

PHÂN LOẠI CHỦNG VI KHUẨN BTLP1 CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY PHENOL BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH TRÌNH TỰ NUCLEOTIT CỦA ĐOẠN GEN 16S rARN

Cung Thị Ngọc Mai¹, Thái Thị Thùy Dương¹, Nguyễn Văn Bắc¹,
Nguyễn Thị Thu Huyền², Nghiêm Ngọc Minh^{1*}

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Đại học Thái Nguyên

Email: nghiemminh@ibt.ac.vn

Đến Tòa soạn ngày: 2/5/2011, Chấp nhận đăng ngày: 12/6/2012

TÓM TẮT

Chủng BTLP1 được chúng tôi phân lập từ nguồn nước thải có chứa phenol của khu công nghiệp vừa và nhỏ Từ Liêm Hà Nội có màu hồng, tròn, đường kính từ 2 - 3 mm. Dưới kính hiển vi điện tử quét, tế bào có dạng hình que, kích thước từ 0,6 – 0,8 μm $\times$ 3,6 – 4,4 μm . Dựa vào việc so sánh trình tự đoạn gen 16S rRNA, chủng BTLP1 có độ tương đồng cao (97%) với các chủng thuộc chi *Rhodococcus*, đặc biệt chúng có độ tương đồng cao với loài *Rhodococcus pyridinovorans* mã số AF173005. Chủng vi khuẩn này được đặt tên là *Rhodococcus* sp. BTLP1. và đã được đăng ký trên ngân hàng Genbank (NCBI) với mã số là JF750921. Chủng vi khuẩn *Rhodococcus* sp. BTLP1 có khả năng phân hủy 92,5 % phenol với nồng độ ban đầu là 150 ppm phenol tại 30 °C sau 7 ngày nuôi cấy.

Từ khóa. BTLP1, nước thải khu công nghiệp Từ Liêm, *Rhodococcus*, phân hủy sinh học, phenol.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phenol được ứng dụng nhiều trong công nghiệp sản xuất nhựa phenolic, caprolactan và bisphenol A, thuốc tẩy uế, thuốc diệt côn trùng và các sản phẩm dược phẩm. Phenol tồn tại trong môi trường do hoạt động của các hóa chất, xăng dầu, các ngành công nghiệp dược... Các hợp chất thâm nhập vào hệ sinh thái là do hệ thống thoát nước của thành phố hoặc của các khu công nghiệp [3]. Hơn nữa, sự xuất hiện của phenol trong môi trường xuất phát từ việc sản xuất và sử dụng thuốc trừ sâu nhiều, trong phenoxyherbicides cụ thể như 2,4-dichlorophenoxyacetic axit (2,4-D) [8] hoặc 4-chloro-2-methylphenoxyacetic axit (mcPA) và phenolic biocides như pentachlorophenol (PCP), dinoseb hoặc diarylethe thuốc trừ sâu. Một số phenol có thể được hình thành như là kết quả các quá trình tự nhiên như sự hình thành của phenol và p-cresol trong quá trình phân hủy các chất hữu cơ hoặc tổng hợp các phenol clo do nấm và thực vật [4, 9, 10].

Trên góc độ môi trường phenol và các dẫn xuất của phenol được xếp vào loại chất gây ô nhiễm độc hại. Đây là nhóm tương đối bền, có khả năng tích lũy trong cơ thể sinh vật và có khả năng gây nhiễm độc cấp tính, mãn tính cho con người. Khi xâm nhập vào cơ thể các phenol gây

ra nhiều tổn thương cho các cơ quan và hệ thống khác nhau nhưng chủ yếu là tác động lên hệ thần kinh, hệ thống tim mạch và máu. Do vậy việc nghiên cứu, xác định sự có mặt của phenol và các dẫn xuất khác của nó để tìm cách loại bỏ là điều quan trọng và đặc biệt cần thiết. Việc phân tích xác định mức độ ô nhiễm môi trường do phenol cũng như các đồng phân của nó đã được nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới quan tâm và nghiên cứu.

