



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0002992

(51) **A01N 25/10; A01N 65/00**
2021.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00445

(22) 15/11/2018

(67) 1-2018-05115

(45) 25/10/2022 415

(43) 25/05/2020 386ASC

(73) 1. Công ty Cổ phần Công nghệ Sinh học (VN)

Tầng 2, tòa nhà BIOGROUP-814/3 Đường Láng, Đống Đa, Hà Nội

2. Công ty Cổ phần Tinh dầu Bio Việt Nam (VN)

Số 3, ngõ 814 Đường Láng, phường Láng Thượng, quận Đống Đa, Hà Nội

(72) Lê Văn Tri (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM SINH HỌC KÍCH THÍCH TẠO TRẦM HƯƠNG
TRÊN CÂY DÓ**

(57) Sáng chế đưa ra quy trình sản xuất chế phẩm sinh học kích thích tạo trầm hương trên cây dó bầu gồm các thành phần (tính theo % trọng lượng): hỗn hợp vi sinh vật: 5, dịch chiết hữu cơ: 50, rỉ mật đường mía: 5, và dịch chiết cây dó: 40, các chủng vi sinh được phân lập từ các cây dó bầu tự nhiên bị nhiễm bệnh hoặc được cấy nhân tạo, các nguyên liệu khác đều có nguồn gốc thực vật, không chứa hóa chất, do vậy các sản phẩm thu được từ cây dó đáp ứng được tiêu chuẩn sản phẩm hữu cơ, nâng cao giá trị kinh tế cho người sản xuất trong nước và xuất khẩu.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế liên quan tới công nghệ sản xuất các chế phẩm sinh học, chế phẩm kích thích tạo trầm hương trên cây dó (*Aquilaria malaccensis*).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trầm hương là sản phẩm được tạo ra từ cây dó. Trầm hương được tích tụ phụ thuộc vào thời gian bắt đầu được tác động cơ học lên cây dó như: chém, chặt, khoan hoặc do tác động của tự nhiên gây ra: sâu, gió bão gãy cây v.v. Quá trình tạo trầm thường được kéo dài rất lâu.

Trầm hương là sản phẩm quý đối với con người, chúng được dùng làm thuốc an thần cao cấp, chữa bệnh suy nhược cơ thể, chế tạo nước hoa thơm lâu. Trầm hương được sử dụng trong đời sống tâm linh của con người và có giá trị kinh tế cao trên thị trường trong nước và quốc tế.

Từ xa xưa người ta đã biết tạo ra trầm hương nhân tạo, như bằng cách chém dao nhiều nhất vào thân cây dó, dùng đinh dài đóng vào cây, dùng thân cây cau ngâm nước muối (hoặc nước tiêu) đóng vào thân cây dó, với cách này số lượng trầm hương thu được đã tăng lên. Trong nhiều năm trở lại đây khi người sản xuất trầm đã cải tiến bằng cách dùng máy khoan để khoan vào thân cây các lỗ sâu tùy ý với các đường kính thân cây, và đã thử nghiệm nhiều loại nguyên liệu khác nhau để cho vào lỗ khoan như: dùng mật, mỡ và nước xác kiến trộn đều và nạp vào lỗ khoan; dùng axit clohydric pha loãng nạp vào lỗ khoan; dùng nước chanh đậm đặc nạp vào lỗ khoan. Bằng các cách này đã cho người dân thu hoạch được năng suất cao hơn trước. Nhược điểm của các cách tạo trầm hương này là: (1) chất lượng trầm hương không cao do vùng có trầm hương tiếp xúc với ánh sáng, không khí và độ ẩm; (2) thời gian để có sản phẩm dài; (3) không thể áp dụng hàng loạt

và sản xuất một lượng sản phẩm lớn; (4) còn dùng hóa chất độc hại nên sản phẩm chưa đạt sản phẩm hữu cơ.

