

ỨNG DỤNG VI KHUẨN *BACILLUS LICHENIFORMIS* TT01 XỬ LÝ PHỤ PHẨM CHĂN NUÔI CHIM CÚT

APPLICATION OF *BACILLUS LICHENIFORMIS* TT01 BACTERIA FOR PROCESSING QUAIL BREEDING BY-PRODUCTS

Đoàn Thị Vân^{1*}, Võ Châu Tuấn¹, Nguyễn Công Thùy Trâm¹, Nguyễn Thị Thu Bình²

¹Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

²Học viên cao học ngành Sinh học thực nghiệm, khóa 40, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

*Tác giả liên hệ: dtvan@ued.udn.vn

(Nhận bài: 06/7/2021; Chấp nhận đăng: 29/9/2021)

Tóm tắt - Khi ngành chăn nuôi chim cút phát triển, thì nhu cầu sử dụng các chế phẩm vi sinh để xử lý phụ phẩm ngày càng cao. Trong nghiên cứu này, tiến hành thử nghiệm phun 3 loại chế phẩm vi sinh (Biopro (có chứa vi khuẩn *Bacillus licheniformis* TT01), EM1, Balasa 01) tương ứng với 3 lô thí nghiệm (TN1, TN2, TN3) để xử lý trực tiếp phụ phẩm chăn nuôi chim cút trong chuồng trại. Kết quả đánh giá trong vòng 2 tháng thử nghiệm cho thấy: Khi sử dụng chế phẩm Biopro phân chim cút tối xốp hơn so với lô đối chứng, cũng như so với lô sử dụng EM1 và Balasa 01; Mật độ vi sinh vật gây hại trong phân chim cút giảm rõ rệt khi phun chế phẩm vi sinh Biopro; Hàm lượng khí H₂S giảm 90,24%; Hàm lượng khí NH₃ ở các lô TN1, TN2, TN3 giảm 80,37%; 69,16%; 64,95% so với lô đối chứng.

Từ khóa - Chế phẩm vi sinh; *Bacillus licheniformis* TT01; phụ phẩm chăn nuôi chim cút; *Salmonella* sp., *E. coli*

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, ngành chăn nuôi chim cút đang rất phát triển, mang lại lợi ích kinh tế cao cho người dân. Tuy nhiên, nguồn thải từ chim cút rất lớn, gây mùi hôi chuồng trại, làm giảm sức ăn của chim, ảnh hưởng xấu đến sinh trưởng và năng suất đẻ trứng. Nếu không có biện pháp xử lý hiệu quả, thì đây sẽ là nguồn tiềm ẩn gây ra những dịch bệnh, ảnh hưởng đến sức khỏe của chim cút, cũng như gây ô nhiễm môi trường [1].

Thông thường, sau 2 ngày, người dân phải xúc phân tươi ra khỏi chuồng, phơi từ 2 đến 3 nắng, sau đó bán lại cho các hộ dân trồng hoa màu. Việc phơi phân tươi không những gây thất thoát lớn về chất dinh dưỡng trong phân, mà còn ảnh hưởng xấu đến môi trường sống. Hơn nữa, trong phân còn rất nhiều hợp chất hữu cơ phân hủy dở dang từ đường ruột của động vật, khi bón vào đất, trong môi trường kỵ khí, các hợp chất này tiếp tục phân hủy bởi các vi sinh vật kỵ khí, sinh ra rất nhiều axit hữu cơ và khí độc. Điều này góp phần làm chua đất và gây ngộ độc hữu cơ cho cây trồng [2]. Ngoài ra, trong phân tươi có chứa nhiều vi sinh vật có hại, nên nếu không xử lý trước khi đưa vào sử dụng sẽ gây bệnh cho cây trồng. Mặt khác, vào mùa mưa, người dân không thể xúc phân ra phơi. Biện pháp sử dụng chế phẩm sinh học như Balasa 01, EM1... làm đệm lót sinh học, hoặc dùng than sinh học, rơm của lúa mỳ để ủ phân cũng đã được áp dụng [3, 4, 5, 6]. Tuy nhiên, các biện pháp

Abstract - As quail farming is developing, the demand for using probiotics to handle by-products is also increasing. This study carried out an experiment to spray 3 types of probiotics (Biopro (containing *Bacillus licheniformis* TT01 bacteria), EM1, Balasa 01) corresponding respectively to 3 experimental lots (experiment 1, experiment 2, experiment 3) for the direct handling of quail livestock by-products in barns. Evaluation results after 2 months of the trial showed: When using BioPro, the quail's guano is more unconsolidated than the control experiment, as well as than the experiments using EM1 and Balasa 01; The density of harmful microorganisms in the quail's guano reduced significantly when Biopro was sprayed: H₂S gas content decreased by 90.24%. NH₃ gas content at experiment 1, experiment 2, experiment 3 decreased by 80.37%; 69.16%; 64.95% in comparison with the control experiment.

