Tập xx, số yy, tháng xx 2026
https://doi.org/10.58334/vrtc.tckhcnnd.909

Đánh giá khả năng phân hủy dầu mỡ của hai chủng vi khuẩn bản địa phân lập từ nước thải chế biến tập trung tại Hà Nội

Đặng Thị Hồng Phương[(1)], Nguyễn Thị Hiếu Thu[(1)]✉

[(1)] *Viện Công nghệ sinh học, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga, Hà Nội, Việt Nam*

✉ **Tác giả liên hệ**

E-mail: hieuthu5106@gmail.com

ORCID: 0000-0001-8808-6694

Trích dẫn bài báo

Đặng, H. P., Nguyễn, T. H. T. (2026). Đánh giá khả năng phân hủy dầu mỡ của hai chủng vi khuẩn bản địa phân lập từ nước thải chế biến tập trung tại Hà Nội. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nhiệt đới*. https://doi.org/10.58334/vrtc.tckhcnnd.909

Tóm tắt

Nước thải chứa dầu mỡ từ các trạm chế biến tập trung là nguồn ô nhiễm hữu cơ đáng chú ý, trong khi đó nguồn vi sinh vật bản địa có tiềm năng xử lý còn chưa được khai thác đầy đủ. Tổng số 24 chủng vi khuẩn được phân lập từ mẫu nước thải thu thập từ 03 trạm chế biến tập trung tại Hà Nội, trong đó 6 chủng thể hiện hoạt tính sinh các loại enzyme ngoại bào cao. Trong số các chủng khảo sát, *Paenibacillus* sp. NfKS2.5 thể hiện hoạt tính lipase mạnh trong khi chủng *Bacillus* sp. NLKS3.4 có khả năng nhũ hóa nổi bật. Chỉ số nhũ hóa (E_{24}) của chủng NfKS2.5 và NLKS3.4 cao nhất với dầu ô liu, đạt tương ứng 86,98% và 84,90%. Khi đánh giá trong nước thải nhân tạo có các mức COD mục tiêu khác nhau, chủng NLKS3.4 sinh trưởng tốt trong khoảng COD từ 1.000 - 10.000 mg/L trong khi chủng NfKS2.5 bị ức chế nhẹ ở mức COD 10.000 mg/L. Hiệu suất loại bỏ dầu mỡ cao nhất của NfKS2.5 và NLKS3.4 lần lượt đạt 75,64% và 72,12% ở mức COD 2.000 mg/L. Kết quả cho thấy hai chủng là nguồn vi sinh vật bản địa tiềm năng cao trong phát triển chế phẩm vi sinh xử lý nước thải chứa dầu mỡ.

Từ khoá

Chỉ số nhũ hóa; lipase; loại bỏ dầu mỡ; nước thải trạm chế biến tập trung; vi khuẩn bản địa.

ONLINE FIRST

Đặt vấn đề

Trạm chế biến tập trung của các đơn vị quân đội có nhiệm vụ chính là giết mổ gia súc (chủ yếu là bò, lợn), gia cầm (chủ yếu là gà), chế biến giò, chả, làm đậu phụ, giá đỗ… Nước thải phát sinh từ các trạm chế biến tập trung thường có hàm lượng chất hữu cơ cao, thành phần phức tạp và chứa nhiều hợp chất khó phân hủy sinh học, trong đó lipid, protein và các hợp chất chứa nitơ là các thành phần đặc trưng (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2017). Kết quả phân tích nước thải thu nhận thực tế tại ba trạm chế biến tập trung ở Hà Nội cho thấy, ngoại trừ chỉ tiêu pH, phần lớn các chỉ tiêu quan trắc đều cao hơn giới hạn cho phép theo QCVN 40:2011/BTNMT. Trong thời gian khảo sát, COD dao động trong khoảng 958 - 8.640 mg/L, BOD_5 từ 515 - 4.750 mg/L, TN từ 105 - 400 mg/L, TP từ 8,3 - 14,5 mg/L và hàm lượng dầu mỡ từ 369 - 530 mg/L. Đặc biệt, dầu mỡ là một trong những tác nhân gây ô nhiễm đáng lưu ý do có tính kỵ nước, dễ tạo lớp màng trên bề mặt môi trường nước, làm hạn chế sự khuếch tán oxy hòa tan và ảnh hưởng bất lợi đến hoạt động của quần thể vi sinh vật tham gia xử lý sinh học (Aziz và cộng sự, 2024). Sự tích tụ dầu mỡ không những làm giảm hiệu quả vận hành của hệ thống xử lý mà còn có thể gây tắc nghẽn thiết bị và làm suy giảm chất lượng nước thải đầu ra.

Các phương pháp xử lý nước thải giàu dầu mỡ bao gồm các giải pháp vật lý, hóa học và sinh học. Tuy nhiên, các phương pháp vật lý và hóa học thường đòi hỏi chi phí đầu tư và vận hành cao, đồng thời có thể phát sinh các vấn đề môi trường thứ cấp nếu không được kiểm soát phù hợp (Nimkande & Bafana, 2022). So với các hướng tiếp cận này, xử lý sinh học được xem là giải pháp có tính bền vững hơn nhờ chi phí hợp lý, thân thiện với môi trường và khả năng ứng dụng linh hoạt trong thực tiễn (Wang và cộng sự, 2022). Hiệu quả của quá trình này phụ thuộc đáng kể vào đặc tính của chủng vi sinh vật tham gia, đặc biệt là các chủng có khả năng sinh enzyme ngoại bào như lipase, protease và các enzyme thủy phân khác.

Trong số các vi sinh vật có tiềm năng tham gia xử lý dầu mỡ, những chủng vừa có khả năng sinh lipase vừa có khả năng tạo chất hoạt động bề mặt sinh học nhận được sự quan tâm đáng kể (Sanghamitra và cộng sự, 2021). Lipase xúc tác quá trình thủy phân lipid thành acid béo và glycerol, qua đó tạo điều kiện cho vi sinh vật sử dụng cơ chất dầu mỡ như nguồn dinh dưỡng (Bunmadee và cộng sự, 2022; Lustoza Rotta, 2021). Đồng thời, khả năng nhũ hóa nhờ sản sinh chất hoạt động bề mặt sinh học có thể làm giảm

sức căng bề mặt và sức căng liên pha, tăng mức độ phân tán của cơ chất kỵ nước và thúc đẩy quá trình tiếp xúc giữa tế bào vi sinh vật với chất nền. Vì vậy, các chủng đồng thời thể hiện hoạt tính lipase và khả năng nhũ hóa cao được xem là những ứng viên tiềm năng cho phát triển chế phẩm vi sinh phục vụ xử lý nước thải chứa dầu mỡ (Wong và cộng sự, 2025).

Tại Việt Nam, đã có nhiều nghiên cứu liên quan đến vi sinh vật phân hủy dầu mỡ, phần lớn các công trình tập trung vào các chủng phân lập từ đất ô nhiễm, nước thải chế biến thủy sản hoặc nước thải nhà hàng (Bạch và cộng sự, 2025; Giang và cộng sự, 2018). Tuy nhiên, nguồn vi sinh vật bản địa từ nước thải của các trạm chế biến tập trung tại Hà Nội vẫn chưa được khai thác đầy đủ. Đây là môi trường có tải hữu cơ cao và chứa nhiều hợp chất lipid nguồn gốc động vật, tạo điều kiện chọn lọc tự nhiên cho các vi sinh vật thích nghi với khả năng sử dụng và phân hủy dầu mỡ thông qua việc sinh enzyme và các cơ chế hỗ trợ tiếp cận cơ chất lipid. Vì vậy, nguồn vi sinh vật bản địa từ môi trường này được xem là nguồn tiềm năng chứa các chủng xử lý dầu mỡ hiệu quả và thích nghi tốt với điều kiện nước thải thực tế. Bên cạnh đó, các nghiên cứu trước đây chủ yếu đánh giá riêng lẻ khả năng sinh enzyme hoặc phân hủy dầu mỡ của các chủng vi sinh vật. Trong khi đó, hiệu quả xử lý dầu mỡ chịu ảnh hưởng đồng thời bởi nhiều yếu tố như khả năng sinh enzyme ngoại bào, hoạt tính nhũ hóa và khả năng duy trì hiệu quả phân hủy trong các điều kiện tải hữu cơ khác nhau. Các nghiên cứu theo hướng đánh giá đồng thời các đặc tính này trên cùng một tập chủng vẫn còn hạn chế. Xuất phát từ thực tiễn đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn bản địa từ nước thải của các trạm chế biến tập trung tại Hà Nội có khả năng sinh enzyme ngoại bào, đồng thời đánh giá khả năng nhũ hóa và hiệu quả phân hủy dầu mỡ trong nước thải nhân tạo ở các mức tải hữu cơ khác nhau. Kết quả nghiên cứu hướng tới cung cấp cơ sở khoa học cho việc lựa chọn các chủng vi sinh vật tiềm năng phục vụ phát triển chế phẩm sinh học xử lý nước thải giàu lipid.