Tính chất độc hại và cấu trúc khó phân hủy trong tự nhiên của phenol đã trở thành một vấn đề cấp bách cần được quan tâm. Hiện nay đã có nhiều biện pháp phân hủy phenol là các biện pháp hóa – lí, sử dụng các vật liệu hấp phụ và các vật liệu lọc. Các phương pháp này mặc dù có hiệu quả cao trong việc loại bỏ phenol tuy nhiên không được triệt để vì sau khi qua các vật liệu lọc vẫn còn tồn dư của phenol đồng thời mất khá nhiều thời gian. Trong những năm gần đây, phân hủy sinh học các hợp chất hữu cơ trong đó có phenol đã được nghiên cứu tỉ mỉ.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nước thải tại bể chứa khu công nghiệp vừa và nhỏ Từ Liêm Hà Nội sau khi thu thập ở các vị trí tầng mặt, tầng giữa, tầng đáy được trộn đều và được dùng làm nguồn nguyên liệu để làm giàu các mẫu vi sinh vật trên môi trường khoáng Gost dịch với 50 ppm phenol là nguồn cơ chất. Sau khi làm giàu 3 lần, mẫu được pha loãng tới hạn trong nước muối sinh lí 0,85 % và cấy gạt trên môi trường Gost thạch có bổ sung phenol để tách riêng từng chủng sạch. Các khuẩn lạc riêng rẽ được cấy rìa thu sinh khối, xác định hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử quét (độ phóng đại 7.500 lần) và thử nghiệm khả năng phân hủy phenol với nồng độ là 150 ppm (kết quả phân tích khả năng phân hủy phenol chưa được chỉ ra trong công bố này).

Tiếp đó, để phân loại phân tử bằng việc so sánh trình tự đoạn gen 16S rARN, ADN của chủng BTLP1 đã được tách chiết bằng bộ kit QIAmp ADN mini và Blood Hard Book theo quy trình của nhà sản xuất Qiagen. Phản ứng PCR để nhân đoạn gen 16S rARN với cặp mồi đặc hiệu 341f (5'- CCTACGGGAGGCAGCAG -3') và 907r (5'- CCGTCAATTCCTTRAGTTT -3') được tiến hành với tổng thể tích 25 µl bao gồm: 12,5 µl PCR master mix; 0,75 µl mồi (20 µM) mỗi loại; 8 µl dH₂O; 3 µl ADN khuôn. Việc nhân gen được tiến hành với chu trình nhiệt: 94 °C trong 5 phút; 32 chu kỳ lặp lại (94 °C trong 1 phút; 56 °C trong 50 giây; 72 °C trong 50 giây); 72 °C trong 7 phút và 4 °C để bảo quản.

Sản phẩm PCR được phân tách trên gel agarose 1 % và tinh sạch bằng bộ kit AccuPrep PCR Purification theo quy trình của nhà sản xuất Bioneer. Tiếp đó sản phẩm PCR (kích thước khoảng 500 bp) được gắn vào vectơ tách dòng, biến nạp vào tế bào khả biến *E. coli* DH5α. Dòng plasmid chứa đoạn gen mong muốn được tách chiết, tinh sạch và xác định trình tự trên máy xác định trình tự tự động ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer. Việc so sánh trình tự nucleotide và xây dựng cây phát sinh chủng loại của chủng BTLP1 với các chủng vi khuẩn đại diện khác sử dụng phần mềm Blast, Bioedit, Clustal X và Treeview.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thu thập mẫu, phân lập và tuyển chọn vi khuẩn có khả năng sinh trưởng trên môi trường chứa phenol

Từ mẫu ban đầu, vi sinh vật sử dụng phenol được phân lập theo phương pháp làm giàu trên môi trường muối khoáng chứa 50 ppm phenol. Tập đoàn vi sinh vật sinh trưởng trên đĩa thạch được chúng tôi tiến hành tách sạch riêng từng chủng và quan sát hình thái khuẩn lạc (bảng 1).

Bảng 1. Các chủng vi khuẩn sinh trưởng trên môi trường khoáng có bổ sung phenol

Chủng vi khuẩn	Đặc điểm khuẩn lạc	Khả năng sinh trưởng trên dịch
BTLP1	Tròn, hồng, bóng nhót, không ăn sâu vào thạch, d: 2 - 3 mm	+++
BTLP2	Nhỏ, hồng, tròn, bóng, không ăn sâu vào thạch, d: 1-1,5 mm	+

