

# TUYỂN CHỌN GIỐNG VI SINH VẬT ĐỂ SẢN XUẤT CHẾ PHẨM VI SINH MỚI (VNUA-MiosV) DÙNG XỬ LÝ CHẤT THẢI CHĂN NUÔI

Nguyễn Thị Minh<sup>1\*</sup>, Doãn Thị Linh Đan<sup>1</sup>, Phạm Văn Cường<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này nhằm tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải chuyển hóa chất hữu cơ cao và đảm bảo an toàn với sinh vật để sản xuất chế phẩm vi sinh mới dùng xử lý chất thải chăn nuôi. Kết quả đã tuyển chọn được 5 chủng vi sinh vật bao gồm: 3 chủng vi khuẩn (NH2, NH7, A2), 1 chủng nấm men (B.M3) và 1 chủng xạ khuẩn Streptomyces (S.X3) kết hợp với chủng Tricoderma trong bộ giống có sẵn. Các chủng này có khả năng phân hủy tốt các hợp chất hữu cơ như xenlulo, tinh bột, protein (đường kính vòng phân giải cơ chất > 3 cm), có khả năng lên men và khử mùi tốt, có độ an toàn cao đối với thực vật và động vật và không đối kháng nhau. Xác định được điều kiện nhân giống tối ưu cho các chủng vi sinh vật tuyển chọn, trong đó thích hợp ở pH trung tính, thời gian nuôi cấy từ 48-72 giờ với tốc độ lắc từ 200-250 vòng/phút. Chế phẩm vi sinh vật mới được nghiên cứu thể hiện khả năng phân giải chất thải chăn nuôi khá tốt, cho hiệu quả cao hơn (nhiệt độ đồng ủ lên tới 74°C, mật độ vi sinh vật phân giải xellulo đạt 2,25.10<sup>7</sup> CFU/g) so với một số chế phẩm hiện có trên thị trường nên có tiềm năng thương mại hóa để ứng dụng trong xử lý chất thải chăn nuôi.

Từ khóa: *Chế phẩm vi sinh, chất thải chăn nuôi, vi sinh vật, tuyển chọn.*

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chăn nuôi là ngành kinh tế quan trọng của nông nghiệp Việt Nam, tính đến tháng 6 năm 2020, tổng số vật nuôi của Việt Nam là khoảng 23,05 triệu con lợn, 8,4 triệu con trâu, bò và 481,1 triệu gia cầm (Tổng cục Thống kê, 2020). Theo báo cáo thống kê đến tháng 6 năm 2018 (Cục Chăn nuôi, 2018), hàng năm có khoảng 153,4 triệu tấn chất thải rắn và 25-30 triệu khối chất thải lỏng phát sinh từ chăn nuôi. Và chỉ có khoảng 40% các trang trại, hộ gia đình xây dựng các hệ thống xử lý chất thải chăn nuôi (phần lớn là các loại hầm biogas). Lượng chất thải còn lại không được xử lý mà xả trực tiếp ra kênh rạch, ao cá và cánh đồng, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến môi trường, suy giảm chất lượng cây trồng, và ảnh hưởng xấu đến sức khỏe của con người và vật nuôi (Bộ TN&MT, 2015). Vì vậy, việc xử lý chất thải chăn nuôi, đặc biệt là chất thải chăn nuôi gia súc, gia cầm đang là một vấn đề cần thiết được quan tâm của các cơ quan nhà nước, của cộng đồng và của chính những người chăn nuôi.

Hiện nay, chế phẩm sinh học dùng để xử lý chất thải hữu cơ, cải tạo đất và tăng năng suất cây trồng khá phổ biến ở Việt Nam. Tuy nhiên, vẫn đang cần có chế phẩm vi sinh được sản xuất chuyên dùng cho việc xử lý chất thải chăn nuôi có hiệu quả thực sự cao. Việc sử dụng công nghệ Biogas trong xử lý chất thải chăn nuôi lợn hiện nay chưa được xem là một biện pháp xử lý triệt để chất thải chăn nuôi vì lượng khí dư thừa lại được xả ra môi trường và phụ phẩm khí sinh học vẫn chưa được chuyển hóa hết và còn chứa nhiều mầm bệnh. Nghiên cứu tuyển chọn giống vi sinh vật có khả năng phân giải chuyển hóa chất hữu cơ cao để sản xuất chế phẩm vi sinh mới dùng xử lý chất thải chăn nuôi nhằm mục đích giải quyết thực tiễn ô nhiễm môi trường do chất thải chăn nuôi mang lại và tái sử dụng chất thải chăn nuôi để tạo thành phân hữu cơ phục vụ cho sản xuất nông nghiệp tuần hoàn và bền vững.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu thí nghiệm

17 chủng VSV phân lập từ 4 nguồn hữu cơ khác nhau trên 6 loại môi trường chuyên tính. Có 8 chủng phân lập được từ bã nấm (chiếm 47,06%), 4 chủng phân lập từ rom rạ, 3 chủng phân lập từ phân gà và 2 chủng phân lập từ phân bò.

