

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC PHƯƠNG PHÁP THỦY PHÂN LIGNOCELLULOSE TỪ DẪM GỖ THÔNG (PINUS) ĐỂ NÂNG CAO HIỆU SUẤT THU HỒI GLUCOSE

Nguyễn Thị Phương Mai^{1,*}, Vũ Văn Long^{1,2}, Nguyễn Thị Danh¹

¹Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội

²Công ty cổ phần môi trường công nghệ cao Hòa Bình

Tóm tắt

Sản xuất glucose từ sinh khối lignocellulose dăm gỗ thông là yếu tố chính góp phần vào giảm chi phí tổng trong quá trình chuyển hóa sinh khối thành ethanol và quá trình thủy phân cellulose bằng enzyme mang lại nhiều lợi thế hơn so với các phương pháp xử lý bằng hóa học bởi sự khả năng hoạt động linh hoạt của enzyme, không gây ô nhiễm môi trường, năng suất đạt cao và tạo ít sản phẩm phụ nhất. Thủy phân enzyme theo mẻ ở nồng độ bã rắn cao đang gặp phải những trở ngại trong quá trình thủy phân như độ nhớt phản ứng cao, nồng độ glucose tích lũy cao. Một chiến lược kiểm soát tối ưu cho quá trình thủy phân fed - batch đã được nghiên cứu nhằm khắc phục các vấn đề trên, tiến hành bổ sung dần cơ chất theo tỷ lệ 25 %/lần (tương ứng fed - batch 4 lần) lần lượt tại các thời điểm 0 giờ, 6 giờ, 12 giờ và 18 giờ. Quá trình chuyển đổi cellulose được tối đa hóa và nồng độ glucose được tích lũy tối đa trong thời gian bổ sung dần cơ chất (fed - batch) đạt 190,1 g/L với hiệu suất thu hồi 70,7 %, tốc độ thủy phân lớn nhất 3,55 (g/L × h). Sau 96 giờ thủy phân nâng hiệu suất thủy phân lên 93,7 % và nồng độ glucose đạt 252 g/L.

Từ khóa: Fed - batch; Enzyme thủy phân; Nồng độ đường cao; Sinh khối lignocellulose; Dăm gỗ thông.

Abstract

Research on the effect of lignocellulose hydrolysis methods from pinus wood chips to recover glucose

Glucose production from lignocellulosic biomass of pine wood chips is a key factor contributing to reducing the total cost in the process of converting biomass into ethanol and the enzymatic hydrolysis of cellulose brings more benefits than chemical treatment methods thanks to the flexible activity of enzymes, no environmental pollution, high efficiency and the creation of the least by-products. Steam enzymatic hydrolysis at high solid concentrations must overcome the resistance in the hydrolysis process, such as high reaction rates and high glucose concentrations. An optimal control strategy for the hierarchical hydrolysis process - batch has been studied to solve the above problems, conducting the incremental addition of substrate at the rate of 25 %/time (corresponding to being fed - batch 4 times) at times such as 0 h, 6 h, 12 h and 18 h. The cellulose conversion process is maximized and the maximum glucose concentration is accumulated during the incremental substrate time (fed - batch), reaching 190.1 g/L with a recovery efficiency of 70.7 %, the largest hydrolysis rate of 3.55 (g/L × h). After 96 hours of hydrolysis, the hydrolysis efficiency increased by 93.7 %, and the glucose concentration reached 252 g/L.

Keywords: Fed - batch process; Enzymatic hydrolysis; High - concentration sugars; Lignocellulose biomass; Pine wood chips.

BBT nhận bài: 21/4/2025; Phản biện xong: 29/4/2025; Chấp nhận đăng: 27/6/2025

*Tác giả liên hệ, Email: ntpmai@hunre.edu.vn

DOI: <http://doi.org/10.63064/khtnmt.2025.685>

1. Đặt vấn đề

Sinh khối lignocellulose là nguồn sinh khối dồi dào và có thể tái tạo, được sử dụng làm nguồn vật liệu cho sản xuất nhiên liệu ethanol sinh học. Có nhiều loại sinh khối lignocellulose có thể được dùng làm nguyên liệu cho sản xuất ethanol như chất thải nông nghiệp, vật liệu thải công nghiệp và đô thị, giấy và sản phẩm phụ từ lâm nghiệp, cây cối, cỏ,... Nguồn vật liệu lignocellulose từ gỗ mềm như gỗ thông, vân sam là đối tượng được quan tâm và được sử dụng làm nguồn nguyên liệu tái tạo cho sản xuất ethanol sinh học, vì nó rẻ hơn gỗ cứng. Bên cạnh đó, hàm lượng hemicellulose giàu pentose của nó thấp hơn đáng kể so với gỗ cứng.

