

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ NN và PTNT, 2008, Quy định về quản lý sản xuất và kinh doanh rau an toàn, số 99/2008/QĐ - BNN.
2. Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2009, *Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về nước thải công nghiệp*, Quy chuẩn Việt Nam - QCVN 24: 2009/BTNMT.
3. Lê Thị Kim Cúc, 2006, Mô hình công nghệ xử lý - tái sử dụng nước thải vùng chế biến tinh bột sắn tại Tân Hóa, Quốc Oai, Hà Tây, Tạp chí Tài nguyên và Môi trường, số 10 (36), trang 54 - 56.
4. Lê Thị Việt Hà, 2004, Nghiên cứu xử lý nước thải của làng nghề Dương Liễu (Tỉnh Hà Tây) bằng biện pháp sinh học, Tạp chí Khoa học và Công nghệ. Tập 42 - Số 4. Tr. 13 - 18.
5. Lương Đức Phẩm, 2003, Công nghệ xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học, NXB Giáo dục.
6. Viện Thổ nhưỡng Nông hóa, 1998, Sổ tay phân tích đất - nước - phân bón - cây trồng, NXB Nông nghiệp.

Người phản biện
TS. Nguyễn Hồng Sơn

TUYỂN CHỌN BỘ CHỦNG VI SINH VẬT NHẦM XỬ LÝ NƯỚC THẢI CỦA NHÀ MÁY CHẾ BIẾN TINH BỘT SẴN

Lương Hữu Thành, Vũ Thúy Nga, Lê Thị Thanh Thủy,
Đào Văn Thông, Hứa Thị Sơn, Tống Hải Vân,
Cao Hương Giang, Hà Thị Thúy, Nguyễn Thị Hằng Nga

SUMMARY

Selection of microorganisms handle cassava starch processing waste water

Identified 01 combination of 04 strains of microorganisms resolution active carbohydrate compounds (cellulose, starch), resolution insoluble phosphate, resolution sulfur compounds, resolution nitrogen related compounds used in production of microorganism inoculant handling cassava starch processing waste water. The microbial strains used in this study are intended to species that are not in the list of restricted microorganisms used (according to the European Community) and ensure the level of biosafety level 2. Project has identified a number of technical parameters consistent with the biomass of microbial strains used in this study: pH, temperature, environment, issued a similar rate, air, time biomass... test results in quality microbial biomass showed that the density of microorganisms used in the study at $>10^9$ CFU/ml, biological activity unchanged compared with the same original.

Key word: microorganism inoculant, cassava starch processing waste water.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quá trình chế biến tinh bột sắn thải ra một lượng phế thải khổng lồ, phân vò sau sơ chế chiếm 20 - 35% tổng trọng lượng của củ, trong quá trình tách, lọc tinh bột thải ra một lượng bã thải đáng kể. Trung bình để sản xuất được 1 tấn tinh bột cần 3,5

- 4 tấn nguyên liệu và 7 - 8 m³ nước, con số này cho ta thấy hoạt động sản xuất của các nhà máy chế biến tinh bột sắn hàng ngày thải ra môi trường một lượng phế thải rắn và lỏng khổng lồ. Quá trình chuyển hóa tự nhiên của các chất thải của nhà máy chế biến tinh bột sắn gây mùi hôi, thối, ô nhiễm nguồn không khí, đất và nước ngầm, ảnh

hưởng đến sức khỏe cộng đồng: Nguồn phế thải rắn nếu không được thu gom và xử lý thì quá trình phân hủy các hợp chất hữu cơ tự nhiên sẽ tạo ra khí H₂S, NH₃, CH₄... gây mùi khó chịu, nước thải sinh ra sau quá trình sản xuất tinh bột sắn có các thông số đặc trưng như: pH thấp, hàm lượng chất hữu cơ và vô cơ với nồng độ rất cao, vượt nhiều lần so với tiêu chuẩn, quy chuẩn kỹ thuật môi trường và gây ô nhiễm đối với môi trường sinh thái. Với mục tiêu nâng cao hiệu quả xử lý nước thải sau chế biến tinh bột sắn, cần tiến hành tuyển chọn bộ giống vi sinh vật có hoạt tính phân giải các hợp chất hữu cơ giàu cacbon, hợp chất photphat khó tan, hợp chất chứa ni tơ liên kết, hợp chất chứa lưu huỳnh sử dụng trong xử lý nước thải sau chế biến tinh bột sắn.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Bộ giống vi sinh vật lưu giữ tại Bộ môn Sinh học Môi trường - Viện Môi trường Nông nghiệp.

