



TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TIỀN XỬ LÝ BÃ MÍA BẰNG AXIT FORMIC PHỤC VỤ CHO SẢN XUẤT ETHANOL SINH HỌC

NGUYỄN THỊ PHƯƠNG MAI^{1*}, KIM THẢO HƯƠNG^{1,2}, ĐỖ THỊ THẢO LINH¹,
NGUYỄN NHƯ YẾN¹, NGUYỄN PHƯƠNG TỬ¹

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

²Công ty TNHH Một thành viên NXB Tài nguyên - Môi trường và Bản đồ Việt Nam

Tóm tắt:

Tiền xử lý phân đoạn bã mía bằng axit formic với mục đích tách các thành phần hemicellulose và lignin nhằm thu hồi nguồn cellulose tinh khiết phục vụ cho sản xuất ethanol sinh học. Mục tiêu chính trong nghiên cứu này là tối ưu các điều kiện của quá trình tiền xử lý bã mía nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi cellulose phục vụ cho mục đích thủy phân cellulose bã mía bằng enzyme, thu hồi glucose cho lên men sản xuất ethanol sinh học. Nghiên cứu sử dụng nguyên liệu là bã mía, với phương pháp xác định thành phần hữu cơ trong bã mía, thủy phân phân đoạn bã mía, tối ưu hóa các điều kiện phân đoạn bằng phương pháp đáp ứng bề mặt, chụp FESEM và xử lý số liệu. Ma trận thực nghiệm với ba biến số độc lập được thiết kế để nghiên cứu tác động đồng thời đến khả năng loại bỏ lignin và hiệu suất thu hồi cellulose. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mô hình đáp ứng bề mặt có giá trị R^2 tương ứng đến khả năng loại bỏ lignin, hiệu suất thu hồi cellulose đều đạt từ 0,90 đến 0,99% với giá trị p tương ứng là 0,0028 và $< 0,0001$, điều kiện được tối ưu ở 130°C , nồng độ axit formic 80% trong thời gian 50 phút cho kết quả loại bỏ lignin đạt 85,4% và hiệu suất thu hồi cellulose là 90,5%. Quan sát trên kính hiển vi điện tử quét (FESEM) cũng đã làm nổi bật những thay đổi vật lý trong cấu trúc sợi cellulose, kết quả này thể hiện sự phù hợp với các điều kiện phân đoạn.

Từ khóa: Bã mía, tiền xử lý, phương pháp đáp ứng bề mặt, khả năng loại bỏ lignin, hiệu suất thu hồi cellulose.

Ngày nhận bài: 3/6/2024; Ngày sửa chữa: 30/6/2024; Ngày duyệt đăng: 19/7/2024.

Optimizing the pre-treatment process of bagasse with formic acid for bioethanol production

Abstract:

Pre-treatment of bagasse by acid formic aims at separating hemicellulose and lignin components to recover the pure cellulose source for bioethanol production. The main objective of this research is to optimize the conditions of bagasse pretreatment to improve cellulose recovery efficiency for the enzymatic hydrolysis of bagasse cellulose, glucose recovery for fermentation to produce bioethanol. The research used bagasse as raw material, with the method of determining organic components in bagasse, hydrolyzing bagasse in segments, optimizing conditions of segments by response surface method, Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM) and data processing. The experimental matrix with three independent variables was designed to study the simultaneous impacts on lignin removal and cellulose recovery efficiency. The results show that the response surface model has R^2 values that are related to the lignin removal ability and cellulose recovery efficiency ranging from 0.90 to 0.99% with corresponding p values of 0.0028 and lower than 0.0001, optimized conditions at 130°C , formic acid concentration of 80% in 50 minutes resulted in lignin removal of 85.4% and cellulose recovery efficiency of 90.5%. Observing with FESEM also highlighted physical changes in the cellulose fiber structure, this result is consistent with the segment conditions.

Keywords: Bagasse, pre-treatment, response surface method, lignin removed, cellulose recovery efficiency.

JEL Classifications: Q57, N53, N54.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nguồn nhiên liệu hóa thạch hiện nay đã bị khai thác và sử dụng cạn kiệt, hướng sự quan tâm của các nhà khoa học trên toàn thế giới về một nguồn vật liệu thay thế và sinh khối lignocellulose từ bã mía được sử dụng như một nguồn nguyên liệu sản xuất ethanol sinh học thế hệ thứ hai. Nguồn vật liệu lignocellulose từ bã mía gồm ba

polyme sinh học chính: (1) cellulose, được biết đến là thành phần hữu cơ chính của D-glucose, liên kết bởi các liên kết β -1,4-glycosid, các liên kết này hình thành từ các sợi tinh thể và được liên kết với hemicellulose; (2) một hợp chất phân nhánh vô định hình gồm các chất dị trùng hợp của các gốc pentoses, hexose, các gốc đường khác và trong mỗi liên kết bền chắc này vai trò của lignin được



biết đến như một chất dị hợp tử của các rượu phenolic, được bao quanh đoạn polysacarit, tạo nên độ bền chắc cho thành tế bào thực vật (Boeriu CG et al., 2014). Cấu trúc phức tạp, đa thành phần này khó có thể bị phân giải bởi các yếu tố vật lý, hóa học và sinh học thông thường.

