

LÊN MEN PHÉ THẢI SAU THU HOẠCH BẰNG TỔ HỢP VI SINH VẬT ĐỂ TẠO THÀNH CỒN SINH HỌC

Nguyễn Thị Minh*, Nguyễn Thị Sáng, Nguyễn Thị Quyên

Khoa Tài nguyên và Môi trường, trường Đại học Nông nghiệp Hà nội

**Email: NguyenMinhvn@hotmail.com*

Ngày gửi bài: 13.04.2012

Ngày chấp nhận: 26.08.2012

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu là thực hiện quá trình lên men nhờ vi sinh vật để tạo ra cồn sinh học từ phế thải sau thu hoạch nhằm tái sử dụng phế thải một cách có hiệu quả nhất, hướng tới phát triển nông nghiệp bền vững và góp phần bảo vệ môi trường. Kết quả đạt được cho thấy hai tổ hợp vi sinh vật đã lựa chọn phù hợp cho quy trình lên men gồm: tổ hợp các giống vi khuẩn và nấm mốc có khả năng phân hủy chuyển hóa chất hữu cơ cao sử dụng cho giai đoạn tiền xử lý, thủy phân nguyên liệu ban đầu và tổ hợp các giống nấm men có khả năng lên men đường sau thủy phân tạo thành cồn. Thực nghiệm xử lý phế thải và lên men bằng tổ hợp vi sinh vật chứng tỏ rằng hoạt động của các giống vi sinh vật hữu ích trong quá trình lên men có tác dụng làm tăng hàm lượng các chất dinh dưỡng trong bã thải và đặc biệt hiệu quả sinh cồn cao hơn cả ở công thức xử lý phế thải và lên men ở điều kiện yếm khí cùng với việc bổ sung vi sinh vật theo phương thức gián đoạn phù hợp với quy trình lên men, hàm lượng cồn đạt được tăng từ 12 - 15 lần so với đối chứng.

Từ khóa: Cồn sinh học, lên men, phế thải nông nghiệp, tổ hợp vi sinh vật.

Fermentation of Agricultural Wastes after Harvesting by Microbes Combination for Bioethanol Production

SUMMARY

The aim of this study was executive the fermentation by microbes to produce Bioethanol from Agricultural wastes after harvesting in order to reuse the wastes in most efficiency, forward to develop the sustainable Agriculture and contribute into environmental protection. The results obtained suggested that two microbes combination were chosen, which suitable for fermentation process including: combination of bacteria and molds with high abilities in organic degradation could use in period of pretreatment and decomposing raw materials and yeasts combination with ability in fermentation of saccharose into ethanol. The test of inoculation and fermentation of Agricultural wastes by microbes combination proved that activities of useful microbes in fermentation lead to increasing nutrients content in remain wastes, especially effect of ethanol production was preeminent in treatment of inoculation in anaerobic condition, at the same time supplying microbes by interrupted way, which suitable with fermentation process, the ethanol content increased 12 - 15 times comparing to control.

Keywords: Agricultural wastes, bioethanol, fermentation, microbes combination.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một nước nông nghiệp với phần lớn dân số sống bằng nghề nông. Các ngành sản xuất nông nghiệp đóng vai trò không thể thiếu trong nền kinh tế quốc dân và ngày càng được chú trọng phát triển cho công cuộc hiện đại hóa đất nước cùng với hội nhập quốc tế. Bên cạnh lợi

ích to lớn là góp phần thúc đẩy sự phát triển kinh tế xã hội thì sự tăng trưởng nhanh chóng các ngành nông nghiệp đặc biệt là quá trình canh tác và sản xuất lương thực thực phẩm cũng dẫn tới lượng phế thải nông nghiệp ngày càng nhiều, trở thành một trong những nguyên nhân chính gây lên tình trạng ô nhiễm môi trường trầm trọng và gây lãng phí nguồn

nguyên liệu hữu cơ sẵn có, nếu không được xử lý và tận dụng triệt để. Vì vậy, cùng với việc đầu tư sản xuất, không thể không chú ý đến vấn đề nghiên cứu để xử lý phế thải nông nghiệp nói chung và phế thải sau thu hoạch nói riêng. Đồng thời, tận dụng nguồn dinh dưỡng còn tồn dư trong phế thải, nhằm hướng tới bảo vệ môi trường sinh thái, nâng cao chất lượng sống và sự phát triển nông nghiệp bền vững.

