

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI CHẤT HỮU CƠ ỨNG DỤNG TRONG XỬ LÝ RÁC THẢI SINH HOẠT

Lê Anh Tuấn*, Bùi Thị Vân Hương, Võ Nhật Minh⁽¹⁾

TÓM TẮT

Cùng với sự gia tăng dân số và phát triển kinh tế, tình trạng ô nhiễm môi trường do rác thải sinh hoạt (RTSH) ngày càng trở nên phổ biến ở nhiều nơi, đặc biệt là ở những thành phố lớn. Xử lý RTSH thành phân hữu cơ là một trong những lựa chọn hàng đầu do thành phần RTSH chủ yếu là các chất hữu cơ dễ phân hủy sinh học. Nghiên cứu này đã phân lập và tuyển chọn được 3 chủng vi sinh vật ký hiệu là Mxe2, Mxe5 và MTb1 có khả năng phân giải cellulose, tinh bột tốt nhất, thời gian nuôi cấy tối ưu cho quá trình sinh trưởng và phát triển là 48 h. Nghiên cứu bước đầu thử nghiệm ủ phân hữu cơ từ RTSH kết hợp với vi sinh vật (VSV) được tuyển chọn, phân hữu cơ ủ từ rác thải sinh hoạt có bổ sung VSV sau 45 ngày có thể sử dụng được.

Từ khóa: VSV phân giải tinh bột, VSV phân giải cellulose, phân hữu cơ, ủ hiếu khí, RTSH

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Báo cáo hiện trạng môi trường quốc gia năm 2019 - Chuyên đề “Quản lý chất thải rắn sinh hoạt” của Bộ TN&MT, lượng RTSH phát sinh ở khu vực đô thị khoảng 35.624 tấn/ngày [1]. RTSH phát sinh từ các nguồn: Hộ gia đình; khu thương mại; công sở; khu công cộng; hoạt động xây dựng; dịch vụ công cộng; công nghiệp và nông nghiệp. Với các hộ gia đình RTSH phát sinh ra hàng ngày chủ yếu là rác thải từ nhà bếp mà thành phần chủ yếu là rác thải hữu cơ dễ phân hủy, gây mùi hôi thối, ảnh hưởng đến môi trường không khí và sức khỏe của con người [2]. Tuy nhiên, nếu chúng ta biết tận dụng và biến nó thành một sản phẩm mới để phục vụ cho đời sống con người mà đặc biệt là sử dụng rác thải hữu cơ để làm phân compost sẽ giúp giảm thiểu lượng rác thải và tiết kiệm chi phí thu gom vận chuyển [3]. Đã có nhiều nghiên cứu về việc sử dụng vi sinh vật có khả năng phân giải chất hữu cơ trong quy trình xử lý chất thải sinh hoạt, phế phụ phẩm nông nghiệp, bùn thải... thành phân hữu cơ, việc sử dụng vi sinh vật để xử lý rác thải hữu cơ có nhiều ưu điểm về cả mặt kỹ thuật, kinh tế và môi trường [4, 5, 6]. Trong nghiên cứu này, bài báo trình bày kết quả phân lập, tuyển chọn một số chủng VSV có khả năng phân giải cellulose, tinh bột, đồng thời xác định thời gian phát triển tối ưu của các chủng VSV và bước đầu thử nghiệm ủ phân hữu cơ từ RTSH kết hợp với VSV được tuyển chọn ở quy mô hộ gia đình.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

VSV được phân lập từ các mẫu đất thu thập tại các khu vườn hộ gia đình trên địa bàn quận Thanh Xuân, TP. Hà Nội. Các mẫu đất được vận chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành xử lý, sử dụng và bảo quản ở điều kiện thích hợp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phân lập và tuyển chọn VSV: Pha loãng mẫu đến các nồng độ khác nhau, sử dụng (i) môi trường phân lập VSV phân giải cellulose có thành phần (g/L): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0; K_2HPO_4 1,0; MgSO_4 0,5; NaCl 0,01; CMC (Carboxymethylcellulose) 10; Cycloheximide 0,2; Agar 20; pH 6,8; (ii) môi trường phân lập VSV phân giải tinh bột có thành phần (g/L): NH_4Cl 9,0; K_2HPO_4 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5; CaCO_3 3,0; Glucose 20; Tinh bột tan 10; Agar 20; pH 7; nuôi ở 30°C trong 48 - 72h [7, 8]. Các chủng VSV có khả năng phân giải cellulose và tinh bột được tuyển chọn bằng phương pháp khuếch tán giếng trên các đĩa thạch - CMC và thạch - tinh bột, dựa vào kích thước đường kính của vòng phân giải [9].