Bằng sáng chế số 1-0005410 của tác giả Nguyễn Ngọc Sơn (VN) công bố 26/02/2006 “hỗn hợp tạo trầm hương, chế phẩm chứa hỗn hợp tạo trầm hương này và phương pháp sản xuất”. Sáng chế đề cập đến hỗn hợp tạo trầm hương, chế phẩm tạo trầm chứa hỗn hợp này và phương pháp sản xuất hỗn hợp tạo trầm hương để kích thích cây dó tạo trầm hương, hỗn hợp này thu được từ các nguyên liệu với tỷ lệ % khối lượng như sau: lá dó tươi 40-46; bột gạo tẻ 50-56; sâu xanh *Pyralidae* 1,4 - 1,8; nước 1,8-2,2. Phương pháp sản xuất hỗn hợp tạo trầm hương theo sáng chế này gồm các bước: nghiền sâu xanh *Pyralidae* với nước sạch thành dung dịch màu xanh; xay lá dó thành bột mịn màu xanh; trộn kỹ bột lá dó mịn với dung dịch sâu xanh, cho vào bình đựng có nắp đưa vào lò ủ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 36 đến 40°C trong thời gian 68 đến 72 giờ, lấy sản phẩm ra để nguội tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong khoảng thời gian từ 10 đến 12 giờ, trộn kỹ với bột gạo tạo thành khối mịn ướt; đưa vào lò sấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 36 đến 40°C trong khoảng thời gian từ 68 đến 72 giờ để thu được hỗn hợp tạo trầm hương. Ưu điểm của phương pháp này là: (1) Kích thích tạo trầm hương cao cấp hơn; (2) Rút ngắn thời gian tạo trầm; (3) Nguyên liệu sử dụng hoàn toàn hữu cơ không sử dụng hóa chất. Song sáng chế có những hạn chế như sau: (1) Lượng lá dó tươi và sâu xanh *Pyralidae* không đủ lớn và có thường xuyên để làm nguyên liệu cho sản xuất; (2) Khả năng mở rộng vào sản xuất công nghiệp là khó.

Bằng sáng chế số 1-0006885 của tác giả BLanchett và CS “Phương pháp sản xuất trầm hương” chủ bằng là Regents of university of minnesota, công bố ngày 25/04/2008. Tác giả đã dùng một số chất hóa học và vi sinh vật để cho vào lỗ khoan trên cây dó, cụ thể như: natri bisulfit, NaCl, Sắt (III)clorua, Sắt (II)clorua, chitin, axit fomic, xenlulozơ, axit salixylic, bột sắt, chất chiết nấm men hoặc các vi sinh vật thuộc *Deuteromycota* sp., *Ascomycota* sp., *Basidiomycota* sp., Ưu điểm của sáng chế là đã đưa ra hàng loạt hóa chất và các vi sinh vật kích thích tạo trầm,

hiệu quả ảnh hưởng của các hóa chất là khác nhau, chưa rõ ràng và cụ thể nên cũng chưa áp dụng rộng được, nhược điểm của sáng chế này là: (1) sử dụng hóa chất nên sản phẩm trầm hương sẽ có chất lượng không đạt như tự nhiên và không thể đăng ký là sản phẩm “Trầm hương hữu cơ” được; (2) không có khả năng mở rộng trong sản xuất do khi áp dụng đã làm cho cây dó bầu bị tổn thương do hóa chất và tỷ lệ cây sau khi xử lý bị chết nhiều, tỷ lệ có thể tới 50-60%; (3) khả năng gây ô nhiễm vườn cây và sức khỏe cho người sử dụng cao.