Key words - Microbial products; *Bacillus licheniformis* TT01; quail breeding by-products; *Salmonella* sp., *E. coli*.

này chưa hiệu quả. Phân chim cút được thu gom, đóng vào các bao, thải ra các bờ ruộng, làm ảnh hưởng rất lớn đến môi trường sống.

Từ phân chim cút, nhóm tác giả đã phân lập được vi khuẩn *Bacillus licheniformis* TT01. Kết quả các nghiên cứu trước của nhóm tác giả cho thấy, *Bacillus licheniformis* TT01 có các đặc tính sinh học quý và phân chim cút là nguồn thức ăn thích hợp với chúng vi sinh vật này [7, 8]. Các nghiên cứu trước đó cũng cho thấy *Bacillus licheniformis* được ứng dụng rộng rãi trong đời sống, như trong sản xuất chế phẩm xử lý nước hồ nuôi tôm, sản xuất men vi sinh hỗ trợ đường tiêu hóa, ứng dụng làm probiotic cho vật nuôi [9, 10]. *Bacillus licheniformis* TT01 có tiềm năng trong ứng dụng xử lý phụ phẩm trong trại chăn nuôi chim cút.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng 03 loại chế phẩm như sau:

Chế phẩm Biopro dạng lỏng, được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Công nghệ Vi sinh - Hóa sinh thuộc Khoa Sinh - Môi Trường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng. Chế phẩm Biopro có mật độ vi khuẩn *Bacillus licheniformis* TT01 lớn hơn 10¹²CFU/ml.

Chế phẩm EM1 dạng lỏng (EMIC). Thành phần bao gồm: nấm men (*Saccharomyces* spp.), vi khuẩn

¹ The University of Danang (UD) - University of Science and Education (Van Doan Thi, Tuan Vo Chau, Thuy Tram Nguyen Cong)

² Graduate students in experimental biology, course 40, UD - University of Science and Education (Thu Binh Nguyen Thi)

(*Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp.), vi khuẩn quang hợp tía (*Rhodobacter*). Chế phẩm Balasa 01 dạng bột (Minh Tuấn). Trong 1g chế phẩm chứa: *Bacillus subtilis*: $5,6.10^6$ CFU; *Saccharomyces cerevisiae*: $3,7.10^6$ CFU; *Streptococcus lactis*: $4,9.10^6$ CFU; *Thiobacillus* spp. $1,6.10^6$ CFU. Chế phẩm EM1 và Balasa 01 mua trên thị trường.



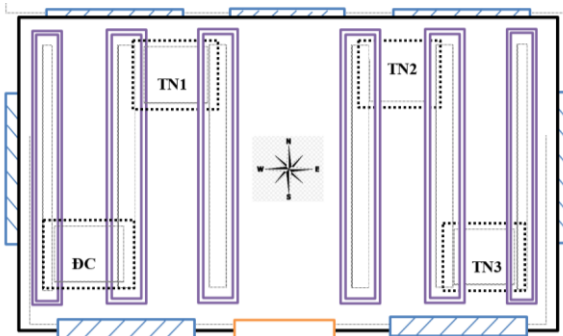
Hình 1. Chế phẩm vi sinh: a-Biopro; b-Balasa01; c-EM1

Phân chim cút tại chuồng chăn nuôi chim cút của nhà ông Nguyễn Văn Rạng, tại xã Điện Bàn, tỉnh Quảng Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu





2.2.1. Phương pháp bố trí các lô thử nghiệm

Các lô phun thử nghiệm 03 loại chế phẩm vi sinh vật (Biopro, EM1, Balasa 01) được bố trí theo sơ đồ ở Hình 2.



Hình 2. Sơ đồ bố trí các lô thử nghiệm ứng dụng chế phẩm vi sinh trong trại chăn nuôi chim cút

Chú thích:

-  Cửa ra vào
-  Cửa sổ
-  Các dờ nuôi chim cút, 1000 con/dờ
-  Các lô thử nghiệm

ĐC (đối chứng): Chuồng nuôi chim cút, không phun chế phẩm vi sinh.

TN1 (thử nghiệm 1): Chuồng nuôi chim cút, phun chế phẩm Biopro.

TN2 (thử nghiệm 2): Chuồng nuôi chim cút, phun chế phẩm EM1.

TN3 (thử nghiệm 3): Chuồng nuôi chim cút, sử dụng chế phẩm vi sinh Balasa 01.

