

Nghiên cứu điều kiện thủy phân rong lục *Chaetomorpha linum* bằng axit và ứng dụng trong sản xuất bioethanol

Study On Acid Hydrolysis Conditions of *Chaetomorpha Linum* Green Seaweed to Application for Ethanol Production

Võ Thành Trung^{1*}, Lê Như Hậu¹, Nguyễn Thanh Hằng²

¹Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang, Viện Hàn lâm KHCNVN

²Viện Công nghệ sinh học và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội
Đền Tòa soạn: 31-10-2016; chấp nhận đăng: 28-02-2017

Tóm tắt

Rong lục *Chaetomorpha linum* có hàm lượng carbohydrate cao, thích hợp cho nghiên cứu sản xuất ethanol. Trong nghiên cứu này, rong lục *C. linum* được thủy phân bằng axit. Các yếu tố của quá trình thủy phân được khảo sát gồm có tỷ lệ rong 75-200 g/l, nồng độ axit 0-4%v/v, nhiệt độ 90-130°C, thời gian 20-80 phút. Kết quả điều kiện tối ưu cho thủy phân rong lục bằng axit là: tỷ lệ rong phối trộn 100 g/l, thời gian: 54 (phút), nhiệt độ: 123 °C, nồng độ axit 3,3 (%v/v). Dịch thủy phân có hàm lượng đường 53,2 g/l và thành phần monosaccharid là glucose 32,1 g/l, galactose 7,8 g/l, rhamnose 12,6 g/l. Dịch thủy phân này có hàm lượng glucose cao thích hợp cho nấm men phát triển, quá trình lên men tạo được 18,1 g ethanol/l.

Từ khóa: *Chaetomorpha linum*, rong lục, thủy phân bằng axit, lên men ethanol

Abstract

Green seaweed *Chaetomorpha linum* has high carbohydrate content, therefore it is suitable for ethanol production. In this study, *C. linum* was hydrolyzed by sulfuric acid. This process has been investigated following factors, seaweed ratio 75-200 g/l, acid concentration 0-4 %v/v, temperature 90-130°C and time 20-80 minutes. The optimal factors were determined as hydrolysis time of 54 minutes, temperature of 123°C, acid concentration of 3,3 %v/v resulting in the hydrolysate 53.2 g/l of sugar which contained glucose of 32.1 g/l, galactose of 7.8 g/l and rhamnose of 12.6 g/l. In conclusion, this hydrolysate contains a high glucose amount that is appropriate for yeast fermentation with 18.1 g/l ethanol production.

Keywords: *Chaetomorpha linum*, green seaweed, hydrolysis by acid, ethanol fermentation.

1. Mở đầu

Ethanol là nhiên liệu được sử dụng phổ biến nhất và được nhiều quốc gia tập trung nghiên cứu. Ethanol thường được sản xuất từ tinh bột, đường mía và phụ phẩm nông nghiệp. Tuy nhiên việc sử dụng các sản phẩm nông nghiệp sản xuất ethanol còn có hạn chế là chiếm một lượng lớn đất nông nghiệp, cũng như nguồn nước, thời gian và công chăm sóc, canh tác, đặc biệt ảnh hưởng an ninh lương thực. Trước tình hình đó, hàng loạt các nghiên cứu nhằm tìm ra một nguồn nguyên liệu mới trong việc sản xuất cồn sinh học được đẩy mạnh. Trong đó rong biển là một lựa chọn thích hợp và đang được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm.

Rong biển có sản lượng tự nhiên lớn, vòng đời sinh trưởng ngắn, nuôi trồng thu được sinh khối lớn, hàm lượng carbohydrate trong một số loài rong cao từ 40-79%, thành phần đường thích hợp cho lên men tạo

ethanol [1]. Trong sản xuất ethanol từ rong biển, quá trình xử lý thủy phân là một bước quan trọng. Theo nghiên cứu của Nawei, dưới tác động của axit các polysaccharide của rong sẽ bị cắt nhỏ thành các oligo hoặc mono saccharid. Các ion H⁺ của axit tác động trực tiếp đến polysaccharide tại các liên kết mắt xích nối các monosaccharid tạo ra các oligo hoặc monosaccharid. Quá trình thủy phân rong của axit tạo ra hỗn hợp dung dịch đường cần cho quá trình lên men ethanol [2]. Có nhiều nghiên cứu đã sử dụng axit để thủy phân rong biển tạo ra dịch đường như paten của tác giả Kalpana sử dụng axit sunfuric nồng độ 5% thủy phân rong *Kappaphycus alvarezii* [3]. Theo nghiên cứu Xin Wang cũng sử dụng axit 2% v/v để thủy phân rong *Gracilaria salicornia* [4].

