

PHÂN LẬP, LÀM GIÀU VÀ NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ XỬ LÝ NƯỚC THẢI NHIỄM MẶN CỦA CHỦNG NẤM MEN CHỊU MẶN *CANDIDA SP.* YH

Trần Minh Chí^{1, ✉}, Nghiêm Ngọc Minh²

¹Viện Nhiệt đới môi trường, Viện Khoa học Công nghệ Quân sự

²Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: tranminhchi57@gmail.com

Ngày nhận bài: 16.5.2016

Ngày nhận đăng: 20.12.2016

TÓM TẮT

Từ nguồn bùn thải thu thập tại nhà máy chế biến hải sản, chủng nấm men chịu mặn đã được phân lập, làm giàu và chủng này đã thích nghi với các độ mặn tăng dần từ 5, 10 đến 15 g NaCl/l. Ở độ mặn tăng dần từ 20, 25 và 30 g NaCl/l, sinh khối nấm men phát triển qua các thí nghiệm mẻ, mỗi mẻ 32 h, với nhu cầu oxy hóa học (COD) đầu vào lên tới 5000 mg/l, pH 3,5 ở nhiệt độ phòng (30°C). Tại nồng độ muối 20 g/l, hiệu quả xử lý COD đạt trên 90% từ những mẻ đầu tiên và sau 6 mẻ lên đến 96% với giá trị COD đầu ra tương ứng là 203 mg/l. Khi tăng nồng độ muối lên 25 g/l, hiệu quả loại COD dao động trong khoảng từ 89 % đến 90% ở 4 mẻ đầu tiên và đạt 95% sau 8 mẻ với giá trị COD đầu ra tương ứng là 250 mg/l. Tại nồng độ muối 30 g/l, hiệu quả loại COD bắt đầu giảm rõ rệt, chưa đạt tới 90% suốt 5 mẻ đầu tiên. Sau đó, hiệu quả loại COD tăng dần và hiệu quả loại cao nhất là 93,6 % tương ứng với giá trị COD đầu ra là 320 mg/l, đạt được sau 9 mẻ. Nồng độ muối là nhân tố gây nên sự thay đổi cân bằng ion trong tế bào, dẫn đến sự khác biệt giữa hiệu quả xử lý cũng như thời gian hoàn thành quá trình làm giàu nấm men. Nồng độ muối tăng lên đòi hỏi thời gian ngày càng dài để thích nghi. Chủng nấm men YH được phân lập có hình thái tế bào dạng ovan, kích thước (1,3–1,78) x (2,00–2,69) µm và bằng kỹ thuật xác định trình tự và so sánh đoạn DNA vùng gen *ITS1-5.8S rRNA-ITS2*, chủng nấm men chịu mặn YH được xác định thuộc chi *Candida* và được đặt tên là *Candida sp.* YH.

Từ khóa: *Candida sp.* YH, chịu mặn, COD, nấm men, trình tự *ITS1-5.8S rRNA-ITS2*

GIỚI THIỆU

Các khu dân cư và quân đội đóng trên các đảo hiểm nước ngọt cũng như một số ngành công nghiệp như chế biến thủy hải sản, dệt nhuộm, thuộc da, thực phẩm đóng hộp... sinh ra nguồn nước thải với nồng độ muối và chất hữu cơ cao, được gọi là nước thải hữu cơ nhiễm mặn, gây tác động tiêu cực đến môi trường đất, nước bề mặt và nước ngầm. Việc xử lý nước thải hữu cơ nhiễm mặn bằng phương pháp vật lý và hóa học đều rất tốn kém, còn các hệ thống xử lý sinh học truyền thống có hiệu quả thấp vì hàm lượng NaCl cao ảnh hưởng sinh đến quá trình sinh trưởng của vi sinh vật (Lefebvre, Moletta, 2006). Do đó việc tìm ra các chủng vi sinh vật ưa/chịu mặn có khả năng phân hủy chất hữu cơ cao là hết sức cần thiết để phát triển các phương pháp xử lý sinh học hiệu quả.

