

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN *BACILLUS* TỪ AO NUÔI TÔM THẺ CÓ KHẢ NĂNG SINH CHẤT KẾT TỤ SINH HỌC

ISOLATION AND SELECTION OF *BACILLUS* BACTERIA FROM SHRIMP PONDS WITH BIOACCUMULATION POTENTIAL

Phạm Minh Tuấn¹, Trần Đức Thảo^{1,*}

DOI: <https://doi.org/10.57001/huih5804.2023.025>

TÓM TẮT

Công nghệ biofloc ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản hiện nay là một trong những công nghệ được nghiên cứu nhiều nhằm nâng cao khả năng kiểm soát môi trường cũng như giải quyết nhu cầu nguồn thức ăn trong ao nuôi. Trong công nghệ biofloc, các chất lơ lửng bao gồm cả các tế bào vi sinh vật kết tụ lại với nhau thành các hạt lơ lửng là một yếu tố rất quan trọng. Sự hình thành các hạt lơ lửng này có thể có sự đóng góp không nhỏ của vi khuẩn thông qua cơ chế keo tụ sinh học. Trong nghiên cứu này, 03 chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. B15, B5 và B12 có khả năng tạo kết tụ sinh học cao được tuyển chọn từ 20 chủng phân lập được từ nước ao nuôi tôm. Các chủng này được dùng để khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố trong thực tế có thể ảnh hưởng tới khả năng kết tụ sinh học trong ao nuôi. Môi trường phù hợp nhất cho các chủng B15 và B5 là glucose, cao nấm men, CaCl_2 ; chủng B12 là glucose, glutamate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ cho tỉ lệ kết tụ hơn 60% với dung dịch kaolin sau 5 phút để lắng ở pH 7 và 1% (v/v) bổ sung canh trường vi khuẩn. Đây là nghiên cứu bước đầu hướng tới ứng dụng tạo chế phẩm sinh học xử lý môi trường ao nuôi áp dụng công nghệ biofloc.

Từ khóa: Biofloc, kết tụ sinh học, *Bacillus* sp., ao nuôi tôm.

ABSTRACT

The research on biofloc generation is one directions aimed to improve the quality of pond water as well as the effective use of feed in aquacultural ponds. In biofloc technology, it is very important that the suspended solids in pond water including microbial cells are flocculated in the form of loosely aggregated particles. Bioflocculation by bacteria probably plays crucial role in the formation of these particles. In this study, 03 strains of *Bacillus* sp. B15, B5, and B12 showed the best bioflocculating capability among 20 strains isolated. These strains were used to determine the effects of some factors on the bioflocculating effectiveness. The results showed that the most suitable medium for B15 and B5 strains were glucose, yeast extract, and CaCl_2 ; B12 strain was glucose, glutamate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ for more than 60% flocculating rate with kaolin solution after 5 minutes to settle at pH 7 and 1% (v/v) of bacterial broth. This is the initial research towards the application of bio-products to treat shrimp pond water using biofloc technology.

Keywords: Biofloc, bioflocculation, *Bacillus* sp., shrimp pond.

¹Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Tp. Hồ Chí Minh

*Email: thaotranduc@gmail.com

Ngày nhận bài: 20/12/2022

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 06/02/2023

Ngày chấp nhận đăng: 24/02/2023

1. GIỚI THIỆU

Bacillus là vi khuẩn được sử dụng rất phổ biến làm chế phẩm sinh học (bio-products) vì có khả năng sản xuất nhiều enzyme ngoại bào (amylase, protease, cellulase,...), giúp phân hủy bùn bã hữu cơ, tiết kháng sinh sinh học (bacteriocins) diệt vi khuẩn gây bệnh, đặc biệt vi khuẩn tồn tại trong sản phẩm dưới dạng bào tử nên có thể duy trì khả năng sống tốt, thể hiện được chức năng sau một thời gian bảo quản lâu dài (Kuebutornye và cộng sự, 2019). Khi bổ sung *Bacillus* sp. vào môi trường nước thải hoặc nước ao nuôi trồng thủy sản, chúng sẽ thích nghi và chuyển hóa, sử dụng các chất thải hữu cơ để tăng trưởng, thông qua đó làm cho môi trường nước trở nên sạch hơn [8].

