



TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI KHUẨN CÓ HOẠT TÍNH PHÂN GIẢI CELLULOSE CAO TỪ CƠ CHẤT MÙN CƯA

Lê Thanh Huyền

Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội

Ngày nhận: 23/06/2016

Ngày sửa chữa: 28/07/2016

Ngày xét duyệt: 10/08/2016

Tóm tắt:

Bài báo này đưa ra kết quả phân lập các chủng vi khuẩn từ cơ chất mùn cưa. Từ những chủng vi khuẩn phân lập được chúng tôi bắt đầu tiến hành tuyển chọn những chủng có hoạt tính phân giải cellulose cao từ cơ chất mùn cưa bằng phương pháp thử hoạt tính trên đĩa thạch, bên cạnh đó chúng tôi cũng tiến hành mô tả hình thái khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn. Kết quả cho thấy chúng tôi đã phân lập được 36 chủng vi khuẩn từ cơ chất mùn cưa trong đó có 20 chủng có khả năng phân giải cellulose. Trong số 20 chủng có 06 chủng có khả năng phân giải cellulose cao (đường kính phân giải từ 2,0-2,8 cm).

Từ khóa: vi khuẩn, cơ chất mùn cưa, cellulose.

1. Đặt vấn đề

Môi trường là vấn đề đang được quan tâm ở mọi nơi không chỉ ở thành phố, khu công nghiệp hay khu đô thị mà ở cả nông thôn và các làng nghề.

Hiện nay, các làng nghề sử dụng vật liệu từ gỗ để sản xuất hàng hóa ngày càng phát triển. Hàng năm, hoạt động của một số làng nghề làm gỗ đã thải ra môi trường hàng trăm tấn phế phẩm mùn cưa có thành phần chủ yếu là cellulose, hiện đã và đang là một trong những nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường cũng như ảnh hưởng xấu đến sức khỏe của người dân. Giải pháp hiện nay chủ yếu chỉ dừng lại ở việc đốt hoặc dùng để đun bếp. Bởi lẽ đó, vấn đề xử lý mùn thải trong quá trình sản xuất đang được quan tâm hàng đầu.

Với mục tiêu làm sạch, bảo vệ môi trường, tạo ra nguồn phân bón hữu cơ cung cấp tại chỗ cho cây trồng, giải quyết sự thiếu hụt về phân hữu cơ, đồng thời giải quyết một lượng phế thải rất lớn từ các làng nghề sản xuất hàng hóa từ gỗ thì việc tìm ra các chủng vi sinh vật có khả năng xử lý cellulose và rác thải hữu cơ là vấn đề cần thiết cho từng địa phương.

2. Địa điểm và phương pháp nghiên cứu**Địa điểm và mẫu nghiên cứu**

Mùn cưa (Giổi, Sung, Sung, Lim, Chò, Quế, Keo, Tàn bì), ở làng nghề gỗ xã Tân Hội, huyện Đan Phượng, thành phố Hà Nội

- Nghiên cứu trên mùn cưa và mùn cưa ủ trong 3 ngày để so sánh với các mẫu như sau:

+ Mẫu ủ: được đo độ ẩm của mẫu; ủ ở thùng xốp trong 3 ngày (để nơi không có ánh sáng), sau đó lấy mẫu đem đi nghiền nhỏ và phân tích

+ Mẫu đối chứng: Mẫu không ủ, đem mẫu nghiền nhỏ và phân tích.

+ Mẫu được ký hiệu theo Bảng 1;

Bảng 1. Ký hiệu mẫu nghiên cứu

TT	Mẫu	Ký hiệu
1	Giổi	G
2	Sung	S
3	Lim	L
4	Chò	C
5	Quế	Q
6	Keo	K
7	Tàn bì	T

Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp đo độ ẩm:

Tính theo công thức:

$$\text{Độ ẩm} = \frac{a-b}{a} \times 100 (\%)$$

Trong đó:

a: Cân bát sứ + mẫu mùn cưa được khối lượng a (g)

b: Cân bát sứ + mẫu mùn cưa đã sấy được khối lượng của bát sứ + mẫu rắn khô là b (g)

- Phương pháp phân lập: theo phương pháp đếm số khuẩn lạc hình thành trên đĩa thạch (CFU).

- Phương pháp thử hoạt tính: theo phương pháp đục lỗ trên đĩa thạch.

