

HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CHẾ PHẨM VI SINH VẬT ĐA CHỨC NĂNG CÓ BỔ SUNG BIOCHAR

Trần Tiến Dũng¹, Võ Tuấn Toàn¹, Đào Văn Thông², Võ Chí Hiếu¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã hoàn thiện được các công đoạn trong quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh vật (VSV) chức năng có bổ sung than sinh học (biochar). Kết quả đã xây dựng được quy trình nhân sinh khối 03 chủng VSV hữu ích (cổ định đạm, phân giải hợp chất photpho khó tan và đối kháng VSV gây bệnh vùng rễ cây trồng cạn). Đã lựa chọn được môi trường sản xuất phù hợp với 03 chủng VSV sử dụng trong sản xuất là các môi trường AB04; PC01 và BS03. Xác định được tỷ lệ tiếp giống VSV trong công đoạn nhân sinh khối cấp II với 2 chủng SHV06 và SHV 2.2 là 5,0% và chủng SHV 19 là 7,0%. Hiệu chỉnh được liều lượng cấp khí phù hợp cho quá trình nhân sinh khối cấp II đối với cả 03 chủng VSV trong sản xuất là 0,5 lít không khí/lít môi trường/phút. Đã hoàn thiện quy trình tạo chế phẩm dạng bột từ nguồn nguyên liệu là sinh khối VSV, than bùn và biochar.

Từ khóa: Chế phẩm VSV, phân bón, vi sinh vật, chức năng, than sinh học

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiên cứu ứng dụng các chế phẩm VSV hữu ích trong sản xuất nông nghiệp bao gồm các loại như: Chế phẩm VSV, phân VSV, phân hữu cơ vi sinh và hữu cơ sinh học đang là xu hướng tích cực trong chiến lược phát triển một nền nông nghiệp theo hướng hữu cơ bền vững và hiệu quả. Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu của đề tài khoa học công nghệ cấp Nhà nước “Nghiên cứu công nghệ sản xuất phân bón VSV chức năng phục vụ chăm sóc cây trồng cho một số vùng sinh thái” đã được Bộ Khoa học và Công nghệ công nhận và cho áp dụng trong sản xuất theo quyết định số 2421/QĐ/BNN-KHCN ngày 17 tháng 8 năm 2004. Sản phẩm của đề tài là quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm VSV chức năng đã được áp dụng ở Bình Định nhưng mới dừng lại quy mô nhỏ và sử dụng các nguồn nguyên liệu truyền thống như than bùn và các phụ phẩm nông nghiệp. Sản phẩm tạo ra mới chỉ đáp ứng phần nhỏ nhu cầu ngày càng cao trong sản xuất nông nghiệp ở vùng Duyên hải Nam Trung bộ và Tây Nguyên.

Trước tình hình thực tế trên, để nâng cao chất lượng chế phẩm, tận dụng nguyên vật liệu tại chỗ, việc nghiên cứu hoàn thiện công nghệ và bổ sung biochar trong quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh đa chức năng quy mô công nghiệp là cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các chủng VSV: *Bacillus subtilis* SHV 06 có hoạt tính phân giải hợp chất photpho khó tan, *Pseudomonas chlororaphis* SHV 2.2 đối kháng VSV gây bệnh vùng rễ cây trồng cạn và *Azotobacter beijerinckii* SHV 19 cố định nitơ tự do.

- Các hóa chất, dụng cụ nuôi cấy: NaCl, CaCO₃, MgSO₄.7H₂O, K₂HPO₄, Na₂CO₃, casein, glyxerol, FeSO₄.7H₂O, MnSO₄, Ca₃(PO₄)₂, (NH₄)₂SO₄, CH₃COONa.3H₂O, NaNO₂, KOH...; máy lắc, nồi lên men, tủ sấy, tủ ẩm, nồi hấp tiệt trùng, tủ cấy, cân kỹ thuật...

- Nguyên liệu sản xuất: Biochar có nguồn gốc từ vỏ cà phê, than bùn, vôi bột...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp xác định mật độ VSV: Theo TCVN 4884:2005.

- Phương pháp xác định độ ẩm chế phẩm: Theo TCVN 9297:2012.

- Lựa chọn môi trường sản xuất: Trên cơ sở thành phần môi trường cơ bản King B, SPA, Ashby lần lượt sử dụng trong nuôi cấy các chủng SHV 06, SHV 2.2 và SHV 19, tiến hành thử nghiệm các môi trường thay thế với nguồn dinh dưỡng cacbon là ri đường, nguồn dinh dưỡng nitơ là bột thủy phân nấm men, nước chiết đậu. Các chủng được nhân sinh khối trong các môi trường khác nhau trong điều kiện 28-30°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút, dựa vào mật độ tế bào các chủng để lựa chọn môi trường nuôi cấy thích hợp.

- Hiệu chỉnh tỷ lệ tiếp giống VSV: Các chủng VSV được nuôi cấy cấp I trong môi trường thích hợp pH = 7,0; nhiệt độ 28 - 30°C. Sau 24 - 48 giờ nuôi cấy, vi khuẩn được cấy truyền sang nuôi sinh khối cấp II trong thiết bị lên men 15 lít trong môi trường thay thế có pH = 7,0, nhiệt độ 28 - 30°C với các tỷ lệ tiếp giống thay đổi trong khoảng từ 3 - 10%. Dựa vào mật độ tế bào các chủng ở các tỷ lệ bổ sung giống khác nhau để lựa chọn tỷ lệ tiếp các giống VSV thích hợp cho nhân sinh khối.