2.2.2. Phương pháp phun chế phẩm vi sinh xử lý phân chim cút

Dựa vào hướng dẫn sử dụng của các loại chế phẩm thương mại trên thị trường, các loại chế phẩm vi sinh vật được chuẩn bị như sau:

✓ Chế phẩm Biopro: Tiến hành nuôi cấy vi khuẩn *Bacillus licheniformis* TT01 trong môi trường Luria

Bertani Broth (LB) lỏng, ở nhiệt độ từ 35-40°C, ở chế độ không lắc. Sau 48 giờ nuôi cấy thu được chế phẩm Biopro dạng lỏng.

✓ Phun trực tiếp chế phẩm EM1 dạng lỏng.

✓ Chế phẩm Balasa 01 dạng bột trộn đều với 1kg bột cám gạo, sau đó rắc đều lên các dờ thử nghiệm.

Dựa vào hướng dẫn sử dụng của chế phẩm Balasa 01 làm đệm lót chuồng, các bước ứng dụng chế phẩm vi sinh vật để xử lý phân chim cút trực tiếp trong trại chăn nuôi được tiến hành như sau:

B1 (Ngày đầu tiên): Tiến hành dọn sạch nền các lồng (các dờ, mỗi dờ nuôi 1000 con) nuôi chim. Trải lớp tro dày 05cm, lớp trấu dày 10cm.

B2 (Ngày thứ 2): Tiến hành phun hoặc rắc đều chế phẩm với liều lượng 1-1,5 lít (hoặc kg)/1000 con, trải tiếp 01 lớp trấu dày 0,2cm. Chế phẩm Biopro và EM1 được cho vào bình phun (bình chuyên dùng phun chế phẩm vi sinh), tiến hành phun đều và trực tiếp vào phân chim cút. Chế phẩm Balasa N01 (dạng bột) được rắc đều lên phân chim cút, với liều lượng 1-1,5kg/1000 con.

B3 (Ngày thứ 3): Sử dụng cào xới đều. Trải một lớp trấu dày khoảng 0,2 cm.

B4 (Ngày thứ 4): Sử dụng cào xới đều. Sau đó, phun hoặc rắc đều các loại chế phẩm vào từng lô thử nghiệm (1-1,5 lít (hoặc kg)/1000 con). Trải lớp trấu dày 0,2cm.

B5 (Ngày thứ 6-8): Tiến hành lặp lại bước 4.

B6: Quan sát và nhận xét đồng ù trong vòng 02 tháng.

Dựa vào tính cảm quan, hàm lượng các vi sinh vật gây hại (*E.coli*, *Salmonella* sp.), nồng độ các loại khí H₂S, NH₃ trong trại chăn nuôi chim cút, để đánh giá, so sánh chất lượng xử lý mùi hôi trực tiếp trên chuồng trại ở 03 lô thử nghiệm và lô đối chứng. Mỗi lô lấy 05 đợt mẫu, mỗi đợt lấy mẫu cách nhau 15 ngày.

2.2.3. Phương pháp xác định *Salmonella* sp. trong mẫu phân chim cút

Phương pháp lấy mẫu và xác định *Salmonella* sp. trong mẫu phân chim cút được thực hiện theo TCVN 4829: 2005 (ISO 6579: 2002).

2.2.4. Phương pháp xác định *E. coli* trong mẫu phân chim cút

Phương pháp lấy mẫu và xác định *E.coli* trong mẫu phân chim cút được thực hiện theo TCVN 6187-1: 2009.

2.2.5. Phương pháp thu mẫu khí và phân tích các khí NH₃ và H₂S

- Phương pháp lấy mẫu không khí trong trại chăn nuôi chim cút là phương pháp lấy mẫu khô. Trong phương pháp này, khí được lấy vào trong bình lấy mẫu nhờ hệ thống máy hút GilAir 5. Đặt máy GilAir 5 chính giữa các lô thử nghiệm.

- Phương pháp phân tích khí NH₃: Các bước phân tích nồng độ khí NH₃ theo TCVN5293-1995.

- Phương pháp phân tích H₂S: Khí H₂S là loại khí không màu, dễ cháy và có mùi rất đặc biệt giống mùi trứng ung. Để phân tích khí H₂S cần sử dụng phương pháp so màu. Phương pháp dựa trên cơ sở tác dụng của hydrogen sulfide với thuốc thử ferric chloride và

dimethyl-p-phenylenediamine, tạo phức màu xanh, hấp thụ cực đại ở bước sóng 665 nm.

