

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Ngô Phương Anh

**NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CHỦNG
VI SINH VẬT ỨNG DỤNG XỬ LÝ BÃ THẢI CÀ PHÊ
LÀM PHÂN BÓN VI SINH TỪ SƠN LA**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KỸ THUẬT HÓA HỌC, VẬT LIỆU,
LUYỆN KIM VÀ MÔI TRƯỜNG**

NGÔ PHƯƠNG ANH

KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG

2025

Hà Nội - 2025

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Ngô Phương Anh

**NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CHỦNG
VI SINH VẬT ỨNG DỤNG XỬ LÝ BÃ THẢI CÀ PHÊ
LÀM PHÂN BÓN VI SINH TỪ SƠN LA**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KỸ THUẬT HÓA HỌC, VẬT LIỆU,
LUYỆN KIM VÀ MÔI TRƯỜNG**

Ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8 52 03 20

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Dương Thị Thanh Xuyên

2. PGS. TS. Đỗ Văn Mạnh

Hà Nội - 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực, nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Học viên



Ngô Phương Anh

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Đỗ Văn Mạnh và TS. Dương Thị Thanh Xuyên đã tận tình hướng dẫn và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến các thầy cô trong Khoa Công nghệ môi trường và Năng lượng - Học viện Khoa học và Công nghệ đã giảng dạy và trang bị cho tôi những kiến thức quý giá trong suốt khóa học. Tôi xin cảm ơn Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, những người đã định hướng, chỉ bảo cho tôi có được nền tảng kiến thức vững chắc trong suốt quá trình học tập tại học viện.

Tôi xin chân thành cảm ơn đến TS. Lương Hữu Thành và các anh chị trong bộ môn Sinh học Môi trường, Viện Môi trường Nông nghiệp đã nhiệt tình giúp đỡ tôi trong quá trình làm thực nghiệm tại Bộ môn.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn đến gia đình và bạn bè đã luôn chia sẻ, ủng hộ và động viên trong suốt thời gian qua.

Cuối cùng tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô trong Hội đồng khoa học đã tạo điều kiện để tôi bảo vệ luận văn này.

Học viên



Ngô Phương Anh

MỤC LỤC

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT.....	i
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	ii
DANH MỤC CÁC HÌNH.....	iii
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	4
1.1. Tình hình sản xuất, tiêu thụ cà phê ở Việt Nam	4
1.1.1. Diện tích trồng cà phê ở Việt Nam	4
1.1.2. Sản lượng cà phê	5
1.1.3. Năng suất cà phê của Việt Nam	5
1.1.4. Tình hình xuất khẩu cà phê	6
1.2. Tổng quan về chất thải trong quá trình sản xuất cà phê	7
1.3. Tổng quan về các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy các hợp chất trong bã thải cà phê	12
1.3.1. Nhóm vi sinh vật phân giải cellulose và hemicellulose	12
1.3.2. Nhóm vi sinh vật phân giải lignin.....	13
1.3.3. Nhóm vi sinh vật phân giải protein.....	13
1.3.4. Nhóm vi sinh vật phân giải tinh bột và hydratcacbon dễ tiêu.....	14
1.3.5. Nhóm vi sinh vật chịu được các hợp chất ức chế trong bã cà phê	14
1.3.6. Sự phối hợp giữa các nhóm vi sinh vật trong quá trình ủ compost	14
1.4. Nghiên cứu xử lý chất thải sản xuất, chế biến cà phê.....	15
1.4.1. Nghiên cứu trên thế giới.....	15
1.4.2. Nghiên cứu xử lý phụ phẩm, chất thải sản xuất cà phê ở Việt Nam	24
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ.....	29
PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	29
2.1. Đối tượng nghiên cứu chính:	29

2.2. Thiết bị, hóa chất, dụng cụ thí nghiệm.....	29
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	29
2.3.1. Phương pháp lấy mẫu.....	29
2.3.2. Phương pháp nghiên cứu vi sinh vật.....	30
2.3.3. Các phương pháp lý, hóa học:.....	32
2.3.4. Phương pháp xác định mức độ an toàn sinh học của các chủng vi sinh vật	33
2.3.5. Các phương pháp khác:.....	35
2.4. Yêu cầu về mặt bằng xử lý bã thải cà phê	35
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	38
3.1. Kết quả phân tích tính chất của chất thải chế biến cà phê dạng rắn	38
3.2. Kết quả phân lập vi sinh vật phân giải hydratcacbon (tinh bột, cellulose, protein)	39
3.3. Tuyển chọn chủng có khả năng phân giải hợp chất chứa cacbon (tinh bột và cellulose, protein)	40
3.4. Đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa.....	42
3.4.1. Đặc điểm hình thái của các chủng được tuyển chọn	42
3.4.2. Đặc điểm sinh hóa của các chủng được tuyển chọn	44
3.5. Đánh giá khả năng tồn tại của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn trong điều kiện hỗn hợp	45
3.6. Định danh các loài vi sinh vật được lựa chọn bằng phương pháp sinh học phân tử.....	46
3.7. Các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn	47
3.8. Đánh giá khả năng ứng dụng của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn trong xử lý chất thải chế biến cà phê làm phân bón sinh học	52
3.8.1. Diễn biến nhiệt độ trong khối ủ bã thải cà phê	52
3.8.2. Độ sụt giảm thể tích khối ủ bã thải cà phê.....	53
3.8.3. Đánh giá chất lượng của phân compost sau ủ.....	54
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	57

KẾT LUẬN	57
KIẾN NGHỊ	58
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	59

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

TT	Ký hiệu	Ý nghĩa Tiếng Anh	Ý nghĩa Tiếng Việt
1	ARN	Axit ribonucleotit	-
2	BOD	Biochemical Oxygen Demand	Nhu cầu Oxy Sinh hóa
3	BTNMT	-	Bộ Tài nguyên Môi trường
4	Bộ NNMT	-	Bộ Nông nghiệp và Môi trường
5	CFU	Colony forming unit	Đơn vị hình thành khuẩn lạc
6	CH	Coffee Chaff	Vỏ trấu cà phê
7	CMC	Carboxymethyl Cellulose	-
8	COD	Chemical Oxygen Demand	Nhu cầu Oxy hóa học
9	CP	Coffee Pulp	Vỏ cà phê
10	CSLE	Common Solid-Liquid Extraction	Phương pháp chiết rắn-lỏng thông thường
11	DW	Dry weight	Trọng lượng khô
12	ĐC	-	Đối chứng
13	HTX	-	Hợp tác xã
14	NN&PT NT	-	Nông nghiệp và phát triển nông thôn
15	OC	Organic Carbon	Cacbon hữu cơ
16	OM	Organic matter	Vật liệu hữu cơ
17	QCVN	-	Quy chuẩn Việt Nam
18	SSF	Solid-State Fermentation	Lên men ở trạng thái rắn
19	SCG	Used coffee grounds	Bã cà phê
20	TCVN	-	Tiêu chuẩn Việt Nam
21	TSS	Total Suspended Solids	Tổng chất rắn lơ lửng
22	UAE	Ultrasound-Assisted Extraction	Chiết siêu âm
23	VSV	-	Vi sinh vật

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1. Kết quả phân tích một số chỉ tiêu trong mẫu bã thải cà phê sau chế biến ướt.....	38
Bảng 3.2. Mật độ tế bào vi sinh vật trong chất thải rắn	38
Bảng 3.3. Đặc điểm khuẩn lạc vi sinh vật phân lập được.....	40
Bảng 3.4. Vòng phân giải tinh bột, cellulose, protein của các chủng tuyển chọn	41
Bảng 3.5. Đặc điểm của các chủng xạ khuẩn trong nghiên cứu	44
Bảng 3.6. Khả năng tồn tại của các chủng vi sinh vật	45
Bảng 3.7. Hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật trong điều kiện hỗn hợp sau 1 tháng bảo quản	46
Bảng 3.8. Kết quả định danh và mức độ an toàn của chủng các vi sinh vật... 47	
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới sinh trưởng và phát triển của VSV	48
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của pH tới sinh trưởng và phát triển của VSV	48
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của không khí đến sinh trưởng và phát triển của VSV	49
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến các chủng vi sinh vật.....	50
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men sinh khối VSV	51
Bảng 3.14. Thông số tối ưu để nhân sinh khối chủng vi sinh vật được tuyển chọn	51
Bảng 3.15. Thành phần của phế thải chế biến cà phê	55

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Diện tích trồng cà phê của Việt Nam từ năm 2007 – 2022	4
Hình 1.2. Sản lượng và năng suất cà phê Việt Nam	5
Hình 1.3. Năng suất cà phê Việt Nam từ năm 2005 đến năm 2022	5
Hình 1.4. Xuất khẩu cà phê theo lượng và kim ngạch.....	6
Hình 1.5. Chứng loại cà phê xuất khẩu của Việt Nam năm 2022.....	7
Hình 1.6. Thị trường xuất khẩu cà phê Việt Nam, 2021 - 2022	7
Hình 3.1. Hình ảnh khuẩn lạc xạ khuẩn được phân lập	39
Hình 3.2. Hình ảnh vòng phân giải hợp chất hữu cơ của 2 chủng được lựa chọn	42
Hình 3.3. Đặc điểm khuẩn lạc chủng ĐTX2.....	43
Hình 3.4. Đặc điểm khuẩn lạc chủng SHB 17	43
Hình 3.5. Phản ứng catalase của các chủng được tuyển chọn	44
Hình 3.6. Diễn biến nhiệt độ trong khối ủ bã thải cà phê	53
Hình 3.7. Diễn biến độ sụt giảm thể tích khối ủ bã thải cà phê	53
Hình 3.8. Vỏ cà phê sau 1 tháng ủ	54

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Việt Nam hiện là nước đứng thứ 2 thế giới về sản xuất cà phê. Theo hiệp hội Cà phê - Ca cao Việt nam, khối lượng xuất khẩu cà phê của nước ta đạt hơn 1,68 triệu tấn cà phê với giá trị trên 3,9 tỷ USD trong niên vụ cà phê 2021 - 2022. Trong những năm gần đây, ngành cà phê đã trở thành ngành quan trọng, chiếm 3% GDP cả nước, kim ngạch xuất khẩu chiếm khoảng 15% tổng xuất khẩu nông sản của cả nước [1].

Ở nước ta, cà phê được trồng chủ yếu là cà phê vối (Robusta) và cà phê chè (Arabica). Cà phê vối được trồng tập trung tại các tỉnh thuộc vùng Tây Nguyên như Đắk Lắk, Đắk Nông, Gia Lai, Lâm Đồng và cà phê chè được trồng nhiều tại một số tỉnh thuộc vùng Tây Bắc, đặc biệt là Sơn La. Tỉnh Sơn La có hơn 21.000 ha trồng cà phê với sản lượng khoảng 400.000 tấn quả/năm, (chiếm 41,2% diện tích cà phê Arabica của cả nước và là tỉnh có diện tích trồng cà phê Arabica lớn nhất cả nước) được trồng tập trung chủ yếu ở huyện Mai Sơn, Thuận Châu, Yên Châu, Sốp Cộp và Thành phố Sơn La. Trong đó, có gần 18.000 ha được cấp chứng nhận bền vững và tương đương, sản lượng đạt trên 204.000 tấn quả tươi [2]. Mục tiêu đến hết năm 2025, Sơn La sẽ phát triển ổn định diện tích cà phê với 17.000 ha và cải tạo, tái canh 8.000 ha cho năng suất trung bình đạt từ 2 - 2,5 tấn/ha. Để đảm bảo hương vị thơm ngon và góp phần xây dựng thương hiệu cà phê Sơn La, 100% cà phê của tỉnh được chế biến theo phương pháp chế biến ướt. Quy trình chế biến ướt (lên men ướt) bao gồm các công đoạn: chà xát để tách vỏ và thịt quả, ngâm ủ cho chất nhầy tự lên men rồi phân rã sau đó rửa, phơi sấy để thu được cà phê thóc. Mặc dù mang lại ưu điểm về chất lượng sản phẩm nhưng lại phát sinh một lượng lớn chất thải bao gồm cả chất thải rắn và nước thải. Chất thải rắn có thành phần chủ yếu là vỏ quả, thịt quả, cuống cà phê, hạt lép,... Các thành phần này chiếm đến 40 - 42% trọng lượng ẩm của quả cà phê tạo nên một lượng thải lớn trong cả niên vụ, kéo dài từ 4 - 8 tháng/năm. Mặc dù là chất thải nhưng chứa các hợp chất phytochemical có hàm lượng cao các chất phenolic, sau đó đến các flavonoids và carotenoids với tỷ lệ 0,4 - 6,8 mg/g chất thải khô. Hàm lượng caffein trong bã cà phê là ~ 0.82 g/100 g chất thải khô. Các chất chiết xuất từ cà phê đã được thử nghiệm có tác dụng ức chế vi khuẩn dòng *S. aureus* và *E. coli* ở nồng độ 1,0 mg/ml và sự ức chế mạnh các vi nấm *C. albicans*, *C. krusei* và *C.parapsilosis* ở nồng độ

thấp hơn (0.5 mg/ml) [3]. Nhờ đặc điểm thành phần như vậy, đã có nhiều nghiên cứu trong nước và quốc tế tập trung vào việc xử lý chất thải cà phê để ứng dụng trong chế biến thức ăn gia súc và phân compost. Bên cạnh đó, phế phụ phẩm cà phê còn được thử nghiệm tạo ra biochar để hấp phụ một số kim loại nặng trong nước thải công nghiệp. Tuy nhiên, ở từng hướng tiếp cận trên lại chỉ ra những nhược điểm từ nguồn phế phụ phẩm này, chẳng hạn như: để sản xuất thức ăn chăn nuôi người ta phải tiến hành khử caffein và tannin bằng các phương pháp hóa học và sinh học, từ đó làm phức tạp quá trình xử lý và giảm hiệu quả về mặt kinh tế. Tương tự, phương pháp tạo biochar tuy khả thi về mặt kỹ thuật nhưng năng lượng tiêu hao lớn, dẫn đến hiệu quả kinh tế không cao.

Trong khi đó nhiều nghiên cứu đã cho thấy, chất thải từ cà phê, bao gồm bã cà phê và vỏ cà phê, có nhiều tác dụng quan trọng trong việc làm phân bón, đặc biệt là trong sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh. Phân bón hữu cơ từ chất thải cà phê có rất nhiều tác dụng, như: hàm lượng Nitơ cao, chứa nhiều khoáng chất quan trọng (kali, phopho, magie...) cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng; giúp cải thiện cấu trúc đất, tăng độ tơi xốp của đất, giữ ẩm tốt; thúc đẩy vi sinh vật có lợi trong đất; kiểm soát sâu bệnh tự nhiên; đặc biệt là giảm thiểu rác thải và bảo vệ môi trường.

Vì vậy việc lựa chọn và thực hiện đề tài **“Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật ứng dụng xử lý bã thải cà phê làm phân bón vi sinh từ Sơn La”** là cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn nhằm góp phần kiểm soát và giảm thiểu tác động tiêu cực đến môi trường trong việc quản lý hiệu quả nguồn thải từ quá trình chế biến nông sản và đồng thời cũng tạo ra nguồn phân bón trả lại chất dinh dưỡng cho đất trồng. Trong khuôn khổ đề tài, chúng tôi tập trung xử lý chất thải dạng rắn sau chế biến cà phê ướt tại một số cơ sở sản xuất trên địa bàn tỉnh Sơn La làm phân bón vi sinh vừa góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường vừa trả lại nguồn dinh dưỡng cho đất trồng và giảm thiểu chi phí sản xuất cho người nông dân.

2. Mục đích nghiên cứu

Phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật để ứng dụng trong xử lý bã thải cà phê làm phân bón vi sinh.

3. Nội dung nghiên cứu

Phân lập một số chủng vi sinh vật có khả năng phân giải các hợp chất cacbonhydrat.

Đánh giá hoạt tính phân giải các hợp chất hữu cơ của các chủng vi sinh vật.

Đánh giá khả năng sử dụng của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn trong xử lý bã thải cà phê.

4. Những đóng góp của luận văn

Phân lập và tuyển chọn được các chủng vi sinh vật đặc có hoạt tính phân giải cacbonhydrat từ đó tạo cơ sở cho việc phát triển chế phẩm sinh học.

Đóng góp quy trình bước đầu trong việc ứng dụng vi sinh vật vào xử lý phụ phẩm nông nghiệp khó phân hủy (bã thải cà phê), giúp chuyển đổi thành dạng phân hữu cơ - vi sinh có giá trị sử dụng.

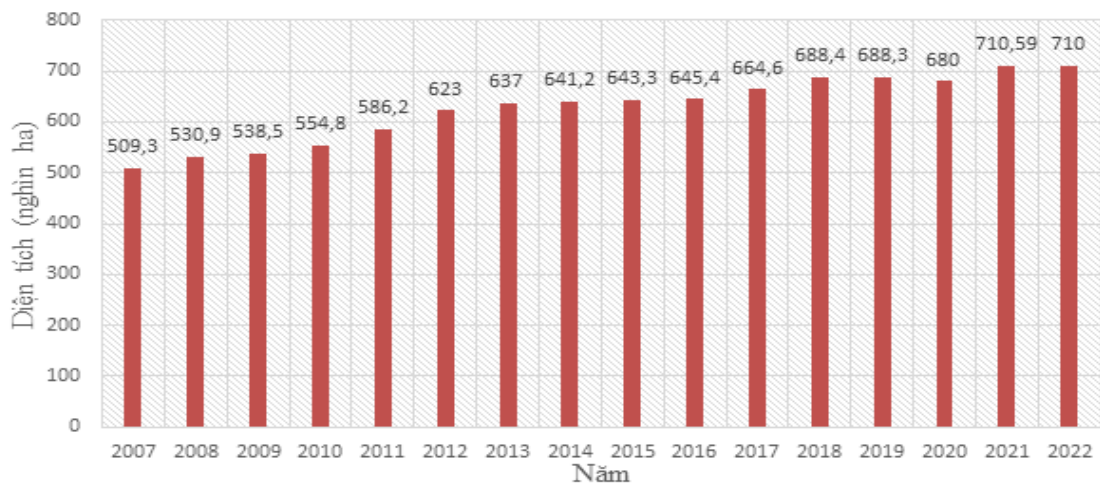
Đưa ra giải pháp xử lý chất thải nông nghiệp thân thiện môi trường, giảm thiểu ô nhiễm do bã thải cà phê gây ra.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Tình hình sản xuất, tiêu thụ cà phê ở Việt Nam

1.1.1. Diện tích trồng cà phê ở Việt Nam

Năm 2022, diện tích cà phê của Việt Nam đạt khoảng 710 nghìn ha, trong đó Tây Nguyên là vùng sản xuất cà phê chính của cả nước. Theo thống kê 5 tỉnh Tây Nguyên gồm Đắk Lắk, Đắk Nông, Gia Lai, Kon Tum và Lâm Đồng chiếm 91,2% về diện tích trồng cà phê của cả nước [1].



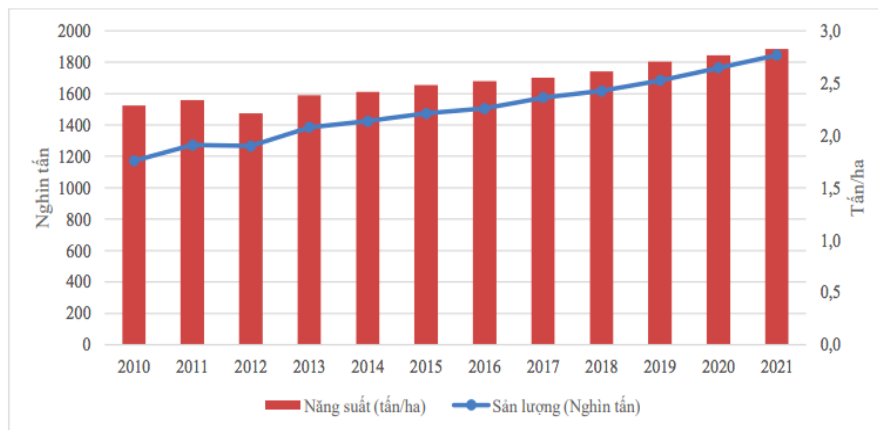
Hình 1.1. Diện tích trồng cà phê của Việt Nam từ năm 2007 – 2022

Cà phê Robusta (cà phê vối) - cà phê có thể mạnh của Việt Nam chiếm tỷ trọng chính cả về diện tích với 93,06%, giữ vai trò chủ đạo trong kinh doanh, sản xuất và chế biến và được trồng tập trung chủ yếu ở Đắk Lắk, Lâm Đồng, Đắk Nông và Gia Lai. Cụ thể, diện tích cà phê vối ở Đắk Lắk là 204.000 ha, Lâm Đồng là 164.000 ha, Đắk Nông là 158.000 ha, Gia Lai là 91.000 ha, Kon Tum 17.000 ha, Bình Phước 15.000 ha, Đồng Nai 13.000 ha, Bình Thuận 3.000 ha, các tỉnh khác 5.000 ha.

Cà phê Arabica hay còn gọi là cà phê Chè, chiếm 6,94% về diện tích, được trồng chủ yếu ở Lâm Đồng và Sơn La. Niên vụ cà phê 2021 - 2022, tỉnh Sơn La có khoảng 20.000 ha cà phê vối sản lượng ước đạt 40.000 - 50.000 tấn nhân, để đảm bảo hương vị thơm ngon và góp phần xây dựng thương hiệu cà phê Sơn La, 100% cà phê của tỉnh được chế biến theo phương pháp chế biến ướt. Diện tích cà phê Chè ở Lâm Đồng khoảng 19.000 ha, Điện Biên có 5.000 ha, Quảng Trị có 5.000 ha, Đắk Lắk có 4.000 ha và các tỉnh khác có khoảng 4.000 ha.

1.1.2. Sản lượng cà phê

Theo báo cáo của Tổng cục Thống kê năm 2021[4], sản lượng cà phê cả nước đạt sản lượng là 1,85 triệu tấn, năng suất đạt 2,8 tấn/ ha, tăng lần lượt 4,6% và 2,1% so với năm 2020. Sản lượng cà phê tiêu thụ nội địa và cung ứng cho các nhà máy chế biến cà phê giá trị gia tăng xấp xỉ 400.000 tấn, chiếm khoảng 23,52% trên tổng sản lượng cà phê của cả nước, tăng đáng kể so với con số 5-7% trước đây.

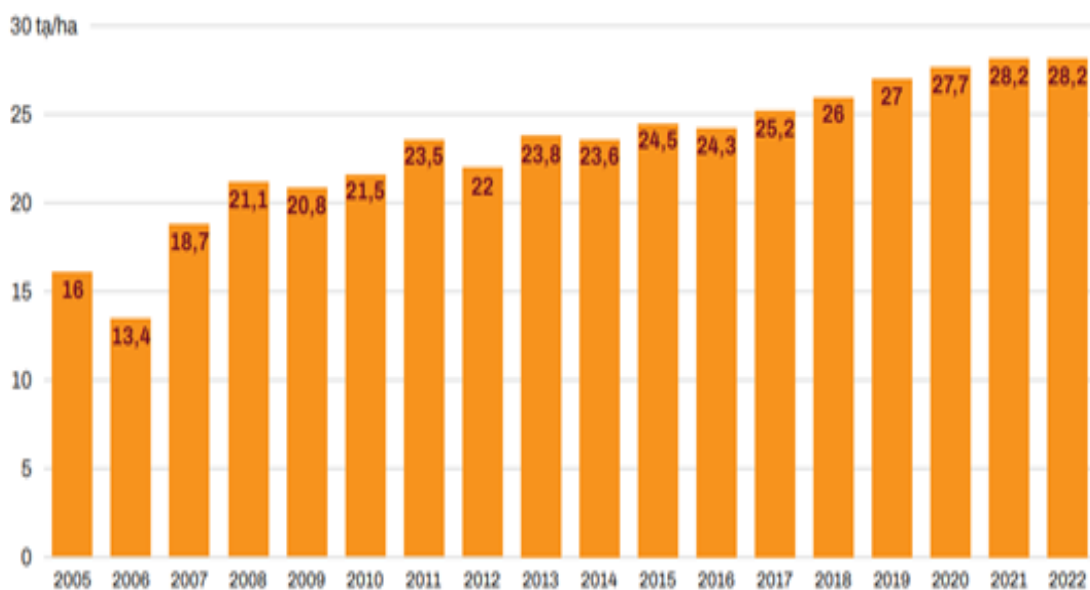


Nguồn: Tổng cục thống kê, 2022

Hình 1.2. Sản lượng và năng suất cà phê Việt Nam

1.1.3. Năng suất cà phê của Việt Nam

Năng suất cà phê tăng nhanh trong những năm qua và đạt 28,2 tạ/ha trong hai năm 2021 và 2022, xu hướng giữ ổn định trong năm 2023.