Nấm men trong điều kiện hiếu khí và được cung cấp đường có khả năng sinh trưởng gấp 20 lần so với

khí không được cung cấp oxy. Bên cạnh đó, với khả năng chịu mặn cao, nấm men đã được sử dụng để xử lý nước thải nhiễm mặn (Choi, Park, 1999), đặc biệt, có thể đạt hiệu quả lên đến hơn 90% trong môi trường có nồng độ muối trên 30 g/L trong điều kiện hiếu khí (Dan, 2002).

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập, phân loại và hiệu quả xử lý nước thải hữu cơ nhiễm mặn của chủng nấm men được phân lập từ bùn lầy tại bể hiếu khí của hệ thống xử lý nước thải nhà máy chế biến hải sản.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Thành phần nước thải nhân tạo

Nước thải nhân tạo được sử dụng trong thí nghiệm có thành phần gồm: 1.870 mg/l (NH₄)₂SO₄ ;

235 mg/l KH_2PO_4 ; 467 mg/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 5.000 mg/L glucose; 0,5 mg/l $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 10 mg/l CaCl_2 ; 1 mg/l MnCl_2 ; 1 mg/l FeCl_2 ; 0,2 mg/l $\text{NH}_4\text{Mo}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,2 mg/l CuSO_4 và 0,2 mg/l CoCl_2 . Nồng độ muối NaCl thay đổi từ 20.000 đến 30.000 mg/l. Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu này là hóa chất tinh khiết của các hãng Sigma, Merck ... (Giang, 2015).

Nguồn vi sinh vật

Nguồn bùn chứa nấm men sử dụng trong thí nghiệm được lấy từ bể hiếu khí hệ thống xử lý nước thải nhà máy chế biến hải sản Ngọc Tùng, thành phố Vũng Tàu. Cặp môi sử dụng trong nghiên cứu bao gồm ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')

và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), cho sản phẩm 550 bp (White *et al.*, 1990).

Phương pháp

Làm giàu nấm men chịu mặn

Quá trình làm giàu để phân lập nấm men chịu mặn được tiến hành trong bể phản ứng có dung tích làm việc 2L. Cho bùn vào bể với 1L nước thải và làm đầy đến thể tích 2L bằng nước. Thí nghiệm được tiến hành ở nhiệt độ phòng (30°C), COD đầu vào 5000 mg/l, pH hiệu chỉnh tại 3,5 để nấm men phát triển tốt nhất cũng như hạn chế sự phát triển của vi khuẩn (Bảng 1). Sau đó sục khí và khuấy trộn đều trong 32 h, để lắng 10 h, tiến hành rút 1,5 L nước và tiếp tục tiến hành mẻ mới.

Bảng 1. Thông số vận hành thí nghiệm phân lập.

STT	Thông số vận hành	Bùn chứa nấm men
1	pH	3,5
2	Hỗn hợp sinh khối lơ lửng (Mix Liquor Suspended Solids – MLSS) (mg/l)	1.000
3	NaCl (mg/l)	20.000
4	COD (mg/l)	5.000
5	HRT (h)	32
6	Nhiệt độ (°C)	25 - 32

Phân lập chủng nấm men chịu mặn trên môi trường Hansen

Tìm kiếm chủng nấm men chiếm ưu thế có khả năng chịu mặn dựa vào khả năng phát triển trên môi trường Hansen thạch có bổ sung kháng sinh. Sau đó tách rời các tế bào nấm men dựa vào đặc điểm hình thái và màu sắc khuẩn lạc để thu nhận chủng nấm men sạch.

Quan sát hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử quét

Các chủng nấm men sạch được nuôi cấy trên môi trường Hansen thạch qua đêm để thu sinh khối tế bào và quan sát hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử quét. Quá trình thực hiện có sự phối hợp của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

Phân loại và định danh chủng nấm men

Phương pháp tách chiết DNA tổng số được tiến hành theo phương pháp của Harju *et al.*, (2004).

Nhân đoạn DNA vùng gen ITS1-5.8S rRNA-ITS2 bằng phương pháp PCR theo White *et al.*, (1990).

Tinh sạch phân đoạn DNA: Phân đoạn DNA được tinh sạch bằng kit AccuPrep PCR Purification của hãng Bioneer (Hàn Quốc) theo quy trình của nhà sản xuất.