¹ Công ty Cổ phần Phân bón và DVTH Bình Định; ² Viện Môi trường Nông nghiệp

- Hiệu chỉnh điều kiện cấp khí: Các chủng VSV được nuôi cấy trong môi trường với tỷ lệ tiếp giống thích hợp đã lựa chọn, pH = 7,0; nhiệt độ 28 - 30°C trong thiết bị lên men 15 lít có kiểm soát lượng không khí sục vào dao động trong khoảng từ 0,3 - 0,7 lít không khí/lít môi trường/phút. Dựa vào mật độ tế bào của các chủng với các lượng cấp khí khác nhau để lựa chọn lượng cấp khí thích hợp cho từng chủng VSV.

- Hiệu chỉnh điều kiện nhân sinh khối:

Thời gian nuôi cấy: Các chủng VSV được nuôi cấy trong môi trường, tỷ lệ tiếp giống, chế độ cấp không khí thích hợp đã lựa chọn, pH = 7, nhiệt độ 28 - 30°C trong thiết bị lên men 15 lít. Kiểm tra mật độ tế bào các chủng liên tục trong vòng 92 giờ để lựa chọn thời điểm mật độ tế bào các chủng cực đại.

pH môi trường: Các chủng VSV được nuôi cấy trong môi trường, tỷ lệ tiếp giống, chế độ cấp không khí, thời gian nuôi cấy thích hợp đã lựa chọn, nhiệt độ 28 - 30°C trong thiết bị lên men 15 lít. pH môi trường được điều chỉnh trong khoảng từ 5,0 - 8,0, xác định mật độ VSV để lựa chọn pH môi trường nhân sinh khối thích hợp.

Nhiệt độ nuôi cấy: Các chủng VSV được nuôi cấy trong môi trường, tỷ lệ tiếp giống, chế độ cấp không khí, thời gian nuôi cấy, pH môi trường đã lựa chọn trong thiết bị lên men 15 lít. Nhiệt độ nuôi cấy được điều chỉnh trong khoảng từ 20 - 34°C, xác định mật độ VSV để lựa chọn nhiệt độ nhân sinh khối thích hợp.

- Lựa chọn chất mang và tỷ lệ thành phần tham gia: Chất mang được xử lý đảm bảo độ mịn, pH trung tính, khử trùng vô khuẩn. Sau đó phối trộn VSV với chất mang với mật độ tế bào ban đầu mỗi chủng là $4,0.10^{10}$ CFU/g, bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng. Kiểm tra mật độ tế bào các chủng sau 7 ngày, 3 tháng và 6 tháng, lựa chọn tỷ lệ thành phần chất mang có mật độ tế bào các chủng VSV cao nhất và ổn định.

- Hiệu chỉnh tỷ lệ dịch cấp II bổ sung và thời gian lên men: Tiến hành bổ sung dịch theo các tỷ lệ 5%, 10%, 15%, đồng thời, đánh giá ảnh hưởng thời gian ủ lên men đối với các chủng liên tục trong 4 ngày. Từ mật độ tế bào các chủng, xác định tỷ lệ cũng như thời gian ủ lên men tối ưu nhất.

- Lựa chọn nhiệt độ và thời gian sấy: Chế phẩm đã kiểm tra và đảm bảo về mật độ tế bào VSV được sấy ở các mức nhiệt khác nhau: 30°C, 40°C, 50°C trong các khoảng thời gian khác nhau: 6 giờ, 12 giờ, 18 giờ. Từ mật độ tế bào, độ ẩm đầu ra, chọn điều kiện nhiệt độ, thời gian sấy phù hợp.

- Lựa chọn bao bì đóng gói sản phẩm: Chế phẩm VSV có mật độ tế bào các chủng đảm bảo 10^9 CFU/g chế phẩm được đóng trong túi nilon đen dán kín, lồng nhãn, bao ngoài bằng túi nilon trắng, dán kín và túi thiếc, dán kín, dán nhãn được bảo quản ở điều kiện thường, nơi thoáng mát, tránh ánh nắng trực tiếp, không gần nơi có hóa chất. Kiểm tra mật độ tế bào các chủng VSV trong chế phẩm sau 1 tháng, 3 tháng, 6 tháng.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10/2016 đến tháng 6/2017 tại thôn Diêm Tiêu, thị trấn Phù Mỹ, huyện Phù Mỹ, tỉnh Bình Định.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hoàn thiện quy trình sản xuất sinh khối VSV

3.1.1. Lựa chọn môi trường sản xuất

Thành phần môi trường dinh dưỡng là yếu tố quan trọng ảnh hưởng rất lớn đến hoạt động sống cũng như khả năng duy trì hoạt tính sinh học của VSV. Trong sản xuất công nghiệp, môi trường dinh dưỡng chuẩn thường không được sử dụng vì giá thành cao. Các nhà sản xuất đã phải tìm ra môi trường thay thế từ các nguồn nguyên liệu sẵn có (Lê Văn Nhung và *ctv.*, 2009). Tiến hành thí nghiệm nghiên cứu khả năng tồn tại của các chủng VSV trên các môi trường sản xuất, thành phần các môi trường sản xuất thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Môi trường sản xuất cho chủng *Azotobacter beijerinckii* SHV 19

Môi trường	AB01	AB02	AB03	AB04
Rỉ đường (g/l)	30			30
Bột thủy phân nấm men (g/l)		5		5
Nước chiết đậu (g/l)			50	
Glucose (g/l)		5		
Saccharose (g/l)		5		
KH ₂ PO ₂ (g/l)	0,2	0,2	0,2	0,2
MgSO ₄ .7H ₂ O (g/l)	0,2	0,2	0,2	0,2
NaCl (g/l)	0,2	0,2	0,2	0,2
K ₂ SO ₄ (g/l)	0,1	0,1	0,1	0,1
CaCO ₃ (g/l)	5	5	5	5
Nước cất (ml)	1.000	1.000	1.000	1.000