Vật liệu và phương pháp

Vật liệu

Mẫu nước thải được thu tại hố gom chứa nước xả thải của ba trạm chế biến thực phẩm tập trung tại Hà Nội. Các cơ sở có đặc điểm tương đồng về hoạt động sản xuất và đều phát sinh nước thải giàu chất hữu cơ, dầu mỡ từ quá trình chế biến thực phẩm. Mẫu được lấy theo phương pháp lấy mẫu tổ hợp theo thời gian, gồm ba mẫu đơn thu tại các thời điểm sáng, trưa và tối trong ngày, sau đó phối trộn thành một mẫu tổ hợp theo TCVN 5999:1995 (ISO 5667-10:1992). Việc lấy mẫu được thực hiện liên tục trong 7 ngày nhằm đánh giá đặc trưng nguồn thải và mức độ ô nhiễm. Mẫu được bảo quản và vận chuyển theo TCVN 6663-3:2008 (ISO 5667-3:2003) trước khi tiến hành phân tích và phân lập vi sinh vật. Thời gian lấy mẫu vào tháng 10 năm 2024.

Phương pháp

Phân lập các chủng vi khuẩn từ mẫu nước thải

Mẫu nước thải thu về được lắc đều và hút 1 mL cho vào ống falcon 15 mL chứa 9 mL dung dịch NaCl 0,9% vô trùng, để tĩnh 30 phút sau đó vortex kỹ trong 2 - 3 phút. Hỗn hợp được tiếp tục pha loãng theo dãy bằng dung dịch NaCl 0,9% đến nồng độ 10^{-7}. Hút 100 µL dịch pha loãng 3 nồng độ 10^{-5} - 10^{-7} và trải trên môi trường thạch Nutrient Agar (NA) (Himedia, Ấn Độ). Ủ đĩa ở 30 °C trong 3 - 5 ngày. Các khuẩn lạc tách biệt được chuyển sang trên đĩa thạch mới và cấy ria liên tiếp cho đến khi thu được chủng thuần.

Khảo sát khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng phân lập

Khuẩn lạc hình thành trên môi trường thạch NA sau 3 ngày ủ ở 30 °C được đục thành thỏi (đường kính 5 mm) và được chuyển sang các đĩa môi trường khảo sát hoạt tính enzyme lipase/protease/amylase/CMCase với các cơ chất Tween 80/gelatin hoặc casein/tinh bột/CMC tương ứng. Ủ các đĩa sàng lọc ở 30 °C trong vòng 48 giờ và nhuộm bằng dung dịch Lugol 0,5%. Mức độ sinh enzyme được đánh giá định tính dựa trên đường kính vòng phân giải cơ chất quanh khuẩn lạc sau thời gian nuôi cấy và được ký hiệu như sau: (−) không tạo vòng phân giải, (+) vòng phân giải < 10 mm, (++) vòng phân giải 10 - 14 mm và (+++) vòng phân giải ≥ 15 mm.

Hoạt tính lipase được bán định lượng bằng cách sử dụng môi trường có thành phần như sau: peptone 10 g, NaCl 5 g, $CaCl_2.2H_2O$ 0,1 g, agar 15 g, Tween 80 10 mL. Lipase phân hủy Tween 80 tạo axit béo, các axit này kết hợp với Ca^{2+} từ

ONLINE FIRST

$CaCl_2$ kết tủa dưới dạng muối canxi không hoà tan, hình thành vùng trắng đục trên bề mặt thạch. Khả năng phân giải lipid được tính theo công thức: D-d, mm. Trong đó: D là biểu thị đường kính vùng phân giải (mm), d là đường kính khuẩn lạc (mm) (Kumari và cộng sự, 2023).

Định danh các chủng vi khuẩn

DNA tổng số được thu nhận từ các chủng vi khuẩn bằng bộ kit EZ-10 Spin Column Genomic DNA Minipreps Kit (BioBasic, Canada). Đoạn gen 16S rDNA của các chủng thuần khiết được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) và 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) (Weisburg và cộng sự, 1991). Phản ứng PCR được thiết lập với tổng thể tích 50 µl bao gồm: 25 µl Taq Master Mix Solution (BioBasic, Canada), 2 µl mỗi loại mồi xuôi và mồi ngược (10 pmol/µl), 2 µl khuôn DNA (10 ng/µl). Điều kiện chu trình nhiệt bao gồm: 94 °C 4 phút, tiếp theo 35 chu kỳ gồm 94 °C 30 giây, 55 °C 30 giây, 72 °C 1 phút (35 chu kỳ), kết thúc bằng bước kéo dài cuối ở 72 °C 10 phút.

Sản phẩm khuếch đại ~1500 bp được phân tích bằng điện di trên gel agarose 1,5%, sau đó được tinh sạch và giải trình tự. Dữ liệu trình tự thu được được xử lý và đối chiếu với các trình tự 16S rDNA của các loài liên quan đã công bố trên cơ sở dữ liệu EZTaxon. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng theo phương pháp neighbour-joining, với độ tin cậy được đánh giá thông qua 1000 lần lặp bootstrap bằng phần mềm NJPlot (Perrière & Gouy, 1996).

Đánh giá khả năng nhũ hóa (E_{24})

Khả năng nhũ hóa của các chủng vi khuẩn được xác định theo chỉ số E_{24} bằng cách sử dụng dịch nuôi cấy sau 48 giờ. Dịch nuôi cấy được ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong 15 phút để loại bỏ sinh khối, sau đó lấy phần dịch nổi trộn với cơ chất theo tỷ lệ 1:1 (v/v) trong ống nghiệm tiêu chuẩn (Cooper & Goldenberg, 1987). Ba loại cơ chất được sử dụng gồm dầu ô liu, dầu thải và mỡ động vật. Tiến hành đồng nhất hỗn hợp bằng máy Vortex ở tốc độ tối đa trong thời gian 2 phút và giữ mẫu cố định ở trạng thái tĩnh trong 24 giờ tại nhiệt độ phòng. Đối với mẫu đối chứng âm, thực hiện với quy trình tương tự nhưng thay dịch ly tâm bằng môi trường vô trùng.

Chỉ số E_{24} được xác định dựa trên phần trăm chiều cao lớp nhũ tương hình thành bền vững sau 24 giờ so với tổng chiều cao cột chất lỏng theo công thức (Wong và cộng sự, 2025):

$$E_{24}(\%) = \frac{\text{Chiều cao lớp nhũ tương sau 24 giờ}}{\text{Tổng chiều cao cột chất lỏng}} \times 100 \quad (1)$$

Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần độc lập.