Trong công nghệ sản xuất nhiên liệu sinh học thế hệ thứ hai này thì các polyme sinh học trong vật liệu lignocellulose phải được phân tách và tạo thành các gốc đường phục vụ cho sản xuất ethanol sinh học đang là mục tiêu hướng đến cho hoàn thiện quy trình tiền xử lý lignocellulose, trong đó có quá trình tiền xử lý lignocellulose bằng phân đoạn (Liu C et al., 2016). Một số dung môi hữu cơ được lựa chọn để hòa tan và tách các thành phần lignocellulose từ các loại sinh khối khác nhau cũng đã được nghiên cứu. Hiệu quả của quá trình tách các polyme sinh học giữa các dung môi cũng khác nhau. Do đó, việc lựa chọn dung môi có đặc tính và độ chọn lọc là cơ sở để phát triển quy trình tách và thu được các hợp chất hữu cơ tinh khiết nâng cao hiệu suất cho sản xuất ethanol sinh học (Boeriu CG et al., 2014). Quá trình thủy phân phân đoạn bằng axit formic cũng được nghiên cứu cho thấy, các polyme có nguồn gốc từ hemicellulose và lignin bị hòa tan vào pha lỏng và để lại cellulose tinh khiết ở dạng rắn. Chính việc loại bỏ hemicellulose và lignin trong quá trình thủy phân phân đoạn làm tăng khả năng tiếp cận của enzyme với các cellulose ở dạng tinh thể và tăng hiệu quả của quá trình thủy phân (Brudecki G et al., 2013), (Sluiter A et al., 2012).

Axit hữu cơ có thể đóng vai trò vừa là dung môi vừa là chất xúc tác trong quá trình tiền xử lý (Snelders J et al., 2014). So với các axit vô cơ, các axit hữu cơ như axit formic, axetic và oxalic ít có tác động đến môi trường và dễ dàng thu hồi do nhiệt độ sôi thấp hơn. Trong số các axit hữu cơ khác nhau, axit formic là một axit yếu có nhiệt độ sôi thấp tương tự như nước, cho phép tái chế bằng cách bay hơi (Du H et al., 2016). Axit formic đã được ứng dụng để xử lý trước và phân đoạn các vật liệu lignocellulose khác nhau (Liu C et al., 2016), (Snelders J et al., 2014). Trong nghiên cứu này, thủy phân phân đoạn có sử dụng axit formic ở nhiệt độ sôi thấp, sự thay đổi các thông số trong phản ứng và nồng độ dung môi ảnh hưởng đến hiệu suất tách của quá trình phân đoạn. Các hợp chất polyme sinh học riêng biệt được xử lý và ứng dụng cho các nghiên cứu tiếp theo để nâng cao hiệu quả của quá trình lên men sản xuất ethanol sinh học từ bã mía.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Bã mía: Thu thập từ Nhà máy đường Lam Sơn - Thanh Hóa, tiến hành sấy khô ở 70°C trong 24 giờ và được nghiền đến kích thước 5 - 7 mm. Mẫu sau nghiền được bảo quản ở nhiệt độ phòng phục vụ cho các công đoạn tiền xử lý tiếp theo.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định thành phần hữu cơ trong bã mía

Bã mía sau khi xác định độ ẩm được cân chính xác 0,3g mẫu vào ống nghiệm 10ml có nắp, thêm 3ml axit H₂SO₄ 72%, dùng đũa thủy tinh khuấy đều, đậy nắp ống nghiệm và để thủy phân ở nhiệt độ 30°C trong 60 phút. Kết thúc thủy phân ở 30°C, mẫu được chuyển vào bình tam giác 250ml và bổ sung 84ml nước khử ion, đậy nắp bình tam giác và hấp ở 121°C trong 60 phút, sau đó để nguội về nhiệt độ phòng và tiến hành phân tích các thành phần hữu cơ trong bã mía bằng phương pháp NREL tiêu chuẩn để xác định hàm lượng cellulose, hemicellulose, lignin, tro và một số thành phần khác (Sluiter A et al., 2012).

2.2.2. Thủy phân phân đoạn bã mía

Quá trình phân đoạn trong nghiên cứu được thực hiện trong các lò phản ứng áp suất cao bằng thép không gỉ 500ml. Phản ứng được tiến hành với bã mía khoảng 5% trọng lượng khô, tiến hành thủy phân phân đoạn trong dung dịch axit formic ở nồng độ thay đổi từ 60 - 80%. Phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ từ 110 - 130°C, thời gian gia nhiệt trong khoảng 30 - 90 phút. Sau khi phân đoạn, mẫu được đem đi tách dịch bằng cách lọc trên giấy lọc (Whatman No.4) và được rửa kiềm 0,5% ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 30 phút. Bã sau rửa kiềm được rửa lại bằng nước cho đến khi đạt pH=7. Thành phần hóa học của dịch và bã sau tiền xử lý được phân tích theo quy trình NREL (Sluiter A et al., 2012). Hiệu suất thu hồi cellulose được xác định bằng phần trăm cellulose thu được trong phần rắn tách ra so với hàm lượng ban đầu của cellulose trong bã nguyên liệu theo phương trình (1) (Suriyachai N et al., 2018). Việc loại bỏ lignin được xác định dựa trên khối lượng lignin còn lại sau khi kết tủa từ dịch tiền xử lý so với hàm lượng lignin trong bã mía nguyên liệu theo phương trình (2).

