

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

**VŨ DŨNG**

**NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN MỘT SỐ CHỦNG  
XẠ KHUẨN ƯA NHIỆT ĐỂ TẠO CHẾ PHẨM VI SINH VẬT  
DÙNG CHO XỬ LÝ CHẤT THẢI CHĂN NUÔI LỢN**

**Chuyên ngành: Công nghệ sinh học  
Mã số: 60 42 02 01**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học: TS. TĂNG THỊ CHÍN**

## LỜI CAM ĐOAN

Tên tôi là: Vũ Dũng – Học viên lớp cao học K3b - ĐH Khoa Học - Đại Học Thái Nguyên cam đoan những kết quả nghiên cứu trong luận văn tốt nghiệp là kết quả do chính tôi thực hiện trong quá trình thí nghiệm theo hướng dẫn của TS. Tăng Thị Chính có được, và không sao chép từ bất kỳ công trình nghiên cứu khoa học đã được công bố.

Hà nội, ngày 20 tháng 10 năm 2012

Học viên thực hiện

**VŨ DŨNG**

## LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành cảm ơn TS. Tăng Thị Chính – Trưởng phòng Vi sinh vật môi trường – Viện Công nghệ môi trường và TS.NCVC. Trần Văn Tựa – chủ nhiệm đề tài, đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo tôi hoàn thành luận văn tốt nghiệp này.

Tôi xin chân thành cảm ơn KS. Hoàng Thị Dung và các cán bộ nghiên cứu, các bạn đồng nghiệp trong phòng Vi sinh vật môi trường – Viện Công nghệ môi trường đã giúp đỡ và có những góp ý bổ ích cho tôi trong suốt quá trình thực tập tại Viện.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy, cô giáo trong khoa Khoa học sự sống, cũng như các thầy, cô giáo của Viện Công nghệ sinh học đã nhiệt tình giảng dạy và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tại đây.

Cuối cùng tôi xin chân thành cảm ơn gia đình và bạn bè đã động viên và tạo điều kiện tốt nhất để cho tôi hoàn thành luận văn này.

Hà Nội, tháng 11 năm 2012

Học viên

**VŨ DŨNG**

## MỤC LỤC

<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	I
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	III
<b>MỤC LỤC</b> .....	IV
<b>DANH MỤC CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT</b> .....	VII
<b>DANH MỤC HÌNH ẢNH</b> .....	VIII
<b>DANH MỤC BẢNG</b> .....	IX
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	1
1. Đặt vấn đề .....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu: .....	1
3. Ý nghĩa khoa học của luận văn: .....	2
4. Nội dung nghiên cứu: .....	2
<b>CHƯƠNG I: TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	3
1.1. Tổng quan về chất thải chăn nuôi .....	3
1.1.1. Đặc điểm của chất thải chăn nuôi lợn .....	3
1.1.2. Hiện trạng ô nhiễm môi trường do chăn nuôi lợn trên thế giới, Việt Nam ..	7
1.1.3. Khả năng gây ô nhiễm của chất thải chăn nuôi .....	9
1.2. Xạ khuẩn .....	11
1.2.1. Đại cương về xạ khuẩn .....	11
1.2.2. Đặc điểm hình thái và kích thước của xạ khuẩn .....	12
1.2.3. Cấu tạo tế bào xạ khuẩn .....	13
1.2.4. Bào tử và sự hình thành bào tử của xạ khuẩn .....	14
1.2.5. Đặc điểm phân loại xạ khuẩn .....	15
1.2.6. Khả năng phân hủy xenluloza, tinh bột và protein của xạ khuẩn .....	15
1.2.7. Ý nghĩa thực tiễn của xạ khuẩn .....	16
1.3. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển và sinh tổng hợp enzym xenlulaza, amylaza và proteaza của các chủng vi sinh vật .....	17
1.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ .....	17
1.3.2. Ảnh hưởng của pH .....	18
1.3.3. Ảnh hưởng của nồng độ muối .....	19
1.3.4. Ảnh hưởng của nguồn Cacbon .....	20

