



Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

Số chuyên đề: Môi trường và Biến đổi khí hậu

website: ctujsvn.ctu.edu.vn



DOI:10.22144/ctu.jsi.2021.027

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY PROTEIN VÀ CELLULOSE TỪ CÁC NGUỒN RÁC THẢI HỮU CƠ ĐƯỢC THU TẠI THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Trần Văn Dũng², Cao Thị Mỹ Tiên¹, Võ Dương Lan Anh¹, Nguyễn Thiện Mỹ¹, Bùi Thị Minh Diệu¹, Thái Chí Phong¹, Nguyễn Phạm Anh Thi¹, Nguyễn Hoàng Hậu¹ và Đỗ Thị Xuân^{1*}

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đỗ Thị Xuân (email: dtxuan@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 12/04/2021

Ngày nhận bài sửa: 10/06/2021

Ngày duyệt đăng: 15/11/2021

Title:

Isolation and selection of protein and cellulose degrading bacteria from domestic organic waste at Can Tho City

Từ khóa:

Rác thải hữu cơ sinh hoạt, vi khuẩn phân giải cellulose, vi khuẩn xử lý rác thải hữu cơ, vi khuẩn phân giải protein

Keywords:

Cellulose degrading bacteria, domestic organic waste, organic waste degrading bacteria, protein-degrading bacteria

ABSTRACT

The aim of this study was to isolate bacterial strains that are capable of degrading protein and cellulose from different organic domestic waste resources. Effects of isolated bacteria on the survival of earthworms (*Perionyx excavates*) were also investigated under in vitro study. Seventy five organic waste samples were collected from bazaars, small restaurants and house-hold samples for isolating and screening their functions of protease, cellulase and earthworm survival. The results showed that 58 bacterial strains were isolated from domestic organic wastes. Among them, 46 bacterial isolates released protease activity and 12 bacterial isolates had cellulolytic activity. A quantitative evaluation of these functional bacterial isolates further selected three protein bacterial isolates of pAT3, pPT1, pTVC3 and three cellulolytic isolates of cAT1, cTA1 and cCR1 that had fast degradation of pork and fish meat wastes and vegetable waste samples, respectively. Based on the 16S rRNA sequence, 5 bacterial strains were identified at the species level and one unidentified bacterium. These 6 bacterial strains caused less odour of the organic matter than that of the control treatment and they did not affected on the survival and the growth of earthworms under invitro study.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu phân lập các dòng vi khuẩn (VK) có khả năng phân hủy protein và cellulose từ các nguồn rác thải hữu cơ; và khảo sát ảnh hưởng của VK lên sự sống sót của trùn quế (*Perionyx excavates*). Mẫu rác thải hữu cơ được thu từ các chợ, quán ăn và các hộ gia đình để phân lập VK có khả năng tiết enzyme protease và cellulase. Kết quả phân lập được 58 dòng VK. Trong đó, 46 dòng có khả năng tiết ra enzyme protease và 12 dòng có khả năng tiết enzyme cellulase. Kết quả đánh giá khả năng phân hủy thịt vụn, cá vụn và rau cải thừa đã tuyển chọn được 6 dòng VK có tiềm năng là pAT3, pPT, pTVC3, cAT1, cTA1 và cCR. Năm dòng VK được định danh sử dụng phương pháp sinh học phân tử ở vùng gene 16S rRNA và xác định đến mức độ loài và 1 dòng chưa được định danh. Sáu dòng VK này giúp giảm mùi hôi của rác phân hủy và không ảnh hưởng đến sự sống sót và sinh trưởng của trùn quế trong điều kiện phòng thí nghiệm.

1. GIỚI THIỆU

Rác hữu cơ vốn là một nguồn tài nguyên quý giá nhưng đã và đang bị bỏ đi một cách lãng phí. Hiện nay, tại các đô thị lớn như Cần Thơ, mỗi ngày một lượng lớn rác hữu cơ từ rau, củ, quả, thức ăn thừa được thải bỏ ra môi trường từ các hệ thống siêu thị, chợ nông sản, chợ, các quán ăn là điều không thể tránh được. Do nguồn rác thải này chứa hàm lượng nước rất cao và các protein từ thực phẩm nên việc xử lý nguồn rác thải hữu cơ này tạo mùi hôi cũng tiềm ẩn gây ô nhiễm môi trường nước (Chaudhary & Mishra, 2017).