Thủy phân sinh khối lignocellulose có thể sử dụng các dung môi axit, bazơ hoặc từ các nguồn enzyme khác nhau có thể được sử dụng để thủy phân thành cellulose và hemicellulose thành các gốc đường đơn. Các loại đường có thể lên men bởi nấm men trong điều kiện kỵ khí thành ethanol sinh học. Tác động của enzyme trong quá trình thủy phân diễn ra linh hoạt an toàn với môi trường, năng suất thu hồi glucose cao và tạo ra ít các sản phẩm phụ hơn so với phương pháp thủy phân bằng axit hoặc bazơ [1]. Theo một số nghiên cứu cho thấy, tiến hành thủy phân ở nồng độ bã rắn thấp với nồng độ enzyme cao nhằm giúp cho việc đảo trộn được dễ dàng, tránh sự ức chế bởi nồng độ cao của sản phẩm thủy phân và cho phép

đạt hiệu quả thủy phân tốt nhất. Ở nồng độ bã rắn cao hơn, khả năng đảo trộn, ức chế từ các sản phẩm thủy phân có thể tác động ít nhiều đến hiệu quả thủy phân [2]. Tiến hành thủy phân bằng enzyme theo mẻ với lượng chất rắn cao cũng đã gặp những trở ngại nhất định, bởi độ nhớt cao trong dịch thủy phân gây khó khăn cho quá trình đảo trộn, truyền nhiệt hiệu quả thấp dẫn đến làm tăng mức tiêu thụ điện năng trong các lò phản ứng thủy phân. Bên cạnh đó, cùng với sự tồn tại của hợp chất lignin chưa được hòa tan hoàn toàn từ quá trình tiền xử lý bằng phương pháp vật lý trước đó cũng có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình thủy phân [2]. Để giảm thiểu những tác động tiêu cực này và tối đa hóa việc sản xuất glucose, thủy phân fed - batch được đề xuất là khả thi cho quá trình thủy phân lignocellulose bằng enzyme. Tiếp cận thủy phân bằng phương pháp fed - batch đã được nghiên cứu và cho thấy một lợi thế có thể thu hồi được hàm lượng đường cao trong quá trình thủy phân với lượng chất rắn thấp. Thủy phân bằng phương pháp fed - batch cho phép kiểm soát các thông số thông qua các giai đoạn riêng biệt giữa xúc tác của enzyme và cellulose [3]. Nghiên cứu quá trình thủy phân cellulose bằng cách kiểm soát quá trình cung cấp cơ chất trong suốt quá trình thủy phân giúp cho người ta có thể kiểm soát được hàm lượng chất rắn và các sản phẩm ức chế sinh ra trong quá trình thủy phân. Do đó, hiệu suất của quá trình thủy phân fed - batch phụ thuộc

rất lớn vào khoảng thời gian và nồng độ bã ban đầu của quá trình thủy phân. Theo nghiên cứu của Yang và cộng sự cho thấy, thủy phân fed - batch với nồng độ bã 30 % có thể thu được nồng độ glucose đạt tới gần 220 g/l [4]. Tuy nhiên, để đạt được nồng độ glucose này, các điều kiện tiền xử lý bằng axit, kiềm để thu hồi cellulose tinh khiết phục vụ cho thủy phân bằng phương pháp fed - batch cũng phức tạp và tốn thời gian. Một nghiên cứu khác của Wang và cộng sự cho thấy, quá trình thủy phân fed - batch với nồng độ bã rắn 30 % chỉ thu được hàm lượng glucose đạt 100 g/l, quá trình thủy phân chỉ sử dụng tỷ lệ glucan 50 % với nồng độ enzyme cellulase là 20 FPU/g bã [5]. Do đó, việc lựa chọn dung môi tiến hành tiền xử lý sinh khối bằng phương pháp tiêu thụ năng lượng thấp và tối ưu hóa quy trình fed - batch là cần thiết để sản xuất glucose có nồng độ cao phục vụ cho sản xuất ethanol sinh học.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Dăm gỗ thông được thu thập tại Công ty ván dăm Thái Nguyên, phơi khô trong không khí, nghiền và sàng qua rây kích thước 2,5 đến 3 cm và đồng nhất trong các lô thí nghiệm.

Chế phẩm enzyme Cellic Ctec 2 sử dụng trong nghiên cứu có hoạt tính 238 FPU/ml, các chế phẩm được cung cấp từ hãng Novozymes, Đan Mạch.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tiền xử lý

Các mẫu dăm gỗ thông được xử lý bằng axit formic 80 % (w/v) trong bình tiền xử lý ở nhiệt độ 121 °C trong 60 phút,

với tỷ lệ rắn/lỏng là 10 %. Sinh khối sau khi thủy phân bằng axit được rửa bằng nước cất cho đến khi pH bằng 7 và được rửa NaOH 0,1 %, tỉ lệ bã/dịch NaOH 1/10. Sau rửa kiềm bã được tách dịch kiềm và được rửa bằng nước cất về pH 7. Bã sau tách dịch được chuyển vào túi nhựa, cân khối lượng và bảo quản ở 4 °C để thực hiện thủy phân bằng enzyme tiếp theo.

2.2.2. Thủy phân dăm gỗ thông phân đoạn theo mẻ (batch)

Các thí nghiệm thủy phân bằng enzyme theo mẻ được thực hiện với tổng thể tích 50 ml trong bình tam giác 250 ml có nồng độ bã rắn 5 đến 20 % (w/v) và lượng enzyme từ 20 - 50 FPU/g bã rắn dịch thủy phân. Hoạt độ của enzyme sẽ được xác định dựa trên cơ sở đơn vị hoạt độ quốc tế (phương pháp NREL) [6]. Sử dụng đệm natri citrate 0,05 M để duy trì độ pH 4,8; Bổ sung 100 µl dung dịch sodium azide 2 % để ngăn ngừa sự phát triển của vi khuẩn. Quá trình thủy phân được thực hiện trong tủ nuôi cấy lắc ở 50 °C với tốc độ khuấy 150 vòng/phút trong 96 giờ. Định kỳ 24 giờ lấy mẫu phân tích hàm lượng glucose trong dịch thủy phân. Xác định hiệu suất thủy phân, tốc độ thủy phân trung bình theo thời gian.