1.3.5. Ảnh hưởng của nguồn Nitơ .....	20
1.4. Giới thiệu về chế phẩm vi sinh vật xử lý chất thải rắn chôn nuôi lợn .....	21
<b>CHƯƠNG II: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>23</b>
2.1. Thiết bị, dụng cụ thí nghiệm .....	23
2.2. Nguyên vật liệu và hóa chất .....	23
2.2.1. Nguyên vật liệu .....	23
2.2.2. Hóa chất .....	23
2.2.3. Môi trường .....	24
2.3. Phương pháp nghiên cứu .....	24
2.3.1. Phương pháp lấy mẫu .....	24
2.3.2. Phương pháp bảo quản giống vi sinh vật .....	24
2.3.3. Phương pháp giữ giống .....	24
2.3.4. Phương pháp phân loại xạ khuẩn .....	25
2.3.5. Phương pháp xác định hoạt lực enzym ngoại bào (xenlulaza, amylaza) bằng phương pháp khuếch tán trên thạch .....	26
2.3.6. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy lên sinh trưởng và phát triển của các chủng xạ khuẩn .....	27
2.3.7. Các phương pháp dùng để xử lý phân lợn bằng chế phẩm vi sinh quy mô phòng thí nghiệm .....	28
<b>CHƯƠNG III: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>32</b>
3.1. Tuyển chọn một số chủng xạ khuẩn ưa nhiệt sinh tổng hợp xenlulaza, amylaza, proteaza .....	32
3.2. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh hóa của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	35
3.2.1. Đặc điểm phân loại .....	35
3.2.2. Đặc điểm sinh lý, sinh hóa của các chủng xạ khuẩn .....	37
3.2.3. Kết quả phân loại .....	38
3.3. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng lên sinh trưởng và sinh tổng hợp enzym xenlulaza, amylaza và proteaza của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	38
3.3.1. Nhiệt độ .....	38
3.3.2. pH ban đầu .....	41
3.3.3. Nguồn cacbon .....	44

3.3.4. Nguồn nitơ .....	47
3.3.5. Động thái sinh trưởng và sinh tổng hợp xenlulaza, amylaza và proteaza của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	51
3.3.6. Xác định tính đối kháng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn.....	52
3.4. Đánh giá hiệu quả xử lý chất thải chăn nuôi lợn của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn ở qui mô phòng thí nghiệm .....	54
3.4.1. Đánh giá cảm quan các mẫu thí nghiệm trong quá trình ủ .....	56
3.4.2. Biến động vi sinh vật trong quá trình ủ .....	61
3.4.3. Hiệu quả xử lý.....	66
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ</b> .....	67
1. Kết luận.....	67
2. Kiến nghị.....	67
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	69
<b>PHỤ LỤC</b> .....	73

**DANH MỤC CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT**

<b>Chữ viết tắt</b>	<b>Chữ viết đầy đủ</b>
CFU	Colony Forming Unit ( Đơn vị hình thành khuẩn lạc)
G+	Gram dương
ISP	Chương trình xạ khuẩn quốc tế
KHCN	Khoa học công nghệ
MPN	Most probable number ( Xác suất xảy ra lớn nhất)
TCVN	Tiêu chuẩn Việt Nam
TP.HCM	Thành phố Hồ Chí Minh
TN	Thí Nghiệm
ĐC	Đối Chứng
VSV	Vi Sinh Vật
XK	Xạ Khuẩn

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Sơ đồ xử lý chất thải chăn nuôi lợn .....	9
Hình 1.2 Một số chi xạ khuẩn: <i>A-Microtetraspora</i> ; <i>B- streptomyces</i> .....	12
Hình 1.3. Hình dạng khuẩn lạc xạ khuẩn .....	13
Hình 1.4. Bào tử xạ khuẩn .....	14
Hình 3.1. Hoạt tính xenlulaza của các chủng XK tuyển chọn .....	33
Hình 3.2. Hoạt tính enzym xenlulaza, amylaza của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn ...	34
Hình 3.3. Bào tử của các chủng xạ khuẩn dưới kính hiển vi điện tử .....	36
Hình 3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	39
Hình 3.5. Hoạt tính enzym amylaza của chủng C3 và C14 ở nhiệt độ 30 <sup>0</sup> C, 45 <sup>0</sup> C..	40
Hình 3.6. Ảnh hưởng của pH ban đầu lên sinh trưởng .....	42
Hình 3.7. Hoạt tính amylaza của chủng xạ khuẩn C3 và C14 nuôi trên môi trường pH khác nhau.....	44
Hình 3.8. Ảnh hưởng của nguồn cacbon lên sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	45
Hình 3.9. Hoạt tính của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn trên môi trường CMC và Xenluloza .....	47
Hình 3.10. Ảnh hưởng của nguồn nitơ lên sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	49
Hình 3.11. Ảnh hưởng của nguồn nitơ lên sinh tổng hợp amylaza của chủng C3 và sinh tổng hợp proteaza của chủng C14. ....	50
Hình 3.12. Động thái sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	52
Hình 3.13. Tính đối kháng của các chủng xạ khuẩn nghiên cứu. ....	53
Hình 3.14. Các mẫu thí nghiệm ủ trong tủ ấm .....	55
Hình 3.15. Các mẫu thí nghiệm sau 5 tuần ủ .....	59
Hình 3.16. Sự thay đổi của nhiệt độ trong quá trình ủ .....	60
Hình 3.17. Sự thay đổi thể tích trong quá trình ủ.....	60
Hình 3.18. Mật độ VSV tổng số hiếu khí trong mẫu TN sau 1 tuần ủ.....	61
Hình 3.19. Biểu hiện của các vi khuẩn <i>Samonella</i> trong đĩa thạch .....	63
Hình 3.20. Mật độ <i>Salmonella</i> trong quá trình ủ .....	63