Phương pháp điện di trên gel agarose theo Sambrook, Russel (2001).

Phương pháp xác định trình tự gen bằng máy tự động: Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được xác định trình tự trên máy đọc trình tự tự động ABI PRISM 3.100 Avant Genetic Analyzer theo phương pháp của Sanger. Trình tự nucleotide được xử lý bằng phần mềm ABI PRISM 3.100 Avant Data Collection v1.0 và trình tự DNA đó được so sánh với trình tự của các vi khuẩn đã được công bố trong Ngân hàng gen thế giới.

Phương pháp xây dựng cây phát sinh chủng loại: Tiến hành so sánh trình tự gen ITS1, 5.8 rRNA, ITS2 của chủng nấm men thu được với đoạn gen có kích thước tương tự ở các chủng nấm men đã được công bố trên Ngân hàng gen thế giới (GenBank). Sau đó, sử dụng các phần mềm BioEdit, ClustalX và MEGA6.06 để xây dựng cây phát sinh chủng loại.

Thử nghiệm khả năng xử lý nước thải hữu cơ nhiễm mặn của nấm men

Thử nghiệm khả năng loại COD bởi nấm men được tiến hành tương tự thí nghiệm phân lập. Mật độ nấm men trong môi trường (MLSS) bắt đầu luôn ở mức 1000 mg/l cho mỗi thí nghiệm mà tại nồng độ muối 20 g/l và khi MLSS tăng đạt 3.000 mg /l, thí nghiệm được kết thúc và chuyển sang thí nghiệm mà mới với nồng độ muối cao hơn, lần lượt là 25 g/l và 30 g/l.

Phương pháp phân tích

Các thông số pH, MLSS và COD của đầu ra được đo. pH được đo bằng máy đo pH cầm tay Hach Sension pH1, USA. COD được phân tích bằng phương pháp so màu hồi lưu kín 5220D – Standard Method (Clesceri *et al.*, 1998) trên thiết bị Hach Model DR/2010, USA. HgSO₄ được thêm vào mẫu để loại bỏ sự ảnh hưởng của Cl đến phép đo. MLSS được xác định theo phương pháp 2540D – Standard Method.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Làm giàu nấm men chịu mặn


Trong giai đoạn đầu của quá trình làm giàu, bùn

cồng rãnh có lẫn nhiều tạp chất có màu đen thẫm và chuyển dần sang màu trắng sữa theo thời gian thí nghiệm cùng với độ mặn tăng dần từ 5 g/l, 10 g/l đến 15 g/l NaCl. Điều này cho thấy nấm men đã thích nghi với nồng độ muối và sinh trưởng tốt, mật độ nấm men (tính theo MLSS) đã tăng lên từ 1.000 mg/l tới 3.000 mg/l sau quá trình phân lập. Dịch chứa nguồn nấm men ưa mặn này được sử dụng cho việc phân lập, phân loại và định tên chủng nấm men nghiên cứu.

Phân lập và tuyển chọn chủng nấm men chịu mặn trên môi trường Hansen

Từ mẫu có chứa các chủng nấm men có khả năng chịu mặn, chúng tôi tiến hành nuôi trong môi trường Hansen dịch, sau đó pha loãng tới hạn và cấy gạt trên môi trường Hansen thạch có bổ sung kháng sinh chloramphenicol và hexamide nồng độ 10 mg/l để loại vi khuẩn, sau khi nuôi cấy một số vi sinh vật có khả năng phát triển trên môi trường Hansen thạch có bổ sung kháng sinh đã được thu nhận. Từ các chủng vi sinh vật thu được trên đĩa thạch, chúng tôi phân lập được 1 chủng nấm men chiếm ưu thế có khả năng sinh trưởng phát triển trong môi trường có nồng độ muối cao 30 g/l với hình thái khuẩn lạc được miêu tả trên Bảng 2.

Bảng 2. Hình thái khuẩn lạc nấm men trên môi trường Hansen thạch.

