

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG TẠO KHÍ HYDRO SINH HỌC TRONG ĐIỀU KIỆN KỊ KHÍ CỦA VI KHUẨN ƯA NHIỆT *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT PHÂN LẬP Ở VIỆT NAM

Nguyễn Thị Yên¹, Lại Thúy Hiền¹, Nguyễn Thị Thu Huyền^{1,2,*}

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện HLKHCNVN, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

²Khoa Dược, Trường ĐH Nguyễn Tất Thành, 300A Nguyễn Tất Thành, P13, Q4, tp Hồ Chí Minh

*Email: huyen308@gmail.com

Đến Tòa soạn: 20/4/2013; Chấp nhận đăng: 20/12/2014

TÓM TẮT

Hydro là nguồn năng lượng sạch, có triển vọng thay thế nhiên liệu hóa thạch trong tương lai. Trên thế giới xuất hiện nhiều công trình nghiên cứu tạo hydro sinh học từ quá trình lên men các vi khuẩn kị khí. Ở nước ta, nghiên cứu vi khuẩn tạo khí hydro sinh học mới được bắt đầu nên mới có một vài công trình công bố về khả năng tạo khí hydro của các chủng vi khuẩn. Chủng vi khuẩn ưa nhiệt Trau DAT phân lập từ phân trâu tại Việt Nam có khả năng sinh khí hydro trong điều kiện nuôi cấy kị khí. Quá trình tạo khí của chủng Trau DAT diễn ra song song với quá trình sinh trưởng với lượng khí hydro tạo thành chiếm 42,95 % tổng thể tích khí thu được. Điều kiện nuôi cấy thích hợp cho quá trình tạo khí hydro của chủng Trau DAT gồm các thông số: tỉ lệ tiếp giống đầu vào 10 %, glucose 10 g/l, cao nấm men 3 g/l; FeSO₄.7H₂O 0,5 g/l; pH 6,5 trong điều kiện nhiệt độ 55 °C. Ở điều kiện lên men kị khí thích hợp theo mẻ ở quy mô bình thí nghiệm, thể tích khí thu được từ chủng Trau DAT đạt 198 ml/600 ml dịch lên men. Kết quả nghiên cứu bước đầu chứng tỏ chủng Trau DAT có tiềm năng ứng dụng cho quá trình lên men thu khí hydro từ vi khuẩn phân lập tại Việt Nam.

Từ khóa: hydro sinh học, lên men kị khí, điều kiện nuôi cấy, Việt Nam.

1. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, nhu cầu năng lượng tăng đáng kể do sự gia tăng dân số và sự phát triển không ngừng của nền kinh tế. Năng lượng sử dụng hiện nay phần lớn có nguồn gốc từ nguồn nguyên liệu không tái tạo như than đá, dầu mỏ. Việc sử dụng nguồn năng lượng từ nguyên liệu hóa thạch này còn thải ra khí CO₂ gây ô nhiễm môi trường và gây hiệu ứng nhà kính. Hydro được xem như một nguồn nhiên liệu thay thế bởi hydro tạo ra nguồn năng lượng lớn, sản phẩm cuối cùng chỉ là nước do đó thân thiện với môi trường. Hydro có thể được tạo ra bằng nhiều cách khác nhau, gần đây hydro tạo ra từ vi sinh vật nhận được nhiều sự quan tâm vì hydro có thể tạo ra nhờ nhiều loại vi khuẩn từ nhiều nguồn cơ chất khác nhau [1 - 5].

Nhiều công trình khoa học đã chỉ ra các loại vi khuẩn có khả năng tạo khí hydro bao gồm các giống vi khuẩn kỵ khí nghiêm ngặt như *Clostridium*, *Thermotoga* hay các giống vi hiếu khí như *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Caldicellulosiruptor*, *Ethanologobacterium* ... [6, 7, 8, 9, 10, 11]. Các chủng vi khuẩn này tạo hydro nhờ phản ứng $2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$ có xúc tác của enzym hydrogenase. Mỗi chủng vi khuẩn khác nhau có khả năng tạo khí hydro trong các điều kiện tối ưu khác nhau [6, 12]. Ở Việt Nam, nhóm nghiên cứu của chúng tôi đã công bố kết quả phân lập và định danh một số chủng vi khuẩn có khả năng tạo khí hydro [13, 14]. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu các điều kiện nuôi cấy thích hợp cho vi khuẩn tạo khí hydro của chủng vi khuẩn ưa nhiệt Trau DAT trong điều kiện nuôi cấy kỵ khí nhằm định hướng cho quá trình lên men thu khí hydro từ vi khuẩn ưa nhiệt làm nguồn năng lượng mới, sạch và bền vững.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu, môi trường và điều kiện nuôi cấy

Vi khuẩn kỵ khí, ưa nhiệt *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT thuộc bộ sưu tập chủng giống của Phòng Vi sinh vật dầu mỏ, Viện Công nghệ sinh học. Sử dụng hóa chất cao men, cao thịt, pepton (Merck), glucose (Việt Nam), các hóa chất còn lại như KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , KCl... (Trung Quốc) cho quá trình nuôi cấy và lên men vi khuẩn tạo khí hydro.