<sup>1</sup> Khoa Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup> Trung tâm Nghiên cứu Cây trồng Việt Nam và Nhật Bản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

\*Email: nguyennminh@vnua.edu.vn

## 2.2. Phương pháp tuyển chọn giống vi sinh vật

### 2.2.1. Xác định hoạt tính enzyme phân giải xellulo, protein, tinh bột

Khả năng phân giải chất hữu cơ được xác định theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch (William, 1983) trong đó đường kính vòng phân giải được xác định bằng hiệu số giữa vòng phân giải và kích thước lỗ thạch sau khi nuôi cấy và nhuộm màu bằng dung dịch lugol. Lượng cơ chất (xellulo, gelatin, tinh bột) bổ sung vào môi trường với tỷ lệ 2%.

### 2.2.2. Xác định mật độ vi sinh vật

Số lượng VSV được xác định bằng cách đếm trực tiếp các khuẩn lạc tạo thành trên môi trường thạch bằng sau khi nuôi cấy theo phương pháp pha loãng Koch, sử dụng môi trường chuyên tính cho mỗi chủng loại VSV theo TCVN. Kết quả được tính theo công thức:  $S = \frac{A \times 10^n}{V} \times k$  (CFU/g). Trong đó: S: Số lượng VSV (CFU/g); A: Số khuẩn lạc; n: hệ số pha loãng; V: thể tích dung dịch nuôi cấy; k: hệ số khô kiệt.

Giống VSV được kiểm tra bằng cách làm tiêu bản, nhuộm gram rồi quan sát dưới kính hiển vi và so sánh với khóa phân loại của Schipper (1979) và Klick (2004). Xác định tính đối kháng của VSV theo phương pháp cấy vạch.

## 2.3. Đánh giá độ an toàn của chủng VSV trên cây trồng (cây rau)

Thí nghiệm được bố trí trong chậu (5 kg đất/chậu), đặt trong nhà lưới, tưới nước và chăm sóc hàng ngày, nhiệt độ trung bình 28 - 32°C. Thí nghiệm được thực hiện trên cây rau cải (15 ngày tuổi); trồng 2 cây/chậu, 3 lần lặp (18 chậu/6 công thức).

Bón lót phân hữu cơ khoáng Sông Gianh với lượng 5 g/chậu. Sau 5 ngày trồng, nhiễm vi khuẩn thử nghiệm vào gốc cây, mật độ  $10^6$  CFU/g đất (tương ứng 0,2 ml dịch vi sinh vật/cây); nhiễm 1 lần/tuần.

Các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ cây chết, chiều cao cây và năng suất chất xanh sau 30 ngày trồng. Khả năng gây bệnh của các chủng vi khuẩn được tính bằng công thức Schneider Orelli:

$$\text{Hiệu lực gây bệnh} = \frac{b - k}{100 - k} \times 100$$

Trong đó: b là % cây chết ở lô xử lý; k là % cây chết ở lô đối chứng.

## 2.4. Xác định độ an toàn các chủng VSV phân giải chất thải chăn nuôi trên động vật

Đánh giá độ an toàn của chủng VSV trên động vật máu nóng (chuột bạch), xác định độc tính của các chủng vi sinh vật trên chuột theo phương pháp LD50 oral (liều gây chết trung bình 50% cá thể chuột khi thuốc xâm nhập qua đường miệng) của NIAST, 2003. Chuột có khối lượng 18 - 20 g/con được nuôi ổn định trong 3 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Thí nghiệm tiến hành 7 công thức, mỗi công thức được lặp lại 3 lần, 3 cá thể/công thức. Trong đó, CT 1 là đối chứng, CT 2 sử dụng chế phẩm Biolactovin. Bom dịch vi sinh vật trực tiếp vào dạ dày chuột thí nghiệm bằng kim chuyên dụng, nồng độ vi sinh vật đạt  $10^7$  CFU/ml (20  $\mu$ l dịch vi sinh vật/con/ngày).

Theo dõi các triệu chứng bất thường của chuột trong vòng 24 giờ để đánh giá mức độ gây độc cấp tính và theo dõi khả năng gây độc bán trường diễn trong 30 ngày của các chủng vi sinh vật nghiên cứu. Nếu có chuột chết thì mổ ra quan sát tổng thể phủ tạng, tính tỷ lệ chuột chết và xác định LD50 theo công thức Karber – Behrens.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào thời gian trước uống dịch vi sinh vật và sau 30 ngày uống. Đánh giá chức năng tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, hàm lượng hemoglobin. Đánh giá khả năng vận động của chuột trên mô hình bơi cưỡng bức (FST). Chỉ tiêu quan sát là thời gian cho mỗi trạng thái trèo hoặc lặn, bơi và bất động.

