



(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)



2-0003218

(51) **C12N 1/04; C12N 1/02**
2019.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00034

(22) 21/01/2020

(45) 25/07/2023 424

(43) 26/07/2021 400

(73) Viện Công nghệ sinh học (VN)

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam - nhà
A10, số 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội

(72) Đỗ Thị Liên (VN); Lê Thị Nhi Công (VN); Đỗ Thị Tố Uyên (VN); Cung Thị Ngọc
Mai (VN); Hoàng Phương Hà (VN).

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM VI KHUẨN TÍA QUANG HỢP DẠNG LÔNG
SỆT DÙNG ĐỂ XỬ LÝ SULFUA VÀ HỢP CHẤT HỮU CƠ TRONG AO NUÔI TRỒNG
THỦY SẢN VÀ CHẾ PHẨM THU ĐƯỢC TỪ QUY TRÌNH NÀY

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp
dạng lông sệt chứa các chủng *Rhodobacter* sp. NĐ₁, *Rhodobacter* sp. TG₁, *Rhodovulum
sulfidophilum* TH₂₁ và *Rhodopseudomonas* sp. NĐ₅ dùng để xử lý sulfua và hợp chất hữu
cơ trong đáy ao nuôi trồng thủy sản gồm các bước sau:

Bước 1: Nhân giống từ ống thạch nghiêng sang môi trường lỏng trong bình 10 ml

Bước 2: Nhân giống trong bình thủy tinh 500 ml

Bước 3: Nhân giống trong bình nhựa trong 5, 10, 20 (lít)

Bước 4: Nhân giống sang bình có thể tích lớn 50, 100, 1000 (lít) để thu sinh khối vi
khuẩn tía quang hợp.

Bước 5: Thu sinh khối vi khuẩn tía quang hợp bằng chitosan nồng độ 150 mg/l

Bước 6: Tạo chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lông sệt bằng caragenan

Ngoài ra, giải pháp hữu ích còn đề cập đến chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lông
sệt chứa các chủng *Rhodobacter* sp. NĐ₁, *Rhodobacter* sp. TG₁, *Rhodovulum sulfidophilum*
TH₂₁ và *Rhodopseudomonas* sp. NĐ₅ dùng để xử lý sulfua và hợp chất hữu cơ trong đáy ao
nuôi trồng thủy sản và chế phẩm thu được từ quy trình này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực xử lý ô nhiễm môi trường bằng biện pháp sinh học, cụ thể là đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt dùng để xử lý sulfua và hợp chất hữu cơ trong đáy ao nuôi trồng thủy sản.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Hiện nay xu thế ứng dụng chế phẩm sinh học trong nuôi trồng thủy sản đang nhận được sự quan tâm lớn vì chúng vừa an toàn với vật nuôi vừa thân thiện với môi trường. Chế phẩm sinh học đã góp phần tích cực trong cải thiện và bảo vệ môi trường trong ao nuôi thủy sản so với việc sử dụng hóa chất và thuốc kháng sinh. Trong các loại chế phẩm xử lý đáy ao nuôi trồng thủy sản thì chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp là một trong các đối tượng được chú trọng và ứng dụng rộng rãi. Vi khuẩn tía quang hợp là nhóm vi khuẩn thủy sinh có khả năng sinh trưởng trong điều kiện kỵ khí bằng cách quang hợp nhưng không thải oxy như những đối tượng quang dưỡng khác. Vi khuẩn tía quang hợp được coi là nhóm vi khuẩn hữu ích nhất để cải thiện chất lượng nước nuôi trồng thủy sản đặc biệt là ao nuôi tôm (Antony và Philip, 2006; Zhou *et al.*, 2008), chúng có thể sử dụng các chất hữu cơ dư thừa, sulfua, amoni... cho sinh trưởng. Bên cạnh đó, vi khuẩn tía quang hợp còn được coi là vi khuẩn có lợi vì tế bào của chúng có chứa hàm lượng cao protêin, các axit amin thiết yếu, các vitamin B12, ubiquinon và carotenoid (Shapawi *et al.*, 2012; Kornochalart *et al.*, 2014). Ngoài khả năng xử lý sulfua và các hợp chất hữu cơ, vi khuẩn tía quang hợp còn có vai trò tăng số lượng phù du, tăng cường chuỗi thức ăn và tăng giá trị dinh dưỡng của vật nuôi (Azad., 2002; Loo., 2012; Zizhong *et al.*, 2009) và cũng là nhóm chiếm ưu thế thích nghi tự nhiên trong các ao nuôi tôm (Antony và Philip, 2006; Kornochalart *et al.*, 2014; Mukkata *et al.*, 2015).

Ở nhiều nước trên thế giới, chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp được ứng dụng để xử lý nước nuôi trồng thủy sản như Nhật Bản, Trung Quốc, Thái Lan và Ấn Độ... Nhóm tác giả Qi và cộng sự đã công bố tại Trung Quốc chế phẩm sinh học sử dụng trong nuôi trồng thủy sản chủ yếu là nhóm vi khuẩn tía quang hợp và nhóm vi khuẩn đối kháng với vi sinh vật gây bệnh (Qi *et al.*, 2009). Nhóm tác giả Li và cộng sự đã nghiên cứu sử dụng chế phẩm probiotic có bổ sung thêm nhóm vi khuẩn tía quang hợp để cải thiện chất lượng nước ao nuôi, giảm hàm lượng các chất hữu cơ, amoni, sulfua và các chất độc hại khác (Li *et al.*, 1997). Nhóm tác giả Cui và cộng sự từ năm 1997

đã sử dụng vi khuẩn tía quang hợp xử lý ao ương giống tôm, kết quả đã chỉ ra rằng: chất lượng nước của ao nuôi được cải thiện và thời gian biến thái của tôm giống cũng được rút ngắn so với đối chứng.

Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp có trên thị trường chủ yếu ở 2 dạng: dạng bột (thường là các tế bào chết) dùng để bổ sung vào thức ăn chăn nuôi (Azad, 2002) và chế phẩm dạng dịch (tế bào sống) chủ yếu ứng dụng làm thức ăn sống và xử lý nước nuôi trồng thủy sản. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp sản xuất tại Trung Quốc dùng để xử lý nước ao nuôi trồng thủy sản chủ yếu được đóng chai 0,5, 1,5 và 5 lít. Tại Ấn Độ chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp với chức năng xử lý sulfua và hữu cơ có tên thương mại là Supper PS được đóng vào can 5; 10; 20 lít.

Hiện nay, trên thị trường nước ta có các chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng dịch nhập ngoại từ các nước như Nhật Bản, Trung Quốc, Ấn Độ, Thái Lan)... Các chế phẩm này đều có giá thành cao vì bao gồm chi phí vận chuyển và nhập khẩu. Hơn nữa, các chế phẩm này cũng chưa có công bố nào khẳng định chúng có phù hợp với điều kiện khí hậu hay có làm ảnh hưởng đến sự bền vững của hệ sinh thái môi trường ở nước ta hay không.

Cũng xuất phát từ nhu cầu xử lý đáy ao nuôi trồng thủy sản, chúng tôi đã phân lập và tuyển chọn được các chủng vi khuẩn tía quang hợp có khả năng loại bỏ sulfua và các hợp chất hữu cơ cao nhất để sản xuất chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng dịch xử lý đáy ao nuôi thủy sản. Các chủng đã được nghiên cứu kỹ các đặc điểm sinh lý, sinh hóa và vị trí phân loại cũng như các điều kiện tối ưu như nhiệt độ, pH, nồng độ muối và cường độ ánh sáng cho vi khuẩn tía quang hợp sinh trưởng. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp ứng dụng xử lý môi trường trong ao nuôi cá rô phi, nuôi tôm và cá tra. Kết quả cho thấy khi bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp theo định kỳ giúp môi trường nuôi được đảm bảo và góp phần ảnh hưởng tốt đến sinh trưởng của con nuôi. Tuy nhiên, nước ta có khoảng hơn 3000 km đường bờ biển và nghề nuôi trồng thủy sản chủ yếu tập trung tại các tỉnh ven biển, do vậy, chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp ở dạng dịch gặp khó khăn trong quá trình vận chuyển và phân phối tới các vùng nuôi trồng thủy sản trong cả nước. Do vậy, chúng tôi đã nghiên cứu để tạo chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt để dễ dàng vận chuyển, giảm giá thành và phù hợp với nhu cầu thực tế của nông hộ nuôi thủy sản. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt khắc phục được khó khăn mà chế phẩm dạng dịch gặp phải, điều này tạo điều kiện cho nông hộ được mua chế phẩm sản xuất từ nhóm vi khuẩn hữu ích

bản địa, đây cũng là việc làm rất cần thiết để phát triển bền vững nghề nuôi tôm phục vụ nhu cầu trong nước và xuất khẩu.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là khắc phục hạn chế của các chế phẩm trong nước, nhập ngoại và chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng dịch dùng để xử lý sulfua và hợp chất hữu cơ trong đáy ao nuôi trồng thủy sản. Để đạt được mục đích đó, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt, chủng giống được phân lập tại Việt Nam với khả năng loại bỏ sulfua và hợp chất hữu cơ cao trong đáy ao nuôi trồng thủy sản. Quy trình theo giải pháp hữu ích bao gồm các bước:

Bước 1: Nhân giống từ ống thạch nghiêng sang môi trường lỏng trong bình 10 ml

Bước 2: Nhân giống trong lọ thủy tinh 500 ml

Bước 3: Nhân giống trong bình nhựa trong 5, 10, 20 (lít)

Bước 4: Nhân giống sang bể có thể tích lớn 50, 100, 1000 (lít)

Bước 5: Thu sinh khối vi khuẩn tía quang hợp bằng chitosan

Bước 6: Tạo chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt

Giải pháp hữu ích cũng đề cập đến chế phẩm thu được từ quy trình này, trong đó chế phẩm có chứa các chủng vi khuẩn tía quang hợp được tuyển chọn có khả năng loại bỏ sulfua và các hợp chất hữu cơ cao trong đáy ao nuôi trồng thủy sản. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt thu được đạt mật độ cao (khoảng 10^{11} - 10^{12} CFU/ml) và được sử dụng xử lý sulfua và hợp chất hữu cơ trong đáy ao nuôi trồng thủy sản.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig 1: thể hiện quy trình tạo chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt

Fig 2: thể hiện khả năng sinh trưởng và hoạt tính loại bỏ sulfua của 4 chủng tạo chế phẩm.

