

CHARACTERIZATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF LIVESTOCK MANURE ODOR-REDUCING MICROBES

Nguyen Thi Tam Thu*, Bui Thi Thu Ha, Pham Kien Cuong

Institute of New Technology/ Academy of Military Science and Technology

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 04/12/2023 Revised: 25/3/2024 Published: 03/4/2024	Livestock manure contains high amounts of protein, starch, and cellulose which are products of living organism's metabolism. The odorous gases from these constituents generally contain H_2S and NH_3 which causes significant negative impact on human health, especially in outdoor training conditions. Many studies illustrated the great potential of microorganisms in removing odorous gases from livestock manure. The main objective of this study was to screen some NH_3 and H_2S degrading strains that showed the efficient bio-degradation of organic waste in order to manufacture the odor-reducing product. Five strain was isolated with different NH_3 , H_2S removal as well as cellulose, protein, and starch degradation. In detail, the NH_3 (736 mg/m^3 of the initial concentration) and H_2S (108.5 mg/m^3 of the initial concentration) removal efficiency reached 28-42% and 32-55% respectively. They were also determined to belong to <i>Bacillus</i> (4 strains) and <i>Pseudomonas</i> genus.
KEYWORDS	
Microorganisms NH_3 H_2S Odor removal Sanitary	

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG KHỬ MÙI CHẤT THẢI VỆ SINH

Nguyễn Thị Tâm Thu*, Bùi Thị Thu Hà, Phạm Kiên Cường

Viện Công nghệ mới/ Viện Khoa học và Công nghệ quân sự

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 04/12/2023 Ngày hoàn thiện: 25/3/2024 Ngày đăng: 03/4/2024	Chất thải vệ sinh chứa hàm lượng cao các chất protein, tinh bột và cellulose là sản phẩm của quá trình trao đổi chất của cơ thể. Các chất này khi bị phân hủy sẽ sinh ra mùi H_2S , NH_3 gây ảnh hưởng không tốt đến sức khỏe con người, đặc biệt trong điều kiện huấn luyện dã ngoại. Có nhiều nghiên cứu đã đánh giá hiệu quả khử mùi của các chủng vi sinh vật ứng dụng khử mùi chất thải chăn nuôi. Nghiên cứu này trình bày một số kết quả nghiên cứu tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng khử mùi H_2S , NH_3 và có hoạt tính phân hủy các hợp chất hữu cơ để làm nguồn nguyên liệu tạo chế phẩm khử mùi. Kết quả đã tuyển chọn được 5 chủng có khả năng oxy hóa amonia và thiosulfate cũng như phân hủy protein, tinh bột và cellulose ở các mức độ khác nhau. Trong 5 chủng tuyển chọn được có 4 chủng thuộc chi <i>Bacillus</i> và 1 chủng thuộc chi <i>Pseudomonas</i> . Cả 5 chủng này có khả năng khử mùi H_2S và NH_3 ở mẫu giả định với các hiệu suất khác nhau, từ 28-42% đối với khí NH_3 với nồng độ ban đầu 736 mg/m^3 và từ 32-55% đối với khí H_2S với nồng độ ban đầu là 108,5 mg/m^3 .
TỪ KHÓA	
Vi sinh vật NH_3 H_2S Khử mùi Chất thải vệ sinh	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9349>