Bảng 2. Môi trường sản xuất cho *Bacillus subtilis* SHV 06

Môi trường	PC01	PC02	PC03	PC04
Ri đường (g/l)	20	20		
Bột thủy phân nấm men (g/l)	5		5	
Nước chiết đậu (g/l)		50		50
Glucose (g/l)			5	5
Saccharose (g/l)			5	5
(NH ₄) ₂ SO ₄ (g/l)	1	1	1	1
MgSO ₄ .7H ₂ O (g/l)	0,1	0,1	0,1	0,1
Ca ₃ (PO ₄) ₂ (g/l)	5	5	5	
Dung dịch vi lượng (ml/l)	2	2	2	2
Nước cất (ml)	1.000	1.000	1.000	1.000

Bảng 3. Môi trường sản xuất cho *Pseudomonas chlororaphis* SHV 2.2

Môi trường	BS01	BS02	BS03	BS04
Ri đường (g/l)	20	20	20	20
Bột thủy phân nấm men (g/l)			20	10
Nước chiết đậu (g/l)		50		20
Pepton (g/l)	10			
K ₂ HPO ₄ (g/l)	1,5	1,5	1,5	1,5
MgSO ₄ .7H ₂ O (g/l)	1,5	1,5	1,5	1,5
Nước cất (ml)	1.000	1.000	1.000	1.000

Kết quả kiểm tra mật độ tế bào các chủng VSV trong các môi trường nghiên cứu cho thấy, đối với chủng SHV 06, mật độ tế bào đạt cao nhất sau 48 giờ nuôi cấy, đạt 3,3.10⁹ CFU/ml trên môi trường King B và đạt 7,2.10⁹ CFU/ml trên môi trường sản xuất BS03. Đối với chủng SHV 2.2, mật độ tế bào cũng đạt cao nhất sau 48 giờ nuôi cấy, đạt 3,8.10⁹ CFU/ml trên môi trường SPA và đạt 7,5.10⁹ CFU/ml trên môi trường sản xuất PC01. Riêng chủng SHV 19, mật độ tế bào đạt cao nhất sau 60 giờ nuôi cấy, đạt 8,9.10⁹ CFU/ml trên môi trường Ashby và chỉ có môi trường AB04 là môi trường sản xuất có mật độ tế bào 6,7.10⁹ CFU/ml cực đại đạt gần bằng môi trường cơ bản. Như vậy, để đảm bảo hiệu quả kinh tế và khả năng ứng dụng vào sản xuất, lựa chọn môi trường BS03, PC01 và AB04 là môi trường sản xuất lần lượt cho các chủng SHV 06, SHV 2.2 và SHV 19.

3.1.2. Hiệu chỉnh tỷ lệ tiếp giống VSV

Lượng giống cấy thích hợp quyết định đến chất lượng và giá thành sản phẩm. Trong quá trình nhân giống, thường khi giống phát triển đến nửa sau hoặc

nửa cuối sau của giai đoạn phát triển lũy thừa thì sẽ được cấy chuyển sang môi trường nhân giống kế tiếp với tỷ lệ cấy chuyển khoảng 1 - 10% (Kiều Hữu Ảnh và *ctv.*, 1999). Tùy thuộc quy mô sản xuất, quá trình nhân giống có thể kéo dài qua nhiều chu kỳ cấy chuyển cho đến khi đủ lượng giống cung cấp cho cho mỗi mẻ lên men (Nguyễn Lâm Dũng và *ctv.*, 2008). Kết quả đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình nhân sinh khối của các chủng VSV sau 48 - 66 giờ được tập hợp tại bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng tỷ lệ giống cấy đến sinh khối của các chủng VSV nghiên cứu

Tỷ lệ giống (%)	Mật độ tế bào (CFU/ml)		
	SHV06	SHV 2.2	SHV 19
3,0	2,5.10 ⁸	3,7.10 ⁸	3,5.10 ⁸
5,0	5,7.10 ⁹	5,5.10 ⁹	8,5.10 ⁸
7,0	8,3.10 ⁹	7,7.10 ⁹	4,3.10 ⁹
10,0	7,0.10 ⁹	3,5.10 ⁹	4,5.10 ⁹

Kết quả tập hợp tại bảng 4 cho thấy, tăng tỷ lệ tiếp giống từ 3,0% tới 5,0% mật độ tế bào nhận được tăng rất lớn đối với hai chủng SHV06 và SHV 2.2 (2,5.10⁸ so với 5,7.10⁹ và 3,7.10⁸ so với 5,5.10⁹ CFU/ml), nhưng nếu tăng tỷ lệ tiếp giống lên cao hơn nữa thì mật độ tế bào tăng rất chậm và có xu hướng giảm đi khi tỷ lệ tiếp giống là 10%. Riêng chủng SHV 19, mật độ tế bào của chủng này tăng mạnh chỉ khi tăng tỷ lệ tiếp giống lên 7%, nhưng khi tăng tiếp tỷ lệ giống lên 10% thì mật độ tế bào hầu như không tăng nữa. Như vậy, khả năng sinh trưởng và phát triển của chủng SHV 19 yếu hơn, do đó đòi hỏi tỷ lệ tiếp giống khởi động ban đầu phải lớn hơn. Kết quả trên là cơ sở lựa chọn tỷ lệ tiếp giống phù hợp với hai 2 chủng SHV06 và SHV 2.2 là 5,0%, đối với chủng là SHV 19 là 7,0%, trong khi ở quy trình cũ trước hiệu chỉnh, tỷ lệ tiếp giống đối với cả 3 chủng đều là 3%.