Kí hiệu chủng	Miêu tả hình thái khuẩn lạc	Hình ảnh khuẩn lạc
YH	Khuẩn lạc tròn, gọn, bề mặt lồi, khô, màu trắng, đường kính 2-3 mm	

Quan sát hình thái tế bào nấm men dưới kính hiển vi điện tử quét

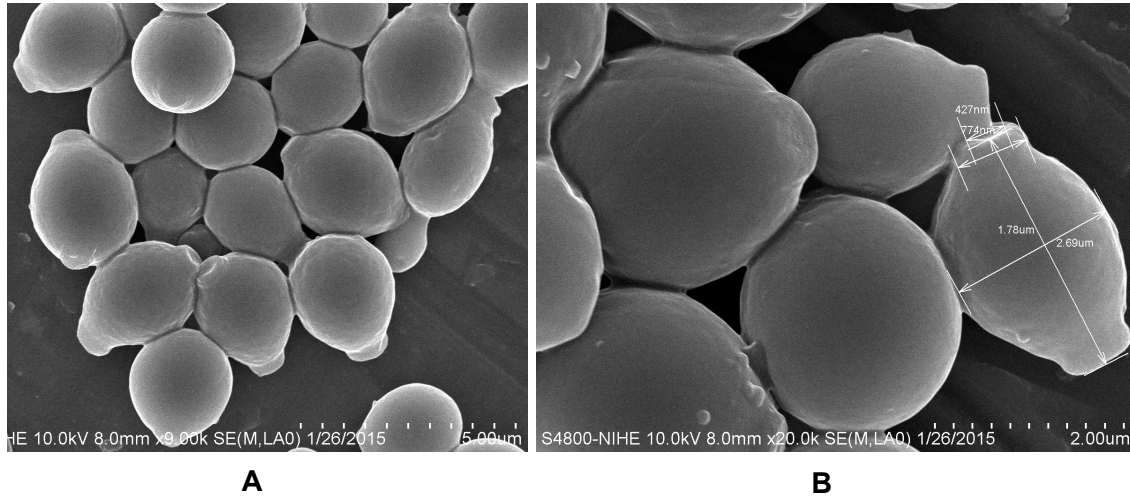
Chủng nấm men YH được nuôi cấy trên môi trường Hansen thạch. Sau 24 giờ tiến hành quan sát đặc điểm khuẩn lạc. Hình thái tế bào được quan sát

dưới kính hiển vi điện tử quét có độ phóng đại 9000-20000 lần. Kết quả được trình bày ở Hình 1.

Quan sát Hình 1, chúng tôi nhận thấy chủng YH dưới kính hiển vi điện tử quét có độ phóng đại 9000 lần (Hình 1A) và độ phóng đại 20.000 lần (Hình 1B), tế bào có dạng hình ovan, giống quả chanh, kích thước từ

(1,3–1,78) x (2,00–2,69) μm và sinh sản vô tính bằng hình thức nảy chồi. Dựa trên hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào, chủng YH có thể thuộc chi *Candida*.

Tuy nhiên, để khẳng định chắc chắn, chúng tôi đã tiến hành phân loại phân tử chủng YH bằng việc giải trình tự đoạn DNA vùng gen ITS1, 5.8S rRNA, ITS2.



Hình 1. Hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử của chủng nấm men *Candida* sp. YH.

Phân loại nấm men dựa vào so sánh trình tự đoạn gen ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 của chủng nấm men YH

DNA tổng số của chủng nấm men YH được tách chiết và kiểm tra trên gel agarose 1% có băng rõ nét (kết quả không được trình bày) được dùng làm khuôn nhân đoạn DNA vùng gen ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 bằng kỹ thuật PCR.

Sản phẩm PCR được kiểm tra và tiến hành làm sạch bằng bộ kit AccuPrep® Gel Purification Kit (Bioneer, Hàn Quốc). Sản phẩm PCR (Hình 2) thu được là một băng vạch đặc hiệu, rõ nét và không có vạch phụ kèm theo, có kích thước khoảng 550 bp phù hợp với tính toán lý thuyết.

Như vậy sản phẩm PCR này sau khi làm sạch có độ tinh sạch cao và có kích thước đúng theo tính toán lý thuyết đủ điều kiện cho việc xác định trình tự.

