



## NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP BIODIESEL TỪ CHẤT BÉO NẤM NEM *Y. LYPOLYTICA* PO1G BẰNG PHƯƠNG PHÁP CẬN TỚI HẠN

Hồ Quốc Phong<sup>1</sup>, Đỗ Nguyễn Tường Vy<sup>2</sup>, Huỳnh Liên Hương<sup>1</sup> và Trương Thị Bé Trinh<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Học viên cao học Công nghệ hóa học, Trường Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>3</sup> Sinh viên lớp Công nghệ hóa học K36, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 27/03/2014

Ngày chấp nhận: 28/08/2014

### Title:

Study on biodiesel production from *Y. lipolytica* Po1g lipid by using subcritical method

### Từ khóa:

Bã mía thủy phân, chất béo, diesel sinh học, *Y. lipolytica* Po1g, phương pháp cận tới hạn.

### Keywords:

Sugarcane bagasse hydrolysate, lipid, biodiesel, *Y. lipolytica* Po1g, subcritical method

### ABSTRACT

Finding cheap raw materials and efficient method to synthesize fatty acid methyl ester (FAME, well known as biodiesel), are being increasingly interested. Therefore, this study showed the possibility of using sugarcane bagasse hydrolysate to culture *Yarrowia lipolytica* Po1g for producing lipid in order to synthesize FAME. Moreover, the subcritical method was used to convert the lipid into FAME. Affecting factors such as temperature, time, methanol content, water content and catalyst concentration were investigated. The results showed that these factors significantly affected the conversion of lipid into FAME. Optimal conditions for the reaction were 175°C, 4 hours, 1:25 g/g of lipid:methanol, and 1:0.05 g/g of lipid: H<sub>2</sub>O, corresponding to the conversion of 90.15% lipid into FAME.

### TÓM TẮT

Việc tìm ra nguồn nguyên liệu rẻ tiền và phương pháp tổng hợp hiệu quả fatty acid methyl ester (FAME, còn gọi là diesel sinh học) ngày càng được chú trọng vì thế nghiên cứu này trình bày khả năng sử dụng bã mía thủy phân để nuôi cấy nấm men *Yarrowia lipolytica* Po1g sản xuất chất béo nhằm sử dụng để tổng hợp FAME. Phương pháp cận tới hạn được sử dụng để chuyển hóa chất béo từ *Y. lipolytica* Po1g thành FAME. Các yếu tố ảnh hưởng đến độ chuyển hóa như nhiệt độ, thời gian, hàm lượng methanol, hàm lượng nước và nồng độ xúc tác được tiến hành khảo sát. Kết quả cho thấy rằng các yếu tố này ảnh hưởng đáng kể đến độ chuyển hóa chất béo thành FAME. Điều kiện thích hợp cho phản ứng tổng hợp là nhiệt độ 175°C, thời gian 4 giờ, tỉ lệ chất béo: methanol 1:25 g/g, và tỉ lệ chất béo: H<sub>2</sub>O 1:0.05 g/g tương ứng với độ chuyển hóa FAME là 90.15%.

## 1 GIỚI THIỆU

Hiện nay, thế giới đang phải đối mặt với vấn đề khủng hoảng về an ninh năng lượng do trữ lượng dầu mỏ đang dần dần cạn kiệt, giá xăng dầu liên tục tăng. Song song đó, ảnh hưởng của biến đổi khí hậu do khí thải từ dầu mỏ lấy từ nguyên liệu hóa thạch như xăng và diesel đã làm cho môi trường

ngày càng ô nhiễm. Vấn đề này đã gây tác động rất xấu đến đời sống và sức khỏe con người (Dufey, 2006).

Việc nghiên cứu phát triển nhiên liệu sinh học từ nguồn sinh khối mang lại nhiều lợi ích như giảm thiểu sự phụ thuộc vào dầu mỏ, giảm thiểu ô nhiễm, nguyên liệu để sản xuất nhiên liệu sinh học

(ví dụ như diesel sinh học) không chứa các chất độc hại, làm giảm một số chất gây ô nhiễm môi trường như lưu huỳnh, carbon monoxide, polyaromatic và khói trong quá trình đốt cháy. Mặt khác, nhiên liệu sinh học có tốc độ phân hủy sinh học nhanh hơn so với nhiên liệu hóa thạch khi chôn trong đất (Balat, 2007; Dufey, 2006).