* Corresponding author. Email: thu.3t.cnm@gmail.com

1. Giới thiệu

Mùi hôi là hỗn hợp của các chất dễ bay hơi mà con người có thể cảm nhận được ở nồng độ rất thấp, mùi gây khó chịu và độc hại đến sức khỏe của con người như H_2S , NH_3 [1]. Chất thải của con người và động vật có mùi hôi do quá trình phân hủy chưa hoàn toàn của các chất như protein, lipid, carbohydrate và kim loại nặng, là chất thải của quá trình trao đổi chất trong cơ thể. Khi các chất hữu cơ trong phân sẽ bị thối rữa tạo điều kiện cho côn trùng, ruồi,... sinh sôi và phát sinh mùi hôi thối, đặc biệt là mùi H_2S , gây ô nhiễm không khí và phiền toái cho cuộc sống sinh hoạt của con người. Trong phân còn chứa một lượng vi khuẩn, vi rút gây bệnh và trứng giun sán... [2]. Khi thải ra môi trường nước tiểu bị phân hủy dễ dàng tạo thành khí NH_3 gây mùi hôi. Đặc biệt, ở các điều kiện vệ sinh đã ngoại, chất thải không được xử lý sẽ gây ô nhiễm môi trường xung quanh, ô nhiễm không khí và ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Hiện nay có nhiều phương pháp có thể áp dụng để xử lý mùi chất thải chăn nuôi như phương pháp vật lý, phương pháp hóa học hay sinh học. Phương pháp sinh học có ưu điểm là kinh tế, thân thiện với môi trường [3]. Các biện pháp sử dụng công nghệ sinh học như làm đệm lót sinh học, dùng để làm phân ủ hay bộ lọc sinh học [1]; bổ sung lợi khuẩn *B. subtilis* vào thức ăn để làm giảm mùi NH_3 trong phân [4]. Tuy nhiên, chưa có các nghiên cứu về việc xử lý mùi của chất thải vệ sinh của người trong điều kiện vệ sinh đã ngoại để đảm bảo vệ sinh, giữ gìn sức khỏe cho các lực lượng làm nhiệm vụ đặc biệt. Trong điều kiện hoạt động đã ngoại của các lực lượng làm nhiệm vụ đặc biệt thường phải dùng thiết bị vệ sinh đã ngoại hay hồ mèo. Vì vậy, cần nghiên cứu để tạo ra chế phẩm sinh học có khả năng phân hủy chất hữu cơ và khử mùi khí H_2S , NH_3 để xử lý tại các khu vệ sinh đã ngoại.

Đã có nhiều nghiên cứu phân lập tuyển chọn các chủng vi sinh vật (VSV) có khả năng phân hủy chất thải của người và động vật, đồng thời làm giảm mùi của các khí sinh ra. Đây là một tập hợp các vi khuẩn hỗ trợ nhau trong quá trình phân hủy và khử mùi các chất hữu cơ còn lại trong phân, bao gồm các chủng *Lactobacillus*, *Bacillus* [2], [4], [5], *Pseudomonas*, *Saccharomyces*, *Lactococcus*... [1], [5], [6], *Thiobacillus* [7]. Mỗi chủng có một chức năng khác nhau trong quá trình khử mùi. Các chủng *Bacillus*, *Saccharomyces* có khả năng khử mùi NH_3 , H_2S , trong khi chủng *Lactobacillus*, *Lactococcus* làm cho pH của môi trường xuống thấp làm cho khí NH_3 hạn chế thoát ra và cũng làm giảm mùi [8]. Ngoài ra, trong việc tạo chế phẩm cũng cần có các chủng có khả năng ức chế sinh trưởng của các chủng gây bệnh, các chủng phân hủy nhanh các chất hữu cơ để xử lý các chất ô nhiễm trong chất thải. Trong nghiên cứu này, các kết quả tuyển chọn các chủng vi sinh vật để tạo chế phẩm khử mùi chất thải vệ sinh được công bố.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Vật liệu là các chủng vi sinh vật trong bộ sưu tập các chủng của Viện Công nghệ mới. Đây là các chủng được phân lập từ nguồn chất thải chăn nuôi, có khả năng phân hủy các hợp chất là thành phần của chất thải sinh hoạt như protein, cellulose và tinh bột.

Các hoá chất của Viện Công nghệ mới đảm bảo độ tinh khiết phân tích (độ tinh sạch trên 98%) có nguồn gốc từ Trung Quốc, Mỹ, Canada, Ấn Độ.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Tuyển chọn vi sinh vật [3]

Các chủng có khả năng oxy hóa ammonia được nuôi cấy trên môi trường dịch MT1 chứa (g/l): NH_4Cl (1); Na_2HPO_4 (21,5); KH_2PO_4 (0,9); Glucose (3); dung dịch vi lượng (3); pH 6,5 - 7,0 [4]. Các chủng có khả năng oxy hóa sulfur được nuôi cấy trên môi trường MT2 chứa (g/l): Glucose (5), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2,27), KH_2PO_4 (1,8), $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1,98), $\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,023), CaCl_2 (0,03), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,033), Na_2CO_3 (1), $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (15,69), pH 6,5-7,0 [4].

