

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM VI SINH XỬ LÝ PHỤ PHẨM NÔNG NGHIỆP SAU THU HOẠCH

PHẠM NGỌC TUẤN, ThS LÊ THỊ THANH THỦY

LÊ THỊ MINH LƯƠNG, TS LÊ NHƯ KIỂU

Viện Thổ nhưỡng Nông hóa, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Xử lý phế phụ phẩm (PPP) nông nghiệp bằng biện pháp sinh học là vấn đề được quan tâm đặc biệt hiện nay, bởi nó giúp giảm ô nhiễm môi trường nông nghiệp, nông thôn và đáp ứng một phần nhu cầu về nguồn phân bón hữu cơ. Các tác giả đã nghiên cứu tuyển chọn các chủng vi sinh vật (VSV) bản địa có khả năng phân giải hợp chất xenlulo mạnh để sản xuất chế phẩm VSV, rút ngắn thời gian phân giải và nâng cao chất lượng của mùn hữu cơ tạo ra. Trong phạm vi bài báo này, các tác giả trình bày một số kết quả nghiên cứu về: phân lập và tuyển chọn 5 chủng VSV có khả năng phân giải xenlulo (VPX5, HNX2); cố định nitơ (HLN5); phân giải lân (HNL1) và đối kháng VSV gây bệnh (VPK2) từ các mẫu đất, PPP hoa màu thu từ Hà Nam, Vĩnh Phúc, Quảng Nam, Thanh Hóa và nghiên cứu các thông số kỹ thuật tối ưu để nhân sinh khối các chủng VSV trên; lựa chọn chất mang cho sản xuất chế phẩm VSV gồm 95% than bùn + 5% rỉ đường; xây dựng quy trình sản xuất 2 chế phẩm VSV VNBAC (VNBAC1 và VNBAC2) xử lý PPP nông nghiệp, tạo chất hữu cơ chất lượng cao, đảm bảo mật độ tế bào mỗi chủng VSV đạt 10^8 CFU/g, thời gian sử dụng trong vòng 6 tháng kể từ ngày sản xuất.

Từ khóa: vi khuẩn phân hủy xenlulo, vi khuẩn cố định nitơ, vi khuẩn phân giải lân và vi khuẩn đối kháng, chế phẩm VSV.

RESEARCH ON PRODUCTION OF MICROBIAL PREPARATIONS TO TREAT POSTHARVEST AGRICULTURAL BY-PRODUCTS

Summary

Treatment of agricultural waste and by-products by biological methods is paid special attention in present, because it helps to reduce environmental pollution of agriculture and rural areas and satisfies a part of requirement of organic fertilizer. The authors have studied the selection of indigenous microorganisms that have high ability to decompose cellulose compounds to produce microbial products which help to shorten decomposing time and improve the quality of organic matters. Within the scope of this paper, the authors present some results: Five microorganisms strains which have been isolated and selected are: cellulose decomposing bacteria (VPX5, HNX2), nitrogen fixation bacteria (HLN5), phosphorus decomposing bacteria (HNL1) and antagonistic bacteria (VPK2) from the soil samples and the waste decomposed from Ha Nam, Vinh Phuc, Quang Nam, Thanh Hoa and indentified the optimal specifications for multiplying biomass of these micro strains; have chosen carriers for the production of microbial products including 95% of peat + 5% of molasses and constructed the production process of two the VNBAC microbial preparations (VNBAC1 and VNBAC2) to treat agricultural by-products, creating high-quality organic matters, ensuring the density of cells of each strains to reach 10^8 CFU/g, and the best time to use the products is within 6 months from the date of manufacture.

Keywords: cellulose decomposing bacteria, nitrogen fixation bacteria, phosphorus decomposing bacteria and antagonistic bacteria, microbial preparation.