Các nhà khoa học khắp thế giới đã nghiên cứu sử dụng rất nhiều nguyên liệu khác nhau trong việc sản xuất biodiesel tuy nhiên còn gặp nhiều bất cập. Chẳng hạn, dùng nguyên liệu từ thực vật như dầu hạt cải, dầu hạt hướng dương, dầu đậu nành, dầu cọ, và mỡ động vật thì giá của các sản phẩm biodiesel thương mại rất cao so với diesel truyền thống. Do chi phí cao của nguyên liệu thô, ước tính chiếm 70-80% (Haas M. J., 2006; Chen X., 2009) giá thành của biodiesel. Hơn thế nữa việc sử dụng các loại dầu thực vật làm giảm diện tích đất canh tác của cây nông nghiệp truyền thống, ảnh hưởng đáng kể đến vấn đề an ninh lương thực, giá thực phẩm tăng cao và nguy cơ thiếu các loại dầu ăn được.

Sử dụng mỡ động vật, dầu đã qua sử dụng và dầu từ các loại thực vật không ăn được có thể làm giảm giá thành của biodiesel. Tuy nhiên, nguồn cung cấp các loại dầu này không đáp ứng đủ nhu cầu sản xuất của nhiên liệu sinh học (Huang C., 2012).

Dầu vi sinh vật hay dầu đơn bào (single cell oil, SCO) đang thu hút sự quan tâm của thế giới (Mulugetta, 2009; Nicaud, 2012). Những nghiên cứu cho thấy các vi sinh vật cho dầu có khả năng tích lũy chất béo nội bào từ sự trao đổi chất của các nguồn carbon khác nhau và hàm lượng chất béo tích lũy có thể lên đến khoảng 87% trọng lượng khô. Vì vậy, dầu đơn bào được đánh giá là một trong những nguồn nguyên liệu tiềm năng và hứa hẹn để sản xuất ra biodiesel. Ngoài ra, việc sử dụng dầu đơn bào để sản xuất biodiesel còn có một số thuận lợi so với việc sử dụng các nguồn nguyên liệu khác như không bị ảnh hưởng theo mùa hay thời tiết, có thành phần của chất béo tương tự như các loại dầu ăn được, có thể được sản xuất (nuôi cấy) từ nhiều nguồn nguyên liệu khác nhau với thời gian sản xuất ngắn, dễ dàng mở rộng ra quy mô công nghiệp (Shahidi, 2005).

Nấm men *Y. lipolytica* Po1g có khả năng tích lũy hàm lượng chất béo cao, thường được tìm thấy trong môi trường giàu các chất nền kỵ nước (hydrophobic substrate, HS). Chúng phát triển những cơ chế phức tạp cho việc sử dụng hiệu quả những chất nền khác nhau như là nguồn carbon cho

quá trình sinh trưởng. Chất béo trung tính thu được từ *Y. lipolytica* Po1g là nguồn nguyên liệu tiềm năng để chuyển hóa thành biodiesel vì chúng chứa một lượng lớn các acid béo tự do. Tuy nhiên, chất béo từ nấm men cho dầu chỉ có thể cạnh tranh với các nguồn chất béo thương mại khác nếu được sản xuất từ nguyên liệu rẻ hơn nguồn truyền thống. Gần đây, đang có khuynh hướng tận dụng các nguồn phế phẩm nông nghiệp (rơm, rạ) như là nguồn carbon trong quá trình nuôi cấy vi sinh để sản xuất chất béo, mặc dù vậy những công trình nghiên cứu vẫn đang còn rất hạn chế.