Môi trường thạch bổ sung thêm 20 g/L agar.

Để quan sát hình thái khuẩn lạc, các chủng được tiến hành cấy 3 pha trên thạch đĩa. Để quan sát hình thái tế bào, lấy một ít sinh khối từ khuẩn lạc riêng rẽ trên đĩa thạch hòa vào 100 μ L nước vô trùng, sau đó lấy 10 μ L dịch làm vết bôi trên lam kính, dàn đều và cố định vết bôi, quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM) ở độ phóng đại 10.000 lần.

Cấy các khuẩn lạc riêng rẽ sang môi trường dạng dịch đặc hiệu để đánh giá khả năng chuyển hóa thiosulfate và amoni với nồng độ ban đầu 500 mg/l. Khả năng chuyển hóa thiosulfate và amonia của các chủng lựa chọn với cơ chất tương ứng được phân tích dựa trên khả năng tạo thành ion sulfate và nồng độ amonia còn lại trong dịch nuôi cấy tương ứng [8]. Khả năng phân giải tinh bột, protein và cellulose được xác định bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch với môi trường chứa cơ chất tương ứng là tinh bột tan, gelatin và CMC với nồng độ 1 g/l. Các chủng được nuôi cấy trên môi trường thạch chứa cơ chất tương ứng trong 48 giờ, sau khi khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch, các đĩa thạch được nhuộm với các thuốc thử tương ứng là lugol, amoni sulfate bão hòa và dung dịch Congo [9]. Khả năng phân giải các cơ chất được tính dựa trên tỷ lệ kích thước vòng phân giải và kích thước khuẩn lạc.

Dịch nuôi cấy của các chủng ở điều kiện phù hợp (về điều kiện nhiệt độ, pH, tỷ lệ sinh khối...) trong 96-120 giờ được sử dụng để đánh giá khả năng khử mùi H_2S và NH_3 .

2.2.2. Định danh vi sinh vật

Các chủng được chụp ảnh khuẩn lạc trên đĩa thạch, ảnh tế bào trên kính hiển vi điện tử quét (SEM) và mô tả hình thái khuẩn lạc, tế bào để thấy sự khác biệt.

Các chủng vi khuẩn có các đặc tính mong muốn được định danh bằng phương pháp giải trình tự đoạn gen 16S rRNA. Các khuẩn lạc thuần khiết được sử dụng để tách DNA tổng số sử dụng kit Genomic DNA Extraction (ThermoFisher). DNA tổng số thu được được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% trong đệm TAE 1X. Các đoạn DNA tổng số đủ điều kiện được sử dụng làm khuôn để nhân đoạn gen 16S rRNA. Thành phần phản ứng PCR (μ L): DNA tổng số 1; Buffer 2,5; Tag polymerase 1; dNTP 2,5; dH₂O 16; sử dụng Primer 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') và 1492R (5'-GGTTACCTTGT TACGACTT-3') tỷ lệ 1/1. Phản ứng PCR được thực hiện theo quy trình 35 chu kỳ như mô tả trước đây [8]. Các sản phẩm PCR có kích thước tương ứng 1500 bp được làm sạch và giải trình tự trên thiết bị iSeq100 (Illumina). Các trình tự nucleotide hoàn chỉnh được so sánh với ngân hàng dữ liệu gen của NCBI bằng cách sử dụng công cụ BLAST và xây dựng cây phát sinh chủng loại bằng phần mềm Clustal X.

2.2.3. Phương pháp đánh giá hiệu quả khử mùi

Mô hình được thiết kế dựa trên mô tả của Burgos SA [10] (Hình 1). Sử dụng các chất Na_2S và dung dịch NH_3 để tạo mẫu giả định: Với khí H_2S : Lấy 10 μ L dung dịch Na_2S 13% và bổ sung 10 mL dung dịch đệm pH 5,0 để khí H_2S bay lên. Với khí NH_3 : Lấy 20 μ L dung dịch NH_3 25% trong 10 mL dung dịch đệm pH 8,0 để khí NH_3 thoát ra.

