

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC MỘT SỐ CHỦNG VI SINH VẬT TẠO CHẾ PHẨM PHÂN HỦY RÁC THẢI GIÀU XENLULOZA

NGUYỄN THẾ TRANG, TRẦN ĐÌNH MÃN, NGUYỄN THỊ ĐÀ

Viện Công nghệ Sinh học

Thực trạng ô nhiễm môi trường bởi rác thải hiện nay không chỉ ở các thành phố lớn mà là vấn đề nổi cộm của cả các vùng nông thôn. Ngoài rác thải nông nghiệp, trung bình mỗi ngày một người thải ra môi trường khoảng 0,5 kg rác thải, trong đó lượng rác thải có chứa xenluloza chiếm tỷ lệ cao. Sử dụng chế phẩm vi sinh vật phân giải xenluloza để xử lý rác thải đã được thế giới và ở Việt Nam quan tâm. Sự phát triển kinh tế xã hội một mặt làm cho đời sống vật chất ngày càng cao, mặt khác cũng tạo ra lượng rác thải lớn hơn, làm ô nhiễm môi trường dẫn đến nguy cơ nhiễm bệnh nguy hiểm cho con người, đặc biệt ở Việt Nam có khí hậu nóng ẩm và mưa nhiều dễ phát sinh nguồn bệnh từ những ô nhiễm đó. Xử lý rác thải hữu cơ làm phân bón bằng biện pháp sinh học được coi là cách tốt nhất trong xử lý rác thải hữu cơ, vừa tạo nguồn phân hữu cơ trả lại màu mỡ cho đất, vừa hạn chế được diện tích chôn lấp, với biện pháp này có thể triển khai trên diện rộng tại một số nơi ở nước ta.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các chủng vi khuẩn ký hiệu T1, T3, T6 và T9, xạ khuẩn ký hiệu YT2, RX1, TR3, TX1 và TX3 trong Bộ sưu tập giống Phòng Công nghệ vật liệu sinh học, Viện Công nghệ Sinh học.

Môi trường MPA, xenluloza nuôi cấy vi khuẩn theo Egorov N.X và Bergey's. Môi trường Gauze 1, Gauze 2 nuôi cấy xạ khuẩn theo Nguyễn Lâm Dũng và Wakman, S.A. Môi trường tạo chế phẩm: Than bùn, trấu, cám, bột ngô, bột đậu tương. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và khả năng sử dụng Kit API 50 CHB của chủng vi khuẩn theo Bergey's. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của xạ khuẩn theo Wakman, S.A.

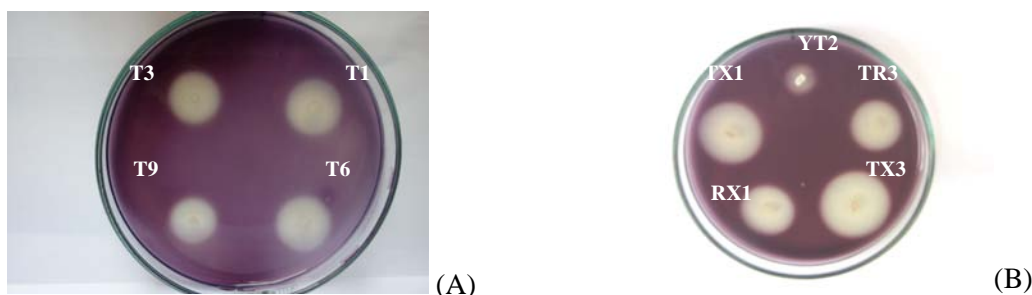
Mật độ tế bào trong môi trường nuôi cấy lỏng xác định bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) 620 nm. Tạo chế phẩm xử lý rác thải hữu cơ sử dụng than bùn, cám, bột ngô, bột đậu tương tạo chất mang theo phương pháp lên men xốp.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tuyển chọn các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn sinh tổng hợp xenluloza cao

Để tuyển chọn các chủng vi sinh vật dùng trong xử lý rác thải hữu cơ phải đạt được các điều kiện: Có khả năng phân giải xenluloza mạnh; chịu được nhiệt độ cao; phát triển nhanh; môi trường nuôi cấy đơn giản. Các chủng vi khuẩn T1, T3, T6 và T9 xạ khuẩn YT2, RX1, TR3, TX1 và TX3 từ bộ sưu tập giống của Phòng Công nghệ vật liệu sinh học đã được xác định khả năng phân giải CMC như trình bày ở Hình 1 và Bảng 1.