## 2.5. Đánh giá khả năng tổ hợp các chủng VSV phân giải chất thải chăn nuôi

Đánh giá mật độ và hoạt tính phân giải chất hữu cơ của các chủng VSV trong tổ hợp VSV tuyển chọn ở điều kiện đơn lẻ và hỗn hợp sau bảo quản (7, 15, 21 và 30 ngày) theo phương pháp nêu trên (mục 2.1).

## 2.6. Xác định điều kiện lên men nhân sinh khối tối ưu cho các chủng VSV được tuyển chọn phân giải chất thải chăn nuôi

Đánh giá khả năng tồn tại và hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật trong điều kiện đơn lẻ và hỗn hợp được tiến hành nhằm xác định nhiệt độ nhân giống (25, 28, 30, 35°C), pH (6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0), tốc độ lắc (160, 200, 250, 300 vòng/phút và thời

gian nuôi cấy (24, 36, 48, 60, 72, 84 giờ). Từ các kết quả thu được, lựa chọn điều kiện thích hợp cho lên men nhân sinh khối 5 chủng vi sinh vật nghiên cứu. Xác định mật độ vi sinh vật ở điều kiện đơn lẻ và hỗn hợp ở thời điểm: Ban đầu (0 giờ), 14 và 30 ngày; Xác định hoạt tính sinh học của chủng VSV ở thời điểm: Ban đầu (0 giờ) và 30 ngày.

**2.7. Đánh giá hiệu lực của chế phẩm mới trong xử lý chất thải chăn nuôi**

Chế phẩm vi sinh vật là hỗn hợp 5 chủng vi sinh vật đã tuyển chọn và chủng *Trichoderma* trong bộ giống có sẵn được sản xuất theo phương pháp phối trộn chất mang thanh trùng. Các chủng vi sinh vật được nhân sinh khối riêng rẽ trên môi trường xác định theo điều kiện tối ưu, sau đó phối trộn với nhau. Tỷ lệ phối trộn vi sinh vật trong chế phẩm: NH2 : A2 : NH7 : B.M3 : S.X3: Tricho = 1:1:1:1:1.

Thí nghiệm đánh giá hiệu quả phân giải chất thải chăn nuôi của chế phẩm Vnua-MiosV được bố trí gồm 4 công thức trên chất thải chăn nuôi lợn tại Viện Nghiên cứu Giống lợn chất lượng cao, Học viện Nông nghiệp Việt Nam; trong đó có sử dụng 2 loại chế phẩm vi sinh hiện có trên thị trường gồm chế phẩm Emuniv và BioMT để so sánh (4 CT gồm: đối

chứng không sử dụng chế phẩm, sử dụng chế phẩm nghiên cứu Vnua-MiosV, chế phẩm Emuniv và BioMT). Mỗi công thức sử dụng 1 tấn chất thải chăn nuôi lợn, chế phẩm vi sinh được rải đều vào đống ủ theo lớp (tỷ lệ 1%) trong bể và được ủ theo phương pháp bán hiếu khí, tiến hành đảo trộn 2 lần sau 7-10 và 18-20 ngày ủ. Chỉ tiêu theo dõi gồm diễn biến nhiệt độ đống ủ và mật độ vi sinh vật phân giải xenlulo, *E. coli* và *Salmonella*.

**2.8. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu**

Sử dụng hàm ANOVA một nhân tố với độ tin cậy P = 95% theo chương trình Microsoft Excel 2007 và xử lý thống kê theo chương trình IRRISTAT.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Khả năng phân giải chất hữu cơ của vi sinh vật**

Kết quả khảo sát khả năng phân giải chất hữu cơ của vi sinh vật được thể hiện ở bảng 1. Các chủng VSV đều có khả năng phân giải hợp chất hữu cơ khá rõ, tuy nhiên có sự khác nhau giữa các chủng và giữa các hợp chất hữu cơ. Khả năng phân giải xenlulo là tốt nhất, sau đó đến protein, tinh bột và cuối cùng là phân giải lân.