$$\text{Hiệu suất thu hồi cellulose (\%)} = \frac{\text{Cellulose còn lại bã TXL (mg)}}{\text{Hàm lượng cellulose bã nguyên liệu (mg)}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Lignin loại bỏ (\%)} = \frac{\text{Lignin bã nguyên liệu (mg)} - \text{Lignin còn lại bã TXL (mg)}}{\text{Lignin bã nguyên liệu (mg)}} \times 100 \quad (2)$$

2.2.3. Tối ưu hóa các điều kiện phân đoạn bằng phương pháp đáp ứng bề mặt

Tối ưu hóa bằng phương pháp đáp ứng bề mặt được sử dụng để thiết kế ma trận nghiên cứu tác động đồng thời của ba biến số chính (nồng độ axit formic, nhiệt độ phân đoạn và thời gian phản ứng) ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi bã rắn và khả năng loại bỏ lignin. 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 (Bảng 1). Ma trận được thiết kế bao gồm 15 thí nghiệm với 3 lần lặp tại các điểm trung tâm. 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 (R² và R²-adj), biểu đồ phản hồi và phân tích phương sai (ANOVA) bằng phần mềm Design Expert 11.



Bảng 1. Các yếu tố độc lập và giá trị tương ứng

Biến	Ký hiệu	Mức yếu tố được mã hóa		
		-1	0	+1
Nhiệt độ tiến xử lý (°C)	A	5	27,5	50
Nồng độ axit formic (%)	B	10	55	100
Thời gian (phút)	C	0,15	0,375	0,6

Kết quả dự đoán được phân tích bằng hồi quy của phương pháp đáp ứng bề mặt và được biểu diễn bằng phương trình hồi quy đa thức bậc hai liên quan đến các biến số chính và sự tương tác cho từng biến số theo phương trình (3). Sử dụng phân tích phương sai bằng ANOVA để đánh giá ý nghĩa thống kê của mô hình. Giá trị p nhỏ hơn 0,05 được coi là có ý nghĩa. Phương trình của mô hình đa thức được biểu thị bằng hệ số xác định R², hệ số xác định được điều chỉnh (R²-adj) và phép thử F không phù hợp. Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm Design Expert 11 thông qua các phân tích thống kê và đồ họa.

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^n b_i x_i + \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n b_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^n b_{ii} x_i^2 + e_i \quad (3)$$

Trong đó: Y là phản ứng dự đoán; n là số lượng các yếu tố; x_i và x_j là các biến được mã hóa; b₀ là hằng số; b_i, b_{ij} và b_{ii} là các hệ số bậc nhất, bậc hai và hệ số tương tác; i và j là chỉ số của thừa số và e_i là sai số dư.

2.2.4. Chụp FESEM

Cấu trúc vi mô của mẫu bã mía trước và sau tiến xử lý thu được sau quá trình tiến xử lý được phân tích bằng kính hiển vi điện tử quét (JSM-6301F, JEOL, Nhật Bản) với chùm tia điện tử 20kV. Các mẫu được sấy khô và phủ vàng để phân tích FESEM.

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu được sẽ được phân tích dưới dạng mô tả định lượng thông qua các biểu đồ, bảng biểu. Phần mềm EXCEL, phần mềm Design expert 11 được sử dụng để tối ưu, lưu trữ, tổng hợp và phân tích các số liệu đã thu thập được.

3. KẾT QUẢ

3.1. Thành phần hữu cơ trong bã mía

Bã mía nguyên liệu sau thu gom tại Nhà máy đường Lam Sơn - Thanh Hóa, được xử lý cơ học, nghiền nhỏ đến kích thước 5 - 7mm và sấy khô đến độ ẩm 8 - 10%. Tiến hành xác định thành phần hữu cơ trong bã mía nguyên liệu trước tiến xử lý bằng axit formic, kết quả được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Thành phần hữu cơ của bã mía nguyên liệu

Thành phần hữu cơ	Đơn vị tính (%)
Độ tro	0,87 ± 0,15
Lignin tổng	26,7 ± 0,2
Lignin hòa tan trong axit	4,95 ± 0,2
Lignin không hòa tan trong axit	21,75 ± 0,2
Cacbonhydrate	64,0 ± 0,3
Cellulose	43,5 ± 0,3
Hemicellulose	20,5 ± 0,2
Các thành phần khác	8,43 ± 0,1

