

NGHIÊN CỨU TỐI ƯU HÓA THÀNH PHẦN CÁC VI SINH VẬT THAM GIA TẠO CHẾ PHẨM SINH HỌC XỬ LÝ PHÉ THẢI NÔNG NGHIỆP

TRẦN ĐÌNH TOẠI, PHẠM HỒNG HẢI, ĐỖ TRUNG SỸ,
NGUYỄN BÍCH THỦY, HOÀNG THỊ BÍCH

1. MỞ ĐẦU

Việt Nam có diện tích đất trồng lúa hiện nay và tới năm 2010 là 4,2 triệu ha [1], năm 2007 đã sản xuất được 36 triệu tấn lương thực quy ra thóc (trong đó thóc 32 triệu tấn, ngô là 4 triệu tấn) [2]. Với sản lượng lương thực hàng năm đạt tương tự con số nêu trên, phế thải nông nghiệp cũng chừng 100 triệu tấn/năm

Theo phương thức sản xuất nông nghiệp truyền thống, phế thải nông nghiệp (rơm, rạ, thân cây hoa màu...) sau khi thu hoạch được chuyển về nhà và sử dụng như một nguồn nhiên liệu chính để đun nấu, một phần lưu giữ trên đồng ruộng không được xử lý hoặc đốt bỏ đi. Điều đó, không những gây ảnh hưởng tới môi trường sinh thái mà còn rất lãng phí nguồn nguyên liệu có nguồn gốc thực vật này.

Việc tận dụng, xử lý phế thải nông nghiệp bằng công nghệ sinh học với mục đích tạo mùn hữu cơ vi sinh phục vụ sản xuất nông nghiệp đang là một hướng đi đúng đắn, nhằm góp phần cải tạo độ phì nhiêu cho đất, góp phần bảo vệ môi trường và phát triển bền vững.

Xuất phát từ nhu cầu thực tế trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu nhằm tìm ra được phương pháp tạo chế phẩm sinh học có hoạt lực cao để xử lý phế thải nông nghiệp, bảo vệ môi trường. Đương nhiên, trong chế phẩm sinh học này phải có sự tham gia của nhiều chủng vi sinh vật.

Kết quả nghiên cứu tuyển chọn, chúng tôi đã lựa chọn được các chủng sinh vật 2P, 7P, C₃₂ và C₃₆ có khả năng phân hủy cao cellulose, thành phần chủ yếu trong rơm, rạ (phế thải nông nghiệp). Từ đó, có thể kết hợp các chủng này để sản xuất chế phẩm sinh học có hoạt lực cao xử lý phế thải nông nghiệp [3]. Tuy nhiên, hoạt lực của các chủng không đồng đều nhau, cần phải cân nhắc tỉ lệ thành phần tham gia của chúng vào chế phẩm.

Do đó, Mục đích của chúng tôi là nghiên cứu là tìm thành phần tối ưu của các chủng vi sinh vật 2P, 7P, C₃₂ và C₃₆ được dự định tham gia vào tạo chế phẩm sinh học để xử lý phế thải nông nghiệp có hoạt lực cao.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1- Tuyển chọn các chủng sinh vật có khả năng phân hủy cao cellulose.

2- Phương pháp kế hoạch hóa thực nghiệm [4].

Phương pháp kế hoạch hóa thực nghiệm cho phép tìm thành phần tối ưu của các vi sinh vật tham gia tạo chế phẩm sinh học được mô tả bằng phương trình hồi quy.

Phương trình hồi quy được viết dưới dạng sau:

$$\hat{y} = b_0 + \sum_{1 \leq i \leq q} b_i x_i + \sum_{1 \leq i < j \leq q} b_{ij} x_i x_j + \sum_{1 \leq i < j < k \leq q} b_{ijk} x_i x_j x_k + \dots + \sum b_{i_1 i_2 \dots i_n} x_{i_1} x_{i_2} \dots x_{i_n} \quad (1)$$

trong đó, q là số cấu tử $x_1, x_2, \dots, x_n, \dots$ sao cho

$$\sum_{i=1}^q X_i = 1 \quad (2)$$

Quy hoạch mạng đơn hóa Scheffe cho trường hợp 4 cấu tử để tìm phương trình hình phương ở dạng đa thức bậc 3 sẽ sử dụng trong đề tài được thể hiện ở bảng “Ma trận và kết quả quy hoạch thực nghiệm” (Phần kết quả)

Trong đó x_1, x_2, x_3, x_4 - hàm lượng 4 cấu tử (các biến đầu vào);

y - tính chất của hệ (thông số đầu ra).

Phương trình hồi quy bậc 3 nhận được từ quy hoạch trên có dạng

$$\hat{y} = \sum_{i=1}^4 \beta_i X_i + \sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j}}^4 \beta_{i,j} X_i X_j + \sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j}}^4 \gamma_{i,j} X_i X_j (X_i - X_j) + \sum_{\substack{i,j=1 \\ i < j < k}}^4 \beta_{ijk} X_i X_j X_k \quad (3)$$

trong đó

$$\beta_i = y_i \quad (4)$$

$$\beta_{ij} = \frac{9}{4} (y_{ij} + y_{jij} - y_i - y_j) \quad (5)$$

$$\gamma_{ij} = \frac{9}{4} (3y_{ij} - 3y_{jij} - y_i + y_j) \quad (6)$$

$$\beta_{ijk} = 27 y_{ijk} - \frac{27}{4} (y_{ijj} + y_{jij} + y_{iik} + y_{jik} + y_{jkk}) + \frac{9}{2} (y_i + y_j + y_k) \quad (7)$$

Tính tương hợp của phương trình (3) được kiểm định theo số liệu ở các thí nghiệm kiểm tra bằng cách tính đại lượng ξ với chuẩn số Student t như trong tài liệu [4]

$$t = \frac{|y - \hat{y}|}{s_y^2 \sqrt{1 + \xi}} \quad (8)$$

Nếu $t < t_{p,n}$ (f) với mọi điểm kiểm tra thì phương trình tương hợp và phương trình nhận được có thể sử dụng để tính toán \hat{y} cho bất kỳ tổ hợp nào của x_1, x_2, x_3 và xy cũng như là tìm giá trị tối ưu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TỐI ƯU HOÁ CÁC THÀNH PHẦN CỦA VI SINH VẬT TRONG CHẾ PHẨM SINH HỌC XỬ LÝ PHÉ THẢI NÔNG NGHIỆP

Phần kết quả tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy cao cellulose, vì quá dài nên chúng tôi chỉ khái quát tóm tắt như sau:

Đã lựa chọn được 4 chủng vi sinh vật có hoạt lực enzyme cellulase cao để tham gia tạo chế phẩm sinh học phân giải phế thải nông nghiệp: đó là 2 chủng vi khuẩn C₃₂, C₃₆ và 2 chủng xạ khuẩn 2P, 7P.

3.1. Xác định các cấu tử tham gia vào *Phương trình hồi quy*

4 chủng vi sinh vật nêu trên chính là 4 cấu tử tham gia vào *Phương trình hồi quy*. Với 4 chủng vi sinh vật này, cần tiến hành quy hoạch thực nghiệm giải bài toán tối ưu tìm tỉ lệ thành phần của chúng trong chế phẩm sao cho chế phẩm có hoạt độ enzyme cao nhất tức là chế phẩm có hoạt lực phân giải pectin nông nghiệp cao nhất

Từ phương trình tổng quát (1), với 4 cấu tử sẽ thu được phương trình hồi quy bậc 3 ở dạng chung như nêu trên (Phương trình 3):

3.2. Tiến hành quy hoạch thực nghiệm

Bảng 1. Ma trận và kết quả quy hoạch thực nghiệm

No	Biến thực (ml)				Biến mã hóa				Hoạt độ enzyme	
	Z _{1,(ml)}	Z _{2,(ml)}	Z _{3,(ml)}	Z _{4,(ml)}	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	Ký hiệu	y (U/ml)
1	12	0	0	0	1	0	0	0	y ₁	22,2
2	0	12	0	0	0	1	0	0	y ₂	19,7
3	0	0	12	0	0	0	1	0	y ₃	28,39
4	0	0	0	12	0	0	0	1	y ₄	14,61
5	8	4	0	0	2/3	1/3	0	0	y ₁₁₂	21,2
6	8	0	4	0	2/3	0	1/3	0	y ₁₁₃	24,36
7	8	0	0	4	2/3	0	0	1/3	y ₁₁₄	19,5
8	4	8	0	0	1/3	2/3	0	0	y ₁₂₂	20,5
9	0	8	4	0	0	2/3	1/3	0	y ₁₂₃	22,74
10	0	8	0	4	0	2/3	0	1/3	y ₁₂₄	17,9
11	4	0	8	0	1/3	0	2/3	0	y ₁₃₃	27,59
12	0	4	8	0	0	1/3	2/3	0	y ₂₃₃	25,42
13	0	0	8	4	0	0	2/3	1/3	y ₃₃₄	24,35
14	4	0	0	8	1/3	0	0	2/3	y ₁₄₄	17,5
15	0	4	0	8	0	1/3	0	2/3	y ₂₄₄	17
16	0	0	4	8	0	0	1/3	2/3	y ₃₄₄	19,35
17	4	4	4	0	1/3	1/3	1/3	0	y ₁₂₃	23,6
18	4	4	0	4	1/3	1/3	0	1/3	y ₁₂₄	19,7
19	4	0	4	4	1/3	0	1/3	1/3	y ₁₃₄	22,76
20	0	4	4	4	0	1/3	1/3	1/3	y ₂₃₄	21,0

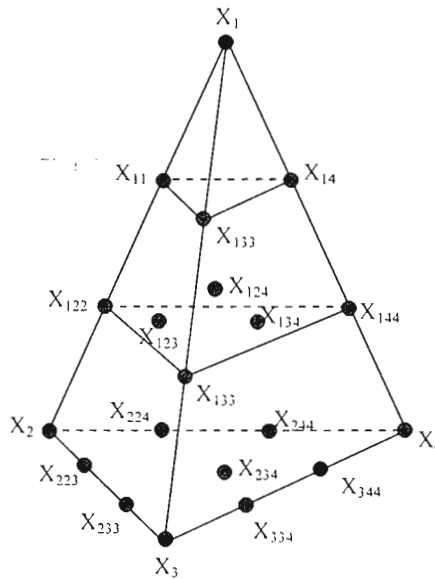
Thành phần của chủng các vi sinh vật tham gia tạo chế phẩm sinh học được biểu thị bằng số lượng dịch lên men của chủng các vi sinh vật này.

Sau khi lên men, tiến hành xác định tổng số vi sinh vật và kiểm tra hoạt độ enzyme cellulase của dịch lên men thu được trong các chủng.

Lấy 12 ml dịch lên men của các chủng làm thể tích riêng rẽ của tham gia vào hệ

Quy hoạch mạng đơn hóa Scheffe cho trường hợp 4 cấu tử để tìm phương trình bình phương ở dạng đa thức bậc 3 sẽ sử dụng được thể hiện ở bảng ma trận quy hoạch thực nghiệm (bảng 1).

Kết quả quy hoạch thực nghiệm được mô tả trên hình sau



Hình 1. Mạng {4,3} của các số liệu quy hoạch thực nghiệm trong bảng 1

3.3. Phương trình hồi quy tối ưu hoá các thành phần của vi sinh vật trong chế phẩm sinh học xử lý phế thải nông nghiệp

Từ bảng kế hoạch thực nghiệm nêu trên thu được các hệ số của phương trình hồi quy như sau:

- Các hệ số β_i :

$$\beta_1 = 22,2; \beta_2 = 19,7; \beta_3 = 28,39; \beta_4 = 14,61.$$

- Các hệ số β_{ij} :

$$\beta_{12} = -0,45; \beta_{13} = 3,06; \beta_{14} = 0,4275; \beta_{23} = 0,158; \beta_{24} = 1,328; \beta_{34} = 2,745.$$

- Các hệ số β_{ijk} :

$$\beta_{123} = -21,7125; \beta_{124} = 19,395; \beta_{134} = 12,5325; \beta_{234} = -6,48.$$

- Các hệ số γ_{ij} :

$$\gamma_{12} = -0,9; \gamma_{13} = -7,875; \gamma_{14} = -12,5775; \gamma_{23} = 1,463; \gamma_{24} = -5,378; \gamma_{34} = 2,745.$$

Tổng hợp các kết quả cho thấy, phương trình hồi quy thu được là đa thức bậc 3 của 4 cấu tử có dạng sau:

$$\begin{aligned} \hat{y} = & 22,2x_1 + 19,7x_2 + 28,39x_3 + 14,61x_4 - 0,45x_1x_2 + 3,06x_1x_3 + \\ & 0,4275x_1x_4 + 0,158x_2x_3 + 1,328x_2x_4 + 2,745x_3x_4 - 0,9x_1x_2(x_1 - x_2) - \\ & 7,875x_1x_3(x_1 - x_3) - 12,5775x_1x_4(x_1 - x_4) + 1,463x_2x_3(x_2 - x_3) - \\ & 5,378x_2x_4(x_2 - x_4) + 2,745x_3x_4(x_3 - x_4) - 21,7125x_1x_2x_3 + \\ & 19,395x_1x_2x_4 + 12,5325x_1x_3x_4 - 6,48x_2x_3x_4 \end{aligned}$$