3.1.3. Hiệu chỉnh điều kiện cấp khí

Trong quá trình sinh trưởng, các chủng VSV nghiên cứu có nhu cầu sử dụng oxy khác nhau. Xác định nhu cầu oxy trong quá trình nhân sinh khối thông qua mối quan hệ giữa khả năng sinh trưởng của các chủng VSV và lượng không khí cấp vào.

Kết quả tại bảng 5 cho thấy, mật độ tế bào của cả 3 chủng VSV chỉ thực sự tăng rõ rệt khi tăng lượng không khí tới 0,5 lít không khí/lít môi trường/phút nhưng tăng lượng cấp không khí lên cao hơn nữa dường như sự tăng trưởng của các chủng VSV không được cải thiện nhiều.

Bảng 5. Ảnh hưởng của lượng khí cấp đến sinh khối của các chủng VSV nghiên cứu

Lưu lượng không khí (lít không khí/ lít môi trường/phút)	Mật độ tế bào (CFU/ml)		
	SHV 06	SHV 2.2	SHV 19
0,3	3,5.10 ⁸	2,7.10 ⁸	5,4.10 ⁸
0,4	8,7.10 ⁸	3,5.10 ⁹	6,3.10 ⁸
0,5	5,4.10 ⁹	6,4.10 ⁹	3,8.10 ⁹
0,6	6,0.10 ⁹	6,5.10 ⁹	5,3.10 ⁹
0,7	7,1.10 ⁹	6,2.10 ⁹	6,3.10 ⁹

Như vậy, so với quy trình chưa hiệu chỉnh với lưu lượng không khí cấp cho cả 3 chủng VSV là 0,7 lít không khí/lít môi trường/phút thì sau khi hiệu chỉnh lượng không khí cấp được lựa chọn cho cả 3 chủng là 0,5 lít không khí/lít môi trường/phút.

3.1.4. Hiệu chỉnh điều kiện nhân sinh khối

Kết quả tại bảng 6 cho thấy, các chủng SHV 06 và chủng SHV 2.2 có khả năng sinh trưởng và phát triển mạnh. Pha tiềm phát kết thúc ngay sau 6 giờ đầu nuôi cấy, trong khi đó chủng SHV 19 phải chờ tới 12 giờ. Mật độ tế bào cực đại của các chủng VSV đạt được gần bằng nhau, nhưng thời điểm nhận được lượng sinh khối tối đa lại khác nhau, mật độ tế bào cực đại của chủng SHV 06, SHV 2.2 nhận được sau 48 giờ nuôi cấy lần lượt là 8,7.10⁹ CFU/ml và 7,1.10⁹ CFU/ml, mật độ tế bào cực đại của chủng SHV 19 nhận được sau 66 giờ nuôi cấy là 9,5.10⁹ CFU/ml. Như vậy, so với quy trình chưa hiệu chỉnh, thời điểm thu sinh khối của chủng SHV 06 và chủng SHV 2.2 vẫn được lựa chọn là 48 giờ, riêng thời điểm thu sinh khối của chủng SHV 19 được lựa chọn kéo dài hơn từ 48 giờ lên 66 giờ.

Bảng 6. Khảo sát thời gian sinh trưởng của các chủng VSV

Thời gian nuôi cấy (giờ)	Mật độ tế bào (CFU/ml)		
	SHV06	SHV 2.2	SHV 19
0	5,0.10 ⁵	5,0.10 ⁶	5,0.10 ⁶
6	9,0.10 ⁶	9,0.10 ⁶	6,0.10 ⁶
12	2,5.10 ⁷	2,5.10 ⁷	9,0.10 ⁶
18	8,9.10 ⁷	8,9.10 ⁷	3,1.10 ⁷
24	2,5.10 ⁸	3,7.10 ⁸	8,8.10 ⁷
30	2,1.10 ⁹	7,5.10 ⁸	1,5.10 ⁸
36	4,1.10 ⁹	5,3.10 ⁹	4,6.10 ⁸
42	6,7.10 ⁹	6,2.10 ⁹	6,1.10 ⁸
48	8,7.10 ⁹	7,1.10 ⁹	7,5.10 ⁸
54	1,2.10 ⁸	1,2.10 ⁸	3,5.10 ⁹
60	-	-	7,8.10 ⁹
66	-	-	9,5.10 ⁹
72	-	-	1,6.10 ⁸

pH của môi trường nuôi cấy là một chỉ số quan trọng có ảnh hưởng lớn đến quá trình sinh trưởng và phát triển của chủng VSV, pH phù hợp sẽ tạo điều kiện thu nhận sinh khối cao. Kết quả biểu thị ảnh hưởng của pH tới lượng sinh khối VSV nhận được tập hợp trong bảng 7.

Bảng 7. Khảo sát điều kiện pH của các chủng VSV lựa chọn

pH	Mật độ tế bào (CFU/ml)		
	SHV06	SHV 2.2	SHV 19
5,0	1,5.10 ⁷	3,5.10 ⁷	2,0.10 ⁷
5,5	8,3.10 ⁷	2,5.10 ⁸	2,0.10 ⁸
6,0	8,7.10 ⁸	8,5.10 ⁸	8,5.10 ⁸
6,5	4,5.10 ⁹	5,5.10 ⁹	4,6.10 ⁹
7,0	7,6.10 ⁹	6,5.10 ⁹	7,8.10 ⁹
7,5	9,5.10 ⁸	7,2.10 ⁹	1,9.10 ⁸
8,0	5,5.10 ⁸	6,6.10 ⁷	8,5.10 ⁷

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, pH môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng khá rõ rệt tới sinh trưởng và phát triển của các chủng VSV. Giá trị pH thích hợp của chủng SHV 06 là 7,0 với mật độ tế bào đạt cao nhất là 7,6.10⁹ CFU/ml, chủng SHV 2.2 là 7,5 với mật độ tế bào đạt cao nhất là 7,2.10⁹ CFU/ml và chủng SHV 19 là 7,0 với mật độ tế bào đạt cao nhất là 7,8.10⁹ CFU/ml. So với quy trình chưa hiệu chỉnh, pH môi trường nuôi cấy thích hợp với chủng SHV 06, SHV 19 không thay đổi và đều là 7,0, riêng chủng SHV 2.2, pH thích hợp từ 7,0 được hiệu chỉnh thay đổi lên 7,5.

