

PHÂN LẬP VÀ THỬ NGHIỆM KHẢ NĂNG XỬ LÝ NITRIT TRONG NƯỚC RỈ RÁC CỦA VI KHUẨN NITROBACTER SP.

Trần Ngọc Hùng⁽¹⁾, Huỳnh Thị Kim Trang⁽¹⁾

⁽¹⁾Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận 16/4/2017; Ngày gửi phản biện 2/5/2017; Chấp nhận đăng 30/7/2017

Email: gnuh1423@yahoo.com

Tóm tắt

Nước rỉ rác trong các xí nghiệp xử lý chất thải rắn luôn chứa một hàm lượng lớn nitơ ở dạng NO_2 . Chất này là nguyên nhân gây ra nhiều vấn đề nghiêm trọng cho sức khỏe và môi trường. Từ bùn thải của bể xử lý sinh học lấy từ Khu liên hợp xử lý chất thải rắn Nam Bình Dương, chúng tôi phân lập được 03 chủng *Nitrobacter* spp. Trong đó, chủng *Nitrobacter* NB1 có khả năng xử lý nitrit hiệu quả nhất. Trên môi trường Winogradsky có nồng độ muối thay đổi từ 5 – 25%, hiệu suất xử lý nitrit sau 24 giờ của chủng này đạt từ 97.63 - 97.92%. Ở nồng độ tối thiểu 10^3 tế bào/ml môi trường, chủng này có hiệu suất xử lý nitrit đạt đến 99.79% sau 24 giờ. Khi thử nghiệm với nước rỉ rác ở quy mô phòng thí nghiệm, khả năng xử lý nitrit chủng *Nitrobacter* NB1 đạt 67.77% sau 4 giờ.

Key word: *Nitrobacter* sp., xử lý, nước rỉ rác, nồng độ muối

Abstract

ISOLATING AND EXPERIMENT ON CAPABILITY TO TREAT NITRIT IN THE LEACHATE FROM THE LANDFILL OF NITROBACTER SP.

The leachate from the landfill in solid waste treatment plants always contain a large amount of nitrogen in the form of NO_2 . This substance causes many problems in health and the environment. Three *Nitrobacter* spp. isolates were isolated from the sludge of the biological treatment tank taken from the Nam Binh Duong Solid Waste Treatment Complex. Of these, the *Nitrobacter* NB1 strain has the most effective nitrite treatment. On Winogradsky medium that contains the salt concentration varies from 5 to 25%, the nitrite treatment efficiency after 24 hours of this strain is from 97.63 to 97.92%. At a minimum density of 10^3 cells/ml medium, this strain has a nitrite treatment efficiency of 99.79% after 24 hours. When tested with landfill leachate at laboratory scale, the nitrite treatment ability of the *Nitrobacter* NB1 strain achieved 67.77% after 4 hours.

1. Đặt vấn đề

Nitrit (NO_2^-) là chất có độc tính đối với sinh vật và con người. Khi vào cơ thể con người, ở một hàm lượng nhỏ, nitrit có thể kết hợp với các amino acid tạo thành nhóm chất nitrosamine-1, là tiền chất gây ung thư. Đối với sinh vật thủy sinh, hàm lượng nitrit cao trong nước sẽ dẫn tình trạng thiếu oxy, và tác động đến nhiều cơ quan khác nhau trong cơ thể^[3]. Trong nước thải nói chung và nước rỉ rác nói riêng, nitơ tồn tại dạng amoni, nitrit và nitrat. Tùy