Fig 3: thể hiện hình ảnh tế bào của các chủng lựa chọn

Fig 4: thể hiện các chủng vi khuẩn tía quang hợp không đối kháng nhau

Fig 5: thể hiện nuôi hỗn hợp vi khuẩn tía quang hợp trên các nguồn cơ chất khác nhau

Fig 6: thể hiện nuôi hỗn hợp vi khuẩn tía quang hợp trên môi trường chứa bột đậu tương và glutamat

Fig 7: thể hiện các phương pháp thu sinh khối vi khuẩn tía quang hợp

Fig 8: thể hiện hình ảnh tạo các dạng chế phẩm dạng lỏng sệt

Fig 9: thể hiện hình ảnh chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt để xử lý sulfua và hợp chất hữu cơ trong đáy ao nuôi trồng thủy sản được thể hiện trên Fig. 1 và trình bày một cách chi tiết dưới đây:

Bước 1: Nhân giống từ ống thạch nghiêng sang môi trường lỏng trong bình 10 ml

Bốn chủng vi khuẩn tía quang hợp được lựa chọn để tạo chế phẩm sử dụng trong quy trình theo giải pháp hữu ích là các chủng NĐ₁, NĐ₅, TH₂₁ và TG₁. Các chủng này được phân lập và tuyển chọn có khả năng sinh trưởng và hoạt tính loại bỏ sulfua cao nhất trong bộ sưu tập giống tại Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hai chủng NĐ₁ và NĐ₅ được phân lập từ các mẫu bùn đáy các ao nuôi trồng thủy sản tại Nam Định. Chủng TH₂₁ được phân lập từ các mẫu bùn đáy các ao nuôi trồng thủy sản tại Thanh Hóa. Chủng TG₁ được phân lập từ ao nuôi cá tra tại Cái Bè, Tiền Giang, Việt Nam. Hai chủng NĐ₁ và TG₁ mang đặc trưng của chi *Rhodobacter*: dịch huyền phù tế bào của chúng có màu đỏ đậm với cực đại hấp thụ tại bước sóng 853 và 856 nm. Tế bào chủng NĐ₁ có dạng hình cầu kích thước 0,5 – 0,8 μm , tế bào chủng TG₁ có dạng hình oval kích thước 0,9 – 1,3 μm . Cả 2 chủng sinh sản bằng cách nhân đôi, chúng có dạng đơn bào hoặc có thể tạo chuỗi tế bào. Chủng TH₂₁ mang đặc trưng của chi *Rhodovulum*: dịch huyền phù tế bào có màu nâu vàng có cực đại hấp thụ tại bước sóng 855 nm, tế bào có dạng hình cầu, tồn tại ở dạng đơn bào, đường kính 0,8-1,2 μm , sinh sản bằng cách nhân đôi, không quan sát thấy “giọt” lưu huỳnh tích lũy trong tế bào. Chủng NĐ₅ mang đặc điểm của chi *Rhodopseudomonas*: tế bào có dạng hình que bất đối xứng, dịch huyền phù của chúng có màu đỏ tía có cực đại tại 854 nm, sinh sản bằng cách nảy chồi.

Dựa vào các đặc điểm về hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào, các đặc điểm về sinh lý, sinh hóa và dựa vào phân tích trình tự đoạn gen 16S rRNA các chủng lựa chọn đã được định tên như sau: *Rhodobacter* sp. NĐ₁, *Rhodobacter* sp. TG₁, *Rhodovulum sulfidophilum* TH₂₁ và *Rhodopseudomonas* sp. NĐ₅.

Khả năng sinh trưởng và hoạt tính loại bỏ sulfua của 4 chủng được mô tả ở Fig 2. Khả năng sinh trưởng được thể hiện bằng độ hấp phụ của dịch huyền phù tế bào tại bước sóng 800 nm (OD_{800}), hoạt tính loại bỏ sulfua được thể hiện bằng lượng sulfua còn lại trong môi trường nuôi, hàm lượng sulfua được xác định bằng phương pháp so màu với thuốc thử dimethyl-p-phenylenediamin. Môi trường nuôi cấy vi khuẩn tía

quang hợp là môi trường DSMZ 27 bao gồm các thành phần sau: cao nấm men (0,3 g/l), suxinat - Na (1 g/l), axetat (0,5 g/l), K_2HPO_4 (1g/l), KH_2PO_4 (0,5 g/l), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,4 g/l), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,05 g/l), NH_4Cl (0,4 g/l), vi lượng $SL_6^{(*)}$ (1 ml/l), dung dịch vitamin $B_{12}^{(**)}$ (0,4 ml/l), nước cất (1000 ml), pH (6,8). “Dung dịch vi lượng SL_6 (mg/l): HCl (25%) 6,5 ml; $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 1,5 g; H_3BO_3 0,3 g; $MnCl_2 \cdot 2H_2O$ 0,03 g; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0,2 g; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1 g; $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 17 mg; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 24 mg; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 36 mg, H_2O 993 ml. Dung dịch vitamin B_{12} : 10 mg trong 100 ml nước được khử trùng bằng màng lọc”

Bốn chủng vi khuẩn tía quang hợp từ các ống thạch nghiêng giữ giống được nhân nuôi riêng trong các bình penixilin có thể tích 10 ml chứa môi trường DSMZ 27 dạng lỏng, ủ ở điều kiện kỵ khí, có chiếu sáng trong phòng thí nghiệm, sau khoảng 3- 5 ngày, mật độ tế bào sẽ đạt khoảng 10^8 - 10^9 CFU/ml tiếp tục nhân giống ở bước 2.

Bước 2: Nhân giống trong bình thủy tinh 500 ml

Tiếp tục nhân nuôi hỗn hợp giống sang các bình có thể tích 500 ml chứa môi trường dịch thể DSMZ 27 với tổng thể tích giống hỗn hợp 10 % (v/v). Mỗi chủng vi khuẩn tía quang hợp đều có những ưu việt riêng. Do vậy, với mục đích tạo hỗn hợp các chủng có tỷ lệ tương đương nhau để chúng phát huy hết các đặc tính quý của mỗi chủng về khả năng loại bỏ sulfua, khả năng sử dụng các chất hữu cơ và khả năng chống chịu ở điều kiện bất lợi, ở bước này chúng tôi đã trộn bốn chủng để sản xuất chế phẩm với tỷ lệ như nhau (1:1:1:1), ủ ở điều kiện chiếu sáng đèn sợi đốt trong phòng thí nghiệm. Sau 5-7 ngày mật độ đạt 10^8 - 10^9 CFU/ml có thể sử dụng làm nguồn giống cấp 1. Cả bốn chủng lựa chọn không đối kháng nhau kết quả được thể hiện ở Fig 4.

Bước 3: Nhân giống trong bình nhựa trong 5, 10, 20 (lít)

Hỗn hợp 4 chủng vi khuẩn tía quang hợp lựa chọn được tiến hành tìm kiếm nguồn cơ chất thích hợp, để tìm kiếm, sử dụng thuận tiện và giảm chi phí cho sản xuất sinh khối ở quy mô pilot để tạo ra chế phẩm có giá thành phù hợp cho người nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam. Kết quả thể hiện trên Fig 5 cho thấy hỗn hợp bốn chủng vi khuẩn tía quang hợp nghiên cứu đều có khả năng sinh trưởng khá tốt trên môi trường chứa các nguồn cơ chất như axetat, glutamat, malat và bột đậu tương. Trong đó, hỗn hợp vi khuẩn tía quang hợp sinh trưởng tốt nhất trên môi trường có chứa nguồn cơ chất là bột đậu tương. Với mục tiêu giảm giá thành cũng như thuận tiện trong sản xuất sinh khối, hỗn hợp các chủng vi khuẩn tía quang hợp lựa chọn được tiến hành nuôi trong môi trường chỉ chứa bột đậu tương nồng độ 1 g/l và bổ sung thêm ba nguồn cacbon mà hỗn hợp vi khuẩn tía quang hợp có thể sinh trưởng khá tốt, có giá thành

thấp và dễ tìm kiếm như axetat, glutamat và malat vào môi trường nuôi. Kết quả thể hiện trên Fig 6. Kết quả cho thấy: hỗn hợp vi khuẩn tía quang hợp có khả năng tích lũy sinh khối cao hơn trong môi trường chứa hai nguồn cơ chất so với môi trường DSMZ-27. Mức độ tích lũy sinh khối cao nhất là trong môi trường chứa bột đậu tương và nguồn cacbon là glutamat và malat. Trong đó, môi trường chứa bột đậu tương và glutamat có khả năng tích lũy sinh khối cao nhất. Do vậy, môi trường được sử dụng để sản xuất sinh khối vi khuẩn tía quang hợp ở quy mô pilot tạo chế phẩm lỏng sệt là bột đậu tương (1 g/l) và 1 g/l glutamat.