Việc sử dụng các nhóm vi sinh vật xử lý rác thải hữu cơ và giảm mùi hôi đang được quan tâm trên thế giới và tại Việt Nam. Do đặc tính của rác thải hữu cơ từ các chợ, siêu thị, hộ gia đình, quán ăn là rác thải chứa hàm lượng cellulose và một phần thịt cá vụn đã hoặc chưa chế biến nên trong quá trình thu gom các rác thải này tạo các mùi hôi gây ô nhiễm môi trường xung quanh bãi tập kết. Do đó, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu phân lập được dòng vi khuẩn (VK) có khả năng phân hủy protein và cellulose tại các chợ, quán ăn và các hộ gia đình trong địa bàn thành phố Cần Thơ ở phạm vi phòng thí nghiệm. Các dòng VK có triển vọng phân hủy cellulose và protein tốt sẽ giúp xử lý rác thải hữu cơ đô thị làm phân hữu cơ sinh học được xem là phương pháp an toàn, nhằm hạn chế được diện tích chôn lấp hoặc thiêu hủy với tiềm năng gây ô nhiễm môi trường nước, môi trường không khí và ảnh hưởng đến sức khỏe của con người.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phân lập và tuyển chọn các dòng VK có khả năng phân hủy rác hữu cơ

Các mẫu rác thải hữu cơ được thu từ chợ, các khu vực dân cư, mẫu thức ăn thừa tại các quán ăn, quán cơm trên địa bàn thành phố Cần Thơ với khối lượng mẫu được thu khoảng 10 kg/mẫu rác. Các mẫu rác mang về được loại bỏ các bọc nylon, chai nhựa, kim loại, sau đó rác được trộn đều, xay nhỏ và ủ trong thời gian 5 – 7 ngày, trong điều kiện thoáng khí ở nhiệt độ phòng. Dung dịch rác ủ sau đó được pha loãng đến nồng độ 10^{-6} , hút 50 μ L ở các nồng độ pha loãng trải lên bề mặt môi trường cellulose với các thành phần của môi trường bao gồm 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 g K_2HPO_4 , 0,5 g MgSO_4 , 0,009 g NaCl, 10 g CMC (carboxymethylcellulose), 0,2 g cycloheximide, 20 g agar (môi trường đặc), môi trường được điều chỉnh về pH= 6,8 (Ryckeboer et al., 2002) để phân lập VK có khả năng phân hủy

cellulose và môi trường protein (Hà Thanh Toàn và ctv., 2008) có hiệu chỉnh với các thành phần bao gồm 5 g pepton, 3 g beef extract, 1 g yeast extract, 20 g sữa bột tách béo (skim milk) và 20 g agar để phân lập nhóm VK có khả năng phân hủy protein. Các đĩa môi trường được ủ 48 giờ cho nhóm VK có khả năng phân hủy protein và 72 giờ cho nhóm VK có khả năng phân hủy cellulose. Các dòng VK được tách rỗng cho đến khi thu được các khuẩn lạc thuần và đồng nhất.

2.2. Khảo sát định tính và định lượng khả năng phân hủy protein và cellulose của các dòng VK được phân lập

2.2.1. Khảo sát định tính khả năng tạo vòng sáng halo trên môi trường chuyên biệt của các dòng VK

Các dòng VK sau khi được tách rỗng được sử dụng để đánh giá định tính khả năng phân hủy protein và cellulose. Mỗi đĩa môi trường chuyên biệt của protein hoặc của cellulose được cấy 3 khuẩn lạc của cùng 3 dòng VK đã được tách rỗng và mỗi dòng VK được thực hiện trên 3 đĩa là 3 lần lặp lại cho mỗi dòng VK. Các đĩa sau khi được cấy VK được ủ ở nhiệt độ phòng. Sau 2 ngày ủ, đối với nhóm VK phân hủy protein đo trực tiếp vòng phân hủy xuất hiện xung quanh khuẩn lạc. Nhóm VK có khả năng phân hủy cellulose, vòng phân hủy được xác định khi nhuộm với thuốc thử Congo red 0,01% (Ariosa et al., 2005). Đường kính khuẩn lạc và đường kính vòng phân hủy được xác định theo phương pháp của Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp (2011).

$$\text{Chỉ số phân hủy} = \frac{D1 + D2}{D1}$$

Trong đó, D1 (mm) là đường kính khuẩn lạc. D2 (mm) là đường kính tạo bởi vòng sáng.

2.2.2. Khảo sát định lượng khả năng phân hủy rác thải hữu cơ của các dòng VK được tuyển chọn

Chuẩn bị vật liệu:

Nguồn VK: Mỗi 10 dòng VK có khả năng phân hủy protein là 10 dòng VK có khả năng phân hủy cellulose có triển vọng từ kết quả định tính được sử dụng để đánh giá khả năng phân hủy vật liệu hữu cơ (VLHC). Các dòng VK được nhân nuôi trong môi trường chuyên biệt và khi các khuẩn lạc xuất hiện trên môi trường và tiến hành thu các khuẩn lạc đơn của mỗi dòng VK và chuyển vào chai thủy tinh (250 mL) chứa 100 mL môi trường chuyên biệt cho từng dòng VK. Sau đó, mật số VK được điều chỉnh về mật số khuẩn lạc đạt 10^8 CFU/mL.