Môi trường NMV (g/L hoặc ml/L) (pH 6,5) bao gồm: glucose 10; cao men 3; cao thịt 1; pepton 1; NH_4Cl 1; KH_2PO_4 0,5; K_2HPO_4 0,5; KCl 0,1; NaCl 1; $CaCl_2$ 0,1; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,3; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,1; L-cysteine-HCl. H_2O 0,5; dung dịch vi lượng 1 ml; dung dịch vitamin 1ml; vitamin C (100 ml/l) 0,5 ml; resazurin (0,2 %) 1 ml. Dung dịch vi lượng (g/L) gồm $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 1; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 5; H_3BO_3 1; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1; $NiSO_4$ 1,6; $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 1,5; EDTA 1. Dung dịch vitamin (g/L) gồm có cyanocobalamin 1; riboflavin 2,5; sodium citrate 2; pyridoxine 0,5; folic acid 1; 4-aminobenzoic acid 1.

Các thí nghiệm nuôi cấy được tiến hành ở nhiệt độ 55 °C trong điều kiện kỵ khí. Thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến khả năng sinh khí hydro của chủng Trau DAT được thực hiện trong bình thí nghiệm dung tích 150 ml với 150 ml dịch nuôi trong đó thành phần môi trường, điều kiện nuôi cấy được điều chỉnh tùy theo mục đích thí nghiệm. Thí nghiệm lên men tĩnh sinh hydro quy mô bình thí nghiệm được tiến hành trong bình thí nghiệm dung tích 600 ml với 600 ml dịch lên men.

2.2. Phương pháp

Xác định khả năng sinh trưởng của chủng vi khuẩn bằng đo mật độ quang tế bào (OD 660nm) trên máy Secoman (Pháp).

Xác định thể tích khí hydro bằng phương pháp thay thế nước (water displacement method)

Xác định hàm lượng đường tiêu thụ bằng phương pháp tạo màu DNS (Miller, 1959) [15].

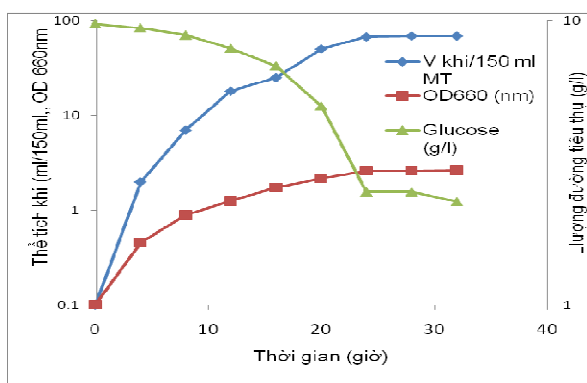
Xác định chất lượng và hàm lượng khí hydro bằng máy sắc kí khí GC-TCD (Thermo Trace GC-Thermo Electro-USA) với phương pháp thử EDC VI-003 GC.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

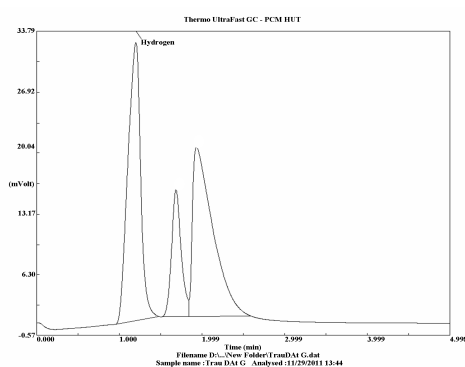
3.1. Động thái sinh trưởng và thành phần khí tạo ra của chủng vi khuẩn Trau DAT

Chủng vi khuẩn Trau DAT sau khi phân lập được tiến hành theo dõi động thái sinh trưởng, quá trình tạo khí, hàm lượng đường tiêu thụ thông qua theo dõi mật độ tế bào, thể tích khí tạo ra và lượng đường còn lại trong quá trình nuôi cấy. Kết quả ở hình 1 cho thấy, chủng Trau DAT bắt đầu sinh trưởng và tạo khí sau 4 giờ nuôi cấy. Sau 24 giờ, chủng này đạt sinh trưởng cực đại với lượng khí tạo thành là 68 ml/150 ml dịch nuôi cấy. Với lượng đường ban đầu là 10 g/l, sau khi chủng này bước vào pha cân bằng đã tiêu thụ khoảng 7,69 g/l glucose. Lượng glucose còn lại là 2,31 g/l, ổn định cùng với thể tích khí tạo ra sau pha cân bằng. Như vậy, quá trình sinh trưởng, quá trình tạo khí và hàm lượng đường tiêu thụ có sự tương quan chặt chẽ, khi chủng vi khuẩn này bước vào pha cân bằng thì thể tích khí tạo ra cũng ổn định đồng thời lượng glucose được sử dụng cũng giảm đi.

