

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

-----oOo-----

HOÀNG THỊ HOA DIỄM

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ TÍNH CHẤT SINH LÝ, SINH HÓA CỦA
VI KHUẨN CHUYỂN HÓA NITƠ CÓ KHẢ NĂNG TẠO MÀNG
SINH HỌC (BIOFILM) ĐỂ ỨNG DỤNG TRONG CÔNG NGHỆ
XỬ LÝ NƯỚC NHIỄM AMONI**

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Thái Nguyên – 2013

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

-----oOo-----

HOÀNG THỊ HOA DIỄM

**NGHIÊN CỨU MỘT SỐ TÍNH CHẤT SINH LÝ, SINH HÓA CỦA
VI KHUẨN CHUYỂN HÓA NITƠ CÓ KHẢ NĂNG TẠO MÀNG
SINH HỌC (BIOFILM) ĐỂ ỨNG DỤNG TRONG CÔNG NGHỆ
XỬ LÝ NƯỚC NHIỄM AMONI**

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 60420201

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

TS. HOÀNG PHƯƠNG HÀ

Thái Nguyên – 2013

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu và kết quả nêu trong luận văn là một phần kết quả trong đề tài nghiên cứu của phòng Công nghệ sinh học môi trường, Viện Công nghệ sinh học. Các kết quả này đảm bảo trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất cứ công trình nào khác.

Thái Nguyên, tháng 08 năm 2013

Tác giả luận văn

Hoàng Thị Hoa Diễm

LỜI CẢM ƠN

Với tất cả sự kính trọng và lòng biết ơn trân thành, tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới TS. Hoàng Phương Hà, PGS.TS. Nghiêm Ngọc Minh, phòng Công nghệ Sinh học Môi trường, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, là những người thầy mẫu mực đã dành cho tôi những ý tưởng quý báu cũng như tận tụy hướng dẫn, tạo mọi điều kiện thuận lợi và động viên tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn các anh chị trong phòng Công nghệ Sinh học Môi trường đã giúp đỡ và tạo điều kiện cho tôi trong việc nghiên cứu.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến ban lãnh đạo Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi được học tập và nghiên cứu tại Viện trong suốt thời gian qua.

Đồng thời tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới các thầy cô trong Khoa Khoa học sự sống, Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên đã truyền đạt những kiến thức bổ ích và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập tại trường.

Cuối cùng tôi muốn gửi lời cảm ơn chân thành đến những người thân trong gia đình và bạn bè thân thiết đã luôn bên cạnh động viên, khích lệ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

DANH MỤC CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

amoA	Gene encoding the subunit A of AMO
Amp	Ampiciline
AOB	Ammonia oxidizing Bacteria
ATP	Adenosine triphosphate
ĐC	Đối chứng
Đtg	Đồng tác giả
DNA	Deoxyribonucleic acid
PCR	Polymerase chain reaction
RNA	Ribonucleic acid
16S rRNA	16S ribosomal Ribonucleic acid

DANH MỤC CÁC BẢNG

TRANG

Bảng 2.1. Tỷ lệ pha loãng dung dịch chuẩn chứa NH_4^+ với nước cất.....	23
Bảng 2.2. Tỷ lệ pha loãng dung dịch chuẩn + nước cất và hàm lượng N-NO_2^- ..	25
Bảng 2.3. Tỷ lệ pha loãng dung dịch chuẩn + nước cất và hàm lượng N-NO_3^- ...	26
Bảng 3.1. Khả năng oxy hóa amoni của nhóm vi khuẩn phân lập.....	32
Bảng 3.2. Khả năng tạo màng sinh học của của vi khuẩn oxy hóa amoni.....	33
Bảng 3.3. Khả năng oxy hóa nitrite của nhóm vi khuẩn được phân lập.....	35
Bảng 3.4. Khả năng tạo màng sinh học của các vi khuẩn oxy hóa nitrite	35
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của nồng độ amoni tới hoạt tính nitrate hoá của hai chủng PD60 và PD58.....	50
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của nồng độ nitrite tới hoạt tính nitrate hoá của hai chủng 2NM và 5NM.....	51