Thành phần hóa học chủ yếu của biodiesel (diesel sinh học) là methyl ester của các acid béo. Biodiesel được sản xuất từ quá trình chuyển hóa ester giữa các glyceride (mono-, di, tri-glyceride) hoặc quá trình ester hóa của các acid béo tự do có trong dầu thực vật mỡ động vật dưới sự xúc tác của acid hoặc base (Balat, 2007). Tuy nhiên, các loại xúc tác hiện nay thường gặp phải những khó khăn như: xúc tác đồng thể dạng base gây ra phản ứng xà phòng hóa nếu nguyên liệu chứa acid béo tự do dẫn đến hạn chế trong việc chọn lựa nguồn nguyên liệu. Xúc tác dị thể bị hạn chế bởi khả năng tiếp xúc pha với nguyên liệu, chi phí sản xuất xúc tác và tuổi thọ của xúc tác cũng làm tăng giá thành của sản phẩm, xúc tác sau khi sử dụng thường khó xử lý dẫn đến những ảnh hưởng cho môi trường (Thanh, 2013). Để khắc phục những bất lợi trên, một phương pháp mới đã được nghiên cứu và bước đầu đạt được những thành công trong việc khắc phục những khuyết điểm của xúc tác, chính là tiến hành phản ứng transester hóa ở điều kiện cận tới hạn. Mục tiêu của nghiên cứu này là tìm ra điều kiện thích hợp cho phản ứng tạo thành biodiesel từ chất béo của nấm men *Yarrowia lipolytica* Po1g ở điều kiện cận tới hạn. Với ưu điểm không cần sử dụng xúc tác và ở điều kiện cận tới hạn thì khả năng tiếp xúc pha giữa dầu và methanol sẽ trở nên thuận lợi hơn góp phần làm tăng hiệu suất chuyển hóa, từ đó đề xuất phương pháp mới sản xuất diesel sinh học theo quy mô công nghiệp.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguyên liệu và hóa chất

Bã mía được cung cấp từ các nhà máy chế biến đường, sau đó được rửa sạch bằng nước, sấy khô ở 50°C trong khoảng thời gian 24 giờ. Sau khi sấy, bã mía được xay nhỏ đạt kích thước khoảng 0.71 mm và được bảo quản ở 4°C để sử dụng.

Nấm men *Y. lipolytica* Po1g từ công ty YEASTERN Biotech Co. Ltd., được cung cấp bởi

phòng thí nghiệm Kỹ thuật Sinh học, Đại học Khoa học Công nghệ Quốc gia Đài Loan.

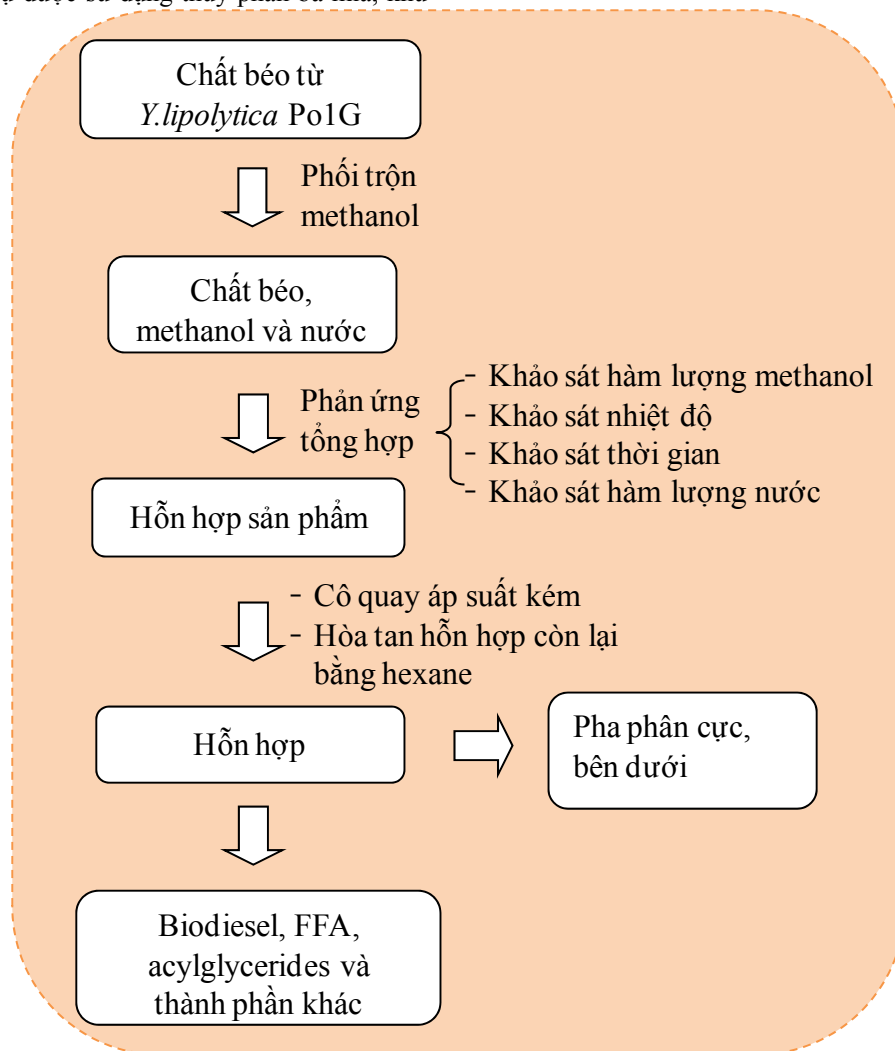
Hóa chất dùng trong quá trình nuôi cấy nấm men được cung cấp bởi các công ty khác nhau như yeast extract, peptone (Bacto, Pháp), D-glucose (Merck, Đức) và agar, urea (Acros Organics, USA). Các hóa chất khác như H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98% (TQ), Ca(OH)<sub>2</sub> (TQ), 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS, Merck, Đức), hexane (Merck, Đức), và methanol (TQ) tuân tự được sử dụng thủy phân bã mía, khử