theo mức độ có mặt của các hợp chất nitơ mà ta có thể biết được mức độ ô nhiễm nguồn nước. Khi nước mới bị nhiễm bẩn bởi phân bón hoặc nước thải, trong nguồn nước có NH_3 , NO_2^- và NO_3^- . Sau một thời gian NH_3 và NO_2^- bị oxy hóa thành NO_3^- . Như vậy, nếu nước chứa NH_3 và nitơ hữu cơ thì coi như nước mới bị nhiễm bẩn và nguy hiểm, nếu nước chủ yếu có NO_2^- thì nước đã bị ô nhiễm thời gian dài hơn, còn nếu nước chủ yếu là NO_3^- thì quá trình oxy hóa đã kết thúc. Ở điều kiện yếm khí, NO_3^- sẽ bị khử thành N_2 ^[3,5]. Trong quá trình xử lý nước thải bằng phương pháp sinh học hiếu khí, NH_3 sẽ được chuyển thành nitrit và nitrat nhờ các loại vi khuẩn *Nitrosomonas* và *Nitrobacter*. *Nitrobacter* trong bùn sẽ chuyển hóa NO_2^- trong nước thành NO_3^- . Khi bổ sung chủng *Nitrobacter* vào quy trình xử lý nước thải sẽ giúp chuyển hóa nhanh lượng NO_2^- thành NO_3^- . Khi môi trường thiếu oxy, các loại vi khuẩn khử nitrat Denitrificans sử dụng NO_3^- để oxy hóa thành chất hữu cơ. Nitơ phân tử N_2 tạo thành trong quá trình này sẽ thoát ra khỏi nước^[3,5,6]. Qua đó có thể thấy được vai trò to lớn của *Nitrobacter* trong việc loại bỏ NH_3 và NO_2^- trong nước thải. Chính vì những thực tế trên, tôi thực hiện đề tài: “Phân lập và thử nghiệm khả năng xử lý nitrit trong nước rỉ rác của vi khuẩn *Nitrobacter* sp.”

2. Vật liệu và phương pháp

Vật liệu và các loại môi trường dùng trong nghiên cứu: Bùn thải từ bể xử lý sinh học của Khu liên hợp xử lý chất thải rắn Nam Bình Dương. Nước rỉ rác thu nhận ở bể xử lý sinh học của Khu liên hợp xử lý chất thải rắn Nam Bình Dương. Môi trường phân lập vi khuẩn *Nitrobacter* sp. (Môi trường Winogradsky - MT1)^[7]: NaNO_2 2g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,03g; NaCl 0,3g; Na_2CO_3 1g; K_2HPO_4 1g; agar 20g; Nước cất vừa đủ 1 lít. pH 7,3.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập vi khuẩn *Nitrobacter* sp.^[1,7]: Các mẫu bùn được cấy vào môi trường Winogradsky. Sau 2; 4; 6 và 8 ngày, xác định hàm lượng NO_2^- trong môi trường bằng thuốc thử Griess. Các mẫu bùn có khả năng làm giảm lượng NO_2^- được pha loãng theo hệ số thập phân và phân lập trên môi trường Winogradsky có bổ sung 2% agar bằng phương pháp trải đĩa. Thu nhận các khuẩn lạc riêng rẽ và kiểm tra lại khả năng nitrat hóa trên môi trường Winogradsky.

Phương pháp nhuộm Gram^[1]: Dựa vào sự khác biệt giữa vách tế bào vi khuẩn Gram (+) và Gram (-). Vi khuẩn Gram (+) có vách peptidoglycan hoạt động như một hàng rào thẩm thấu ngăn cản sự thất thoát của tím kết tinh. Ban đầu, vi khuẩn được nhuộm bằng tím kết tinh và xử lý iod để tăng độ giữ màu. Sau đó, vết bôi được tẩy màu bằng cồn làm cho các lỗ của lớp peptidoglycan dày lại. Do vậy phức chất tím kết tinh và iod được giữ lại, vi khuẩn có màu tím. Peptidoglycan ở vi khuẩn Gram (-) rất mỏng, ít liên kết chéo và có lỗ lớn. Việc xử lý bằng cồn có thể loại lipid khỏi vách Gram (-) đủ để làm tăng hơn kích thước của lỗ. Do vậy, ở bước rửa bằng cồn đã loại bỏ phức chất màu tím của tím kết tinh - iod. Khi nhuộm lại bằng safarin thì vi khuẩn Gram (-) có màu hồng.

