

TỐI ƯU HÓA MÔI TRƯỜNG THU SINH KHỐI *RHODOBACTER SP.* BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUY HOẠCH THỰC NGHIỆM

Optimization growth of Rhodobacter SP. from poultry slaughterhouse wastewater using response surface methodology

ThS. Phan Minh Tâm⁽¹⁾, TS. Huỳnh Văn Biết⁽²⁾, SV. Ngô Thị Huyền Trân⁽³⁾, Bùi Nghĩa Hiệp⁽⁴⁾

⁽¹⁾Trường Đại học Bách khoa TP.HCM

⁽²⁾Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM

⁽³⁾Trường Đại học Sài Gòn

⁽⁴⁾Trường Đại học Đại Diệp, Đà Loan

Tóm tắt

Nghiên cứu đã phân lập vi khuẩn tía *Rhodobacter sp.* từ nước thải giết mổ heo Nam Phong. Điều kiện nuôi cấy tối ưu của chủng vi khuẩn này được phân tích và tính toán bằng phương pháp bề mặt đáp ứng. Kết quả thí nghiệm đã chỉ ra được 3 yếu tố ảnh hưởng nhất đến khối lượng sinh khối (g/l) là $(NH_4)_2SO_4$ (g/l), $MgCl_2$ (g/l) và Na_2S (g/l). Giá trị tối ưu theo mô hình cho sinh khối cực đại của *Rhodobacter sp.* là 16.49 g/l tương ứng với: $(NH_4)_2SO_4$, $MgCl_2$ và Na_2S là 1,00 g/l, 0,3 g/l và 0,6 g/l. Kết quả này khá phù hợp với kết quả kiểm nghiệm thực tế với sinh khối thu được là 16,59 g/l.

Từ khóa: Nước thải giết mổ gia súc, phương pháp bề mặt đáp ứng, *Rhodobacter sp.*

Abstract

The present study investigated the optimization of three parameters ($(NH_4)_2SO_4$, $MgCl_2$ and Na_2S) on the growth of *Rhodobacter sp.* isolated from Nam Phong poultry slaughterhouse wastewater by using response surface methodology. Results indicated that maximum biomass reached 16.4932 g/L when concentration of $(NH_4)_2SO_4$, $MgCl_2$ and Na_2S were 1,00 g/L, 0,3 g/L and Na_2S 0,6 g/L, respectively. The biomass of comparing experiments at optimization conditions was reached 16.59 g/L.

Keywords: Slaughterhouse wastewater, response surface methodology, *Rhodobacter sp.*

1. Đặt vấn đề

Vi khuẩn quang hợp tía đóng vai trò quan trọng trong việc sản xuất công nghiệp như chất dẻo, tẩy rửa, dệt may và dược phẩm hay công nghệ môi trường. Các sản phẩm sử dụng quang hợp tía không chỉ bền vững về kinh tế mà còn thân thiện với môi trường [1].

Mặc dầu sự hiện diện của vi khuẩn quang hợp tía cùng với vi khuẩn dị dưỡng đã được tìm thấy trong nhiều môi trường nước khác nhau như nước thải công nghiệp [2; 3], nước thải nuôi trồng thủy sản [4], nước thải cao su [5], nước thải sinh hoạt [6].v.v. Việc nghiên cứu phân lập nó trong nước thải giết mổ gia súc, loại nước thải ô

nhiễm phổ biến ở nước ta hiện nay lại ít được nghiên cứu. Đặc biệt việc tối ưu hóa quá trình nuôi cấy sinh trưởng vi khuẩn thành chế phẩm ở Việt Nam hầu như rất ít. Môi trường được nhiều tác giả nước ngoài [7; 8] sử dụng trong quá trình nuôi cấy chủng vi sinh thường là Sodium acetate (CH_3COONa) có nhiều ưu điểm như đơn giản lại hiệu quả cao. Tuy vậy, với nhiều yếu tố thêm vào việc tối ưu hóa quá trình nuôi cấy bằng phương pháp khảo sát từng yếu tố (One variable at time) là khó khả thi [9]. Gần đây việc tối ưu hóa quá trình nuôi cấy vi sinh vật tạo các chế phẩm vi sinh sử dụng phương pháp thiết kế thí nghiệm rất được quan tâm. Trong đó, quy hoạch thực nghiệm là phương pháp nghiên cứu thực nghiệm hiện đại, có tính chính xác cao có thể áp dụng các điều kiện tiến hành tối ưu hóa các quá trình phức tạp [9; 10].