Trong bài báo này, chúng tôi đã chọn rong Lục là đối tượng nghiên cứu và tiến hành nghiên cứu điều kiện thủy phân rong *C. linum* bằng axit và ứng dụng trong sản xuất ethanol, đây là rong được nhiều tác giả quan tâm, vì loài rong này có sinh khối lớn, thành phần polysaccharid cao và khi đường hóa sẽ tạo ra

Địa chỉ liên hệ: (+84)905363655,
Email: vothanhtrung@nitra.vast.vn

môi trường giàu glucan thích hợp cho lên men ethanol.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Ngành: *Chlorophyta*, Lớp: *Ulvophyceae*, Bộ: *Cladophorales*, Họ: *Cladophoraceae*, Chi, loài: *Chaetomorpha linum* [5]

Sinh khối rong *C.linum* đem nghiên cứu được thu tại xã Vĩnh Thái, Thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa và được định danh tại Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang.

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* có tên thương mại Ethanol Red® là một loại nấm men khô của hãng Fermentis, Pháp được sử dụng trong sản xuất ethanol. Số lượng tế bào $\geq 2.5 \times 10^{10}$ tế bào/g.

2.2 Phương pháp thủy phân và lên men rong *C.linum*

2.2.1 *Xử lý sơ bộ*: Rong tươi sau khi thu hoạch được sấy khô. Sau đó rửa ngọt ngâm 20-30 phút để giảm muối và tạp chất. Rong được vớt ra phơi nắng lần hai đến độ ẩm dưới 13%, rong được xay nhỏ (d= 0,2-0,4 mm) chuẩn bị cho quá trình thủy phân.

2.2.2 Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân rong bằng axit

Điều kiện thủy phân được chọn, sử dụng cho nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng là tỷ lệ rong 100g/l, nồng độ axit 3%v/v, nhiệt độ 120°C, thời gian 60 phút. Trong khảo sát này, điều kiện được chọn của yếu tố khảo sát trước sẽ được sử dụng cho các yếu tố tiếp theo.

Ảnh hưởng tỷ lệ rong phối trộn theo tỷ lệ 75 g/l, 100g/l, 150g/l, 200g/l. Ảnh hưởng của nồng độ axit theo 0; 0,5; 1; 2; 3 và 4 (%v/v) Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân theo 90; 100; 110; 120; 130° C. Động thái quá trình thủy phân rong theo thời gian 20; 40; 60 và 80 phút.

Kết thúc khảo sát sơ bộ, chúng tôi chọn ba yếu tố có ảnh hưởng lớn đến quá trình thủy phân để tiến hành tối ưu.

Tối ưu hóa: Lập ma trận thực nghiệm, dùng 24 bình tam giác 50ml, cân cho vào mỗi bình 5g nguyên liệu có độ ẩm 13%. Bổ sung các nồng độ axit theo tỷ lệ 2 và 4 (%v/v) Các bình tam giác được giữ trong điều kiện nhiệt độ 110°C và 130°C và sau 40 và 60 phút mang ra xác định hàm lượng đường của dịch sau thủy phân.

2.2.3 *Lên men*: tiến hành lên men trên hệ thống lên men tự động Bioflo với điều kiện lên men được cài đặt: pH 4,5, nhiệt độ 27°C. Bổ sung lượng nấm men $1,2 \times 10^6$ tb/ml rồi lên men trong 76 giờ, chỉ sử dụng

dịch thủy phân rong lục bằng axit làm dinh dưỡng cho nấm men.