Cồn sinh học là một trong những nguồn nguyên liệu rất hữu ích và thân thiện với môi trường, đã và đang được quan tâm nghiên cứu sản xuất. Hơn nữa, cồn sinh học còn trở thành nguồn nguyên liệu cho ngành công nghiệp khác như dùng để sản xuất xăng sinh học,... góp phần giảm thiểu hiệu ứng nhà kính, một trong những nguyên nhân chính gây nên sự biến đổi khí hậu, đang là vấn đề cần giải quyết cấp bách mang tính toàn cầu. Trên thế giới, một số tác giả đã nghiên cứu công nghệ sản xuất cồn sinh học từ nguyên liệu Lignoxenlulo vốn là nguồn nguyên liệu dồi dào trong các phế phụ phẩm nông nghiệp theo phương pháp thủy phân và lên men nhờ vi sinh vật (Hiang & cs., 2009; Kumar & cs., 2008; Margeot và cs., 2009; Taylor và cs., 2009). Abouzied và Reddy (1986) đã thực hiện quá trình lên men trực tiếp khoai tây để tạo cồn bở hỗn hợp giống *Aspergillus niger* và *Saccharomyces cerevisiae*. Tuy nhiên, vấn đề tận dụng nguồn nguyên liệu sẵn có và phong phú từ phế thải hữu cơ trong sản xuất nông nghiệp để sản xuất cồn sinh học bằng công nghệ sinh học ở nước ta hiện nay chưa được quan tâm nghiên cứu.

Mặc dù, sản xuất cồn sinh học từ phế thải nông nghiệp có mặt hạn chế bởi lợi nhuận kinh tế chưa cao so với sử dụng nguồn nguyên liệu ban đầu từ ngũ cốc nhưng tiềm năng sản xuất cồn sinh học từ phế thải nông nghiệp lại rất lớn và là một hướng đi đầy gợi mở đang thu hút sự nghiên cứu của các nhà khoa học trên thế giới. Việc ứng dụng công nghệ sinh học trong xử lý và tận dụng phế thải nông nghiệp để sản xuất cồn sinh học mang lại nhiều lợi ích có ý nghĩa như giúp cho việc tái sử dụng các nguồn phế thải một cách hiệu quả nhất, đặc biệt là góp phần bảo vệ môi trường với phát triển bền vững. Vì thế, điều đáng quan tâm là nghiên cứu công

nghệ sản xuất sao cho tối ưu nhất, để thu hồi được sản phẩm cồn và tận dụng bã thải sau lên men làm phân bón hữu cơ, giảm chi phí sản xuất, đồng thời nâng cao hiệu quả kinh tế. Một trong những điều quan trọng hàng đầu của công nghệ này chính là quá trình thủy phân nguyên liệu ban đầu và lên men tiếp theo, để tạo thành cồn sinh học nhờ các chủng giống vi sinh vật hữu ích có hoạt tính sinh học cao.

Mục đích của nghiên cứu này để tạo cơ sở cho việc sản xuất cồn sinh học từ phế thải nông nghiệp, tránh lãng phí nguồn nguyên liệu hữu cơ đồng thời giảm thiểu ô nhiễm môi trường.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.2. Vật liệu

Các loại phế thải sau thu hoạch được lựa chọn để thực hiện lên men thành cồn sinh học gồm phế thải từ lúa (rơm rạ tươi), mía (thân, lá, ngọn, gốc mía) và một số loại rau củ (thân lá và sản phẩm thải loại của ngô rau, khoai tây, cà chua).

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu

Tính chất chủ yếu của một số loại phế thải sau thu hoạch được phân tích theo các phương pháp thông dụng hiện hành và tiêu chuẩn Việt Nam. Protein, tinh bột, đường tổng số,... được định lượng theo phương pháp Kjeldah, thủy phân axit, Ixekuz... tương ứng (Nguyễn Văn Mùi, 2001). Giống vi sinh vật (VSV) chịu nhiệt được tuyển chọn nhờ đánh giá trực tiếp các đặc tính sinh học, tính bền nhiệt và khả năng chuyển hóa lên men ethanol sau khi phân lập và thu thập từ các mẫu đồng ủ phế thải tự nhiên trên các môi trường chuyên tính khác nhau (môi trường Hansen, Czapek, Sabouraud, Nước thịt - Pepton, Gau I, Malt - thạch, Martin). Thời gian mọc, ngưỡng pH thích hợp, khả năng sinh trưởng, tính chịu nhiệt được xác định bằng cách nuôi cấy giống VSV trực tiếp trên môi trường thạch đĩa chuyên tính ở các điều kiện khác nhau. Hoạt tính enzyme được đánh giá theo phương pháp khuếch tán phóng xạ trên đĩa thạch (William, 1983). Đánh giá khả năng chuyển hóa lên men tạo cồn của các chủng giống VSV theo phương pháp thể tích của Kaler thông qua lượng CO₂ sinh ra sau 3h ở 20°C.