Nghiên cứu này thực hiện 03 nhiệm vụ: (i) phân lập chủng vi khuẩn huyết quang tía *Rhodobacter* sp. từ nước thải giết mổ gia súc thành phố Hồ Chí Minh, (ii) tối ưu hóa quá trình nuôi cấy bằng phương pháp thiết kế thí nghiệm với 03 yếu tố (NH_4)₂SO₄, MgCl₂ và Na₂S, (iii) làm ra chế phẩm vi sinh từ chủng vi khuẩn nuôi cấy.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Nước thải

Chủng vi khuẩn *Rhodobacter* sp. được

phân lập từ mẫu nước thải giết mổ gia súc Nam Phong, Quận Bình Thạnh, TP. HCM được lấy trong khoảng thời gian 10/2016 đến 04/2017.

2.2. Thực nghiệm

2.1.1. Phương pháp phân lập và giữ giống

Các chủng vi khuẩn *Rhodobacter* sp. được phân lập trên môi trường đặc trưng R8AH [11] và giống *Rhodobacter* sp. trên được giữ trên môi trường SA, ở điều kiện không sục khí dưới ánh sáng tự nhiên tại nhiệt độ khoảng 28-30°C và pH 6.5-7.5 để nhân giống [7; 8].

2.1.2. Phương pháp quan sát hình thái và thử các phản ứng sinh hóa

Giống *Rhodobacter* sp. được nhuộm màu và quan sát hình thái tế bào vi khuẩn bằng kính hiển vi quang học (JEOL 1200EX, Akishima, Nhật bản) [12]. Các chỉ tiêu sinh hóa được thực hiện bằng KIT IDS 14 GNR cung cấp bởi công ty Nam Khoa.

2.1.3. Thí nghiệm sàng lọc

Thí nghiệm sàng lọc môi trường nuôi cấy thu sinh khối *Rhodobacter* sp. được thực hiện theo ma trận Plackett – Burman [13] với 10 yếu tố khảo sát là chiết nấm men, (NH_4)₂SO₄, MgSO₄, NaCl, KH₂PO₄, Na₂S₂O₃, CaCl₂, MgCl₂, NH₄Cl, Na₂S tại 02 mức: thấp (-1) và cao (+1) được chi tiết trong bảng 1.

Bảng 1. Các yếu tố và mức khảo sát trong ma trận Plackett – Burman

Ký hiệu	Tên yếu tố	Giá trị các yếu tố	
		Mức (-)	Mức (+)
X ₁	Chiết nấm men (g/l)	0,10	0,40
X ₂	(NH ₄) ₂ SO ₄ (g/l)	0,00	1,00
X ₃	MgSO ₄ (g/l)	0,00	0,30
X ₄	NaCl (g/l)	0,20	0,40

Ký hiệu	Tên yếu tố	Giá trị các yếu tố	
		Mức (-)	Mức (+)
X ₅	KH ₂ PO ₄ (g/l)	0,50	0,60
X ₆	Na ₂ S ₂ O ₃ (g/l)	0,10	0,05
X ₇	CaCl ₂ (g/l)	0,00	0,05
X ₈	MgCl ₂ (g/l)	0,00	0,50
X ₉	NH ₄ Cl (g/l)	0,00	1,00
X ₁₀	Na ₂ S (g/l)	0,00	0,60

Giá trị biến, kết quả thiết kế với ma trận kế hoạch thực nghiệm được trình bày ở bảng 2. Bảng 2 gồm 12 nghiệm thức tương ứng 12 giá trị khác nhau của 10 yếu tố ảnh hưởng: dịch chiết

nấm men, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄, NaCl, KH₂PO₄, Na₂S₂O₃, CaCl₂, MgCl₂, NH₄Cl và Na₂S để nhận được kết quả thực nghiệm và mô hình tương ứng với 10 yếu tố trên [8].