Bảng 8. Khảo sát nhiệt độ nuôi cấy các chủng VSV lựa chọn

Nhiệt độ (°C)	Mật độ tế bào (CFU/ml)		
	SHV 06	SHV 2.2	SHV 19
20	6,6.10 ⁷	5,7.10 ⁷	1,3.10 ⁷
22	9,5.10 ⁷	6,5.10 ⁷	9,5.10 ⁷
24	4,5.10 ⁸	5,6.10 ⁸	7,3.10 ⁸
26	8,5.10 ⁸	7,3.10 ⁸	1,8.10 ⁹
28	4,6.10 ⁹	3,2.10 ⁹	5,3.10 ⁹
30	7,5.10 ⁹	8,6.10 ⁹	8,4.10 ⁹
32	8,7.10 ⁹	2,2.10 ⁹	1,1.10 ⁹
34	1,1.10 ⁸	9,5.10 ⁸	9,5.10 ⁸

Kết quả trong bảng 8 cho thấy, ảnh hưởng nhiệt độ nuôi cấy tới sinh trưởng và phát triển của các chủng VSV tương đối rõ rệt. Cả 03 chủng VSV đều có khả năng sinh trưởng và phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 20 - 34°C nhưng với mức độ rất khác

nhau. Như vậy, so với quy trình chưa hiệu chỉnh, khoảng nhiệt độ thích hợp của cả 3 chủng đều là 30°C thì sau khi hiệu chỉnh, riêng chủng SHV06 đạt mật độ tế bào cao nhất là $8,7.10^9$ CFU/ml ở 32°C, còn 2 chủng SHV 2.2 và SHV 19 đạt mật độ tế bào cao nhất là $8,6.10^9$ CFU/ml và $8,4.10^9$ CFU/ml đều cùng ở 30°C.

3.2. Hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm

3.2.1. Lựa chọn chất mang và tỷ lệ thành phần tham gia

Mật độ VSV và thời gian sống của VSV là 2 chỉ tiêu chất lượng quan trọng của chế phẩm. Do đó, nghiên cứu lựa chọn chất mang nhằm bảo vệ được VSV trong quá trình hoàn thiện sản phẩm và bảo quản duy trì ổn định hoạt lực của sản phẩm. Nguyên liệu lựa chọn làm chất mang cho sản xuất

chế phẩm VSV phải đảm bảo các đặc điểm như: Không độc hại với VSV, thực vật; khả năng hấp thụ độ ẩm tốt; có khả năng bám dính tốt; có sẵn với số lượng đầy đủ; rẻ tiền (FNCA, 2006). Chất mang dạng bột được lựa chọn trong nghiên cứu là than bùn, than sinh học (biochar) được phối trộn với các tỷ lệ khác nhau. Việc sản xuất và sử dụng biochar tạo điều kiện cho việc tái sử dụng chất thải, phụ phẩm nông nghiệp, tạo sinh khối và các nguồn tự nhiên khác, đó là một công việc thân thiện với môi trường (Warnock *et al.*, 2007).

Kết quả ở bảng 9 cho thấy, với tỷ lệ chất mang than bùn: biochar là 9: 1, mật độ tế bào các chủng VSV đều đạt mật độ cao nhất và cao hơn so với các tỷ lệ phối trộn khác. Như vậy, với quy mô sản xuất công nghiệp, tỷ lệ chất mang than bùn : biochar là 9 : 1 là phù hợp nhất.

Bảng 9. Ảnh hưởng của chất mang đến mật độ VSV trong quá trình bảo quản

Đơn vị: CFU/g

Chủng VSV	Thời gian bảo quản	Tỷ lệ phối trộn than bùn: biochar				
		9 : 1	8 : 2	7 : 3	6 : 4	5 : 5
SHV 06	7 ngày	$3,8.10^9$	$4,1.10^8$	$1,9.10^7$	$2,8.10^7$	$3,2.10^7$
	3 tháng	$5,7.10^8$	$6,9.10^7$	-	-	-
	6 tháng	$1,5.10^8$	$6,5.10^6$	-	-	-
SHV 2.2	7 ngày	$3,3.10^9$	$3,1.10^8$	$2,6.10^7$	$3,2.10^7$	$4,9.10^7$
	3 tháng	$7,3.10^8$	$5,2.10^7$	-	-	-
	6 tháng	$2,1.10^8$	$1,0.10^6$	-	-	-
SHV 19	7 ngày	$1,3.10^9$	$2,6.10^8$	$2,8.10^7$	$5,3.10^7$	$3,2.10^7$
	3 tháng	$5,0.10^8$	$5,0.10^7$	-	-	-
	6 tháng	$3,0.10^8$	$3,2.10^6$	-	-	-

3.2.2. Hiệu chỉnh tỷ lệ dịch cấp II bổ sung và thời gian lên men

Việc lựa chọn được tỷ lệ dịch cấp II bổ sung và thời gian lên men thích hợp, đảm bảo mật độ tế bào VSV đạt tiêu chuẩn sau bảo quản, đồng thời tiết

kiệm thời gian và chi phí sản xuất có vai trò quan trọng trong sản xuất chế phẩm VSV quy mô lớn. Kết quả nghiên cứu tỉ lệ dịch cấp II bổ sung và thời gian ủ lên men được thể hiện qua bảng 10.