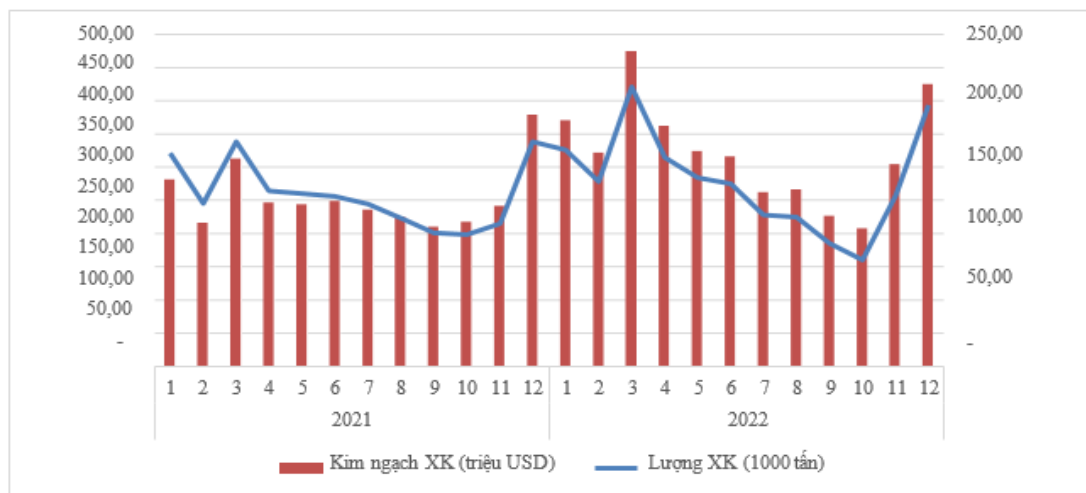


Hình 1.3. Năng suất cà phê Việt Nam từ năm 2005 đến năm 2022

Năng suất cà phê Việt Nam thường cao nhất trên thế giới, trung bình 2,6 tấn/ha nhân đối với Robusta và 1,4 tấn nhân/ha đối với Arabica. Cụ thể, đối với cà phê Robusta, ở Đắk Lắk năng suất đạt 2,4 tấn/ha, Lâm Đồng đạt 2,7 tấn/ha, Đắk Nông 2,6 tấn/ha, Gia Lai đạt 2,8 tấn/ha. Trong khi cà phê Arabica chỉ đạt năng suất 1,5 tấn/ha ở Lâm Đồng, 1,3 tấn/ha ở Sơn La, 1,9 tấn/ha ở Điện Biên, 1,1 tấn/ha ở Quảng Trị và 1,0 tấn/ha ở Đắk Lắk, còn lại các tỉnh khác trung bình khoảng 0,8 tấn/ha.

1.1.4. Tình hình xuất khẩu cà phê

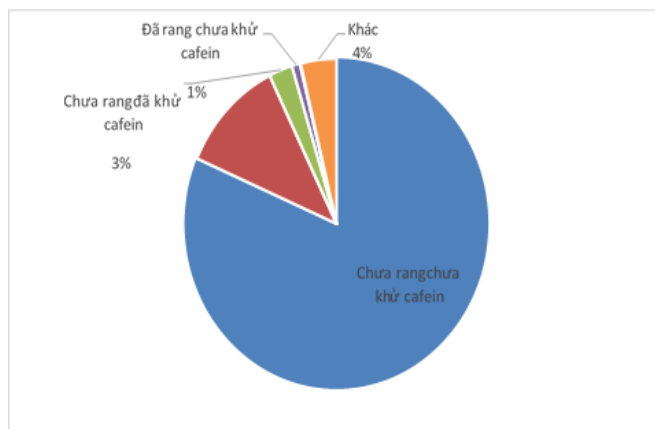
Theo hiệp hội Cà phê - Ca cao Việt nam, khối lượng xuất khẩu cà phê của nước ta đạt hơn 1,68 triệu tấn cà phê với giá trị trên 3,9 tỷ USD trong niên vụ cà phê 2021- 2022. Trong những năm gần đây, ngành cà phê đã trở thành ngành quan trọng, chiếm 3% GDP cả nước, kim ngạch xuất khẩu chiếm khoảng 15% tổng xuất khẩu nông sản của cả nước [1].



Nguồn: Tổng cục Hải quan, 2022

Hình 1.4. Xuất khẩu cà phê theo lượng và kim ngạch

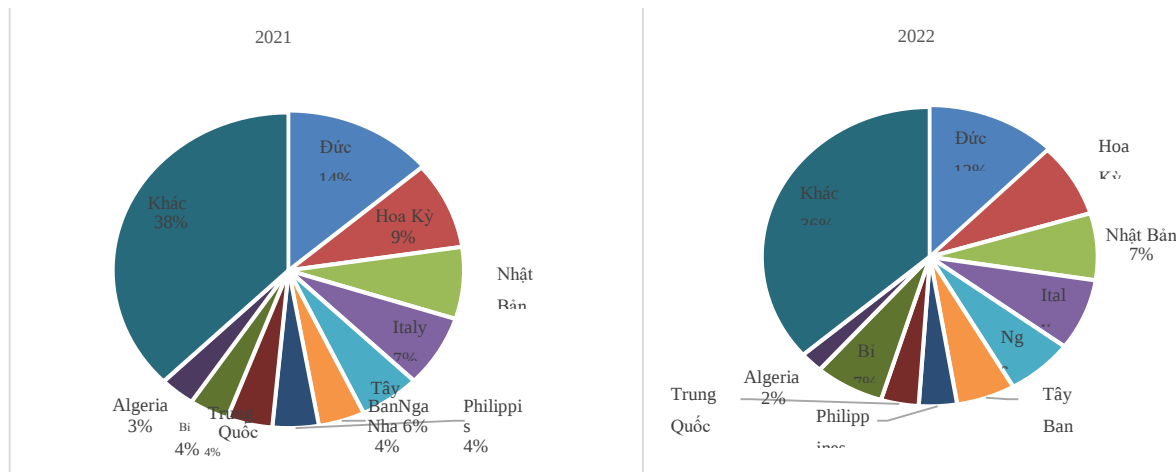
Năm 2022, Việt Nam vẫn chủ yếu xuất khẩu các loại cà phê thô với hàm lượng giá trị gia tăng thấp, như cà phê chưa rang chưa khử cafein với 3,1 tỷ USD, chiếm 81,5% tổng kim ngạch xuất khẩu. Cà phê hoà tan xuất khẩu đứng thứ hai với 434,9 triệu USD, chiếm 11,3% tổng kim ngạch xuất khẩu. Các loại cà phê khác như chưa rang đã khử cafein chiếm 2,5%, cà phê đã rang chưa khử cafein chiếm 0,9% và cà phê đã rang đã khử cafein chiếm 0,1%.



Nguồn: Tổng cục Hải quan, 2022

Hình 1.5. Chủng loại cà phê xuất khẩu của Việt Nam năm 2022

Năm 2022, Đức vẫn tiếp tục là quốc gia nhập khẩu cà phê nhiều nhất của Việt Nam với 473,8 triệu USD, chiếm 12,4% tổng kim ngạch xuất khẩu cà phê. Tiếp theo là Hoa Kỳ với 303,3 triệu USD, chiếm 7,9%. Thứ ba là Nhật Bản với 276,0 triệu USD, chiếm 7,2%. Trong Top 10 thị trường xuất khẩu lớn nhất, chỉ duy nhất Algeria có kim ngạch giảm, còn lại các thị trường khác đều có kim ngạch tăng trong năm 2022 so với năm 2021.



Nguồn: Tổng cục Hải quan, 2022

Hình 1.6. Thị trường xuất khẩu cà phê Việt Nam, 2021 - 2022

1.2. Tổng quan về chất thải trong quá trình sản xuất cà phê

Phụ phẩm, chất thải sản xuất cà phê có thể bao gồm lá, hoa, vỏ quả, lớp nhót, lớp vỏ trấu, lớp vỏ lụa, bã cà phê đã qua sử dụng và nước thải tùy thuộc vào các quá trình thu hoạch, chế biến, rang và pha cà phê. Theo các tài liệu hiện có và các phân tích hóa lý về thành phần của chất thải trong quá trình chế biến

cà phê cho thấy tiềm năng lớn để chiết xuất, sản xuất các hợp chất, vật liệu có giá trị cao.

Phụ phẩm, chất thải sản xuất cà phê và thành phần hóa học của chúng:

+ Lá cà phê:

Mặc dù cà phê đã biết đến như một loại đồ uống từ giữa thế kỷ 15. Tuy nhiên, cho đến gần đây, lá cà phê vẫn chưa được sử dụng rộng rãi. Việc sử dụng chiết xuất lá cà phê làm đồ uống đã có lịch sử lâu đời ở một số địa phương nơi cà phê đã được trồng trong nhiều thế kỷ. Những lợi ích sức khỏe đối với con người của lá cà phê gần đây đã thu hút được sự chú ý ngày càng tăng do hàm lượng các thành phần hoạt tính sinh học dồi dào. Tuy nhiên, rất ít nghiên cứu mô tả đặc tính hoạt tính sinh học của các hợp chất hóa thực vật có nguồn gốc từ lá cà phê.

Hợp chất có hoạt tính sinh học dồi dào nhất trong lá cà phê là caffeine, với nồng độ khoảng 24,5 g/kg lá khô [5, 6]. Trên thực tế, do hàm lượng caffeine cao, lá cà phê già có thể gây hại cho đất và các vi sinh vật có lợi sống trong đất và rễ cà phê, đặc biệt ở những vùng trồng cà phê quy mô lớn. Vì vậy, việc thu thập, xử lý và sử dụng lá cà phê không chỉ thúc đẩy việc sử dụng nguồn tài nguyên này mà còn làm giảm tác động xấu của chất thải lá cà phê đến môi trường. Mặc dù thường được coi là một sản phẩm phụ nhưng lá cà phê lại là một nguồn giàu chất chống oxy hóa, đặc biệt là mangiferin và este axit hydroxycinnamic (HCE), do đó nó đã được nghiên cứu rộng rãi do có nhiều lợi ích tiềm tàng với sức khỏe. Hơn nữa, tổng cộng 47 hợp chất dễ bay hơi khác nhau đã được xác định trong tinh dầu từ lá cà phê, trong đó (E)-2-hexenal (39,7%) và 1-hexanol (32,1%) là những hợp chất có hàm lượng cao nhất. Điều quan trọng là những loại dầu có nguồn gốc từ lá cà phê này có thể được sử dụng thay thế cho tinh dầu thảo dược. Một nghiên cứu gần đây đã thử nghiệm khả năng ứng dụng của lá cà phê cho nhiều mục đích khác nhau, bao gồm y học dân tộc, sữa rửa mặt, chất thay thế thuốc lá, thức ăn chăn nuôi, chất tăng sinh, vật liệu đóng gói, miếng thấm hút và chất khử mùi.

+ Hoa cà phê:

Tương tự như lá cà phê, ít nghiên cứu tìm hiểu đặc điểm và ứng dụng của hoa cà phê. Ước tính một cây cà phê trưởng thành cho khoảng 30.000-40.000 bông hoa mỗi năm. Do đó, các sản phẩm giá trị gia tăng có nguồn gốc

từ hoa cà phê có thể được sản xuất mang lại lợi nhuận với điều kiện là hoa có thể được thu hoạch mà không ảnh hưởng đến năng suất sản xuất của quả cà phê [7]. Hoa cà phê là nguồn cung cấp caffeine và trigonelline, cũng như các thành phần dễ bay hơi như epoxygeraniols (2,3-epoxygeraniol và 6,7-epoxygeraniol) và epoxyneryl [8, 9]. Một nghiên cứu trước đây đã báo cáo rằng n-pentadecane là hợp chất có nhiều nhất trong hoa cà phê, tiếp theo là 8-heptadecane và geraniol [10], khiến hoa cà phê trở thành nguồn thay thế để sản xuất các loại nước hoa đặc biệt. Giống như các loại hoa khác, hoa cà phê cũng chứa nhiều thành phần như carbohydrate, caffeine, tannin và polyphenol. Trong các nghiên cứu trước đây, phương pháp xanh dựa trên chiết xuất nước nóng có áp suất đã được sử dụng để thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học, chẳng hạn như melanoidin và đường sinh học từ hoa cà phê. Điều thú vị là phát hiện cũng xác nhận rằng caffeine và trigonelline là những hợp chất chính được chiết xuất từ hoa cà phê, với sản lượng lần lượt là 1.070,8 mg và 1.092,8 mg/100 g DW. Những phát hiện này cho thấy hoa cà phê là một lựa chọn đầy hứa hẹn trong ngành đồ uống, có thể làm tăng lợi ích kinh tế của nông dân trồng cà phê [11]. Những bông hoa cũng có thể được sử dụng để pha trà với nước nóng. Một sản phẩm thứ cấp khác trong các đồn điền cà phê là mật ong hoa cà phê - được tạo ra bởi loại ong hút mật từ hoa cà phê, loại mật này hiếm khi có do thời gian ra hoa ngắn của hoa cà phê.

+ *Vỏ cà phê và lớp vỏ trấu:*

Là sản phẩm phụ được tạo ra trong chế biến cà phê. Trong cả hai phương pháp chế biến khô và ướt, vỏ cà phê (CP) và vỏ trấu (CH) chiếm tỷ lệ cao trong tổng sinh khối quả cà phê tính theo trọng lượng khô (DW), ước tính đạt khoảng 0,5 và 0,2 tấn/tấn cà phê tươi. Vỏ cà phê là sản phẩm phụ đầu tiên thu được từ quá trình chế biến cà phê, chiếm 40-50% trọng lượng của quả cà phê và thành phần của vỏ cà phê có chứa 4-12 g protein, 1-2 g lipid, 45-89 g carbohydrate (trên 100 g chất khô), ngoài ra còn chứa nhiều thành phần khác như các chất khoáng (P, Ca, K, Mg), các chất caffeine, tannin, pectin, axit galic,... Tính theo tỉ lệ % thì các thành phần hữu cơ có trong vỏ cà phê bao gồm cellulose (63%), lignin (17%), protein (11,5%), hemicelluloses (2,3%), tannin (1,80-8,56%), chất pectic (6,5%), đường khử (12,4%), đường không khử (2,0%), caffeine (1,3%), axit chlorogen (2,6%) và axit caffeic (1,6%) [12, 13, 14]. Trong vỏ cà

phê có hàm lượng cao các chất phenolic, sau đó đến các flavonoids và carotenoids với tỷ lệ 0,4- 6,8 mg/g chất thải khô. Hàm lượng caffein trong vỏ cà phê là ~ 0.82 g/100 g chất thải khô.

Sinh khối CP và CH từ lâu đã được sử dụng để sản xuất khí sinh học. Ngoài ra, những sản phẩm phụ CP và CH cũng được sử dụng để trồng nấm, trong đó 73% chất nền được sử dụng và lượng còn lại có thể được sử dụng làm phân bón [15, 16]. CP và CH cũng hữu ích cho việc sản xuất ethanol sinh học, nhiên liệu sinh học, enzyme và các hợp chất hoạt tính sinh học.

Thông qua quá trình lên men ở trạng thái rắn (SSF) của vỏ cà phê làm nguồn carbon duy nhất sử dụng *Penicillium sp* để sản xuất enzyme, một nghiên cứu đã đạt được tốc độ hoạt động xylanase tối đa là 9,475 U/g. Một nghiên cứu trước đây đã báo cáo rằng SSF của CP sau khi tiền xử lý bằng kiềm sử dụng *Acinetobacter sp.* tạo ra 888 U/mL cellulase sau 60 giờ ủ. Ngoài ra, ethanol sinh học là sản phẩm chính thu được từ CP và CH. Trước khi đường hóa và lên men, CP và CH thường được xử lý trước bằng axit kiềm hoặc axit loãng. Một số nghiên cứu đã báo cáo những kết quả đáng khích lệ, chẳng hạn như sản lượng ethanol khoảng 70 g/L sau 24 giờ lên men hỗn hợp thủy phân của mật mía và CP [17], cũng như 13,66 g/L ethanol từ CP tiền xử lý bằng kiềm [18]. Từ góc độ kinh tế, đánh giá kinh tế - kỹ thuật đã chỉ ra giá trị ròng của việc sản xuất ethanol sinh học từ CP, chứng minh việc sử dụng nó như một nguồn năng lượng khả thi về mặt kinh tế bên cạnh việc bù đắp lượng khí thải CO₂ để thích ứng với yêu cầu môi trường.

CP và CH chứa hàm lượng axit chlorogen và caffeic cao. Sử dụng phương pháp chiết xuất enzyme rẻ tiền, axit chlorogen là sản phẩm chính (36,1%) của SSF với *Aspergillus tamarii*, *Rhizomucor pusillus* và *Trametes sp.*, theo sau là axit caffeic (33%). Hơn nữa, trong một nghiên cứu trước đó, việc chiết xuất enzyme 1 kg CP tạo ra tổng cộng 5,4 g axit ferulic, caffeic, p-coumaric và chlorogen. Các thí nghiệm in vitro đã chứng minh các đặc tính chống oxy hóa, kháng khuẩn và chống viêm của CP, được cho là do hàm lượng axit chlorogenic và caffeic [19]. Sản lượng axit lactic đạt 55,5-67,6 kg DW trên 1000 kg DW CP cũng đã đạt được thông qua quá trình lên men với *Bacillus coagulans* ở quy mô thí điểm. Một số sản phẩm có nguồn gốc từ CH như bột than hoạt tính và chất bổ sung chất xơ cũng thu hút được sự chú ý đáng kể [20,

21, 22]. Điều thú vị là, do hàm lượng phenolic phong phú, CF có thể được sử dụng để sản xuất đồ uống cascara [23], vốn đã được thương mại hóa rộng rãi trên thị trường đồ uống cà phê. Ngoài ra, CH được sử dụng trong sản xuất thuốc trừ sâu sinh học bằng cách lên men với *Bacillus sphaericus* và *B. thuringiensis* subsp. *Israelensis* để kiểm soát muỗi truyền bệnh [24].

+ *Vỏ lụa (vỏ bạc)*:

Cà phê vỏ bạc được tạo ra trong quá trình rang chỉ chiếm khoảng 4,3% (w/w) trong cà phê nhân nhưng lại rất giàu chất xơ (80%), chất chống oxy hóa và hợp chất phenolic. Vỏ cũng có thể được sử dụng làm nguyên liệu thô để chiết xuất chất chống oxy hóa do hàm lượng axit chlorogen cao [25, 26]. Một nghiên cứu báo cáo rằng polysaccharides ở dạng cellulose và hemicellulose là thành phần có nhiều nhất trong cà phê vỏ bạc, chiếm 40,5% (w/w) tổng khối lượng của nó tính theo DW [27]. Các nghiên cứu trước đây cũng đã báo cáo việc sản xuất butanol sinh học từ vỏ cà phê. Tuy nhiên, việc sử dụng cà phê vỏ bạc và bã cà phê (SCG) để sản xuất butanol sinh học có thể cực kỳ khó khăn, đặc biệt khi so sánh với các nguyên liệu lignocellulose thô khác được bán rộng rãi với số lượng lớn. Ngoài ra, nhóm Trchouian đã báo cáo việc sản xuất bio-H₂ của cà phê vỏ bạc bằng cách sử dụng *E. coli* với năng suất 2,15 mL/g cà phê vỏ bạc nguyên liệu [28, 29].

+ *Bã pha cà phê (SCG)*:

SCG thu được sau khi pha cà phê hoặc trong quá trình sản xuất cà phê hòa tan, chiếm khoảng 50% trọng lượng khô trong sinh khối quả cà phê. Sản lượng SCG hàng năm trên toàn cầu ước tính đạt 6 triệu tấn, tương ứng với 650 kg SCG trên mỗi tấn hạt cà phê xanh. Việc tái sử dụng SCG đã nhận được sự chú ý đặc biệt trong những năm gần đây vì những chất cặn này phải được xử lý trước khi thải ra môi trường do những tác động sinh thái tiềm ẩn của chúng. Ngoài ra, SCG chứa một lượng lớn các hợp chất hữu cơ bao gồm carbohydrate, lipid và protein, cũng như các hợp chất phenolic và hoạt tính sinh học như caffeine, chlorogen, axit caffeic, cafestol và kahweol, và có thể dễ dàng thu thập với số lượng lớn từ các nhà máy cà phê và cửa hàng. Do đó, những nỗ lực đáng kể đã được thực hiện để chuyển đổi SCG thành các sản phẩm có giá trị gia tăng như nhiên liệu sinh học, hợp chất hoạt tính sinh học và vật liệu sinh học.

So với các vật liệu lignocellulose khác (lignin, cellulose và hemicellulose), SCG chứa hàm lượng hemicellulose cao (30–40 wt%) và lignin (25–30 wt%) và một lượng cellulose tương đối nhỏ (khoảng 8,6–13,3 wt%). Hầu hết các nghiên cứu về ứng dụng tiềm năng của SCG đã khám phá tiềm năng của lignin như một nguồn nhiên liệu đáp ứng nhu cầu năng lượng toàn cầu ngày càng tăng. Lee và cộng sự đã chứng minh rằng quy trình tiền xử lý organosol cho phép sử dụng lignin có nguồn gốc từ SCG. Tuy nhiên, quá trình xử lý sinh học lignin không hiệu quả về mặt chi phí do tính cố định cao của hợp chất này [29]. Cellulose và hemicellulose từ SCG có thể bị thủy phân để tạo thành các monosaccharide có thể lên men, đặc biệt là mannose và galactose, sau đó các hợp chất này có thể được tiếp tục sử dụng làm chất nền cho quá trình lên men vi sinh vật và sản xuất các hóa chất có giá trị khác như polyhydroxyalkanoates. Tiền xử lý bằng hơi nước là một phương pháp hiệu quả để hòa tan và giảm liều lượng enzyme trước khi thủy phân SCG bằng enzyme. Tuy nhiên, tiền xử lý bằng hơi nước ở 175°C thúc đẩy mạnh mẽ sự hình thành các sản phẩm phân hủy đường như hydroxymethylfurfural và furfural, chúng ức chế hoạt động của vi sinh vật trong các quá trình lên men tiếp theo. Các sản phẩm phân hủy độc hại có trong chất thủy phân SCG có thể có hoạt tính kháng khuẩn và do đó, các bước khử độc ở dòng sương có thể yêu cầu tăng cường sử dụng chất thải cà phê. Hơn nữa, quá trình lên men vi sinh của các loại đường có thể lên men được thu hồi từ SCG bằng các chủng khác nhau có thể tạo ra nhiều loại sản phẩm, chẳng hạn như ethanol sinh học, khí sinh học, polymer polyhydroxyalkanoat và các hóa chất nền tảng có giá trị cao.

1.3. Tổng quan về các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy các hợp chất trong bã thải cà phê

1.3.1. Nhóm vi sinh vật phân giải cellulose và hemicellulose

- Một số loài vi khuẩn có khả năng sinh cellulase và xylanase, tham gia phân hủy các polysaccharide trong bã cà phê.

Các loài điển hình:

+ *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*: tiết enzyme endo- β -1,4-glucanase và β -glucosidase, phân giải cellulose thành glucose.

+ *Pseudomonas fluorescens*, *Cellulomonas* sp.: phân giải hemicellulose (xylan, mannan).

+ *Paenibacillus polymyxa*: vừa phân giải cellulose, vừa cố định đạm, thích hợp cho ủ phân hữu cơ.

Các chủng *Bacillus* được sử dụng phổ biến do chịu nhiệt tốt, phát triển nhanh trong điều kiện hiếu khí, và không gây độc.

- Nấm là nhóm sinh cellulase mạnh nhất trong tự nhiên.

Các loài phổ biến:

+ *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*: tiết cellulase và hemicellulase mạnh; thường dùng trong chế phẩm xử lý rơm rạ, vỏ cà phê.

+ *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*: tiết enzyme xylanase và mannanase; hoạt động tốt ở pH 5–6.

+ *Penicillium* sp.: góp phần phân giải cellulose thành các đường đơn dễ tiêu.

Việc bổ sung *Trichoderma harzianum* vào ủ vỏ cà phê giúp rút ngắn thời gian phân hủy 20-30% so với ủ tự nhiên [30, 31].

1.3.2. Nhóm vi sinh vật phân giải lignin

Lignin là hợp chất thơm cao phân tử, bền vững và khó phân hủy.

Các nhóm vi sinh vật có khả năng phân giải lignin gồm:

- Nấm mục trắng (white-rot fungi) như *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* tiết enzyme lignin peroxidase (LiP), mangan peroxidase (MnP) và laccase.

- Xạ khuẩn (Actinomycetes) như *Streptomyces* sp., *Micromonospora* sp. vừa phân giải lignin, vừa tạo mùn hữu cơ.

Việc kết hợp *Streptomyces* với *Bacillus* trong quá trình ủ bã cà phê giúp tăng 30% hiệu quả phân giải lignin, cải thiện độ tơi xốp của compost [30].

1.3.3. Nhóm vi sinh vật phân giải protein

Các chủng này tiết enzyme protease, xúc tác thủy phân protein thành peptide và acid amin.

Các loài tiêu biểu:

+ *Bacillus subtilis*, *Bacillus polyfermenticus*, *Bacillus cereus*: sinh protease mạnh, chịu được pH 7–9, nhiệt độ 45–55°C.

+ *Aspergillus oryzae*, *Penicillium sp.*: tiết protease acid, hoạt động trong giai đoạn đầu của ủ compost.

+ *Streptomyces griseorubens*: xạ khuẩn phân giải protein và lignin đồng thời.

Protease không chỉ giúp tăng tốc độ phân giải nitơ hữu cơ, mà còn cung cấp nguồn nitơ dễ hấp thu cho cây trồng trong sản phẩm phân compost.

