

DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.136

## XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI CARBOXYMETHYL CELLULOSE VÀ CELLULOSE CỦA CÁC VI SINH VẬT PHÂN LẬP TỪ RUỘT MỐI DƯỚI ĐẤT (TERMITIDAE) THU NHẬN TẠI HUYỆN MANG THÍT, TỈNH VĨNH LONG

Nguyễn Huỳnh Thúy Diệu<sup>1</sup>, Ngô Thanh Phong<sup>2\*</sup>, Phạm Thị Bình Nguyên<sup>3</sup> và Bùi Thế Vinh<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Trường Trung học Phổ thông Chuyên Vị Thanh, Hậu Giang

<sup>2</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup>Khoa Nông nghiệp và Thủy Sản, Trường Đại học Trà Vinh

<sup>4</sup>Nhà máy sữa Vinamilk Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Ngô Thanh Phong (email: ngophong@ctu.edu.vn)

### ABSTRACT

Vietnam is a country that thrives on agriculture, produces a large amount of food. In addition, there is a large amount of cellulosic biomass as agricultural by-products which is mainly discharged into the environment. Cellulose degrading microorganisms play an important role in composting, waste treatment and alcohol production from cellulose degradation. From 3 subterranean termite nests collected in Mang Thít district, Vinh Long province, 52 cellulose-degrading microorganisms were isolated, of which 28 were isolated from worker termites and 24 were isolated from soldier termites. Of the 52 isolates, 10 (23.08%) were able to degrade carboxymethyl cellulose (CMC) and cellulose of rice straw powder. Out of the 10 isolates, VLT1.2 degraded cellulose to produce the highest glucose concentration (1.08 g/L) in hydrolysis solution after 10 days.

### TÓM TẮT

Việt Nam là một quốc gia phát triển về nông nghiệp, sản xuất ra sản lượng lương thực thực phẩm lớn. Bên cạnh đó, còn có số lượng lớn sinh khối chứa cellulose như các phụ phẩm nông nghiệp thải ra môi trường. Vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose có vai trò quan trọng trong sản xuất phân hữu cơ, xử lý chất thải và sản xuất cồn từ quá trình phân giải cellulose. Từ 3 tổ mối đất được thu nhận tại huyện Mang Thít, tỉnh Vĩnh Long, đã phân lập được 52 dòng vi sinh vật, trong đó có 28 dòng phân lập từ các mối thợ và 24 dòng phân lập từ các mối lính. Trong số 52 dòng vi sinh vật, 10 dòng (23,08%) có khả năng phân giải carboxymethyl cellulose (CMC) và cellulose từ bột rơm rạ thành glucose. Trong số 10 dòng vi sinh vật này, dòng VLT1.2 có khả năng phân giải cellulose từ bột rơm rạ để tạo ra hàm lượng glucose cao nhất (1,08 g/L) trong dung dịch thủy phân sau 10 ngày.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/05/2022

Ngày nhận bài sửa: 15/06/2022

Ngày duyệt đăng: 04/07/2022

### Title:

Determination of carboxymethyl cellulose and cellulose degrading ability of microorganisms isolated from gut of termites collected in Mang Thít district, Vinh Long province, Vietnam

### Từ khóa:

Carboxymethyl cellulose (CMC), Mang Thít, ruột mối, vi sinh vật phân giải cellulose

### Keywords:

Carboxymethyl cellulose (CMC), Cellulose degrading microorganism, gut of termite, Mang Thít

## 1. GIỚI THIỆU

Cellulose là loại sinh khối tái tạo dồi dào nhất được tạo thành bởi các đơn vị monome của glucose. Chất thải sinh khối của sản xuất nông nghiệp chứa một lượng lớn năng lượng sinh hóa ở dạng cellulose

và lignin. Sự gia tăng sản xuất nông nghiệp tương quan với sự gia tăng chất thải hữu cơ, chẳng hạn như rơm rạ. Có khoảng 1149,6 triệu tấn rơm rạ trên thế giới (Khoirunnisa et al., 2020).

Việt Nam là nước có nền nông nghiệp phát triển. Chính vì vậy, hằng năm một lượng lớn phế phẩm nông nghiệp thải ra môi trường như rơm, sinh khối chứa cellulose (bã mía, mùn cưa, lá cây...). Chất thải nông nghiệp góp phần gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng nếu chưa được xử lý phù hợp (Dũng, 2014). Do đó, cần tìm ra một giải pháp phù hợp để xử lý nguồn phế phẩm một cách hiệu quả, rẻ tiền và thân thiện với môi trường.

