



Research Article

Study on coffee husk treatment by microorganisms

Nguyen Nhu Ngoc*, Nguyen Mau Nghia

Vietnam National University of Forestry, Gia Lai, Vietnam

(Received: 22 Nov 2023; Revised: 21 Jan 2024; Accepted: 24 Jan 2024)

Abstract

The aim of this study was to identify the biodegradation abilities of some indigenous microorganisms applied in coffee husk treatment into organic substrates. There were three useful strains in coffee husks that were isolated and identified as *Bacillus thuringiensis* CF₂, *Bacillus subtilis* CF₄, and 01 fungal strain *Cladosporium tenuissimum* CF₁₇. The biodegradation diversity of organic compounds in coffee husks as well as nitrogen fixation and 3- Indol acetic acid (IAA) production of those strains were tested. The biomass of three strains also were collected from fermentation broth and mixed into biomass solution with 1:1:1 (v/v/v) proportion in volume and then were incubated with dry coffee husks. The results showed that the most effective incubation formula is mixing 500 mL of the biomass solution mixture with 20 kg of dry coffee husks for 8 weeks. The quality of the substrates from coffee husk waste after 08 weeks of incubation is shown through a number of indicators meeting the quality of organic substrates specified in TCVN 7185: 2002 and testing the quality of the substrates. The organic substrates from coffee husks were used to grow sprouts and accessed. The weight of sprouts obtained when sowing on coffee husk substrates reached 69.7 grams while it reached 43.2 grams on a commercial substrate in the same area of 30 cm².

Keywords: *Bacillus subtilis*, fermentation, coffee husks, waste

* Corresponding author: Nguyen Nhu Ngoc (E-mail: ngocbichbiotech@gmail.com)

Doi: <https://doi.org/10.47866/2615-9252/vjfc.4206>

Nghiên cứu xử lý vỏ cà phê thành giá thể hữu cơ

Nguyễn Như Ngọc, Nguyễn Mậu Nghĩa

Trường Đại học Lâm nghiệp Việt Nam, Gia Lai, Vietnam

Tóm tắt

Để xử lý vỏ cà phê thành giá thể hữu cơ, trong nghiên cứu này 03 chủng vi sinh vật hữu ích (có năng lực phân giải hợp chất hữu cơ, cố định nitơ, sinh IAA (Indole 3- acetic acid) từ nguồn vỏ cà phê đã được phân lập, tuyển chọn và định tên là *Bacillus thuringiensis* CF₂, *Bacillus subtilis* CF₄ và 01 chủng nấm *Cladosporium tenuissimum* CF₁₇. Các chủng đã được nghiên cứu lên men để tạo hỗn hợp sinh khối. Hai chủng CF₂ và CF₄ sau 20 giờ lên men sinh khối với OD₆₀₀ đạt 2,4 đến 2,5 và chủng CF₁₇ sau 7 ngày lên men thu 28,7 g/L sinh khối ướt. Hỗn hợp sinh khối của ba chủng với tỷ lệ thể tích 1:1:1 (v/v/v) được trộn với nguyên liệu vỏ cà phê khô với công thức phối trộn phù hợp là 500 mL dịch sinh khối với 20 kg vỏ cà phê khô và ủ trong 8 tuần. Chất lượng của giá thể từ chất thải vỏ cà phê được kiểm nghiệm cho thấy các chỉ tiêu đều đạt chất lượng của giá thể hữu cơ quy định tại TCVN 7185 - 2002. Hiệu quả khi sử dụng giá thể này để trồng rau mầm cho kết quả rất tốt, trọng lượng rau mầm thu được khi gieo trên giá thể từ vỏ cà phê đạt 69,7 gam trong khi đạt 43,2 gam khi gieo trên giá thể thương mại ở cùng diện tích 30 cm².

Từ khóa: giá thể, phân lập, vỏ cà phê, vi sinh vật, xử lý

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là nước xuất khẩu cà phê lớn thứ hai trên thế giới với diện tích cà phê hiện nay đạt trên 664000 ha, năng suất khoảng 27 tạ/ha, sản lượng đạt sấp xỉ 1,9 triệu tấn, kim ngạch xuất khẩu khoảng 3,5 tỷ USD, chiếm 14% thị phần thế giới [1]. Cùng với sự phát triển ngành cà phê, lượng lớn vỏ cà phê được thải ra môi trường, đặc biệt là tại Tây Nguyên mỗi năm khoảng trên 1 triệu tấn [2, 3]. Nguồn chất thải này hiện chưa được xử lý thích hợp đang gây ra trở ngại lớn đối với môi trường. Vỏ cà phê là dạng chất thải sinh khối thuộc nhóm lignocellulose, chủ yếu bao gồm các nguyên tố sống thiết yếu (C, H, O và N) tạo thành cellulose (59,2–62,94 w/w%), hemicellulose (5–10 wt%), và lignin (19,8–26,5 w/w%) [4, 5]. Loại chất thải này cũng chứa một số nguyên tố được coi là vi chất vô cơ như canxi, magie, natri nhưng nồng độ của chúng thường nhỏ [6]. Nhiều tác giả đã thực hiện những nghiên cứu để tận dụng nguồn chất thải từ vỏ cà phê làm thức ăn gia súc, tách chiết các hợp chất sinh học... nhưng chỉ xử lý được lượng nhỏ và ở quy mô phòng thí nghiệm.

