

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ENZYME ĐẾN QUÁ TRÌNH THU HỒI GLUCOSE TRONG DỊCH THỦY PHÂN GỖ THÔNG

Đến tòa soạn 19-05-2024

Nguyễn Thị Phương Mai^{1*}, Đỗ Thị Thảo Linh¹, Phạm Khánh Vân¹, Nguyễn Như Yên¹

1. Khoa Môi trường, Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội

*Email: ntpmai@hunre.edu.vn

SUMMARY

RESEARCH ON THE EFFECTS OF ENZYMES ON THE PROCESS OF GLUCOSE RECOVERY IN HYDROLYSIS OF PINE WOOD

Acid pretreatment is also considered as an optimal solution for the hydrolysis of lignocellulosic biomass by removing lignin and part of hemicellulose in pine wood. However, there are still a number of organic compounds derived from hemicellulose such as xylobiose, short-chain xylooligosaccharides and xylan that have not been removed and hinder the hydrolysis ability of the cellulase enzyme. Studying the interaction between enzymes and surfactants in the hydrolysis of cellulose and hemicellulose from pine wood pretreated with formic acid helps enhance enzyme accessibility and promotes faster saccharification. In this study, the enzymes Cellic Ctec 2 and Cellic Htec 2 together and the surfactant Triton X-100 were used as biocatalysts for hydrolysis cellulose and xylan in pine wood. The surface response model ($R^2 = 0.99$ and $R^2 - adj = 0.97$) shows that the cellulase Cellic Ctec2 ($p < 0.0001$) has a relatively large influence on the ability to hydrolyze cellulose into glucose. The results show that surfactants are involved in the hydrolysis of cellulose and hemicellulose in pine wood after acid pretreatment, helping the enzyme operate stably for a long time, increasing the ability of glucose recovery at the highest value of 295.2g/L.

Keywords: Cellulase, xylanase, surfactant, response surface method, glucose, pine wood.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sinh khối lignocellulose từ các phế phụ phẩm trong lâm nghiệp được sử dụng như một nguồn nguyên liệu sản xuất ethanol sinh học thế hệ thứ hai để thay thế nguồn nguyên liệu sinh học thế hệ thứ nhất từ ngô, khoai, sắn,... nhằm đảm bảo an ninh lương thực và bổ sung nguồn nhiên liệu dồi dào cho mục đích sản xuất ethanol sinh học. Trên thế giới ngành lâm nghiệp phát triển phổ biến và rộng rãi trên các loại gỗ mềm tập trung chủ yếu ở Chile, Tây Ban Nha, Nam Phi, New Zealand và Úc. Như ở New Zealand, các đồn điền trồng gỗ mềm với tổng diện tích trên 1,7 triệu ha, chiếm khoảng 7% tổng diện tích

đất New Zealand. Tại Việt Nam, phế phụ phẩm từ rừng và cây ăn quả chiếm khoảng 24,5% tổng lượng phế phụ phẩm nông lâm nghiệp [1]. Điều này đảm bảo cung cấp gỗ mềm cho ngành công nghiệp giấy và bột giấy cũng như chế biến gỗ cho đồ nội thất và nhà ở. Một phần đáng kể phế phụ phẩm lâm nghiệp được tạo ra trong quá trình thu hoạch cây (như cành, đoạn cắt và gốc cây) và chế biến gỗ (như dăm gỗ và mùn cưa) có thể được sử dụng làm nguyên liệu để sản xuất nhiên liệu sinh học và vật liệu sinh học. Hiện nay, sử dụng công nghệ enzyme trong thủy phân các polyme carbohydrate trong gỗ mềm