Ở Việt Nam, vào những năm 1980-1990 dưới sự hỗ trợ của chính phủ, phong trào trồng cây dó bầu phát triển mạnh, nhưng sau 20-30 năm thì vẫn chưa nghiên cứu thành công được chế phẩm tạo trầm hương, có hiệu quả trên cây dó, vì thế trong thời gian qua đã xảy ra hai xu thế: (1) chặt bỏ cây dó bầu, hiện tượng này xảy ra ở khắp nơi, cây dó bầu sau khi chặt bỏ không sử dụng được vào các mục đích khác, thậm chí là không thể làm củi nhiên liệu đốt vì thân cây xốp, nhẹ và nhiều khói; (2) dùng hóa chất bán trôi nổi trên thị trường để kích thích ra trầm hương, đã làm cho cây chết nhiều và sản phẩm hiện nay thu được chứa hóa chất đã làm giảm lòng tin của thị trường tiêu thụ; (3) chế phẩm vi sinh thì chất lượng chưa cao, không ổn định về chất lượng, chưa có các cơ sở khoa học và pháp lý cho người sử dụng do vậy chưa mở ra được một niềm tin trong sản xuất. Thực tế ngành công nghiệp trầm hương Việt Nam đang đứng trên bờ nguy cơ đổ vỡ, mất vùng nguyên liệu nếu không tìm được công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh có chất lượng cao, có cơ sở khoa học, có hiệu quả và đáp ứng được ở quy mô công nghiệp, rõ ràng cho tới nay chúng ta vẫn rất cần tạo ra một sản phẩm có nguồn gốc hoàn toàn tự nhiên, vi sinh, hữu cơ và có khả năng sản xuất công nghiệp để kích thích tạo trầm hương trên cây dó, xuất phát từ mong muốn đó, sáng chế đã đưa ra quy trình sản xuất chế phẩm sinh học kích thích tạo trầm trên cây dó, có những thành phần chính như sau: (1) hỗn hợp các vi sinh vật có khả năng gây tổn thương cho cây dó được phân lập chính từ các mẫu vật trầm hương và thân cây dó, trong đó chú ý nhất là nhóm *Fusarium* sp. và *Aspergillus* sp.. được nuôi cấy đặc biệt trên môi trường xốp; (2) hỗn hợp các dịch chiết hữu cơ từ cám, ngô, đậu tương; (3)

mật đường mía và (4) dịch chiết từ cây dó, bằng cách sử dụng dịch thải sau chưng cất tinh dầu trầm hương. Với sáng chế mới, sẽ đạt được các mục đích như sau: (1) sẽ kích thích tạo trầm hương sớm và nhiều hơn; (2) trầm hương đạt tiêu chuẩn “trầm hương hữu cơ” có chất lượng tốt; (3) khả năng chủ động trong mở rộng sản xuất kinh doanh do chủ động được các nguồn nguyên liệu đầu vào dễ kiếm, rẻ và có khối lượng lớn; (4) tận thu được dịch thải sau khi chưng cất tinh dầu trầm hương tại các nhà máy sản xuất tinh dầu.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Nhằm khắc phục được những nhược điểm của các sáng chế đã có, sáng chế mới đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm sinh học kích thích tạo trầm hương trên cây dó bầu gồm các bước như sau: (i) sản xuất hỗn hợp các vi sinh vật; (ii) sản xuất hỗn hợp các dịch chiết hữu cơ; (iii) chuẩn bị rỉ mật đường mía; (iv) chuẩn bị dịch chiết từ cây dó và (v) phối trộn để tạo ra chế phẩm.

Mô tả chi tiết sáng chế

(i) Sản xuất hỗn hợp các vi sinh vật

a) Phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh, để có được các chủng vi sinh vật phát triển phù hợp trên cây dó, đã phân lập tuyển chọn từ hàng trăm mẫu cây dó phát triển tự nhiên, đã được cấy vi sinh vật và bị tổn thương tự nhiên do môi trường sống, bằng các thao tác kỹ thuật của nghiên cứu vi sinh đã thu được nhiều chủng vi sinh vật thuộc các nhóm: nấm mốc, xạ khuẩn, vi khuẩn ... tần suất các chủng vi sinh vật được bắt gặp trong tất cả các mẫu thường là: *Aspergillus japonicus.*, *Trichoderma viride Pers.*, *Bacillus polyfermenticus.*, *Streptomyces thermocoprophilus.*, *Fusarium moniliforme.*, các chủng này đã được nghiên cứu kỹ về sinh lý sinh hóa và đã được chụp ảnh qua kính hiển vi điện tử với độ phóng đại 10.000 lần, đồng thời cũng đã được nằm trong bộ giống vi sinh vật có đăng ký bản quyền tác giả số 3412/2013/QTG của Cục bản quyền tác giả cấp cho Công ty cổ phần công nghệ sinh học, các chủng vi sinh vật này hiện nay đang được lưu giữ và bảo quản tại phòng vi sinh vật của Công ty cổ phần công nghệ sinh học.

