

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT ETHANOL NHIÊN LIỆU TỪ HẠT CAO LƯƠNG NGỌT

Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thuý Hằng,
Hồ Tuấn Anh

SUMMARY

Study on the producing of fuel ethanol from grains of sweet sorghum

The yeast cells *Saccharomyces cerevisiae* CNTP Y.7028 is used in the experiments for obtaining the fuel ethanol from grains of sweet sorghum. The parameters of starch hydrolysis process are: The ratio of starch to water is 30 percent; the pH value is 5,5; the concentration of Termamyl to the starch is 0,06%, the temperature of gelatinization is 95°C for 30 minutes. After that the temperature is reduced to 65°C and 0,5% AMG is added, saccharification time is 60 minutes. The fermentation of the obtained wort from sweet sorghum grains is made with rate of 0,25% *Saccharomyces cerevisiae* CNTP Y.7028; 0,05% MgSO₄; 0,5% KH₂PO₄; 0,136% Ure. Fermentation time is 4 days. The concentration of ethanol in the fermented wort is 10,6%.

Keywords: Sweet sorghum, fuel ethanol, gelatinization, saccharification, fermentation.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhu cầu tiêu thụ năng lượng ngày một cao trong khi dầu mỏ đang cạn kiệt dần. Vấn đề sản xuất ethanol nhiên liệu đã được thực hiện tại nhiều nước trên thế giới. Ethanol được sản xuất từ tinh bột như lúa, ngô, khoai, sắn, mía đường, củ cải đường. Cao lương ngọt được quan tâm nghiên cứu để sản xuất ethanol bởi nó có tiềm năng lớn của cây năng lượng tái tạo. Tính ưu việt của cây trồng này là đầu vào thấp, sản sinh một lượng carbohydrate cao và có thể trồng được ở vùng khí hậu ôn đới. Thân cao lương ngọt là nguồn đường cao cho sản xuất ethanol hiệu quả, hạt cao lương ngọt được sản xuất tại Trung Quốc cho một lượng ethanol tương đương với thân. Hạt cao lương ngọt có chứa tới 60% tinh bột, có thể phơi khô và bảo quản, giúp kéo dài thời gian hoạt động của nhà máy sản xuất ethanol trong năm. Sản xuất ethanol từ hạt cao lương ngọt sẽ làm tăng hiệu quả kinh tế đối với việc trồng ngũ cốc này cho sản xuất ethanol nhiên liệu.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

- Chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* CNTP Y.7028.
- Hạt cao lương (Độ ẩm W = 10,5%).
- Enzym Termamyl 120 L (NOVO, Đan Mạch)
- Enzym AMG 300 L (NOVO, Đan Mạch).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương pháp phân tích

- Hàm lượng chất khô được xác định bằng chiết quang kế (⁰Bx).
- Độ nhớt của dịch được xác định bằng nhớt kế Otwan.
- Hàm lượng đường khử được xác định bằng phương pháp Lane - enyon.
- Hàm lượng ethanol được xác định dựa trên nhiệt độ sôi sử dụng thiết bị cất cồn Salleron Dujardin của Pháp.
- Hàm lượng axit tổng được xác định bằng phương pháp chuẩn độ NaOH 0,1N, chỉ thị phenolphthalein.

2.2. Phương pháp thực hiện

2.2.1. Lựa chọn tỷ lệ bột dịch: Nồng độ bột cao lương thay đổi từ: 15%; 20%; 25%; 30% và 35%. Bổ sung 0,12% Termamyl, pH 6,5, nâng nhiệt độ lên 95⁰C, giữ 30 phút, hạ nhiệt độ xuống 65⁰C, bổ sung 0,5% AMG. Giữ 65⁰C/60 phút. Xác định độ nhớt và DE dịch hoá, nồng độ chất khô và DE đường hóa.