Đánh giá khả năng thích nghi và phân hủy dầu mỡ ở các mức COD mục tiêu của các chủng vi khuẩn

Khả năng sinh trưởng và phân hủy dầu mỡ của các chủng vi khuẩn được đánh giá trong nước thải nhân tạo mô phỏng môi trường giàu lipid với các mức COD mục tiêu khác nhau. Nước thải nhân tạo gốc được chuẩn bị từ các thành phần gồm mỡ lợn 15 g được nhũ hóa với Tween 80 2 g, cao thịt 10 g, NH_4Cl 2 g và KH_2PO_4 0,5 g, hòa tan trong 1 L nước cất, tương đương khoảng 50.000 mg COD/L (Matikevičienė và cộng sự, 2018). Từ dung dịch gốc này, các mẫu thí nghiệm được pha loãng theo các tỷ lệ xác định để tạo các mức COD mục tiêu 500, 1.000, 2.000, 5.000 và 10.000 mg/L (giá trị tính toán từ hệ số pha loãng của dung dịch gốc được trình bày trong Bảng 1), được sử dụng như thông số quy ước để mô phỏng các mức tải hữu cơ và nồng độ dầu mỡ ban đầu khác nhau. Mỗi mức nước thải nhân tạo được phân phối vào bình tam giác 250 mL và tiệt trùng ở 121 °C trong 15 phút. Các chủng vi khuẩn được nuôi tăng sinh trong môi trường Nutrient Broth (Himedia, Ấn Độ) ở 30 °C, lắc 160 vòng/phút trong 18 giờ. Sinh khối được thu nhận bằng ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 15 phút, rửa hai lần bằng dung dịch NaCl 0,9% vô trùng, sau đó huyền phù tế bào được điều chỉnh đến OD_{600} 1,0. Dịch huyền phù vi khuẩn được bổ sung vào các bình chứa nước thải nhân tạo với tỷ lệ 5% (v/v). Trong mẫu đối chứng âm, dịch huyền phù vi khuẩn được thay bằng nước cất vô trùng với cùng tỷ lệ bổ sung. Các bình thí nghiệm được ủ ở 30 °C, lắc 160 vòng/phút trong 6 ngày. Trong quá trình ủ, sinh trưởng của vi khuẩn được theo dõi thông qua giá trị OD_{600} tại các thời điểm 0, 24, 48, 72, 96, 120 và 144 giờ. Trước khi đo, mẫu nuôi cấy được ly

ONLINE

tâm nhẹ ở 2.000×g trong 5 phút nhằm hạn chế ảnh hưởng của mỡ nhũ hóa đến kết quả đo quang học. Phần dịch sau xử lý được sử dụng để xác định OD_{600}. Mẫu đối chứng âm được xử lý và đo trong cùng điều kiện nhằm hiệu chỉnh tín hiệu nền phát sinh từ dầu mỡ và hệ nhũ tương. Giá trị OD_{600} sau hiệu chỉnh được sử dụng như chỉ thị tương đối phản ánh xu hướng sinh trưởng của vi khuẩn trong các điều kiện tải hữu cơ khác nhau.

Giá trị pH của dịch nuôi cấy được đo ở thời điểm đầu và cuối thí nghiệm để đánh giá biến động môi trường trong quá trình phân hủy cơ chất. Sau 6 ngày ủ, dịch nuôi được thu để xác định hoạt tính lipase bằng phương pháp khuếch tán trên giếng thạch. Hàm lượng dầu mỡ trong mẫu được xác định bằng phương pháp chiết dung môi chloroform - methanol cải tiến theo Bligh và Dyer (Cavonius và cộng sự, 2014). Cụ thể như sau: 20 mL dịch nuôi cấy được acid hóa đến pH ~2 bằng dung dịch HCl 1 M. Dung dịch NaCl bão hòa được bổ sung tỷ lệ 10% (v/v) và tiếp theo là hỗn hợp dung môi chloroform và methanol theo tỷ lệ 2:2:1 (v/v/v, chloroform:methanol:mẫu). Hỗn hợp được lắc mạnh trong 2 - 3 phút để tăng cường khả năng phân bố dầu mỡ vào pha hữu cơ rồi tiếp tục được ly tâm ở 5.000 vòng/phút trong 10 phút. Pha hữu cơ chứa dầu mỡ được thu hồi, làm khô bằng Na_2SO_4 khan và lọc loại tạp chất. Dung môi được loại bỏ ở 40 °C bằng thiết bị cô quay cho đến khối lượng không đổi. Mẫu đối chứng âm được chiết và xử lý theo cùng quy trình nhằm kiểm soát ảnh hưởng nền của dầu mỡ, Tween 80 và hệ nhũ tương đến kết quả định lượng. Lượng dầu mỡ còn lại được tính toán phương pháp khối lượng.

Hiệu suất loại bỏ dầu mỡ được tính theo công thức (Wong và cộng sự, 2025):

$$Hiệu\ suất\ loại\ bỏ\ dầu\ mỡ\ (\%) = \frac{C_O - C_t}{C_O} \times 100 \quad (2)$$

trong đó C_0 là nồng độ dầu mỡ ban đầu và C_t là nồng độ dầu mỡ còn lại sau 6 ngày xử lý.

Bảng 1. Nồng độ dầu mỡ tương ứng với các mức COD mục tiêu của nước thải nhân tạo được pha loãng từ dung dịch gốc

COD mục tiêu (mg/L)	Hệ số pha loãng	Nồng độ dầu mỡ mục tiêu (mg/L)
500	1/100	150
1.000	1/50	300
2.000	1/25	600
5.000	1/10	1.500
10.000	1/5	3.000

Xử lí số liệu

Các thí nghiệm được tiến hành với ba lần lặp độc lập và kết quả thí nghiệm được trình bày dưới dạng trung bình ± sai số chuẩn. Khác biệt giữa các công thức thí nghiệm được xác định thông qua phân tích phương sai (ANOVA) một hoặc hai nhân tố tùy theo thiết kế thí nghiệm, sau đó áp dụng kiểm định hậu kiểm Tukey hoặc Games-Howell với ngưỡng ý nghĩa $p < 0,05$. Toàn bộ việc xử lý số liệu và trực quan hóa được tiến hành bằng phần mềm GraphPad Prism 9.5.1 (GraphPad Software Inc., CA, USA).

Kết quả

Tuyển chọn các chủng vi khuẩn sinh enzyme ngoại bào

Từ nguồn mẫu nước thải thu thập ở các trạm chế biến tập trung đã phân lập được 24 chủng vi khuẩn có đặc điểm hình thái khuẩn lạc khác nhau. Sau bước tinh sạch trên đĩa thạch để thu được chủng thuần, tiếp tục tiến hành sàng lọc nhanh khả năng tiết lipase trên môi trường có Tween 80. Kết quả đã lựa chọn được 6 chủng phân lập có vòng phân giải lớn ≥ 15 mm bao gồm các chủng: NeKS5.4, NeKS5.7, NfKS2.5, NfKS2.6, NLKS3.1, NLKS3.4. Bên cạnh đó, cả 6 chủng phân lập đều sinh enzyme thủy phân ngoại bào khác gồm protease, amylase và CMCase ở mức độ khác nhau (Bảng 2).

Phần lớn các chủng đều có khuẩn lạc dạng phẳng, màu trắng đục đến trắng ngà, mép không đều, bóng hoặc nhám (Bảng 2). Kết quả soi tiêu bản cho thấy cả 6 chủng có tế bào hình que, Gram (+), sinh bào tử. Trên cơ sở các chủng thể hiện hoạt tính sinh enzyme ngoại bào nổi bật, chúng tôi tiếp tục định danh bằng 16S rDNA để xác định vị trí phân loại của các chủng tiềm năng.

ONLINE FIRST

Bảng 2. Hình thái khuẩn lạc và mức độ sinh enzyme ngoại bào của các chủng phân lập

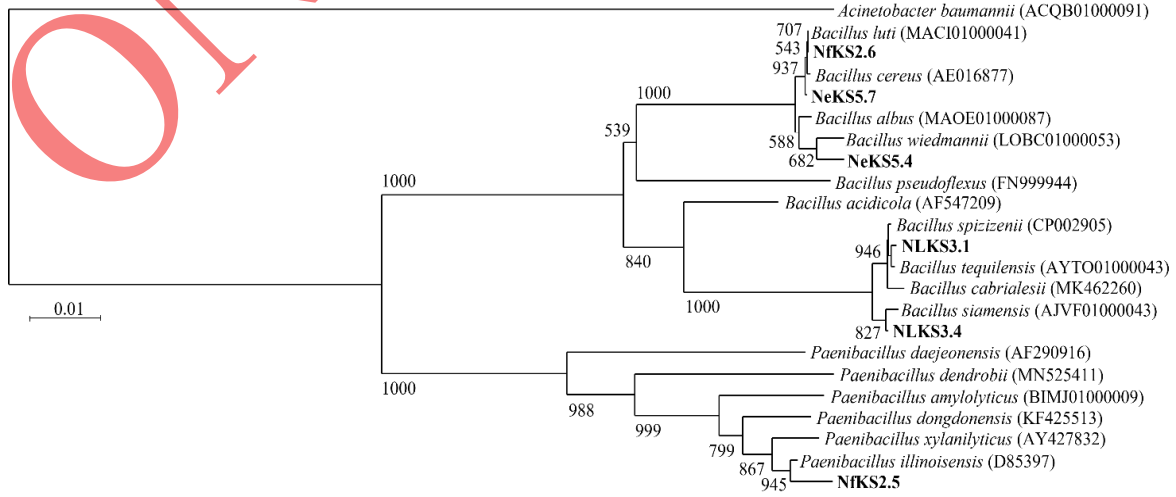
Chủng	Hình thái khuẩn lạc	Tween 80	Gelatin	Casein	Tinh bột	CMC
NeKS5.4	Tròn, mép không đều, phẳng, bề mặt bóng, màu trắng ngà	+++	+++	++	+	++
NeKS5.7	Tròn hoặc không xác định hình dạng, mép không đều, bóng, phẳng, màu trắng ngà	+++	+++	+++	+	+++
NfKS2.5	Tròn, mép đều, bóng, phẳng, màu trắng trong	+++	+++	++	++	+
NfKS2.6	Tròn, mép răng cưa, nhám, phẳng, màu trắng ngà	+++	+++	+++	+	+++
NLKS3.1	Tròn, mép đều, bóng, hơi lồi, màu trắng ngà	+++	++	++	++	++
NLKS3.4	Tròn, mép không đều, nhầy, mặt nhám, màu trắng đục	+++	+++	+++	++	+++