b) Nuôi cấy và thu nhận sinh khối các chủng vi sinh vật, các chủng vi sinh vật được nuôi cấy và thu nhận sinh khối trên các môi trường đặc thù, môi trường NA(g/l) nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus polyfermenticus* gồm: Cao thịt - 5,0, pepton - 10,0, NaCl - 5,0, nước – 1l, pH - 6,5-7,0, môi trường KT(g/l) nuôi cấy *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus japonicus*, *Trichoderma viride* Pers gồm: khoai tây - 200,0, đường kính - 20,0, pH - 7,0, môi trường ISP₄ (g/l) nuôi cấy xạ khuẩn *Streptomyces thermocoprophilus* gồm: MgSO₄.7H₂O - 1,0, NaCl - 1,0, K₂HPO₄ - 1,0, CaCO₃ - 2,0, (NH₄)₂SO₄ - 1,0, dịch vi lượng -1 ml, tinh bột tan - 10,0, pH-7,0. Tất cả các chủng vi sinh vật đều được nuôi cấy trên máy lắc 200 vòng/phút, thời gian nuôi là 48 giờ đối với vi khuẩn, nấm và 72 giờ đối với xạ khuẩn, dịch nuôi cấy lỏng được sử dụng như là nguồn giống cấp 2 để cấy vào môi trường xốp có tinh bột gạo, tỷ lệ giống vi sinh trên môi trường tinh bột gạo là 10 - 15 %, sao cho độ ẩm ban đầu là 60- 65%, quá trình lên men được ủ ở nhiệt độ thích hợp là 30°C - 40°C, sau 3-4 ngày độ ẩm được điều chỉnh về 30-35%, sau đó được hong khô ở nhiệt độ 30°C - 50°C, số lượng vi sinh vật đơn lẻ thu được có thể dùng để trộn thành chế phẩm tạo trâm cho cây dó hoặc làm giống để đưa vào sản xuất ở cấp độ nhiều hơn, tỷ lệ nhân giống cho các cấp độ tiếp theo vẫn là 10-15%.

c) Sản xuất chế phẩm hỗn hợp các vi sinh vật, trước khi đưa vào phối trộn, số lượng các nhóm vi sinh vật đơn lẻ thu được ở phần (b) được xác định và kiểm tra trên các môi trường tương ứng ISP₄, KT và NA, sao cho số lượng phải đạt từ 1×10^9 - 1×10^{10} CFU/g, tiếp theo các nhóm nấm, xạ khuẩn và vi khuẩn được trộn đều với nhau theo tỷ lệ 1:1:1 để tạo thành hỗn hợp các vi sinh vật kích thích tạo trâm hương trên cây dó.

(ii) Sản xuất hỗn hợp dịch chiết hữu cơ, nguyên liệu để sản xuất dịch chiết hữu cơ là cám gạo, bột ngô, bột đậu tương, cân 1kg cám gạo + 1kg bột ngô + 0,2 kg bột đậu tương cho vào nồi với 10 lít nước, sau đó được cho vào nồi hấp ở 0,5 atm (khoảng 50,7 kPa) trong thời gian 30 phút, thu được dịch chiết hữu cơ.

(iii). Chuẩn bị rỉ mật đường, rỉ mật đường mía là sản phẩm phụ của ngành sản xuất đường, được bán trên thị trường, cần chọn loại thơm mùi mật có độ Bx ≥ 40 .

(iv). Chuẩn bị dịch chiết từ cây dó, trong quá trình chưng cất tinh dầu trầm hương, sau khi thu tinh dầu, lượng nước còn lại trong thùng tách sẽ được đem đi cô trong thiết bị cô chân không, tỷ lệ thu hồi là 4 lít nước đem cô thu được 1 lít dịch chiết, trong dịch chiết cây dó có các hoạt chất sinh học và lượng nhỏ tinh dầu trầm còn lại sẽ kích thích cây dó tạo trầm hương tốt hơn.