Cùng với theo dõi động thái sinh trưởng và quá trình tạo khí, thành phần khí do chủng vi khuẩn Trau DAT tạo ra cũng được xác định bằng phân tích GC-TCD. Kết quả hình 2 cho thấy khí H₂ do chủng vi khuẩn này tạo ra chiếm 42,95 %, còn lại là CO₂ và H₂S, phát hiện này có sự tương đồng với kết quả của Romano và cộng sự [10]. Theo các tác giả này, chủng vi khuẩn kỵ khí ưa nhiệt *Thermoanaerobacterium thermoautotrophicum* phân lập từ phân trâu cũng có khả năng tạo khí H₂ kèm theo khí CO₂ và H₂S, tỉ lệ H₂ và H₂S tạo ra khác nhau khi sử dụng nguồn chất khử khác nhau. Sau khi xác định được trong thành phần khí do Trau DAT tạo ra thì lượng khí hydro tạo thành chiếm tỉ lệ lớn nhất, các điều kiện nuôi cấy phù hợp cho quá trình tạo khí của chủng này được tiếp tục nghiên cứu nhằm dần từng bước tối ưu hoá quá trình tạo khí hydro của chủng Trau DAT.



Hình 1. Động thái sinh trưởng, lượng đường tiêu thụ và lượng khí tạo ra của chủng Trau DAT.



Hình 2. Thành phần khí do chủng Trau DAT tạo ra (từ trái qua phải phổ cao nhất là phổ H₂, tiếp theo là phổ H₂S, cuối cùng là phổ CO₂).

3.2. Ảnh hưởng tỉ lệ giống đầu vào đến khả năng sinh trưởng và tạo khí của chủng Trau DAT

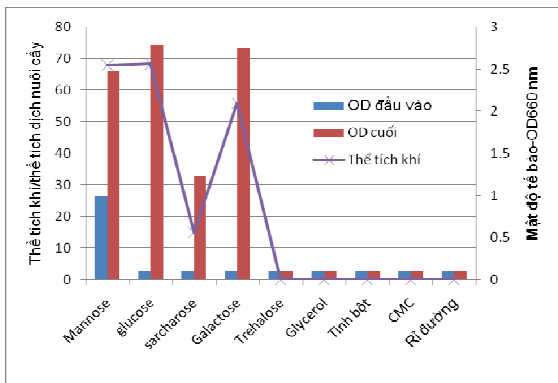
Với tỉ lệ tiếp giống 1, 3, 5, 10, 15, 20 %, ảnh hưởng của các tỉ lệ khác nhau này được tiến hành nghiên cứu ở thể tích 150 ml trong điều kiện kỵ khí ở 55 °C trên môi trường NMV. Kết quả trình bày ở hình 8 cho thấy với các tỉ lệ tiếp giống khác nhau, thời gian để chủng vi khuẩn sinh trưởng đến pha cân bằng cũng khác nhau. Ở tỉ lệ tiếp giống 5 % và 10 %, thể tích khí tạo ra gần tương đương nhau cao hơn cả so với lượng khí tạo ra ở các tỉ lệ tiếp giống khác. Tuy nhiên, ở tỉ lệ tiếp giống 5 %, thời gian chủng phát triển đến pha cân bằng dài hơn so với tỉ lệ tiếp giống

10 % (kết quả không trình bày ở đây). Vì vậy, tỉ lệ tiếp giống 10 % phù hợp hơn cả cho quá trình sinh trưởng và tạo khí của chủng vi khuẩn này. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Alalaayah và cộng sự, chủng *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 cũng cho thể tích khí H₂ cao nhất với tỉ lệ tiếp giống là 10 % [6].

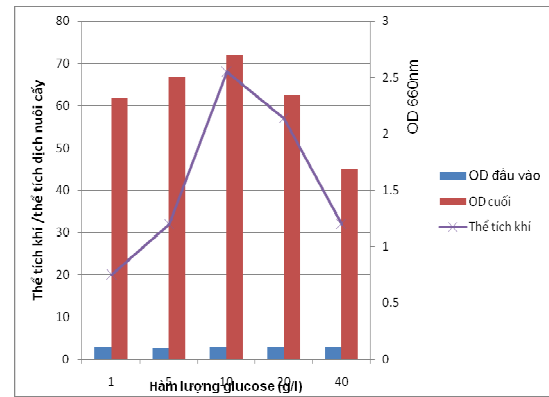
3.3. Ảnh hưởng của nguồn cacbon đến khả năng sinh trưởng và tạo khí của chủng Trau DAT