**Bảng 1. Khả năng phân giải xenlulo, protein, tinh bột và phân giải lân của các chủng VSV phân giải chất thải chăn nuôi**

STT	Kí hiệu VSV	Đường kính vòng phân giải (cm)			
		Xenlulo	Protein	Tinh bột	Lân
1	MO5	2,33	0	1,56	0
2	NH2	0	3,15	2,45	1,40
3	NH4	2,17	2,10	1,93	0,80
4	NH7	2,37	3,00	1,76	1,20
5	XK8	2,20	2,20	1,53	0,83
6	XK11	3,50	3,35	1,90	0,43
7	A1	2,70	3,13	1,20	0,85
8	A2	4,20	2,10	2,40	0,30
9	A3	3,70	3,20	2,03	0
10	B1	3,70	1,67	3,10	0
11	B2	2,60	0	2,03	0,60
12	M3	3,20	3,10	2,07	0,40
13	M6	2,20	2,80	1,10	0,20
14	N2	2,70	3,13	2,70	0,30
15	N4	3,20	2,37	2,17	0
16	X2	2,20	2,40	0,33	0
17	X3	3,50	3,70	3,27	0,45

Đa số các chủng VSV có khả năng phân giải xenlulo khá tốt, đường kính vòng phân giải đạt từ 2,2 - 4,4 cm, trong đó có duy nhất chủng NH2 không có khả năng phân giải xenlulo. Có 7 chủng đường kính

phân giải > 3 cm bao gồm: XK11, A2, A3, B1, M3, N4 và X3. Kết quả này có sự tương đồng so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh (2016) khi phân lập các chủng từ đồng ủ tự nhiên và bã nấm. Kết quả này cũng khá thống nhất so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thúy Nga (2010) về tuyển chọn vi sinh vật phân giải xenlulo từ đất để sản xuất phân vi sinh cho cây lâm nghiệp.

Mặt khác, các chủng VSV có khả năng phân giải protein khá tốt, đường kính vòng phân giải đạt từ 1,67-3,7 cm, trong đó có 8 chủng đường kính phân giải >3 cm: NH2, NH7, XK11, A1, A3, M3, N2 và X3 và 6 chủng có đường kính vòng phân giải trong khoảng 2<D<3 cm.

Tất cả các chủng VSV có khả năng phân giải tinh bột, đường kính vòng phân giải đạt từ 0,33-3,27 cm, tuy nhiên nhìn chung khả năng phân giải này lại kém hơn khả năng phân giải xenlulo và protein. Có 2 chủng đường kính phân giải tinh bột > 3 cm là B1 và X3; có 7 chủng có đường kính vòng phân giải 2<D<3 cm.

Thêm vào đó, trong 17 chủng VSV có 12 chủng có khả năng phân giải lân, đường kính vòng phân giải đạt từ 0,2-1,4 cm. Chủng phân giải lân tốt nhất là NH2 với vòng phân giải đạt 1,4 cm; tiếp đến là NH7 với vòng phân giải đạt 1,2 cm. Kết quả này có sự tương đồng so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh (2017) về tuyển chọn VSV phân giải lân để sản xuất chế phẩm sinh học cải tạo đất.

Như vậy, một số chủng VSV có khả năng phân hủy đồng thời các hợp chất hữu cơ khá tốt cho tiềm năng sản xuất chế phẩm vi sinh xử lý chất thải chăn nuôi đạt hiệu quả cao. 5 chủng VSV có hoạt tính phân giải chất hữu cơ và phân giải lân cao nhất được tuyển chọn dùng để nghiên cứu tiếp theo bao gồm: NH2, NH7, A2, M3 và X3.

### 3.2. Khả năng lên men đường của vi sinh vật

Đánh giá khả năng lên men của 5 chủng VSV tuyển chọn (A2, M3, NH2, NH7 và X3) được thể hiện qua khả năng tiêu thụ đường. Kết quả phân tích được trình bày ở bảng 2. Kết quả cho thấy khả năng tiêu thụ đường của các chủng VSV tuyển chọn ở mức khá. Đường tiêu thụ được sau 48 giờ đạt từ 0,04 - 0,22 độ Bx. Khả năng tiêu thụ cao nhất là chủng X3 và thấp nhất là chủng NH2.

**Bảng 2. Khả năng lên men của các chủng VSV phân giải chất thải chăn nuôi**

STT	Chủng	Khả năng tiêu thụ đường (Bx)		Đường tiêu thụ
		24 giờ	72 giờ	
1	NH2	0,67	0,63	0,04
2	NH7	0,51	0,32	0,19
3	A2	0,74	0,60	0,14
4	M3	0,52	0,42	0,10
5	X3	0,53	0,31	0,22

Khả năng khử mùi của các chủng VSV thể hiện ở khả năng phân giải các hợp chất hữu cơ, khả năng khử các chất khí CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>... có trong nguyên liệu ủ. Theo đánh giá khả năng khử mùi của các chủng VSV qua cảm quan ở quy mô phòng thí nghiệm bằng cách phun đều dịch nuôi VSV vào 2 kg chất thải và theo dõi sự thay đổi mùi của chất thải theo thời gian. Kết quả khảo sát theo cảm quan cho thấy mùi của các thí nghiệm nhẹ dần và giảm dần đến không mùi theo thời gian khi sử dụng dịch nuôi cấy các chủng VSV. Điều này cho thấy tiềm năng khử mùi và hiệu quả của các chủng VSV tuyển chọn trong quá trình xử lý chất thải.