Bảng 2. Thiết kế ma trận Plackett-Burman

Nghiệm thức	Các biến										Sinh khối ướt (g/l)	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	Thực nghiệm	Mô hình
1	1	1	1	1	1	1	1	1	-1	+1	3,04	3,34
2	1	1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	3,5	3,44
3	1	1	+1	1	1	1	1	1	-1	-1	6,64	7,26
4	1	1	1	1	1	1	1	1	+1	-1	3,44	3,56
5	1	1	1	1	1	1	1	1	+1	+1	6,48	6,44
6	1	1	1	1	1	1	1	1	+1	+1	3,92	3,94
7	1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	+1	6,64	6,6
8	1	1	1	1	1	1	1	1	+1	-1	4,24	4,12
9	1	1	1	1	1	1	1	1	+1	+1	3,44	3,75
10	1	1	1	1	1	1	1	1	-1	+1	7,52	6,97
11	1	1	1	1	1	1	1	1	+1	-1	3,76	3,48
12	1	1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	4,48	4,2

2.1.4. Thí nghiệm tối ưu hóa

Sau khi sàng lọc 03 yếu tố ảnh hưởng nhất là: (NH₄)₂SO₄, MgCl₂ và Na₂S được

lựa chọn đưa vào thiết kế tối ưu và được chi tiết trong bảng 3 [9; 10].

Bảng 3. Hàm lượng ba yếu tố trong RSM – CCD

Yếu tố	Tên	Phạm vi nghiên cứu	Mức				
			- α	-1	0	+1	+ α
X ₁	(NH ₄) ₂ SO ₄ (g/l)	0,5-1,0	0,33	0,5	0,75	1,0	1,17
X ₂	MgCl ₂ (g/l)	0,08-0,3	0,005	0,08	0,19	0,3	0,37
X ₃	Na ₂ S (g/l)	0,2-0,6	0,06	0,2	0,4	0,6	0,74

2.1.5. Mô hình thí nghiệm pilot

Mô hình nuôi cấy bằng chất liệu mica ống hình trụ trong suốt có chiều dài 70 cm, đường kính 15 cm và thể tích là 10 lít. Bịt kín 2 đầu, lắp 2 vòi dùng làm vòi xả và vòi tiếp môi trường và giống (Hình 1).



Hình 1. Mô hình thí nghiệm

2.1.6. Phương pháp sấy phun tạo chế phẩm sinh học

Ly tâm mỗi lần 5 lít huyền phù vi khuẩn xuống còn 500 ml. Trộn 500 ml với 10% giá thể maltodex làm chất trợ sấy và sấy trên máy sấy phun Mini-Labplant SD-06AG.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và thiết kế thí nghiệm bằng phần mềm Design Expert 7.0.0 của Stat-Ease Inc USA.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả phân lập và giữ giống *Rhodobacter* sp.

Kết quả đã phân lập thành công chủng vi khuẩn *Rhodobacter* sp. bằng môi trường đặc hiệu R8AH. Môi trường SA này khá phù hợp cho vi khuẩn phát triển, sinh khối vi khuẩn phát triển rất tốt chỉ sang ngày thứ 2 là môi trường chuyển dần sang màu hồng nhạt và đỏ đậm dần trong các ngày tiếp theo.



Hình 2. Khuẩn lạc của *Rhodobacter* sp và tăng sinh trên môi trường SA

3.2 Kết quả thử phản ứng sinh hóa

Kết quả cho thấy vi khuẩn phản ứng dương với Glucose và Citrate như vậy vi khuẩn có khả năng lên men đường Glucose

và sử dụng Citrate như 1 nguồn cacbon duy nhất. Sau thời gian 7 ngày nuôi cấy trên môi trường SA trong điều kiện kỵ khí chiếu sáng, quan sát thấy khuẩn lạc có hình

dạng tròn, $d=1,3-1,8$ mm. Tế bào có hình trục ngắn, có khả năng di động. Kết quả của *Rhodobacter* sp. phù hợp với các nghiên cứu trước đây [7; 8].