Đặt vấn đề

Ở Việt Nam, lúa là cây trồng chính, sản lượng lúa hàng năm ước tính khoảng 34-35 triệu tấn. Trung bình đi kèm một tấn lúa có 1,2 tấn rơm rạ khô, như vậy với sản lượng lúa hiện nay, riêng lượng rơm rạ có thể thu gom được khoảng 40-42 triệu tấn [1]. PPP rơm rạ chứa một lượng dinh dưỡng khá lớn (kali, silic, kẽm) rất quan trọng cho cây trồng, nếu được tái sử dụng sẽ là rất có ích. Xử lý PPP nông nghiệp bằng biện pháp sinh học, sử dụng công nghệ vi sinh có điều khiển là biện pháp đã và đang được quan tâm đặc biệt. Tuy nhiên, các chế phẩm xử lý rơm rạ hiện nay còn hạn chế, thời gian phân giải dài, ít chủng

vi sinh trong chế phẩm, chất lượng mùn tạo ra chưa đáp ứng yêu cầu. Trên cơ sở nghiên cứu hợp tác với Hungary về sản xuất và ứng dụng chế phẩm vi sinh xử lý PPP nông nghiệp, các tác giả đã nghiên cứu tuyển chọn các chủng VSV bản địa có khả năng phân giải xenlulo (VPX5, HNX2); cố định nitơ (HLN5); phân giải lân (HNL1) và đối kháng VSV gây bệnh (VPK2) từ các mẫu đất, PPP hoa cải mục nhằm sản xuất chế phẩm VSV phù hợp với điều kiện Việt Nam để xử lý rơm rạ, rút ngắn thời gian phân hủy và nâng cao chất lượng của mùn hữu cơ tạo ra. Tuy nhiên, trong bài báo này chỉ đề cập quy trình sản xuất chế phẩm, còn quy trình và hiệu quả sử dụng chế phẩm xin được đăng tải trong một bài báo khác.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Các mẫu đất, PPP hoa cải mục thu từ các tỉnh Hà Nam, Vĩnh Phúc, Quảng Nam và Thanh Hóa. Các hóa chất thông dụng trong nghiên cứu VSV, môi trường Gauzel, Hans, Piakovskia, SPA và KingB.

Phương pháp nghiên cứu

Thu 200 g/mẫu các mẫu đất, PPP hoa cải mục, đựng trong túi nilon kín, ghi ngày, tháng, năm và địa điểm thu mẫu. Phân lập các chủng VSV có khả năng phân hủy xenlulo, cố định nitơ, phân giải lân, đối kháng VSV gây bệnh cây trồng:

+ **Bước 1:** cân 10 g mẫu (gốc rạ và đất) cho vào bình tam giác chứa 90 ml nước muối sinh lý đã được khử trùng.

+ **Bước 2:** lắc trên máy lắc trong thời gian 30 phút, sau đó để lắng.

+ **Bước 3:** hút 1 ml dịch phía trên đưa vào ống eppendorf, pha loãng đến nồng độ 10^{-6} .

+ **Bước 4:** lấy 0,1 ml dịch ở các nồng độ từ 10^{-4} đến 10^{-6} nhỏ và dàn đều trên đĩa petri chứa môi trường Gauzel và Hans - để phân lập VSV phân hủy xenlulo; Asby - để phân lập VSV cố định nitơ; Piakovskia - để phân lập VSV phân giải lân; King B - đối kháng vi sinh vật gây bệnh [2, 3, 4]. Để các đĩa petri trong tủ ấm ở nhiệt độ 37°C trong 24-48 giờ sao cho có thể thấy rõ các khuẩn lạc riêng biệt.

+ **Bước 5:** các khuẩn lạc có hình dạng, màu sắc khác nhau được tách riêng, làm thuần và giữ trong ống nghiệm để sử dụng cho các thí nghiệm sau. Xác định hoạt tính vi khuẩn và xạ khuẩn phân giải xenlulo theo TCVN 6168-2002; cố định nitơ - TCVN

6166-2002; phân giải lân - TCVN 6167-1996; đối kháng VSV gây bệnh - 10TCN 714-2006 và 10TCN 867-2006 [5]. Kiểm tra mật độ VSV theo phương pháp Koch (mật độ tế bào VSV được xác định bằng cách tính số lượng VSV trên mililit mẫu thông qua số khuẩn lạc phát triển trên các đĩa môi trường). Xác định điều kiện sinh trưởng, phát triển của VSV theo các phương pháp nghiên cứu VSV thông dụng.

Kết quả nghiên cứu

Phân lập và tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân giải xenlulo, cố định nitơ, phân giải lân, đối kháng VSV gây bệnh cây trồng

Từ các mẫu đất, PPP hoa cải mục (bảng 1) đã phân lập và tuyển chọn được 12 chủng VSV có khả năng phân giải xenlulo, cố định nitơ, phân giải lân, đối kháng VSV gây bệnh ở mức độ cao.