Để xử lý lượng lớn chất thải vỏ cà phê, gần đây, nhiều tác giả nghiên cứu xử lý vỏ cà phê để sản xuất phân bón hữu cơ với lượng lớn và nâng cao hiệu quả xử lý. Trong nghiên cứu của tác giả Kulandaivelu và cộng sự 2012 [7], vỏ thải cà phê được sử dụng làm nguyên liệu cho giun đất phân hủy và chuyển hóa thành phân trùn quế. Kết quả cho thấy, sau hơn 3 tháng thu được sản lượng phân trùn quế cao hơn các phương pháp sử dụng với nguyên liệu khác. Tỷ lệ nitơ, phốt pho, kali, canxi và magie trong phân trùn quế tăng lên đáng kể. Gần

đây, trong nghiên cứu của tác giả Jiang Zeyin và cộng sự 2023 [8], vỏ cà phê được nghiên cứu để bón lại cho cây trồng. Kết quả cho thấy, từ giá trị trung bình của 2 năm có sự khác biệt đáng kể về carbon hữu cơ trong đất, chất hữu cơ, tổng nitơ và tỷ lệ C/N.

Với tốc độ đô thị hóa lớn hiện nay, diện tích đất trồng trọt bị thu hẹp, việc trồng rau, cây cảnh... ở thành phố là rất hạn chế. Việc trồng cây trên giá thể hữu cơ (trồng cây không cần đất) đã từng bước được phát triển ở Việt Nam. Đây thực chất là một kỹ thuật trồng cây không dùng đất mà cây được trồng trực tiếp trên các giá thể hữu cơ (các vật liệu để trồng cây, có khả năng giữ nước, có độ thoáng tạo môi trường thuận lợi cho sự nảy mầm của hạt, hình thành và phát triển của bộ rễ cây trồng, giúp cây hấp thụ nước, chất dinh dưỡng để sinh trưởng và phát triển. trong đó loại giá thể hữu cơ tự nhiên (than bùn, mùn cưa, trấu hun, xơ dừa...) hiện được ưa chuộng sử dụng.

Nghiên cứu này nhằm hướng tới xử lý vỏ cà phê thành giá thể hữu cơ nhờ sự phân hủy của chính các chủng vi sinh vật có mặt trong vỏ cà phê, bằng cách tuyển chọn và nhân lên lượng lớn sinh khối các chủng vi sinh vật này để phân giải hiệu quả các hợp chất trong vỏ cà phê thành giá thể hữu cơ để phục vụ cho khu vực đô thị, chung cư, nhà cao tầng trồng rau sạch, cây cảnh vừa góp phần phát triển kinh tế và bảo vệ môi trường.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Nguyên liệu phân lập: vỏ cà phê đang phân hủy khoảng sau 1 tháng ủ dưới tán cây cà phê, có màu nâu đất, không còn nguyên vẹn được thu tại vườn cà phê ở Gia lai – Phân hiệu trường Đại học Lâm Nghiệp tại tỉnh Gia Lai.

Các nguyên liệu khác cho quá trình ủ vỏ cà phê thành phân bón gồm: vôi bột, phân chuồng.

Nguyên liệu cho thử nghiệm hiệu quả của giá thể: hạt cải được mua từ trung tâm Giống cây trồng – Học viện Nông nghiệp Hà Nội.

2.2 Phương pháp

2.2.1. Phân lập và tuyển chọn vi sinh vật có khả năng phân giải các hợp chất hữu cơ và tổng hợp một số chất có ích cho cây trồng

Các mẫu vỏ cà phê đang phân hủy được sử dụng để làm mẫu phân lập vi sinh vật trên môi trường NA (Nutrient Agar gồm: 5 g/L NaCl; 10 g/L pepton; 5 g/L cao nấm men; pH = 7; Agar: 16 g/L). Phương pháp phân lập được thực hiện theo phương pháp đĩa thạch [9, 10].

