

Nghiên cứu quá trình lên men Axit Xitric trên môi trường rắn sử dụng bã mía và chủng nấm mốc *Aspergillus Niger*

- **Trương Thị Minh Hạnh**

Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng

- **Nguyễn Anh Tuấn**

Đài khí tượng Thủy văn khu vực Trung Trung bộ

(Bài nhận ngày 23 tháng 4 năm 2014, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 26 tháng 8 năm 2014)

TÓM TẮT:

Axit xitric là một axit hữu cơ có nhiều ứng dụng trong công nghiệp (CN) thực phẩm và nhiều lĩnh vực CN khác. Trong CN dược phẩm, axit xitric dùng sản xuất các muối xitrat kim loại khác nhau để các khoáng chất này ở dạng có thể sử dụng được về mặt sinh học trong nhiều loại thuốc. Ví dụ như axit xitric dùng sản xuất xitrat sắt cung cấp sắt cho người để bảo vệ máu, hoặc dùng sản xuất các loại thuốc vi, thuốc bôi và các loại mỹ phẩm khác. Bài báo này trình bày ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình lên men axit xitric trên môi trường rắn, sử dụng bã mía và chủng nấm mốc *Aspergillus niger*. Kết quả xác định hàm lượng axit xitric tạo thành trong dịch lên men

bằng HPLC cho thấy, các yếu tố độ ẩm môi trường, tỉ lệ chủng giống vi sinh vật và thời gian ảnh hưởng lớn đến quá trình lên men. Khảo sát sự thay đổi ẩm của môi trường rắn từ bã mía cho thấy, trong thời gian lên men, mỗi ngày cần phải bổ sung một lượng nước như nhau để duy trì lượng ẩm ban đầu. Nhờ đó có thể đề xuất một qui trình lên men axit xitric sử dụng phế liệu bã mía với các điều kiện như: độ ẩm môi trường 80%, nhiệt độ 30°C, thời gian 9 ngày, tỉ lệ giống *A. niger* 10% (v/w). Lượng axit xitric có thể thu được ở các điều kiện trên là 12,02g/100g bã mía.

Từ khóa: axit hữu cơ; quá trình lên men axit xitric; bã mía, môi trường rắn; tỉ lệ giống *Aspergillus niger*.

1. MỞ ĐẦU

Sản xuất axit xitric bằng phương pháp lên men đạt hiệu quả kinh tế hơn so với tách chiết từ tự nhiên. Do vậy có khoảng 90% tổng lượng axit xitric được sản xuất bằng phương pháp này, chỉ có 10% là trích ly từ chanh, cam, quýt. Trong khi đó nguồn nguyên liệu sản xuất axit xitric rất phong phú, đặc biệt nguồn nguyên liệu

rẻ tiền từ phụ phẩm nông nghiệp, công nghiệp. Nghiên cứu sử dụng nguồn nguyên liệu này sẽ giải quyết được vấn đề ô nhiễm môi trường, tăng hiệu quả kinh tế, trong đó một nguồn phế liệu không kém phần quan trọng là bã mía. Với một nước nằm trong vùng nhiệt đới, khí hậu Việt Nam rất thuận lợi cho ngành mía đường phát triển. Theo Hiệp hội Mía đường

Việt Nam, ước tính niên vụ mía đường 2011/2012 cả nước sẽ sản xuất được khoảng 1,4 triệu tấn đường, tăng khoảng 250.000 tấn so với niên vụ trước [1]. Phát triển sản xuất mía đường là một định hướng đúng đắn. Tuy nhiên, các nhà máy mía đường cũng thải ra một lượng không nhỏ bã mía. Theo tính toán của các nhà khoa học, việc chế biến 10 triệu tấn mía để làm đường sẽ sinh ra một lượng phế thải khổng lồ (2,5 triệu tấn bã mía). Trước đây 80% lượng bã mía được dùng để đốt lò hơi trong các nhà máy sản xuất đường, sinh ra khoảng 50 ngàn tấn tro [2]. Tuy là phế thải nhưng trong tro và bã bùn lại có hợp chất hữu cơ. Các chất này sau sẽ là nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường và ô nhiễm nguồn nước rất nặng. Với thành phần chính là xenluloza (trên 35%) và hemixenluloza (20–25)%, lignin khoảng 22% [3], bã mía là nguồn cung cấp xenluloza cao, giúp tăng độ xốp cho môi trường rắn thuận lợi cho quá trình lên men axit xitric. Trong điều kiện hầu hết lượng axit xitric sử dụng tại Việt Nam đều phải nhập ngoại với giá thành cao, việc nghiên cứu sản xuất axit hữu cơ còn góp phần giảm lượng ngoại nhập, chủ động sản xuất, tiết kiệm ngoại tệ. Vì vậy, đề tài “Nghiên cứu quá trình lên men axit xitric trên môi trường rắn sử dụng bã mía và chủng nấm mốc *Aspergillus niger*” có các mục tiêu và nội dung chính như sau:

- Khảo sát một số thành phần hóa học của bã mía thu nhận ở nhà máy đường Quảng Ngãi

- Khảo sát sự thay đổi ẩm của môi trường trong quá trình lên men axit xitric.

- Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng axit xitric trong dịch lên men, từ đó xác định một số thông số kỹ thuật công nghệ cho quá trình lên men xitric.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Bã mía nhận tại nhà máy đường Quảng Ngãi được sấy đến độ ẩm 5% trước khi xử lý hóa chất.

- Chủng vi sinh vật được sử dụng là chủng nấm mốc *A. niger* được nuôi cấy và giữ tại phòng thí nghiệm Khoa Hóa, trường Đại Học Bách Khoa, ĐH Đà Nẵng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định độ pH: Sử dụng pH kế

Chuẩn bị mẫu bã mía như sau: Cân 5g bã mía đã sấy khô, ngâm mẫu trong 25 ml dung dịch KCl 1N trên máy lắc trong khoảng thời gian 10 - 12 giờ. Lọc lấy dịch trong và dùng máy đo pH của dịch sau lọc [TCVN 5979 : 2007].

2.2.2. Xác định độ ẩm

Xác định độ ẩm của bã mía và độ ẩm của môi trường lên men rắn: Dùng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi [4].

Cách tính lượng nước bổ sung để độ ẩm môi trường nuôi cấy không thay đổi trong quá trình lên men: Trong quá trình lên men, do hiện tượng thoát ẩm và do vi sinh vật sử dụng nước cho các phản ứng nên khối lượng và độ ẩm môi trường sau khi lên men bị giảm. Để độ ẩm môi trường nuôi cấy không thay đổi thì cần bổ sung một lượng nước bằng lượng nước mất đi

- m - khối lượng nước cần bổ sung để độ ẩm môi trường không đổi (g)

- m_1 - khối lượng môi trường trước khi lên men (g)

- m_2 - khối lượng môi trường sau khi lên men (g)

Vậy khối lượng nước cần bổ sung để độ ẩm không đổi là: $m = m_1 - m_2$ (gam)

2.2.3. Xác định hàm lượng axit xitric: Phương pháp phân tích sắc ký lỏng cao áp [5].

Pha các nồng độ axit xitric chuẩn và lọc qua lưới lọc 0,45 μ m. Tiến hành chạy sắc ký lỏng hiệu năng cao (Shimadzu LD-10AD-Japan) bằng cột ODS-3 (C18). Cột pha tĩnh thông thường làm bằng thép không rỉ, chiều dài cột khoảng 10 -30cm, đường kính trong 1-10mm, hạt chất nhồi cỡ $\phi=5-10 \mu$ m (ngoài ra còn có một số trường hợp đặc biệt về kích thước và kích cỡ hạt...). Chế độ chạy của máy với pha động là dung dịch gồm H₂SO₄ 0,045N và 6% axetonitril được lọc qua lưới lọc kích thước 0.45 μ m và khử khí bằng máy siêu âm. Cột HPLC được đặt trong tủ nhiệt độ 55^oC. Thông số kỹ thuật của phương pháp gồm bước sóng 214nm, tốc độ dòng 0,3ml (từ 20,01 phút đến 25,01 phút tốc độ dòng 1ml) và thời gian chạy 25 phút. Từ kết quả diện tích peak trung bình của các nồng độ axit xitric thu được ở bảng kết quả, dữ liệu được xử lý bằng excel được đường chuẩn có phương trình dạng đường thẳng $y = ax + b$, trong đó y là diện tích peak và x là nồng độ axit xitric.