3.3 Kết quả thiết kế ma trận Plackett – Burman

Thí nghiệm sang lọc cho kết quả theo bảng sau:

Bảng 4. Các yếu tố trong ma trận Plackett – Burman và mức độ ảnh hưởng

Kí hiệu	Tên yếu tố	Mức		Mức ảnh hưởng	
		Thấp (-1)	Cao (+1)	Ảnh hưởng	Prob>F
X ₁	Chiết nấm men (g/l)	0,10	0,40	-0,26 ^b	-
X ₂	(NH ₄) ₂ SO ₄ (g/l)	0,00	1,00	-1,12 ^a	0,0085
X ₃	MgSO ₄ (g/l)	0,00	0,30	0,93 ^a	0,0176
X ₄	NaCl (g/l)	0,20	0,40	-0,077 ^b	-
X ₅	KH ₂ PO ₄ (g/l)	0,50	0,60	-0,56 ^a	0,0888
X ₆	Na ₂ S ₂ O ₃ (g/l)	0,10	0,50	-0,24 ^b	-
X ₇	CaCl ₂ (g/l)	0,00	0,05	-0,32 ^b	-
X ₈	MgCl ₂ (g/l)	0,00	0,50	2,14 ^a	0,0005
X ₉	NH ₄ Cl (g/l)	0,00	1,00	-1,09 ^a	0,0095
X ₁₀	Na ₂ S (g/l)	0,00	0,60	0,83 ^a	0,0266

^a Có ý nghĩa ở độ tin cậy $\alpha=0,1$

^b Không có ý nghĩa ở độ tin cậy $\alpha=0,1$ $R^2=0,9614$

Kết quả phân tích mức ảnh hưởng của 10 yếu tố (bảng 4) chỉ ra rằng ba yếu tố có giá trị ảnh hưởng lớn nhất tới khối lượng sinh khối với độ tin cậy ($\alpha=0,1$) là: (NH₄)₂SO₄ (-1,12), MgCl₂ (2,14) và Na₂S (0,83).

Mg²⁺ là yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến khối lượng sinh khối của *Rhodobacter* sp., yếu tố ảnh hưởng dương nên hàm lượng Mg²⁺ tăng sẽ giúp tăng sinh khối. Mg²⁺ giúp cải thiện sinh khối và carotenoid của *Rhodobacter* trong xử lý nước thải [14]. Nhân tố ảnh hưởng tiếp theo là NH₄⁺. Điều này có thể giải thích bởi *Rhodobacter* sp. sử dụng nguồn nitrogen vô cơ của NH₄⁺ cho quá trình sinh trưởng [15]. NH₄⁺ là yếu tố ảnh hưởng âm đến lượng sinh khối có ý nghĩa lượng NH₄⁺ có nồng độ cao sẽ ức chế quá trình sinh trưởng của *Rhodobacter*

sp. Hàm lượng NH₄⁺ trong nước thải giới hạn từ 50-841 mg/l, trung bình là 427 mg/l. Ở đây hàm lượng amoni trong khảo sát là 1000 mg/l nhiều hơn 2 lần hàm lượng trung bình amoni trong nước thải nên có thể vượt quá sự hấp thụ của nhưng *Rhodobacter* sp.. Yếu tố tiếp theo ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn là S²⁻, khi hàm lượng S²⁻ tăng sẽ giúp tăng sinh khối. Theo Bergey [16] thì H₂S là nguồn cho điện tử cho quá trình quang hợp của vi khuẩn này để tạo ra các sản phẩm oxy hóa là S⁰ và SO₄²⁻. Điều này cũng được thể hiện ở nguồn Mg²⁺(SO₄²⁻ và Cl⁻) nguồn Cl⁻ ảnh hưởng hơn so với SO₄²⁻ do đã tích lũy từ trong môi trường từ S²⁻. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào nói về vấn đề ảnh hưởng của S²⁻ lên quá trình sinh trưởng của *Rhodobacter* sp.

Từ thí nghiệm sang lọc, loại bỏ các yếu tố không ảnh hưởng lớn thì phương trình hồi quy của thí nghiệm Plackett - Burman là:

$$Y=4,76 - 0,56X_2 + 0,46X_3 - 0,28X_5 + 1,07X_8 - 0,55X_9 + 0,42X_{10}$$

Trong đó: $X_2, X_3, X_5, X_8, X_9, X_{10}$ là các yếu tố có ảnh hưởng đến sinh khối của

chủng *Rhodobacter* sp. X_1, X_4, X_6, X_7 là các yếu tố không ảnh hưởng đến khả năng sinh sinh khối của *Rhodobacter* sp.

Các yếu tố Mg^{2+} (chọn $MgCl_2$), NH_4^+ (chọn $(NH_4)_2SO_4$) và S^{2-} (chọn Na_2S) được chọn cho thiết kế thí nghiệm theo RSM – CCD.