Quá trình kết tụ nói chung có thể được thực hiện với 3 nhóm chất kết tụ chính: chất kết tụ vô cơ (aluminum sulfate và polyaluminum chloride), chất kết tụ hữu cơ tổng hợp (dẫn xuất của polyacrylamide với polyethyleneimine và các chất có nguồn gốc tự nhiên như chitosan, sodium alginate) và kết tụ sinh học bởi vi sinh vật (microbial flocculants) [18]. Trong số đó, chất kết tụ tạo ra từ vi khuẩn đã được nghiên cứu nhiều và ứng dụng trong các quá trình xử lý môi trường.

Các chất có khả năng tạo ra kết tụ sinh học là sản phẩm trao đổi chất của vi sinh vật [15]. Về bản chất, chất kết tụ sinh học là những hợp chất cao phân tử, được vi sinh vật tạo ra trong quá trình tăng trưởng. Có nhiều nhóm vi sinh vật có khả năng gây kết tụ sinh học như vi khuẩn, nấm và xạ khuẩn với nhiều loại chất kết tụ sinh học được sinh tổng hợp (polysaccharide, protein, glycoprotein,...) [5].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn *Bacillus* từ nước ao nuôi tôm có khả năng sinh chất kết tụ sinh học, xác định ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng kết tụ sinh học của các chủng phân lập được nhằm hướng tới việc sản xuất chế phẩm sinh học áp dụng cho quy trình nuôi tôm ứng dụng công nghệ biofloc.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Mẫu nước và mẫu bùn thu từ một số ao tôm thẻ ở huyện Bình Đại, Bến Tre.

- Môi trường nuôi cấy tạo chất kết tụ sinh học với thành phần (tính trên 1 lít): 10g glucose; 5g KH_2PO_4 ; 2g K_2HPO_4 ; 0,1g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,1g NaCl; 0,5g carbamide; 0,5g cao nấm men; pH điều chỉnh pH bằng 7 [2, 4].

- Môi trường Nutrient Agar (NA): 5g Pepton, 1,5g cao thịt, 1,5g cao nấm men, 5g NaCl, nước cất vừa đủ 1 lít.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp phân lập và làm thuần

Mẫu nước và bùn được lấy từ các ao nuôi tôm thẻ thuộc khu vực huyện Bình Đại, tỉnh Bến Tre, được bảo quản ở 4°C, sử dụng trong vòng 24h. 1ml mẫu nước hoặc 1g mẫu bùn được pha loãng trong 9ml nước muối 0,9% vô trùng. Mẫu đã pha loãng được gia nhiệt trong bể ổn nhiệt ở 80°C trong 15 phút để loại bỏ tế bào dinh dưỡng. Sau đó pha loãng mẫu bùn từ 10^6 - 10^8 lần; mẫu nước từ 10^3 - 10^5 lần. Hút 100μl dịch đã pha loãng cấy trải trên môi trường NA. Ủ ở 37°C trong 24 giờ. Chọn khuẩn lạc đặc trưng cho *Bacillus* và tiến hành làm thuần bằng cách cấy ria trên môi trường NA, cho tới khi quan sát thấy chỉ có một dạng khuẩn lạc duy nhất trên môi trường.

2.2.2. Kiểm tra khả năng kết tụ sinh học của các chủng vi khuẩn

Mỗi chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong 50ml môi trường tạo chất kết tụ sinh học trong bình tam giác 100ml. Thực hiện trên máy lắc ở tốc độ 160 vòng/phút, trong 72h ở nhiệt độ phòng.

Kiểm tra khả năng kết tụ của các dòng vi khuẩn: chuẩn bị hỗn hợp gồm 90ml dung dịch kaolin (5g/l), 10ml dung dịch CaCl_2 1%, (w/v) bổ sung 100μl dịch vi khuẩn nuôi cấy 72h (có mật độ khoảng 10^9 CFU/ml). Hỗn hợp được khuấy đều, để lắng 5 phút, sau đó phần trong ở trên cách mặt nước 2cm được hút để xác định mật độ quang ở bước sóng 550nm. Mẫu đối chứng thực hiện tương tự, dùng môi trường nuôi cấy thay cho canh trường vi khuẩn [4].