Bảng 1: các chủng VSV được phân lập, tuyển chọn được từ mẫu đất và PPP

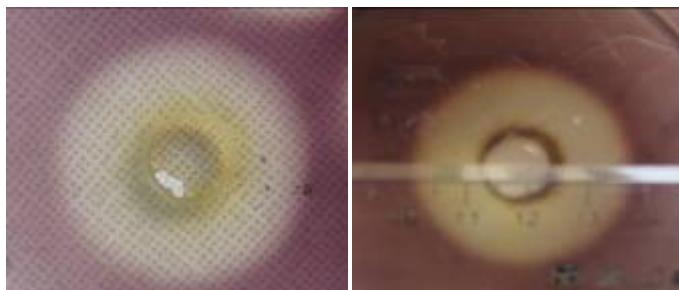
Stt	Chủng VSV	Nguồn phân lập	Đơn vị hoạt tính	Mức hoạt tính
1	VPX5	Mẫu đất Vĩnh Phúc	Phân giải xenlulo (D-d, mm)	30
2	HNX2	Mẫu phụ phẩm Vĩnh Phúc		29
3	NLX2	Mẫu đất Thanh Hóa		28
4	HNN4	Mẫu phụ phẩm Thanh Hóa	Cố định nitơ (nmol $\text{C}_2\text{H}_4/\text{ml/h}$)	910
5	QNN3	Mẫu đất Hà Nam		790
6	HLN5	Mẫu phụ phẩm Hà Nam		1.009
7	HNL1	Mẫu đất Hà Nam	Phân giải lân (D-d, mm)	15
8	QNL3	Mẫu đất Quảng Nam		15
9	NLL6	Mẫu phụ phẩm Quảng Nam		14
10	VPK2	Mẫu đất Quảng Nam	Đối kháng nấm <i>F.oxysporum</i> (D-d, mm)	14
11	QNK3	Mẫu đất Vĩnh Phúc		13
12	NLK4	Mẫu đất Thanh Hóa		13

Tuy nhiên, để chọn lọc cho sản xuất, các tác giả chỉ chọn 5 chủng đại diện cho các nhóm hoạt tính (phân giải xenlulo, cố định nitơ, phân giải lân, đối kháng VSV gây bệnh), đó là: VPX5, HNX2, HLN5, HNL1 và VPK2. Đây là các chủng có tiềm năng sử dụng làm nguồn nguyên liệu sản xuất chế phẩm VSV. Theo đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các chủng VSV lựa chọn được tổng hợp trong bảng 2 cho thấy: chủng VPX5 là xạ khuẩn; HNX2, HLN5, HNL1 và VPK2 là vi khuẩn.

Bảng 2: đặc điểm khuẩn lạc của các chủng VSV phân lập

Stt	Chủng VSV	Hoạt tính sinh học	Đặc điểm khuẩn lạc trên các môi trường thạch đĩa
1	VPX5	Phân giải xenlulo	Khuẩn lạc tròn, nhẵn trắng đục, viền ngoài trắng trong hơn, khuẩn ty cơ chất
2	HNX2	Phân giải xenlulo	Khuẩn lạc tròn, đục, màu vàng, bề mặt khuẩn lạc nhẵn
3	HLN5	Cố định nitơ	Lồi, hơi nhầy, trắng sữa
4	HNL1	Phân giải lân	Đục, mép răng cưa, nâu, có nhân
5	VPK2	Đối kháng nấm <i>F.oxysporum</i>	Tròn nhỏ, lồi màu vàng, nhầy

Ghi chú: môi trường thạch đĩa nuôi cấy VSV: Gauze - xạ khuẩn phân giải xenlulo; Hans - vi khuẩn phân giải xenlulo; AT - vi khuẩn cố định nitơ tự do; Pikovskia - VSV phân giải lân; SPA - vi khuẩn đối kháng nấm gây bệnh cây trồng nhóm *Pseudomonas*



Hình 1: khả năng phân giải xenlulo của chủng vi khuẩn HNX2 và xạ khuẩn VPX5

Các chủng VSV lựa chọn VPX5, HNX2, HLN5, HNL1 và VPK2 được kiểm tra khả năng gây bệnh cho thực vật. Kết quả cho thấy, không có chủng nào trong số 5 chủng này có khả năng gây bệnh và tiếp tục định danh các chủng VSV này bằng phương pháp sequence, kết quả ở bảng 3.

