

Effects of waterholding Biopolyter-*Azotobacter* and fertilizer on growth and development of strawberries in coco mulch substrate in Dalat

Nguyen Thuy Quy Tu, Nguyen Thuy Huong, Pham S

Abstract

The study aimed to investigate the effect of water amount and N dose on growth and development of strawberries grown in pots by using water holding BioPolyter-*Azotobacter* product mixed with coco mulch substrates by ratio of 500g/1m³ substrates. The different amounts of water used for experiment were 300 ml/day/pot, 210 ml/day/pot, 150 ml/day/pot; and the N doses were 80 mg/l N, 64mg/l N, 32mg/l N. The result showed that strawberry plant grew and developed the best and had the highest yield in comparison with other treatments (3.53 fruits/plant comparing with 1.87 fruits/plant of the control one) in water holding BioPolyter - *Azotobacter* product mixed with coco mulch substrates with the water amount of 150 ml/day/pot and N dose of 32mg/l N.

Key words: BioPolyter-*Azotobacter*, strawberries, substrate, Polyter

Ngày nhận bài: 3/6/2016

Ngày phản biện: 17/6/2016

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Huy Hoàng

Ngày duyệt đăng: 24/6/2016

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN LÊN MEN CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI SINH VẬT PHÂN LẬP TỪ ĐẤT TRỒNG CHÈ SHAN YÊN BÁI

Trần Thị Huế¹, Lê Như Kiều¹, Tống Kim Thuận²

TÓM TẮT

Với mục đích sản xuất chế phẩm vi sinh hữu ích sử dụng cho cây chè Shan Yên Bái, đã tiến hành khảo sát điều kiện lên men của 04 chủng vi sinh vật vùng rễ được phân lập từ đất trồng chè Shan Yên Bái (PAI - 1; PFe - 1; C5 và TS4). Kết quả nghiên cứu đã xác định được môi trường lên men thích hợp nhất cho cả 4 chủng là SX1, với các thông số kỹ thuật trong quá trình lên men là nhiệt độ 30°C đối với chủng PFe - 1, chủng PAI - 1 và chủng C5, nhiệt độ 35°C đối với chủng TS4; tốc độ khuấy là 350 vòng/phút; tỷ lệ cấp giống 5%; pH7 đối với 2 chủng PFe - 1 và PAI - 1, pH6,5 đối với 2 chủng C5 và TS4; thời gian lên men thích hợp nhất của chủng PFe - 1 là 72 giờ và 48 giờ với 3 chủng còn lại.

Từ khóa: Cây chè Shan, phân bón vi sinh, lên men, vi khuẩn vùng rễ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bên cạnh việc lựa chọn được bộ chủng giống vi sinh vật (VSV) có hoạt tính cao và ổn định thì việc lựa chọn các thông số kỹ thuật lên men đóng vai trò không nhỏ trong sản xuất chế phẩm vi sinh. Chế phẩm VSV nghiên cứu cần đảm bảo được mật độ tế bào theo qui định hiện hành, ngoài ra còn phải lựa chọn được các điều kiện lên men để đảm bảo giá thành rẻ, dễ kiểm và tiện dụng trong sản xuất.

Các nghiên cứu trong và ngoài nước cho thấy, quá trình nhân sinh khối VSV bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố môi trường như: Môi trường dinh dưỡng nuôi cấy, pH, nhiệt độ, nồng độ oxy..., những yếu tố trên phụ thuộc vào từng loài vi sinh vật (Vincent and Priestly, 1975). Do đó, cần phải có những đánh giá nhằm lựa chọn các điều kiện lên men thích hợp

cho từng chủng, với mục đích làm tăng mật độ tế bào vi sinh vật, đồng thời tiết kiệm chi phí sản xuất và công lao động.

Do vậy, để có cơ sở khoa học cho quá trình sản xuất chế phẩm VSV hữu ích, sử dụng cho cây chè Shan Suối Giàng, Yên Bái để tài nghiên cứu một số điều kiện lên men thích hợp cho 4 chủng vi khuẩn được tuyển chọn từ vùng rễ cây chè Shan Suối Giàng, Yên Bái.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Dụng cụ, thiết bị dùng trong nuôi cấy, nhân sinh khối các chủng VSV tại Viện Thổ nhưỡng Nông hóa.