Tỷ lệ kết tụ được tính theo công thức (1):

$$\text{Tỷ lệ kết tụ (\%)} = \frac{\text{OD}_{\text{ĐC}} - \text{OD}_{\text{Mẫu}}}{\text{OD}_{\text{ĐC}}} \times 100\% \quad (1)$$

Trong đó: $\text{OD}_{\text{ĐC}}$, $\text{OD}_{\text{Mẫu}}$ là giá trị đo mật độ quang ở bước sóng 550nm của mẫu và đối chứng.

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng kết tụ sinh học

Các thí nghiệm được tiến hành ngẫu nhiên để khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến khả năng kết tụ sinh học của các chủng vi khuẩn phân lập được. Các thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp kiểm tra hiệu quả kết tụ sinh học của Deng và cộng sự [4].

- Khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon và nitrogen: các hợp chất glucose (1% w/v), sucrose (1% w/v), tinh bột (1% w/v) và glutamate (0,05% w/v), cao nấm men (0,05% w/v), urea (0,05% w/v), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,05% w/v) được bổ sung vào môi trường tạo chất kết tụ sinh học để khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon, nitơ đến khả năng sinh tổng hợp chất kết tụ sinh học.

- Khảo sát ảnh hưởng của pH ban đầu môi của trường nuôi cấy: Ảnh hưởng của pH ban đầu của môi trường nuôi cấy đến khả năng kết tụ sinh học của chủng vi khuẩn được khảo sát trong khoảng pH từ 4 đến 9. Thí nghiệm được thực hiện gồm 6 nghiệm thức tương ứng với mỗi nghiệm thức là một giá trị pH khác nhau: 4, 5, 6, 7, 8, 9. Giá trị pH được điều chỉnh phù hợp ở từng nghiệm thức bằng dung dịch HCl 1M hay NaOH 3M.

- Khảo sát ảnh hưởng của bổ sung các muối kim loại đến tỷ lệ kết tụ: Ảnh hưởng của các muối kim loại (KCl, NaCl, CaCl_2 , MgSO_4 , MnSO_4 , FeCl_3 , AlCl_3) ở nồng độ 1g/l đến khả năng kết tụ sinh học. Thí nghiệm được tiến hành bằng cách bổ sung lần lượt 10 ml dung dịch 1% (w/v) muối kim loại trên vào 90ml dung dịch kaolin (5g/l). Sau đó bổ sung 0,1ml (0,1% w/v) dung dịch sinh khối vi khuẩn. Mẫu đối chứng thực hiện tương tự sử dụng nước cất thay cho dung dịch muối kim loại.

- Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dịch vi khuẩn bổ sung: Tiến hành kiểm tra khả năng kết tụ sinh học của chủng vi khuẩn với kaolin ở những tỷ lệ dịch vi khuẩn khác nhau: 0,01; 1; 5; 10; 15 và 20% (w/v).

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu: các thí nghiệm có xác định khả năng kết tụ sinh học được thực hiện với 3 lần lặp lại, kết quả được xử lý thống kê sử dụng Microsoft Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn

Từ các mẫu nước và bùn, phân lập được 20 chủng có khả năng sinh chất kết tụ sinh học với các đặc điểm hình thái đại thể như khuẩn lạc tròn, rìa răng cưa không đều, màu trắng ngà. Các chủng này tiếp tục được làm thuần, sau đó tiến hành các thí nghiệm sinh hoá sơ bộ để xác định các đặc tính cơ bản của chi *Bacillus*: tế bào hình que, có sinh bào tử, Gram dương, catalase dương tính, oxidase dương tính và có khả năng di động (bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc các chủng phân lập