độc, phân tích, trích ly và tổng hợp FAME.

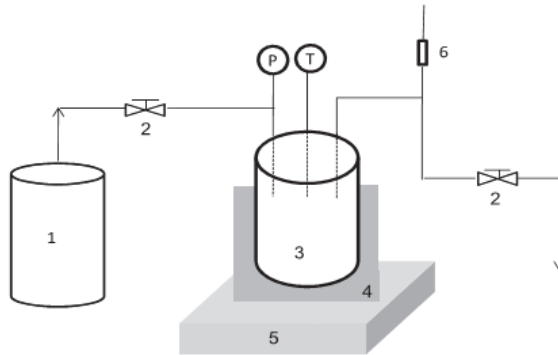
## 2.2 Thực nghiệm

Tất cả thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm Hóa hữu cơ, Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ. Nghiên cứu được tiến hành hai bước được trình bày tóm tắt qua

**Hình 1:** (i) nuôi cấy và thu chất béo từ nấm men; (ii) chuyển hóa chất béo thành biodiesel bằng phương pháp cận tới hạn.



**Hình 1: Sơ đồ tổng hợp biodiesel**



**Hình 2: Sơ đồ thiết bị phản ứng: (1) nguồn nitơ, (2) van khí, (3) buồng phản ứng, (4) điện trở gia nhiệt, (5) khuấy từ, (6) van an toàn, (P) áp kế, và (T) nhiệt kế**

Sau khi nuôi cấy sinh khối được ly tâm và sấy ở 50°C đến khối lượng không đổi và được trữ ở 4°C. Sinh khối sau đó được trích ly bằng phương pháp Soxhlet với hỗn hợp hexane: methanol tỉ lệ 2: 1 (v/v) trong 6 giờ. Hỗn hợp được cô quay bằng thiết bị Model R205 (Buchi, Thụy sĩ) nhằm loại bỏ dung môi để thu chất béo.

Biodiesel được tổng hợp từ chất béo bằng phương pháp dung môi cận tới hạn, sử dụng thiết bị được mô tả trong Hình 2. Các yếu tố ảnh hưởng đến độ chuyển hóa chất béo thành biodiesel như nhiệt độ, thời gian, tỉ lệ chất béo:methanol, tỉ lệ chất béo:nước và hàm lượng xúc tác được tiến hành khảo sát. Sau khi phản ứng hỗn hợp được làm nguội, phân tách và tiến hành phân tích đánh giá và xác định độ chuyển hóa.

### 2.3 Phương pháp phân tích

#### 2.3.1 Xác định hàm lượng nấm men

Sự phát triển của tế bào *Y. lipolytica* Po1g được xác định bằng phép đo mật độ quang của các mẫu pha loãng ở bước sóng 600 nm bởi máy quang phổ hồng ngoại UV/VIS Cary 50 (Varian, Mỹ) và đối chiếu kết quả với đường cong chuẩn được xây dựng từ sinh khối của tế bào. Trong đó, sinh khối được thu hoạch bằng phương pháp ly tâm và khối lượng của nó được xác định bằng cách đo trọng lượng sau khi sấy khô đến khối lượng không đổi.

#### 2.3.2 Xác định nồng độ đường tổng

Nồng độ đường tổng trong sản phẩm thủy phân được xác định theo phương pháp DNS (Miller 1959; Marsden, Gray *et al.*, 1982) dựa trên phản ứng tạo màu giữa DNS và đường khử. 3 mL thuốc thử DNS được thêm vào 1 mL mẫu thủy phân đã pha loãng trong ống nghiệm được bọc giấy nhôm để tránh DNS phân hủy bởi ánh sáng. Hỗn hợp

được nung nóng đến 90°C trong 15 phút trong bể điều nhiệt. Sau đó được làm nguội trong một chậu nước mát đến nhiệt độ phòng, mật độ quang của mẫu được ghi nhận bằng máy quang phổ UV-VIS ở bước sóng 575 nm. Kết quả được tính toán dựa trên đường cong chuẩn của D-glucose. Thành phần đường D-glucose, D-xylose and L-arabinose và các chất ức chế được phân tích bằng HPLC với detector ELSD và cột Zorbax NH<sub>2</sub>.

#### 2.3.3 Đánh giá thành phần hóa học biodiesel

Nguyên liệu và sản phẩm phản ứng được phân tích định tính và định lượng dựa trên máy sắc kí khí GC2010 Plus (Shimadzu, Japan) được trang bị đầu dò FID và cột phân tách B-5HT (đài 15 m, đường kính 0.32 mm và bề dày lớp film 0.1 mm, Agilent, Palo Alto, California). Nhiệt độ buồng tiêm và cảm biến được cài đặt 370°C. Chương trình nhiệt được cài đặt bắt đầu từ 80°C tăng đến 365°C với tốc độ 15°/phút và giữ trong 5 phút. Tổng thời gian phân tích là 23 phút. Khí nitơ được sử dụng là khí mang với vận tốc 30 cm/s ở 80°C. Phân tích số liệu được thực hiện dựa trên phần mềm “GC Solution, Shimadzu, phiên bản 2.4”.

#### 2.3.4 Phương pháp phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và ghi nhận giá trị trung bình. Các số liệu thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel (Microsoft Excel 2010, Microsoft, Mỹ) để xác định giá trị trung bình và sai số ngẫu nhiên.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Hàm lượng và thành phần đường thu được khi thủy phân bã mía

Sau khi rửa sạch và sấy khô bã mía được nghiền để đạt kích thước trung bình khoảng 0.71 mm. Bã mía sau đó được tiến hành thủy phân bằng

acid H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3%, ở nhiệt độ 90°C trong 6 giờ với tỉ lệ bã mía/dung dịch acid là 1:25 (g/mL). Dung dịch của bã mía sau khi thủy phân là hệ huyền phù gồm dung dịch lỏng và bã rắn. Hỗn hợp sau đó sẽ được lọc chân không để loại bỏ bã rắn. Dung dịch thu được gọi là dung dịch bã mía thủy phân. Nồng độ đường tổng của dung dịch bã mía thủy phân được

xác định bằng phương pháp DNS và kết quả là 30 g/L. Thành phần các đường khử chủ yếu trong dung dịch thủy phân được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao và kết quả được trình bày trong Bảng 1. Sau khi khử độc bằng phương pháp vôi hóa nồng độ đường tuy có giảm nhưng không đáng kể.

**Bảng 1: Thành phần dung dịch bã mía thủy phân trước và sau khi khử độc**

	Nồng độ (g/L)					
	Đường tổng	Xylose	Arabinose	Glucose	HMF	Furfural
Không khử độc	28.79 ± 0.95	17.36 ± 0.75	3.52 ± 0.28	6.84 ± 0.47	0.92 ± 0.02	0.15 ± 0.01
Khử độc	26.5 ± 0.91	16.52 ± 0.69	3.58 ± 0.25	5.93 ± 0.41	0.39 ± 0.01	0.08 ± 0.00

**3.2 Chất béo thu được từ tế bào nấm men**

Nấm men từ môi trường YPDA được tiên nuôi cấy sơ bộ trong môi trường gồm D-glucose (20 g/l), peptone 10 (g/l), yeast extract 10 (g/l) ở nhiệt độ 26°C, trong tủ nuôi cấy vi sinh JSSR 1000C với tốc độ lắc 160 vòng/phút, trong 24 giờ. Nấm men tiên nuôi cấy trong môi trường chuẩn tiếp tục được nhân rộng trong môi trường bã mía thủy phân (được khử độc và bổ sung thêm 5g/L pepton, 5g/L yeast extract) với tỷ lệ thể tích 1:10. Quá trình lên men được tiến hành trong các bình tam giác 500 ml với thể tích nuôi cấy là 250 mL, nhiệt độ 26°C và tốc độ lắc 160 vòng/phút. Sau 4 ngày nuôi cấy sinh khối thu được với hàm lượng 13.67 g/L trong đó chất béo chiếm 46.48%

Thành phần chất béo thu được từ sinh khối nấm men nuôi cấy trong môi trường bã mía được xác định bằng phương pháp sắc ký khí. Chất béo thô thu được sau khi trích ly nấm men bằng dung môi sẽ được xử lý để loại bỏ các sáp và gum. Việc loại bỏ các sáp và gum bên cạnh giúp hạn chế sự ảnh hưởng của các thành phần này trong quá trình phân tích ngoài ra còn giúp bảo vệ cột sắc ký. Các sáp và gum sẽ được loại trừ dựa trên phương pháp kết tủa trong acetone lạnh. Kết quả tính toán cho thấy rằng thành phần chất béo thô thu được bao gồm: 51.45 wt.% các chất béo phân cực (gum, chủ yếu là các phospholipid- thành phần cơ bản cấu tạo nên màng tế bào nấm men), 5.80 wt.% sáp và phần còn lại 42.85 wt.% là các chất béo trung tính. Chất béo trung tính này được đem phân tích sắc ký khí và kết quả được trình bày trong Bảng 2. Trong đó, 82.53% của chất béo trung tính là các acid béo ở dạng tự do. Phần còn lại là các monoglyceride (8.09%), diglyceride (2.10%); triglyceride (1.90%) và các thành phần khác (5.32%).

**Bảng 2: Thành phần cơ bản của dầu (chất béo) đã loại wax và gum**

Thành phần	% khối lượng
Acid béo tự do (FFA)	82.53 ± 0.99
Monoglycerides (MAG)	8.09 ± 0.58
Diglycerides (DAG)	2.10 ± 0.27
Triglycerides (TAG)	1.90 ± 0.50
Thành phần khác	5.32 ± 1.05

Cấu trúc mạch carbon cấu tạo nên các acid béo tự do cũng như các glyceride cũng được phân tích bằng sắc ký khí. Số liệu được tính toán và trình bày trong Bảng 3 cho thấy acid oleic (C18:1) và acid palmitic (C16:0) lần lượt chiếm 35.54% và 26.94%. Có thể nói đây là thành phần cơ bản trong chất béo của nấm men *Y. lipolytica*. Tiếp theo là acid stearic (10.83%); palmitoleic acid (9.88%); arachidic acid (9.54%); eicosenoic acid (4.87%) và một số thành phần vi lượng khác. Với thành phần mạch carbon phân bố từ C16 đến C20 và trên 97% các acid béo có cấu trúc mạch carbon là bão hòa hay chứa một nối đôi. Từ điều này có thể kết luận rằng nguồn chất béo trung tính trong nấm men là một trong những nguồn chất béo lý tưởng cho sản xuất diesel sinh học.

**Bảng 3: Thành phần mạch carbon cấu trúc nên chất béo của nấm men**

Thành phần	% khối lượng
Acid Palmitic C16:0	26.94 ± 0.86
Acid Palmitoleic C16:1	9.88 ± 0.22
Acid Stearic C18:0	10.83 ± 0.24
Acid Oleic C18:1	35.54 ± 0.15
Acid Arachidic C20:0	9.54 ± 0.64
Acid Eicosenoic C20:1	4.87 ± 0.39
Thành phần khác	2.40 ± 0.23



**3.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ lên hiệu suất chuyển hóa chất béo thành FAME**

Để khảo sát hiệu suất chuyển hóa chất béo thành FAME, nhiệt độ phản ứng được thay đổi từ 150-200°C, thời gian phản ứng là 2 giờ, tỉ lệ chất béo:nước là 1:0.05 g/g, và tỉ lệ chất béo:methanol là 1:30 g/g. Kết quả được trình bày trong Bảng 4 và cho thấy rằng hiệu suất chuyển hóa FAME có xu hướng tăng theo nhiệt độ và đạt giá trị cao nhất ở nhiệt độ 175°C. Ở nhiệt độ thấp hơn 150°C tạo áp

suất phản ứng thấp (1.57 MPa) nên các cấu tử trong hỗn hợp chưa được tiếp xúc tốt với nhau, vì vậy hiệu suất tạo thành FAME còn thấp. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ lên 200°C, chuyển động của các thành phần trong hỗn hợp trở nên hỗn loạn hơn, glycerol vừa tạo thành có thể hòa tan làm giảm lượng tác chất methanol, thúc đẩy phản ứng theo chiều nghịch. Ngoài ra, ở nhiệt độ 200°C hỗn hợp có thể phân hủy tạo ra một số hợp chất không mong muốn. Do đó, hiệu suất chuyển hóa chất béo FAME ở 200°C có xu hướng giảm.

**Bảng 4: Thành phần hỗn hợp sau khi phản ứng ở các nhiệt độ khác nhau**

Nhiệt độ phản ứng	Áp suất tương ứng, MPa	Thành phần (diện tích peak, %)					
		FFA	FAME	MAG	DAG	TAG	T. phần khác
150°C	1.57	48.06	35.5	7.6	3.1	2.3	3.44
165°C	1.57	44.37	41.5	7.09	2.43	2.64	1.97
175°C	2.94	10.07	79.37	3.22	2.17	1.78	3.39
200°C	3.92	26.66	65.52	-	-	-	7.82

**3.4 Ảnh hưởng của hàm lượng methanol lên hiệu suất chuyển hóa chất béo thành FAME**

Ảnh hưởng của hàm lượng methanol đến hiệu suất chuyển hóa FAME được tiến hành khảo sát với các tỉ lệ chất béo:methanol, thay đổi từ 1:10 đến 1:40 g/g, tương ứng với điều kiện tỉ lệ chất béo: nước là 1:0.05 g/g, nhiệt độ 175°C, và thời gian phản ứng là 4 giờ. Kết quả khảo sát được trình bày trong Bảng 5 và cho thấy rằng để tăng hiệu suất chuyển hóa chất béo thành biodiesel cần phải

sử dụng lượng methanol cao khá cao. Hiệu suất chuyển hóa tăng khi tăng hàm lượng methanol. Hơn 87% chất béo được chuyển sang FAME khi tỉ lệ là 1:25 g/g. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Demirbas, khi tỉ lệ giữa methanol và chất béo cao thì sản phẩm sẽ tạo được một lượng lớn ester trong thời gian ngắn ở điều kiện siêu tới hạn (Demirbas, 2009). Tuy nhiên, khi tỉ lệ chất béo: methanol tăng lên cao hơn 1:30 thì hiệu suất chuyển hóa có xu hướng giảm.

**Bảng 5: Thành phần hỗn hợp sau khi phản ứng với tỉ lệ chất béo:methanol khác nhau**

Chất béo: methanol, g/g	Thành phần (diện tích peak, %)					
	FFA	FAME	MAG	DAG	TAG	Thành phần khác
1:10	17.581	62.482	7.69	3.23	0.26	8.76
1:20	30.42	65.96	-	0.42	-	3.2
1:25	10.08	87.01	-	-	-	2.91
1:30	17.18	79.72	-	0.15	-	2.95
1:40	10.07	77.81	5.37	1.32	0.44	5.28

**3.5 Ảnh hưởng của thời gian lên hiệu suất chuyển hóa chất béo thành FAME**

Ảnh hưởng của thời gian phản ứng lên hiệu suất chuyển hóa được khảo sát trong khoảng từ 2–8 giờ, tương ứng với nhiệt độ phản ứng 175°C, tỉ lệ chất béo: nước là 1:0.05 g/g, tỉ lệ chất béo: methanol là 1:25 g/g. Kết quả được trình bày trong Bảng 6 cho thấy độ chuyển hóa FAME tăng khi

thời gian tăng từ 2 lên 4 giờ. Tuy nhiên, khi thời gian phản ứng tăng lên 6 và 8 giờ thì độ chuyển hóa không tăng mà có xu hướng giảm nhẹ. Như vậy, có thể nói rằng 4 giờ là khoảng thời gian tối ưu cho phản ứng tổng hợp FAME. Vì phản ứng transester hóa là thuận nghịch và thời gian dài ở nhiệt độ cao có thể tạo ra sản phẩm phụ không mong muốn.

**Bảng 6: Thành phần hỗn hợp khi thời gian phản ứng là khác nhau**

Thời gian phản ứng, giờ	Thành phần (diện tích peak, %)					
	FFA	FAME	MAG	DAG	TAG	Thành phần khác
2	27.2	64.11	4.42	1.47	-	2.8
4	8.08	89.05	-	-	-	2.87
6	12.1	85.75	-	-	-	2.15
8	8.98	82.96	2.5	0.21	-	5.35

**3.6 Ảnh hưởng của hàm lượng nước lên hiệu suất chuyển hóa chất béo thành FAME**

Phản ứng tổng hợp biodiesel được thực hiện với tỉ lệ chất béo và nước khác nhau (1:1, 1:0.1 và 1:0.05 g/g) ở nhiệt độ 175°C, tỉ lệ chất béo: methanol là 1:25 g/g và thời gian là 4 giờ. Kết quả cho thấy khi giảm hàm lượng nước thì hiệu suất

chuyển hóa FAME tăng. Hơn 45% FAME được tạo thành khi tỉ lệ giữa chất béo và nước là 1:1. Hiệu suất chuyển hóa tăng lên khoảng từ 67% đến hơn 90% khi tỉ lệ giữa chất béo: nước giảm từ 1:0.1 đến 1:0.05 (Bảng 7). Điều này cũng phù hợp với phản ứng thuận nghịch, khi tăng hàm lượng nước thì phản ứng có xu hướng dịch chuyển theo chiều ngược lại.

**Bảng 7: Thành phần hỗn hợp sau phản ứng khi thay đổi hàm lượng nước**

Chất béo: H <sub>2</sub> O, g/g	Thành phần (diện tích peak, %)					Thành phần khác
	FFA	FAME	MAG	DAG	TAG	
1:1	50.89	45.04	0.98	-	0.26	2.83
1:0.1	27.84	67.73	1.34	0.73	0.22	2.14
1:0.05	6.70	90.15	-	-	-	3.15

**4 KẾT LUẬN**

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng bã mía là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho việc nuôi cấy và sản xuất chất béo từ vi sinh vật. Bằng việc ứng dụng phương pháp cận tới hạn để tổng hợp FAME (hay còn gọi là diesel sinh học) thấy rằng các yếu tố như nhiệt độ, thời gian, hàm lượng methanol, hàm lượng nước và hàm lượng xúc tác ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất chuyển hóa chất béo thành FAME. Điều kiện thích hợp cho phản ứng tổng hợp biodiesel là nhiệt độ 175°C, thời gian 4 giờ, tỉ lệ chất béo:methanol 1:25 g/g và tỉ lệ chất béo: nước 1:0.05 g/g. Vì vậy, có thể nói rằng phương pháp cận tới hạn hứa hẹn có thể thay thế các phương pháp truyền thống như sử dụng chất xúc tác acid-base hay phương pháp siêu tới hạn để sản xuất biodiesel.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Balat, M. (2007). Global Bio-fuel Processing and Production Trends.
- Chen X., L. Z., Zhang X., Hu F., Ryu D. Y., and Bao J. (2009). "Screening of oleaginous yeast strains tolerant to lignocellulose degradation compounds." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 159(3): 591-604.
- Demirbas, A. (2009). "Biodiesel from waste cooking oil via base-catalytic and supercritical methanol transesterification." *Energy Conversion and Management* 50(4): 923-927.

- Dufey, A. (2006). *Biofuel Production, Trade and Sustainable Development: Emerging Issues*.
- Haas M. J., M. A. J., Yee W. C., and Foglia T. A. (2006). "A process model to estimate biodiesel production cost." *Bioresource Technology* 97(4): 671-678.
- Huang C., C. X. F., Xiong L., Chen X. D., Ma L. L., and Chen Y. (2012). "Single cell oil production from low-cost substrates: The possibility and potential of its industrialization." *Biotechnology Advances*.
- Marsden, W. L., P. P. Gray, et al. (1982). "Evaluation of the DNS method for analysing lignocellulosic hydrolysates." *J. Chem. Tech. Bioelectronol* 32: 1016-1022.
- Miller, G. L. (1959). "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar." *Analytical Chemistry* 31(3): 426-428.
- Mulugetta, Y. (2009). "Evaluating the economics of biodiesel in Africa." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13: 1592-1598.
- Nicaud, J. M. (2012). "Yarrowia lipolytica." *Yeast* 29: 409-418.
- Shahidi, F. (2005). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*.
- Thanh, L. T., et al. (2013). "A new co-solvent method for the green production of biodiesel fuel – Optimization and practical application." *Fuel* 103 (0): 742-748.