Để nhân nuôi hỗn hợp giống từ bình thể tích 500 ml sang các bình nhựa có thể tích lớn hơn: 5, 10 và 20 lít, môi trường được sử dụng chứa bột đậu tương (1 g/l) và glutamat (1 g/l) với tỷ lệ giống bổ sung 10% (v/v). Các bình giống được đặt dưới ánh sáng mặt trời với nhiệt độ 28 ± 8 . Sau khoảng 5 -7 ngày mật độ tế bào trong các bình giống đạt 10^8 - 10^9 CFU/ml có thể sử dụng để nhân giống ở các bể lớn hơn.

Bước 4: Nhân giống sang bể có thể tích lớn 50, 100 và 1000 (lít)

Tiếp tục nhân nuôi giống từ bình thể tích 5, 10 và 20 lít sang các bể có thể tích 50, 100 và 1000 lít chứa môi trường bột đậu tương (1g/l) và glutamat (1g/l) với tỷ lệ giống 10% (v/v). Các bể được nuôi ở điều kiện tự nhiên đặt dưới ánh sáng mặt trời với nhiệt độ $28 \pm 8^\circ\text{C}$. Sau khoảng 6 -7 ngày kiểm tra nếu mật độ tế bào trong các bình giống đạt 10^8 - 10^9 CFU/ml, dịch vi khuẩn tía có màu đỏ nâu đến đỏ tía (tùy thuộc vào điều kiện khí hậu như nhiệt độ, ánh sáng) thì có thể tiến hành thu sinh khối để sản xuất chế phẩm dạng lỏng sệt.

Bước 5. Thu sinh khối vi khuẩn tía quang hợp bằng chitosan

Bốn chất keo tụ như nhôm polychlorit, nhôm sunfat, sắt sunfat và chitosan đã được sử dụng để thu hồi sinh khối vi khuẩn tía quang hợp. Kết quả thể hiện trên Fig 7 cho thấy rằng ba chất keo tụ có nguồn gốc hóa học có thể phân tách vi khuẩn tía quang hợp từ môi trường nuôi một cách hiệu quả. Nồng độ chất keo tụ tối ưu được xác định đối với Poly Aluminium Chlorit (PAC) là 3000, nhôm sunfat là 1000 và sắt sunfat 1000 mg/l. Tỷ lệ phân tách vi khuẩn tía quang hợp khi sử dụng PAC ở nồng độ tối ưu là 99,2%, nhôm sunfat là 80% và đối với sắt sunfat là 90%. Kết quả cho thấy nồng độ tối ưu của 3 chất này khi sử dụng để lắng tủa vi khuẩn tía quang hợp đều cao hơn 1000 mg/l, do đó, khi sử dụng 3 chất keo tụ PAC, nhôm sunfat, sắt sunfat có thể gây ô nhiễm thứ cấp. Bên cạnh đó, sử dụng phèn nhôm và phèn sắt làm màu sinh khối nhạt đi. Trong khi đó, sử dụng chitosan có thể lắng tủa sinh khối vi khuẩn tía quang hợp dạng dịch ở nồng độ thấp, kết quả từ Fig 7 cho thấy nồng độ chitosan từ 50 – 250

(mg/l) có ảnh hưởng khác nhau lên sự lắng tủa của tế bào vi khuẩn tía quang hợp. Hiệu suất lắng cao nhất ở nồng độ chitosan từ 150 – 250 (mg/l) là 95 -97 (%), nồng độ chitosan giảm 100 – 50 mg/l cho hiệu suất lắng giảm từ 88 -70(%). Ở nồng độ 150 mg/l hiệu suất lắng tủa sinh khối thu được tương đối cao và khi so với hai nồng độ cao 200 và 250 (mg/l) thì không có sự sai khác có ý nghĩa ($P>0,05$), nên nồng độ chitosan 150 mg/l được lựa chọn để lắng tủa vi khuẩn tía quang hợp từ chế phẩm dạng dịch.

Khi mật độ tế bào chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng dịch đạt 10^8 - 10^9 CFU/ml, tiến hành thu sinh khối bằng chitosan với nồng độ 150 mg/l. Chitosan được hòa tan trong axit axetic loãng cho đến khi tan hoàn toàn, sau đó bổ sung dung dịch chitosan vào dịch vi khuẩn tía quang hợp, khuấy đều cho đến khi xuất hiện sự kết bông, để lắng khoảng 30 – 60 phút, tế bào vi khuẩn tía quang hợp lắng tủa hoàn toàn xuống đáy, tiến hành thu tủa để tạo chế phẩm dạng lỏng sệt.

Bước 6: Tạo chế phẩm dạng lỏng sệt

Sau khi thu tủa sinh khối vi khuẩn tía quang hợp, tiến hành tạo chế phẩm dạng lỏng sệt với tinh bột biến tính, carboxy methyl xenluloza (CMC) và caragenan. Cả 3 cơ chất này đều được hồ hóa ở các nồng độ khác nhau để tạo gel, sau đó bổ sung sinh khối vi khuẩn tía quang hợp thu được với tỷ lệ 1:1. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp lỏng sệt tạo thành từ các cơ chất được theo dõi mật độ sau 7 ngày ở điều kiện nhiệt độ phòng có chiếu sáng. Kết quả cho thấy: về cảm quan, màu sắc chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp lỏng sệt được tạo thành từ tinh bột biến tính và CMC ở các nồng độ khác nhau đều bị nhạt màu so với ban đầu và so với mẫu đối chứng (đối chứng là sinh khối vi khuẩn tía quang hợp). Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp lỏng sệt tạo ra từ tinh bột biến tính có hiện tượng lên men tinh bột làm cho pH môi trường axit hóa. Cả 2 chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp lỏng sệt được tạo thành từ tinh bột biến tính và CMC không còn dạng gel như ban đầu mà có hiện tượng lắng tủa. Trong khi đó, chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp lỏng sệt tạo thành từ caragenan ở các nồng độ thử nghiệm từ 0,2 – 1% sau 7 ngày theo dõi màu sắc không thay đổi so với ban đầu. Tuy nhiên, chế phẩm lỏng sệt tạo thành từ caragenan ở các nồng độ khác nhau không còn tạo gel như ban đầu mà có hiện tượng loãng hơn. Ở nồng độ 0,2 và 0,4 (%) chế phẩm tạo ra ở trạng thái lỏng nhất, nồng độ từ 0,6 – 1% chế phẩm vẫn ở dạng lỏng sệt. Mật độ tế bào vi khuẩn tía quang hợp trong chế phẩm lỏng sệt tạo thành ở các nồng độ khác nhau cũng được đánh giá sau 1 tuần bảo quản, kết quả thể hiện trên Fig.8. Kết quả cho thấy: mật độ vi khuẩn tía quang hợp trong chế phẩm lỏng sệt tạo ra từ tinh bột biến tính và CMC ở các nồng độ khác nhau đều giảm nhanh hơn so với mật độ ban đầu (Fig 8).

Đối với chế phẩm lỏng sệt tạo thành từ các nồng độ caragenan khác nhau thì mật độ không thay đổi so với ban đầu. Do vậy, caragenan được chọn làm cơ chất để tạo chế phẩm dạng lỏng sệt với nồng độ 0,6%.

Sinh khối vi khuẩn tía quang hợp thu được bằng phương pháp lắng tủa ở dạng đậm đặc tiến hành tạo chế phẩm lỏng sệt như sau: hồ hóa caragenan với nồng độ 0,6% ở nhiệt độ 70 – 80°C. Dung dịch chứa caragenan sau khi hồ hóa được làm nguội xuống nhiệt độ 45 – 50°C, bổ sung sinh khối vi khuẩn tía quang hợp đậm đặc với tỷ lệ 1:1, lắc đều, sau 5 phút chế phẩm tạo thành ở dạng lỏng sệt.

Kiểm định chế phẩm

Chế phẩm tạo thành được đóng chai nhựa trong 500ml, 1 lít hoặc trong túi nilon (Fig 9), chế phẩm được sử dụng bằng cách phân phối đều trong các ao nuôi trồng thủy sản với liều lượng 1 lít/1000 m², tùy từng giai đoạn phát triển của tôm, cá có thể bổ sung chế phẩm 1-2 lần/tuần. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt bảo quản trong thời gian 6 tháng, sử dụng tốt nhất trong thời gian 3 tháng kể từ ngày sản xuất. Mật độ tế bào của chế phẩm lỏng sệt được xác định bằng phương pháp MPN (Số lượng vi sinh vật có thể nhất) hoặc phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa petri (CFU/ml). Phương pháp đếm khuẩn lạc như sau: mẫu được pha loãng liên tục bằng nước cất vô trùng từ 10¹ đến 10¹⁰. Dùng pipet vô trùng lấy 50 µl dung dịch ở các nồng độ thích hợp nhỏ lên bề mặt đĩa thạch chứa môi trường DSMZ 27. Dùng que gạt vô trùng dàn đều dịch đó trên mặt thạch. Đặt các đĩa thạch chứa mẫu vi khuẩn tía quang trong điều kiện khí quyển nitơ, dưới ánh sáng đèn sợi đốt 60w, tiến hành đếm số khuẩn lạc sau 5 -7 ngày.

Số lượng khuẩn lạc (CFU) xuất hiện trên đĩa được đếm và tính theo công thức:

$$\text{CFU/ml} = a \times 1/v \times n$$

Trong đó: n là độ pha loãng mẫu, a là số khuẩn lạc đếm được trên bề mặt đĩa thạch, v là thể tích mẫu được cấy, 1/v thể tích mẫu quy về 1 ml.

Hoạt tính chế phẩm lỏng sệt tạo thành được xác định bằng cách bổ sung chế phẩm vào môi trường DSMZ 27 chứa 10mg S²⁻/l theo tỷ lệ (1:100) nuôi trong điều kiện kỵ khí có chiếu sáng, đánh giá hoạt tính loại bỏ sulfua trong môi trường của chế phẩm

Cách thức sử dụng chế phẩm theo giải pháp hữu ích

Cơ chế xử lý sulfua và hữu cơ của chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt theo giải pháp hữu ích này được thể hiện như sau: khi bổ sung chế phẩm vào ao nuôi trồng thủy sản vi khuẩn tía quang hợp sẽ lắng xuống đáy ao. Nhóm vi khuẩn này

sinh trưởng quang dị dưỡng sử dụng các nguồn hữu cơ từ chất thải của vật nuôi và từ nguồn thức ăn dư thừa tồn tại dưới đáy ao làm nguồn cacbon và sử dụng sulfua làm chất cho điện tử trong quá trình quang hợp. Cần phải bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt trong suốt quá trình nuôi tương ứng với lượng chất thải và thức ăn dư thừa ngày càng tích tụ nhiều, gia tăng theo thời gian và sự sinh trưởng của vật nuôi. Chế phẩm được bổ sung 1 -2 lần/tuần với liều lượng 1 lít/1000m³ ao nuôi tôm hoặc cá cho đến hết vụ nuôi. Trong các ao nuôi có bổ sung chế phẩm cần theo dõi các chỉ số như BOD₃, hàm lượng sulfua, hàm lượng NH₄, NO₂... trong nước và trong bùn đáy ao, để bổ sung thêm chế phẩm kịp thời.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt ở quy mô 2 lít

Bước 1: *Rhodobacter* sp. NĐ₁, *Rhodobacter* sp. TG₁, *Rhodovulum sulfidophilum* TH₂₁ và *Rhodopseudomonas* sp. NĐ₅ từ các ống thạch nghiêng giữ giống được nhân nuôi riêng trong các bình penixilin có thể tích 10 ml chứa môi trường DSMZ 27 dạng lỏng, (mỗi chủng cấy 3 bình penixilin chứa 10 ml môi trường DSMZ 27) ủ ở điều kiện kỵ khí dưới ánh sáng đèn sợi đốt trong phòng thí nghiệm, sau khoảng 3- 5 ngày, xác định mật độ tế bào đạt khoảng 10⁸- 10⁹ CFU/ml thì tiếp tục tiến hành bước 2.

Bước 2: Bốn chủng để sản xuất chế phẩm được trộn đều với tỷ lệ như nhau (1:1:1:1) thu được 120 ml hỗn hợp giống. Tiếp tục nhân nuôi hỗn hợp giống 120 ml sang 2 bình có thể tích 500 ml, mỗi bình chứa 450 ml môi trường DSMZ 27 dịch thể và bổ sung 50 ml thể tích giống đối với mỗi bình, ủ ở điều kiện chiếu sáng đèn sợi đốt trong phòng thí nghiệm. Sau 5-7 ngày kiểm tra mật độ tế bào đạt khoảng 10⁸- 10⁹ CFU/ml thì có thể sử dụng làm nguồn giống cấp 1 và tiếp tục tiến hành bước 3.

Bước 3: Nhân giống từ hai bình thể tích 500 ml sang 2 bình nhựa trong có thể tích 5l chứa 4500 ml môi trường chứa 5 g bột đậu tương và 5 g glutamat với 500 ml hỗn hợp giống mỗi bình và đặt dưới ánh sáng mặt trời. Sau 5-7 ngày kiểm tra mật độ tế bào đạt khoảng 10⁸- 10⁹ CFU/ml thì có thể tiến hành bước 4.

Bước 4: Nhân giống sang bể kính có thể tích 150 (lít) chứa 90 lít môi trường chứa 100 g bột đậu tương và 100 g glutamat với 10 lít hỗn hợp giống. Sau 6-7 ngày kiểm tra mật độ tế bào đạt khoảng 10⁸- 10⁹ CFU/ml thì có thể có tiến hành thu sinh khối vi khuẩn tía quang hợp.

Bước 5: Khi mật độ tế bào vi khuẩn tía quang hợp dạng dịch đạt 10^8 - 10^9 CFU/ml, tiến hành thu sinh khối bằng chitosan với nồng độ 150mg/l. Cân 16 g chitosan hòa tan trong 4 lít axit axetic 0,4% khuấy đến khi tan hoàn toàn, sau đó bổ sung 3,75 lít dung dịch chitosan vào dịch vi khuẩn tía quang, khuấy đều cho đến khi xuất hiện sự kết bông, để lắng khoảng 30 – 60 phút, tế bào vi khuẩn tía quang hợp lắng tủa hoàn toàn xuống đáy, tiến hành thu tủa để tạo chế phẩm dạng lỏng sệt.

Bước 6: Từ 100 lít dịch vi khuẩn tía quang hợp thu được 1 lít sinh khối ở dạng đậm đặc, tiến hành tạo chế phẩm lỏng sệt như sau: Cân 6 g caragenan hòa tan trong 1 lít nước, đun dung dịch đến nhiệt độ 70 – 80 °C cho đến khi hồ hóa hoàn toàn. Dung dịch chứa caragenan sau khi hồ hóa được làm nguội xuống nhiệt độ 45 – 50 °C, bổ sung 1 lít sinh khối vi khuẩn tía quang hợp đậm đặc với tỷ lệ 1:1, khuấy đều, sau 5 - 10 phút thu được 2 lít chế phẩm ở dạng lỏng sệt.

Kiểm định chế phẩm:

Chế phẩm tạo thành được đóng chai nhựa trong 500 ml, 1 lít hoặc trong túi nilon (Fig 9), chế phẩm được sử dụng bằng cách phân phối đều trong các ao nuôi trồng thủy sản với liều lượng 1 lít/1000 m², tùy từng giai đoạn phát triển của tôm, cá có thể bổ sung chế phẩm 1-2 lần/tuần. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt bảo quản trong thời gian 6 tháng, sử dụng tốt nhất trong thời gian 3 tháng kể từ ngày sản xuất. Mật độ tế bào của chế phẩm lỏng sệt được xác định bằng phương pháp MPN hoặc phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa petri (CFU/ml). Phương pháp đếm khuẩn lạc như sau: mẫu được pha loãng liên tục bằng nước cất vô trùng từ 10^1 đến 10^{10} . Dùng pipet vô trùng lấy 50 µl dung dịch ở các nồng độ thích hợp nhỏ lên bề mặt đĩa thạch chứa môi trường DSMZ 27. Dùng que gạt vô trùng dàn đều dịch đó trên mặt thạch. Đặt các đĩa thạch chứa mẫu vi khuẩn tía quang hợp trong điều kiện khí quyển nitơ, dưới ánh sáng đèn sợi đốt 60w, tiến hành đếm số khuẩn lạc sau 5 -7 ngày.

Số lượng khuẩn lạc (CFU) xuất hiện trên đĩa được đếm và tính theo công thức:

$$\text{CFU/ml} = a \times 1/v \times n$$

Trong đó: n là độ pha loãng mẫu, a là số khuẩn lạc đếm được trên bề mặt đĩa thạch, v là thể tích mẫu được cấy, 1/v thể tích mẫu quy về 1 ml.

Hoạt tính chế phẩm lỏng sệt tạo thành được xác định bằng cách bổ sung chế phẩm vào môi trường DSMZ 27 chứa 10mg S²⁻/l theo tỷ lệ (1:100) nuôi trong điều kiện kỵ khí có chiếu sáng, đánh giá hoạt tính loại bỏ sulfua trong môi trường của chế phẩm

Ví dụ 2: Thử nghiệm chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt xử lý sulfua và hợp chất hữu cơ trong ao nuôi thực tế

Thử nghiệm được tiến hành tại Doanh nghiệp tư nhân Cửu Dung, huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt xử lý sulfua và các hợp chất hữu cơ bổ sung vào các ao sản xuất ngao giống, ở điều kiện tự nhiên không cần thay nước. Các ao sản xuất ngao có lót bạt và bổ sung lớp cát mỏng 2 – 5 cm. Thí nghiệm được tiến hành bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt 1 lít/1000 m³, 1 lần/tuần ngay khi ngao đẻ 48 h, mẫu nước và mẫu cát đáy ao thử nghiệm và ao đối chứng được thu và phân tích H₂S và BOD₃ theo định kỳ. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1: Biến động hàm lượng BOD₃ (mg/l) trong nước ao theo thời gian nuôi

Đợt kiểm tra	Ao thử nghiệm	Ao đối chứng
Trước khi bổ sung CP	10,2±0,1	10,1±0,1
2 tuần	9,7±0,2	10,3±0,1
4 tuần	7,8±0,3	10,1±0,2
6 tuần	5,7±0,3	9,7±0,2
8 tuần	3,3±0,2	8,8±0,3

Ở các ao sau khi ngao đẻ lượng chất hữu cơ sinh ra khá nhiều, hàm lượng BOD₃ đo được ở các ao là dao động 10 mg/l. Trong giai đoạn ngao ấu trùng đến ngao giống thức ăn chủ yếu là tảo và thức ăn công nghiệp. Hàm lượng chất hữu cơ có xu hướng giảm mạnh, sau những lần bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt. Do vậy, chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp sau khi bổ sung vào ao nuôi đã góp phần làm sạch nguồn hữu cơ dễ bị oxy hóa sinh học, điều này giúp hộ nuôi ngao không phải thay nước. Trong khi đó, ao nuôi ngao giống đối chứng không được bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt lượng chất hữu cơ có giảm nhưng không đáng kể, hàm lượng chất hữu cơ tương đối cao (8,8±0,01). Như vậy, nếu không được bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt thì trong ao sản xuất ngao giống phải thay nước thường xuyên và ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sót của ngao giống.

Ngoài chỉ số BOD₃ thì hàm lượng sulfua trong nước và trong bùn được theo dõi trong Bảng 2.

Bảng 2: Biến động hàm lượng H₂S (mg/l) trong nước ao theo thời gian nuôi

Đợt kiểm tra	Ao thử nghiệm	Ao đối chứng
1 tuần	0,00±0,00	0,0±0,00

2 tuần	0,00±0,00	0,00±0,00
4 tuần	0,00±0,00	0,00±0,00
6 tuần	0,00±0,00	0,01±0,001
8 tuần	0,00±0,00	0,02±0,001

Kết quả cho thấy: hàm lượng H_2S trong nước ở các ao thí nghiệm không phát hiện thấy sulfua trong thời gian theo dõi. Ở ao đối chứng không được bổ sung chế phẩm thì hàm lượng H_2S trong nước được phát hiện sau 6 – 8 tuần nuôi. Sự sai khác về hàm lượng sulfua giữa ao đối chứng và ao thử nghiệm có ý nghĩa thống kê sinh học ($P < 0,05$). Kết quả ghi nhận được chứng tỏ chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt có tác dụng tốt đối với chất lượng nước ao nuôi ngao giống.

Ngoài theo dõi hàm lượng sulfua sinh ra trong nước, chúng tôi còn tiến hành đánh giá hàm lượng sulfua sinh ra trong bùn cát đáy các ao nuôi ngao là nguyên nhân dẫn đến sự khuếch tán H_2S trong nước. Hàm lượng sulfua trong các mẫu bùn cát được theo dõi trong suốt quá trình nuôi. Kết quả được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Biến động hàm lượng H_2S (mg/g bùn cát) trong đáy ao theo thời gian nuôi

Đợt kiểm tra	Ao thí nghiệm	Ao đối chứng
1 tuần	0,1±0,03	0,1±0,03
2 tuần	0,2±0,04	0,4±0,04
4 tuần	0,2±0,04	0,9±0,06
6 tuần	0,35±0,03	1,5±0,04
8 tuần	0,37±0,05	2,4±0,03

Hàm lượng H_2S trong bùn cát ở ao thử nghiệm có bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt có phát hiện được nhưng hàm lượng tích tụ không đáng kể. Trong khi đó, hàm lượng H_2S trong bùn cát ở ao đối chứng có chiều hướng tăng dần sau 2 tháng theo dõi. Hàm lượng sulfua ở đáy ao thử nghiệm sau 2 tháng bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp so với hàm lượng sulfua có trong ao đối chứng có sự sai khác có ý nghĩa thống kê sinh học ($P < 0,05$). Kết quả cho thấy bổ sung chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt có ảnh hưởng tốt tới xử lý sulfua trong bùn đáy ao. Do vậy, làm giảm đáng kể hàm lượng sulfua được khuếch tán vào môi trường nước, góp phần tạo nên chất lượng môi trường nước nuôi được đảm bảo.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Chúng tôi đã tuyển chọn được 4 chủng vi khuẩn tía quang hợp từ đáy các ao nuôi trồng thủy sản có hoạt tính xử lý sulfua, các chất hữu cơ và có khả năng tích lũy sinh

khối cao, dễ dàng sản xuất chế phẩm dạng dịch trên nguồn cơ chất có giá thành thấp, không bị ảnh hưởng của các điều kiện ngoại cảnh đến sản xuất sinh khối để tạo chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt. Sử dụng chế phẩm dạng lỏng sệt chứa vi khuẩn tía quang hợp bổ sung vào ao nuôi ngao giống có tác dụng tốt tới môi trường nuôi, đã làm giảm rõ rệt hàm lượng BOD_3 và H_2S trong nước và trong bùn đáy ao. Do vậy, đã giúp hộ nuôi ngao không phải thay nước định kỳ.

Ứng dụng chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt để xử lý sulfua và các hợp chất hữu cơ trong các đầm ao nuôi trồng thủy sản là giải pháp hữu hiệu vừa đảm bảo được chất lượng nước vừa thân thiện với môi trường.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt chứa các chủng *Rhodobacter* sp. NĐ₁, *Rhodobacter* sp. TG₁, *Rhodovulum sulfidophilum* TH₂₁ và *Rhodopseudomonas* sp. NĐ₅ được tuyển chọn có khả năng sinh trưởng và xử lý sulfua gồm các bước sau:

bước 1: nhân giống từ ống thạch nghiêng sang môi trường lỏng trong bình 10 ml bằng cách lấy 1 vòng que cấy sinh khối vi khuẩn tía quang hợp ở ống thạch nghiêng đưa sang 10 ml môi trường DSMZ- 27 dạng dịch nuôi cấy riêng rẽ, sau đó, dịch nuôi cấy được ủ ở điều kiện kỵ khí chiếu sáng đèn sợi đốt trong phòng thí nghiệm, sau khoảng 3 – 5 ngày;

bước 2: nhân giống trong bình thủy tinh 500 ml bằng cách sử dụng 450 ml môi trường DSMZ- 27 dạng dịch và bổ sung 50 ml hỗn hợp giống vi khuẩn tía quang hợp, sau đó, dịch nuôi cấy được ủ ở điều kiện kỵ khí chiếu sáng đèn sợi đốt trong phòng thí nghiệm, sau khoảng 3 – 5 ngày, trong đó hỗn hợp giống vi khuẩn được tạo ra bằng cách trộn dịch nuôi cấy riêng rẽ của các chủng vi khuẩn ở bước 1 theo tỷ lệ bằng nhau;

bước 3: nhân giống trong bình nhựa trong 5, 10, 20 (lít) bằng cách sử dụng môi trường chứa bột đậu tương (1g/l) và glutamat (1g/l), bổ sung 10% dịch nuôi cấy vi khuẩn tía quang hợp ở bước 2 nuôi ở điều kiện ánh sáng tự nhiên;

bước 4: nhân giống sang bể có thể tích lớn 50, 100, 1000 (lít) để sản xuất sinh khối vi khuẩn tía quang hợp bằng cách sử dụng môi trường bột đậu tương (1g/l), glutamat (1g/l) và bổ sung 10% giống vi khuẩn tía quang hợp ở điều kiện ánh sáng tự nhiên;

bước 5: thu sinh khối vi khuẩn tía quang hợp bằng chitosan với nồng độ 150 mg/l bằng cách hòa tan chitosan trong axit axetic 0,4% khuấy đến khi tan hoàn toàn, sau đó bổ sung dung dịch chitosan vào dịch vi khuẩn tía quang hợp, khuấy đều cho đến khi xuất hiện sự kết bông, để lắng khoảng 30 – 60 phút, tế bào vi khuẩn tía quang hợp lắng tủa hoàn toàn xuống đáy, tiến hành thu sinh khối vi khuẩn tía quang hợp;

Bước 6: tạo chế phẩm lỏng sệt bằng cách hồ hóa dung dịch caragenan 0,6% đến nhiệt độ 70 – 80°C, dung dịch chứa caragenan sau khi hồ hóa được làm nguội xuống nhiệt độ 45 – 50°C, bổ sung sinh khối vi khuẩn tía quang hợp đậm đặc với tỷ lệ 1:1, lắc đều, sau 5 phút thu chế phẩm tạo thành ở dạng lỏng sệt.

2. Chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt chứa các chủng *Rhodobacter* sp. NĐ₁, *Rhodobacter* sp. TG₁, *Rhodovulum sulfidophilum* TH₂₁ và *Rhodopseudomonas* sp. NĐ₅ để xử lý sulfua và hợp chất hữu cơ trong đáy ao nuôi trồng thủy sản thu được từ quy trình theo điểm 1, trong đó, chế phẩm này là dạng lỏng sệt có màu đỏ tía với mật độ tế bào đạt $10^{11} - 10^{12}$ CFU/ml, chế phẩm thu được có thể bảo quản trong thời gian 6 tháng.