3.4. Kết quả quy hoạch thực nghiệm RSM – CCD

Bảng 5. Kết quả thực nghiệm RSM – CCD

Thí nghiệm	Môi trường cơ bản			Sinh khối ướt (g/l)	
	X_1	X_2	X_3	Thực nghiệm	Mô hình
1	-1	-1	-1	3,58	4,05
2	+1	-1	-1	10,85	10,24
3	-1	+1	-1	7,30	6,69
4	+1	+1	-1	11,84	12,88
5	-1	-1	+1	8,00	7,28
6	+1	-1	+1	11,41	11,87
7	-1	+1	+1	11,44	11,90
8	+1	+1	+1	16,63	16,49
9	$-\alpha$	0	0	6,12	6,41
10	$+\alpha$	0	0	15,89	15,48
11	0	$-\alpha$	0	6,25	6,52
12	0	$+\alpha$	0	13,03	12,63
13	0	0	$-\alpha$	7,70	7,57
14	0	0	$+\alpha$	13,33	13,33
15	0	0	0	12,92	12,74
16	0	0	0	12,37	12,74
17	0	0	0	12,94	12,74
18	0	0	0	12,29	12,74
19	0	0	0	12,78	12,74
20	0	0	0	13,13	12,74

Qua các thí nghiệm trong ma trận quy hoạch thực nghiệm RSM – CCD, lượng sinh khối (g/l) *Rhodobacter* sp. được xác định dao động từ 3,58 – 16,63 (g/l) (bảng 5). Trong đó, kết quả sinh khối chủng

Rhodobacter sp. của NT8 > NT10 > NT14 > NT20 > NT12 > NT17 > NT15 > NT19 > NT16 > NT18 > NT4 > NT7 > NT6 > NT2 > NT5 > NT13 > NT3 > NT11 > NT9 > NT1.

Bảng 6. Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) cho mô hình Quadratic

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	F-value	p-value Prob>F
Mô hình	1942,57	8	242,82	73,12 ^a	< 0,0001
X ₁ -(NH ₄) ₂ SO ₄	893,58	1	893,58	269,07 ^a	< 0,0001
X ₂ - MgCl ₂	404,67	1	404,67	121,85 ^a	<0,0001
X ₃ - Na ₂ S	360,18	1	360,18	108,46 ^a	< 0,0001
X ₁ X ₂	1,00	1	1,00	0,28 ^b	0,6071
X ₁ X ₃	11,54	1	11,54	3,48 ^a	0,0891
X ₂ X ₃	17,67	1	17,67	5,32 ^a	0,0415
X ₁ ²	52,54	1	52,54	15,82 ^a	0,0022
X ₂ ²	162,59	1	162,59	48,96 ^a	< 0,0001
X ₃ ²	85,28	1	85,28	25,68 ^a	0,0004

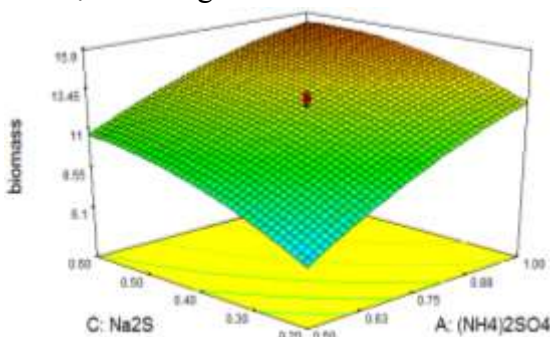
^a Có ý nghĩa ở độ tin cậy α= 0,1 ^b Không có ý nghĩa ở độ tin cậy α= 0,1 R²=0,9815

Phương trình hồi quy được dùng như là một mô hình để tiên đoán lượng sinh khối. Sinh khối của chủng *Rhodobacter* sp. có thể tiên đoán từ phương trình sau:

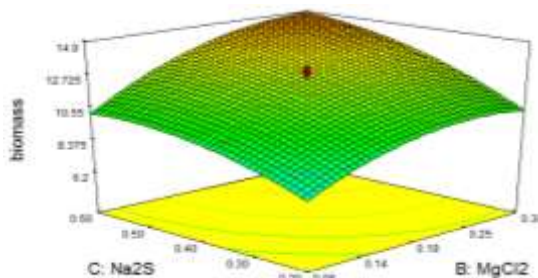
$$Y \text{ (g/l)} = 12,74 + 2,7X_1 + 1,81 X_2 + 1,71X_3 - 0,4X_1X_3 + 0,5X_2X_3 - 0,64X_1^2 - 1,12X_2^2 - 0,81X_3^2$$

Trong đó Y là sinh khối (g/l); X₁, X₂, X₃ lần lượt là các tỷ lệ (NH₄)₂SO₄ (g/l), MgCl₂ (g/l), Na₂S (g/l).

