



KHẢ NĂNG SỬ DỤNG BÃ MÍA TRONG SẢN XUẤT CHẤT BÉO TỪ NẤM MEN *YARROWIA LIPOLYTICA* Po1G

Hồ Quốc Phong¹, Huỳnh Liên Hương¹, Võ Trường Giang² và Trương Thị Cẩm Tú³

¹ Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ

² Sinh viên lớp Công nghệ hóa học K35, Trường Đại học Cần Thơ

³ Học viên cao học Công nghệ hóa học, Trường Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh

Thông tin chung:

Ngày nhận: 03/01/2013

Ngày chấp nhận: 20/06/2013

Title:

Study of using sugarcane bagasse for lipid production by the yeast *Yarrowia lipolytica* Po1g

Từ khóa:

Bã mía, chất béo, diesel sinh học, nhiên liệu sinh học, *Yarrowia lipolytica* Po1g

Keywords:

Biodiesel, biofuel, lipid, sugarcane bagasse, *Yarrowia lipolytica* Po1g

ABSTRACT

This study is to explore the use of sugarcane bagasse for culturing *Yarrowia lipolytica* Po1g in order to obtain lipid. After pretreatment, bagasse was converted into sugars by hydrolysis with dilute sulfuric acid at various concentrations (1 - 4%), temperature (60 - 120°C), and reaction time (1 - 8 hours). The results showed that the concentration of total sugar increased proportionally to the increase of applied acid concentration, time, and temperature. The highest concentration of sugar obtained when bagasse was hydrolyzed with 3% H₂SO₄ at 90°C for 6 hours and the ratio between bagasse and acid solution was 1/25 g/mL. The culturing process of *Y. lipolytica* Po1g showed that detoxified sugarcane bagasse hydrolysate gave the highest biomass of 12.07 g/L, compared to D-glucose (10.3 g/L), and D-xylose (8.45 g/L). The highest lipid obtained when yeast grown in detoxified sugarcane bagasse hydrolysate with total sugar concentration of 30 g/L was 46.7%.

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm khảo sát khả năng sử dụng bã mía để nuôi cấy nấm men *Yarrowia lipolytica* Po1g nhằm thu được chất béo. Sau khi được xử lý sơ bộ, bã mía được chuyển hóa thành đường bằng phương pháp thủy phân với H₂SO₄ loãng ở nồng độ (1 - 4%), nhiệt độ (60 - 120°C), và thời gian (1- 8 giờ). Kết quả cho thấy nồng độ đường tổng tăng tỉ lệ thuận với nồng độ acid, thời gian, và nhiệt độ thủy phân. Nồng độ đường tổng cao nhất thu được khi bã mía được thủy phân bằng H₂SO₄ 3% ở 90°C trong 6 giờ và với tỉ lệ bã mía và dung dịch acid là 1/25 g/mL. Quá trình nuôi cấy nấm men *Y. lipolytica* Po1g cho thấy sản phẩm thủy phân bã mía đã khử độc cho kết quả tăng trưởng sinh khối là cao nhất (12.07 g/L) so với D-glucose (10.3 g/L) và D-xylose (8.45 g/L). Hàm lượng chất béo cao nhất thu được khi nấm men được nuôi cấy trong bã mía thủy phân có nồng độ đường tổng 30 g/L là 46.7%.

1 GIỚI THIỆU

Ngày nay, dầu sinh học hay biodiesel ngày càng được quan tâm mạnh mẽ như là nhiên

liệu có thể phân hủy sinh học, phát sinh ít chất thải, có thể hòa trộn với petrodiesel và tương thích tốt với các động cơ hiện tại (Knothe,

2008). Tuy nhiên, chi phí cao của nguyên liệu thô, ước tính chiếm 70 - 88%, khiến biodiesel chưa thể cạnh tranh với petrodiesel (Chen *et al.*, 2009; Haas *et al.*, 2006).