¹ Viện Thổ nhưỡng Nông hóa

² Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

- Các chủng vi sinh vật nghiên cứu:

Tên chủng	Hoạt tính
<i>Enterobacter ludwigii</i> PFe-1	Phân giải phốt phát sắt
<i>Bacillus subtilis</i> PAI-1	Phân giải phốt phát nhôm
<i>Bacillus megaterium</i> C5	Cố định nitơ
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> TS4	Kích thích sinh trưởng thực vật

- Môi trường dùng trong nghiên cứu:

+ Môi trường Pikovskaya (*Pikovskaya, 1948*)(g/l): Glucose 10; $Ca_3(PO_4)_2$: 5; $(NH_4)_2SO_4$: 0,5; NaCl: 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,1; KCl: 0,2; Cao nấm men: 0,5; $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0,002; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,002; Thạch: 20 g và pH: 7.

+ Môi trường dùng để nuôi cấy VSV phân giải phốt phát sắt và phốt phát nhôm là môi trường Pikovskaya, thay $Ca_3(PO_4)_2$ bằng $FePO_4$ hoặc $AlPO_4$ (5 g/l).

+ Môi trường Burk (g/l): Glucose: 10; $Ca_3(PO_4)_2$: 5; $(NH_4)_2SO_4$: 0,5; NaCl: 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,1; KCl: 0,2; Cao nấm men: 0,5; $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0,002; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,002; Thạch: 20.

+ Môi trường King B: Cao nấm men 5g; pepton 20g; glycerin 5 ml; K_2HPO_4 (12.5%) 12 ml; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (6.25%) 25 ml; nước cất 1000 ml.

+ Môi trường SX1: Rỉ đường: 10 ml; Bột nấm men: 5,0 g; H_2O : 1000 ml.

+ Môi trường SX2: Rỉ đường: 10 ml; cám gạo: 10g; H_2O : 1000 ml

2. 2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lựa chọn môi trường nhân sinh khối thích hợp cho các chủng VSV

Các chủng VSV được nuôi cấy trong môi trường có thành phần dinh dưỡng khác nhau (nguồn dinh

dưỡng tổng hợp và nguồn dinh dưỡng tự nhiên), sau 3 ngày tiến hành xác định mật độ của từng chủng bằng cách cấy trải trên đĩa môi trường thạch tổng hợp đặc trưng cho hoạt tính từng chủng và xác định dựa vào lượng khuẩn lạc hình thành theo TCVN 6166 : 2002; TCVN 6167:1996; TCVN 2012.

2.2.2. Phương pháp xác định điều kiện lên men thích hợp cho các chủng VSV

Xác định ảnh hưởng của các yếu tố pH, nhiệt độ, tốc độ cánh khuấy, thời gian lên men, tỷ lệ tiếp giống cấp I trong quá trình lên men đến sự sinh trưởng của các chủng vi sinh vật dựa vào mật độ tế bào VSV qua các khoảng thời gian lên men nhất định trong môi trường nhân sinh khối. Mật độ tế bào của các chủng VSV được xác định gián tiếp thông qua phương pháp đếm khuẩn lạc phát triển trên môi trường thạch đặc trưng cho hoạt tính của từng chủng theo TCVN 6166 : 2002; TCVN 6167:1996; TCVN 2012.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Lựa chọn môi trường dinh dưỡng thích hợp cho nhân sinh khối các chủng vi sinh vật

Ở điều kiện nhân tạo, sinh khối VSV được sản xuất bằng các phương pháp lên men khác nhau, trong đó các yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng của sản phẩm lên men như môi trường nhân sinh khối, nồng độ ô xy, nhiệt độ lên men, tốc độ khuấy và pH... cần được đặc biệt chú ý. Môi trường nhân sinh khối cần đáp ứng đầy đủ nhu cầu dinh dưỡng cho vi sinh vật sinh trưởng phát triển tốt, đồng thời phải rẻ và dễ kiểm. Tiến hành nuôi cấy các chủng VSV nghiên cứu ở các môi trường có thành phần dinh dưỡng khác nhau (nguồn dinh dưỡng tổng hợp và nguồn dinh dưỡng tự nhiên để kiểm, rẻ tiền), sau 3 ngày tiến hành đánh giá khả năng phát triển của 4 chủng VSV (Bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của các môi trường khác nhau đến sự phát triển của các chủng vi sinh vật nghiên cứu