STT	Mẫu	Kí hiệu chủng ^(*)	Hình thái	Sinh hoá
1	Bùn ao	B2	Khuẩn lạc mép răng cưa, nhỏ,	Gram (+), hình que, ngắn, có khả năng sinh bào tử, catalase (+), oxidase (+), di động
2		B3	Khuẩn lạc rìa tròn, tâm trắng lõm, trắng trong	
3		B4	Khuẩn lạc rìa tròn, nhỏ, màu trắng	
4		B5	Khuẩn lạc mép răng cưa, trắng ngà, bề mặt nhẵn	
5		B6	Khuẩn lạc nhỏ, tròn, nhẵn, trắng trong	
6		B7	Khuẩn lạc lớn, mép lượn sóng, trắng nhạt	
7		B8	Khuẩn lạc vừa, lõm, nhày, trắng đục	
8		B9	Khuẩn lạc vừa, nhẵn, trắng đục	
9		B10	Khuẩn lạc lớn, tròn, không thuỳ, trắng đục	
10		B11	Khuẩn lạc nhỏ, tròn, rìa không đều, trắng	
11		B12	Khuẩn lạc mép răng cưa, bề mặt nhẵn, trắng xám	

12	Nước ao	B13	Khuẩn lạc rìa tròn, lớn vừa, bóng,
13		B14	Khuẩn lạc rìa tròn, vừa, trắng đục
14		B15	Khuẩn lạc rìa nhẵn, màu trắng xám
15		B16	Khuẩn lạc rìa tròn, bóng, tâm lõm, trắng đục
16		B17	Khuẩn lạc rìa răng cưa, nhỏ, tròn, trắng trong
17		B18	Khuẩn lạc rìa tròn, tâm lõm vàng, trắng
18		B19	Khuẩn lạc nhỏ, tâm lõm
19		B20	Khuẩn lạc rìa nhẵn, vừa, trắng trong
20		B21	Khuẩn lạc lớn, phẳng, mép lõm, trắng trong

3.2. Hiệu quả kết tụ của các dòng vi khuẩn phân lập

Kết quả thí nghiệm kiểm tra khả năng kết tụ cho thấy trong số 20 chủng vi khuẩn phân lập được có 3 chủng có tỷ lệ kết tụ > 60% (chiếm tỉ lệ 15%), 17 chủng có tỷ lệ kết tụ < 60% (chiếm tỉ lệ 85%). Các chủng vi khuẩn có tỷ lệ kết tụ cao nhất là B15 (72,09%), B5 (68,47%) và B12 (67,07%).

Bảng 2. Tỷ lệ kết tụ của 20 chủng *Bacillus* sp.

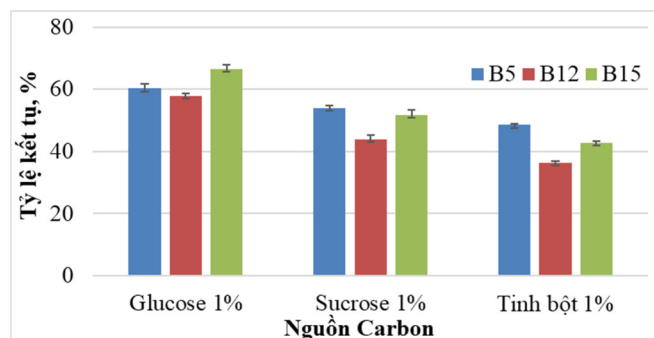
STT	Ký hiệu	Tỷ lệ kết tụ (%)	STT	Ký hiệu	Tỷ lệ kết tụ (%)
1	B2	36,04 ± 7,28 ^{8defg}	11	B9	19,15 ± 26,78 ^{ab8}
2	B3	26,29 ± 30,12 ^{aB8de}	12	B10	53,87 ± 4,32 ^{ghij}
3	B4	50,18 ± 12,06 ^{efghij}	13	B16	56,51 ± 4,59 ^{ghij}
4	B5	68,47 ± 1,57^{ij}	14	B17	29,81 ± 2,48 ^{abBdef}
5	B6	43,64 ± 4,32 ^{defgh}	15	B11	41,08 ± 5,19 ^{cdefg}
6	B7	53,75 ± 13,60 ^{fghij}	16	B12	67,07 ± 6,68^{hij}
7	B8	25,66 ± 16,45 ^{aB8d}	17	B18	35,82 ± 4,79 ^{B8defg}
8	B13	49,20 ± 13,75 ^{defghij}	18	B19	27,64 ± 13,88 ^{aB8de}
9	B14	46,25 ± 5,48 ^{defghi}	19	B20	10,93 ± 36,47 ^a
10	B15	72,09 ± 2,36^j	20	B21	14,91 ± 5,29 ^{ab}

