

TUYỂN CHỌN BỘ CHỦNG VI SINH VẬT NHẪM XỬ LÝ NƯỚC THẢI CỦA NHÀ MÁY CHẾ BIẾN TINH BỘT SẮN¹

Lương Hữu Thành², Vũ Thúy Nga²,

Lê Thị Thanh Thủy² và cs^{*2}

Cs*: Đào Văn Thông, Hứa Thị Sơn, Tống Hải Vân, Cao Hương Giang, Hà Thị Thúy, Nguyễn Thị Hằng Nga.

Selection of microorganisms handle cassava starch processing waste water

Summary: 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, phần vỏ 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 huỷ 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, qui chuẩn kỹ thuật môi trường và gây ô nhiễm môi trường đối với môi trường sinh thái. Với mục tiêu nâng cao hiệu quả xử lý nước thải sau chế biến tinh bột sắn, nhóm cán bộ

¹ Bài viết do GS. TSKH. Trần Duy Quý phản biện, đã được đăng trên Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam (ISSN 1859-1558) số 3(24) 2011

² Viện Môi trường Nông nghiệp

ngiên cứu thuộc Bộ môn Sinh học Môi trường – Viện Môi trường Nông nghiệp đã 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:

Vật liệu: Bộ giống vi sinh vật lưu giữ tại Bộ môn Sinh học Môi trường – Viện Môi trường Nông nghiệp.

Phương pháp: 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 nghiên cứu và thảo luận

3.1. 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, đề tài 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

3.2. Khả năng tổ hợp các vi sinh vật:

Trên cơ sở hoạt tính sinh học, nguồn gốc tuyển chọn đề tài đã tiến hành nghiên cứu khả năng các tổ hợp 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 đã được tuyển chọn đề tài 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 khả năng tổ hợp của các chủng vi sinh vật 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	$4,65 \times 10^8$	$6,47 \times 10^8$	$4,50 \times 10^8$	$3,98 \times 10^8$	45 mm
	Hỗn hợp	$4,14 \times 10^8$	$5,56 \times 10^8$	$3,32 \times 10^8$	$2,45 \times 10^8$	45 mm
SHV 22	Đơn chủng	$4,45 \times 10^9$	$6,74 \times 10^9$	$5,81 \times 10^8$	$3,63 \times 10^8$	20 mm
	Hỗn hợp	$3,46 \times 10^9$	$5,75 \times 10^9$	$4,56 \times 10^8$	$3,86 \times 10^8$	19 mm
SHV OA7	Đơn chủng	$4,43 \times 10^8$	$8,62 \times 10^8$	$5,87 \times 10^8$	$4,80 \times 10^8$	5 mg/l
	Hỗn hợp	$3,75 \times 10^8$	$4,16 \times 10^8$	$5,63 \times 10^8$	$3,91 \times 10^8$	4,8 mg/l
SHV ON2	Đơn chủng	$4,62 \times 10^8$	$8,18 \times 10^8$	$5,43 \times 10^8$	$4,23 \times 10^8$	5 mg/l
	Hỗn hợp	$3,16 \times 10^8$	$4,46 \times 10^8$	$5,35 \times 10^8$	$3,14 \times 10^8$	5 mg/l

Số liệu bảng 15 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 $> 10^8$ 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.

3.3. 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 gen 16s ARN riboxom của các chủng vi sinh vật, so sánh với các trình tự có sẵn trong ngân hàng gen 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.sp</i>	Cấp độ 2
4	SHV ON2	<i>Nitrobacter.sp</i>	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 được 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, đề tài đã lựa chọn chủng xạ khuẩn SHV 12, chủng vi khuẩn SHV 22 và 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, đề tài đã 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_2HPO_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>	$6,12 \times 10^9$	45 mm
SHV 22	<i>Bacillus velezensis</i>	$6,56 \times 10^9$	20 mm
SHV OA7	<i>Nitrosomonas.sp</i>	$6,12 \times 10^9$	4,9 mg/l
SHV ON2	<i>Nitrobacter.sp</i>	$6,38 \times 10^9$	5 mg/l

Số liệu kiểm tra chất lượng dịch sinh khối vi sinh vật trình bày bảng 4 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, 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 qui 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 $> 10^8$ 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.

- Đề tài 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 Nhà xuất bản Moscow) (1982), *Thực hành Vi sinh vật học*, Nhà xuất bản 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*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
5. www.vnexpress.net
6. www.laodong.com.vn