Phương pháp xác định hàm lượng NO_2^- ^[2,7]: Hàm lượng NO_2^- được xác định dựa vào phản ứng màu của ion NO_2^- với thuốc thử Griess. Hỗn hợp phản ứng gồm 4 ml dung dịch mẫu nghiên cứu đã được pha loãng với tỷ lệ thích hợp, 1 ml dung dịch Griess 1, 2 ml dung dịch Griess 2, lắc đều và để yên trong 10 phút. Cường độ màu hồng tỷ lệ với hàm lượng NO_2^- trong dung dịch. Đo mật độ quang ở bước sóng 520 nm và xác định hàm lượng NO_2^- trong dung dịch thông qua đường chuẩn.

Bổ trí thí nghiệm

Phân lập chủng vi khuẩn *Nitrobacter* sp.: 1ml bùn được cấy vào 100 ml môi trường Winogradsky. Sau 2; 4; 6 và 8 ngày, xác định hàm lượng NO_2 trong môi trường bằng thuốc thử Griess. Mẫu bùn có khả năng làm giảm lượng NO_2 được pha loãng theo hệ số thập phân và trải đĩa trên môi trường Winogradsky. Thu nhận các khuẩn lạc riêng rẽ và kiểm tra lại khả năng nitrat hóa trên môi trường Winogradsky lỏng. Các khuẩn lạc có khả năng nitrat hóa được làm thuần và kiểm tra hình thái tế bào bằng phương pháp nhuộm Gram.

Khảo sát ảnh hưởng của độ mặn lên khả năng xử lý nitrit: Độ mặn NaCl là một yếu tố sinh thái ảnh hưởng nhiều đến khả năng sinh trưởng của các vi sinh vật. Các chủng có hiệu suất xử lý nitrit cao được thử nghiệm khả năng xử lý nitrit trong các môi trường Winogradsky có bổ sung NaCl với các nồng độ 5; 10; 15; 20 và 25 %. Bình đối chứng được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không bổ sung vi khuẩn. Đánh giá hiệu suất xử lý nitrit sau 24 giờ nuôi cấy lắc.

$$H(\%) = ([\text{NO}_2^-]_{\text{ĐC}} - [\text{NO}_2^-]_{\text{TN}}) / [\text{NO}_2^-]_{\text{ĐC}} \times 100$$

Khảo sát ảnh hưởng của mật độ lên khả năng xử lý nitrit: Chủng *Nitrobacter* sp. được chọn lọc từ thí nghiệm trước được nuôi cấy lắc trên môi trường Winogradsky và xác định mật độ tế bào bằng phương pháp đếm khuẩn lạc. Pha loãng chủng với tỷ lệ thích hợp và bổ sung 1 ml dịch nuôi cấy vào môi trường sao cho mật độ *Nitrobacter* sp. trong môi trường đạt 10^1 ; 10^2 ; 10^3 ; 10^4 ; 10^5 ; 10^6 và 10^7 CFU/ml. Bình đối chứng được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không bổ sung vi khuẩn. Đánh giá hiệu suất xử lý nitrit sau 24 giờ nuôi cấy lắc

Thử nghiệm khả năng xử lý nitrit trong nước rỉ rác của chủng *Nitrobacter* sp. chọn lọc: Nước rỉ rác ở giai đoạn sau xử lý sinh học được cho vào các bình nhựa dung tích 20 lít. Mỗi bình thí nghiệm chứa 15 lít nước thải, được sục khí liên tục trong suốt thời gian thí nghiệm. pH của hệ thống được duy trì trong khoảng 7.0 – 7.5. Chủng vi khuẩn *Nitrobacter* sp. chọn lọc sau thời gian tăng sinh 24 giờ trong môi trường Winogradsky được pha loãng đến mật độ thích hợp và bổ sung vào các bình thí nghiệm. Đánh giá hiệu suất xử lý NO_2^- trong các bình thí nghiệm sau 0; 2 và 4 giờ, tương ứng với thời gian của một chu kỳ phản ứng trong hệ thống ASBR. Bình đối chứng cũng được xử lý trong cùng điều kiện nhưng không bổ sung chủng *Nitrobacter* sp.