Kết quả này gần tương đồng với kết quả nghiên cứu của Đặng Thị Huỳnh Mai và cộng sự [3] khi thực hiện phương pháp tương tự, tiến hành thí nghiệm tuyển chọn các dòng vi khuẩn tạo chất kết tụ trên môi trường protein, tỷ lệ kết tụ của 10 chủng phân lập được trong thí nghiệm đó dao động từ 65,5 - 74,25%, trong đó 3 chủng có tỷ lệ kết tụ cao nhất là *Bacillus megaterium* AGT08P, *Bacillus megaterium* DTT08P, *Bacillus* sp. HGT06P với tỷ lệ kết tụ lần lượt là: 72%, 74,25% và 73%.

3.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp chất kết tụ sinh học

3.3.1. Nguồn carbon, nguồn nitơ

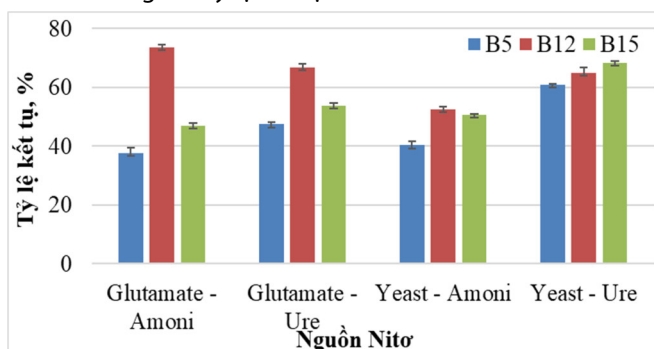
Ảnh hưởng của nguồn carbon đến khả năng sinh chất kết tụ sinh học của các chủng *Bacillus* sp. B15, B5 và B12 được trình bày ở hình 1. Các chủng vi khuẩn này đều có thể phát triển và tạo chất kết tụ trong môi trường có các nguồn carbon và nitrogen khác nhau. Đối với nguồn carbon, cả ba chủng B15, B5 và B12 đều cho tỷ lệ kết tụ cao nhất với nguồn glucose 1% (66,55%, 60,25%, 57,84%). Như vậy, có thể thấy glucose 1% là nguồn carbon thích hợp để các chủng phát triển và sinh chất kết tụ tốt nhất.



Hình 1. Tương quan tỷ lệ kết tụ (%) của các chủng vi khuẩn theo nguồn Carbon

Trong những nghiên cứu khác, nhu cầu về nguồn carbon của các vi khuẩn tạo kết tụ cũng rất đa dạng. Việc tạo chất kết tụ của *Bacillus cereus* FQ-B1, *Bacillus thuringiensis* FQ-B2 sử dụng glucose, fructose, tinh bột như là nguồn carbon [1]; trong khi ở *Bacillus licheniformis* X14 thì sucrose, tinh bột làm gia tăng hoạt động tạo kết tụ [10]. Kết quả trên cho thấy các chủng vi khuẩn có thể sử dụng nhiều nguồn carbon, trong số đó sẽ có một nguồn carbon phù hợp nhất cho sự tổng hợp chất kết tụ sinh học.

Đối với nguồn nitơ (hình 2), 2 chủng B15 và B5 cho tỷ lệ kết tụ cao nhất trong môi trường có chứa nguồn nitơ là cao nấm men - ure với tỷ lệ kết tụ lần lượt là 68,26% và 60,94%. Trong khi B12 cho tỷ lệ kết tụ cao nhất ở các môi trường có chứa glutamate - ammonia với tỷ lệ kết tụ cao nhất là 73,52%, tỷ lệ này thậm chí cao hơn so với thí nghiệm trước đó (67,07%). Điều này cho thấy đối với chủng B12 glutamate - ammonia có thể được dùng thay cao nấm men - ure để nâng cao tỷ lệ kết tụ.