Bảng 10. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch cấp II bổ sung và thời gian ủ lên men đến mật độ tế bào các chủng VSV

Đơn vị tính: CFU/g

Thời gian	Tỷ lệ dịch cấp II bổ sung								
	5%			10%			15%		
	SHV 19	SHV2.2	SHV 06	SHV 19	SHV2.2	SHV 06	SHV 19	SHV2.2	SHV 06
1 ngày	$2,1.10^6$	$5,1.10^6$	$9,1.10^5$	$4,5.10^6$	$2,3.10^6$	$2,2.10^7$	$6,7.10^6$	$4,5.10^6$	$5,2.10^7$
2 ngày	$5,4.10^7$	$2,7.10^7$	$1,3.10^6$	$4,8.10^7$	$5,3.10^7$	$2,1.10^7$	$5,2.10^7$	$6,7.10^7$	$1,0.10^7$
3 ngày	$2,2.10^8$	$3,5.10^8$	$6,0.10^8$	$5,2.10^9$	$2,3.10^9$	$3,2.10^9$	$6,0.10^9$	$1,3.10^9$	$1,4.10^9$
4 ngày	$8,4.10^7$	$6,2.10^7$	$1,5.10^8$	$2,6.10^9$	$1,4.10^9$	$8,6.10^8$	$4,3.10^9$	$9,1.10^8$	$8,2.10^8$

Số liệu ở bảng 10 cho thấy, ở công thức bổ sung 10% và 15% dịch cấp II, sau 3 ngày ủ, mật độ tế bào các chủng đều đạt mức cao nhất $\geq 10^9$ CFU/g, đến ngày thứ 4, mật độ tế bào các chủng VSV đều có xu hướng giảm. Để tiết kiệm chi phí cho sản xuất, lựa chọn tỷ lệ phối trộn là 10% và thời gian ủ là 3 ngày cho cả 3 chủng VSV nhằm đảm bảo mật độ tế bào VSV đạt cao nhất.

3.2.3. Lựa chọn nhiệt độ và thời gian sấy

Trong quá trình sấy, yếu tố thời gian sấy và nhiệt độ sấy là một trong những yếu tố quyết định đến chất lượng và giá thành sản phẩm. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian sấy tới mật độ tế bào VSV trong chế phẩm được trình bày ở bảng 11.

Bảng 11. Ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian sấy đến độ ẩm và mật độ tế bào VSV

Thời điểm	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giờ)	Độ ẩm (%)	Mật độ tế bào (CFU/g)		
				SHV 06	SHV 2.2	SHV 19
Trước sấy			40	$3,6.10^9$	$3,4.10^9$	$3,5.10^9$
Sau sấy	30	6	38	$3,5.10^9$	$3,2.10^9$	$3,2.10^9$
		12	35	$3,4.10^9$	$3,1.10^9$	$3,3.10^9$
		18	30	$3,3.10^9$	$3,0.10^9$	$3,0.10^9$
	40	6	27	$3,4.10^9$	$3,3.10^9$	$3,3.10^9$
		12	20	$3,2.10^9$	$3,0.10^9$	$3,2.10^9$
		18	18	$1,0.10^9$	$5,3.10^8$	$2,8.10^8$
	50	6	22	$3,2.10^8$	$1,6.10^8$	$4,7.10^8$
		12	19	$1,8.10^8$	$4,7.10^8$	$2,8.10^8$
		18	17	$1,6.10^8$	$1,6.10^8$	$5,1.10^7$

Kết quả ở bảng 11 cho thấy, khi sấy ở nhiệt độ 30°C, thời gian sấy 6 - 18 giờ, mật độ tế bào của các chủng đạt $3,0.10^9$ - $3,5.10^9$ CFU/g, tuy nhiên độ ẩm của chế phẩm còn quá cao $\geq 30\%$. Khi sấy ở nhiệt độ 40°C, thời gian sấy 6 - 12 giờ, mật độ tế bào của các chủng đạt $3,0.10^9$ - $3,4.10^9$ CFU/g, đồng thời độ ẩm chế phẩm sau 6 giờ đạt cao 27%, sau 12 giờ đạt yêu cầu 20%. Sau sấy 18 giờ, mật độ tế bào của các chủng VSV trong chế phẩm giảm mạnh, đặc biệt chủng SHV 2.2 và SHV 19 (mật độ tế bào $< 10^9$ CFU/g) và độ ẩm của chế phẩm thấp chỉ đạt 18%. Khi sấy ở nhiệt độ 50°C, thời gian sấy 6 - 18 giờ, mật độ tế bào của các chủng giảm mạnh, chỉ đạt ở mức 10^8 CFU/g. Từ kết quả trên, lựa chọn nhiệt độ sấy là 40°C, thời gian sấy là 12 giờ để chế phẩm đảm bảo về mật độ tế bào VSV và độ ẩm.

3.2.3. Lựa chọn bao bì đóng gói sản phẩm

Chế phẩm VSV được đóng gói trong các loại bao bì khác nhau sẽ ảnh hưởng đến sự sai khác về mật độ tế bào của các chủng VSV trong chế phẩm. Để đảm bảo yêu cầu chất lượng chế phẩm, mật độ VSV hữu ích $\geq 10^8$ CFU/g sau 6 tháng bảo quản, việc nghiên cứu lựa chọn bao gói thích hợp cho chế phẩm VSV là việc làm cần thiết. Kết quả bảo quản chế phẩm VSV với 2 loại bao gói gồm bao bì 2 lớp túi nilon và bao bì bằng túi thiếc được trình bày ở bảng 12.