### 3.3. Đánh giá an toàn sinh học của các chủng VSV xử lý chất thải chăn nuôi trên cây trồng

**Bảng 3. Độ an toàn của các chủng VSV phân giải chất thải chăn nuôi trên cây rau cải ngọt**

Công thức	Chủng VSV	Tỷ lệ cây chết (%)	Chiều cao cây (cm)	Năng suất chất xanh (g/cây)	Khả năng gây bệnh
CT1(ĐC)	-	0	16,12	10,03	-
CT2	NH2	0	19,90	12,22	-
CT3	NH7	0	18,72	13,23	-
CT4	A2	0	18,15	14,07	-
CT5	M3	0	20,04	13,86	-
CT6	X3	0	18,29	13,56	-
CV(%)			1,40	1,40	
LSD <sub>5%</sub>			0,48	0,34	

Ghi chú: (-): không có, bằng không

Kết quả đánh giá độ an toàn của 5 chủng VSV trên cây rau cải ngọt (Bảng 3) chỉ rõ: Tỷ lệ cây chết và khả năng gây bệnh ở tất cả các công thức bằng không, có nghĩa rằng tất cả các chủng VSV tuyển chọn đều an toàn đối với cây trồng, không gây hại cho cây, không gây bệnh và không gây chết cây rau cải ngọt.

Ngược lại, các công thức sử dụng các chủng VSV lại có khả năng thúc đẩy sự phát triển của cây trồng. Không những thế, khi sử dụng các chủng VSV này còn có khả năng thúc đẩy sự sinh trưởng, phát triển của cây trồng, giúp tăng năng suất cây trồng. Chiều cao cây rau ở công thức thí nghiệm đạt từ 18,15-20,04 cm, cao hơn so với đối chứng là 12,6 - 24,3%; khối lượng cây rau cải đạt từ 12,22-14,07 g/cây, cao nhất là công thức sử dụng chủng A2 (tăng so với đối chứng là 40,3%). Sự sai khác này đều có ý nghĩa thống kê.

### 3.4. Đánh giá độ an toàn các chủng VSV xử lý chất thải chăn nuôi trên động vật

Các chủng VSV thử nghiệm không gây ảnh hưởng đến khối lượng của chuột bạch. Kết quả ở bảng 4 cho thấy, sau 30 ngày, sự thay đổi về số lượng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu ở các công thức uống các chủng VSV thử nghiệm không có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ) giữa các công thức. Ảnh hưởng của chủng VSV nghiên cứu đến chức năng vận động của chuột bạch được đánh giá thông qua chỉ tiêu thời gian bất động, thời gian bơi, thời gian lặn/chèo trên mô hình bơi cưỡng bức (FST). Kết quả ở bảng 5 cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa, các khảo sát thử nghiệm không làm ảnh hưởng đến khả năng vận động của chuột bạch.

Như vậy, các chủng VSV thử nghiệm không gây độc tính cây trồng (rau cải ngọt) và trên động vật máu nóng (chuột bạch).

**Bảng 4. Ảnh hưởng của các chủng VSV phân giải chất thải chăn nuôi đến các chỉ số huyết học chuột bạch sau 30 ngày thí nghiệm**

Công thức \ Chỉ số theo dõi	Hồng cầu (T/l)	Bạch cầu (G/l)	Tiểu cầu (G/l)
CT1 (ĐC)	8,43 ± 0,02	7,34 ± 0,05	850,33 ± 61,37
CT2 (CP Biolactovin)	8,45 ± 0,05	7,47 ± 0,02	854,00 ± 39,00
CT3 (NH2)	8,65 ± 0,08	7,35 ± 0,05	855,00 ± 65,00
CT4 (NH7)	8,78 ± 0,03	7,28 ± 0,06	855,33 ± 34,33
CT5 (A2)	8,63 ± 0,11	7,59 ± 0,02	856,04 ± 29,00
CT6 (M3)	8,33 ± 0,04	7,48 ± 0,02	850,05 ± 31,00
CT7 (X3)	8,11 ± 0,15	7,43 ± 0,01	853,12 ± 16,09
P	$P > 0,05$	$P > 0,05$	$P > 0,05$

**Bảng 5. Ảnh hưởng của các chủng vi sinh vật phân giải chất thải chăn nuôi đến khả năng vận động của chuột bạch trên mô hình bơi cưỡng bức (FST)**