(v) Phối trộn để tạo chế phẩm, chế phẩm kích thích tạo trầm hương trên cây dó được phối trộn theo công thức (% trọng lượng) như sau:

- 1- Hỗn hợp vi sinh vật: 5;
- 2- Dịch chiết hữu cơ: 50;
- 3- Rỉ mật đường mía: 5;
- 4- Dịch chiết cây dó: 40;

chế phẩm được sản xuất như sau: hỗn hợp vi sinh vật, dịch chiết hữu cơ, rỉ mật đường mía và dịch chiết cây dó được trộn đều với nhau đóng vào chai nhựa hoặc can, được dán nhãn BIO-TH77 – chế phẩm sinh học kích thích tạo trầm hương trên cây dó, ghi rõ thành phần và cách sử dụng cho một cây dó, định mức sử dụng cho 1 cây dó bầu là 1 lít chế phẩm, chế phẩm kích thích tạo trầm hương trên cây dó bầu theo sáng chế được sản xuất hoàn toàn từ nguyên liệu tự nhiên, có nguồn gốc thực vật, không chứa bất kỳ hóa chất nào, do vậy không gây ảnh hưởng tới sinh trưởng phát triển của cây, đặc biệt không gây chết cây như các sản phẩm hóa chất khác, tinh dầu trầm hương và các sản phẩm từ cây dó có sử dụng chế phẩm của sáng chế đều đạt tiêu chuẩn sản phẩm hữu cơ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Sản xuất 6kg hỗn hợp vi sinh

Các chủng vi sinh vật: *Aspergillus japonicus*., *Trichoderma viride Pers.*, *Bacillus polyfermenticus*., *Streptomyces thermocoprophilus*., *Fusarium moniliforme*, được lấy từ kho bảo quản giống của Công ty CP công nghệ sinh học. Chuẩn bị môi trường NA (g/l) nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus polyfermenticus* gồm: Cao thịt - 5,0, pepton - 10,0, NaCl - 5,0, nước - 1 lít, pH - 6,6-7,0, môi trường KT(g/l) nuôi cấy nấm *Aspergillus japonicus* , *Fusarium moniliforme*, *Trichoderma viride Pers* gồm: khoai tây - 200,0, đường kính - 20,0, pH - 7,0, môi trường ISP₄ (g/l) nuôi cấy xạ khuẩn *Streptomyces thermocoprophilus* gồm: MgSO₄.7H₂O - 1,0, NaCl - 1,0, K₂HPO₄ - 1,0, CaCO₃ - 2,0, (NH₄)₂SO₄ - 1,0, dịch vi lượng -1 ml, tinh bột tan - 10,0, pH-7,0, các chủng vi sinh vật được nuôi cấy lắc, đối với vi khuẩn, nấm nuôi 48 giờ, xạ khuẩn nuôi 72 giờ, dịch nuôi cấy lỏng được sử dụng như là nguồn giống cấp 2 để cấy vào môi trường tinh bột, cân 6kg tinh bột gạo chia làm 3 phần để cấy 3 nhóm vi sinh vật khác nhau, mỗi phần là 2kg, sau khi trộn giống cấp 2 lên tinh bột thì được ủ ở nhiệt độ là 35°C-37°C, sau 3 ngày điều chỉnh độ ẩm về 30-35% và hong khô ở nhiệt độ 40°C-50°C, trước khi trộn các tổ hợp vi sinh vật để tạo thành chế phẩm thì phải xác định mật độ vi sinh vật trong từng loại, sao cho phải đạt được $1.10^9 - 1.10^{10}$ CFU/g, tỷ lệ các nhóm vi sinh vật nấm : xạ khuẩn : vi khuẩn được trộn lẫn nhau theo tỷ lệ 1:1:1 để tạo thành chế phẩm vi sinh vật kích thích tạo trầm, kết quả thu được 6kg chế phẩm vi sinh.