1.3.4. Nhóm vi sinh vật phân giải tinh bột và hydratcacbon dễ tiêu

Nhóm này tiết amylase và glucosidase, giúp phân hủy tinh bột và các polysaccharide đơn giản.

Các loài thường gặp:

+ *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*.

Các chủng này đồng thời sinh amylase, protease và cellulase, giúp quá trình ủ diễn ra đồng bộ.

Việc có mặt của các chủng amylase giúp giảm hiện tượng vón cục, hạn chế yếm khí, và tăng sinh nhiệt ban đầu cho khối ủ bã cà phê.

1.3.5. Nhóm vi sinh vật chịu được các hợp chất ức chế trong bã cà phê

Bã cà phê chứa các hợp chất cafein, polyphenol có khả năng ức chế vi sinh vật yếu.

Một số loài có khả năng chuyển hóa cafein gồm: *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Klebsiella sp.*, *Trichosporon asahii*.

Các chủng này có hệ enzyme N-demethylase và xanthine oxidase, giúp biến đổi cafein thành CO₂, NH₃ và acid hữu cơ.

Nhờ đó, chúng giảm độc tính của bã cà phê, giúp vi sinh vật khác phát triển thuận lợi hơn trong giai đoạn ủ compost.

1.3.6. Sự phối hợp giữa các nhóm vi sinh vật trong quá trình ủ compost

Quá trình phân hủy bã cà phê không do một chủng đơn lẻ thực hiện, mà là sự tương tác cộng sinh giữa nhiều nhóm vi sinh vật:

Vi khuẩn hiếu khí (*Bacillus*, *Pseudomonas*) khởi động quá trình, sinh nhiệt và phân giải hợp chất dễ tiêu.

Nấm mốc (*Trichoderma*, *Aspergillus*) và xạ khuẩn (*Streptomyces*) tiếp tục phân hủy cellulose, lignin, protein phức tạp.

Giai đoạn cuối, các xạ khuẩn tạo mùn, hình thành cấu trúc compost ổn định.

Việc tuyển chọn tổ hợp vi sinh vật bản địa có khả năng phân giải đa dạng hợp chất sẽ giúp rút ngắn thời gian ủ, tăng hàm lượng OM, N, P₂O₅, K₂O, đồng thời tạo sản phẩm phân bón vi sinh chất lượng cao [32].

1.4. Nghiên cứu xử lý chất thải sản xuất, chế biến cà phê

1.4.1. Nghiên cứu trên thế giới

Nghiên cứu xử lý phụ phẩm, chất thải trong quá trình sản xuất cà phê cho thấy: vỏ cà phê được ứng dụng làm phân bón hữu cơ để cải thiện đất bị thoái hóa, kiểm soát sinh học các nguồn bệnh, làm thức ăn hoặc chất nền cho vi sinh vật, giun, làm thức ăn cho gà, cừu, cá và các loài khác; trong dinh dưỡng thì sản xuất đồ uống, thực phẩm cho con người; trong công nghệ sinh học, bã cà phê có thể sử dụng để nuôi trồng nấm ăn, sản xuất enzyme, chất nền cho vi sinh vật phân hủy cafein và vi sinh vật sản xuất thuốc diệt nấm tự nhiên. Ngoài ra, có thể sản xuất nhiên liệu sinh học từ chất thải của quá trình chế biến cà phê. Bên cạnh đó, còn có thể tạo ra các sản phẩm xử lý ô nhiễm môi trường như tạo ra chất hấp phụ sinh học, than hoạt tính để hấp phụ các chất ô nhiễm như kim loại nặng, amoni có trong nước thải.

- *Xử lý phụ phẩm chất thải sản xuất cà phê tạo sản phẩm ứng dụng trong nông nghiệp:*

+ *Ứng dụng xử lý vỏ, bã cà phê làm phân bón cho cây trồng*

Các chất chiết xuất từ cà phê đã được thử nghiệm có tác dụng ức chế vi sinh vật dòng *S. aureus* và *E. coli* ở nồng độ 1,0 mg/ml và sự ức chế mạnh các vi khuẩn *C. albicans*, *C. krusei* và *C. parapsilosis* ở nồng độ thấp hơn (0.5 mg/ml), chính vì vậy đã có rất nhiều các nghiên cứu trên thế giới về sản xuất compost chức năng từ vỏ, bã thải cà phê tạo nên phân bón compost chức năng như chất bổ sung cho đất và đặc biệt tốt cho các cây trồng cần có các chất chống oxy hóa cao, các cây dược liệu, các thảo dược cần tạo polyphenol.

Các nghiên cứu về tiềm năng của vỏ và bã cà phê cho thấy: việc sử dụng vỏ cà phê Arabica và Robusta, tận dụng các hợp chất phenolic, flavonoid, carotenoids và lượng caffein; sử dụng bã thải cà phê làm phân bón compost chức năng; nghiên cứu điều tra hiệu quả kháng khuẩn và hoạt tính kháng nấm của compost từ vỏ, bã cà phê, để thúc đẩy việc sử dụng phụ phẩm cà phê như một chất bổ sung tự nhiên cho cây trồng và đất.

Một trong những ứng dụng của vỏ, bã cà phê là làm phân bón hữu cơ bằng phương pháp ủ phân riêng lẻ hoặc cấy cùng với nấm rễ, phân trùn quế. Phân bón sinh học từ vỏ, bã cà phê đã được chứng minh là cải thiện sự tăng trưởng tăng chiều cao và sinh khối của các loại cây nông nghiệp khác nhau; cải thiện độ ẩm, chỉ số độ ẩm, độ pH của đất, và tăng khả năng trao đổi cation với các nguyên tố vi lượng (Fe, Zn, Cu và Mn).

Giun đất và các vi sinh vật khác nhau được sử dụng trong sản xuất phân bón tự nhiên. Việc sử dụng bã cà phê làm chất nền cho giun đất sinh trưởng đã được nghiên cứu và phát hiện thấy có tác dụng cải thiện sự phát triển và sinh sản của *P. corethrurus*, *Amyntas corticis*. Việc sử dụng bã cà phê làm chất nền để vi sinh vật hòa tan phosphat cũng đã được nghiên cứu và kết quả là cải thiện khả năng cung cấp photpho cho sự phát triển của cây cà phê. Ngoài ra, việc bón phân hữu cơ từ bã cà phê giúp cải thiện sự phân bố của *Trichoderma spp* (*T. koningii*, *T. harzianum* và *T. longibrachiatum*) trong đất. *Trichoderma spp* được sử dụng như tác nhân kiểm soát sinh học để quản lý mầm bệnh thực vật trong đất. Hạn chế chính trong việc sử dụng vỏ, bã thải cà phê ủ thành phân sinh học để phục vụ cho nông nghiệp ở quy mô lớn, chủ yếu là thiếu các nghiên cứu về những tác động lâu dài có thể xảy ra trong các tình huống hệ sinh thái đồng ruộng thực tế và những hậu quả có thể xảy ra khi sử dụng các chủng vi sinh vật khác nhau.

Nghiên cứu tạo phân compost từ bã cà phê đã qua sử dụng (SCG), phân gia cầm và than sinh học có bổ sung vi sinh vật cho thấy tăng hiệu suất cây trồng 40,7% ở mẫu có phân compost từ vỏ cà phê và than sinh học (ở 450°C với diện tích bề mặt là 2,35 m²). Bốn đồng ủ phân compost chức năng thí điểm đã được thiết lập (tạo phân compost trong 45 ngày). Tỷ lệ NH₄⁺-N/NO₃⁻-N chọn làm chỉ thị cho trạng thái chín muồi của phân compost, quá trình ủ diễn ra nhanh chóng khi bổ sung thêm vi sinh vật và bổ sung than sinh học biochar. Hơn nữa,

chỉ số nảy mầm của củ cải cũng tăng 14-34% thông qua việc bổ sung phân compost từ bã cà phê và than sinh học. Khi dùng phân compost có bổ sung than sinh học, thấy sự có mặt của hai họ vi khuẩn là *Sphingo bacteriaceae* chiếm 29-43%, tăng tính đa dạng của vi sinh vật từ 7,1 – 8,9%. Các chất chống oxy hoá (đánh giá 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)) trong quả của cây hồ tiêu tăng lên 14,1% và 8,6% tương ứng khi dùng phân compost có bổ sung phân compost và biochar. Tổng hàm lượng các phenolic trong hạt tăng lên 68% khi sử dụng compost từ vỏ, bã cà phê có bổ sung biochar. Cũng kết quả như vậy với hành tây, phân compost chức năng có bổ sung biochar làm hàm lượng các chất có hoạt tính chống oxy hoá lên 111% so với phân hữu cơ thương mại, tăng hàm lượng phenolic lên 44,8%. Việc tạo điều kiện ủ compost từ vỏ cà phê có bổ sung vi sinh vật và biochar không những làm giảm thời gian ủ phân và tăng chất lượng của phân compost chức năng mà còn cho kết quả tốt với cây trồng thử nghiệm. Các kết quả này chỉ ra rằng phân compost chức năng từ vỏ cà phê có tiềm năng cạnh tranh với các loại phân bón hữu cơ sẵn có trên thị trường và công nghệ ủ phân mới có thể góp phần đáng kể cho việc tái chế thân thiện các chất thải hữu cơ với môi trường như bã cà phê đã qua sử dụng, phân chuồng gia súc và chất thải nông nghiệp.

Ngoài ra, bã cà phê được sử dụng làm chất nền để nuôi trồng nấm (*Pleurotus spp.*, *Auricularia spp.*, *Volvariella volvacea*) làm tăng khả năng sinh học của chúng, tuy nhiên có hạn chế là sự xuất hiện của mùi khó chịu.

- *Ứng dụng xử lý bã cà phê làm thuốc diệt nấm tự nhiên:*

Nghiên cứu *Trichoderma spp.*, được sử dụng làm thuốc diệt nấm tự nhiên, cho thấy tốc độ tăng trưởng hiệu quả trong bã cà phê (16 và 22g carbon). *T. koningii*, *T. harzianum* và *T. longibrachiatum*, có tiềm năng kiểm soát mầm bệnh lớn nhất [33]. Việc sản xuất axit galic bởi *Penicillium verrucosum* đã được báo cáo vào khoảng 35 g GA/g bã cà phê và lên tới 76 g GA/g bã cà phê với điều kiện tăng trưởng tối ưu [34]. Để sản xuất axit lactic, *Bacillus coagulans* đạt tốc độ sản xuất khoảng 4 g/L/h, [35]. Hỗn hợp của ba enzyme xylanase, arabinofuranosidase và cellulase từ *Aspergillus sp.* đã được chứng minh là có khả năng thủy phân bã cà phê thành đường đơn, với mức độ thủy phân là 79% [36].

- *Xử lý phụ phẩm chế biến cà phê làm thức ăn cho gia súc*

Thức ăn cho động vật đã được sản xuất bằng cách sử dụng bã cà phê lên men để nâng cao giá trị dinh dưỡng của chúng (lên men thức ăn) [15]. Kết quả lên men ở trạng thái rắn (SSF) với *Streptomyces* làm tăng hàm lượng protein, và với *Aspergillus niger* làm tăng hàm lượng axit amin tổng số. Bổ sung 10% sản phẩm lên men đã chứng minh hiệu quả cho ăn ở gà tương tự như khẩu phần tiêu chuẩn. Các nghiên cứu thử nghiệm trên loài gặm nhấm đã được thực hiện với chuột Wistar: 32 khẩu phần thử nghiệm, 16 khẩu phần với bột cà phê tươi và 16 với sản phẩm đã được lên men. Bột cà phê lên men có giá trị dinh dưỡng cao hơn, độc tính thấp hơn và khả năng tiêu hóa tốt hơn so với bột cà phê tươi. Ở thỏ có thể sử dụng tới 85% bã cà phê lên men với mật đường, còn ở lợn có thể sử dụng 20% ở giai đoạn tăng trưởng và 15% ở giai đoạn hoàn thiện; trong cả hai trường hợp, việc sử dụng bã cà phê đều không gây ra ảnh hưởng đến các thông số sinh sản ở động vật. Ở gia súc, chẳng hạn như bò đực Swiss-Zebu, bột cà phê từ 25 đến 50% có thể được đưa vào lên men thức ăn, tốc độ tiêu thụ thức ăn cao hơn. Một nghiên cứu khác kết luận rằng bột cà phê từ 15 đến 20% có thể được sử dụng để giảm chi phí trong thức ăn chăn nuôi bò sữa và không ảnh hưởng đến việc tiêu thụ cỏ sao (*Cynodon plectostachyus* K. Schum).

Có tới 18% bã cà phê lên men được đưa vào khẩu phần của cá bột lai achamay (*Colossomax piaractus*) dẫn đến tốc độ tăng trưởng tốt hơn theo trọng lượng (0,53 g/ngày, chiều dài (0,68 mm/d) và tỷ lệ chi phí-lợi ích (1,42). Trong một nghiên cứu khác về việc cho cá bột ăn (*Oreochromis Aureus*), bã cà phê được xử lý bằng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* sp. (BT-CoP) ở nồng độ 6%, được sử dụng để thay thế bột mì; không có tác dụng phụ nào được quan sát thấy về mặt các thông số tăng trưởng và sử dụng thực phẩm đã được báo cáo với bã cà phê [37].

Bột cà phê lên men (16%) với mật đường (5%) được đưa vào chế độ ăn của cừu bụng đen và dẫn đến tăng (năng suất) trọng lượng từ 48 lên 51% và giảm hàm lượng chất béo trong dạ cỏ và ruột từ 3,4 xuống 2,5%, không làm thay đổi hàm lượng protein và chất béo trong thịt và với mức độ bình thường khả năng chống oxy hóa trong quá trình bảo quản lạnh. Trong một nghiên cứu khác của bổ sung vào khẩu phần ăn của cừu với 16% bã cà phê, người ta quan sát thấy không có thay đổi nào trong các thông số sinh sản và giảm các thông

số stress. Kết quả tương tự đã được quan sát với việc bổ sung tới 10% bột cà phê vào chế độ ăn của cừu trong 16 ngày trước khi sinh sản: đã có sự cải thiện ở trạng thái oxy hóa mà không có bất kỳ tác dụng phụ nào đối với thai kỳ hoặc khả năng sinh sản.

Hạn chế chính của việc sử dụng bã cà phê trong thức ăn chăn nuôi là sự hiện diện của các yếu tố kháng dinh dưỡng (caffeine, tannin, polyphenol, axit chlorogen, trong số những chất khác); những yếu tố này phải được giảm thiểu, vô hiệu hóa hoặc nói cách khác là bị loại bỏ.

- *Ứng dụng xử lý phụ phẩm chế biến cà phê trong công nghiệp:*

+ *Trong công nghệ sản xuất enzyme:*

Sản xuất enzyme là lĩnh vực có tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như công nghiệp thực phẩm, dược phẩm, nhiên liệu sinh học, công nghiệp nông nghiệp.

Ngay từ năm 1931, Freise đã nghiên cứu lên men bột cà phê với *Saccharomyces octosporus* – nấm và vi khuẩn được sử dụng phổ biến nhất để sản xuất enzyme. Việc bổ sung bã cà phê lên 10% dẫn đến tăng hoạt tính enzyme lên 32% và tăng sinh khối nấm lên 16%; tuy nhiên, với việc bổ sung 25% cùi cà phê, hoạt động của cả enzyme lactase và cellulase đều giảm. Trong một nghiên cứu khác cho thấy trong số 99 xạ khuẩn phân lập được nuôi cấy trên môi trường thạch có bổ sung 0,1% carboxymethylcellulose (CMC) và xylan, 16 mẫu cho thấy hoạt tính cellulase (chỉ số cellulase 2), 20 mẫu phân lập cho thấy hoạt động của xylanase (chỉ số xylanase 1 và 5) cho thấy cả hai hoạt động [38].

Alpha-amylase đã được sản xuất bằng cách sử dụng *Neurospora crassa* được trồng trên chất nền bột cà phê. Với thông số tăng trưởng tối ưu thu được hoạt tính enzyme khoảng 4900 U/g chất khô; và nếu xử lý bằng hơi nước hoạt tính có thể cao hơn 7.084 U/g chất nền khô [39]. Feruloyl esterase được sản xuất bởi *Aspergillus tamarii*, với hoạt tính enzyme khoảng 14 và 11 đơn vị mỗi gam chất khô khi sử dụng cơ chất metyl và etyl lên men tương ứng. Sản xuất enzyme tương tự bằng cách sử dụng *Aspergillus ochraceus* phân lập từ bã cà phê thu được hoạt tính khoảng 58 U/mg đối với metyl lên men. Hơn nữa, enzyme loại C này có tốc độ tổng hợp butyl caffeate cao gấp 5 lần so với enzyme loại B. Tanase [40] được phân lập bằng *Penicillium verrucosum*, có

hoạt tính enzyme là khoảng 28 U/g và cao hơn khoảng 4 lần với các thông số sản xuất được tối ưu hóa (116 U/g). Enzyme *Emblica Officinalis* và *Punica granatum L* có thể được sử dụng để cải thiện hương vị của một số loại nước ép trái cây. Ngoài ra, bằng cách sử dụng *Penicillium* với quá trình lên men ở trạng thái rắn, glucosidase ngoại bào được sản xuất bằng cách sử dụng bã cà phê làm nguồn cacbon duy nhất. Pectinase thu được từ *Aspergillus niger*, với hiệu suất tối đa 138 U/g bột cà phê khô ở 72 giờ. Một nghiên cứu khác báo cáo rằng *Mycotypha sp* làm giảm hàm lượng pectin lên tới 85% và cho thấy hoạt tính pectinase tối đa là 5,4 U/mL và 4,9 U/mL trong môi trường có ga và tĩnh ở điều kiện tương ứng [35]. Oumer và Abate đã xác định được vi khuẩn sản xuất pectinase, khoảng một nửa số khuẩn lạc có hoạt tính enzyme và trong số đó khoảng 70% có vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*.

Bột cà phê đã được nghiên cứu làm chất nền cho (a) *Bacillus sp.* để sản xuất protease, với hoạt tính enzyme được báo cáo hoạt độ 920 U/mL sau 60 giờ ủ; (b) *Bacillus amyloliquefaciens* để sản xuất enzyme CMCase, 780 U/mL ở 72 giờ (112); (c) *Bacillus subtilis* có hoạt tính khoảng 3 U/mL; (d) *Acinetobacter sp.* để sản xuất cellulase với 888 U/ml ở 60 giờ ủ; và (e) *Bacillus subtilis* để sản xuất s-glucosidase, 59 IU/mL sau 24 giờ [41].

+ *Sử dụng phụ phẩm, chất thải chế biến cà phê trong sản xuất nhiên liệu sinh học:*

Sản xuất ethanol: Sinh khối bã cà phê có thể trở thành nguồn nguyên liệu sản xuất ethanol cho ngành năng lượng, thực phẩm, dược phẩm hoặc mỹ phẩm do thành phần carbohydrate và cellulose của nó. Trên thực tế, quá trình lên men ethanol từ bã cà phê đã được nghiên cứu, thử nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm. Bonilla-Hermosa và cộng sự thử nghiệm hỗn hợp bột giấy với nước thải sản xuất (12% w/v) được làm giàu bằng chiết xuất nấm men (1 g/L) và 0,3 g/L *Hanseniaspora uvarum*. Nồng độ ethanol cuối cùng là 0,55 g/L và hiệu suất chuyển đổi là 94,81%. Mặt khác, Harsono và cộng sự [42] đã thực hiện quá trình lên men bằng cách sử dụng bã cà phê đã khử nước với chất nhầy và *S. cerevisiae* là vi sinh vật lên men. Môi trường lên men chứa tỷ lệ 1,0:0,6 men. Sản lượng ethanol là 0,474 g/g sau 48 giờ lên men. Nghiên cứu được thực hiện bởi Gurram và cộng sự [43] xác định đặc trưng thành phần hóa học bột cà phê và so sánh kết quả với các nguyên liệu ethanol sinh học khác. Các tác giả thực hiện mô phỏng sản xuất ethanol sinh học bằng phần mềm mô phỏng Aspen Plus

và xem xét đặc tính của bã cà phê (10.000 tấn bã cà phê/ngày). Đường được chiết bằng nước (Soxhlet) và thủy phân bằng axit sau đó bằng axit sunfuric (72%). Kết quả cho thấy sự hiện diện của arabinose, galactose và glucose, trong khi đường và sản lượng ethanol lần lượt là 2.100 và 1.050 tấn/ngày. Tuy nhiên, sản lượng thu được ở quy mô công nghiệp thực tế thấp hơn do tính không đồng nhất của carbohydrate và khả năng lên men để thu được ethanol của chúng bị giảm đi.

Sản xuất khí CH₄: Đặc điểm thành phần của bã cà phê, đặc biệt là hàm lượng đường và chất rắn dễ bay hơi, khiến chúng trở thành nguồn cơ chất cho quá trình metan hóa sinh học và sản xuất điện. Tuy nhiên, sự có mặt của các chất khó phân hủy sinh học và ức chế các chất ở phần còn lại, chẳng hạn như saponin, lignin hoặc polyphenol, trong một số trường hợp tiền xử lý bằng nhiệt, sẽ làm tăng lượng khí CH₄ và hiệu quả của quá trình metan hóa sinh học. Nghiên cứu của Toto Iswanto và cộng sự đã thực hiện từ chất thải cà phê có nguồn gốc từ Malang, Indonesia và được sấy khô bằng bức xạ mặt trời [44]. Chất thải bã cà phê có thể được sử dụng làm nguyên liệu khí sinh học tiềm năng do tính chất của nó có hàm lượng cellulose và hemicellulose cao. Tuy nhiên, nó chứa lignin, caffeine, tannin khó phân hủy sinh học và gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến hoạt động của vi sinh vật bên trong bể yếm khí. Sử dụng hydrogen peroxide kiềm (AHP) tiền xử lý chất thải cà phê để loại bỏ các hợp chất đó và cải thiện khả năng phân hủy sinh học của các chất có trong chất thải cà phê.

- Xử lý vỏ, bã cà phê ứng dụng trong đời sống cho con người:

+ *Xử lý vỏ, bã cà phê làm thực phẩm cho con người:*

Vỏ, bã cà phê có thể sử dụng làm chất nền để sản xuất thực phẩm cho con người. Ở Thụy Sĩ, một loại đồ uống có tên Cascara đã được sản xuất từ bã cà phê. Phân tích thức uống này cho thấy nó chứa 226 mg caffeine/L và 283 mg (tương đương axit galic) GAE/L tổng số polyphenol, trong khi chất chống oxy hóa công suất lên tới khoảng 9 mmol (tương đương trolox) TE/L. Ngoài ra, các loại kẹo mềm dạng kẹo bơ cứng đã được sản xuất bằng công nghệ bao gồm bã cà phê và mật ong. Thức ăn ủ chua cùng với quá trình lên men ở trạng thái rắn thông qua việc cấy vi khuẩn *Bacillus sp.*, *Pleurotus spp.*, *Streptomyces* và *Aspergillus niger* đã được chứng minh là làm tăng giá trị dinh dưỡng của bã

cà phê; tuy nhiên, phải cẩn thận với phương pháp lên men do phát thải khí sinh ra trong quá trình lên men kỵ khí.

+ *Sử dụng vỏ, bã cà phê làm các hoạt chất sinh học có lợi cho sức khỏe:*

Vỏ và bột cà phê giàu các hợp chất hoạt tính sinh học như hợp chất phenolic, caffeine và chất xơ là sản phẩm phụ chưa được tận dụng triệt để trong quá trình sản xuất cà phê. Một trong những tiềm năng to lớn gần đây các nhà khoa học đã nghiên cứu chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong vỏ cà phê có lợi cho sức khỏe. Chiết xuất vỏ cà phê bằng nước và dung môi hữu cơ có tác dụng chống oxy hóa [45], kháng sinh [46], đặc tính chống viêm [47] cũng như hoạt chất *in vivo* trong điều trị đái tháo đường và hoạt động bảo vệ gan đã được thử nghiệm trong động vật. Hơn nữa, chiết xuất hoạt chất sinh học trong vỏ cà phê có tác dụng làm giảm tốc độ lão hóa da trong khi cải thiện sức khỏe làn da.

Nghiên cứu của J.A. Serna-Jiménez và cộng sự [48] sử dụng nước làm dung môi: chiết rắn-lỏng thông thường (CSLE) và chiết có hỗ trợ siêu âm (UAE) để chiết xuất caffeine và polyphenol tổng số từ bã cà phê. Nghiên cứu thử nghiệm đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất: dung môi đến quá trình chiết xuất. Nồng độ cafein cao nhất trong dịch chiết sử dụng CSLE là $49,9 \pm 1,3$ mg/L (tương đương $3,7 \pm 0,1$ g/kg bột cà phê, sau 5,5 phút ở 96°C và ở tỷ lệ chất nền:dung môi là 1:10 w/v. Hàm lượng polyphenol tổng số đạt $128,3 \pm 4,3$ mg đương lượng axit gallic (GAE)/L ($9,7 \pm 0,3$ g/kg) ở 75°C (thời gian và tỷ lệ bằng nhau). UAE được phát hiện cũng bị ảnh hưởng bởi nguồn điện, dẫn đến $206,6 \pm 0,1$ mg caffeine/L và $164,9 \pm 5,2$ mg GAE/L (lần lượt là $15,6 \pm 0,3$ g/kg và $12,4 \pm 0,2$ g/kg) (396 W, 5,5 phút, $75-90^{\circ}\text{C}$). Kết quả này cho thấy năng suất chiết cao tới 85%, với yêu cầu năng lượng thấp hơn rõ rệt khi sử dụng UAE. Do đó, UAE sử dụng nước làm dung môi có thể là một giải pháp thay thế đầy hứa hẹn và sáng tạo để cải thiện hiệu suất chiết xuất các hợp chất sinh học có nhu cầu cao từ chất thải bột cà phê.