Giống vi sinh vật được định tên bằng phương pháp quan sát hình thái theo khóa phân loại và phản ứng sinh hóa đặc trưng của Cambell (1971), Schipper (1979), Peter (1991), Klicke (2004) và Bergay's (2009). Sinh khối vi sinh vật được xác định bằng phương pháp ly tâm và cân trọng lượng khô sau khi sấy ở 70°C trong điều kiện chân không. Hàm lượng cồn được đo bằng thiết bị gas chromatograph.

Tiến hành lên men các loại phế thải theo 3 phương pháp: Hảo khí, bán hảo khí và yếm khí. Các loại phế thải sau thu gom và phân loại được cắt thành các đoạn 3 - 5cm trước khi tiến hành lên men. Quá trình lên men được thực hiện trong bình thủy tinh 1Ll có gắn nút mài và ống dẫn lưu. Điều kiện hảo khí và bán hảo khí được đảm bảo bằng bộ sục khí thổi qua ống dẫn trên nút bình. Thực nghiệm xử lý và lên men hỗn hợp phế thải ở qui mô phòng thí nghiệm gồm 3 công thức theo 2 kiểu bổ sung vi sinh vật với 3 lần lặp lại nhằm đánh giá hiệu quả sản xuất cồn sinh học từ phế phụ phẩm sau thu hoạch.

CT 1: Đối chứng (không xử lý VSV);

CT 2: Bổ sung tổ hợp VSV 1 lần từ giai đoạn tiền xử lý nguyên liệu (tổ hợp VSV 1);

CT 3: Bổ sung tổ hợp VSV gián đoạn 2 lần vào lúc tiền xử lý và thủy phân nguyên liệu (tổ hợp VSV 2) và bắt đầu lên men (tổ hợp VSV 3).

Các chỉ tiêu đánh giá hiệu quả chuyển hóa phế thải của VSV (pH, OC, P₂O₅, K₂O) được phân tích sau 20 ngày xử lý và lên men theo phương pháp của viện Thổ nhưỡng Nông hóa (1998).

Kết quả nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm IRRISTART và Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tính chất của một số loại phế thải sau thu hoạch

Thành phần và tính chất của phế phụ phẩm nông nghiệp sau thu hoạch có ảnh hưởng lớn đến quá trình phân hủy, chuyển hóa và lên men tạo cồn của các chủng giống VSV.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy:

Thành phần và lượng dinh dưỡng còn lại trong phế thải đã được lựa chọn để nghiên cứu là khá lớn. Trong đó, thành phần xenlulo của một số loại phế thải ở mức khá, tinh bột và protein cũng chiếm một tỷ lệ không nhỏ, đặc biệt lượng đường tổng số còn tương đối nhiều (chiếm từ 6 - 12%). Với tính chất đặc trưng của các loại phế thải như trên rất thuận lợi cho vi sinh vật phân giải, chuyển hóa trong giai đoạn tiền xử lý thủy phân nguyên liệu cũng như lên men các loại đường được tạo thành sau thủy phân để tạo cồn sinh học.

3.2. Tuyển chọn và đánh giá các chủng giống vi sinh vật có khả năng chuyển hóa và lên men phế thải

Để đảm bảo thực hiện được quá trình lên men tạo cồn từ phế thải thì cần phải có các chủng giống VSV có hoạt tính chuyển hóa chất hữu cơ cao trong quá trình tiền xử lý và thủy phân nguyên liệu để tạo thành các dạng đường và xenlulo đơn giản làm cơ chất cho quá trình lên men, đồng thời cũng cần các giống VSV có khả năng lên men tốt sử dụng cho giai đoạn tạo thành cồn sinh học tiếp theo.

Bảng 1. Hàm lượng dinh dưỡng còn tồn dư trong phế thải sau thu hoạch

Loại phế thải	Nước	Tinh bột (% tươi)	Xenlulo (%)	Protein thô	Tro	Đường TS	Thành phần khác
Lúa (rơm rạ)	67,15	4,37	11,32	3,18	1,65	6,43	5,90
Mía (thân lá,...)	69,30	2,79	12,65	2,31	1,78	9,84	1,33
Cà chua (quả hỏng,...)	76,32	3,56	3,64	1,08	1,39	9,17	4,84
Ngô rau (thân lá,...)	68,75	5,22	6,53	3,44	1,07	11,86	3,13
Khoai tây (củ hỏng,...)	75,18	5,57	4,51	3,35	0,98	8,74	1,67

Bảng 2. Đặc tính sinh học của các chủng giống VSV được tuyển chọn

Giống VSV	Đặc tính sinh học					
	thời gian mọc (h)	pH thích ứng	Hoạt tính enzym	Tính chịu nhiệt (°C)	Khả năng sinh trưởng	Lên men (ml CO ₂ /3h)
<i>Streptomyces</i> sp.	60	6 ÷ 8	Amilaza, xenlulaza	37 ÷ 45	Glc, N hữu cơ, NO ₃ ⁻	-
<i>Bacillus subtilis</i>	24	5 ÷ 7	Amilaza, xenlulaza	45 ÷ 65	Glc, N hữu cơ, NO ₃ ⁻	8 - 11
<i>Saccharomyces</i> sp1.	30	4 ÷ 6	Amilaza	37 ÷ 45	Glc, tinh bột, N hữu cơ, NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	23 - 25
<i>Saccharomyces</i> sp2.	36	5 ÷ 7	Amilaza, xenlulaza	37 ÷ 65	Glc, NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	18 - 20
<i>S. cerevisiae</i>	48	3 ÷ 6	Amilaza	37 ÷ 45	Glc, tinh bột, N hữu cơ, NO ₃ ⁻	19 - 21
<i>Mucor</i>	56	5 ÷ 8	Amilaza, xenlulaza, proteaza	37 ÷ 45	Glc, N hữu cơ, NO ₃ ⁻	-
<i>Aspergillus niger</i>	72	6 ÷ 8	Xenlulaza	37 ÷ 45	Glc, saccharoza, N hữu cơ	-

Ghi chú: (-) Không lên men; Glc: Gluco

Hoạt tính enzym: Amilaza, xenlulaza (D > 2cm), Proteaza (D > 1,5cm)

Trên cơ sở phân lập, thu thập từ các mẫu đồng ủ phế thải nông nghiệp trong tự nhiên và đánh giá đặc tính sinh học của 43 chủng giống vi sinh vật đã phân lập và thu thập được, 7 chủng giống có khả năng chuyển hóa và lên men cao đã được tuyển chọn và định tên theo khóa phân loại để tạo thành các tổ hợp VSV dùng cho nghiên cứu gồm: 1 giống xạ khuẩn (*Streptomyces* sp.), 1 giống vi khuẩn (*Bacillus subtilis*), 2 giống nấm mốc (*Mucor*, *Aspergillus niger*) có khả năng chuyển hóa và thủy phân các nguyên liệu chủ yếu trong phế thải nông nghiệp đặc biệt là lignoxenlulo tạo thành các loại đường và xenlulo đơn giản hơn và 3 giống nấm men (*Saccharomyces* sp1., *Saccharomyces* sp2., *Saccharomyces cerevisiae*) có khả năng chịu nhiệt khá và lên men ethanol cao với tiềm năng rút ngắn thời gian lên men, thu hồi sản phẩm và giảm giá thành sản xuất cồn. Tính chất đặc trưng của các chủng giống này được trình bày ở bảng 2.

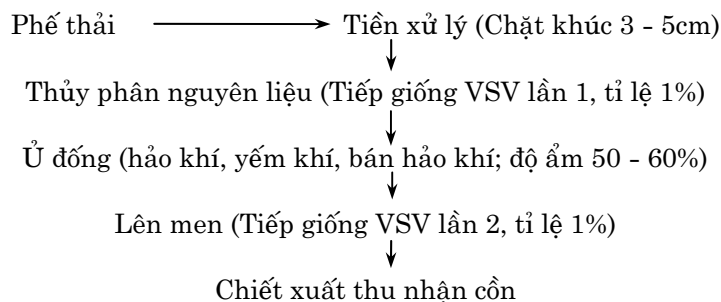
Nhìn chung, các chủng giống VSV được tuyển chọn để tạo thành tổ hợp VSV cho thực hiện quá trình xử lý và lên men tạo cồn đều hoạt tính sinh học cao với khả năng sinh trưởng phát triển khá tốt, có tính bền nhiệt, có thể sinh trưởng được trên nhiều nguồn C và N khác