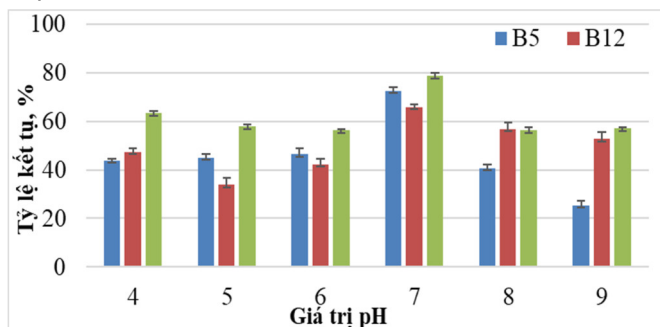
Hình 2. Tỷ lệ kết tụ (%) của các chủng vi khuẩn theo nguồn Nitơ

Ở các nghiên cứu khác, nguồn nitơ phù hợp nhất cho từng chủng vi khuẩn tạo chất kết tụ sinh học cũng khác nhau. Trong khi ure, pepton, cao nấm men thích hợp nhất cho các chủng *Bacillus cereus* FQ-B1, *Bacillus thuringiensis* FQ-B2 [1] thì *Bacillus subtilis* MSBN17 có tỷ lệ kết tụ cao nhất là 89,04% với NH_4NO_2 được dùng làm nguồn nitơ [14].

3.3.2. Giá trị pH

Ảnh hưởng của pH ban đầu của môi trường đến khả năng kết tụ sinh học của các chủng *Bacillus* sp. được trình bày ở hình 3. Các chủng vi khuẩn đều có thể tăng trưởng và sinh chất kết tụ trong khoảng pH 4 - 9. Trong đó, 3 chủng B15, B5, B12 đều cho tỷ lệ kết tụ cao nhất ở pH 7 với các giá trị lần lượt là 78,78%, 72,57%, 65,81%.

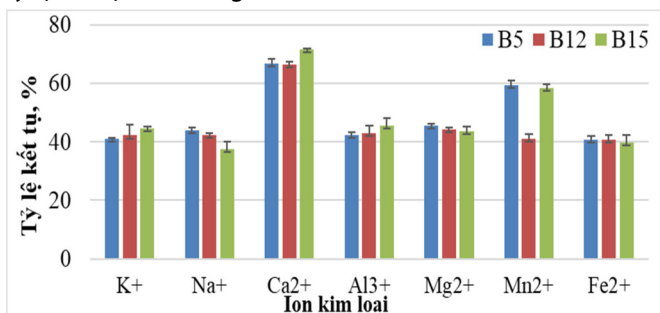
Theo [12], mỗi chủng vi khuẩn có một khoảng pH tối ưu nhất định. Sự tăng trưởng của chủng vi khuẩn trong khoảng pH này đạt mức cao nhất có thể là do hệ thống enzyme được hoạt hóa tối đa [11]. Theo kết quả nghiên cứu của Zaki và cộng sự [17], môi trường nuôi cấy có pH 7 là tối ưu để chủng *Bacillus velezensis* 40B tổng hợp chất kết tụ, với tỷ lệ kết tụ cao hơn 90%. Điều này có thể được giải thích là do ở pH thấp hoặc cao, sự hấp thụ các ion H^+ hoặc OH^- có xu hướng làm suy yếu quá trình hình thành phức hợp chất kết tụ với kaolin [7].



Hình 3. Tỷ lệ kết tụ (%) của các chủng vi khuẩn theo các giá trị pH

3.3.3. Ion kim loại bổ sung

Ảnh hưởng của các muối kim loại đến khả năng kết tụ sinh học của các chủng *Bacillus* sp. được trình bày ở hình 4. Cả 3 chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. đều cho tỷ lệ kết tụ tương đối cao khi có mặt muối $CaCl_2$. Muối Mangan cũng làm tăng tỷ lệ kết tụ của chủng B5 và B15.