Xác định trình tự nucleotide và xây dựng cây phát sinh chủng loại chủng nấm men *Candida* sp. YH

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được xác định trình tự trên máy xác định trình tự tự động ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer. Sau khi phân tích và xử lý số liệu, trình tự đoạn DNA vùng gen ITS1, 5.8 rRNA, ITS2 của chủng YH đã được so sánh với trình tự của các chủng nấm men khác trên Ngân hàng gen thế giới (GenBank) và sử dụng các

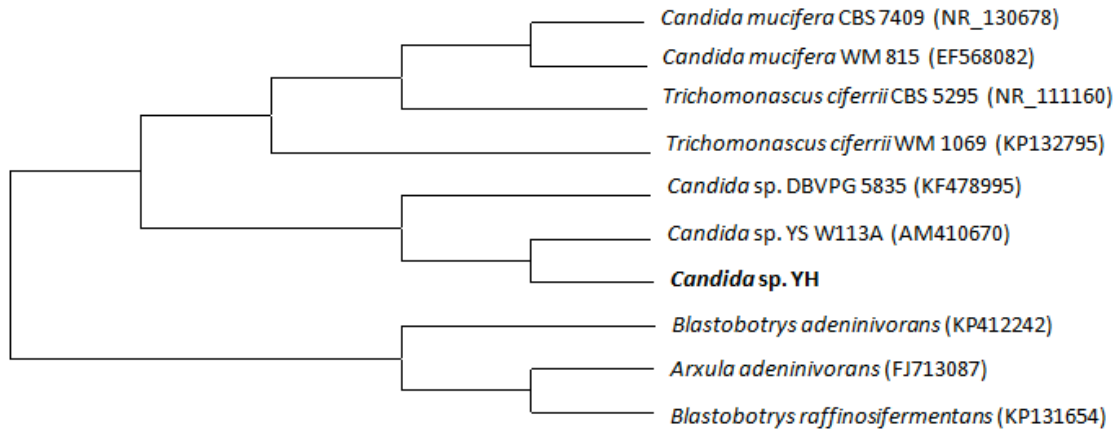
phần mềm tin sinh như Clustal X và Mega6, chúng tôi đã xây dựng được cây phát sinh chủng loại của chủng nấm men này (Hình 2).

Kết quả Hình 2 cho thấy, chủng YH có quan hệ gần gũi và mức độ tương đồng cao với các chủng nấm men thuộc chi *Candida*. Đặc biệt, chủng YH tương đồng 92% chủng *Candida* sp. YS W113A (AM410670). Kết hợp với việc quan sát hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử quét, chủng YH được định tên là *Candida* sp. YH.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về khả năng chịu mặn và phân hủy các hợp chất hydrocacbon và dẫn xuất của nó của các chủng nấm men thuộc chi *Candida* như: *Candida tropicalis* chủng A có thể phát triển tốt trong môi trường có chứa các nồng độ muối khác nhau từ 1 đến 12%. Chủng này có khả năng phân hủy các dẫn xuất hydrocacbon thơm (naphthylamine, phenol, naphthalene ethyldiamine, phenanthrene, naphthalene 2-sulfonate và naphthalene) và các hợp chất béo (n-hexane, n-heptane và n-pentadecane). Hiệu quả phân hủy của chủng này với naphthalene và phenol ở nồng độ từ 500 đến 3000 mg/l. Hiệu suất phân hủy naphthalene của chủng đạt 97,85%, hiệu suất phân hủy phenol đạt 53,6% (Soha, Nadia, 2011). Trong nghiên cứu của tác giả Bastos cũng cho biết rằng *Candida tropicalis* phân hủy được phenol với sự có mặt của

nồng độ muối NaCl lên tới 15% (Bastos *et al.*, 2000). Theo tác giả Miranda, trong quá trình đánh giá phân hủy sinh học, *Candida ernobii* phân hủy hoàn toàn tetradecane, 5 methyl, các chỉ số octan và

octadecane; decan (60,8%) và nonane (21,4%) (Miranda *et al.*, 2007). Như vậy, chủng *Candida sp.* YH mà chúng tôi phân lập được hoàn toàn phù hợp với nhiều nghiên cứu khác đã được công bố.