2.2.6. Phương pháp phân tích thống kê

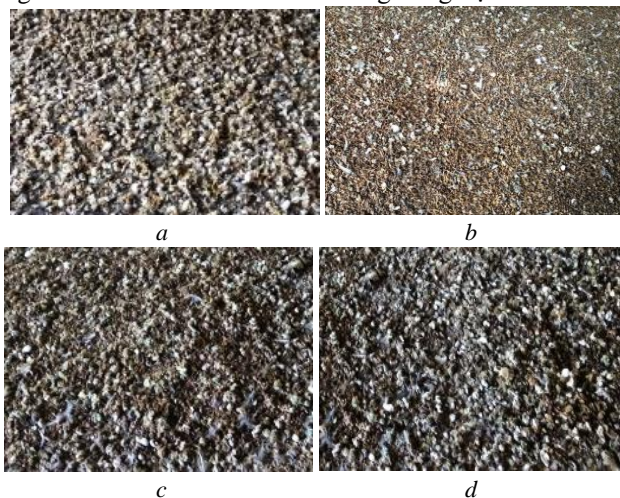
Mỗi lần lấy mẫu tại các lô thử nghiệm được lặp lại 03 lần. Tất cả các số liệu thu thập được sau thí nghiệm được tính toán bằng phần mềm Excel.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Đánh giá cảm quan hiệu quả ứng dụng của các chế phẩm vi sinh trong xử lý phân chim cút

Đánh giá hiệu quả ứng dụng của chế phẩm Biopro trong xử lý phân chim cút so với chế phẩm EM1, Balasa N01 đã thương mại trên thị trường thông qua các thông số: Tính cảm quan, mật độ vi sinh vật gây hại trong phân chim cút: *Salmonella* sp., *E. coli*, nồng độ khí NH₃, nồng độ khí H₂S. Các mẫu được lấy từ ngày thứ 3 trong quá trình ứng dụng chế phẩm vi sinh xử lý phân chim cút và kéo dài 02 tháng, mỗi lần lấy mẫu cách nhau 15 ngày (ngày bắt đầu lấy mẫu 01/03/2020).

Bằng phương pháp cảm quan (Hình 3), cho thấy sau từ 5 đến 8 ngày phun chế phẩm và kéo dài tiếp đến 2 tháng, phân chim cút tại các lô 2, 3, 4 ít vón cục, khô hơn lô 1- đối chứng. Đồng thời, phân ở các lô 2, 3, 4 giảm mùi hôi hơn, so với lô đối chứng. Điều này cho thấy, các chủng vi sinh vật hữu hiệu trong các chế phẩm đã sinh trưởng, phát triển và phân giải các chất hữu cơ có trong phân thành các chất có cấu trúc đơn giản hơn. Đặc biệt, phân chim cút ở lô số 2 hoàn toàn không vón cục, tơi xốp, mịn như cám, mùi hôi được cải thiện rõ rệt. Chứng tỏ rằng, chế phẩm Biopro có chứa chủng vi khuẩn *Bacillus licheniformis* TT01 có hiệu quả xử lý phân chim cút nhất, so với các lô còn lại. Chủng *Bacillus licheniformis* TT01 được phân lập từ phân chim cút, nên khả năng sinh trưởng và phát triển của chúng phù hợp với các điều kiện dinh dưỡng, thổ nhưỡng, khí hậu tại trong chuồng trại chăn nuôi chim cút. Điều này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đó, đã chứng tỏ rằng chủng *Bacillus licheniformis* TT01 và chế phẩm Biopro có khả năng sinh các enzyme ngoại bào cao, như amylase, protease, cellulase, phytase [5, 10, 11, 12, 13]. Vì vậy, chế phẩm Biopro có triển vọng ứng dụng để xử lý trực tiếp nguồn thải chăn nuôi chim cút trong trang trại.



Hình 3. Phân chim cút sau 1,5 tháng thử nghiệm ứng dụng các chế phẩm vi sinh: a-lô ĐC; b-lô TN1; c-lô TN2; d-lô TN3

3.2. Xác định mật độ *Salmonella* sp., *E. coli* trong phân chim cút

Các chủng vi sinh vật *Salmonella* sp., *E. coli* thường xuất hiện trong chất thải chăn nuôi. Chúng không những gây bệnh cho chim cút, mà đây còn là nguyên nhân gây mùi hôi trong trại chăn nuôi [14]. Các chế phẩm vi sinh vật có chứa các chủng giống đặc hiệu, có khả năng tiêu diệt hoặc ức chế sự sinh trưởng và phát triển của các chủng vi sinh vật gây hại [3]. Vì vậy, xác định mật độ *Salmonella* sp., *E. coli* trong phân chim cút khi ứng dụng các chế phẩm vi sinh là cần thiết.

Sau khi phun các loại chế phẩm vi sinh, tiến hành lấy ngẫu nhiên mẫu phân chim cút trong các lô (mỗi lần lấy mẫu cách nhau 15 ngày, kéo dài trong 2 tháng) để xác định mật độ vi khuẩn *Salmonella* sp., *E. coli*. Kết quả thu được thể hiện ở Bảng 1 và 2.

Bảng 1. Mật độ *Salmonella* sp. trong chất thải chăn nuôi chim cút

Thời gian lấy mẫu (ngày)	Mật độ <i>Salmonella</i> sp. (Log (CFU/G))			
	Đối chứng	TN1	TN2	TN3
1	0,84 ^a	0,87 ^b	0,86 ^c	0,87 ^a
15	6,73 ^b	2,11 ^d	4,99 ^d	4,51 ^d
30	7,38 ^c	2,58 ^a	5,53 ^a	6,54
45	8,56 ^c	2,67 ^d	5,9 ^b	6,81 ^d
60	10,98 ^a	3,2 ^d	6,97 ^d	7,94 ^d

Bảng 2. Mật độ *E. coli* trong chất thải chăn nuôi chim cút

Thời gian lấy mẫu (ngày)	Mật độ <i>E. coli</i> (Log (CFU/G))			
	Đối chứng	TN1	TN2	TN3
1	0,95 ^d	0,94 ^a	0,97 ^a	0,95 ^c
15	4,74 ^a	1,28 ^d	1,69 ^a	2,93 ^e
30	6,68 ^a	2,88 ^c	3,7 ^a	4,79 ^c
45	6,83 ^a	2,54 ^d	4,51 ^c	5,82 ^c
60	8,57 ^c	2,5 ^d	4,74 ^e	5,93

Chú thích: Các giá trị trung bình có kí tự (a, b, c, d, e) có sự khác biệt về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả ở Bảng 1, 2 cho thấy, khi sử dụng các chế phẩm vi sinh thì mật độ vi khuẩn *Salmonella* sp. và *E. coli* trong nguồn thải chăn nuôi chim cút đã giảm rất nhiều so với lô không phun chế phẩm (lô đối chứng). Trong vòng 60 ngày thử nghiệm, mật độ vi sinh vật gây hại trong lô TN1, TN2, TN3 luôn duy trì ở mức thấp hơn so với lô đối chứng và theo thứ tự giảm dần: ĐC > TN3 > TN2 > TN1. Điều này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đó [3, 7].

Sau 60 ngày (lấy mẫu ngày 30/04/2020) phun các loại chế phẩm vi sinh vật cho thấy, số lượng *Salmonella* sp. ở các lô TN1; TN2; TN3 giảm theo thứ tự lần lượt là 70,86%; 36,52%; 27,69%, so với lô ĐC. Như vậy, số lượng *Salmonella* sp. trong lô TN1 giảm nhiều nhất so với lô ĐC. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả xác định khả năng đối kháng của chủng vi khuẩn *Bacillus licheniformis* TT01 với *Salmonella typhi* [7].

Từ kết quả Bảng 1 cho thấy, các chế phẩm vi sinh EM1, Balasa 01 và chế phẩm Biopro đều có hiệu quả trong việc ức chế sinh trưởng và tiêu diệt *Salmonella* sp. Sự giảm mật độ *Salmonella* sp. trong chất thải chăn nuôi có ý nghĩa rất lớn trong phòng tránh dịch bệnh. Ngoài ra, phần lớn các

chúng *Salmonella* sp. có khả năng sinh khí H₂S, do vậy việc giảm mật độ *Salmonella* sp. còn góp phần làm giảm khí H₂S, từ đó làm giảm mùi hôi trong khu vực chăn nuôi chim cút [3, 14].

Vi khuẩn gây bệnh *E. coli* là các yếu tố gây các bệnh tiêu chảy ở vật nuôi và con người [14]. Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, sau 60 ngày thử nghiệm, các chỉ số *E. coli* trong phân chim cút rất lớn, lên tới 3,7x10⁸CFU/g ở lô đối chứng chim cút. Theo, Nguyễn Nhật Xuân Dung và các cs., mật độ vi khuẩn *E. coli* có trong phân gà đạt mức bình thường, khi trong 1 gam phân chứa khoảng 10⁴-10⁷ CFU [15]. Như vậy, khi sử dụng chế phẩm Biopro, EM1, Balasa N01 số lượng *E. coli* đều giảm, và đều đạt tiêu chuẩn (nhỏ hơn 10⁶ CFU/g). Số lượng *E. coli* giảm mạnh nhất ở lô TN1: Sau 2 tháng sử dụng chế phẩm vi sinh chứa *Bacillus licheniformis* TT01, số lượng *E. coli* giảm 70,83% so với lô đối chứng. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đó của Thi Van Doan và các cộng sự, cho rằng, *Bacillus licheniformis* TT01 được phân lập từ phân chim cút, có khả năng đối kháng cao với *E. coli* [7].

Như vậy, khi sử dụng các chế phẩm vi sinh nói chung, cũng như chế phẩm vi sinh chứa *Bacillus licheniformis* TT01 nói riêng, số lượng *Salmonella* sp. và *E.coli* có trong nguồn thải chim cút đều giảm rõ rệt so với lô đối chứng. Việc hạn chế sự phát triển của các vi sinh vật gây bệnh này sẽ giảm dịch bệnh và giảm sự lạm dụng chất kháng sinh trong chăn nuôi chim cút. Mặt khác, đây cũng là cơ sở khoa học quan trọng để chứng tỏ sự giảm số lượng khí thải nguy hại từ phụ phẩm chăn nuôi chim cút.

3.3. Đánh giá hiệu quả xử lý mùi của chế phẩm vi sinh

Đánh giá hiệu quả xử lý các thông số gây mùi hôi của chuồng trại chăn nuôi chim cút của chế phẩm Biopro, EM1, Balasa N01 thông qua phân tích nồng độ các khí H₂S, NH₃. Đặt máy GilAir 5 chính giữa các lô thử nghiệm để thu mẫu khí. Tiến hành phân tích mẫu khí và thu được kết quả thể hiện ở Bảng 3, 4.

Bảng 3. Nồng độ khí NH₃ trong các lô chăn nuôi chim cút

Thời gian lấy mẫu (ngày)	Nồng độ khí NH ₃ (ppm)			
	Đối chứng	TN1	TN2	TN3
1	1,4 ^c	1,4 ^e	1,4	1,4 ^a
15	8,2 ^c	2,1 ^a	2,8 ^c	3,2 ^a
30	13,1 ^e	3,2 ^c	4,2 ^a	4,4
45	17,8 ^e	3,9 ^f	5,4 ^a	6,3
60	21,4 ^a	4,2 ^e	6,6	7,5

Chú thích: Các giá trị trung bình có kí tự (a, b, c, d, e, f) có sự khác biệt về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, nồng độ khí NH₃ trong các lô TN1, TN 2, TN3 luôn thấp hơn ở lô đối chứng. Nồng độ khí NH₃ ở các lô thí nghiệm có xu hướng tăng theo thời gian. Nồng độ khí NH₃ sau 1 tháng, ở lô đối chứng, TN1, TN2, TN3 lần lượt là: 13,1; 3,2; 4,2; 4,4 ppm. Theo QCVN 01-15:2010/BNNPTNT, nồng độ khí NH₃ cho phép tối đa là 10ppm. Như vậy, nồng độ NH₃ trong lô đối chứng đã vượt mức cho phép, còn các lô TN1, TN2, TN3 đều đạt tiêu chuẩn. Sau 2 tháng, nồng độ khí NH₃ ở các lô thí nghiệm vẫn đạt tiêu chuẩn.

Sau 2 tháng thử nghiệm, nồng độ khí NH₃ ở các lô TN1, TN2, TN3 giảm 80,37%; 69,16%; 64,95% so với lô đối chứng. Khi sử dụng chế phẩm Biopro có chứa chủng *Bacillus licheniformis* TT01 để phun vào chuồng chăn nuôi chim cút, nồng độ NH₃ giảm nhiều nhất.

Bảng 4. Nồng độ khí H₂S trong các lô chăn nuôi chim cút

Thời gian lấy mẫu (ngày)	Nồng độ khí H ₂ S (ppm)			
	Đối chứng	TN1	TN2	TN3
1	0,09 ^a	0,09 ^s	0,09 ^c	0,09 ^b
15	2,1 ^f	0,1 ^f	0,4 ^c	0,8 ^b
30	4,9 ^a	0,4 ^c	2,3 ^e	2,6 ^a
45	8,7 ^a	1,1 ^g	3,7 ^a	5,5 ^a
60	12,3 ^a	1,2 ^e	4,2 ^a	7,5 ^a

Chú thích: Các giá trị trung bình có kí tự (a, b, c, d, e, f, g) có sự khác biệt về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Từ Bảng 4 cho thấy, sau khi phun chế phẩm 01 ngày, nồng độ khí H₂S đều ở mức 0,09 ppm. Sau 1 tháng, nếu không sử dụng chế phẩm vi sinh, nồng độ khí H₂S đều đạt ngưỡng 4,9ppm. Đối chiếu theo tiêu chuẩn QCVN 01 - 15: 2010/BNNPTNT, thì sau 01 tháng, chất lượng không khí sẽ không đảm bảo cho chăn nuôi tiếp theo. Ở TN3, sau hơn 01 tháng, chất lượng không khí cũng không đáp ứng theo QCVN 01 - 15: 2010/BNNPTNT. Ở TN1 và TN2, nồng độ khí H₂S vẫn đạt tiêu chuẩn sau 02 tháng. Như vậy, có thể thấy hiệu quả sử dụng của chế phẩm Biopro và EM1 tốt hơn chế phẩm Balasa 01. Tuy nhiên, ở TN1, nồng độ khí H₂S giảm 90,24% so với lô đối chứng. Điều này cho thấy, sử dụng chế phẩm chứa chủng *Bacillus licheniformis* TT01 để xử lý nguồn thải từ chim cút trong trại chăn nuôi có hiệu quả hơn so với các lô sử dụng EM1 và Balasa 01.