Ngày nay, cùng với sự phát triển của khoa học kỹ thuật, công nghệ sinh học đã và đang được ứng dụng rộng rãi trong xử lý chất thải. Trong các nguồn năng lượng thay thế dầu mỏ đang sử dụng hiện nay thì năng lượng sinh học đang là xu thế phát triển. Đây là loại nhiên liệu thân thiện với môi trường. Chẳng hạn, ethanol là chất phụ gia chủ yếu trong sản xuất xăng sinh học, có thể được sản xuất từ quá trình lên men glucose thu nhận từ quá trình chuyển hóa của cellulose (Toại & ctv., 2011).

Môi là côn trùng sống ở vùng nhiệt đới, tiêu thụ chủ yếu những loại thức ăn có nguồn gốc từ cellulose. Tuy nhiên, trong quá trình sống những lúc khan hiếm thức ăn thì môi ăn cả xác động vật, khoai và các loại thực vật khác. Khoảng một nửa hợp chất carbon trong sinh khối trên mặt đất là cellulose, chiếm tới 35 – 50% khối lượng khô sinh khối thực vật. Toàn bộ sinh khối sẽ được khoáng hóa nhờ hệ enzyme của vi sinh vật. Hệ enzyme phân giải cellulose thường chậm và không triệt để, tuy nhiên trong một số trường hợp chẳng hạn hệ vi sinh vật trong dạ cỏ bò có thể phân giải 60 – 65% cellulose sau 48 giờ. Hơn thế nữa, nhờ hệ thống vi sinh vật trong đường ruột mà loài môi có thể tiêu hóa đến 90% cellulose của gỗ (Quê & Điệp, 2011). Trong môi trường tự nhiên nếu không có sự tác động của vi sinh vật thì cellulose được phân hủy rất chậm (Schwarz, 2001). Các vi sinh vật đường ruột của những con môi phân giải lignocellulose/cellulose này được coi là cần thiết cho quá trình tiêu hóa cellulose (Hu và ctv., 2014)

Chính vì vậy việc tìm ra những dòng vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose thành glucose từ ruột môi là rất cần thiết nhằm tạo ra nguồn nguyên liệu cho sản xuất nhiên liệu sinh học từ phụ phẩm nông nghiệp như rơm và là một biện pháp rất hữu hiệu trong việc giải quyết nguồn chất thải, đáp ứng nhu cầu năng lượng trong tương lai.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên vật liệu

Ba tổ mối dưới đất (*Termitidae*) đã được thu ở 3 khu vườn khác nhau thuộc xã Tân Long Hội thuộc huyện Mang Thít, tỉnh Vĩnh Long và đưa về phòng

thí nghiệm thuộc Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ để nghiên cứu.

Rơm được thu nhận tại xã Tân Long Hội, huyện Mang Thít, tỉnh Vĩnh Long từ giống lúa IR50404 sau 2 ngày thu hoạch, sấy khô và xay nhuyễn sau đó sàng qua rây (kích thước lỗ 1 mm) và được khử trùng ược ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút để có được bột rơm khô cho thí nghiệm.

### 2.2. Hóa chất

Môi trường phân lập vi sinh vật (MT1): 1 g  $K_2HPO_4$ ; 2 g  $(NH_4)_2SO_4$ ; 1 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,5 g KCl; 0,02 g  $CaCl_2$ ; 0,001 g  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ; 0,01 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,5 g bột giấy lọc; 1000 mL  $H_2O$  (Gupta et al., 2012).

Môi trường Carboxy Methyl Cellulose (CMC) (MT2): 1 g  $K_2HPO_4$ ; 1 g  $(NH_4)_2SO_4$ ; 0,5g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,001g NaCl; 10g CMC và 500 mL  $H_2O$ .

Môi trường tinh bột: 1 g  $K_2HPO_4$ ; 1 g  $(NH_4)_2SO_4$ ; 0,5 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,001g NaCl; 10 g tinh bột và 500 mL  $H_2O$  (Ulrich et al., 2008).