2.2.4. Phương pháp nuôi cấy, nhân giống nấm mốc *A.niger* [6]:

Môi trường dinh dưỡng Czapek thành phần gồm: NaNO₃ 3g, K₂HPO₄ 1g, KCl 0,5g, MgSO₄.7H₂O 0,05g, FeSO₄ 0,01g, sacaroza 20g, thạch 20g, nước 1 lít. Hoà riêng rẽ từng hoá chất trong nước cất, rồi hợp các thành phần lại, trừ dung dịch muối photphat thì cho sau khi khử trùng ở 121^oC trong 20 phút.

Cho khoảng 10ml môi trường dinh dưỡng này vào đĩa petri đã vô trùng làm nguội. Giống gốc *A. niger* đem hoạt hóa trong môi trường lỏng Czapek, sau đó lấy khoảng 0,5ml cấy vào mỗi đĩa petri và ủ ở 32^oC trong 3-5 ngày đến khi trên bề mặt xuất hiện vầng nấm sợi, lúc đầu là màu trắng, sau đó là màu đen chứa toàn bào tử, thu bào này đem sấy ở nhiệt độ < 40^oC và bảo quản.

2.2.5. Phương pháp đếm số lượng bào tử trước khi lên men [6]

2.2.6. Phương pháp lên men axit xitric [7]

Lên men thu dịch lên men axit xitric: Thành phần môi trường rắn của một mẫu thí nghiệm gồm sacaroza 0,45g, NH₄NO₃ 0,075g, K₂HPO₄ 0,03g, MgSO₄ 0,0075g, CuSO₄ 0,0012g và bã mía 3g. Tiến hành trộn bã mía cùng các hóa chất đến độ ẩm yêu cầu bằng cách bổ sung lượng nước đã tính toán, pH được điều chỉnh về pH lên men = 4 \pm 0,2 bằng cách dùng axit HCl 2N. sau đó thanh trùng môi trường ở 121^oC trong 20 phút để nguội rồi tiến hành cho giống *A.niger* vào, mật độ bào tử giống 2,2x10⁷ bào tử/ml [8], nhiệt độ 30^oC. Thông số cần nghiên cứu: độ ẩm môi trường, thời gian lên men, tỉ lệ giống *A. niger* bổ sung. Ngoài ra, nghiên cứu xác định lượng nước cần bổ sung mỗi ngày để độ ẩm môi trường không đổi trong quá trình lên men. Các mẫu thí nghiệm được chuẩn bị theo mục 2.2.6.1 và 2.2.6.2.

2.2.6.1. Khảo sát độ ẩm sau ngày lên men đầu tiên và sự thay đổi độ ẩm trong suốt quá trình lên men:

Lên men axit xitric với 4 mẫu thí nghiệm với 3g bã mía, độ ẩm môi trường lần lượt là: mẫu M1 (60%); M2 (70%); M3 (80%) và M4 (90%), tỉ lệ giống bổ sung 10%, mật độ tế bào 2,2 x 10⁷ tế bào/ml, nhiệt độ lên men 30^oC; pH_{môi trường} = 4 \pm 0,2 [7], hàm lượng đường bổ sung 15%.

2.2.6.2. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng axit xitric trong dịch lên men

- Nghiên cứu ảnh hưởng tỉ lệ giống đến hàm lượng axit xitric

Các thí nghiệm được tiến hành với các điều kiện như sau: khối lượng bã mía 3g, hàm lượng đường bổ sung 15%; nhiệt độ môi trường lên men là 30^oC; pH_{môi trường} = 4 \pm 0,2; thời gian lên men 9 ngày, độ ẩm môi trường 70%, tỉ lệ giống bổ sung đảm bảo mật độ tế bào 2,2 x 10⁷

tế bào/ml với các tỉ lệ giống % (v/w): mẫu M1 là 3,33%, mẫu M2 là 6,67%, mẫu M3 là 10,00%, mẫu M4 là 13,33% và mẫu M5 là 16,67% môi trường ban đầu (tương đương với các thể tích hút giống là: 0,5; 1; 1,5; 2; và 2,5 ml giống vào 5 mẫu thí nghiệm).

-Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian và độ ẩm môi trường đến hàm lượng axit xitric: Chuẩn bị 4 mẫu thí nghiệm với khối lượng bã mía 3g, độ ẩm lần lượt là 60%, 70%, 80% và 90%, tỉ lệ giống A. niger là kết quả thông số được chọn ở thí nghiệm *ảnh hưởng tỉ lệ giống đến hàm lượng axit xitric*). Lượng axit xitric được xác định ở các thời điểm: 5, 7, 9 và 11 ngày.

2.2.7. Xử lý dịch lên men

Dịch sau khi lên men được nâng nhiệt 80-90°C, sau đó đem ép lọc chân không, thu dịch lọc định mức đến 50ml và tiến hành đo hàm lượng axit

xitric bằng HPLC. Kết quả đo được sau khi xử lý thể hiện lượng axit xitric có trong 50ml dịch lên men từ 3g bã mía sẽ được nội suy để tính được lượng axit xitric thu được tính trên 100g bã mía (g axit xitric/100g bã mía).

2.2.8. Xử lý số liệu

Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính toán trên cơ sở 2 lần thí nghiệm lặp lại và được xử lý bằng phần mềm Microsoft office excel 2007.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định một số thành phần hóa học và xử lý bã mía:

Bã mía thu nhận từ nhà máy đường Quảng Ngãi có độ ẩm bã $w = 25\%$ được phân tích tại phòng hóa nghiệm nhà máy có thành phần hóa học như bảng 3.1.

Bảng 3.1. Thành phần hoá học của bã mía

Thành phần	% chất khô
Xenluloza	47
Hemixenluloza	25,2
Lignin	21,3
Chất hoà tan khác	6,5

Kết quả phân tích cho thấy bã mía có chủ yếu là các thành phần xenluloza, hemixenluloza và lignin. Với cấu trúc nhiều lớp gồm có nhiều thành phần có bản chất hóa học khác nhau như vậy, lignin - xenluloza có độ bền vật lý cao rất khó xâm nhập đối với các vi sinh vật và enzym. Vì vậy cần phải xử lý bã mía trước khi cho lên men. Tham khảo tài liệu [7], xử lý bã mía theo qui trình sau: Bã mía thô được rửa sạch bằng nước để loại các tạp chất tan trong nước, sau đó được sấy bằng phơi nắng và sấy tủ sấy chân

không ở nhiệt độ 50-60°C trong 48 giờ đến trọng lượng không đổi (độ ẩm $w = 5\%$). Sau đó cắt thành đoạn khoảng 1,2 – 1,6 cm rồi đem ngâm với dung dịch HCl 2N qua đêm (14 -16 giờ), tỉ lệ nước: bã mía là 1:1. Sau đó rửa sạch bằng nước cất, sấy đến độ ẩm không đổi và sử dụng làm chất nền cho quá trình lên men. Mục đích ngâm HCl để loại bớt lignin và làm cấu trúc của bã mía kém bền tạo điều kiện cho vi sinh vật và enzym dễ dàng thâm nhập vào cơ chất.



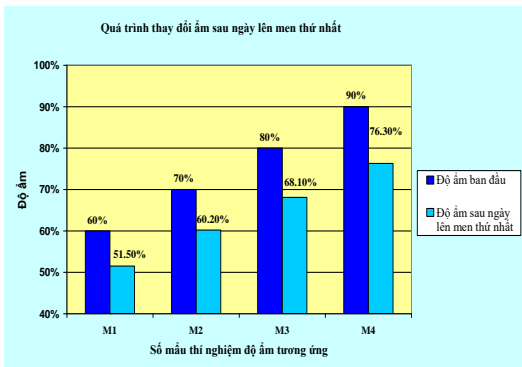
Hình 3.1. Bã mía sau khi xử lý

3.2. Khảo sát sự thay đổi ẩm của môi trường trong quá trình lên men

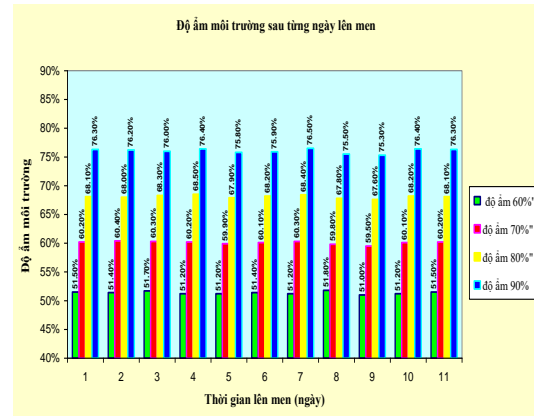
3.2.1. Khảo sát độ ẩm sau ngày lên men đầu tiên

Lên men axit xitric với 4 mẫu thí nghiệm được trình bày ở mục II.2.6.1.

Kết quả biểu diễn ở hình 3.2. Kết quả cho thấy sau ngày lên men thứ nhất, độ ẩm môi trường giảm rõ rệt: độ ẩm môi trường ban đầu càng cao thì quá trình thoát ẩm càng lớn. Đó là do sự chênh lệch giữa độ ẩm môi trường bên ngoài và môi trường lên men càng lớn thì sự thoát ẩm càng nhiều. Vì vậy, để duy trì độ ẩm ổn định trong suốt thời gian lên men, cần bổ sung thêm một lượng nước nhất định.



Hình 3.2. Sự biến đổi ẩm qua 1 ngày lên men



Hình 3.3. Sự biến đổi ẩm sau 11 ngày lên men

3.2.2. Khảo sát sự thay đổi độ ẩm trong suốt quá trình lên men

Các thí nghiệm được tiến hành giống với khảo sát độ ẩm sau ngày lên men đầu tiên. Cứ sau mỗi ngày lên men chúng tôi bổ sung một lượng nước vào mẫu để đạt được độ ẩm ban đầu. Cách tính lượng nước bổ sung được trình bày ở II.2.2, kết quả được biểu diễn ở hình 3.3.

Hình 3.3 cho thấy, qua các ngày lên men độ ẩm môi trường ở các mẫu đều giảm. Trong điều kiện mỗi ngày đều có bổ sung một lượng nước đã mất, sau 11 ngày lên men, mẫu M1 có độ ẩm 60% giảm trong khoảng từ 51,0 đến 51,8%; mẫu M2 có độ ẩm 70% giảm từ 59,5 đến 60,4%, mẫu M3 độ ẩm 80% dao động từ 67,4 đến 68,5% và mẫu M4 có độ ẩm 90% cũng giảm, dao động từ 75,3 đến 76,4%.

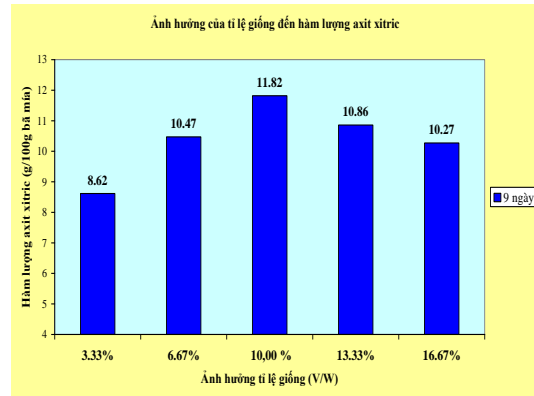
Kết quả thí nghiệm và tính toán cho thấy lượng nước bổ sung ẩm tương ứng cho từng mẫu thí nghiệm ở mỗi ngày lên men hầu như không đổi. Như vậy các thí nghiệm lên men về sau chỉ cần xác định lượng thoát ẩm của ngày lên men đầu tiên thì sẽ biết được lượng ẩm cần bổ sung vào môi trường ở những ngày lên men tiếp theo. Điều này có ý nghĩa rất lớn giúp tiết kiệm thời gian để xác định khối lượng môi trường cũng như độ ẩm mỗi ngày.

3.3. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng axit xitric trong dịch lên men

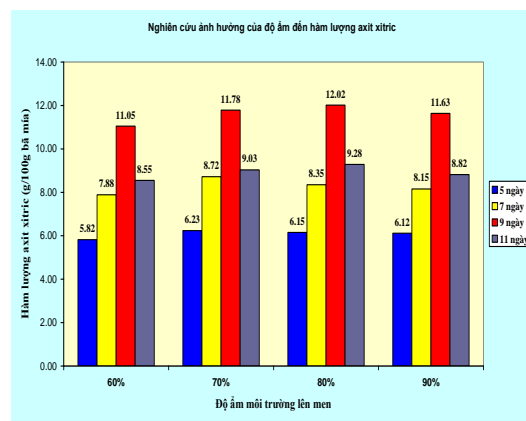
3.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng tỉ lệ giống đến hàm lượng axit xitric

Các thí nghiệm được chuẩn bị như ở mục 2.2.6.2. Kết quả được biểu diễn trên đồ thị hình 3.4. Kết quả hình 3.4 cho thấy ở tỉ lệ giống chủng nấm mốc *A. niger* 10% (v/w), hàm lượng axit xitric thu được cao nhất là 11,82 (gam/100g bã mía) ở độ ẩm môi trường lên men là 70%.

Điều đó có thể giải thích là nếu lượng giống quá thấp so với lượng cơ chất có trong môi trường lên men thì vi sinh vật không tổng hợp đủ các enzym cần thiết cho quá trình sinh trưởng, phát triển và sinh tổng hợp axit xitric, sẽ kéo dài thời gian lên men hoặc tạo ra một số sản phẩm phụ không mong muốn như rượu etylic, axit bay hơi. Còn lượng giống nhiều hơn 10% (v/w) thì không đủ môi trường dinh dưỡng cho hoạt động của các tế bào vi sinh vật, lúc đó vi sinh vật sẽ lấy axit xitric để phân giải làm cơ chất nên hàm lượng axit xitric sẽ giảm. Theo kết quả nghiên cứu của D. Kumar và cộng sự [7] trong cùng điều kiện lên men hàm lượng axit xitric thu được 12,1 (gam/100 gam bã mía) ở tỉ lệ giống 6,67% (1ml giống). Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi thu được đạt 11,82 (gam/100 gam bã mía) ở tỉ lệ giống 10% cũng đạt gần tương tự. Do đó, chúng tôi chọn tỉ lệ giống 10% cho thí nghiệm tiếp theo.



Hình 3.4. Ảnh hưởng tỉ lệ giống đến hàm lượng axit xitric trong dịch lên men.



Hình 3.5. Ảnh hưởng của thời gian và độ ẩm môi trường lên men đến hàm lượng axit xitric

3.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian và độ ẩm môi trường đến hàm lượng axit xitric

Chuẩn bị 4 mẫu thí nghiệm như ở mục 2.2.6.2 với tỉ lệ giống *A.niger* bổ sung là 10% (v/w) (theo kết quả nghiên cứu 3.3.1). Lượng axit xitric được xác định ở các thời điểm: 5, 7, 9 và 11 ngày. Kết quả biểu diễn trên đồ thị hình 3.5. Nhìn vào hình 3.5 ta thấy hàm lượng axit xitric ở các mẫu từ ngày lên men thứ 5 đến ngày lên men thứ 9 tăng dần và đạt cực đại tại ngày lên men thứ 9 và độ ẩm 80% cho hàm lượng axit xitric cao nhất (12,02g/100g bã mía). Kết quả này tương tự với nghiên cứu của D. Kumar và cộng sự [7], trong cùng điều kiện hàm lượng axit xitric thu được 12,40 gam/100 gam bã mía ở độ

ẩm là 75%. Điều này có thể giải thích là độ ẩm môi trường càng cao giúp cho quá trình trao đổi chất diễn ra dễ dàng và thuận lợi. Tuy nhiên khi tăng độ ẩm trên 80%, hàm lượng axit xitric thu được giảm vì cản trở quá trình hô hấp của nấm mốc *A. niger* làm giảm khả năng sinh tổng hợp axit xitric. Sau 9 ngày, lượng axit xitric thu được có xu hướng giảm. Bởi giai đoạn này trùng với pha suy vong của nấm mốc. Hàm lượng dinh dưỡng trong môi trường giảm dần cùng với nhiều sản phẩm thải, tỷ lệ tử cao hơn tỷ lệ sinh. Nấm mốc *A. niger* sẽ lấy axit xitric phân giải làm cơ chất nên hàm lượng axit xitric sẽ giảm. Do đó, trong sản xuất để thu hồi được hàm lượng axit xitric cao nhất nên kết thúc quá trình lên men vào ngày thứ 9.

4. KẾT LUẬN

Trong quá trình lên men độ ẩm của môi trường giảm mạnh. Do đó, cần phải bổ sung một lượng nước tương ứng để độ ẩm không thay đổi, và lượng nước bổ sung mỗi ngày đều bằng nhau trong suốt quá trình lên men. Các yếu tố độ ẩm môi trường ban đầu, tỉ lệ giống vi sinh vật và thời gian có ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng axit xitric thu được trong quá trình lên men.

Kết quả khảo sát từng yếu tố đơn biến cho thấy, để thu nhận được axit xitric nhiều nhất khi lên men ở nhiệt độ 30°C, nồng độ đường bổ sung 15%, $pH_{\text{môi trường}} = 4 \pm 0,2$ thì các điều kiện tốt nhất là: Độ ẩm môi trường 80%, thời gian lên men 9 ngày, tỉ lệ giống *A. niger* với mật độ bào tử $>2,2 \times 10^7$ bào tử/ml là 10% (v/w) so với khối lượng môi trường lên men. Hàm lượng axit xitric thu được khi lên men ở các điều kiện trên là 12,02 g/100g bã mía.

Research on fermentation process of citric acid in solid state using sugarcane bagasse and *Aspergillus Niger*

- **Truong Thi Minh Hanh**

University of Science and Technology, University of Danang

- **Nguyen Anh Tuan**

National hydro-metological service of Vietnammiddle of central parts hydrometeorological service

ABSTRACT:

Citric acid is an organic acid that has a wide range of applications in food industry and other industries. In the pharmaceutical industry, citric acid is used to produce different metal citrate salts so that these minerals can be biologically used in many medicines. For example, iron citrate made

from citric acid provides iron to protect human blood, or is used to produce medicines in tablet or cream forms and cosmetics.

In this research, we investigated effects of technological factors on the fermentation process of citric acid in the

solid state using sugarcane bagasse and Aspergillus Niger. We conducted an experiment to determine the content of citric acid obtained in fermented liquid using HPLC. The result showed that substrate humidity, culture ratio and duration significantly influence on the fermentation process. Through the investigation of water content change in solid state from sugarcane bagasse, we indicated that during the fermentation time, a fixed amount of water to

be supplemented every day to maintain the initial humidity. Based on the results, we recommend a fermentation process of citric acid using sugarcane bagasse under the following condition: substrate humidity 80%, temperature 30°C, 9-day duration, A.niger ratio 10% (v/w). The content of citric acid that can be obtained under the above condition is 12.02g/100g of sugarcane bagasse.

Keywords: organic acid; fermentation process of citric acid; sugarcane bagasse; solid state; Aspergillus niger ratio.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. <http://www.baomoi.com/San-luong-mia-nien-vu-20112012-co-the-tang-them-250000-tan/50/7234426.epi> 21/3/2012
- [2]. <http://muslimmedianetwork.com/mmn/?p=1553> 27/11/2012
- [3]. Camila Alves Rezende, Marisa Aparecida de Lima, Priscila Maziero, Eduardo Ribeiro de Azevedo, Wanius Garcia and Igor Polikarpov (2011), Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility, Biotechnology for Biofuels, Vol.4, 2011.
- [4]. Phạm Văn Sở, Bùi Thị Nhu Thuận (1975), Kiểm nghiệm lương thực, thực phẩm. NXB KH&KT.
- [5]. Hasim & cs. (2009), "HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositons and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan", Microchemical journal 91, pp. 187-192.
- [6]. PGS.TS. Nguyễn Phùng Tiến, GS.TS. Bùi Minh Đức (2007), Vi sinh vật thực phẩm, Tập 2. NXB Y Học, Hà Nội.
- [7]. D. Kumar, V.K. Jain, G. Shanker, A. Srivastava (2007), "Citric acid production by solid state fermentation using sugarcane bagasse", Department of Biochemical Engineering and Biotechnology, Indian Institute of Technology, New Delhi 110016, India.
- [8]. D. Kumar and V. K. Jain (2002), "Solid state fermentation studies of citric acid production Ashish", Central Research & Development Laboratory, Hindustan Zinc Limited, P.O. Zinc Smelter, Debari, Pin 313024, Dist, Udaipur, Rajasthan, India