

Nghiên cứu khả năng thủy phân bằng axit loãng và bước đầu đánh giá hiệu quả sản xuất etanol sinh học từ thân cây ngô

Nguyễn Xuân Cự*

Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 19 tháng 11 năm 2010

Tóm tắt. Nghiên cứu này tập trung vào đánh giá hiệu quả sản xuất etanol sinh học từ thân cây ngô với phương pháp thủy phân bằng axit loãng ở các nồng độ axit và thời gian thủy phân khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy thân cây ngô sau thu hoạch có thành phần chính gồm 37,2% cellulose; 24,1% hemicellulose và 17,8% lignin. Quá trình thủy phân thân cây ngô bằng H_2SO_4 2% ở $121^\circ C$ trong 60 phút có hàm lượng đường khử hình thành khá cao (4,2 g/l) trong dung dịch có tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch là 1/10 (w/v). Đây được xem là điều kiện thích hợp cho quá trình thủy phân thân cây ngô bằng axit loãng.

Sử dụng *Saccharomyces Cerevisiae* lên men có thể chuyển hóa khoảng 70% lượng đường khử trong dung dịch thành etanol với nồng độ đạt tới 2,7% theo thể tích. Tính sơ bộ, muốn sản xuất 1 lít etanol sinh học cần khoảng 3,24 kg thân cây ngô.

Từ khóa: thủy phân, axit loãng, etanol sinh học, cây ngô.

1. Đặt vấn đề

Để ổn định và đảm bảo an ninh năng lượng đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng của con người cũng như các ngành công nghiệp, các nhà khoa học đang tập trung nghiên cứu tìm ra những nguồn năng lượng mới, trong đó nghiên cứu và phát triển nhiên liệu sinh học có nguồn gốc từ sinh khối động, thực vật là một hướng đi đầy triển vọng để thay thế một phần nguồn nhiên liệu hóa thạch đang dần cạn kiệt.

Sử dụng nhiên liệu sinh học mang lại nhiều lợi ích như giảm thiểu ô nhiễm môi trường, vì nhiên liệu sinh học không chứa các hợp chất thơm, hàm lượng lưu huỳnh thấp, không chứa

chất độc hại. Hơn nữa, nhiên liệu sinh học khi thải vào đất có tốc độ phân hủy cao gấp 4 lần so với nhiên liệu dầu mỏ nên giảm khả năng gây ô nhiễm môi trường. [1]

Một số công trình nghiên cứu trên thế giới cho thấy các loại phụ phẩm nông nghiệp giàu hợp chất hydratcacbon đều có thể sử dụng làm nguyên liệu để sản xuất etanol sinh học [2-4]. Thành phần của rơm rạ, thân cây ngô bao gồm phần lớn là cellulose, hemicelluloses, lignin nên được xem là nguồn nguyên liệu tiềm năng để sản xuất etanol sinh học. Việc nghiên cứu sử dụng phụ phẩm nông nghiệp giàu hợp chất lignocellulose để sản xuất etanol sinh học được thực hiện với 2 quá trình cơ bản: (1) thủy phân các hợp chất lignocellulose thành đường; và (2) lên men đường thành etanol. Trong báo cáo này

* ĐT: 84-4-38584995.

E-mail: cunx@vnu.edu.vn

chủ yếu tập trung vào quá trình sử dụng vi sinh vật lên men các hợp chất đường trong dung dịch thủy phân thân cây ngô bằng axit loãng thành etanol [3].

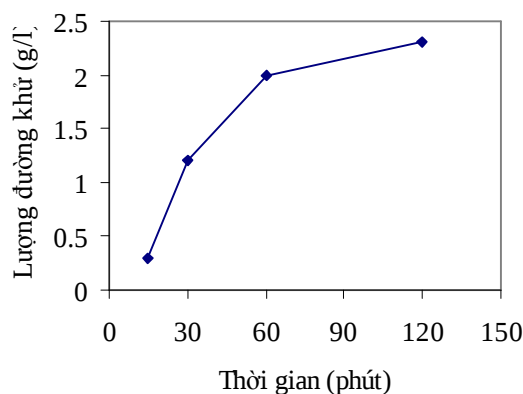
2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Quá trình chuyển hóa các hợp chất lignocellulose thành etanol đòi hỏi phải xử lý nguyên liệu thành đường đơn trước khi thực hiện quá trình lên men. Thân cây ngô được nghiền nhỏ rồi thủy phân bằng dung dịch axit loãng H_2SO_4 0,5 - 1 và 2% ở $121^\circ C$ trong thời gian 15-30-60 và 120 phút. Tỷ lệ nguyên liệu và dung dịch là 1/10 (w/v). Dung dịch sau thủy phân được trung hòa bằng KOH loãng cho quá trình lên men. Chủng nấm men sử dụng là *Saccharomyces Cerevisiae* do Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội cung cấp. Điều kiện lên men ở nhiệt độ $30^\circ C$; pH= 5,5 và thời gian trong 4 ngày.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của thời gian đến phản ứng thủy phân

Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian đến quá trình thủy phân được thực hiện ở điều kiện nồng độ H_2SO_4 0,5%, nhiệt độ $121^\circ C$ và thời gian 30-60-90 phút. Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của thời gian đến phản ứng thủy phân các hợp chất lignocellulose được trình bày ở hình 1. Hàm lượng đường khử trong dịch thủy phân tăng lên khi thời gian thủy phân tăng và đạt giá trị cao nhất (2,3 mg/l) sau 120 phút xử lý mẫu. Tuy nhiên phản ứng thủy phân xảy ra mạnh ở 60 phút đầu tiên, ứng với lượng đường khử tạo thành là 2,0 g/l, sau đó hàm lượng đường khử tăng lên không đáng kể. Do vậy, có thể thấy rằng điều kiện cho quá trình xử lý sơ bộ với H_2SO_4 0,5% ở điều kiện ở $121^\circ C$ trong 60 phút là có hiệu quả nhất.



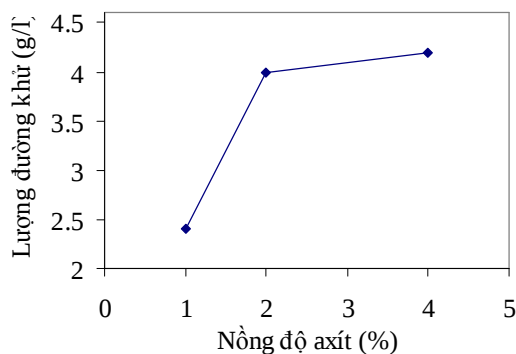
Hình 1. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến lượng đường khử

Như vậy phản ứng thủy phân các hợp chất lignocellulose xảy ra mạnh trong thời gian khoảng 60 phút đầu tiên của quá trình xử lý mẫu. Để đạt hiệu suất cao của quá trình thủy phân có thể duy trì phản ứng trong thời gian dài hơn. Tuy nhiên sẽ tiêu tốn nhiều thời gian cho quá trình xử lý mẫu, nên làm giảm hiệu quả của quá trình sản xuất. Do vậy tốt nhất có thể lựa chọn thời gian xử lý mẫu trong 60 phút để có thể đạt được hiệu suất và hiệu quả cao ở mức độ hợp lý.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ axit đến quá trình thủy phân

Phản ứng thủy phân ở các nồng độ axit H_2SO_4 loãng 1-2 và 4% trong thời gian 60 phút và nhiệt độ $121^\circ C$. Kết quả cho thấy nồng độ axit có ảnh hưởng rất mạnh đến phản ứng thủy phân các hợp chất lignocellulose, thể hiện ở lượng đường khử được tạo thành tăng nhanh theo nồng độ axit (Hình 2). Sau 60 phút thủy phân, lượng đường khử có giá trị cao nhất (4,2 g/l) ở nồng độ axit H_2SO_4 4%, tiếp đến (4,0g/l) ở nồng độ H_2SO_4 2% và thấp nhất (2,4 g/l) ở nồng độ H_2SO_4 1%. Hàm lượng đường khử tăng nhanh khi nồng độ axit tăng từ 1% lên 2%, sau đó tăng chậm.

Việc lựa chọn nồng độ axit thích hợp cho quá trình thủy phân có ý nghĩa lớn và ảnh hưởng đến hiệu quả sản xuất etanol từ thân cây ngô. Ở nồng độ axit thấp 0,5%, hiệu quả thủy phân đạt thấp. Ngược lại ở nồng độ axit cao 4%, quá trình thủy phân diễn ra mạnh nhưng sẽ tiêu tốn hóa chất và gây khó khăn cho quá trình trung hòa để lên men etanol sau này. Do vậy nồng độ axit 2% được xem là thích hợp cho quá trình thủy phân các hợp chất hydratcacbon trong thân cây ngô. Với kết quả thí nghiệm cho thấy ở điều kiện nồng độ axit H_2SO_4 2% ở 121 °C và thời gian 60 phút là thích hợp cho quá trình thủy phân các hợp chất lignocellulose. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu đã được công bố bởi Mandels và nnk. (1996), Cheng shung gong và nnk. (1981). [3,5]