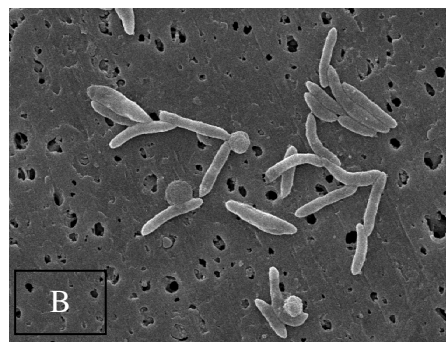
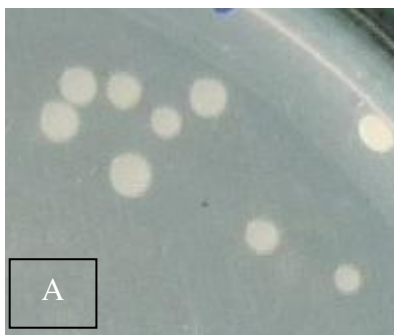
Chú thích: d: đường kính khuẩn lạc;

+++ : sinh trưởng mạnh; ++: sinh trưởng khá; +: sinh trưởng yếu.

Trong số 2 chủng trên chúng tôi nhận thấy chủng BTLP1 có khả năng phát triển tốt nhất do đó chúng tôi đã lựa chọn chủng cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào của chủng BTLP1

Trên môi trường Gost thạch có bổ sung 150 ppm phenol, chủng BTLP1 tạo khuẩn lạc màu hồng, tròn, bóng nhót, không ăn sâu vào thạch, đường kính từ 2 - 3 mm (hình 1A). Hình dạng tế bào được quan sát bằng kính hiển vi với độ phóng đại 7.500 lần tế bào hình que dài, kích thước từ $(0,6 - 0,8) \mu\text{m} \times (3,6 - 4,4) \mu\text{m}$ (hình 1B).

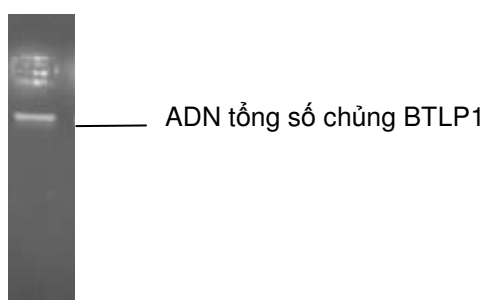


Hình 1. Hình thái khuẩn lạc (A) và hình thái tế bào chủng BTLP1 (B)

3.3. Xác định trình tự đoạn gen mã hóa 16S rARN của chủng BTLP1

3.3.1. Tách chiết ADN tổng số của vi khuẩn

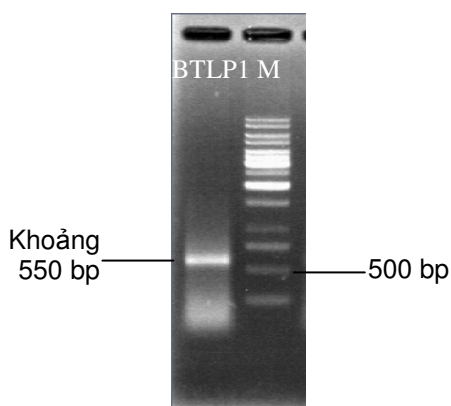
Tách chiết và làm sạch ADN tổng số vi khuẩn là khâu quan trọng vì chất lượng của ADN sẽ ảnh hưởng đến hiệu quả của các thí nghiệm. ADN tổng số của vi khuẩn BTLP1 được tách chiết theo hướng dẫn của bộ kit QIAmp ADN mini và Blood Hard Book (Qiagen) cho thấy có độ tinh sạch cao, hàm lượng đủ lớn, băng gọn không đứt gãy (hình 2).



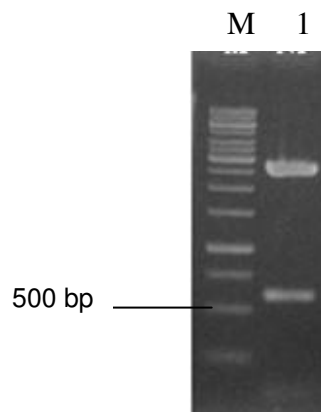
Hình 2. ADN tổng số của chủng BTLP1

3.3.2. Nhân đoạn gen 16S rARN bằng phương pháp PCR

ADN tổng số của chủng vi khuẩn BTLP1 được sử dụng làm khuôn để nhân đoạn gen 16S rARN với cặp mồi đặc hiệu (341f và 907r). Điện di đồ sản phẩm PCR thu được là một băng duy nhất, sắc nét và có kích thước khoảng 550 bp đúng với tính toán lí thuyết (hình 3).