2.2.2. Xác định ảnh hưởng của pH đến quá trình dịch hóa: Nồng độ bột dịch là 30%, tỷ lệ enzym Termamyl bổ sung là 0,12%, nhiệt độ dịch hóa 95⁰C, thời gian 30 phút, pH thay đổi từ 3,5 -7,0. Xác định DE dịch hóa và độ nhớt của dịch.

2.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới quá trình dịch hóa: Nồng độ bột dịch là 30%, tỷ lệ enzym Termamyl bổ sung là 0,12%, pH bột dịch là 5,5, nhiệt độ thay đổi từ 85 - 100⁰C, thời gian dịch hóa 30 phút. Xác định DE dịch hóa và độ nhớt của dịch.

2.2.4. Ảnh hưởng của nồng độ enzym Termamyl đến quá trình dịch hóa: Nồng độ bột dịch là 30%, pH 5,5, nhiệt độ dịch hóa 95⁰C, thời gian dịch hóa là 30 phút. Bổ sung Termamyl tỷ lệ 0,04; 0,06; 0,08; 0,10; 0,12 và 0,14% tính theo bột cao lương. Xác định DE dịch hóa và độ nhớt của dịch.

2.2.5. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình dịch hóa: Nồng độ bột dịch là 30%, pH 5,5, tỷ lệ Termamyl bổ sung là 0,06%, nhiệt độ dịch hóa 95⁰C, thời gian dịch hóa thay đổi từ 5-50 phút. Xác định DE dịch hóa và độ nhớt của dịch.

2.2.6. Xác định nồng độ enzym đường hóa thích hợp: Nồng độ bột dịch là 30%, pH 5,5, tỷ lệ Termamyl bổ sung là 0,06%,

nhiệt độ dịch hóa 95⁰C, thời gian dịch hóa 30 phút. Hạ nhiệt độ xuống 65⁰C, bổ sung AMG với nồng độ 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 và 0,6% đường hóa trong 60 phút. Li tâm, xác định hàm lượng chất khô (Bx) và DE đường hóa.

2.2.7. Xác định thời gian đường hóa thích hợp: Nồng độ bột dịch là 30%, pH 5,5, tỷ lệ Termamyl bổ sung là 0,06%, nhiệt độ dịch hóa 95⁰C, thời gian dịch hóa 30 phút. Hạ nhiệt độ xuống 65⁰C, bổ sung AMG 0,5%, thời gian đường hóa thay đổi từ 30-90 phút. Li tâm, xác định hàm lượng chất khô (Bx) và DE đường hóa.

2.2.8. Xác định tỷ lệ giống sử dụng trong lên men: Môi trường lên men có nồng độ bột dịch 30% được bổ sung sinh khối 24 giờ tuổi của chủng Y7028 theo tỷ lệ 0,25g; 0,5g; 0,75g và 1g/200 ml. Lên men ở 30⁰C. Đếm số lượng tế bào nấm men trong dịch lên men, hàm lượng đường sót, hàm lượng cồn và axit tổng sau lên men.

2.2.9. Xác định nguồn dinh dưỡng bổ sung đến quá trình lên men cồn: Dịch đường hóa hạt cao lương có nồng độ bột dịch 30%, tỷ lệ sinh khối nấm men 0,25%, bổ sung dinh dưỡng MgSO₄, (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, ure, lên men ở 30⁰C trong 5 ngày. Xác định hàm lượng cồn, đường dư và axit tổng sau lên men.

2.2.10. Động học của quá trình lên men cồn từ dịch thủy phân hạt cao lương: Dịch đường hóa hạt cao lương có nồng độ bột dịch 30%, tỷ lệ giống tiếp là 0,25%, bổ sung dinh dưỡng MgSO₄ 0,05%, KH₂PO₄ 0,5% và ure 0,136%. Lên men ở 30⁰C trong 7 ngày. Theo dõi và xác định hàm lượng cồn, đường dư sau lên men.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Nghiên cứu điều kiện thủy phân thích hợp

1.1. Lựa chọn tỷ lệ bột dịch

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ bột dịch đến quá trình dịch hóa và đường hóa (năm 2009)