2.3 Các phương pháp phân tích

Nhiệt độ được đo bằng máy đo nhiệt độ cầm tay (EC 10, Hach, US), pH bằng máy đo cầm tay ProPlus. Xác định hàm lượng thành phần hóa học: Protein, lipid, tro, độ ẩm, đường được xác định theo các phương pháp của AOAC [6]. Xác định hàm lượng đường tổng số bằng phương pháp Dubois [7]. Xác định ethanol và thành phần đường bằng HPLC (Shimadzu, Japan) trên cột Aminex hpx-87h với detector RID (Mitsunori & et al, 2013) [8]. Phân tích xử lý số liệu trên phần mềm Excel 2003

3. Kết quả

3.1 Thành phần hóa học rong *C. linum*

Bảng 1. Thành phần hóa học của rong *C. linum*

Độ ẩm (%)	Tro (%)	Lipid (%)	Protein (%)	Đường tổng số (%)
14,43±0,5	10,2±0,3	2,11±0,05	14,14±0,7	58,5±0,9

Theo kết quả của bảng 1, thành phần hóa học rong *C.linum* được nghiên cứu có kết quả tương đồng với *C.linum* của tác giả Nadja theo tác giả này hàm lượng đường tổng số 60%. Theo tác giả Mitsunori rong *Ulva pertusa* có hàm lượng đường tổng số là 58%. Thành phần hóa học rong *C.linum* có hàm lượng đường tổng số cao nên thích hợp cho sản xuất ethanol.

3.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng quá trình thủy phân rong lục bằng axit

3.2.1 Ảnh hưởng của tỷ lệ rong trong dung dịch đến quá trình thủy phân

Rong nguyên liệu sau khi đã xử lý được phối trộn với nước với các tỷ lệ khác nhau 75 g/l, 100 g/l, 150 g/l, 200 g/l. Sau đó tiến hành quá trình thủy phân rồi bằng axit nồng độ (3 % v/v) trong thời gian 60 phút, nhiệt độ 120 °C. Kết quả thủy phân thể hiện trong bảng 2

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ rong trong dung dịch đến quá trình thủy phân.

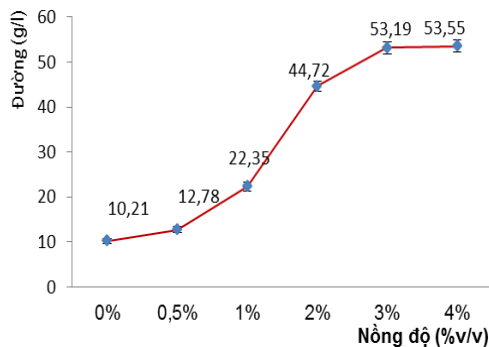
Tỷ lệ rong (g/l)	Đường sau thủy phân(g/l)	Đường tổng số (g/l)	Hiệu suất thủy phân(%)
200	59,2±1,4	116,3±1,5	50,9
150	55,6±1,4	87,1±1,4	63,8
100	53,0±1,3	58,5±1,3	90,5
75	38,9±1,1	43,5±1,2	89,4

Khi tăng tỷ lệ rong trong dung dịch từ 75-200 g/l, hàm lượng đường sau thủy phân tăng từ 38-59 g/l, tuy vậy khi tăng nồng độ từ 100-200 g/l, lượng đường tạo ra không tăng nhiều, hơn nữa hiệu suất thủy phân giảm mạnh từ 90,5% xuống 50,8%. Vì vậy

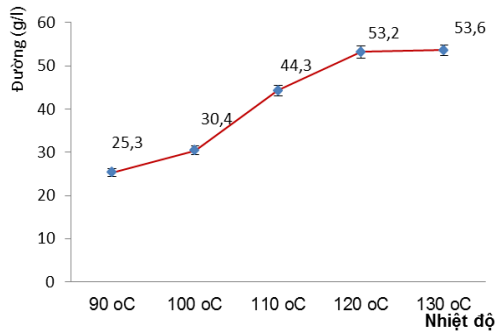
chúng tôi chọn tỷ lệ rong trong dung dịch là 100g/l. Kết quả này cũng tương đồng với các tác giả Nadja sử dụng tỷ lệ rong trong dung dịch là 100 g/l [9], và cao hơn tác giả Mitsunori tỷ lệ rong *Ulva sp.* sử dụng cho đường hóa là 75g/l [8].