Môi trường nuôi vi sinh vật trong rơm (MT3): 1 g  $K_2HPO_4$ ; 2 g  $(NH_4)_2SO_4$ ; 1 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,5 g KCl; 0,02 g  $CaCl_2$ ; 0,001 g  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ; 0,01 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 1 g bột rơm khô và 1000 mL  $H_2O$  (Gupta et al., 2012).

Môi trường nuôi tăng sinh khối vi khuẩn: TSB – Merck.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Phân lập vi sinh vật trong ruột môi

Mỗi tổ mối có sự phân chia thành phần gắn liền với chức năng, khả năng phân giải cellulose của môi thợ và môi lính là tốt nhất (Tokuda et al., 2014). Để phân lập vi sinh vật trong ruột môi, mỗi tổ mối chọn ngẫu nhiên 10 môi thợ và 10 môi lính. Quá trình phân lập theo quy trình của Phong và ctv. (2021) như sau: sử dụng cùn 70° để khử trùng môi trong khoảng 30 giây và rửa lại với nước cất vô trùng. Dùng hai kẹp, một kẹp cố định phần đầu môi, kẹp khác kéo ruột môi ra khỏi hậu môn và chấm lên đĩa môi trường (MT1) (mỗi loại môi chấm riêng từng đĩa). Các đĩa này được ủ ở nhiệt độ 32°C trong thời gian 48 giờ. Chọn từng khuẩn lạc riêng biệt và cấy chuyển sang đĩa môi trường (MT1) mới. Tiến hành cấy truyền nhiều lần bằng phương pháp cấy rìa đến khi rỗng. Độ rỗng được kiểm tra dưới kính hiển vi. Mẫu rỗng thu được cấy trên môi trường (MT1) trữ mẫu trong ngăn mát tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C. Các đặc điểm của khuẩn lạc được mô tả theo các tiêu chí:

hình dạng, màu sắc, độ nổi, dạng bìa sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường MT1 (Lượng và ctv., 2003).

### 2.3.2. Đánh giá khả năng phân giải CMC của các vi sinh vật phân lập được

Thí nghiệm này là bước đầu đánh giá khả năng phân giải cellulose của các vi sinh vật được phân lập từ ruột môi, từ đó chọn ra các dòng có khả năng phân giải CMC cao làm cơ sở cho các thí nghiệm tiếp theo (Phong và ctv., 2021).

Chung 1 khuẩn lạc của mỗi dòng vi sinh vật vào 5 ml môi trường TSB lỏng, lắc với tốc độ 200 vòng/phút ở nhiệt độ phòng (khoảng 27 - 32°C). Sau 12 giờ, từng mẫu được đo OD ở bước sóng

600 nM. Sau đó, điều chỉnh sinh khối các dòng vi sinh vật như nhau ( $OD_{600nm} = 0,7$ ) trước khi chủng vào môi trường CMC-agar để phân tích khả năng phân giải CMC. Nhỏ 10  $\mu$ l dịch nuôi vi sinh vật của mỗi mẫu vào môi trường CMC-agar (mỗi đĩa nhỏ 3 giọt tương ứng 3 lần lặp lại), ủ trong 3 ngày ở nhiệt độ 32°C.

Khả năng phân giải CMC của vi sinh vật được xác định bằng cách nhuộm đĩa môi trường với dung dịch Congo red (1g/L) Trong thời gian 15 phút, tiếp đó rửa với dung dịch NaCl 1M. Vi sinh vật có khả năng phân giải CMC sẽ tạo vùng không màu (halo) xung quanh khuẩn lạc (Quê & Điệp, 2011).

Khả năng phân giải CMC của vi sinh vật được xác định bằng công thức:

Kích thước vòng phân giải = Đường kính halo - Đường kính khuẩn lạc.

Chọn những dòng vi sinh vật có kích thước vòng phân giải  $\geq 2$  mm (Phong & ctv., 2021) để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

### 2.3.3. Đánh giá khả năng phân giải cellulose từ rơm của vi sinh vật phân lập được

Từ kết quả của thí nghiệm đánh giá khả năng phân giải CMC của các vi sinh vật phân lập được, chọn ra các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải CMC cao để tiến hành thí nghiệm kiểm tra khả năng phân giải cellulose từ bột rơm. Chuẩn bị dịch vi sinh vật: Một khuẩn lạc của mỗi dòng vi sinh vật được chọn cho vào 5 mL môi trường TSB lỏng lắc với tốc độ 200 vòng/phút, nhiệt độ phòng thí nghiệm (27 - 32°C). Sau 12 giờ, đo OD từng mẫu ở bước sóng 600nM

Sau đó, sinh khối các dòng vi sinh vật được điều chỉnh về cùng mật độ quang ( $OD_{600nm} = 0,7$ ).