Hình 3. Điện di đồ sản phẩm nhân đoạn gen mã hoá 16S rARN của chủng BTLP1 (M: marker 1 kb)



Hình 4. Điện di đồ sản phẩm cắt ADN plasmid chủng BTLP1 bằng enzym giới hạn *Bam*HI

M: Marker 1 kb

1: Sản phẩm cắt ADN plasmid của 1 dòng khuẩn lạc trắng

Sản phẩm PCR nhân đoạn gen mã hóa 16S rARN của chủng BTLP1 được tinh sạch bằng bộ kit theo đúng quy trình của nhà sản xuất Bioneer. Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được gắn vào vectơ tách dòng pBT và biến nạp vào tế bào khả biến *E.coli* DH5 α . Một số dòng khuẩn lạc trắng được tách chiết ADN plasmid và kiểm tra bằng enzym cắt giới hạn *Bam*HI, kết quả cho thấy có 1 dòng khuẩn lạc trắng chứa đoạn gen (khoảng 500 bp) cần thiết (hình 4). ADN plasmid của dòng khuẩn lạc trắng đó được tách chiết, tinh sạch và xác định trình tự gen. Trình tự đoạn gen mã hóa 16S rARN được chỉ ra ở hình 5.

```

1 cctacaacag gcagcctgat gcagcgacgc cgcgtgaggg atgacggcct tcggggtgaa
61 acctcttttca cccatgacga agcgcaagtg acggtagtgg gagaagaagc accggccaac
121 tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg gtgcgagcgt tgtccggaat tactgggctg
181 aaagagctcg taggcggttt gtcgcgtcgt ctgtgaaatc ccgcagctca actgcgggct
241 tgcaggcgat acgggcagac tcgagtactg caggggagac tggaattcct ggtgtagcgg
301 tgaaatgcgc agatatcagg aggaacaccg gtggcgaagg cgggtctctg ggcagtaact
361 gacgctgagg agcgaaagcg tgggtagcga acaggattag ataccctggg agtccacgcc
421 gtaaacggtg ggcgctaggt gtgggtttcc ttccacggga tccgtgccgt agccaacgca
481 ttaagcgccc cgctgggga gtacggccgc aaggctaaaa ctaaaaggga attgacgg

```

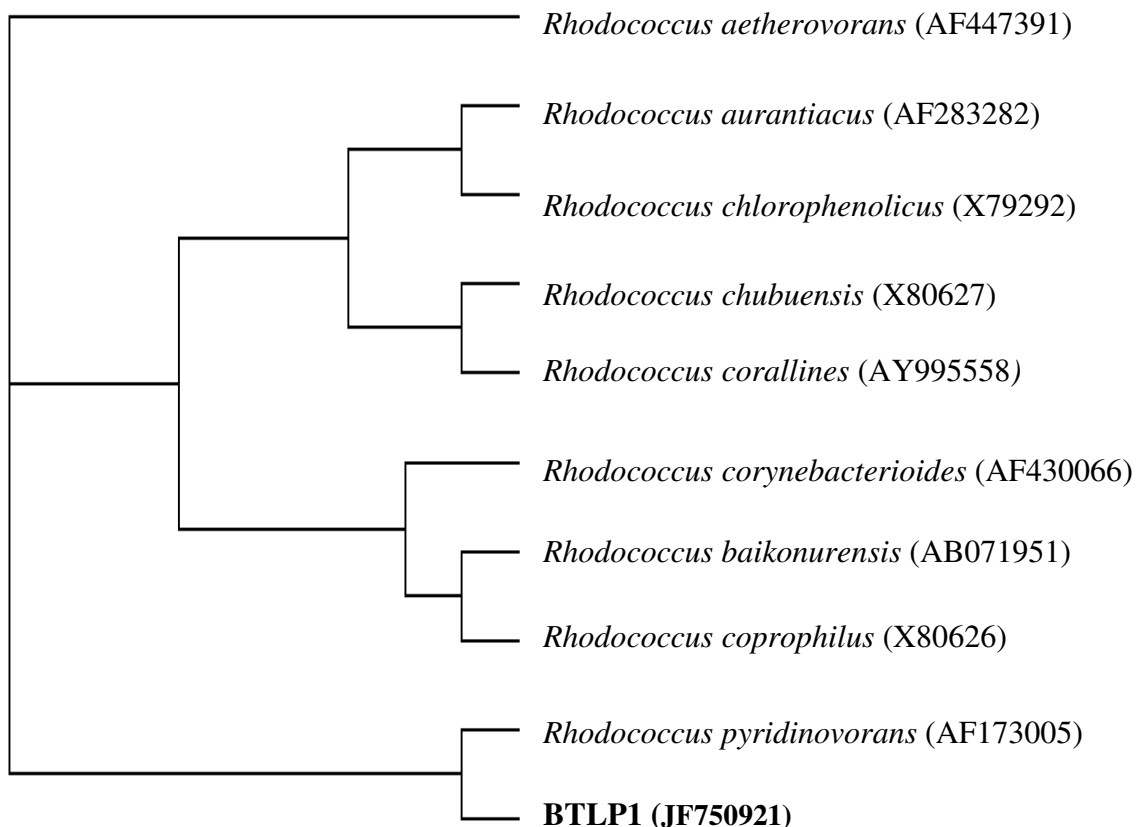
Hình 5. Trình tự đoạn gen 16S rARN của chủng vi khuẩn BTLP1

