

## THỬ NGHIỆM SẢN XUẤT ETHANOL TỪ DỊCH THỦY PHÂN VỎ TRÁI CA CAO SỬ DỤNG NẤM MEN *Saccharomyces cerevisiae*

• Phạm Thiều Quân<sup>(\*)</sup>, ThS. Huỳnh Xuân Phong<sup>(\*\*)</sup>, Nguyễn Ngọc Thạnh<sup>(\*)</sup>,  
PGS, TS. Ngô Thị Phương Dung<sup>(\*\*)</sup>

### Tóm tắt

Vỏ trái cao cao (trên 40% cellulose) là một trong những nguồn phế phẩm trong sản xuất nông nghiệp và có thể được tận dụng trong sản xuất ethanol sinh học. Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng lên men ethanol từ nguồn dịch thủy phân và xác định các điều kiện lên men với nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Kết quả cho thấy quá trình lên men bằng chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* VVD3 thu được 5,14% (v/v) ethanol và hiệu suất tiêu thụ đường đến 97,66% với các điều kiện được xác định: mật số giống chủng  $10^6$  tế bào/ml, hàm lượng đường khử 8,62% (w/v) và pH 5,5 ở nhiệt độ 30-32°C trong 7 ngày lên men. Kết quả đạt được cho thấy tiềm năng ứng dụng trong sản xuất ethanol sinh học từ nguồn phế phẩm nông nghiệp là vỏ trái cao cao.

Từ khóa: cellulose, dịch thủy phân vỏ cao cao, lên men ethanol, *Saccharomyces cerevisiae*.

### 1. Đặt vấn đề

Bioethanol hay nhiên liệu sinh học là một loại nhiên liệu khá mới ngay cả với những nước tiên tiến đi đầu trong công nghệ sản xuất nhiên liệu sinh học mà tiêu biểu là Brazil và Hoa Kỳ. Sản xuất bioethanol đòi hỏi khắt khe về yêu cầu kỹ thuật cũng như nguồn nguyên liệu đầu vào. Ở Việt Nam, để đảm bảo được giá thành sản xuất ổn định và có tính cạnh tranh, các nhà sản xuất xăng sinh học đang tìm kiếm và sử dụng nguồn nguyên liệu đầu vào rẻ hơn và phong phú hơn so với nguồn nguyên liệu đang được sử dụng hiện nay là khoai mì và các loại nông sản khác chứa nhiều carbohydrate. Sử dụng nguyên liệu giàu cellulose là một giải pháp đang được hướng đến để tránh việc cạnh tranh với nguồn lương thực của con người [2].

Bioethanol hiện nay có thể được sản xuất từ nguồn nguyên liệu chứa đường có thể lên men trực tiếp như mía, củ cải đường, bắp... hoặc từ các nguồn nguyên liệu là sinh khối từ thực vật như rom rạ, bã mía, bột gỗ... Các nguồn nguyên liệu chứa cellulose sẽ là những nguồn nguyên liệu có thể tái tạo và rất đa dạng trong sản xuất nhiên liệu sinh học, hóa chất và polymer [9]. Tuy nhiên, việc định hướng nguyên liệu là cellulose gặp khó khăn về vấn đề kinh tế và kỹ thuật. Ngoài các nguồn nguyên liệu phổ biến hiện nay là rom rạ hay bã mía, vỏ

trái cao cao (chứa hơn 40% cellulose) cũng là một nguồn nguyên liệu được quan tâm [8]. Ngoài ra, với khuynh hướng phát triển cây cao cao như hiện nay ở Việt Nam thì lượng vỏ trái thải ra sẽ rất lớn, việc ứng dụng trong lên men vỏ trái cao cao không chỉ tận dụng triệt để hơn loại phế phẩm này mà còn góp phần giải quyết để giảm lượng thải ra môi trường.

Với những lý do nêu trên, hướng nghiên cứu này được thực hiện với mong muốn sản xuất thành công ethanol từ nguồn phế phẩm vỏ trái cao cao. Mục tiêu cụ thể của nghiên cứu là xác định các điều kiện lên men ethanol từ dịch thủy phân vỏ trái cao cao với chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*.