Tạo mẫu giả định vào cốc nhựa nhỏ, đặt vào trong bình kín 10 L có lắp các ống silicon và 2 van khóa để khóa khí.

Mẫu đối chứng: Cùng thể tích Na_2S hoặc dung dịch NH_3 nhưng không bổ sung vi sinh vật.

Mẫu thí nghiệm: Cùng thể tích các chất tạo mùi và bổ sung 10 mL dịch nuôi chứa sinh khối vi sinh vật nồng độ khoảng 10^8 CFU/mL.



Hình 1. Mô hình thí nghiệm đánh giá hiệu quả khử mùi NH_3 và H_2S quy mô phòng thí nghiệm

Không khí chứa mùi từ các bình được thu bằng máy hấp thụ khí HS7-KIMOTO. Lắp van thu khí của máy vào 1 đầu ống silicon và mở van khóa, van của đầu silicon bên kia cũng mở để cân bằng áp suất trong bình thử nghiệm. Khí thu vào được hấp thụ vào các dung dịch khác nhau, dung dịch CdSO_4 0,02N để hấp thụ khí H_2S và dung dịch H_2SO_4 0,1N để hấp thụ khí NH_3 . Bật máy với tốc độ 1 L/phút trong 10 phút để hấp thụ hết khí trong bình (theo phương pháp MASA Method 401 và MASA Method 701) [11]. Các dung dịch hấp thụ được dùng để phân tích hàm lượng S^{2-} và NH_4^+ theo các phương pháp tương ứng.

2.2.4. Phương pháp phân tích

- Phân tích nồng độ khí NH_3 : Theo phương pháp phân tích amoniac sử dụng indophenol và so màu trên thiết bị UV – Vis ở bước sóng 630 nm. Phân tích nồng độ khí H_2S : Bằng phương pháp phân tích S^{2-} sử dụng p-amino dimethyl anilin và FeCl_3 , so màu trên thiết bị UV-Vis ở bước sóng 665 nm. Nồng độ khí H_2S và NH_3 trong bình được tính theo công thức:

$$C = (a \times B)/(Ba \times Vo) \quad (1)$$

Trong đó

C: Nồng độ H_2S hoặc NH_3 trong bình, mg/m^3

a: Hàm lượng H_2S hoặc NH_3 xác định theo đường chuẩn, mg

B: thể tích dung dịch mẫu hấp thụ, mL

Ba: thể tích dung dịch lấy để phân tích, mL

Vo - thể tích mẫu không khí đã được đưa về điều kiện chuẩn, m^3 .

Đánh giá hiệu quả xử lý được xác định bằng công thức:

$$S = (T - t)/T \times 100 \quad (2)$$

Trong đó, S là hiệu quả xử lý mùi, %

T là nồng độ khí H_2S hoặc NH_3 trong bình đối chứng không bổ sung vi sinh vật, mg/m^3

t là nồng độ khí H_2S hoặc NH_3 trong bình thí nghiệm có bổ sung vi sinh vật, mg/m^3

- Hàm lượng sulfate tạo thành trong dịch nuôi cấy được xác định theo phương pháp SMEWW 4500 $\text{SO}_4^{2-}\text{-E}$.

- Hàm lượng amoni trong dịch nuôi cấy được phân tích theo TCVN 5988-1995.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tuyển chọn vi sinh vật

Từ bộ sưu tập giống của Viện Công nghệ mới đã chọn ra được 5 chủng có khả năng oxy hóa thiosulfate và amonia. Các chủng tuyển chọn được bao gồm: chủng B3 và B15 vừa có khả năng oxy hóa amonia, vừa có khả năng phân hủy cả tinh bột và cellulose; chủng S1 và S10 có khả năng oxy hóa thiosulfate nhưng khả năng phân hủy tinh bột và cellulose thấp hơn, chủng N11 có khả năng oxy hóa amonia mạnh nhất nhưng khả năng phân hủy tinh bột và cellulose yếu hơn. Tất cả các chủng được lựa chọn đều có khả năng phân hủy tinh bột, cellulose và protein ở các mức độ khác nhau. Kết quả về khả năng oxy hóa amonia và thiosulfate, hoạt tính phân hủy protein, tinh bột và cellulose được trình bày trên Bảng 1.