Các chủng vi khuẩn tạo khí hydro đã được nghiên cứu có thể sử dụng nguồn cacbon khá đa dạng cho quá trình tạo khí của chúng [2, 5, 8, 12, 16]. Để lựa chọn nguồn cacbon tốt nhất cho quá trình tạo khí H₂ của chủng Trau DAT, chúng tôi tiến hành nuôi cấy chủng này trên nguồn 9 nguồn cacbon khác nhau là saccharose, ri đường, glucose, mannose, galactose, trehalose, glycerol, tinh bột, cellulose (CMC), sau đó theo dõi quá trình sinh trưởng, lượng khí tạo ra và thời gian chủng phát triển đến pha cân bằng. Kết quả hình 3 cho thấy, chủng Trau DAT có thể tạo khí khi sinh trưởng trên nguồn cacbon là glucose, mannose, galactose và saccharose. Tuy nhiên, với mỗi loại nguồn cacbon khác nhau, thời gian cho quá trình sinh trưởng là khác nhau và lượng khí tạo ra cũng khác nhau. Lượng khí cao nhất thu được khi chủng này sinh trưởng trên glucose và mannose. Trên hai nguồn cacbon này, chủng Trau DAT cho thể tích khí tương đương nhau. Tuy nhiên, trên nguồn cacbon là glucose chủng Trau DAT chỉ cần 26 giờ để đạt thể tích khí và mật độ tế bào cao nhất, trong khi đó trên nguồn mannose, chủng này cần 30 giờ để đạt thể tích khí và mật độ tế bào cực đại. Với nguồn cacbon là galactose, thời gian để chủng đạt thể tích khí cao nhất cũng bằng thời gian trên nguồn glucose (26 giờ), nhưng lượng khí tạo ra lại thấp hơn so với trên hai nguồn các bon là glucose và manose. Với nguồn cacbon là saccharose thời gian để chủng vi khuẩn Trau DAT sinh trưởng và tạo khí kéo dài nhất, lên đến gần 40 giờ. Từ các kết quả trên cho thấy với nguồn cacbon là đường đôi, thời gian để chủng vi khuẩn này sinh trưởng và tạo khí cũng dài hơn đường đơn. Kết quả thu được cũng phù hợp với kết luận của Romano và cộng sự rằng hầu hết các chủng vi khuẩn kỵ khí ưa nhiệt có thể sử dụng glucose và mannose tạo khí H₂ [10]. Như vậy, với thời gian nuôi cấy ngắn nhất, chủng Trau DAT tạo khí tốt nhất trên nguồn cacbon là glucose.

Sau khi chọn được nguồn cacbon là glucose, tiến hành xác định hàm lượng glucose tối ưu cho quá trình tạo khí của chủng Trau DAT. Nuôi cấy chủng Trau DAT ở các hàm lượng đường khác nhau 1, 5, 10, 20, 40 g/l với tỉ lệ tiếp giống 10 %, thể tích khí được theo dõi đến khi chủng đạt pha cân bằng. Kết quả hình 4 chỉ ra chủng Trau DAT tạo khí tốt nhất trong môi trường chứa hàm lượng glucose 10 g/l. Như vậy, với tỉ lệ tiếp giống là 10 % chủng vi khuẩn Trau DAT tạo khí tốt nhất trên nguồn cacbon glucose với hàm lượng 10 g/l. Lượng glucose chủng Trau DAT sử dụng tương đương với lượng đường glucose do chủng *Clostridium Sacharoperbutylacetonicum* N1-4 tiêu thụ [6].



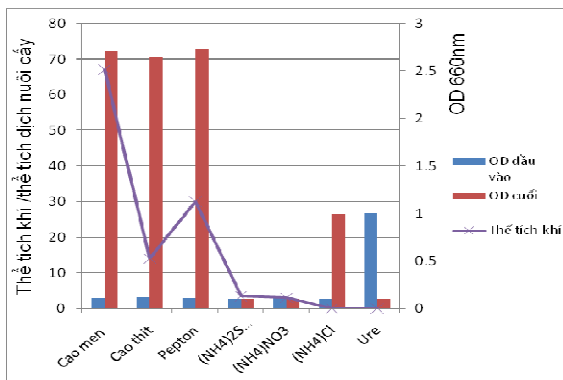
Hình 3. Ảnh hưởng nguồn cacbon đến khả năng sinh trưởng, tạo khí của chủng Trau DAT.