Kết quả cho thấy các chủng đều có hoạt tính phân giải xenluloza. Hai chủng vi khuẩn T1 và T6 có vòng phân giải tương tự nhau, nhưng chủng T6 có đường kính khuẩn lạc lớn hơn (6 mm). 2 chủng vi khuẩn T1 và T3 có đường kính phân giải xenluloza tương ứng là 18 và 17 mm, 2 chủng xạ khuẩn TX1 và chủng TX3 có đường kính vòng phân giải lớn nhất là 26,1 mm và 29 mm được lựa chọn tạo chế phẩm.



Hình 1: Vòng phân giải CMC của các chủng nghiên cứu
(A) Chủng vi khuẩn; (B) Chủng xạ khuẩn

Bảng 1

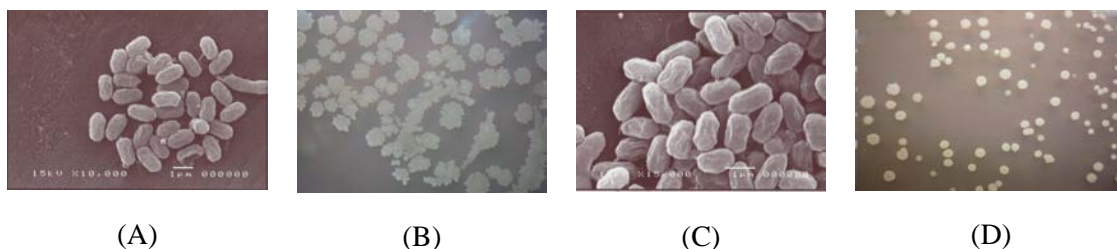
Vòng phân giải CMC của các chủng nghiên cứu

Vi sinh vật	Ký hiệu chủng	Đường kính khuẩn lạc, mm (d)	Đường kính vòng phân giải, mm (D)
Vi khuẩn	T1	5	18
	T3	3	17
	T6	6	16,5
	T9	3	15
Xạ khuẩn	YT2	4,5	12,0
	RX1	7,1	21,0
	TR3	6,1	21,0
	TX1	9,0	26,1
	TX3	7,0	29,0

2. Đặc điểm sinh học các chủng vi sinh vật tuyển chọn

2.1. Đặc điểm sinh học các chủng vi khuẩn tuyển chọn

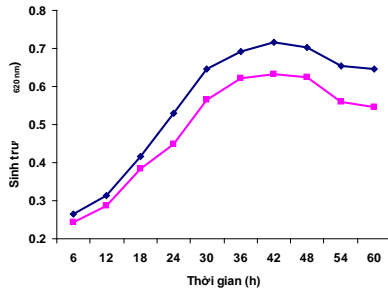
Hình thái tế bào và khuẩn lạc của các chủng nghiên cứu được xác định khi nuôi cấy trên môi trường MPA, sau 48 giờ. Quan sát hình thái tế bào và hình thái khuẩn lạc. Kết quả trình bày ở Hình 2.



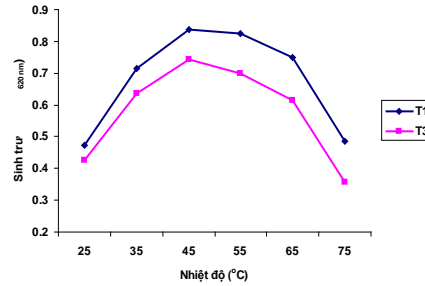
Hình 2: Hình thái tế bào và khuẩn lạc chủng vi khuẩn T1 và T3
(A) Chủng T1 x 10.000; (B) Khuẩn lạc T1 ; (C) Chủng T3 x 15.000 và (D) Khuẩn lạc T3

Từ Hình 2 cho thấy chủng T1 và T3 được tuyển chọn đều thuộc vi khuẩn Gram (+), có hình que ngắn (1,0 ÷ 2,0 μm), mặc dù hình thái tế bào của 2 chủng gần giống nhau, nhưng kết quả cho thấy hình thái khuẩn lạc hoàn toàn khác nhau. Khuẩn lạc của chủng T1 nhẵn, trắng đục và có viền răng cưa, khuẩn lạc của chủng T3 lồi, có màu trắng kem. Nghiên cứu sinh lý, sinh hóa, thời gian sinh trưởng thích hợp của chủng vi khuẩn T1 và T3 là cần thiết cho những nghiên cứu

tiếp theo. Các chủng vi khuẩn T1 và T3 được nuôi trên môi trường MPA ở 45°C, tiến hành lấy mẫu 6 giờ 1 lần, xác định sự sinh trưởng bằng phương pháp đo chỉ số (OD) 620nm. Kết quả được trình bày ở Hình 3.