Môi trường nuôi cấy	Mật độ tế bào vi sinh vật (CFU/ml)			
	PFe - 1	PAI - 1	C5	TS4
Pikovskaya	$(5,7 \pm 0,62) \times 10^8$	$(4,2 \pm 0,59) \times 10^8$	-	-
Burk	-	-	$(5,2 \pm 0,58) \times 10^8$	-
King B	-	-	-	$(2,7 \pm 0,50) \times 10^8$
SX1	$(3,3 \pm 0,37) \times 10^8$	$(2,7 \pm 0,37) \times 10^8$	$(3,2 \pm 0,50) \times 10^8$	$(1,2 \pm 0,05) \times 10^8$
SX2	$(3,3 \pm 0,56) \times 10^6$	$(1,4 \pm 0,04) \times 10^8$	$(1,2 \pm 0,05) \times 10^8$	$(1,0 \pm 0,10) \times 10^7$

Ghi chú: (-) Không đánh giá

Kết quả ở bảng 1 cho thấy: Ở các môi trường dinh dưỡng tổng hợp đặc trưng với hoạt tính của từng chủng (Pikovskaya; Burk và King B), các chủng vi khuẩn được đánh giá đều phát triển tốt, đạt mật độ tế bào $\geq 10^8$ CFU/ml sau 72 giờ lên men.

Trong môi trường có các thành phần tự nhiên (SX1; SX2) cả 4 chủng vi khuẩn nghiên cứu đều phát triển khá tốt, tốt nhất ở môi trường SX1, mật độ tế bào vi sinh vật mỗi chủng đều đạt $\geq 10^8$ CFU/ml. So sánh với môi trường tổng hợp cho thấy, mật độ tế bào của các chủng thấp hơn nhưng vẫn duy trì được ở mức 10^8 CFU/ml. Với mục tiêu chọn môi trường cho các chủng vi sinh vật phát triển tốt đồng thời giá thành sản xuất rẻ, môi trường SX1 được lựa chọn cho nhân sinh khối 4 chủng vi khuẩn nghiên cứu.

3.2. Điều kiện lên men thích hợp cho các chủng vi sinh vật trong môi trường SX1

3.2.1. Xác định pH môi trường

pH là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của VSV. Trong quá trình sinh trưởng của VSV, pH có thể làm thay đổi màng tế bào, dẫn đến thay đổi tính thấm và điện tích màng. Trong cùng thời gian, pH có thể còn là nguyên nhân gây thay đổi mức độ ion hóa của các chất ion khác nhau đối với sự sinh trưởng của VSV, ảnh hưởng đến sự hút các chất dinh dưỡng, sự sinh trưởng và phát triển của VSV. Mặt khác, hoạt tính của nhiều enzyme bị ảnh hưởng bởi pH nội bào. Do đó, pH cho vi khuẩn sinh trưởng đóng vai trò vô cùng quan trọng. Để lựa chọn được mức pH thích hợp cho nhân sinh khối VSV, thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các ngưỡng pH khác nhau đến khả năng phát triển của chúng ở môi trường SX1 được tiến hành (Bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của pH môi trường khác nhau cấy đến sự phát triển của các chủng vi sinh vật nghiên cứu