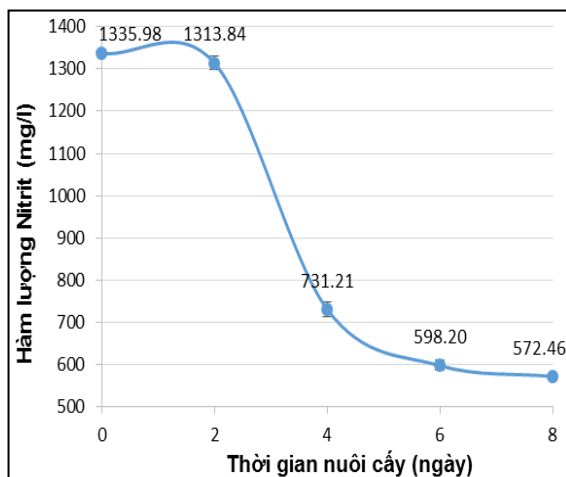
Xử lý thống kê: Các thử nghiệm trong phòng thí nghiệm được tiến hành lặp lại ít nhất 3 lần và phân tích ANOVA bằng phần mềm Stagraphic Centurion XV.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Phân lập vi khuẩn *Nitrobacter* sp.

Biểu đồ 1. Khả năng xử lý nitrit của các vi sinh vật trong mẫu bùn thải

Mẫu bùn được cấy vào môi trường Winogradsky. Sau 6 ngày, các chủng vi sinh vật trong mẫu bùn có khả năng làm giảm lượng NO_2 trong môi trường Winogradsky từ 1335.98 xuống còn 598.2 mg/l NO_2 . Từ ngày thứ 6 trở đi, khả năng xử lý NO_2 giảm không đáng kể.



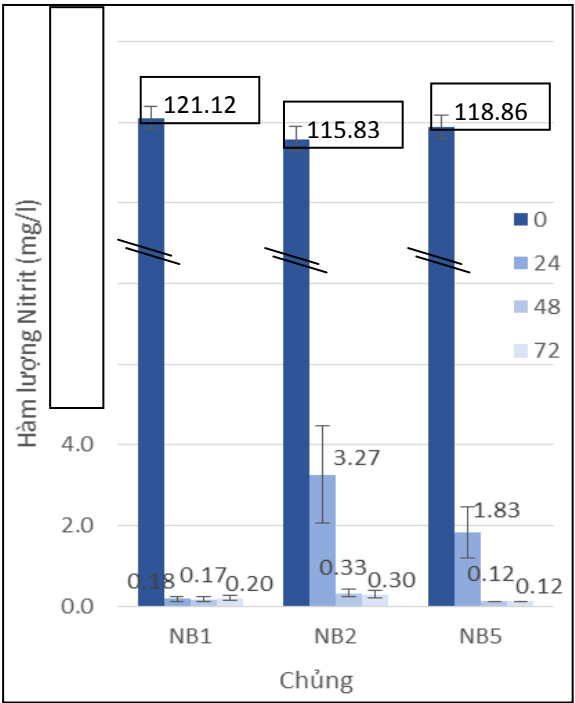
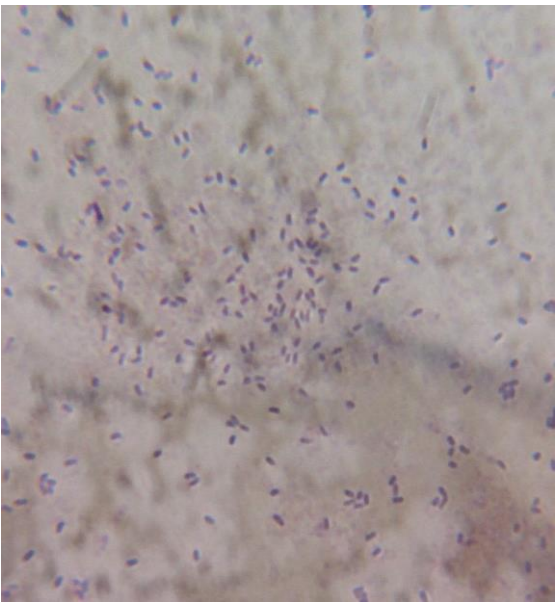
Sử dụng dịch tăng sinh sau 6 ngày, chúng tôi đã phân lập được 05 chủng, kí hiệu là NB1; NB2, NB3, NB4 và NB5. Các chủng vi khuẩn này tiếp tục được thử nghiệm khả năng xử lý NO_2^- trên môi trường Winogradsky. Hàm lượng NO_2^- trong được thể hiện trong bảng 1.