2.2.2. Tuyển chọn chủng có năng lực phân giải hợp chất hữu cơ

Để tuyển chọn các chủng vi sinh vật có năng lực chuyển hóa các chất hữu cơ trong vỏ cà phê hiệu quả (trong vỏ cà phê chứa các thành phần trong đó chiếm hàm lượng lớn là các hợp chất: Pectin; cellulose; protein; tinh bột). Các khuẩn lạc riêng rẽ xuất hiện trên đĩa môi trường phân lập được tách và chuyển sang môi trường mới, NA đối với vi khuẩn) hoặc PDA (Potato Dextrose Agar gồm: dịch chiết khoai tây 200 g/L; dextrose: 10 g/L; agar: 16 g/L, pH 7) đối với nấm. Để kiểm tra khả năng sinh enzym ngoại bào phân giải các chất hữu cơ tương ứng có trong vỏ cà phê, các chủng được nuôi cấy trên môi trường thạch có bổ sung 1% cơ chất tương ứng là tinh bột, CMC (cacboxyl methyl cellulose), pectin, casein (đại diện cho

ơ chất protein), sau đó nuôi trong tủ nuôi ở nhiệt độ 35°C trong 2 ngày với khuẩn và 5 ngày với nấm. Sau đó các đĩa nuôi cấy được nhuộm lugol và công gô đỏ để phát hiện vòng phân giải cơ chất [10].

2.2.3. Tuyển chọn chủng có năng lực sinh tổng hợp IAA

IAA (Indole-3-Acetic Acid) là chất kích thích sinh trưởng thực vật có thể được tổng hợp từ nhiều chủng vi sinh vật khác nhau trong đất để thúc đẩy quá trình phát triển cây trồng. Mục đích tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng tổng hợp IAA nhằm bổ sung vào vật liệu tạo giá thể tốt cho cây trồng phát triển.

Vi sinh vật được nuôi cấy trong môi trường lỏng có bổ sung 1% Tryptophan, nuôi lắc 125 - 150 vòng/phút trong tủ tối ở 35°C trong 72 giờ [9, 11]. Hàm lượng IAA thô sinh ra trong dịch nuôi cấy được xác định bằng phương pháp thực hiện phản ứng màu với thuốc thử Salkowski theo phương pháp được mô tả bởi Shraddha Gang và cộng sự [12].

2.2.4. Tuyển chọn chủng có năng lực cố định nitơ

Các chủng được nuôi trong môi trường lỏng Norris không chứa nguồn nitơ, nhiệt độ nuôi cấy 35°C với vi khuẩn và 30°C với nấm, lắc 150 vòng/ phút. Sau 48 giờ với khuẩn và 96 giờ với nấm. Mẫu nuôi cấy vi khuẩn và nấm trên môi trường Norris được làm đồng đều và dùng pipet hút chính xác lấy 1 mL, tiến hành pha loãng trong nước cất vô trùng ở các độ pha loãng khác nhau và trang trên các đĩa môi trường dinh dưỡng. Các đĩa đã trang mẫu được nuôi cấy trong tủ nuôi sau 3 ngày và tiến hành đếm khuẩn lạc các chủng có thể phát triển trong môi trường dinh dưỡng, từ đó xác định được mật độ của các chủng phát triển trên môi trường Norris.

Các chủng phát triển tốt trên môi trường Norris được nuôi cấy sang môi trường lỏng Ashby, nuôi lắc ở 125 vòng/phút, 30°C trong 72 giờ với khuẩn và 120 giờ với nấm. Ly tâm thu dịch trong và xác định nồng độ NH_4^+ có trong dịch nuôi cấy bằng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler, sử dụng đường chuẩn amonium [13].

2.2.5. Xác định đặc tính sinh hóa và định tên các chủng tuyển chọn

Đặc tính chủng vi sinh vật được xác định theo các phương pháp trong sổ tay phân loại vi sinh vật [14]. Mô tả hình thái, đặc điểm tế bào và khuẩn lạc, đặc điểm Gram để định tên sơ bộ các chủng. Tiếp đó định tên chủng bằng sinh học phân tử theo phương pháp mô tả của tác giả Tim Sandle và cộng sự [15]. Vi sinh vật được tách DNA và xác định trình tự đoạn gen 16S rRNA (vi khuẩn) hoặc ITS1 - 5,8S - ITS2 (nấm).

2.2.6. Quy trình xử lý vỏ cà phê thành giá thể hữu cơ

2.2.6.1. Lên men thu sinh khối các chủng vi sinh vật

Hai chủng vi khuẩn được nuôi trong môi trường lỏng NB (Nutrient Broth gồm: 5 g/L NaCl; 5 g/L cao nấm men và 10 g/L pepton, pH 7), nuôi ở 35°C, lắc 150 vòng/phút và xác định OD₆₀₀ trong khoảng thời gian từ 12 đến 72 giờ. Từ đường cong sinh trưởng sẽ xác định được thời điểm thu sinh khối thích hợp [16].

Các chủng nấm được nuôi trong môi trường lỏng Crapeck, 30°C, lắc 125 vòng/phút và xác định lượng sinh khối ướt trong khoảng thời gian từ 1 đến 12 ngày [16].