thành đường glucose và lên men các loại đường này thành các sản phẩm sinh học khác nhau hứa hẹn đem lại hiệu quả cao trong tương lai, góp phần tạo ra các nguồn năng lượng sinh học thay thế nguồn năng lượng hóa thạch đang dần cạn kiệt [2]. Thành phần lignocellulose điển hình trong gỗ mềm được tính theo tỷ lệ gồm: cellulose chiếm 42 – 45%, hemicelluloses 21 – 24%, lignin 25 – 30%, chất chiết xuất 1 – 10%, các hợp chất vô cơ khác khoảng 1%. Cellulose trong gỗ mềm là một polyme tuyến tính của các đơn vị D – glucose có mức độ trùng hợp cao, cấu trúc có trật tự cao và có một phần bản chất tinh thể. Nó được đan xen với hemicellulose, gồm cấu trúc ngắn và phân nhánh bao gồm glucomannans và galactoglucomannans được acetyl hóa một phần với xylose và hiện diện với số lượng nhỏ arabinose. Lignin trong gỗ mềm là một polymer dạng vòng được cấu tạo từ rượu coniferyl, thành phần cấu trúc của lignin chủ yếu là guaiacyl và p-hydroxyphenyl. Lignin có nhiệm vụ bảo vệ thành phần cellulose và hemicellulose của lignocellulose. Do vậy, lignin rất khó bị phân hủy. Các chất chiết xuất chủ yếu bao gồm terpen, acid béo, rượu, alkaloid, phenolics, nhựa, flavonoid và tinh dầu, do đó có thể ảnh hưởng đến tính chất và chất lượng chế biến của gỗ mềm [3, 4, 5].

Chính các thành phần khác nhau trong gỗ mềm có thể sử dụng làm nguyên liệu trong sản xuất nhiên liệu sinh học và vật liệu sinh học tuy nhiên cũng cần có một công nghệ tiền xử lý hiệu quả để tách riêng biệt các thành phần cellulose, hemicellulose và lignin trong gỗ mềm. Hiện nay có nhiều phương pháp tiền xử lý như vật lý, sinh

học, hóa lý, hóa học và các phương pháp kết hợp đã được nghiên cứu và phát triển để thủy phân phân đoạn thành phần lignocellulose trong gỗ mềm [5, 6, 9]. Tuy nhiên, không nhiều trong số các phương pháp đó có thể phân tách hiệu quả cellulose, hemicellulose và lignin thành các hợp chất riêng biệt ứng dụng cho các mục đích khác nhau. Một phương pháp tiền xử lý hiệu quả có thể hòa tan một phần lignin và hemicellulose, giúp enzyme tiếp cận và thủy phân cellulose tạo ra glucose nhằm nâng cao hiệu suất cho sản xuất ethanol sinh học [2, 7].

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Các mẫu đại diện của gỗ thông (*Pinus*) không có vỏ, được thu thập tại Công ty ván dăm Thái Nguyên có kích thước chiều rộng từ 2,5 đến 3 cm và chiều dài từ 3 - 5 cm. Các mẫu được nghiền nhỏ đến kích thước 1 đến 3mm, được sàng lọc với sàng có kích thước ô lưới 0,5mm để tách bỏ phần mùn vụn và được sấy bằng không khí nóng ở nhiệt độ 50⁰C đến độ ẩm 8-10%, bảo quản trong túi nhựa kín để đảm bảo độ ẩm cho quá trình xử lý tiếp theo.

Các enzyme sử dụng trong nghiên cứu: Chế phẩm enzyme cellulase (Cellic Ctec 2) có hoạt tính 238 FPU/mL, enzyme xylanase (Cellic Htec 2) có hoạt tính 1040 XU/mL và chất hoạt động bề mặt Triton X-100 (mL/g), các chế phẩm enzyme và chất hoạt động bề mặt được mua từ hãng Novozymes, Đan Mạch và từ Sigma-Aldrich, Mỹ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định thành phần của gỗ thông

Thành phần của gỗ được xác định bằng các phương pháp sau: hàm lượng tro phân tích theo phương pháp NREL; Cellulose (dưới dạng glucan), hemicellulose phân tích bằng phương pháp HPLC xác định glucose, xylose, arabinose, galactose và lignin của gỗ thông được phân tích theo qui trình của NREL [8]. Mẫu phân tích được pha loãng đến khoảng nồng độ của đường chuẩn rồi lọc qua màng 0,2 μm trước khi được bơm vào cột. Chuẩn bị mẫu, các thông số và phân tích trên hệ thống Agilent 1200, cột Aminex HPX-87P với thể tích mẫu là 20 μL . Pha động là nước tinh khiết (Merck, Đức) với tốc độ dòng 0,6 mL/phút. Phân tích được thực hiện ở 80°C với máy dò RID và thời gian lưu là 25 phút.