Stt	Ký hiệu chủng	Loài VSV gần nhất	Query Coverage* (%)	Max Ident** (%)	Nhóm rủi ro***
1	VPX5	<i>Streptomyces lilaceus</i>	100	99	1
2	HNX2	<i>Bacillus subtilis</i>	100	99	1
3	HLN5	<i>Azotobacter chroococcum</i>	100	99	1
4	HNL1	<i>Bacillus polymyxa</i>	100	99	1
5	VPK2	<i>Pseudomonas putida</i>	100	99	1

Ghi chú: Max Ident: phần trăm trình tự được dùng để so sánh với cơ sở dữ liệu; Query coverage: phần trăm trình tự tương đồng với cơ sở dữ liệu cao nhất; nhóm rủi ro: theo Scientefic Institute of Public Health, Division of Biosafety and Biotechnology, Belgium

Từ kết quả định danh trên, đã xác định các chủng VSV lựa chọn thuộc nhóm an toàn đối với vật nuôi, cây trồng và con người khi sử dụng (theo *Scientefic Institute of Public Health, Division of Biosafety and Biotechnology, Belgium*). Điều này là phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đó về đánh giá khả năng gây bệnh thực vật. Như vậy, các chủng VSV lựa chọn là an toàn sinh học.

Nghiên cứu khả năng tồn tại cùng nhau của các chủng VSV

Dùng phương pháp nuôi cấy vạch trên môi trường



Hình 2: hình ảnh khả năng tồn tại cùng nhau của các chủng VSV

thạch đĩa để đánh giá khả năng tồn tại cùng nhau của các chủng VSV xạ khuẩn VPX5, vi khuẩn HNX2, HLN5, HNL1 và VPK2 trong chất mang dạng lỏng và bột. Kết quả, đã xác định được các chủng VSV này sinh trưởng và phát triển tốt cùng nhau trong một điều kiện môi trường dinh dưỡng, không cạnh tranh và ức chế lẫn nhau.

Điều kiện nhân sinh khối các chủng VSV lựa chọn

Để sản xuất chế phẩm VSV, các chủng VSV đã được nghiên cứu các điều kiện tối ưu trong lên men nhân sinh khối, kết quả được trình bày tại bảng 4 cho thấy: các chủng VSV đều là loại hiếu khí (VPX5, HNX2, HNL1 - gram dương), (HLN5 và VPK2 - gram âm), pH thích hợp nhất trong khoảng 6,5-7, nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng là 25-30°C đối với hầu hết các chủng VSV, riêng chủng VPX5 là 35-37°C, tất cả các chủng VSV đều có khả năng tồn tại trong môi trường có nồng độ muối là 0,05-0,6%. Tốc độ cánh khuấy 350 vòng/phút, lưu lượng cấp khí là 0,75 lít không khí/lít môi trường/phút, thời gian nhân sinh khối của ba chủng VPX5, HNX2 và HLN5 là 30-48 giờ, của chủng HNL1 và VPK2 là 48-72 giờ.

Bảng 4: thông số kỹ thuật cơ bản của xạ khuẩn VPX5, vi khuẩn HNX2, HLN5, HNL1 và VPK2

STT	Thông số kỹ thuật	Chủng VSV				
		VPX5	HNX2	HLN5	HNL1	VPK2
1	pH tối ưu	6,5-7,0	6,5-7,0	6,5-7,5	6,5-7,0	6,5-7,0
2	Nhiệt độ lên men tối ưu (°C)	35-37	25-30	25-30	25-30	25-30
3	Môi trường lên men	Gauzel, SX1	Hans, SX1	Asby, SX1	Pikowskia, SX1	SPA, SX1
4	Tốc độ cánh khuấy (vòng/phút)	350	350	350	350	350
5	Lưu lượng cấp khí (lít không khí/lít môi trường/phút)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
6	Thời gian nhân sinh khối (giờ)	30-48	30-48	30-48	48-72	48-72
7	Nồng độ NaCl (%)	0,05-0,6	0,05-0,60	0,05-0,6	0,05-0,60	0,05-0,60
8	Nhu cầu oxy	+	+	+	+	+
9	Gram	+	+	-	+	-

Nghiên cứu lựa chọn chất mang và xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm VNBAC

Nghiên cứu lựa chọn chất mang: loại chất mang thường được sử dụng nhiều nhất để sản xuất chế phẩm vi sinh là than bùn. Ngoài ra, còn có thể sử dụng đất sét, than đá, lignin, đất khoáng, bã mía, lõi ngô nghiền, vỏ trấu, bột cám gạo... Tuy nhiên, than bùn, bột cám gạo, bột ngô, vỏ trấu và chất phụ gia là rỉ đường đã được lựa chọn để nghiên cứu tạo chất mang. Đồng thời đã tiến hành đánh giá khả năng tồn tại và hoạt tính phân giải xenlulo của các chủng VSV tuyển chọn trên nền chất mang khác nhau để lựa chọn loại chất mang phù hợp nhất cho sản xuất chế phẩm VSV.