Ví dụ 2: Sản xuất 50kg chế phẩm BIO.TH77 kích thích tạo trầm hương trên cây dó bầu

- a) Chuẩn bị 5kg chế phẩm vi sinh vật như ở ví dụ 1
- b) Chuẩn bị dịch chiết hữu cơ, cân 5kg cám gạo + 5kg bột ngô và 1 kg bột đậu tương, tất cả cho vào nồi và bổ sung 50 lít nước, tiếp theo là đem đi hấp chín ở áp suất 0,5 atm (khoảng 50,7 kPa) với thời gian giữ là 30 phút sẽ thu được dịch chiết hữu cơ;
- c) Chuẩn bị rỉ mật đường mía: mua 5 kg rỉ mật mía đảm bảo chất lượng;

d) Chuẩn bị dịch chiết cây dó, dùng 160kg nước tách tinh dầu trầm hương trong quá trình chưng cất tinh dầu trầm hương từ cây dó, cho vào thiết bị cô chân không cô tới khi còn 40kg sẽ thu được dịch chiết cây dó;

e) Phối trộn chế phẩm, chế phẩm BIO.TH77 kích thích tạo trầm hương trên cây dó được phối trộn như sau: lấy 5kg chế phẩm vi sinh (ví dụ 1) cùng với 50kg dịch chiết hữu cơ, với 5kg rỉ mật đường mía và 40kg dịch chiết cây dó trộn đều và đóng vào 10 can, mỗi can chứa 10kg đủ để xử lý cho 10 cây dó bầu, như vậy 100kg chế phẩm đủ để xử lý cho 100 cây dó bầu có độ tuổi từ 10 đến 15 năm.

Ví dụ 3: Sử dụng chế phẩm BIO.TH77 của sáng chế để cấy vào cây dó bầu

Chọn 10 cây dó bầu có độ tuổi từ 10 - 15 năm, có đường kính 20 - 30cm, cao 15 - 18m, dùng 10kg chế phẩm trong can (ở ví dụ 2), trước khi sử dụng được lắc đều và chia vào chai nhựa 1 lít, lấp vôi nhựa mềm dài 15cm đường kính 0,2-0,3cm dùng để bón dung dịch chế phẩm tạo trầm vào lỗ khoan trên cây dó, dùng mũi khoan $\varnothing 8$ để tạo lỗ trên thân cây dó, khoan các mũi cách nhau 15cm có độ nghiêng chừng 10 - 15° về phía gốc để dung dịch không bị chảy ra, các lỗ khoan phải so le nhau theo hướng từ dưới lên cách nhau khoảng 20cm, độ sâu của mũi khoan không quá 2/3 đường kính thân cây nhằm không để cây bị yếu mà chết hay đổ, dung dịch được bơm vào lỗ khoan tới đầy lỗ, khi bơm dung dịch tránh trời mưa, chọn thời tiết hanh khô là tốt nhất, sau khi bơm chế phẩm từ 3 - 5 ngày cây dó có triệu chứng héo rũ lá, sau đó thì bình phục nhanh và phát triển tốt, bình thường, hiện tượng tích lũy trầm bắt đầu từ đây và được kéo dài nhiều năm sau, chất lượng có trầm phụ thuộc vào thời gian thu hoạch, nếu thời gian càng kéo dài thì chất lượng càng cao, sau 18 tháng thí nghiệm lấy ngẫu nhiên từ 10 cây thực nghiệm từ các lỗ khoan thu được nhiều miếng trầm có độ dày từ 0,6 mm tới 0,8mm, chất lượng trầm đạt loại 5, trong khi đó cây đối chứng không xử lý không có trầm.

Hiệu quả đạt được theo sáng chế

Sáng chế đưa ra một chế phẩm mới nhằm kích thích tạo trầm trên cây dó bầu hiệu quả hơn, kích thích ra trầm nhanh hơn, nhiều hơn, chế phẩm hoàn toàn có nguồn gốc từ thực vật và vi sinh vật được phân lập từ những cây dó bầu, do vậy khi sử dụng để tiêm vào các lỗ khoan trên cây dó bầu hoàn toàn không gây hại và chết cây, các sản phẩm thu được sau này như trầm hương, tinh dầu, các sản phẩm từ cây dó đều đạt tiêu chuẩn hữu cơ và có giá trị kinh tế cao, sản phẩm có khả năng sản xuất và ứng dụng ở quy mô công nghiệp, đem lại hiệu quả kinh tế cao cho người trồng và chế biến cây dó bầu nói riêng và toàn ngành trầm hương ở Việt Nam và trên thế giới.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất chế phẩm sinh học kích thích tạo trầm hương trên cây dó bầu (*Aquilaria malaccensis*) bao gồm các bước:

