

TUYỂN CHỌN VÀ HÌNH THÀNH TỔ HỢP VI SINH VẬT PHÂN GIẢI PHẾ THẢI VÀ PHỤ PHẨM MÍA ĐƯỜNG ĐẠT HIỆU QUẢ CAO

Lê Thị Việt Hà*, Lê Văn Tri*

The selection and produce of mixed microorganism have high decomposing of residues from sugarcane production effectiveness

(Summary)

- In the previous studing, cellulose decomposing microorganisms were isolated and selected, two thermophylatic bacterium strains (name X, Đ_a), tree thermophilic actinomycetes strains (XK₁, XK₁₅, XK₈) and two mold strains (M_b, M_c).

- The combined microbial strains were selected to make high quality residues of sugarcane production decomposing preparation (temperature of filter cake compost reached 70°C. In the bagasse, amount of cellulose losed over 23%).

I. MỞ ĐẦU

Việt Nam là một nước nông nghiệp có nguồn phế thải sau thu hoạch rất lớn và đa dạng. Riêng ngành mía đường, với hơn 40 nhà máy chế biến đường và khoảng hơn 250000 hecta mía nguyên liệu cho chương trình mía đường thì hàng năm khối lượng phế thải và phụ phẩm (bã mía, bùn mía...) từ ngành công nghiệp này là rất lớn [2]. Nguồn phế thải này, phần lớn bị đốt, phần còn lại trở thành rác gây ô nhiễm môi trường, trong khi đó đất đai lại thiếu trầm trọng nguồn dinh dưỡng cho cây.

Việc xử lý chất thải hữu cơ có chứa ligno-xenluloza, trong đó có bã mía bằng các tác nhân hoá lý rất phức tạp và khá tốn kém. Trong khi đó, sử dụng công nghệ vi sinh vật thì có nhiều ưu điểm vì xử lý triệt để, phân huỷ chất hữu cơ, tạo ra sản phẩm phân bón hữu cơ dùng cho sản xuất nông nghiệp [4]. Việc sử dụng phân bón hữu cơ này không những làm cho môi trường trở nên sạch, đất tơi xốp, dễ canh tác, giữ nước nên tránh được xói mòn mà còn trả lại cho đất những phân dinh dưỡng mà cây đã lấy đi, giảm được việc sử dụng phân hoá học, góp phần xây dựng nền nông nghiệp sạch và an toàn [3].

Bài viết này giới thiệu kết quả thực hiện đề tài "Tuyển chọn và hình thành tổ hợp vi sinh vật phân giải phế thải và phụ phẩm mía đường đạt hiệu quả cao". Qua đó nhằm nâng cao chất lượng phân phức hợp hữu cơ vi sinh, góp phần cải tạo đất, tăng thêm doanh thu và phát triển bền vững cho chương trình mía đường quốc gia.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Vật liệu

- VSV phân giải xenluloza phân lập từ đất và bã thải của các nhà máy đường: 2 chủng vi khuẩn phân giải xenluloza chịu nhiệt (kí hiệu X, Đ_a), 3 chủng xạ khuẩn ưa ấm (kí hiệu XK₁, XK₁₅, XK₈), 2 chủng nấm mốc (kí hiệu M_b, M_c).

- Bã mía, bùn mía.

2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định số lượng vsv bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa - phương pháp pha loãng tới hạn của Koch (môi trường tương ứng với từng nhóm vsv) [1]. Phương pháp xác định hoạt tính xenlulaza: Định lượng đường khử theo Microbetrand, phương pháp khuyếch tán trên thạch [1]. Phương pháp xác định hàm lượng xenluloza thô.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tuyển chọn và hình thành tổ hợp vi sinh vật phân giải bùn mía

a. Tuyển chọn:

