

TỐI ƯU HÓA THÀNH PHẦN MÔI TRƯỜNG TẠO KHÍ HYDRO SINH HỌC CỦA CHỦNG VI KHUẨN KỊ KHÍ *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau Dat PHÂN LẬP TẠI VIỆT NAM BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐÁP ỨNG BỀ MẶT (RSM)

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

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *huyen308@gmail.com

²Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT: Thế kỷ 21 là kỷ nguyên của nguồn năng lượng tái tạo, trong đó năng lượng hydro sinh học là lựa chọn sáng giá có thể thay thế nguồn nhiên liệu hóa thạch đang ngày càng cạn kiệt. Hydro sinh học đang được nhiều nước quan tâm, bởi nó có nhiều ưu điểm và được tạo ra bằng con đường lên men vi sinh vật. Chuồng vi khuẩn Trau DAT phân lập ở Việt Nam có khả năng tạo khí H₂ sinh học trong điều kiện lên men kỵ khí. Thể tích khí cũng như thành phần khí tạo ra của chủng vi khuẩn này phụ thuộc nhiều vào các yếu tố dinh dưỡng và điều kiện môi trường nuôi cấy. Khi nghiên cứu ảnh hưởng của từng yếu tố dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy cho thấy glucose, cao nấm men, FeSO₄.7H₂O có tác động mạnh đến quá trình tạo khí H₂ của chủng vi khuẩn Trau DAT. Sử dụng phương pháp qui hoạch hóa thực nghiệm bằng đáp ứng bề mặt dựa trên kiểu tâm phức hợp với 3 biến là glucose, cao nấm men và FeSO₄.7H₂O, đã xác định được sự tương tác giữa các yếu tố nêu trên cùng tác động đến thể tích khí hydro sinh học do chủng Trau DAT tạo ra. Phương pháp qui hoạch thực nghiệm cũng xác định được hàm lượng tối ưu của 3 yếu tố này cho quá trình tạo khí hydro là glucose 12 g/l; cao men 2,5 g/l; FeSO₄.7H₂O 400 mg/l. Thể tích khí thu được khi lên men chủng Trau DAT với các thông số tối ưu nói trên là 176,02 ml/150ml môi trường. Lên men theo mẻ với thể tích 600 ml môi trường trong điều kiện tối ưu thu được 420 ml khí hydro.

Từ khóa: Hydrogen sinh học, RSM, vi khuẩn, Việt Nam.

MỞ ĐẦU

Hydro sinh học được coi như nguồn năng lượng thay thế trong tương lai do khi đốt cháy sinh ra năng lượng lớn, không tạo ra khí CO₂, vì vậy, không gây ô nhiễm môi trường. Nghiên cứu sản xuất hydro sinh học đã được nhiều quốc gia trên thế giới quan tâm, trong đó có quá trình sản xuất khí hydro sinh học từ các vi khuẩn kị khí [1, 6, 10]. Các kết quả nghiên cứu quá trình lên men thu khí hydro từ vi khuẩn kị khí cho thấy quá trình này bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố dinh dưỡng cũng như yếu tố môi trường. Do đó, tối ưu hóa các thành phần môi trường nuôi cấy nhằm nâng cao khả năng tạo khí hydro của các chủng vi khuẩn rất quan trọng [1, 2, 3, 6, 11]. Gần đây, nghiên cứu tối ưu các yếu tố môi trường để lên men tạo khí hydro sử dụng phương pháp qui hoạch thực nghiệm bằng đáp ứng bề mặt được nghiên cứu nhiều [7, 8, 12]. Sử dụng phương pháp toán học qui hoạch thực nghiệm cho phép xác định được điều kiện tối ưu của đa yếu tố một cách chính xác và mức độ ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình tạo khí hydro trong cùng một thời điểm. Thêm vào đó,