Chủng	Thời gian nuôi cấy			
	0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
NB1	121.12 ± 2.89	0.18 ± 0.05	0.17 ± 0.06	0.20 ± 0.06
NB2	115.83 ± 2.80	3.27 ± 1.20	0.33 ± 0.09	0.30 ± 0.09
NB3	118.10 ± 1.89	126.3 ± 0.05	125.6 ± 0.16	125.2 ± 0.44
NB4	119.30 ± 1.90	124.7 ± 0.38	120.4 ± 0.11	122.9 ± 0.33
NB5	118.86 ± 2.00	1.83 ± 0.63	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01

Bảng 1. Khả năng xử lý nitrit của các chủng vi khuẩn phân lập từ mẫu bùn

Sau 24 giờ nuôi cấy lắ, các chủng NB1, NB2 và NB5 có khả năng xử lý nitrit rất tốt, hàm lượng nitrit giảm từ 121.12 xuống còn 0.18 mg/l đối với NB1; 115 xuống còn 3.27 đối với NB2 và từ 118.86 xuống còn 1.83 mg/l đối với NB5. Hai chủng NB3 và NB4 không có khả năng xử lý nitrit. Hàm lượng NO_2^- không thay đổi nhiều sau 72 giờ nuôi cấy lắ. Hình ảnh nhuộm Gram cho thấy cả ba chủng NB1, NB2 và NB5 đều thuộc nhóm vi khuẩn Gram (-) và có dạng hình que (hình 1).

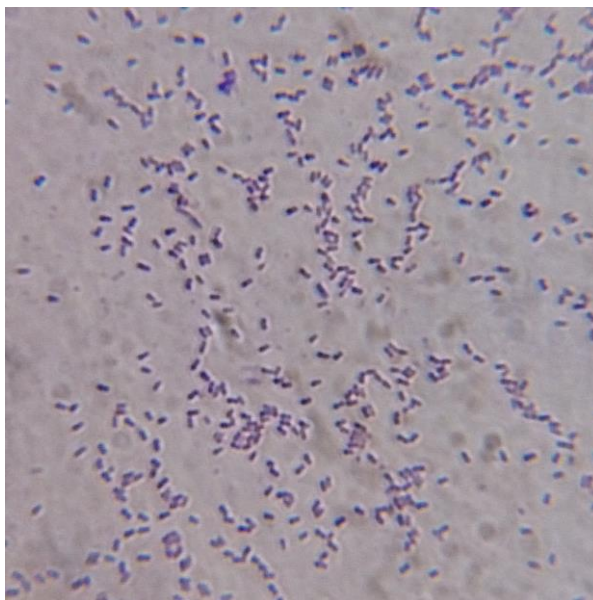
Biểu đồ 2. Khả năng xử lý nitrit của các chủng vi khuẩn phân lập có hiệu suất cao



Theo các kết quả nghiên cứu trước đây đã công bố như của tác giả Trần Liên Hà (2007)^[2], Phạm thị Tuyết Ngân (2012)^[4], Đào Thị Hồng Vân (2012)^[5] hay mô tả về hình thái chi *Nitrobacter* của Eva Spieck (2005)^[6], chúng tôi bước đầu kết luận các chủng NB1, NB2 và NB5 thuộc chi *Nitrobacter*. Hai chủng NB1 và NB5 có hiệu quả xử lý nitrit mạnh nhất sau 24 giờ, do đó, chúng tôi sử dụng hai chủng này cho các khảo sát tiếp theo.