Thy Minh Kieu Tran và cộng sự [49] đã chiết xuất hợp chất phenolic và chất chống oxy hóa từ bã cà phê bằng sóng siêu âm và vi sóng. Kết quả cho thấy thời gian và công suất thiết bị đáng kể đã ảnh hưởng đến năng suất phục hồi ở cả sóng siêu âm và có vi sóng. Nhiệt độ cũng là một yếu tố quan trọng trong sóng siêu âm. Các điều kiện vi sóng tối ưu là thời gian bức xạ 70 phút,

công suất 700W và 50% (về thể tích) dung môi etanol và tỷ lệ mẫu là 100:5 (ml/g), khoảng 47mg hợp chất phenolic, 36mg flavonoid, 8mg axit chlorogenic và 6mg caffeine có thể được thu hồi từ 1g vật liệu. Điều kiện tối ưu của sóng siêu âm là thời gian siêu âm 35 phút, nhiệt độ 60°C và công suất 250W tuy nhiên, các hợp chất có hoạt tính sinh học và khả năng chống oxy hóa chiếm khoảng một nửa của vi sóng. Vì vậy, vi sóng được khuyến khích sử dụng làm kỹ thuật chiết cho hợp chất có hoạt tính sinh học và thu hồi chất chống oxy hóa từ bã cà phê.

- Xử lý phụ phẩm, chất thải sản xuất cà phê trong xử lý ô nhiễm môi trường:

Vỏ cà phê có chứa lượng lớn lignocellulose thích hợp cho sản xuất than hoạt tính do hàm lượng cacbon cố định cao. Sản xuất than hoạt tính từ vỏ cà phê có thể bằng các phương pháp vật lý như dùng nhiệt, CO₂ hoặc hơi nước hoặc bằng phương pháp hóa học sử dụng các chất H₃PO₄, ZnCl₂, KOH, K₂CO₃ để tạo ra than hoạt tính. Than hoạt tính được tạo ra từ vỏ cà phê có khả năng xử lý nhiều chất ô nhiễm trong môi trường nước, Konneh và cộng sự [50] đánh giá việc sử dụng than sinh học có nguồn gốc từ trấu, vỏ dừa, và vỏ cà phê và ứng dụng để hấp phụ nitrat và nitrit từ nước thải lò mổ. Hiệu suất giải hấp của các chất bị hấp phụ cũng được xác định. Đánh giá khả năng hấp phụ đối với nước thải lò mổ ở 26°C, pH ban đầu của dung dịch hấp phụ là 7,35 ± 0,15; 1,5 g than sinh học là thêm vào 50 mL nước (khuấy ở tốc độ 120 vòng/phút). Mẫu được lấy ở 30, 60, 90 và 120 phút, nitrat và nitrit được phân tích trong dung dịch chất thải bằng phương pháp đo quang phổ. Khả năng hấp phụ của than vỏ cà phê than củi cho phép loại bỏ 12,08 mg N-NO₃-/g và 0,218 mg N-NO₂-/g. Về giải hấp nitrit, nitrat hiệu suất cao tới 22,4%; 24,4%; 16,8%. Và 80,73%; 91,39%; 83,62% tương ứng với than trấu, than gáo dừa và than từ vỏ cà phê.

Nathalia Ramirez và cộng sự [51] đã nghiên cứu ảnh hưởng của các tác nhân khác nhau (KOH, K₂CO₃ hoặc hơi nước) đến đặc tính khả năng chế tạo vật liệu than hoạt tính từ vỏ quả cà phê. Vỏ cà phê được sấy khô ở nhiệt độ 70°C trong 24 giờ trước khi thực hiện quá trình oxi hóa. Đối với tác nhân là KOH dung dịch ở mức 80% w/w với tỷ lệ ngâm tẩm là 2 g KOH/g vỏ cà phê, sau đó sấy khô ở 130°C trong 24 giờ. Mẫu đã ngâm tẩm và sấy khô được chuyển sang thiết bị phản ứng hình trụ bằng thép không gỉ để xử lý nhiệt khi không có oxy với tốc độ gia nhiệt 10 phút tăng 1°C cho đến khi đạt 800°C, nhiệt độ này

được giữ trong 60 phút. Sản phẩm được làm nguội đến nhiệt độ phòng và sau đó rửa bằng 0,5 L HCl 0,1 M dung dịch và nước cất cho đến khi đạt độ pH từ 6 đến 7. Mẫu này được xác định là CH-KOH. Đối với tác nhân là K_2CO_3 tỷ lệ ngâm tẩm 2 g K_2CO_3 /g vỏ cà phê và đưa lên bếp đun ở nhiệt độ $130^\circ C$ qua đêm. Sau đó được ngâm tẩm và mẫu khô được đặt trong lò phản ứng hình trụ bằng thép không gỉ và hoạt hóa ở $800^\circ C$ trong 60 phút. Để loại bỏ K_2CO_3 dư, mẫu được rửa bằng 0,5 L dung dịch HCl 0,1 M và nước cất cho đến khi đạt độ pH từ 6 đến 7. Các mẫu than thu hoạt tính thu được đều có diện tích bề mặt riêng $> 1.100 \text{ m}^2/\text{g}$, và đều chứa các nhóm chức năng trên bề mặt than hoạt tính.

J. F. Cruz và cộng sự [52] chế tạo than hoạt tính từ vỏ cà phê sử dụng $ZnCl_2$ để hấp phụ photphat trong dung dịch nước. Các kết quả về hình thái và cấu trúc được thực hiện để đặc trưng cho vật liệu than hoạt tính từ vỏ cà phê. Kết quả phân tích XRD cho thấy có mặt của ZnO trong cấu trúc than hoạt tính và diện tích bề mặt riêng đo được là $989 \text{ m}^2/\text{g}$. Tiến hành thí nghiệm than hoạt tính được chế tạo từ vỏ cà phê để xử lý phosphat có trong nước. Kết quả hấp phụ photphat bằng than hoạt tính được xác định trên mô hình Dubinin-Radushkevich (với $r^2 \geq 0,96$), khả năng hấp phụ tối đa 59,38 - 63,87 mg P/g than ở pH từ 5 đến 9.

1.4.2. Nghiên cứu xử lý phụ phẩm, chất thải sản xuất cà phê ở Việt Nam

Các nghiên cứu tại Việt Nam chưa được rộng rãi và nhiều lĩnh vực như các nghiên cứu ngoài nước. Đối với vỏ cà phê, bã cà phê chủ yếu các nghiên cứu tập trung vào lên men làm thức ăn cho gia súc, gia cầm, và tạo ra than hoạt tính sinh học để xử lý ô nhiễm môi trường.

Đề tài cấp Nhà nước KC-04-20 [53] “Nghiên cứu áp dụng công nghệ vi sinh hiện đại để sản xuất chế phẩm giàu axit amin và enzyme từ nguồn thứ phẩm nông nghiệp và thủy hải sản ở quy mô bán công nghiệp”, trong đó nhánh nghiên cứu “Nghiên cứu công nghệ sản xuất thịt quả cà phê lên men làm thức ăn gia súc” đã nghiên cứu lên men vỏ cà phê chế biến thức ăn gia súc. Kết quả của đề tài đã hoàn thiện được một quy trình lên men thịt quả cà phê sản xuất chế phẩm prebio và đưa ra được quy trình sản xuất chế phẩm probio. Trong đó chế phẩm prebio sử dụng bổ sung vào thức ăn cho lợn, bò, gà và chế phẩm probio được sử dụng bổ sung vào thức ăn cho cá. Tạo ra chủng *A. niger DA1*

có khả năng sinh pectinase, cellulase và hiệu quả khử caffein cao gấp 2 lần so với chủng tự nhiên dựa vào phương pháp đột biến và chọn lọc các thể đột biến bằng chất kháng trao đổi. Bên cạnh kết quả nghiên cứu trong phòng thí nghiệm đã chế tạo hệ thống thiết bị sản xuất chế phẩm thịt quả cà phê lên men quy mô 5 tấn/ngày và sản xuất được 1.200 tấn thịt quả cà phê lên men đạt tiêu chuẩn và chất lượng để bổ sung vào thức ăn cho gia súc, gia cầm và cá nước ngọt. Hệ thống thiết bị sản xuất có chất lượng cao đặt tại Công ty Cà phê Eapôk. Ngoài ra, thử nghiệm bổ sung chế phẩm thịt quả cà phê lên men (prebio) từ 5 – 15 % vào thức ăn nuôi gà đã giảm tiêu tốn thức ăn/10 trứng giống 9,92-11,05%. Chi phí tiền thức ăn tính cho 1 kg tăng trọng của lợn thịt giảm từ 12,19 – 20,03 % khi bổ sung từ 15-20% chế phẩm và giảm chi phí tiền thức ăn tính cho 1 kg tăng trọng của bò thịt giảm từ 18-29% khi bổ sung từ 20-30% chế phẩm. Khi sử dụng chế phẩm probio bổ sung vào thức ăn cho cá đã có tác dụng cải thiện chất lượng nước ao nuôi cá.

Một số nghiên cứu của các tác giả trong nước thực hiện các nghiên cứu về vỏ, chất thải cà phê và công bố trên các tạp chí nước ngoài về khả năng tạo ra các chất hấp phụ để xử lý các chất ô nhiễm có trong môi trường nước. Nghiên cứu của Vũ Thị Quyên và cộng sự [54] đã nghiên cứu tính khả thi của việc sử dụng vỏ cà phê làm chất hấp phụ sinh học để loại bỏ các ion kim loại nặng như Pb^{2+} và Cd^{2+} khỏi nước thải. Than sinh học được sản xuất từ bã cà phê và được biến tính bằng natri hydroxit để tạo ra các nhóm chức năng trên bề mặt và tăng diện tích bề mặt riêng. Các sản phẩm thu được được đặc trưng bằng cách sử dụng các phương pháp phân tích khác nhau như kính hiển vi điện tử quét, diện tích riêng, nhóm chức năng bề mặt và phân tích thế zeta. Các vật liệu đã chuẩn bị được sử dụng làm chất hấp phụ để loại bỏ các ion Pb^{2+} và Cd^{2+} khỏi nước thải. Khả năng hấp phụ tối đa của chất hấp phụ sinh học được đo tương ứng là 116,3 và 139,5 mg/g đối với Cd^{2+} và Pb^{2+} , tương đương với các chất hấp phụ thông thường. Các nghiên cứu động học cho thấy sự hấp phụ Pb^{2+} và Cd^{2+} trên chất hấp phụ sinh học có thể được mô tả bằng phương trình đẳng nhiệt Freundlich và mô hình động học bậc hai. Chất hấp phụ sinh học có nguồn gốc từ vỏ cà phê có khả năng xử lý 89,6% ion Pb^{2+} và 81,5% Cd^{2+} khỏi nước thải,

do đó có thể được coi là chất hấp phụ chi phí thấp và hiệu quả để loại bỏ các ion kim loại nặng khỏi nước thải.

Nghiên cứu của Nguyen Van Phuong và cộng sự [55] về NH_4^+ khả năng xử lý NH_4^+ khỏi nước bằng than sinh học có nguồn gốc từ vỏ cà phê. Tính chất của than sinh học được điều chế ở các nhiệt độ khác nhau (300°C , 450°C và 600°C) được xác định bao gồm TOC và pH, pH_{pzc}, các nhóm chức của H^+/OH^- , dung lượng trao đổi cation (CEC), và xác định, đánh giá đặc tính của các nhóm chất hữu cơ (phổ FT-IR). Xu hướng của NH_4^+ hấp phụ trạng thái cân bằng và động học của than sinh học đã được nghiên cứu. Thiết kế thí nghiệm cân bằng hấp phụ được thực hiện bởi cho than sinh học tiếp xúc với NH_4^+ ở các nồng độ khác nhau, từ 0 đến 50 mg NH_4^+/L trong 12 giờ. Khảo sát động học đã được thực hiện khi than sinh học tiếp xúc với dung dịch chứa 8,3 mg NH_4^+/L trong khoảng thời gian khác nhau, kết quả cho thấy mô hình Langmuir và Freundlich và mô hình giả động học bậc hai phù hợp để giải thích NH_4^+ hấp phụ trạng thái cân bằng và động học của các dạng than sinh học có nguồn gốc từ vỏ cà phê. Than sinh học có nguồn gốc từ vỏ cà phê được chế biến ở mức thấp hơn nhiệt độ nhiệt phân có khả năng hấp phụ cao hơn. Kết quả cho thấy than sinh học có thể được sử dụng làm chất hấp phụ amoni từ nước.

Nghiên cứu của Thu Thuy Luong Thi và cộng sự [56] nghiên cứu chế tạo than hoạt tính được điều chế từ vỏ cà phê bằng cách kích hoạt hóa học với ZnCl_2 và được đặc trưng bằng cách sử dụng Brunauer, Emmett và Teller, kính hiển vi điện tử quét, quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier và Boehm chuẩn độ. Tác dụng của ZnCl_2 /Vỏ cà phê, nhiệt độ phản ứng, thời gian kích hoạt được nghiên cứu và kết quả cho thấy mẫu ACZ3-600-2 có diện tích bề mặt cao 1383 m^2/g , thể tích lỗ rỗng cao 1,6482 cm^3/g và nhiều nhóm chức bề mặt. Quá trình hấp phụ hoạt tính 195 lên than hoạt tính trấu cà phê đã chuẩn bị có thể được mô tả rõ ràng bằng mô hình động học bậc hai và được kiểm soát bằng khuếch tán màng theo sau bằng sự khuếch tán trong hạt. Dữ liệu đường đẳng nhiệt hấp phụ thu được ở $10-40^\circ\text{C}$ được phân tích và tìm ra tuân theo Sips mô hình ở nhiệt độ thấp hơn (10 và 20°C) và mô hình Redlich–Peterson ở nhiệt độ cao hơn (30 và 40°C). Các thông số nhiệt động thu được ($\Delta G^\circ < 0$, $\Delta H^\circ = 33,487 \text{ kJmol}^{-1}$, và $\Delta S^\circ = 202,30 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$) cho thấy rằng sự hấp phụ của hoạt chất 195 lên than hoạt tính đã chuẩn bị là tự phát, thu nhiệt và chứng tỏ tăng tính ngẫu nhiên ở

bề mặt tiếp xúc chất hấp phụ-chất hấp phụ. Kết quả nghiên cứu cho thấy than hoạt tính có nguồn gốc từ vỏ cà phê là chất hấp phụ hiệu quả để loại bỏ hoạt tính 195 khối dung dịch nước.

Viện Môi trường Nông nghiệp đã nghiên cứu và sản xuất thành công than sinh học từ vỏ quả, thân cành cà phê bằng phương pháp đốt yếm khí. Khi nghiên cứu ảnh hưởng của than sinh học từ vỏ quả cà phê đến các yếu tố cấu thành năng suất cà phê và chất lượng đất, nhóm tác giả Lương Hữu Thành, Vũ Thuý Nga và cs (2020) cho thấy khi sử dụng than sinh học từ vỏ quả cà phê với lượng từ 0,5-1,0 tấn/ha thay thế 25% lượng phân NPK có thể làm tăng tỷ lệ đậu quả từ 2,24-8,85%, tăng khối lượng quả từ 0,11-1,07% và tăng năng suất quả tươi từ 5,3-8,9%. Bên cạnh đó, sử dụng than sinh học từ vỏ quả cà phê còn có thể điều chỉnh độ ẩm đất tăng từ 5,33-7,02%, hàm lượng P_2O_5 tăng từ 21,80-42,8%, dung tích trao đổi cation tăng từ 66,26%- 66,70% so với đối chứng; qua đó cho thấy vai trò của than sinh học trong việc giữ ẩm đất, làm tăng độ phì tiềm tàng và cải thiện dinh dưỡng cho đất [57].

Năm 2018, Viện Môi trường Nông nghiệp cũng đã tăng cường vai trò của người nông dân trong sản xuất cà phê theo chuỗi thông qua thí điểm và nhân rộng các công nghệ xử lý cà phê và các mô hình xử lý chất thải theo hướng nông nghiệp hữu cơ và bảo vệ môi trường trên địa bàn tỉnh Sơn La. Kết quả xây dựng mô hình xử lý chất thải sau khi chế biến cà phê tại xã Chiềng Ban, huyện Mai Sơn, Sơn La theo công nghệ của Viện Môi trường Nông nghiệp cho thấy: Sau khi xử lý, nước thải không có mùi hôi, pH đạt 6,8; hàm lượng BOD giảm xuống chỉ còn 150 mg/l; COD giảm xuống còn 248 mg/l, TSS giảm từ 6230 xuống 190 mg/l; không phát hiện E. coli trong nước thải. Các thông số này gần như đáp ứng yêu cầu xả thải theo QCVN 40: 2011/BTNMT. Đối với mô hình ứng dụng quy trình xử lý vỏ cà phê dưới dạng phân hữu cơ: Sau 45 ngày ủ, hàm lượng OM đạt 27%, Nitơ tổng số đạt 1,05%, Photpho tổng số đạt 1,24% và Kali tổng số đạt 0,9%; hàm lượng dinh dưỡng trong phân hữu cơ từ vỏ cà phê đạt tiêu chuẩn phân bón theo Nghị định số 108/2017/NĐ-CP [58].

Sản xuất phân compost từ vỏ cà phê đã được áp dụng tại Đăk Lăk, các hộ dân có nguồn phân gia súc để ủ bã - vỏ cà phê làm phân ủ vi sinh thường trộn với men vi sinh với liều dùng 1-2 gói/tấn vỏ, khi ủ có rắc vôi bột và ủ trong thời gian 6 tháng từ lúc thu hoạch cho tới khi sử dụng. Tỷ lệ sử dụng phân

chuồng là 15 – 25%, đảo trộn và phối trộn thêm nguồn đạm hữu cơ từ bã cá, rong, dịch rỉ đường, NPK, của khu vực, tro bay và biochar từ vỏ cà phê, bùn thải từ xử lý nước thải chế biến cà phê ướt, bùn non của Đắc Lắc (đã lấy mẫu xác định chỉ tiêu carbon hữu cơ đạt trên 8%, hàm lượng axit humic đạt 4%) đã được thử nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm.

Hoa và cộng sự (2010) đã báo cáo về các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose và được thử nghiệm trong phân giải vỏ hạt cà phê. Các chủng vi sinh vật này chủ yếu là các chủng thuộc xạ khuẩn *Streptomyces* và nấm *Aspergillus* [59]. Khi sử dụng các chủng vi sinh vật này để xử lý vỏ quả cà phê thành phân hữu cơ, nhóm tác giả đã thành công làm giảm tỉ lệ C/N của phế thải cà phê trong 3 tháng. Ngoài ra, việc ứng dụng thực tế sản xuất phân hữu cơ vi sinh cũng được hợp tác xã cà phê Công bằng Sa Mù ở Quảng trị thực hiện thành công. Năm 2017 được sự hỗ trợ của Sở Khoa học và Công nghệ về kỹ thuật, men vi sinh, máy xay, HTX đã có thể sản xuất trên 200 tấn phân hữu cơ vi sinh từ nguồn nguyên liệu phế phẩm cà phê.

Các chủng vi sinh vật phân hủy bã thải cà phê đóng vai trò quan trọng trong việc chuyển hóa hợp chất hữu cơ khó phân hủy thành chất mùn ổn định. Việc phân lập, tuyển chọn và ứng dụng các chủng có hoạt tính enzyme cao (cellulase, protease, amylase, laccase) là cơ sở khoa học để nâng cao hiệu quả xử lý bã cà phê và sản xuất phân bón vi sinh chất lượng cao tại Sơn La.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu chính:

- Chất thải rắn thu từ các cơ sở chế biến cà phê trên địa bàn tỉnh Sơn La.
- Bộ chủng vi sinh vật phân giải có hoạt tính phân giải các hợp chất hữu cơ đang được lưu giữ tại Bộ môn Sinh học Môi trường - Viện Môi trường Nông nghiệp - Bộ NNMT.

2.2. Thiết bị, hóa chất, dụng cụ thí nghiệm

- Thiết bị:
 - + Buồng cấy vi sinh vật
 - + Máy lắc ổn nhiệt
 - + Nồi khử trùng
 - + Cân điện tử
- Dụng cụ:
 - + Bình tam giác
 - + Ống nghiệm
 - + Đĩa petri
 - + Que cấy
 - + Đèn cồn

- Hóa chất:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , Cao nấm men, FeSO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Glucose, Glyxerin, K_2HPO_4 , K_2SO_4 , KCl , KH_2PO_4 , KNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, MnSO_4 , NaCl , NaNO_3 , Nước cất, Pepton, Saccaroza, Thạch, Tinh bột tan (Dextrin),...

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp lấy mẫu

Tiến hành lấy mẫu đất tại các vườn trồng cà phê và mẫu chất thải cà phê dạng rắn một số cơ sở chế biến cà phê ướt trên địa bàn tỉnh Sơn La.

Mẫu đất được lấy theo TCVN 7538-6:2010: Hướng dẫn về thu thập, xử lý và bảo quản mẫu đất ở điều kiện hiếu khí để đánh giá các quá trình hoạt động, sinh khối và tính đa dạng của vi sinh vật trong phòng thí nghiệm.

Mẫu chất thải cả phê dạng rắn được lấy theo TCVN 9466:2021: Chất thải rắn - hướng dẫn lấy mẫu từ đồng chất thải. Các mẫu được lấy ở các địa điểm khác nhau và được để trong các túi riêng có ghi địa điểm, thời gian lấy mẫu.

2.3.2. Phương pháp nghiên cứu vi sinh vật

2.3.2.1. Phương pháp phân lập vi sinh vật

Vi sinh vật trong mẫu đất/ chất thải được phân lập trên các môi trường đặc hiệu (môi trường Gause đối với xạ khuẩn, môi trường King B đối với *Bacillus sp.*).

Các môi trường được pha theo đúng thành phần, tỉ lệ và khử trùng ở 121°C trong 20 phút. Để nguội môi trường đến 45-50°C rồi phân phối vào các đĩa petri vô trùng (thực hiện trong điều kiện vô trùng). Kiểm tra độ sạch của môi trường sau 2 ngày ở nhiệt độ từ 28-30°C, chỉ sử dụng các đĩa petri chứa các môi trường nuôi cấy vi sinh vật mà trong đó không phát hiện thấy tạp nhiễm.

Nguyên tắc: phân lập trực tiếp bằng phương pháp pha loãng (Vũ Thị Minh Đức, 2001) trên môi trường đặc hiệu (Gause, King B) [60]. 10g mẫu (đã được nghiền nhỏ) và cho vào bình chứa 90 ml dịch pha loãng (nước muối sinh lý đã khử trùng); trộn kỹ bằng thiết bị trộn cơ học từ 5 phút đến 10 phút sao cho vi sinh vật trong dung dịch phân bố đồng đều. Để các phân tử nặng xuống trong thời gian không quá 15 phút, gạn được dung dịch huyền phù ban đầu. Dùng pipet đã vô trùng lấy 1ml dịch huyền phù ban đầu cho vào ống nghiệm chứa 9ml dịch pha loãng đã chuẩn bị sẵn. Trộn kỹ để có dịch pha loãng mẫu có nồng độ pha loãng là 10^{-2} . Quá trình này được lặp lại liên tục để có dịch mẫu có nồng độ pha loãng 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Dùng pipet vô trùng riêng cho từng độ pha loãng, lấy ra 1ml mẫu từ các dịch mẫu có các nồng độ pha loãng ở trên, cấy vào 1 đĩa petri chứa môi trường đã chuẩn bị sẵn (mỗi độ pha loãng được lặp lại 2 đĩa

peptri). Sử dụng que gạt vô trùng dàn đều dịch mẫu trên bề mặt thạch, đợi bề mặt thạch khô, úp ngược đĩa peptri.

Sau đó, đĩa peptri được ủ ở nhiệt độ thích hợp từ 30-37°C trong 2 ngày cho các khuẩn lạc mọc tách biệt nhau. Sau khi khuẩn lạc vi sinh vật đã phát triển trên đĩa peptri, lựa chọn khuẩn lạc mọc riêng rẽ và tiến hành xác định khả năng phân giải cellulose, protein của các chủng vi sinh vật. Các chủng có vòng phân giải sẽ được làm sạch và bảo quản trong ống thạch nghiêng ở 4°C.

2.3.2.2. *Xác định mật độ vi sinh vật*

- Xác định mật độ vi sinh vật tổng số

Mật độ vi sinh vật tổng số được xác định dựa trên phương pháp nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa, tính số lượng vi sinh vật trên mililit hoặc trên gam mẫu thông qua số khuẩn lạc phát triển trong các đĩa môi trường theo TCVN 4884-2005 [61].