Xác định danh pháp của các chủng vi khuẩn

Sáu chủng vi khuẩn tiếp tục được xử lý nhằm tách chiết DNA tổng số, sau đó tiến hành khuếch đại và giải trình tự gen 16S rDNA để phục vụ định danh. Việc xác định danh pháp được thực hiện thông qua so sánh với cơ sở dữ liệu các chủng chuẩn EZTaxon. Kết quả phân tích cho thấy, 5/6 chủng có độ tương đồng trên 99,21% với các loài thuộc chi *Bacillus,* trong khi chủng NfKS2.5 đạt độ tương đồng 99,29% với *Paenibacillus illinoisensis* (Bảng 3). Phân tích phát sinh loài dựa trên trình tự gen 16S rDNA cho kết quả phù hợp với dữ liệu so sánh trình tự (Hình 1). Theo đó, các chủng được định danh lần lượt là *Bacillus* sp. NeKS5.4, *Bacillus* sp. NeKS5.7, *Bacillus* sp. NfKS2.6, *Bacillus* sp. NLKS3.1, *Bacillus* sp. NLKS3.4 và *Paenibacillus* sp. NfKS2.5. Các trình tự 16S rDNA tương ứng đã được đăng ký trên GenBank các mã số truy cập lần lượt là PQ721794, PQ721795, PQ721797, PQ721798, PQ721800 và PQ721801.

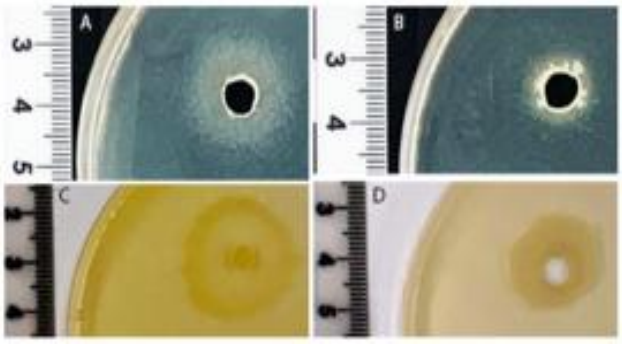
Bảng 3. Kết quả xác định danh pháp dựa trên trình tự gen 16S rDNA các chủng vi khuẩn

Chủng	Loài gần gũi	Độ tương đồng (%)	Đăng ký mã GenBank
NeKS5.4	*Bacillus wiedmannii*	99,21	PQ721794
NeKS5.7	*B. cereus*	100	PQ721795
NfKS2.5	*Paenibacillus illinoisensis*	99,29	PQ721797
NfKS2.6	*B. luti*	100	PQ721798
NLKS3.1	*B. tequilensis*	99,50	PQ721800
NLKS3.4	*B. siamensis*	99,85	PQ721801



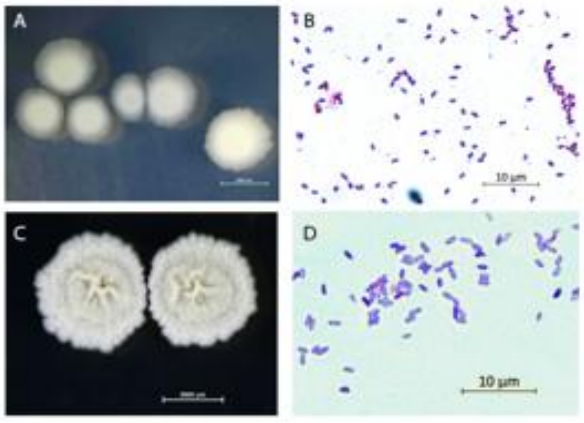
Hình 1. Vị trí phân loại của các chủng vi khuẩn dựa trên phân tích trình tự 16S rDNA và so sánh với cơ sở dữ liệu EZTaxon

ONLINE FIRST



Hình 2. Hình minh họa khả năng sinh lipase trên các cơ chất khác nhau của các chủng vi khuẩn. Tween 80 + $CaCl_2$: NfKS2.5 (A) và chủng NLKS3.4 (B). Dầu ăn: NfKS2.5 (C) và chủng NLKS3.4 (D)

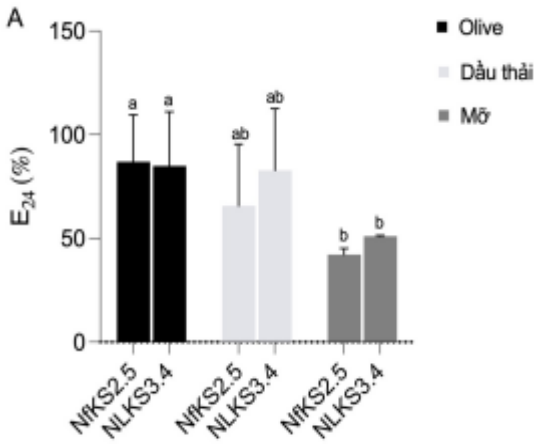
Trong số các chủng phân lập, chủng *Paenibacillus* sp. NfKS2.5 và *Bacillus* sp. NLKS3.4 có hoạt tính lipase (Hình 2) và protease (Hình S1) cao là đặc tính liên quan trực tiếp đến khả năng thủy phân lipid trong nước thải chứa dầu mỡ. Chủng NfKS2.5 có khuẩn lạc hình tròn, mép đều, bóng, phẳng, xung quanh màu trắng trong, ở giữa trắng ngà, kích thước 2,3 ± 0,4 mm. Tế bào hình que, Gram (+), sinh bào tử, kích thước 1,6 ± 0,1 × 0,7 ± 0,1 µm (Hình 3). Khuẩn lạc chủng NLKS3.4 hình tròn, mép không đều, nhầy, mặt nhám, màu trắng đục, kích thước 3,8 ± 1,5 mm. Tế bào hình que, Gram (+), sinh bào tử, kích thước 1,8 ± 0,1 × 0,9 ± 0,1 µm. Kết quả định danh cho thấy hai chủng có mức độ an toàn sinh học phù hợp cho định hướng ứng dụng trong phát triển chế phẩm vi sinh xử lý nước thải (https://bacdive.dsmz.de). Do đó, hai chủng này được lựa chọn để đánh giá sâu hơn về khả năng nhũ hóa và hiệu quả loại bỏ dầu mỡ.