3. Kết quả**3.1. Kết quả đo độ ẩm của mẫu**

Mẫu sau khi lấy về được tiến hành đo độ ẩm mẫu, kết quả thu được thể hiện ở Bảng 2:

Bảng 2. Kết quả đo độ ẩm của mẫu

TT	Mẫu	Ký hiệu	Độ ẩm (%)
1	Giổi	G	1.579
2	Sung	S	1.290

3	Lim	L	1.316
4	Chò	C	1.798
5	Quế	Q	1.073
6	Keo	K	1.582
7	Tần bì	T	1.283

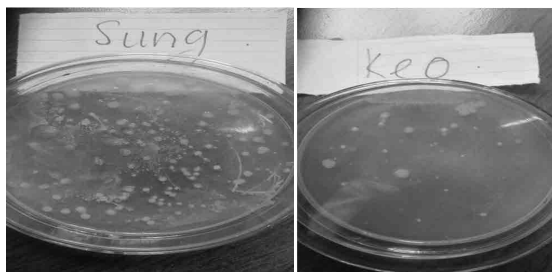
Nhìn vào bảng trên cho thấy các mẫu mùn cưa có độ ẩm tương đối thấp, điều này chứng tỏ do mẫu được lấy vào mùa hanh khô nên một phần tác động đến độ ẩm của mẫu phân tích.

3.1. Kết quả phân lập

Từ các mẫu mùn cưa lim, giổi, keo, chò, tần bì, quế, sung thu được từ Xã Tân Hội, Huyện Đan Phượng, TP. Hà Nội, kết quả phân lập thu được 36 chủng vi khuẩn có thể sử dụng cho thí nghiệm khả năng phân giải cellulose được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Số lượng vi khuẩn phân lập từ 7 mẫu mùn cưa

TT	Mẫu	Ký hiệu	Số lượng chủng VK
1	Giổi	G	5
2	Sung	S	10
3	Lim	L	2
4	Chò	C	2
5	Quế	Q	5
6	Keo	K	7
7	Tần bì	T	5
Tổng			36



Hình 1. Chủng vi khuẩn phân lập từ mùn cưa

Đặc điểm khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn đã phân lập được: đa số các chủng có đặc điểm: bờ đều, nhẵn bóng; hoặc bờ không đều, sần sùi; màu sắc có màu vàng, trắng, trắng trong, trắng đục, và hồng nhạt.

Trong các mẫu khác nhau thì sự phân bố vi khuẩn cũng khác nhau, trong đó mẫu mùn cưa gỗ keo thu được nhiều chủng vi khuẩn hơn so với mùn cưa gỗ sung, quế, tần bì, giổi, lim, chò. Kết quả cũng cho thấy các chủng vi khuẩn ở làng nghề gỗ xã Tân Hội, huyện Đan Phượng, thành phố Hà Nội

ở nghiên cứu tương đối nhiều chủng vi khuẩn. Dựa vào đặc điểm khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn sẽ giúp cho việc nghiên cứu sau. Đây là một đặc điểm rất quan trọng giúp cho việc định danh tên vi khuẩn có hoạt tính enzyme cellulase cao.

3.3. Kết quả thử hoạt tính enzyme cellulase

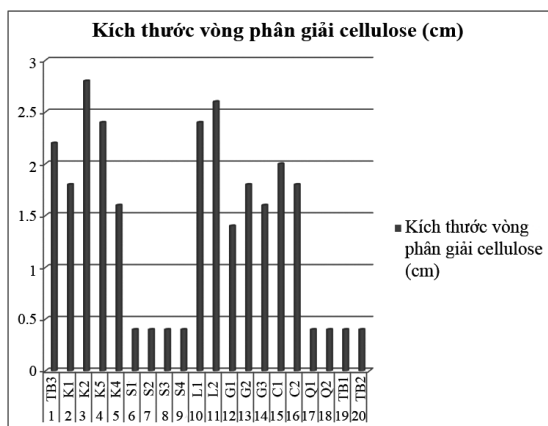
Sau khi phân lập được 36 chủng vi khuẩn chúng tôi tiến hành kiểm tra khả năng sinh enzyme cellulase của các chủng vi khuẩn phân lập được.

Sử dụng môi trường Crapex-dox có 0.5% CMC để kiểm tra khả năng phân giải cellulose. Kết quả thử hoạt tính được thể hiện ở Bảng 4, Hình 2.

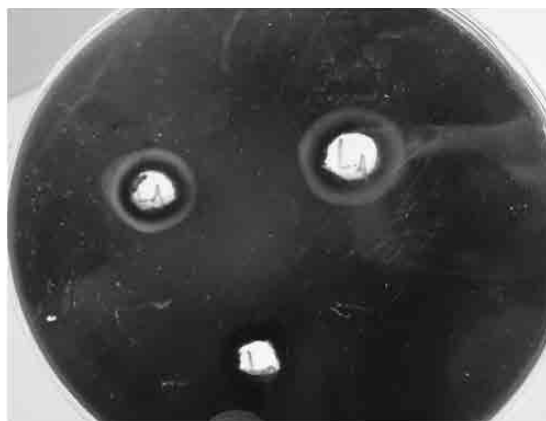
Bảng 4. Kết quả thử hoạt tính của các chủng vi khuẩn