Kết quả phân tích Bảng 2 cho thấy, thành phần chính trong bã mía là cellulose (43,5% ± 0,3), hemicellulose (20,5% ± 0,2), lignin tổng (26,7% ± 0,2) trong đó thành phần lignin tan trong axit 4,95 ± 0,2. Thành phần cellulose trong bã mía tại nghiên cứu này tương tự như một số thành phần bã mía được thu thập tại Quảng Tây, miền Nam Trung Quốc (Zhao X., Liu D., 2012). Hàm lượng lignin tổng số phân tích được khá cao (26,7%), trong đó hàm lượng lignin không tan trong axit ở mức 21,75% và hàm lượng lignin hòa tan trong axit trong nghiên cứu ở mức thấp (4,95%). Ngoài ra, hàm lượng cellulose trong dăm gỗ thông chiếm tỷ lệ cao đáng kể (43,5%), trong cellulose các gốc đường glucose có thể được giải phóng ra ở dạng tự do và được thu hồi là nguồn nguyên liệu phù hợp khi hàm lượng lignin trong nguyên liệu bị loại bỏ trong quá trình tiến xử lý.

3.2. Ảnh hưởng của các biến số đến hiệu suất thu hồi cellulose và khả năng loại bỏ lignin trong quá trình tiến xử lý bã mía

Trong thành phần bã mía tự nhiên, cellulose, hemicellulose và lignin là các thành phần chính, do đó khi có sự kết hợp của các yếu tố nhiệt độ, nồng độ axit formic và thời gian trong quá trình tiến xử lý tăng cường khả năng hòa tan một phần các phần hemicellulose và lignin trong bã mía tự nhiên ở các mức độ khác nhau nhằm tăng hiệu suất thu hồi cellulose trong bã.

Thiết kế ma trận Box-Behnken được sử dụng, xác định ảnh hưởng của các biến riêng lẻ đến khả năng loại bỏ lignin và hiệu suất thu hồi cellulose trong bã mía. Để kiểm tra ảnh hưởng của nồng độ axit formic, thời gian của quá trình tiến xử lý và nhiệt độ tiến xử lý, một ma trận gồm các thí nghiệm đã được chọn nghiên cứu với các yếu tố độc lập và giá trị ương ứng (Bảng 3). Trong các thí nghiệm này, nồng độ axit formic được bố trí với nồng độ thay đổi từ 60 - 80%, thời gian thủy phân thay đổi từ 10 - 90 phút và nhiệt độ thủy phân từ 90 - 130°C. Dữ liệu thu được phân tích bằng phần mềm với tổng cộng 15 thí nghiệm đã được thiết kế và thực nghiệm cho ra các giá trị thực và giá trị dự đoán, kết quả được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả thí nghiệm tại các điều kiện tiến xử lý khác nhau từ bã mía

Thí nghiệm	Biến thực			Biến mã hóa			Giá trị thực		Giá trị dự đoán	
	Nhiệt độ (°C)	Nồng độ axit formic(%)	Thời gian (phút)	A	B	C	Hiệu suất thu hồi cellulose (%)	Khả năng loại bỏ lignin (%)	Hiệu suất thu hồi cellulose (%)	Khả năng loại bỏ lignin (%)
1	110	60	90	0	-1	1	54,6	75,5	56,7	77,6
2	90	70	10	-1	0	-1	31,5	65,0	33,9	65,9
3	90	60	50	-1	-1	0	28,5	75,8	28,6	74,4
4	110	70	50	0	0	0	54,3	76,8	54,7	75,9
5	130	70	90	1	0	1	80,5	79,5	78,1	79,8
6	110	70	50	0	0	0	55,2	73,5	54,7	75,9
7	130	80	50	1	1	0	90,5	85,4	90,4	83,7
8	130	70	10	1	0	-1	75,5	78,0	77,3	79,9
9	90	80	50	-1	1	0	45,8	70,3	45,0	69,6
10	130	60	50	1	-1	0	60,2	78,5	60,9	76,1
11	110	80	90	0	1	1	77,5	79,2	79,6	80,2
12	110	70	50	0	0	0	54,5	76,0	54,7	75,9
13	110	80	10	0	1	-1	75,5	73,8	74,3	73,1
14	90	70	90	-1	0	1	45,4	78,8	43,7	78,1
15	110	60	10	0	-1	-1	54,5	72,8	51,5	72,9

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. Kết quả chỉ ra trong Bảng 4 và 5 thể hiện sự đánh giá với biến số về hiệu suất thu hồi cellulose và khả năng loại bỏ lignin.

Bảng 4. Đánh giá hiệu suất thu hồi cellulose bằng phân tích ANOVA từ mô hình rút gọn

Nguồn	Tổng bình phương	Bậc tự do (df)	Bình phương trung bình (MS)	F-value	p-value	
Model	4.442,41	8	555,30	84,12	< 0,0001	Phù hợp
A-Nhiệt độ	3.018,64	1	3018,64	457,29	< 0,0001	
B-Axit formic	1.046,53	1	1046,53	158,54	< 0,0001	
C-Thời gian	55,65	1	55,65	8,43	0,0272	
AB	42,25	1	42,25	6,40	0,0447	
AC	20,25	1	20,25	3,07	0,1304	
A ²	29,90	1	29,90	4,53	0,0774	
B ²	72,43	1	72,43	10,97	0,0162	
C ²	152,62	1	152,62	23,12	0,0030	
Residual	39,61	6	6,60			
Lack of Fit	39,16	4	9,79	43,84	0,0224	Không phù hợp
$R^2 = 0,99; R^2\text{-adj} = 0,97$ * Mô hình có ý nghĩa $p < 0,05$						