2.2.6.2. Phối trộn sinh khối vi sinh vật để xử lý vỏ cà phê

Sinh khối các chủng vi sinh vật sau lên men, ly tâm ở 6000 vòng/phút, thu sinh khối, hòa tan trong nước muối sinh lý để đạt tới mật độ tế bào 10^8 CFU/mL với khuẩn, với nấm đạt lượng 1g/mL sinh khối ướt, đem phối trộn dịch sinh khối các chủng theo tỉ lệ thể tích thích hợp để tạo hỗn hợp sinh khối.

Hỗn hợp sinh khối được phối trộn với nguyên liệu vỏ cà phê theo tỷ lệ v/w thay đổi với công thức đối chứng là công thức không phối trộn hỗn hợp sinh khối.

2.2.6.3. Thử nghiệm hiệu quả trồng rau mầm của giá thể

Hạt rau cải được lựa chọn đồng đều và gieo vào các thùng xốp nhỏ kích thước 30×20 cm với sự bổ sung giá thể hữu cơ từ vỏ cà phê theo các công thức được bố trí trong Bảng 1. Các công thức được xử lý hạt rau (số lượng, đồng đều) và tưới ẩm như nhau.

Bảng 1. Thí nghiệm trồng rau cải với giá thể hữu cơ từ vỏ cà phê

TT	Giá thể không bổ sung hỗn hợp sinh khối (%)	Giá thể có bổ sung hỗn hợp sinh khối (%)	Giá thể thương mại
NT1	0	100	0
NT2	0	0	100
ĐC	100	0	0

Với các chỉ tiêu theo dõi:

- + Tỷ lệ hạt rau nảy mầm = tổng số hạt nảy mầm/tổng số hạt gieo $\times 100\%$
- + Thời gian nảy mầm: thời gian từ lúc gieo đến khi xuất hiện mầm (ngày)
- + Màu sắc và hình thái rau mầm
- + Chiều cao trung bình rau mầm = chiều cao trung bình của rau mầm trên diện tích trồng (mm)
- + Khối lượng rau mầm = tổng khối lượng rau mầm thu được trên diện tích trồng (gam)

2.1 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 Phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật từ vỏ cà phê

3.1.1 Phân lập và tuyển chọn vi sinh vật

Từ 10 mẫu vỏ cà phê đang phân hủy, 32 chủng vi sinh vật đã được phân lập riêng rẽ. Các chủng tiếp tục được kiểm tra các hoạt tính sinh tổng hợp enzym phân giải cơ chất (cellulose, casein, xylan, pectin) thông qua xác định hoạt độ enzym tương ứng trong môi trường nuôi cấy. Kết quả xác định có 09 chủng có khả năng sinh enzym ngoại bào phân giải các cơ chất tốt, đặc biệt hoạt tính phân giải pectin là một ưu điểm vì trong vỏ cà phê có chứa thành phần pectin khá lớn cũng chính là thành phần có khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật, cản trở tới sự phân hủy của vỏ cà phê trong tự nhiên [17]. Các chủng tiếp tục được tuyển chọn dựa trên các tiêu chí có khả năng tổng hợp chất điều hòa sinh trưởng thực vật IAA, cố định nitơ. Kết quả đã tuyển chọn được 02 chủng vi khuẩn và 01 chủng nấm với ký hiệu: CF₂; CF₄ và CF₁₇ có các đặc tính hữu ích được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2. Đặc tính hữu ích của 3 chủng tuyển chọn

Hoạt tính sàng lọc		Chủng CF ₂	Chủng CF ₄	Chủng CF ₁₇
Đường kính vòng phân giải cơ chất (D-d, mm)	<i>CMC</i>	2,7 ± 0,5	2,7 ± 0,5	3,2 ± 0,5
	<i>xylan</i>	3,2 ± 0,2	2,9 ± 0,3	3,2 ± 0,4
	<i>Cazein</i>	2,5 ± 0,5	3,5 ± 0,6	3,0 ± 0,5
	<i>Pectin</i>	2,8 ± 0,5	3,3 ± 0,5	2,8 ± 0,5
Hàm lượng NH₄⁺ trong dịch nuôi cấy (µg/mL)		16,13 ± 0,5	11,12 ± 0,8	10,65 ± 0,6
Hàm lượng IAA trong dịch nuôi cấy (µg/mL)		21,121 ± 0,03	17,442 ± 0,02	15,482 ± 0,05

Từ kết quả thu được ở Bảng 2 cho thấy, ba chủng được tuyển chọn có hệ enzym khá phong phú, tuy không quá cao nhưng đa dạng từ đó có thể phối hợp các enzym để phân giải các cơ chất trong vỏ cà phê hiệu quả hơn, Đồng thời, khả năng tổng hợp chất điều hòa sinh trưởng IAA với lượng đạt từ 15 đến 21 µg/mL và cố định nitơ với lượng NH₄⁺ đạt từ 10 – 16 µg/mL là các đặc tính phù hợp đối với mục tiêu tuyển chọn. Như vậy, ba chủng này bước đầu cho thấy hoàn toàn có khả năng ứng dụng để làm tác nhân vi sinh trong quá trình xử lý chất thải vỏ cà phê thành giá thể hữu cơ.