### 2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

#### 2.1. Nguyên vật liệu

Dịch vỏ trái cao cao được chuẩn bị bằng phương pháp thủy phân với dung dịch acid HCl nồng độ 0,75 M ở 90°C trong thời gian 8 giờ và dịch thủy phân thu được có chứa 8,62% (w/v) đường khử [7]. Bốn chủng nấm men *S. cerevisiae* (YB3K, VVD3, BKD4 và 2.1) được lưu trữ tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Hóa chất và thuốc thử: acid citric 10%, NaOH 2%, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub>, dung dịch DNS (NaOH tinh khiết, acid dinitrosalicylic, kali natri tartrate) và dung dịch dichromate (7,5 g K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> trong 250 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 M). Dung dịch DNS và dichromate được trữ trong chai nâu, giữ kín bằng paraffin và trữ ở nhiệt độ 4-5°C.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ảnh hưởng của chủng nấm men và mật số giống chủng đến quá trình lên men

<sup>(\*)</sup> Cử nhân, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

<sup>(\*\*)</sup> Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Mục đích nhằm xác định chủng nấm men và mật số giống chủng thích hợp cho quá trình lên men dịch thủy phân vỏ trái ca cao. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại, với 4 chủng nấm men *S. cerevisiae* (YB3K, VVD3, BKĐ4, 2.1) và 4 nồng độ giống chủng ban đầu ( $10^2$ ,  $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  tế bào/ml).

Nấm men được nuôi tăng sinh trong môi trường YPD (1% yeast extract, 2% peptone, 2% glucose) đến khi mật số tế bào nấm men đạt  $10^8$  tế bào/ml. Sử dụng 99 ml dung dịch thủy phân vỏ ca cao (hàm lượng đường khử 8,62% (w/v)) trong bình tam giác 250 ml đã được thanh trùng bằng  $\text{NaHSO}_3$  (140 mg/l) trong 30 phút. Chủng 1 ml dịch nấm men đã nuôi cấy và xác định mật số tế bào nấm men bằng phương pháp đếm trực tiếp trên buồng đếm hồng cầu. Quá trình lên men được thực hiện trong điều kiện kỵ khí (đậy bằng waterlock) ở 30°C trong 5 ngày. Kết thúc lên men, xác định hàm lượng ethanol và lượng đường được tiêu thụ để tính toán hiệu suất sử dụng đường trong quá trình lên men.

#### 2.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ đường và pH đến quá trình lên men

Thí nghiệm được tiến hành để xác định ảnh hưởng của nồng độ đường và pH ban đầu trong dịch lên men đến quá trình lên men ethanol. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, trong đó nồng độ đường được bố trí với 4 mức độ (5,0; 6,0; 7,0; 8,62% w/v) và 4 mức pH (4,5; 5,0; 5,5; 6,0). Các bước thí nghiệm được thực hiện tương tự như trên với chủng nấm men và mật số đã được xác định.

#### 2.2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến quá trình lên men

Mục tiêu nhằm xác định nhiệt độ và thời gian lên men thích hợp. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, nhiệt độ lên men được thực hiện ở 25°C, 30-32°C (nhiệt độ môi trường) và 37°C trong thời gian 3, 5, 7 và 9 ngày. Các bước thí nghiệm được tiến hành tương tự với các thông số đã được xác định từ các thí nghiệm trên.

#### 2.2.4. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Hàm lượng đường khử được phân tích thông qua phản ứng với acid dinitrosalicylic (phương pháp DNS) [1]. Hàm lượng ethanol được xác định bằng phản ứng với thuốc thử dichromate [10].

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA). Kết quả phân tích phương sai và kiểm định LSD sử dụng phần mềm Statgraphics Centurion XV (Manugistics Inc., USA).

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Kết quả ảnh hưởng của chủng nấm men và mật số giống chủng

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy hiệu suất tiêu thụ đường của cả 4 loại nấm men đều tăng khi mật số giống chủng tăng, nhìn chung hiệu suất lên men là khá cao, khoảng 92,68-95,53%. Khi mật số ban đầu là  $10^2$  tế bào/ml, hàm lượng ethanol sinh ra từ 4 chủng *S. cerevisiae* đều rất thấp (1,51-1,65% v/v) và không khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Trường hợp này được giải thích rằng khi mật số giống chủng quá thấp, nấm men cần nhiều thời gian cho phát triển sinh khối đến mật số yêu cầu cho quá trình lên men cũng như sẽ làm tổn thất nguồn nguyên liệu cho quá trình này nên hiệu quả lên men kém [3].