2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định mật độ vi sinh vật (theo phương pháp Koch): Mật độ vi sinh vật

được xác định dựa trên phương pháp nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa, tính số lượng vi sinh vật trên mililit hoặc trên gam mẫu thông qua số khuẩn lạc phát triển trong các đĩa môi trường.

- Phân lập, tuyển chọn, xác định một số đặc điểm sinh học và ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật được xác định theo các phương pháp nghiên cứu vi sinh vật đang được sử dụng rộng rãi trong các phòng thí nghiệm.

- Hoạt tính sinh học phân giải các hợp chất hữu cơ của các chủng vi sinh vật theo phương pháp đo vòng khuếch tán trên môi trường thạch.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tuyển chọn bộ giống vi sinh vật

Từ bộ giống vi sinh vật được lưu giữ tại Bộ môn Sinh học Môi trường - Viện Môi trường Nông nghiệp, đã tuyển chọn được 4 chủng vi sinh vật có khả năng chuyển hóa chất hữu cơ sử dụng trong nghiên cứu xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn. Kết quả tuyển chọn được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật

Kí hiệu chủng	Hoạt tính sinh học				
	Phân giải CMC (D-d=mm)	Phân giải tinh bột (D- d=mm)	Phân giải hợp chất chứa N liên kết (mg/l)	Phân giải photphat khó tan (D - d=mm)	Phân giải hợp chất S (mg/l)
SHX 12	46	28	-	-	-
SHV 22	-	-	-	20	-
SHV OA7	-	-	5	-	-
SHV ON2	-	-	-	-	5

(-): không có hoạt tính

2. Khả năng tổ hợp các vi sinh vật

Trên cơ sở hoạt tính sinh học, nguồn gốc tuyển chọn đã tiến hành nghiên cứu khả năng của các chủng vi sinh vật sử dụng cho xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn. Bằng phương pháp nuôi cấy vạch trên môi trường thạch đĩa và từ các mẫu vi sinh vật được tuyển chọn đã

xác định được tổ hợp vi sinh vật để sử dụng sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý phế thải chăn nuôi. Các chủng vi sinh vật sử dụng trong tổ hợp này có khả năng sinh trưởng và phát triển trong cùng một điều kiện, không cạnh tranh và ức chế lẫn nhau. Kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Khả năng tồn tại và hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật

Ký hiệu chủng	Công thức thí nghiệm	Mật độ vi sinh vật (CFU/g) sau thời gian bảo quản				
		0 giờ	1 tháng	2 tháng	3 tháng	Hoạt tính sinh học sau 3 tháng bảo quản
SHX 12	Đơn chủng	4,65 x 10 ⁸	6,47 x 10 ⁸	4,50 x 10 ⁸	3,98 x 10 ⁸	45 mm
	Hỗn hợp	4,14 x 10 ⁸	5,56 x 10 ⁸	3,32 x 10 ⁸	2,45 x 10 ⁸	45 mm
SHV 22	Đơn chủng	4,45 x 10 ⁹	6,74 x 10 ⁹	5,81 x 10 ⁸	3,63 x 10 ⁸	20 mm
	Hỗn hợp	3,46 x 10 ⁹	5,75 x 10 ⁹	4,56 x 10 ⁸	3,86 x 10 ⁸	19 mm
SHV OA7	Đơn chủng	4,43 x 10 ⁸	8,62 x 10 ⁸	5,87 x 10 ⁸	4,80 x 10 ⁸	5 mg/l
	Hỗn hợp	3,75 x 10 ⁸	4,16 x 10 ⁸	5,63 x 10 ⁸	3,91 x 10 ⁸	4,8 mg/l
SHV ON2	Đơn chủng	4,62 x 10 ⁸	8,18 x 10 ⁸	5,43 x 10 ⁸	4,23 x 10 ⁸	5 mg/l
	Hỗn hợp	3,16 x 10 ⁸	4,46 x 10 ⁸	5,35 x 10 ⁸	3,14 x 10 ⁸	5 mg/l

Số liệu bảng 2 cho thấy mật độ các chủng vi sinh vật lựa chọn trong điều kiện hỗn hợp và riêng lẻ không có sự sai khác, sau 1 tháng bảo quản mật độ tế bào tăng nhẹ sau đó giảm và ổn định và đạt mật độ > 10⁸ CFU/g sau 3 tháng bảo quản, kết quả kiểm tra cũng cho thấy hoạt tính sinh học của vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu không có sự thay đổi so với ban đầu.