Các chủng VSV lựa chọn được nhân sinh khối riêng rẽ, sau đó phối trộn các chủng này theo tỷ lệ 1:1:1:1:1

và thu được dịch hỗn hợp VSV. Dịch hỗn hợp VSV này tiếp tục được nhiễm vào chất mang theo tỷ lệ 1:4.

Chất mang cho sản xuất chế phẩm được xử lý thô (loại bỏ tạp chất, nghiền nhỏ) sau đó được sấy hoặc phơi khô để đạt độ ẩm 15-20%, đóng gói 500 g/gói, hàn kín rồi khử trùng. Thí nghiệm trên 4 công thức: CT1 (trấu: cám gạo: bột ngô = 1:1:1), CT2 (100% cám gạo), CT3 (95% than bùn + 5% rỉ đường) và CT4 (100% than bùn).

Quá trình nhiễm VSV vào chất mang được tiến hành trong điều kiện vô trùng. Sau khi nhiễm VSV vào thì các gói chế phẩm được dán kín và bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng (chú ý tránh nơi ẩm ướt và ánh sáng mặt trời trực tiếp). Sau mỗi khoảng thời gian là 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng và 6 tháng thì tiến hành đo để xác định mật độ tế bào VSV tổng số, hoạt tính sinh học của chúng và VSV tạp nhiễm. Kết quả kiểm tra được thể hiện trong các bảng 5 và 6.

Số liệu ở bảng 5 cho thấy, sau thời gian 1 tháng bảo quản ở nhiệt độ phòng thì mật độ tế bào VSV ở các công thức đều bị giảm. Tuy nhiên, sau thời gian 2 tháng mật độ tế bào VSV tăng lên và gần như không thay đổi sau 3 tháng bảo quản (trừ CT4). Điều này có thể được giải thích là sau khi nhiễm dịch VSV vào chất mang thì VSV cũng phải mất một thời gian để làm quen với môi trường, điều đó làm cho một số VSV bị chết, dẫn đến mật độ tế bào VSV tổng số bị giảm.

Bảng 5: mật độ tế bào VSV tổng số sau 6 tháng bảo quản

Thời gian bảo quản	Mật độ tế bào VSV tổng số (x 10 ⁹ CFU/g)			
	CT1	CT2	CT3	CT4
0 tháng	12	13	15	14
1 tháng	9	10	12	7
2 tháng	28	32	36	15
3 tháng	30	30	40	7
6 tháng	28	29	40	6

Sau khi đã quen với môi trường, VSV bước vào giai đoạn sinh trưởng và tăng sinh khối tế bào. Sau thời gian 3 tháng, mật độ tế bào không có sự thay đổi so với 2 tháng, có nghĩa là quần thể VSV đã ở pha cân bằng và đạt giá trị ổn định. Mật độ tế bào VSV ở các CT1, CT2 và CT3 là đồng đều với nhau và sau 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ phòng mật độ tế bào VSV tổng số vẫn đạt 10⁹ CFU/g. Tuy nhiên, sau 6 tháng bảo quản thì mật độ tế bào VSV có sự thay đổi rõ rệt giữa các công thức, cụ thể ở CT1, CT2, CT4 mật độ tế bào VSV có xu hướng giảm, trong khi đó ở CT3 mật độ tế bào VSV vẫn ổn định ở mức 4,0 x 10⁹ CFU/g. Do vậy, có thể lựa chọn CT3 (95% than bùn + 5% rỉ đường) làm chất mang cho sản xuất chế phẩm vi sinh.

Bảng 6: hoạt tính phân giải xenlulo của các chủng VSV sau 6 tháng bảo quản

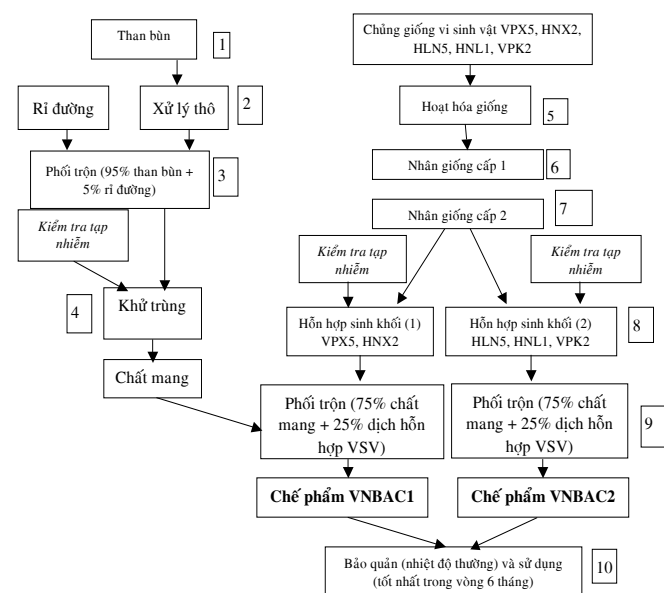
Thời gian bảo quản	Đường kính vòng phân giải xenlulo (D-d, mm)			
	CT1	CT2	CT3	CT4
0 tháng	30	30	30	30
1 tháng	29	29	31	28
2 tháng	29	29	32	25
3 tháng	29	30	33	23
6 tháng	28	29	33	22

Số liệu ở bảng 6 cho thấy, hoạt tính phân giải xenlulo của bộ chủng VSV lựa chọn ở CT4 bị giảm dần sau thời gian 3 tháng; ở CT1 và CT2 khả năng phân giải xenlulo bị giảm nhưng không đáng kể. Trong khi đó, khả năng phân giải xenlulo ở CT3 tăng dần theo thời gian bảo quản và ổn định ở tháng thứ 3. Kết quả này có thể giải thích là do ở CT3 nguồn cơ chất lựa chọn là phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của các chủng VSV, đồng thời mật độ tế bào VSV tổng số là cao nên khả năng phân giải xenlulo là mạnh nhất. Từ những kết quả trên, loại chất mang gồm 95% than bùn + 5% rỉ đường đã được lựa chọn để tiến hành những nghiên cứu tiếp theo.

Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm VNBAC: trên cơ sở tổng hợp các kết quả nghiên cứu về công nghệ sản xuất chế phẩm (tuyển chọn bộ chủng giống VSV sử dụng, lựa chọn môi trường nhân sinh khối VSV, các điều kiện lên men nhân sinh khối, xử lý và lựa chọn chất mang), quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm VSV trên nền chất mang than bùn quy mô phòng thí nghiệm được hoàn thiện và tóm tắt trong sơ đồ sau:

1. Than bùn: dạng bột dùng để sản xuất chế phẩm vi sinh.

Sơ đồ quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm VNBAC



2. Xử lý thô: than bùn được phơi khô, nghiền nhỏ loại bỏ tạp chất và rây qua rây với kích thước 0,25 mm. Hạt than bùn càng mịn càng tốt, trung hoà bằng dung dịch kiềm (KOH) hoặc bột CaCO_3 đảm bảo có pH trung tính (6,5-7).

3. Phối trộn: than bùn sau khi xử lý thô được phối trộn với rỉ đường theo tỷ lệ (95% + 5%) tạo thành chất mang.

4. Khử trùng: chất mang được khử trùng trong điều kiện 121°C với thời gian 60 phút, để nguội tới nhiệt độ phòng, nhiễm sinh khối VSV, đóng túi và dán kín.

5. Hoạt hóa giống: các chủng giống VSV trước khi sử dụng phải được hoạt hóa, kiểm tra độ thuần chủng cũng như hoạt tính sinh học.

6. Nhân giống cấp 1: các chủng VSV được nuôi cấy riêng rẽ. Lượng giống cần thiết chiếm khoảng 5% tổng lượng dịch môi trường sử dụng nhân giống cấp 2. Giống thứ cấp được cấy truyền từ giống gốc trước 48 giờ và sau đó cấy giống trực tiếp từ ống giống thứ cấp vào bình tam giác chứa dịch môi trường đặc hiệu cho từng chủng.