Tỷ lệ bột cao lương (%)	Quá trình dịch hóa		Quá trình đường hóa	
	DE dịch hóa	Độ nhớt (cp, 30°C)	Chất khô (Bx)	DE đường hóa
15	16,0	2,35	8	97,3
20	18,0	2,55	11	98,5
25	18,0	3,78	13	98,7
30	18,3	4,21	15	98,5
35	17,5	5,48	17	98,0

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy: Nồng độ chất khô, DE dịch hóa và độ nhớt của dịch thủy phân tăng tỷ lệ thuận với sự tăng nồng độ bột dịch. Khi nồng độ bột cao lương tăng từ 15-25%, giá trị DE đường hóa tăng từ 97,3 lên 98,7. Tiếp tục tăng nồng độ bột dịch lên 30%, nồng độ chất khô trong dịch đường đạt 15⁰Bx, DE đường hóa giảm nhẹ. Ở nồng độ bột dịch 35%, nồng độ chất khô đạt cao nhất 17⁰Bx, nhưng độ nhớt của dịch chao tăng cao và DE đường hóa giảm. Với mong muốn tăng lượng cồn trong dấm chín, nhưng vẫn đảm bảo hàm lượng đường trong dịch thu được cao và hiệu suất quá trình thủy phân cao, nồng độ bột dịch là 30% được lựa chọn.

1.2. Ảnh hưởng của pH đến quá trình dịch hóa

Bảng 2. Ảnh hưởng của pH đến quá trình dịch hóa (năm 2009)

TT	pH	DE dịch hóa	Độ nhớt (cp, 30°C)
1	3,5	10,4	5,75
2	4,0	13,6	5,43
3	4,5	16,4	5,16
4	5,0	17,2	4,52
5	5,5	18,5	4,12
6	6,0	18,1	4,54
7	6,5	17,2	5,74
8	7,0	16,4	6,53

Theo Bảng 2, pH có ảnh hưởng đến quá trình dịch hóa. Ở pH 5,5 giá trị DE dịch hóa cao nhất và độ nhớt của dịch là thấp nhất. pH 5,5 được lựa chọn.

1.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới quá trình dịch hóa

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình dịch hóa (năm 2009)

TT	Nhiệt độ (°C)	DE dịch hóa	Độ nhớt (cp, 30°C)
1	85	16,5	5,64
2	90	17,2	4,87
3	95	18,5	4,12
4	100	18,1	4,3

Kết quả thực nghiệm từ Bảng 3 cho thấy: Nhiệt độ có ảnh hưởng đến quá trình dịch hóa. Trong khoảng nhiệt độ từ 85 - 95°C, DE dịch hóa tăng tỷ lệ thuận với sự tăng của nhiệt độ, khi nhiệt độ tiếp tục tăng lên 100°C, DE dịch hóa không những không tăng mà còn giảm. Ở nhiệt độ 95°C giá trị DE dịch hóa đạt cao nhất và độ nhớt tương đối thấp. Vì vậy, nhiệt độ dịch hóa 95°C được lựa chọn.

1.4. Ảnh hưởng của nồng độ enzym Termamyl đến quá trình dịch hóa

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ Termamyl đến quá trình dịch hóa (năm 2009)

Nồng độ Termamyl (%)	DE dịch hóa	Độ nhớt (cp, 30°C)
0,04	15,5	4,4
0,06	16,5	4,2
0,08	16,5	4,15
0,10	16,6	4,12
0,12	16,7	4,1
0,14	16,7	4,05

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy: Nồng độ Termamyl có ảnh hưởng đến quá trình dịch hóa. Với sự tăng nồng độ Termamyl lên trên 0,06% giá trị DE dịch hóa tăng không đáng kể, độ nhớt của dịch cháo giảm ít, vì lý do tiết kiệm nguyên liệu mà vẫn đạt được hiệu quả tối đa tỷ lệ Termamyl 0,06% được lựa chọn.