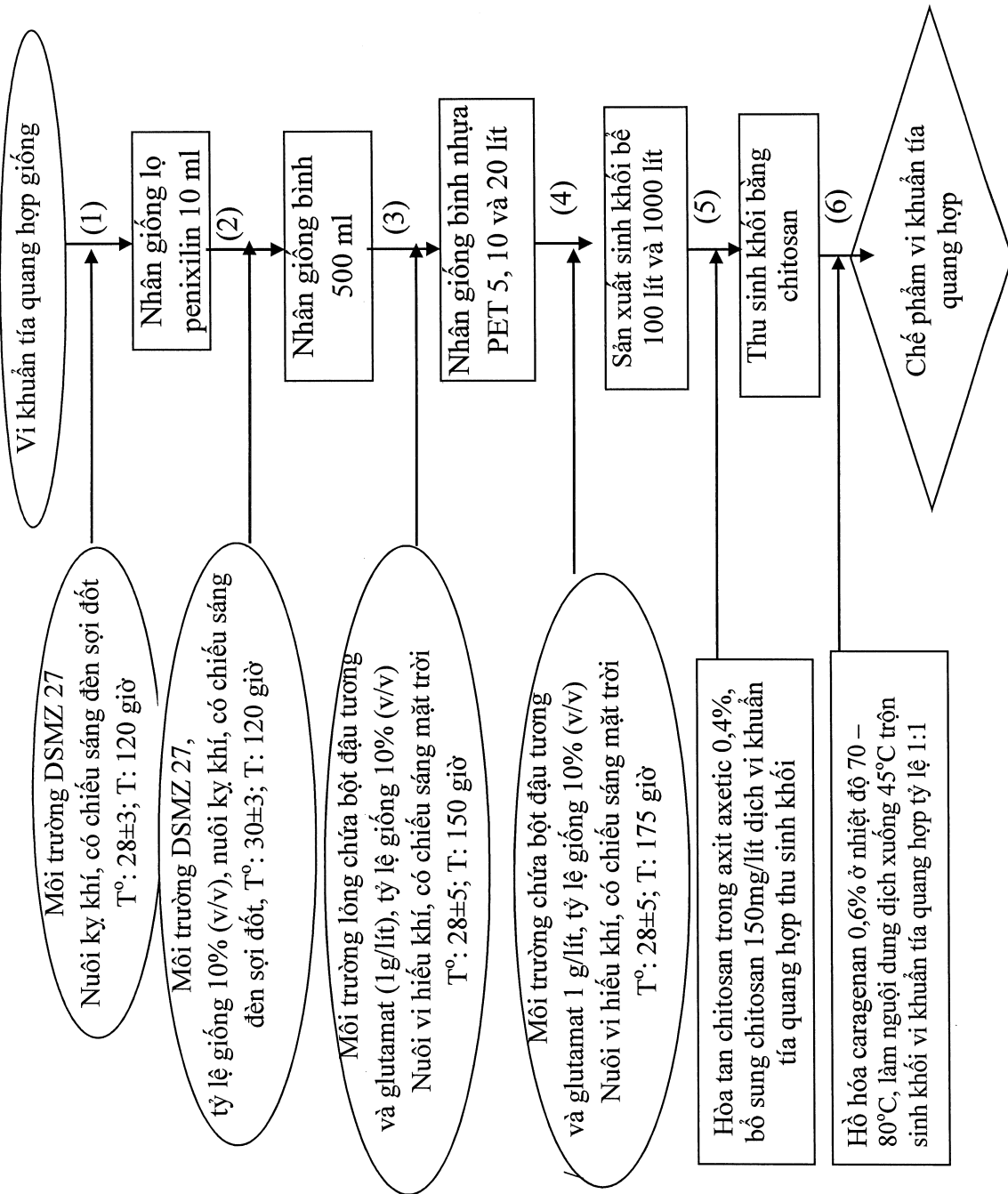


Fig 1. Thể hiện sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt

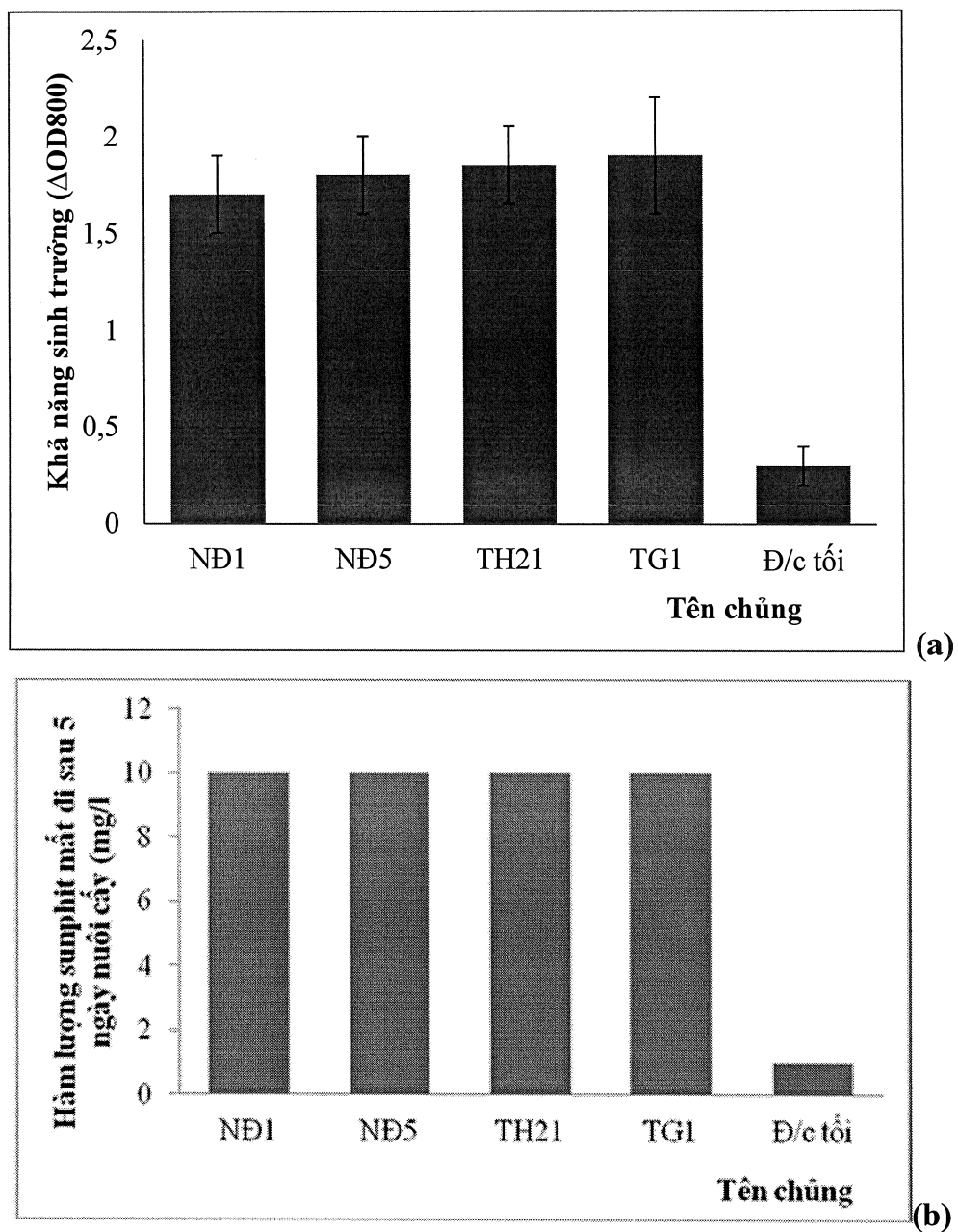


Fig. 2. Thể hiện khả năng sinh trưởng (a) và hoạt tính loại bỏ sulfua của 4 chủng vi khuẩn tía quang hợp (b)