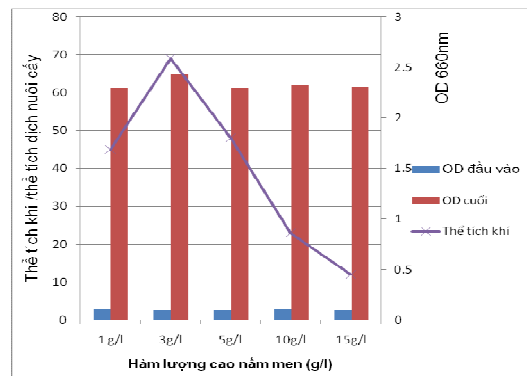
Hình 4. Ảnh hưởng của hàm lượng glucose đến khả năng sinh trưởng, tạo khí của chủng Trau DAT.

3.4. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng sinh trưởng và tạo khí của chủng Trau DAT

Để nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn nitơ đến quá trình tạo khí H₂, chủng Trau DAT được nuôi trên các nguồn nitơ khác nhau như pepton, cao thịt, cao men, NH₄SO₄, NH₄NO₃, NH₄Cl, urê với nguồn cacbon là glucose và tỉ lệ tiếp giống 10 %, thể tích khí được theo dõi đến khi chủng bước vào pha cân bằng của quá trình sinh trưởng. Kết quả hình 5 cho thấy, chủng Trau DAT tạo khí tốt nhất trên nguồn nitơ là cao men, tiếp đến là trên nguồn cao thịt, tuy nhiên chủng Trau DAT không tạo khí trên nguồn nitơ là pepton và các nguồn nitơ vô cơ khác. Theo nhiều nghiên cứu, chủng vi khuẩn tạo khí H₂ có khả năng sử dụng cao nấm men làm nguồn nitơ, ngoài ra, các chủng vi khuẩn cũng có thể sử dụng nitơ vô cơ và pepton cho quá trình sinh trưởng và tạo khí [17], nhưng chủng Trau DAT thì không có khả năng sử dụng riêng rẽ nguồn nitơ vô cơ cho quá trình tạo khí hydro, nguồn nitơ ưa thích của chủng này là cao men.



Hình 5. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến khả năng sinh trưởng, tạo khí của chủng Trau DAT.

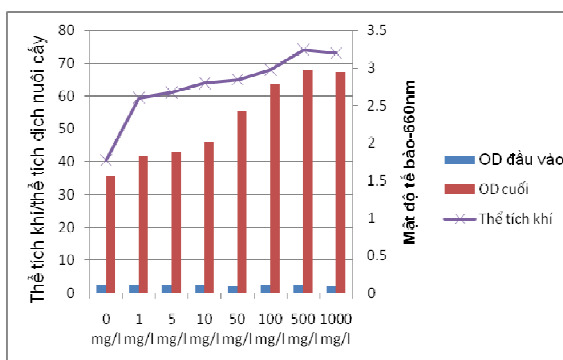


Hình 6. Ảnh hưởng của hàm lượng cao nấm men đến khả năng sinh trưởng, tạo khí của Trau DAT.

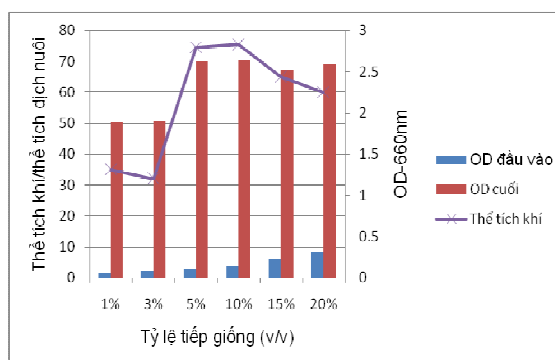
Sau khi chọn được nguồn nitơ là cao men, hàm lượng tối ưu của nguồn nitơ này được xác định. Tiến hành nuôi chủng Trau DAT ở các hàm lượng cao men khác nhau 1, 3, 5, 10, 15 g/l trên nguồn cacbon là glucose, kết quả hình 6 cho thấy chủng này sinh trưởng tốt nhất trong môi trường chứa 3 g/l cao men. Các chủng vi khuẩn tạo khí H₂ khác nhau có thể sử dụng nguồn nitơ phù hợp với hàm lượng khác nhau [6, 17]. Chủng Trau DAT sinh trưởng và tạo khí phù hợp trên nguồn nitơ cao nấm men với hàm lượng là 3 g/l.

3.5. Ảnh hưởng hàm lượng sắt đến khả năng sinh trưởng và tạo khí của chủng Trau DAT