3.2.2 Ảnh hưởng của nồng độ axit đến quá trình thủy phân

Tiến hành thủy phân bằng axit ở các nồng độ axit thay đổi 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 %v/v với các điều kiện thủy phân là tỷ lệ rong trong dung dịch là 100g/l, thời gian thủy phân 60 phút, nhiệt độ thủy phân 120 °C. Kết quả thể hiện hình 1



Hình 1. Ảnh hưởng nồng độ axit đến quá trình thủy phân



Hình 2. Ảnh hưởng nhiệt độ đến quá trình thủy phân

Kết quả hình 1 cho thấy khi tăng nồng độ axit thì nồng độ đường tạo thành tăng và khi tăng đến nồng độ axit 4 % (v/v) đường không còn tăng nữa. Trong quá trình thủy phân chúng tôi thấy rằng các nồng độ axit 0; 0,5; 1 %v thủy phân không triệt để, dịch thủy phân tại các nồng độ axit này có màu nhạt điều này thể hiện hàm lượng đường giải phóng thấp, hàm lượng bã trong dịch thủy phân sót lại lớn, khi sấy khô bã rong có dạng giống nguyên liệu trước thủy phân. Trong khi đó các nồng độ axit 2; 3; 4%v dịch thủy phân có màu vàng xẫm, bã nát và ở dạng huyền phù. Rong *C.linum* có hàm lượng cellulose 39% w [9] chỉ cần sử dụng nồng độ axit 3-4 %v đã thủy phân triệt để nguyên liệu, trong khi đó các nguyên liệu gỗ có hàm lượng cellulose 44-50% w được thủy phân hai lần, trong đó lần 1 gỗ thủy phân với axit 70-80%v và lần 2 giảm xuống 20-30%v [2]. Điều này cho thấy rong *C. linum* dễ dàng thủy phân trong điều kiện

nồng độ axit thấp. Vì vậy chúng tôi chọn nồng độ axit là 3% cho nghiên cứu tiếp theo.

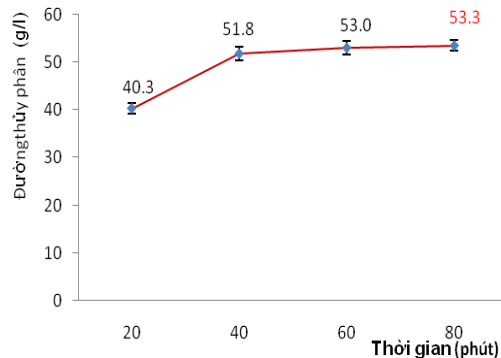
3.2.3 Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân

Chúng tôi tiến hành thủy phân rong với tỷ lệ 100g/l bằng axit ở nồng độ 3% trong thời gian 60 phút ở các nhiệt độ 90, 100, 120, 130 °C. Kết quả được thể hiện hình 2

Qua kết quả hình 2 cho thấy khi tăng nhiệt độ 90-120 °C lượng đường tạo thành tăng nhưng đến nhiệt độ 130°C lượng đường không tăng. Trong khảo sát ảnh hưởng nhiệt độ thủy phân chúng tôi thấy rằng nhiệt độ 90-100 °C quá trình thủy phân diễn ra chậm, kết quả thủy phân thấp, cần phải kéo dài thời gian thủy phân dẫn đến hao tổn năng lượng cung cấp nhiệt cho thủy phân, trong khi đó các nhiệt độ 110, 120, 130°C có kết quả thủy phân triệt để trong thời gian ngắn, điều này cho thấy nhiệt độ càng cao thủy phân càng tốt, nhưng lên đến 130 °C hàm lượng đường tạo ra cũng không nhiều, hơn nữa ở nhiệt độ này dễ sẽ xảy ra các phản ứng phụ gây hỏng dịch đường và tại nhiệt độ cao cần phải đầu tư thiết bị và sẽ khó khăn hơn trong sản xuất công nghiệp. Với nghiên cứu của tác giả Xin Wang kết quả rong *G. salicornia* được thủy phân trong axit H₂SO₄ nồng độ (0,5-5%v/v) tại 105-128°C [4]. Vì vậy chúng tôi chọn nhiệt độ thủy phân là 120°C cho nghiên cứu tiếp theo.

3.2.4 Động thái của quá trình thủy phân

Rong được thủy phân ở tỷ lệ rong trong dung dịch 100g/l, axit ở nồng độ 3% v/v, nhiệt độ 120°C và thời gian thay đổi 20, 40, 60, 80 phút. Kết quả được thể hiện hình 3.



Hình 3. Động thái của quá trình thủy phân

Kết quả hình 3 cho thấy khi tăng từ 20 lên 40 phút lượng đường tạo thành tăng nhiều nhưng tăng đến 60 phút lượng đường tăng ít hơn và ở 80 phút lượng đường không tăng nữa.. Như vậy thời gian thủy phân bằng axit ngắn hơn nhiều so với thủy phân bằng enzyme (3-5 ngày). Kết quả này cũng chỉ ra rong lục có thời gian thủy phân bằng axit ngắn hơn so với các nguyên liệu khác như gỗ, theo nghiên cứu của Lynd cần phải thủy phân gỗ làm hai lần mới triệt để [2]. Do

đó thời gian thủy phân rong lục có nhiều ưu thế vượt trội hơn so với các nguyên liệu giàu cellulose khác. Vì vậy chọn thời gian thủy phân 60 phút cho quá trình thủy phân rong lục bằng axit.

Qua khảo sát các điều kiện thủy phân rong Lục bằng axit cho thấy lượng đường tạo thành cao nhất ở các điều kiện nhiệt độ 120°C, nồng độ axit 3% tỷ lệ rong trong dung dịch 100g/l, thời gian thủy phân 60 phút.

3.3 Tối ưu hóa điều kiện thủy phân rong lục bằng axit để thu nhận dịch thủy phân có hàm lượng đường cao

Sau khi tiến hành khảo sát các điều kiện thủy phân, chúng tôi tối ưu hóa điều kiện thủy phân rong lục bằng axit theo phương pháp quy hoạch hóa thực nghiệm. Các yếu tố tối ưu và khoảng biến đổi của các yếu tố: nồng độ axit X1 [2-4 (%v/v)] có khoảng biến đổi: 1 ; Nhiệt độ X2 [110-130 °C] có khoảng biến đổi: 10; Thời gian X3 [40-60 (phút)] có có khoảng biến đổi: 20. Chỉ tiêu cần tối ưu: hàm lượng đường dịch thủy phân có y -> max

Ma trận thực nghiệm có số thí nghiệm. $N = 2^k = 2^3 = 8$ N: số thí nghiệm; 2 số mức thí nghiệm; 3 số yếu tố ảnh hưởng

Sau khi bố trí ma trận thực nghiệm chúng tôi chạy mô hình trên phần mềm excel và tìm được phương trình hồi quy như sau: Phương trình hồi quy: $Y = 44,8 + 4,3 \cdot X1 + 4,0 \cdot X2 + 2,8 \cdot X3$; có *F* (hệ số kiểm định) lý thuyết (= 0,0088 < 0,05 và R² (Hệ số tương quan bội) = 0.93 (0 ≤ R ≤ 1). Cho thấy mức độ

chặt chẽ của mối liên hệ tương quan bội. Vậy mô hình đã lập được là thích hợp.

Tối ưu hóa các điều kiện thủy phân theo phương pháp Box-wilson

Chọn bước nhảy của các biến số: từ phương trình hồi quy đã xây dựng thấy rằng hệ số của X3 có ảnh hưởng nhiều đến quá trình, chúng tôi chọn cho biến số bước nhảy thích hợp, khả thi trong thực nghiệm.

$$\Delta 1 = 0,3 \times \lambda 3 = 0,3 \times 1 = 0,3$$

Từ đây tính được bước nhảy của các biến còn lại theo công thức: $\Delta 3 = \frac{b3\lambda 3}{b1\lambda 1} \times \Delta 1$; $\Delta 2 = \frac{b2\lambda 2}{b1\lambda 1} \times \Delta 1$

Tổ chức thí nghiệm leo dốc: Từ kết quả các bước chuyển động ở bảng 4, chúng tôi tổ chức thí nghiệm leo dốc và điểm xuất phát từ tâm thực nghiệm. Kết quả được thể hiện ở bảng 5

Qua kết quả của bảng 5, chúng tôi thấy rằng ở thí nghiệm 2 hàm lượng đường đạt cực đại. Ở các mức thí nghiệm tiếp theo hàm lượng đường không tăng. Vì vậy điều kiện tối ưu khi thủy phân rong Lục bằng axit là : thời gian: 54 (phút), nhiệt độ: 123 (°C), nồng độ axit 3,3 (%v/v).

3.4 Xác định thành phần dịch thủy phân rong C.linum bằng axit

Chúng tôi tiến hành quá trình thủy phân rong lục bằng axit và bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao xác định được thành phần dịch sau thủy phân. Kết quả được thể hiện ở **bảng 6**.

Bảng 3. Ma trận thực nghiệm

Số thí nghiệm	Nồng độ axit: X1 (%v/v)	Nhiệt độ X2 (°C)	Thời gian X3 (phút)	Hàm lượng đường (g/l)			
				Lần 1 : Y1	Lần 2 : Y2	Lần 3 : Y3	Trung bình : Y
1	2	110	40	32,5	32,1	32,3	32,30
2	4	110	40	40,8	40,2	40,8	40,60
3	2	130	40	43,1	43,7	44	43,60
4	4	130	40	51,2	52,3	51,9	51,80
5	2	110	60	39,8	41,1	39,4	40,10
6	4	110	60	50,3	50,6	50,6	50,50
7	2	130	60	46,7	46,2	46	46,30
8	4	130	60	53,2	53,8	53,5	53,50

Bảng 4. Tính bước chuyển động (Δj) của các yếu tố

Các mức	Yếu tố ảnh hưởng		
	X1	X2	X3
Mức cơ sở	3	120	50
Khoảng biến thiên (λj)	1	10	10
Hệ số bj	4,2	3,9	2,7
bj λj	4,2	39	27
Bước chuyển động (Δj)	0,3	2,78	3,85
Làm tròn	0,3	3	4

Bảng 5. Tối ưu hóa điều kiện thủy phân rong theo Box-wilson

Số TN	X1 (%v/v)	X2 (°C)	X3 (phút)	HL Đường (g/l)
1	3	120	50	48,3
2	3.3	123	54	53,2
3	3.6	126	58	53,2
4	3.9	129	62	53,5
5	4.2	132	66	53,4

Bảng 6. Thành phần và hàm lượng của các loại đường trong dịch thủy phân rong *C. linum* bằng axit

Các loại đường dịch thủy phân	Hàm lượng (g/l)
Glucose	32,1
Galactose	7,8
Rhamnose	12,6
Tổng	52,5

Qua kết quả bảng 6 cho thấy thành phần dịch đường được thủy phân từ rong lục bằng axit là các đường monosacharid glucose, galactose, rhamnose. Trong đó glucose là đường được tạo thành lớn nhất, hàm lượng các loại đường thu nhận được từ quá trình thủy phân là glucose 32,1 g/l, galactose 7,8 g/l, rhamnose 12,6 g/l. Môi trường dịch thủy phân từ rong *C. linum* có thành phần đường có nhiều điểm khác biệt so với các loại rong biển khác và so với các nguyên liệu khác, theo các tác giả Sung Mok Lee và Adam thành phần dịch thủy phân từ rong nâu *Laminaria* có thành phần đường là laminarin và manitol [10,11], theo các tác giả Xin Wang và cs thành phần đường của dịch thủy phân rong đỏ là galactose và glucose [4]. Thành phần của dịch thủy phân của bã mía, rơm rạ, gỗ là glucose và xylose [2].

3.5 Quá trình lên men ethanol từ dịch thủy phân

Bảng 7. Hàm lượng các loại đường và ethanol biến đổi trong quá trình lên men từ dịch thủy phân axit

Các loại đường dịch thủy phân và ethanol	Hàm lượng (g/l)			
	Thời điểm lên men 0 giờ	Thời điểm lên men 24 giờ	Thời điểm lên men 48 giờ	Thời điểm lên men 76 giờ
Glucose	32,1	12,1	2,09	0,02
Galactose	7,8	7,55	5,8	0,8
Rhamnose	12,6	12,6	12,6	12,6
Ethanol	0	9	15,1	18,2

Theo kết quả của bảng 7 chỉ ra rằng, dịch thủy phân từ rong *C. linum* bằng axit có thành phần đường chính là glucose, galactose và rhamnose, trong quá trình lên men của Ethanol Red các đường glucose và galactose giảm theo thời gian, đường glucose hết trước, đường galactose hết sau. Hàm lượng ethanol tăng theo thời gian, sau 76 giờ lượng ethanol là 18,2 g/l. Trong khi đó trong thời gian lên men đường rhamnose không có sự biến đổi, vì vậy đây là lượng đường sót của quá trình lên men dịch thủy phân rong *C. linum*. Như vậy chế phẩm Ethanol Red không có khả năng sử dụng đường rhamnose, kết quả này tương tự với nghiên cứu của Seung H.Y. và cs khảo sát quá trình lên men các loại đường monosacharid với chủng *S. Cerevisiae* [12] và nghiên cứu của Mitsunori và cs cũng cho thấy dịch thủy phân rong *Ulva pertusa* có chứa rhamnose là đường mà nấm men *S. cerevisiae* không sử dụng được [8]. Kết quả

nghiên cứu của tác giả Nadja và cs cho biết lượng ethanol tạo ra khi lên men với chủng *S. cerevisiae* ATCC 96581 từ rong *C.linum* là 18,1 g/l [[9]] và tác giả Mitsunori và cs lên men với chủng *S. cerevisiae* IAM 4178 từ rong *Ulva pertusa* là 18,5 g/l [8].

Bảng 8. Hiệu suất lên men ethanol của quá trình lên men từ dịch thủy phân rong lục bằng axit

Dịch thủy phân	Đ _{TP} (g/l)	Đ _{LM} (g/l)	EtOH (g/l)	H _{LM} (%) theo Đ _{TP}	H _{LM} (%) theo Đ _{LM}	H _{LM} (g EtOH/kg rong khô)
Axit	53	39,9	18,2	67	89,3	182

Chú thích: Đ_{TP}: Đường của dịch thủy phân, Đ_{LM}: Đường lên men; H_{LM}: Hiệu suất lên men

Theo kết quả bảng 8, khi thủy phân rong *C. linum*, nếu tính theo hàm lượng đường của dịch thủy phân (Đ_{TP}): hiệu suất lên men từ dịch thủy phân bằng axit là 67%, nếu tính theo hàm lượng đường lên men (Đ_{LM}): hiệu suất lên men từ dịch thủy phân bằng axit 89,3% thực tế thu được 180g ethanol/1kg rong *Ch. linum*.

4. Kết luận

Quá trình thủy phân rong Lục bằng axit với điều kiện tối ưu là: thời gian: 54 (phút), nhiệt độ: 123 °C, nồng độ axit 3,3 (%v/v) tạo ra dịch thủy phân có hàm lượng đường 53,2 g/l và thành phần monosaccharid là glucose 32,1 g/l, galactose 7,8 g/l, rhamnose 12,6 g/l. Dịch thủy phân thích hợp cho nấm men phát triển, quá trình lên men tạo được 18,2 g ethanol/l.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Na Wei, Josh Quarterman, Yong-Su Jin (2013). Marine macroalgae: an untapped resource for producing fuels and chemicals. Trends in Biotechnology 31 (2), 70-77
- [2]. Lynd, L.R. (1996). Overview and Evaluation of Fuel Ethanol from Cellulosic Biomass: Technology, Economics, the Environment, and Policy. Annual Review of Energy and the Environment Journal 21, 403-65.
- [3]. Kalpana M., Yasmin K., Mahesh R., Pratyush M., Harshad B., Karuppanan E., Pushpit G. (2012). Kappaphycus alvarezii as a source of bioethanol. Bioresource Technology 103, 180-185
- [4]. Xin Wang, Xianhua Liu, Guangyi Wang (2011). Two-stage Hydrolysis of Invasive Algal Feedstock for Ethanol Fermentation. Journal of Integrative Plant Biology 53(3), 246-252.
- [5]. Hộ P. H. (1969). Rong biển Việt Nam. Marine algae of South Vietnam. pp. [i]-vi, 1-558. Saigon.
- [6]. AOAC (1990). Official Methods of Analysis (16thed.) Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.

- [7]. Dubois M., Gilies K., Hammilton J.K., Robers P.A. and Smith F.A., (1951). A colorimetric method for the determination of sugars related substances. *Analysis Chemical* 28, 350 – 356
- [8]. Mitsunori Y., Kanami N., Osamu A., Kiyohiko N., (2013). Production of high concentrations of bioethanol from seaweeds that contain easily hydrolyzable polysaccharides. *Process Biochemistry* 46, 2111–2116.
- [9]. Nadja S.J, Anders T., Frank L., Sune T. T., Christian R., Hans L., Anne B. B. (2013). Pretreatment of the macroalgae *Chaetomorpha linum* for the production of bioethanol – Comparison of five pretreatment technologies. *Bioresource Technology* 140, 36–42.
- [10]. Lee S.M., Jae-Hwa Lee (2011). The isolation and characterization of simultaneous saccharification and fermentation microorganisms for *Laminaria japonica* utilization. *Bioresource Technology* 102, 5962–5967.
- [11]. Adams, J.M.et al. (2009). Fermentation study on *Saccharina latissima* for bioethanol production considering variable pre-treatments. *Journal of Applied Phycology* 21, 569–574.
- [12]. Seung H.Y., Rupendra M., John F. R. (2003). Specificity of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in removing carbohydrates by fermentation. *Carbohydrate Research* 338 (10), 1127–1132.