Đánh giá khả năng phân giải cellulose từ rơm: Hỗn hợp gồm 1 g bột rơm, 5 mL dịch vi sinh vật đã

chỉnh mật độ quang và 25 mL nước cất đã khử trùng được cho vào chai thủy tinh có dung tích 100 mL (mỗi chủng vi sinh vật tiến hành với 3 chai thủy tinh, tương ứng 3 lần lặp lại).

Các chai thủy tinh được để yên trong điều kiện tối và nhiệt độ phòng (khoảng 27 - 32°C). Thu dung dịch thủy phân và đo lượng glucose sinh ra tại bước sóng  $OD_{540nm}$  ở các thời điểm 5, 10, 15 và 20 ngày sau khi chủng.

### 2.3.4. Xác định hàm lượng glucose trong dung dịch thủy phân bột rơm

Glucose hay đường khử nói chung phản ứng tạo màu với thuốc thử 3,5- Dinitrosalicylic acid (DNS). Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỉ lệ thuận với nồng độ đường glucose trong một phạm vi đo nhất định. Sản phẩm sau phản ứng được xác định giá trị bằng phương pháp so màu ở bước sóng 540 nM. Dựa theo đồ thị đường chuẩn của glucose tinh khiết với thuốc thử DNS để xác định hàm lượng đường của mẫu nghiên cứu (Miller, 1959).

Các bước tiến hành: 1,5 mL dung dịch thủy phân được rút từ mỗi chai thủy tinh cho vào các eppendorf khác nhau sau đó ly tâm để loại bỏ tế bào và cặn lắng ở tốc độ 13.000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó 1 mL dịch lỏng bên trên được hòa vào 1 mL thuốc thử DNS. Hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 15 phút, để nguội và kiểm tra độ hấp thụ ở bước sóng 540 nM. Hàm lượng đường khử trong mẫu được xác định dựa trên đường chuẩn thể hiện mối tương quan giữa hàm lượng glucose và độ hấp thụ ở bước sóng 540 nM. Phương trình hồi quy  $y = 0,6573x - 0,1058$  ( $R^2=99,06\%$ ) được thiết lập, trong đó y là hàm lượng glucose trong mẫu, x là độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 540 nM.

### 2.3.5. Xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Excel 2013 được sử dụng để nhập, tính toán giá trị trung bình và vẽ biểu đồ. Phần mềm Minitab 16 được sử dụng để thống kê ANOVA một nhân tố.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả phân lập vi sinh vật từ ruột môi

Từ ruột của các mối thợ và ruột mối lính của 3 tổ mối thu thập được ở xã Tân Long Hội, huyện Mang Thít, tỉnh Vĩnh Long đã phân lập được 52 dòng vi sinh vật, trong đó 28/52 dòng được phân lập từ ruột mối thợ (53,85%) và 24/52 dòng phân lập từ ruột mối lính (46,15%). Các dòng vi sinh vật phân lập từ ruột mối lính (24 dòng) được kí hiệu từ VLL1.1 đến VLL1.24; và từ ruột mối thợ (28 dòng) được kí hiệu từ VLT1.1 đến VLT1.28.

Ba tổ mối được thu tại xã Tân Long Hội, huyện Mang Thít, tỉnh Vĩnh Long được thể hiện trong Hình 1. Hình thái của mối thợ và mối lính đại diện được thể hiện trong Hình 2.



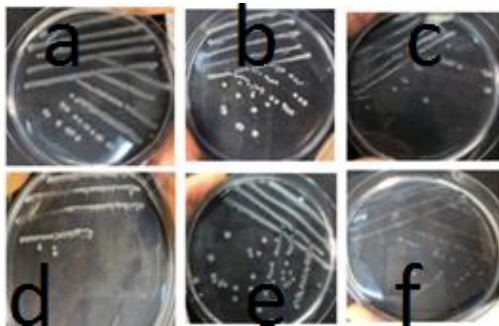
**Hình 1. Ba tổ mối được thu tại xã Tân Long Hội, Mang Thít, Vĩnh Long**



**Hình 2. Mối lính (1) và mối thợ (2)**

Như vậy, số lượng vi sinh vật được phân lập từ ruột mối thợ nhiều hơn ruột mối lính có thể liên quan đến chức năng dinh dưỡng của mối thợ. Các mối thợ có nhiệm vụ chính trong nuôi dưỡng, chăm sóc cho cả đàn mối nên hệ vi khuẩn trong ruột mối thợ sẽ phong phú hơn so với các mối lính và điều đó cũng góp phần khẳng định vai trò của vi sinh vật trong việc hỗ trợ quá trình tiêu hóa thức ăn giàu cellulose của mối (Michael, 2001).