3. Phân loại các chủng vi sinh vật

Các chủng vi sinh vật được phân loại đến loài theo phương pháp phân loại học phân tử dựa trên cơ sở giải trình tự đoạn gien 16s ARN riboxom của các chủng vi sinh vật, so sánh với các trình tự có sẵn trong ngân hàng gien quốc tế EMBL bằng phương pháp FASTA 33 để định loại đến loài các chủng vi sinh vật. Kết quả định danh được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định tên và mức độ an toàn của chủng các vi sinh vật

STT	Ký hiệu chủng	Tên xác định	Mức độ ATSH
1	SHX 12	<i>Streptomyces fradiae</i>	Cấp độ 2
2	SHV 22	<i>Bacillus velezensis</i>	Cấp độ 2
3	SHV OA7	<i>Nitrosomonas</i> sp.	Cấp độ 2
4	SHV ON2	<i>Nitrobacter</i> sp.	Cấp độ 2

Dựa vào kết quả định tên các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu và đối chiếu với danh mục các loài vi sinh vật an toàn của Cộng đồng châu Âu cũng như danh mục các loài vi sinh vật bị hạn chế sử dụng cho thấy các chủng vi sinh vật đã lựa chọn được xếp vào nhóm vi sinh vật có độ an toàn thuộc mức độ 2.

Kết quả cho thấy các chủng vi sinh vật lựa chọn nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý nhanh phế thải chăn nuôi đều là các chủng vi sinh vật có độ an toàn sinh

học cao, có thể ứng dụng rộng rãi trong sản xuất chế phẩm vi sinh vật.

⇒ Từ kết quả nghiên cứu trên, đã lựa chọn chủng xạ khuẩn SHV 12, chủng vi khuẩn SHV 22, chủng SHV OA7 và chủng SHV ON2 có hoạt tính sinh học phân giải tinh bột, xenluloza, photphat khó tan, hợp chất chứa Nitơ liên kết và hợp chất chứa lưu huỳnh làm vật liệu cho nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải sau chế biến tinh bột sắn.

Với mục tiêu sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý phế thải sau chế biến tinh bột sắn làm phân bón hữu cơ sinh học, tiến hành nghiên cứu một số điều kiện thích hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh

vật như: pH, nhiệt độ, môi trường, tỷ lệ giống cấp 1, không khí, thời gian thu sinh khối... từ đó đưa ra các thông số kỹ thuật phù hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật.

Bảng 4. Điều kiện thích hợp cho quá trình nhân sinh khối các vi sinh vật

Thông số kỹ thuật	Chủng vi sinh vật			
	Chủng SHX 12	Chủng SHV 22	Chủng SHV OA7	Chủng SHV ON2
pH	7,5	7,0	7,0	7,0
Nhiệt độ nhân sinh khối (°C)	35±2	30 ±2	25 ±2	25 ±2
Thời gian nhân sinh khối (giờ)	72	72	48	72
Tỷ lệ giống cấp 1 (%)	5	5	5	
Môi trường nhân sinh khối*	SX2	SX2	SX3	SX2
Lưu lượng cấp khí (dm ³ không khí/dm ³ môi trường/phút)	0,70 - 0,75	0,70 - 0,75	0,55 - 0,75	0,55 - 0,60

(*) chú thích:

Môi trường sản xuất SX1	Môi trường sản xuất SX2	Môi trường sản xuất SX3
Rỉ đường: 20 g Bột nấm men: 10g, K ₂ HPO ₄ : 0,2 g Nước sạch: 1000 ml	Nước chiết giá: 40 g Glucose: 5 g, Bột nấm men: 5 g Nước sạch: 1000 ml	Pepton: 20 g Bột nấm men: 10 g, Glucose: 1 g Nước sạch: 1000 ml

Bảng 5. Mật độ và hoạt tính sinh học của các chủng VSV sau nhân sinh khối

Ký hiệu chủng	Tên loài	Mật độ (CFU/ml)	Hoạt tính sinh học
SHX 12	<i>Streptomyces fradiae</i>	6,12x10 ⁹	45 mm
SHV 22	<i>Bacillus velezensis</i>	6,56x10 ⁹	20 mm
SHV OA7	<i>Nitrosomonas sp.</i>	6,12x10 ⁹	4,9 mg/l
SHV ON2	<i>Nitrobacter sp.</i>	6,38x10 ⁹	5 mg/l

Số liệu kiểm tra chất lượng dịch sinh khối vi sinh vật trình bày bảng 5 cho thấy mật độ các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu đạt >10⁹ CFU/ml, hoạt tính sinh học không thay đổi so với giống gốc, kết quả cho thấy các thông số kỹ thuật đã được nghiên cứu phù hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật trong sản xuất chế phẩm quy mô phòng thí nghiệm.

