.12 và (b) dòng STCT.24

Nghiên cứu của Huỳnh Trường Giang và cộng sự [13] đã cho thấy khả năng làm giảm pH môi trường nuôi cấy thiosulfate của các dòng SOB. Trong số 30 dòng vi khuẩn phân lập được chỉ có 5 chủng làm giảm pH của môi trường nuôi cấy, đồng thời chúng cũng thể hiện hoạt tính enzyme sulfur oxidase cao và khả năng tạo ion sulfate khi sử dụng thiosulfate làm cơ chất.

3.3. Kết quả khảo sát hàm lượng ion sulfate

Các chủng vi khuẩn sau khi tuyển chọn bằng phương pháp cấy nhỏ giọt được mang đi đánh giá hàm lượng ion sulfate tạo ra để chọn lọc dòng vi khuẩn có khả năng oxy hóa sulfide tốt nhất. Kết quả khảo sát được thể hiện ở Bảng 3.

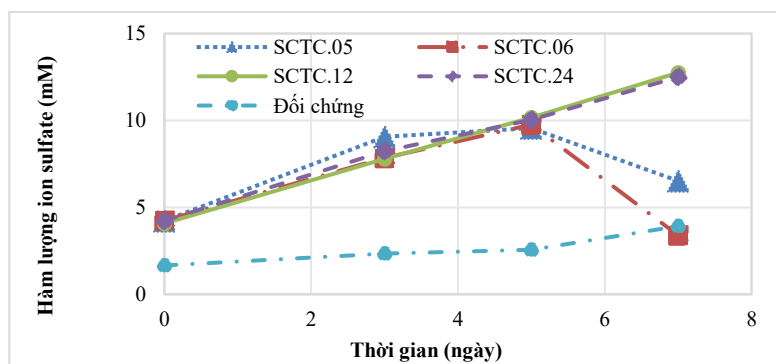
Bảng 3. Hàm lượng ion sulfate (mM) sinh ra của các dòng vi khuẩn oxy hóa sulfide được tuyển chọn

STT	Dòng vi khuẩn	Thời gian (ngày)			
		0	3	5	7
1	SCTC.05	$4,23 \pm 0,13^a$	$9,06 \pm 0,37^a$	$9,56 \pm 0,19^a$	$6,52 \pm 0,70^b$
2	SCTC.06	$4,24 \pm 0,27^a$	$7,85 \pm 0,68^a$	$9,76 \pm 0,89^a$	$3,39 \pm 0,14^c$
3	SCTC.12	$4,08 \pm 0,18^a$	$7,80 \pm 1,12^a$	$10,17 \pm 1,26^a$	$12,75 \pm 0,58^a$
4	SCTC.24	$4,23 \pm 0,23^a$	$8,23 \pm 0,15^a$	$10,03 \pm 0,55^a$	$12,50 \pm 0,23^a$
5	Đối chứng	$1,66 \pm 0,10^b$	$2,35 \pm 0,55^b$	$2,57 \pm 0,38^b$	$3,92 \pm 0,24^c$

Ghi chú: Các giá trị trong bảng là trung bình 3 lần lặp lại. Các ký tự khác nhau theo sau các giá trị trên cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Kết quả tại Bảng 3 cho thấy hàm lượng ion sulfate tạo ra của các dòng vi khuẩn sau 7 ngày đều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng. Qua đó, có thể thấy rằng 4 dòng vi khuẩn được tuyển chọn đều có khả năng oxy hóa sulfide tốt. Hàm lượng ion sulfate tạo ra của các dòng vi khuẩn sau 3 đến 5 ngày nuôi cấy trong môi trường TSM lỏng có xu hướng tăng, tuy nhiên không có khác biệt về ý nghĩa thống kê. Bên cạnh đó, kết quả ghi nhận vào ngày thứ 7 cho thấy hàm lượng của 2 dòng SCTC.05 và SCTC.06 có xu hướng giảm, trong khi dòng SCTC.12 và SCTC.24 vẫn tiếp tục tăng. Kết quả cho thấy khả năng oxy hóa của 2 dòng vi khuẩn SCTC.12 và SCTC.24 là tốt nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với 2 dòng còn lại.