Hình 2. Ảnh hưởng của axit đến lượng đường khử

3.3. Hiệu quả thủy phân hợp chất lignocellulose trong thân cây ngô

Khả năng chuyển hóa các hợp chất lignocellulose trong thân cây ngô được đánh giá thông qua kết quả phân tích hàm lượng cellulose, hemicellulose và lignin có trong mẫu nguyên liệu trước và sau khi thủy phân. Kết quả ở bảng 1 cho thấy trong điều kiện axit loãng 0,5% H_2SO_4 có khoảng 55,6% hàm lượng hemicellulose bị thủy phân. Trong khi lượng lignin và cellulose bị thủy phân ít hơn nhiều, tương ứng là 25,3 và 26,1%. Kết quả này cũng chỉ rõ khả năng dễ bị thủy phân của hemicellulose so với các hợp chất lignocellulose khác. Xét về tổng thể, trong điều kiện axit loãng H_2SO_4 0,5% chỉ có một phần các chất trong nguyên liệu ban đầu bị thủy phân, tương ứng với 32,3% lượng chất khô của nguyên liệu ban đầu

Bảng 1. Khả năng chuyển hóa các chất lignocellulose trong quá trình thủy phân

Hợp chất	Nguyên liệu ban đầu (gam)	Sau thủy phân bằng H_2SO_4 0,5%	Mức chuyển hóa	
			gam	%
Cellulose	37,2	27,5	9,7	26,1
Hemicellulose	24,1	10,7	13,4	55,6
Lignin	17,8	13,3	4,5	25,3
Chất khác	20,9	16,2	4,7	22,5
Tổng	100,0	67,7	32,3	32,3

Quá trình thủy phân các chất lignocellulose xảy ra mạnh hơn ở nồng độ axit 2%. Lúc này Quá trình xử lý mẫu trong điều kiện này đã có 73,4% hàm lượng hemicellulose bị thủy phân, tiếp đến lignin là 43,3%. Tuy nhiên quá trình này cũng chỉ thủy phân được khoảng 39,5%

lượng cellulose ban đầu trong cây ngô (Bảng 2). Cũng từ kết quả ở bảng 2 cho thấy quá trình thủy phân mẫu trong điều kiện axit H_2SO_4 2% và thời gian 60 phút có thể chuyển hóa được 51,4% các chất trong nguyên liệu ban đầu.

Bảng 2. Hiệu quả chuyển hóa các hợp chất lignocellulose từ cây ngô trong quá trình thủy phân

Hợp chất	Nguyên liệu ban đầu (gam)	Sau thủy phân bằng H_2SO_4 2%	Mức chuyển hóa	
			gam	%
Cellulose	37,2	22,5	14,7	39,5
Hemicellulose	24,1	6,4	17,7	73,4
Lignin	17,8	10,1	7,7	43,3
Chất khác	20,9	9,6	11,3	54,1
Tổng	100,0	48,6	51,4	51,4

3.4. Hiệu suất của quá trình lên men

Để đánh giá khả năng lên men etanol, nghiên cứu sử dụng chủng nấm men *Saccharomyces Cerevisiae*, ở $30^\circ C$ và pH= 5,5 trong thời gian 4 ngày. Các dịch lên men được ký hiệu như sau:

Dịch lên men 1 (LM1): lên men từ dịch thủy phân bằng H_2SO_4 0,5%.

Dịch lên men 2 (LM2): lên men từ dịch thủy phân bằng H_2SO_4 2%

Dịch lên men 3 (LM3): lên men từ hỗn hợp dung dịch thu được từ quá trình xử lý mẫu bằng H_2SO_4 0,5% và H_2SO_4 2%, theo tỷ lệ 1:1 (v/v).

Kết quả nghiên cứu cho thấy giá trị pH giảm dần từ 5,5 xuống còn 4,4 sau 4 ngày đầu kể từ khi bổ sung chủng nấm men vào dung dịch. Trong phạm vi pH như vậy, nấm men phát triển khá tốt. Tuy nhiên từ thời gian này, do pH của các dịch lên men thấp đã hạn chế sự phát triển của nấm men.

Không có sự khác nhau đáng kể nào về hiệu suất lên men trong dung dịch LM2 và LM3 với hàm lượng đường khử là 4,2 và 3,1 g/l. Tuy nhiên hiệu suất lên men ở dịch LM1 chỉ là 48,5%, thấp hơn nhiều so với 2 dịch lên men LM2 và LM3 (Bảng 3). Nguyên nhân có thể là do hàm lượng đường thấp nên hạn chế sự sinh trưởng của các vi sinh vật lên men.