Theo Kocaman và các cộng sự, ammonia và hydrosulfide là các khí có ảnh hưởng đến sức khỏe và năng suất đẻ trứng của gia cầm [16]. Năm 2016, Nguyễn Nhật Xuân Dung và các cộng sự cho rằng, H₂S, NH₃ là nguyên nhân gây ra mùi hôi thối, mùi khai xung quanh khu vực chăn nuôi chim cút; Các chất khí này tích tụ lại trong chuồng có thể làm ô nhiễm và gây độc cho gia cầm, công nhân và môi trường xung quanh nếu như hệ thống thông thoáng không đủ tốt; Chất lượng không khí kém có thể làm giảm sức đề kháng của gia cầm, làm gia tăng các mầm bệnh trong chăn nuôi [15]. Sau 02 tháng thử nghiệm phun chế phẩm Biopro, nồng độ khí H₂S, NH₃ đều thấp hơn các lô phun chế phẩm EM1 (TN2), Balasa01 (TN3) và đều đạt ngưỡng cho phép theo QCVN 01 - 15: 2010/BNNPTNT [14].

Theo nhiều nghiên cứu trước đó đã khẳng định, *Bacillus licheniformis* có khả năng đối kháng với các chủng vi sinh vật gây hại có trong phân gia cầm (*Salmonella* sp. và *E. coli*) và sinh enzyme ngoại bào cao, bao gồm amylase, protease, cellulase, phytase. Đây là cơ sở khoa học chứng tỏ rằng, khi ứng dụng chủng vi sinh vật này để xử lý phụ phẩm chăn nuôi gia cầm, thì số lượng vi sinh vật gây hại trong phân và hàm lượng các loại khí thải giảm so với các lô không sử dụng chế phẩm vi sinh. Đặc biệt, *Bacillus licheniformis* TT01 có khả năng sinh enzyme phytase ngoại bào cao. Enzyme phytase không những giúp phân giải acid phytic, dẫn tới giảm sự ô nhiễm phosphophytate, mà còn giúp cho sự phân giải các hợp chất

chứa K^+ , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} và một số dạng phức hợp của protein, góp phần làm giảm mùi hôi từ phân chim cút, giảm ô nhiễm môi trường [7, 9, 11, 12, 13, 17].

Khi so sánh với chế phẩm EM1 và Balasa 01, qua các chỉ tiêu đánh giá cho thấy, ứng dụng chế phẩm Biopro chứa chủng *Bacillus licheniformis* TT01 có hiệu quả xử lý chất thải chăn nuôi chim cút trực tiếp trong chuồng trại tốt nhất. Trong bối cảnh định hướng phát triển nền nông nghiệp theo hướng bền vững, thì chế phẩm vi sinh này có thể là tiềm năng ứng dụng xử lý chất thải chim cút trực tiếp trong trại chăn nuôi, góp phần giảm nguy cơ ô nhiễm môi trường, giảm nhân công trong lao động, đồng thời giúp giảm dịch bệnh trong chăn nuôi, từ đó hạn chế sử dụng chất kháng sinh, góp phần tạo các sản phẩm trứng và thịt chim cút hữu cơ, nhằm phát triển nghề chăn nuôi chim cút một cách bền vững.

4. Kết luận

Qua kết quả của tính cảm quan, hàm lượng các vi sinh vật gây hại và nồng độ các loại khí H_2S , NH_3 trong trại chăn nuôi chim cút cho thấy, sử dụng chế phẩm vi sinh Biopro, EM 01, Balasa 01 để xử lý phụ phẩm chăn nuôi chim cút có hiệu quả rõ rệt so với lô không sử dụng chế phẩm vi sinh. Trong đó, chế phẩm Biopro được sản xuất từ chủng *Bacillus licheniformis* TT01 có hiệu quả xử lý tốt nhất. *Bacillus licheniformis* TT01 có tiềm năng ứng dụng trong xử lý phụ phẩm chăn nuôi trực tiếp trong chuồng trại, góp phần giảm nguy cơ ô nhiễm môi trường từ nguồn thải này và phát triển nghề chăn nuôi chim cút một cách bền vững.

Đề xuất: *Bacillus licheniformis* TT01 là chủng vi sinh vật được đội ngũ giảng viên của Trường Đại học Sư phạm – Đại học Đà Nẵng trực tiếp phân lập từ phân chim cút. Đây là vi khuẩn mới, đặc hiệu trong xử lý phụ phẩm chăn nuôi chim cút trực tiếp trong chuồng trại. Vì vậy, cần có thêm các nghiên cứu cơ bản và ứng dụng *Bacillus licheniformis* TT01 rộng rãi trong các trại chăn nuôi chim cút trên địa bàn Quảng Nam, Đà Nẵng nói riêng, cũng như trên cả nước nói chung.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Đà Nẵng đã cấp kinh phí để thực hiện nghiên cứu này. Mã số của đề tài: Đ2021-CS-01.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Thị Ngọc Lan, Trần Thông Thái, *Nuôi cút*, Nhà xuất bản nông nghiệp, 2004, 41.
- [2] Nghiên cứu ô nhiễm Nông nghiệp khu vực của Ngân hàng thế giới, *Tổng quan về ô nhiễm nông nghiệp ở Việt Nam: Ngành chăn nuôi* 2017. Nhóm ngân hàng thế giới, 56.
- [3] Trần Hồng Nhung, Nguyễn Kiều Băng Tâm, “Ứng dụng đem lót sinh học trong cải thiện một số chỉ tiêu môi trường khu chăn nuôi gia cầm tại hai xã tỉnh Hà Nam”, *Tạp chí khoa học ĐHQGHN*, Tập 32, ĐHQGHN, 2016, 296-300.
- [4] Nguyễn Thiết, Bùi Xuân Mến, Nguyễn Văn Hón, Nguyễn Thị Hồng Nhân, “Ảnh hưởng của nguyên liệu làm đem lót và men balasa n01 lên sinh trưởng và môi trường chuồng nuôi gà tàu vàng giai đoạn từ 5 đến 12 tuần tuổi”. *Tạp chí Khoa học Cần Thơ*, lần 44, ĐH Cần Thơ, 2016, 119-126.
- [5] Awasthi, M. K., Duan, Y., Awasthi, S. K., Liu, T., & Zhang, Z., “Influence of bamboo biochar on mitigating greenhouse gas emissions and nitrogen loss during poultry manure composting”, *Bioresour. Technol.*, 303, 2020, 122952.
- [6] Trần Lê Thu Trang, Võ Thị Lôi, Trần Thị Nguyên, Bùi Thị Uyên Nghi, Nguyễn Đỗ Kim Diệu, *Ứng dụng các chế phẩm vi sinh trong chăn nuôi*, Báo cáo chuyên đề Vi sinh vật môi trường, Đại học Nông lâm Hồ Chí Minh, 2011.
- [7] Van Doan Thi, Tuan Vo Chau, Trang Le Vu Khanh, “Isolation of *Bacillus licheniformis* TT01 to apply it in Compost Production from Quail Manure”, *Biotechnology*, Tom 34, No. 3, 2018, 53-58.
- [8] Lam Van Tan, Thanh Tran, Van Doan Thi, “Biosynthesis of Silver Nanoparticles from *Bacillus licheniformis* TT01 Isolated from Quail Manure Collected in Vietnam”, *Processes* 2021, 9, 584.
- [9] Mohamed Ali Borgi, et al., “The attractive recombinant phytase from *Bacillus licheniformis*: Biochemical and molecular characterization”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98:6161 DOI 10.1007/s00253-013-5421-9, 2013.
- [10] Daruosh Abdollahi-Arpanahi, Elahe Soltani, Hojatollah Jafaryan, Mehdi Soltani, “Efficacy of two commercial and indigenous probiotics, *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance, immuno-physiology and resistance response of juvenile white shrimp”, *Litopenaeus vannamei*, 496, 2018, 43-49.
- [11] ElSORRA E. Idriss, et al., “Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect”, *Microbiology*, 148, 2002, 2097-2109.
- [12] Mohamed Ali Borgi, et al., “The attractive recombinant phytase from *Bacillus licheniformis*: Biochemical and molecular characterization”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98:6161 DOI 10.1007/s00253-013-5421-9, 2013.
- [13] Raziqa Hadjidj, et al., “Purification, biochemical, and molecular characterization of novel protease from *Bacillus licheniformis* strain K7A”, *National library of Medicine*. Vol. 144, 2018, 1033-104.
- [14] QCVN 01-15:2010/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia. Điều kiện trại chăn nuôi gia cầm an toàn sinh học, Bộ Nông nghiệp và P2010.
- [15] Nguyễn Nhựt Xuân Dung, Lưu Hữu Mạnh, Lê Thanh Phương, “Khảo sát chất lượng không khí và vị trí chuồng nuôi lên năng suất sinh sản của gà đẻ trứng giống Hisex Brown”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 2, ĐH Cần Thơ, 2016, 83-90.
- [16] Bahar Kocaman, Nurinisa Esenbuga, Ahmet Yildiz, Ekrem Lacin, “Effect of Environmental Conditions in Poultry Houses on the Performance of Laying Hens”, *International Journal of Poultry Science* 5 (1), 2006, 26-30.
- [17] Phan Thị Thu Mai, *Phân lập tuyển chọn vi sinh vật sinh enzyme phytase*, Luận văn Thạc sĩ ngành Vi sinh vật. Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, 2012.