Hiệu suất thủy phân được tính theo công thức:

$$\text{Hiệu suất thủy phân (\%)} = \frac{V \cdot C_{\text{glucose}}}{1,1 \cdot A \cdot m} \times 100 \quad (1)$$

C_{glucose} : Hàm lượng glucose trong dịch thủy phân (g/L); V: Thể tích mẫu thí nghiệm, 1,1: Hệ số chuyển đổi glucan thành glucose; A: Hàm lượng glucan bã sử dụng (%); m: Lượng mẫu phân tích tính theo khối lượng khô tuyệt đối (g).

Tốc độ thủy phân tại các thời điểm được tính theo công thức:

$$\text{Tốc độ thủy phân (g/l}\times\text{h)} = \frac{\text{Hàm lượng glucose dịch thủy phân cuối (g/l)} - \text{Hàm lượng glucose dịch thủy phân đầu (g/l)}}{\text{Thời gian thủy phân (h)}} \quad (2)$$

* *Thủy phân bổ sung dần cơ chất (fed - batch)*

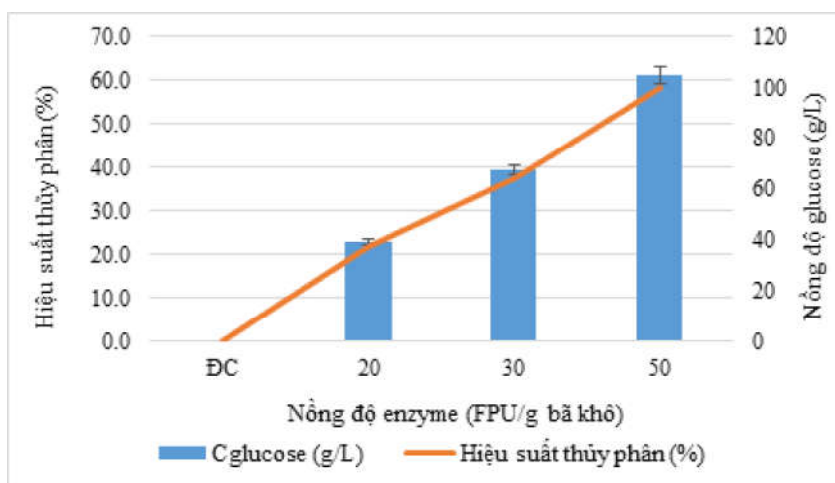
Thủy phân fed - batch được tiến hành trong lò phản ứng sinh học có thể tích 250 ml với thể tích được nạp vào ban đầu là 20 ml chứa 15 % (w/v) bã, nồng độ enzyme được bổ sung trước khi tiến hành thủy phân với nồng độ 50 FPU/g bã rắn. Trong quá trình thủy phân tiến hành bổ sung dần cơ chất theo tỷ lệ 25 %/lần (tương ứng fed - batch 4 lần) lần lượt tại các thời điểm 0 giờ, 6 giờ, 12 giờ và 18 giờ. Định kỳ sau 24 giờ lấy mẫu một lần để xác định hàm lượng glucose và đánh giá hiệu suất, tốc độ thủy phân của quá trình.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thủy phân bằng enzyme theo mẻ (batch)

3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme tới hiệu suất thủy phân cellulose trong dăm gỗ thông

Thực hiện thủy phân nồng độ bã rắn 5 % với nồng độ enzyme được tiến hành khảo sát là 20 - 50 FPU/g bã khô, bã được thủy phân ở nhiệt độ 50 °C, tốc độ khuấy 150 vòng/phút trong thời gian 96 giờ. Kết quả thể hiện trong Hình 1.



Hình 1: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hiệu suất thủy phân

Kết quả cho thấy, tại mẫu đối chứng không sử dụng enzyme gần như không diễn ra hoạt động của quá trình thủy phân, nồng độ glucose không ghi nhận tại mẫu đối chứng. Ở nồng độ enzyme 20 FPU/g sau 96 giờ thủy phân hàm lượng glucose thu được là 39,4 g/l tương ứng với hiệu suất thủy phân là 22 %. Tại nồng độ enzyme 30 FPU/g hiệu suất thủy phân tăng 37,6 % và đạt cực đại ở nồng độ enzyme 50 FPU/g hiệu suất thủy phân đạt 58,4 %.