2.3.2.3. *Xác định hoạt tính phân giải tinh bột, cellulose, protein của vi sinh vật*

- *Xác định hoạt tính phân giải cellulose [62]*

Nguyên tắc: Dựa vào sự khuếch tán enzyme trên môi trường thạch đĩa. Xác định hoạt tính phân giải cellulose của xạ khuẩn theo nguyên tắc: enzyme cellulase thủy phân CMC trong môi trường sẽ tạo vòng thủy phân xung quanh lỗ đục đã được nhỏ dịch vi sinh vật và hiện màu bằng dung dịch lugol.

Phương pháp tiến hành cụ thể như sau:

- Cân 1 g CMC, 15 g agar trong 1000 ml nước cất và khử trùng.
- Đổ dịch lỏng vào hộp petri có chiều dày là 1,5 cm.
- Dùng dụng cụ đục một lỗ tròn (đường kính 10 mm) vào giữa hộp petri chứa môi trường CMC.
- Nhỏ 0,1 ml dịch enzyme đã ly tâm vào lỗ được đục. Sau đó, chờ dịch khô, chuyển các hộp petri vào tủ lạnh (từ 6-8 giờ) để enzyme khuếch tán. Chuyển vào tủ ấm ở nhiệt độ 37°C để enzyme tác dụng với cơ chất CMC.

- Cho vào mỗi hộp petri 5 ml dịch lugol (Cân 2 g KI và 1 g I₂ vào 300 ml nước cất), tráng đều lên mặt thạch và chờ khoảng 15 phút. Sau đó, gạt bỏ hết dịch lugol, quan sát vòng khuếch tán.
- Đo vòng CMC bị phân giải xung quanh lỗ (vùng màu vàng trên nền đen tím).

Hoạt tính CMC-ase được tính bằng hiệu số giữa đường kính vòng phân giải (D) và đường kính lỗ khoan (d).

- Xác định hoạt tính phân giải tinh bột

Xác định hoạt tính phân giải tinh bột bằng phương pháp khuếch tán trên thạch đĩa, các bước tiến hành tương tự theo phương pháp xác định hoạt tính phân giải cellulose, thay cơ chất CMC bằng tinh bột tan (tỉ lệ 1%).

- Xác định hoạt tính phân giải protein

Hoạt tính protease được bằng phương pháp khuếch tán trên thạch đĩa, các bước tiến hành tương tự theo phương pháp xác định hoạt tính phân giải cellulose, thay cơ chất CMC bằng sữa gầy (10%) và xác định vòng tròn trong suốt bao quanh giếng thạch.

2.3.3. Các phương pháp lý, hóa học:

- Xác định pH: Đo bằng pH-meter trong huyền phù theo tỷ lệ đất: dung dịch là 1:2,5 (nước cất hoặc KCl 1M tùy theo xác định pH_{H₂O} hoặc pH_{KCl}) [63].

- Xác định cacbon hữu cơ tổng số (OC %): Phương pháp Walkley-Black: Tác động chất hữu cơ với hỗn hợp Kali Bicromat (K₂Cr₂O₇) 3N trong axit Sunfuric (H₂SO₄) 25N và chuẩn độ Bicromat dư bằng muối Mohr (Ferrous Sulphate) với chỉ thị màu BDS (Barium Diphenylamine Sulphonate).

- Xác định đạm tổng số (N%): Phương pháp Kenda (Kjeldahl): Phá hủy mẫu bằng Axit Sunfuric, chuyển N hữu cơ về dạng Sunphat Amon - (NH₄)₂SO₄, cho kiềm tác động chuyển về dạng NH₃ và được thu vào dung dịch Axit Boric, chuẩn độ với axit tiêu chuẩn (HCl 0,01N).

- Xác định lân tổng số (P_2O_5 %): Sử dụng Axit pecloric cùng H_2SO_4 phân hủy và hòa tan các hợp chất phospho trong đất; xác định hàm lượng lân bằng phương pháp trắc quang (Spectrophotometer) [64].

- Xác định hàm lượng P_2O_5 hữu hiệu [65]: Hàm lượng P_2O_5 hữu hiệu của mẫu phế thải chế biến cả phê trước và sau xử lý được xác định theo các bước tiến hành sau: Phương pháp này dựa trên cơ sở hoà tan các hợp chất phospho bằng dung dịch amon citrat. Xác định các hợp chất phospho tổng số. Hiệu của hàm lượng hợp chất phospho tổng số và hàm lượng phospho không tan trong amon citrat là phospho hữu hiệu trong citrat.

Xác định kali tổng số (K_2O %): Phân hủy và hòa tan mẫu bằng hỗn hợp HF và $HClO_4$ theo M. Jackson; xác định hàm lượng K trong dung dịch bằng quang kế ngọn lửa (Flamephotometer).

Lân dễ tiêu: Phương pháp Oniani: Chiết rút P trong đất bằng dung dịch H_2SO_4 0,1N theo tỷ lệ đất/dung dịch là 1/25; so màu trên máy chiết quang có chọn lọc ở bước sóng 882 nm.

Kali dễ tiêu: Tương tự các phương pháp chiết rút mẫu phân tích lân dễ tiêu; dịch chiết được đo trên máy quang kế ngọn lửa AES-Kính lọc K768 nm.

2.3.4. Phương pháp xác định mức độ an toàn sinh học của các chủng vi sinh vật

Các chủng vi sinh vật được phân loại theo phương pháp sau:

- Phân loại truyền thống: dựa vào đặc điểm hình thái tế bào, phản ứng hóa sinh theo khóa phân loại [12].

- Kỹ thuật sinh học phân tử: xác định tên vi sinh vật bằng phương pháp phân loại học phân tử dựa trên cơ sở giải trình tự đoạn gen 16s ARN riboxom của các chủng vi khuẩn nghiên cứu, so sánh với các trình tự có sẵn trong ngân hàng gen quốc tế EMBL bằng phương pháp FASTA 33 để định loại đến loài các chủng vi sinh vật.

Cặp môi được thiết kế dựa trên trình tự đoạn gen mã hóa 16s ARN riboxom của chủng E.coli (J01695), tương ứng với các vị trí nucleotid 15-33 (cho môi xuôi) và 1548-1532 (cho môi ngược).

- Trình tự nucleotit của các chủng nghiên cứu được giải trình trên máy tự động ABI-377 của Hãng Perkin-Elmer (Mỹ), sau đó được xử lý bằng chương trình SeqEd1.03 và chương trình AssemblyLIGN 1.9 trong hệ chương trình MacVector 6.5.3 (Oxford Molecular Inc.).

- Truy cập Ngân hàng Gen bằng chương trình Entrez/nucleotide/tìm kiếm các trình tự gen 16s ARN riboxom của vi khuẩn.

- So sánh đôi chiều và xử lý số liệu của tất cả các chuỗi bằng chương trình GENDOC 2.5. Thành phần nucleotit được thu nhận bằng cách sử dụng bộ mã của vi sinh vật bậc thấp (vi khuẩn) trong Ngân hàng Gen (bảng mã di truyền số 11) thông qua chương trình GENDOC 2.5.

- Tên vi sinh vật được xác định với xác suất tương đồng cao nhất.

Đối chiếu với danh sách các chủng vi sinh vật an toàn theo hướng dẫn của Cộng đồng chung Châu Âu để xác định mức độ an toàn sinh học của các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu.

Theo hướng dẫn số 90/679/EWG ngày 26 tháng 11 năm 1990 của cộng đồng Châu Âu về an toàn sinh học, nhóm tác nhân sinh học được phân làm 4 cấp độ an toàn, trong đó chỉ các vi khuẩn ở cấp độ 1 và 2 được ứng dụng trong sản xuất ở điều kiện bình thường.

- ❖ Cấp độ 1 (Risiko gruppe 1) là các vi khuẩn không có thể gây bất cứ một nguy hiểm nào đối với người và động vật.
- ❖ Cấp độ 2 (Risiko gruppe 2) bao gồm các vi khuẩn có thể gây bệnh đối với người, động vật ở mức độ thấp, không có khả năng lan truyền và có thể phòng, chống và loại trừ dễ dàng trong điều kiện bình thường.
- ❖ Cấp độ 3 (Risiko gruppe 3) là các vi khuẩn có nguy cơ gây bệnh nặng đối với người, động vật và có khả năng lan truyền rộng, song vẫn có thể phòng chống và loại trừ được.

- ❖ Cấp độ 4 (Risiko gruppe 4) là các vi khuẩn có thể gây bệnh nặng đối với người, động vật, có nguy cơ lớn về mức độ lan truyền rộng và không thể phòng, chống hoặc loại trừ.

2.3.5. Các phương pháp khác:

Sử dụng phần mềm Excel, Word để tổng hợp và quản lý tất cả các số liệu; tính toán và so sánh giữa các số liệu.

2.4. Yêu cầu về mặt bằng xử lý bã thải cà phê

Nghiên cứu được tiến hành ở quy mô phòng thí nghiệm, tuy nhiên vẫn cần phải đảm bảo các yếu tố kỹ thuật, an toàn và hiệu quả trong quá trình xử lý. Dưới đây là một số yêu cầu cơ bản về mặt bằng và thiết kế cho phòng thí nghiệm này:

- Vị trí và không gian

Diện tích phòng thí nghiệm: Phòng thí nghiệm xử lý bã thải cà phê nên có diện tích đủ rộng để chứa các thiết bị và khu vực làm việc của nhóm thí nghiệm. Diện tích tối thiểu cho một phòng thí nghiệm xử lý có thể dao động từ 30-50 m², tùy thuộc vào quy mô và số lượng thiết bị.

Phân khu rõ ràng giữa khu vực xử lý, lưu trữ nguyên liệu, và khu vực phân tích mẫu.

- Hệ thống xử lý bã thải

Công nghệ xử lý: Compost (ủ phân): Sử dụng vi sinh vật để phân hủy bã thải cà phê thành phân vi sinh. Cần có khu vực ủ và khu vực kiểm tra chất lượng phân compost.

- Khu vực lưu trữ nguyên liệu thô và phân thành phẩm

Lưu trữ bã thải cà phê: Khu vực này cần có không gian thoáng, khô ráo để tránh mùi hôi và sự phát triển của nấm mốc. Các thùng chứa hoặc bể chứa cần được thiết kế kín để bảo quản bã thải không bị ô nhiễm.

Lưu trữ phân vi sinh thành phẩm: Sau khi xử lý, phân vi sinh cần được lưu trữ trong các khu vực thông thoáng, có thể sử dụng bao bì chứa hoặc hộc để bảo vệ sản phẩm khỏi bị ẩm ướt và nhiễm bẩn.

- Thiết bị và công cụ:

Máy trộn và máy ủ: Thiết bị này giúp trộn đều bã thải cà phê với các nguyên liệu bổ sung (như phân vi sinh, chất xơ, hoặc các nguyên liệu bổ sung khác) trong quá trình ủ phân.

Thiết bị đo đạc: Bao gồm các máy đo độ ẩm, nhiệt độ, pH và các chỉ số khác để theo dõi quá trình phân hủy và đảm bảo chất lượng phân vi sinh.

Máy nghiền hoặc cắt nhỏ: Để xử lý bã thải thành dạng mảnh nhỏ để phân hủy nhanh hơn.

- Hệ thống thông gió và kiểm soát môi trường

Thông gió: Phòng thí nghiệm cần có hệ thống thông gió tốt để giảm mùi hôi từ bã thải cà phê và phân vi sinh. Có thể sử dụng quạt hút gió và hệ thống lọc mùi.

Kiểm soát nhiệt độ và độ ẩm: Đảm bảo nhiệt độ và độ ẩm trong quá trình xử lý phù hợp để vi sinh vật phát triển và phân hủy bã thải hiệu quả. Hệ thống điều hòa hoặc kiểm soát nhiệt độ là cần thiết.

- Khu vực an toàn và phòng cháy chữa cháy

An toàn lao động: Cần có các thiết bị bảo vệ cá nhân (như khẩu trang, găng tay, kính bảo hộ) cho nhóm thực hiện làm việc trong phòng thí nghiệm.

Phòng cháy chữa cháy: Do quá trình phân hủy có thể tạo ra khí dễ cháy (như biogas), phòng thí nghiệm cần được trang bị hệ thống chữa cháy và các bình chữa cháy thích hợp.

- Quy trình và phương pháp kiểm tra

Kiểm tra chất lượng phân vi sinh: Các mẫu phân vi sinh sẽ cần được kiểm tra về chất lượng (nồng độ dưỡng chất, vi sinh vật, độ pH, độ ẩm...) để đảm bảo phân vi sinh đạt chuẩn.

Phòng xét nghiệm: Cần một không gian nhỏ để thực hiện các xét nghiệm vi sinh, xác định tỷ lệ phân hủy và các chỉ số khác liên quan đến phân vi sinh.

- Hệ thống nước và xử lý nước thải

Cấp nước: Cần có hệ thống cấp nước sạch cho các công đoạn như rửa thiết bị, kiểm tra mẫu, và có thể cần nước cho các thí nghiệm hoặc quy trình xử lý bã thải.

Xử lý nước thải: Nước thải từ quá trình xử lý bã thải cần được xử lý qua các hệ thống lọc vi sinh hoặc hóa học để loại bỏ tạp chất và tránh ô nhiễm.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích tính chất của chất thải chế biến cà phê dạng rắn

Chất thải chế biến cà phê dạng rắn (vỏ quả) được thu tại một số hộ chế biến cà phê ướt trên địa bàn tỉnh Sơn La. Mẫu chất thải rắn sau khi lấy về được phân tích một số chỉ tiêu lý hóa và được trình bày trong bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả phân tích một số chỉ tiêu trong mẫu bã thải cà phê sau chế biến ướt

STT	Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Chất thải rắn (vỏ cà phê)		
			Mẫu 01	Mẫu 02	Mẫu 03
1	OM	%	20,7	21,2	22,1
2	N (%)	%	0,65	0,78	0,83
3	P ₂ O ₅ (%)	%	0,14	0,13	0,15
4	K ₂ O (%)	%	1,92	2,01	2,11
5	Zn	mg/kg	5,33	6,11	5,86
6	Pb	mg/kg	2,41	3,33	2,78

Kết quả bảng 3.1 cho thấy, vỏ cà phê tươi có hàm lượng Cacbon hữu cơ tổng số, hàm lượng Nitơ tổng số, hàm lượng P₂O₅ và nhiều nguyên tố trung lượng, vi lượng thiết yếu, rất phù hợp để xử lý thành phân bón hữu cơ sinh học. Do đó, việc không sử dụng đúng cách hoặc không sử dụng vỏ cà phê gây lãng phí dinh dưỡng, ô nhiễm môi trường và phát tán mầm bệnh cho cây trồng.

Mật độ tế bào vi sinh vật trong chất thải chế biến cà phê dạng rắn ban đầu được trình bày trong bảng 3.2.

Bảng 3.2. Mật độ tế bào vi sinh vật trong chất thải rắn

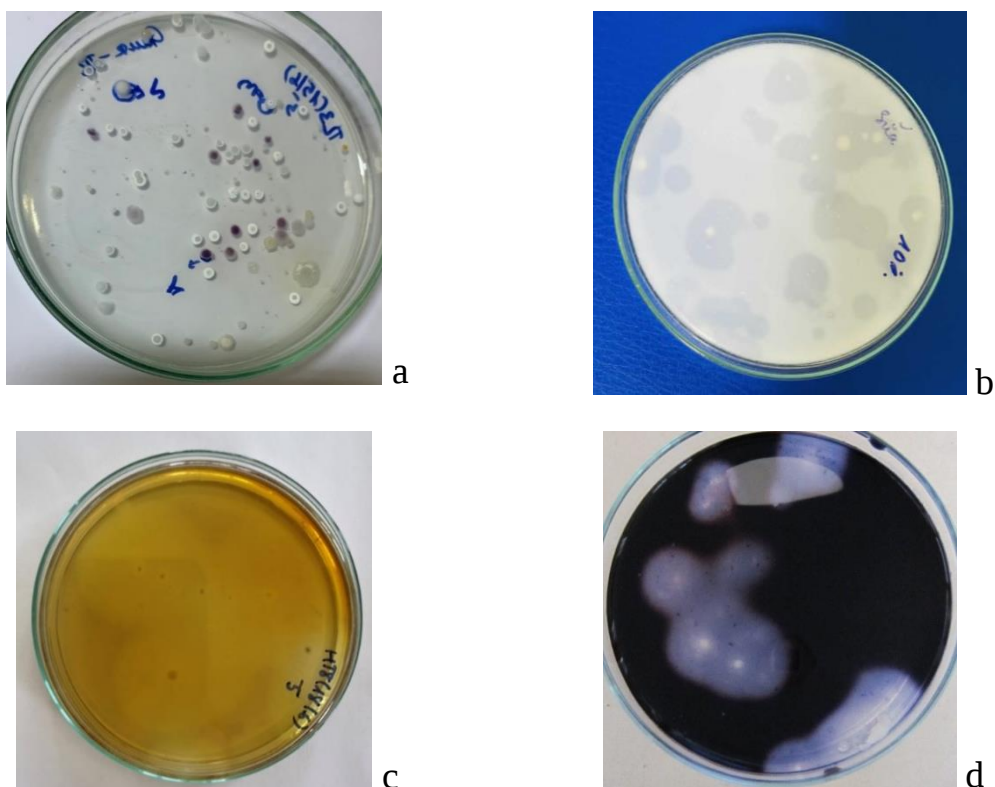
TT	Chỉ tiêu	Đơn vị tính	Số lượng
1	VSV tổng số	CFU/g	1,26 x 10 ⁵
2	VSV phân giải cellulose	CFU/g	4,20 x 10 ²
3	Phân giải lân	CFU/g	1,24 x 10 ¹
4	VSV phân giải protein	CFU/g	1,1 x 10 ²

Kết quả bảng 3.2 cho thấy, trong chất thải chế biến cà phê dạng rắn có sẵn các loại vi sinh vật như VSV phân giải cellulose, VSV phân giải lân, VSV phân giải protein... tuy nhiên số lượng còn ít. Vì thế cần phải bổ sung thêm VSV có ích để tăng tốc độ phân giải hợp chất hữu cơ trong bã thải cà phê và hạn chế sự hoạt động của các vi sinh vật có hại.

3.2. Kết quả phân lập vi sinh vật phân giải hydratcacbon (tinh bột, cellulose, protein)

Từ 5 mẫu đất và 5 mẫu vỏ quả cà phê sau chế biến ươm thu thập tại một số cơ sở chế biến cà phê trên địa bàn tỉnh Sơn La, đã phân lập được 5 chủng xạ có đồng thời khả năng phân giải tinh bột và cellulose, protein.

Màu sắc các chủng xạ khuẩn được phân lập chủ yếu có màu xám và trắng. Bề mặt khuẩn lạc khô ráo, không bóng như vi khuẩn, hình dạng chủ yếu hình tròn, một số chủng tạo thành vòng tròn đồng tâm, hệ sợi cơ chất cắm sâu vào môi trường và đây cũng là đặc điểm giúp phân biệt giữa xạ khuẩn với vi khuẩn và nấm. Ngoài ra, khả năng phát triển của các chủng xạ khuẩn trên môi trường Gause tương đối chậm từ 3-5 ngày.



Hình 3.1. Hình ảnh khuẩn lạc xạ khuẩn được phân lập

- (a-Khuẩn lạc xạ khuẩn trên môi trường Gause sau 72h nuôi cấy;
 b- Khuẩn lạc xạ khuẩn có khả năng phân giải protein;
 c- Khuẩn lạc xạ khuẩn có khả năng phân giải cellulose;
 d- Khuẩn lạc xạ khuẩn phân giải tinh bột)

Bảng 3.3. Đặc điểm khuẩn lạc vi sinh vật phân lập được

Ký hiệu chủng	Đặc điểm khuẩn lạc	Kích thước khuẩn lạc (cm)
ĐTX1	Khuẩn ty khí sinh màu xám đen, khuẩn ty cơ chất màu vàng kem, bề mặt xù xì	0,5-1
ĐTX2	Khuẩn ty khí sinh màu trắng, khuẩn ty cơ chất màu trắng ngà, bề mặt xù xì,	0,5-1
ĐTX3	Khuẩn ty khí sinh màu xám trắng, khuẩn ty cơ chất màu vàng, bề mặt xù xì	0,5-1
VQX4	Khuẩn ty khí sinh màu xanh đen có viền trắng, khuẩn ty cơ chất màu nâu vàng, bề mặt bột	1-1,5
VQX5	Khuẩn ty khí sinh màu hồng xám, khuẩn ty cơ chất màu nâu đen, bề mặt xù xì	1-1,5

3.3. Tuyển chọn chủng có khả năng phân giải hợp chất chứa cacbon (tinh bột và cellulose, protein)

Tiến hành đánh giá hoạt tính phân giải cacbonhydrat của các chủng vi sinh vật bao gồm: 5 chủng vi khuẩn được phân lập từ mẫu đất và vỏ cà phê trên địa bàn tỉnh Sơn La (ĐTX1, ĐTX2, ĐTX3, VQX4, VQX5) và 3 chủng vi sinh vật được lưu giữ tại Bộ môn Sinh học Môi trường - Viện Môi trường Nông nghiệp (SHX 2P; SHB 17, SHB 16).

Tiến hành đánh giá hoạt tính phân giải đồng thời tinh bột và cellulose, protein của các chủng thu được kết quả như sau:

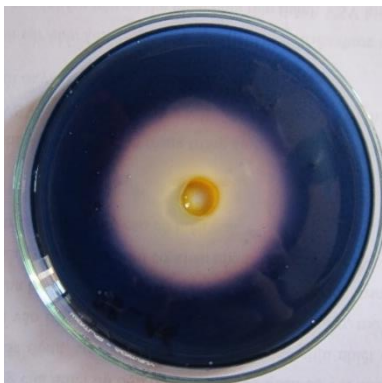
Bảng 3.4. Vòng phân giải tinh bột, cellulose, protein của các chủng tuyển chọn

STT	Ký hiệu chủng	Hoạt tính phân giải hydratcacbon (D-d, mm)		
		Tinh bột	Cellulose	Protease
1	ĐTX1	12	15	8
2	ĐTX2	32	30	20
3	ĐTX3	14	18	11
4	VQX4	19	10	10
5	VQX5	10	10	9
7	SHX 2P	20	21	10
8	SHB 17	22	35	33
9	SHB 16	25	19	25

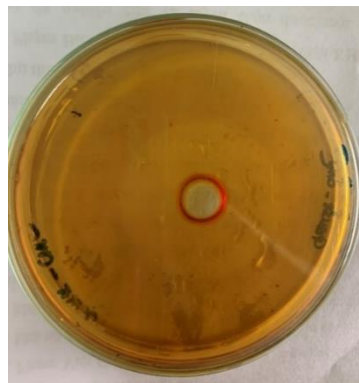
Kết quả bảng 3.4 cho thấy các chủng vi sinh vật đều có khả năng phân giải cơ chất tinh bột và cellulose, protein cùng một lúc, trong đó:

- Chủng SHB 17 có đường kính vòng phân giải cellulose lớn nhất (35mm), đường kính vòng phân giải protein là 33mm và đường kính vòng phân giải tinh bột 20 mm;
- Chủng ĐTX2 có hoạt tính phân giải tinh bột cao nhất (32mm) và đường kính vòng phân giải cellulose 30 mm và đường kính vòng phân giải protein là 20mm.

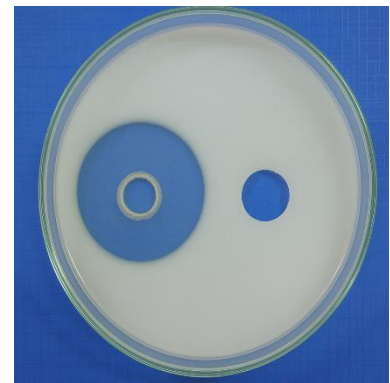
Dựa vào kích thước vòng phân giải hợp chất hydratcacbon (tinh bột, cellulose) của các chủng VSV được tuyển chọn, nhóm nghiên cứu lựa chọn chủng SHB 17 và ĐTX2 để tiếp tục cho quá trình nghiên cứu tiếp theo.