Xác định thời gian sinh trưởng và phát triển tối ưu của VSV: Sử dụng môi trường phân lập VSV nêu trên (không chứa agar) làm môi trường tăng sinh, cấy vi sinh vật và tiến hành nuôi cấy lắc 120 vòng/phút trong thời gian 96 h, ở nhiệt độ 30°C, cách 8h/lần lại đo mật độ tế bào bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 540 nm [10].

¹Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Bảng 1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các chủng VSV được phân lập và mật độ tế bào của chúng

Stt	Ký hiệu	Hình dạng	Màu sắc	Mật độ (10 ⁴ CFU/g)
1	MXe1	Tròn, nhẵn	Vàng nhạt	2,2
2	MXe2	Tròn răng cưa, lõi	Vàng chanh	12
3	MXe3	Chấm tròn	Trắng	4,6
4	MXe4	Chia thùy	Nâu nhạt	1
5	MXe5	Mọc tua, vỏ định hình	Tím nhạt	2
6	MXe6	Chấm tròn, lõi	Hồng	38
7	MTb1	Tròn, nhẵn	Xám	340
8	MTb2	Mọc tua, xù xì	Vàng xám	10
9	MTb3	Chấm nhỏ	Xám	25
10	MTb4	Tròn, to	Vàng	1

Thí nghiệm xử lý rác hữu cơ: Nguyên liệu bao gồm rác thải từ nhà bếp, cỏ, lá khô, rơm rạ được cắt nhỏ từ 3-5 cm để quá trình phân hủy diễn ra nhanh hơn. Chế phẩm VSV được chuẩn bị bằng cách cấy các chủng VSV đã được tuyển chọn vào cơ chất cám gạo, ủ ở nhiệt độ 30°C, trong 3 ngày. Thí nghiệm ủ phân hữu cơ gồm công thức một (CT1) là công thức đối chứng không bổ sung chế phẩm VSV và công thức hai (CT2) bổ sung chế phẩm VSV. CT1 và CT2 được ủ trong các thùng thể tích 20 L, được phủ kín, thời gian ủ 45 ngày. Sau 45 ngày ủ, đánh giá hàm lượng đạm tổng số (N%); lân tổng số (P₂O₅); kali tổng số (K₂O) của hai công thức để đánh giá hiệu quả của chế phẩm VSV, bằng phương pháp thử TCVN 5815:2001.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân giải cellulose và tinh bột

Tiến hành phân lập trên hai môi trường phân lập VSV phân giải cellulose và tinh bột, đã phân lập được 10 chủng VSV có khả năng phân giải cellulose và tinh bột với các đặc trưng hình thái khuẩn lạc khác nhau, được thể hiện ở Bảng 1.

Từ 10 chủng VSV này, đã tuyển chọn được 3 chủng có khả năng phân giải cellulose và tinh bột tốt nhất ký hiệu là MXe2, MXe5 và MTb1, khả năng phân giải của 3 chủng VSV này thể hiện qua kích thước đường kính vòng phân giải tại Bảng 2 và Hình 1, 2. Khả năng phân giải cellulose và tinh bột của các chủng VSV đã phân lập được đạt 80 - 90% khi so sánh với chủng 6NH1 có khả năng phân giải cellulose và V18 có khả năng phân giải tinh bột của các nghiên cứu khác [9,11].

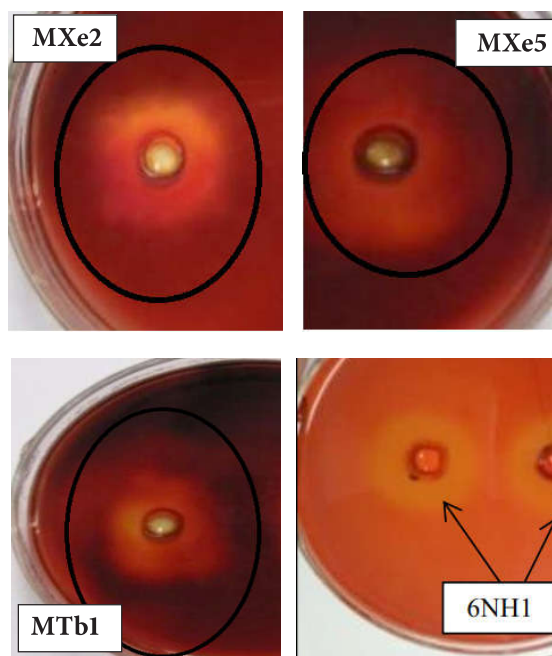
3.2. Kết quả xác định thời gian sinh trưởng và phát triển tối ưu