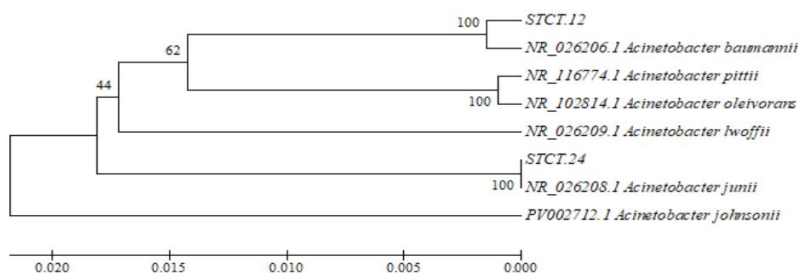
Sự biến thiên hàm lượng ion sulfate tạo ra của 4 dòng vi khuẩn được thể hiện trong Hình 2. Từ ngày 0 đến ngày 3, các dòng vi khuẩn thích nghi với môi trường và bắt đầu chuyển hóa sulfide. Nhìn chung, từ ngày 3 đến ngày 5 là khoảng thời gian các dòng vi khuẩn chuyển hóa mạnh, trong đó dòng STCT.12 tạo ra lượng ion sulfate cao nhất ($10,17 \pm 1,26$ mM). Từ ngày 5 đến ngày 7, hàm lượng ion sulfate tạo ra từ dòng vi khuẩn STCT.12 và dòng STCT.24 tiếp tục tăng. Hai dòng vi khuẩn STCT.05 và STCT.06 có xu hướng giảm, điều này xảy ra có thể do trong khoảng thời gian từ sau ngày 5 đến ngày 7 đã có sự biến đổi trong môi trường nuôi cấy hoặc tác động của môi trường xung quanh (nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng,...) làm cho quá trình chuyển hóa của vi khuẩn bị thay đổi theo chu trình khác và mất đi lượng ion sulfate đã tạo ra.



Hình 2. Biểu đồ hàm lượng ion sulfate tạo ra từ oxy hóa sulfide của các dòng vi khuẩn tuyển chọn sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường TSM

3.4. Kết quả định danh dòng vi khuẩn tiềm năng được tuyển chọn

Vùng trình tự 16S-rRNA của 2 dòng vi khuẩn STCT.12 và STCT.24 được tách chiết và khuếch đại bằng phản ứng PCR. Sau đó, sản phẩm PCR từ đoạn 16S-rRNA được giải trình tự và phân tích trên hệ thống NCBI-Blast cho ra kết quả định danh 2 dòng vi khuẩn STCT.12 và STCT.24 đều thuộc chi *Acinetobacter*. Trong đó, dòng STCT.12 có trình tự 16S-rRNA tương đồng 99,24% với *Acinetobacter baumannii* và dòng STCT.24 tương đồng 100% với *Acinetobacter junii* (Hình 3).



Hình 3. Sơ đồ phân loại hình cây được xây dựng dựa trên trình tự đoạn 16S-rRNA của hai chủng nghiên cứu STCT.12 và STCT.24 và một số trình tự trên ngân hàng gen

Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy khả năng oxy lưu huỳnh của các dòng vi khuẩn *Acinetobacter*. Ví dụ, chủng vi khuẩn *Acinetobacter* DS-9 đã được phân lập từ nước thải có chứa thuốc nhuộm lưu huỳnh và cho thấy hàm lượng SO_4^{2-} sinh ra trong môi trường nuôi cấy có chủng *Acinetobacter* sp. DS-9 cao hơn 15,22% so với nghiệm thức đối chứng vào ngày thứ năm. Và khi tối ưu hóa một yếu tố để cải thiện hiệu quả chuyển hóa lưu huỳnh của DS-9 trong môi trường chứa 100 mg/L lưu huỳnh đen, hàm lượng SO_4^{2-} trong môi trường nuôi cấy tăng 52,06% sau 4 ngày so với mẫu đối chứng [14]. Hoặc trong nghiên cứu từ chất thải trang trại chăn nuôi heo ở Đồng bằng sông Cửu Long, 2 chủng vi khuẩn được phân lập có hoạt tính oxy hóa lưu huỳnh cao nhất là *Acinetobacter* sp. và *Klebsiella* sp. với nồng độ sulfate (SO_4^{2-}) sinh ra là 150 mg/L sau 10 ngày bổ sung vi khuẩn [15].