Các mẫu VLHC bao gồm mẫu thịt heo vụn và mẫu cá vụn để xác định khả năng phân hủy protein và mẫu rau cải bó từ các chợ trên địa bàn quận Ninh Kiều được thu về xác định khả năng phân hủy cellulose của các dòng VK. Mẫu thịt heo vụn được thu từ chợ mang về xay nhuyễn, cân khối lượng lần lượt là 1 g, 2 g, 3 g và được bổ sung 9 mL, 8 mL và 7 mL nước cất vô trùng vào ống nghiệm để đạt thể tích sau cùng là 10 mL, tương ứng với khối lượng dung dịch thịt sau khi pha loãng là 10%, 20% và 30%. Mẫu cá vụn được xay nhuyễn và cân 10 g cho vào bình tam giác 150 mL. Mẫu rau cải vụn được thu gom tại các chợ lúc vừa vớt bỏ còn tươi, đem về băm nhỏ cân 20 g cho vào hộp nhựa (300 ml).

Tiến hành thí nghiệm: Các vật liệu sau khi được chuẩn bị và được chủng các dòng VK chuyên biệt vào các vật liệu với mật số VK 10^6 CFU/g vật liệu. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 10 nghiệm thức ($n=3$) tương ứng với 10 dòng VK và cho mỗi mức độ của thịt vụn, cá vụn và rác thải hữu cơ. Nghiệm thức đối chứng không chủng với VK. Các hộp chứa mẫu rau cải và thí nghiệm của thịt vụn được ủ trong thời gian 15 ngày ở điều kiện tối. Đối với mẫu cá vụn, thí nghiệm được thực hiện trong thời gian 6 ngày đến khi mẫu cá không còn mùi.

Chỉ tiêu theo dõi: Các chỉ tiêu đánh giá khả năng phân hủy VLHC bao gồm xác định mùi của VLHC theo cảm quan bao gồm (-) không mùi, (+) mùi chấp nhận được và (++) mùi thối không chấp nhận được. Chỉ tiêu mùi cảm quang được ghi nhận trong suốt quá trình thực hiện thí nghiệm đến thời điểm kết thúc thí nghiệm và số liệu mùi cảm quang được trình bày là tổng hợp của các lần được đánh giá. Màu sắc của VLHC được xác định khi kết thúc thí nghiệm và phần trăm VLHC được phân hủy được xác định:

Phần trăm VLHC được phân hủy = $100 \times (\text{Khối lượng VLHC ban đầu} - \text{Khối lượng VLHC còn lại sau khi kết thúc thí nghiệm}) / \text{Khối lượng VLHC ban đầu}$.

2.3. Khảo sát ảnh hưởng của các dòng VK phân hủy rác thải hữu cơ lên sự sống sót của trùn quế

Chuẩn bị vật liệu:

Nguồn VK: Các dòng VK có khả năng phân hủy thịt vụn, cá vụn và rau cải thừa tốt từ nội dung nghiên cứu 2.2.2 được tuyển chọn. Chuẩn bị dịch huyền phù mỗi dòng VK về mật số 10^8 CFU/mL tương tự mô tả ở nội dung 2.2.2.

Trùn quế: Trùn được mua tại trại Trùn quế Hiền, Sóc Trăng. Trùn quế được sử dụng là trùn trưởng thành, có độ dài đồng đều, có đai sinh dục và sức sống tốt.

Hộp thí nghiệm: Các hộp nhựa (500 mL) được sử dụng để bố trí thí nghiệm. Các hộp được lót 30 g phân trùn là giá thể cho trùn sống.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với các nghiệm thức tương ứng với các dòng VK được chủng cho trùn và 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức. Mỗi hộp đựng giá thể được thả 15 con trùn quế trưởng thành, sau đó cho 3 mL dung dịch huyền phù của VK vào hộp chứa giá thể và trùn với mật số VK đạt 10^6 CFU/g giá thể trong hộp nhựa. Nghiệm thức đối chứng không chủng VK và được sử dụng nước cất để tạo ẩm độ cho giá thể. Ẩm độ của giá thể nuôi trùn được điều chỉnh về đạt 55% sử dụng nước cất đã được điều tiết trùng. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện tối và trong thời gian 7 ngày.

Chỉ tiêu theo dõi: Đếm số lượng trùn quế sống sót và đánh giá tình trạng của trùn quế sau 7 ngày ủ với VK với chỉ tiêu đánh giá bao gồm trùn di chuyển nhanh khi đưa ra ngoài ánh sáng là biểu hiện của trùn phát triển bình thường, nếu trùn không di chuyển hoặc chỉ cử động tại chỗ được xem là trùn bị ảnh hưởng.