(i) sản xuất hỗn hợp các vi sinh vật: các vi sinh vật được phân lập tuyển chọn từ mẫu cây dó phát triển tự nhiên đã được cấy vi sinh vật hay bị tổn thương, thuộc các nhóm nấm mốc, xạ khuẩn, vi khuẩn: *Aspergillus japonicus*, *Trichoderma viride* Pers, *Bacillus polyfermenticus*, *Streptomyces thermocoprophilus*, *Fusarium moniliforme*, các chủng vi sinh vật được nuôi cấy và thu nhận sinh khối trên các môi trường đặc thù, môi trường NA(g/l) nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus polyfermenticus* gồm: cao thịt - 5,0, pepton - 10,0, NaCl - 5,0, nước – 1l, pH - 6,5-7,0, môi trường KT(g/l) nuôi cấy *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus japonicus*, *Trichoderma viride* Pers gồm: khoai tây - 200,0, đường kính - 20,0, pH - 7,0, môi trường ISP₄ (g/l) nuôi cấy xạ khuẩn *Streptomyces thermocoprophilus* gồm: MgSO₄.7H₂O - 1,0, NaCl - 1,0, K₂HPO₄ - 1,0, CaCO₃ - 2,0, (NH₄)₂SO₄ - 1,0, dịch vi lượng -1 ml, tinh bột tan - 10,0, pH-7,0, tất cả các chủng vi sinh vật đều được nuôi cấy trên máy lắc 200 vòng/phút, thời gian nuôi là 48 giờ đối với vi khuẩn, nấm và 72 giờ đối với xạ khuẩn, dịch nuôi cấy lỏng được sử dụng như là nguồn giống cấp 2 để cấy vào môi trường xốp có tinh bột gạo, tỷ lệ giống vi sinh trên môi trường tinh bột gạo là 10 - 15 %, sao cho độ ẩm ban đầu là 60- 65%, quá trình lên men được ủ ở nhiệt độ thích hợp là 30°C - 40°C, sau 3-4 ngày độ ẩm được điều chỉnh về 30-35%, sau đó được hong khô ở nhiệt độ 30°C - 50°C, số lượng vi sinh vật đơn lẻ thu được có thể dùng để trộn thành chế phẩm tạo trầm cho cây dó hoặc làm giống để đưa vào sản xuất ở cấp độ nhiều hơn, tỷ lệ nhân giống cho các cấp độ tiếp theo vẫn là 10-15%, các nhóm nấm, xạ khuẩn và vi khuẩn được trộn đều với nhau theo tỷ lệ 1:1:1 để tạo thành hỗn hợp các vi sinh vật kích thích tạo trầm hương trên cây dó;

(ii) sản xuất hỗn hợp dịch chiết hữu cơ từ cám gạo, bột ngô, bột đậu tương: cân 1kg cám gạo + 1kg bột ngô + 0,2 kg bột đậu tương cho vào nồi với 10 lít nước,

sau đó cho vào nồi hấp ở 0,5 atm (khoảng 50,7 kPa) trong thời gian 30 phút, thu được dịch chiết hữu cơ;

(iii) chuẩn bị rỉ mật có độ Bx ≥ 40 ;

(iv) chuẩn bị dịch chiết từ cây dó: sau khi thu tinh dầu lượng nước còn trong thùng tách sẽ được đem đi cô trong thiết bị cô chân không, tỷ lệ thu hồi là 4 lít nước đem cô thu được 1 lít dịch chiết, trong dịch chiết cây dó có các hoạt chất sinh học và lượng nhỏ tinh dầu trầm còn lại sẽ kích thích cây dó tạo trầm hương tốt hơn;

(v) phối trộn để tạo chế phẩm: chế phẩm kích thích tạo trầm hương trên cây dó được phối trộn theo công thức (% trọng lượng) như sau: hỗn hợp vi sinh vật: 5, dịch chiết hữu cơ: 50, rỉ mật đường mía: 5, dịch chiết cây dó: 40, các thành phần trên được trộn đều với nhau, đóng vào chai nhựa hoặc can, có dán mác BIO-TH77, ghi rõ thành phần và cách sử dụng cho cây dó, định mức sử dụng cho 1 cây là 1 lít chế phẩm.