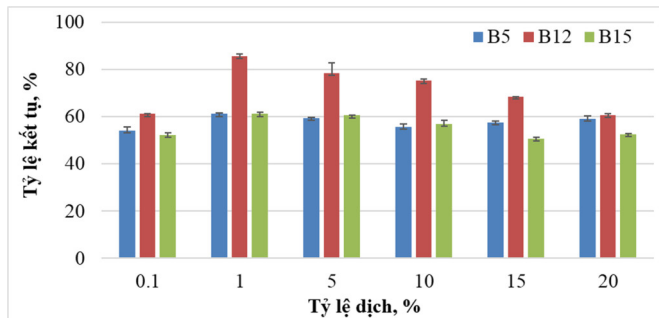


Hình 4. Tỷ lệ kết tụ (%) của các chủng vi khuẩn theo các ion kim loại

Theo kết quả nghiên cứu [6, 12], các ion kim loại bổ sung là những kim loại hóa trị II như Ca^{2+} và Mg^{2+} (trừ Fe^{2+}) sẽ làm tăng hoạt tính kết tụ hơn các kim loại hóa trị I và III. Trên chủng *Bacillus* sp., tỷ lệ kết tụ gia tăng với các ion Ca^{2+} , Mn^{2+} . Ion Ca^{2+} có thể làm mất ổn định hạt kaolin tích điện âm bằng cách trung hòa và bắc cầu [16]. Các cation có tác dụng tăng cường hoạt tính kết tụ do có thể trung hòa và ổn định các nhóm chức năng bằng cách hình thành cầu nối giữa các hạt phân tử kaolin với nhau [13].

3.3.4. Tỷ lệ dịch vi khuẩn bổ sung vào môi trường kaolin

Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ dịch vi khuẩn bổ sung ở bình 5 cho thấy cả ba chủng B15, B5, B12 đều đạt hiệu quả kết tụ cao nhất khi bổ sung 1% tỷ lệ dịch vi khuẩn vào huyền phù kaolin với tỷ lệ như sau: B15 (61,11%), B5 (61,11%), B12 (85,69%). Hiệu quả kết tụ thấp nhất ở tỷ lệ 0,1% với B15 (52,18%), B5 (54,18%), B12 (61,11%).



Hình 5. Tỷ lệ kết tụ (%) của các chủng vi khuẩn theo các tỷ lệ dịch vi khuẩn bổ sung

Theo nghiên cứu của Deng và cộng sự [4], *Bacillus mucilaginosus* cho hiệu quả kết tụ có thể đạt đến 99,6% với huyền phù kaolin chỉ với liều lượng nhỏ là 0,1%. Một số nghiên cứu khác như: chủng *Bacillus coagulans* As 101 có liều lượng 40 ml/lít (4% v/v) cho tỷ lệ kết tụ là 90% [13], chủng *Bacillus licheniformis* liều lượng 150 ml/lít (15% v/v) cho tỷ lệ kết tụ 98,4% [15].

Kết quả thực hiện keo tụ sinh học với các chủng vi khuẩn trong đề tài này đối với chất được keo tụ là kaolin tương đối khả quan. Để có thể ứng dụng keo tụ và vi khuẩn thực hiện quá trình keo tụ vào công nghệ biofloc trong nuôi trồng thủy sản, cần tiếp tục tiến hành các nghiên cứu trên nguồn cơ chất tự nhiên là cặn lơ lửng trong ao nuôi cũng như thử nghiệm ở quy mô lớn hơn hoặc ao nuôi thực tế.

4. KẾT LUẬN

Từ 20 chủng phân lập được có khả năng tạo kết tụ sinh học, đã tuyển chọn được 3 chủng *Bacillus* sp. có tỷ lệ kết tụ trên 60% là B15 (72,09%), B5 (68,47%) và B12 (67,07%).

Cả 3 chủng đều cho tỷ lệ kết tụ cao khi nuôi cấy với môi trường có nguồn carbon là glucose. Nguồn nitơ phù hợp để tạo kết tụ sinh học cho các chủng B15 và B5 là cao nấm men - ure, chủng B12 là glutamate - ammonia. Khả năng kết tụ sinh học được cải thiện nhiều với các điều kiện: pH 7, có mặt muối $CaCl_2$ và tỷ lệ canh trường vi khuẩn sử dụng 1%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Arafa R. A., El-Rouby M.N., Abass H.A., El-khier Z.A.A., 2014. *Biofloculants Produced by Bacterial Isolates from Egyptian soil 1 - Characterization and Application of Extracellular Biofloculants and Nanoparticles for Treatment of River Nile Water*. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS), 9 (5): 103-114.
- [2]. Bui The Vinh, 2012. *Phan lập vi khuẩn kết tụ sinh học, kho nito, photpho và ung dung trong xử lý nước thải nhà máy sữa*. PhD Thesis, Can Tho University.
- [3]. Dang Thi Huynh Mai, Ha Thanh Toan, Cao Ngoc Diep, 2014. *Optimization and application of biofloculant-producing bacteria in protein medium to catfish pond water treatment in the laboratory*. Can Tho University Journal of Science 30, 13-21.