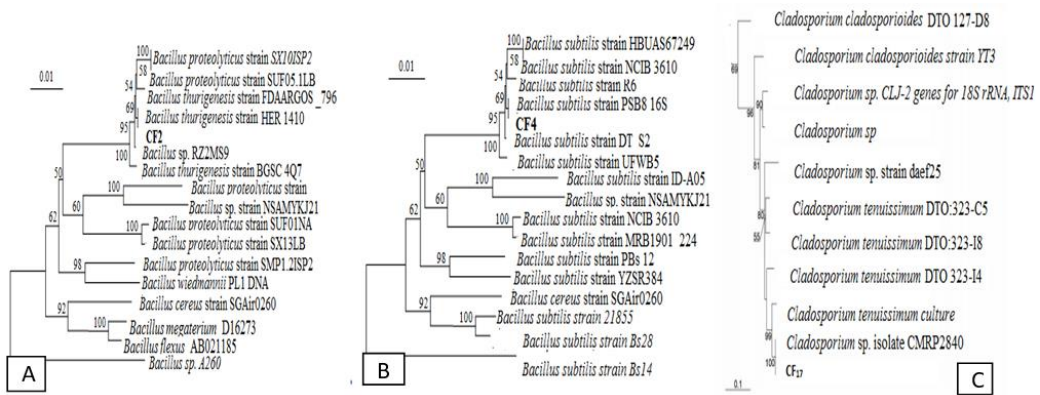
3.1.2 Định tên chủng tuyển chọn

Kết quả tách chiết DNA, giải trình tự gen và xây dựng cây phân loại của 03 chủng nhờ kỹ thuật sinh học phân tử và giải trình tự gen. Thu được kết quả như sau (Bảng 3): chủng CF₂ 100% tương đồng với *B. thurigenesis*, chủng CF₄ tương đồng 99,86% với *B.subtilis* và chủng CF₁₇ tương đồng 100% với *Cladosporium tenuissimum*.

Bảng 3. Kết quả định danh các chủng vi sinh vật

Ký hiệu chủng	Tên loài	Độ tương đồng (%)	Đặc điểm khuẩn lạc
CF ₂	<i>Bacillus thurigenesis</i>	100	G (+), Khuẩn lạc tròn, viền trơn, bề mặt lồi, trơn, màu trắng đục, bám chắc thạch, đường kính (2 - 3mm)
CF ₄	<i>Bacillus subtilis</i>	100	G (+), Khuẩn lạc tròn, bề mặt dẹt, viền trơn, màu vàng nhạt, đường kính 2 - 3mm.
CF ₁₇	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	100	Dạng hạt, Sợi khí sinh: màu xanh nhạt xen trắng, nhân xanh sẫm, sợi cơ chất màu xanh

Sơ đồ cây phát sinh loài của ba chủng (A: CF₂; B: CF₄; C: CF₁₇) được trình bày tại Hình 1. Theo nhiều nghiên cứu thì các chủng thuộc giống *Bacillus* như: *Bacillus subtilis*; *Bacillus thurigenesis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus megaterium*... đều là các chủng vi khuẩn không gây độc tố và an toàn [18]. Vậy hai chủng vi khuẩn *Bacillus* đã tuyển chọn đáp ứng được yêu cầu an toàn và hoàn toàn có thể ứng dụng được trong việc xử lý vỏ cà phê để làm giá thể hữu cơ.



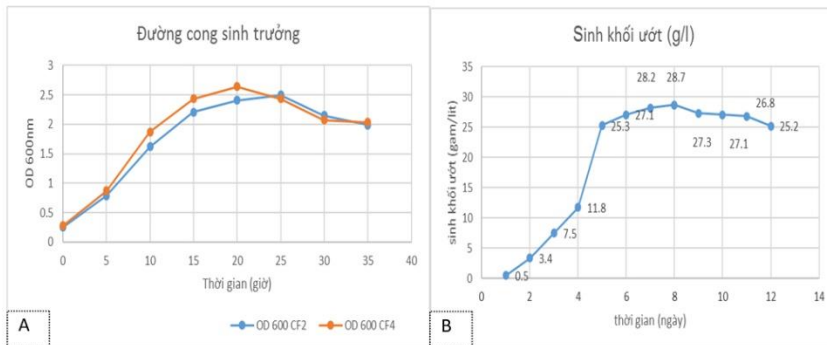
Hình 1. Sơ đồ cây phát sinh loài của ba chủng (A: CF₂; B: CF₄; C: CF₁₇)

Theo nhiều tác giả như Iuliana Raut và cộng sự năm 2021 [13], các chủng nấm thuộc *Cladosporium* sp. được nghiên cứu nhiều và coi như tác nhân có vai trò kích thích tăng trưởng thực vật. Một loạt các nghiên cứu cho thấy loài *Cladosporium tenuissimum* có vai trò như các tác nhân bảo vệ thực vật khỏi các tác động tiêu cực của các nhân tố stress sinh học cũng như phi sinh học do chúng có khả năng sinh tổng hợp ra hàng loạt các hợp chất thứ cấp nhằm thúc đẩy sức sinh trưởng, tăng năng suất cây trồng và chống lại bệnh hại trên thực vật. Do đó, các chủng nấm thuộc *Cladosporium* sp. rất được quan tâm trong việc phát triển và sản xuất các chế phẩm vi sinh phục vụ nông nghiệp hiện nay.

3.1.3. Kết quả xử lý vỏ cà phê thành giá thể hữu cơ bằng các chủng tuyển chọn

3.1.3.1 Kết quả lên men thu sinh khối

Sau khi lên men 20 giờ trong môi trường dinh dưỡng NB, hai chủng vi khuẩn CF₂ và CF₄ đạt được OD₆₀₀ lần lượt là 2,4 và 2,5, còn chủng nấm CF₁₇ đạt lượng sinh khối ướt là 2,82 g/L sau 7 ngày nuôi cấy trong môi trường lỏng Czapeck (Hình 2).



Hình 2. Đường cong sinh trưởng của các chủng tuyển chọn (A: chủng CF₂ và CF₄; B: chủng CF₁₇)

Thời điểm thu sinh khối thích hợp với hai chủng CF₂ và CF₄ là sau lên men 20 giờ. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Algburi, trong khoảng thời gian từ 12 đến 20 giờ lượng tế bào của một số chủng thuộc chi *Bacillus* đạt cao nhất, khoảng OD₆₀₀ từ 2,1 với lượng tế bào tương đương đạt 10⁸ tế bào/mL [20]. Đối với chủng nấm CF₁₇, thời điểm thu sinh khối thích hợp nhất là sau nuôi cấy 7 ngày, lượng sinh khối ướt đạt tới 27,3 g/L sinh khối ướt.

3.1.3.2. *Kết quả phối trộn dịch sinh khối với vỏ cà phê và đánh giá chất lượng giá thể*

Sau khi lên men thu được sinh khối các chủng vi sinh vật CF₂; CF₄ và nấm CF₁₇. Sinh khối các chủng được hòa tan trong nước muối sinh lý và trộn theo tỷ lệ thể tích 1:1:1 thu được hỗn hợp sinh khối. Hỗn hợp sinh khối này được sử dụng để thử nghiệm ủ với vỏ cà phê. Quá trình ủ vỏ cà phê bằng hỗn hợp sinh khối vi sinh vật đã được thực hiện trong 8 tuần. Kết quả cho thấy với công thức phối trộn 500 mL dịch hỗn hợp sinh khối với 20 kg vỏ cà phê khô, thông số đồng ủ thu thập được thể hiện trong Bảng 4. Chất lượng giá thể sau 8 tuần ủ cũng được phân tích các chỉ tiêu (Bảng 5) cho thấy: các chỉ số dinh dưỡng cơ bản có trong giá thể hữu cơ (độ toi xốp, độ ẩm, pH và hàm lượng các chất dinh dưỡng: hàm lượng nitơ tổng số, lân hữu hiệu và kali hữu hiệu) là khác biệt so với trong công thức đối chứng chỉ lợi dụng sự phân hủy tự nhiên của các vi sinh có sẵn. Tuy nhiên, để đánh giá thêm về hiệu quả của giá thể cần tiến hành thử nghiệm trồng rau mầm.

Bảng 4. Thông số đồng ủ

Chỉ tiêu theo dõi	Đồng ủ với hỗn hợp sinh khối theo thời gian (tuần)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Nhiệt độ (°C)	28	40	50	49	48	38	37	37
pH	6,8	7,0	7,5	7,3	7,3	7,2	7,0	7,0
Chiều cao đồng ủ (cm)	30	27	24	18	15	13	13	13
Màu sắc	Ướt	bết	bết	bết	Se bề mặt	Se	Se, toi	Se, toi
Độ ẩm (%)	60,8	56,1	45,3	42,6	34,2	31,3	31	31

Chỉ tiêu chất lượng của giá thể hữu cơ từ vỏ cà phê được đưa ra tại Bảng 5.