Bảng 1. Đặc tính của một số chủng phân lập được

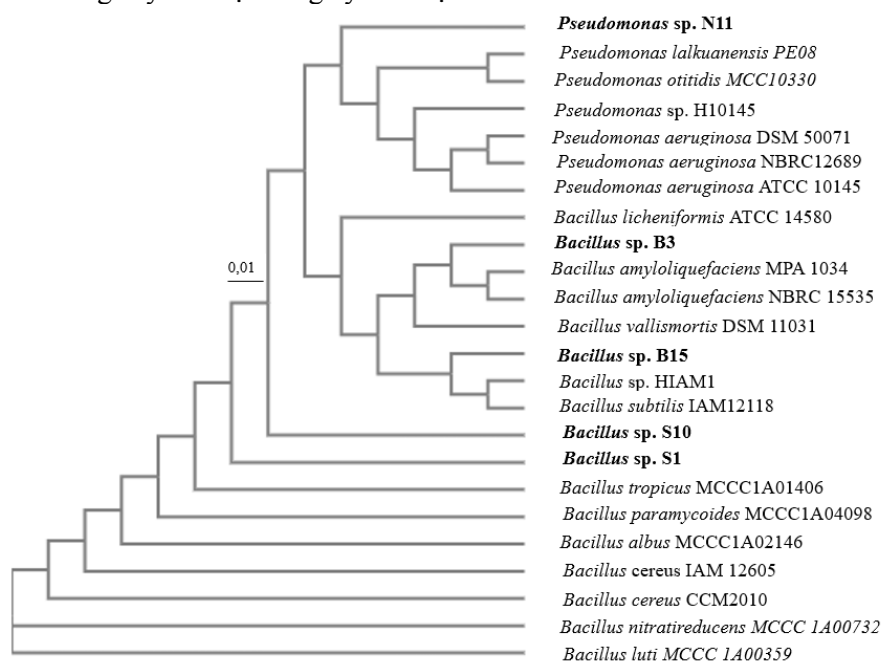
TT	Ký hiệu chủng	Khả năng oxy hóa amonia	Khả năng oxy hóa thiosulfate	Khả năng phân hủy protein	Khả năng phân hủy tinh bột	Khả năng phân hủy cellulose	Mã số đăng ký trên GenBank
1.	B3	++	+	++	++	+++	OR094453
2.	B15	++	+	++	++	++	OR523604
3.	S1	+	+++	+	+	++	OQ842862
4.	S10	+	++	+	+	++	OQ842900
5.	N11	+++	+	+	++	+	OR523602

Các chủng được lựa chọn sẽ được định danh bằng hình thái tế bào, hình thái khuẩn lạc và giải trình tự đoạn gen 16S rRNA và nuôi cấy thu sinh khối để đánh giá hiệu quả khử mùi NH_3 và H_2S .

3.2. Định danh các chủng vi sinh vật

Năm chủng vi sinh vật được lựa chọn để nghiên cứu tiếp đã được tách DNA tổng số bằng kit tách DNA Genomic DNA Extraction của Thermo Fisher. DNA tổng số được dùng làm khuôn để nhân đoạn gen 16S rRNA bằng cặp mồi 27F/1492R. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose, làm sạch và gửi đi giải trình tự trên thiết bị iSeq100 (Illumina). Các trình tự nucleotide nhận được được so sánh với các trình tự đã công bố trên ngân hàng gen của NCBI bằng cách sử dụng công cụ BLAST. Trình tự đoạn gen 16S rRNA của các chủng lựa chọn và các chủng có liên quan gần gũi được sử dụng để xây dựng cây phát sinh chủng loại dựa vào phần mềm Clustal X. Cây phát sinh chủng loại được trình bày trên hình 2.