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Một số thành phần VSV trong chất thải chăn nuôi lợn .....	3
Bảng 1.2. Thành phần các chất vô cơ (%) của phân một số loại vật nuôi .....	4
Bảng 1.3. Lượng nước tiểu thải ra hàng ngày của một số loại gia súc .....	5
Bảng 1.4. Thành phần trung bình (%) của nước tiểu một số loại gia súc .....	5
Bảng 1.5. Tính chất của nước thải chăn nuôi lợn .....	6
Bảng 1.6. Nồng độ một số khí thải tại trang trại chăn nuôi .....	7
Bảng 1.7. Phân nhóm vi sinh vật theo khả năng phát triển ở nhiệt độ khác nhau ....	17
Bảng 1.8. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian phân cắt của vi sinh vật.....	17
Bảng 1.9. Ảnh hưởng pH đối với một số vi sinh vật .....	19
Bảng 3.1. Hoạt tính xenlulaza của các chủng Xạ Khuẩn đã phân lập .....	32
Bảng 3.2. Hoạt tính enzym của các chủng xạ khuẩn nghiên cứu sau 48h lên men ở 45°C.....	34
Bảng 3.3. Đặc điểm hình thái của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn.....	35
Bảng 3.4. Khả năng sử dụng các nguồn đường của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn ...	36
Bảng 3.5. Đặc điểm sinh lý - sinh hoá của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	37
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	39
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh tổng hợp enzym của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn (đường kính vòng phân giải D-d, mm) .....	40
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của pH ban đầu lên sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	42
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của pH lên sinh tổng hợp enzym của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn (đường kính vòng phân giải D-d, mm) sau 48h lên men ở 45°C .....	43
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của nguồn cacbon lên sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	45
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của nguồn cacbon lên sinh tổng hợp enzym của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn (đường kính vòng phân giải D-d, mm) sau 48h lên men ở 45°C .....	46

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của nguồn nitơ lên sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	48
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của nguồn nitơ lên sinh tổng hợp enzyme của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn (đường kính vòng phân giải D-d, mm) sau 48h lên men ở 45°C .....	49
Bảng 3.14. Động thái sinh trưởng của các chủng xạ khuẩn tuyển chọn .....	52
Bảng 3.15. Kết quả phân tích mẫu phân lợn ban đầu .....	54
Bảng 3.16. Kết quả theo dõi các mẫu thí nghiệm sau 1 tuần ủ .....	56
Bảng 3.17. Kết quả theo dõi các mẫu thí nghiệm sau 2 tuần ủ .....	56
Bảng 3.18. Kết quả theo dõi các mẫu thí nghiệm sau 3 tuần ủ .....	57
Bảng 3.19. Kết quả theo dõi các mẫu thí nghiệm sau 4 tuần ủ .....	58
Bảng 3.20. Kết quả theo dõi các mẫu thí nghiệm sau 5 tuần ủ .....	58
Bảng 3.21. Mật độ vi sinh vật tổng số hiếu khí trong quá trình ủ, (CFU/g) .....	61
Bảng 3.22. Mật độ vi sinh tổng số kỵ khí trong quá trình ủ, (CFU/g) .....	62
Bảng 3.23. Mật độ xạ khuẩn trong quá trình ủ, (CFU/g) .....	62
Bảng 3.24. Mật độ nấm mốc trong quá trình ủ, (CFU/g) .....	64
Bảng 3.25. Chỉ số T - colifom và F - coliform trong quá trình ủ, (MPN/g) .....	65
Bảng 3.26. Kết quả so sánh mẫu phân lợn ban đầu với mẫu phân sau 5 tuần ủ .....	66