2.2.2. Xác định glucose

Glucose được xác định bằng cách sử dụng D Glucose GOD – POD kit của hãng Megazyme, Mỹ. Các mẫu được gia nhiệt đến 95°C trong 5 phút để vô hoạt enzyme trong dịch thủy phân. Lấy 150 μL thuốc thử GOD – POD vào giếng phản ứng rồi lấy lượng chính xác 15 μL dịch mẫu đã pha loãng vào giếng phản ứng, trộn đều và để phản ứng trong bóng tối ở 30°C trong 30 phút. Phản ứng của mẫu chuẩn và mẫu trắng được thực hiện với 15mL dung dịch glucose 1,0 g/L và 15 μL nước cất tương ứng. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 510 nm.

Nồng độ glucose của dịch thủy phân được xác định như sau:

$$C_{\text{glucose}} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{A_{\text{mẫu đo}} - A_{\text{mẫu trắng}}}{A_{\text{mẫu chuẩn}} - A_{\text{mẫu trắng}}} \times f$$

Trong đó:

C_{glucose} : Nồng độ glucose của dịch thủy phân (g/L)

$A_{\text{mẫu đo}}$, $A_{\text{mẫu chuẩn}}$, $A_{\text{mẫu trắng}}$: Độ hấp phụ của mẫu đo, mẫu chuẩn và mẫu trắng tương ứng.

f : hệ số pha loãng.

2.2.3. Chụp SEM

Những thay đổi cấu trúc bề mặt gỗ thông sau thủy phân được quan sát bằng quét điện tử bề mặt sợi bằng máy FESEM-NHE (S4800-Hitachi, Nhật Bản) với năng lượng chùm tia điện tử 10kV. Mẫu được xử lý ở dạng bột mịn, được phủ lớp vàng và được quét chụp ở độ phóng đại từ 30 lần-5000 lần.

2.3. Thiết kế thí nghiệm

2.3.1. Xử lý gỗ thông bằng enzyme

Gỗ thông sau tiền xử lý bằng acid formic, tiến hành thủy phân bằng enzyme được chuẩn bị trong bình có dung tích 50 mL, mỗi bình chứa 5% (w/v) bã rắn, 5mL đệm natri acetate 0,05M ở pH 5,5; 100 μL dung dịch sodium azide 2% (để ức chế vi sinh vật). Các enzyme thương mại cellulase (Cellic Ctec 2) có hoạt tính 238 FPU/mL với giá trị tối ưu của enzyme ở nhiệt độ tối 45-50°C và pH là 5,0-5,5; enzyme xylanase (Cellic Htec 2) có hoạt tính 1040 XU/mL với giá trị tối ưu của enzyme ở nhiệt độ tối 45-50°C và pH là 5,5 và Triton X-100 được thêm vào với các liều lượng khác nhau (Bảng 1). Bổ sung lượng nước vào mỗi bình để đủ thể tích 10mL sau khi thêm enzyme. Quá trình phản ứng được thủy phân trong tủ ấm, lắc với tốc độ 120 vòng/phút ở 50°C trong 72 giờ. Phản ứng thủy phân dừng lại bằng cách

đun nóng đến nhiệt độ 100⁰C trong 2 phút. Hỗn hợp sau đó được lọc và rửa hai lần bằng nước. Dịch lọc được lọc qua rây có kích thước ô lưới khoảng 1,5 mm và để qua đêm ở nhiệt độ 4⁰C. Bã sau lọc được sấy khô ở nhiệt độ 55⁰C cho đến độ ẩm 8-10%. Phân tích hàm lượng glucose trong dịch thủy phân.