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại của chủng YH, bootstrap 1000.

Bảng 3. Tăng trưởng sinh khối nấm men và hiệu quả loại COD.

Độ mặn Mê thứ	20 g/l NaCl		25 g/l NaCl		30 g/l NaCl	
	MLSS (mg/l)	Hiệu suất loại COD (%)	MLSS (mg/l)	Hiệu suất loại COD (%)	MLSS (mg/l)	Hiệu suất loại COD (%)
1	1610	91.3	1025	89.0	1015	83.9
2	1810	92.6	1450	90.0	1325	85.0
3	2085	93.2	1765	90.6	1510	86.0
4	2530	94.8	2015	91.4	1835	87.6
5	2870	95.9	2320	92.6	2100	89.0
6	3250	95.9	2516	93.6	2350	90.3
7			2863	94.5	2575	92.0
8			3025	95.0	2835	92.7
9					3015	93.6

Hiệu quả xử lý nước thải nhiễm mặn của nấm men

Sau khi phân lập và phân loại được chủng nấm men, các thí nghiệm nghiên cứu hiệu quả xử lý nước thải nhiễm mặn đã được tiến hành với nồng độ muối NaCl thay đổi lần lượt 20.000 mg/l, 25.000 mg/l rồi 30.000 mg/l, nhằm khảo sát khả năng phân hủy các hợp chất hữu cơ của chủng nấm men này với các độ mặn tăng dần, với COD đầu vào 5000 mg/l cho tất cả các thí nghiệm và đo đặc giá trị đầu ra COD, kết quả được trình bày trong Bảng 3.

Tại nồng độ muối 20 g/l, sau 6 mê thí nghiệm,

mỗi mê 32 h, hiệu quả xử lý COD đạt trên 90% từ những mê đầu tiên. Hiệu quả loại COD cao nhất lên đến 96% với giá trị COD đầu ra tương ứng là 203 mg/l ở mê thứ 6 cho thấy hiệu quả loại COD tăng khá cao trong thời gian tương đối ngắn.

Tăng nồng độ muối lên 25 g/l, thời gian hoàn thành thí nghiệm là 8 mê. Hiệu quả loại COD không có sự thay đổi rõ rệt giữa các mê, dần dần ổn định trong khoảng từ 89% đến 90% ở 4 mê đầu tiên. Hiệu quả loại COD cao nhất đạt 95% với giá trị COD đầu ra tương ứng là 250 mg/l, đạt được sau 8 mê. Tại nồng độ muối 30 g/l, hiệu quả loại COD bắt đầu

giảm rõ rệt so với nồng độ muối thấp hơn. Những mẻ đầu tiên tại nồng độ muối này, hiệu quả xử lý chỉ đạt 83% với giá trị COD đầu ra là 805 mg/l. Sau đó, hiệu quả loại COD tăng dần và hiệu quả loại cao nhất là 93,6 % tương ứng với giá trị COD đầu ra là 320 mg/l, đạt được sau 9 mẻ.

Sự khác biệt giữa hiệu quả xử lý cũng như thời gian hoàn thành quá trình làm giàu nấm men có thể được giải thích bằng ảnh hưởng của nồng độ muối, là nhân tố gây nên sự thay đổi cân bằng ion trong tế bào nấm men, vì thế nồng độ muối tăng lên đòi hỏi thời gian ngày càng dài để thích nghi (Choi, Park 1999).

KẾT LUẬN

Chủng nấm men YH được phân lập từ bùn của bể hiếu khí thuộc hệ thống xử lý nước thải chế biến hải sản tại nhiệt độ phòng, pH 3,5 và chịu được nồng độ muối cao sau quá trình thích nghi với các nồng độ NaCl cao dần từ 5,10, 15 g/l. Với độ mặn tăng cao thời gian thích nghi kéo dài hơn và hiệu quả loại COD giảm dần, tuy nhiên vẫn đạt đến trên 90% tại nồng độ muối 30 g/L. Hình thái tế bào chủng YH có dạng ovan, giống quả chanh kích thước (1,3–1,78) x (2,00–2,69) μm . Chủng nấm men YH được định tên là *Candida* sp. YH.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả cảm ơn Viện Khoa học Công nghệ Quân sự đã cung cấp kinh phí cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bastos AER, Moon DH, Rossi A, Trevors JT, Tsai SM (2000) Salt-tolerant phenol-degrading microorganisms isolated from Amazonian soil samples. *Arch Microbiol* (174): 346–352.