pH môi trường	Mật độ tế bào (CFU/ml)			
	PFe - 1	Pal - 1	C5	TS4
4,5	$(8,6 \pm 0,57) \times 10^6$	$(2,2 \pm 0,11) \times 10^6$	$(9,8 \pm 0,65) \times 10^6$	$(6,4 \pm 0,59) \times 10^6$
5,0	$(4,2 \pm 0,71) \times 10^7$	$(3,7 \pm 0,51) \times 10^7$	$(2,4 \pm 0,37) \times 10^7$	$(3,7 \pm 0,71) \times 10^7$
5,5	$(6,7 \pm 0,70) \times 10^7$	$(5,1 \pm 0,54) \times 10^7$	$(8,6 \pm 0,53) \times 10^7$	$(5,7 \pm 0,62) \times 10^7$
6,0	$(2,6 \pm 0,33) \times 10^8$	$(1,3 \pm 0,06) \times 10^8$	$(8,7 \pm 0,69) \times 10^7$	$(7,3 \pm 0,66) \times 10^7$
6,5	$(3,0 \pm 0,51) \times 10^8$	$(2,0 \pm 0,07) \times 10^8$	$(4,7 \pm 0,54) \times 10^8$	$(3,3 \pm 0,54) \times 10^8$
7,0	$(3,3 \pm 0,49) \times 10^8$	$(2,7 \pm 0,37) \times 10^8$	$(3,2 \pm 0,54) \times 10^8$	$(1,2 \pm 0,08) \times 10^8$
7,5	$(3,3 \pm 0,54) \times 10^7$	$(2,7 \pm 0,54) \times 10^7$	$(3,7 \pm 0,53) \times 10^7$	$(3,2 \pm 0,61) \times 10^7$
8,0	$(1,5 \pm 0,07) \times 10^5$	$(1,3 \pm 0,06) \times 10^5$	$(1,7 \pm 0,06) \times 10^5$	$(1,2 \pm 0,05) \times 10^5$

Nhìn chung ở dải pH từ 4,5 - 8,0 cả 4 chủng vi khuẩn (PFe - 1; PAL - 1; C5 và TS4) đều phát triển ở mức trung bình đến tốt, mật độ tế bào VSV đạt từ 10^5 - 10^8 CFU/ml.

Mỗi chủng vi khuẩn khác nhau thích hợp với các ngưỡng giá trị pH khác nhau. Hai chủng vi khuẩn PFe - 1 và PAL - 1 đều phát triển tốt ở pH từ 6,0 - 7,0, mật độ tế bào mỗi chủng đạt $\geq 10^8$ CFU/ml. Chủng vi khuẩn C5 và TS4 có biên độ thích hợp hẹp hơn, chúng phát triển tốt ở pH 6,5 - 7,0. Kết quả nghiên cứu trên phù hợp với nghiên cứu của Ghafoor và Hasnain (2009) cho rằng, pH tối ưu cho loài vi khuẩn *Bacillus subtilis* là 7,0 - 7,2.

Như vậy, pH 7,0 được lựa chọn cho lên men chủng vi khuẩn PFe - 1, PAL - 1 và pH 6,5 lựa chọn cho chủng C5 và TS4.

3.2.2. Xác định nhiệt độ thích hợp cho nhân sinh khối các chủng vi sinh vật

Để lựa chọn được nhiệt độ thích hợp nhất cho nhân sinh khối 4 chủng vi khuẩn nghiên cứu, chúng tôi tiến hành thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các mốc nhiệt độ môi trường khác nhau: 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C đến khả năng phát triển VSV. Các chủng VSV được nuôi trong môi trường SX1, pH7 đối với chủng PFe - 1, PAL - 1, pH6,5 đối với chủng C5 và TS4 (Bảng 3).

Kết quả bảng 3 cho thấy, cả 4 chủng vi khuẩn nghiên cứu đều phát triển ở dải nhiệt độ từ 20 - 40°C, mật độ tế bào VSV đạt 10^6 - 10^8 CFU/ml. Tuy nhiên, mức độ phát triển của 4 chủng là khác nhau ở các mốc nhiệt độ khác nhau.

Ba chủng PFe - 1, PAL - 1 và C5 phát triển tốt nhất ở nhiệt độ 30°C, mật độ tế bào mỗi chủng đều

đạt $\geq 10^8$ CFU/ml. Chủng TS4 được xem là chủng ưa nhiệt độ cao, phát triển tốt ở nhiệt độ 30 - 35°C, đạt mật độ cao nhất ở 35°C ($3,2 \times 10^8$ CFU/ml). Khi nghiên cứu về nhiệt độ tối ưu cho sự sinh trưởng của loài vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens*, nhóm tác

giả Trịnh Thành Trung và cs (2013) cũng nhận định, 35°C - 45°C được xem là nhiệt độ tối ưu cho loài này.