D32mm (khả năng phân giải mạnh)

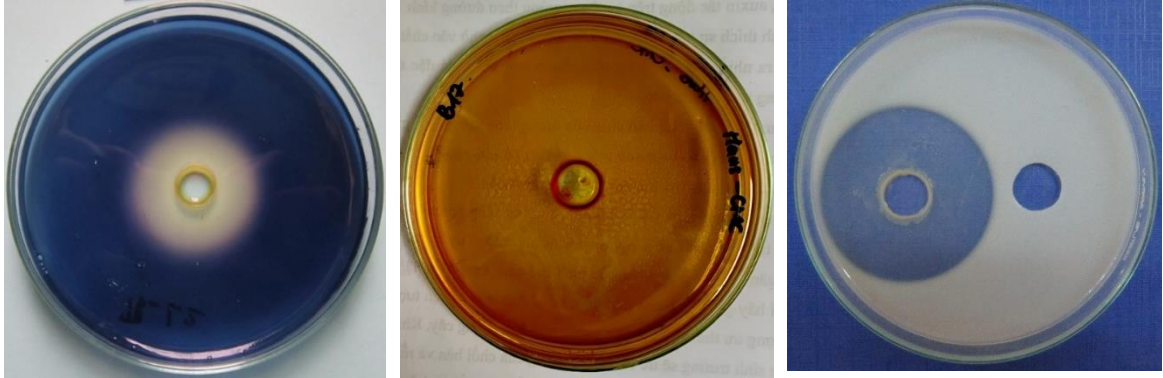


D=30mm (khả năng phân giải mạnh)



D=20mm (khả năng phân giải khá)

Vòng phân giải hợp chất hữu cơ của chủng ĐTX2



D=22mm (khả năng
phân giải khá)

D=35mm (khả năng
phân giải mạnh)

D=33mm (khả năng
phân giải mạnh)

Vòng phân giải hợp chất hữu cơ của chủng SHB 17

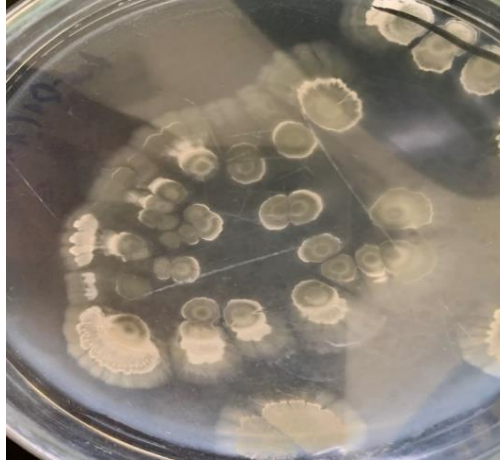
Hình 3.2. Hình ảnh vòng phân giải hợp chất hữu cơ của 2 chủng được lựa chọn

3.4. Đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa

3.4.1. Đặc điểm hình thái của các chủng được tuyển chọn

*) Đặc điểm hình thái của chủng ĐTX2

Chủng ĐTX2 khi được nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa (Gause-TB) ở điều kiện nhiệt độ nuôi cấy ở 37°C. Sau 72-96 giờ nuôi cấy hình thành khuẩn lạc tròn, đường kính 2-2,2 mm, rìa ngoài mọc thành sợi, có mùi hắc, khuẩn lạc khí sinh có màu trắng ngà, khuẩn lạc cơ chất bám sâu, chặt vào môi trường có màu trắng. Khi được nuôi cấy trên môi trường dịch thể (Gause-TB) sau 72 giờ chủng ĐTX2 tạo thành pellet nhỏ kích cỡ $\leq 1\text{mm}$, làm trong môi trường nuôi cấy, trên thành bình tạo vòng vẩn màu trắng và bám chặt vào thành bình. Kết quả kiểm tra mật độ tế bào sau 72 giờ nuôi cấy cho thấy chủng ĐTX2 đạt mật độ $1,7.10^8$ CFU/ml. Trong điều kiện nuôi cấy tĩnh, sau 72-96 giờ chủng ĐTX2 phát triển làm môi trường dịch thể chia làm 2 trạng thái, phía dưới ở trạng thái huyền phù, phía trên trong hơn, bề mặt môi trường không đóng vẩn, kết quả kiểm tra mật độ tế bào sau 96 giờ nuôi cấy cho thấy ĐTX2 đạt mật độ thấp là $2,8.10^5$ CFU/ml.



Hình 3.3. Đặc điểm khuẩn lạc chủng DTX2

*) Đặc điểm hình thái của chủng SHB 17

Chủng SHB 17 là vi khuẩn gram (+) được tuyển chọn trên môi trường King B trong điều kiện nhiệt độ nuôi cấy $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Sau 48-72 giờ nuôi cấy, khuẩn lạc không đều, mép răng cưa có đường kính 1,5-2 mm, màu trong vàng nhạt, không mùi. Khi được nuôi cấy lắc trên môi trường dịch thể (King B), sau 48 giờ chủng SHB 17 phát triển làm môi trường nuôi cấy chuyển màu vàng nhạt, trên thành bình tạo vòng váng mỏng màu trắng và bám chặt vào thành bình, kết quả kiểm tra mật độ tế bào sau 48 giờ nuôi cấy cho thấy SHB 17 đạt mật độ $\geq 5.10^9$ CFU/ml. Trong điều kiện nuôi cấy tĩnh, sau 72-96 giờ chủng SHB 17 phát triển làm môi trường dịch thể đục, phía trên trong hơn, bề mặt môi trường đóng váng, kết quả kiểm tra mật độ tế bào sau 96 giờ nuôi cấy cho thấy SHB 17 đạt mật độ $\geq 5.10^6$ CFU/ml.



Hình 3.4. Đặc điểm khuẩn lạc chủng SHB 17

3.4.2. Đặc điểm sinh hóa của các chủng được tuyển chọn

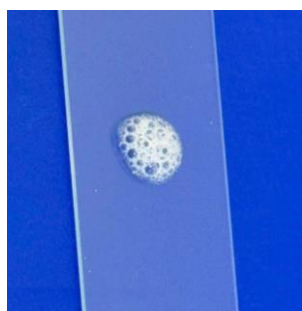
Bảng 3.5. Đặc điểm của các chủng xạ khuẩn trong nghiên cứu

Đặc điểm sinh hóa	SHB 17	ĐTX2
Glucose	+	+
Arabinose	-	+
Saccharose	+	-
Xylose	-	+
Inositol	-	-
Manitol	+	+
Fructose	+	+
Rafinose	-	-
Gram	+	+
Catalase	+	-

Từ bảng 3.5, ta thấy: Chủng ĐTX2 có khả năng đồng hóa các loại đường glucose, arabinose, xylose, manitol, fructose và không đồng hóa saccharose, rafinose, inositol.

Chủng SHB 17 là vi khuẩn gram dương, có khả năng đồng hóa các loại đường glucose, saccharose, manitol, fructose và không đồng hóa, arabinose, xylose, inositol và rafinose.

Ngoài ra, khi tiến hành thí nghiệm phản ứng catalase của 2 chủng vi khuẩn được tuyển chọn chỉ có chủng SHB 17 xuất hiện bọt khí khi nhỏ H_2O_2 30% lên khuẩn lạc của chúng, trong khi đó chủng ĐTX2 không xuất hiện bọt khí khi nhỏ H_2O_2 30% lên khuẩn lạc của chúng.



SHB 17



ĐTX2

Hình 3.5. Phản ứng catalase của các chủng được tuyển chọn

3.5. Đánh giá khả năng tồn tại của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn trong điều kiện hỗn hợp

Để sản xuất được phân vi sinh đạt chất lượng cao, cần lựa chọn và phối trộn các chủng vi sinh vật có hoạt tính sinh học mạnh và tương thích lẫn nhau. Trên thực tế, khi các chủng vi sinh vật khác nhau được phối trộn trong cùng một hỗn hợp, chúng có thể xảy ra các hiện tượng cạnh tranh dinh dưỡng, đối kháng, hoặc cộng sinh, ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tồn tại và hiệu quả sinh học của sản phẩm cuối cùng. Do đó, việc nghiên cứu đánh giá khả năng sống sót, phát triển và tương tác giữa các chủng vi sinh vật được tuyển chọn trong điều kiện hỗn hợp là bước quan trọng để hoàn thiện quy trình sản xuất phân vi sinh ổn định và hiệu quả.

Kết quả nghiên cứu khả năng tồn tại của các chủng vi sinh vật trên nền chất mang là tinh bột được trình bày trong bảng 3.6.

Bảng 3.6. Khả năng tồn tại của các chủng vi sinh vật

Môi trường		Mật độ tế bào VSV (CFU/g)			
		0 giờ	Sau 7 ngày	Sau 15 ngày	Sau 1 tháng
SHB17	Hỗn hợp	$8,74 \times 10^7$	$6,28 \times 10^8$	$6,33 \times 10^8$	$6,24 \times 10^8$
	Đơn lẻ	$9,16 \times 10^7$	$5,94 \times 10^8$	$7,45 \times 10^8$	$6,54 \times 10^8$
DTX2	Hỗn hợp	$3,56 \times 10^7$	$4,54 \times 10^8$	$6,52 \times 10^8$	$4,45 \times 10^8$
	Đơn lẻ	$4,12 \times 10^7$	$6,53 \times 10^8$	$7,48 \times 10^8$	$4,77 \times 10^8$

Kết quả kiểm tra cho thấy tại thời điểm 0 giờ, trong điều kiện hỗn hợp mật độ chủng vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu $\geq 10^7$ CFU/g, sau 7 ngày mật độ tế bào vi khuẩn tăng $\geq 10^8$ CFU/g. Tại các thời điểm kiểm tra tiếp 15 ngày, 1 tháng mật độ các chủng vi sinh vật trong điều kiện tổ hợp và đơn lẻ duy trì ở mức ổn định và không có sự chênh lệch nhiều về mật độ VSV trong điều kiện tổ hợp và đơn lẻ. Kết quả kiểm tra sau 1 tháng cho thấy mật độ tế bào vi sinh vật đều giảm nhẹ so với thời điểm 15 ngày, trong điều kiện hỗn hợp mật độ chủng SHB 17 là $6,24 \times 10^8$ CFU/gr và DTX2 đạt $4,45 \times 10^8$ CFU/gr. Số liệu bảng

3.6 cho thấy trong điều kiện hỗn hợp các chủng vi sinh vật lựa chọn có khả năng cùng tồn tại, sinh trưởng và không ảnh hưởng, ức chế lẫn nhau.

Cùng với khả năng tồn tại trong điều kiện hỗn hợp thì hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật đóng vai trò quan trọng quyết định chất lượng của chế phẩm. Vi sinh vật có thể cùng tồn tại trên cùng một chất mang nhưng không có ý nghĩa nếu hoạt tính sinh học của vi sinh vật không còn hoặc còn nhưng yếu. Để xác định ảnh hưởng của việc hỗn hợp chủng đến hoạt tính sinh học, chúng tôi đã tiến hành xác định hoạt tính phân giải hợp chất hữu cơ của các chủng SHB 17 và ĐTX2 sau 1 tháng trong điều kiện hỗn hợp. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật lựa chọn được thể hiện trong bảng 3.7.

Bảng 3.7. Hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật trong điều kiện hỗn hợp sau 1 tháng bảo quản

Ký hiệu chủng	Công thức TN	Hoạt tính sinh học (D-d,mm)		
		Tinh bột	Cellulose	Protease
SHB17	Đơn chủng	22	36	32
	Hỗn hợp	21,5	33	31,5
ĐTX2	Đơn chủng	32	30	21
	Hỗn hợp	32	30	20

Kết quả đánh giá cho thấy cả 2 chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu đều có khả năng cùng tồn tại và trong một điều kiện môi trường mà không cạnh tranh, ức chế lẫn nhau, hoạt tính sinh học của các chủng vi sinh vật ổn định, không có sự thay đổi so với khi tồn tại riêng rẽ.

3.6. Định danh các loài vi sinh vật được lựa chọn bằng phương pháp sinh học phân tử

Xác định tên vi sinh vật bằng phương pháp phân loại học phân tử dựa trên cơ sở giải trình tự đoạn gene 16s ARN riboxom của các chủng vi khuẩn nghiên cứu, so sánh với các trình tự có sẵn trong ngân hàng gene quốc tế EMBL bằng phương pháp FASTA 33 để định loại đến loài các chủng vi sinh vật. Cặp mồi được thiết kế dựa trên trình tự đoạn gene mã hóa 16s ARN riboxom của

chủng *E.coli* (J01695), tương ứng với các vị trí nucleotid 15-33 (cho mỗi xuôi) và 1548-1532 (cho mỗi ngược). Trình tự nucleotit của các chủng nghiên cứu được giải trình trên máy tự động ABI-377 của Hãng Perkin-Elmer (Mỹ), sau đó được xử lý bằng chương trình SeqEd1.03 và chương trình AssemblyLIGN 1.9 trong hệ chương trình MacVector 6.5.3 (Oxford Molecular Inc.), thí nghiệm được tiến hành tại Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học - Đại học Quốc gia Hà Nội. Truy cập Ngân hàng Gene bằng chương trình Entrez/nucleotide/tìm kiếm các trình tự gene 16s ARN riboxom của vi khuẩn. So sánh đối chiếu và xử lý số liệu của tất cả các chuỗi bằng chương trình GENDOC2.5. Thành phần nucleotit được thu nhận bằng cách sử dụng bộ mã của vi sinh vật bậc thấp (vi khuẩn) trong Ngân hàng Gene (bảng mã di truyền số 11) thông qua chương trình GENDOC 2.5. Tên của vi sinh vật được xác định với xác suất tương đồng cao nhất. Kết quả định danh được trình bày trong bảng sau:

Bảng 3.8. Kết quả định danh và mức độ an toàn của chủng các vi sinh vật

STT	Ký hiệu chủng	Thuộc chi	Mức độ ATSH
1	DTX2	<i>Streptomyces</i>	Cấp độ 1
2	SHB 17	<i>Bacillus</i>	Cấp độ 1

Kết quả định danh cho thấy chủng **SHB 17** có trình tự gen tương đồng với chủng thuộc chi *Bacillus*. Trong khi đó, chủng **DTX2** có trình tự gen tương đồng với chủng thuộc chi *Streptomyces*.

Từ kết quả định danh của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn và so sánh với danh mục các vi khuẩn an toàn số 90/679/EWG của cộng đồng Châu Âu cho thấy, nhóm vi khuẩn *Bacillus* và nhóm xạ khuẩn *Streptomyces* đều có độ an toàn cấp 1 vì vậy đều là chủng vi sinh vật bảo đảm an toàn sinh học; có thể sử dụng trong xử lý chất thải cà phê mà không làm ảnh hưởng đến con người, vật nuôi cũng như môi trường xung quanh.

3.7. Các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn

Sự phát triển của vi sinh vật phụ thuộc vào nhiều yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, nguồn dinh dưỡng, oxy và độ ẩm,... Mỗi chủng vi sinh vật có điều

kiện sinh trưởng tối ưu riêng, ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tăng sinh khối, hoạt tính enzyme và khả năng thích nghi trong môi trường ứng dụng. Do đó, việc xác định và tối ưu hóa các yếu tố này giúp nâng cao hiệu quả nuôi cấy, đảm bảo khả năng sống sót, ổn định của chủng, đồng thời tối đa hóa hiệu suất sản xuất chế phẩm hoặc phân vi sinh.

- Yếu tố nhiệt độ

Để xác định nhiệt độ thích hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu, đề tài đã tiến hành nhân sinh khối các chủng vi sinh vật trong hệ thống nhân sinh khối tự động có cùng các điều kiện, cấp khí... ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau. Kết quả kiểm tra mật độ tế bào sau 36 giờ nuôi cấy được thể hiện trong bảng 3.9.

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới sinh trưởng và phát triển của VSV

Chủng VSV	Mật độ tế bào (CFU/ml)				
	T°=20±2 (°C)	T°=25±2 (°C)	T°=30±2 (°C)	T°=35±2 (°C)	T°=40±2 (°C)
ĐTX2	2,46x10 ⁵	2,6x10 ⁶	2,84x10 ⁵	2,48x10⁸	8,12x10 ⁷
SHB 17	3,12x10 ⁵	4,24x10 ⁷	1,12x10⁹	4,26x10 ⁸	3,28x10 ⁶

Số liệu tại bảng 3.9 cho thấy chủng ĐTX2 phát triển tốt và đạt mật độ cao nhất khi nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ 35°C ± 2 (°C), kết quả kiểm tra mật độ cho thấy chủng ĐTX2 đạt mật độ 2,48x10⁸ CFU/ml. Kết quả đánh giá cũng cho thấy chủng SHB17 thích hợp ở nhiệt độ 25-35 ±2 (°C) và đạt mật độ cao nhất (**1,12x10⁹**CFU/ml) trong điều kiện nhiệt độ =30°C±2 °C.

- Yếu tố pH

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của pH môi trường ban đầu tới quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật lựa chọn được trình bày trong bảng 3.10.

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của pH tới sinh trưởng và phát triển của VSV

Chủng VSV	Mật độ tế bào (CFU/ml)						
	pH=5,0	pH=5,5	pH=6,0	pH=6,5	pH=7,0	pH=7,5	pH=8
ĐTX2	3,52x10 ⁴	6,68x10 ⁴	4,24x10 ⁵	3,82x10 ⁶	1,36x10 ⁸	6,92x10⁸	6,12x10 ⁷
SHB 17	3,86x10 ⁷	4,62x10 ⁷	6,28x10 ⁷	4,52x10 ⁸	3,44x10⁹	2,24x10 ⁷	1,28x10 ⁷

Bảng số liệu cho thấy chủng SHB 17 phát triển tốt và đạt mật độ cao nhất khi nuôi cấy ở điều kiện pH=7 (mật độ tế bào đạt **$3,44 \times 10^9$** CFU/ml). Kết quả kiểm tra mật độ cho thấy chủng xạ khuẩn ĐTX2 đạt mật độ cao nhất khi được nuôi cấy ở điều kiện pH=7,5 (mật độ tế bào đạt **$6,92 \times 10^8$** CFU/ml).

- Yếu tố không khí

Trong quá trình nhân sinh khối, các chủng vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu đều có nhu cầu sử dụng oxy, do vậy đề tài đã tiến hành đánh giá nhu cầu sử dụng oxy trong quá trình sinh trưởng và phát triển của các chủng vi sinh vật thông qua lượng không khí cấp vào. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của lượng không khí cung cấp trong quá trình nhân sinh khối đối với các chủng vi sinh vật được trình bày trong bảng 3.11.

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của không khí đến sinh trưởng và phát triển của VSV

Chủng VSV	Mật độ tế bào (CFU/ml)						
	0,50*	0,55*	0,60*	0,65*	0,70*	0,75*	0,80*
ĐTX2	$2,34 \times 10^6$	$2,56 \times 10^6$	$4,54 \times 10^7$	$6,42 \times 10^7$	$6,26 \times 10^8$	$5,06 \times 10^8$	$5,12 \times 10^7$
SHB 17	$3,22 \times 10^6$	$3,58 \times 10^7$	$6,24 \times 10^8$	$6,68 \times 10^9$	$4,66 \times 10^9$	$7,4 \times 10^8$	$6,82 \times 10^8$

*: *Lượng không khí (dm^3 không khí/ dm^3 môi trường/phút)*

Số liệu bảng 3.11 cho thấy khi lượng không khí cung cấp vào trong quá trình nhân sinh khối là $0,5 dm^3$ không khí/lít môi trường/phút thì khả năng sinh trưởng và phát triển của các chủng vi sinh vật thấp. Chủng SHB 17 đạt mật độ cao nhất ($>4 \times 10^9$ CFU/ml) khi nồng độ không khí cung cấp vào là 0,65 – 0,70 dm^3 không khí/ lít môi trường/ phút, chủng ĐTX2 đạt mật độ cao nhất ($>5 \times 10^8$ CFU/ml) khi nồng độ không khí cung cấp vào là 0,70 – 0,75 dm^3 không khí/lít môi trường/phút, tuy nhiên khi lượng không khí đưa vào $\geq$ từ 0,75 dm^3 không khí/lít môi trường/phút thì mật độ vi sinh vật có xu hướng giảm nhẹ.

- Thời gian nuôi cấy

Vi sinh vật được nhân sinh khối trên môi trường đặc hiệu (Môi trường Gause đối với chủng ĐTX2, môi trường King B đối với chủng SHB 17) và

kiểm tra mật độ ở các mốc thời gian khác nhau, kết quả được tập hợp trong bảng 3.12.

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến các chủng vi sinh vật

Chủng VSV	Mật độ tế bào (CFU/ml)				
	0 giờ	Sau 24 giờ	Sau 48 giờ	Sau 72 giờ	Sau 96 giờ
DTX2	$3,08 \times 10^4$	$3,66 \times 10^5$	$6,42 \times 10^7$	$5,88 \times 10^8$	$5,52 \times 10^7$
SHB 17	$3,52 \times 10^4$	$5,52 \times 10^6$	$5,28 \times 10^9$	$4,26 \times 10^8$	$4,26 \times 10^7$

Số liệu bảng 3.12 cho thấy, mật độ tế bào của chủng DTX2 và SHB17 đạt $\geq 10^9$ CFU/ml tại các thời gian nhân sinh khối khác nhau: chủng xạ khuẩn DTX2 đạt mật độ tế bào $\geq 10^8$ (CFU/ml) sau thời gian nhân sinh khối là 72 giờ; chủng SHB 17 đạt mật độ tế bào $\geq 10^9$ (CFU/ml) sau thời gian nhân sinh khối là 48 giờ.

- *Tỷ lệ giống cấp 1:*

Với mục tiêu tăng sinh khối các chủng vi sinh vật, ngoài các yếu tố về môi trường dinh dưỡng, điều kiện nuôi cấy thì lượng giống cấp 1 bổ sung vào quá trình lên men sinh khối hết sức quan trọng, nó quyết định chất lượng và chi phí sản xuất. Việc nghiên cứu đưa ra một tỷ lệ giống cấp 1 thích hợp trong quá trình lên men là rất cần thiết. Giống cấp 1 được sản xuất trên môi trường chuẩn, sau đó được cấy vào môi trường lên men sinh khối sản xuất phù hợp với từng VSV theo tỷ lệ khác nhau.

Thông số kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu:

+ Lưu lượng cấp khí: $0,7 \text{ dm}^3$ không khí/lít môi trường/phút.

+ Thời gian lên men: 48 giờ

+ Tỷ lệ giống cấp 1: bổ sung ở các mức khác nhau từ 1%; 3%; 5%; 7%; 10%. (Giống cấp 1 được nhân giống trên môi trường chuẩn, được kiểm tra độ thuần khiết và mật độ tế bào $\geq 10^8$ CFU/ml).

Kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 3.13.

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men sinh khối VSV

Tỷ lệ giống bổ sung ban đầu (%)	Mật độ tế bào (CFU/ml)	
	ĐTX2	SHB 17
1	$5,34 \times 10^7$	$6,52 \times 10^7$
3	$6,26 \cdot 10^7$	$7,22 \times 10^7$
5	$7,52 \times 10^8$	$6,36 \times 10^9$
7	$7,56 \times 10^8$	$6,40 \times 10^9$
10	$7,60 \times 10^8$	$6,46 \times 10^9$

Kết quả từ bảng cho thấy: Khi bổ sung giống cấp 1 trong quá trình nhân sinh khối với tỉ lệ 1-2% thì khả năng sinh trưởng, phát triển của cả 2 chủng đều không cao, khi lượng giống cấp 1 đưa vào từ 5% trở lên thì mật độ tế bào VSV mới đạt $\geq 10^8$ CFU/ml và không có sự chênh lệch giữa các nồng độ 5%; 7% và 10%. Vì vậy, để tiết kiệm chi phí sản xuất thì lượng giống thích hợp nhất để bổ sung cho quá trình lên men nhân sinh khối các chủng là 5%.

Từ kết quả nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng của vi sinh vật sử dụng trong nghiên cứu, đề tài đã tổng hợp các điều kiện phù hợp cho quá trình nhân sinh khối các chủng vi sinh vật được tuyển chọn như sau:

Bảng 3.14. Thông số tối ưu để nhân sinh khối chủng vi sinh vật được tuyển chọn

Thông số kỹ thuật	Chủng ĐTX2	Chủng SHB 17
pH môi trường lên men	7,5	7
Nhiệt độ lên men sinh khối (°C)	35	30
Thời gian lên men sinh khối (giờ)	72	48
Tỷ lệ giống cấp 1 (%)	5	5
Môi trường lên men sinh khối	Gause	King B
Lưu lượng cấp khí (dm ³ không khí/dm ³ môi trường/phút)	0,7	0,65

3.8. Đánh giá khả năng ứng dụng của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn trong xử lý chất thải chế biến cà phê làm phân bón sinh học

Thử nghiệm khả năng xử lý chất thải chế biến cà phê của các chủng vi sinh vật tuyển chọn, đề tài đã tiến hành các thí nghiệm ở quy mô chậu vại theo các công thức:

CT đối chứng: Không bổ sung vi sinh vật

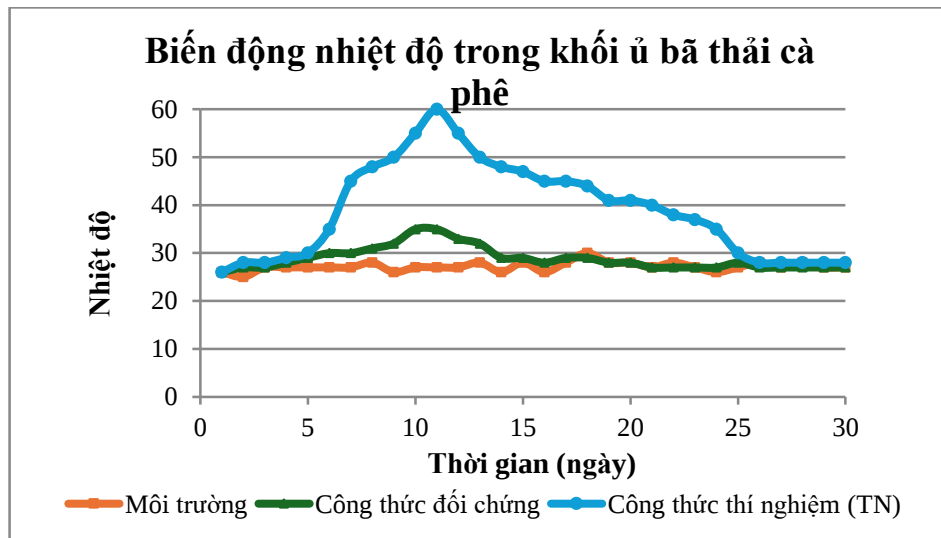
CT thí nghiệm: Bổ sung hỗn hợp chủng SHB 17 và ĐTX2 vào nguyên liệu vỏ cà phê sau chế biến ướt theo tính toán sao cho mật độ chủng SHB 17 và ĐTX2 trong khối nguyên liệu đạt 10^5 CFU/g, mỗi đồng ủ có khối lượng 100kg. Trong thí nghiệm, đề tài cũng bổ sung 1 lượng nhỏ rỉ đường và đạm ure để làm nguồn dinh dưỡng tạo đà cho vi sinh vật tuyển chọn phát triển. Hỗn hợp sau khi bổ sung vi sinh vật được đánh thành đồng ủ có phủ bạt và để ở vị trí khô ráo và theo dõi các yếu tố về nhiệt độ, thể tích khối ủ.