DANH MỤC CÁC HÌNH

TRANG

Hình 1.1. Tế bào của một số loài thuộc nhóm vi khuẩn oxy hóa amoni	9
Hình 3.1. Các chủng vi khuẩn phân lập trên môi trường Winogradsky.	31
Hình 3.2. Khả năng tạo màng sinh học của vi khuẩn oxy hóa amoni.....	34
Hình 3.3. Khả năng tạo màng sinh học của các chủng oxy hóa nitrite.....	36
Hình 3.4. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào của các chủng vi khuẩn nghiên cứu	38
Hình 3.5. Cây phát sinh chủng loại của vi khuẩn nitrate hóa PD60, PD58, 5NM và 2NM.....	40
Hình 3.6. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới hoạt tính nitrate hóa của vi khuẩn nghiên cứu	42
Hình 3.7. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng tạo biofilm và sinh trưởng của vi khuẩn nghiên cứu	43
Hình 3.8. Ảnh hưởng của pH tới hoạt tính nitrate hóa của vi khuẩn nghiên cứu.....	45
Hình 3.9. Ảnh hưởng của pH đến khả năng tạo màng sinh học và sinh trưởng của vi khuẩn nghiên cứu	46
Hình 3.10. Ảnh hưởng của NaCl tới hoạt tính nitrate hóa của vi khuẩn nghiên cứu	48
Hình 3.11. Ảnh hưởng của NaCl đến khả năng tạo màng sinh học và sinh trưởng của các chủng vi khuẩn nghiên cứu	49
Hình 3.12. Ảnh hưởng của nồng độ nitơ đến khả năng tạo màng và sinh trưởng của vi khuẩn nghiên cứu.....	52

MỤC LỤC

TRANG

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT	iii
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	iv
DANH MỤC CÁC HÌNH	v
MỞ ĐẦU	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Hiện trạng ô nhiễm và nguồn gốc phát sinh các hợp chất nitơ trong nước	3
1.1.1. Hiện trạng ô nhiễm các hợp chất nitơ trong nước.....	3
1.1.2. Tác hại của các hợp chất chứa nitơ đối với cơ thể con người.....	4
1.1.3. Nguồn gốc phát sinh các hợp chất chứa nitơ trong môi trường sống	5
1.2. Cơ sở của phương pháp khử nitơ sinh học.....	6
1.2.1. Cố định nitơ.....	6
1.2.2. Quá trình khoáng hóa.....	7
1.2.3. Quá trình nitrate hóa.....	7
1.2.4. Quá trình khử nitrate	7
1.3. Vi khuẩn nitrate hóa tự dưỡng	7
1.3.1. Vi khuẩn oxy hóa amoni (vi khuẩn nitroso).....	8
1.3.2. Vi khuẩn oxy hóa nitrite (vi khuẩn nitro)	11
1.4. Màng sinh học (Biofilm).....	13
1.4.1. Khái niệm về biofilm	13
1.4.2. Thành phần của biofilm	13
1.4.3. Ảnh hưởng của một số điều kiện hóa lý đến sự hình thành và phát triển của biofilm.....	16
1.4.4. Màng sinh học của vi khuẩn nitrate hóa tự dưỡng.....	17
1.5. Phân loại vi khuẩn bằng xác định trình tự gen mã hóa 16S rRNA	18
Số hóa bởi trung tâm học liệu	http://www.lrc-tnu.edu.vn/

Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	20
2.1. Vật liệu, hóa chất và thiết bị máy móc	20
2.1.1. Vật liệu	20
2.1.2. Hóa chất và enzyme	20
2.1.3. Dụng cụ, thiết bị thí nghiệm.....	20
2.2. Các môi trường nuôi cấy vi khuẩn.	21
2.2.1. Thành phần môi trường nuôi cấy vi khuẩn nitrate hóa	21
2.2.2. Môi trường LB	21
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	21
2.3.1. Phân lập vi khuẩn nitrate hóa	21
2.3.2. Xác định hàm lượng amoni trong nước ngọt theo phương pháp Nessler..	22
2.3.3. Xác định hàm lượng NO_2^- bằng phương pháp Griss	24
2.3.4. Xác định hàm lượng NO_3^- bằng phương pháp Salicylate	25
2.3.5. Phương pháp đánh giá khả năng tạo màng sinh học của các chủng vi khuẩn	26
2.3.6. Ảnh hưởng của một số điều kiện lên khả năng tạo màng sinh học và hoạt tính nitrate hóa.....	27
2.3.7. Các phương pháp sinh học phân tử.....	29
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN	31
3.1. Phân lập, tuyển chọn và nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn nitrate hóa	31
3.1.1. Phân lập	31
3.1.2. Khả năng nitrate hóa và tạo màng sinh học (Biofilm)	32
3.1.3. Một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn nitrate hóa đại diện	36
3.2. Một số yếu tố ảnh hưởng đến hoạt tính nitrate hóa, sinh trưởng và tạo màng sinh học	41

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	54
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	55