Từ các nghiên cứu trước chúng tôi đã phân lập được 2 chủng vi khuẩn phân giải xenluloza chịu nhiệt (kí hiệu X, Đ_a), 3 chủng xạ khuẩn ưa ấm (kí hiệu XK₁, XK₁₅, XK₈), 2 chủng nấm mốc (kí hiệu M_b, M_c). Để tìm ra một chế phẩm phân giải bùn mía tốt, chúng tôi tiến hành phối trộn các chủng vào bùn mía rồi đánh thành đồng ủ và theo dõi. Đồng ủ được đánh luống dày 0,25m, rộng 3m, ủ trên đất ngoài trời giữ độ ẩm đạt 50%, kí hiệu TN = Bùn mía + chế phẩm vi sinh vật, ĐC = Bùn mía.

b. Biến động số lượng vi sinh vật trong đồng ủ bùn mía:

Sau 5, 10, 15, 20 ngày ủ, kiểm tra nhiệt độ đồng ủ và số lượng vi sinh vật phân giải xenluloza, kết quả trình bày ở bảng 1 cho thấy:

* Công ty cổ phần CNSH

Bảng 1. Biến động số lượng vi sinh vật trong đồng ủ bùn mía

Thời gian ủ (ngày)	Nhiệt độ (°C)		Số lượng vi sinh vật phân giải xenluloza ($\times 10^6$ CFU/g)					
			Vi khuẩn		Nấm mốc		Xạ khuẩn	
	TN	ĐC	TN	ĐC	TN	ĐC	TN	ĐC
5	50	38	20	11	2,0	0,3	11	5
10	60	47	980	100	98	2,5	50	25
15	70	55	800	90	108	2,8	250	87
20	50	30	560	87	50	2,0	195	70

Nhiệt độ đồng ủ tăng lên và đạt cực đại ở ngày thứ 15 (TN là 70°C, ĐC là 55°C), sau đó nhiệt độ giảm xuống. Trong thời gian đầu nguồn cơ chất dễ tiêu được vi sinh vật (vsv) sử dụng nhiều tạo năng lượng lớn làm nhiệt độ tăng lên. Khi nguồn cơ chất dễ tiêu cạn dần thì năng lượng tạo ra giảm xuống. Nhiệt độ trong đồng ủ có bổ sung chế phẩm vsv cao hơn hẳn đồng ủ đối chứng, vì trong đồng ủ TN có bổ sung các vsv ưa ấm và chịu nhiệt. Các VSV này có hoạt tính phân hủy các chất mạnh nên sinh ra nhiều năng lượng, làm nhiệt độ đồng ủ tăng cao hơn. Nhiệt độ cao trong đồng ủ có tác dụng diệt mầm cỏ dại và các VSV gây bệnh. Số lượng vsv trong đồng ủ tăng tỷ lệ thuận với nhiệt độ và ở đồng ủ TN có số lượng cao hơn nhiều so với đồng ủ ĐC. Tổng số lượng vsv đạt cực đại ở ngày thứ 15, trong đó số lượng vi khuẩn tăng lên đến ngày thứ 10 thì đạt cực đại (980×10^6 CFU/g ở TN và 100×10^6 CFU/g ở ĐC). Đến ngày thứ 15, mốc và xạ khuẩn đạt cực đại (lần lượt là 108×10^6 CFU/g, 250×10^6 CFU/g ở TN và $2,8 \times 10^6$ CFU/g, 87×10^6 CFU/g ở ĐC). Điều này cho thấy khả năng sinh trưởng của vi sinh vật phân giải xenluloza trong đồng ủ có bổ sung VSV mạnh hơn rất nhiều so với đồng ủ đối chứng. Do vậy chúng tôi chọn hỗn hợp các chủng vi sinh vật làm chế phẩm phân giải bùn mía với thời gian ủ từ 10-15 ngày là tốt nhất.

2. Tuyển chọn và hình thành tổ hợp vi sinh vật phân giải bã mía

Để tìm ra một chế phẩm phân giải bã mía tốt, chúng tôi tiến hành phối trộn các chủng theo nguyên tắc tác động độc lập của các loại vi sinh vật và tác động của hỗn hợp vi sinh vật trên cơ chất bã mía. Bã mía được cắt nhỏ, điều chỉnh độ ẩm 60% bằng dung dịch muối

khoáng, ri đường, khử trùng 1 at/30 phút. Cứ sau 5 ngày chúng tôi xác định mật độ tế bào, lượng đường khử, hoạt tính CMCaza và lượng xenluloza bị tiêu hao so với ban đầu.

