

ĐẶC ĐIỂM CỦA HỆ VI NẤM TRONG NƯỚC THẢI CÔNG NGHIỆP THỰC PHẨM HÀ NỘI

KIỀU HỮU ẮNH, LÃ HỒNG PHƯƠNG

Do giàu chất hữu cơ, nhiều loại nước thải công nghiệp, đặc biệt là nước thải của các nhà máy sản xuất nước uống và thực phẩm, thường chứa nhiều nấm men và nấm mốc. Số lượng của chúng có thể lên tới hàng chục nghìn tế bào trong 1 ml. Nước thải với thành phần loài tương đối phong phú (Reinheimer, 1975). Cùng với vi khuẩn chúng tham gia tích cực vào các quá trình phân giải các chất hữu cơ và vi vậ, giữ vai trò quan trọng trong các quá trình xử lý nước thải bằng con đường sinh học (Rehm, 1980; Gaudy, Gaudy, 1981). Nhiều loài nấm được sử dụng nuôi trực tiếp trên nước thải (không khử trùng) nhằm thu nhận sinh khối giàu protein và làm giảm mức độ ô nhiễm (Hagler et al 1976; Samard, Fustier 1976; Sucuru et al, 1975)

Công trình này giới thiệu kết quả nghiên cứu về sự phân bố của hệ vi nấm trong 6 loại nước thải công nghiệp thực phẩm thuộc vùng Hà Nội, về năng lực phân giải một số chất hữu cơ của chúng và kết quả thăm dò khả năng sử dụng một chủng nấm men dinh dưỡng để nuôi trên nước thải.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu nước thải được thu từ cống thoát chính của 6 nhà máy sau đây: Bia Hà Nội, Rượu Hà Nội, Mi Chứa Bộc, Hoa Quả, Kẹo Hải Hà và Kẹo Hải Châu. Số lượng tế bào nấm men và nấm mốc được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường thạch đĩa Martin. Sinh trưởng của nấm men trên nước thải được xác định theo phương pháp đếm trực tiếp số tế bào trong phòng đếm hồng cầu Gorjaev. Năng lực lên men etylic của chúng được tính bằng thể tích CO₂ sinh ra trong các bình lên men Smith. Đối với các chủng nấm mốc, khả năng phân giải tinh bột được xác định bằng thời gian làm mất màu iốt của hỗn hợp dịch nuôi—tinh bột; khả năng phân giải xenuloza bằng mức độ phân giải bột xenuloza trong môi trường thạch Czapek (thuốc hiện màu Lugol), và hoạt tính proteaza—bằng mức độ phân giải gelatin cũng trong môi trường trên (thuốc hiện màu Frazier). Để nuôi thử nấm men trên môi trường nước thải nhằm mục đích xử lý, chúng tôi sử dụng chủng *Candida utilis* 19 thuộc sưu tập giống của Bộ môn Vi sinh vật Trường Đại học Tổng hợp Hà Nội.

Việc định tên nấm mốc tới loài được thực hiện với sự cộng tác của Phó tiến sĩ Bùi Xuân Đông và Dược sĩ Nguyễn thị Sinh, trường Đại học Dược khoa Hà Nội. Nấm men nước thải được định tên tới chi với sự giúp đỡ của chị Vũ thị Minh Đức dựa theo khóa phân loại nấm men của J. Lodder (1971).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân bố của hệ vi nấm.

Kết quả (bảng 1) cho thấy nước thải nhà máy Rượu Hà Nội chứa số lượng vi nấm cao nhất so với các loại nước thải khác được nghiên cứu.

Bảng 1. Số lượng vi nấm trong nước thải công nghiệp thực phẩm Hà nội.

Nguồn nước thải	Số tế bào (xl.000) trong 1 ml nước thải		
	Nấm men	Nấm mốc	Tổng số
Nhà máy Bia	45	380	425
Nhà máy Rượu	1375	139	1514
N. M. Mi Chùa Bộc	636	173	809
N. M. Hoa Quả	105	285	400
N. M. Kẹo Hải Hà	407	269	676
N. M. Kẹo Hải Châu	88	858	946

Trên môi trường Martin, từ nước thải nhà máy Rượu Hà Nội có thể phát hiện được 1.514.000 tế bào/mml, trong đó có 139.000 tế bào nấm mốc và 1.375.000 tế bào nấm men. Trong nước thải các nhà máy còn lại, tổng số tế bào vi nấm phát hiện được thấp hơn đáng kể, nhất là nhà máy Hoa quả (400.000 tế bào/ml) Tuy nhiên, nếu so với con số vi nấm mà Rheinheimer (1975) đã phát hiện được trong nước thải sinh hoạt thành phố Kiep, CHLB Đức (từ 4.000 đến 20.000 tế bào/ml) thì lượng vi nấm phát hiện được trong nước thải công nghiệp thực phẩm vùng Hà Nội là tương đối cao. Sự khác biệt này có thể do các mẫu nghiên cứu đều được lấy từ cống thoát chính của các nhà máy trước khi dòng nước thải nhập vào hệ thống cống rãnh chung của thành phố.