Hình 3: Thời gian sinh trưởng của 2 chủng vi khuẩn

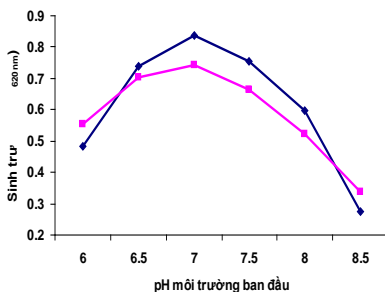


Hình 4: Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng của 2 chủng vi khuẩn

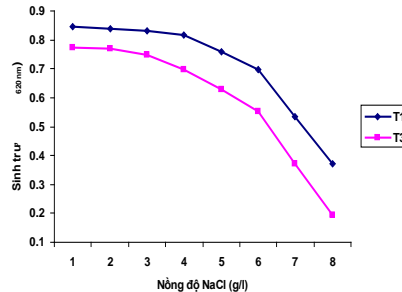
Kết quả ở Hình 3 cho thấy thời gian thích hợp cho sinh trưởng của 2 chủng vi khuẩn T1 và T3 là 42 ÷ 48 giờ và đạt cực đại tại 48 giờ. Sau 48 giờ sự sinh trưởng của 2 chủng vi khuẩn này bắt đầu yếu dần.

+ Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng: Cấy 2 chủng T1 và T3 vào môi trường MPA lỏng, nuôi lắc 200 vòng/phút ở các thang nhiệt độ 25, 35, 45, 55 và 65°C, sau 48 giờ kiểm tra đánh giá khả năng phát triển của chúng bằng cách đo chỉ số mật độ quang (OD) 620nm. Kết quả ở Hình 4 cho thấy 2 chủng vi khuẩn đều có khoảng nhiệt độ sinh trưởng khá rộng 35 ÷ 65°C. Nhiệt độ thích hợp nhất là 45°C, ở 25°C và 75°C phát triển rất yếu. Trong quá trình xử lý rác thải, nhiệt độ đồng ủ có thể tăng cao do đó chỉ những vi sinh vật ưa nhiệt hay chịu nhiệt mới có thể tồn tại được. Như vậy có thể thấy, các chủng vi khuẩn tuyển chọn hoàn toàn phù hợp và có thể sử dụng tạo chế phẩm xử lý rác thải.

+ Ảnh hưởng của pH môi trường đến khả năng sinh trưởng: Việc xác định giá trị pH thích hợp ban đầu và duy trì pH cần thiết trong thời gian sinh trưởng của tế bào là rất quan trọng. Các chủng vi khuẩn được nuôi trên môi trường MPA có pH là 6; 6,5; 7; 7,5 và 8, ở 45°C sau 48 giờ. Xác định mức độ sinh trưởng của vi khuẩn bằng chỉ số (OD) 620nm. Kết quả được trình bày ở Hình 5 cho thấy, 2 chủng vi khuẩn T1 và T3 đều sinh trưởng tốt ở dải pH 6,5 ÷ 7,5, đạt sinh trưởng cực đại tại pH 7.



Hình 5: Ảnh hưởng pH lên sinh trưởng của 2 chủng vi khuẩn



Hình 6: Ảnh hưởng NaCl đến sinh trưởng của 2 chủng vi khuẩn

+ *Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng*: Nồng độ NaCl có ảnh hưởng quan trọng tới sinh trưởng của vi sinh vật. Tiến hành cấy 2 chủng T1 và T3 vào môi trường MPA pH 7, bổ sung NaCl với các nồng độ khác nhau là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 và 8 g/l, nuôi ở 45°C trong thời gian 48 giờ. Đánh giá sinh trưởng bằng chỉ số (OD) 620nm. Kết quả ở Hình 6 cho thấy 2 chủng T1 và T3 đều thuộc loại chịu NaCl trung bình từ 1 ÷ 5. Nồng độ NaCl quá cao gây ức chế làm chúng không phát triển hoặc phát triển rất yếu.

+ *Khả năng phân giải các nguồn cơ chất*: Trong rác thải hữu cơ, ngoài thành phần chủ yếu là xenlulo, còn có rất nhiều các thành phần khác có thể là nguồn dinh dưỡng cung cấp cho vi sinh vật sinh trưởng. Do đó việc đánh giá khả năng phân giải các nguồn dinh dưỡng của vi sinh vật cho biết có thể sử dụng chúng vào việc phân giải các loại rác thải giàu dinh dưỡng hay không. Khả năng phân giải các nguồn cơ chất của chủng vi khuẩn T1 và T3 được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2

Khả năng phân giải các nguồn cơ chất của chủng T1 và T3

Ký hiệu chủng	Thủy phân tinh bột	Thủy phân gelatin	Thủy phân casein	Pepton hóa sữa
T1	++	+	+	+
T3	++	+++	+	++

Bảng 2 cho thấy, vi khuẩn T1 và T3 đều có khả năng phân giải tinh bột, gelatin, casein và pepton hóa sữa tốt, chủng T3 có khả năng phân giải các nguồn cơ chất mạnh hơn chủng T1. Như vậy, có thể sử dụng hai chủng trên trong tạo chế phẩm vi sinh trong xử lý rác thải có lẫn các loại cơ chất khác nhau.