Kết quả thủy phân phụ thuộc rất lớn vào sinh khối lignocellulose khác nhau và nguồn enzyme cũng như quá trình tiền xử lý trước đó. Một số quá trình tiền xử lý cho phép bã được thủy phân tốt với nồng độ enzyme thấp, tuy nhiên phương pháp tiền xử lý đó vẫn có đặc thù riêng, như thời gian tiền xử lý dài hay hàm lượng glucan thấp. Một số nghiên cứu cho thấy bã mía tiền xử lý bằng axit acetic trong điều kiện có xúc tác hydrochloric cho

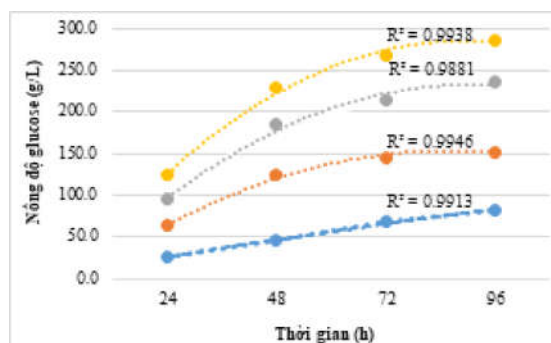
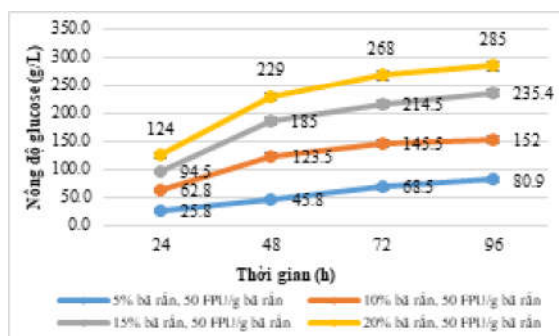
Nghiên cứu

hiệu suất thủy phân đạt 36,2 - 38,0 % với chất khô ở nồng độ enzyme 45 FPU/g bã khô [9]. Một nghiên cứu khác của Alex Berlin và cộng sự (2005) đã tiến hành tiên xử lý gỗ cây linh sam bằng phương pháp nổi hơi nước ở nhiệt độ cao, quá trình thủy phân được tiến hành với nồng độ enzyme 10 FPU/g hàm lượng glucose thu được sau 72 giờ thủy phân đạt $46,8 \pm 1,7$ (g/L) [10]. Mục tiêu chính của quá trình thủy phân là chuyển hóa càng nhiều cellulose thành glucose càng nhanh càng tốt, điều này có thể đạt được bằng cách bổ sung thêm enzyme cellulase phục vụ cho mục đích trên. Có một vài nghiên cứu cho thấy có một phần nhỏ cellulose trong nguyên liệu khó chuyển hóa thành glucose do đó

để tăng hiệu quả của quá trình thủy phân cần một lượng lớn enzyme để chuyển hóa một phần tương đối nhỏ cellulose [10].

3.1.2. Ảnh hưởng của nồng độ bã rắn tới hiệu suất thủy phân cellulose trong dăm gỗ thông

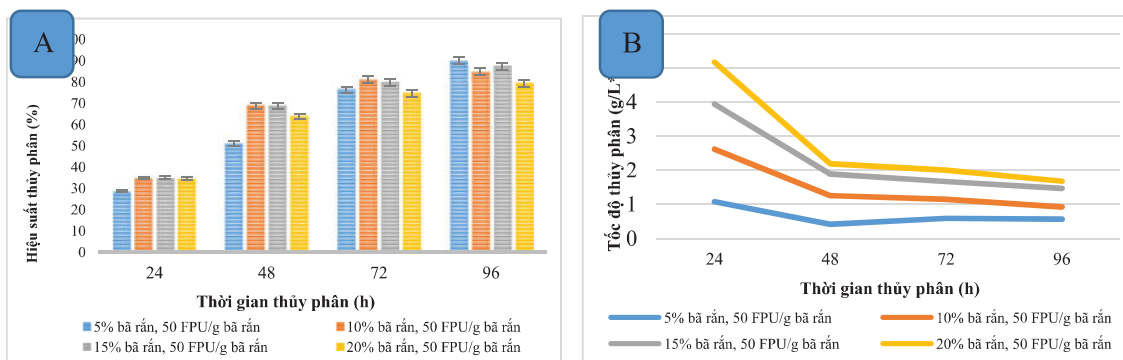
Thủy phân theo mẻ được tiến hành với nồng độ bã rắn từ 5 đến 20 % (w/v) và nồng độ enzyme là 50 FPU/g bã khô trong bình tam giác 250 ml. Quá trình thủy phân thực hiện trên máy lắc với tốc độ lắc 150 vòng/phút, ở 50 °C trong thời gian 96 giờ. Định kỳ 24 giờ lấy mẫu xác định hàm lượng glucose để đánh giá hiệu suất của quá trình thủy phân. Kết quả chỉ ra trong Hình 2.



Hình 2: Ảnh hưởng của nồng độ bã rắn đến quá trình thu hồi glucose trong dịch thủy phân

Kết quả trên Hình 2 cho thấy, thủy phân theo mẻ được tiến hành để kiểm soát tối ưu nồng độ bã rắn phục vụ cho quá trình thủy phân cellulose. Nhìn vào đồ thị cho thấy cellulose trong bã rắn được thủy phân bởi enzyme và hàm lượng lignin không gây ảnh hưởng lớn đến quá trình thủy phân trong hệ thống trong 24 giờ đầu tiên. Sau 24 giờ thủy phân hàm lượng glucose tích lũy trong dịch thủy phân tương đối đáng kể tại nồng độ bã rắn từ 15 % và 20 % là 94,5 - 124 (g/L) cao hơn so với nồng độ bã rắn 10 % gấp 1,97 lần và 4,8 lần tại nồng độ bã rắn 5 %. Tuy nhiên, sau

48 giờ thủy phân hàm lượng glucose tích lũy trong dịch thủy phân cũng tăng lên đáng kể, tốc độ tăng khoảng 1,7 - 1,9 lần ở các nồng độ bã rắn. Sau 96 giờ thủy phân nồng độ glucose đạt ở các nồng độ bã rắn từ 5 - 20 % là khoảng 80,9 - 285 g/L, gấp khoảng 2,3 - 3,1 so với nồng độ bã rắn sau 24 giờ thủy phân. Theo báo cáo của NREL cho thấy khi tăng nồng độ bã rắn lên càng cao cho phép giảm giá thành trong sản xuất ethanol xuống, do đó giải pháp sử dụng nồng độ bã rắn cao để nghiên cứu cũng là giải pháp cho lựa chọn nguồn đầu vào phù hợp của công nghệ.