Hình dạng khuẩn lạc của một số dòng vi sinh vật phân lập được trình bày ở Hình 3. Đa số khuẩn lạc có hình tròn; màu sắc trắng đục, trắng sữa; bìa nguyên hay răng cưa.



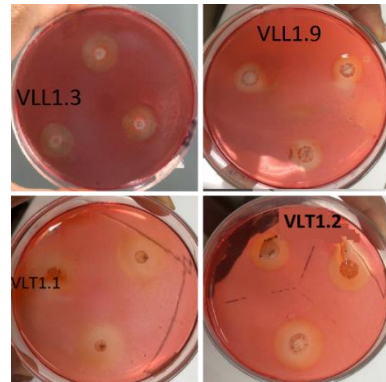
**Hình 3. Hình dạng khuẩn lạc của một số dòng vi sinh vật phân lập được**

(a: VLL1.3; b: VLL1.9; c: VLT1.2; d: VLT1.2; e: VLT1.24; f: VLL1.9)

### 3.2. Khả năng phân giải CMC của vi sinh vật phân lập được

Trong 52 dòng vi khuẩn phân lập được, có 8 dòng phân lập từ ruột mối thợ và 11 dòng phân lập

từ ruột mối lính có khả năng tạo vòng halo trên môi trường CMC sau 3 ngày nuôi cấy. Vòng halo của một số dòng vi sinh vật trên môi trường CMC được trình bày ở Hình 4.



**Hình 4. Vòng halo của các dòng vi khuẩn VLL1.3, VLL1.9, VLT1.1 và VLT1.2 trên môi trường CMC**

Kích thước vòng phân giải của 19 dòng vi khuẩn phân giải CMC được trình bày trong Bảng 1.

**Bảng 1. Kích thước vòng phân giải CMC (mm) của các dòng vi sinh vật phân lập được**

| STT           | Ký hiệu | Kích thước vòng phân giải CMC (mm) |
|---------------|---------|------------------------------------|
| Ruột mối lính |         |                                    |
| 1             | VLL1.2  | 1,0 <sup>bc</sup> ± 0,58           |
| 2             | VLL1.3  | 2,0 <sup>b</sup> ± 0,00            |
| 3             | VLL1.9  | 5,0 <sup>a</sup> ± 2,65            |
| 4             | VLL1.11 | 2,0 <sup>b</sup> ± 0,58            |
| 5             | VLL1.12 | 1,0 <sup>bc</sup> ± 0,58           |
| 6             | VLL1.13 | 1,0 <sup>bc</sup> ± 0,58           |
| 7             | VLL1.16 | 1,0 <sup>bc</sup> ± 0,00           |
| 8             | VLL1.17 | 1,0 <sup>bc</sup> ± 0,58           |
| 9             | VLL1.21 | 1,0 <sup>bc</sup> ± 0,00           |
| 10            | VLL1.23 | 1,0 <sup>bc</sup> ± 0,58           |
| 11            | VLL1.24 | 3,0 <sup>b</sup> ± 0,58            |
| Ruột mối thợ  |         |                                    |
| 1             | VLT1.1  | 7,0 <sup>c</sup> ± 0,00            |
| 2             | VLT1.2  | 12,0 <sup>ab</sup> ± 1,53          |
| 3             | VLT1.7  | 4,0 <sup>cd</sup> ± 0,58           |
| 4             | VLT1.8  | 16,0 <sup>a</sup> ± 3,21           |
| 5             | VLT1.14 | 11,0 <sup>b</sup> ± 0,00           |
| 6             | VLT1.16 | 1,0 <sup>de</sup> ± 0,58           |
| 7             | VLT1.21 | 13,0 <sup>ab</sup> ± 1,00          |
| 8             | VLT1.23 | 1,0 <sup>de</sup> ± 0,63           |