- Quá trình phân hủy bã mía của từng chủng vi sinh vật:

* Vi khuẩn: Kết quả thu được trình bày ở bảng 2 cho thấy: Khi sử dụng hỗn hợp vi khuẩn, mật độ tế bào vi khuẩn tăng dần và đạt cực đại ở ngày thứ 20 (110×10^9 CFU/g) sau đó giảm dần. Hàm lượng đường khử và hoạt tính CMCaza đạt cực đại vào ngày thứ 15 (0,3mg/ml, 30mm). Sau 30 ngày lượng xenluloza bị tiêu hao là 19,5% so với ban đầu

Bảng 2. Phân giải bã mía bằng nhóm vi khuẩn

Thời gian ủ (ngày)	Mật độ tế bào ($\times 10^9$ CFU/g)	Đường khử (mg/ml)	Hoạt tính CMCaza (D - d, mm)	Lượng xenluloza bị tiêu hao (%)
5	10	0,01	22	4,14
10	36	0,21	23	10,2
15	58	0,30	30	12,3
20	110	0,12	31	14,3
25	98	0,14	25	18,1
30	80	0,18	24	19,5

Bảng 3: Phân giải bã mía bằng nhóm nấm

Thời gian ủ (ngày)	Mật độ tế bào ($\times 10^6$ CFU/g)	Đường khử (mg/ml)	Hoạt tính CMCaza (D - d, mm)	Lượng xenluloza bị tiêu hao (%)
5	20	0,05	20	5,02
10	46	0,45	30	10,12
15	150	0,48	31	15,6
20	120	0,2	28	17,8
25	71	0,45	25	19,0
30	30	0,5	26	20,8

* Nấm mốc: Kết quả trình bày ở bảng 3 cho thấy:

Khi sử dụng hỗn hợp 2 nấm mốc, mật độ tế bào tăng dần và đạt cực đại ở ngày thứ 15 (150×10^6 CFU/g) sau đó giảm dần. Hàm lượng đường khử và hoạt tính CMCaza đạt cực đại vào ngày thứ 15 (0,48mg/ml, 31mm). Sau 30 ngày lượng xenluloza bị tiêu hao là 20,8% so với ban đầu và lớn hơn ở vi khuẩn.

NÔNG NGHIỆP - NÔNG THÔN - MÔI TRƯỜNG

Bảng 4. Phân giải bã mía bằng nhóm xạ khuẩn

Thời gian ủ (ngày)	Mật độ tế bào ($\times 10^6$ CFU/g)	Đường khử (mg/ml)	Hoạt tính CMCase (D - d, mm)	Lượng xenluloza bị tiêu hao (%)
5	16	0,02	21	6,02
10	110	0,18	25	7,8
15	300	0,42	32	16,12
20	256	0,23	22	18,9
25	200	0,26	26	19,62
30	110	0,14	23	21,5

* Xạ khuẩn: Kết quả trình bày ở bảng 4 cho thấy.

Khi sử dụng hỗn hợp 2 chủng xạ khuẩn, mật độ tế bào xạ khuẩn tăng dần và đạt cực đại ở ngày thứ 15 (300×10^6 CFU/g) sau đó giảm dần. Hàm lượng đường khử và hoạt tính CMCase đạt cực đại vào ngày thứ 15 (0,42mg/ml, 32mm). Sau 30 ngày lượng xenluloza bị tiêu hao là 21,5% so với ban đầu và cao hơn hẳn so với vi khuẩn, nấm mốc. Tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn trên bã mía mạnh hơn nấm và xạ khuẩn vì mật độ tế bào của vi khuẩn cao hơn hẳn sau đó đến xạ khuẩn và cuối cùng là nấm.