Hình 3: Ảnh hưởng của nồng độ bã rắn đến hiệu suất thủy phân và tốc độ thủy phân ở nhiệt độ 50 °C, tốc độ lắc 150 vòng/phút trong 96 giờ A - Hiệu suất thủy phân (%); B - Tốc độ thủy phân (g/L × h)

Hiệu suất thủy phân trên 90 % sau 96 giờ thủy phân ở nồng độ bã rắn 5 % và có xu hướng giảm ở các nồng độ bã rắn cao, từ nồng độ bã rắn 10 % hiệu suất thủy phân chỉ đạt 84,8 % và ở 20 % chỉ đạt 79,5 %. Ở nồng độ bã rắn 20 % với nồng độ glucose tích lũy trong dịch thủy phân là 285 g/L cho thể cho phép lên men ethanol đạt nồng độ cồn 9 %. Theo một số nghiên cứu về mức độ ảnh hưởng của nồng độ bã rắn đến hiệu suất thủy phân ở nguồn lignocellulose từ bã mía bằng tiền xử lý formiline cho thấy, ở nồng độ bã rắn 2,5 % hiệu suất thủy phân đạt 89,4 % và khi tăng nồng độ bã rắn lên 10 % hiệu suất thủy phân giảm 1,1 lần [8]. Để tiến hành thủy phân ở nồng độ bã rắn cao (khoảng từ 10 - 20 %) khả năng hóa lỏng chậm dần đến những khó khăn khi thực hiện quá trình, đồng thời có thể là nguyên nhân làm giảm hiệu suất thủy phân đạt được. Quá trình thủy phân ở nồng độ bã rắn cao có thể dẫn đến thiếu hụt nước, do độ nhớt cao gây khó khăn cho quá trình đảo trộn đó cũng là một thách thức khi tiến hành thủy phân ở nồng độ bã rắn cao. Theo nghiên cứu của Wang và cộng sự (2011) cho thấy, ở nồng độ bã rắn cao, độ nhớt gây khó khăn vào làm giảm hiệu suất thủy phân

[7]. Cũng theo nghiên cứu của Gupta và cộng sự (2012), thủy phân 20 % bã rắn từ cây *Prosopis juliflora* được thực hiện tiền xử lý bằng NaCl chỉ đạt được hàm lượng glucose 80,78 g/L với hiệu suất chuyển hóa cellulose là 40,39 % sản 120 giờ thủy phân [11]. Do đó muốn nghiên cứu quá trình thủy phân ở nồng độ bã rắn cao cần phải có một thiết bị đảo trộn đủ mạnh hỗ trợ cho việc hóa lỏng nhanh bã thủy phân. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở nồng độ bã rắn cao được sử dụng cho các nghiên cứu thủy phân bổ sung dần cơ chất nhằm giảm độ nhớt dịch thủy phân.

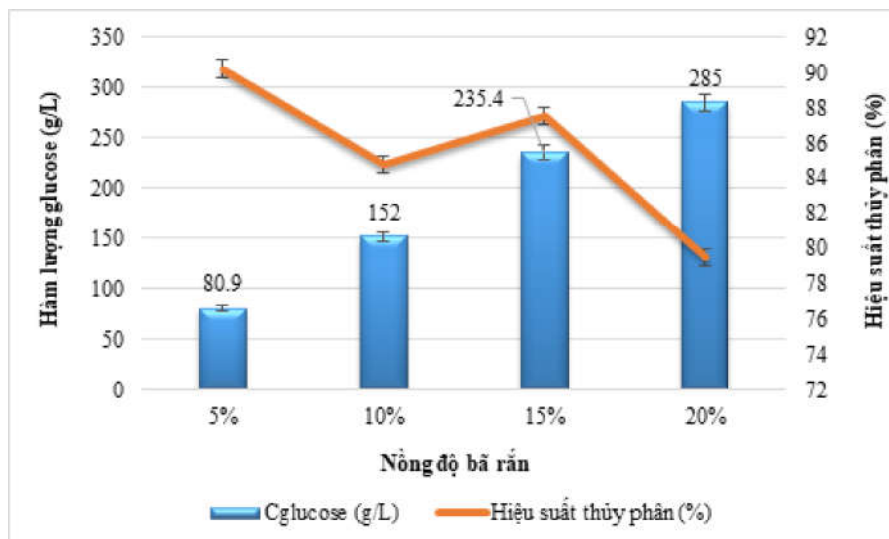
3.1.3. Ảnh hưởng của glucose đến hiệu suất thủy phân