Kết quả trên Bảng 1 cho thấy: Trong 8 dòng vi sinh vật được phân lập từ mối thợ có khả năng tạo vòng halo, 6 dòng VLT1.1, VLT1.2, VLT1.7, VLT1.8, VLT1.14 và VLT1.21 có khả năng tạo vòng phân giải có kích thước  $\geq 2$  mm lớn hơn so với

các dòng còn lại. Đối với các dòng vi sinh vật phân lập được từ mỗi lính, có 4 dòng vi sinh vật VLL1.3, VLL1.9, VLL1.11 và VLL1.24 có khả năng tạo vòng phân giải có kích thước  $\geq 2$  mm và lớn hơn so với các dòng còn lại. Do vậy, tổng cộng 10 dòng vi sinh vật tạo ra vòng phân giải CMC lớn này được chọn để đánh giá khả năng phân giải cellulose từ rơm.

Các số liệu đi kèm chữ cái giống nhau trong cùng một nguồn phân lập (ruột môi lính hoặc ruột môi thợ) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

### 3.3. Khả năng phân giải cellulose từ rơm của vi sinh vật phân lập

Kết quả đánh giá khả năng phân giải cellulose từ bột rơm cho thấy: tất cả 10 dòng vi sinh vật đều có khả năng chuyển hóa cellulose thành glucose thông qua sự thay đổi hàm lượng glucose trong dịch thủy phân sau 5, 10, 15 và 20 ngày nuôi cấy (Bảng 2).

Sau 5 ngày nuôi cấy, 4 dòng vi sinh vật VLL1.3, VLL1.9, VLT1.2 và VLT1.14 tạo ra hàm lượng glucose trong dung dịch lần lượt là 0,85, 0,85, 0,97 và 0,73 g/L, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (0,56 g/L). Trong đó, dòng VLT1.2 tạo ra hàm lượng glucose cao nhất đạt 0,97 g/L sau 5 ngày nuôi cấy. Tran et al. (2011) cho thấy quá trình thủy phân cellulose của rơm thành glucose bởi *Aspergillus terrius* AF67 đạt đỉnh sau 4 ngày thủy phân và hàm lượng glucose đạt 5,61 mg/mL (tương đương 5,61 g/L) cao hơn dòng VLT1.2.

Sau 10 ngày nuôi cấy, dòng VLT1.2 tạo ra hàm lượng glucose trong dung dịch thủy phân đạt cao nhất là 1,08 g/L so với các dòng còn lại và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng.

Sau 15 ngày nuôi cấy, 2 dòng vi sinh vật VLL1.9 và VLT1.2 tạo ra hàm lượng glucose trong mẫu lần lượt là 0,85 và 0,84 g/L, cao hơn so với các dòng vi sinh vật còn lại. Hai nghiệm thức này khác biệt không có ý nghĩa thống kê nhưng chúng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng và các dòng còn lại. Kết quả này cho thấy dòng VLT1.2 có khả năng phân hủy cellulose từ bột rơm để tạo thành glucose với hàm lượng cao trong thời gian 10 ngày, vượt trội hơn so với 2 dòng vi khuẩn 2T1 (0,73 g/L) và 5T6 (0,79 g/L) sau 15 ngày thủy phân bột rơm trong nghiên cứu của Phong et al. (2021).

Sau 20 ngày nuôi cấy, hàm lượng glucose trong mẫu của dòng vi sinh vật VLT1.2 (0,86 g/L) đạt cao nhất so với các dòng còn lại, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng VLL1.3, VLL1.9, VLT1.7, VLT1.1, VLT1.14.

Tóm lại, dòng VLT1.2 được phân lập từ môi thợ có khả năng tạo ra hàm lượng glucose trong dung dịch thủy phân đạt cao nhất ở ngày thứ 10 của quá trình thủy phân và cao hơn so với 9 dòng vi sinh vật còn lại qua tất cả các mốc thời gian 5, 10, 15 và 20 ngày sau khi chủng, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Đây là dòng vi sinh vật tiềm năng có thể sử dụng để xử lý cellulose từ bột rơm.

Theo nội dung nghiên cứu của tác giả Phong và ctv. (2021) đã nêu ra rằng vi khuẩn sinh tổng hợp cellulase mạnh nhất sau 42 -72 giờ nuôi cấy và nấm sợi sinh tổng hợp cellulase mạnh nhất sau 144 giờ (4 - 5 ngày) nuôi cấy.