phương pháp này còn cho thấy vai trò tác động qua lại giữa các yếu tố trong cùng một thời gian nuôi cấy với số lần thí nghiệm ít, đánh giá được sai số trong mỗi lần thực nghiệm theo các tiêu chuẩn thống kê, xem xét ảnh hưởng của các yếu tố với mức độ tin cậy cần thiết, tiết kiệm thời gian và chi phí mà vẫn đem lại hiệu quả mong muốn. Bằng việc sử dụng phương pháp qui hoạch thực nghiệm, nhiều tác giả đã chỉ ra sự tương tác qua lại giữa các yếu tố môi trường có tác động đến quá trình tạo khí hydro. Đồng thời, sử dụng phương pháp này cũng đã xác định được nồng độ tối ưu cho các yếu tố dinh dưỡng và môi trường cho quá trình lên men tạo khí hydro của các chủng vi khuẩn [7, 8, 9, 12]. Trong công trình này, chúng tôi trình bày kết quả tối ưu hóa ba yếu tố glucose, cao nấm men, FeSO₄.7H₂O trong môi trường lên men tạo khí hydro sinh học từ chủng vi khuẩn kị khí *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT bằng phương pháp qui hoạch hóa thực nghiệm đáp ứng bề mặt (Response Surface Methodology-RSM) và kết quả phân tích thành phần khí khi lên men ở thể tích 600 ml dịch nuôi cấy trong điều kiện tối ưu tìm được.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng giống và môi trường nuôi cấy

Chủng vi khuẩn kỵ khí *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT được phân lập trên môi trường chọn lọc NMV từ mẫu phân trâu Đông Anh, Hà Nội [4].

Môi trường nuôi cấy chủng vi khuẩn Trau DAT là môi trường NMV [4].

Phương pháp

Nuôi cấy vi khuẩn kỵ khí trên môi trường chọn lọc NMV.

Sử dụng phương pháp qui hoạch hóa thực nghiệm bằng đáp ứng bề mặt để thiết kế ma trận thực nghiệm [4].

Xác định thể tích khí hydro bằng phương pháp thế chỗ nước (water displacement method) [4].

Phân tích 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 [4].

Thiết kế thí nghiệm và xử lý số liệu

Phương pháp qui hoạch thực nghiệm

Xác định hàm lượng tối ưu của 3 yếu tố ảnh hưởng glucose, cao nấm men, FeSO₄.7H₂O bằng cách sử dụng qui hoạch trực giao đối xứng, mỗi yếu tố tiến hành tại 3 mức (-1, 0, +1) như trong bảng 1. Qui hoạch thực nghiệm đưa ra bảng ma trận thực nghiệm gồm 20 thí nghiệm, trong đó: 16 thí nghiệm tại tâm (qui hoạch toàn phần 2⁴), 8 thí nghiệm tại điểm sao (2 thí nghiệm cho mỗi biến) trong đó có 3 thí

thí nghiệm lặp tại tâm, với 1 hàm mục tiêu là thể tích khí trên tổng thể tích môi trường nuôi cấy.

Các thí nghiệm cho nghiên cứu tối ưu được tiến hành với thể tích dịch môi trường 150 ml trong bình nuôi có thể tích 150 ml ở điều kiện kỵ khí, nhiệt độ 55°C với tỷ lệ tiếp giống (giống đang ở pha sinh trưởng) 10% (v/v), tuổi giống đang ở pha sinh trưởng.

Xử lý số liệu

Xử lý số liệu thực nghiệm bằng phần mềm thống kê Design-Expert 7.1 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, USA) để phân tích các hệ số hồi qui, bề mặt đáp ứng và tối ưu hóa với thuật toán hàm mong đợi.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Chọn miền khảo sát

Khi nghiên cứu điều kiện môi trường phù hợp cho tạo khí hydro của chủng *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT cho thấy, quá trình này phụ thuộc vào nhiều yếu tố như tỷ lệ tiếp giống, nguồn cacbon, nguồn nitơ, hàm lượng FeSO₄.7H₂O, pH... Trong đó, ba yếu tố glucose, cao nấm men và sắt ảnh hưởng mạnh đến khả năng sinh khí của chủng Trau DAT (kết quả chưa công bố). Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn miền khảo sát của ba yếu tố này để tiến hành tối ưu điều kiện nuôi cấy của chủng vi khuẩn Trau DAT như sau: glucose 8-12 g/l, cao nấm men 2,5-3,5 g/l, FeSO₄.7H₂O 400-600 mg/l với hàm mục tiêu là thể tích khí tạo ra trên thể tích dịch nuôi cấy. Mỗi tương quan giữa giá trị mã hóa và giá trị thực được chỉ ra ở bảng 1 và phương trình (1).

Bảng 1. Giá trị mã hóa và giá trị thực nghiệm của các yếu tố thực nghiệm

Biến số	Ký hiệu	Đơn vị	Ký hiệu giá trị mã hóa		
			-1	0	+1
Glucose (A)	X ₁	g/l	8	10	12
Cao nấm men (B)	X ₂	g/l	2,5	3	3,5
FeSO ₄ .7H ₂ O (C)	X ₃	mg/l	400	500	600

$x_i = (X_i - X_0) / \Delta X_i$ (1). Trong đó, x_i là giá trị mã hóa của yếu tố biến thiên thứ i , X_i là giá trị thật của yếu tố thứ i , X_0 là giá trị thật của X_i tại điểm trung tâm, ΔX_i là bước nhảy.

Thiết lập mô hình

Giá trị mã hóa, kết quả thiết kế với ma trận kế hoạch thực nghiệm được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2 gồm 20 thí nghiệm tương ứng là 20 giá trị khác nhau của ba yếu tố glucose, cao nấm men, FeSO₄.7H₂O và thể tích khí thu được

tương ứng với các giá trị ba yếu tố trên.

Ảnh hưởng của các yếu tố glucose, cao nấm men, FeSO₄.7H₂O cũng như sự tương tác giữa các yếu tố đến hàm mục tiêu (thể tích khí thu được) được tiến hành xây dựng bởi hàm hồi qui bậc 2 cho hàm mục tiêu (thể tích khí do chủng Trau DAT tạo thành) như sau:

$$Y_i = \beta_0 + \sum_{i=0}^k \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad (1)$$

Trong đó, Y_i là hàm mục tiêu, β₀ là hệ số tự do, β_i, β_{ii}, β_{ij} là các vector tham số của mô hình được xác định qua thực nghiệm. Mô hình thống kê chỉ có ý nghĩa và được sử dụng sau khi thỏa mãn các tiêu chuẩn thống kê (Fisher).

Bảng 2. Ma trận thực nghiệm với 3 yếu tố glucose, cao nấm men, FeSO₄.7H₂O và kết quả thí nghiệm

STT	Glucose		Cao nấm men		FeSO ₄ .7H ₂ O		Thể tích khí* (ml/150ml dịch nuôi)
	Nồng độ Glucose (g/l)	Ký hiệu mức tiền hành	Nồng độ cao nấm men (g/l)	Ký hiệu mức tiền hành	Nồng độ FeSO ₄ .7H ₂ O (mg/l)	Ký hiệu mức tiền hành	
1	6,64	-1	3,00	0	500,00	0	71,00
2	10,00	0	3,00	0	500,00	0	90,00
3	8,00	-1	2,50	-1	400,00	-1	65,68
4	8,00	-1	3,50	+1	400,00	-1	68,98
5	10,00	0	3,00	0	500,00	0	90,00
6	8,00	-1	3,50	+1	600,00	+1	80,00
7	12,00	+1	2,50	-1	600,00	+1	86,60
8	10,00	0	3,00	0	500,00	0	90,00
9	10,00	0	3,84	+1	500,00	0	89,00
10	10,00	0	3,00	0	331,82	-1	54,90
11	12,00	+1	3,50	+1	600,00	+1	88,60
12	10,00	0	3,00	0	500,00	0	90,05
13	8,00	-1	2,50	-1	600,00	+1	71,08
14	10,00	0	3,00	0	668,18	+1	73,00
15	13,36	+1	3,00	0	500,00	0	88,42
16	10,00	0	2,15	-1	500,00	0	85,00
17	12,00	+1	3,50	+1	400,00	-1	74,00
18	10,00	0	3,00	0	500,00	0	91,00
19	10,00	0	3,00	0	500,00	0	90,05
20	12,00	1	2,50	-1	400,00	-1	75,55