Trong mô hình với biến là hiệu suất thu hồi cellulose giá trị F của mô hình là khá cao 84,12 và với giá trị này mô hình có ý nghĩa quan trọng, các giá trị xác suất được tính toán (giá trị $p < 0,0001$) đều thấp hơn 0,05. Giá trị p nhỏ hơn 0,05 cho thấy các yếu tố trong mô hình có ý nghĩa. Trong trường hợp này A, B, C, AB, A², B², C² là các yếu tố có ý nghĩa quan trọng với mô hình. Giá trị lớn hơn 0,1 cho thấy các yếu tố liên quan trong mô hình là không có ý nghĩa. Trong trường hợp trong mô hình có nhiều yếu tố không có ý nghĩa (không tính những yếu tố bắt buộc để hỗ trợ cho việc tạo nên ý nghĩa của mô hình) thì việc giảm các yếu tố không có ý nghĩa đó cũng có thể cải thiện mô hình thiết kế cần hướng đến. Trong khi đó, giá trị F-value là 43,84 thể hiện sự không phù hợp đáng kể của mô hình và chỉ có khoảng 2,24% khả năng xảy ra để tạo nên giá trị F-value lớn như vậy có thể là do sai số xảy ra trong thực nghiệm. Ngoài ra, giá trị dự đoán R² là 0,99 phù hợp với R² điều chỉnh là 0,97. Mô hình này được sử dụng cho tối ưu các yếu tố trên ma trận thiết kế Box-Behnken.

Bảng 5. Đánh giá khả năng loại bỏ lignin bằng phân tích ANOVA từ mô hình rút gọn

Nguồn	Tổng bình phương	Bậc tự do (df)	Bình phương trung bình (MS)	F-value	p-value	
Model	287,89	8	35,99	13,05	0,0028	Phù hợp
A-Nhiệt độ	124,03	1	124,03	44,98	0,0005	
B-Axit formic	4,20	1	4,20	1,53	0,2630	
C-Thời gian	70,21	1	70,21	25,46	0,0023	
AB	38,44	1	38,44	13,94	0,0097	
AC	37,82	1	37,82	13,72	0,0100	
A ²	3,66	1	3,66	1,33	0,2930	

B ²	4,23	1	4,23	1,54	0,2616	
C ²	4,50	1	4,50	1,63	0,2486	
Residual	16,54	6	2,76			
Lack of Fit	10,62	4	2,65	0,8957	0,5881	Không phù hợp
$R^2 = 0,95; R^2\text{-adj} = 0,87$ * Mô hình có ý nghĩa $p < 0,05$						

Trong mô hình phân tích kết quả về khả năng loại bỏ lignin giá trị F của mô hình chỉ đạt 13,05 mô hình vẫn có ý nghĩa quan trọng, có 0,28% khả năng giá trị F lớn có thể đó là sai số trong chạy mô hình. Giá trị p nhỏ hơn 0,05 cho thấy các yếu tố trong mô hình có ý nghĩa. Trong trường hợp này A, C, AB, AC là các yếu tố làm cho mô hình có ý nghĩa. Giá trị lớn hơn 0,1000 cho thấy các yếu tố liên quan trong mô hình là không có ý nghĩa. Trong khi đó, giá trị F-value là 0,89 thể hiện sự không phù hợp đáng kể so với sai số thuần túy. Có 58,81% khả năng làm cho F-value lớn như vậy có thể là do sai số xảy ra trong thực nghiệm. Ngoài ra, giá trị dự đoán R² là 0,95 có độ tương đồng với R² điều chỉnh là 0,87.

Mô hình tuyến tính được đề xuất bởi phần mềm Design Expert 11 với giá trị dự đoán phù hợp với dữ liệu thực nghiệm (Bảng 3). Phân tích hồi quy được thực hiện phù hợp với mô hình đáp ứng bề mặt bậc hai. Mỗi tương quan giữa khả năng loại bỏ lignin và hiệu suất thu hồi cellulose trong quá trình tiền xử lý bã mía dưới tác động của nồng độ axit formic, nhiệt độ và thời gian được thể hiện thông qua giá trị R² đều đạt từ 0,90 đến 0,99%. Các mô hình đáp ứng bề mặt hiển thị mối tương quan giữa khả năng loại bỏ lignin và hiệu suất thu hồi cellulose được thể hiện trong Hình 1.