Vậy, nhiệt độ thích hợp để nhân sinh khối VSV của chủng PFe - 1, PAI - 1 và C5 là 30°C, đối với chủng TS4 là 35°C.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các mức nhiệt độ khác nhau đến sự phát triển của các chủng vi sinh vật nghiên cứu

Nhiệt độ môi trường (°C)	Mật độ tế bào (CFU/ml)			
	PFe - 1	PAI - 1	C5	TS4
20	$(5,7 \pm 0,62) \times 10^6$	$(4,0 \pm 0,58) \times 10^6$	$(1,2 \pm 0,08) \times 10^7$	$(5,8 \pm 0,76) \times 10^6$
25	$(4,8 \pm 0,7) \times 10^7$	$(1,2 \pm 0,08) \times 10^7$	$(3,5 \pm 0,69) \times 10^8$	$(4,3 \pm 0,56) \times 10^7$
30	$(3,3 \pm 0,58) \times 10^8$	$(2,7 \pm 0,59) \times 10^8$	$(3,2 \pm 0,48) \times 10^8$	$(1,2 \pm 0,07) \times 10^8$
35	$(2,0 \pm 0,05) \times 10^8$	$(1,4 \pm 0,07) \times 10^8$	$(1,4 \pm 0,06) \times 10^7$	$(3,2 \pm 0,58) \times 10^8$
40	$(5,6 \pm 0,63) \times 10^6$	$(1,2 \pm 0,06) \times 10^7$	$(2,2 \pm 0,08) \times 10^6$	$(1,2 \pm 0,05) \times 10^7$

3.2.3. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy đến sự phát triển của vi sinh vật

Trong quá trình lên men nhân sinh khối, tốc độ khuấy ảnh hưởng đến khả năng hòa tan oxy và trộn

đều cơ chất dinh dưỡng trong môi trường, giúp tăng khả năng tiếp xúc giữa tế bào và môi trường dinh dưỡng đồng thời ngăn cản sự kết lắng của tế bào. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của tốc độ khuấy đến sinh trưởng của các chủng VSV (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy đến sự phát triển của các chủng vi sinh vật nghiên cứu

Tốc độ cánh khuấy (vòng/phút)	Mật độ tế bào (CFU/ml)			
	PFe - 1	PAI - 1	C5	TS4
250	$(6,3 \pm 0,45) \times 10^7$	$(2,7 \pm 0,60) \times 10^7$	$(3,3 \pm 0,53) \times 10^7$	$(4,3 \pm 0,54) \times 10^7$
300	$(2,3 \pm 0,34) \times 10^8$	$(1,6 \pm 0,07) \times 10^8$	$(1,5 \pm 0,08) \times 10^8$	$(1,2 \pm 0,06) \times 10^8$
350	$(4,4 \pm 0,48) \times 10^8$	$(4,1 \pm 0,54) \times 10^8$	$(4,7 \pm 0,50) \times 10^8$	$(6,3 \pm 0,46) \times 10^8$
400	$(6,7 \pm 0,71) \times 10^7$	$(5,3 \pm 0,58) \times 10^7$	$(8,1 \pm 0,33) \times 10^7$	$(7,6 \pm 0,63) \times 10^7$

Cả 4 chủng vi khuẩn nghiên cứu đều có khả năng phát triển tốt khi tốc độ khuấy từ 300 - 350 vòng/phút, mật độ tế bào vi sinh vật đều đạt $\geq 10^8$ CFU/ml, phát triển tốt nhất khi tốc độ khuấy là 350 vòng/phút (Bảng 4).

Khi tốc độ khuấy ≤ 250 vòng/phút hoặc ≥ 350 vòng/phút sự phát triển của 4 chủng vi khuẩn đều có xu hướng giảm rõ rệt, mật độ tế bào VSV giảm từ 10^8 CFU/ml xuống còn 10^7 CFU/ml. Điều này có thể là do, tốc độ cánh khuấy thấp làm giảm nồng độ ô xy cung cấp vào môi trường, giảm sự tiếp xúc giữa tế bào VSV với các chất dinh dưỡng trong môi trường, ảnh hưởng đến khả năng phát triển của các chủng VSV. Mặt khác, khi tốc độ cánh khuấy quá lớn (≥ 350 vòng/phút) làm hư hỏng cơ học các tế bào VSV và dẫn đến hiện tượng tự phân, do vậy làm giảm mật độ tế bào VSV.

3.2.4. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sự phát triển của vi sinh vật

Trong quá trình lên men nhân sinh khối, ngoài các yếu tố ảnh hưởng từ môi trường thì việc xác định thời gian thích hợp để thu sinh khối là yếu tố quan trọng nhằm thu được lượng sinh khối lớn nhất, đồng thời tiết kiệm thời gian, chi phí và công sức cho sản xuất. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy khác nhau đến sự phát triển của các chủng VSV nghiên cứu được tổng hợp tại bảng 5.

Kết quả tại bảng 5 cho thấy, cả 4 chủng vi khuẩn nghiên cứu phát triển tốt sau khoảng thời gian từ 48 - 72 giờ nhân sinh khối, mật độ tế bào VSV đạt $\geq 10^8$ CFU/ml. Chủng vi khuẩn PFe - 1 phát triển tốt nhất sau 72 giờ nhân sinh khối (mật độ tế bào VSV đạt $3,3 \times 10^8$ CFU/ml), 3 chủng còn lại mật độ VSV đạt cao nhất ở 48 giờ.

Như vậy, thời gian lựa chọn cho nhân sinh khối chủng PFe - 1 là 72 giờ và 3 chủng còn lại là 48 giờ.

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian nhân sinh khối khác nhau đến sự phát triển của các chủng vi sinh vật lựa chọn

Thời gian	Mật độ tế bào (CFU/ml)			
	PFe - 1	PAI - 1	C5	TS4
0 giờ	$(3,3 \pm 0,67) \times 10^4$	$(2,3 \pm 0,34) \times 10^4$	$(4,3 \pm 0,65) \times 10^4$	$(4,3 \pm 0,62) \times 10^4$
12 giờ	$(2,4 \pm 0,33) \times 10^5$	$(4,7 \pm 0,69) \times 10^4$	$(2,4 \pm 0,42) \times 10^5$	$(2,7 \pm 0,57) \times 10^5$
24 giờ	$(5,4 \pm 0,54) \times 10^6$	$(2,8 \pm 0,46) \times 10^5$	$(6,4 \pm 0,87) \times 10^6$	$(6,4 \pm 0,83) \times 10^6$
36 giờ	$(1,5 \pm 0,06) \times 10^7$	$(3,0 \pm 0,54) \times 10^7$	$(4,5 \pm 0,69) \times 10^7$	$(3,0 \pm 0,67) \times 10^8$
48 giờ	$(3,7 \pm 0,63) \times 10^7$	$(5,4 \pm 0,61) \times 10^8$	$(5,7 \pm 0,61) \times 10^8$	$(6,4 \pm 0,70) \times 10^8$
56 giờ	$(2,6 \pm 0,53) \times 10^8$	$(4,1 \pm 0,62) \times 10^8$	$(3,8 \pm 0,79) \times 10^8$	$(4,7 \pm 0,63) \times 10^8$
72 giờ	$(3,3 \pm 0,62) \times 10^8$	$(2,7 \pm 0,49) \times 10^8$	$(3,2 \pm 0,66) \times 10^8$	$(1,2 \pm 0,08) \times 10^8$
84 giờ	$(2,7 \pm 0,57) \times 10^7$	$(5,0 \pm 0,57) \times 10^7$	$(1,1 \pm 0,07) \times 10^8$	$(3,7 \pm 0,77) \times 10^7$
96 giờ	$(1,3 \pm 0,07) \times 10^7$	$(1,1 \pm 0,08) \times 10^7$	$(5,7 \pm 0,70) \times 10^7$	$(1,3 \pm 0,06) \times 10^7$
108 giờ	-	-	$(3,7 \pm 0,63) \times 10^7$	-