Bảng 5. Chỉ tiêu chất lượng của giá thể hữu cơ từ vỏ cà phê

TT	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp phân tích	Kết quả	
			Giá thể hữu cơ từ vỏ cà phê	Đối chứng
1	Độ toi xốp	Cảm quan	Giá thể màu nâu toi xốp, kích thước đồng đều, không mùi hôi	Giá thể màu đen, ướt, ít toi xốp, kích thước không đều, còn mùi hôi
2	Độ ẩm (%)	TCVN 9297-2012	31,13	48,24
3	pH	TCVN 5779:2007	7,3	5,9
4	Hàm lượng nitơ tổng số (%)	TCVN 9294-2012	4,28	3,87
5	Hàm lượng lân hữu hiệu (%)	TCVN 8557:2010	2,75	0,89
6	Hàm lượng Kali hữu hiệu (%)	TCVN 8559:2010	3,98	1,22
7	Mật độ <i>Samonella</i> (Cfu/g)	TCVN 8560:2010	0	0
8	Hàm lượng Pb (mg/kg)	TCVN 4829:2005	0,2	0,25

3.1.3.3. Kết quả thử nghiệm giá thể để trồng rau mầm

Với chất lượng hạt đồng đều và được xử lý như nhau, kết quả về tỉ lệ và thời gian nảy mầm, hạt rau được trồng ở hai nghiệm thức có bổ sung giá thể vỏ cà phê (NT1) và giá thể hữu cơ trên thị trường (NT2) có thời gian nảy mầm nhanh và đều hơn, sau 02 ngày đã nảy mầm, tỉ lệ nảy mầm cao, đạt tới 97% - 98%. Rau mầm lên đều phát triển nhanh, mật độ dày và tốt hơn, rau xanh tốt và mập hơn so với rau được trồng ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung giá thể mà chỉ dùng giá thể không bổ sung chế phẩm. Ở hai nghiệm thức NT1 và NT2, kết quả thu được có sự khác nhau, chứng tỏ chất lượng giá thể hữu cơ ủ từ vỏ cà phê tốt tương đối so với các sản phẩm giá thể đã được thương mại hóa trên thị trường. Khối lượng rau mầm thu được ở NT1 là cao nhất, đạt tới 69,7 gam. Ngoài ra, chất lượng rau mầm thu được ở các nghiệm thức NT1, NT2, tươi, rau mập, khối lượng rau mầm thu được lớn hơn hẳn so với trong công thức đối chứng (Bảng 6).

Bảng 6. Chất lượng rau mầm trên giá thể hữu cơ từ vỏ cà phê

TT	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Thời gian bắt đầu nảy mầm (ngày)	Chiều cao trung bình rau mầm (cm)	Khối lượng rau mầm (gam)	Hình thái rau mầm
NT1	98,2 ± 0,4	3	6,4 ± 0,12	69,7 ± 0,31	Rau mập, xanh tốt, mật độ dày
NT2	85,2 ± 0,5	3	5,8 ± 0,11	43,2 ± 0,28	Rau mập, xanh tốt, mật độ dày
Đối chứng	58,4 ± 0,3	6	4,2 ± 0,15	25,1 ± 0,33	Rau nhỏ, xanh hơi vàng, mật độ thưa

Để tạo thành giá thể hữu cơ chất lượng tốt có thể phối trộn thêm với các chất dinh dưỡng hoặc phụ gia như: than bùn, phân chuồng ủ hoai, cám gạo, cám ngô... như trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thái Huy và cộng sự đã kết hợp vỏ cà phê với bã mía trộn với phân bò ủ hoai, than bùn cho giá thể hữu cơ có chất lượng tốt, phù hợp cho trồng các loại rau ăn lá và ăn củ [21]. Tuy nhiên, ở nghiên cứu này việc phân lập, tạo sinh khối các chủng vi sinh vật này để tăng hiệu quả của quá trình xử lý vỏ cà phê thành giá thể hữu cơ và việc đánh giá hiệu quả trên rau mầm đã bước đầu khẳng định được vai trò hoạt động của các chủng vi sinh vật tuyển chọn được.

3. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu này đã khẳng định được vai trò của một số chủng vi sinh vật có sẵn trong vỏ cà phê và ý nghĩa của việc sử dụng sinh khối các chủng vi sinh vật này trong hoạt động phân giải, chuyển hóa vỏ cà phê (một nguồn chất thải lớn của ngành công nghiệp sản xuất cà phê) thành giá thể hữu cơ, phù hợp để có thể trồng một số loại rau sạch. Các đặc tính của ba chủng vi sinh vật này (có năng lực phân giải hợp chất hữu cơ, cố định nitơ, sinh IAA) đã được xác định là có ý nghĩa và các chủng cũng được định tên thành công thuộc các loài vi sinh vật đã được nghiên cứu khẳng định là có ích và được sử dụng phổ biến, gồm: *Bacillus thuringiensis* CF₂, *Bacillus subtilis* CF₄ và *Cladosporium tenuissimum* CF₁₇.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Agriculture, Forestry and Fisheries market newsletter date 13/7/2021, Ministry of industry and trade of the Socialist Republic of Vietnam, pp.11-16, 2021 (in Vietnamese).
- [2]. Cheryl L Patten, Andrew J C Blakney, “Activity, distribution and function of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in bacteria”, *Microbiol*, vol. 39, no. 4, pp. 395-415, 2013.
- [3]. Duangjai A, Suphrom N, Wungrath J, Ontawong A, Nuengchamnong N, Yosboonruang A, “Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffees (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts”, *Integrative Medicine Research*, vol. 5 no. 4, pp. 324-331, 2016.
- [4]. Dao Thi Lan Hoa, Nguyen Thi Thien Trang, Report on scientific and technological research results “Research on the production of biological products used in processing coffee peels as fertilizer for plants”, *Western highlands agriculture and forestry science institute*, pp. 676-680, 2019 (In Vietnamese).
- [5]. Hoang Thi Thai Hoa, Do Dinh Thuc, Nguyen Van Quy, “Textbook of growing media and plant nutrition”, *Hue University publishing house*, 2019 (In Vietnamese).
- [6]. Felipe J. Cerino-Córdova, Nancy E. Dávila-Guzmán, *Revalorization of Coffee Waste*, (9,10,11), Doi: 10.5772/intechopen, 92303, 2020.
- [7]. Kulandaivelu Velmourougane, Kurian Raphael, “Vermicomposting of coffee processing waste”, *Macromolecular Symposia*, vol 320, no. 1, pp. 110-116, 2012.
- [8]. Jiang Zeyin, Lou Yuqiang, “Combined Application of Coffee Husk Compost and Inorganic Fertilizer to Improve the Soil Ecological Environment and Photosynthetic Characteristics of Arabica Coffee”, *Agronomy*, vol. 13, pp. 1212-1231, 2023.
- [9]. Ngo Dinh Quang Binh, *Industrial microbiology*, Institute of Ecology and Biological Resources, National Center for Natural Science and Technology, Ha Noi, pp. 53-71, 2005 (In Vietnamese).
- [10]. Rathinavelu R, Graziosi G, “Potential Alternative Use of Coffee Wastes and by-Products”, *Food Microbiol*, pp. 1-4, 2005.
- [11]. Abel-Nabey, H.M. and Farag A.M, “Production, optimization and characterization of extracellular amylase from halophilic *Bacillus lichineformis* AH214”. *African Journal of Biotechnology*, vol. 15, no. 17, pp. 670 – 683, 2016.
- [12]. Shraddha Gang, Sheetal Sharma, Meenu Saraf, “Analysis of Indole-3-acetic Acid (IAA) Production in *Klebsiellaby* LC-MS/MS and the Salkowski Method”, *Bio-protocol*, vol. 9, no 09, pp. 1-9, 2019.
- [13]. Nguyen Huu Hiep, Ha Danh Duc, “Isolation of nitrogen-fixing bacteria and phosphate-solubilizing bacteria for peanut cultivated in Tra Vinh province”, *Science Journal of Can Tho University*, 11b, pp. 123-133, 2009 (In Vietnamese).
- [14]. Claus, D, *Genus Bacillus Cohn*, Bergey's manual of systematic bacteriology, 2: 1105-1139, 1986.
- [15]. Tim Sandle. “Microbial identification”, *Pharmaceutical Microbiology Essentials for Quality Assurance and Quality Control*: 103-113, 2016.
- [16]. Sorokulova, I.B., Pinchuk I.V, “The safety of two *Bacillus probiotic* strains for human use”, *Digestive diseases and sciences*, vol. 53, no. 4, pp. 954-963, 2008.
- [17]. Manasa Vallamkondu, “Utilization of coffee pulp waste for rapid recovery of pectin and polyphenols for sustainable material recycle”, *Waste Management*, vol. 120, no 1, pp. 122-129, 2020.

- [18]. Algburi, A., Volski A, “Safety Properties and probiotic potential of *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 and *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895”, *Advances in Microbiology*, vol. 6, no. 06, pp. 432 – 439, 2016.
- [19]. Iuliana Răut, Mariana Călin, Luiza Capră, Ana-Maria Gurban, Mihaela Doni, Nicoleta Radu,” *Cladosporium sp.* Isolate as Fungal Plant Growth Promoting Agent”, *Agronomy*, vol. 11, pp. 392 -399, 2021.
- [20]. Oskar Franklin, Edward K. Hall, “Optimization of Biomass Composition Explains Microbial Growth-Stoichiometry Relationships”, *The American Society of Naturalists*, pp. 1-14, 2011.
- [21]. Nguyen Thai Huy, Nguyen Mai Huong, Le Thi Ngoc Thuy, "Research results on producing growing media for vegetables, flowers, and ornamental plants from coffee husks and sugarcane bagasse" First National Conference on Crop Science, Vietnam Academy of Agricultural Sciences, 2013 (In Vietnamese).