Choi MH, Park YH (1999) Growth of *Pichia guilliermondii* A9, an osmotolerant yeast, in waste brine generated from kimchi production. *Bioresource Technol* 70(3): 231–236.

Clesceri LS, Greenberg AE, Eaton AD (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition. APHA American Public Health Association.

Dan NP (2001) Biological treatment of high salinity wastewater using yeast and bacterial systems. PhD thesis, AIT, Bangkok, Thailand.

Lương Thị Kim Giang, Ngô Văn Thanh Huy, Trần Minh Chí (2015) Xử lý nước thải hữu cơ nhiễm mặn bằng nấm men trong các thí nghiệm mẻ. *Tạp chí Nghiên cứu KHCN Quân sự* 12: 130–135.

Harju S, Fedosyuk H, Peterson KR (2004) Rapid isolation of yeast genomic DNA: Bust n' Grab. *Biomed Central Biotechnol* 4: 8.

Lefebvre O, Moletta R (2006) Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: A literature review. *Water Research* 40(20): 3671–3682.

Miranda RC, Souza CS, Gomes EB, Lovaglio RB, Lopes CE, Souza MFVQ (2007) Biodegradation of diesel oil by yeast from the vicinity of Suape Port in the State of Pernambuco – Brazil. *Braz Arch Biol Technol* 50(1): 147–152.

Sambrook J, Russell DW (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*^{3rd}. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

Soha F, Nadia AS (2011) Biodegradation of crude petroleum oil and environmental pollutants by *Candida tropicalis* strain. *Braz arch biol technol* 54(4): 821–830.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA: 315–322.

ISOLATION, ENRICHMENT OF A HALOPHILIC YEAST CANDIDA SP. YH AND ITS TREATABILITY STUDY OF SALINE WASTEWATER

Tran Minh Chí¹, Nghiem Ngoc Minh²

¹Institute for Tropico - Environmental Technology (IET), Institute for Military Technologies (IMT)

²Institute of Genome Research (IGR), Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

SUMMARY

A strain of halophilic yeast was isolated, enriched and adapted to an increasing salinity started from 5, 10 to 15 g/l NaCl to get it adapted gradually to high saline environment. Then the yeast biomass was developed in batch experiment, with each batch lasted 32 hours each, at further increased salinity to 20, 25 and 30 g/l NaCl with influent COD 5000 mg/l at pH 3.5, temperature 30°C. At salinity 20 g/l NaCl, COD removal efficiency reached over 90% from beginning and reached over 96% after 6 batches with effluent COD 203

mg/l. When the salinity increased to 25 g/l, COD removal efficiency varied within 89% to 90% in first 4 batches and reached 95% after 8 batches with effluent COD 250 mg/l. At salinity 30 g/l NaCl, COD removal efficiency decreased notably, reached less than 90% during first 5 batches and then increased gradually, reached 93.6% only after 9 batches with effluent COD 320 mg/l. Salinity was the main factor influencing the ion equilibrium inside the yeast cells leading to decrease in substrate degradation and rate of cell. Increased salt concentration also lead to longer adaptation time of the cells. The cell morphology of YH strain was observed by Scanning Electron Microscopy (SEM). The cells of this yeast strain has lemon-like shape, with 1.3–1.78 μm in width; and 2.00–2.69 μm in length. Based on the morphological characteristics and the phylogenetic analysis by alignment of ITS1-5.8S rRNA-ITS2 sequences, high homology up to 92% with *Candida* sp. YS W113A (AM410670) indicated this strain as, namely, *Candida* sp. YH.

Keywords: *Candida* sp. YH, COD, halophilic, ITS1-5.8S rRNA-ITS2 sequence, yeast