2.4. Định danh các dòng VK có tiềm năng xử lý rác

Ba dòng VK có tiềm năng phân hủy thịt vụn, cá vụn và 3 dòng VK có khả năng phân hủy rau cải thừa được nhân nuôi trong môi trường chuyên biệt cho nhóm VK phân giải protein và nhóm VK phân hủy cellulose, sau đó tiến hành thu sinh khối của các dòng VK và tiến hành trích DNA của VK theo phương pháp được sử dụng tại Bộ môn Công nghệ Sinh học, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Phản ứng PCR được thực hiện sử dụng cặp mồi 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') /1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') giải mã vùng 16S rRNA (Weisburg et al., 1991). Các sản phẩm PCR được gửi giải trình tự ở công ty First BASE Laboratories Sdn Bhd, Malaysia. Trình tự đoạn gene 16S rRNA được so sánh với cơ sở dữ liệu của ngân hàng gene (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> bằng chương trình BLAST N). Kết quả định danh xác định đến mức độ loài của 5 dòng VK khi độ tương đồng của trình tự 16S rRNA của VK đạt trên 98%.

Xử lý số liệu

Các số liệu thí nghiệm về khả năng phân hủy VLHC của các dòng VK được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm Excel 2016. Khác biệt trung bình giữa các nghiệm thức thí nghiệm được thống kê theo phương pháp phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA), sử dụng phần mềm Minitab 16 và kiểm định Tukey với khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập, khảo sát định tính và định lượng khả năng phân hủy protein và cellulose của các dòng VK được phân lập

3.1.1. Kết quả định tính khả năng tạo vòng sáng halo trên môi trường chuyên biệt của các dòng VK

Kết quả định tính khả năng tiết enzyme protease của các khuẩn lạc: Bốn mươi sáu khuẩn lạc có khả năng tạo vòng sáng phân hủy (vòng halo) với chỉ số vòng sáng phân hủy dao động từ 1 đến 3,29. Dựa vào chỉ số phân hủy, 10 dòng VK có chỉ số phân hủy protein cao nhất, dao động trong khoảng 3,00- 3,29 bao gồm các dòng: pHL2 (3,14), pAH1 (3,00), pCK2 (3,29), pAC1 (3,00), pPT1 (3,00), pPT2 (3,14), pTVC3 (3,14), pAK1 (3,29), pAK2 (3,14) và pAT3 (3,29) được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả định tính khả năng phân hủy cellulose của các khuẩn lạc: Mười hai dòng VK có khả năng tạo vòng sáng halo trên môi trường cellulose với chỉ số phân hủy dao động từ 2,14 đến 4,14. Dựa vào chỉ số phân hủy, 10 dòng VK có chỉ số phân hủy cellulose cao nhất được chọn lọc để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo bao gồm: cCR1(3,00); cTA1(2,71); cAH1(3,86); cXK2(2,14); cAN1(2,71); cAT1(4,14); cAC1(3,29); cAL2(3,43); cTVC1(2,71); cCK1(3,57).

Kết quả phân lập và tách riêng được 58 khuẩn lạc, trong đó có 46 khuẩn lạc tạo vòng sáng halo trên môi trường protein và 12 khuẩn lạc tạo vòng halo trên môi trường cellulose.

Hình thái của VK có khả năng tiết enzyme protease: Bốn mươi sáu dòng VK tiết enzyme protease được phân lập có 69,6% khuẩn lạc có màu trắng đục, 8,6% khuẩn lạc có màu trắng trong, 13,3% khuẩn lạc có màu vàng cam, 4,3% màu vàng tươi, 2,1% màu hồng và 2,1% khuẩn lạc có màu xanh. Hình dạng khuẩn lạc gồm có hai dạng là tròn đều (67,4%) và không đều (32,6%). Bìa khuẩn lạc có 3 dạng bìa chính là bìa nguyên (78,3%), bìa răng cưa (15,2%) và bìa gợn sóng chiếm 6,5%. Độ nổi của khuẩn lạc ở mức độ lồi chiếm 67,4%, dạng mô chiếm 32,6%. Khi quan sát dưới kính hiển vi, hình

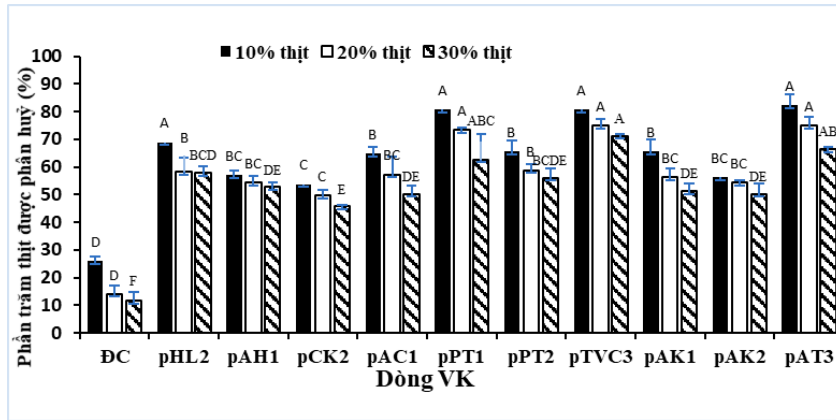
dạng tế bào VK chủ yếu 2 nhóm, hình que chiếm 56,5% còn lại là dạng hình cầu với 43,5%.