Công thức \ Chỉ số theo dõi	Thời gian bất động (giây)	Thời gian Bơi (giây)	Thời gian lặn hay trèo (giây)
CT1 (ĐC)	151,63 ± 2,25	133,00 ± 12,00	19,30 ± 0,12
CT2 (CP Biolactovin)	152,47 ± 1,84	134,67 ± 14,33	19,47 ± 0,14
CT3 (NH2)	151,13 ± 0,36	134,67 ± 6,33	19,47 ± 0,06
CT4 (NH7)	153,23 ± 2,52	132,33 ± 2,33	19,23 ± 0,02
CT5 (A2)	151,03 ± 1,84	133,67 ± 4,33	19,37 ± 0,04
CT6 (M3)	151,30 ± 2,52	133,00 ± 12,00	19,30 ± 0,12
CT7 (X3)	150,23 ± 0,01	132,33 ± 1,33	19,23 ± 0,01
P	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$

**3.5. Đánh giá khả năng kết hợp của các chủng VSV dùng xử lý chất thải chăn nuôi**

Khả năng tồn tại và hoạt tính sinh học của các chủng VSV ở điều kiện đơn lẻ và hỗn hợp sau bảo quản là một trong các chỉ tiêu đánh giá khả năng tổ hợp của các chủng VSV. Kết quả được thể hiện trong bảng 7 và bảng 8. Mật độ tế bào và hoạt tính sinh học

của các chủng vi sinh vật tuyển chọn trong điều kiện đơn lẻ và hỗn hợp có sự sai khác không đáng kể sau 30 ngày bảo quản. Điều này chứng tỏ các chủng vi sinh vật tuyển chọn có khả năng cùng phát triển, không cạnh tranh và ức chế nhau, đồng thời có thể phát huy hiệu quả trong thời gian dài.

**Bảng 6. Khả năng tồn tại của các chủng VSV tuyển chọn trong điều kiện đơn lẻ và hỗn hợp**

*Đơn vị tính: 10<sup>8</sup> CFU/ml*

Chỉ tiêu phân tích	0 ngày		7 ngày		15 ngày		21 ngày		30 ngày	
	Đơn chủng	HH chủng	Đơn chủng	HH chủng	Đơn chủng	HH chủng	Đơn chủng	HH chủng	Đơn chủng	HH chủng
VSV phân giải protein	13,12	9,40	12,67	7,54	10,80	5,81	7,67	4,13	5,79	1,70
VSV phân giải xellulo	5,64	2,88	4,57	2,75	3,71	0,64	2,52	0,41	1,90	0,20
VSV phân giải tinh bột	2,33	0,80	1,91	0,69	1,50	0,44	1,26	0,45	0,96	0,20
VK Lactic	12,22	5,03	10,36	4,50	8,59	2,33	4,44	1,67	1,70	0,64
Nấm men	4,59	1,90	3,33	1,14	2,87	0,96	2,12	0,75	1,56	0,48

*Ghi chú: HH: hỗn hợp*

**Bảng 7. Hoạt tính sinh học của các chủng VSV tuyển chọn ở điều kiện đơn lẻ và hỗn hợp**

Hoạt tính sinh học	Đơn chủng	Hỗn hợp chủng
	Vòng phân giải Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (D - d, cm)	0 giờ
Sau 30 ngày		1,5
Vòng phân giải protein (D - d, cm)	0 giờ	2,1
	Sau 30 ngày	1,9
Vòng phân giải tinh bột (D - d, cm)	0 giờ	2,3
	Sau 30 ngày	2,2
Vòng phân giải xenlulo (D - d, cm)	0 giờ	2,6
	Sau 30 ngày	2,4

**3.6. Điều kiện nhân sinh khối tối ưu của các chủng vi sinh vật**

Điều kiện lên men nhân giống thích hợp cho các chủng VSV tuyển chọn được trình bày ở bảng 8 .

**Bảng 8. Điều kiện nhân giống tối ưu của các chủng VSV tuyển chọn**

STT	Kí hiệu	pH	Tốc độ lắc (vòng/phút)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	Môi trường nuôi cấy
1	NH2	6-7	250	28	72	Peptone thường
2	NH7	6-8	200	28	48	Peptone thường
3	A2	6-7	250	28	48	Thạch thường
4	M3	6-8	200	30	72	Hansen
5	X3	7-8	250	30	48	Gause I

Nhìn chung, các chủng vi sinh vật tuyển chọn thích hợp sinh trưởng trong môi trường trung tính, nhiệt độ ưa ấm (25-35°C), thời gian nhân giống là 48-72 giờ với tốc độ lắc 200-250 vòng/phút.

Chế phẩm vi sinh được sản xuất từ các chủng VSV tuyển chọn theo nguyên tắc phối trộn chất mang thanh trùng trên cơ sở nhân sinh khối riêng rẽ từng chủng theo các điều kiện nhân giống tối ưu đã xác định rồi phối trộn theo tỷ lệ như nhau. Chất

**3.7. Chất lượng của chế phẩm vi sinh Vnua-MiosV**

lượng của chế phẩm được thể hiện ở bảng 9.

Kết quả theo dõi chất lượng chế phẩm vi sinh cho thấy sau sản xuất 6 tháng, chế phẩm vẫn có mật

độ vi sinh vật hữu ích cao đạt từ  $1,0 \times 10^8$  đến  $1,8 \times 10^9$  CFU/g, đạt tiêu chuẩn quy định và có thể sử dụng để xử lý chất thải chăn nuôi.

**Bảng 9. Khả năng tồn tại của các chủng vi sinh vật trong chế phẩm sau thời gian bảo quản**

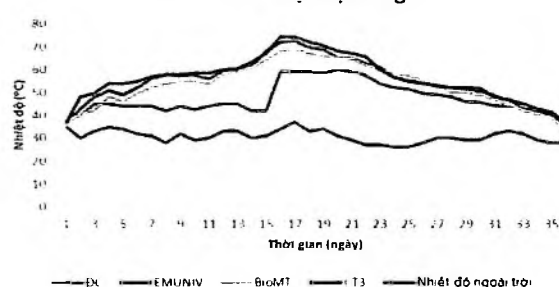
Thời gian	VSV PG xenlulo	VSV phân giải protein	VSV phân giải tinh bột	Nấm men	VK <i>lactic</i>
Ban đầu	$5,2 \times 10^9$	$2,3 \times 10^9$	$4,8 \times 10^8$	$6,9 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$
1 tháng	$4,8 \times 10^9$	$2,1 \times 10^9$	$4,3 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$
3 tháng	$3,2 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$3,4 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$
6 tháng	$1,8 \times 10^9$	$1,2 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$

3.8. Đánh giá hiệu lực của chế phẩm vi sinh mới trong xử lý chất thải chăn nuôi

Kết quả nghiên cứu cho thấy nhiệt độ các đồng ủ thí nghiệm cao hơn hẳn so với đối chứng, điều này cũng chứng minh cho hoạt động phân giải chất hữu cơ của vi sinh vật trong các đồng ủ diễn ra mạnh mẽ. Nhìn chung, ngưỡng nhiệt và biến thiên nhiệt độ của các đồng ủ thí nghiệm (Hình 1) khá tương đồng, trong đó nhiệt độ theo dõi được ở CT3 có phần cao hơn hai đồng ủ còn lại. Tuy nhiên, khi xét về biên độ dao động nhiệt thì thấy, trong nửa thời gian đầu của quá trình ủ, nhiệt độ đồng ủ CT3 tăng nhanh và mạnh mẽ, đạt mức nhiệt độ cao nhất là 74°C sau 14 ngày ủ và khoảng nhiệt độ cao (từ 60°C - 74°C) được duy trì khoảng hơn 1 tuần sau đó. Với ngưỡng nhiệt độ cao như thế giúp đảm bảo tiêu diệt các VSV gây

bệnh như *E. coli* và *Salmonella*. Và cũng vì thế, khả năng xử lý VSV gây bệnh trong chất thải chăn nuôi của chế phẩm nghiên cứu tốt hơn (Bảng 10) so với các công thức còn lại.

**Diễn biến nhiệt độ đồng ủ**



**Hình 1. Diễn biến nhiệt độ đồng ủ**

**Bảng 10. Số lượng vi sinh vật trong đồng ủ**

Công thức	<i>E. coli</i> (CFU.10 <sup>3</sup> /ml)			<i>Salmonella</i> (CFU.10 <sup>3</sup> /ml)			VSV phân giải xenluloza		
	14 ngày	30 ngày	45 ngày	14 ngày	30 ngày	45 ngày	14 ngày (CFU.10 <sup>4</sup> /ml)	30 ngày (CFU.10 <sup>6</sup> /ml)	45 ngày (CFU.10 <sup>7</sup> /ml)
ĐC	19,54	14,55	13,89	13,33	12,91	11,99	1,87	0,03	0,004
CPNC	6,23	1,91	0,12	2,30	0,67	0	53,56	3,02	2,25
Emuniv	6,33	2,34	0,20	0,98	0,85	0,60	50,21	2,17	0,27
BioMT	7,50	4,23	2,10	6,88	5,75	4,69	10,60	0,37	0,09

#### 4. KẾT LUẬN

Tuyển chọn được 5 chủng vi sinh vật để sản xuất chế phẩm vi sinh mới dùng xử lý chất thải chăn nuôi gồm 3 chủng vi khuẩn (NH2, NH7, A2), 1 chủng nấm men (B.M3) và 1 chủng xạ khuẩn *Streptomyces* (S.X3) kết hợp với chủng *Tricoderma* trong bộ giống có sẵn; các chủng này có khả năng phân hủy tốt các hợp chất hữu cơ như xenlulo, tinh bột, protein (đường kính vòng phân giải cơ chất > 3 cm); có khả

năng lên men và khử mùi; có độ an toàn cao đối với thực vật và động vật và không đối kháng nhau.

Xác định được điều kiện nhân giống tối ưu cho các chủng vi sinh vật tuyển chọn, trong đó thích hợp ở pH trung tính, thời gian nuôi cấy từ 48-72 giờ với tốc độ lắc từ 200-250 vòng/phút.

Chế phẩm vi sinh vật mới được nghiên cứu thể hiện khả năng phân giải chất thải chăn nuôi khá tốt, cho hiệu quả cao hơn so với một số chế phẩm hiện

có trên thị trường nên có tiềm năng thương mại hóa để ứng dụng trong xử lý chất thải chăn nuôi.

**LỜI CẢM ƠN**

*Nghiên cứu này là một trong những nội dung của đề tài trọng điểm cấp Bộ, mã số B2017-11-01TD của Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Xin trân trọng cảm ơn Bộ Nông nghiệp & Phát triển nông thôn đã hỗ trợ kinh phí, tạo điều kiện để chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.*

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Báo cáo công tác bảo vệ môi trường ngành nông nghiệp 2018. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
2. Nguyễn Thị Minh (2016). Nghiên cứu xử lý phế phụ phẩm trồng nấm làm giá thể hữu cơ trồng rau an toàn. Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, 14 (11), tr. 1781-1788.
3. Nguyễn Thị Minh (2017). Tuyển chọn giống vi sinh vật chuyển hóa lân để sản xuất chế phẩm sinh

học dùng cải tạo đất. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 20, tr.93-98.

4. Mai Thế Hào (2016). Chất thải trong chăn nuôi và một số biện pháp xử lý. Cục Chăn nuôi <http://safa.com.vn/vi/view-1098-chat-thai-trong-chan-nuoi-va-mot-so-bien-phap-xu-ly>
5. Tổng cục Thống kê Việt Nam (2020). Chăn nuôi Việt Nam. <https://channuoivietnam.com/thong-ke-chan-nuoi/>. Accessed 3/12/2020.
6. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8741: 2011 vi sinh vật nông nghiệp – phương pháp bảo quản ngắn hạn.
7. Nguyễn Thị Thúy Nga (2010). Phân lập, tuyển chọn vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo hiệu lực cao, phù hợp với điều kiện đất bạc màu và đặc điểm sinh học của chúng để sản xuất phân vi sinh cho cây lâm nghiệp. Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam. [http://vafs.gov.vn/vn/wp-content/uploads/sites/2/2010/12/9R.Phan\\_lap\\_xenlulo\\_Nga\\_BVR.pdf](http://vafs.gov.vn/vn/wp-content/uploads/sites/2/2010/12/9R.Phan_lap_xenlulo_Nga_BVR.pdf)

**SELECTION OF MICROORGANISMS TO PRODUCE THE NEW MICROBIOLOGICAL PRODUCT (Vnua-MiosV) FOR TREATMENT OF LIVESTOCK WASTE**

Nguyen Thi Minh, Doan Thi Linh Dan, Pham Van Cuong

**Summary**

The purpose of this study is to select strains of microorganisms with capable of degrading organic compounds and ensure safety for the organism in order to produce new microbiological products for the treatment of animal wastes. The results selected 5 strains of microorganisms including 3 strains of bacteria (NH2, NH7, A2), 1 strain of yeast (B.M3) and 1 strain of Streptomyces (S.X3) combined with Trichoderma strain in the available microorganism bank. These strains have good ability to decompose organic compounds such as cellulose, starch, protein (substrate resolution ring diameter > 3cm); has good fermentation and deodorizing ability; Highly safe for plants and animals and non-antagonistic. Determining the optimal propagation conditions for selected strains of microorganisms, which are suitable at neutral pH, culture time from 48-72 hours with shaking speed from 200-250 rpm. The newly microbial inoculant demonstrates the ability to decompose livestock wastes quite well, gives higher efficiency (the temperature of the compost pile is up to 74°C, the density of microorganisms in cellulose resolution reaches 2.25.10<sup>7</sup> CFU/g) compared with a number of inoculants available on the market, there is a potential for commercialization for application in livestock waste treatment.

**Keywords:** *Microbiological products, livestock wastes, microorganisms, selection.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 13/11/2020

Ngày thông qua phản biện: 14/12/2020

Ngày duyệt đăng: 21/12/2020