Hình 3. Hình ảnh khuẩn lạc và tế bào của các chủng vi khuẩn: NfKS2.5 (A, B) và chủng NLKS3.4 (C, D)

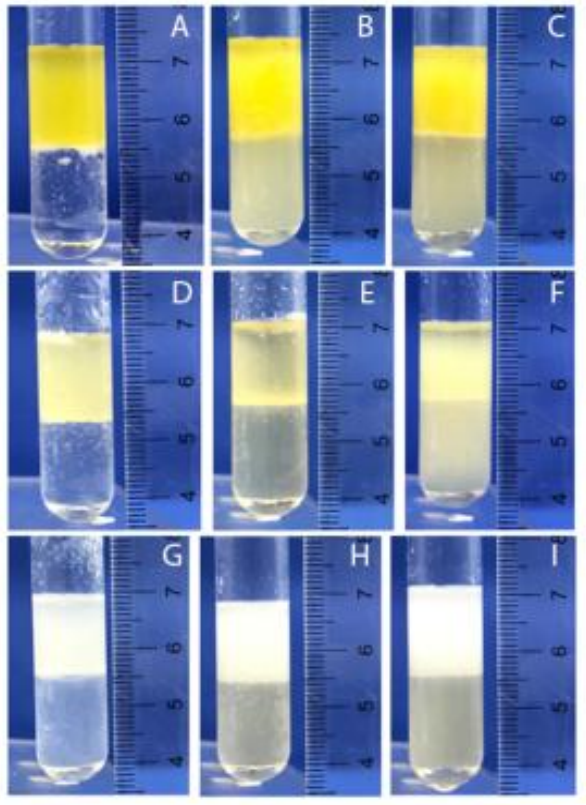
Khả năng nhũ hoá dầu mỡ của chủng Paenibacillus sp.NfKS2.5 và Bacillus sp. NLKS3.4

Một số cơ chất kỵ nước bao gồm dầu ô liu, dầu ăn thải và mỡ động vật được sử dụng để xác định chỉ số nhũ hóa (E_{24}) của hai chủng nghiên cứu. Kết quả cho thấy cả hai chủng đều có khả năng nhũ hóa rõ rệt đối với cả ba loại cơ chất khảo sát, trong đó E_{24} đạt giá trị cao nhất với dầu ô liu, tiếp đến là dầu thải và thấp nhất với mỡ lợn. Chủng NfKS2.5 có giá trị E_{24} cao nhất với dầu ô liu, đạt 86,98%, tiếp theo là với dầu thải (65,63%) (Hình 4). Chủng NLKS3.4 có chỉ số nhũ hóa đối với cả dầu ô liu và dầu ăn thải cao tương đương, đạt tương ứng 84,90% và 82,80%. Trong khi đó chỉ số nhũ hóa mỡ của hai chủng này thấp nhất, đạt lần lượt 42,23% và 51,05% (Hình 5).



Hình 4. Chỉ số nhũ hóa (E_{24}) của chủng NfKS2.5 và NLKS3.4 trên các loại cơ chất khác nhau. Các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các loại cơ chất ($p < 0,05$; kiểm định Tukey)

Phân tích phương sai hai chiều (two-way ANOVA) cho thấy loại cơ chất ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến chỉ số nhũ hóa E_{24} ($p=0,03$). Cả hai chủng đều thể hiện xu hướng nhũ hóa tương tự đối với các loại dầu mỡ khác nhau. Phân tích hậu kiểm Tukey cho thấy chỉ số nhũ hóa của dầu ô liu cao hơn có ý nghĩa so với mỡ động vật ($p=0,02$). Tuy nhiên, không ghi nhận sự khác biệt giữa dầu ô liu và dầu thải cũng như giữa dầu thải và mỡ ($p > 0,05$) (Hình 4).

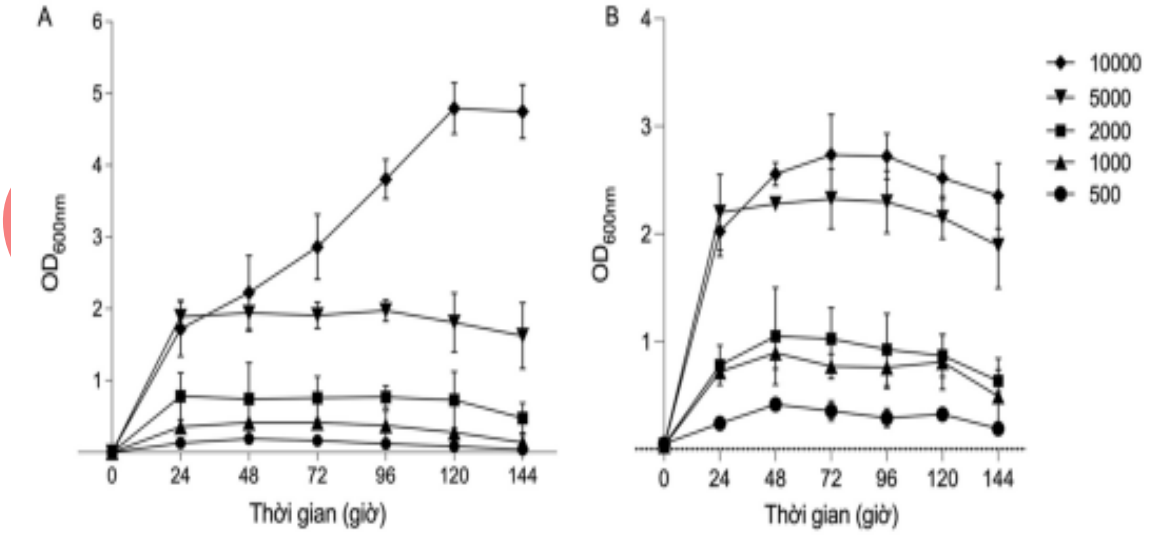


Hình 5. Hình ảnh minh họa khả năng nhũ hóa của hai chủng NfKS2.5 và NLKS3.4 đối với một số loại dầu mỡ. Dầu ô liu: A - đối chứng, B - NfKS2.5, C - NLKS3.4. Dầu thải: D - đối chứng, E - NfKS2.5, F - NLKS3.4. Mỡ lợn: G - đối chứng, H - NfKS2.5, I - NLKS3.4

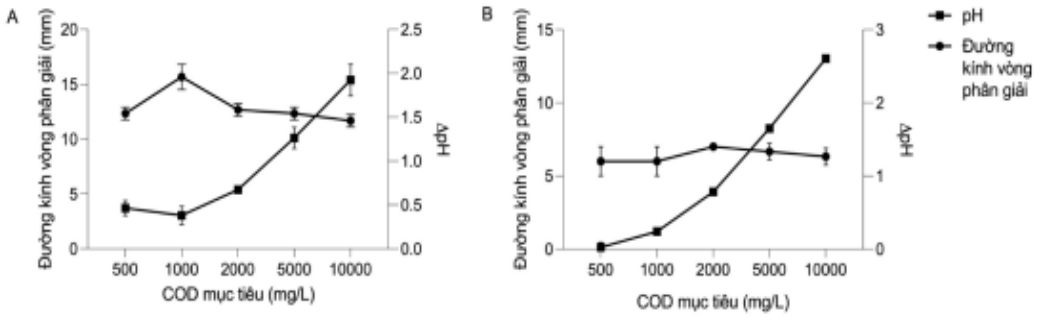
Khả năng thích nghi và phân hủy dầu mỡ ở các mức COD mục tiêu của hai chủng lựa chọn

Khả năng thích nghi với tải hữu cơ và hiệu quả loại bỏ dầu mỡ của chủng NfKS2.5 và NLKS3.4 được đánh giá thông qua thí nghiệm sử dụng nước thải nhân tạo có các mức COD mục tiêu khác nhau, mô phỏng điều kiện nước thải giàu lipid với mỡ động vật như một cơ chất đại diện. Kết quả theo dõi OD_{600} cho thấy sinh trưởng của cả hai chủng vi khuẩn phụ thuộc rõ rệt vào tải hữu cơ ban đầu của môi trường (Hình 6). Ở mức COD mục tiêu thấp (500 - 1000 mg/L), cả NfKS2.5 và NLKS3.4 thể hiện pha sinh trưởng chậm với thời gian thích nghi kéo dài và giá trị OD cực đại thấp, phản ánh trạng thái bị giới hạn cơ chất. Khi tăng COD mục tiêu lên mức trung bình (2.000 - 5.000 mg/L), tốc độ sinh trưởng tăng rõ rệt, pha log xuất hiện sớm hơn và giá trị OD đạt giá trị cao hơn, cho thấy đây là khoảng tải hữu cơ phù hợp cho hoạt động của hai chủng. Tuy nhiên, ở mức COD mục tiêu 10.000 mg/L, phản ứng của hai chủng có khác biệt đáng chú ý. Chủng NfKS2.5 tăng trưởng chậm hơn và đạt OD_{600} cực đại 4,79 tại 120 giờ, trong khi chủng NLKS3.4 vẫn duy trì sinh trưởng tương đối ổn định và đạt OD_{600} cực đại 2,66 ở thời điểm 72 giờ (Hình 6A, 6B). Dữ liệu ở thời điểm 120 giờ cũng cho thấy xu hướng tương tự, trong đó NLKS3.4 duy trì OD_{600} ổn định hơn so với NfKS2.5 ở các mức COD cao (Hình S2). Kết quả này cho thấy NLKS3.4 có khả năng thích nghi tốt hơn với tải hữu cơ cao.