Để kiểm tra định tính tương hợp của mô hình đã tiến hành một số thí nghiệm bổ sung ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm bổ sung

No	x_1	x_2	x_3	x_4	y	\hat{y}	Δy
1	1/4	1/4	1/4	1/4	22,09	21,74	0,352
2	3/4	1/4	0	0	21,47	21,36	0,106
3	3/4	0	1/4	0	24,55	23,58	0,967
4	3/4	0	0	1/4	19,47	19,2	0,266
5	1/4	0	3/4	0	29,35	28,15	1,195
6	0	1/4	3/4	0	28,52	26,11	2,41
7	0	0	3/4	1/4	27,52	25,72	1,803

Kết quả kiểm tra cho thấy mô hình tương hợp bởi các giá trị tính toán của chuẩn số Student đều nhỏ hơn giá trị tra bảng $t_{p;l}(f)$.

Mô hình (*) đã được sử dụng để tìm điều kiện tối ưu và nhận được:

$$\hat{y}_{\max} = 29,61$$

với:

$$x_1 = 0,19 \text{ (chùng vi khuẩn 32);}$$

$$x_2 = 0,16 \text{ (chùng vi khuẩn 36);}$$

$$x_3 = 0,41 \text{ (chùng xạ khuẩn 2P);}$$

$$x_4 = 0,24 \text{ (chùng xạ khuẩn 7P).}$$

Như vậy, từ kết quả nghiên cứu tối ưu hoá thành phần của các vi sinh vật tham gia tạo chế phẩm sinh học cho thấy, thành phần của các các chủng để tạo chế phẩm có hoạt lực enzyme cellulase cao nhất tức là có hoạt lực cao để xử lý phế thải nông nghiệp có tỉ lệ như sau: **C32/ C36, 2P / 7P = 0,19/ 0,16/ 0,41/ 0,24.**

3. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu tối ưu hoá thành phần của các vi sinh vật tham gia tạo chế phẩm sinh học bằng phương pháp kế hoạch thực nghiệm và nhận được phương trình hồi quy tương ứng.

Kết quả tính toán cho thấy, thành phần tối ưu của các chủng vi sinh vật tham gia tạo chế phẩm sinh học có hoạt lực cao để xử lý phế thải nông nghiệp có tỉ lệ như sau:

$$C32/ C36/2P / 7P = 0,19/ 0,16/ 0,41/ 0,24.$$

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mai Ái Trục - Diện tích đất trồng lúa nước của nước ta đến năm 2010 sẽ là gần 4,2 triệu ha, Báo Tuổi trẻ ngày 11-5-2009.
2. Số liệu thống kê của Tổng cục Thống kê trong năm 2007.
3. Trần Đình Toại - Nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học có hoạt tính cao xử lý phế thải nông nghiệp, Đề tài NCKHCN Sở KHCN Hà Nội, 2009.
4. Ахназарова С. Л., Кафаров В. В. - Оптимизация эксперимента в химии и химической технологии. Изд, Высшая школа, Москва, 1978.

SUMMARY

STUDY ON THE OPTIMIZATION OF THE MICROORGANISM SPECIES, PARTICIPATED IN THE PREPARATION OF BIO-PRODUCT USING IN AGRICULTURAL WASTES TREATMENT

Vietnam is a big agricultural country. Every year, it is estimated the over 36 millions tons of rice and from this had should be over 100 millions tons of agricultural waste. The treatment of these waste treatment is an important problem.

For agricultural waste treatment it is necessary to produce effectively microbial preparation. In order that microbial preparation should have be effective, it is important to found optimal composition of these species in preparations. We have used method of experimental planing to carry out this goal the scheffe simplex plan was used.

Our microbial preparation constitutes a symbiotic association of several recombinant microbial species, four species: C₃₂, C₃₆, 2P and 7P.

From this method we can conclude that to increase the efficiency of microbial preparation, the relationship between the optimal composition of these species in the preparations should be: C₃₂/ C₃₆/ 2P/ 7P = 0,19/ 0,16/ 0,41/ 0,24.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 12 tháng 3 năm 2009

Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.