Hơn thế nữa, việc sử dụng các loại dầu thực vật cho quá trình sản xuất biodiesel quy mô công nghiệp làm giảm diện tích đất canh tác của các 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. Vì vậy, việc phát triển công nghệ khác để sản xuất chất béo dùng cho quá trình sản xuất biodiesel là rất quan trọng. Trong đó, sản xuất chất béo thông qua quá trình lên men sử dụng các vi sinh vật cho dầu có thể là một cách thay thế cho các loại dầu thực vật truyền thống (Ratledge, 2008). Các vi sinh vật cho dầu được biết đến với việc tích lũy các chất béo trong nội bào từ sự trao đổi chất dựa trên các nền carbon. Một vài loại vi sinh vật tích lũy lên đến 87% khối lượng tế bào khô (Papanikolaou *et al.*, 2004). Chất béo từ vi sinh vật (microbial lipid) còn được gọi là dầu đơn bào (single cell oil, SCO) được quan tâm như là một nguồn nguyên liệu đầy hứa hẹn cho việc sản xuất dầu biodiesel bởi những ưu điểm như thời gian sản xuất ngắn, công lao động ít và dễ dàng nhân rộng.

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.

Nguồn phế liệu lignocellulose có tiềm năng rất quan trọng bởi nó được thải ra hàng năm với số lượng khổng lồ, đặc biệt là các nước có nền nông nghiệp phát triển. Trong đó, bã mía – phụ phẩm của quá trình sản xuất đường, là nguồn nguyên liệu chứa lignocellulose, có mặt ở hầu hết các nước nhiệt đới, trong đó có Việt Nam. Tuy nhiên trong thời gian qua, các ứng dụng của bã mía chưa được khai thác triệt để, chỉ dừng lại ở việc dùng làm nhiên liệu đốt lò hoặc làm bột giấy và ván ép dùng trong xây dựng,... Trong khi bã mía là nguồn lignocellulose tiềm năng cho quá trình sản xuất nhiên liệu sinh học từ vi sinh vật do có hàm lượng carbohydrate cao, hàm lượng chất ức chế thấp và là phế phẩm tại các nhà máy đường. Chính vì vậy, việc nghiên cứu ứng dụng bã mía trong quá trình nuôi cấy *Y. lipolytica* Po1g để sản xuất chất béo phục vụ cho việc sản xuất nhiên liệu sinh học là rất cần thiết. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm tìm ra điều kiện thích hợp cho phản ứng thủy phân bã mía bằng acid loãng để thu được dung dịch thủy phân có hàm lượng đường cao. Đồng thời, nghiên cứu sẽ tận dụng các thành phần dinh dưỡng từ dung dịch bã mía thủy phân để nuôi cấy nấm men *Y. lipolytica* Po1g nhằm sản xuất chất béo (dầu). Qua đó đề xuất nguyên liệu thô rẻ tiền cho quá trình sản xuất chất béo có quy mô công nghiệp, nâng cao giá trị của cây mía, đồng thời giải quyết một phần ô nhiễm môi trường.

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 Đà 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 dung môi sử dụng cho trong trích ly, H₂SO₄, Ca(OH)₂ và thuốc thử phân tích 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) được cung cấp bởi công ty Meck (Đức).

2.2 Thủy phân bã mía

Bã mía được thủy phân theo phương pháp của (Chandel *et al.*, 2007) với một số điều chỉnh nhỏ về nhiệt độ, thời gian và tỉ lệ bã mía/dung dịch acid. Bã mía đã xử lý sơ bộ được trộn với H₂SO₄ để thực hiện phản ứng thủy phân với điều kiện nhiệt độ và thời gian nhất định. Sau khi phản ứng hỗn hợp được để nguội đến nhiệt độ phòng (30 °C), phần chất lỏng (dung dịch bã mía thủy phân, DDBMTP) được tách bằng cách lọc chân không và bảo quản ở 4 °C. Sơ đồ 1 mô tả việc chuẩn bị DDBMTP cũng như quá trình nuôi cấy *Y. lipolytica* Po1g.

2.3 Quá trình khử độc sản phẩm thủy phân bã mía

Để giảm sự ảnh hưởng của các chất ức chế như HMF và furfural, DDBMTP được khử độc bằng phương pháp vôi hóa (overliming). Ca(OH)₂ được thêm vào DDBMTP để tăng pH lên đến khoảng 9 - 10 và giữ ở điều kiện này từ 30 phút, sau đó điều chỉnh đến pH 6.5 bằng H₂SO₄. pH dung dịch được xác định bằng máy đo pH (Melter Toledo, Mỹ). Sau khi khử độc, dung dịch được lọc chân không 2 lần nhằm loại bỏ kết tủa CaSO₄ và dung dịch sau đó giữ ở 4°C cho đến khi được sử dụng.

2.4 Nuôi cấy nấm men

Nấm men *Y. lipolytica* Po1g được tòn trữ trên môi trường YPDA ở 4°C. Sau đó nấm men từ môi trường YPDA được nuôi cấy sơ bộ trong môi trường YPD 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 JSSI 100C (JSR, Mỹ) với tốc độ lắc 160 vòng/phút, trong 24 giờ. Nấm men được nuôi cấy sơ bộ tiếp tục được nhân rộng trong

môi trường bã mía thủy phân với tỷ lệ thể tích 1:10, sử dụng bình tam giác 500 mL với thể tích môi trường nuôi cấy là 250 mL, trong tủ nuôi cấy với nhiệt độ là 26°C và tốc độ lắc 160 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy bao gồm: sản phẩm thủy phân bã mía (đã khử độc và chưa khử độc), peptone (5 g/L), yeast extract (5 g/L).

2.5 Phương pháp đánh giá

2.5.1 Xác định hàm lượng nấm men

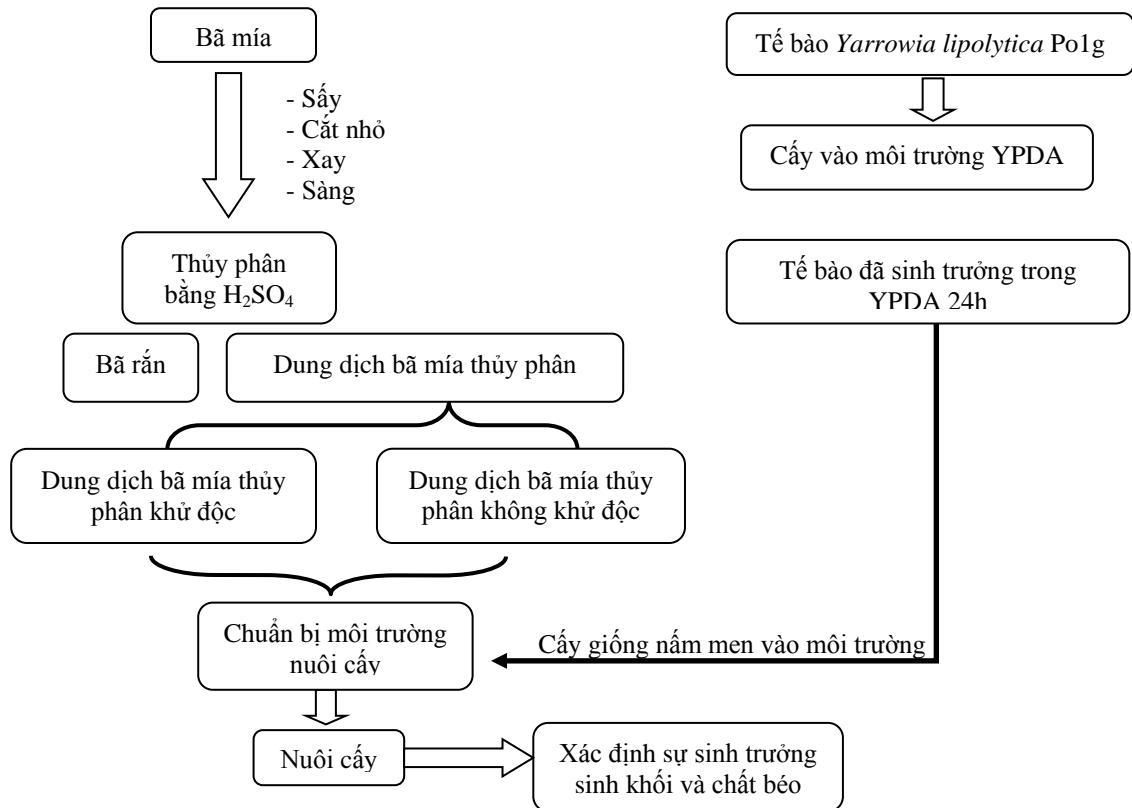
Sự phát triển của tế bào *Y. lipolytica* Po1g được xác định bằng phép đo mật độ quang của các mẫu pha loãng ở bước sóng 600 nm bởi máy quang phổ hồng ngoại UV/VIS Cary 50 (Varian, Mỹ) và đối chiếu kết quả với đường cong chuẩn được xây dựng từ sinh khối của tế bào. Trong đó sinh khối được thu hoạch bằng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

2.5.2 Xác định nồng độ đường tổng

Nồng độ đường tổng trong sản phẩm thủy phân được xác định theo phương pháp DNS (Marsden *et al.*, 1982; Miller, 1959) 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.

2.5.3 Xác định hàm lượng chất béo

Chất béo 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 trong thiết bị cô quay Model R205 (Buchi, Thụy sĩ) để loại bỏ dung môi. Hàm lượng chất béo được phân tích bằng cách cân khối lượng.



Hình 1: Sơ đồ quá trình thủy phân bã mía và nuôi cấy *Y. lipolytica* Po1g

2.5.4 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, sai số ngẫu nhiên.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Trong quá trình thủy phân lignocellulose nói chung hay bã mía nói riêng các thông số như nhiệt độ, thời gian và nồng độ acid đóng vai trò quan trọng để thu được lượng đường tối ưu và sinh ra chất ức chế tối thiểu. Thêm vào đó, một số tác giả cũng quan tâm đến sự ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu và tỉ lệ giữa nguyên liệu/dung dịch acid (Chandel *et al.*, 2012; Taherzadeh & Karimi, 2007a). Chính vì thế trong nghiên cứu này, các thông số trên sẽ được khảo sát.

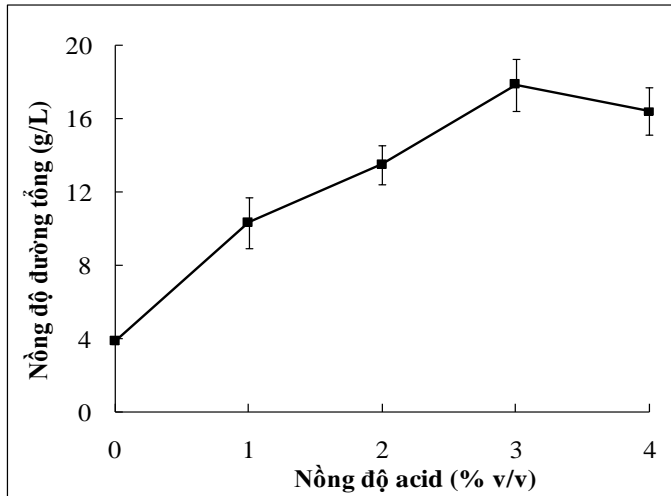
3.1 Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ acid lên nồng độ đường tổng

Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ acid

đến quá trình thủy phân, bã mía được thủy phân tương ứng với những nồng độ H₂SO₄ khác nhau, thay đổi từ 1 - 4% (v/v), ở nhiệt độ 90°C trong 1 giờ với tỉ lệ bã mía/dung dịch acid (BM/DDA) là 1/20 g/mL. Kết quả thủy phân được thể hiện trong Hình 2.

Có thể thấy rằng nồng độ acid ảnh hưởng rất quan trọng đến quá trình thủy phân, trong đó nồng độ đường tổng (NĐĐT) tăng tương ứng với tăng nồng độ acid. Khi tăng nồng độ H₂SO₄ từ 1% đến 3% làm tăng NĐĐT từ 10.32 đến 17.86 g/L. Điều này chứng tỏ acid nồng độ cao có thể phá vỡ cấu trúc polymer của lignocellulose hiệu quả hơn. Tuy nhiên, khi sử dụng acid 4%, NĐĐT giảm còn 16.41 g/L. Điều này được giải thích là do sự giảm cấp của các loại đường pentose và hexose thành 5-HMF và furfural. Đây là sản phẩm phụ không mong muốn và là thành phần ức chế trong quá trình nuôi cấy nấm men. H₂SO₄ ở nồng độ 3% là hiệu quả nhất cho sự thủy phân bã mía, tương ứng với NĐĐT là 17.86 g/L.

Hình 2: Ảnh hưởng của nồng độ acid đến nồng độ đường tổng

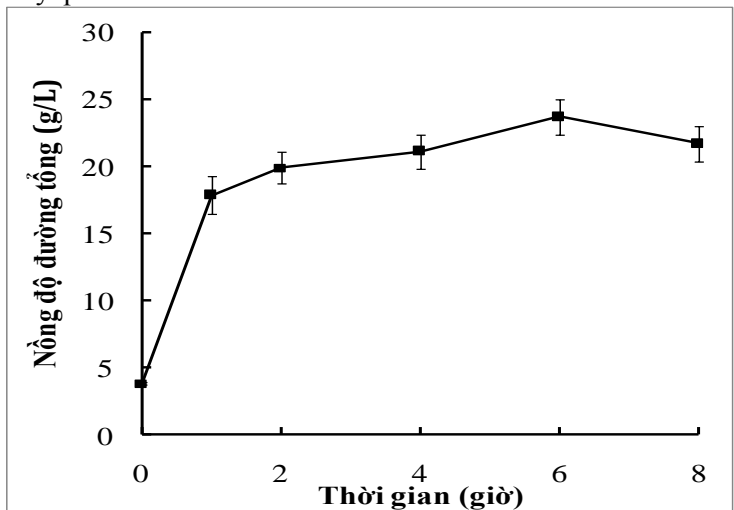


3.2 Khảo sát ảnh hưởng thời gian thủy phân đến nồng độ đường tổng

Quá trình thủy phân được khảo sát ở các khoảng thời gian khác nhau từ 1 - 8 giờ, nhiệt độ 90°C, nồng độ acid đã tối ưu là 3%, tỉ lệ BM/DDA là 1/20. Kết quả chỉ ra rằng NĐĐT tăng theo thời gian thủy phân, với thời gian thủy phân tối ưu là 6 giờ. Khi tăng thời gian thủy phân từ 2 đến 4 giờ, NĐĐT tăng tương ứng từ 19.91 đến 21.13 g/L và đạt cực đại (23.69 g/L) tương ứng với 6 giờ thủy phân.

Tuy nhiên, NĐĐT bắt đầu giảm còn 21.69 g/L khi thời gian thủy phân tăng lên 8 giờ (Hình 3). Các công trình nghiên cứu tương tự cũng cho thấy NĐĐT tăng khi tăng thời gian thủy phân và nồng độ acid sử dụng và cho đến khi đạt được giá trị cực đại thì NĐĐT bắt đầu giảm dần sau đó (Tsigie *et al.*, 2012; Wang, 2011). Nguyên nhân chủ yếu là do sự chuyển hóa của phân tử đường thành các hợp chất không mong muốn khác ở điều kiện nồng độ acid cao và thời gian phản ứng dài.

Hình 3: Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến nồng độ đường tổng



3.3 Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ bã mía/dung dịch acid đến nồng độ đường tổng

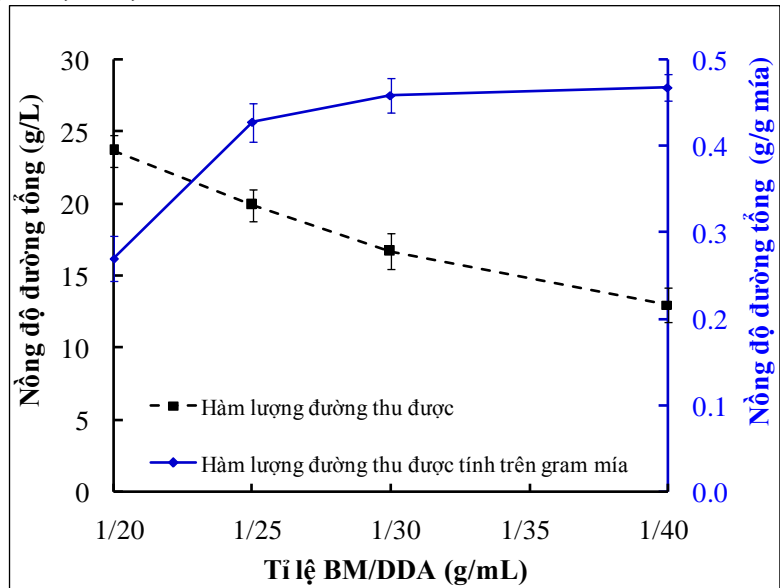
Tỉ lệ BM/DDA được tiến hành khảo sát với các tỉ lệ khác nhau thay đổi từ 1/20 đến 1/40 g/mL, tương ứng với điều kiện nồng độ axit 3%, nhiệt độ 90°C và thời gian là 6 giờ. Kết quả khảo sát cho thấy rằng nồng độ đường

tổng gần như giảm tuyến tính khi tăng tỉ lệ giữa bã mía và dung dịch acid sử dụng trong quá trình thủy phân (Hình 4). NĐĐT thu được là 23.69, 19.94, 16.72, và 12.96 g/L tương ứng với tỉ lệ BM/DDA là 1/20, 1/25, 1/30, và 1/40 g/mL. Tuy nhiên, lượng đường thực tế thu được tính trên khối lượng bã mía sử

dụng thì tăng mạnh khi thay đổi tỉ lệ BM/DDA thay đổi từ 1/20 đến 1/25 g/mL và giá trị này thay đổi không đáng kể khi tỉ lệ rắn lỏng sử dụng lớn hơn 1/25 g/mL (Hình 4). Như vậy, nếu bã mía được sử dụng là 1 g thì lượng đường thu được lần lượt là 0.27, 0.43, 0.46, và

0.47 g, tương ứng với tỉ lệ BM/DDA là 1/20, 1/25, 1/30, và 1/40 g/mL. Từ kết quả cho thấy việc chọn khảo sát tỉ lệ BM/DDA là quan trọng, trong tỉ lệ 1/25 g/mL được xem là kết quả tối ưu cho quá trình thủy phân.

Hình 4: Ảnh hưởng của tỉ lệ mía/dung dịch acid đến nồng độ đường tổng

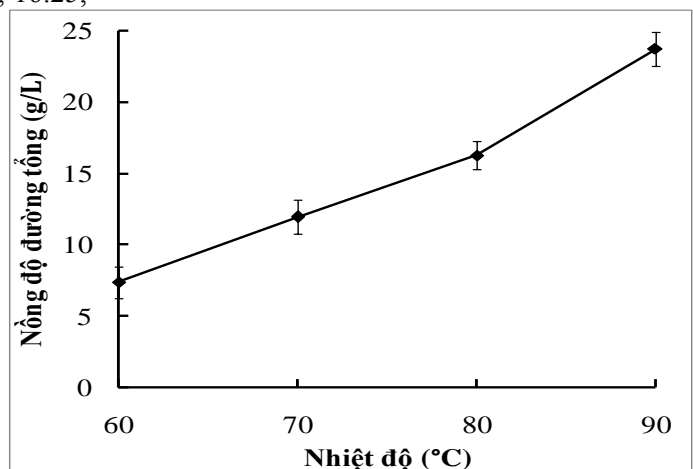


3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến nồng độ đường tổng

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình thủy phân được khảo sát từ 60 - 120°C, trong đó nồng độ axit 3%, tỉ lệ BM/DDA 1/25 g/mL và thời gian 6 giờ là điều kiện cố định. Kết quả thí nghiệm cho thấy nồng độ đường tổng tăng nhanh khi tăng nhiệt độ thủy phân (Hình 5). NĐĐT thu được lần lượt là 7.36, 11.89, 16.25,

và 23.69 g/L tương ứng với nhiệt độ sử dụng là 60, 70, 80, và 90°C. Tuy nhiên, nếu tăng nhiệt độ lên cao trên 90°C thì hàm lượng đường giảm do xảy ra quá trình caramen hóa đường ở nhiệt độ cao và thời gian dài. Hơn thế nữa, khi thực hiện phản ứng thủy phân ở 120°C trong 6 giờ, đường bị phân hủy hoàn toàn thành carbon. Vì vậy, nhiệt độ thích hợp cho quá trình thủy phân trong nghiên cứu này là 90°C.

Hình 5: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến nồng độ đường tổng

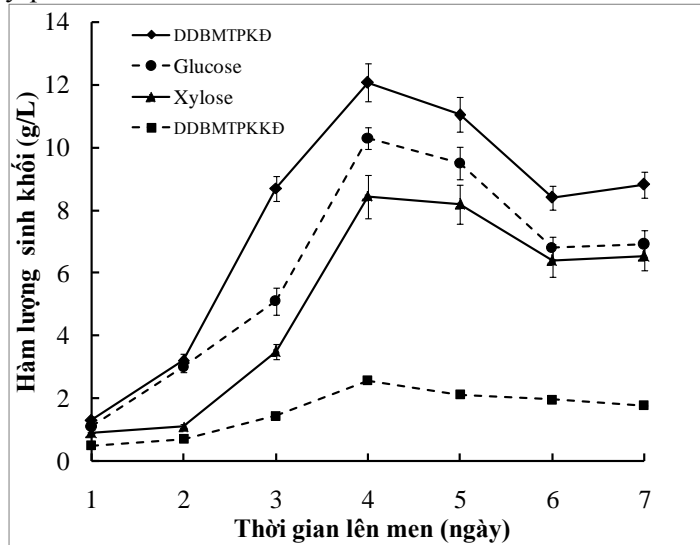


3.5 Ảnh hưởng của nguồn cung cấp carbon đến hàm lượng sinh khối

Ảnh hưởng của nguồn cung cấp carbon lên quá trình phát triển của *Y. lipolytica* Po1g được khảo sát với 4 nguồn cung cấp carbon khác nhau như sau: (i) dung dịch bã mía thủy phân

không khử độc (DDBMTPKKĐ) (20 g/L); (ii) dung dịch bã mía thủy phân đã qua khử độc (DDBMTPKD) (20 g/L); (iii) dung dịch D-glucose tinh khiết (20 g/L) và (iv) D-xylose tinh khiết (20 g/L).

Hình 6: Ảnh hưởng của nguồn carbon đến sự sinh trưởng của *Y. lipolytica* Po1g



Kết quả cho thấy nấm men phát triển tốt nhất trong dung dịch bã mía thủy phân đã qua khử độc và hàm lượng sinh khối đạt giá trị tối đa là 12.07 g/L. Trong khi đó giá trị cực đại của sinh khối thu được trong các môi trường chứa D-glucose, D-xylose, dung dịch bã mía thủy phân không khử độc lần lượt là 10.3, 8.45, và 2.11 g/L. Quan sát sự sinh trưởng và phát triển của nấm men theo thời gian nhận thấy rằng vào ngày thứ 4 sinh khối phát triển mạnh nhất tuy nhiên sau đó tốc độ này giảm dần (Hình 6). Nguyên nhân là do sự cạn kiệt nguồn cung cấp đạm và carbon. Việc nuôi cấy trong dung dịch bã mía thủy phân chưa qua khử độc cho kết quả thấp nhất bởi vì có sự hiện diện của các chất ức chế như furfural, HMF và đặc biệt là pH môi trường quá thấp. Sau khi trung hòa với Ca(OH)₂, hàm lượng các chất ức chế sẽ giảm đi và do đó không ảnh hưởng xấu đáng kể lên sự phát triển của nấm men. Hơn thế nữa sau 6 ngày nuôi cấy, sinh khối có xu hướng tăng lên. Điều này có thể giải thích là do vi sinh vật sử dụng lại chất béo như là nguồn cung cấp carbon cho sự sinh trưởng (Huang *et al.*, 2009).

3.6 Ảnh hưởng nồng độ đường tổng đến hàm lượng sinh khối và chất béo

Hàm lượng sinh khối cũng như hàm lượng chất béo thu được chịu sự ảnh hưởng của nồng độ đường tổng trong dung dịch bã mía thủy phân. Ảnh hưởng này được thực hiện bằng việc nuôi cấy *Y. lipolytica* Po1g trong môi trường bã mía thủy phân đã được khử độc tương ứng với NĐĐT khác nhau từ 10 - 40 g/L, với thời gian lên men là 4 ngày. Kết quả thí nghiệm chỉ ra rằng hàm lượng sinh khối cũng như chất béo tăng khi tăng NĐĐT từ 10 - 30 g/L và giảm nếu tiếp tục tăng NĐĐT (40 g/L) (Bảng 1). Khi NĐĐT sử dụng là 10 g/L thì sinh khối thu được là thấp nhất 4.12 g/L, tương ứng với lượng chất béo sinh ra chỉ 1.1 g/L, (chiếm 26.7% sinh khối). Sau đó lượng sinh khối tăng lên 12.07 g/L (lượng chất béo tích lũy là 3.87 g/L, chiếm 32.1%) khi NĐĐT trong bã mía thủy phân là 20 g/L. Lượng sinh khối thu được cao nhất là 13.25 g/L (chất béo là 6.19 g/L, chiếm 46.7%), tương ứng với dung dịch thủy phân có NĐĐT là 30 g/L. Tuy nhiên khi NĐĐT tăng lên 40 g/L thì lượng sinh khối thu được bị giảm xuống 8.33 g/L và chất béo sinh ra 2.96 g/L

(chiếm 35.5%). Điều này có thể giải thích rằng ngoài chất ức chế như HMF và furfural, hàm lượng đường cao cũng sẽ ức chế sự sinh trưởng của nấm men cũng như hàm lượng chất béo sinh ra (Zhu *et al.*, 2008). Một kết quả tương tự cũng được quan sát trong nghiên cứu

sản xuất ethanol bởi vi sinh vật *Saccharomyces cerevisiae* sử dụng môi trường lignocellulose thủy phân. Khi dung dịch thủy phân có NĐĐT cao sẽ gây ra tác dụng ức chế sự sinh trưởng của vi sinh vật (Zhao & Xia, 2010).

Bảng 1: Ảnh hưởng của nồng độ đường tổng lên hàm lượng sinh khối và chất béo sinh ra

Nồng độ đường tổng, (g/L)	Hàm lượng sinh khối, (g/L)	Hàm lượng chất béo, (%)	Hàm lượng chất béo, (g/L)
10	4.12 ± 0.11	26.7 ± 1.2	1.10 ± 0.03
20	12.07 ± 0.15	32.1 ± 1.5	3.87 ± 0.05
30	13.25 ± 0.34	46.7 ± 2.6	6.19 ± 0.16
40	8.33 ± 0.21	35.5 ± 2.1	2.96 ± 0.07

4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã chứng minh khả năng sử dụng bã mía cho quá trình thủy phân đường là rất khả quan. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân như nồng độ acid, thời gian, nhiệt độ, tỉ lệ bã mía / dung dịch acid đã được khảo sát và xác định được điều kiện tối ưu cho quá trình thủy phân bã mía (H₂SO₄ 3%, 90°C, 6 giờ, tỉ lệ 1/25 g/mL). Đồng thời, quá trình nuôi cấy nấm men *Y.lipolytica* Po1g cho thấy sản phẩm thủy phân bã mía đã khử độc có thể được sử dụng như một nguồn carbon thay thế hiệu quả cho quá trình nuôi cấy nhằm sản xuất chất béo do hàm lượng sinh khối và chất béo thu được khá cao. Chính vì thế bã mía thủy phân có thể xem như là nguyên liệu tiềm năng dùng để nuôi cấy nấm men cho dầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chandel, A.K., R.K. Kapoor, A. Singh, R.C. Kuhad, 2007. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501. *Bioresource Technology*. 98(10): 1947-1950.
- Chandel, A.K., S.S.d. Silva, F.A.F. Antunes, P.V. Arruda, T.S.S. Milessi, M. Almeida Felipe, 2012. Dilute acid hydrolysis of agro-residues for the depolymerization of hemicellulose: State of the Art. *In*: S.S. da Silva, A.K. Chandel (editors). *D-Xylitol: Fermentative production, application and commercialization*. Springer Berlin Heidelberg. 39-61.
- Chen, X., Z. Li, X. Zhang, F. Hu, D.Y. Ryu, J. Bao, 2009. Screening of oleaginous yeast strains tolerant to lignocellulose degradation

compounds. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 159(3): 591-604.

- Haas, M.J., A.J. McAloon, W.C. Yee, T.A. Foglia, 2006. A process model to estimate biodiesel production costs. *Bioresource Technology*. 97(4): 671-678.
- Huang, C., M.H. Zong, H. Wu, Q.P. Liu, 2009. Microbial oil production from rice straw hydrolysate by *Trichosporon fermentans*. *Bioresource Technology*. 100(19): 4535-4538.
- Knothe, G., 2008. "Designer" Biodiesel: Optimizing Fatty Ester Composition to Improve Fuel Properties†. *Energy & Fuels*. 22(2): 1358-1364.
- Marsden, W.L., P.P. Gray, G.J. Nippard, 1982. Evaluation of the DNS method for analysing lignocellulosic hydrolysates. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 32: 1016-1022.
- Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31(3): 426-428.
- Papanikolaou, S., M. Komaitis, G. Aggelis, 2004. Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media. *Bioresource Technology*. 95 (3): 287-291.
- Ratledge, C., 2008. *Microbial Lipids*. *In*. *Biotechnology Set*. Wiley-VCH Verlag GmbH. 133-197.
- Taherzadeh, M.J., K. Karimi, 2007a. Acid-based hydrolysis process for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *Bioresources*. 2(3): 472-499.
- Tsiegie, Y.A., C. Wang, N.S. Kasim, Q. Diem, L. Huynh, Q. Ho, C. Truong, Y. Ju, 2012. Oil production from *Yarrowia lipolytica* Po1g

- using rice bran hydrolysate. *J Biomed Biotechnol.* 2012: 378384.
13. Wang, C.Y., 2011. Defatted rice bran hydrolysate for culturing *Yarrowia lipolytica* Po1g for lipid production. Master. National Taiwan University of Science and Technology. Taipei, Taiwan.
 14. Zhao, J., L. Xia, 2010. Ethanol production from corn stover hemicellulosic hydrolysate using immobilized recombinant yeast cells. *Biochemical Engineering Journal.* 49(1): 28-32.
 15. Zhu, L.Y., M.H. Zong, H. Wu, 2008. Efficient lipid production with *Trichosporon fermentans* and its use for biodiesel preparation. *Bioresource Technology.* 99(16): 7881-7885.