Nghiên cứu ở nồng độ bã rắn cho thấy, nồng độ glucose trong dịch thủy phân có ảnh hưởng mạnh mẽ đến hiệu suất của quá trình thủy phân. Trong các thí nghiệm có sử dụng nồng độ bã rắn khác nhau cho thấy, ở nồng độ bã rắn càng cao thì khả năng thu được nồng độ glucose trong dịch thủy phân cũng lớn, nhưng hiệu suất thủy phân sau 96 giờ đạt không cao. Điều này cho thấy, có thể nồng độ glucose cao là nguyên nhân tạo ra chất ức chế dẫn đến giảm hiệu suất thủy phân. Để nghiên cứu rõ về mức độ

Nghiên cứu

ảnh hưởng của các nồng độ bã rắn đến hiệu suất thủy phân, tiến hành thủy phân với các thí nghiệm có nồng độ bã rắn

thay đổi từ 5 - 20 % trong 96 giờ ở nhiệt độ 50 °C, tốc độ khuấy 150 vòng/phút. Kết quả chỉ ra trong Hình 4.



Hình 4: Ảnh hưởng của nồng độ glucose đến hiệu suất thủy phân trong dăm gỗ thông

Kết quả cho thấy, sau 96 giờ thủy phân ở nồng độ bã 5 % cho hiệu suất thủy phân đạt 90,2 % với nồng độ glucose được tích lũy trong dịch thủy phân là 80,9 g/L. Khi tăng nồng độ bã lên 10 % đến 20 % thì hàm lượng glucose tích lũy đạt 152 g/L đến 285 g/L, nồng độ glucose tăng 46,8 - 71 % so với nồng độ bã ở 5 %, tuy nhiên hiệu suất thủy phân lại giảm 1,03 đến 1,13 lần. Theo diễn biến về tốc độ thủy phân theo thời gian trên Hình 3B cho thấy tốc độ thủy phân tăng mạnh mẽ ở 24 giờ đầu của quá trình thủy phân ở nồng độ bã rắn 10 %, 15 % và 20 % tương ứng là 2,62 (g/L × h); 3,94 (g/L × h) và 5,17 (g/L × h). Sau 48 giờ thủy phân nồng độ glucose tích lũy trong dịch thủy phân ngày càng cao tăng từ 43 % đến 49 % nhưng hiệu suất thủy phân đều giảm từ 1,8 - 2 lần so với 24 giờ đầu tiên hành thủy phân. Sau 96 giờ thủy phân nồng độ glucose trong dịch thủy phân tích lũy vẫn tăng từ 56 % đến 68 % và hiệu suất thủy phân tăng từ 2,3 đến 3,13 lần so với 24 giờ đầu thủy

phân. Tương ứng với đà tăng của glucose trong dịch thủy phân trong 96 giờ là quá trình giảm tốc độ thủy phân tương ứng với nồng độ bã 5 %, 10 %, 15 %, 20 % là 0,57 (g/L × h); 0,93 (g/L × h); 1,47 (g/L × h); 1,68 (g/L × h). Điều này cho thấy sự ức chế lớn của glucose đến tốc độ thủy phân bởi enzyme. Có rất nhiều các nghiên cứu cho thấy nồng độ glucose được tích lũy cao trong dịch thủy phân là một nguyên nhân gây cản trở tốc độ thủy phân, khi nồng độ glucose càng lớn thì tốc độ thủy phân càng giảm, tuy nhiên mức độ giảm của tốc độ thủy phân còn phụ thuộc vào nguồn cơ chất, nồng độ enzyme, nồng độ chất ức chế và phương pháp thủy phân, có những nghiên cứu cho thấy, ở nồng độ glucose 0,1 - 3,19 g/L đã ảnh hưởng đến tốc độ thủy phân [12].

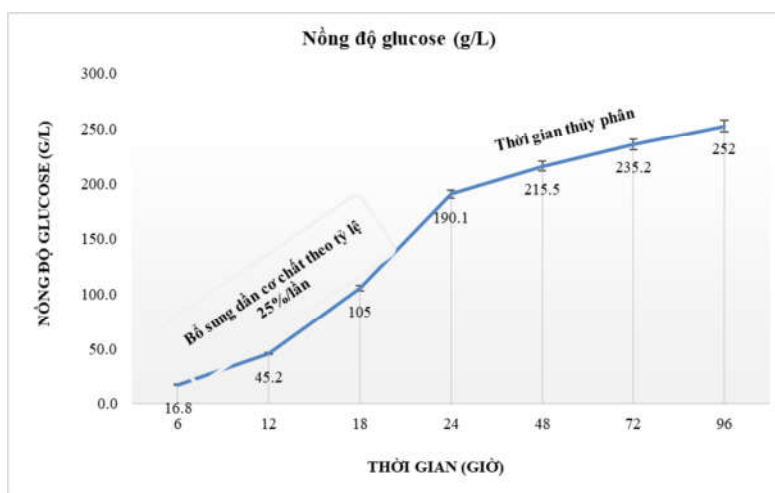
Như vậy ở nồng độ bã rắn cao 20 %, hàm lượng glucose được thủy phân cao gây ức chế là giảm tốc độ thủy phân, làm cho hiệu suất thủy phân chậm lại. Điều này cho thấy, có thể ở nồng độ bã rắn cao

độ nhớt cao, khó khăn trong việc đảo trộn bã cũng là yếu tố gây cản trở quá trình thủy phân và cũng là nguyên nhân giảm hiệu suất thủy phân. Để khắc phục hiện tượng này, tiến hành thủy phân bằng phương pháp bổ sung dần cơ chất (fed - batch) có sử dụng khuấy trộn nhằm khắc phục nhược điểm trên.

3.2. Thủy phân bổ sung dần cơ chất (fed - batch)

Trong quá trình thủy phân tải lượng chất rắn là một trong những yếu tố chính ảnh hưởng đến quá trình thủy phân bằng enzyme trong sinh khối lignocellulose từ

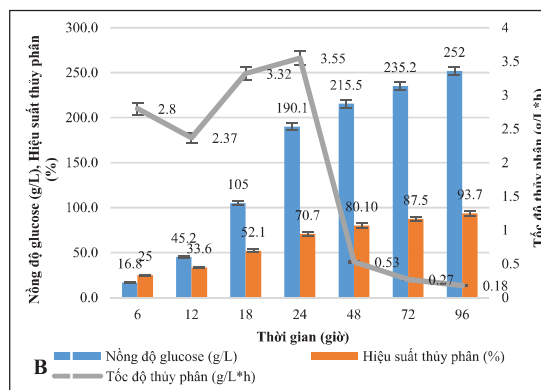
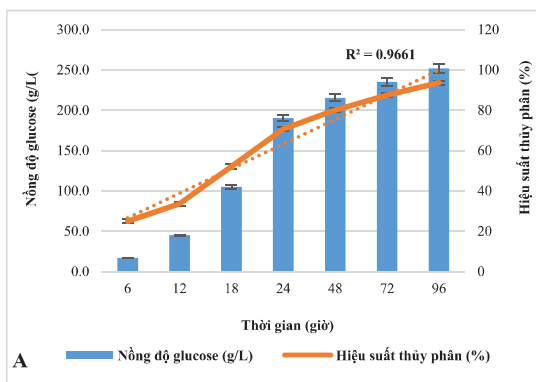
dăm gỗ. Do đó, việc kiểm soát tải lượng chất rắn trong quá trình bổ sung dần cơ chất được kỳ vọng sẽ đóng vai trò chính trong quá trình thủy phân fed - batch. Để so sánh tác động của tải lượng chất rắn khác nhau đến hiệu suất thủy phân, một chiến lược kiểm soát nhằm tối ưu hàm lượng glucose đã được thực hiện bằng bổ sung dần cơ chất theo tỷ lệ 25 %/lần (tương ứng fed - batch 4 lần), lần lượt tại các thời điểm 0 giờ, 6 giờ, 12 giờ và 18 giờ. Kiểm soát tốc độ cấp cơ chất được tối ưu hóa cho mỗi lần nạp chất rắn được thể hiện trong Hình 5.



Hình 5: Đánh giá nồng độ glucose dưới mô hình thủy phân fed - batch

Theo mô hình fed - batch, nồng độ cơ chất được bổ sung theo từng đợt để hạn chế lượng glucose tích lũy lớn làm ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình thủy phân. Quá trình thủy phân diễn ra mạnh mẽ ở 6 giờ, 12 giờ, 18 giờ và 24 giờ thủy phân nồng độ glucose tích lũy trong dịch thủy phân tương ứng 16,8 (g/L); 45,2 (g/L); 105 (g/L) và 190,1 (g/L), tương ứng với hiệu suất thủy phân đạt 70,7 %. Sau 48 giờ kết thúc quá trình bổ sung cơ chất, hàm lượng glucose tích lũy đạt 215,5 (g/L) và hàm lượng glucose đạt cực đại 252 (g/L) sau

96 giờ thủy phân. So với quá trình thủy phân theo mẻ, quá trình thủy phân fed - batch đã phần nào khắc phục được vấn đề về ảnh hưởng của nồng độ glucose lớn tại thời gian đầu và nâng nồng độ glucose trong dịch thủy phân từ 235,4 (g/L) lên 252(g/L). Để hiểu rõ hơn diễn biến quá trình thủy phân ở nồng độ bã rắn cao 15 %, tiến hành phân tích hiệu suất thủy phân, tốc độ thủy phân thông qua hàm lượng glucose tích lũy trong mô hình.



Hình 6: Kết quả thủy phân trên mô hình fed - batch

Kết quả trên Hình 6 cho thấy, ở 24 giờ đầu bổ sung dần cơ chất tốc độ thủy phân tăng mạnh mẽ và đạt cao nhất 3,55 (g/L×h) và hiệu suất thủy phân đạt 70,7 %. Tuy nhiên sau 48 giờ, mặc dù hiệu suất thủy phân tăng nhưng tốc độ thủy phân giảm đáng kể xuống còn 0,53 (g/L×h), giảm 6,7 lần. Kết thúc quá trình thủy phân hiệu suất thủy phân đạt 93,7 % và hàm lượng glucose tích lũy trong dịch thủy phân đạt 252 g/L. So sánh với nghiên cứu của Gupta và cộng sự (2012) cho thấy, khi tiến hành thủy phân 20 % bã rắn từ cây *Prosopis juliflora*, sử dụng nồng độ enzyme cellulase 22 FPU/g và 68 U/g β -glucosidase kết quả thu được hàm lượng glucose là 80,78 g/L và 127 g/L tương ứng ở chế độ thủy phân theo mẻ và chế độ thủy phân fed - batch [11].

Chiến lược kiểm soát tối ưu với mô hình thủy phân bổ sung dần cơ chất (fed - batch) đã giải quyết cơ bản vấn đề thủy phân bằng enzyme cho sinh khối lignocellulose từ dăm gỗ thông với mục tiêu tối ưu hóa quá trình chuyển đổi cellulose, nâng cao hiệu suất thu hồi glucose, hàm lượng chất rắn và lignin được kiểm soát trong suốt quá trình thủy phân. Mô hình này có thể được đề xuất trên quy mô lớn hơn nhằm nâng cao hiệu

quả thủy phân phục vụ cho mục đích sản xuất ethanol sinh học.

4. Kết luận

Đã đánh giá được ảnh hưởng enzyme cellulase tại các của nồng độ 20, 30, 50 FPU/g bã khô trong điều kiện thủy phân ở 50 °C, tốc độ lắc 150 vòng/phút cho thấy, nồng độ glucose tích lũy trong dịch thủy phân tương ứng được tích lũy đạt 39,4 (g/L); 67,4 (g/L); 80,9 (g/L) và hiệu suất thủy phân là 43,9 %; 75,2 % và 90,2 %.

Đã đánh giá được ảnh hưởng của nồng độ bã rắn của dăm gỗ thông đến hiệu suất thủy phân và tốc độ thủy phân, ở nồng độ bã rắn 15 % và nồng độ enzyme 50 FPU/g bã rắn hiệu suất thủy phân đạt cao nhất 87,5 % với hàm lượng glucose đạt 235,4 g/L và tốc độ thủy phân đạt 1,47 (g/L×h) và cũng đã làm rõ mức độ ảnh hưởng của glucose dẫn đến làm giảm hiệu suất của quá trình thủy phân.

Quá trình thủy phân cellulose bằng bổ sung dần cơ chất (fed - batch) được thực hiện bổ sung theo tỷ lệ 25 %/lần (tương ứng fed - batch 4 lần) tại các thời điểm 0 giờ, 6 giờ, 12 giờ và 18 giờ cho thấy nồng độ glucose được tích lũy cao nhất sau 24 giờ thủy phân đạt 190,1 g/L; Hiệu suất thủy phân tăng 70,7 % và tốc độ

thủy phân đạt 3,55 (g/L × h). Sau 96 giờ thủy phân hiệu suất thủy phân hiệu suất thủy phân đạt 93,7 % tăng gấp 1,07 lần so với quá trình thủy phân theo mẻ (batch).

Lời cảm ơn: Nhóm 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.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Van Wyk JP., (2001). *Biotechnology and the utilization of biowaste as a resource for bioproduct development*. Trends Biotechnol 19:172 - 177.
- [2]. Lloyd TA, Wyman CE., (2005). *Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids*. Bioresour Technol 96:1967 - 1977.
- [3]. Smets IY., Claes JE., November EJ., Bastin GP., Van Impe JF., (2004). *Optimal adaptive control of (bio) chemical reactors: Past, present and future*. J Process Contr 14:795 - 805.
- [4]. Yang, M., Li, W., Liu, B., Li, Q., Xing, J., (2010). *High-concentration sugars production from corn stover based on combined pretreatments and fed-batch process*. Bioresource Technol 101, 4884 - 4888.
- [5]. Wang, W., Zhuang, X., Yuan, Z., Yu, Q., Qi, W., Wang, Q., Tan, X., (2012). *High consistency enzymatic saccharification of sweet sorghum bagasse pretreated with liquid hot water*. Bioresource Technol 108, 252 - 257.
- [6]. 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
- [7]. Wang W, Kang L, Wei H, Arora R, Lee Y.Y., (2011) *Study on the decreased sugar yield in enzymatic hydrolysis of cellulosic substrate at high solid loading*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 164: p. 1139 - 1149.
- [8]. Zhao X, Liu D., (2012) *Fractionating pretreatment of sugarcane bagasse by aqueous formic acid with direct recycle of spent liquor to increase cellulose digestibility - the Formiline process*. Bioresource Technology, 117 (2012) p. 25 - 32.
- [9]. Lê Quang Diễm, Phạm Tuấn Anh, Tô Kim Anh, Nguyễn Thị Minh Nguyệt (2015). *Thu nhận xenlulozơ từ bã mía cho sản xuất ethanol sinh học theo phương pháp xử lý với axit axetic*. Tạp chí Hóa học, 53(1): p. 50 - 55.
- [10]. Alex, B., Neil, G., Douglas, K., Renata, B., Alexander, M., Anton, S., Oleg, O., Alexander, G., Vera, Maximenko., David, Gregg., 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]. Gupta R. , Kumar S, Gomes J, Kuhad R., (2012) *Kinetic study of batch and fed - batch enzymatic saccharification of pretreated substrate and subsequent fermentation to ethanol*. Biotechnol Biofuels, 5: p. 16.
- [12]. Andrić P, Meyer A. S, Jensen P. A, Dam-Johansen K., (2010) *Reactor design for minimizing product inhibition during enzymatic lignocellulose hydrolysis: I. Significance and mechanism of cellobiose and glucose inhibition on cellulolytic enzymes*. Biotechnology Advances, 28: p. 308 - 324.