**Bảng 2. Hàm lượng glucose sinh ra (g/L) từ quá trình phân giải cellulose từ rơm của vi khuẩn**

| Dòng vi sinh vật | Hàm lượng glucose (g/L) theo thời gian |                                |                                |                                |
|------------------|--|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                  | 5 ngày                                 | 10 ngày                        | 15 ngày                        | 20 ngày                        |
| Đối chứng        | 0,56 <sup>d</sup> ± 0,03               | 0,55 <sup>b</sup> ± 0,00       | 0,58 <sup>bc</sup> ± 0,04      | 0,59 <sup>bc</sup> ± 0,11      |
| VLL1.3           | 0,85 <sup>ab</sup> ± 0,03              | 0,62 <sup>ab</sup> ± 0,05      | 0,69 <sup>ab</sup> ± 0,05      | 0,68 <sup>abc</sup> ± 0,05     |
| VLL1.9           | 0,85 <sup>ab</sup> ± 0,08              | 0,83 <sup>ab</sup> ± 0,09      | 0,85 <sup>a</sup> ± 0,08       | 0,79 <sup>abc</sup> ± 0,06     |
| VLL1.11          | 0,59 <sup>cd</sup> ± 0,05              | 0,56 <sup>ab</sup> ± 0,04      | 0,6 <sup>bc</sup> ± 0,03       | 0,59 <sup>bc</sup> ± 0,04      |
| VLL1.24          | 0,58 <sup>cd</sup> ± 0,05              | 0,63 <sup>ab</sup> ± 0,11      | 0,6 <sup>bc</sup> ± 0,04       | 0,59 <sup>bc</sup> ± 0,05      |
| VLT1.1           | 0,63 <sup>cd</sup> ± 0,04              | 0,71 <sup>ab</sup> ± 0,05      | 0,64 <sup>bc</sup> ± 0,05      | 0,71 <sup>abc</sup> ± 0,06     |
| VLT1.7           | 0,61 <sup>cd</sup> ± 0,02              | 1,01 <sup>ab</sup> ± 0,39      | 0,65 <sup>b</sup> ± 0,11       | 0,79 <sup>ab</sup> ± 0,04      |
| <b>VLT1.2</b>    | <b>0,97<sup>a</sup> ± 0,05</b>         | <b>1,08<sup>a</sup> ± 0,31</b> | <b>0,84<sup>a</sup> ± 0,05</b> | <b>0,86<sup>a</sup> ± 0,09</b> |
| VLT1.8           | 0,51 <sup>d</sup> ± 0,03               | 0,48 <sup>ab</sup> ± 0,04      | 0,46 <sup>c</sup> ± 0,06       | 0,55 <sup>c</sup> ± 0,14       |
| VLT1.14          | 0,73 <sup>bc</sup> ± 0,08              | 0,69 <sup>ab</sup> ± 0,03      | 0,6 <sup>bc</sup> ± 0,03       | 0,73 <sup>abc</sup> ± 0,13     |
| VLT1.21          | 0,67 <sup>cd</sup> ± 0,10              | 0,62 <sup>ab</sup> ± 0,07      | 0,48 <sup>c</sup> ± 0,01       | 0,58 <sup>bc</sup> ± 0,06      |

Các số liệu đi kèm chữ cái giống nhau (a, b, c, ...) trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Khi so sánh kết quả phân giải CMC và phân giải bột rom của các dòng vi sinh vật khảo sát cho thấy những dòng có khả năng tạo vòng phân giải CMC đều sinh trưởng được trong môi trường bột rom (MT3). Tuy nhiên, do một số dòng vi sinh vật chỉ có khả năng sinh ra một loại enzyme nhất định. Chẳng hạn như *Trichoderma* sp. có thể được sản xuất cellulase thương mại, tạo ra một lượng rất nhỏ các  $\beta$ -glucosidase so với endocellulase và exocellulase, tuy nhiên một số sinh vật khác được biết là sản xuất  $\beta$ -glucosidase với số lượng cao hơn, trên phạm vi cơ chất rộng hơn (Rani et al., 2014). Do đó trên môi trường CMC thì chúng có hoạt tính mạnh nhưng khi chủng vào môi trường có cơ chất là rom thì khả năng

phân giải không cao bằng những chủng khác (Phong và ctv., 2021).

#### 4. KẾT LUẬN

Từ 3 tổ mỗi đất được thu tại huyện Mang Thít, tỉnh Vĩnh Long, 52 dòng vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose đã được phân lập, trong đó có 28 dòng được phân lập từ mỗi thợ và 24 dòng được phân lập từ mỗi lính. Qua sàng lọc, chọn được 10 dòng có khả năng phân giải CMC hiệu quả và tạo vòng halo sau 3 ngày nuôi cấy, trong đó có 6 dòng từ mỗi thợ và 4 dòng từ mỗi lính. Trong 10 dòng vi sinh vật có khả năng phân giải CMC, dòng VLT1.2 có khả năng phân giải cellulose thành glucose hiệu quả nhất so với 9 dòng còn lại qua các thời điểm khảo sát 5, 10, 15 và 20 ngày.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Dũng, N. M. (2014). Ước tính lượng khí thải từ đất rom rạ ngoài đồng ruộng ở vùng đồng bằng Sông Hồng. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 2012, 10(1), 190 – 198.
- Gupta, P., Samant, K., & Sahu, A. (2012). Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiolog*, 1-5. DOI:10.1155/2012/578925
- Hu, X., Yu, J., Wang, C., & Chen, H. (2014). Cellulolytic Bacteria Associated with the Gut of *Dendroctonus armandi* Larvae (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Forests*, 5, 455 – 465. <https://doi.org/10.3390/f5030455>
- Khoirunnisa, N. S., Anwar, S., & Santosa, D. A. (2020). Isolation and selection of cellulolytic bacteria from rice straw for consortium of microbial fuel cell. *Biodiversitas*, 21(4), 1686 - 1696. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210450>
- Lượng, N. Đ., Huyền, P. T., & Tuyết, N. A. (2003). Thí nghiệm vi sinh vật. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.
- Michael, F. D. (2001). Speciation of termite gut protists: the role of bacterial symbionts. *International journal of Microbiology*, 4, 203-208
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426 – 428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Phong, N. T., Văn, N. T. C., Diệu, N. H. T., & Vinh, B. T. (2021). Xác định khả năng phân giải cellulose của các chủng vi khuẩn, nấm phân lập từ ruột mối (*Microcerotermes* spp.) thu nhận ở huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 57(4A), 65-72. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.114>
- Phong, N. T., Vi, D. H., Diep, C. N., & Vinh, B. T. (2021). Cellulose Degrading Ability of Bacterial Strains Isolated from Gut of Termites in Vinhlong Province – Vietnam. *Chemical Engineering Transactions*, 88, 1315-1320.
- Quê, V. V. P., & Điệp, C. N. (2011). Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải cellulose. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 18a, 177-184.
- Rani, V., Mohanram, S., Tiwari, R., Nain, L., & Arora, A. (2014). Beta-glucosidase: key enzyme in determining efficiency of cellulase and biomass hydrolysis. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*, 5(1), 1-8. DOI:10.4172/2155-9821.1000197
- Schwarz, W. H. (2001). The cellulosome and cellulose degradation by anaerobic bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(5), 634-649. <https://doi.org/10.1007/s002530100710>
- Toại, T. Đ., Hải, P. H., Kiên, N. B., & Bích, H. T. (2011). Nghiên cứu tối ưu hóa quá trình thủy phân cellulose tách từ rơm rạ thành đường tan của nấm mốc *Aspergillus terreus* để sản xuất ethanol - nhiên liệu sinh học. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 49(6), 83-92.
- Tokuda, G., Yuuri, T., Kumiko, K., Seikou, S., Sigeharu, M., Nathan, L., & Jun, K. (2014). Metabolomic profiling of <sup>13</sup>C-labelled cellulose digestion in a lower termite: insights into gut symbiont function. *Biological Sciences*, 22, 281-289. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0990>
- Tran, D. T., Pham, P. H., Nguyen, B. K., Huynh, B. T., & Do, T. S. (2011). Optimization of the cellulose (from rice stubble/straw) hydrolysis into glucose using fungi *Aspergillus terreus* in ethanol-biofuel production. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 49(6), 83 – 92.
- Ulrich, A., Klimke, G., & Wirth, S. (2008). Diversity and activity of cellulose-decomposing bacteria, isolated from a sandy and a loamy soil after long-term manure application. *Microbial Ecology*, 55(3), 512-522. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9296-0>