Hình 1. Hình thái nhuộm Gram của các chủng khi quan sát ở vật kính X100 chủng NB1.

Hình 2. Hình thái nhuộm Gram của các chủng khi quan sát ở vật kính X100 chủng NB5

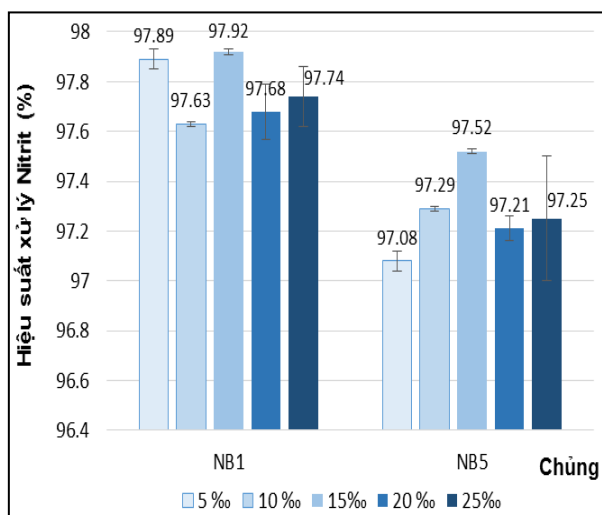


3.2. Ảnh hưởng của độ mặn lên khả năng xử lý nitrit của chủng *Nitrobacter* sp.

Trong giới hạn khảo sát, việc thay đổi hàm lượng NaCl của môi trường nuôi cấy từ 5 đến 25 ‰, không làm ảnh hưởng đến khả năng xử lý nitrit của cả hai chủng NB1 và NB5. Các chủng *Nitrobacter* sp. này vẫn sinh trưởng mạnh trong môi trường nuôi cấy, hiệu suất xử lý NO_2^- đạt trong khoảng 97.08 – 97.92% sau 24 giờ. Khả năng phát triển mạnh trên môi trường có nồng độ muối cao mở ra nhiều tiềm năng ứng dụng cho các chủng NB1 và NB5.

Các chủng *Nitrobacter* sp. này không chỉ được sử dụng để xử lý nitrit trong nước thải mà còn có thể dùng để kiểm soát hàm lượng khí NO_2^- trong các ao nuôi trồng thủy sản, nhất là trong tình trạng khí hậu biến đổi thất thường như hiện nay.

Chủng *Nitrobacter* NB1 có khả năng sinh trưởng mạnh và xử lý nitrit rất tốt, ngay cả khi môi trường chứa có độ mặn lên đến 15‰, khác biệt về mặt thống kê so với các nghiệm thức khác ở độ tin cậy 95%. Do đó, chúng tôi chọn chủng *Nitrobacter* NB1 để khảo sát khả năng xử lý nitrit ở các mật độ khác nhau.



Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của độ mặn lên hiệu suất xử lý nitrit của chủng *Nitrobacter* sp. chọn lọc