4. Kết luận

Từ 28 dòng vi khuẩn phân lập được trong các mẫu nước thải sinh hoạt tại thành phố Cần Thơ đã xác định được 2 dòng vi khuẩn có khả năng oxy hóa lưu huỳnh tốt nhất là STCT.12 và STCT.24 sau 7 ngày thử nghiệm. Kết quả giải trình tự và so sánh trên ngân hàng dữ liệu đã xác định dòng SCTC.12 là *Acinetobacter baumannii* và dòng STCT.24 là *Acinetobacter junii*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. T. Nguyen, V. T. Pham, and L. Kim, "Minimizing odor by biofilter technology," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 59, pp. 114–122, 2023, doi: 10.22144/ctu.jvn.2023.113.
- [2] L. L. Barton, M. L. Fardeau, and G. D. Fauque, "Hydrogen sulfide: a toxic gas produced by dissimilatory sulfate and sulfur reduction and consumed by microbial oxidation," *Metal Ions in Life Sciences*, vol. 14, pp. 237–277, 2014.
- [3] J. Armstrong and W. Armstrong, "Rice: sulfide-induced barriers to root radial oxygen loss, Fe^{2+} and water uptake, and lateral root emergence," *Annals of Botany*, vol. 96, no. 4, pp. 625–638, 2005.
- [4] S. B. Novair, Z. Biglari, B. A. Lajayer, W. Shu, and G. W. Price, "The role of sulphate-reducing bacteria (SRB) in bioremediation of sulphate-rich wastewater: Focus on the source of electron donors," *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 184, pp. 190–207, 2024.
- [5] T. L. Guidotti, "Hydrogen sulfide: Advances in understanding human toxicity," *International Journal of Toxicology*, vol. 29, no. 6, pp. 569–581, 2010.
- [6] M. Y. Hidayat, H. M. Saud, and A. A. Samsudin, "Isolation and characterisation of sulphur oxidizing bacteria isolated from hot spring in Malaysia for biological deodorisation of hydrogen sulphide in chicken Manure," *Media Peternakan*, vol. 40, no. 3, pp. 178–187, 2017.
- [7] V. Q. Tran, H. K. Tran, and V. B. Tran, "Isolating, selecting and identifying purple nonsulfur bacteria, and testing the sulfide handling ability of purple nonsulfur bacteria in shrimp pond water in Kien Luong district, Kien Giang province," *Vietnam Trade and Industry Review*, no. 10, pp. 380–385, 2022.
- [8] A. T. Pham, N. Q. L. Tran, P. T. Vo, D. K. Nguyen, and T. P. O. Nguyen, "Isolation of sulfide absorbing bacteria from seafood processing wastewater," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 60, no. 1, pp. 63–70, 2024, doi: 10.22144/ctujos.2023.228.
- [9] B. Herigstad, M. Hamilton, and J. Heersink, "How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria," *Journal of Microbiological Methods*, vol. 44, no. 2, pp. 121–129, 2001.
- [10] M. Oves, M. S. Khan, and H. A. Qari, "Ensifer adhaerens for heavy metal bioaccumulation, biosorption, and phosphate solubilization under metal stress condition," *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, vol. 80, pp. 540–552, 2017.
- [11] A. Kolmert, P. Wikström, and K. B. Hallberg, "A fast and simple turbidimetric method for the determination of sulfate in sulfate-reducing bacterial cultures," *Journal of Microbiological Methods*, vol. 41, no. 3, pp. 179–184, 2000.
- [12] W. G. Weisburg, S. M. Barns, D. A. Pelletier, and D. J. Lane, "16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study," *Journal of Bacteriology*, vol. 173, no. 2, pp. 697–703, 1991, doi: 10.1128/jb.173.2.697-703.1991.
- [13] T. G. Huynh, H. H. Vu, T. C. T. Phan, T. T. N. Pham, and N. U. Vu, "Characterizations of sulfur oxidizing bacteria from extensive shrimp ponds," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 13, pp. 86–95, 2021, doi: 10.22144/ctu.jen.2021.021.
- [14] Y. Gu, X. Zhu, W. Yu, W. Zhong, J. Guo, and Z. Cai, "Oxidization and biodegradation of sulfur black by a newly isolated strain *Acinetobacter* sp. DS-9," *Desalination and Water Treatment*, vol. 227, pp. 321–329, 2021, doi: 10.5004/dwt.2021.27310.
- [15] V. C. T. Quach and Q. D. Tran, "Isolation of sulfur oxidizing bacteria from piggery wastes in some provinces of the Mekong Delta," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 228, no. 5, pp. 74–81, 2023, doi: 10.34238/tnu-jst.6798.