Hình thái của VK có khả năng tiết enzyme cellulase: Mười hai dòng VK tiết enzyme cellulase được phân lập có 88% khuẩn lạc có hình tròn, 12% có dạng không đều. Màu sắc của các dòng VK phân lập gồm 75% khuẩn lạc có màu trắng đục và 25% trắng trong. Dạng bìa chủ yếu là bìa nguyên (75%), bìa chia thùy chiếm 16,7% và còn lại là bìa răng cưa. Độ nổi của khuẩn lạc ở mức độ lồi chiếm 83,3% và còn lại là dạng mô. Khi quan sát dưới kính hiển vi hình dạng tế bào VK chủ yếu là hình que, chiếm 91,7% còn lại là hình cầu.

3.1.2. Kết quả đánh giá khả năng phân hủy rác thải hữu cơ của các dòng VK được tuyển chọn

Nhóm VK phân hủy protein: Kết quả đánh giá khả năng phân hủy thịt vụn của 10 dòng VK cho thấy các dòng VK đều có khả năng phân hủy thịt vụn ở các nồng độ khác nhau và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với nghiệm thức đối chứng. Khả năng phân hủy thịt vụn của các dòng VK có xu hướng giảm dần khi tăng khối lượng thịt vụn từ 10-30% trong nghiên cứu này. Ở 3 mức nồng độ thịt vụn thì dòng pAT3, pTVC3, pPT1 và pHL2 thể hiện hiệu quả phân hủy thịt vụn cao dao động trong khoảng 55- 82,5% tùy nồng độ của mẫu thịt, đối với nghiệm thức đối chứng tỉ lệ phân hủy thịt vụn đạt dao động từ 12 đến 27% sau 15 ngày ủ (Hình 1). Kết quả thí nghiệm cho thấy tại thời điểm kết thúc thí nghiệm, các mẫu thịt vụn có màu trắng và mùi của mẫu thịt thay đổi tùy thuộc vào dòng VK được chủng cho thí nghiệm (Bảng 2) và các nghiệm thức được chủng với dòng pAT3, pTVC3, pPT1 mẫu thịt vụn có mùi chấp nhận nhưng nghiệm thức được chủng với dòng pHL2 có mùi hôi không chấp nhận (Bảng 3).

Đối với mẫu cá vụn, bốn dòng VK pAT3, pTVC3, pPT1 và pHL2 có triển vọng phân hủy thịt vụn đều thể hiện hiệu quả phân hủy mẫu cá vụn với tỉ lệ phân hủy cá vụn dao động trong khoảng 64,34 - 78,96% và khác biệt ở mức ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng (34%) tại thời điểm kết thúc thí nghiệm. Kết quả này cho thấy khi chủng các dòng VK pAT3, pTVC3, pPT1 và pHL2 giúp gia tăng tỉ lệ phân hủy gấp đôi so với nghiệm thức đối chứng không chủng VK. Các mẫu cá vụn có màu trắng tại thời điểm kết thúc thí nghiệm nhưng nghiệm thức được chủng với dòng pTVC3, mẫu cá vụn có màu xanh (Bảng 2). Bốn nghiệm thức này có mùi chấp nhận được so với nghiệm thức đối chứng có mùi hôi (Bảng 3).



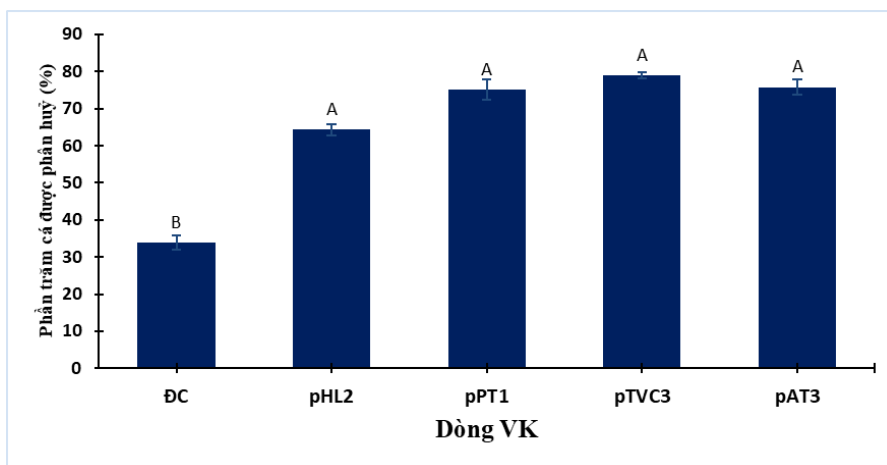
Hình 1: Tỷ lệ phân hủy của mẫu thịt vụn

Ghi chú: Các ký tự trên cùng một cột cùng màu giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép kiểm định Tukey ở mức ý nghĩa 5%, thanh biến động là độ lệch chuẩn (n= 3).

Bảng 2: Kết quả đánh giá cảm quan về màu sắc của mẫu thịt vụn được chủng VK phân hủy protein sau 15 ngày chủng

STT	Dòng VK	Kết quả đánh giá cảm quan về màu sắc của mẫu thịt chủng VK			
		10% thịt	20% thịt	30% thịt	Cá vụn
1	ĐC	vàng	trắng	trắng	trắng
2	pHL2	trắng	trắng	trắng	trắng
3	pAH1	trắng	trắng	trắng	-
4	pCK2	trắng	trắng	trắng	-
5	pAC1	trắng	trắng	trắng	-
6	pPT1	trắng	trắng	trắng	trắng
7	pPT2	trắng	trắng	trắng	-
8	pTVC3	trắng	trắng	trắng	xanh
9	pAK1	trắng	trắng	trắng	-
10	pAK2	trắng	trắng	trắng	-
11	pAT3	trắng	trắng	trắng	trắng

Chú thích: -: Không tiến hành thí nghiệm.



Hình 2. Tỷ lệ phân hủy của mẫu cá vụn

Ghi chú: Các ký tự trên cùng một cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép kiểm định Tukey với mức ý nghĩa 5%, thanh biến động là độ lệch chuẩn (n= 3).

Bảng 3: Kết quả đánh giá cảm quan về mùi của mẫu thịt vụn được chủng VK phân hủy protein sau 15 ngày chùng

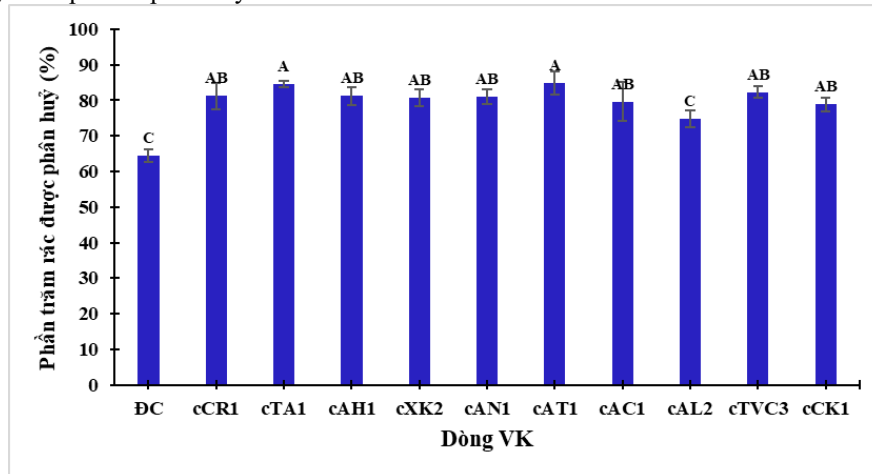
STT	Dòng VK	Kết quả đánh giá cảm quan về mùi của các dòng VK			
		10% thịt	20% thịt	30% thịt	Cá vụn
1	ĐC	++	++	++	++
2	pHL2	+	++	++	+
3	pAH1	++	++	++	-
4	pCK2	++	++	++	-
5	pAC1	++	++	++	-
6	pPT1	+	+	+	+
7	pPT2	+	+	+	-
8	pTVC3	+	+	+	+
9	pAK1	++	++	++	-
10	pAK2	++	++	++	-
11	pAT3	+	+	+	+

Chú thích: +: mùi nhẹ (chấp nhận được); ++: mùi nặng (không chấp nhận được); -: không tiến hành thí nghiệm.

Kết quả thí nghiệm định lượng tỉ lệ phân hủy thịt vụn và cá vụn cho thấy 10 dòng VK đều có khả năng phân hủy thịt vụn tốt, tốt nhất ở 10% thịt và thấp dần ở 30% thịt. Bốn dòng VK pTA3, pPT1, pTVC3 và pHL2 phân hủy hiệu quả cả thịt vụn và cá vụn và không tạo mùi hôi ở mẫu thịt và mẫu cá vụn trong điều kiện phòng thí nghiệm. Tỉ lệ phân hủy của mẫu cá vụn nhanh hơn so với mẫu thịt thí nghiệm. Kết quả này có thể do hàm lượng, cấu tạo và thành phần protein trong cá thấp và dễ phân hủy hơn so với mẫu

thịt heo vụn. Thêm vào đó, tỉ lệ phân hủy của thịt vụn và cá vụn do các VK có xu hướng cao hơn kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thành Phương (2011). Kết quả này cho thấy bốn dòng pTA3, pPT1, pHL2 và pTVC3 có khả năng phân hủy tốt nhất nên có thể ứng dụng để phân hủy rác thải có thành phần chứa protein.