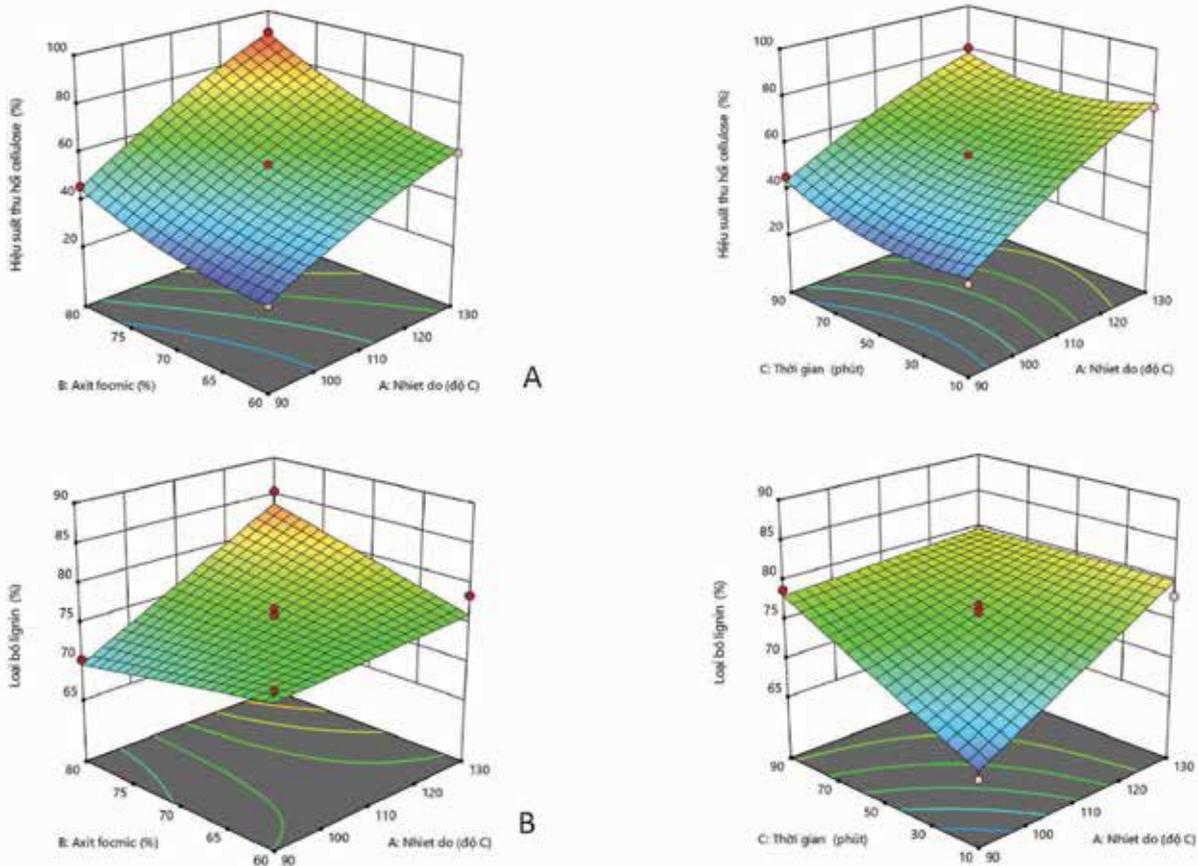
Thu hồi cellulose phân bã rắn phụ thuộc vào việc thu hồi trọng lượng của bã rắn và hàm lượng cellulose còn lại trong bã. Theo một số nghiên cứu cho thấy, khi tăng nhiệt độ và nồng độ axit formic dẫn đến hiệu suất thu hồi bã thấp nhưng hiệu suất thu hồi cellulose cao hơn (Suriyachai N et al., 2018), điều này cũng tương ứng với kết quả tối ưu trong nghiên cứu khi tăng nhiệt độ thủy phân lên 130°C với 80% axit formic trong thời gian 50 phút thì cho hiệu suất thu hồi cellulose trong bã đạt 90,4%. Mức độ loại bỏ lignin nằm trong khoảng 65 - 85,4% (Bảng 3). Theo bề mặt đáp ứng (Hình 1), việc tăng nhiệt độ và nồng độ axit formic cho thấy tác động tích cực mạnh mẽ đến hiệu quả loại bỏ lignin, trong khi mối tương quan của nồng độ axit cao và thời gian dài thì hiệu suất thu hồi cellulose chỉ đạt 77,5% và khả năng loại bỏ lignin là 79,2% (thí nghiệm 11).

Phân tích hồi quy bội được sử dụng để phân tích dữ liệu thực nghiệm nhằm phù hợp với phương trình đa thức bậc hai. Các hệ số hồi quy của các số hạng tự do, tuyến tính, bậc hai và tương tác được biểu thị trong phương trình 3.1 và 3.2.

Hiệu suất thu hồi cellulose (%) thể hiện trong phương trình 3.1 như sau:

$$Y = 54,67 + 19,42 \cdot A + 11,44 \cdot B + 2,64 \cdot C + 3,25 \cdot A \cdot B - 2,25 \cdot A \cdot C - 2,85 \cdot A^2 + 4,43 \cdot B^2 + 6,43 \cdot C^2 \quad (3.1)$$

Các số hạng dương và âm trong phương trình lần



▲ Hình 1. Đồ thị bề mặt 3D biểu diễn ảnh hưởng của nhiệt độ, thời gian và nồng độ axit formic đến hiệu suất thu hồi cellulose (A) và khả năng loại bỏ lignin (B)

lượt biểu thị các tác động tuyến tính làm tăng giá trị Y và các tác động đối kháng lên Y. Phân tích các hệ số này với giá trị p - cho thấy số hạng tuyến tính A ($p < 0,0001$); B ($p < 0,0001$); C ($p = 0,0272$) và số hạng tương tác A*B ($p = 0,0447$) là có ý nghĩa (Bảng 4). Do đó, từ phương trình 3.1 và Bảng 4, có thể suy ra rằng hiệu suất thu hồi cellulose từ bã mía tiền xử lý phụ thuộc rất nhiều vào nhiệt độ và nồng độ axit formic, vì nó có tác động tuyến tính đáng kể đến hiệu suất thu hồi cellulose từ bã mía.