*** Đặc điểm phân loại 2 chủng vi khuẩn:**

Từ kết quả nghiên cứu các đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào, tính chất nuôi cấy cho thấy các chủng T1 và T3 đều là trực khuẩn Gram (+), sinh bào tử và thuộc chi *Bacillus*. Đặc điểm phân loại của 2 chủng vi khuẩn T1 và T3 được trình bày ở Bảng 3.

Kit chuẩn sinh hóa API 50 CHB là Kit sản xuất dùng để phân loại vi khuẩn Gram (+), đặc biệt là các chủng thuộc các giống *Bacillus*. Kết quả khả năng sử dụng cơ chất theo Kit API 50CHB của chủng T1 và T3 được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 3

Đặc điểm phân loại của 2 chủng vi khuẩn

Đặc điểm	Ký hiệu 2 chủng vi khuẩn	
	T1	T3
Màu sắc khuẩn lạc	Trắng đục	Trắng kem
Bề mặt khuẩn lạc	Nhẵn	Lồi
Kích thước tế bào (µm)	1 ÷ 2	1 ÷ 2
Nhuộm Gram	+	+
Tạo bào tử	Không	Không
Thủy phân tinh bột	++	++
Thủy phân gelatin	+	+++
Thủy phân casein	+	+
Pepton hóa sữa	+	++
Nhiệt độ thích hợp	35 ÷ 65°C	35 ÷ 65°C
pH thích hợp	6,5 ÷ 7,5	6,5 ÷ 7,5
Khả năng chịu NaCl (g/l)	1 ÷ 5	1 ÷ 5

Ghi chú: +++ : Sinh trưởng mạnh, ++: Sinh trưởng tốt, +: Sinh trưởng trung bình

Bảng 4

Khả năng sử dụng cơ chất theo Kit API 50 CHB của chủng T1 và T3 so sánh với loài trong bảng Index của Kit

TT	Cơ chất	Chủng T1		Chủng T3		<i>B. circulans</i>
		24 h	48 h	24 h	48 h	
0.	Control	-	-	-	-	-
1.	Glycerol	+	+	+	+	+
2.	Erythritol	-	-	-	-	-
3.	D-Arabinosa	+	+	+	+	+
4.	L- Arabinosa	+	+	+	+	+
5.	Riboza	+	+	+	+	+
6.	D-Xyloza	+	+	+	+	+
7.	L-Xyloza	-	-	-	-	-
8.	Adonitol	-	-	-	-	-
9.	β Methyl-xylosit	-	-	-	-	-
10.	Galactoza	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
11.	D-Glucoza	+	+	+	+	+
12.	D-Fructoza	+	+	+	+	+
13.	D-Mannoza	+	+	+	+	+
14.	L-Sorboza	-	-	-	-	-
15.	Rhamnoza	-	-	-	-	-
16.	Dulcitol	-	-	-	-	-
17.	Inositol	+	+	+	+	-
18.	Mannitol	+	+	+	+	+
19.	Sorbitol	+	+	+	+	+
20.	α Methyl-D-mannosit	-	-	-	-	-
21.	α Methyl-D-glucosit	+	+	+	+	+
22.	N Acetyl glucosamin	+	+	+	+	+
23.	Amygdalin	+	+	+	+	+
24.	Arbutin	+	+	+	+	+
25.	Esculin	+	+	+	+	+
26.	Salicin	+	+	+	+	+
27.	Cellobioza	+	+	+	+	+
28.	Maltoza	+	+	+	+	+
29.	Lactoza	+	+	+	+	+
30.	Melibioza	-	\pm	-	\pm	+
31.	Saccaroza	+	+	+	+	+
32.	Trehaloza	+	+	+	+	+
33.	Inulin	-	-	-	-	-
34.	Melezitoza	-	-	-	-	-
35.	D-Raffinoza	+	+	+	+	+