Nhóm VK có khả năng phân hủy cellulose



Hình 3: Tỉ lệ phân hủy cellulose của VK trong mẫu rác thải thực vật

Ghi chú: Các ký tự trên mỗi cột giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép kiểm định Tukey với mức ý nghĩa 5%, thanh biến động là độ lệch chuẩn.

Kết quả đánh giá khả năng phân hủy rau cải thừa tại các chợ của 10 dòng VK cho thấy các dòng VK đều có khả năng phân hủy rau thải bỏ sau 15 ngày theo dõi thí nghiệm (Hình 3). Chín trong 10 dòng VK có hiệu quả phân hủy rau thải hữu cơ với tỉ lệ phân hủy rác thải hữu cơ 74,87- 84,92% và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau. Nhưng phần

trăm rác thải được phân hủy bởi các dòng VK này đạt cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Dòng cAT1 và cTA1 là hai dòng VK có tỉ lệ phân hủy đạt cao nhất với tỉ lệ phân hủy đạt 84,92% tại thời điểm kết thúc thí nghiệm và đạt thấp nhất là dòng cAL2 với tỉ lệ phân hủy đạt 74,87%. Tỉ lệ phân hủy ở nghiệm thức

đôi chứng chỉ đạt mức 65%, như vậy khi chủng VK phân hủy cellulose cho hiệu quả phân hủy cao hơn so với nghiệm thức đối chứng không chủng VK. Kết quả đánh giá cảm quan về màu sắc và mùi hôi (Bảng 4) cho thấy có 6 mẫu có màu nâu là C XK2, c AN1, c AT1, c AL2, c TVC3 và c CK1. Mẫu c AH1 có màu xanh đậm, mẫu đối chứng, c TA1 và c AC1 có màu đen. Về đánh giá cảm quan mùi hôi cho thấy nghiệm thức đối chứng, nghiệm thức được chủng với dòng c AH1, c AC1 và c CK1 có mùi hôi không chấp nhận được và các mẫu còn lại đều không tạo mùi hôi trong quá trình phân hủy.

Bảng 4. Kết quả đánh giá cảm quan về màu sắc và mùi hôi của mẫu rác thải thực vật

STT	Dòng VK	Màu	Mùi
1	ĐC	Đen	++
2	cCR1	Nâu	+
3	cTA1	Đen	+
4	cAH1	Xanh đậm	++
5	cXK2	Nâu	+
6	cAN1	Nâu	+
7	cAT1	Nâu	+
8	cAC1	Đen	++
9	cAL2	Nâu	+
10	cTVC3	Nâu	++
11	cCK1	Nâu	++

Chú thích: +: mùi nhẹ (chấp nhận được); ++: mùi nặng (không chấp nhận được)

Bảng 5. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các dòng VK lên sự hiện diện của trùn quế

Dòng VK	VK có khả năng phân hủy protein			VK có khả năng phân hủy cellulose			
	Trùn cho vào	Trùn còn sống	Tình trạng trùn	Dòng VK	Trùn cho vào	Trùn còn sống	Tình trạng trùn
pAT3 (<i>Serratia marcescens</i> pAT3)	15	15	+	cCR1 <i>Serratia marcescens</i> cCR1	15	15	+
pPT1 (Không định danh)	15	15	+	cTA1 (<i>Klebsiella pneumonia</i> cTA1)	15	15	+
pTVC3 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> pTVC3)	15	15	+	cAT1 (<i>Serratia marcescens</i> cAT1)	15	15	+
pHL2	15	15	+	cTVC3	15	0	-

Chú thích: -: Trùn chết; +: Trùn sinh trưởng bình thường

Dựa trên kết quả định tính ảnh hưởng của các dòng VK và kết quả đánh giá khả năng phân hủy các VLHC của các dòng VK triển vọng cho thấy 3 dòng VK phân hủy protein tốt nhất là pPT1, pTVC3 và pAT3; 3 dòng VK phân hủy cellulose tốt nhất là cAT1, cTA1 và cCR1. Kết quả định danh đã xác định được tên của 5 dòng VK và 1 dòng chưa được định danh. Nhóm VK phân hủy protein bao gồm: *Serratia marcescens* pAT3, *Pseudomonas aeruginosa* pTVC3 và dòng pPT1 chưa được xác

Nhìn chung, các dòng VK đều có khả năng phân hủy cellulose tốt, bốn dòng cTA1, cAT1, cCR1 và cTVC3 có khả năng phân hủy tốt nhất và không để lại mùi hôi tại thời điểm kết thúc thí nghiệm (Bảng 4). Sự chênh lệch về tỉ lệ phân hủy của 4 dòng VK so với nghiệm thức đối chứng khoảng 22- 27%. Tuy nhiên, các VLHC tại thời điểm kết thúc thí nghiệm do 4 dòng VK này phân hủy không để lại mùi so với nghiệm thức đối chứng với mùi cảm quan không chấp nhận được. So sánh kết quả với nghiên cứu của Hà Thanh Toàn và ctv. (2010), Võ Thị Ngọc Cẩm và ctv. (2015) sử dụng vi sinh vật có khả năng phân hủy cellulose cho thấy tỉ lệ phân hủy và thời gian phân hủy của các dòng VK này tương đối ổn định hơn.

3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các dòng VK phân hủy protein, cellulose triển vọng lên sự hiện diện của trùn quế (*Perionyx excavatus*)

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các dòng VK triển vọng lên sự hiện diện của trùn quế cho thấy 4 dòng VK phân hủy protein và 3 dòng VK phân hủy cellulose là pHL2, pPT1, pTVC3, pAT, cAT1, cTA1 và cCR1 không ảnh hưởng đến sự sống sót và phát triển của trùn quế, tuy nhiên dòng cTVC3 gây chết trùn (Bảng 5).

định tên loài (unidentified bacteria). Nhóm VK phân hủy cellulose bao gồm: *Serratia marcescens* cCR1, *Serratia marcescens* cAT1 và *Klebsiella pneumonia* cTA1. Các dòng VK này đều có khả năng phân hủy các VLHC tốt và không ảnh hưởng đến sự sống sót của trùn quế cho thấy các dòng VK an toàn với hệ sinh thái trong đất. Các dòng VK triển vọng từ nghiên cứu này sẽ được tiếp tục nghiên cứu ở phạm vi thí nghiệm nhà lưới và ứng dụng để sản xuất các chế phẩm vi sinh giúp phân hủy nhanh rác thải hữu

cơ và giảm mùi hôi của rác thải góp phần giảm tải rác tồn đọng và giảm ô nhiễm môi trường.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập được 46 dòng VK phân hủy protein và 12 dòng VK phân hủy cellulose. Kết quả đánh giá khả năng phân hủy mẫu thịt vụn và cá vụn cho thấy ba dòng VK pAT3, pTVC3 và pPT1 cho hiệu quả phân hủy thịt vụn và cá vụn cao hơn và mùi của các VLHC sau khi phân hủy chấp nhận được so với nghiệm thức đối chứng. Tương tự, ba dòng VK cAT1, cAT1 và cCR1 cho hiệu quả phân hủy rau cải thái đạt cao hơn và không tạo mùi hôi so với nghiệm thức đối chứng. Kết quả định danh đã xác định được tên khoa học ở mức độ loài của 5 dòng VK. Sáu dòng VK này không ảnh hưởng đến sự sống sót của trùn quế trong điều kiện phòng thí nghiệm. Các dòng VK này được xem là nhóm VK có triển vọng trong xử lý rác thải sinh hoạt hữu cơ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA-E6 từ chính phủ Nhật và sự hỗ trợ kinh phí từ chương trình sinh viên nghiên cứu khoa học thuộc Trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ariosa, Y., Carrasco, D., Leganés, F., Quesada, A. & Valiente E. (2005). Development of cyanobacterial blooms in Valencian rice fields. *Biology and fertility of soils*, 41(2), 129-133.

Chaudhary S. & Mishra S. (2017). Food waste management: a global issue. *International Journal of Current Research*, 9(2), 47243-47245.

Hà Thanh Toàn, Cao Ngọc Diệp, Trần Lê Kim Ngân, Nguyễn Thu Phương, Mai Thu Thảo & Bùi Thế Vinh. (2008). Phân lập vi khuẩn phân giải cellulose, tinh bột và protein trong nước rỉ từ bãi rác ở Thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 10, 195-202.

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*, 16b, 189-198.

Nguyễn Thành Phương, Nguyễn Văn Phước, Nguyễn Phước Dân & Vũ Nha Trang. (2011). Nghiên cứu quá trình ủ vi sinh rác thải hữu cơ bằng phương pháp ủ thiếu khí (cấp khí tự nhiên). *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, 14(2M), 76-82.

Ryckebouer, J., Mergaert, J., Coosemans, J., Deprins, K. & Swings, J. (2003). Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. *Journal of Applied Microbiology*, 94(1), 127-137.

Võ Thị Ngọc Cẩm, Đỗ Thị Xuân, Dương Minh Viễn, Nguyễn Thị Kiều Oanh, Đỗ Hoàng Sang, Nguyễn Khởi Nghĩa & Nguyễn Thị Tố Quyên. (2015). Phân lập và tuyển chọn một số dòng nấm bản địa phân hủy một số vật liệu hữu cơ từ nền đất thâm canh lúa tại xã Phong Hòa, huyện Lai Vung, tỉnh Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 36, 1-11.

Võ Văn Phước Quê & Cao Ngọc Diệp. (2011). Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải cellulose. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 18a, 177-184.

Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A. & Lane, D.J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol*, 173(2), 697-703.