Tương tác của 03 thông số cũng được thể hiện rõ trong hình 4 và 5.



Hình 3. Bề mặt đáp ứng sinh khối theo hàm lượng (NH₄)₂SO₄ và Na₂S



Hình 4. Bề mặt đáp ứng sinh khối theo hàm lượng MgCl₂ và Na₂S

Chọn giải pháp thứ 4 với mô hình tiên đoán các yếu tố: (NH₄)₂SO₄ 1,00 (g/l), MgCl₂ 0,3 (g/l) và Na₂S 0,6 (g/l) cho sinh khối là 16.4932 (g/l).

Tiến hành thử nghiệm mô hình tối ưu (NH₄)₂SO₄ 1,00 (g/l), MgCl₂ 0,3 (g/l) và Na₂S 0,6 (g/l), các yếu tố còn lại được cài đặt ở mức trung tâm lặp lại 3 lần ở quy mô 100ml/bình.

Kết quả thử nghiệm được xử lý thống kê để so sánh với kết quả suy đoán của mô hình đưa ra bằng phân phối student sử dụng trắc nghiệm t-test. Qua đó nhận thấy t

thống kê (t-Stat) tính được là 2.220744304 nhỏ hơn so với t tới hạn tra bảng (t Critical two-tail) là 4.30265273. Như vậy, kết quả thu được sau khi thử nghiệm cho sinh khối là 16,59 g/l phù hợp với tiên đoán mô hình (16,4932 g/l) với mức ý nghĩa là 95%. Kết quả này cho thấy trong môi trường nuôi cấy đang tiến hành nghiên cứu thực tế, lượng sinh khối tạo ra đạt hiệu quả rất tốt và đạt năng suất cao phù hợp với mô hình lý thuyết.

3.5 Kết quả thử nghiệm trên mô hình pilot và tạo chế phẩm

Tiến hành thử nghiệm mô hình tối ưu trên quy mô pilot với thể tích là 10 lít, [(NH₄)₂SO₄ 1,00 (g/l), MgCl₂ 0,3 (g/l) và Na₂S 0,6 (g/l), các yếu tố còn lại được cài đặt ở mức trung tâm]. Sau 7 ngày nuôi cấy, rút ra 100 ml huyền phù vi khuẩn đem ly tâm và thu được kết quả sinh khối tế bào đạt 16,79 g/l môi trường nuôi cấy. Sau khi sấy thu được là 20 g chế phẩm, tiến hành xác định mật độ tế bào của chế phẩm bằng phương pháp đếm khuẩn lạc thu nhận kết quả là: 4,82.10⁸ CFU/g. Theo các tài liệu nghiên cứu thì với số lượng vi khuẩn trong 1 g chế phẩm này thì có thể ứng dụng do mật độ trên 10⁷ [1].



Hình 5. Chế phẩm sinh khối *Rhodospirillum rubrum*.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập và nhân giống thành công chủng vi khuẩn *Rhodospirillum rubrum* sp. từ nước thải giết mổ gia súc tại Tp. HCM. Với thiết kế thí nghiệm theo đáp ứng bề mặt, quá trình nhân giống xác định giải pháp cho sinh khối cực đại là 16,4932 (g/l) tại nồng độ (NH₄)₂SO₄ 1,00 (g/l), MgCl₂ 0,3 (g/l) và Na₂S 0,6 (g/l). Thí nghiệm kiểm chứng tại điểm nồng độ tối ưu thu được sinh khối là 16,59 g/l tại mô hình phòng thí nghiệm (500 ml) và 16,79 g/l trên mô hình pilot (10000 ml). Sai số thí nghiệm cả hai mô hình thực tế so với lý thuyết đều <5% cho thấy tính đúng đắn của mô hình. Hơn nữa, chế phẩm vi sinh tạo bằng sấy phun, cho mật độ tế bào là 4,82.10⁸ CFU/g rất có tiềm năng ứng dụng trong thực tế xử lý môi trường hay được phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. E. I. Madukasi, X. Dai, C. He, and J. Zhou (2010). "Potentials of phototrophic bacteria in treating pharmaceutical wastewater," *International Journal of Environmental Science & Technology*, 7(1), pp. 165-174.
2. M. Mittelman, and A. Jones (2018). "A pure life: the microbial ecology of high purity industrial waters," *Microbial ecology*, 76(1), pp. 9-18.
3. E. Siefert, R. L. Irgens, and N. Pfennig (1978). "Phototrophic purple and green bacteria in a sewage treatment plant," *Applied and environmental microbiology*, 35(1), pp. 38-44.
4. H. Akira, and K. Hiroshi (1984). "Distribution of phototrophic purple nonsulfur bacteria in activated sludge systems and other aquatic environments," *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50(11), pp. 1929-1937.