Phân tích sự có nghĩa của mô hình với thực nghiệm

Phân tích sự phù hợp của mô hình và sự có nghĩa của mô hình được đánh giá qua phân tích phần ANOVA (bảng 3) và các chỉ số tương quan (bảng 4). Sự có nghĩa của các hệ số hồi qui được kiểm định bởi chuẩn F, với các giá trị p < 0,05 cho biết các hệ số hồi qui có nghĩa. Như vậy, bảng 3 cho thấy giá trị “Model-F-value” là 994,2388 và mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 99,99% (p < 0,0001). Với tất cả các yếu tố glucose, cao nấm men,

FeSO₄.7H₂O và từng cặp các yếu tố này đều có giá trị p < 0,05 cho biết từng yếu tố này cũng như tương tác từng cặp yếu tố đều có nghĩa (bảng 3). Điều này được minh họa rõ hơn khi quan sát bề mặt đáp ứng ở hình 1a, hình 1b và hình 1c. Thêm vào đó chuẩn F cho “sự không tương thích-Lack of fit” của mô hình là 1,96 (p = 0,2388), điều đó chứng tỏ mô hình hoàn toàn tương thích với thực nghiệm. Kết quả thu được cho thấy, các yếu tố glucose, cao nấm men, FeSO₄.7H₂O đều có ảnh hưởng đến quá trình tạo khí hydro sinh học của chủng Trau DAT. Kết quả nghiên cứu của một số tác giả

khác cũng chỉ ra ảnh hưởng các yếu tố này đến quá trình tạo khí của nhiều chủng vi khuẩn khác nhau [6, 9].

Bảng 4 chỉ ra kết quả phân tích sự phù hợp

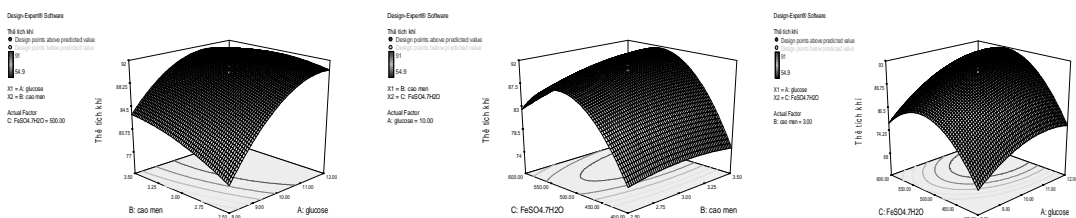
và có nghĩa của mô hình với thực nghiệm. Kết quả phân tích ANOVA cho thấy giá trị R^2 là 0,998 (R-Squared) ở bảng 4 gần bằng 1, chứng tỏ giá trị thể tích khí thu được từ thực nghiệm gần với giá trị dự đoán của mô hình.

Bảng 3. Kết quả phân tích ANOVA tối ưu quá trình tổng hợp các yếu tố

Yếu tố	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị p Prob > F	
Mô hình	2128,591	9	236,5101	994,2388	< 0,0001	Tin cậy
A-glucose	341,647	1	341,647	1436,212	< 0,0001	
B-cao men	27,55029	1	27,55029	115,8156	< 0,0001	
C-FeSO ₄ .7H ₂ O	384,991	1	384,991	1618,421	< 0,0001	
AB	17,31661	1	17,31661	72,7954	< 0,0001	
AC	10,64911	1	10,64911	44,76663	< 0,0001	
BC	10,51111	1	10,51111	44,18651	< 0,0001	
A^2	192,4262	1	192,4262	808,9193	< 0,0001	
B^2	16,70669	1	16,70669	70,23142	< 0,0001	
C^2	1226,703	1	1226,703	5156,803	< 0,0001	
Phần dư	2,378806	10	0,237881			
Sự không tương thích	1,575472	5	0,315094	1,961169	0,2388	Không tin cậy
Sai số thuần	0,803333	5	0,160667			
Tổng tương quan	2130,97	19				

Bảng 4. Kết quả phân tích sự phù hợp của mô hình với thực nghiệm

Thông số	Giá trị	Thông số	Giá trị
Độ lệch chuẩn	0,48773	R^2	0,998884
Giá trị trung bình	80,6455	R^2 hiệu chỉnh	0,997879
Hệ số biến thiên %	0,604783	R^2 dự đoán	0,99345
Tổng bình phương phần dư dự đoán (PRESS)	13,95849	Độ chính xác phù hợp (Adeq Precision)	101,5572



a. Glucose và cao nấm men b. FeSO₄.7H₂O và cao nấm men c. FeSO₄. 7H₂O và glucose

Hình 1. Bề mặt đáp ứng của từng cặp yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo khí hydro ở chủng Trau DAT

Từ các giá trị phân tích có nghĩa ở trên, giá trị hàm mong đợi được phần mềm DX7 đưa ra được biểu diễn theo phương trình cụ thể sau:

$$Y = -311,574 + 22,300X_1 + 31,931X_2 + 0,849X_3 - 1,471X_1X_2 + 0,006X_1X_3 + 0,023X_2X_3 - 0,913X_1^2 - 4,307X_2^2 - 0,0009X_3^2 \quad (2).$$

Trong đó, Y là thể tích khí mong đợi; X_1 , X_2 , X_3 là giá trị hàm lượng glucose, cao nấm men và $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Ngoài ra, 39 giải pháp tối ưu với hàm lượng 3 biến xác định là glucose, cao nấm men và

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ từ sử dụng thuật toán hàm mong đợi bằng phương pháp đáp ứng bề mặt cũng được đưa ra, kết hợp với phương trình hàm mong đợi đã tìm ra, thể tích khí tính được tương ứng với 3 biến xác định được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Các giải pháp tối ưu với hàm lượng 3 biến xác định và giá trị hàm mong đợi tối ưu

STT	Glucose (g/l)	Cao nấm men (g/l)	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg/l)	Thể tích khí (ml/150 ml dịch nuôi)
1	8,00	3,50	400,00	87,75
2	10,00	3,00	500,00	139,03
3	12,00	3,50	400,00	164,45
4	12,00	3,50	600,00	163,62
5	8,00	3,50	600,00	82,31
6	8,00	2,50	600,00	87,99
7	12,00	2,50	600,00	175,19
8	8,00	2,50	400,00	93,43
9	12,00	2,50	400,00	176,02
10	9,72	2,97	471,42	133,28
11	9,09	3,00	452,00	119,28
12	11,82	3,03	545,18	173,87
13	8,46	2,76	534,64	106,82
14	11,44	3,11	488,28	167,26
15	8,92	3,44	434,14	110,49
16	8,07	2,98	572,06	92,91
17	10,06	2,87	471,22	141,02
18	9,04	3,41	482,98	115,87
19	9,32	2,93	561,78	120,90
20	9,89	2,57	410,80	133,82
21	10,41	2,96	578,82	141,01
22	9,79	2,57	462,38	137,02
23	10,85	2,80	466,30	157,72
24	11,07	3,18	487,16	158,94
25	10,45	2,98	425,70	144,49
26	10,37	2,52	512,50	149,73
27	11,75	3,36	489,46	170,25
28	9,83	2,62	544,02	135,70
29	10,27	2,87	524,98	144,70
30	8,52	3,03	417,32	104,30
31	8,25	3,47	599,82	87,72
32	9,30	3,10	413,74	118,88
33	8,21	3,16	511,42	100,92
34	11,99	3,42	401,62	165,84
35	11,56	2,68	566,36	169,56
36	10,63	2,80	461,00	152,75
37	11,86	2,54	409,82	174,53
38	9,90	3,39	416,00	127,90
39	8,24	2,89	482,29	103,89

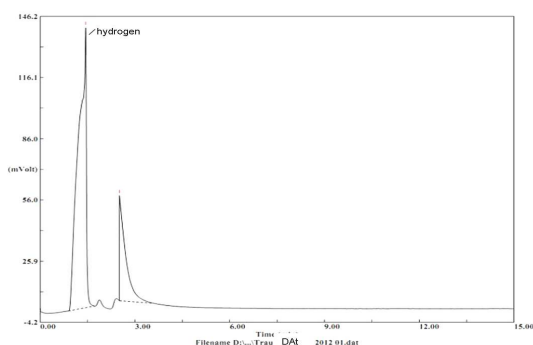
Bảng kết quả tối ưu cho thấy với 3 cặp giá trị biến glucose, cao nấm men, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ khác nhau các giá trị hàm mong đợi thu được là khác nhau. Bảng 5 cho thấy, 5 tổ hợp thành phần glucose, cao nấm men, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ tại các điểm có số thứ tự là 7, 9, 12, 27, 37 cho thể tích khí mong đợi cao hơn cả và tương đương nhau. Tiến hành kiểm tra tính đúng đắn của mô hình tối ưu, tiến hành các thí nghiệm kiểm

chúng tại 5 điểm tối ưu mô hình đưa ra ở bảng 5 từ đó chọn cặp biến cho kết quả hàm mong đợi tối ưu nhất (bảng 6).

Từ kết quả kiểm tra thực nghiệm ở bảng 6, giá trị tối ưu cho 3 biến được xác định như sau: glucose 12 g/l, cao nấm men 2,5 g/l, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 400 mg/l, thể tích khí thu được là 176 ml /150 ml dịch nuôi cấy.

Bảng 6. Kết quả kiểm tra thể tích khí thu được từ mô hình và thực tế

STT mô hình	Glucose (g/l)	Cao nấm men (g/l)	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg/l)	Thể tích khí theo thuật toán (ml/150ml dịch nuôi cấy)	Thể tích khí theo thực tế (ml/150ml dịch nuôi cấy)
7	12,00	2,50	600,00	175,19	175,00
9	12,00	2,50	400,00	176,02	176,02
12	11,82	3,03	545,18	173,87	172,60
27	11,75	3,36	489,46	170,25	169,00
37	11,86	2,54	409,82	174,53	174,17



Hình 2. Thành phần khí do chủng *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT tạo ra (từ trái qua phải phổ cao nhất là phổ H_2 , tiếp theo là phổ H_2S , cuối cùng là phổ CO_2) trong điều kiện tối ưu

Lên men qui mô 600 ml trong điều kiện tối ưu đã xác định

Sau khi đã xác định được hàm lượng tối ưu cho 3 yếu tố, chúng tôi tiến hành lên men ở thể tích dịch nuôi cấy 600 ml trong điều kiện tối ưu để xác định thể tích khí thu được cũng như phân tích thành phần khí do chủng vi khuẩn *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT tạo ra. Kết quả phân tích thành phần khí ở hình 2 cho thấy, thành phần khí hydro tạo ra chiếm 77,2% tổng thể tích khí, đạt 420 ml khí

hydro/600 ml dịch nuôi trong điều kiện tối ưu. Thể tích khí hydro tạo ra cao gần gấp 5 lần thể tích khí hydro trước khi tối ưu của chủng vi khuẩn này (thể tích khí hydro thu được khi chưa tối ưu là 85 ml/600 ml dịch nuôi cấy-kết quả chưa công bố). Kết quả này một lần nữa khẳng định việc sử dụng phương pháp toán học qui hoạch thực nghiệm hoàn toàn có ý nghĩa và mang lại hiệu quả cao trong nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố glucose, cao nấm men, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ đến quá trình tạo khí hydro sinh học của chủng vi khuẩn *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT.

KẾT LUẬN

Sử dụng phương pháp toán học qui hoạch hóa thực nghiệm bằng đáp ứng bề mặt đã xác định được hàm lượng tối ưu cho môi trường lên men tạo khí hydro sinh học của chủng *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT với 3 yếu tố glucose là 12 g/l, cao nấm men là 2,5 g/l, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 400 mg/l. Cả 3 yếu tố cũng như sự tương tác giữa các yếu tố này đều có ảnh hưởng đến quá trình tạo khí hydro của vi khuẩn này. Lên men ở thể tích 600 ml dịch nuôi cấy thu được lượng khí hydro là 420 ml, cao gấp 5 lần thể tích khí hydro khi chưa tối ưu

thành phần ba yếu tố glucose, cao nấm men, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, điều này chứng tỏ sử dụng phương pháp qui hoạch hóa thực bằng đáp ứng bề mặt phù hợp cho nghiên cứu tối ưu tạo khí hydro của chủng vi khuẩn Trau DAT.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện bởi sự tài trợ của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST 05.02/11-12) và sự hợp 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

- Alalayah M. W., Kalil S. M., Kadhum H. A., Jahim M. J., Alauj M. N., 2009. Effect of environment parameters on hydrogen production using *Clostridium Saccharoperbutylacetonicum* N1-4 (ATCC 13564). American J. Environ. Sci, 5(1): 80-86.
- Amorim C. L. E., Sader T. L., Silva L. E., 2011. Effect of Substrate Concentration on Dark Fermentation Hydrogen Production Using an Anaerobic Fluidized Bed Reactor. Appl. Biochem. Biotechnol., DOI 10.1007: 9511-9519.
- Guo Q. W., Ren Q. N., Wang J. X., Xiang S. W., Ding J., You Y., 2009. Optimization of culture conditions for hydrogen production by *Ethanoligenens harbinense* B49 using response surface methodology. Bioresour Technol., 100: 1192-1196.
- Nguyen Thi Thu Huyen, Dang Thi Yen, Nguyen Thi Yen, Vuong Thi Nga, Lai Thuy Hien, 2012. Using of response surface methodology for optimization of biohydrogen production by *Clostridium* sp. Tr2 isolated in Vietnam. TAP CHI SINH HOC, 34(4): 479-484.
- Nguyễn Thị Thu Huyền, Nguyễn Thị Yên, Vương Thị Nga, Đặng Thị Yên, Nguyễn Thị Trang, Lại Thuý Hiền, 2013. 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): 79-87.
- Jame R., Vilimova V., Lakatos B., Verecka L., 2011. The hydrogen production by anaerobic bacteria grown on glucose and glycerol. Acta. Chimica. Slovaca., 4(2): 145-157.
- Jo H. J., Lee S. D., Park D., Park M. J., 2008. Statistical optimization of key process variables for enhanced hydrogen production by newly isolated *Clostridium tyrobutyricum* JM. Inter. J. Hydrogen Energy, 33: 5176-5183.
- Long C., Cui J., Liu Y., Long M., Hu Z., 2010. Statistical optimization of fermentative hydrogen production from xylose by newly isolated *Enterobacter* sp. CN. Inter. J. Hydrogen Energy, 35(13): 6657-6664.
- Pan C. M., Fan Y. T., Xing Y., Hou H. W., Zhang M., 2008. Statistical optimization of process parameters on biohydrogen production from glucose by *Clostridium* sp. Fanp2. Bioresour. Technol., 99: 3146-3154.
- Puhakka A. J., Karadag D., Nissila E. M., 2012. Comparison of mesophilic and thermophilic anaerobic hydrogen production by hot spring enrichment culture. Inter. J of Hydrogen Energy, 37(21): 16453-16459.
- Sreela-or C., Imai T., Plangklang P., Reungsang A., 2011. Optimization of key factor affecting hydrogen production from food waste by anaerobic mixed cultures. Inter. J. Hydrogen Energy, 36: 14120-14133.
- Wang J., Wan W., 2009. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. Inter. J. Hydrogen Energy, 34: 235-244.

OPTIMIZATION OF MEDIUM COMPONENTS FOR HYROGEN PRODUCTION OF ANAEROBIC BACTERIAL STRAIN *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT ISOLATED FROM VIETNAM BY USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

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

¹Institute of Biotechnology, VAST

²Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh city

SUMMARY

The 21st century is era of renewable energy in which biohydrogen is the most potential candidate that may replace the fossil fuel. Many countries pay more attention to biohydrogen since it can produce by bacteria via fermentation and gas-biosynthesis has many advantages. Bacterial strain *Thermoanaerobacterium aciditolerans* Trau DAT isolated from Vietnam is capable of biohydrogen production in anaerobic condition. The gas volume as well as the gas components produced by the strain Trau DAT depends on nutrient and fermentation conditions. Hydrogen production of strain Trau DAT was highly affected by glucose, yeast extract and FeSO₄.7H₂O. By using response surface methodology (RSM) with central composite design, the mutual effects of these factors on hydrogen production of strain Trau DAT were studied. RSM analysis showed that the highest hydrogen production potential (176.02 ml/150 ml culture medium) was obtained under the condition of glucose 12 g/l, yeast extract 2.5 g/l, FeSO₄.7H₂O 400 mg/l. Under optimized condition, the maximum H₂ volume of 420 ml/600 ml culture medium was obtained by dark fermentation.

Keywords: Biohydrogen, RSM, bacteria, Vietnam.

Ngày nhận bài: 25-6-2013