2.3.2. Thiết kế thử nghiệm và tối ưu hóa

Box-Behnken được sử dụng để thiết kế ma trận nghiên cứu tác động tổng hợp của các biến số ảnh hưởng đến quá trình thủy phân gỗ thông sau tiền xử lý bằng acid formic. Các biến này gồm enzyme Cellic Ctec 2 có nồng độ từ 5-50 (FPU/mL), enzyme Cellic Htec 2 với nồng độ từ 10-100 (XU/mL) và chất hoạt động bề mặt Triton X-100 có nồng độ từ 0,15-0,6 (mL/g). Ba biến được thiết kế ở ba cấp độ: thấp (-1), trung tâm (0) và cao (+1) để đánh giá mức độ biến thiên của các thí nghiệm. Ma trận được thiết kế bao gồm 15 thí nghiệm với 3 lần lặp tại các điểm trung tâm (Bảng 1). Mỗi lần chạy thử nghiệm được lặp lại ba lần và xác định lượng đường glucose được giải phóng. Kết quả được phân tích bằng cách áp dụng hệ số xác định (R^2 và R^2 -adj), biểu đồ phản hồi và phân tích phương sai (ANOVA) bằng phần mềm Design Expert 11.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần dăm gỗ

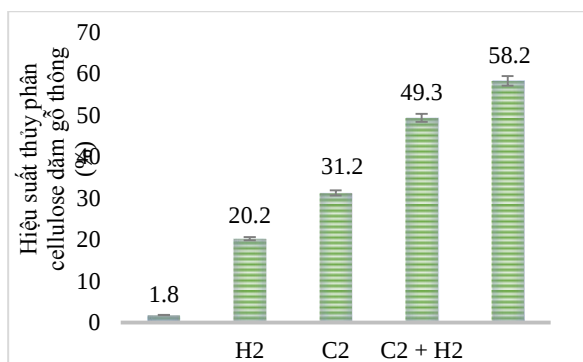
Gỗ thông được thu gom tại Công ty ván dăm gỗ Thái Nguyên. Thành phần chính trong dăm gỗ thông là cellulose (44,4% $\pm$ 2,50), hemicellulose (22,9% $\pm$ 2,60), lignin (23,6% $\pm$ 1,44). Thành phần cellulose trong gỗ thông tại Thái Nguyên

tương tự như một số thành phần trong gỗ thông (*Pinus contorta*) được thu thập tại British Columbia [10]. Hàm lượng lignin tổng số phân tích đạt 23,6%, trong đó hàm lượng lignin không tan trong axit ở mức 16,1% và hàm lượng lignin hòa tan trong axit là 7,5%. Trong cellulose các gốc glucose có thể được giải phóng ra ở dạng tự do và được thu hồi là nguồn nguyên liệu phù hợp khi mà hàm lượng lignin trong nguyên liệu bị loại bỏ trong quá trình tiền xử lý.

3.2. Đánh giá hiệu quả thu hồi cellulose trong dăm gỗ thông bằng enzyme

Khi sử dụng enzyme thủy phân cellulose, các sợi cellulose sẽ bị phân cắt nhờ xúc tác của enzyme endo-glucanase, enzyme này tham gia vào phá vỡ mạng lưới cellulose bằng cách cắt ngẫu nhiên các liên kết endo- β -1,4-glucosid để tách sợi cellulose và enzyme này không tham gia vào việc thủy phân cellulose thành glucose. Theo một số các nghiên cứu cho thấy enzyme Cellic Ctec 2, enzyme từ hãng Novozyme là enzyme có tỷ lệ endoglucanase/exoglucanase phù hợp cho nghiên cứu [13].

Ngoài ra, enzyme Cellic Htec 2 (xylanase) có thể tham gia vào quá trình chuyển hóa xylan thành các loại đường đơn giản và làm tăng hiệu quả của quá trình thủy phân cellulose khi kết hợp với Cellic Ctec 2. Để hiểu rõ vai trò của các enzyme trong quá trình xử lý, dăm gỗ thông được khảo sát riêng rẽ với từng loại enzyme riêng biệt hoặc kết hợp cả hai loại enzyme này, mẫu đối chứng được tiến hành song song để đánh giá hiệu quả thủy phân cellulose trong gỗ thông. Kết quả được thể hiện trong hình 2.