- Quá trình phân huỷ bã mía bằng hỗn hợp các chủng:

Chọn 2 chủng vi khuẩn, 3 chủng xạ khuẩn và 2 chủng nấm mốc phối trộn thành các công thức (tỉ lệ 1:1): I: V + X,

II: X + M, III: V + M, IV: V + X + M. Cứ sau 5 ngày tiến hành kiểm tra các chỉ tiêu.

Kết quả trình bày ở bảng 5 cho thấy, mật độ tế bào của các công thức hỗn hợp đều đạt cực đại ở ngày thứ 20 trong đó công thức IV có mật độ cao nhất (450×10^8 CFU/g) và cao hơn hẳn các công thức từng nhóm riêng rẽ. Hàm lượng đường khử và hoạt tính CMCase ở các công thức đạt cực đại vào ngày thứ 10 và đều lớn hơn các công thức chỉ có ở từng nhóm vi sinh vật. Sau 30 ngày lượng xenluloza bị tiêu hao ở các công thức hỗn hợp chủng lớn hơn 22% cao hơn các công thức riêng rẽ từng nhóm vi sinh vật, trong đó công thức IV là cao nhất 23,5%. Như vậy, hoạt tính xenluloza khi dùng ở công thức hỗn hợp 3 nhóm vsv cao hơn hẳn các công thức từng nhóm riêng rẽ. Do đó chúng tôi chọn hỗn hợp chủng theo công thức IV làm chế phẩm phân giải bã mía.

Bảng 5. Phân giải bã mía bằng hỗn hợp các chủng vi sinh vật

Thời gian (ngày)	Công thức	Mật độ tế bào ($\times 10^8$ CFU/g)	Đường khử (mg/ml)	Hoạt tính CMCase (D - d, mm)	Lượng xenluloza bị tiêu hao (%)
5	I	30	0,06	21	6,0
	II	48	0,02	28	5,4
	III	36	0,04	26	4,3
	IV	56	0,03	29	6,5
10	I	150	0,54	30	12,1
	II	129	0,50	32	12,0
	III	97	0,56	31	12,5
	IV	200	0,60	35	14,5
15	I	230	0,40	26	16,8
	II	180	0,39	27	17,0
	III	156	0,45	26	16,9
	IV	400	0,49	28	19,8
20	I	350	0,13	21	20,0
	II	250	0,16	24	20,8
	III	216	0,11	25	20,1
	IV	450	0,19	26	20,8
25	I	210	0,43	27	21,0
	II	200	0,36	28	22,0
	III	187	0,27	21	21,6
	IV	300	0,50	22	22,5
30	I	180	0,60	24	22,3
	II	170	0,37	26	22,4
	III	200	0,40	25	22,5
	IV	257	0,63	23	23,5

IV. KẾT LUẬN

- Từ các nghiên cứu trước đã phân lập và tuyển chọn được 2 chủng vi khuẩn phân giải xenluloza chịu nhiệt (kí hiệu X, Đ_a), 3 chủng xạ khuẩn ưa ấm (kí hiệu XK₁, XK₁₅, XK₈), 2 chủng nấm mốc (kí hiệu M_v, M_c).

- Chọn hỗn hợp các chủng vsv trên làm chế phẩm phân giải phế thải và phụ phẩm mía đường đạt hiệu quả cao (nhiệt độ đông ủ bùn mía cao 70°C, lượng xenluloza bị tiêu hao so với ban đầu là > 23%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- (1) Nguyễn Lân Dũng và cộng sự, 1976, Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học, Tập 2, Nhà xuất bản KHKT, Hà Nội.
- (2) Lê Văn Tri, 1999, Sử dụng các phụ phẩm của nhà máy đường, Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội.
- (3) Lê Văn Tri, 2003, Phân bón sinh học - Nghiên cứu, sản xuất và kinh doanh, Báo cáo khoa học - Hội nghị CNSH toàn quốc 2003, Nhà xuất bản KHKT, 132 - 135.
- (4) Phạm Hồ Trường, 1993, Chuyển hóa phế liệu Ligno - xenluloza nhờ nấm sợi bằng phương pháp lên men rắn, luận án PTS KHSH, Đại học Tổng hợp Hà Nội, Hà Nội. □