**Bảng 1. Ảnh hưởng của chủng nấm men và mật số giống chủng đến hàm lượng ethanol và hiệu suất tiêu thụ đường**

STT	Nhân tố		Chỉ tiêu theo dõi	
	Chủng nấm men	Mật số (tế bào/ml)	Ethanol ở 20°C (% v/v)	Hiệu suất (%)
1	YB3K	$10^2$	1,55 <sup>j</sup>	92,93 <sup>jk</sup>
2	YB3K	$10^4$	2,22 <sup>h</sup>	94,02 <sup>fgh</sup>
3	YB3K	$10^6$	3,86 <sup>c</sup>	94,32 <sup>efg</sup>
4	YB3K	$10^7$	3,39 <sup>d</sup>	94,59 <sup>de</sup>
5	VVD3	$10^2$	1,65 <sup>j</sup>	94,34 <sup>efg</sup>
6	VVD3	$10^4$	2,73 <sup>f</sup>	94,79 <sup>cde</sup>
7	VVD3	$10^6$	4,70 <sup>a</sup>	95,29 <sup>abc</sup>
8	VVD3	$10^7$	4,03 <sup>c</sup>	95,53 <sup>a</sup>
9	2.1	$10^2$	1,51 <sup>j</sup>	93,56 <sup>hi</sup>
10	2.1	$10^4$	2,49 <sup>g</sup>	94,55 <sup>def</sup>
11	2.1	$10^6$	4,27 <sup>b</sup>	94,95 <sup>bcd</sup>
12	2.1	$10^7$	3,93 <sup>c</sup>	95,35 <sup>ab</sup>
13	BKĐ4	$10^2$	1,64 <sup>j</sup>	92,68 <sup>k</sup>
14	BKĐ4	$10^4$	1,92 <sup>i</sup>	93,24 <sup>ij</sup>
15	BKĐ4	$10^6$	3,18 <sup>e</sup>	93,98 <sup>gh</sup>
16	BKĐ4	$10^7$	2,86 <sup>f</sup>	94,55 <sup>def</sup>

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có cùng chữ cái thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Khi mật số tế bào nấm men tăng đến  $10^4$  và

$10^6$  tế bào/ml, khả năng lên men tạo ethanol của 4 chủng *S. cerevisiae* có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%. Trong khoảng mật số này, khả năng sinh ethanol của chủng *S. cerevisiae* VVD3 là 2,73-4,70% (v/v), cao hơn 3 chủng còn lại (1,92-4,27% v/v) ở tất cả các nồng độ chủng giống tương ứng.

Hàm lượng ethanol cao nhất đạt 4,70% (v/v) với chủng *S. cerevisiae* VVD3 và mật số  $10^6$  tế bào/ml, hiệu suất tiêu thụ đường khử đạt 95,29%. Tuy nhiên, sự giảm nồng độ ethanol sinh ra khi ở mật số giống chủng là  $10^7$  tế bào/ml đã được ghi nhận ở cả 4 chủng nấm men. Nguyên nhân là do một phần đường đã được sử dụng để gia tăng sinh khối ở giai đoạn đầu thay vì sản sinh ethanol, mặc dù đã ở mật số nấm men cao tuy nhiên chúng vẫn sử dụng một phần cho quá trình phát triển và phân chia tế bào.

Tóm lại, trong 4 chủng *S. cerevisiae* thử nghiệm với dịch thủy phân ca cao, chủng nấm men *S. cerevisiae* VVD3 với mật số giống chủng là  $10^6$  tế bào/ml được lựa chọn, hàm lượng ethanol đạt 4,70% (v/v) và hiệu suất tiêu thụ đường là 95,29%.

### 3.2. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ đường và pH ban đầu

Kết quả thống kê cho thấy ảnh hưởng của nồng độ đường và pH ban đầu đến hàm lượng ethanol sinh ra có khác biệt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% (Bảng 2). Nhìn chung, khi hàm lượng đường khử ban đầu tăng thì lượng ethanol được sinh ra cũng tăng theo. Trong quá trình lên men ethanol, glucose đóng một vai trò rất quan trọng, là loại đường lý tưởng cung cấp nguồn carbon cho quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm men [3]. Giá trị pH trong dịch lên men có ảnh hưởng đến hoạt tính của nấm men do làm thay đổi điện tích các chất của vỏ tế bào, làm tăng hoặc giảm mức độ thẩm thấu các chất dinh dưỡng và chiều hướng lên men. Kết quả cho thấy pH của dịch lên men giảm khi kết thúc lên men trong khoảng 4,22-5,68, tương đối với khoảng pH thích hợp cho quá trình lên men, pH 4,5-5,5 [6]. Sự thay đổi pH sau lên men là do nấm men đã sử dụng đường trong môi trường, đồng thời sản sinh ra  $\text{CO}_2$  và một số acid hữu cơ [3].

**Bảng 2. Ảnh hưởng tương tác giữa lượng đường khử và pH ban đầu đến quá trình lên men ethanol**

STT	Nhân tố		Chỉ tiêu theo dõi		
	Đường khử (% w/v)	pH	Ethanol (% v/v)	pH	Hiệu suất (%)
1	5,0	4,5	1,62 <sup>m</sup>	4,25 <sup>l</sup>	92,77 <sup>g</sup>
2	5,0	5,0	2,29 <sup>h</sup>	4,57 <sup>i</sup>	93,17 <sup>fg</sup>
3	5,0	5,5	2,37 <sup>h</sup>	5,22 <sup>f</sup>	93,43 <sup>efg</sup>
4	5,0	6,0	0,76 <sup>n</sup>	5,56 <sup>e</sup>	91,58 <sup>h</sup>
5	6,0	4,5	2,04 <sup>j</sup>	4,22 <sup>m</sup>	93,46 <sup>efg</sup>
6	6,0	5,0	3,02 <sup>f</sup>	4,57 <sup>i</sup>	93,66 <sup>efg</sup>
7	6,0	5,5	3,43 <sup>e</sup>	5,26 <sup>e</sup>	94,31 <sup>cde</sup>
8	6,0	6,0	1,75 <sup>l</sup>	5,60 <sup>b</sup>	93,81 <sup>ef</sup>
9	7,0	4,5	2,58 <sup>g</sup>	4,25 <sup>l</sup>	94,04 <sup>def</sup>
10	7,0	5,0	3,63 <sup>d</sup>	4,67 <sup>h</sup>	94,25 <sup>cde</sup>
11	7,0	5,5	4,04 <sup>c</sup>	5,26 <sup>e</sup>	95,88 <sup>ab</sup>
12	7,0	6,0	1,89 <sup>k</sup>	5,68 <sup>a</sup>	95,01 <sup>bed</sup>
13	8,62	4,5	2,99 <sup>f</sup>	4,32 <sup>k</sup>	95,18 <sup>bc</sup>
14	8,62	5,0	4,35 <sup>b</sup>	4,34 <sup>j</sup>	95,57 <sup>b</sup>
15	8,62	5,5	4,72 <sup>a</sup>	4,70 <sup>g</sup>	96,75 <sup>a</sup>
16	8,62	6,0	2,19 <sup>i</sup>	5,34 <sup>d</sup>	95,13 <sup>bc</sup>

Ghi chú: Xem Bảng 1.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy khi nồng độ đường khử ban đầu thấp (5,0-6,0% w/v) và pH 6,0 thì khả năng sinh trưởng và phát triển của nấm men rất hạn chế, dẫn tới việc sản sinh ít ethanol hơn (chỉ đạt 0,76-1,75% v/v) so với các nghiệm thức có nồng độ đường 7,0% (w/v) và 8,62% (w/v) và pH trong khoảng 4,5-5,5 (2,58-4,72% v/v). Lượng ethanol sinh ra thấp cũng được ghi nhận đối với các nghiệm thức có pH 4,5; mặc dù một vài nghiệm thức có nồng độ đường ban đầu 7,0-8,62% (w/v) nhưng do pH giảm xuống dưới mức thích hợp cho nấm men phát triển (<4,5) nên hiệu quả lên men ethanol vẫn không cao (2,58-2,99% v/v) và hiệu suất tiêu thụ đường trong khoảng 94,04-95,18%. Các nghiệm thức cho lượng ethanol sản sinh cao phải đảm bảo 2 yếu tố bao gồm nồng độ đường ban đầu 7,0-8,62% (w/v) và pH 5,0-5,5. Nghiệm thức với nồng độ đường là 8,62% (w/v) (dịch thủy phân không pha loãng) và pH 5,5 thu được lượng ethanol cao nhất (4,72% v/v), hiệu suất đạt 96,75% và có khác biệt ý nghĩa với độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức còn lại.

### 3.3. Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men

Một trong những nhân tố quan trọng có ảnh

hưởng đến hoạt tính của nấm men là nhiệt độ trong quá trình lên men. Kết quả thí nghiệm cho thấy chủng *S. cerevisiae* VVD3 có khả năng lên men ethanol tốt ở nhiệt độ 30-32°C, lượng ethanol sinh ra cao hơn và có khác biệt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức tương ứng ở cùng nhiệt độ (hàm lượng ethanol cao nhất lần lượt là 4,40%, 5,14% và 3,71% (v/v) ở 25°C, 30-32°C và 37°C (Bảng 3).

**Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến quá trình lên men**

STT	Nhân tố		Chỉ tiêu theo dõi	
	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (ngày)	Ethanol ở 20°C (% v/v)	Hiệu suất (%)
1	25	3	1,77 <sup>h</sup>	87,36 <sup>j</sup>
2	25	5	3,78 <sup>d</sup>	94,11 <sup>f</sup>
3	25	7	4,40 <sup>c</sup>	96,42 <sup>e</sup>
4	25	9	4,31 <sup>c</sup>	97,13 <sup>c</sup>
5	30-32	3	2,05 <sup>g</sup>	87,69 <sup>i</sup>
6	30-32	5	4,67 <sup>b</sup>	96,88 <sup>d</sup>
7	30-32	7	5,14 <sup>a</sup>	97,66 <sup>b</sup>
8	30-32	9	5,04 <sup>a</sup>	98,36 <sup>a</sup>
9	37	3	1,72 <sup>h</sup>	82,01 <sup>k</sup>
10	37	5	2,81 <sup>f</sup>	90,27 <sup>h</sup>
11	37	7	3,71 <sup>de</sup>	92,80 <sup>g</sup>
12	37	9	3,63 <sup>e</sup>	96,79 <sup>d</sup>

Ghi chú: Xem Bảng 1.

Ở nhiệt độ 37°C, khả năng lên men ethanol có khuynh hướng giảm, cho thấy chủng *S. cerevisiae* VVD3 bị ảnh hưởng nhiều bởi nhiệt độ lên men. Điều này được giải thích là do nhiệt độ có ảnh hưởng đến khả năng hoạt động của các loại enzyme xúc tác quá trình chuyển hóa và trao đổi chất trong tế bào nấm men [3]. Ngoài ra, quá trình lên men ở nhiệt độ cao cũng tạo ra nhiều sản phẩm phụ làm tổn thất lượng ethanol sinh ra [4]. Như vậy, nhiệt độ lên men ở 30-32°C cho thấy thích hợp hơn trong ba mức nhiệt độ khảo sát và nhiệt độ này được bố trí theo điều kiện nhiệt độ môi trường tự nhiên nên sẽ giảm được chi phí trong sản xuất thực tiễn.

Để có thể thấy được mức độ ảnh hưởng của

thời gian đến lượng ethanol sinh ra một cách cụ thể, cần lưu ý rằng hệ lên men trong thí nghiệm này là hệ kín và môi trường lên men ở dạng lỏng; điều đó có nghĩa là có sự tồn tại của pha sinh trưởng và pha sản xuất theo thứ tự trước sau tương ứng. Theo Lương Đức Phẩm [3], trong pha sinh trưởng, lượng dinh dưỡng bị tiêu hao nhằm phục vụ cho sinh sản và phát triển tăng sinh khối; lúc này, ethanol sinh ra chưa nhiều. Trong pha sản xuất diễn ra sau đó, nguồn carbon được chuyển hướng sang phục vụ quá trình sản sinh ethanol. Cụ thể, ở nhiệt độ 30-32°C, sau 5 ngày lên men, lượng ethanol thu được là 4,67% (v/v) và đến ngày lên men thứ 7 thì hàm lượng ethanol tăng đến 5,14% (v/v) và đây cũng là giá trị cao nhất đạt được. Sau 9 ngày lên men, lượng ethanol có chiều hướng giảm, từ 5,14% xuống 5,04% (v/v) nhưng không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê, mặc dù đường vẫn tiếp tục được tiêu thụ (từ 97,66% lên 98,36%). Điều này được giải thích là do trong quá trình lên men, khi nguồn đường giảm, bên cạnh việc tiếp tục sử dụng đường có sẵn trong môi trường lên men, nấm men có khả năng sử dụng sản phẩm ethanol cũng như acetate sinh ra như một nguồn carbon trong chu trình sinh tổng hợp glucose của tế bào đồng thời với sự gia tăng quá trình hô hấp tế bào [5]. Ngoài ra, thời gian lên men 7 ngày cũng ngắn hơn nên sẽ giảm được chi phí. Từ kết quả tổng hợp ở Bảng 3, nghiệm thức với nhiệt độ lên men ở 30°C trong thời gian 7 ngày là phù hợp nhất so với các nghiệm thức còn lại.

#### 4. Kết luận

Các điều kiện thích hợp cho quá trình lên men ethanol dịch thủy phân vỏ trái ca cao sử dụng chủng nấm men *Saccharomyce cerevisiae* VVD3 được xác định với mật số giống chủng là 10<sup>6</sup> tế bào/ml, lượng đường khử 8,62% (w/v) và pH ban đầu 5,5 khi lên men ở nhiệt độ 30-32°C trong 7 ngày. Nồng độ ethanol đạt 5,14% (v/v) và hiệu suất tiêu thụ đường khử là 97,66%. Kết quả cho thấy triển vọng có thể sử dụng vỏ ca cao là một nguồn nguyên liệu trong sản xuất ethanol sinh học./.

#### Tài liệu tham khảo

- [1]. C. Bennett (1971), "Spectrophotometric acid dichromate method for the determination of ethyl alcohol", *The American Journal of Medical Technology*, 37 (6), p. 217.
- [2]. D. A. Costa, C. J. de Souza, P. S. Costa, M. Q. Rodrigues, A. F. dos Santos, M. R. Lopes, H.

- L. Genier, W. B. Silveira, and L. G. Fietto (2014), “Physiological characterization of thermotolerant yeast for cellulosic ethanol production”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, (98), p. 3829-3840.
- [3]. Lương Đức Phẩm (2009), *Nấm men công nghiệp*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [4]. Ngô Thị Phương Dung, Lý Huỳnh Liên Hương và Huỳnh Xuân Phong (2011), “Phân lập, tuyển chọn nấm men và xác định điều kiện ảnh hưởng quy trình lên men rượu vang dưa hấu”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, (số 18b), tr. 137-145.
- [5]. I. Orlandi, R. Ronzulli, N. Casatta, and M. Vai (2013), “Ethanol and acetate acting as carbon/energy sources negatively affect yeast chronological aging”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013 (ID 802870), p. 1-10.
- [6]. M. E. Pampulha and M. C. Loureiro-Dias (1989), “Combined effect of acetic acid, pH and ethanol on intracellular pH of fermenting yeast”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 31 (5), p. 547-550.
- [7]. Phạm Thiệu Quân, Lê Thị Vân An, Phan Lê Bảo Ngọc, Trần Hải My, Nguyễn Ngọc Thanh và Huỳnh Xuân Phong (2013), *Nghiên cứu khả năng thủy phân và điều kiện lên men sản xuất ethanol sinh học từ vỏ trái ca cao*, Đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở, Trường Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
- [8]. O. A. Samah, S. Sias, Y. G. Hua, and N. N. Hussin (2011), “Production of ethanol from cocoa pod hydrolysate”, *ITB Journal of Science*, 43 (2), p. 87-94.
- [9]. R. E. H. Sims, W. Mabee, J. N. Saddler, and M. Taylor (2010), “An overview of second generation biofuel technologies”, *Bioresource Technology*, (101), p. 1570-1580.
- [10]. K. Tasun, P. Chose, and K. Ghen (1970), “Sugar determination of DNS method”, *Biotechnology and Bioengineering*, (12), p. 921.

## ETHANOL PRODUCTION FROM COCOA POD HYDROLYSATE BY *Saccharomyces cerevisiae*

### Summary

Cocoa pod (with more than 40% cellulose) is one of agro-waste sources in agro-production and can be used for bioethanol production. The purpose of this study is to investigate the ability of ethanol production from cocoa pod hydrolysate and identify fermentation conditions by means of *Saccharomyces cerevisiae*. The research results show that the *Saccharomyces cerevisiae* fermentation VVD3 obtained 5.14% (v/v) ethanol and the sugar consumption efficiency was 97.66%, in the identified conditions as follows: the initial density at  $10^6$  cells/ml, 8.62% (w/v) reducing sugar and pH 5.5 at 30-32°C during 7 days of fermentation. This research reveals the potential of bioethanol production by using agro-waste sources of cocoa pod.

Keywords: cellulose, cocoa pod hydrolysate, ethanol fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*.  
Ngày nhận bài: 02/10/2015; Ngày nhận lại: 12/11/2015; Ngày duyệt đăng: 05/02/2016.