Sắt có vai trò như chất mang điện tử và liên quan đến quá trình oxi hóa pyruvat thành acetyl-CoA, CO₂, và H₂ [8]. Để nghiên cứu ảnh hưởng của sắt đến quá trình tạo khí, chủng vi khuẩn Trau DAT được nuôi trên môi trường có hàm lượng FeSO₄.7H₂O khác nhau 0, 1, 5, 10, 100, 500, 1000 mg/l với nguồn cacbon glucose, nguồn nitơ cao men, tỉ lệ giống ban đầu 10 %, thể tích khí được theo dõi đến khi chủng đạt pha cân bằng. Kết quả hình 7 cho thấy, với hàm lượng FeSO₄.7H₂O nhỏ hơn 5 mg/l, thể tích khí tạo ra thấp. Ở hàm lượng 10, 100 và 1000 mg/l FeSO₄.7H₂O thể tích khí tạo ra là tương đương nhau. Thể tích khí do chủng Trau DAT tạo ra nhiều nhất khi nuôi cấy trong môi trường chứa 500 mg/l FeSO₄.7H₂O, Tuy nhiên thời gian cho chủng vi khuẩn vào pha cân bằng cũng dài, đến 28 giờ so với thời gian dưới 26 giờ ở hàm lượng nhỏ hơn 10 mg/l FeSO₄.7H₂O. Hàm lượng sắt mà chủng vi khuẩn này sử dụng để tạo khí H₂ cao hơn nhiều so với các chủng vi khuẩn đã được nghiên cứu [6].



Hình 7. Ảnh hưởng của hàm lượng FeSO₄. 7 H₂O đến khả năng sinh trưởng, tạo khí của chủng Trau DAT.

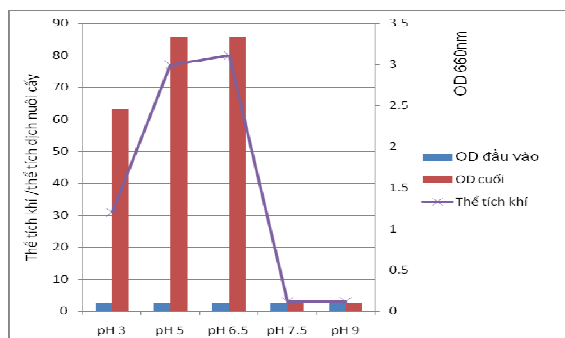


Hình 8. Ảnh hưởng của tỉ lệ tiếp giống đến khả năng sinh trưởng, tạo khí của chủng Trau DAT.

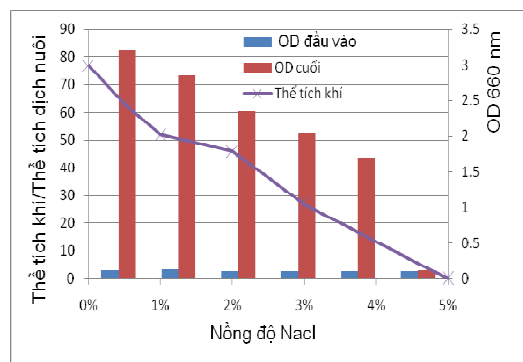
3.6. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng và tạo khí hydro của chủng Trau DAT

pH là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình lên men tạo khí H₂ vì ảnh hưởng đến con đường trao đổi chất cũng như hoạt động của enzyme hydrogenase. Ảnh hưởng của pH được nghiên cứu ở các giá trị pH khác nhau 3, 5, 6,5, 7,5, 9. Thể tích khí, giá trị pH cuối trong quá trình nuôi cấy được theo dõi. Kết quả hình 9 cho thấy, trong khoảng pH 5 – 6,5, chủng Trau DAT sinh trưởng và tạo khí tốt và ở 6,5 chủng Trau DAT tạo khí cao nhất, lượng đường tiêu thụ cũng lớn hơn cả so với các pH khác, gần 10 g/l. Sau quá trình sinh trưởng pH của môi trường giảm xuống 2 và 2.5 đơn vị pH tương ứng còn 3 và 4 khi quá trình sinh trưởng và tạo khí kết thúc. Ở pH 7,5 và 9, chủng vi khuẩn không sinh trưởng, không tạo khí, không tiêu thụ đường và pH môi trường sau quá trình nuôi cấy gần như không thay đổi. Ở pH 3, chủng tạo khí yếu, chỉ tiêu thụ hết 5 g/l glucose, pH môi trường không giảm so với pH ban đầu. Như vậy pH phù hợp cho sự

sinh trưởng của chủng Trau DAT là 6,5, kết quả này cũng tương tự nhiều kết quả đã được công bố [9, 10].



Hình 9. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng, tạo khí của chủng Trau DAT.



Hình 10. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng, tạo khí của chủng Trau DAT.

3.7. Ảnh hưởng nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng và tạo khí hydro của chủng Trau DAT

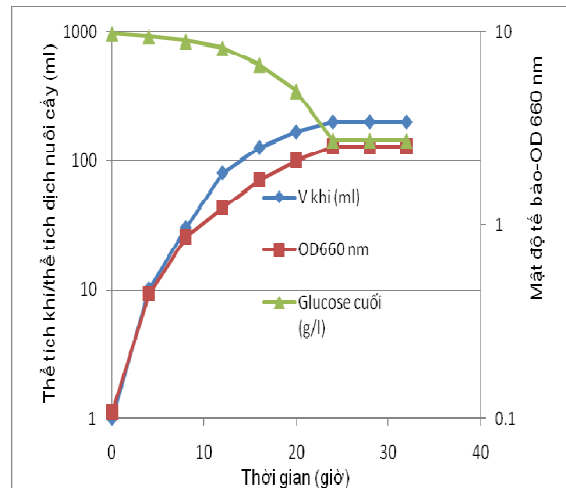
Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến khả năng sinh trưởng và tạo khí của chủng Trau DAT được tiến hành ở các nồng độ NaCl khác nhau, 0, 0.5, 1, 2, 3, 5 % với thể tích 150 ml dịch nuôi cấy ở điều kiện 55 °C với các yếu tố đã tối ưu ở trên. Kết quả trên hình 10 cho thấy, nồng độ NaCl càng cao thì thể tích khí tạo ra và mật độ của tế bào càng giảm. Nồng độ NaCl 0 % là phù hợp nhất cho quá trình tạo khí với thể tích khí tạo ra cao nhất gần 80 ml /150 ml dịch nuôi cấy. Kết quả này khác với kết quả do Romano và cộng sự nghiên cứu [10].

3.8. Lên men tạo khí hydro của chủng Trau DAT trong điều kiện môi trường phù hợp quy mô bình thí nghiệm

Sau khi xác định được các điều kiện môi trường phù hợp, tiến hành lên men chủng Trau DAT quy mô bình thí nghiệm (hình 11). Thể tích khí, hàm lượng đường tiêu thụ và mật độ tế bào được theo dõi đến khi chủng phát triển vào pha cân bằng (hình 12). Tổng thể tích khí hydro thu được khi lên men ở điều kiện phù hợp đạt 198 ml/600 ml dịch lên men, mặc dù thể tích này chưa cao so với một số chủng tạo khí hydro trên thế giới công bố [12, 9, 17] nhưng đây là kết quả bước đầu về khả năng tạo khí hydro của chủng vi khuẩn phân lập tại Việt Nam. Do đó, cần tiếp tục nghiên cứu nâng cao khả năng tạo khí của chủng vi khuẩn này để lên men quy mô lớn hơn nhằm ứng dụng tạo nguồn năng lượng sạch ở nước ta.



Hình 11. Bình lên men sinh hydro của chủng Trau DAT trong điều kiện phù hợp.



Hình 12. Khả năng sinh trưởng và tạo khí hydro của Trau DAT trong điều kiện phù hợp.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng các yếu tố môi trường cho thấy chủng vi khuẩn Trau DAT tạo khí hydro phù hợp ở các điều kiện sau: tỉ lệ tiếp giống đầu vào 10 % trên môi trường lên men có thành phần (g/l) glucose 10, cao nấm men 3; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5; pH 6,5, lên men thể tích 600 ml cho thể tích khí hydro là 85,04 ml, chiếm 42,95 % tổng thể tích khí thu được.

Lời cảm ơn. Công trình được thực hiện dưới sự tài trợ của đề tài nghiên cứu cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST 05.02/11-12) do Tiến sĩ Nguyễn Thị Thu Huyền - Viện Công nghệ Sinh học làm chủ nhiệm và với sự cộng tác của Viện Nghiên cứu và phát triển ứng dụng các hợp chất thiên nhiên (Trường Đại học Bách khoa Hà Nội).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Balat H., Kirtay E. - Hydrogen from biomass-present scenario and future prospects, *International Journal of Hydrogen Energy* **35** (2010) 7416-7426.
- Chen C. C., Chuang S. Y., Lin Y. C., Lay H. C. - Thermophilic dark fermentation of untreated rice straw using mixed cultures for hydrogen production, *International Journal of Hydrogen Energy* **37** (20) (2012) 15540-15546.
- Kanso S., Dasri K., Tinhthon S. and Watanapokasin Y. R. -Diversity of cultivable hydrogen-producing bacteria isolated from agricultural soils, waste water sludge and cow dung, *4th Asian Bio-Hydrogen Symposium* **36** (14) (2011) 8735-8742.
- Lin Y. C., Lay H. C., Sen B., Chu Y. C., Kumar G., Chen C. C. Chang S. J. - Fermentative hydrogen production from wastewaters: A review and prognosis, *International Journal of Hydrogen Energy* **37** (2012) 15632-15642.