Ghi chú: (-) không đánh giá

3.2.5. Ảnh hưởng của tỉ lệ giống cấp I đến sự phát triển của vi sinh vật

Tỷ lệ giống cấp I có tác động tới mật độ tế bào VSV của sản phẩm sau nhân sinh khối, do đó ảnh hưởng trực tiếp tới chất lượng và giá thành chế phẩm. Vì vậy, việc nghiên cứu nhằm xác định lượng giống cấp I thích hợp cho quá trình nhân sinh khối là cần thiết để tạo ra chế phẩm VSV đạt tiêu chuẩn chất lượng, đồng thời tiết kiệm chi phí sản xuất. Tiến hành nghiên cứu các tỷ lệ giống cấp I khác nhau (1%, 3%, 5% và 7%) đến sự phát triển của 4 chủng vi khuẩn nghiên cứu. Kết thúc thời gian nuôi cấy (chủng PFe - 1 là 72 giờ và 48 giờ đối với 3 chủng PAI - 1, C5,

TS4), xác định mật độ tế bào bằng phương pháp đếm khuẩn lạc phát triển trên môi trường thạch. Kết quả được tổng hợp tại bảng 6.

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, sau quá trình nhân sinh khối, cả 4 chủng vi khuẩn đều phát triển tốt ở tỷ lệ giống cấp I từ 5 - 7%, mật độ tế bào VSV mỗi chủng đều đạt $\geq 10^8$ CFU/ml. Tuy nhiên, tỷ lệ giống cấp I ở 5% là thích hợp nhất cho quá trình nhân sinh khối của cả 4 chủng vi khuẩn. Kết quả nghiên cứu của Đào Văn Thông (2012) khi nghiên cứu quy trình sản xuất phân bón vi sinh cho cây khoai tây cũng cho kết luận tương tự, tỷ lệ tiếp giống thích hợp đối với chủng *Bacillus subtilis* và *B. polyfermenticus* là 5%.

Bảng 6. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống cấp I đến sự phát triển của các chủng vi sinh vật nghiên cứu

Tỷ lệ giống cấp I (%)	Mật độ tế bào (CFU/ml)			
	PFe - 1	PAI - 1	C5	TS4
1	$(5,7 \pm 0,79) \times 10^6$	$(4,0 \pm 0,46) \times 10^6$	$(1,2 \pm 0,05) \times 10^6$	$(5,8 \pm 0,54) \times 10^6$
3	$(3,1 \pm 0,57) \times 10^7$	$(3,6 \pm 0,49) \times 10^7$	$(5,3 \pm 0,74) \times 10^7$	$(4,3 \pm 0,50) \times 10^7$
5	$(5,3 \pm 0,67) \times 10^8$	$(4,1 \pm 0,62) \times 10^8$	$(6,8 \pm 0,70) \times 10^8$	$(4,7 \pm 0,54) \times 10^8$
7	$(5,0 \pm 0,46) \times 10^8$	$(4,3 \pm 0,51) \times 10^8$	$(5,9 \pm 0,57) \times 10^8$	$(4,3 \pm 0,46) \times 10^8$

IV. KẾT LUẬN

- Môi trường lên men thích hợp cho tất cả 4 chủng là SX1; tốc độ cánh khuấy 350 vòng/phút và tỷ lệ tiếp giống là 5%.

- pH lên men của chủng PFe - 1 và PAI - 1 là 7,0, chủng C5 và TS4 là 6,5; Nhiệt độ lên men của 3 chủng PFe - 1, PAI - 1 và C5 là 30°C và chủng TS4 là 35°C; Thời gian lên men của chủng PFe - 1 là 72 giờ và chủng PAI - 1, C5, TS4 là 48 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đào Văn Thông, 2012. Nghiên cứu công nghệ sản xuất phân bón vi sinh vật chức năng sử dụng cho khoai tây. *Luận án tiến sĩ Công nghệ sinh học*. Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, Mã số 62.54.02.05.

Trịnh Thành Trung, Phan Lạc Dũng, Trần Thị Lệ Quyên, Dương Văn Hợp, Đào Thị Lương, 2013. Đặc điểm sinh học và tiềm năng ứng dụng của chủng vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* sp 1901 phân lập tại Rừng Quốc gia

Hoàng Liên. VNU Journal of Science: *Natural Sciences and Technology*, 29(3).