nhau. Đa số các chủng giống thể hiện hoạt tính enzym phân giải tinh bột (D > 2 cm) và xenlulo (D > 1,5cm) khá rõ. Đặc biệt, các giống nấm men có khả năng lên men rất tốt (đạt 18 - 25ml CO₂/3h) và có tính bền nhiệt khá (chịu nhiệt 37 - 65⁰C), hứa hẹn cho hiệu quả sản xuất cồn cao.

3.3. Ảnh hưởng của phương pháp lên men đến sinh khối VSV và hiệu quả chuyển hóa cồn

Quá trình lên men phế thải được thực hiện theo quy trình lên men sơ bộ (Hình 1). Phế thải sau khi thu gom và phân loại được tiến hành tiền xử lý nguyên liệu bằng cách cắt khúc 3 - 5 cm để tạo điều kiện thuận lợi cho sự thủy phân. Quá trình thủy phân và lên men nguyên liệu đều nhờ tổ hợp vi sinh vật (được bổ sung với tỷ lệ 1% so với lượng nguyên liệu, đảm bảo độ ẩm 50 - 60%) ở mỗi công đoạn. Cồn thô được thu nhận nhờ hệ thống ống dẫn nối với bình thu nhằm tránh sự thất thoát tối đa.

Sinh khối vi sinh vật và hàm lượng cồn tạo thành thể hiện hiệu quả của quá trình chuyển hóa và lên men phế thải nhờ VSV. Từ kết quả ở bảng 3 có thể nhận thấy: Sinh khối VSV đạt được cao nhất trong điều kiện lên men hảo khí (đạt



Hình 1. Quy trình lên men sơ bộ

Bảng 3. Ảnh hưởng của phương pháp lên men đến hiệu quả sinh cồn

Loại phế thải	Sinh khối VSV (g/100g)			Hàm lượng cồn (g/100g)		
	Hảo khí	Bán HK	Yếm khí	Hảo khí	Bán HK	Yếm khí
Lúa	4,23	3,60	3,17	0,68	1,17	1,35
Mía	5,44	4,58	3,65	0,88	1,52	1,76
Rau củ	4,72	4,15	3,32	0,73	1,36	1,54

tương ứng 4,23 - 5,44%), tiếp đến là bán hảo khí và ít nhất ở điều kiện yếm khí. Tuy nhiên, lượng cồn tạo thành ngược lại cho kết quả cao nhất trong điều kiện yếm khí (1,35 - 1,76%) rồi đến bán hảo khí, cuối cùng là hảo khí và đạt hiệu quả cao nhất đối với phế thải từ cây mía.

Điều này được giải thích là do hàm lượng đường còn tồn dư trong phế thải từ cây mía là lớn nhất. Mặt khác, lượng sinh khối VSV và lượng cồn tạo thành trong các điều kiện lên men khác nhau phù hợp với đặc tính sinh học của các giống VSV sử dụng; trong đó các giống VSV có khả năng thủy phân và chuyển hóa nguyên liệu từ phế thải (*Streptomyces* sp., *Bacillus subtilis*, *Mucor* và *Aspergillus niger*) đều là các giống VSV hảo khí còn các giống nấm men (*Saccharomyces* sp1, *Saccharomyces* sp2, *Saccharomyces cerevisiae*) thường thực hiện quá trình lên men tốt nhất trong điều kiện yếm khí. Vì vậy, phương pháp lên men yếm khí được lựa chọn để thực hiện quá trình thực nghiệm xử lý và lên men hỗn hợp phế thải tạo thành cồn.

3.4. Thực nghiệm quá trình lên men hỗn hợp phế thải bằng tổ hợp VSV

Thực nghiệm xử lý phế thải sau thu hoạch được thực hiện theo phương pháp lên men yếm khí với 2 kiểu bổ sung VSV trong thời gian 20

ngày. Các giống VSV được tuyển chọn được nuôi cấy riêng rẽ trên môi trường chuyên tính dịch thể (với vi khuẩn và nấm men) hoặc trên môi trường bán rắn (với xạ khuẩn và nấm mốc) rồi được phối trộn để tạo thành các tổ hợp VSV dùng cho thí nghiệm như sau:

- Tổ hợp VSV 1: Hỗn hợp 7 giống VSV đã được tuyển chọn (xạ khuẩn *Streptomyces* sp., vi khuẩn *Bacillus subtilis*, nấm mốc *Mucor*, *Aspergillus niger* và các giống nấm men *Saccharomyces* sp1., *Saccharomyces* sp2., *Saccharomyces cerevisiae*)
- Tổ hợp VSV 2: Hỗn hợp các giống xạ khuẩn (*Streptomyces* sp.), vi khuẩn (*Bacillus subtilis*) và nấm mốc (*Mucor*, *Aspergillus niger*)
- Tổ hợp VSV 3: Hỗn hợp các giống nấm men (*Saccharomyces* sp1, *Saccharomyces* sp2., *Saccharomyces cerevisiae*)

Sau kết thúc, các chỉ tiêu dinh dưỡng và tỷ lệ cồn tạo thành được phân tích để đánh giá hiệu quả của quá trình lên men bởi tổ hợp giống VSV (Bảng 4).

Số liệu phân tích ở bảng 4 cho thấy:

- Sau 20 ngày ủ, phế thải ở các bình lên men có bổ sung giống VSV (CT2 và CT3) đều có màu đen sậm và xốp hơn bình đối chứng (CT 1). Ở các CT2 và CT3 có sự tham gia của các chủng

Bảng 4. Hiệu quả sản xuất cồn sinh học từ lên men phế thải bằng tổ hợp VSV

Công thức	pH	Hàm lượng tổng số (%)			Hàm lượng cồn (g/100g)
		OC	P ₂ O ₅	K ₂ O	
1	6,34	12,84	3,26	2,19	0,11
2	5,17	11,09	5,57	3,05	1,38
3	5,68	9,78	5,12	2,63	1,65
LSD 5%		0,40	0,30	0,14	0,10
CV%		1,70	3,40	2,70	4,70

giống VSV hữu ích nên mức độ mùn hóa, hàm lượng dinh dưỡng P và K đều đạt cao hơn so với CT1 (CT đối chứng không bổ sung giống VSV) ở mức có ý nghĩa: OC giảm 13,4 - 31,3%, P₂O₅ tăng 57,1 - 70,9% và K₂O tăng 16,7 - 39,3%. Kết quả này chứng tỏ VSV đã chuyển hóa mạnh các chất hữu cơ khó phân hủy trong phế thải thành các chất dễ tiêu và đơn giản hơn giúp rút ngắn thời gian thủy phân nguyên liệu và làm tăng hàm lượng dinh dưỡng của bã thải. Vì vậy, bã thải sau lên men và chiết xuất cồn hoàn toàn có thể tận dụng làm nguồn phân bón hữu cơ trong sản xuất nông nghiệp.

- Ở CT2, hàm lượng cacbon tổng số, P₂O₅, K₂O đều cao hơn so với CT3 nhưng tỷ lệ cồn tạo ra lại thấp hơn so với CT3. Sở dĩ có sự sai khác như vậy là do ở CT3 VSV được bổ sung gián đoạn theo các thời gian khác nhau phù hợp với quá trình lên men:

+ Tiếp giống lần 1 từ giai đoạn tiền xử lý và thủy phân nguyên liệu với tổ hợp VSV 2 là các giống có khả năng thủy phân nguyên liệu và chuyển hóa thành các dạng đường và xenlulo đơn giản hơn.

+ Tiếp giống VSV lần 2 ở giai đoạn lên men các cơ chất sau thủy phân thành cồn với tổ hợp VSV 3 là các giống có khả năng lên men ethanol.

Vì vậy, VSV có thể tận dụng được hết nguồn dinh dưỡng có trong phế thải và dễ dàng chuyển hóa tiếp thành cồn. Hàm lượng cồn đạt được tăng từ 12 - 15 lần so với đối chứng.

Kết quả đạt được trong nghiên cứu này tương đồng với báo cáo của Abouziied và Reddy

(1986) về hiệu quả đem lại khi thực hiện quá trình lên men bằng tổ hợp giống VSV cao hơn hẳn so với sự lên men bởi các giống VSV đơn lẻ. Mặt khác, hiệu quả lên men thường đạt tối đa khi bổ sung giống VSV phù hợp với các giai đoạn của qui trình lên men (Taylor và cs., 2009).

Như vậy, để đạt được hiệu quả cao trong sản xuất cồn sinh học từ phế phụ phẩm nông nghiệp, có thể lựa chọn công thức xử lý phế thải bằng tổ hợp giống VSV trong điều kiện yếm khí kết hợp với phương thức bổ sung các chủng giống VSV gián đoạn, phù hợp với quá trình chuyển hóa thủy phân nguyên liệu và lên men phế thải trong quy trình lên men.

4. KẾT LUẬN

Tuyển chọn được hai tổ hợp giống VSV phù hợp cho quy trình lên men phế thải sau thu hoạch để tạo cồn sinh học gồm: tổ hợp các giống vi khuẩn và nấm mốc (*Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, *Mucor*) có khả năng phân hủy chuyển hóa chất hữu cơ cao sử dụng cho giai đoạn tiền xử lý và thủy phân nguyên liệu ban đầu và tổ hợp các giống nấm men (*Saccharomyces* sp1., *Saccharomyces* sp2., *Saccharomyces cerevisiae*) có khả năng lên men đường sau thủy phân tạo thành cồn.

Xử lý phế thải và lên men bằng tổ hợp vi sinh vật có tác dụng làm tăng hàm lượng các chất dinh dưỡng trong bã thải và đặc biệt hiệu quả sinh cồn cao hơn cả ở công thức xử lý phế thải và lên men ở điều kiện yếm khí cùng với việc bổ sung vi sinh vật theo phương thức gián đoạn phù hợp với quy trình lên men. Hàm lượng cồn đạt được tăng từ 12 - 15 lần so với đối chứng không xử lý. Hơn thế nữa, bã thải sau lên men và chiết xuất cồn hoàn toàn có thể tận dụng làm phân bón hữu cơ, góp phần nâng cao hiệu quả kinh tế và giảm chi phí cho quá trình sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abouziied Mohamed M. and C. Adinarayana Reddy (1986). Direct Fermentation of Potato Starch to Ethanol by Cocultures of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. Applied and Environmental Microbiology, 52 (No 5), p. 1055-1059.

- Bergey (2009). *Bergey manual's of systematic Bacteriology*. Second edition. William B. Whitman. Springer, USA, p. 19-21.
- Campbell I. (1971). Comparison of Serological and Physiological Classification of the Genus *Saccharomyces*. *Journal of General Microbiology* 63, p. 189-198
- Hiang Chiung-Fang, Ting-Hsiang Lin, Gia-Luen Guo and Wen-Song Hwang (2009). Enhanced ethanol production by fermentation of rice straw hydrolysate without detoxification using a newly adapted strain of *Pichia stipitis*. *Bioresource Technology*, 100, p. 3914-3920.
- Klich Maren A. (2004). Identification of common *Aspergillus*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. The Netherlands.
- Kumar Raj, Sompal Singh and Om V. Singh (2008). Bioconversion of lignocellulosic biomass: Biochemical and molecular perspectives, *J Ind Microbiol Biotechnol*, 35, p. 377-391.
- Margeot Antonie, Barbel Hahn-Hagerdal, Maria Edlund, Rapheal slade, Frederic Monot (2009). New improvements for lignocellulosic ethanol. *Current Opinion in Biotechnology*, 20, p. 372-380.
- Nguyễn Văn Mùi (2001). *Giáo trình thực hành hóa sinh học*. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, 139 trang.
- Taylor Mark P., Kirsten L. Eley, Steve Martin, Marla I. tuffin, Stephanaie G. Burton and Donald A. Cowan (2009). Thermophile ethanologenesis future prospect for second-generation bioethanol production, *Trends in Biotechnology*.
- Schipper, M.A.A. (1979). *Thermomucor* (Mucorales). *Antonie van Leeuwenhoek J. Serol. Microbiol*, 45, p. 275-280.
- Peter Kampfer, Reiner M. Kroppensted and Wolfgang Dott E (1991). A numerical classification of the genera *Streptomyces* and *Streptoverticillium* using miniaturized physiological tests. *Journal of General Microbiology*, 137, p. 1831-1891.
- Viện Thổ nhưỡng Nông hóa (1998). *Sổ tay phân tích Đất, Nước, Phân bón, Cây trồng*. NXB. Nông nghiệp, Hà nội.