Dựa vào việc so sánh trình tự đoạn gen 16S rARN của chủng vi khuẩn BTLP1 với trình tự các chủng vi sinh vật prokaryote chuẩn khác trên LPSN (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature), chúng tôi đã thống kê mức độ tương đồng của các chủng so sánh (bảng 2) và xây dựng cây phát sinh chủng loại của chủng vi khuẩn này (hình 6).

Quan sát trên bảng 2 và hình 6, chúng tôi nhận thấy trình tự đoạn gen 16S rARN chủng BTLP1 (khoảng 550 bp) có quan hệ gần gũi với các chủng thuộc chi *Rhodococcus*. Đặc biệt chủng vi khuẩn này tương đồng tới 99 % với loài *Rhodococcus pyridinovorans* (AH173005). Do đó, chúng tôi tạm đặt tên chủng vi khuẩn này là *Rhodococcus* sp. BTLP1. Chủng vi khuẩn này đã được đăng ký trên ngân hàng Genbank (NCBI) với mã số là JF750921.

Bảng 2. Mức độ tương đồng của BTLP1 so với một số loài vi khuẩn

TT	Tên loài vi khuẩn	Mã số trên NCBI	Mức độ tương đồng
1	<i>Rhodococcus aetherovorans</i>	AF447391	97 %
2	<i>Rhodococcus aurantiacus</i>	AF283282	95 %
3	<i>Rhodococcus baikonurensis</i>	AB071951	95 %
4	<i>Rhodococcus chlorophenolicus</i>	X79292	94 %
5	<i>Rhodococcus chubuensis</i>	X80627	95 %
6	<i>Rhodococcus coprophilus</i>	X80626	97 %
7	<i>Rhodococcus corallinus</i>	AY995558	94 %
8	<i>Rhodococcus corynebacterioides</i>	AF430066	96 %
9	<i>Rhodococcus pyridinovorans</i>	AF173005	99 %



Hình 6. Cây phát sinh chủng loại của chủng BTLTP1

3.4. Đánh giá khả năng phân hủy phenol của chủng BTLTP1

Theo quy chuẩn Việt Nam QCVN 24:2009 [7], tiêu chuẩn chất thải cho phép của phenol rất nhỏ, chỉ từ 0,5 - 1 mg/l trong khi đó hàm lượng phenol chúng tôi khảo sát trong nước thải của khu công nghiệp Từ Liêm lên đến hơn 10 mg/l. Do vậy, việc loại bỏ phenol ra khỏi nguồn nước thải là nhiệm vụ cấp bách hiện nay.

Để đánh giá khả năng phân hủy phenol của chủng BTLTP1 chúng tôi tiến hành nuôi cấy chủng trên môi trường khoáng dịch có bổ sung 150 ppm phenol ở 30 °C. Sau 7 ngày, từ cảm quan có thể thấy màu sắc môi trường nuôi cấy thay đổi rõ rệt (từ trắng trong chuyển sang màu hồng) và lượng sinh khối bám vào thành bình cũng khá lớn. Tuy nhiên, để đánh giá một cách chính xác khả năng phân hủy phenol của chủng này, chúng tôi tiến hành phân tích khả năng sử dụng phenol của chủng vi khuẩn này. Kết quả cho thấy, sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường khoáng Gost dịch với 150 ppm, hàm lượng phenol đã giảm từ 29,090 mg/l xuống còn 2,189 mg/l, từ đó chúng tôi tính toán được khả năng loại bỏ phenol của chủng vi khuẩn này là 92,5 %.

Hiện nay, ở Việt Nam, có rất ít các nghiên cứu về phân hủy phenol của vi sinh vật. Tác giả Tô Kim Anh (2004) trong báo cáo đề tài nhánh nghiên cứu giải pháp sinh học phân giải phenol và các dẫn xuất của nó đã phân lập được 6 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy 94,36 % phenol với nồng độ ban đầu là 600 mg/l từ mẫu bùn thải của Công ty Xăng dầu Đức Giang và Xí nghiệp Dược phẩm TWI là những nguồn có hàm lượng phenol rất cao [12]. Tại Viện Công nghệ

sinh học, hai chủng vi khuẩn BTL6 và BTL11 đã được phân lập từ nước thải khu công nghiệp có khả năng phân hủy phenol lần lượt là 86,86 % và 99,34 % sau 7 ngày nuôi cấy với nồng độ ban đầu là 7 ppm và 100 ppm (có bổ sung thêm 0,5 % glucose) [1,2].

Trên thế giới, hai chủng *Acinetobacter* sp. XA05 và *Sphingomonas* sp. FG03 được phân lập từ bùn hoạt tính và đất ô nhiễm phenol có hiệu suất phân hủy phenol lần lượt là 78 % và 68 % sau 60 giờ với hàm lượng ban đầu là 1 g/l [6]. Hay trong năm 2008, chủng vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* đã được phân lập từ nguồn nước thải công nghiệp có khả năng sử dụng tới 85,4 % phenol với hàm lượng ban đầu là 3,2 g/L có bổ sung thêm 1 % glucose sau 40 ngày nuôi cấy [5]. Chủng *Pseudomonas* sp. được phân lập từ lớp đất mặt của nhà máy sản xuất khí gas có khả năng phân hủy một hỗn hợp các chất bao gồm: cresols, phenol, dimethyphenols và trimethyphenols trong đó hiệu suất phân hủy phenol và cresols lên đến 99,9 % [11].

So sánh với các chủng vi khuẩn khác trên thế giới và ở Việt Nam thì khả năng phân hủy phenol của chủng BTLP1 là khá cao. Điều này cũng hoàn toàn phù hợp vì các chủng vi khuẩn trên đã được phân lập từ các nguồn sản sinh phenol cao hơn so với nguồn nước thải của KCN Từ Liêm (như nhà máy sản xuất khí gas, mỏ khí ngầm) do vậy trong nguồn lấy mẫu đã có sẵn có chủng vi sinh vật bản địa tồn tại rất lớn. Mặt khác, các nghiên cứu đó hoặc là có bổ sung thêm glucose làm nguồn cacbon bổ sung, hoặc thời gian nuôi cấy là khá lâu (40 ngày) trong khi chủng BTLP1 chúng tôi mới thử nghiệm sau 7 ngày trên 150 mg/l phenol là nguồn cacbon và năng lượng duy nhất. Những kết quả này cho thấy phần nào vai trò của từng chủng vi khuẩn đơn cũng như tập đoàn các chủng vi khuẩn phân hủy phenol trong nước thải ở các khu công nghiệp.

4. KẾT LUẬN

Khuẩn lạc chủng vi khuẩn BTLP1 trên môi trường khoáng Gost thạch có màu hồng, tròn, bóng nhót, không ăn sâu vào thạch, đường kính từ 2 - 3 mm. Hình dạng tế bào được quan sát bằng kính hiển vi với độ phóng đại 7.500 lần có dạng hình que dài, kích thước từ (0,6 – 0,8) μm $\times$ (3,6 – 4,4) μm . Dựa trên việc so sánh trình tự đoạn gen 16S rARN, chủng BTLP1 có độ tương đồng cao với các chủng vi khuẩn thuộc chi *Rhodococcus*, đặc biệt chủng vi khuẩn này có quan hệ gần gũi với loài *Rhodococcus pyridinovorans* (AF173005). Chủng vi khuẩn này được đăng ký trên ngân hàng gen NCBI với tên gọi là *Rhodococcus* sp. BTLP1, mã số là JF750921. Sau 7 ngày nuôi cấy lắc trên môi trường khoáng ở 30 °C và pH 7, chủng vi khuẩn BTLP1 có khả năng phân hủy 92,5 % phenol với hàm lượng ban đầu là 150 ppm.

Lời cảm ơn. Bài báo được hoàn thành có sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cơ sở: Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy phenol trong nước thải khu công nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cung Thị Ngọc Mai, Trần Hải Đăng, Nguyễn Văn Bắc, Nghiêm Ngọc Minh - Nghiên cứu khả năng phân hủy hydrocacbon thơm đa nhân và phenol của chủng vi khuẩn BTL11 phân lập từ nước thải khu công nghiệp, Hội nghị Khoa học Công nghệ sinh học khu vực Miền trung và Tây nguyên **2** (2010) 22.
2. Cung Thị Ngọc Mai, Trần Thị Khánh Vân, Nghiêm Ngọc Minh - Hình thái tế bào và khả năng phân hủy PAH và phenol của chủng vi khuẩn BTL6 phân lập từ nước thải khu công nghiệp, Tạp chí Khoa học và Công nghệ **6** (68) (2010) 101-106.

3. Jaromir M., Ozadowicz R., Duda W. - Analysis of chlorophenols, chlorocatechols, chlorinated methoxyphenols and monoterpenes in communal sewage of Łódź and in the Ner river in 1999-2000: **16** (2005) 205.
4. Laine M., Jorgensen K. (2007) - Straw compost and bioremediated soil as inocula for the bioremediation of chlorophenol contaminated soil, *Appl. Environ. Microbiol. Polish J. Environ. Stud* **16**(3) (2007) 347-362.
5. Lin J., Reddy M., Moorthi V., Qoma B. E. - Bacterial removal of toxic phenol from an industrial effluent, *Afr. J. Biotechnol* **7** (13) (2008) 2232 – 2238.
6. Liu Y. J., Kusch P., Zhang A. N., Wang X. C. - Characterisation of phenol degradation by *Acinetobacter* sp. XA05 and *Sphingomonas* sp. FG03, *Chem. Ecol.* **25** (2) (2009) 107-117.
7. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về nước thải công nghiệp QCVN 24:2009/BTNMT.
8. Rozanski L. - The transformations of pesticides in living organisms and the environment, *Agra-enviro lab Poznań* (1998)
9. Schmidt S. - Biodegradation of dioxins and furans, Chapter 8 (1998) 229-281.
10. Swarts M., Verhagen F., Field J., Wijnberg J. - Trichlorinated phenols from *Hypholoma elongatum*, *Phytochem* (1998) 49, 203.
11. Thomas A. O., Lester J. N. - Degradation of phenol using bacteria isolated from the subsurface of manufactured gas plants, *Hazardous Waste and Hazardous Materials* **10** (4) (2009) 413-430.
12. Tô Kim Anh - Nghiên cứu giải pháp sinh học phân giải phenol và một số dẫn xuất của phenol, Báo cáo đề tài nhánh cấp Nhà nước KC-04 (2004).

SUMMARY

TAXONOMY OF THE BACTERIAL STRAIN BTLP1 CAN DEGRADATE PHENOL BY ANALYSING THE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE 16S rARN GEN

The colonies of the bacterial strain BTLP1 were pink-coloured, round-shaped, with 2 - 3 mm diameter and formed on the mineral agar medium. The cell morphology of BTLP1 observed under Scanning Electron Microscopy (SEM) showed a rod shape with 0,6 - 0,8 μm in wide and 3,6 - 4,4 μm in length. The results of partial sequence indicated that the BTLP1 belongs to genus *Rhodococcus* with about 97 % homology. Especially, it is closed to *Rhodococcus pyridinovorans* species (AF173005). This bacterial strain registered in NCBI genbank with accession number JF750921. This bacterial strain degraded 92,5 % phenol in liquid mineral medium with 150 ppm phenol.

Keywords. BTLP1, Tu Liem industrial wastewater, biodegradation, phenol, *Rhodococcus* sp.