Toàn bộ 62 chủng nấm mốc phân lập đã được định tên tới loài. Chúng thuộc về 47 loài của 16 chi (bảng 2) trong đó có 2 loài thuộc lớp *Zygomycetes* gồm 3 chủng (chiếm 4,8% tổng số chủng và 45 loài thuộc lớp *Hyphomycetes* gồm 59 chủng (chiếm 95,2% tổng số chủng).

Các chi có số loài nhiều nhất là *Penicillium* (14 loài) và sau đó là *Aspergillus* (12 loài); các chi khác chỉ có từ 1-4 loài (bảng 3). Trong số 15 chi thuộc lớp *Hyphomycetes* thì 13 chi có trong danh sách các nấm đất thường gặp ở Việt Nam (Bùi Xuân Đồng, 1984). Trong đất và trong các loại cơ chất tự nhiên khác như không khí nước ngọt, lương thực, thực phẩm, dược phẩm .v.v.. cũng có hệ vi nấm với thành phần loài tương tự, trong đó hai chi *Aspergillus* và *Penicillium* có thể chiếm tới trên 50% tổng số loài (Bùi Xuân Đồng, tài liệu chưa công bố) Khi điều tra hệ vi nấm của bùn cống ở vùng Bắc Auburn (Mỹ), Diener et al (1976) cũng phát hiện được 23 chi nấm mốc. Tám chi trong số đó cũng có mặt trong nước thải công nghiệp thực phẩm thành phố Hà Nội, đó là các chi: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Mucor*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Paecilomyces* và *Penicillium*.

Bảng 2. Thành phần loài của hệ vi nấm nước thải công nghiệp thực phẩm vùng Hà Nội.

Số	Tên loài	Ký hiệu chủng
1	<i>Acremonium atrogriseum</i> /Panassenko/Gam	HQ 13
2	<i>A. guillematii</i> Gams	BM 3
3	<i>A. ochraceum</i> /Onions et Barron/Gams	HC 3
4	<i>A. stiatosporum</i> /Onions et Barron/Gams	HH 4
5	<i>Auroobasidium</i> sp.	HQ 15, HQ 16
6	<i>Aspergillus awmori</i> Nakazwa	HH1, R 3
7	<i>A. flavus</i> Linh ex Fr.	HQ 10
8	<i>A. gracillis</i> Bainier	HH 3
9	<i>A. heterophorphus</i> Batista et Maia	R1
10	<i>A. nutans</i> McLennan et Ducker	B 3
11	<i>A. parasiticus</i> Speare	HH 9
12	<i>A. terreus</i> var. <i>aureus</i> Thom et Raper	BM 1
13	<i>A. sydowii</i> /Bain. et Sart./Thom et Church	B7, B8
14	<i>A. ustus</i> /Bain. Thom et Church	HH7
15	<i>A. versicolor</i> /Vuill./triboschi	D2
16	<i>A. Wentli</i> Wehmer	HH13, HQ7
17	<i>Aspergillus</i> sp.	HH8
18	<i>Blastomyces</i> sp	B10
19	<i>Botryotrichum</i> sp.	HQ18
20	<i>Cladosporium cladospoides</i> /Fres./Devries	B2, BM5
21	<i>C. elatum</i> /Harz./Nannf.	B6, HH 10
22	<i>C. tenuissimum</i> Cooke	R7
23	<i>Chrysosporium</i> sp.	R8
24	<i>Curvularia pallescens</i> Boedijn	HH6
25	<i>C. prasidii</i> R.L. et B. L. Matur	HQ8, HQ3
26	<i>Fusarium merium merismoides</i> Corda	HH2
27	<i>Halobysus jaczewskii</i> Gordlaguin	R5
28	<i>Monilia brunnea</i> Gilm. et Abb.	B2
29	<i>Mucor genevensis</i> Lend	HQ4, HQ11
30	<i>M. racemosus</i> Fres.	R4
31	<i>Oidiodendron cerealis</i> //Thümen/Barron	B5
32	<i>Paecilomyces inflatus</i> /Burnside/Carmichael	HC2
33	<i>Penicillium aculeatum</i> Raper et Fennel	HH15
34	<i>P. citreo - viride</i> Blourge	HQ12
35	<i>P. citrinum</i> Thom	B9
36	<i>P. levitum</i> Raper et Fennel	BM2
37	<i>P. frequentans</i> Westling	BM4
38	<i>P. ochraceum</i> /Bain./Thom	HQ19
39	<i>P. pallidum</i> Smith	D3, HQ6
40	<i>P. purpurogenum</i> Stoll	HQ2, HQ17
41	<i>P. urticae</i> Bainier	D1, HC5
42	<i>P. velutinum</i> v. Beyma	HH5, HH12, HH4 HQ22
43	<i>P. verrucosum</i> Dierckx	HQ9, HQ14
44	<i>P. verrucosum</i> var. <i>cyclopium</i> /Westling/Samson, Stolk et Hadlok	D4
45	<i>P. waksmani</i> Zaleski	HC4
46	<i>Penicillium</i> sp.	R2
47	<i>Trichoderma viride</i> Pers. ex Fr.	B13

Bảng 3. Tỷ phần trăm của các loài nấm mốc nước thải

STT	Tên chi	Số loài	Tỷ lệ
1	Penicillium	11	30,5
2	Aspergillus	12	26,0
3	Acremonium	4	8,6
4	Đladosporium	3	6,5
5	Curvularia	2	4,3
6	Mucor	2	4,2
7	Aureodasidium	1	2,2
8	Blastomyces	1	2,2
9	Botryotrichum	1	2,2
10	Chrysosporium	1	2,2
11	Fusarium	1	2,2
12	Halobysus	1	2,2
13	Oidiodendron	1	2,2
14	Paecilomyces	1	2,2
15	Trichoderma	1	2,2
16	Monilia	1	2,2

Bảng 4. Thành phần nấm Men gặp trong nước thải công nghiệp thực phẩm vùng Hà Nội.

Tên chi	tên chủng	Số lượng	Tỷ lệ %
<i>Saccharomyces</i>	R1, R2, R3, R4, R5, R7, R9	18	23,6
Mayen emend Rets	R14, R15, R16, R19, R21, R22 R23, R24, B2, B4, B7		
<i>Kluyveromyces</i> van der Walt emend van der Walt	R13, R25, BM6, BM7, HC4, HC6 HQ2, HQ6, HQ7, HQ8, HQ11, HH2, HH5, HH10, HH11, HH13, HH16, D1, R8.	19	25,0
<i>Candida</i> Berkhout	R6, R10, R11, R12, R17, R18, R20, BM9, HQ1, HQ4, HH1 HH7, HH9, HH15	14	18,4
<i>Torulopsis</i> Berlese	B5, B6, B7, BM1, BM2, HQ5, HC7	7	9,2
<i>Rhodotorula</i> Harrison	D2, HH3, HH6, HQ1	4	5,2
Chưa dịch tên		14	18,6

Về thành phần chi của nấm men trong các loại nước thải nghiên cứu, kết quả thu được (bảng 4) cho thấy ở đây cũng gặp một hệ nấm Men tương tự như hệ nấm men mà Rheinheimer (1975) đã phát hiện được trong nhiều loại nước thải của công nghiệp thực phẩm và nước uống. Tuy nhiên, theo tác giả, ngoài *Saccharomyces*, *Candida*, *Rhodotorula*, trong môi trường này còn hay gặp cả *Cryptococcus*.

2. Năng lực lên men rượu và phân giải các chất hữu cơ

Trong số 76 chủng nấm men phân lập được có 11 chủng (chiếm tỷ lệ 14,5%, có hoạt tính lên men rượu mạnh, sau 72 giờ lên men trong các bình Smith tạo thành 220—34 cm³ CO₂. Đó là các chủng *Saccharomyces* R15 và *Kluyveromyces* R8 phân lập từ nước thải nhà máy Rượu Hà Nội, tạo thành lần lượt 34 và 32 cm³ CO₂ sau 72 giờ lên men và 9 chủng khác (*Saccharomyces* R1, R2, R7, R22, R23, R34; *Toorulopsis* B5; *Candida* R10 và *Kluyveromyces* R13) tạo thành từ 20 đến 30 cm³ CO₂ trong các điều kiện lên men tương tự.

Khi được nuôi trên môi trường thạch Czapek chứa nguồn Nitơ duy nhất là gelatin, nhiều chủng nấm mốc có khả năng sinh trưởng mạnh như các chủng *Aspergillus heterophorphus* R1, *Curvularia prasidii* HQ3 và HQ8; *Penicillium verrucosum* HQ14, *Trichoderma viride* B13, *Acremonium guillematii* BM3, tạo thành khuẩn lạc có đường kính đạt từ 4 đến 6,5 cm. Tuy nhiên, chỉ có 4 chủng có khả năng phân giải protein mạnh (hiệu số vòng phân giải đạt từ 1,2 đến 2 cm) chiếm tỷ lệ 6,3% tổng số các chủng nấm mốc phân lập được. Đó là các chủng *Penicillium velutinum* HH5 và HH12, *P. aculeatum* HH15 và *P. urticae* D1.

Trong 62 chủng nấm mốc nghiên cứu, một số chủng có khả năng phân giải tinh bột tương đối mạnh (*Aspergillus heterophorphus* R1 *A. Tentii* HQ7, *Penicillium wvaskmani* HC4 và *Penicillium* sp. R2); chỉ sau 50—70 phút, chúng đã phân giải hoàn toàn dung dịch tinh bột 1% trong dịch nuôi.

Trên môi trường Czapek chứa bột xenluloza là nguồn cacbon duy nhất, các chủng sau đây vừa sinh trưởng mạnh vừa phân giải xenluloza tự nhiên (hiệu số vòng phân giải đạt 2,0—4,0 cm): *Mucor genevensis* HQ4 *Curvularia prasidii* HQ8, *Aspergillus flavus* HQ10 và *A. gracillis* HH3. Còn các chủng sau đây tuy sinh trưởng yếu hơn, song cũng có hiệu số vòng phân giải đạt từ 2,0 đến 4,0 cm: *Mucor racemosus* R4, *Penicillium citreoviride* HQ12, *Cladosporium tenuissimum* R7 và *C. elatum* HH10.

Bảng 5. Sinh trưởng của *Saccharomyces* R15 và *Kluyveromyces* R8 trên 6 loại nước thải công nghiệp thực phẩm (thu hoạch sau 12 giờ nuôi).

Tên chủng	Sản lượng tế bào (triệu/ml) trên nước thải					
	NM Bia	NM Rượu	Kẹo HC	Kẹo HH	Hoa Quả	Mi CB
<i>Saccharomyces</i> R15	22,0	70	52,5	95,0	39,2	71,0
<i>Kluyveromyces</i> R8	17,0	70	17,0	48,6	32,5	77,0

Kết quả nuôi hai chủng nấm Men *Saccharomyces* R15 và *Klugeromyces* R8 trên các môi trường nước thải có bổ sung 14g glucoza, 1g KH_2PO_4 và 10_l men bia khô cho một lít nước thải không pha loãng (bảng 5) cho thấy nước thải nhà máy Mi Chùa Bộc thích hợp hơn cả đối với sự sinh trưởng của hai chủng nghiên cứu. Sau 12 giờ nuôi trên loại nước thải này, chủng R15 đạt sản lượng 77 triệu tế bào/ml, còn chủng R8 đạt 71 triệu.

3. Sinh trưởng của *Candida utilis* 19 trên nước thải nhà máy Mi Chùa Bộc.

Chủng *Candida utilis* 19 đã được nuôi trên nước thải nhà máy Mi Chùa Bộc không khử trùng, có PH tự nhiên (6,5—7,0). Thí nghiệm được tiến hành qua 3 bước:

1. Dùng nước thải có bổ sung 2,8% đường kính 0,29% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ và 0,1% KH_2PO_4 để nhân giống 7 giờ trong nồi lên men 2,5 lít với độ thông khí 1 lít/phút khuấy 200 vòng/phút và ở nhiệt độ 30°C.

2. Dùng nước thải nguyên, pha loãng dịch nhân giống gấp 5 lần, lên men tiếp 7 giờ ở các điều kiện tương tự.

3. Dịch lên men lại được pha loãng 5 lần bằng nước thải nguyên, lên men tiếp 7 giờ nữa. Kết quả thu được (bảng 6) cho thấy sau 21 giờ lên men lượng nấm men tăng 144 lần, còn lượng coliform giảm 99,8%.

Bảng 6. Kết quả xử lý nước thải nhà máy Mi Chùa Bộc bằng *C. utilis*

Thành phần môi trường nuôi	Thời gian lên men	Sinh trưởng của <i>C. utilis</i>		Hàm lượng coliform (tế bào/ml)
		tế bào/ml	trọng lượng khô/l(mg)	
Nước thải không khử trùng pH tự nhiên(6,5-7,0) thêm: 2,8% đường kính 0,29% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,1% KH_2PO_4	0 giờ	10^9	18	$3.35.10^6$
	Sau 7 giờ	43.10^9	774	$8,16.10^4$
Nước thải không khử trùng, pH tự nhiên.	giờ thứ 8	$8,06.10^9$	155	$2,70.10^6$
	sau 14 giờ	77.10^9	1386	$7,10.10^4$
Nước thải không khử trùng, pH tự nhiên.	giờ thứ 15	$15,4.10^9$	277	$2,68.10^6$
	sau 21 giờ	144.10^9	2592	$4,20.10^4$

Những kết quả tương tự cũng đã nhận được khi Simard và Fustier(1976) nuôi *Rhodotorula glutinis* trên nước thải sinh hoạt không khử trùng nhằm thu nhận sinh khối. Bằng phương pháp nuôi liên tục, các tác giả này đã thu được một năng suất tế bào là 0,79g/1h, và qua đó làm giảm hàm lượng coliform có trong nước thải tới 99%.

Tài liệu tham khảo chính

Bùi Xuân Đồng. 1984. Nhóm nấm *Hyphomycetes* ở Việt Nam. Nxb. KHKT Hà Nội.

Diener U.L., Morgan G., Hagler W.M., Davis N.D. 1976. Mycoflora of activated sewage sludge—*Mycopathologia*, 58,2 : 115—116.

Gaudy A., Gaudy E. 1981. *Microbiology for Environmental Scientists and Engineers*. Mc Graw-Hill Int. Book Company.

Hagler W. M., Davis N.D., Diener U.L. 1976. Fungal Degradation of anaerobically digested sewage sludge. *Mycopathologia*, 58,3 : 177—181.

Rebham H. J. 1980. *Industrielle Mikrobiologie*, 2. Aufl. Berlin, Heidelberg, New York.

Rheinheimer G. 1975. *Mikrobiologie der Gewässer*. VEB Gustav Verlag, Jena.

Simmond R. E., Fustier P. 1976. In Abstr. 5 th. Int. Fermt. Symp. Dellweg, I. (ed.) p.347. Berlin.

Succuru G. A., Engelbrecht R. S., Chain E. S. K. 1975. Thermophilic Microbiological Treatment of High Strength Wastewaters with Simultaneous Recovery of Single Cell Protein.—*Biotech. Bioeng.*, 17 : 1639—1662.

Кьей ХХьу Ань, Ла Хонг Фьонг

ОСОБЕННОСТЬ МИКРОГРИБНОЙ ФЛОРЫ В СТОЧНОЙ ВОДЕ
ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ РАЙОНА ХАНОЯ

Из 6 видов сточных вод продовольственной промышленности района Ханоя были обнаружены 47 видов микрогрибов, принадлежавших к 16 родам плесневых и 5 родам бродильных грибов. Их количества колеблются от 400000 (сточная вода фруктовой фабрики) до 1.1514.000 клеток/мл (сточная вода спиртовой фабрики).

Из всех изолированных типов микрогрибов были обнаружены 11 типов бродильных грибов с большой способностью к спиртовому брожению, 4 типа плесневых грибов с относительно сильной способностью к разложению крахмала и 8 типов, способных к разложению природных целлюлоз с высокой эффективностью.

После 21 часов культивирования безстерилизованной сточной водой от фабрики — Хлебной фабрики. Вода одновременно была хорошо проветренная и поддерживающаяся при температуре 30°C то количество клеток увеличивается на 144 раз. Засчёт быстрого роста бродильных грибов поэтому содержание колиформы в сточной воде уменьшается до 99,8%.

Кьей Хьун Ань, Ла Хонг Фуонг

MYCOFLORA OF FOOD INDUSTRY WASTEWATERS IN HANOI

Occurrence and distribution of microfungi in some types of food industry wastewaters in Hanoi were studied. Forty—seven species of filamentous fungi and five genera of yeasts were identified in pure culture after isolation from wastewaters of six food industry factories.

The number of microfungi ranged from 400,000 to 1,514,000 cells per milliliter of wastewater. Some strains were capable of alcohol fermentation and breakdown of complex organics.

After being cultivated for 21 hours in the wastewater of M. Chuoc factory the number of *Candida utilis* 19 increased by 144 times. The growth of yeast caused a decrease in the amount of coliform by 99,8%.