Sau khi tuyển chọn được 3 chủng VSV có khả năng phân giải tốt nhất, tiến hành nuôi cấy trong môi trường tăng sinh ở điều kiện nuôi cấy lắc 120 vòng/phút, nhiệt độ 30°C, thời gian 96 h. Kết quả cho thấy tất cả các chủng VSV đều sinh trưởng phát triển tốt, chúng đều có các pha sinh trưởng tương tự nhau: pha thích ứng, pha tăng trưởng, pha cân bằng và pha suy vong. Tuy nhiên, thời gian để đạt giá trị OD₅₄₀ cực đại tương ứng với thời gian sinh trưởng và phát triển tối ưu của mỗi chủng có sự khác biệt được thể hiện ở Hình 3.

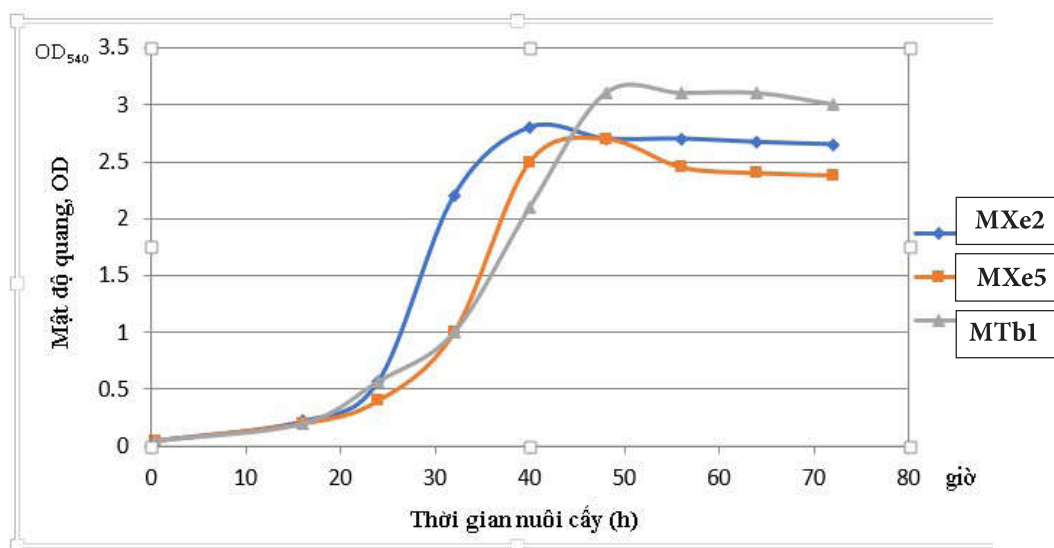
Qua đó, có thể nhận thấy giá trị OD₅₄₀ cao nhất trong khoảng thời gian từ 40 h-48 h, sau đó giá trị OD₅₄₀ cân bằng và giảm dần. Vì vậy, thời gian sinh trưởng tối ưu trung bình cho 3 chủng VSV được xác định là 48 h.

Bảng 2. Kích thước vòng phân giải các chất hữu cơ của các chủng VSV

Kí hiệu chủng	Đường kính vòng phân giải (mm)	
	Cellulose	Tinh bột
MXe2	19,2	16,2
MXe5	18,6	19,6
MTb1	17,5	20,8
6NH1	22,8	-
V18	-	22,5



▲ Hình 1. Vòng phân giải cellulose của VSV



▲ Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sự sinh trưởng và phát triển của các chủng VSV

3.3. Kết quả xử lý RTSH

Ba chủng VSV được tuyển chọn có khả năng phân giải cellulose và tinh bột cao được sử dụng như một chế phẩm sinh học nhằm thúc đẩy nhanh quá trình phân hủy sinh học của RTSH. Để đánh giá bước đầu về khả năng phân giải RTSH của chế phẩm, một số chỉ tiêu chất lượng khối ủ sau 45 ngày đã được phân tích và trình bày ở Bảng 3.