Khả năng loại bỏ lignin (%) thể hiện trong phương trình 3.2 như sau:

$$Y = 75,43 + 3,94 \cdot A + 0,7250 \cdot B + 2,96 \cdot C + 3,10 \cdot A \cdot B - 3,07 \cdot A \cdot C + 0,9958 \cdot A^2 + 1,07 \cdot B^2 - 1,10 \cdot C^2 \quad (3.2)$$

Các số hạng dương và âm trong phương trình lần lượt biểu thị các tác động tuyến tính làm tăng giá trị Y và các tác động đối kháng lên Y. Phân tích các hệ số này với giá trị p - cho thấy số hạng tuyến tính A ($p = 0,0005$); C ($p = 0,0023$) và số hạng tương tác A*B ($p = 0,0097$); A*C ($p = 0,0100$) là có ý nghĩa (Bảng 5). Do đó, từ phương trình 3.2 và Bảng 5, có thể suy ra rằng khả năng loại bỏ lignin từ bã mía tiền xử lý phụ thuộc rất nhiều vào nhiệt độ, vì nó có tác động tuyến tính đáng kể đến lignin bị hòa tan vào dịch thủy phân. Cùng với nhận xét về kết quả này, Suriyachai N et al., 2018 cũng cho thấy kết quả tương đồng khi tiến hành tiền xử lý bã mía trong điều kiện axit formic loãng ở nhiệt độ cao 170°C, khả năng loại bỏ lignin là 85,4% và hiệu suất thu hồi cellulose đạt 99,7%.

Phân tích mô hình tác động đồng thời xây dựng trong phương trình 3.1 và 3.2 cho thấy:

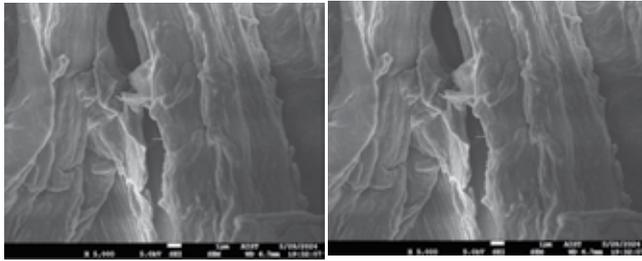
- Nồng độ axit formic (B) có ảnh hưởng bậc 1 với hiệu suất thu hồi cellulose và ảnh hưởng bậc 2 đến khả năng loại bỏ lignin trong dịch thủy phân. Do đó, tăng nồng độ axit formic dùng cho tiền xử lý là có thể tăng hiệu suất thu hồi cellulose trong bã và khả năng loại bỏ lignin.

- Nhiệt độ, thời gian (A, C) cũng có ảnh hưởng bậc hai đến hiệu suất thu hồi cellulose và khả năng loại bỏ lignin. Hệ số của các tham số A², C² cho thấy khi nhiệt độ, thời gian thay đổi đến một giá trị nhất định sẽ làm giảm hiệu suất thu hồi cellulose trong bã và khả năng loại bỏ lignin trong dịch thủy phân.

3.3. Đánh giá cấu trúc bề mặt bã mía sau tiền xử lý bằng phân tích hình ảnh FESEM

Quan sát cấu trúc bề mặt của bã mía tự nhiên và bã mía đã qua xử lý bằng axit formic (Hình 3.2) cho thấy, quá trình tiền xử lý đã gây ra những biến đổi vật lý trong sinh khối bã mía.

Quan sát hình ảnh cấu trúc bề mặt các sợi cellulose trước và sau tiền xử lý cho thấy, sau quá trình tiền xử lý bề mặt sợi cellulose có cấu trúc trơn nhẵn hơn, các thành phần vô định hình trên bề mặt giảm đi nhiều so với bã mía thô chưa qua tiền xử lý. Việc loại bỏ các thành phần bao ngoài sợi cellulose cho phép các bó sợi cellulose dễ dàng được tách ra thành các sợi nhỏ (Hình 2B). Trong một số quá trình tiền xử lý khác nhau cũng cho các kết



▲ Hình 2. Ảnh chụp FESSEM bã mía trước và sau tiên xử lý bằng axit formic. A - bã mía chưa qua tiên xử lý, B - bã mía đã qua tiên xử lý bằng axit formic 80%

luyện khác nhau. Theo nghiên cứu của Raveendran S et al., 2010, cho thấy bã mía được xử lý bằng axit formic 60% có bề mặt gồ ghề hơn so với độ trơn nhẵn của bã mía tự nhiên. Hình ảnh FESEM bề mặt các mẫu bã mía cho thấy phân đoạn bằng axit formic có tác dụng rõ ràng, giúp lấy đi các thành phần vô định hình trên bề mặt sợi cellulose tạo điều kiện cho enzyme có thể tiếp cận và thủy phân cellulose thành đường phục vụ cho mục đích lên men sản xuất ethanol sinh học.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân tích được các thành phần hữu cơ chính trong bã mía gồm cellulose 43,5%, hemicellulose 20,5%, lignin 26,7%; Tối ưu hóa các điều kiện thủy phân phân đoạn lignocellulose bằng thực nghiệm Box-Behnken dựa vào mô hình tính toán với ba thông số (nhiệt độ, nồng độ axit formic, thời gian) tác động đến hiệu suất thu hồi cellulose và khả năng loại bỏ lignin cho thấy tại nồng độ bã rắn 5%, nhiệt độ 130°C trong thời gian 50 phút, nồng độ axit formic 80% thì hiệu suất thu hồi cellulose đạt 90,5% và khả năng loại bỏ lignin đạt 85,4%. Đồng thời đánh giá được cấu trúc bề mặt bã mía sau tiên xử lý bằng axit formic bằng phân tích hình ảnh FESEM, kết quả cho thấy bề mặt sợi cellulose sau tiên xử lý bằng axit formic có cấu trúc trơn nhẵn, các thành phần lignin và hemicellulose đã được loại bỏ một phần làm cho bó sợi cellulose bị tách thành các sợi nhỏ.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy, sự kết hợp của các yếu tố trong quá trình tiên xử lý lignocellulose trong bã mía bước đầu mới đánh giá được khả năng loại bỏ lignin và hiệu suất thu hồi cellulose trong dịch tiên xử lý. Với mục tiêu thu hồi dịch đường có nồng độ lớn phục vụ cho lên men sản xuất ethanol sinh học từ bã mía thì cần phải nâng cao hiệu suất thu hồi cellulose tinh khiết, việc sử dụng các enzyme khác nhau để tiến hành thủy phân lignocellulose từ bã mía nhằm nâng cao hiệu suất thu hồi cellulose tinh khiết cũng sẽ được hướng tới trong các nghiên cứu tiếp theo■

Lời cảm ơn:

Bài báo được hoàn thành dựa trên kết quả nghiên cứu để tài KHCN mã số TNMT.ĐL.2023.02 của Bộ TN&MT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Boeriu CG., Fitigau FI., Gosselink RJA., Frissen AE., Stoutjesdijk J., Peter F., (2014). Fractionation of five technical lignins by selective extraction in green solvents and characterization of isolated fractions. *Ind Crops Prod*, 62: p. 481 - 490.
- Brudecki G., Cybulska I., Rosentrater K., (2013). Integration of extrusion and clean fractionation processes as a pre-treatment technology for prairie cordgrass. *Bioresour Technol* 135: p. 672 - 682.
- Du H., Liu C., Mu X., Gong W., Lv D., Hong Y., Si C., Li B., (2016). Preparation and characterization of thermally stable cellulose nano crystals via a sustainable approach of FeCl₃-catalyzed formic acid hydrolysis. *Cellulose* 23: p. 2389 - 2407.
- Katahira R., Mittal A., McKinney K., Ciesielski PN., Donohoe BS., Black SK., Johnson DK., Bidy MJ., Beckham GT., (2014). Evaluation of clean fractionation pretreatment for the production of renewable fuels and chemicals from corn stover. *ACS Sustain Chem Eng*, 2: p. 1364 - 1376.
- Liu C., Li B., Du H., Lv D., Zhang Y., Yu G., Mu X., Peng H., (2016). Properties of nanocellulose isolated from corncob residue using sulfuric acid, formic acid, oxidative and mechanical methods. *Carbohydr Polym* 151: p. 716 - 724.
- Raveendran S., Parameswaran B., Karri S., Valappil SK., (2010). Formic Acid as a potential pretreatment agent for the conversion sugarcane bagasse to biorthanol. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162: p. 2313 - 2323.
- Segal L., Creely L., Martin AE., (1959). An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer. *Text Res J* 29: p. 786 - 794.
- 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.
- Snelders J., Dornez E., Mlayah BB., Huijgen WJJ., de Wild PJ., Gosselink RJA., Gerritsma J., Courtin CM., (2014). Biorefining of wheat straw using an acetic and formic acid based organosolv fractionation process. *Bioresour Technol* 156: p. 275 - 282.
- Suriyachai N., Champreda V., Kraikul N., Techanan W., Laosiripojana N., (2018). Fractionation of lignocellulosic biopolymers from sugarcane bagasse using formic acid catalyzed organosolv process. *Biotech* 8: p. 221.
- Wildschut J., Smit AT., Reith JH., Huijgen WJJ., (2013). Ethanol-based organosolv fractionation of wheat straw for the production of lignin and enzymatically digestible cellulose. *Bioresour Technol* 135: p. 58 - 66.
- 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: p. 25 - 32.