5. D. Kantachote, S. Torpee, and K. Umsakul (2005). "The potential use of anoxygenic phototrophic bacteria for treating latex rubber sheet wastewater," *Electronic Journal of Biotechnology*, 8(3), pp. 314-323.
6. Y. Zhang, and N. Jiao (2007). "Dynamics of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in the East China Sea," *FEMS microbiology ecology*, 61(3), pp. 459-469.
7. E. I. Kompantseva, A. V. Komova, and N. A. Kostrikina (2010). "Rhodovulum steppense sp. nov., an obligately haloalkaliphilic purple nonsulfur bacterium widespread in saline soda lakes of Central Asia," *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 60(5), pp. 1210-1214.
8. M.-S. Kim, D.-H. Kim, H.-N. Son, L. N. Ten, and J. K. Lee (2011). "Enhancing photo-fermentative hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides* KD131 and its PHB synthase deleted-mutant from acetate and butyrate," *international journal of hydrogen energy*, 36(21), pp. 13964-13971.
9. M. A. Bezerra, R. E. Santelli, E. P. Oliveira, L. S. Villar, and L. A. Escalera (2008). "Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry," *Talanta*, 76(5), pp. 965-977.
10. J. X. W. Hay, T. Y. Wu, C. Y. Teh, and J. M. Jahim (2012). "Optimized growth of *Rhodobacter sphaeroides* OU 001 using response surface methodology (RSM)," *Journal of Scientific and Industrial Research*, 71(February), pp. 149-154.
11. N. Y. Kim, J. S. Cho, and H. Y. Lee (2015). "Evaluation of clinical trial of atopic dermatitis by a topical cream containing the extracts from photosynthetic bacteria, *Rhodobacter sphaeroides*," *AMB Express*, 5(1), pp. 1-9.
12. Y. S. Do, T. M. Schmidt, J. A. Zahn, E. S. Boyd, A. de la Mora, and A. A. DiSpirito (2003). "Role of *Rhodobacter* sp. strain PS9, a purple non-sulfur photosynthetic bacterium isolated from an anaerobic swine waste lagoon, in odor remediation," *Applied and environmental microbiology*, 69(3), pp. 1710-1720.
13. Q. Sun, W. Xiao, D. Xi, J. Shi, X. Yan, and Z. Zhou (2010). "Statistical optimization of biohydrogen production from sucrose by a co-culture of *Clostridium acidisoli* and *Rhodobacter sphaeroides*," *International journal of hydrogen energy*, 35(9), pp. 4076-4084.
14. S. Liu, G. Zhang, X. Li, P. Wu, and J. Zhang (2015). "Enhancement of *Rhodobacter sphaeroides* growth and carotenoid production through biostimulation," *Journal of Environmental Sciences*, 33 pp. 21-28.
15. M. Waligórska, K. Seifert, K. Górecki, M. Moritz, and M. Łaniecki (2009). "Kinetic model of hydrogen generation by *Rhodobacter sphaeroides* in the presence of NH₄⁺ ions," *Journal of applied microbiology*, 107(4), pp. 1308-1318.
16. G. Garrity, J. T. Staley, D. J. Brenner, N. R. Krieg, D. R. Boone, P. De Vos, M. Goodfellow, F. A. Rainey, G. M. Garrity, and K. H. Schleifer, *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Two: The Proteobacteria*, Springer US, 2006.

Ngày nhận bài: 02/01/2019

Biên tập xong: 15/02/2019

Duyệt đăng: 20/02/2019