- [4]. Deng S. B., Bai R.B., Hu X.M, Luo Q., 2003. *Characteristics of a bioflocculant produced by Bacillus mucilaginosus and its use in starch wastewater treatment*. Applied Microbial Biotechnology, 60: 588-593.
- [5]. Gao J., Bao H., Xin M., Liu Y., Li Q., Zhang Y., 2006. *Characterization of a bioflocculant from a newly isolated Vagococcus sp. W31*. Journal of Zhejiang University Science B, 7 (3): 186-192.
- [6]. Gong W. X., Wang S.G., Sun X.F., Liu X.W., Yue Q.Y., Gao B.Y., 2008. *Bioflocculant production by culture of Serratia ficaria and its application in wastewater treatment*. Bioresource Technology, 99: 4668-4674.
- [7]. He J., Dengen Q., Qiu N., Liu Z., Wang B., Shao Z., Yu Z., 2009. *Medium optimization for the production of a novel bioflocculant from Halomonas sp. V3a' using response surface methodology*. Bioresource Technology, 100: 5922-5927.
- [8]. James G., Das B.C., Jose S., Kumar V.J.R., 2021. *Bacillus as an aquaculture friendly microbe*. Aquaculture International, 29: 323-353.
- [9]. Kuebutornye F.K.A., Abarike E.D., Lu Y., 2019. *A review on application of Bacillus as probiotics in aquaculture*. Fish and Shellfish Immunology, 87: 820-828.
- [10]. Li W.W., Zhong S., Lei H.Y., Chen R.W., Yu Q., Li H.L., 2009. *Production of a novel bioflocculant by Bacillus licheniformis X14 and its application to low temperature drinking water treatment*. Bioresource Technology, 100: 3650-3656.
- [11]. Nakata K., Kurane R., 1999. *Production of an extracellular polysaccharide bioflocculant by Klebsiella pneumoniae*. Biosci Biotechnol Biochem, 63: 2064-2068.
- [12]. Salehizadeh H., Shojasadati S.A., 2001. *Extracellular biopolymeric flocculants: recent trends and biotechnological importance*. Biotechnology advances, 19 (5): 371-385.
- [13]. Salehizadeh H., Vossoughi M., Alemzadeh I., 2000. *Some investigations on bioflocculant production bacteria*. Biochemical Engineering Journal, 5: 39-44.
- [14]. Sathiyarayanan G., G.S. Kiran, J. Selvin, 2013. *Synthesis of silver nanoparticles by polysaccharide bioflocculant produced from marine Bacillus subtilis MSBN17*. Colloid and Surfaces B: Biointerfaces, 102: 13-20.
- [15]. Shih I. L., Y. T. Van, L. C. Yeh, H. G. Lin, Y. N. Chang, 2001. *Production of a biopolymer flocculant from Bacillus licheniformis and its flocculation properties*. Bioresource Technology, 78: 267-272.
- [16]. Yim J.H., Kim S.J., Ahn S.H., Lee H.K., 2007. *Characterization of a novel bioflocculant, p-KG03, from a marine dinoflagellate, Gyrodinium impudicum KG03*. Bioresource technology, 98 (2): 361-367.
- [17]. Zaki S. A., M. F. Elkady, S. Farag, D. A. Haleem, 2013. *Characterization and flocculation properties of a carbohydrate bioflocculant from a newly isolated Bacillus velezensis 40B*. Journal of Environment Biology, 34: 51-58.
- [18]. Zhi-qiang Z., Bo L., Si-qing X., Xuejiang W., A-ming Y., 2007. *Production and application of a novel bioflocculant by multiple-microorganism consortia using brewery wastewater as carbon source*. Journal of Environmental Sciences, 19: 667-673.

AUTHORS INFORMATION

Pham Minh Tuan, Tran Duc Thao

Ho Chi Minh City University of Food Industry