3.8.1. Diễn biến nhiệt độ trong khối ủ bã thải cà phê

Nhiệt độ là một chỉ tiêu quan trọng giúp nhận biết sự hoạt động của VSV trong khối ủ, nhiệt độ cao đảm bảo cho chất lượng của sản phẩm compost đầu ra sẽ không còn VSV gây bệnh.

Hình 3.6 cho thấy nhiệt độ đồng ủ thay đổi theo các giai đoạn của quá trình phân giải chất hữu cơ và ảnh hưởng lớn tới sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trong đồng ủ. Kết quả theo dõi nhiệt độ cho thấy tại công thức đối chứng (ĐC) nhiệt độ cũng tăng cao hơn so với nhiệt độ môi trường, điều này chứng tỏ trong đồng ủ cũng xảy quá trình chuyển hóa hữu cơ nhờ quần thể vi sinh vật có sẵn trong đồng ủ. Tại công thức thí nghiệm (TN) có bổ sung chế phẩm VSV, nhiệt độ trong đồng ủ tăng mạnh hơn trong những ngày đầu; điều này cho thấy quá trình chuyển hóa chất hữu cơ xảy ra mạnh hơn. Sau thời gian ủ 3 ngày nhiệt độ khối ủ bắt đầu tăng và đạt nhiệt độ cực đại (60°C) sau 10 ngày. Sự tăng nhiệt độ khối ủ có tác dụng tăng cường các phản ứng hoá học xảy ra trong quá trình ủ, kích thích sự hoạt động của vi sinh vật ưa nhiệt, đồng thời tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh, hạt mầm cỏ dại trong nguyên liệu ủ. Tuy

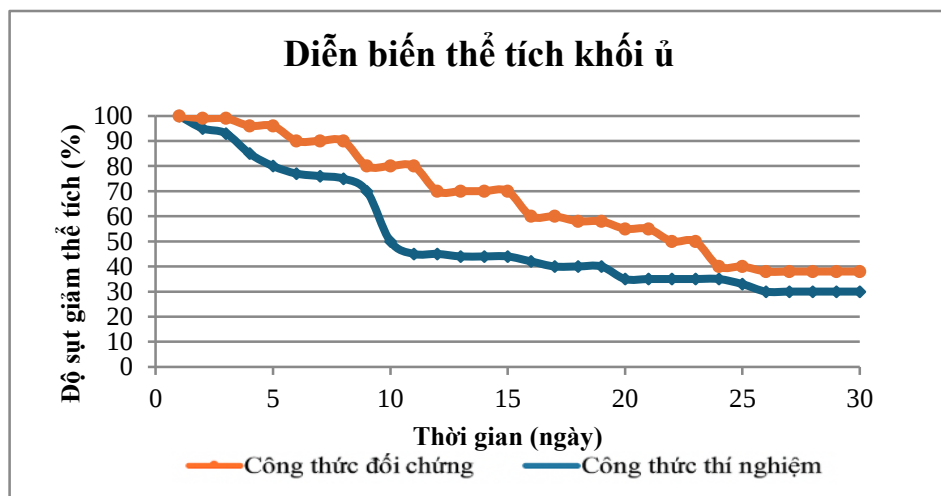
nhiên, nhiệt độ cao cũng là tác nhân xấu ảnh hưởng đến sinh trưởng của quần thể vi sinh vật trong đồng ủ. Sau 10 ngày ủ, trong khi nhiệt độ trong đồng ủ tại công thức đối chứng duy trì ở mức ngang bằng nhiệt độ môi trường thì nhiệt độ của đồng ủ của công thức thí nghiệm bắt đầu giảm xuống và đi vào ổn định ngang bằng nhiệt độ môi trường (sau 30 ngày), điều này chứng tỏ trong công thức thí nghiệm nguyên liệu hữu cơ đã ngừng chuyển hóa nên không giải phóng nhiệt năng ra bên ngoài.



Hình 3.6. Diễn biến nhiệt độ trong khối ủ bã thải cà phê

3.8.2. Độ sụt giảm thể tích khối ủ bã thải cà phê

Trong quá trình ủ, thể tích khối của bã cà phê giảm đáng kể, phản ánh quá trình phân hủy chất hữu cơ và mất nước do vi sinh vật hoạt động.



Hình 3.7. Diễn biến độ sụt giảm thể tích khối ủ bã thải cà phê

Kết quả hình 3.7 cho thấy, ở khối ủ có bổ sung vi sinh vật, thể tích khối ủ sụt giảm nhanh hơn so với khối ủ đối chứng. Sau 10 ngày xử lý ở công thức thí nghiệm, thể tích khối ủ còn 45%, trong khi ở công thức đối chứng thể tích còn 80%.

Sau khi kết thúc quá trình ủ, ở công thức đối chứng, đồng ủ sụt giảm thể tích còn 38% thể tích, trong khi ở công thức thí nghiệm, đồng ủ sụt giảm chỉ còn 30% thể tích.

Việc giảm thể tích là bằng chứng gián tiếp cho thấy hoạt động vi sinh vật mạnh, chuyển hóa chất hữu cơ thành sản phẩm ổn định.

3.8.3. Đánh giá chất lượng của phân compost sau ủ

- Đánh giá cảm quan

Bã thải cà phê sau ủ có độ ẩm trung bình khoảng 30%, về cảm quan, dễ nhận thấy khối phế thải sau khi kết thúc quá trình ủ có trọng lượng riêng giảm do mất nước, chủ yếu được sử dụng cho nhu cầu của vi sinh vật và bị bay hơi do nhiệt độ cao trong đồng ủ. Phân tươi, nhẹ, màu nâu đen, kích thước nhỏ và dễ mủn hơn so với ban đầu.



a) Đối chứng



b) Xử lý bằng VSV

Hình 3.8. Vỏ cà phê sau 1 tháng ủ

- Đánh giá các chỉ tiêu kỹ thuật

Sự thay đổi tính chất lý, hóa học của các nguồn nguyên liệu trước và sau khi ủ so sánh với đối chứng không sử dụng chế phẩm VSV được trình bày trong bảng 3.15.

Bảng 3.15. Thành phần của phế thải chế biến cà phê

STT	Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Vỏ cà phê không xử lý	Vỏ cà phê xử lý bằng VSV
1	Độ ẩm	%	50,5	30
2	OM	%	36,78	22
3	N (%)	%	0,75	1,05
4	P ₂ O ₅ (%)	%	0,14	0,24
5	K ₂ O (%)	%	2,01	2,1
6	VSV phân giải cellulose	CFU/g	4,20 x 10 ²	4,5 x 10 ⁶

Số liệu trong bảng cho thấy có sự thay đổi rõ rệt. Đối với chỉ tiêu OM trong công thức có sử dụng chế phẩm VSV, hàm lượng OM đã giảm từ 36,78% còn đến 22%, kết quả này chứng tỏ các chủng VVS trong chế phẩm đã phát huy được tác dụng phân hủy các hợp chất hữu cơ giàu cacbon trong phế thải chế biến cà phê. Kết quả phân tích cũng cho thấy độ ẩm của nguyên liệu đã giảm đáng kể ở công thức thí nghiệm so với công thức đối chứng là phế thải chế biến cà phê không xử lý, điều này là do nhiệt độ đông ủ tăng cao là một trong những tác nhân làm khô nguyên liệu. Hàm lượng N tổng số, P₂O₅ tổng số trong công thức có sử dụng chế phẩm VSV tăng hơn so với phế thải không được xử lý. Ngoài ra, sản phẩm sau khi ủ bằng vi sinh vật cũng có mật độ vi sinh vật phân giải cellulose cao hơn so với đối chứng và đạt >10⁶ CFU/g.

- So sánh với tiêu chuẩn Việt Nam

TCVN 7185:2002 - Phân hữu cơ vi sinh vật: là Tiêu chuẩn Việt Nam do Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành, quy định yêu cầu kỹ thuật, chỉ tiêu chất lượng và phương pháp kiểm tra đối với phân bón hữu cơ vi sinh.

So sánh số liệu ở bảng 3.15 với TCVN 7185:2002, ta thấy rằng:

+ Về OM:

Hàm lượng OM đều lớn hơn 15%. Như vậy cả hai mẫu đều đáp ứng yêu cầu về chất hữu cơ.

+ Về N + P₂O₅ + K₂O:

Mẫu không xử lý: $0,75 + 0,14 + 2,01 = 2,90\%$, đáp ứng yêu cầu $\geq 2,5\%$.

Mẫu xử lý: $1,05 + 0,24 + 2,1 = 3,39\%$, vượt tiêu chuẩn, thể hiện mẫu xử lý bằng vi sinh vật cải thiện dinh dưỡng tốt hơn.

+ Về mật độ vi sinh vật phân giải cellulose (CFU/g):

Mẫu không xử lý: $4,20 \times 10^2 = 420$ CFU/g, rất thấp so với yêu cầu $\geq 10^6$ CFU/g.

Mẫu xử lý: $4,5 \times 10^6 = 4.500.000$ CFU/g, vượt yêu cầu.

Quá trình xử lý bằng vi sinh vật rõ ràng đã tăng mạnh mật độ vi sinh vật phân giải cellulose lên mức phù hợp với tiêu chuẩn.

+ Về độ ẩm: Mẫu xử lý khoảng 30% đảm bảo khả năng bảo quản.

Bên cạnh đây, phân vi sinh từ bã cà phê sau ủ có pH khoảng 6,5 – 7,5. Đây là mức trung tính hoặc hơi kiềm nhẹ - rất phù hợp với đa số cây trồng. Hàm lượng kim loại nặng đều thấp hơn giới hạn tối đa và không phát hiện các mầm bệnh gây hại như *E. coli*, *Salmonella spp.*.

Kết quả phân tích cho thấy phân hữu cơ vi sinh từ bã cà phê sau xử lý bằng VSV (*Bacillus*, *Streptomyces*) đáp ứng tốt tiêu chuẩn TCVN 7185:2002. Sản phẩm an toàn, giàu dinh dưỡng, mật độ VSV cao và không chứa mầm bệnh nguy hiểm - có thể sử dụng làm phân vi sinh cho cây công nghiệp và rau màu.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

- Từ mẫu đất và bã thải chế biến cà phê ướt trên địa bàn Sơn La, đề tài đã phân lập được 5 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải các hợp chất cacbonhydrat gồm các chủng: ĐTX1, ĐTX2, ĐTX3, VQX4, VQX5.

- Kết hợp cùng các chủng vi sinh vật được lưu giữ tại Bộ môn Sinh học Môi trường - Viện Môi trường Nông nghiệp, đề tài đã tiến hành đánh giá hoạt tính phân giải các hợp chất hữu cơ của các chủng và lựa chọn ra được 2 chủng vi sinh vật là ĐTX2 và SHB 17 là hai chủng có khả năng phân giải đồng thời tinh bột, cellulose, protein.

- Bằng kỹ thuật phân tích trình tự gen16s ARN riboxom đã định danh 2 chủng vi sinh vật sử dụng cho nghiên cứu như sau: chủng ĐTX2 được xác định thuộc chi *Streptomyces*; chủng SHB 17 được xác định thuộc chi *Bacillus*. Cả hai đều đạt độ an toàn sinh học cấp 1 và có thể sử dụng trong xử lý chất thải cà phê mà không làm ảnh hưởng đến con người, vật nuôi cũng như môi trường xung quanh.

- Đã xác định được một số thông số kỹ thuật quan trọng sử dụng trong lên men nhân sinh khối 2 chủng vi sinh vật được tuyển chọn, gồm:

+ Chủng ĐTX2: pH môi trường lên men: 7,5; nhiệt độ lên men sinh khối: 35°C; thời gian lên men sinh khối: 72 giờ; tỷ lệ giống cấp 1: 5%; môi trường lên men sinh khối: Gause; lưu lượng cấp khí 0,75 dm³ không khí/dm³ môi trường/phút, mật độ sau lên men đạt $\geq 10^8$ CFU/ml.

+ Chủng SHB 17: pH môi trường lên men: 7; nhiệt độ lên men sinh khối: 30°C; thời gian lên men sinh khối: 48 giờ; tỷ lệ giống cấp 1: 5%; môi trường lên men sinh khối: King B; lưu lượng cấp khí 0,65 dm³ không khí/dm³ môi trường/phút, mật độ sau lên men đạt $\geq 10^9$ CFU/ml.

- Đã đánh giá khả năng sử dụng của các chủng vi sinh vật được tuyển chọn trong xử lý bã thải cà phê. Sản phẩm phân hữu cơ vi sinh từ bã cà phê sau

xử lý bằng VSV đáp ứng TCVN 7185:2002 về phân hữu cơ vi sinh vật, có thể sử dụng cho cây công nghiệp và rau màu.

KIẾN NGHỊ

Tiếp tục nghiên cứu mở rộng quy mô để đánh giá hiệu quả xử lý chất thải cà phê ở điều kiện sản xuất thực tế. Tiếp tục khảo sát tính ổn định của hai chủng vi sinh vật trong quá trình bảo quản và sử dụng lâu dài. Xem xét khả năng phối hợp các chủng này với các vi sinh vật hữu ích khác nhằm tạo chế phẩm phân vi sinh đạt hiệu quả cao phục vụ nông nghiệp bền vững.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Hiệp hội Cà phê - Ca cao Việt Nam (VICOFA), 2022, Niên giám thống kê ngành cà phê Việt Nam, Hà Nội.
- [2] Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn Sơn La, 2024, Báo cáo tổng kết sản xuất cà phê tỉnh Sơn La năm 2023–2024.
- [3] Pushpa S. Murthy, M. Madhava Naidu, 2012, Sustainable management of coffee industry by-products and value addition - A review, *Resources, Conservation and Recycling*, 66, pp. 45–58.
- [4] Tổng cục thống kê, 2021, Niên giám thống kê năm 2021, Nhà xuất bản thống kê.
- [5] H. Ashihara, A. M. Monteiro, T. Moritz, F. M. Gillies & A. Crozier, 1996, Catabolism of caffeine and related purine alkaloids in leaves of *Coffea arabica* L., *Planta*, 198, pp. 334–339.
- [6] Paulo Mazzafera, 1999, Mineral nutrition and caffeine content in coffee leaves, *Bragantia*, 58, pp. 387–391.
- [7] Tizian Klingel, Jonathan I. Kreme, Vera Gottstein, Tabata Rajcic de Rezende, Steffen Schwarz and Dirk W. Lachenmeier, 2020, A review of coffee by-products including leaf, flower, cherry, husk, silver skin, and spent grounds as novel foods within the European Union, *Foods*, 9 (5), 665.
- [8] Isao Nohara, Makoto Emura, Takaaki Toyoda & Tsuneyoshi Kanisawa, 1997, Epoxygeraniol and epoxyneryl from coffee flower (*Coffea arabica* L.), *Journal of Essential Oil Research*, 9 (6), pp. 727–729.
- [9] Elena E Stashenko, Jairo René Martínez, Silvia Cárdenas-Vargas, Rogerio Saavedra-Barrera, Diego Camilo Durán, 2013, GC–MS study of compounds isolated from *Coffea arabica* flowers by different extraction techniques, *Journal of separation science*, 36 (17), pp. 2901–2914.
- [10] Thi Minh Thu Nguyen, Eun Jin Cho, Younho Song, Chi Hoon Oh, Ryo Funada, Hyeun-Jong Bae, 2019, Use of coffee flower as a novel resource for the production of bioactive compounds, melanoidins, and bio-sugars, *Food Chemistry*, 299 (125120).

- [11] Kathrin Wirz, Steffen Schwarz, Elke Richling, Stephan G. Walch and Dirk W. Lachenmeier, 2022, Coffee flower as a promising novel food - Chemical characterization and sensory evaluation, *Biology and Life Sciences Forum*, 18 (1), 53.
- [12] C. Sousa, C. Gabriel, F. Cerqueira, M.C. Manso and A.F. Vinha, 2015, Coffee industrial waste as a natural source of bioactive compounds with antibacterial and antifungal activities, *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*, pp. 131-136.
- [13] Rocio Campos-Vega, Guadalupe Loarca-Piña, Haydé A. Vergara-Castañeda, B. Dave Oomah, 2015, Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects, *Trend in Food Science & Technology*, 45, pp. 24-36.
- [14] Cindy Torres, Luis Urvina, Hugo de Lasa, 2019, A chemical equilibrium model for biomass gasification. Application to Costa Rican coffee pulp transformation unit, *Biomass and Bioenergy*, 123, pp. 89–103.
- [15] Marnyye A. Velázquez-Cedeño, Gerardo Mata & Jean-Michel Savoie, 2002, Waste-reducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp: Changes in the production of some lignocellulolytic enzymes, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, pp. 201–207.
- [16] Kandasamy Selvam, Muthusamy Govarthanan, Seralathan Kamala-Kannan, Munisamy Govindharaju, Balakrishnan Senthilkumar, Thangasamy Selvankumar and Arumugam Sengottaiyan, 2014, Process optimization of cellulase production from alkali-treated coffee pulp and pineapple waste using *Acinetobacter* sp. TSK MASC, *RSC Advances*, 4, pp. 13045–13051.
- [17] Evandro G T Menezes, Juliana R do Carmo, José Guilherme L F Alves, Aline G T Menezes, Isabela C Guimarães, Fabiana Queiroz, Carlos J Pimenta, 2014, Optimization of alkaline pretreatment of coffee pulp for production of bioethanol, *Biotechnol Prog*, 30 (2), pp. 451–462.
- [18] Gurram Raghu, Al-Shannag Mohammad, Knapp Samuel, Das Tapas, Singaas Eric, Alkasrawi Malek, 2016, Technical possibilities of bioethanol production from coffee pulp: A renewable feedstock, *Clean Technologies and Environmental Policy*, 18 (1), pp. 269–278.

- [19] Chiara Magoni, Ilaria Bruni, Lorenzo Guzzetti, Mario Dell'Agli, Enrico Sangiovanni, Stefano Piazza, Maria Elena Regonesiet, Mariateresa Maldini, Roberto Spezzano, Donatella Caruso, Massimo Labra, 2018, Valorizing coffee pulp by-products as anti-inflammatory ingredient of food supplements acting on IL-8 release, *Food Research International*, 112, pp. 129–135.
- [20] Mohd Azmier Ahmad, Nazira Khabibor Rahman, 2011, Equilibrium, kinetics and thermodynamic of Remazol Brilliant Orange 3R dye adsorption on coffee husk-based activated carbon, *Chemical Engineering Journal*, 170, pp. 154–161.
- [21] Samson Ayele Bekalo & Hans-Wolf Reinhardt, 2010, Fibers of coffee husk and hulls for the production of particleboard, *Materials and Structures*, 43, pp. 1049–1060.
- [22] Maraísa Gonçalves, Mário César Guerreiro, Luiz Carlos Alves de Oliveira, Cinthia Soares de Castro, 2013, A friendly environmental material: Iron oxide dispersed over activated carbon from coffee husk for organic pollutants removal, *Journal of Environmental Management*, 127, pp. 206–211.
- [23] Andrea Heeger, Agnieszka Kosińska-Cagnazzo, Ennio Cantergiani, Wilfried Andlauer, 2017, Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage, *Food Chemistry*, 221, pp. 969–975.
- [24] Subbiah Poopathi, S Abidha, 2011, Coffee husk waste for fermentation production of mosquitocidal bacteria, *Journal of Economic Entomology*, 104 (6), pp. 1816–1823.
- [25] Luca Regazzoni, Federica Saligari, Cristina Marinello, Giuseppe Rossoni, Giancarlo Aldini, Marina Carini, Marica Orioli, 2016, Coffee silver skin as a source of polyphenols: High resolution mass spectrometric profiling of components and antioxidant activity, *Journal of Functional Foods*, 20, pp. 472–485.
- [26] María Hijosa-Valsero, Jerson Garita-Cambronero, Ana I. Paniagua-García & Rebeca Díez-Antolínez, 2018, Biobutanol production from coffee silverskin, *Microbial Cell Factories*, 17 (154).
- [27] Lina F. Ballesteros, Jose A. Teixeira, Solange Ines Mussatto, 2014, Chemical, functional, and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin, *Food and Bioprocess Technology*, 7, pp. 3493–3503.

- [28] Liana Vanyan, Adam Cenian and Karen Trchounian, 2022, Biogas and biohydrogen production using spent coffee grounds and alcohol production waste, *Energies*, 15(16), 5935.
- [29] Hripsime Petrosyan, Liana Vanyan, Satenik Mirzoyan, Armen Trchounian, Karen Trchounian, 2020, Roasted coffee wastes as a substrate for *Escherichia coli* to grow and produce hydrogen, *FEMS Microbiology Letters*, 367(11).
- [30] Trình Công Tư, 2011, Nghiên cứu chế biến phân hữu cơ vi sinh từ vỏ cà phê, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 01 (13), tr. 53-57.
- [31] Asmak Afriliana, Endar Hidayat, Yoshiharu Mitoma, Taizo Masuda, Hiroyuki Harada, Studies on Composting Spent Coffee Grounds by *Aspergillus* sp and *Aspergillus* sp in Aerobic Static Batch Temperature Control, *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 10(1).
- [32] Mansi Rastogi, Meenakshi Nandal, Babita Khosla, 2020, Microbes as vital additives for solid waste composting, *Heliyon*, 6(2).
- [33] J. M. Onsando & S. W. Waudo, 1992, Effect of coffee pulp on *Trichoderma* spp. in Kenyan tea soils, *Tropical Pest Management*, 38 (4), pp. 376-381.
- [34] Bhoite RN, Navya PN and Murthy PS, 2013, Statistical optimization of bioprocess parameters for enhanced gallic acid production from coffee pulp tannins by *penicillium verrucosum*, *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 43 (4), pp. 350–363.
- [35] Pleissner D, Neu AK, Mehlmann K, Schneider R, Puerta-Quintero GI and Venus J, 2016, Fermentative lactic acid production from coffee pulp hydrolysate using *Bacillus coagulans* at laboratory and pilot scales, *Bioresource Technology*, 218, pp. 167-173.
- [36] Kahar Muzakhar, 2019, A Consortium of Three Enzyme es: Xylanase, Arabinofuranosidase, and Cellulase from *Aspergillus* sp. Which liquefied Coffee Pulp Wastes, *Materials Science and Engineering*, 546 (2).
- [37] Marín-Tello Carmen, Zelada-Castillo Lorena, Vásquez-Arqueros Alexander, Vieira Amandio and Siche Raúl, 2023, Coffee Pulp: An Industrial By-product with Uses in Agriculture, Nutrition and Biotechnology, *Reviews in Agricultural Science*, 8, pp. 323-342.

- [38] E Putri, Y Rukayadi, T C Sunarti and A Meryandini, 2019, Cellulolytic and Xylanolytic Actinomycetes selection to degrade Lignocellulosic biomass of Robusta coffee pulp (*Coffea canephora*), *Earth and Environmental Science*, 299 (1).
- [39] P. Murthy, M. Naidu, P. Srinivas, 2009, Production of α -amylase under solid-state fermentation utilizing coffee waste, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 84 (8), pp. 1246–1249.
- [40] Roopali N. Bhoite, Pushpa S. Murthy, 2015, Biodegradation of coffee pulp tannin by *Penicillium verrucosum* for production of tannase, statistical optimization and its application, *Food and Bioproducts Processing*, 94, pp. 727–735.
- [41] M Dias, M M Melo, R F Schwan, C F Silva, 2015, A new alternative use for coffee pulp from semi-dry process to β -glucosidase production by *Bacillus subtilis*, *Letters in Applied Microbiology*, 61 (6), pp. 588–595.
- [42] Soni Sisbudi Harsono, Salahuddin, Mukhammad Fauzi, Gatot Sugeng Purwono, Djoko Soemarno, Kissinger, 2015, Second Generation Bioethanol from Arabica Coffee Waste Processing at Smallholder Plantation in Ijen Plateau Region of East Java, *Procedia Chemistry*, 14, pp. 408–413.
- [43] Raghu Gurram, Mohammad Al-Shannag, Samuel Knapp, Tapas Das, Eric Singasaas & Malek Alkasrawi, 2016, Technical possibilities of bioethanol production from coffee pulp: A renewable feedstock, *Clean Technologies and Environmental Policy*, 18, pp. 269–278.
- [44] Toto Iswanto , Nuniek Hendrianie , Maya Shovitri , Ali Altway , Tri Widjaja, 2019, The effect of mixed biological pretreatment and PEG 4000 on reducing sugar production from coffee pulp waste, *International Journal of Technology*, 10(3), pp.453-462.
- [45] Hla Myo, Nuntawat Khat-udomkiri, 2022. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from coffee pulp using propylene glycol as a solvent and their antioxidant activities, *Ultrasonics Sonochemistry*, 89 (106127).
- [46] Wiriya Khochapong, Sunantha Ketnawa, Yukiharu Ogawa, Niramol Punbusayakul, 2021, Effect of in vitro digestion on bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extract, *Food Chemistry*, 348 (129094).