Đạm, lân, kali là các nguyên tố dinh dưỡng cần thiết của cây trồng, quyết định năng suất của cây trồng. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, hàm lượng N, P₂O₅ và K₂O tổng số ở công thức bổ sung chế

Bảng 3. Ảnh hưởng của chế phẩm VSV đến một số chỉ tiêu chất lượng khối ủ

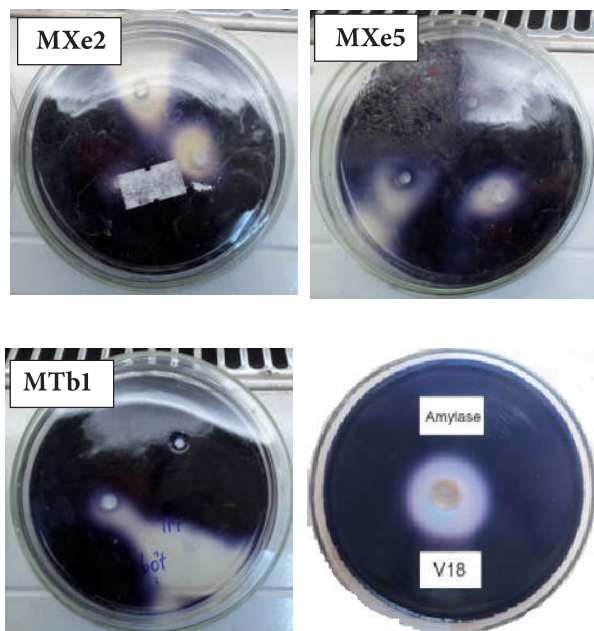
Công thức	Chất lượng phân hữu cơ (%)		
	N tổng số	P ₂ O ₅ tổng số	K ₂ O tổng số
CT1 (đối chứng)	0,30	0,24	0,52
CT2	0,41	0,37	0,67

phẩm VSV cao hơn so với công thức không bổ sung chế phẩm VSV. Bên cạnh đó, qua quan sát trong quá trình ủ, sau 1 tuần, rác thải trong hai đồng ủ đã bắt đầu phân hủy. Sau 30 ngày, đồng ủ có bổ sung chế phẩm VSV vẫn còn một phần nhỏ đang hoai mục, đồng ủ đối chứng vẫn còn khá nhiều nguyên liệu chưa phân hủy hết. Trong khi đó, sau 45 ngày, đồng ủ có bổ sung chế phẩm VSV gần như đã phân hủy hoàn toàn, tơi xốp, mịn và không có mùi khó chịu. Đồng ủ đối chứng vẫn tiếp tục được ủ, đến ngày 55 thì hầu hết nguyên liệu đã được phân hủy. Điều này phản ánh khả năng phân giải các chất hữu cơ tốt của các chủng VSV được tuyển chọn.

4. KẾT LUẬN

Trong tổng số 10 chủng VSV được phân lập từ mẫu đất nghiên cứu, đã tuyển chọn được 3 chủng có khả năng phân giải cellulose và tinh bột cao (ký hiệu MXe2, MXe5 và MTb1) với kích thước đường kính vòng phân giải > 15 mm. Thời gian nuôi cấy tối ưu cho quá trình sinh trưởng và phát triển của chúng là 48 h.

Đồng ủ có bổ sung chế phẩm VSV được chuẩn bị từ các chủng VSV được tuyển chọn có thời gian phân hủy nhanh hơn, hàm lượng N, P₂O₅ và K₂O tổng số cao hơn so với đồng ủ không bổ sung VSV. ■