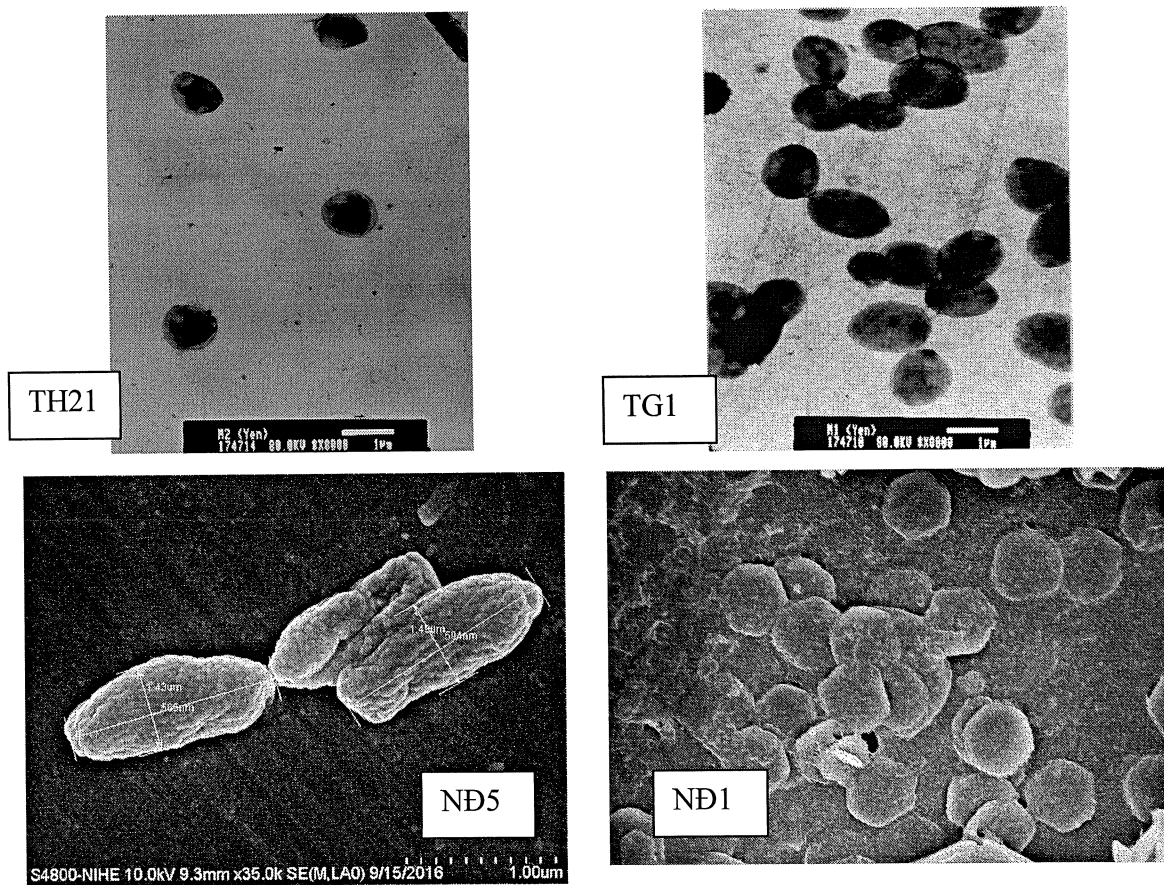


Fig 3. Thể hiện hình ảnh tế bào của 4 chủng vi khuẩn tía quang hợp lựa chọn

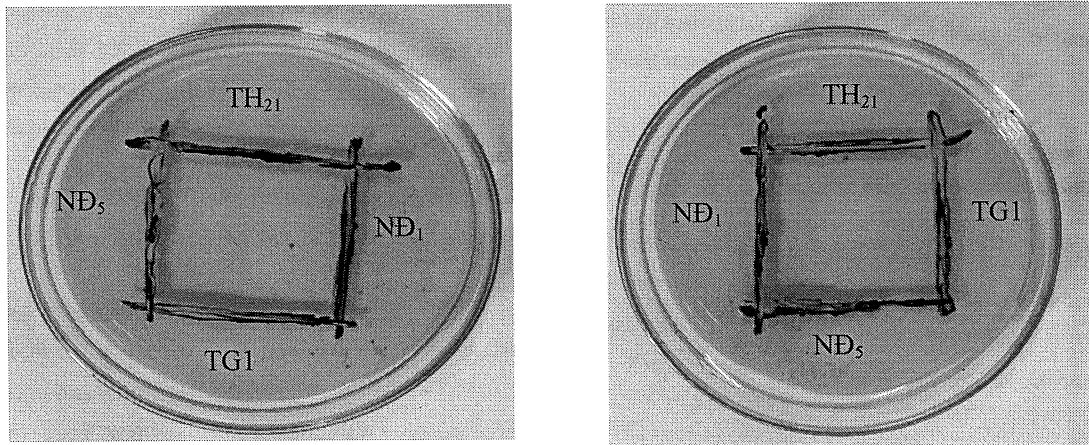


Fig 4. Thể hiện 4 chủng vi khuẩn tía quang hợp lựa chọn không đối kháng nhau

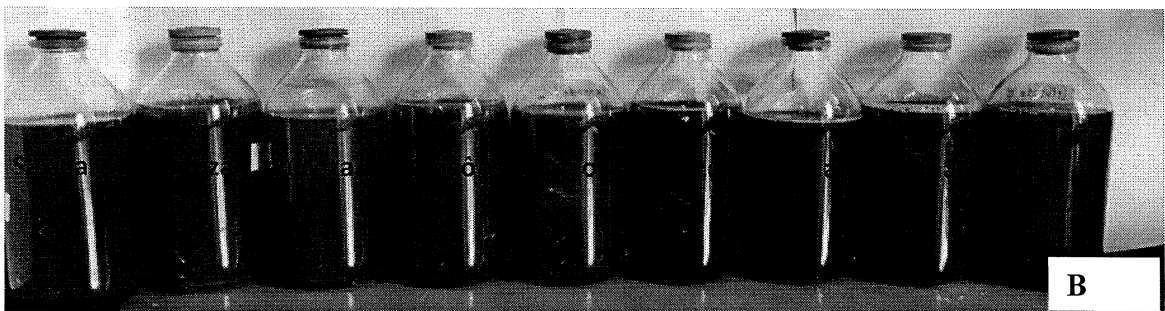
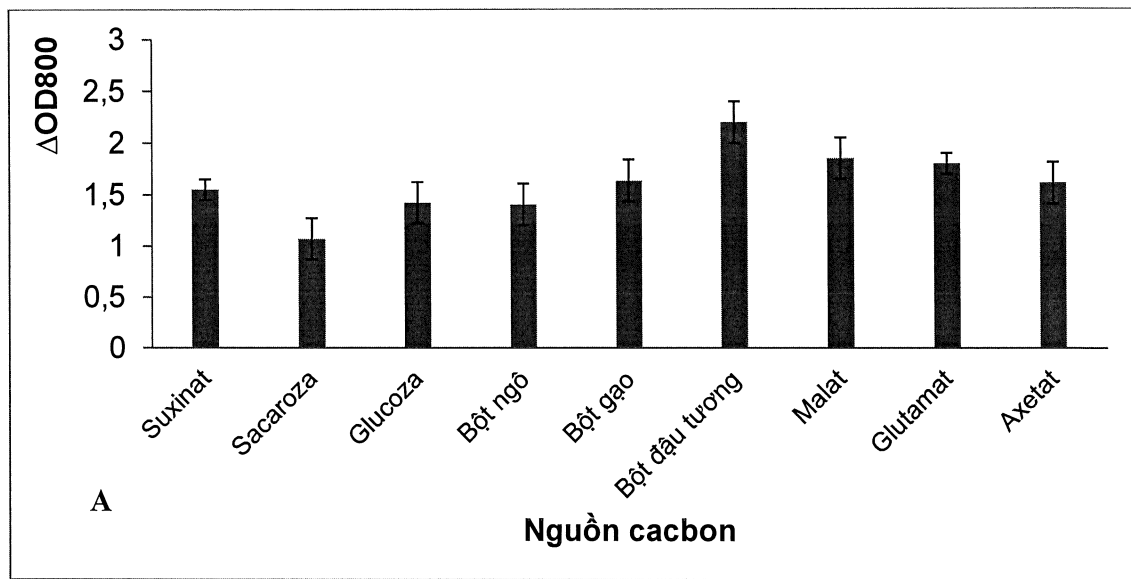


Fig 5: thể hiện nuôi hỗn hợp vi khuẩn tía quang hợp trên các nguồn cơ chất khác nhau