7. Nhân giống cấp 2: môi trường nhân giống cấp 2 được pha chế theo thành phần môi trường nuôi cấy, cách làm tương tự như chuẩn bị môi trường nhân giống cấp 1. Lượng dịch sau nhân giống cấp 2 bằng 1/5 khối lượng chế phẩm cần sản xuất. Lượng dịch cấp 1 cần thiết cho quá trình nhân giống cấp 2 là 5% so với lượng môi trường nhân giống cấp 2.

8. Sinh khối VSV: sản phẩm sau quá trình nhân giống cấp 2 có mật độ tế bào đảm bảo đạt 10^8 - 10^9 CFU/ml/chủng và được tách thành 2 loại hỗn hợp dịch (phối trộn sinh khối VPX5, HNX2 với tỷ lệ 1:1 tạo thành hỗn hợp 1 và sinh khối HLN5, HNL1, VPK2 phối trộn với nhau theo tỷ lệ 1:1:1 tạo thành hỗn hợp 2).

9. Phối trộn: hỗn hợp 1 phối trộn với chất mang theo tỷ lệ 1:4 tạo thành chế phẩm VNBAC1 và hỗn hợp 2 phối trộn với chất mang theo tỷ lệ 1:4 tạo thành chế phẩm VNBAC2 bằng cách sinh khối hỗn hợp được bơm trực tiếp vào các túi chất mang.

10. Bảo quản và sử dụng: chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ thường trong điều kiện râm mát, sạch sẽ, không để gần nơi chứa chất độc hóa học, thuốc trừ sâu. Thời gian sử dụng tốt nhất trong vòng 6 tháng sau ngày sản xuất. Tiêu chuẩn chế phẩm được trình bày ở bảng 7.

Kết luận

Đã phân lập và tuyển chọn được 5 chủng VSV

Bảng 7: yêu cầu chất lượng của chế phẩm VNBAC1 và VNBAC2

Stt	Chỉ tiêu chất lượng	Đơn vị đo	Mức chất lượng
1	Độ ẩm	%	27 - 28
2	pH	-	6,8 - 7,2
3	Mật độ tế bào mỗi chủng VSV	CFU/g	10^8
4	Thời gian bảo quản	Tháng	06

có khả năng: phân giải xenlulo (VPX5, HNX2); cố định nitơ (HLN5); phân giải lân (HNL1) và đối kháng VSV gây bệnh (VPK2) từ các mẫu đất, PPP hoại mục thu từ Hà Nam, Vĩnh Phúc, Quảng Nam, Thanh Hóa và nghiên cứu các thông số kỹ thuật tối ưu để nhân sinh khối các chủng VSV trên; lựa chọn được chất mang cho sản xuất chế phẩm VSV gồm 95% than bùn + 5% rỉ đường; xây dựng được quy trình sản xuất 2 chế phẩm VSV VNBAC (VNBAC1 và VNBAC2) xử lý phụ phẩm nông nghiệp, tạo chất hữu cơ chất lượng cao, đảm bảo mật độ tế bào mỗi chủng vi sinh vật đạt 10^8 CFU/g; thời gian sử dụng trong vòng 6 tháng kể từ ngày sản xuất ■

Tài liệu tham khảo

- [1] Nguyễn Xuân Thành, Lê Văn Hùng, Phạm Văn Toàn (2003). *Công nghệ VSV trong nông nghiệp và xử lý môi trường*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
- [2] Nguyễn Lân Dũng (1978). *Phương pháp nghiên cứu VSV học*, tập 1-2. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [3] C. Ratledge, B. Kristiansen (2006). *Basic Biotechnology*, 3th, p. 518-534.
- [4] J.F. Walter and A.S. Paa (1996). *Microbial inoculant production and formulation*. Soil microbial ecology: Applications in agriculture and environmental management edited by F. Blaine Metting, Marcel Dekker, Inc. p. 579-594.
- [5] TCVN 6168-2002: Chế phẩm VSV phân giải xenlulo; TCVN 6166-2002: Phân bón VSV cố định nitơ.; TCVN 6167-1996: Phân bón VSV phân giải hợp chất photpho khó tan; đối kháng VSV gây bệnh - 10TCN 714-2006: phương pháp đánh giá hoạt tính đối kháng vi khuẩn gây bệnh héo xanh cây trồng cạn *Ralstonia solanacearum* smith và 10TCN 867-2006: phương pháp đánh giá hoạt tính đối kháng nấm gây bệnh vùng rễ cây trồng cạn.