Các kết quả ở bảng 12 cho thấy, sử dụng bao bì bằng túi thiếc và túi nilon đều cho mật độ tế bào các chủng VSV bảo quản trong các loại vật liệu đều đạt yêu cầu sau 6 tháng bảo quản. Tuy nhiên, bảo quản chế phẩm trong túi thiếc đảm bảo độ bền chắc thuận lợi trong vận chuyển, phân phối và tính thẩm mỹ của sản phẩm, đáp ứng tốt hơn với yêu cầu của thị trường. Như vậy, có thể sử dụng bao bì túi thiếc và túi nilong cho bảo quản chế phẩm VSV, khuyến cáo sử dụng bao bì túi thiếc.

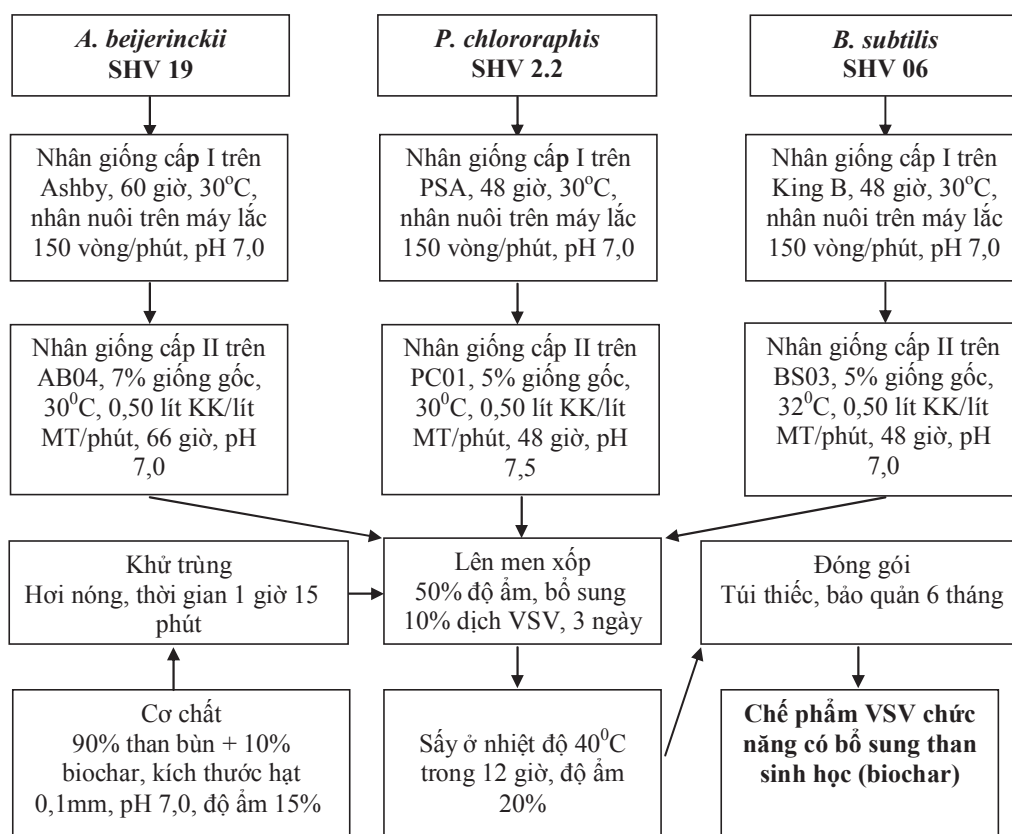
Bảng 12. Ảnh hưởng của bao bì đến mật độ VSV trong chế phẩm

Thời gian	Mật độ VSV (CFU/g)					
	2 lớp túi nilon			Túi thiếc		
	SHV 19	SHV 2.2	SHV 16	SHV 19	SHV 2.2	SHV 16
0 giờ	$5,0.10^9$	$1,2.10^9$	$3,0.10^9$	$4,3.10^9$	$9,1.10^9$	$2,2.10^9$
3 tháng	$7,8.10^8$	$8,2.10^8$	$8,7.10^8$	$7,3.10^8$	$6,9.10^8$	$9,0.10^8$
6 tháng	$3,6.10^8$	$4,2.10^8$	$1,5.10^8$	$7,9.10^8$	$9,5.10^8$	$5,3.10^8$

3.3. Quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm VSV chức năng có bổ sung biochar hoàn thiện

Tổng hợp các kết quả đạt được, tiến hành xây

dựng quy trình sản xuất chế phẩm VSV chức năng có bổ sung biochar, các bước thực hiện và các thông số kỹ thuật được mô tả cụ thể ở hình 1.



Hình 1. Sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm VSV chức năng có bổ sung biochar

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Đã lựa chọn được các môi trường AB04, PC01 và BS03 để sản xuất sinh khối lần lượt cho chủng SHV 19, SHV 2.2 và SHV 06, trong đó sử dụng rỉ đường, bột thủy phân nấm men làm nguồn dinh dưỡng chính.

- Đã hiệu chỉnh được liều lượng cấp khí trong quá trình nhân sinh khối cấp 2 đối với cả 03 chủng là 0,5 lít không khí/lít môi trường/phút, nhiệt độ, pH và thời gian đối với 3 chủng VSV. Quy trình sản xuất chế phẩm từ chất mang là than bùn và biochar với tỷ lệ là 9 : 1, lượng sinh khối VSV cấp 2 bổ sung trong quá trình lên men xộp là 10%, thời gian lên men xộp là 3 ngày, nhiệt độ sấy chế phẩm phù hợp là 40°C trong thời gian 12 giờ, chế phẩm được đóng gói trong túi thiếc.

4.2. Đề nghị

Cần bổ sung thí nghiệm xác định mối tương

quan giữa biochar với mật độ và hoạt tính của các chủng VSV trong chế phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Kiểu Hữu Ảnh, Biền Văn Minh, Phạm Ngọc Lan, Đỗ Bích Ngọc, 1999. *Giáo trình vi sinh vật công nghiệp*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyển, Phạm Văn Ty, 2008. *Vi sinh vật học*. Nhà xuất bản Giáo dục. Hà Nội.
- Lê Văn Nhượng, Nguyễn Văn Cách, Quán Lê Hà, Trần Liên Hà, Nguyễn Thanh Hằng, Hoàng Đình Hòa, Nguyễn Lan Hương, Ngô Thị Mai, Đinh Kim Nhung, Khuất Hữu Thanh, Nguyễn Quang Thảo, Phạm Thị Thúy, Phạm Văn Toàn, 2009. *Cơ sở công nghệ sinh học*. Tập 4 - Công nghệ vi sinh. Nhà xuất bản Giáo dục. Hà Nội.
- Forum for nuclear cooperation in Asia (FNCA), 2006. *Biofertilizer manual*.
- Warnock DD, Lehmann J, Kuyper TW and Rillig MC, 2007. Mycorrhizal responses to biochar in soil - concepts and mechanisms. *Plant Soil* 300: 9-20.

Completion of production technology of functional micro-products supplemented with biochar

Tran Tien Dung, Vo Tuan Toan, Dao Van Thong, Vo Chi Hieu

Abstract

The research has completed the steps in the production process of functional microorganism supplemented with biochar. The results established the process of microbial biomass production from 3 strains of useful microorganisms (nitrogen fixation, dissolution of phosphorus compounds difficult to dissolve and antimicrobial resistance root zone). The suitable production medium was selected for 3 microbial strains used in the production, including AB04; PC01 and BS03. It was determined that the ratio of microorganism in the second stage of fermentation for both SHV 06 and SHV 2.2 was 5.0% and for SHV 19 was 7.0%. Correction of the appropriate air supply for the second stage of fermentation with 03 strains of microorganism was 0.5 liters of air per liter of medium per minute. The production process of powder inoculum was prepared from microorganism biomass, peat and biochar.

Keywords: Microbial, multiplex, microorganisms, fertilizer, biochar

Ngày nhận bài: 13/9/2017
Ngày phản biện: 18/9/2017

Người phản biện: PGS. TS. Lê Như Kiều
Ngày duyệt đăng: 11/10/2017

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ GIỐNG ĐẬU TƯƠNG VÀ THỜI VỤ GIEO CHO GIỐNG ĐT51 TRONG VỤ HÈ TẠI HUYỆN HƯNG HÀ, TỈNH THÁI BÌNH

Lê Thị Thoa¹, Trần Thị Trường¹

TÓM TẮT

Kết quả nghiên cứu 8 giống đậu tương (DT84, DT12, DT2008, DT31, DT22, DT51, ĐVN6, ĐVN14) và thời vụ gieo cho giống ĐT51 trong vụ Hè tại huyện Hưng Hà, tỉnh Thái Bình cho thấy thời gian sinh trưởng (TGST) của các giống đậu tương từ 80 ngày đến 114 ngày. Giống DT2008 có TGST dài nhất (114 ngày) và giống ĐT12 có TGST ngắn nhất (80 ngày). Giống ĐT51 sinh trưởng phát triển tốt và nhiễm nhẹ bệnh virus, chống đổ tốt. Năng suất của giống ĐT51 đạt 2,59 tấn/ha, cao hơn so với giống DT84 (2,27 tấn/ha). Thời vụ gieo thích hợp cho giống ĐT51 trong vụ Hè là từ 28/5 đến 11/6 và năng suất đạt từ 2,4 tấn/ha đến 2,55 tấn/ha.

Từ khóa: Giống đậu tương, thời vụ gieo, năng suất, vụ Hè, Thái Bình

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hưng Hà là huyện có diện tích trồng đậu tương lớn nhất tỉnh Thái Bình. Diện tích trồng đậu tương của tỉnh Hưng Hà là 4.922 ha, chiếm 35% diện tích của toàn tỉnh (Cục Thống kê tỉnh Thái Bình, 2013). Diện tích đậu tương của huyện tập trung trên đất hai lúa và đất bãi ven sông. Diện tích đậu tương trên đất bãi đạt 650 ha. Tuy nhiên, năng suất đậu tương trong vụ Xuân là rất thấp, chỉ đạt từ 1,2 tấn/ha đến 1,47 tấn/ha (Trần Minh Chiêu, 2011). Cây đậu tương trong cơ cấu cây trồng chủ yếu của diện tích đất bãi ven sông là: Ngô Xuân, đậu tương Hè, ngô Đông. Năng suất đậu tương trong vụ Hè còn thấp (1,2 - 1,5) tấn/ha và chưa ổn định. Sản xuất đậu tương có nhiều nguyên nhân dẫn đến sản xuất chưa ổn định. Trong đó giống là yếu tố rất quan trọng. Bộ

giống đậu tương trong vụ Hè là ít và giống cũ như giống ĐT12, DT84, năng suất thấp. Hiện nay, bộ giống đậu tương mới rất phong phú. Nhiều giống đậu tương mới chọn tạo có năng suất, chất lượng tốt và nhiễm nhẹ sâu bệnh hại chính như ĐT30, ĐT31, ĐT51... (Trần Thị Trường và *ctv.*, 2012, 2015). Việc nghiên cứu tuyển chọn giống đậu tương thích hợp tại Thái Bình nói chung và Hưng Hà nói riêng nhằm bổ sung giống đậu tương mới cho sản xuất vụ Hè là rất cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm 8 giống đậu tương: DT84, ĐT12, DT2008, ĐT31, ĐT22, ĐT51, ĐVN6, ĐVN14; trong đó, giống đối chứng là DT84.

¹ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ, Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm