

# Thu nhận một số hỗn hợp vi sinh vật có khả năng sinh hydro từ các nguồn thải

- Phạm Thị Kim Hạnh
- Tô Thị Ngọc Anh
- Nguyễn Dương Tâm Anh

Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 20 tháng 03 năm 2013, nhận đăng ngày 30 tháng 9 năm 2013)

## TÓM TẮT

Việc chuẩn bị giống vi sinh vật cho lên men tạo hydro ( $H_2$ ) từ ba loại bùn thải kỵ khí được thực hiện với bốn phương pháp khác nhau (sốc nhiệt, axit, bazơ, sốc khí) và không xử lý. Các nguồn giống sau khi thu nhận được đánh giá sự ổn định bằng nuôi cấy qua 3 mẻ liên tiếp ở cùng pH 6.5, nhiệt độ phòng và thời gian nuôi cấy và được khảo sát khả năng lên men tạo  $H_2$  từ glucose và xylose ở các nồng độ khác nhau. Ba nguồn giống vi sinh vật đều sinh  $H_2$  hiệu quả

ở nồng độ glucose/xylose là 5 g/l sau 48 h nuôi cấy. Mẫu bùn thải sinh hoạt xử lý ở  $80^\circ C$  trong 30 phút hiệu suất sinh  $H_2$  là 1,27 mol/mol glucose và 0,82 mol/mol xylose. Mẫu bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas xử lý ở  $60^\circ C$  trong 30 phút cho hiệu suất sinh  $H_2$  1,27 mol/mol glucose và 0,71 mol/mol xylose. Mẫu bùn ở nhà máy xử lý chất thải Hòa bình xử lý ở  $60^\circ C$  trong 30 phút cho hiệu suất sinh  $H_2$  1.31 mol/mol glucose và 0.66 mol/mol xylose.

**Từ khóa:** Hydro, lên men tối, bùn thải, hỗn hợp vi sinh vật.

## GIỚI THIỆU

Hydro ( $H_2$ ) là một trong những nguồn nhiên liệu thay thế lý tưởng cho tương lai với những ưu điểm như thân thiện với môi trường và có khả năng tái tạo, hiệu suất năng lượng cao 122 kJ/g gấp 2.75 lần nguồn năng lượng từ carbohydrate [8]. Trong số các phương pháp sản xuất  $H_2$ , con đường sinh học cho phép tận dụng nhiều loại cơ chất rẻ tiền, có sẵn và rất dồi dào, đặc biệt là các nguồn bùn thải gây ô nhiễm môi trường thông qua sự lên men tối. Lên men tối tạo  $H_2$  là quá trình trong đó vi khuẩn kỵ khí sử dụng các hợp chất hữu cơ để sản xuất  $H_2$  mà không cần ánh sáng. Phương pháp này đang thu hút nhiều sự quan tâm nghiên cứu hơn các phương pháp sinh

học khác vì kỹ thuật đơn giản, công nghệ lên men đã sẵn có, tốc độ sinh  $H_2$  cao và có thể tận dụng nhiều loại chất thải hữu cơ làm cơ chất.

Sản xuất  $H_2$  còn có thể thực hiện bởi hỗn hợp vi sinh vật thu nhận từ các nguồn trong tự nhiên như bùn thải kỵ khí [4, 10] bùn thải đã qua xử lý [5], phân động vật [3, 11, 15], rác thải [13], đất, chất thải của ngành công nghiệp thực phẩm,... Việc tạo nguồn giống có khả năng sinh  $H_2$  để tiến hành lên men tối là vấn đề tiên quyết trong quá trình sản xuất  $H_2$  từ các nguồn bùn thải bởi tính đặc trưng khác nhau về thành phần hóa lý của các nguồn bùn thải. Các vi khuẩn có khả năng sinh  $H_2$  chủ yếu là *Clostridium*, *Enterobacter* và *Escherichia coli*.

Dựa trên sự khác nhau về sinh lý của vi khuẩn sinh  $H_2$  và vi khuẩn tiêu thụ  $H_2$ , chủ yếu là các vi khuẩn sinh metan, các phương pháp xử lý tạo nguồn giống sinh  $H_2$  hiệu quả được áp dụng. *Clostridium* có khả năng tạo bào tử chịu được các điều kiện khắc nghiệt như nhiệt, axit, bazơ,... nhưng vi khuẩn sinh metan thì không có khả năng này. Vi khuẩn sinh metan là vi khuẩn kỵ khí bắt buộc, không thể tồn tại ở môi trường có oxy. Chất BESA có cấu trúc tương tự như coenzyme M chỉ tìm thấy trong vi khuẩn sinh metan mà không thấy ở vi khuẩn khác. Chất iodopropane là chất đối kháng với corrinoid ngăn cản hoạt động của enzyme B12 trong vi khuẩn sinh metan. Do vậy các hợp chất này được dùng để loại bỏ vi khuẩn sinh metan. Hầu hết các vi khuẩn sinh metan bị giới hạn trong một khoảng pH hẹp khoảng 7-8, trong khi hầu như các vi khuẩn sinh  $H_2$  có thể phát triển trong khoảng pH rộng hơn. Vi khuẩn sinh  $H_2$  phát triển nhanh hơn vi khuẩn sinh metan [6]. Một số phương pháp xử lý tạo nguồn giống có khả năng sinh  $H_2$  hiệu quả đã được báo cáo. Sốc nhiệt là phương pháp xử lý được sử dụng rộng rãi nhất. Điều kiện kiểm soát sốc nhiệt ở các nguồn giống là khác nhau, khoảng từ 60-121°C, và thời gian tiếp xúc 15-120 phút. Van Ginkel và cộng sự (2001) sử dụng nhiệt khô 104°C trong 2 giờ đối với mẫu phân hữu cơ và đất [14]. Kim và cộng sự nghiên cứu thấy khi xử lý bùn bằng nhiệt ở 90°C trong 20 phút đã làm thay đổi quần thể VSV trong mẫu bùn dùng để sản xuất  $H_2$  từ glucose trong thiết bị lên men [7]. Ngoài ra còn có phương pháp xử lý nhiệt lặp lại, hoặc kết hợp xử lý nhiệt với các chất ức chế vi khuẩn sinh metan. Nhiều nghiên cứu đã tiến hành xử lý tạo nguồn giống thông qua axit bằng cách đưa mẫu về pH 2-4. Ren và cộng sự (2008) đã cũng xử lý tạo nguồn giống trong nuôi cấy hỗn hợp bằng axit ở pH 3 trong 24 giờ rồi chỉnh về pH 6.8 đã chứng minh được không có bất cứ hoạt động nào của vi khuẩn sinh metan trong suốt quá trình nuôi cấy [13]. Huguang Zhu và cộng sự (2006) đã sử

khí vào bùn thải trong 30 phút không thành công trong việc ức chế VK sinh  $CH_4$  nhưng không làm ảnh hưởng đáng kể tới khả năng sinh  $H_2$ , và có tính ổn định về lượng  $H_2$  sinh ra trong nuôi cấy mẻ 2 [6]. Phương pháp này sử dụng khí  $CO_2$  hoặc không khí.

Vi khuẩn lên men tối sinh  $H_2$  có khả năng sử dụng đa dạng các nguồn cơ chất như glucose, xylose, arabinose, galactose, cellobiose, sucrose, tinh bột .... Trong đó, glucose là nguồn cơ chất được nghiên cứu nhiều nhất và cho hiệu suất trong khoảng 1,47-2,81 mol/mol glucose đối với tất cả các loài *Clostridia* sinh  $H_2$  [9]. Nguyên liệu giàu lignocellulose đóng vai trò quan trọng là nguồn cơ chất cho sản xuất biohydro vì chúng là nguồn nguyên liệu tái tạo được, dồi dào, có sẵn, chi phí hợp lý và liên tục sản xuất hàng năm với số lượng lớn [11]. Đường thủy phân từ sinh khối lignocellulose chủ yếu là glucose và xylose [12]. Nghiên cứu của Ren và cộng sự về phân lập VK ưa nhiệt *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16 nuôi trên glucose tinh, xylose tinh thu được hiệu suất cao 2,42 mol  $H_2$ /mol glucose và 2,19 mol  $H_2$ /mol xylose [12].

Trong nghiên cứu này, việc tạo nguồn giống vi sinh vật có khả năng tạo  $H_2$  bằng con đường lên men từ ba nguồn bùn thải kỵ khí được thực hiện. Hiệu quả xử lý của ba phương pháp xử lý giống gồm sốc nhiệt, dùng tác nhân axit, bazơ được khảo sát, đánh giá và so sánh với mẫu giống không qua xử lý. Ngoài ra, khả năng lên men tạo  $H_2$  từ glucose và xylose, hai loại đường đơn chủ yếu của sản phẩm thủy phân cellulose và hemicellulose của các hỗn hợp giống vi sinh vật cũng được nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau nhằm đánh giá khả năng sử dụng nguồn sinh khối giàu lignocellulose. Các kết quả thu được sẽ là nền tảng cho các nghiên cứu phân lập loài vi khuẩn lên men tạo  $H_2$  hiệu quả, thử nghiệm lên men tạo  $H_2$  từ bùn thải hoặc phế phụ liệu nông lâm nghiệp giàu lignocelluloses.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Môi trường nuôi cấy Cheng [1] được chứa trong bình serum 120ml. Thành phần môi trường gồm: Glucose 5g/l, Cao nấm men 1g/l,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  12,61g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g/l,  $\text{NaCl}$  1g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,1g/l,  $\text{FeCl}_2$  0,021g/l,  $\text{Na}_2\text{S}$  0,3g/l, Resazurin 0,001g/l, Khoáng vi lượng 2 ml. Chỉnh pH về 6,5. Thành phần khoáng vi lượng:  $\text{H}_3\text{BO}_3$  2,86 g/l,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2,03 g/l,  $\text{FeCl}_3$  0,1 g/l,  $\text{ZnSO}_4$  0,08 g/l.

Ba loại bùn thải được dùng để thu nhận nguồn giống vi sinh vật có khả năng lên men tạo  $\text{H}_2$  gồm bùn thải sinh hoạt (đường Nguyễn Phi Khanh Quận 1, thành phố Hồ Chí Minh), bùn từ bồn lên men kỵ khí biogas (thị xã Gò Công tỉnh Tiền Giang) và bùn từ nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình (xã Đa Phước, huyện Bình Chánh, thành phố Hồ Chí Minh). Các nguồn thải trên được xử lý nhiệt trong khoảng 40-120°C trong 15-120 phút. Trong phương pháp xử lý bằng axit, pH của các mẫu bùn thải được chỉnh về pH 3 bằng  $\text{HCl}$  1N để ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Với tác nhân xử lý bằng bazơ, pH của các mẫu bùn thải được chỉnh về pH 10 bằng  $\text{NaOH}$  1N để ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Điều kiện xử lý bằng sục khí là sục không khí vào bùn thải trong 30 phút.

Mỗi mẫu bùn xử lý và mẫu không xử lý (5ml) được cấy vào bình serum chứa 40ml môi trường. Điều kiện kỵ khí trong khi cấy được đảm bảo bằng dòng khí nitơ liên tục thổi qua bình. Các thông số gồm hàm lượng  $\text{H}_2$  sinh ra, lượng đường tiêu thụ, hàm lượng sinh khối khô và pH môi trường sau nuôi cấy được xác định để đánh giá hiệu quả sinh  $\text{H}_2$  của các hỗn hợp giống.

Lượng  $\text{H}_2$  sinh ra được phân tích bằng máy sắc ký khí GC HP6890 Plus với đầu dò TCD (Thermo Conductivity Detector), cột nhồi bằng thép không gỉ Supelco 60/80 Carboxen-1000, 15'x1/8", SS (2,1mm I.D). Nhiệt độ đầu dò 250°C, nơi tiêm mẫu 95°C, buồng nhiệt 150°C,  $\text{N}_2$  là khí mang có độ tinh khiết 99,9995% với tốc

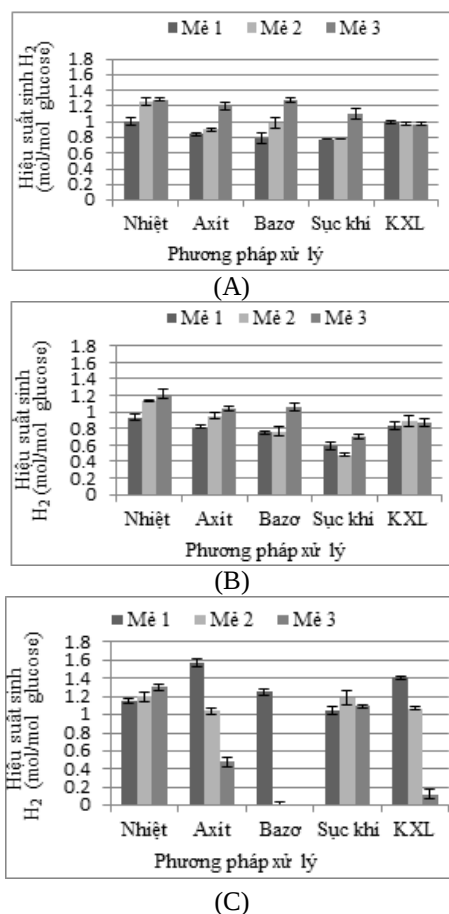
độ dòng là 50 ml/phút,  $\text{H}_2$  được lấy ra với thể tích 100  $\mu\text{l}$  bằng kim tiêm kín khí 100 $\mu\text{l}$ . Hỗn hợp khí chuẩn bao gồm  $\text{CO}_2$  10%,  $\text{CH}_4$  10%,  $\text{H}_2$  30%,  $\text{N}_2$  50%.

Lượng đường tiêu thụ được đánh giá bằng phương pháp Miller với thuốc thử DNS (axít dinitrosalicylic).

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Sự ổn định của hỗn hợp vi sinh vật thu nhận từ các loại bùn thải được xử lý và không xử lý thông qua quá trình nuôi cấy theo mẻ

Mẫu bùn thải sinh hoạt (Hình 1A) cho thấy nguồn giống được xử lý nhiệt 80°C trong 30 phút cho hiệu suất sinh  $\text{H}_2$  tăng dần, ổn định nhất so với các phương pháp khác sau 3 mẻ nuôi và đạt giá trị lớn nhất là 1,28 mol/mol glucose. Trong khi các phương pháp xử lý bằng axit, bazơ, sục khí có lượng khí hydro sinh ra thay đổi nhiều giữa các mẻ nuôi cấy cho thấy sự không ổn định về khả năng sinh  $\text{H}_2$  của nguồn giống. Các phương pháp này chọn lọc các hỗn hợp giống có khả năng chịu axit, bazơ và tồn tại được khi có oxy nên trong các bình nuôi cấy đều tồn tại một hệ vi sinh vật lên men tạo  $\text{H}_2$  khác nhau. Tuy nhiên các hỗn hợp trên lại không ổn định sau 3 mẻ nuôi. Đối với mẫu không xử lý sau 3 mẻ nuôi cấy cho thấy sự ổn định của nguồn giống nhưng lại cho hiệu suất thấp hơn mẫu được xử lý. Chứng tỏ trong hỗn hợp vi sinh thu từ mẫu bùn không qua xử lý có sự tồn tại của cả vi khuẩn tiêu thụ  $\text{H}_2$  và vi khuẩn sản xuất  $\text{H}_2$ . Trong nghiên cứu của Lo và cộng sự, nhóm tác giả đã thành công trong việc xử lý bùn từ bồn lên men tối liên tục ở 80°C trong 30 phút [9]. Tương tự như mẫu bùn thải sinh hoạt, mẫu bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas (Hình 1B) được xử lý nhiệt 60°C trong 30 phút cho hiệu suất sinh  $\text{H}_2$  cao nhất sau 3 mẻ nuôi (1,22 mol/mol glucose).



**Hình 1:** Hiệu suất sinh  $H_2$  của hỗn hợp vi sinh vật thu từ (A) mẫu bùn thải sinh hoạt, (B) mẫu bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas và (C) mẫu bùn nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình trong quá trình nuôi cấy mẻ.

Mẫu bùn nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình (Hình 1C) ở mẻ 1 mẫu xử lý bằng axit có lượng  $H_2$  sinh ra cao đạt hiệu suất 1,57 mol/mol glucose nhưng qua tới mẻ nuôi thứ 3 thì chỉ còn 0,48 mol/mol glucose, điều này xảy ra tương tự đối với mẫu không xử lý. Đối với mẫu xử lý bằng bazơ lượng  $H_2$  hầu như không có khi nuôi tới mẻ 3. Chứng tỏ ở các mẫu này thì nguồn giống đã bị giảm hoạt hoặc bất hoạt. Nguyên nhân có thể là do hoạt động của vi sinh vật làm axit hóa môi trường làm pH ban đầu từ 6,5 giảm còn 4,64 - 5,09, mà các hỗn hợp không có khả năng hoạt động ở pH thấp dẫn đến không còn  $H_2$  sinh ra. Cho thấy pH là yếu tố quan trọng ảnh hưởng lớn đến khả năng sinh  $H_2$  của hỗn hợp vi sinh vật.

Mẫu xử lý nhiệt  $60^\circ\text{C}$  trong 30 phút cho lượng  $H_2$  cao nhất và ổn định đạt 1,30 mol/mol glucose. Theo nghiên cứu của tác giả Cubillos (2010) đã tiến hành xử lý bùn từ nhà máy xử lý nước thải cũng ở  $100^\circ\text{C}$  trong 120 phút, hiệu suất đạt được là 1,07 mol/mol glucose [2].

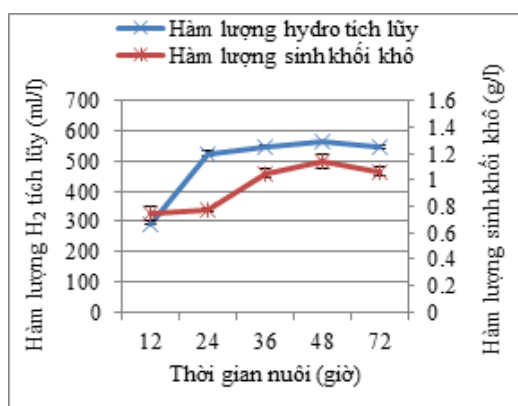
Sau các mẻ thì hàm lượng sinh khối khô của các mẫu sau nuôi đều được xác định và kết quả cho thấy sự biến đổi tương tự với hiệu suất sinh  $H_2$ . pH ban đầu của môi trường nuôi cấy là 6,5, pH sau nuôi cấy giao động trong khoảng 4-5. Điều này chứng tỏ hoạt động của vi khuẩn đã làm axit hóa môi trường. Điều quan trọng là pH có khả năng ức chế sự hoạt động của vi khuẩn tiêu thụ  $H_2$  trong mẫu không xử lý.

#### Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy

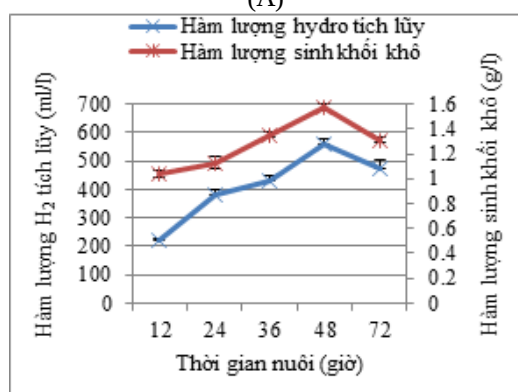
Khảo sát thời gian nuôi cấy nhằm xác định thời gian thu  $H_2$  với lượng cao nhất ở các mẫu bùn thải được xử lý bằng phương pháp thích hợp. Ở 3 mẫu bùn thải sinh hoạt (Hình 2A), mẫu bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas (Hình 2B), mẫu bùn nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình (Hình 2C) đều cho hàm lượng  $H_2$  tích lũy và hàm lượng sinh khối khô cao nhất sau 48 giờ nuôi cấy. Cho ta thấy hệ vi sinh vật trong các mẫu có thời gian phát triển giống nhau. Khi tăng thời gian nuôi lên 72 giờ thì hàm lượng  $H_2$  tích lũy giảm, chứng tỏ  $H_2$  đã tham gia vào con đường biến dưỡng khác.

#### Nồng độ cơ chất

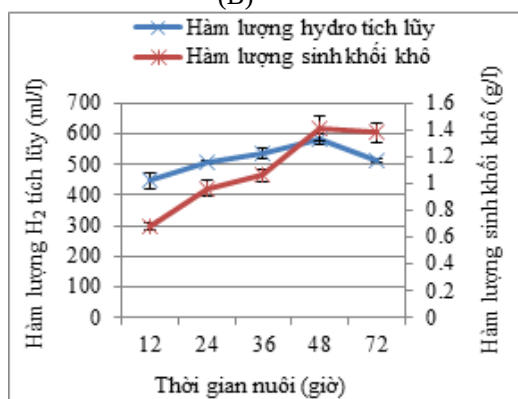
Một số tác giả cũng đã nghiên cứu sự ảnh hưởng của nồng độ cơ chất ban đầu lên quá trình lên men [1, 2, 9, 11]. Các nghiên cứu cho thấy khi nồng độ cơ chất ban đầu cao thì sẽ ức chế sự tạo thành  $H_2$ , làm giảm lượng  $H_2$  tạo ra. Do đó, kiểm soát nồng độ cơ chất ban đầu trong quá trình lên men là cần thiết.



(A)

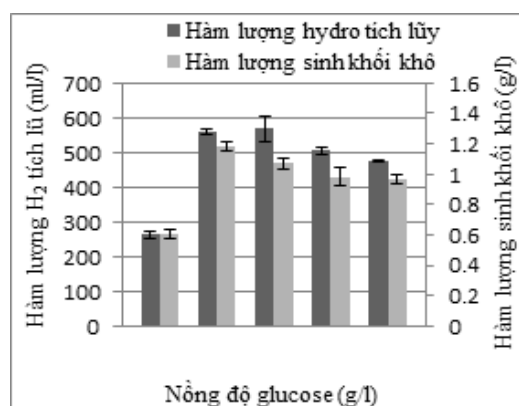


(B)

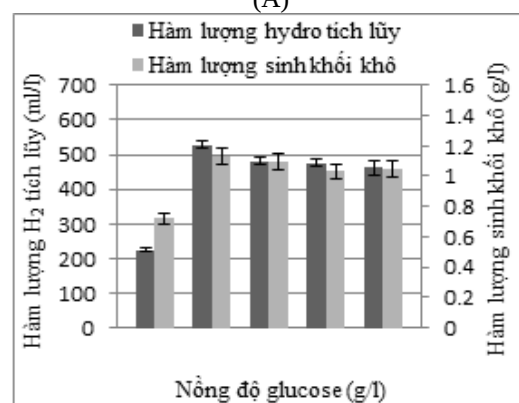


(C)

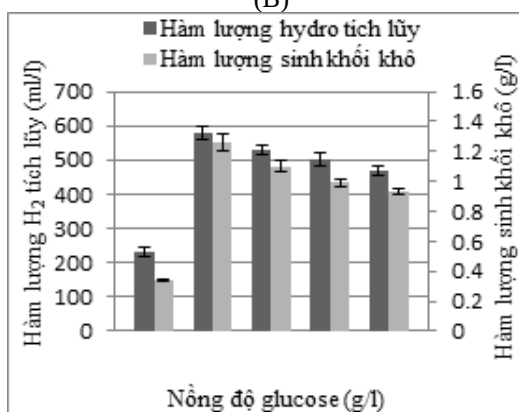
**Hình 2.** Hàm lượng  $H_2$  tích lũy và hàm lượng sinh khối khô của hỗn hợp vi sinh vật thu từ (A) mẫu bùn thải sinh hoạt, (B) mẫu bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas và (C) mẫu bùn nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình theo thời gian.



(A)



(B)



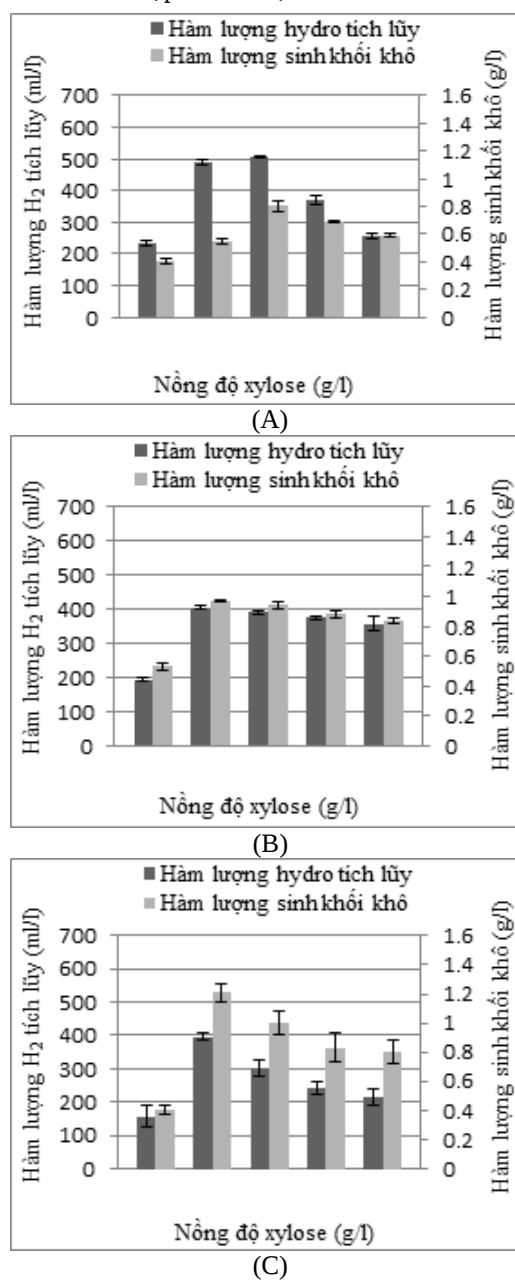
(C)

**Hình 3.** Hàm lượng  $H_2$  tích lũy và hàm lượng sinh khối khô của hỗn hợp vi sinh vật thu từ (A) mẫu bùn thải sinh hoạt, (B) mẫu bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas và (C) mẫu bùn nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình thu nhận từ các nồng độ glucose khác nhau.

Hình 3 cho ta thấy nồng độ glucose ban đầu là 5 g/l là nồng độ cơ chất tối ưu cho quá trình lên men của 3 hỗn hợp vi sinh vật trên. Với nồng độ glucose 2,5 g/l lượng  $H_2$  sinh ra và hàm lượng sinh khối thấp nhất so với các nồng độ khác, lượng axit béo dễ bay hơi sinh ra ít nên pH của môi trường không giảm nhiều từ 6,5 ban đầu còn lại 6,0-6,35, hiệu suất sử dụng đường cao 85-92%. Chứng tỏ lượng cơ chất quá thấp không đáp ứng đủ cho nhu cầu sử dụng của các hỗn hợp vi sinh vật. Khi tăng lượng glucose trong môi trường thì lượng  $H_2$  sinh ra cũng tăng và đạt cao nhất ở nồng độ 5 g/l hỗn hợp từ bùn thải sinh hoạt đạt 1,27 mol/mol glucose, bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas đạt 1,27 mol/mol glucose, bùn ở nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình 1,31 mol/mol glucose. Nghiên cứu của Junyapoon và cộng sự (2011) cũng cho thấy nồng độ glucose 5g/l là tối ưu cho nguồn giống thu từ bùn thải. Khi nồng độ cơ chất tăng lên 7,5 g/l, 10 g/l, 15 g/l thì lượng  $H_2$  sinh ra và hàm lượng sinh khối khô cũng giảm, lượng glucose còn lại trong môi trường nhiều 40 – 50%. Chứng tỏ nồng độ cơ chất ban đầu cao đã ức chế hoạt động của các hỗn hợp vi sinh vật trên. Các nghiên cứu [1, 2, 9, 11] cho thấy khi nồng độ cơ chất ban đầu cao thì sẽ ức chế sự tạo thành  $H_2$ , làm giảm lượng  $H_2$  tạo ra. Nghiên cứu của Ren và cộng sự, bùn từ nhà máy xử lý nước thải được xử lý nhiệt để tạo giống cho hàm lượng  $H_2$  sinh ra thấp, 189,5 ml trong 24 giờ nuôi cấy và nồng độ glucose là 10 g/l [13].

Việc tận dụng nguồn chất thải cho sự sản xuất  $H_2$  là con đường đầy triển vọng và đã được nghiên cứu nhiều do vừa có thể tạo ra được nguồn năng lượng rẻ tiền vừa có thể kết hợp xử lý môi trường. Trong đó, sinh khối có chứa lignocellulose là nguồn cơ chất có tiềm năng vì dồi dào, rẻ tiền, có thể phục hồi được và không gây ô nhiễm môi trường. Đường thủy phân từ sinh khối lignocellulose chủ yếu là glucose và xylose [12]. Vì vậy nghiên cứu này tiến hành thử

nghiệm khả năng chuyển hóa xylose thành  $H_2$  của các hỗn hợp vi sinh vật.



**Hình 4.** Hàm lượng  $H_2$  tích lũy và hàm lượng sinh khối khô của hỗn hợp vi sinh vật thu từ (A) mẫu bùn thải sinh hoạt, (B) mẫu bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas và (C) mẫu bùn nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình (C) ở các nồng độ xylose khác nhau.

Từ Hình 4 ta thấy được 2,5 g xylose trong 1 lít môi trường là không đáp ứng đầy đủ cho hỗn

hợp vi sinh vật hoạt động nên lượng khí  $H_2$  sinh ra và hàm lượng sinh khối khô thấp nhất so với các nồng độ khác, pH môi trường sau nuôi giảm không nhiều chứng tỏ sản phẩm biến dưỡng của quá trình lên men tối sinh  $H_2$  ít, lượng đường trong môi trường được sử dụng triệt để nhất. Ở hỗn hợp vi sinh vật thu từ bùn thải sinh hoạt, bùn ở bồn lên men kỵ khí biogas, bùn ở nhà máy xử lý chất thải Hòa Bình ở nồng độ xylose 5g/l cho hiệu suất sinh  $H_2$  là cao nhất lần lượt là 0,82; 0,71 và 0,66 mol/mol xylose. Lin và Cheng (2006) đã có kết quả khá cao khi nghiên cứu hỗn hợp vi sinh thu từ mẫu bùn thải nuôi cấy mẻ sử

dụng xylose là nguồn cơ chất (20 g COD/l), nhiệt độ nuôi  $35^{\circ}C$ , pH 6-7, hiệu suất sinh  $H_2$  đạt 1,92-2,25 mol/mol xylose.

### KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này cả 3 hỗn hợp vi sinh vật thu nhận từ nguồn thải đều có khả năng lên men sinh  $H_2$  trên glucose và xylose. Các phương pháp xử lý tạo ra nguồn giống như sốc nhiệt, xử lý bằng tác nhân axit và bazơ đều cho hỗn hợp giống sinh  $H_2$  hiệu quả hơn so với các giống thu nhận từ các mẫu không xử lý.

| Nguồn thải                | Điều kiện xử lý         | Thời gian nuôi cấy (giờ) | Nồng độ xylose (g/l) | Hiệu suất sinh $H_2$ (mol/mol xylose) | Nồng độ glucose (g/l) | Hiệu suất sinh $H_2$ (mol/mol glucose) |
|---------------------------|-------------------------|--------------------------|----------------------|---------------------------------------|-----------------------|----------------------------------------|
| Bùn thải sinh hoạt        | $80^{\circ}C$ , 30 phút | 48                       | 5                    | 0,82                                  | 5                     | 1,27                                   |
| Bùn ở bồn biogas          | $60^{\circ}C$ , 30 phút | 48                       | 5                    | 0,71                                  | 5                     | 1,27                                   |
| Bùn nhà máy XLCT Hòa Bình | $60^{\circ}C$ , 30 phút | 48                       | 5                    | 0,66                                  | 5                     | 1,31                                   |

### LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin gởi lời cảm ơn chân thành tới Phòng Thí Nghiệm Bộ Môn Sinh Hóa – Khoa Sinh Học,

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG-HCM đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho nghiên cứu được thực hiện.

# Collection of some microbial consortia producing hydrogen from anaerobic wastes

- Pham Thi Kim Hanh
- To Thi Ngoc Anh
- Nguyen Duong Tam Anh

University of Science, VNU-HCM

## ABSTRACT

The preparation of hydrogen-producing microbial consortia from three anaerobic digested sludges were carried out by four different pretreatment methods (heat – shock, acid, base and aeration treatment) as well as untreatment. The obtained microbial seeds have been estimated for their stability in fermentative hydrogen production by three consecutive batch fermentations under the same conditions of pH 6.5, room temperature and cultivation time and also investigated the  $H_2$  fermentation from different concentrations of glucose and

xylose. Three microbial seeds have the most effective  $H_2$  production at 5 g/l of glucose or xylose after 48 h cultivation time. The sewage sludge pretreated at 80°C for 30 minutes shows the hydrogen yield of 1.27 mol/mol glucose and 0.82 mol/mol xylose. The sludge in the biogas tank pretreated at 60°C for 30 minutes has the hydrogen yield of 1.27 mol/mol glucose and 0.71 mol/mol xylose. The sludge of the Hoa Binh waste treatment plant pretreated at 60°C for 30 minutes presents the hydrogen yield of 1.31 mol/mol glucose and 0.66 mol/mol xylose.

**Keyword:** Hydrogen, fermentation, microbial consortia, anaerobic waste.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. C.W. Ming, T.Z. Jing, L.K. Shing, C.J. Shu, Fermentative Hydro Production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolated from anaerobic sewage sludge, *International Journal of Hydro Energy*, 30, 1063-1070 (2005).
- [2]. C. Genoveva, A. Ramon, J. David, C. Rolando, T. Estela, R. Jorge, F.G. Ruiz, Simultaneous Effects of pH and Substrate Concentration on Hydro Production by Acidogenic Fermentation, *Electronic Journal of Biotechnology*, 13, (2010).
- [3]. F. Yaoting, L. Chenlin, L.J. Jyi, H. Hongwei, Z. Gaosheng, Optimization of Initial Substrate and pH Levels for Germination of Sporing Hydro-producing Anaerobes in Cow Dung Compost, *Bioresource Technology*, 91,189-193 (2004).
- [4]. H.H.P. Fang, T. Zhang, H. Liu, Microbial Diversity of a Mesophilic Hydro-Producing Sludge, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58, 112-118 (2002).

- [5]. F. Kargi, I.K. Kapdan, Biohydro Production from Wastes Materials, *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 569-582 (2005).
- [6]. H. Zhu, M. Béland, Evaluation of alternative methods of preparing hydro producing seeds from digested waste water sludge, *Int J Hydro Energy*, 31, 1980–1988 (2006).
- [7]. K.M. Sun, O.Y. Kwan, Y.Y. Su, L.D. Yeol, Fermentative Hydro Production from Anaerobic Bacteria Using a Membrane Bioreactor, *WHEC*, 13-16 (2006)
- [8]. L. Dawei, *Biohydrogen Production by Dark Fermentation from Organic Wastes and Residues*, Department of Enviornmental Engineering Technical University of Denmark, Denmark (2008).
- [9]. L.Y. Chung, C.W. Ming, H.C. Hsiung, C.S. Der, C.J. Shu, Dark H<sub>2</sub> Fermentation from Sucrose and Xylose using H<sub>2</sub>- producing Indigenous Bacteria : Feasibility and Kinetic Studies, *Water Research*, 42, 827-842 (2008).
- [10]. I. Ntaikou, G. Antonopoulou, G. Lyberatos, Biohydro Production from Biomass and Waste via Dark Fermentation: a review, *Waste and Biomass Valorization*, 1, 21-39 (2010).
- [11]. R.S. Prakasham, P. Brahmaiah, T. Sathish, R.K.R.S. Sambasiva, Fermentative Biohydro Production by Mixed Anaerobic Consortia: Impact of Glucose to Xylose Ratio”, *International Journal of Hydro Energy*, 34, 9354-9361 (2009).
- [12]. R.N. Qi, G.L. Cao, A.J. Wang, D.J. Lee, W.Q. Guo, Y.H. Zhu, Dark fermentation of xylose and glucose mix using isolated *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16, *International Journal of Hydro Energy*, 33, 6124-6132 (2008)
- [13]. N.Q. Ren, W.Q. Guo, X.J. Wang, W.S. Xiang, B.F. Liu, X.Z. Wang, J. Ding, Z.B. Chen, Effects of Different Pretreatment Methods on Fermentation Types and Dominant Bacteria for Hydro Production, *International Journal of Hydro Energy*, 33, 4318-4324 (2008).
- [14]. S. Sung, L. Raskin, T. Duangmanee, S. Padmasiri, J.J. Simmon, Hydro Production by Anaerobic Microbial Communities Exposed to Repeated Heat Treatments, *Water Environmental Research*, 79, 975-983 (2007).
- [15]. H. Yokoyama, N. Moriya, H. Ohmori, M. Waki, A. Ogino, Y. Tanaka, Community Analysis of Hydro-Producing Extreme Thermophilic Anaerobic Microflora Enriched from Cow Manure with Five Substrates, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77, 213-222 (2007).