- [47] Chiara Magoni, Ilaria Bruni, Lorenzo Guzzetti, Mario Dell'Agli, Enrico Sangiovanni, Stefano Piazza, Maria Elena Regonesiet, Mariateresa Maldini, Roberto Spezzano, Donatella Caruso, Massimo Labra, 2018, Valorizing coffee pulp by-products as anti-inflammatory ingredient of food supplements acting on IL-8 release, *Food Research International*, 112, pp. 129–135.
- [48] J.A. Serna-Jiménez, L.S. Torres-Valenzuela, A. Sanín Villarreal, C. Roldan, M.A. Martín, 2023, Advanced extraction of caffeine and polyphenols from coffee pulp: Comparison of conventional and ultrasound-assisted methods, *Food science and Technology*, 177 (114571).
- [49] Thy Minh Kieu Tran, Taiwo O. Akanbi, Timothy Kirkman, Minh H. Nguyen and Quan Van Vuong, 2022, Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidants from Coffee Pulp (*Coffea canephora*) Waste Using Ultrasound and Microwave-Assisted Extraction, *Processes*, 10(5), 1011.
- [50] Morris Konneh, S. M. Wandera, J. Raude, 2021, Adsorption and desorption of nutrients from abattoir wastewater: modelling and comparison of rice, coconut and coffee husk biochar, *Heliyon*, 7 (11).
- [51] Nathalia Ramirez, Fabiana Sardell Cristina Deiana, Anja Schlosser, Dennis Muller, Patrick A. Kißling, Lars F. Klepzigac and Nadja C. Bigall, 2020, Capacitive behavior of activated carbons obtained from coffee husk, *RSC Advances*, 10 (62), pp. 38097–38106.
- [52] J F Cruz, G Valdiviezo, L Carrión, J Rimaycuna, K Ainassaari, M M Gómez, J L Solís, R L Keiski, and G J F Cruz, 2019, Production and characterization of activated carbon based on coffee husk residue for phosphate removal in aqueous solutions, *Journal of Physics: Conference Series*, 1173 (012007).
- [53] Đề tài cấp Nhà nước KC-04-20, Nghiên cứu áp dụng công nghệ vi sinh hiện đại để sản xuất chế phẩm giàu axit amin và enzyme từ nguồn thứ phẩm nông nghiệp và thủy hải sản ở quy mô bán công nghiệp, *Viện Cơ điện nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch*.
- [54] Vu thi Quyen, Thi- Huong Pham, Jitae Kim, Dang My Thanh, Phan Quang Thang, Quyet Van Le, Sung Hoon Jung, TaeYoung Kim, 2021, Biosorbent derived

from coffee husk for efficient removal of toxic heavy metals from wastewater, *Chemosphere*, 284 (131312).

[55] Nguyen Van Phuong, Nguyen Khanh Hoang, Le Van Luan, and L. V. Tan, 2021, Evaluation of NH_4^+ Adsorption Capacity in Water of Coffee Husk Derived Biochar at Different Pyrolysis Temperatures, *International Journal of Agronomy*, 1463814.

[56] Thu Thuy Luong Thi , Huu Son Ta and Khu Le Van, 2020, Activated carbons from coffee husk: Preparation, characterization, and reactive red 195 adsorption, *Journal of Chemical Research*, pp. 380–394.

[57] Lương Hữu Thành, Vũ Thuý Nga, Đàm Trọng Anh, Ngô Thị Hà, Nguyễn Ngọc Quỳnh, Hứa Thị Sơn, Nguyễn Kiều Băng Tâm, 2020, Nghiên cứu ảnh hưởng của than sinh học từ vỏ quả cà phê đến các yếu tố cấu thành năng suất cà phê và chất lượng đất, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 3 (112).

[58] Lương Hữu Thành, Trần Quốc Vương, Vũ Thuý Nga, Nguyễn Ngọc Quỳnh, Hứa Thị Sơn, 2019, Đánh giá hiệu quả của mô hình xử lý chất thải sau chế biến cà phê ướt quy mô hộ gia đình ở tỉnh Sơn La, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*.

[59] Hoa, N. P., et al., 2010, Isolation and selection of cellulolytic microorganisms for degradation of coffee husk waste, *Journal of Science and Technology*, 48(5), pp.120–126.

[60] Vũ Thị Minh Đức, 2001, Phân lập và tuyển chọn một số chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenluloza và lignin từ đất rừng, *Luận văn Thạc sĩ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Hà Nội*.

[61] TCVN 4884-2005 - Phương pháp định lượng vi sinh vật trên đĩa thạch, Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C.

[62] TCVN 6168: 2002, Phân bón VSV phân giải xenluloza – cellulose degrading microbial fertilizer.

[63] TCVN 5979 – 2007, Chất lượng đất – Xác định pH.

[64] Tiêu chuẩn ngành 10 TCN 306:1997 phân tích phân bón - phương pháp xác định photpho tổng số.

[65] Tiêu chuẩn ngành 10 TCN 307:1997 phân tích phân bón - phương pháp xác định photpho hữu hiệu.

Hà Nội, ngày 29 tháng 10 năm 2025

Số: 1109/QĐ-HVKHCN

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 364/QĐ-VHL ngày 01/3/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 23/2021/TT-BGDĐT ngày 30/8/2021 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1966/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 503/QĐ-HVKHCN ngày 15/5/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 1 năm 2023

Căn cứ Quyết định số 1002/QĐ-HVKHCN ngày 04/9/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 346 /QĐ-HVKHCN ngày 09 / 5 /2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn thời gian học tập lần 1 cho học viên Ngô Phương Anh;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Công nghệ môi trường và Năng lượng, Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Ngô Phương Anh với đề tài: “**Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật ứng dụng xử lý bã thải cà phê làm phân bón vi sinh từ Sơn La**”.

Ngành: Kỹ thuật môi trường; Mã số: 8 52 03 20

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức – Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng khoa Công nghệ môi trường và Năng lượng, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /s. *Phu*

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, HK.14.


GIÁM ĐỐC
GS.TS. Vũ Đình Lâm



DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 1109/QĐ-HVKHCN ngày 29 / 10 /2025
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận văn của học viên: Ngô Phương Anh

Tên đề tài: **“Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật ứng dụng
xử lý bã thải cá phê làm phân bón vi sinh từ Sơn La”.**

Ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8 52 03 20

Người hướng dẫn 1: TS. Dương Thị Thanh Xuyên, Cục Môi trường, Bộ Nông
nghiệp và Môi trường

Người hướng dẫn 2: PGS. TS. Đỗ Văn Mạnh, Viện Khoa học công nghệ Năng
lượng và Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	GS.TS. Trịnh Văn Tuyên	Công nghệ hóa học và môi trường	Học viện KH và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	TS. Lương Hữu Thành	Sinh học môi trường	Viện Môi trường Nông nghiệp, Bộ Nông nghiệp và Môi trường	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Bùi Thị Kim Anh	Môi trường đất và nước	Viện Khoa học Công nghệ Năng lượng và Môi trường, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 2
4.	TS. Đinh Thị Thu Hằng	Hóa sinh học	Học viện KH và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên- Thư ký
5.	PGS.TS. Hồ Tú Cường	Công nghệ sinh học môi trường	Học viện KH và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên

Hội đồng gồm 05 thành viên./.

Hà Nội, ngày 06 tháng 11 năm 2025

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 1109/QĐ-HVKHCN ngày 29/10/2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Ngô Phương Anh

Tên đề tài: **“Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật ứng dụng xử lý bã thải cá phê làm phân bón vi sinh từ Sơn La”.**

Ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8 52 03 20

Hôm nay, ngày 06/ 11 /2025 Hội đồng đã họp tại Phòng 1707 nhà A28, Học viện Khoa học và công nghệ vào lúc, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	GS.TS. Trịnh Văn Tuyên	Chủ tịch Hội đồng
2.	TS. Đinh Thị Thu Hằng	Thư ký Hội đồng
3.	TS. Lương Hữu Thành	Phản biện 1
4.	PGS.TS. Bùi Thị Kim Anh	Phản biện 2
5.	PGS.TS. Hồ Tú Cường	Ủy viên Hội đồng

Thành viên vắng mặt: ..0... (Phản biện hoặc ủy viên, đã có bản nhận xét đồng ý cho phép học viên được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ)

NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi

Ngô Phương Anh... định... danh... Steptomyces... nên... số? trong kết quả... định... lượng... nên... so sánh... sản... phân... tạo... thành... với... quy chuẩn... nên... đã... đặt... yêu cầu... tạo... phân... bản...

6. Phản biện 2, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi

PGS. Trung thông tin về các chứng và VSV hiện nay đang được sử dụng để phát hiện các căn phôi ở Việt Nam và trên thế giới. Đánh giá các chứng viết tắt. Thường an toàn bằng các mẫu, mũi được kiểm soát như thế nào. Các báo cáo, liệu lượng, nên so sánh với các chế phẩm hiện hành.

7. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

PGS. Hồ Lê Cường: Cần miêu tả thí nghiệm cần được tiến hành thế nào, thuật ngữ, viết lại phần định danh, cây phát sinh chủng loài, các phần tử giá thể, luận. Tại sao lại chọn các phôi ở Sơn La? Phải thảo luận các thành phần như vậy thế nào. TS. Đinh Thị Thu Hằng: cần bổ sung các thông tin công bố đã có để làm luận sâu hơn về các kết quả nghiên cứu theo hướng kỹ thuật môi trường.

8. Học viên trả lời

BS. Lê Thị Văn Uyên: Tại sao không tiếp tục sử dụng các chứng VSV đã có mà lại đi phân lập lại chúng.

9. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: PGS. TS. Hồ Lê Cường

Ủy viên: PGS. TS. Bùi Thị Kim Anh

Ủy viên: TS. Đinh Thị Thu Hằng

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05

Số phiếu thu về: 05

Tổng số điểm: 44,2

Điểm trung bình: 8,8

Điểm thưởng công trình công bố: 0

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: 8,8

- Kết luận của Hội đồng:

+ Luận văn ... Đạt (đạt/không đạt yêu cầu)

+ Luận văn không trùng lặp về nội dung và tên đề tài với các công bố trước đó

10. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

Luận văn đáp ứng yêu cầu của luận văn thạc sĩ khoa học Công nghệ và, chưa cung cấp theo các góp ý của Hội đồng trước khi nộp tài liệu cho Học viện KHCN

Buổi họp đã kết thúc vào 10 giờ 00 phút ngày 06/11/ 2025

Hà Nội, ngày 06 tháng 11 năm 2025

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

Đinh Thị Lưu Hằng

Trần Văn Tuấn

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO
KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Lương Hữu Thành

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Cơ quan công tác: Viện Môi trường Nông nghiệp, Bộ Nông nghiệp và Môi trường

Họ và tên học viên: Ngô Phương Anh

Tên đề tài: *Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật ứng dụng xử lý bã thải cà phê làm phân bón vi sinh từ Sơn La*

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8 52 03 20

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Sơn La là vùng trồng Arabica lớn của cả nước và hiện 100% cà phê của tỉnh được chế biến ướt, phát sinh lượng lớn chất thải (đặc biệt là vỏ, thịt quả) chiếm tới 40-42% khối lượng ẩm của quả trong mùa vụ; đây là áp lực môi trường cản trở giải khả thi, kịp thời. Các nghiên cứu và thực tiễn cho thấy phụ phẩm cà phê giàu dinh dưỡng, có thể dùng làm phân hữu cơ – vi sinh, góp phần giảm rác thải, cải thiện đất, thúc đẩy hệ vi sinh có lợi và kiểm soát sâu bệnh tự nhiên; vì vậy, việc lựa chọn đề tài xử lý bã/vỏ cà phê bằng vi sinh để hoàn nguyên dinh dưỡng cho đất là cần thiết và thời sự.

- Ý nghĩa khoa học: Đề tài phân lập – tuyển chọn các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải carbohydrat/protein (cellulase, amylase, protease...), làm rõ đặc điểm hình thái-sinh hóa, điều kiện sinh trưởng tối ưu và đánh giá an toàn sinh học; kết quả bổ sung nguồn giống vi sinh có giá trị và dữ liệu thực nghiệm về chuyển hóa phụ phẩm lignocellulose khó phân hủy. Đề tài luận văn đã bước đầu ứng dụng vi sinh để xử lý phụ phẩm cà phê, làm nền cho phát triển chế phẩm sinh học và các nghiên cứu mở rộng.

- Ý nghĩa thực tiễn: Cung cấp giải pháp tuần hoàn: biến bã/vỏ cà phê thành phân hữu cơ – vi sinh dùng ngay cho vùng nguyên liệu, giảm chi phí đầu vào cho nông hộ và doanh nghiệp; giảm ô nhiễm của chuỗi chế biến ướt; góp phần xây dựng mô hình kinh tế sinh học địa phương: sử dụng phân compost từ phụ phẩm cà phê còn giúp cải thiện tính chất đất và nâng cao sinh trưởng cây trồng, tăng giá trị chuỗi cà phê theo hướng bền vững.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Mặc dù có nhiều nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật xử lý phế thải sau chế biến cà phê được thực hiện nhưng hướng nghiên cứu của luận văn là phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật ứng dụng xử lý bã thải cà phê làm phân bón vi sinh từ Sơn La, các nghiên cứu được thực hiện tại Sơn La cho thấy đây là một nghiên cứu mới không trùng lặp với các nghiên cứu khác.

Các tham khảo được trích dẫn trung thực và có nguồn gốc rõ ràng.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Tên đề tài khớp chặt với mục đích, nội dung nghiên cứu và phù hợp đúng với chuyên ngành Kỹ thuật môi trường, mã số 8520320.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Phương pháp chặt chẽ, có định danh 16S và tối ưu sinh trưởng định lượng nên bảo đảm độ tin cậy tốt, tính hiện đại đáp ứng mức luận văn thạc sĩ theo định hướng vi sinh môi trường;

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Luận văn đã cung cấp trọn gói từ chọn chủng – định danh – tối ưu hóa – kiểm chứng phối trộn – dữ liệu nguyên liệu – thử nghiệm ứng dụng, đủ chiều sâu cho cấp đào tạo Thạc sĩ theo hướng kỹ thuật môi trường.

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

- + Định danh chưa thống nhất tên loài: Bảng 8 ghi *Streptomyces griseorubens*, nhưng phần mô tả ngay dưới lại dùng *S. griseosporus* → cần chọn 1 tên và thống nhất toàn văn.
- + Thiếu xử lý thống kê: Phần “phương pháp khác” chỉ nêu “Excel, Word” để tổng hợp, so sánh số liệu — không có mô tả kiểm định, số lặp (n), SD/SE, p-value.
- + Định lượng enzyme mới dừng ở vòng phân giải (D-d, mm), chưa quy đổi sang “đơn vị hoạt độ” theo chuẩn phương pháp định lượng.
- + Thử nghiệm ủ compost còn “thiếu chỉ tiêu đầu ra”: Bảng đánh giá sau ủ chỉ có ẩm độ, OM, N, P₂O₅, K₂O và mật độ VSV cellulose; chưa có chỉ tiêu vi sinh gây bệnh, hạt cỏ dại, kim loại nặng theo thông lệ đánh giá compost.
- + Đánh máy/lỗi chính tả & lặp từ: “proteinn” trong tiêu đề bảng; “và và”/thiếu khoảng trắng; “nguyên nguyên liệu”. Cần quét lại toàn văn.
- + Sai/nhầm số bảng: Tiêu đề là Bảng 4, nhưng phần thuyết minh lại viết “Kết quả bảng 3 cho thấy...”; bảng 5 lời bình dưới là bảng 4.1..
- + Đơn vị bảng 1 không thống nhất/sai cột: Hàng “K₂O (%)” nhưng đơn vị lại ghi “mg/kg”.

Nhìn chung luận văn có lỗi chuyên môn tốt, nhưng cần chuẩn hóa thống kê – trình bày – đơn vị và thống nhất thuật ngữ loài để tăng độ tin cậy và tính chuyên nghiệp của báo cáo.

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Với dữ liệu hiện có, nội dung của luận văn có thể được biên tập thành các 02 bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành trong nước, VD: 01 bài về Phân lập, tuyển chọn vi sinh tại Sơn La và 01 bài về Tối ưu các điều kiện sinh trưởng của vi sinh vật

8. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Luận văn đáp ứng yêu cầu học thuật của một luận văn Thạc sĩ; đề nghị cho bảo vệ, kèm điều kiện hoàn tất các chỉnh sửa biên tập nhỏ nói trên trước khi nộp:

- + Thống nhất tên loài *Streptomyces* (Bảng 8 ghi *griseorubens* nhưng diễn giải có chỗ dùng *griseosporus*).
- + Chuẩn hóa trình bày & số liệu: ký hiệu đơn vị, cách viết số mũ/ký hiệu CFU, dấu thập phân; rà lại lỗi chính tả–đánh máy; khớp tên/đánh số bảng.

Hà Nội, ngày 04 Tháng 11 năm 2025

Người phản biện



Lương Hữu Thành

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Bùi Thị Kim Anh

Học hàm, học vị: PGS.TS

Chuyên ngành: Khoa học và công nghệ môi trường

Cơ quan công tác: Viện Khoa học Công nghệ Năng lượng và Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Họ và tên học viên: Ngô Phương Anh

Tên đề tài: Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật ứng dụng xử lý bã thải cà phê làm phân bón vi sinh từ Sơn La

Chuyên ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8520320

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Chất thải từ chế biến cà phê ướt có tải lượng hữu cơ cao, gây mùi và ô nhiễm. Việt Nam là nước sản xuất cà phê lớn nên khối lượng chất thải rất đáng kể. Biện chất thải thành sản phẩm phân bón hữu cơ phù hợp mục tiêu nông nghiệp tuần hoàn. Nghiên cứu đề xuất giải pháp giảm phụ thuộc phân vô cơ, tạo phân hữu cơ ổn định giúp cải tạo đất, giữ ẩm, giảm rửa trôi dinh dưỡng. Đề tài đáp ứng nhu cầu thực tiễn của vùng cà phê nên có tính cấp thiết, có ý nghĩa về môi trường, kinh tế và xã hội rõ ràng.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đề tài và nội dung của luận văn không trùng lặp với các công trình của tác giả khác đã công bố, trích dẫn tài liệu tham khảo đảm bảo tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và chuyên ngành kỹ thuật môi trường

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Các phương pháp nghiên cứu sử dụng trong luận văn là những phương pháp cập nhật, hiện đại, kết quả thu được có độ chính xác cao.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Đã phân lập được nhiều chủng vi sinh vật từ phụ phẩm/chất thải chế biến cà phê ướt và tuyển chọn được 2 chủng mạnh có vòng phân giải cellulose, tinh bột, protein lớn; từ đó hình thành tổ hợp chủng phục vụ ủ compost.

Định danh các chủng bằng 16S rDNA cho các chủng đại diện; các chủng thuộc các chi *Bacillus/Paenibacillus*, *Streptomyces* (v.v.). Xác nhận an toàn sinh học ở mức nghiên cứu (không có dấu hiệu gây hại trong điều kiện thí nghiệm).

Xác định được khoảng nhiệt độ, pH, thời gian, tỷ lệ giống phù hợp để nhân sinh khối từng chủng và cho tổ hợp chủng. Đề xuất dạng chế phẩm/quy trình sử dụng (liều lượng, cách phối trộn vào đồng ủ).

Triển khai ủ thử nghiệm có đối tượng bổ sung chế phẩm, theo dõi nhiệt độ, ẩm, mùi, thể tích/khối lượng và một số chỉ tiêu chất lượng sản phẩm sau ủ. Chất lượng compost sau ủ tốt hơn: vật liệu tơi xốp, chỉ số dinh dưỡng/độ chín cải thiện (C/N tiến về ngưỡng sử dụng; các chỉ tiêu an toàn cơ bản đạt).

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

- Phần tổng quan tài liệu đi sâu nghiên cứu tình hình sản xuất cafe, chất thải trong sản xuất cafe và các nghiên cứu xử lý chất thải. Đầu bài là phân lập tuyển chọn các chủng vi sinh vật (VSV) do đó nên trình bày thêm mục về hệ VSV và enzyme có thể phân giải các thành phần đặc thù của bã cà phê (hay một loại tương tự rơm rạ, mùn cưa, vỏ trấu,...) trên thế giới và trong nước. Kết phần tổng quan bằng khoảng trống nghiên cứu, ví dụ như chưa có nghiên cứu trong nước đánh giá VSV phân giải xơ trên bã cà phê ướt theo chuẩn chất lượng compost.
- Thêm phần biện luận về các kết quả thu được
- Chỉnh sửa các lỗi chính tả và Format lại báo cáo
- Danh mục các chữ viết tắt trình bày lại
- Yêu cầu mặt bằng, kiểm soát mùi/ruồi, phương án che mưa, thu nước rỉ như nào?
- Nên có kết luận về tỷ lệ phối trộn giữa nền mang và mật độ CFU, hạn dùng chế phẩm tạo ra, cách bảo quản và liều hướng dẫn sử dụng
- Phân bón thu được mới mô tả tính chất chung; cần đối chiếu tỷ lệ C/N, mầm bệnh (*E. coli*, *Salmonella*), kim loại nặng so với quy chuẩn Việt Nam hiện hành về phân bón hữu cơ
- Đối chứng bổ sung chế phẩm vi sinh thương mại (EM,...) sẽ cho đánh giá rõ hơn

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

- Nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học

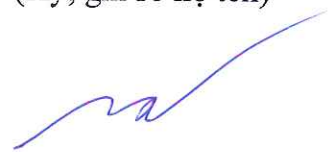
8 . Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

- Luận văn đáp ứng đầy đủ yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ
- Người nhận xét đồng ý cho học viên bảo vệ luận văn tại hội đồng đánh giá và nhận học vị Thạc sĩ

Hà nội, ngày 4 tháng 11 năm 2025

Người phản biện

(Ký, ghi rõ họ tên)



Bùi Thị Kim Anh

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: Ngô Phương Anh Lớp: Kỹ thuật môi trường - 2023A

Tên đề tài luận văn: Nghiên cứu phân lập và tuyển chọn chủng vi sinh vật ứng dụng xử lý bã thải cà phê làm phân bón vi sinh từ Sơn La

Ngành: Kỹ thuật môi trường

Mã số: 8520320

Người hướng dẫn khoa học: 1. TS. Dương Thị Thanh Xuyên
2. PGS. TS. Đỗ Văn Mạnh

Ngày bảo vệ luận văn: 06/11/2025

Căn cứ biên bản họp hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Sửa lại danh mục từ viết tắt (Tiếng Anh, Tiếng Việt), danh mục hình, bảng theo đúng quy định.	Đã chỉnh sửa trực tiếp trong luận văn.
2	Tổng quan: Bổ sung thêm tổng quan về VSV có khả năng phân hủy các hợp chất trong bã thải cà phê. Bổ sung thêm tiểu kết của chương tổng quan.	Đã bổ sung thêm tổng quan về VSV có khả năng phân hủy các hợp chất hữu cơ (Mục 1.3) Đã bổ sung tiểu kết của phần tổng quan ở phần cuối của chương Tổng quan.
3	Bổ sung yêu cầu về mặt bằng thực hiện khi xử lý bã thải cà phê.	Đã bổ sung thêm phần yêu cầu về mặt bằng xử lý bã thải cà phê quy mô phòng thí nghiệm (Mục 2.4)
4	Kết quả và thảo luận: định danh đến loài là không cần thiết	Đã sửa lại trong phần định danh, chỉ định danh đến chi (Mục 3.6).
5	So sánh sản phẩm phân thu	Đã bổ sung phần so sánh sản phẩm

	được với TCVN.	phân vi sinh thu được sau xử lý với tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7185:2002 - Phân hữu cơ vi sinh vật: đáp ứng tốt tiêu chuẩn (Mục 3.8.3)
6	Kết luận: Sửa ngắn gọn Kiến nghị: Làm rõ tiếp tục nghiên cứu gì	Đã viết lại phần kết luận và kiến nghị ngắn gọn và rõ ràng hơn.
6	Lỗi chính tả, trình bày	Đã chỉnh sửa trực tiếp trong luận văn.
7	Danh mục tài liệu tham khảo	Đã bổ sung một số tài liệu tham khảo mới và chỉnh sửa cách trích dẫn theo đúng quy định.

Hà Nội, ngày 10 tháng 11 năm 2025

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

HỌC VIÊN






GS. TS. Trịnh Văn Tuyên

TS. Dương Thị Thanh Xuyên

PGS. TS. Đỗ Văn Mạnh

Ngô Phương Anh

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO 

KT. GIÁM ĐỐC

PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung