

# TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH KỸ THUẬT SẢN XUẤT BIOETHANOL TỪ CÂY LÚA MIẾN NGỌT (*Sweet Sorghum*)

Phan Phước Hiền<sup>1</sup>, Trần Mạnh Cường<sup>2</sup>

**Tóm tắt:** Sử dụng ưu thế về hàm lượng đường khử cao trong cây lúa miến ngọt (*Sweet Sorghum*), đề tài đã tiến hành khảo sát tối ưu hóa một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men bio-ethanol từ nguồn nguyên liệu này với mục đích phát triển nguồn nhiên liệu thân thiện với môi trường-Nhiên liệu sinh học.

Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng đường khử trong dịch syrup lúa miến đạt 49,83% về khối lượng. Thời gian nhân sinh khối tối ưu của chủng *Saccharomyces cerevisiae* trong dịch đường hiếu khí là 3 giờ trước khi đi vào quá trình lên men kỵ khí. Nồng độ nấm men 0,2g/L và thời gian lên men 108 giờ là tối ưu cho quá trình lên men dịch lúa miến. Nồng độ dịch lúa miến lên men tốt nhất tại 20<sup>o</sup> Brix.

**Từ khóa:** bioethanol, lúa miến ngọt, *Saccharomyces*, quá trình lên men, hiếu khí, nồng độ nấm men

**Abstract:** Using the advantages of reducing sugars in Sweet Sorghum to optimize some of the main factors that affect the ethanol fermentation process from the sorghum syrup for the development of environmentally-friendly fuel - Biofuels.

The results showed that the reducing sugar content in sorghum syrup was 49.83% in terms of volume. The optimum time of biomass fermentation for *Saccharomyces cerevisiae* in the aerobic milieu is 3 hours before the process of anaerobic fermentation. Yeast concentration of 0.2g/L and fermentation time of 108 hours is optimal for fermentation process of sorghum syrup. The best concentration of sorghum syrup for fermentation is 20<sup>o</sup>Brix.

**Key words:** Bioethanol, Sweet Sorghum, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation process, yeast concentration

## 1. Đặt vấn đề:

Vấn đề năng lượng tại hầu hết các quốc gia trên thế giới luôn được đặt lên hàng đầu. Với những ưu điểm thân thiện với môi trường, ít gây hiệu ứng nhà kính và khả năng tái sinh gần như vô tận, nhiên liệu sinh học đang là lựa chọn phát triển hàng đầu để thay thế cho nguồn nhiên liệu hóa thạch đang dần cạn kiệt.

Theo Viện nghiên cứu cây trồng quốc tế cho các vùng nhiệt đới bán khô hạn (ICRISAT) ở Ấn Độ, cây có thể trồng trong điều kiện khô hạn, khí hậu nóng, chịu được mặn và ngập úng. Chỉ tiêu thụ ½ lượng nước và phân bón so với bắp và mía đường. Cũng theo ICRISAT, sản xuất ethanol

<sup>1</sup> Phó Giáo sư - Tiến sĩ Trường Đại học Nam Cần Thơ

<sup>2</sup> Giảng viên Trường Đại học Nam Cần Thơ

từ lúa miến ngọt mang lại hiệu quả kinh tế hơn so với các loại cây nguyên liệu khác. Cụ thể tại Ấn Độ, chi phí nguyên liệu sản xuất 1 gallon (3,78 lít) ethanol từ lúa miến ngọt tính ra là 1,74 USD so với mức 2,19 USD đối với cây mía đường và 2,12 USD đối với bắp. Đặc biệt, sử dụng để sản xuất năng lượng hoàn toàn không ảnh hưởng an ninh lương thực như các loại cây lương thực khác.

Tuy nhiên, trong sản xuất ethanol, cần lưu ý lúa miến ngọt có một nhược điểm là phải được điều chế trong vòng 24 giờ sau thu hoạch, nếu không thành phần đường trong thân cây gần như sẽ bị phân giải hết.

## 2. Vật liệu và phương pháp

### 2.1. Nguyên liệu:

Lúa miến 65<sup>0</sup>Bx: Dịch syrup lúa miến được cung cấp bởi Công ty TNHH Điện hơi Công nghiệp Tín Thành. Dịch được bảo quản tại nhiệt độ phòng và pha loãng để hạ độ brix xuống đến ngưỡng yêu cầu của từng thí nghiệm.

### 2.2. Thiết bị và hóa chất

Bếp đun cách thủy, brix kế, máy bơm mini, cân điện tử, máy quang phổ hấp thụ UV – VIS, máy hấp tiệt trùng

Chủng *Saccharomyces sp*; Nutri Yeast: AYP 1000™ (C.ty Tín Thành), thuốc thử acid dinitrosalisyllic (DNS), NaOH 2N, sodium potassium tartrate, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, tủ sấy 105<sup>0</sup>C. Các thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm bộ môn Công nghệ Hóa học Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM.

### 2.3. Phương pháp phân tích

#### Xác định hàm lượng đường bằng Bix kế

Độ Brix (°Bx) biểu thị hàm lượng đường chứa trong dung dịch. 1°Bx là 1g sucrose trong 100gram dung dịch và được hiểu là hàm lượng đường trong dung dịch theo phần trăm khối lượng (%w/w). Nếu dung dịch chứa những thành phần chất rắn hòa tan khác, khi đó °Bx chỉ là giá trị xấp xỉ hàm lượng đường chứa trong đó.

#### Phương pháp đường chuẩn

Đồ thị theo hệ tọa độ A - C (mật độ quang - nồng độ) phải là đường thẳng đi qua gốc tọa độ. Để lập đồ thị A - C ta chọn hệ các dung dịch chất nghiên cứu có nồng độ chính xác C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>,... C<sub>n</sub>, xác lập các điều kiện để tạo các hợp chất có hiệu ứng hấp thụ bức xạ điện từ ở λ<sub>max</sub> chọn trước. Đo mật độ quang tương ứng A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>,... A<sub>n</sub>:

Nồng độ	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	...	C <sub>n</sub>
Mật độ quang	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	...	A <sub>n</sub>

#### Phương pháp đo nồng độ cồn

Nguyên tắc hoạt động của phù kế dựa vào lực đẩy Ácsimét. Phù kế nổi cân bằng khi trọng lực của nó bị cân bằng bởi trọng lượng của thể tích chất lỏng bị nó chiếm chỗ. Nếu khối lượng riêng chất lỏng càng nhẹ, thể tích chiếm càng lớn và phù kế càng chìm sâu.

## Phương pháp thống kê - xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Jmp (Lê Quan Hưng, Nguyễn Duy Năng - ĐH Nông Lâm TP.HCM).

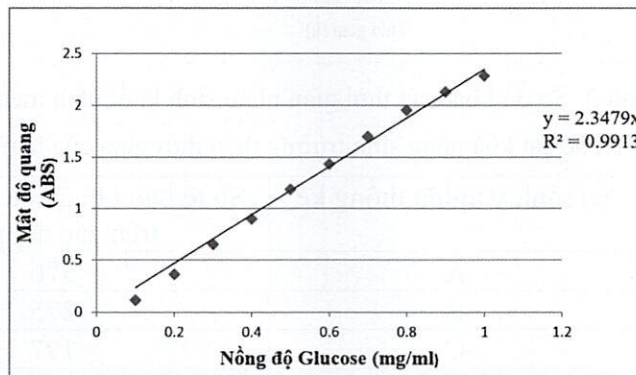
### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Dựng đường chuẩn Glucose

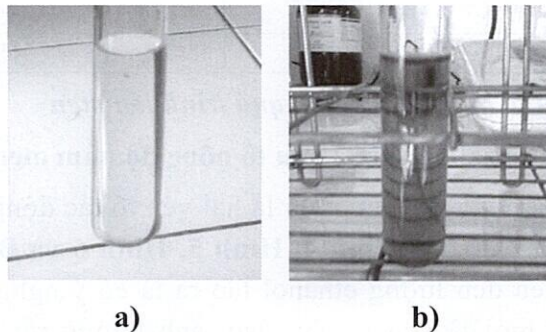
Phương trình đường chuẩn Glucose đã được xác định:  $y = 2.3479x$ . Sau đó dịch syrup lúa miến được pha loãng, khử màu và tiến hành thí nghiệm đo OD, thu được mật độ quang: 1.404

Thế vào phương trình đường chuẩn:  $y = 2.3479x$  sẽ tìm được % đường khử trong syrup lúa miến là 49,83%.

Đây là loại đường được nấm men *Saccharomyces cerevisiae* ưu tiên sử dụng như là nguồn Carbon với hiệu quả cao nhất. Nên khi trong nguyên liệu đạt được hàm lượng đường khử cao sẽ tác động rất tốt đến quá trình sinh trưởng cũng như lên men dịch đường trong môi trường kỵ khí. Bên cạnh đó, việc sử dụng nguồn đường khử trực tiếp thay vì sử dụng tinh bột hay các loại đường đa sẽ làm giảm thời gian đường hóa từ tinh bột thành đường đơn hoặc thủy phân đường đa thành đường đơn mà nấm men có thể sử dụng.



Hình 1. Đường chuẩn glucose

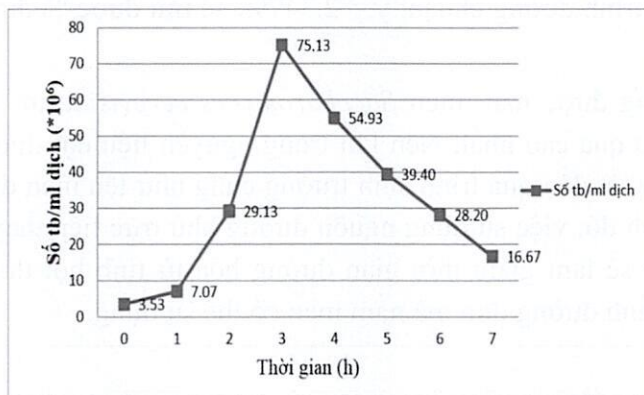


Hình 2. Dịch syrup đã pha loãng và khử màu:  
a) trước khi đun cách thủy; b) sau khi đun cách thủy

### 3.2. Nhân giống chủng *Saccharomyces cerevisiae*

Chủng nấm men *saccharomyces cerevisiae* sau khi đã hoạt hóa, được đưa vào dịch lên men, đảm bảo môi trường là hiếu khí, tạo điều kiện tốt nhất cho nấm men phát triển và nhân sinh khối. Tại các thời điểm từ 0-7 giờ, kết quả khuẩn lạc được thể hiện như **Bảng 1**.

- Qua kết quả từ bảng 3.1 thấy được rằng số lượng tế bào nấm men chênh lệch giữa thời điểm 0 và 1 giờ nhân sinh khối là không có ý nghĩa. Các khoảng thời gian còn lại đều có mức chênh lệch đáng kể.



**Hình 3.** Sơ đồ khảo sát thời gian nhân sinh khối nấm men

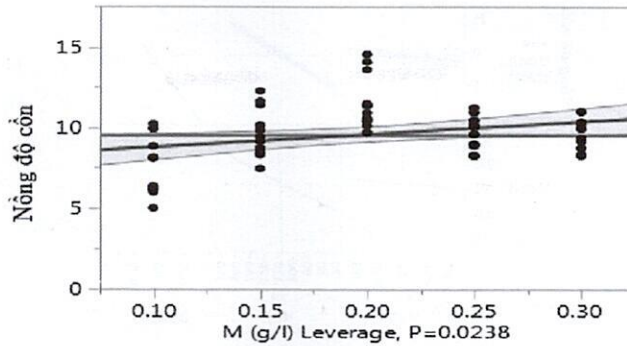
**Bảng 1:** Khảo sát khả năng sinh trưởng theo thời gian của nấm men

Thời gian (h)	So sánh ý nghĩa thống kê	Số tế bào khuẩn lạc trung bình trên các đĩa petri
3	A	376
4	B	275
5	C	197
2	D	146
6	D	141
7	E	83
1	F	35
0	F	18

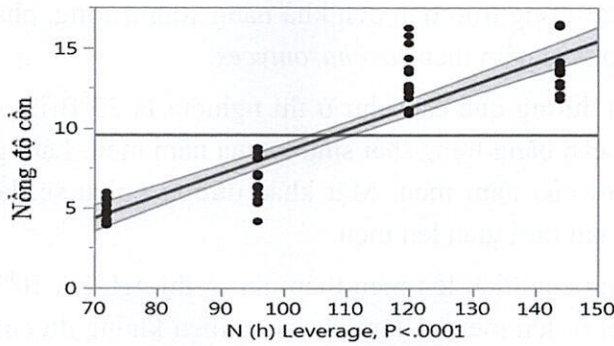
### 3.3. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men

#### Thí nghiệm 1: Khảo sát đồng thời 2 yếu tố nồng độ nấm men và thời gian lên men

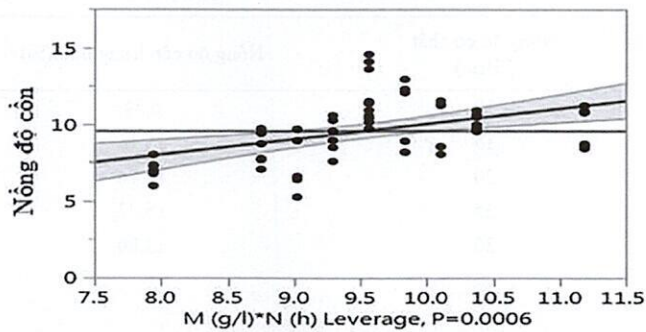
Thời gian lên men và nồng độ nấm men là hai yếu tố tác động trực tiếp đến quá trình sản xuất Ethanol. Dựa vào 3 đồ thị: **Hình 4**, **Hình 5**, **Hình 6** và **Bảng 2** có thể thấy được rằng tác động của nấm men đến lượng ethanol tạo ra là có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên, thời gian lên men mới là yếu tố chủ đạo, ảnh hưởng rất lớn đến năng suất sinh ethanol của dịch lúa miến.



Hình 4. Nồng độ nấm men tác động đến lượng còn tạo thành



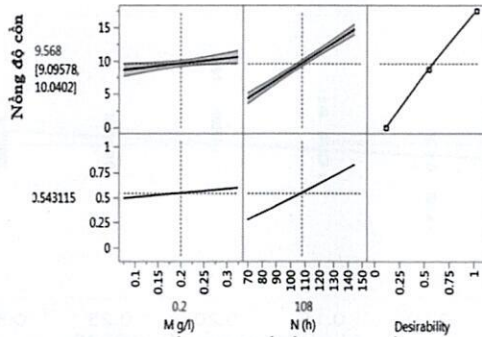
Hình 5. Thời gian lên men tác động đến lượng còn tạo thành



Hình 6. Tác động của đồng thời 2 yếu tố nồng độ nấm men, thời gian lên men đến lượng còn tạo thành

Bảng 2: Ảnh hưởng của 2 yếu tố đến lượng còn tạo thành

Source	Nparam	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
M (g/l)	1	1	18.00325	5.3999	0.0238*
N (h)	1	1	819.85495	245.9055	<.0001*
M (g/l)*N (h)	1	1	43.92379	13.1744	0.0006*



Hình 7. Mô hình tối ưu cho hai yếu tố: thời gian và nồng độ.

**Thí nghiệm 2: Khảo sát nồng độ dịch lên men tối ưu.**

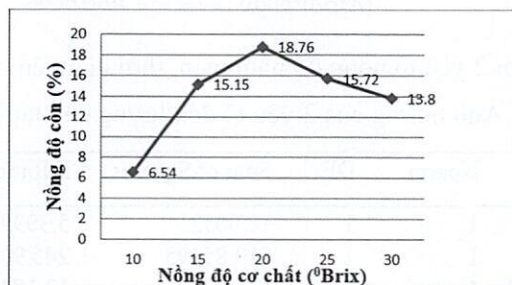
Nồng độ cơ chất tác động trực tiếp đến khả năng sinh trưởng, phát triển và chuyển hóa dịch đường thành ethanol của nấm men *saccharomyces*.

Nếu nồng độ dịch đường quá cao như ở thí nghiệm là 25<sup>0</sup>Brix và 30<sup>0</sup>Brix đã dẫn đến tăng áp suất và làm mất cân bằng trạng thái sinh lý của nấm men. Làm giảm khả năng chuyển hóa đường thành ethanol của nấm men. Mật khác đường nhiều sẽ dẫn đến tổn hao nguồn nguyên liệu và phải kéo dài thời gian lên men.

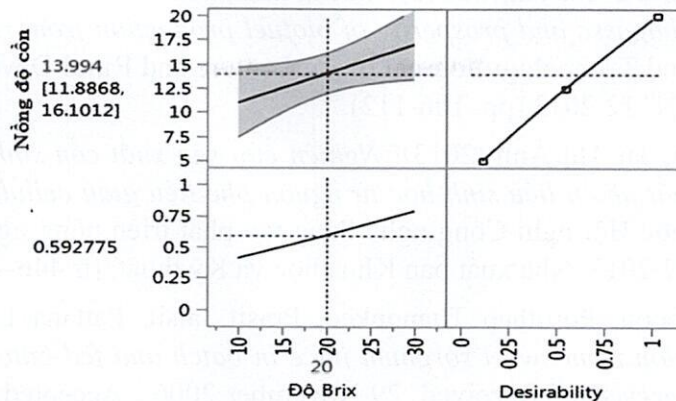
Nếu nồng độ đường của dịch lên men thấp như ở thí nghiệm 10<sup>0</sup>Brix và 15<sup>0</sup>Brix thì sẽ làm giảm năng suất thiết bị lên men và làm cho nấm men không đủ chất dinh dưỡng để phát triển. Dẫn đến khả năng sinh ethanol của nấm men sẽ giảm.

Bảng 6: Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất đến lượng cồn sinh ra

Nồng độ cơ chất (°Brix)	Nồng độ cồn trung bình(%)
10	6.54
15	15.15
20	18.76
25	15.72
30	13.80



Hình 8. Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất đến thể tích cồn tạo thành



Hình 9. Mô hình tối ưu cho yếu tố nồng độ cơ chất

#### 4. KẾT LUẬN

Điều kiện sinh trưởng và tăng sinh khối trong dịch lúa miễn của chủng *Saccharomyces cerevisiae* tối ưu nhất là 3 giờ.

Các yếu tố chính tác động đến quá trình lên men như thời gian lên men và nồng độ nấm men được tối ưu hóa qua mô hình Jmp-SAS: 0.2g/L men, thời gian 108 giờ.

Nồng độ cơ chất cũng được khảo nghiệm và đạt kết quả tối ưu ở 20<sup>0</sup>Brix.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Trần Diệu Lý (2008) “Nghiên cứu sản xuất ethanol nhiên liệu từ rom rạ” Luận văn Thạc sĩ, 01/2008.
- [2]. Phan Phuoc Hien et al (2008): *Preliminary research on growth conditions and bio-diesel production from Jatropha curcas for clean and sustainable agriculture and industrialization in Vietnam*. Proceeding of the 8<sup>th</sup> General Seminar of the Core University Program. Environmental Science & technology For the Earth, Organized by Osaka University and Vietnam National University, Hanoi, Supported by Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) and Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), November 26-28, 2008, Osaka Japan, (p.422-434).
- [3]. Phan Phuoc Hien, Nguyen Ngoc Suong (2013): *Research on preparation and quality analysis of biodiel prepared from the seed of Jatropha curcas*. Science and Technology Journal of Agriculture and Rural development, Vietnam ISSN 18594581, N<sup>0</sup> 12/2013 (pp. 113-118).
- [4]. Phan Phước Hiền, Nguyễn Ngọc Suong (2013): *Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống, sản xuất và phân tích chất lượng bio-diesel từ hạt cây Jatropha curcas*. Tuyển tập các công trình khoa học Hội nghị Công nghệ Sáng tạo phát triển nông nghiệp Việt Nam lần thứ nhất ngày 16/7/2013 Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, (tr.455-462).

- [5]. Phan Phuoc Hien, Tu Thi Anh (2013): *Preliminary research on process of Bioethanol production from bagasse and prosperity of biofuel production from richcellulosic waste source*, Science and Technology Journal of Agriculture and Rural Development, Vietnam ISSN 1859-4589 N<sup>o</sup> 12/2013 (pp. 106-112).
- [6]. Phan Phước Hiền, Từ Thị Ánh (2013): *Nghiên cứu sản xuất cồn sinh học từ bã mía và triển vọng sản xuất nhiên liệu sinh học từ nguồn phế liệu giàu cellulose*. Tuyển tập các công trình khoa học Hội nghị Công nghệ Sáng tạo phát triển nông nghiệp Việt Nam lần thứ nhất ngày 16/7/2013, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, (tr.446-454).
- [7]. Lakkana Laopaiboon, Pornthap Thanonkeo, Prasit Jaisil, Pattana Laopaiboon (2007); *“Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations by Saccharomyces cerevisiae”* Received: 29 November 2006 / Accepted: 12 March 2007 / Published online: 6 April 2007.
- [8]. M.L. Cazetta, M.A.P.C. Celligoi, J.B. Buzato, I.S. Scarmino (2007) *“Fermentation of molasses by Zymomonas mobilis: Effects of temperature and sugar concentration on ethanol production”* Received 12 July 2004; received in revised form 9 August 2006; accepted 10 August 2006 Available online 8 April 2007.
- [9]. Yan Lin, Wei Zhang, Chunjie Li, Kei Sakakibara, Shuzo Tanaka, Hainan Kong (2012) *“Factors affecting ethanol fermentation using Saccharomyces cerevisiae BY4742”* Program of Environment and Ecology, Faculty of Science and Engineering, Meisei University, Tokyo 191-8506, Japan.