Hình 1. Ảnh hưởng của enzyme đến hiệu suất thủy phân cellulose dăm gỗ thông

(H2: Cellic Htec 2; C2: Cellic Ctec 2; TX: Triton X-100)

Khi sử dụng các enzyme riêng lẻ tham gia trong thủy phân cellulose trong dăm gỗ thông cho thấy hiệu suất thủy phân thấp, giữa hai loại enzyme được sử dụng, Cellic Htec 2 có tác dụng thủy phân hạn chế (20,2%) và lượng đường khử sinh ra chỉ đạt khoảng 0,35 mg/ml, điều này cho thấy Cellic Htec 2 chỉ có khả năng phân tách các phân tử xylan bám trên sợi cellulose còn Cellic Ctec 2 có khả năng phân hủy liên kết β -1,4-glycosid của phân tử cellulose nên giải phóng được các phân tử đường cho hiệu suất đạt cao hơn (31,2%). Trong thành phần gỗ thông tự nhiên, cellulose, hemicellulose và lignin là các thành phần chính, do đó khi có sự kết hợp của các enzyme tác động lên các thành phần tế bào thực vật khác nhau sẽ làm tăng hiệu quả của quá trình thủy phân. Sự phối hợp của enzyme cellulase và xylanase đã được Tenkanen và cs [11] nghiên cứu trên bột giấy của gỗ bạch dương, chính sự tương tác của các enzyme này đã có vai trò quan trọng trong quá trình đường hóa hoàn toàn sinh khối lignocellulose. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy trong quá trình thủy phân

lignocellulose khi có sự tham gia của các chất hoạt động bề mặt như Tween 20 hoặc Triton X-100 cũng làm giảm tác dụng phụ của lignin và duy trì sự ổn định cho hoạt động của enzyme [12]. Bằng sự kết hợp của hai enzyme để xử lý kết hợp chất hoạt động bề mặt, hiệu suất thủy phân tăng từ 49,3 % lên 58,2%, tăng khoảng 1,2 lần so với thí nghiệm không bổ sung chất hoạt động bề mặt. Đây cũng là một kết quả gợi ý cho việc tối ưu hóa nhằm tăng hiệu suất cho quá trình thủy phân cellulose trong dăm gỗ thông.

3.3. Ảnh hưởng của các biến số đến khả năng thu hồi đường trong dịch thủy phân từ gỗ thông

Thiết kế ma trận Box-Behnken được sử dụng, xác định ảnh hưởng của các biến riêng lẻ đến việc giải phóng glucose. Để kiểm tra ảnh hưởng của tỷ lệ giữa hai enzyme cùng với chất hoạt động bề mặt Triton X – 100, một ma trận gồm các thí nghiệm đã được chọn nghiên cứu với các yếu tố độc lập và giá trị ương ứng (Bảng 1). Trong các thí nghiệm này, cellulase (Cellic Ctec 2) được bố trí với nồng độ enzyme thay đổi từ 5 đến 50 FTP/mL, enzyme xylanase (Cellic Htec 2) có nồng độ thay đổi từ 10 đến 100 XU/mL và Triton X -100 thay đổi từ 0,15 đến 0,6 (mL/g). Dữ liệu thu được phân tích bằng phần mềm Design Expert.

Mô hình tuyến tính được đề xuất bởi phần mềm Design Expert 11 để phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Phân tích ANOVA chỉ ra rằng mô hình thiết lập là có ý nghĩa, vì giá trị F cao (67,21) và các giá trị xác suất được tính toán (giá trị $p < 0,0001$) thấp hơn 0,05 được thể hiện trong bảng 2.

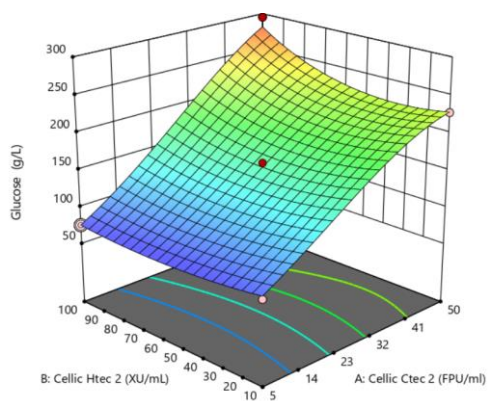
Bảng 1. Ma trận thí nghiệm Box-Behnken và khả năng thu hồi glucose trong dịch thủy phân

Thí nghiệm	Biến thực			Biến mã hóa			Glucose (g/L)	
	Cellic Ctec 2 (FPU/ml)	Cellic Htec 2 (XU/ml)	Triton X - 100 (mL/g)	A	B	C	Giá trị thực	Giá trị dự đoán
1	27,5	55	0,375	0	0	0	160,7	154,8
2	5,0	55	0,6	-1	0	1	90,5	91,1
3	5,0	55	0,15	-1	0	-1	85,8	82,6
4	50,0	10	0,375	1	-1	0	227,8	232,5
5	5,0	100	0,375	-1	1	0	75,3	73,0
6	27,5	10	0,6	0	-1	1	235,5	210,1
7	27,5	100	0,6	0	1	1	212,2	224,4
8	50,0	100	0,375	1	1	0	295,2	284,6
9	50,0	55	0,15	1	0	-1	273,5	264,9
10	27,5	55	0,375	0	0	0	154,8	154,8
11	27,5	10	0,15	0	-1	-1	185,9	197,1
12	27,5	55	0,375	0	0	0	148,4	154,8
13	50,0	55	0,6	1	0	1	265,2	280,0
14	5,0	10	0,375	-1	-1	0	78,5	84,5
15	27,5	100	0,15	0	1	-1	208,8	210,9

Bảng 2. Phân tích ANOVA của mô hình rút gọn

Nguồn	Tổng bình phương	Bậc tự do (df)	Bình phương trung bình (MS)	F-value	p-value	
Model	116,74	7	16,68	67,21	<0.0001	Phù hợp
A- Cellic Ctec 2	103,56	1	103,56	417,40	< 0.0001	
B- Cellic Htec 2	0,4716	1	0,47	1,90	0,2104	
C-Triton X - 100	0,4168	1	0,42	1,68	0,2360	
AB	1,29	1	1,29	5,20	0,0567	
A ²	2,30	1	2,30	9,29	0,0186	
B ²	2,42	1	2,42	9,75	0,0168	
C ²	5,83	1	5,83	23,49	0,0019	
Residual	1,74	7	0,25			
Lack of Fit	1,61	5	0,32	5,27	0,1671	Không phù hợp
$R^2 = 0,99$; $R^2\text{-adj} = 0,97$						

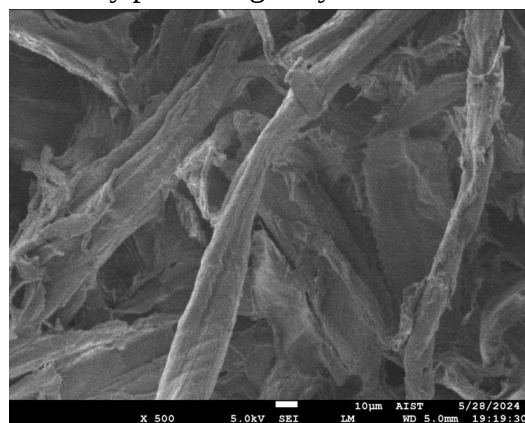
Qua phân tích ANOVA cho thấy các giá trị $F = 5,27$, $p = 0,1671$ không phù hợp, cho thấy phương trình mô hình có thể phù hợp để thu hồi glucose khi sử dụng enzyme và chất hoạt động bề mặt có nồng độ thích hợp để thủy phân cellulose trong dăm gỗ thông của nghiên cứu này. Giá trị R^2 và R^2 -adj lần lượt là 0,99 và 0,97. Những giá trị này cho thấy sự thống nhất chặt chẽ giữa các dữ liệu thực nghiệm và các giá trị dự đoán. Sự phụ thuộc của quá trình thu hồi glucose vào nồng độ enzyme Cellic Ctec 2, Cellic Htec 2 và Triton X – 100 được biểu thị trong phương trình sau (các hệ số có giá trị không phù hợp đã được loại bỏ trong mô hình). Hàm lượng glucose thu hồi trong dịch thủy phân (g/l) = $12,43 + 3,60 \cdot A + 0,2428 \cdot B + 0,2283 \cdot C + 0,5677 \cdot A \cdot B - 0,7901 \cdot A^2 + 0,8096 \cdot B^2 + 1,26 \cdot C^2$



Hình 2. Biểu đồ bề mặt đáp ứng thể hiện mức độ ảnh hưởng của nồng độ enzyme Cellic Ctec 2, Cellic Htec 2 đến quá trình thu hồi glucose

Điều kiện tối ưu để thu hồi glucose được tính toán bằng phần mềm Design Expert sử dụng mô hình. Tổng cộng có 53 phương án tối ưu đã được lựa chọn giúp cho thu hồi hàm lượng glucose cao trong dịch thủy phân trên 284,6 g/L. Hàm lượng

glucose đạt cao nhất lên đến 317,4 g/L trong dịch thủy phân tại nồng độ enzyme Cellic Ctec 2 là 49,5 (FPU/mL), Cellic Htec 2 là 99,8 (XU/mL) và Triton X – 100 là 0,56 (mL/g). Việc bổ sung các chất hoạt động bề mặt không ion đã được chứng minh là thúc đẩy quá trình thủy phân enzyme hỗ trợ cho việc giải phóng đường. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này và phân tích hồi qui cho thấy rằng việc bổ sung Triton X-100 vào quá trình thủy phân gỗ thông đã qua tiền xử lý đã có sự cải thiện về khả năng giải phóng đường cao. Kết quả nghiên cứu tương đồng với nghiên cứu của Guerfali và cộng sự [14], cũng cho rằng sử dụng Triton X-100 đã tăng hiệu quả thu hồi glucose của quá trình thủy phân bằng enzyme lên 45%.



Hình 3. Kết quả chụp FESEM sợi cellulose gỗ thông sau thủy phân bằng enzyme

Quan sát cấu trúc bề mặt các sợi cellulose sau thủy phân (hình 3) cho thấy, việc loại bỏ các thành phần bao quanh sợi cellulose tạo điều kiện cho enzyme tiếp cận và thủy phân cellulose tạo thành glucose. Kết quả cũng cho thấy, việc kết hợp enzyme cellulase và xylanase trong quá trình thủy phân gỗ thông giúp cho việc thu hồi glucose đạt hiệu quả cao. Xét về góc độ kinh tế, tính hiệu quả trong việc sử dụng

enzyme thương mại và enzyme sử dụng cho nghiên cứu sẽ được trình bày trong một nghiên cứu khác nhằm so sánh tính ưu việt của các enzyme trên.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng với thiết kế Box-Behnken để thiết kế các điều kiện thí nghiệm nhằm xác định mối quan hệ giữa enzyme và chất hoạt động bề mặt trong quá trình thủy phân dăm gỗ thông chưa qua quá trình tiền xử lý. Qua phân tích mô hình cho thấy enzyme Cellic Ctec 2 là yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến việc thủy phân cellulose thành glucose. Giá trị R^2 và R^2 -adj lần lượt là 0,99 và 0,97, các giá trị này thể hiện thống nhất thông qua thực nghiệm hàm lượng glucose đạt cao nhất là 295,2 mg/L và giá trị dự đoán trong mô hình cũng cho kết quả tương đồng là 284,6 mg/L. Sự kết hợp của cả enzyme cellulase và xylanase trong thủy phân dăm gỗ thông đã mang lại hiệu quả thu hồi glucose cao hơn so với việc sử dụng từng enzyme riêng lẻ.

Lời cảm ơn: Các tác giả cảm ơn đề tài KHCN mã số TNMT.ĐL.2023.02 của Bộ Tài nguyên và Môi trường Hà Nội đã cung cấp kinh phí hỗ trợ để thực hiện nghiên cứu này.

Cam kết: Tôi xin cam đoan đây là công trình của Nguyễn Thị Phương Mai, Đỗ Thị Thảo Linh, Phạm Khánh Vân, Nguyễn Như Yên chưa gửi đăng nội dung này ở bất kỳ tạp chí nào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Phan Thị Phầm, Lê Thị Thu Hương, Đoàn Thị Tuyết, Lê Phú Đông, (2017). Sự chuyển đổi sinh khối Lignocellulose: Từ phế thải đến nguyên liệu tiềm năng cho sản xuất ethanol sinh học thế hệ thứ hai tại Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Lạc Hồng*, **11**, 159-164
- [2] Fahmy M., Sohel MI., Vaidya AA., Jack MW., Suckling ID., (2019). Does sugar yield drive lignocellulosic sugar cost? Case study for enzymatic hydrolysis of softwood with added polyethylene glycol. *Process Biochem*, **80**, 103–111.
- [3] Kandhola G., Djioleu A., Carrier D.J., Kim J.W., (2017). Pretreatments for enhanced enzymatic hydrolysis of pinewood: a review. *BioEnergy Res*, **10(4)**, 1138–1154.
- [4] Nitsos C., Rova U., Christakopoulos P., (2018). Organosolv fractionation of softwood biomass for biofuel and biorefinery applications. *Energies*, **11(1)**, 50
- [5] Wijeyekoon SLJ., Vaidya AA., (2021). Woody biomass as a potential feedstock for fermentative gaseous biofuel production. *World J Microbiol Biotechnol*, **37(8)**, 134.
- [6] Alvira P., Tomás-Pejó E., Ballesteros M., Negro MJ., (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresour Technol*, **101(13)**, 4851–4861.
- [7] Suckling ID., Jack MW., Lloyd JA., Murton KD., Newman RH., Stuthridge TR., Torr KM., Vaidya AA., (2017). A mild thermomechanical process for the enzymatic conversion of radiata pine into fermentable sugars and lignin. *Biotechnol Biofuels*, **10(61)**, 1–13.
- [8] Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J., and Templeton D., (2012). Determination of Structural

Carbohydrates and Lignin in Biomass.
Technical Report, NREL/TP-510-42618

- [9] Miller G. L., (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, **31(3)**, 426-428.
- [10] Alex B., Neil G., Douglas K., Renata B., Alexander M., Anton S., Oleg O., Alexander G., Vera M., David G., Arkady S., John S., (2005). Evaluation of novel fungal cellulase preparations for ability to hydrolyze softwood substrates—evidence for the role of accessory enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*, **37**, 175–184
- [11] Tenkanen M., Tamminen T., Hortling B., (1999). Investigation of lignin-carbohydrate complexes in kraft pulps by selective enzymatic treatments. *Appl Microbiol Biotechnol*, **51**, 241–248
- [12] Zhu S., Sui J., Liu Y., Yu Y., (2019). Effects of washing, autoclaving, and surfactants on the enzymatic hydrolysis of negatively valued paper mill sludge for sugar production. *Energy Fuels*, **33**, 1219–1226.
- [13] Lee S. Akeprathumchai S., Bundidamorn D., Salaipheth L., Poomputsa K., Ratanakhanokchai K., Chang KL., Phisuwan P., (2021). Interplays of enzyme, substrate, and surfactant on hydrolysis of native lignocellulosic biomass. *Bioengineered*, **12(1)**, 5110-5124.
- [14] Guerfali M., Saidi A., Gargouri A., Belghith H., (2014). Enhanced enzymatic hydrolysis of waste paper for ethanol production using separate saccharification and fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **175**, 25-42