UNEDITED



Hình 6. Biến thiên sinh trưởng của chủng NfKS2.5 (A) và NLKS3.4 (B) trong nước thải nhân tạo có các mức COD mục tiêu khác nhau



Hình 7. Biến thiên pH và hoạt tính lipase của chủng NfKS2.5 (A) và NLKS3.4 (B) trong nước thải nhân tạo có các mức COD mục tiêu khác nhau. ΔpH = pH cuối - pH ban đầu

Biến động pH trong quá trình nuôi cấy và đường kính vòng phân giải trên môi trường chỉ thị cho thấy hoạt tính lipase của hai chủng có liên hệ nhất định với điều kiện tải hữu cơ ban đầu (Hình 7). Ở chủng NfKS2.5, mức COD mục tiêu 1.000 mg/L cho thấy biến thiên pH thấp nhất đồng thời ghi nhận đường kính vòng phân giải lớn nhất, đạt 15,7 mm, cho thấy điều kiện này thuận lợi cho biểu hiện hoạt tính lipase. Đối với NLKS3.4, biến thiên pH tăng dần theo tải hữu cơ ban đầu, trong khi đường kính vòng phân giải giữa các mức COD nhìn chung ổn định hơn. Sự kết hợp giữa ΔpH và đường kính vòng phân giải cho thấy hoạt tính lipase của hai chủng chịu ảnh hưởng bởi điều kiện cơ chất, nhưng mức độ đáp ứng khác nhau giữa hai chủng, trong đó NfKS2.5 nhạy hơn với sự thay đổi tải hữu cơ ban đầu. Từ các chỉ dấu gián tiếp về hoạt tính enzyme, tiếp theo, chúng tôi đánh giá trực tiếp hiệu quả loại bỏ dầu mỡ của hai chủng trong cùng hệ thí nghiệm (Bảng 4, Hình 8).

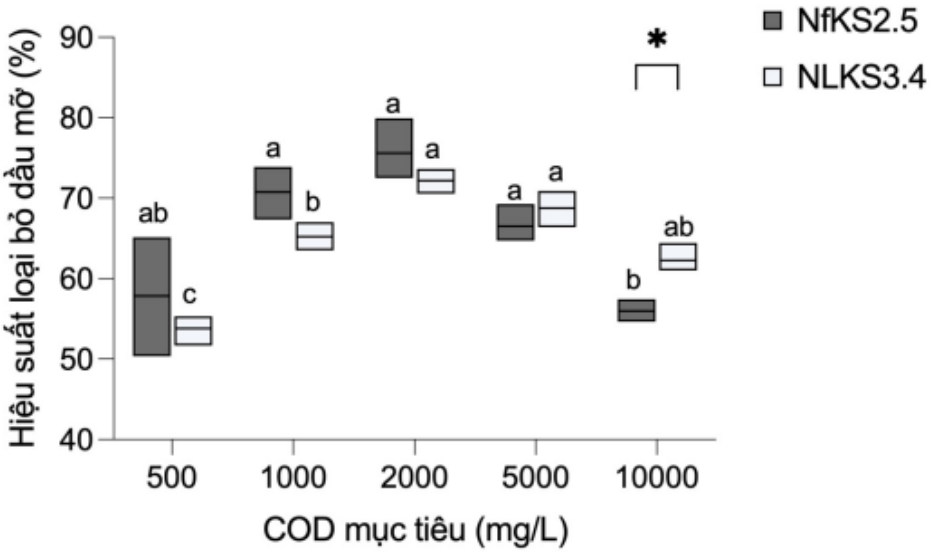
Bảng 4. Nồng độ dầu mỡ thực tế ở thời điểm đầu và thời điểm kết thúc thí nghiệm

COD mục tiêu (mg/L)	Nồng độ dầu mỡ ban đầu (mg/L)	Nồng độ dầu mỡ sau 6 ngày (mg/L)	
		NfKS2.5	NLKS3.4
500	139 ± 8,89	59 ± 14,11	64 ± 6,81
1.000	299 ± 17,21	87 ± 5,49	104 ± 11,14
2.000	568 ± 27,15	138 ± 19,00	158 ± 14,00
5.000	1.424 ± 30,27	477 ± 43,88	445 ± 37,75
10.000	2.647 ± 52,54	1.165 ± 31,50	999 ± 51,62

Hiệu suất loại bỏ dầu mỡ của hai chủng ở các mức COD mục tiêu khác nhau được đánh giá dựa trên nồng độ dầu mỡ thực tế đo được trước và sau 6 ngày nuôi cấy (Bảng 4) và được trình bày ở Hình 8. Ở mức COD mục tiêu thấp 500 mg/L, hiệu suất loại bỏ của cả hai chủng đều dưới 60%, cho thấy cơ chất chưa đủ để tạo điều kiện tối ưu cho quá trình sinh trưởng và phân hủy. Khi COD mục tiêu tăng đến 2.000 mg/L, hiệu suất loại bỏ đạt giá trị cao nhất, lần lượt là 75,64% đối với NfKS2.5 và 72,12% đối với NLKS3.4. Ở các mức COD mục tiêu cao hơn, hiệu suất loại bỏ dầu mỡ của NfKS2.5 giảm dần, còn 66,59% ở 5.000 mg/L và 55,98% ở

ONLINE FIRST

10.000 mg/L. Trong khi đó, NLKS3.4 duy trì hiệu suất tương đối ổn định hơn, dao động từ 62,89% đến 68,66% trong khoảng COD mục tiêu 5.000 - 10.000 mg/L. Kết quả này cho thấy hiệu quả loại bỏ dầu mỡ của hai chủng phụ thuộc vào tải hữu cơ ban đầu và có sự khác biệt về khả năng thích nghi ở tải cao. Cụ thể, NfKS2.5 phù hợp hơn ở tải trung bình, trong khi NLKS3.4 thể hiện ưu thế rõ hơn khi môi trường có tải hữu cơ cao.



Hình 8. Hiệu suất loại bỏ dầu mỡ của chủng NfKS2.5 (A) và NLKS3.4 (B) trong nước thải nhân tạo có các mức COD mục tiêu khác nhau. Các ký tự khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các mức COD trong cùng một chủng (kiểm định Games-Howell, $p < 0,05$). Dấu * biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa giữa hai chủng tại cùng mức COD ($p < 0,05$)

Phân tích thống kê xác nhận rằng mức COD mục tiêu ảnh hưởng có ý nghĩa đến sinh trưởng và hiệu suất loại bỏ dầu mỡ của hai chủng nghiên cứu, đồng thời phản ánh sự khác biệt về khả năng thích nghi giữa NfKS2.5 và NLKS3.4 ở các tải hữu cơ khác nhau ($p < 0,05$) (Hình 8).

Thảo luận

Nước thải từ các trạm chế biến tập trung thường chứa hàm lượng cao lipid, protein và các hợp chất chứa nitơ, tạo điều kiện cho sự hiện diện của vi sinh vật tiết enzyme ngoại bào như lipase, protease, amylase và cellulase (Sanghamitra và cộng sự, 2021). Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy, phần lớn các chủng phân lập có hoạt tính enzyme ngoại bào mạnh thuộc chi *Bacillus*. Điều này phù hợp với nhiều báo cáo trước đây về khả năng sinh đa enzyme của nhóm vi khuẩn này trong môi trường giàu hữu cơ. Tuy nhiên, một số chủng thuộc nhóm *Bacillus cereus* đã được ghi nhận có tiềm năng gây bệnh, do đó cần tiếp tục đánh giá an toàn sinh học và đặc tính sinh học liên quan trước khi xem xét ứng dụng thực tiễn (Ehling-Schulz và cộng sự, 2019).