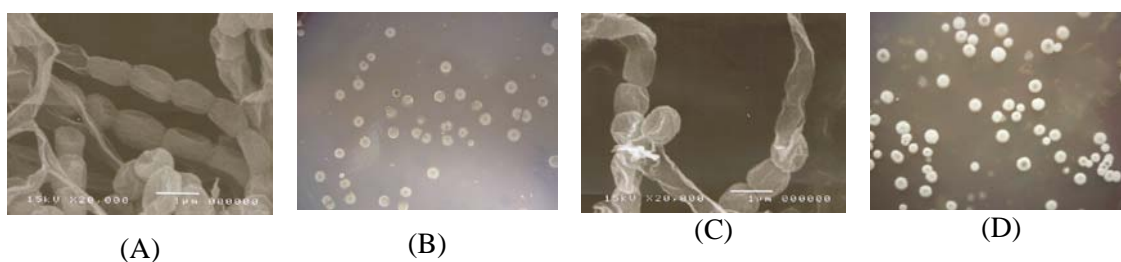
TT	Cơ chất	Chủng T1		Chủng T3		<i>B. circulans</i>
		24 h	48 h	24 h	48 h	
36.	Amidon	+	+	+	+	+
37.	Glycogen	+	+	+	+	+
38.	Xylitol	-	-	-	-	-
39.	β Gentiobioza	+	+	+	+	+
40.	D-Turanoza	-	-	-	-	+
41.	D-Lyxoza	-	-	-	-	-
42.	D-Tagatoza	-	-	-	-	-
43.	D-Fucoza	-	-	-	-	-
44.	L-Fucoza	-	-	-	-	-
45.	D-Arabitol	-	-	-	-	-
46.	L-Arabitol	-	-	-	-	-
47.	Gluconat	-	-	-	-	\pm
48.	2 ceto-gluconat	-	-	-	-	-
49.	5 ceto-gluconat	-	-	-	-	-

Chú thích: -: Không có phản ứng; +: Có phản ứng; \pm : Phản ứng yếu.

Đối chiếu kết quả này với API profile index, kết hợp với các đặc điểm hình thái theo khoá phân loại vi khuẩn của Bergey's cho thấy chủng T1 và T3 đều thuộc *B. circulans*, nhưng đặc điểm hình thái và màu sắc khuẩn lạc 2 chủng là hoàn toàn khác nhau, vì vậy chủng T1 được định loại là *B. circulans* T1, chủng T3 là *B. circulans* T3.

2.2. Đặc điểm sinh học các chủng xạ khuẩn tuyển chọn

* **Đặc điểm hình thái 2 chủng xạ khuẩn:** Các chủng xạ khuẩn TX1 và TX3 được nuôi trên môi trường Gauze1 ở 45°C sau 96 giờ quan sát các đặc điểm hình thái của chúng. Kết quả được trình bày ở Hình 7.



Hình 7. Hình thái tế bào và khuẩn lạc 2 chủng xạ khuẩn TX1 và TX3

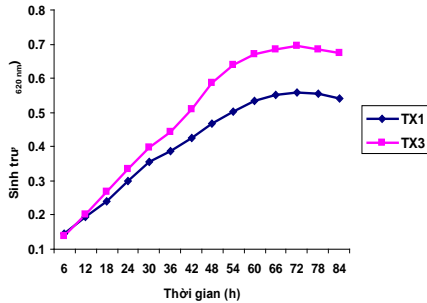
(A) Chủng TX1x10.000; (B) Khuẩn lạc TX1; (C) Chủng TX3x15.000; (D) Khuẩn lạc TX3

Kết quả ở Hình 7 cho thấy màu sắc khuẩn ty khí sinh và khuẩn ty cơ chất của cả 2 chủng xạ khuẩn đều thuộc nhóm xám, chuỗi bào tử của chúng có hình que. Chủng TX1 màu trắng đục, bề mặt trơn nhẵn, còn chủng TX3 màu trắng kem, bề mặt hơi lồi.

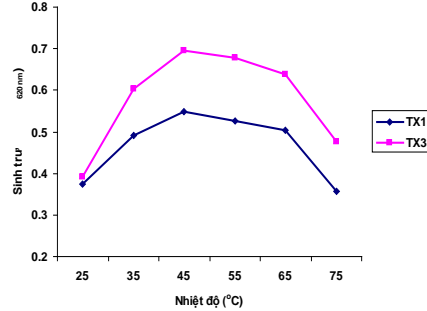
* **Đặc điểm sinh lý, sinh hóa**

+ **Khả năng sinh trưởng:** Hai chủng xạ khuẩn TX1 và TX3 được nuôi trên môi trường Gauze1 ở nhiệt độ 45°C, nuôi lắc 200 vòng/phút. Tiến hành lấy mẫu 6 giờ 1 lần, đánh giá khả

năng sinh trưởng bằng chỉ số (OD) 620nm. Khả năng sinh trưởng của 2 chủng xạ khuẩn TX1 và TX3 trình bày ở Hình 8 cho thấy, hai chủng có khoảng thời gian thích hợp cho sinh trưởng từ 66 ÷ 78 giờ. Sinh trưởng tốt và đạt cực đại tại 72 giờ. Sau 78 giờ sinh trưởng yếu dần.



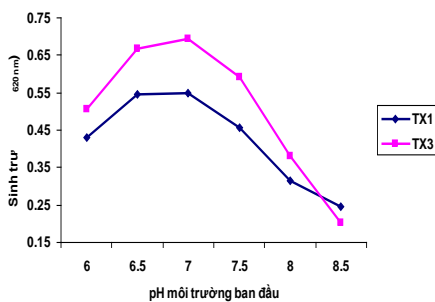
Hình 8: Khả năng sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn



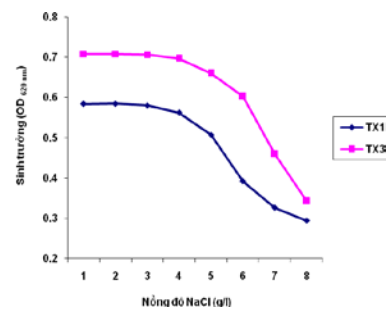
Hình 9: Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn

+ Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng: Nuôi hai chủng xạ khuẩn TX1 và TX3 ở các thang nhiệt độ nuôi: 25, 35, 45, 55, 65 và 75°C trong 48 giờ, xác định khả năng sinh trưởng bằng chỉ số (OD) 620nm. Kết quả được trình bày ở Hình 9 cho thấy, hai chủng trên đều là các chủng ưa nhiệt, có nhiệt độ phát triển thích hợp từ 35 ÷ 65°C và phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 45°C, nên thích hợp cho việc xử lý rác thải hữu cơ.

+ Ảnh hưởng của pH môi trường đến khả năng sinh trưởng: Cùng với nhiệt độ và thời gian nuôi cấy, giá trị pH của môi trường cũng có ảnh hưởng khá quan trọng đến sinh trưởng của các chủng vi sinh vật. Các chủng xạ khuẩn tuyển chọn được nuôi lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ 45°C, 72 giờ trên môi trường Gauze 1 có pH ban đầu là 6; 6,5; 7; 7,5; 8 và 8,5. Xác định khả năng sinh trưởng của hai chủng xạ khuẩn bằng chỉ số (OD) 620nm. Kết quả được trình bày ở Hình 10 cho thấy, pH thích hợp cho 2 chủng xạ khuẩn phát triển nằm trong khoảng 6 ÷ 7,5 và đạt cực đại tại pH 7. Khi pH ban đầu của môi trường lên quá cao (8 và 8,5) thì hai chủng sinh trưởng rất kém và gần như không phát triển.



Hình 10: Ảnh hưởng của pH môi trường ban đầu lên sinh trưởng của 2 chủng xạ khuẩn



Hình 11: Ảnh hưởng của NaCl lên sinh trưởng của 2 chủng xạ khuẩn

+ Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng: Tiến hành nuôi cấy hai chủng TX1 và TX3 trên môi trường Gauze 1 với các điều kiện thích hợp (pH 7, 45°C trong 72 giờ) để xác định khả năng chịu NaCl của hai chủng xạ khuẩn với các nồng độ là: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 và 8 (g/l). Kết quả được trình bày ở Hình 11 cho thấy hai chủng sinh trưởng tốt khi bổ sung nồng độ

NaCl từ 1 ÷ 5 (g/l). Khi nồng độ NaCl tăng lên đến 6, 7 và 8 (g/l) hai chủng xạ khuẩn đều phát triển yếu rõ rệt chứng tỏ hai chủng TX1 và TX3 chỉ có khả năng chịu NaCl ở mức trung bình.

+ *Khả năng phân giải các nguồn cơ chất*: Khả năng phân giải các nguồn cơ chất của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn được trình bày ở Bảng 5 cho thấy có khả năng phân giải các nguồn cơ chất khá tốt, nhất là chủng xạ khuẩn TX3 có khả năng phân giải rất mạnh.

Bảng 5

Khả năng phân giải các nguồn cơ chất của 2 chủng TX1 và TX3

Ký hiệu chủng	Pepton sữa	Dịch hóa gelatin	Phân giải tinh bột	Phân giải xenlulo
TX1	+	+	++	+++
TX3	++	++	++	+++

* Đặc điểm phân loại 2 chủng xạ khuẩn TX1 và TX3

Bảng 6

Đặc điểm phân loại của 2 chủng xạ khuẩn TX1 và TX3

Đặc điểm	Ký hiệu chủng xạ khuẩn	
	TX1	TX3
Màu khuẩn ty khí sinh	Trắng xám	Trắng sữa
Màu khuẩn ty cơ chất	0	0
Sắc tố tan	0	0
Hình thái cuống sinh bào tử	Thẳng hơi lượn, xoắn	Thẳng hơi lượn, xoắn
Bề mặt bào tử	Nhẵn	Nhẵn
Pepton sữa	+	+
Dịch hóa gelatin	+	++
Phân giải tinh bột	++	++
Phân giải xenluloza	+++	+++
Nhiệt độ thích hợp	35 ÷ 65°C	35 ÷ 65°C
pH thích hợp	6 ÷ 7,5	6 ÷ 7,5
Khả năng chịu NaCl (g/l)	1 ÷ 5	1 ÷ 5

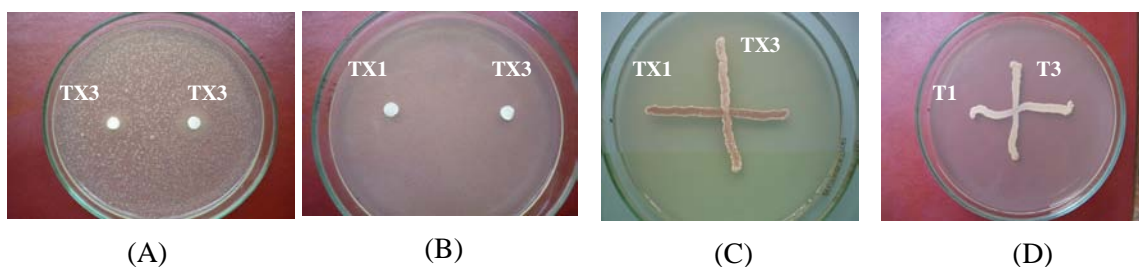
Ghi chú: +++ :Sinh trưởng mạnh, ++:Sinh trưởng tốt, +: Sinh trưởng trung bình

Kết hợp các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa theo Wakman, sơ bộ xếp các chủng trên thuộc giống *Streptomyces* và ký hiệu là *Streptomyces* sp.TX1 và *Streptomyces* sp.TX3.

2.3. Khả năng đối kháng giữa các chủng nghiên cứu

Kiểm tra sự đối kháng của các chủng được tiến hành giữa vi khuẩn với xạ khuẩn, giữa xạ khuẩn với xạ khuẩn và giữa vi khuẩn với vi khuẩn

Kết quả được trình bày ở Hình 12 cho thấy cả 4 chủng đều không có khả năng đối kháng nhau. Như vậy, 4 chủng nghiên cứu là *B. circulans* T1, *B. circulans* T3, *Streptomyces* sp.TX1 và *Streptomyces* sp.TX3 đủ điều kiện cho tạo chế phẩm xử lý rác thải hữu cơ.



Hình 12: Khả năng đối kháng giữa các chủng nghiên cứu

(A) Vi khuẩn T1 với xạ khuẩn; (B) Vi khuẩn T3 với xạ khuẩn;

(C) Xạ khuẩn với xạ khuẩn; (D) Vi khuẩn với vi khuẩn

3. Tạo chế phẩm vi sinh vật xử lý rác thải hữu cơ

Các chủng *B. circulans*.T1, *B. circulans* T3, *Streptomyces* sp.TX1 và *Streptomyces* sp.TX3 được hoạt hóa trên môi trường nhân giống cấp 1 trong bình tam giác trên máy lắc, sau đó chuyển sang nhân giống cấp 2 trên bình lên men, sau khi giống tốt được trộn với chất mang là than bùn, cám gạo, trấu, bột ngô, ủ thời gian 12 ÷ 14 ngày, sau khoảng 5 ÷ 7 ngày ta đảo trộn, sau khi ủ chín chế phẩm, số lượng tế bào đạt khoảng 10^7 , chế phẩm được đóng túi bảo quản nơi khô mát và được đem sử dụng. Sau 1, 3, 5 và 6 tháng xác định số lượng vi khuẩn và xạ khuẩn phân giải xenluloza. Kết quả được trình bày ở Bảng 7.

Bảng 7

Biến động vi khuẩn và xạ khuẩn trong chế phẩm

Nhóm vi sinh vật	Mật độ vi sinh vật CFU/g chế phẩm (tháng)				
	Ban đầu	1	3	5	6
<i>B. circulans</i> T1 và T3	$8,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$6,2 \times 10^6$
<i>Streptomyces</i> sp. TX1 và TX3	$8,6 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$5,5 \times 10^7$	$2,2 \times 10^7$	$7,5 \times 10^6$

Tạo chế phẩm vi sinh vật phân giải xenluloza sử dụng cho phân hủy rác thải không thanh trùng chất mang, sự biến động của nhóm vi sinh vật trong chế phẩm cho thấy chế phẩm sau 5 tháng số lượng tế bào còn $10^7/g$, sau 6 tháng còn khoảng $10^6/g$ đạt mật độ tế bào theo TCVN về phân bón vi sinh vật phân giải xenluloza [6]. Như vậy với thời gian bảo quản chế phẩm ở nhiệt độ phòng sau 6 tháng vẫn đạt yêu cầu cho xử lý rác thải hữu cơ.

III. KẾT LUẬN

Từ 4 chủng vi khuẩn T1, T3, T6 và T9 và 5 chủng xạ khuẩn YT2, RX1, TR3, TX1, TX3 có khả năng sinh xenlulaza đã lựa chọn được hai chủng vi khuẩn T1 và T3, hai chủng xạ khuẩn TX1 và TX3 có vòng phân giải xenlulaza lớn nhất dùng để tạo chế phẩm. Dựa vào các đặc điểm sinh học và phân loại, 2 chủng vi khuẩn T1 và T3 thuộc loài *Bacillus circulans*, được ký hiệu là *B. circulans* T1 và *B. circulans* T3. Hai chủng xạ khuẩn TX1 và TX3 thuộc giống *Streptomyces*, được ký hiệu là *Streptomyces* sp. TX1 và *Streptomyces* sp. TX3. Đã tạo được chế phẩm phân hủy rác thải hữu cơ thành phân bón hữu cơ từ 4 chủng: *B. circulans* T1; *B. circulans* T3; *Streptomyces* sp. TX1 và *Streptomyces* sp. TX3.

Chế phẩm sau 6 tháng bảo quản trong nhiệt độ phòng đạt 10^6 đảm bảo yêu cầu cho xử lý rác thải hữu cơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Tăng Thị Chính**, 2001: Nghiên cứu các vi sinh vật phân giải xenluloza trong phân hủy rác thải hữu cơ và ứng dụng. Luận án Tiến sĩ Sinh học, Viện Công nghệ Sinh học, Trung tâm KHTN&CNQG.
2. **Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đăng Đức, Đặng Hồng Miên, Nguyễn Vĩnh Phước, Nguyễn Đình Quyền, Nguyễn Phùng Tiên, Phạm Văn Ty**, 1976: Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật, tập 2, NXB. KH&KT, Hà Nội.
3. **Egorov N.X.**, 1983: Thực tập vi sinh vật học. NXB. Đại học và Trung học chuyên nghiệp, Hà Nội.
4. **Gauze G.F.; T.P. Preobrajenskaja; M.A. Sveshnicova; L.P. Tegekova, T.S. Maximova**, 1983: Opgedelited aktinomycetov uzd "Nauka - Moskava".
5. **Trần Đình Mẫn, Nguyễn Thế Trang, Phan Thị Tuyết Minh, Nguyễn Văn Xuân**, 2009: Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 2009. NXB. ĐH Thái Nguyên, tr. 924-927.
6. **TCVN 6168 - 1996**: Phân bón vi sinh vật phân giải cellulose.
7. **John G. Holt, Noel R. Krieg, Peter H.A. Sneath, James T. Staley, Stanley T. Williams**, 1986: Bergey's manual of Systematic Bacteriology, 9th edition, 2.
8. **Wakman S.A.**, 1961: The Actinomycetes: Classification, identification and description of genera and species, The Williams & Wilkins, Baltimore, vol 2.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SEVERAL MICROORGANISM STRAINS USED FOR TREATMENT OF RICH CELLULOSE WASTE

NGUYEN THE TRANG, TRAN DINH MAN, NGUYEN THI DA

SUMMARY

Today, environmental pollution is a serious concern in cities and rural areas. It is estimated that an average of 0.4 kg of rubbish per person is discarded. Microbial products are being used for degradation of waste cellulose, so there is increasing demand for this product. The safe disposal of organic waste is a major problem. The microbial products used to degrade organic wastes are very useful. The microorganism strains used in this study include bacteria (as T1, T3, T6 and T9) and actinomycetes (as YT2, RX1, TR3, TX1 and TX3). Among them, the strains T1, T3, TX1, TX3 showed the highest activity of cellulose degradation and were selected for the production. Bergey's morphology and API 50 CHB Kit were used for classification of T1 and T3 strains, and the result showed that T1 and T3 belong to *Bacillus circulans* species and are called *Bacillus circulans* T1 and *Bacillus circulans* T3. The strain TX1 and TX3, however, were identified to be of *Streptomyces* species by biological characterization and are named *Streptomyces* sp. TX1 and *Streptomyces* sp. TX3. When the products have been preserved for 6 months at temperature of 30°C, they still reach density of microbial of 10⁶ CFU/gr with high cellulase activity.