1.5. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình dịch hóa

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình dịch hóa (năm 2009)

TT	Thời gian (phút)	DE dịch hóa	Độ nhớt (cp, 30°C)
1	5	7,90	5,31
2	10	10,2	4,84
3	15	13,5	4,56
4	20	14,2	4,18
5	25	15,8	4,17
6	30	16,5	4,15
7	35	16,7	4,12
8	40	16,8	4,12
9	45	16,8	4,10
10	50	16,8	4,10

Kết quả Bảng 5 cho thấy: Giá trị DE dịch hóa tăng tỷ lệ thuận với thời gian,

khi kéo dài thời gian đường hóa từ 5-30 phút, giá trị DE dịch hóa tăng từ 7,9 - 16,5. Tiếp tục kéo dài thời gian dịch hóa đến 50 phút, DE dịch hóa tăng không đáng kể, độ nhớt dịch cháo hầu như không thay đổi đồng thời việc kéo dài thời gian sẽ tốn kém nhiên liệu và quá trình công nghệ. Vì vậy, thời gian dịch hóa 30 phút được lựa chọn.

1.6. Xác định nồng độ enzym đường hóa thích hợp

Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ AMG đến quá trình đường hóa (năm 2009)

Nồng độ AMG (%)	Chất khô (Bx)	DE đường hóa
0,2	14,0	90
0,3	14,5	94
0,4	14,8	96
0,5	15,5	97
0,6	15,5	97

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy: Nồng độ AMG có ảnh hưởng đến quá trình đường hóa. DE đường hóa tăng tỷ lệ thuận với nồng độ AMG sử dụng. Ở nồng độ AMG 0,5% DE đường hóa đạt giá trị cao nhất (DE = 97). Tiếp tục tăng nồng độ AMG lên 0,6%, DE đường hóa không tăng. Vì vậy, nồng độ AMG 0,5% được lựa chọn.

1.7. Xác định thời gian đường hóa thích hợp

Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình đường hóa (năm 2009)

Thời gian (phút)	Chất khô (Bx)	DE đường hóa
30	14,5	93
40	14,8	95
50	15,3	97
60	15,6	98
70	15,6	98
80	15,7	98
90	15,6	98

Kết quả ở Bảng 7 cho thấy: Trong khoảng thời gian từ 30 - 60 phút, DE tăng tỷ lệ thuận với thời gian đường hóa, khi kéo dài thời gian đường hóa trên 60 phút, giá trị

DE đường hóa không tăng, điều này có thể giải thích là do lượng tinh bột trong dịch đã được thủy phân hết. Vì vậy, thời gian đường hóa 60 phút được lựa chọn.

2. Nghiên cứu điều kiện lên men cồn từ dịch thủy phân hạt cao lương

2.1. Xác định tỷ lệ giống bổ sung

Bảng 8. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống nấm men bổ sung đến quá trình lên men cồn (năm 2009)

Lượng sinh khối bổ sung (g/200ml)	Số lượng nấm men (CFU/ml)	EtOH (%v/v)	Đường dư (g/l)	Axit tổng theo H ₂ SO ₄ (g/l)
0,25	1,8 x 10 ⁶	8,7	8,63	3,63
0,50	3,8 x 10 ⁷	9,05	8,07	3,63
0,75	8,3 x 10 ⁷	9,05	7,79	3,77
1,00	5,0 x 10 ⁸	9,05	7,82	3,82

Kết quả ở Bảng 8 cho thấy: Tỷ lệ giống bổ sung có ảnh hưởng đến quá trình lên men cồn. Với cùng điều kiện lên men, mẫu bổ sung tỷ lệ nấm men là 0,5g/200ml ứng với tỷ lệ tế bào nấm men là 3,8 x 10⁷ tế bào/ml cho hàm lượng cồn cao nhất (đạt 9,05% v/v). Vì vậy, tỷ lệ giống bổ sung 0,25% (0,5g/200ml) được lựa chọn.

2.2. Xác định nguồn dinh dưỡng bổ sung đến quá trình lên men cồn

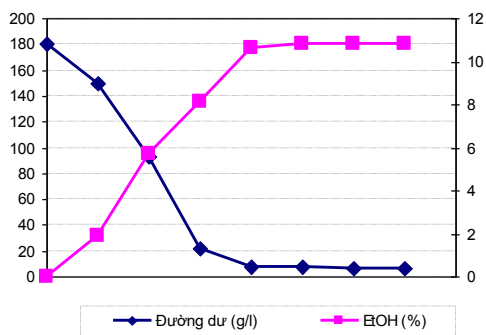
Nồng độ của các chất dinh dưỡng được lựa chọn dựa trên hàng loạt thí nghiệm nhằm mục đích tối ưu hóa quá trình phát triển sinh khối và lên men của nấm men.

Bảng 9. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng bổ sung đến quá trình lên men hạt cao lương (năm 2009)

TT	Thành phần dinh dưỡng (%)				Đường dư (g/l)	EtOH (%)	Axit tổng (g/l)
	MgSO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄	KH ₂ PO ₄	Ure			
1	-	0,3	0,5	-	7,03	9,80	1,94
2	0,05	0,3	-	-	7,89	10,05	1,47
3	0,05	-	0,5	-	7,66	10,05	1,57
4	0,05	-	0,5	0,136	7,14	10,60	1,67
5	0,05	0,3	0,5	-	7,22	10,25	1,62
6	-	-	-	-	25,18	8,00	1,91

Kết quả ở Bảng 9 cho thấy: Tất cả 5 mẫu bổ sung dinh dưỡng nitơ, photpho và magie đều cho kết quả lên men tốt hơn mẫu đối chứng (mẫu 6) không bổ sung dinh dưỡng. Trong số 5 mẫu thí nghiệm, mẫu số 4 với thành phần dinh dưỡng gồm $MgSO_4$ 0,05%, KH_2PO_4 0,5% và ure 0,136% độ cồn thu được là cao nhất (đạt 10,6%v/v). Vì vậy, tỷ lệ dinh dưỡng bổ sung là $MgSO_4$ 0,05%, KH_2PO_4 0,5% và ure 0,136% được lựa chọn.

2.3. Động học của quá trình lên men cồn từ dịch thủy phân hạt cao lương



Hình 1. Động học của quá trình lên men cồn từ hạt cao lương ngọt (năm 2009)

Kết quả ở hình 1 cho thấy: Hàm lượng cồn trong dịch thủy phân hạt cao lương đạt giá trị khá cao sau 4 ngày lên men. Việc kéo dài thời gian lên men đến 7 ngày, hàm lượng cồn trong dịch tăng không đáng kể (từ 10,6% lên 10,8%) trong khi tốn kém nhân công và không tận dụng được thiết bị lên men. Thời gian lên men 4 ngày được lựa chọn.

IV. KẾT LUẬN

1 - Các thông số của quá trình sản xuất dịch đường từ hạt cao lương ngọt như sau: Bột cao lương ngọt được hòa với nước theo

tỷ lệ 30%; pH dịch hóa 5,5; tỷ lệ Termamyl 0,06%; nhiệt độ dịch hóa $95^{\circ}C$ trong thời gian 30 phút, hạ nhiệt độ xuống $65^{\circ}C$ bổ sung enzyme AMG 0,5% trong 60 phút.

2- Các thông số của quá trình lên men dịch đường từ hạt cao lương được xác định như sau: sử dụng chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* CNTP Y. 7028; Tỷ lệ giống bổ sung 0,25% (0,5g/200ml), tỷ lệ các chất dinh dưỡng bổ sung là $MgSO_4$ 0,05%, KH_2PO_4 0,5% và ure 0,136%, thời gian lên men 4 ngày. Hàm lượng cồn trong dịch lên men đạt 10,6%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thế Trang (2007). *Nghiên cứu khả năng lên men rượu của các chủng nấm men Saccharomyces cerevisiae trên môi trường dịch chiết quả me rừng (Phyllanthus emblyca L)*. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 12 +13: 113 - 115.
2. Mojovic L., Nikolic S., Rakin M. & Vukasinovic M. 2006, "Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates", Fuel, vol. 85, pp. 1750-1757.
3. Mehmood S., Gulfranz M., Rana N. F., Ahmad A., Ahring B. K., Minhas N. and Malik M. F., (2009). *Ethanol production from Sorghum bicolor using both separate and simultaneous saccharification and fermentation in batch and fed batch systems*. African Journal of Biotechnology, 8 (12): 2857-2865.

Người phản biện:
PGS.TS. Nguyễn Văn Việt

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH SỬ DỤNG CHẾ PHẨM VI SINH VẬT ĐỂ XỬ LÝ RÁC HỮU CƠ TRONG SẢN XUẤT RAU

Nguyễn Thị Yến, Nguyễn Hồng Sơn,
Lê Thị Thanh Thủy, Hà Thị Thúy,
Lương Hữu Thành, Tống Hải Vân

SUMMARY

Study and develop technology using microorganism inoculant to treat vegetable waste

Organic waste produced at during and post harvest tomato about 20-45 ton/ha and cabagge about 15-30 ton/ha. Its takes the role as a vector to transmit diseases and pets. Treating vegetable waste in the field by composting by microbiological activity is not only making organic fertilizer on the spot for restoring nutrients for the soil and reducing the matter of chemical fertilizers, petticide, but also clearing agricultural enviroment. Vegetable residues treatment processes with BIOEM has gained positive results. Tomato, cucumber residues are completely decomposed in 35- 40 days and cabagge residues are completely decomposed in 25 -30 days. After treatment the product compost without contain E.coli, salmonella. This compost can be used as organic fertilizer for crop.

Keywords: BIOEM, microorganism inoculant, Organic waste, Vegetable residues

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ước tính lượng rác hữu cơ trên mỗi hecta trồng cà chua từ 20-45 tấn, cải bắp 15-30 tấn tùy thuộc vào giống và thời vụ trồng. Gần đây, do chăn nuôi quy mô nhỏ được thể dần bằng hình thức chăn nuôi tập trung, sử dụng thức ăn công nghiệp và do sự lạm dụng quá nhiều vào phân hóa học nên nông dân thường không quan tâm đến việc tận thu rác rau mà chủ yếu bỏ lại ruộng. Điều đó không chỉ gây lãng phí nguồn phụ phẩm có giá trị có thể làm nguyên liệu đầu vào cho sản xuất mà còn gây ô nhiễm môi trường. Bên cạnh đó, rác rau và cỏ dại còn là ký chủ của sâu bệnh hại và là nguồn lan truyền sâu bệnh. Do vậy, sẽ làm tăng chi phí phòng trừ sâu bệnh trong sản xuất và ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm. Để xử lý phế phụ phẩm trong sản xuất rau đạt hiệu quả cao, cần có những nghiên cứu lựa chọn chế phẩm, quy trình xử lý phù hợp. Chế phẩm

vi sinh vật BIOEM là sản phẩm của Viện Môi trường nông nghiệp đã được đề tài lựa chọn, nghiên cứu xây dựng quy trình ứng dụng phù hợp với từng loại rác thải đặc thù và với quy mô sản xuất, đáp ứng yêu cầu xử lý tàn dư thực vật trên đồng ruộng ở vùng chuyên canh rau, làm sạch môi trường đồng ruộng, hạn chế sâu bệnh lây lan và tạo ra nguồn phân hữu cơ phục vụ sản xuất nông nghiệp bền vững.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

- Rác hữu cơ trong sản xuất rau (cây cà chua, dưa chuột, bí, cải bắp, súp lơ,... cỏ dại), phế thải chăn nuôi (phân gà hiện đang được sử dụng phổ biến ở các vùng sản xuất rau).

- Chế phẩm *BIOEM* là sản phẩm chứa tổ hợp vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp enzym ngoại bào: xenluloza, proteaza, photphataza. Mật độ VSV $\geq 10^8$ cfu/g.