So với *Bacillus* và *Pseudomonas*, *Paenibacillus illinoisensis* ít được đề cập hơn trong các nghiên cứu về xử lý nước thải giàu lipid. Một số công bố cho thấy loài này có khả năng sinh nhiều enzyme ngoại bào như chitinase, cellulase và amylase, trong khi dữ liệu về lipase còn hạn chế (da Silva và cộng sự, 2022; Tran và cộng sự, 2024). Trong nghiên cứu này, chủng *Paenibacillus* sp. NfKS2.5 có mức tương đồng cao với *P. illinoisensis*, và thể hiện hoạt tính lipase và protease tốt, cho thấy tiềm năng trong xử lý nước thải giàu lipid. Kết quả này góp phần mở rộng hiểu biết về tiềm năng sinh học của nhóm *Paenibacillus* và gợi ý khả năng khai thác các chủng bản địa trong hệ xử lý sinh học chuyên biệt. Trên cơ sở kết quả sàng lọc enzyme và định danh, hai chủng NfKS2.5 và NLKS3.4 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo do thể hiện hoạt tính lipase nổi trội, đồng thời thuộc các nhóm vi khuẩn nhìn chung được xem là có mức độ rủi ro sinh học thấp đối với định hướng ứng dụng môi trường. Việc tuyển chọn này không chỉ dựa trên khả năng sinh enzyme mà còn hướng tới tính khả thi trong phát triển chế phẩm xử lý nước thải giàu lipid.

ONLINE

Chỉ số nhũ hóa E_{24} phản ánh gián tiếp khả năng sinh chất hoạt động bề mặt sinh học của vi khuẩn (Cooper & Goldenberg, 1987; Wong và cộng sự, 2025). Khả năng nhũ hóa là một đặc tính quan trọng, đặc biệt trong các hệ xử lý nước thải chứa dầu mỡ vì đặc tính này góp phần làm tăng mức độ phân tán cơ chất kỵ nước và giúp enzyme ngoại bào hoạt động thuận lợi hơn (Al-Sakkaf & Onaizi, 2024). Trong nghiên cứu này, cả hai chủng nghiên cứu đều nhũ hóa tốt dầu ô liu và dầu thải, nhưng thấp hơn với mỡ động vật. Xu hướng này phù hợp với đặc tính lý hóa của cơ chất, khi dầu thực vật thường dễ nhũ hóa hơn mỡ động vật. Kết quả này cũng tương đồng với một số công bố trước đây về chỉ số E_{24} của một số chủng vi khuẩn. Chủng *Bacillus brevis* phân lập từ đất nhiễm dầu có chỉ số E_{24} với dầu ô liu đạt 72,44% (Mouafi và cộng sự, 2016). Các chất hoạt động bề mặt sinh học được sản xuất bởi *B. velezensis* F6 phân lập từ mẫu dầu mỡ trong nước thải nhà bếp được báo cáo là có chỉ số nhũ hóa dầu ăn lên đến 46% (Wong và cộng sự, 2025). Mặc dù chỉ số E_{24} phản ánh tốt xu hướng nhũ hóa của hai chủng nghiên cứu, vẫn cần các phép định lượng trực tiếp như xác định sức căng bề mặt hoặc phân tích thành phần để khẳng định khả năng sinh chất hoạt động bề mặt sinh học của chúng. Tải hữu cơ ban đầu ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng và hiệu quả loại bỏ dầu mỡ của vi sinh vật. Ở mức COD thấp, hiệu suất loại bỏ dầu mỡ còn hạn chế do cơ chất không đủ cho sinh trưởng và hoạt động enzyme. Trong khi đó, khi COD tăng quá cao, lớp dầu mỡ có thể tạo rào cản khuếch tán, làm giảm khả năng tiếp xúc giữa tế bào vi khuẩn với cơ chất và gây ức chế hoạt động sinh học (Sanghamitra và cộng sự, 2021). Trong thí nghiệm xử lý nước thải chứa dầu hướng dương bởi bùn hoạt tính, hiệu suất loại bỏ dầu mỡ giảm từ 75% xuống 64% khi nồng độ COD ban đầu tăng từ 340 mg/L lên 500 mg/L (Cisterna-Osorio & Arancibia-Avila, 2019). Ảnh hưởng của nồng độ dầu mỡ ban đầu đến khả năng loại bỏ hợp chất này của chủng vi khuẩn sinh lipase *Pseudomonas* sp. D2D3 đã được công bố. Ở dải nồng độ dầu ô liu 0,1-5%, hiệu quả loại bỏ dầu mỡ của chủng này đạt hơn 80%, trong khi hiệu quả loại bỏ ở nồng độ dầu ô liu 10% giảm xuống còn 50% (Shon và cộng sự, 2002). Trong nghiên cứu này, ở khoảng COD mục tiêu 2.000 - 5.000 mg/L (nồng độ dầu mỡ tương ứng 568 ± 27,15 và 1.424 ± 30,27 mg/L), cả NfKS2.5 và NLKS3.4 đều sinh trưởng tốt và đạt hiệu suất xử lý cao hơn so với các mức COD mục tiêu thấp hơn. Khi COD mục tiêu tăng lên 10.000 mg/L, NfKS2.5 có xu hướng bị ức chế nhẹ, trong khi NLKS3.4 vẫn duy trì sinh trưởng và hiệu quả xử lý ổn định hơn. Điều này gợi ý NLKS3.4 có khả năng thích nghi tốt hơn với tải hữu cơ cao, còn NfKS2.5 phù hợp hơn ở tải trung bình. Trong thí nghiệm này, Tween 80 được bổ sung với mục đích nhũ hóa mỡ lợn trong nước thải nhân tạo, nhằm tạo hệ cơ chất đồng nhất và mô phỏng điều kiện nước thải giàu lipid. Do đó, Tween 80 chỉ đóng vai trò thành phần nền của hệ thí nghiệm và được giữ đồng nhất giữa các nghiệm thức. Sự khác biệt về sinh trưởng và hiệu suất loại bỏ dầu mỡ giữa các mức COD mục tiêu chủ yếu phản ánh tác động của tải hữu cơ ban đầu và khả năng thích nghi của từng chủng. Tuy nhiên, Tween 80 vẫn có thể góp phần hỗ trợ quá trình tiếp cận cơ chất và ảnh hưởng gián tiếp đến quá trình sinh trưởng. Vì vậy, đây là yếu tố cần được cân nhắc trong các nghiên cứu tiếp theo.

Nhìn chung, kết quả thu được cho thấy hai chủng có đặc tính bổ sung cho nhau trong môi trường nước thải nhân tạo giàu lipid và là những ứng viên tiềm năng cho các nghiên cứu tiếp theo theo hướng xử lý nước thải chứa dầu mỡ. Tuy nhiên, khả năng duy trì hiệu quả xử lý trong nước thải thực tế và trong các hệ vận hành bán liên tục/liên tục cần được tiếp tục đánh giá

Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập và tuyển chọn được các chủng vi khuẩn có tiềm năng sinh enzyme ngoại bào từ nước thải của các trạm chế biến tập trung tại Hà Nội. Trong số đó, *Paenibacillus* sp. NfKS2.5 và *Bacillus* sp. NLKS3.4 là hai chủng nổi bật nhất, thể hiện đồng thời khả năng sinh lipase, khả năng nhũ hóa và hiệu quả xử lý dầu mỡ đáng chú ý.

Kết quả khảo sát trong điều kiện nước thải nhân tạo cho thấy hai chủng có khả năng thích nghi tốt trong dải tải hữu cơ trung bình, đồng thời đạt hiệu suất loại bỏ dầu mỡ cao nhất ở mức COD phù hợp. Đặc tính sinh học bổ trợ của hai chủng cho thấy đây là nguồn vi sinh vật bản địa có tiềm năng ứng dụng trong phát triển chế phẩm sinh học phục vụ xử lý nước thải giàu lipid.

ONLINE FIRST

Tuy nhiên, để hướng tới khả năng ứng dụng thực tiễn, cần tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về đặc tính sinh lý, tính ổn định trong điều kiện vận hành liên tục/bán liên tục, cũng như hiệu quả xử lý trên quy mô lớn và trong điều kiện nước thải thực tế.