5. Liu M. C., Chu Y. C., Lee Y. W., Li C. Y., Wu Y. S., Chou P. Y. - Biohydrogen production evaluation from rice straw hydrolysate by concentrated acid pre-treatment in both batch and continuous systems, *International Journal of Hydrogen Energy* **38** (2013).15823-15829.
6. Alalayah M. W., Kalil S. M., Kadhun H. A., Jahim M. J. and Alauj M. N. - Effect of environment parameters on hydrogen production using *Clostridium Saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564), *American Journal of Environmental Sciences* **5** (1) (2009) 80-86.
7. Kublanov I. V., Prokofeva I. M., Kostrikina A. N., Kolganova V. T., Tourova P. T., Wiegel J., and Osmolovskaya B. A. - *Thermoanaerobacterium aciditolerans* sp. nov., a moderate thermoacidophile from a Kamchatka hot spring, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **57** (2007) 260-264.
8. Phowan P., Reungsang A. and Danvirutai P. - Bio-hydrogen production from cassava pulp hydrolysate using co-culture of *Clostridium butyricum* and *Enterobacter aerogenes*, *Biotechnology* **9** (3) (2010) 348-354.
9. Ren Q. N., Wang Y. D., Yang P. C., Wang L., Li F. Y. - Selection and isolation of hydrogen-producing fermentative bacteria with high yield and rate and its bioaugmentation process, *International Journal of Hydrogen Energy* **35** (7) (2010) 2877-2882.
10. Romano I., Dipasquale L., Orlando P., Lama L., Ippolito G., Pascual J. and Gambaccorta A.-*Thermoanaerobacterium thmostercus* sp. nov., a new anaerobic thermophilic hydrogen-producing bacterium from buffalo-dung, *Extremophiles* **14** (2) (2010) 233-240.
11. Sigurbjornsdottir A. M., Orlygsson J. - Combined hydrogen and ethanol production from sugars and lignocellulosic biomass by *Thermoanaerobacterium* AK54, isolated from hot spring, *Applied Energy* **97** (2012) 785-791.
12. Amorim C. L. E, Sader T. L. and Silva L. E. - Effect of Substrate Concentration on Dark Fermentation Hydrogen Production Using an Anaerobic Fluidized Bed Reactor, *Applied Biochemical Biotechnology* DOI 10.1007 (2011) 9511-9519.
13. Nguyễn Thị Thu Huyền, Nguyễn Thị Yên, Vương Thị Nga, Đặng Thị Yên, Nguyễn Thị Trang, Lại Thuý Hiền - Tuyển chọn và định danh một số chủng vi khuẩn có khả năng sinh hydro phân lập từ phân gia súc tại Việt Nam, *Tạp chí Sinh học* **35** (3SE) (2013) 79-87.
14. Nguyen Thi Thu Huyen, Nguyen Thi Yen, Vuong Thi Nga, Do Thu Phuong, Lai Thuy Hien - Study on biohydrogen production capacity of fermentative bacteria isolated from industrial and agricultural wastes, 6th VAST-AIST workshop (2012) 137-138.
15. Miller G. L. - Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Analytical Chemistry* **31** (3) (1959) 426-428
16. Jame R., Vilimova V., Lakatos B., and Verecka L. - The hydrogen production by anaerobic bacteria grown on glucose and glycerol, *Acta Chimica Slovaca* **4** (2) (2011) 145-157.
17. Saratale D. G., Chen D. S., Lo C.Y., Saratale G. R. and Chang S.J.-Outlook of biohydrogen production from lignocellulosic feedstock using dark fermentation-a review. *Journal of Scientific & Industrial Research* **67** (2008) 962-979.

ABSTRACT

STUDY ON HYDROGEN PRODUCTION CAPABILITY OF BACTERIAL STRAIN *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAt ISOLATED FROM VIETNAM IN ANAEROBIC CONDITION

Nguyen Thi Yen¹, Lai Thuy Hien¹, Nguyen Thi Thu Huyen^{1, 2, *}

¹*Institute of Biotechnology, VAST, 18 Hoang Quoc Viet street, Cau Giay district, Hanoi*

²*Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh university, 300A Nguyen Tat Thanh, dist. 4, HCMC*

*Email: huyen308@gmail.com

Hydrogen is paid of attention not only in the world but also in Vietnam because of its great potential as a clean energy. In this paper, bacterial strain *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAt isolated in Vietnam has the ability to produce hydrogen in anaerobic condition at 55 °C. Study on effects of inoculum ratio, carbon sources, nitrogen sources, ferrous concentration, pH and salt concentration on the growth and hydrogen production of Trau DAt strain indicated that the suitable condition for its growth and hydrogen production including 10 % started culture on medium contains (g/l) glucose - 10, yeast extract - 3, FeSO₄.7H₂O - 5, pH 6.5. In suitable condition, Trau DAt strain produces 198 ml gas/600 ml of fermentation solution in anaerobic fermentation at flask scale (volume 600 ml). A GC-TCD analysis showed that hydrogen occupied 42.95 % of total gas in anaerobic fermentation. The obtained results indicated the remarkable potentiality of the Trau DAt strain in application to larger fermentation scale for biohydrogen production by native bacteria in Vietnam.

Keywords: bio-hydrogen production, anaerobic fermentation, culture parameters, hydrogen producing bacteria, Vietnam.