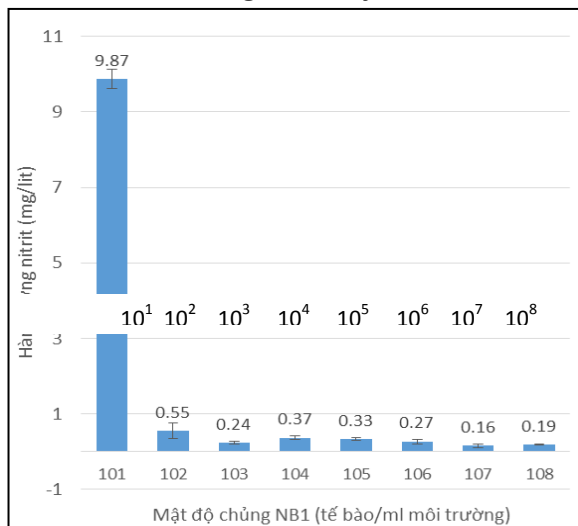
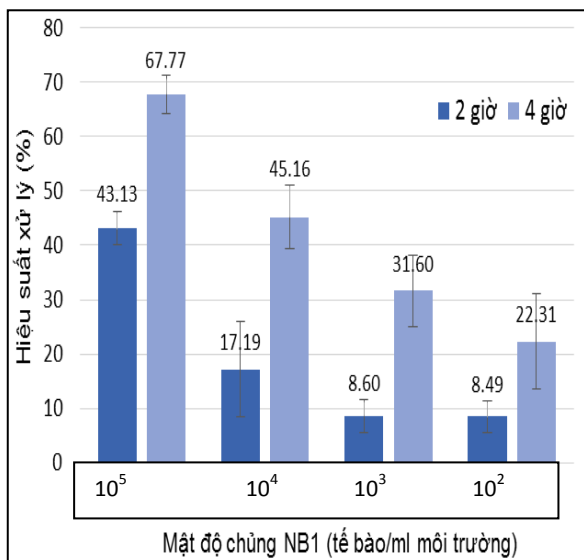
3.3. Ảnh hưởng của mật độ chủng *Nitrobacter* sp. lên khả năng xử lý nitrit.

Khảo sát mật độ của chủng *Nitrobacter* NB1 trên môi trường Winogradsky sau 24 giờ nuôi cấy lắc, mật độ chủng đạt $4.8 \pm 2.0 \times 10^9$ CFU/ml. Chúng tôi pha loãng chủng với tỷ lệ thích hợp và bổ sung vào các môi trường Winogradsky có chứa NO_2^- với hàm lượng 119.5 ± 3.5 mg/l (bình đối chứng không bổ sung chủng NB1). Mật độ chủng NB1 giữa các nghiệm thức thay đổi từ 10^1 ; 10^2 ; 10^3 ; 10^4 ; 10^5 ; 10^6 ; 10^7 và 10^8 tế bào/ ml môi trường. Sau 24 giờ lắc, hàm lượng nitrit trong các nghiệm thức được thể hiện như trong biểu đồ 4.

Kết quả cho thấy, khi gia tăng mật độ chủng *Nitrobacter* NB1 từ 10^3 - 10^8 tế bào/ ml môi trường, chủng có khả năng xử lý NO_2^- rất tốt, hàm lượng nitrit giảm mạnh từ 119.5 mg/l ở nghiệm thức đối chứng (không thể hiện trong biểu đồ) xuống còn khoảng 0.16 – 0.37 mg/l,

phân tích thống kê cho thấy giữa các nghiệm thức không có sự khác biệt ở độ tin cậy 95%. Khi xử lý ở mật độ 10^1 và 10^2 tế bào/ ml môi trường, hàm lượng nitrit giảm còn lần lượt 9.87 và 0.55 mg/l, khác biệt ở độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức còn lại. Để đạt được hiệu quả kinh tế, chúng ta có thể sử dụng chế phẩm ở mật độ 10^3 tế bào/ ml môi trường, tương đương khoảng 1 lít chế phẩm (mật độ 10^9 CFU/ml) cho 1000 m^3 môi trường cần xử lý.

Biểu đồ 4. Ảnh hưởng của mật độ chủng *Nitrobacter* NB1 đến khả năng xử lý nitrit



Biểu đồ 5. Khả năng xử lý nitrit trong nước rỉ rác của chế phẩm *Nitrobacter* NB1 thử nghiệm

3.4. Thử nghiệm khả năng xử lý nitrit trong nước rỉ rác của chủng *Nitrobacter* sp. chọn lọc

Chúng tôi thử nghiệm bổ sung dịch tăng sinh chủng *Nitrobacter* NB1 vào nước rỉ rác sau bể xử lý sinh học, mật độ chủng trong các nghiệm thức thay đổi từ 10^2 ; 10^3 ; 10^4 và 10^5 tế bào/ ml môi trường xử lý. Hiệu suất xử lý của các nghiệm thức được đánh giá sau 2 giờ và 4 giờ. Kết quả thí nghiệm thể hiện trong biểu đồ 5.

Hiệu quả xử lý nitrit của chủng *Nitrobacter* NB1 tăng dần theo thời gian và mật độ chủng giống bổ sung. Ở mật độ 10^5 tế bào/ ml nước thải, chủng NB1 có khả năng xử lý nitrit đạt hiệu suất 43.13 % sau 2 giờ và 67.77 % sau 4 giờ. Tuy nhiên, để đạt được hiệu quả xử lý này cần phải bổ sung vào môi trường một lượng lớn chế phẩm (chế phẩm có mật độ tối thiểu 10^9 CFU/ml), tương đương khoảng 10 lít/ 100 m^3 nước rỉ rác. Ở mật độ 10^4 tế bào/ ml nước thải, hiệu suất xử lý NO_2 của chủng đạt 45.16% sau 4 giờ, khác biệt về mặt thống kê ở mức 95% so với kết quả thu được ở các nghiệm thức khác trong cùng thời gian xử lý. Kết quả này bước đầu cho thấy, chúng ta có thể bổ sung chế phẩm chứa chủng *Nitrobacter* NB1 vào hệ thống ASBR hoặc xử lý chủng *Nitrobacter* NB1 sau giai đoạn ASBR với liều lượng 1 lít chế phẩm/ 100 m^3 nước rỉ rác. Điều này có thể giúp giảm hàm lượng NO_2 trong nước rỉ rác, tạo điều kiện xử lý triệt để chất này trong các tiếp theo của hệ thống.

4. Kết luận

Từ bùn thải của bể xử lý sinh học lấy từ Khu liên hợp xử lý chất thải rắn Nam Bình Dương, chúng tôi phân lập được 03 chủng *Nitrobacter* spp., được kí hiệu là NB1, NB2 và NB5. Trên môi trường Winogradsky có bổ sung 2g NaNO_2 , các chủng NB1, NB2 và NB5 có khả

năng xử lý NO_2 mạnh, với hiệu suất xử lý sau 24 giờ lần lượt đạt 99.85 ; 97.15 và 98,44%. Chúng *Nitrobacter* NB1 và NB5 thích nghi tốt trong môi trường Winogradsky có nồng độ muối thay đổi từ 5 – 25%, hiệu suất xử lý nitrit sau 24 giờ của hai chủng này đạt từ 97.08 đến 97.92%. Trên môi trường Winogradsky, chủng *Nitrobacter* NB1 có hiệu suất xử lý nitrit đạt 99,79% ở nồng độ tối thiểu 10^3 tế bào/ ml môi trường. Khi thử nghiệm với nước rỉ rác ở quy mô phòng thí nghiệm, chủng NB1 có hiệu suất xử lý nitrit đạt 67.77% sau 4 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Vũ Thị Minh Đức (2001), *Thực tập vi sinh vật học*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
- [2] Trần Liên Hà, Phạm Tuấn Anh, Nguyễn Thị Thanh (2007), *Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn nitrat hóa và ứng dụng trong xử lý nước hồ ô nhiễm*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Tập 45, Số 3, Trang 95 – 100.
- [3] Lê Thái Hà (2015), *Nitrit và nitrat trong nước*, Viện Sức khỏe Nghề nghiệp và Môi trường.
- [4] Phạm Thị Tuyết Ngân (2012), *Nghiên cứu quần thể vi khuẩn chuyển hoá đạm trong bùn đáy ao nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*)*, Luận án tiến sĩ thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ.
- [5] Đào Thị Hồng Vân (2012), *Nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh vật bản địa nhằm xử lý nước thải sinh hoạt đô thị Hà Nội*, Luận án tiến sĩ ngành Công nghệ sinh học thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.
- [6] Eva Spieck, Eberhard Bock (2005), *The Proteobacteria, Part A Introductory Essays*, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, p. 49-53.
- [7] Deepak B. Jadhav, Renuka B. Nawadkar, N.R. Shaikh (2015), *Isolation and Characterization of Bacteria from laboratory developed activated sludge used in the treatment of food industry effluent*, Life Science Informatics Publication, RJLBPCS 1(1) Page 100 – 115.