IV. KẾT LUẬN

- Tuyển chọn và xác định được 01 tổ hợp gồm 04 chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải hợp chất cacbonhydrat

(xenluloza, tinh bột), phân giải photphat khó tan, hợp chất chứa nitơ liên kết, hợp chất chứa lưu huỳnh sử dụng trong sản xuất chế phẩm VSV xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn. Trong điều kiện tổ hợp các chủng vi sinh vật có khả năng cùng tồn tại và phát triển, mật độ tế bào sau 3 tháng bảo quản > 10⁸ CFU/gr, hoạt tính sinh học không thay đổi so với giống gốc.

- Các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu được định tên đến loài, không nằm trong danh mục các vi sinh vật hạn chế sử dụng (theo Cộng đồng chung châu Âu) và đảm bảo mức độ an toàn sinh học cấp độ 2.

- Đã xác định được một số thông số kỹ thuật phù hợp với quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu: pH, nhiệt độ, môi trường, tỷ lệ giống cấp 1, không khí, thời gian thu sinh khối... kết quả kiểm tra chất lượng dịch sinh khối vi sinh vật cho thấy mật độ các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu đạt $> 10^9$ CFU/ml, hoạt tính sinh học không thay đổi so với giống gốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lâm Dũng (dịch từ NXB Moscow) (1982), *Thực hành Vi sinh vật học*, NXB Đại học và THCN.
2. Trần Liên Hà và đồng nghiệp, 5/2008: Báo cáo khoa học đề tài “ *Nghiên cứu sử dụng chế phẩm sinh học vi sinh vật*

để xử lý nước hồ bị ô nhiễm”, mã số ĐT: 01C - 09/08 - 2006 - 2; Sở KH&CN Hà Nội> TCVN 6168:2002. Chế phẩm vi sinh vật phân giải xenluloza.

3. Trần Liên Hà: *Xác định khả năng loại bỏ cacbon đồng hóa của các phương pháp xử lý nước*; Tạp chí Khoa học và Công nghệ (khối 6 trường ĐH Kỹ thuật) số 55, tra.117.
4. Viện Thổ nhưỡng Nông hóa, 1998. *Sổ tay phân tích đất, nước, phân bón, cây trồng*. NXB Nông nghiệp.

Người phản biện
GS. TSKH. Trần Duy Quý

TUYỂN CHỌN CHỦNG VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI XENLULOZA CAO CHO SẢN XUẤT CHẾ PHẨM XỬ LÝ PHẾ THẢI CHĂN NUÔI DẠNG RẮN

Phạm Bích Hiền, Đào Văn Thông,
Lương Hữu Thành, Vũ Thúy Nga.

SUMMARY

Selection microorganism able high decompose of xenluloza for production inoculant treatments of solid waste livestock.

Selection microorganisms able high decompose of xenluloza will play an important role in the production inoculant for treatment of solid waste livestock. This paper showed that the strain of microorganisms signed PTCX04 was selected. It can be decomposed of pig manure. By colony characteristic, cell morphology, and sequencing of DNA fragment of 16S rRNA gene the PTCN04 strain was determined as *Streptomyces rochei*. According to European Community, species are selected have high biosafety and they are permission to apply in common. The *Streptomyces rochei* will be continuous research to apply for production of inoculant.

Keywords: Xenluloza, *Streptomyces rochei*, inoculant.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Số liệu ước tính đàn gia súc, gia cầm của Việt Nam thải ra khoảng 539.733,15 tấn chất thải rắn/ngày, trong đó khoảng 50% được xử lý bằng phương pháp ủ trước khi bón ruộng, phần còn lại được sử dụng ngay hoặc cho thải trực tiếp ra môi trường

gây nhiều vấn đề ô nhiễm làm lây lan nguồn bệnh ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng cũng như chính ngành chăn nuôi. Phế thải chăn nuôi, ngoài hàm lượng dinh dưỡng còn chứa khoảng 20 - 30% các hợp chất hydratcacbon mà cây trồng không sử dụng được, trong đó xenluloza chiếm tỷ lệ cao nhất. Phân giải xenluloza tự nhiên là