▲ Hình 2. Vòng phân giải tinh bột của VSV

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Báo cáo Hiện trạng môi trường quốc gia năm 2019 - Chuyên đề “Quản lý rác thải rắn sinh hoạt” của Tổng cục Môi trường thuộc Bộ TN&MT.
2. Trần Thị Mỹ Diệu, (2011). *Giáo trình quản lý chất thải rắn đô thị*. Nxb. TP. Hồ Chí Minh. 119 tr.
3. Lê Phú Tuấn, Vũ Thị Kim Oanh, Nguyễn Thị Thu Phương (2016) “Nghiên cứu xử lý phụ phẩm nông nghiệp thành phân hữu cơ sử dụng chế phẩm vi sinh tại xã Phúc Thuận - Phố Yên- Thái Nguyên” *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp số 6*, Tr 101-108.
4. Hà Thanh Toàn, Trương Thị Nhật Tâm, Cao Ngọc Diệp (2010) “Khả năng phân hủy rác thải hữu cơ của vi khuẩn phân giải cellulose (cellulolytic bacteria)” *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, tập 16b*, Tr. 189-198.
5. Vũ Khánh Linh, Nguyễn Thị Hà, Nguyễn Thị Quỳnh Lâm, Lương Hùng Tiến (2019) “Phân lập và tuyển chọn một số chủng vi sinh vật phân giải cellulose hướng tới tạo ra chế phẩm xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp” *Tạp chí Khoa học và công nghệ Đại học Thái Nguyên*. Số 164(04), Tr. 133–139.
6. Nguyễn Văn Thao, Nguyễn Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Minh, Nguyễn Thu Hà. Đỗ Nguyễn Hải (2015) “Nghiên cứu chế phẩm VSV để sản xuất phân hữu cơ sinh học từ bã nấm và phân gà”. *Tạp chí Khoa học và Phát triển, tập 13, số 8, Tr 1415-1423*.
7. Trần Cẩm Vân, (2002). *Giáo trình VSV học môi trường*. Nxb. Đại học Quốc gia Hà Nội. 159 tr.
8. Lê Xuân Phương (2008). *Giáo trình VSV học môi trường*. Nxb. Đại học Quốc gia Hà Nội. 309 tr.
9. Ngô Thị Tường Châu (2016) “Phân lập, tuyển chọn và sử dụng VSV ưa nhiệt trong phân hủy sinh khối bùn thải nhà máy tinh bột sắn FOCOCEV Thừa Thiên Huế”. *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Các Khoa học Trái đất và Môi trường, Tập 32, số 1S*. Tr 31- 37.
10. Lê Anh Tuấn (2015). “Hiệu suất nuôi cấy chủng nấm men *Debaryomyces hansenii* trong môi trường mật đường”. *Tạp chí Đại học Công nghệ Kazan. T.18, №13*.- Tr. 218-222.
11. Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Tiến Long (2018) “VSV phân giải cellulose mạnh trong sản xuất phân hữu cơ từ phế phụ phẩm nông nghiệp và ảnh hưởng của chúng đối với giống lạc L14 tại Hương Trà, Thừa Thiên Huế”. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế, Tập 127, số 3b, Tr 5-19*

ISOLATION, SELECTION OF MICROORGANISMS CAPABLE OF DECOMPOSITION OF ORGANIC SUBSTANCE FOR DOMESTIC WASTE TREATMENT

Le Anh Tuan^{1*}, Bui Thi Van Huong¹, Vo Nhat Minh¹

¹Faculty of Environmental Sciences, University of Science

Vietnam National University, Hanoi

ABSTRACT

Agricultural production plays an important role in ensuring food security of the coastal area of Quang Tri province with 82.83% of the natural area being agricultural land with the six main types of soil groups. The characteristics of soil resources of the region are light texture, poor nutrition and water retention lead to be difficult for cultivating in arid conditions. Climate change has an impact on agricultural land resources such as increasing the frequency of storms, floods, and the occurrence of severe drought in March-April and July-August. Based on the results of the land suitability assessment, it is proposed to use land, change crop systems for the study area. Besides, some technical solutions are proposed such as seasonal arrangement, reasonable plant structure, balanced fertilization, application of mulching techniques to reduce evaporation and prevent from soil erosion. Along with the increase of population and economic development, domestic waste is becoming more and more common in many places, especially in big cities. The conversion of domestic waste to organic fertilizer is one of the top choices because the main composition of domestic waste is biodegradable organic substances. This study uses the method of isolating and selecting three strains of microorganisms, MXe2, MXe5 and MTb1, with the best ability to degrade cellulose and starch and the optimal culture time for growth and development is 48 hours. The present research was conducted to preliminarily compost organic fertilizer from domestic waste in combination with selected microorganisms. The product of organic fertilizer from domestic waste with added microorganisms can be used after 45 days.

Keywords: Starch degrading microorganism, cellulose degrading microorganisms, organic fertilizer, composting, domestic waste.