Bảng 3. Hiệu suất chuyển hóa đường khử trong quá trình lên men (4 ngày)

Tên công thức lên men	Hàm lượng đường khử (g/l)			Hiệu suất chuyển hóa đường khử (%) $(b/a)*100$
	Trong dịch trước khi lên men (a)	Trong dịch sau khi lên men	Chuyển hóa (b)	
LM1	2,0	1,03	0,97	48,5
LM2	4,2	1,16	3,04	72,4
LM3	3,1	0,86	2,24	72,3

3.5. Hàm lượng etanol trong dịch sau lên men

Hàm lượng etanol tạo thành trong dịch sau lên men được xác định bằng phương pháp điểm sôi và phương pháp tỷ trọng kế. Kết quả được trình bày ở bảng 4. Lượng etanol trong dịch sau lên men vào khoảng 1,9- 4,2 % về thể tích. Nếu so với sản xuất etanol từ nguyên liệu tinh bột có thể đạt tới 6-9,5% về thể tích. Như vậy, lượng etanol sản xuất từ nguyên liệu thân cây ngô là không cao (chỉ vào khoảng gần 50% so với sản

xuất từ tinh bột). Tuy nhiên kết quả này cũng chỉ ra tiềm năng lớn cho việc sản xuất etanol sinh học từ thân cây ngô vì đây là nguồn nguyên liệu rất dồi dào và không ảnh hưởng đến cung cấp lương thực cho con người.

Từ các kết quả trình bày ở trên về hiệu suất của quá trình thủy phân và quá trình lên men có thể tính sơ bộ nhu cầu nguyên liệu để sản xuất etanol sinh học từ thân cây ngô vào khoảng 12 kg nguyên liệu thô/1lit etanol tinh khiết.

Bảng 4. Hàm lượng etanol trong dịch sau lên men

TT	Tên công thức	Hàm lượng etanol (%V)		
		Phương pháp điểm sôi	Phương pháp tỷ trọng kế	Trung bình
1	LM1	2,1	1,7	1,9
2	LM2	2,8	2,4	2,6
3	LM3	2,7	2,2	2,5

4. Kết luận

Thân cây ngô sau thu hoạch có thành phần chính gồm 37,2% cellulose; 24,1% hemicellulose và 17,8% lignin. Quá trình thủy phân thân cây ngô bằng H_2SO_4 2 % ở $121^{\circ}C$ trong 60 phút có hàm lượng đường khử hình thành khá cao (4,2 g/l) khi tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch là 1/10 (w/v). Đây được xem là điều kiện thích hợp cho quá trình thủy phân thân cây ngô bằng axit loãng.

Sử dụng *Saccharomyces Cerevisiae* lên men có thể chuyển hóa khoảng 70% lượng đường khử trong dung dịch và lượng etanol tạo thành có nồng độ 2,5% thể tích. Dựa trên các kết quả nghiên cứu này, có thể tính sơ bộ để sản xuất 1 lít etanol sinh học cần khoảng 3,24 kg nguyên liệu từ thân cây ngô.

Lời cảm ơn

Các tác giả bày tỏ lòng biết ơn Đại học Quốc gia Hà Nội đã tài trợ cho nghiên cứu này

trong phạm vi đề tài Nghiên cứu khoa học trọng điểm QGTD 09-06.

Tài liệu tham khảo

- [1] P.C. Badger, Trends in new crops and new uses, Etanol from cellulose: *A general review*, 2002, p. 17–21.
- [2] Berg, Jeremy M.; Tymoczko, L. John, Stryer, Lubert, *Biotechnology for Fuels and Chemicals-Applied Biochemistry and Biotechnology*, Biochemistry, Springer, 2002.
- [3] Cheng-shung gong, li-fu chen, Michael C. Flickinger, Ling- Chang Chiang, and George T. Tsao, *Applied and environmental microbiology: Production of Etanol from D-Xylose by Using D-Xylose Isomerase and Yeasts*, 1981, p. 430-436
- [4] D. James Kerstetter, Ph.D. John Kim Lyons, Wheat straw for etanol, Production in Washington: *A Resource, Technical, and Economic Assessment*, 2001, p.18.
- [5] R. Mandels Andreotii, Rochee, “*Enzymatic conversion of cellulose matterials*”, New York, p.79-85.

The research on hydrolytic ability by dilute acid and initial evaluation of bioethanol production from corn stover

Nguyen Xuan Cu

Faculty of Environmental Sciences, Hanoi University of Science, VNU, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

This research focus on evaluating the effects of time-consuming and acid concentration on hydrolysis of corn stover and the effectiveness of fermentation process to ethanol production from hydrolyzed solutions.

The results shows that corn stover contains about 37.2% of cellulose; 24.1% of hemicellulose and 17.8% of lignin. The suitable conditions for hydrolysis of corn stover is at concentration of H_2SO_4 2 %, temperature of 121°C and consuming time of 60 minutes. The total reducing sugar concentration in the hydrolyzed solution is about 4.2 g/l in the treatment of corn stover/solution of 1/10 (w/v).

The *Saccharomyces Cerevisiae* can convert about 70% of total reducing sugar to produce ethanol with the concentration of 2.7% in volume. Theoretically, 3.24 kg of dry matter of corn stover can produce 1 litter of ethanol by this processes.

Keywords: hydrolysis, dilute acid, bioethanol, corn stover.