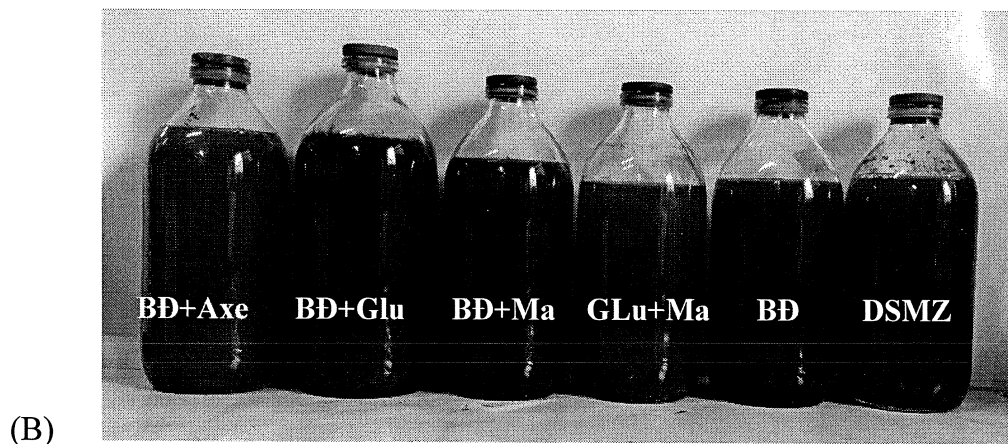
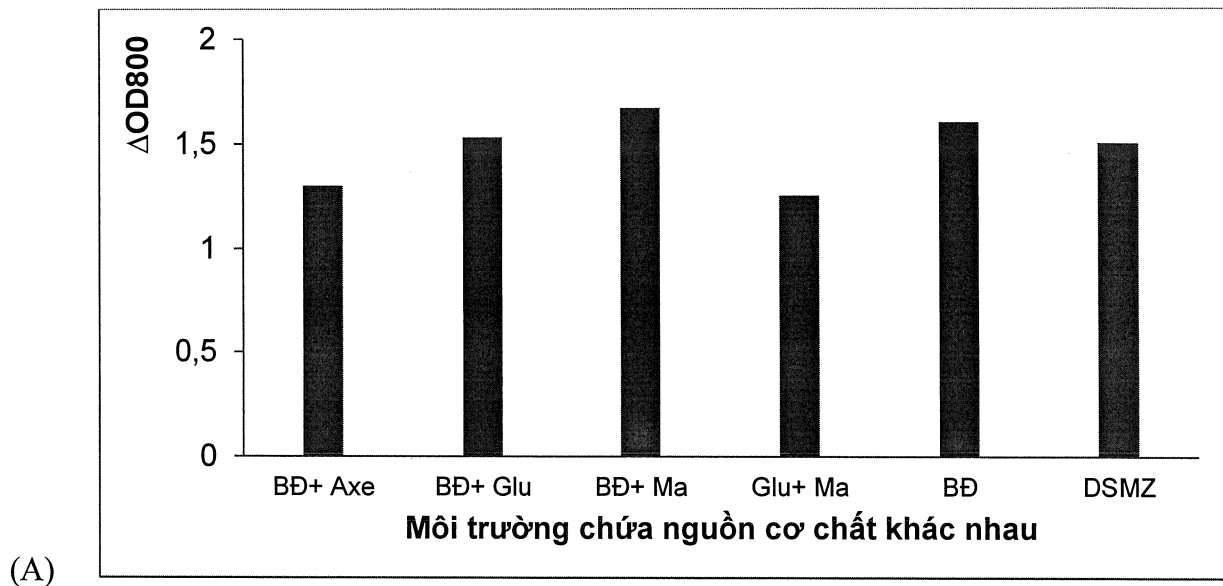
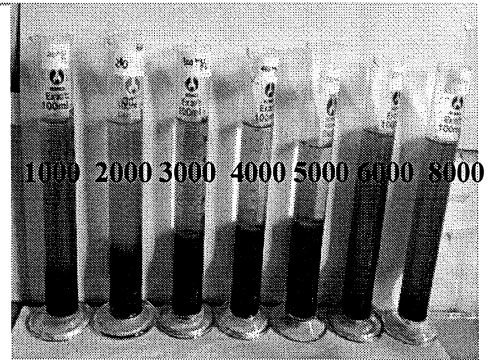
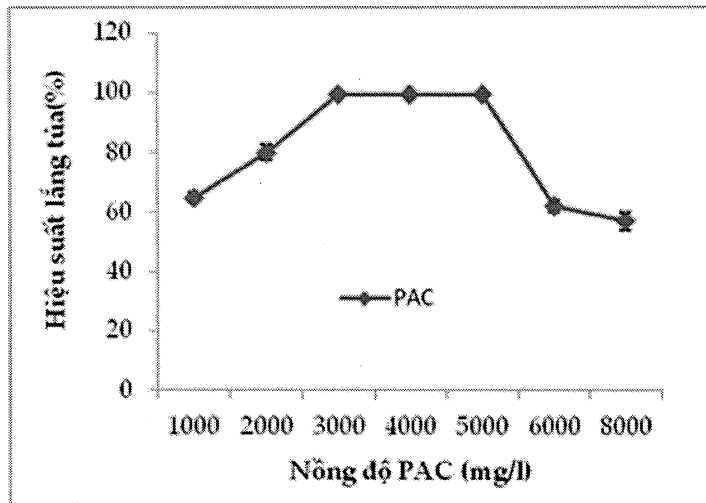
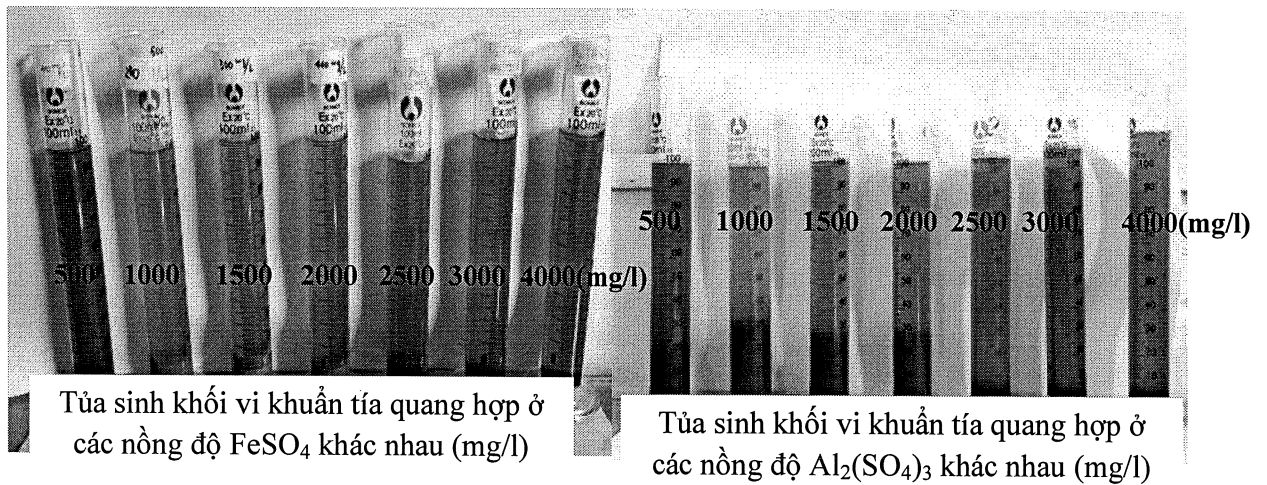
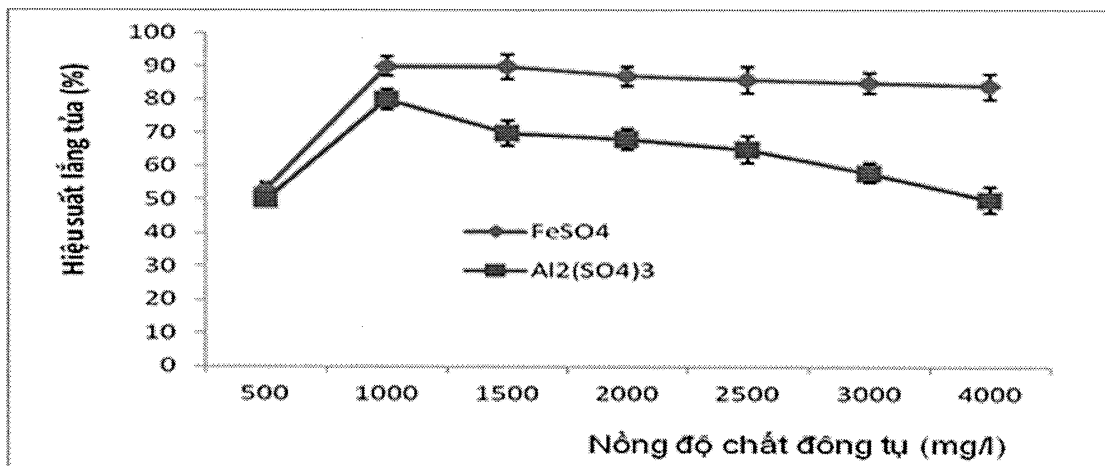


Fig 6: thể hiện nuôi hỗn hợp vi khuẩn tía quang hợp trên môi trường chứa bột đậu tương, malat và glutamat (chú thích: BD- Bột đậu tương, Glu – Glutamat, Ma- Malat, DSMZ- môi trường DZMZ 27)



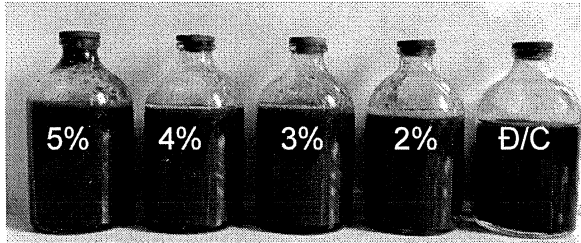
Tủa sinh khối vi khuẩn tía quang hợp ở các nồng độ PAC khác



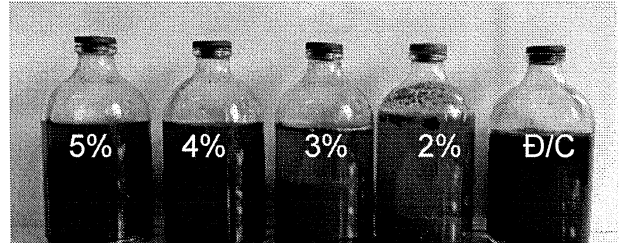
Tủa sinh khối vi khuẩn tía quang hợp ở các nồng độ FeSO₄ khác nhau (mg/l)

Tủa sinh khối vi khuẩn tía quang hợp ở các nồng độ Al₂(SO₄)₃ khác nhau (mg/l)

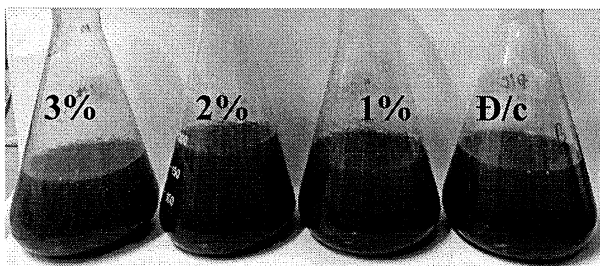
Fig 7: thể hiện các phương pháp lắng tủa sinh khối vi khuẩn tía quang hợp



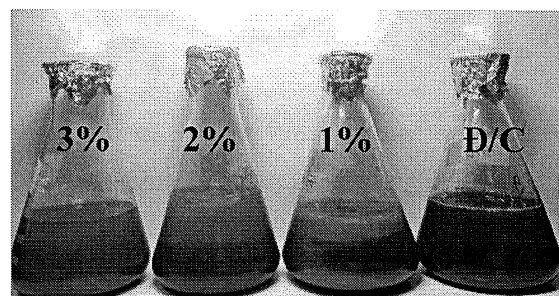
Chế phẩm lỏng sệt tạo thành từ tinh bột biến tính



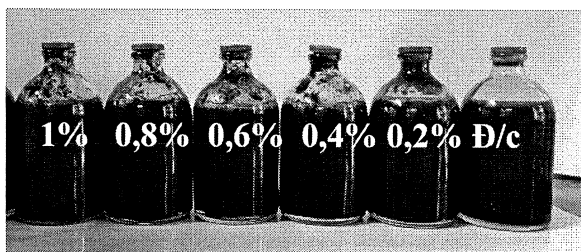
Chế phẩm lỏng sệt từ tinh bột sau 1 tuần phục hồi



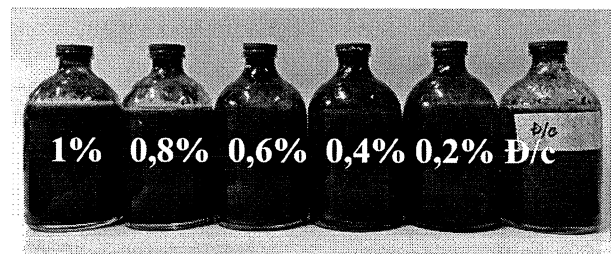
Chế phẩm lỏng sệt tạo ra từ CMC



Chế phẩm lỏng sệt từ CMC sau 1 tuần phục hồi



Chế phẩm lỏng sệt tạo ra từ caragenan



Chế phẩm lỏng sệt caragenan sau 1 tuần phục hồi

Fig 8: thể hiện hình ảnh tạo chế phẩm vi khuẩn tía quang hợp dạng lỏng sệt



Fig 9: thể hiện hình ảnh chế phẩm vi khuẩn tia quang hợp dạng lỏng sệt