TT	Mẫu	Kích thước vòng phân giải cellulose (cm)
1	TB3	2.2
2	K1	1.8
3	K2	2.8
4	K5	2.4
5	K4	1.6
6	S1	0.4
7	S2	0.4
8	S3	0.4
9	S4	0.4
10	L1	2.4
11	L2	2.6
12	G1	1.4
13	G2	1.8
14	G3	1.6
15	C1	2.0
16	C2	1.8
17	Q1	0.4
18	Q2	0.4
19	TB1	0.4
20	TB2	0.4

Qua Bảng 4 và biểu đồ Hình 2 cho thấy trong số 36 chủng vi khuẩn phân lập được có: 06 chủng vi khuẩn có hoạt tính enzyme cellulase cao (≥ 2.0 cm) bao gồm: TB3, K2, K5, L1, L2, C1; 06 chủng vi khuẩn có hoạt tính enzyme cellulase khá cao (> 1.0 cm) bao gồm: K1, K4, G1, G2, G3, C2; 08 chủng vi khuẩn có hoạt tính enzyme cellulase yếu (< 1.0 cm) thể hiện trong Bảng 3.4; Còn lại các chủng không có hoạt tính không được thể hiện trong Bảng 4. Ở kết quả này cũng cho thấy chủ yếu các chủng có hoạt tính phân hủy cellulase là từ mẫu mùn cưa keo.



Hình 2. Biểu đồ kết quả đo kích thước vòng phân giải cellulose



Hình 3. Mẫu thử hoạt tính enzyme cellulase của gỗ lim

3. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, phân lập được 36 chủng vi khuẩn từ cơ chất mùn cưa, thu được 20 chủng vi khuẩn có thể sử dụng cho thí nghiệm khả năng phân giải cellulose. Khả năng sinh tổng hợp cellulose ở các mẫu, trong số có 20 chủng có 06 chủng có đường kính phân giải cellulose ≥ 2.0 cm, trong số đó có 02 chủng có đường kính phân giải cellulose ≥ 2.5 cm (chủng K2 và L2). Ở bài báo sau chúng tôi sẽ công bố kết quả nghiên cứu tiếp theo đối với các chủng có hoạt tính cellulase cao và định danh các chủng đó.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Kiều Ngọc Bích, 2012, *Phân lập, tuyển chọn và nghiên cứu các đặc điểm hình thái của một số chủng nấm mốc có khả năng sinh cellulase cao*, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.
- [2]. Đặng Minh Hằng, 1999, *Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp cellulase của một số chủng vi sinh vật để xử lý rác*, Báo cáo Khoa học, Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 333 – 339.
- [3]. Lê Thanh Huyền và Nguyễn Khắc Thành, 2010, *Giáo trình Vi sinh kỹ thuật môi trường*, Đại học Tài nguyên và môi trường Hà Nội.
- [4]. Nguyễn Lan Hương, 1999, *Phân lập và hoạt hóa vi sinh vật ưa nhiệt có hoạt tính cellulase cao để bổ sung vào khối ủ, rút ngắn chu kỳ xử lý rác thải sinh hoạt*, Báo cáo khoa học, Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 531 – 536.
- [5]. Võ Thị Bích Viên, 2009, *Khảo sát đặc điểm sinh học một số chủng nấm sợi thuộc chi Aspergillus và Penicillium từ rừng ngập mặn Cần Giờ TP. Hồ Chí Minh*.
- [6]. Lee, R. L. P. J. Weimer, W. H. Zyl and I. S. Pretorius, 2002, *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology*, Microbiology and Molecular Biology Reviews. 506–577.
- [7]. Saha, S. R. Roy, S. Sen and A. Ray, 2006, *Characterization of Cellulase-producing Bacteria from the Digestive Tract of Tilapia, Oreochromis Mossambica (Peters) and Grass Carp, Ctenopharyngodon Idella (Valenciennes)*. Aquaculture Research. 37:380-388
- [8]. Schwarz, W. H, 2001, *The Cellulosome and Cellulose Degradation by Anaerobic Bacteria*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56:634-649.
- [9]. Ulrich A. G. Klimke, S. Wirth, 2008, *Diversity and Activity of Cellulose-Decomposing Bacteria, Isolated from a Sandy and a Loamy Soil after Long-Term Manure Application*.

**SELECTION OF ACTIVE BACTERIA
HIGH CELLULOSE RESOLUTION FROM SAWDUST SUBSTRATE**

Abstract:

The article showed the results of the bacteria isolated from the substrate sawdust. From the isolated bacteria we start the selection of strains with high cellulose degradation activity from sawdust substrate by means of activity on agar plates, besides that we also conduct described colony morphology of the bacteria. The results show that we have isolated 36 strains from sawdust substrates including 20 strains capable of cellulose degradation. Of the 20 strains, 06 strains capable of high cellulose degradation (from 2.0 to 2.8 diameter cm resolution)

Keywords: *bacteria, substrate sawdust, cellulose.*