Thông tin tài trợ: *Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự tài trợ của Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga thông qua nhiệm vụ KH&CN mã số SH.N1.16/24.*

Tuyên bố về đóng góp của tác giả: *Đặng Thị Hồng Phương: thực hiện các thí nghiệm phân tích, viết bản thảo bài báo. Nguyễn Thị Hiếu Thu: bố trí thí nghiệm, thực hiện thí nghiệm vi sinh và sinh học phân tử, viết bản thảo bài báo.*

Tuyên bố về khả năng tiếp cận dữ liệu nghiên cứu*: Dữ liệu hỗ trợ cho các kết quả của nghiên cứu này có thể được cung cấp bởi tác giả liên hệ theo yêu cầu hợp lý.*

Tuyên bố về sử dụng Gen AI: *Các tác giả khẳng định công cụ AI tạo sinh chỉ được sử dụng để chỉnh sửa ngôn ngữ, diễn đạt, mà không được dùng để tạo nội dung khoa học. Toàn bộ dữ liệu và phân tích đều do các tác giả thực hiện, kiểm chứng và hoàn toàn chịu trách nhiệm đối với bản thảo.*

Tuyên bố về xung đột lợi ích: *Các tác giả tuyên bố không có xung đột lợi ích liên quan đến nghiên cứu này.*

Tài liệu tham khảo

Al-Sakkaf, M. K., & Onaizi, S. A. (2024). Effects of emulsification factors on the characteristics of crude oil emulsions stabilized by chemical and biosurfactants: A review. *Fuel, 361*, Article 130604. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.130604

Aziz, Z. S., Jazza, S. H., Dageem, H. N., Banoon, S. R., Balboul, B. A., & Abdelzaher, M. A. (2024). Bacterial biodegradation of oil-contaminated soil for pollutant abatement contributing to achieve sustainable development goals: A comprehensive review. *Results in Engineering*, *22*, 102083. https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102083

Bạch, N. M., Nguyễn, T. A. T., Nguyễn, T. T. K., & Huỳnh, H. M. (2025). Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn sinh lipase từ nước thải nhà hàng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 67*(1), 47–51. https://doi.org/10.31276/VJST.67(1).47-51

Bunmadee, S., Teeka, J., Lomthong, T., Kaewpa, D., Areesirisuk, P., & Areesirisuk, A. (2022). Isolation and identification of a newly isolated lipase-producing bacterium (*Acinetobacter baumannii* RMUTT3S8-2) from an oily wastewater treatment pond in a poultry processing factory and its optimum lipase production. *Bioresource Technology Reports, 20*, Article 101267. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101267

Bustillo-Lecompte, C., & Mehrvar, M. (2017). Slaughterhouse wastewater: Treatment, management and resource recovery. In R. Farooq & Z. Ahmad (Eds.), *Physico-chemical wastewater treatment and resource recovery* (pp. 153–174). IntechOpen. https://doi.org/10.5772/65499

Cavonius, L. R., Carlsson, N. G., & Undeland, I. (2014). Quantification of total fatty acids in microalgae: comparison of extraction and transesterification methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *406*(28), 7313–7322. https://doi.org/10.1007/s00216-014-8155-3

Cisterna-Osorio, P., & Arancibia-Avila, P. (2019). Comparison of Biodegradation of Fats and Oils by Activated Sludge on Experimental and Real Scales. *Water*, *11*(6), 1286. https://doi.org/10.3390/w11061286

Cooper, D. G., & Goldenberg, B. G. (1987). Surface-active agents from two bacillus species. *Applied and Environmental Microbiology*, *53*(2), 224–229. https://doi.org/10.1128/aem.53.2.224-229.1987

da Silva, F. K. L., de Sa Alexandre, A. R., Casas, A. A., Ribeiro, M. C., de Souza, K. M. C., Soares, E. S., Dos Santos Junior, S. R., Vieira, J. D. G., & Amaral, A. C. (2022). Increased production of chitinase by a Paenibacillus illinoisensis isolated from Brazilian coastal soil when immobilized in alginate beads. *Folia Microbiologica*, *67*(6), 935–945. https://doi.org/10.1007/s12223-022-00992-3

Ehling-Schulz, M., Lereclus, D., & Koehler, T. M. (2019). The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* Species with Pathogenic Potential. *Microbiology Spectrum*, *7*(3), 10.1128/microbiolspec.gpp3-0032-2018. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0032-2018

Giang, C. T., Mai, T. Đ., & Ngô, T. N. (2018). Phân lập và nhận diện một số dòng vi sinh vật có hoạt tính sinh học phân giải lipid trong nước thải của các cơ sở chế biến thủy sản. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, 1*(3), 37–42

Kumari, A., Mihooliya, K. N., Sahoo, D. K., Bhattacharyya, M. S., Prasad, G. S., & Pinnaka, A. K. (2023). Description of lipase producing novel yeast species Debaryomyces apis f.a., sp. nov. and a modified pH indicator dye-based method for the screening of lipase producing microorganisms. *Scientific reports*, *13*(1), 11819. https://doi.org/10.1038/s41598-023-38241-3

Lustoza Rotta, V. M. (2021). Effectiveness of Aeromonas hydrophila for the removal of oil and grease from cattle slaughterhouse effluent. *Journal of Cleaner Production*. https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2020.125533

Matikevičienė, V., Grigiškis, S., Levišauskas, D., Kinderytė, O., & Baškys, E. (2018). Technology for treatment of lipid-rich wastewater and pipelines clogged by lipids using bacterial preparation. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management*, *20*(1), 49-57. https://doi.org/10.3846/16486897.2012.662747

ONLINE FIRST

Mouafi, F. E., Abo Elsoud, M. M., & Moharam, M. E. (2016). Optimization of biosurfactant production by *Bacillus brevis* using response surface methodology. *Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)*, *9*, 31–37. https://doi.org/10.1016/j.btre.2015.12.003

Nimkande, V. D., & Bafana, A. (2022). A review on the utility of microbial lipases in wastewater treatment. *Journal of Water Process Engineering*, *46*, 102591. https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102591

Perrière, G., & Gouy, M. (1996). WWW-query: an on-line retrieval system for biological sequence banks. *Biochimie*, *78*(5), 364–369. https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)84768-7

Sanghamitra, P., Mazumder, D., & Mukherjee, S. (2021). Treatment of wastewater containing oil and grease by biological method: a review. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/hazardous Substances & Environmental Engineering*, *56*(4), 394–412. https://doi.org/10.1080/10934529.2021.1884468

Shon, H.K., Tian, D., Kwon, D.Y., Jin, C., Lee, T.J., & Chung, W.J. (2002). Degradation of fat, oil, and grease (fogs) by lipase-producing bacterium Pseudomonas sp. strain D2D3. *Journal of Microbiology and Biotechnology, 12*, 583-591.

Tran, D. M., Nguyen, T. H., Huynh, T. U., & Pentekhina, I. (2024). Deciphering genome sequence of *Paenibacillus illinoisensis* strain YWY-3.1: A chitinase, cellulase, and amylase producer. *Ecological Genetics and Genomics, 33*, Article 100298. https://doi.org/10.1016/j.egg.2024.100298

Wang, T., Wang, W., Hu, H., & Khu, S. T. (2022). Novel quantitative evaluation of biotreatment suitability of wastewater. *Water*, *14*(7), 1038. https://doi.org/10.3390/w14071038

Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, *173*(2), 697–703.https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991

Wong, J. Y., Ngieng, N. S., Husaini, A., Saat, R., & Hussain, H. (2025). Influence of pH on the biodegradation efficiency of fats, oils, and grease by biosurfactant-producing bacterial consortia. *Biodegradation*, *36*(4), 50. https://doi.org/10.1007/s10532-025-10146-0

Abstract

Evaluation of oil and grease degradation by indigenous bacteria isolated from mixed food-processing wastewater in Hanoi

Lipid-rich wastewater from mixed food-processing facilities represents a notable source of organic pollution, while indigenous microorganisms with potential for its treatment remain insufficiently exploited. A total of 24 bacterial strains were isolated from wastewater samples collected from three mixed food-processing facilities in Hanoi, of which 6 strains showed high extracellular enzyme-producing activity. Among the selected strains, *Paenibacillus* sp. NfKS2.5 exhibited strong lipase activity, whereas *Bacillus* sp. NLKS3.4 demonstrated high emulsification capacity. The highest emulsification index (E_{24}) of strains NfKS2.5 and NLKS3.4 was observed with olive oil, reaching 86.98% and 84.90%, respectively. When evaluated in synthetic wastewater with different target COD levels, strain NLKS3.4 grew well within the COD range of 1,000 - 10,000 mg/L, whereas strain NfKS2.5 showed slight growth inhibition at 10,000 mg/L COD. The highest oil-and-grease removal efficiencies of NfKS25 and NLKS3.1 reached 75.64% and 72.12%, respectively, at a COD level of 2,000 mg/L. These results indicate that both strains are highly promising indigenous microbial resources for the development of bioproducts for oily wastewater treatment.

Keywords: *emulsification index; indigenous bacteria; lipase; mixed food-processing wastewater; oil and grease removal.*