Kết quả nhận được cho thấy chủng N11 tương đồng 99,79% với các chủng thuộc chi vi khuẩn *Pseudomonas* nên được đặt tên là *Pseudomonas* sp. N11. Chủng B3 có trình tự 16S rRNA tương đồng 99,93% với trình tự 16S rRNA của các loài *Bacillus velezensis*, tương đồng 99,72% với loài *B. subtilis*, tương đồng 99,79% với loài *B. amyloliquefaciens*, tương đồng 99,65% với chủng *B. vallismortis* nên được đặt tên là vi khuẩn *Bacillus* sp. B3. Chủng B15 có trình tự 16S rRNA tương đồng trên 99,52% với trình tự 16S rRNA của các chủng thuộc chi *Bacillus* nên được đặt tên là *Bacillus* sp. B15. Chủng S1 có trình tự 16S rRNA tương đồng trên 98,79% với trình tự 16S rRNA của các chủng thuộc chi *Bacillus* nên được đặt tên là *Bacillus* sp. S1. Chủng S10 có trình tự 16S rRNA tương đồng 99% với các chủng thuộc chi *Bacillus* như *B. tropicus*, *B. paramycoides*, *B. luti*... nên được đặt tên là *Bacillus* sp. S10. Tuy trình tự 3 chủng S1, B3 và S10 có trình tự khá tương đồng nhưng kết quả phân loại về hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào của 3 chủng này là khác nhau. Các chủng này đã được đăng ký trình tự trên GenBank với các mã số như trong bảng 1.

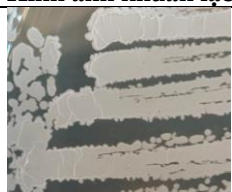
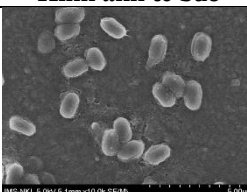
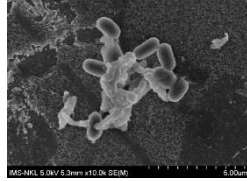


Hình 2. Cây phát sinh chủng loại của một số chủng nghiên cứu và các chủng có liên quan gần gũi

Các chủng thuộc các chi *Bacillus* được công bố nhiều về khả năng phân hủy các hợp chất tinh bột, protein và cellulose, đồng thời cũng được dùng nhiều trong các chế phẩm khử mùi [4], [8]. Nhiều nghiên cứu cũng chứng minh khả năng oxy hóa amoniac của *Pseudomonas* và ứng dụng chúng trong việc khử mùi NH_3 [1], [2]. Vì vậy, kết quả của nghiên cứu là phù hợp và các chủng này được nuôi cấy nhân sinh khối/bào tử để đánh giá khả năng khử mùi H_2S và NH_3 của từng chủng.

Hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào của các chủng được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Đặc điểm hình thái và tế bào của một số chủng tuyển chọn

TT	Chủng	Hình thái khuẩn lạc, tế bào	Hình ảnh khuẩn lạc	Hình ảnh tế bào
1.	B3	Khuẩn lạc: Dạng không đều, mép răng cưa, bề mặt nhẵn, màu kem, kích thước 3-4 mm Tế bào: Dạng que ngắn, kích thước 0,6-0,9 μm .		
2.	B15	Khuẩn lạc: Tròn, mép gợn sóng, nhẵn, màu hơi nâu, kích thước 2-4 mm Tế bào: Dạng que ngắn, kích thước 0,7-1 μm .		
3.	S1	Khuẩn lạc: Dạng không đều, mép gợn sóng, bề mặt sần nhô cao, màu trắng ghi, kích thước 2-3 mm. Tế bào: Dạng que ngắn, kích thước 0,8x1,2 μm .		
4.	S10	Khuẩn lạc: Tròn, bóng, mép gợn sóng, màu trắng, kích thước 2-3 mm. Tế bào: Dạng que dài, kích thước 1,5-2,5 μm .		
5.	N1	Khuẩn lạc: Tròn lồi, nhỏ, màu trắng đục, không nhầy, kích thước 2-3 mm Tế bào: Dạng que dài và ngắn, kích thước 1-2,5 μm .		

Ghi chú: Hình thái tế bào của các chủng được quan sát trên kính hiển vi điện tử quét (SEM) ở độ phóng đại 10.000 lần

3.3. Đánh giá khả năng khử mùi H_2S và NH_3 của các chủng tuyển chọn

Sau khi nuôi cấy ở điều kiện phù hợp để nồng độ đạt 10^8 CFU/ml, dịch nuôi được thu lại và đánh giá khả năng khử mùi của các mẫu già định sau 3 ngày. Kết quả cho thấy chủng S1 và S10 có khả năng khử mùi H_2S tốt hơn, đạt hiệu suất 52-55%, trong khi khử mùi NH_3 chỉ đạt 28-31%. Chủng N11 lại đạt hiệu suất khử mùi NH_3 cao hơn, đạt 42,8%, trong khi khử mùi H_2S chỉ đạt 32,6% (Bảng 3). Hai chủng B3 và B15 có hiệu suất khử mùi cả 2 khí đều ngang nhau, chỉ đạt 32-35% nhưng 2 chủng này cũng có khả năng phân hủy tinh bột và cellulose tốt hơn so với các chủng còn lại (Bảng 3, Bảng 4). Việc kết hợp các chủng này có thể tăng hiệu quả khử mùi. Tuy nhiên, cần đánh giá thêm sự tương tác giữa các chủng để có thể kết hợp tạo hiệu quả khử mùi tốt nhất.

Bảng 3. Khả năng khử mùi của các chủng tuyển chọn

Chủng	Nồng độ khí NH_3 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Hiệu quả (%)	Nồng độ khí H_2S ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Hiệu quả (%)
ĐC	$736,2 \pm 5$	-	$108,2 \pm 9,6$	-
B3	$496,9 \pm 1,1$	32,5	$70,0 \pm 0,8$	35,5
B15	$487,4 \pm 1,8$	33,8	$71,0 \pm 1,4$	34,6
S1	$502,8 \pm 1,6$	31,7	$51,2 \pm 0,7$	52,8
S10	$528,6 \pm 1,2$	28,2	$48,5 \pm 1,1$	55,3

N11	421,1 ± 0,9	42,8	73,1 ± 0,7	32,6
-----	-------------	------	------------	------

Bảng 4. Khả năng phân hủy chất hữu cơ của các chủng tuyển chọn

Ký hiệu chủng	(D-d, mm)		
	Tinh bột	CMC	Gelatin
B3	20	32	25
B15	21	28	22
S1	17	22	16
S10	15	12	18
N11	11	9	12

Kết quả trên Bảng 4 cho thấy các chủng phân hủy chất thải hữu cơ đều có khả năng phân giải tinh bột, CMC, gelatin ở các mức độ khác nhau. Trong số đó, chủng B3, B15 có đường kính vòng phân giải cơ chất (tương ứng với hoạt tính phân giải tinh bột, cellulose, protein) lớn hơn các chủng còn lại. Các chủng được sử dụng làm nguồn nguyên liệu để sản xuất chế phẩm khử mùi, ứng dụng trong điều kiện vệ sinh đã ngoại.

**Hình 3.** Hình ảnh xác định hoạt tính phân hủy protein, CMC và tinh bột của một số chủng

Theo nhiều nghiên cứu trước đây, các chủng thuộc chi *Bacillus* được ứng dụng rộng rãi trong việc xử lý ô nhiễm các chất thải hữu cơ như protein, tinh bột, cellulose cũng như tham gia vào quá trình khử mùi. Đây là chi rất hữu ích trong việc tạo ra các probiotic có thể bổ sung vào thức ăn cũng có tác dụng khử mùi, dùng làm chế phẩm sinh học như đệm lót sinh học trong việc giảm mùi trong chăn nuôi. Đặc biệt, các chủng thuộc chi này còn có khả năng tạo thành bào tử nên chúng có khả năng sống sót ở các điều kiện bất lợi như nhiệt độ cao hoặc thấp. Đây là các đặc điểm hữu ích khi sử dụng các chủng thuộc chi *Bacillus* làm chế phẩm. Các kết quả nhận được từ nghiên cứu này là hoàn toàn phù hợp.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã tuyển chọn được 05 chủng vi khuẩn (4 chủng thuộc chi *Bacillus* và 1 chủng thuộc chi *Pseudomonas*) có khả năng khử mùi H_2S , NH_3 là thành phần chính của chất thải vệ sinh và trình tự gen 16S rRNA của 05 chủng đã được đăng ký trên GenBank. Hiệu suất khử mùi H_2S và NH_3 đối với mẫu giả định có nồng độ H_2S là $108,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ và NH_3 có nồng độ $736,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ lần lượt là 32-55% và 28- 42%. Các chủng này có thể được sử dụng để tạo chế phẩm khử mùi chất thải vệ sinh của người trong điều kiện vệ sinh đã ngoại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] K. Barbusi, A. Parzentna-Gabor, and D. Kasperczyk, "Removal of Odors (Mainly H_2S and NH_3) Using Biological Treatment Methods," *Clean Technol*, vol. 3, pp. 138-155, 2021.
- [2] Z. Y. She, X. Pan, B. Dong, J. Zhou, W. Zhang, and X. Li, "Reducing odor emissions from feces aerobic composting: additives," *RSC Adv*, vol. 11, pp. 15977-15988, 2021.
- [3] W Chen, L. Yan, Y. Gao, J. Bao, Y. Wang, Z. Sun, and W. Wang, "The removal characteristics and diversity of a microbial community capable of ammonia removal from compost," *Ann Microbiol*, vol. 66, pp. 635-642, 2016.
- [4] G. Jinlan, Z. Lui, and C. Shumei, "Screening for Reducing Ammonia Emissions in Broiler Feed Probiotics," *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, vol. 508, 2020, Art. no. 012010.
- [5] R. Bajagain, P. Gautam, T. T. N. Le, R. H. Dahal, J. Kim, and S.-W. Jeong, "Isolation and Screening of Odor-Reducing Microbes from Swine Manure and Its Role in Reducing Ammonia Release in Combination with Surfactant Foam," *Appl Sci*, vol. 12, no. 4, p. 1806, 2022.

-
- [6] X Zhang, J. Li, L. Shao, H. Huan, F. Qin, P. Zhai, J. Yang, and X. Pan, "Effects of Manure Removal Frequencies and Deodorants on Ammonia and GHG Concentrations in Livestock House," *Atmosphere*, vol. 13, 2022, Art. no. 1033.
- [7] W Tian, X. Chen, P. Zhou, X. Fu, and H. Zhao, "Removal of H₂S by vermicompost biofilter and analysis on bacterial community," *Open Chemistry*, vol. 18, pp. 720-731, 2020.
- [8] T. T. T. Nguyen, T. T. H. Bui, K. C. Pham, and T. H. Nguyen, "Study on characteristic of some bacteria strains capable of decomposing organic matter in salt water conditions isolated from Spratly islands," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 228, no. 10, pp. 100-108, 2023.
- [9] J. Dai, A. Dong, G. Xiong, Y. Liu, Hossain, S. Liu, N. Gao, S. Li, J. Wang, and D. Qiu, "Production of Highly Active Extracellular Amylase and Cellulase From *Bacillus subtilis* ZIM3 and a Recombinant Strain With a potential Application in Tobacco Fermentation," *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, pp. 1-14, 2020.
- [10] S. A. Burgos, J. G. Fadel, and E. J. DePeters, "Prediction of Ammonia Emission from Dairy Cattle Manure Based on Milk Urea Nitrogen: Relation of Milk Urea Nitrogen to Urine Urea Nitrogen Excretion," *Journal of Dairy Science*, vol. 90, no. 12, pp. 5499-5508, 2007.
- [11] J. P. Lodge, *Method of Air Sampling and Analysis*, New York: Third edition. Lewis Publishers, 1998.