Ghafoor, A., & Hasnain, S., 2009. Production dynamics of *Bacillus subtilis* strain AG-1 and EAG-2, producing moderately alkaline proteases. *African*

Journal of Microbiology Research, 3(5), 258-263.

Vincent, W.A. and G. Priestly, 1975. Large - Scale production of enzymes. *Techniques in Fermentation. Handbook of Enzyme Biotechnology* Ellis Horwood. Limited, England, pp: 27 - 54.

Study on fermentation conditions for microbial strains isolated from soils of Shan tea plantation

Tran Thi Hue, Le Nhu Kieu, Tong Kim Thuan

Abstract

To produce useful biofertilizer for Shan tea tree in Yen Bai province, a study on fermentation conditions for 04 selected microbial strains (PFe - 1, PAI - 1, C5, TS4) isolated from soils of Shan tea plantation was carried out. The results showed that the most suitable fermentation medium for all 4 strains was SX1 with technical parameters as: 30°C temperature was suitable for PFe - 1, PAI - 1 and C5 strains, 35°C for TS4 strain; rotate speed was at 350 rpm; seed ratio was of 5%; pH 7 was suitable for PFe - 1 and PAI - 1 strain while pH 6,5 was for 2 strains C5 and TS4; Time for fermentation of PFe - 1 strain was in 72 hours, and for other ones in 48 hours.

Key words: Shan tea tree, biofertilizer, fermentation, rhizobacteria

Ngày nhận bài: 11/6/2016
Người phản biện: TS. Đỗ Duy Phái

Ngày phản biện: 20/6/2016
Ngày duyệt đăng: 24/6/2016

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ NẤM MEN, NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN LÊN MEN ĐẾN SẢN XUẤT BRANDY DỨA

Nguyễn Tuấn Linh¹, Đinh Thị Hiền², Hồ Tuấn Anh³

TÓM TẮT

Nguyên liệu được sử dụng cho nghiên cứu sản xuất là giống dứa Nữ hoàng (Bảo Sơn - Bắc Giang) đã được tuyển chọn. Dịch dứa được bổ sung enzym Pectinex Ultra SP-L với nồng độ đã được xác định là 0,025% so với thể tích dịch dứa. Các mẫu thí nghiệm đều được bổ sung đường để hàm lượng đường trong dịch lên men đạt 180 g/l. Quá trình lên men được thực hiện tại 16°C, 18°C, 20°C, 22°C, 24°C, sử dụng chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* C05 đã được tuyển chọn với tỷ lệ bổ sung 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6% so với khối lượng dịch dứa. Kết quả thu được cho thấy bổ sung chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* C05 với hàm lượng 0,4%, lên men ở 20°C, thời gian lên men 7 ngày là phù hợp với công nghệ sản xuất brandy.

Từ khóa: Lên men, nấm men, dịch dứa, nhiệt độ lên men, thời gian lên men

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Brandy là tên gọi chung của các loại rượu mạnh cất từ dịch trái cây lên men rồi ủ lâu trong thùng gỗ sồi hoặc gỗ cao su. Các nước trồng nho đều sản xuất brandy. Một số thương hiệu brandy nổi tiếng thế giới bao gồm Cognac, Hennessy, Remy-martin, Martell... Brandy còn được sản xuất từ các loại trái cây khác và thường được thêm tên của các loại trái cây sau từ brandy tương tự như brandy táo, brandy mận, brandy lê... (Vũ Thị Kim Phong và *ctv.*, 2011)

Dứa là nguyên liệu rất sẵn có ở Việt Nam. Theo Tổng cục Thống kê, sản lượng dứa năm 2015 đạt 598,3 nghìn tấn, tăng 1,1% so với năm 2014. Dứa được trồng chủ yếu với 2 giống là Queen và Cayen. Mặc dù có nguồn nguyên liệu trái cây dồi dào nhưng có thể nói, sản xuất rượu brandy ở Việt Nam chưa thực sự bắt đầu. Thị trường brandy trong nước hiện nay đang bỏ ngõ để các loại brandy ngoại nhập thống trị (Trần Thanh Hùng và *ctv.*, 2011). Các chuyên

¹ Học viên cao học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam; ² Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp