

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA QUÁ TRÌNH TIỀN XỬ LÝ NẤM VÀ THỦY PHÂN RƠM LÚA MÌ BẰNG HỖN HỢP CHẾ PHẨM ENZYME THƯƠNG MẠI

Dương Hiếu Linh^{1*}, Dietmar Schlosser²

¹Đại học Việt Đức (VGU), đường Vành đai 4, khu phố 4, phường Thới Hòa, thành phố Bến Cát, tỉnh Bình Dương, Việt Nam

²Khoa Sinh thái Vi sinh vật Ứng dụng, Trung tâm Nghiên cứu môi trường Helmholtz - UFZ, Permoserstraße 15, 04318 Leipzig, Đức

TÓM TẮT

Quá trình lên men ở trạng thái rắn sử dụng nấm có thể chuyển đổi trực tiếp chất thải từ nông nghiệp và lâm nghiệp thành các hóa chất hữu ích, chất hoạt động bề mặt sinh học, vật liệu composite, và năng lượng sinh học trong khuôn khổ ứng dụng tinh chế sinh học hoặc đơn giản được sử dụng để sản xuất nấm. Việc tiền xử lý bằng nấm đối với chất thải nông nghiệp lignocellulose cho mục đích tinh chế sinh học là thân thiện với môi trường và đồng thời kết hợp các ưu điểm như điều kiện phản ứng nhẹ, tính đặc hiệu của quá trình thủy phân bằng enzyme, không hình thành chất ức chế, và yêu cầu năng lượng thấp. Do sinh khối lignocellulose có thành phần và đặc tính hóa học khác nhau nên cần xác định hiệu quả thủy phân bằng enzyme đối với từng loại sinh khối. Mặc dù hỗn hợp các chế phẩm enzyme thương mại đã cho thấy khả năng thủy phân sinh khối lignocellulose nhưng hiệu quả của quá trình thủy phân enzyme của hỗn hợp trên rơm lúa mì vẫn chưa được đánh giá. Do đó, nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hiệu quả của quá trình đường hóa của rơm lúa mì thông qua quá trình thủy phân bằng enzyme bằng cách sử dụng hỗn hợp của các chế phẩm enzyme thương mại (hỗn hợp Celluclast 1.5 L/ Viscozyme L). Hơn nữa, tác động của hỗn hợp lên rơm lúa mì đã được xử lý trước bằng nấm cũng được đánh giá. Kết quả thử nghiệm của chúng tôi cho thấy rằng thủy phân bằng hỗn hợp Celluclast 1.5 L/Viscozyme L nên được áp dụng với hàm lượng cơ chất là 2,5% (w/v). Tiền xử lý bằng *Stropharia rugosoannulata* dẫn đến lượng đường cao hơn đáng kể so với đối chứng, với lượng đường đạt được lần lượt là 63,0 và 32,6 mg/g trọng lượng khô.

Từ khóa: Chế phẩm enzyme thương mại, lignocellulose, phụ phẩm nông nghiệp, thủy phân enzyme, tiền xử lý nấm.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất thải nông nghiệp rất dồi dào và thường không được sử dụng đúng mức có thể được sử dụng làm cơ chất có giá trị cho mục đích công nghệ sinh học (Duong, 2024). Những cơ chất rắn này bao gồm bã mía, bã sắn, cám ngũ cốc, bã cà phê, vỏ và bã trái cây, rơm rạ và vỏ trấu. Cấu trúc cơ bản của các vật liệu này (bao gồm cellulose, hemicellulose, lignin, tinh bột và pectin) quyết định tính chất của cơ chất rắn. Ví dụ, rơm lúa mì bao gồm 37-41% cellulose, 27-32% hemicellulose và 13-15% lignin (Saini *et al.*, 2015), trong khi các con số tương ứng đối với ngũ cốc dao động từ khoảng 45-55% cellulose, 26-32% hemicellulose, và 16-21% lignin (Janusz *et al.*, 2017). Cấu trúc (ví dụ như diện tích bề mặt đặc trưng của cellulose, độ kết tinh của cellulose, mức độ trùng hợp, kích thước và thể tích lỗ rỗng) và các yếu tố hóa học (ví dụ như thành phần và hàm lượng trong các nhóm hemicelluloses và acetyl) cũng góp phần vào tính “trơ” của sinh khối lignocellulose, tạo thành một trở ngại cho việc sử dụng các cơ chất này trong sản xuất năng lượng sinh học và vật liệu sinh học (Zoghلامي và Paës, 2019). Mặt khác, một số nghiên cứu chỉ ra rằng quá trình lên men rắn sử dụng nấm có thể chuyển đổi trực tiếp các cơ chất lignocellulose và chất thải từ nông nghiệp và lâm nghiệp thành các hóa chất hữu ích, chất hoạt động bề mặt, vật liệu composite và năng lượng sinh học trong khuôn khổ các ứng dụng tinh chế sinh học hoặc đơn giản là được sử dụng để sản xuất nấm (Duong, 2024). Việc tiền xử lý bằng nấm đối với chất thải nông nghiệp lignocellulose cho mục đích tinh chế sinh học là thân thiện với môi trường và đồng thời kết hợp các ưu điểm như điều kiện phản ứng nhẹ, tính đặc hiệu của quá trình thủy phân bằng enzyme, không hình thành chất ức chế, và yêu cầu năng lượng thấp (Duong, 2024).

Do sinh khối lignocellulose có thành phần và đặc tính hóa học khác nhau nên cần xác định hiệu quả thủy phân bằng enzyme đối với từng loại sinh khối (López-Gutiérrez *et al.*, 2021). Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thủy phân enzyme bao gồm nồng độ enzyme, nồng độ cơ chất, kích thước hạt và điều kiện phản ứng (nhiệt độ, pH, thời gian phản ứng, khuấy trộn, dung dịch đệm). Sự tương tác của các yếu tố này làm cho việc tối ưu hóa quá trình thủy phân bằng enzyme trở nên khó khăn. Hỗn hợp các chế phẩm enzyme thương mại như Celluclast 1.5 L và Viscozyme L cho phép tạo ra hỗn hợp enzyme với nhiều cellulase và hemicellulase để thủy phân lignocellulose. Celluclast 1.5 L/Viscozyme L được thiết kế cho các ứng dụng thực phẩm (López-Gutiérrez *et al.*, 2021). Hỗn hợp Celluclast 1.5 L và Viscozyme L đã được tối ưu hóa cho quá trình thủy phân enzyme của bã táo,

rong biển đã qua tiền xử lý, và đậu bắp (López-Gutiérrez *et al.*, 2021). Mặc dù hỗn hợp của các chế phẩm enzyme thương mại này đã cho thấy khả năng thủy phân sinh khối lignocellulose nhưng hiệu quả của quá trình thủy phân enzyme của hỗn hợp trên rơm lúa mì vẫn chưa được đánh giá. Do đó, nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hiệu quả của quá trình đường hóa của rơm lúa mì thông qua quá trình thủy phân bằng enzyme bằng cách sử dụng hỗn hợp của các chế phẩm enzyme thương mại Celluclast 1.5 L/ Viscozyme L. Việc sử dụng hỗn hợp của các chế phẩm enzyme thương mại có thể thúc đẩy sức mạnh liên hợp của enzyme. Hơn nữa, tác động của hỗn hợp lên rơm lúa mì đã được xử lý trước bằng nấm cũng được đánh giá.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Tất cả các hóa chất đều thuộc loại dùng cho phân tích (cấp gradient trong trường hợp dung môi sắc ký). Tất cả các hóa chất được mua từ Merck, Sigma-Aldrich và Th. Geyer GmbH (Renningen, Đức). Hỗn hợp Celluclast 1.5L và Viscozyme L được mua từ Sigma-Aldrich (Tập đoàn Merck, Darmstadt, Đức). Celluclast 1.5L là cellulase từ *Trichoderma reesei*, có hoạt tính enzyme là 756 đơn vị glucanase (GU)/g và có nồng độ 1,22 g/mL. Viscozyme L là hỗn hợp enzyme thương mại từ *Aspergillus sp.*, là sự pha trộn của beta-glucanase, pectinase, hemicellulase và xylanase. Theo nhà sản xuất (Novozymes Corp.), hoạt tính enzyme chính của Viscozyme L được thể hiện bằng beta-glucanase ở nồng độ 108 GU/g, tương ứng với nồng độ 1,21 g/mL.

Tiền xử lý rơm lúa mì thông qua nấm

Stropharia rugosoannulata (DSM 11372) là loài nấm được dùng cho nghiên cứu, thu được từ bộ sưu tập của Khoa Sinh thái Vi sinh vật Ứng dụng tại Trung tâm Nghiên cứu Môi trường Helmholtz - UFZ (Leipzig, Đức). Chủng nấm này cũng có sẵn tại Bộ sưu tập Vi sinh vật và Nuôi cấy Tế bào Đức (DSMZ; Braunschweig, Đức). Chủng nấm được duy trì trên đĩa thạch chiết xuất mạch nha 2% (w/v) (thạch 1,5%; pH 5,7) ở 28°C trong bóng tối. Tiền xử lý rơm lúa mì bằng nấm đã được mô tả chi tiết bởi Duong, 2024. Tóm lại, các thí nghiệm được thực hiện trong lọ polypropylene. Các lọ được trang bị nắp vận màng thông hơi (màng PTFE có đường kính 25 mm và độ xốp 0,2 μ m (Whatman/GE Healthcare, Đức)). Để cấy nấm, các phần thạch (được lấy từ các cạnh của cụm nấm mọc trên đĩa thạch mạch nha) được đồng nhất hóa trong môi trường chiết xuất mạch nha 2% (một phần thạch trên 1 mL môi trường chiết xuất mạch nha) với sự trợ giúp của Ultra-Turrax (Staufen, Đức). Sau đó, 0,5 mL huyền phù nấm thu được được sử dụng để cấy vào 0,5 g rơm lúa mì đã được cắt nhỏ và hấp khử trùng. Lượng sinh khối nấm được cấy vào ở mức 1.8 ± 0.3 mg (sinh khối nấm được xác định dựa trên ergosterol; Vui lòng xem mô tả chi tiết về phương pháp xác định sinh khối nấm dựa trên ergosterol trong luận án của Duong, 2024). Rơm lúa mì được hấp khử trùng và không qua xử lý trước bằng nấm được dùng làm đối chứng. Mỗi nghiệm thức được thực hiện ba lần, mẫu được ủ ở 28°C trong 14 ngày. Mẫu sau khi ủ đã được lưu trữ ở -20°C, sau đó được làm sạch bằng 0.1 M McIlvaine buffer (pH 7.0). Phần chất rắn sau đó được làm khô ở 50°C trong 48 giờ và được xác định trọng lượng khô. Khả năng phân hủy rơm lúa mì của *S. rugosoannulata* đã được nghiên cứu và trình bày chi tiết trong luận án của Duong, 2024.

Thủy phân bằng enzyme

Phần chất rắn sau khi được làm khô ở trên được đồng nhất bằng máy nghiền bi (Pulverisette 23; Fritsch, Idar-Oberstein, Đức) ở tốc độ 50 oscillations mỗi giây trong 5 phút và được bảo quản ở nhiệt độ phòng trong điều kiện khô ráo trong bóng tối cho đến khi phân hủy bằng enzyme. Các chế phẩm enzyme thương mại Celluclast 1.5L và Viscozyme L được áp dụng dựa trên dữ liệu đã được công bố trước đó (López-Gutiérrez *et al.*, 2021) trong hỗn hợp ở 121 (đối với Celluclast 1.5L) và 15,8 (đối với Viscozyme L) GU/g chất rắn lignocellulose khô. Quá trình thủy phân bằng enzyme được thực hiện trong ống Eppendorf 2 mL sử dụng dung dịch đệm Na-citrate 0,1M (pH 4,8) có chứa 0,2 g/L tetracycline để ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn trong hỗn hợp phản ứng. Các mẫu rắn lignocellulose được áp dụng ở mức 2,5% hoặc 5% (w/v). Quá trình ủ được thực hiện ở tốc độ 150 vòng/phút và 40°C trong 18 giờ. Sau đó, mẫu được đông lạnh ngay ở -20°C và bảo quản ở nhiệt độ này cho đến khi phân tích.

Sau khi rã đông các mẫu thu được từ quá trình phân hủy bằng enzyme, chúng được ly tâm ở 4°C và 20817 \times g trong 10 phút (Eppendorf, Hamburg, Đức). Dịch chiết thu được được giữ ở -20°C để xác định lượng đường khử tổng số.

Xác định hàm lượng đường khử tổng số theo phương pháp DNSA

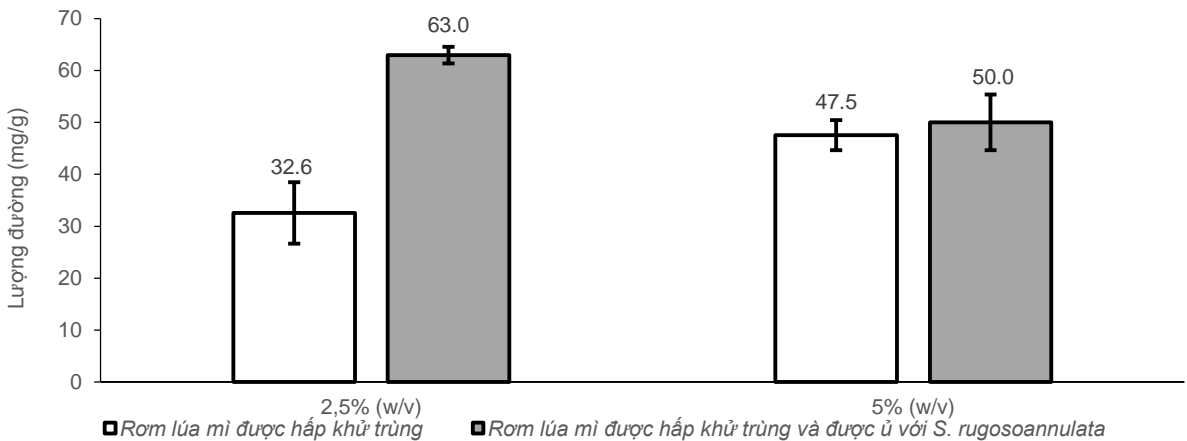
Tổng lượng đường khử trong dịch chiết được xác định bằng phương pháp axit dinitrosalicylic (DNSA) (Gonçalves *et al.*, 2010). Tóm lại, 25 μ L thuốc thử DNSA (1% [w/v] DNSA, 30% [w/v] kali natri tartrat, 1,6% [w/v] NaOH) được thêm vào 25 μ L mẫu trong các giếng của đĩa 96 giếng (đáy phẳng). Sau đó, đĩa 96 giếng (có nắp) được đặt trên máy lắc ở tốc độ 150 vòng / phút trong 30 giây, sau đó ủ ở 85°C trong 10 phút. Sau đó, đĩa 96 giếng được làm nguội trên đá và ngay lập tức thêm 250 μ L nước cất vào giếng. Độ hấp thụ được đọc ở bước sóng 530nm, sử dụng đầu đọc GENios Plus (Tecan, Männedorf, Thụy Sĩ). Việc hiệu chuẩn phương pháp được thực hiện bằng cách sử dụng hỗn hợp có lượng D-glucose và D-xylose bằng nhau, dựa trên lượng glucan và xylan về cơ bản có thể so sánh được trong rơm lúa mì được báo cáo trước đó (García-Torreiro *et al.*, 2016).

Phân tích thống kê

Các ngoại lệ (outlier) trong số các bộ dữ liệu ba lần được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm Dean-Dixon. Bài kiểm tra f-tests và Student's t-tests hai mẫu (hai mặt) không ghép đôi được thực hiện bằng Microsoft® Excel® 2013 (phiên bản 15.0.5327.1000).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hình 1 mô tả lượng đường thu được lần lượt từ quá trình xử lý bằng hỗn hợp Celluclast 1.5 L/Viscozyme L cho rơm lúa mì được hấp khử trùng (dùng làm đối chứng) hoặc rơm được hấp khử trùng và tiền xử lý bằng nấm mục trắng *S. rugosoannulata*. Các mẫu rắn lignocellulose được áp dụng ở mức 2,5% hoặc 5% (w/v). Hình 1 cho thấy rằng lượng đường cao nhất là 63,0 mg/g trọng lượng khô đạt được khi tiền xử lý bằng *S. rugosoannulata* và thủy phân bằng hỗn hợp Celluclast 1.5 L/Viscozyme L với hàm lượng cơ chất là 2,5%. Lượng đường khử thu được này cao gấp đôi so với đối chứng (rơm lúa mì được hấp khử trùng và thủy phân bằng hỗn hợp Celluclast 1.5 L/Viscozyme L với hàm lượng cơ chất là 2,5%). Xa hơn nữa, các bài kiểm tra f-tests và Student's t-tests hai mẫu (hai mặt) không ghép đôi đã được thực hiện để kiểm định sự khác nhau trong hiệu quả thủy phân khi sử dụng hỗn hợp Celluclast 1.5 L/ Viscozyme L cho các nghiệm thức. Kết quả của các bài kiểm tra được trình bày trong Bảng 1 và Bảng 2. Trước hết, bài kiểm tra f-tests đã được áp dụng và kết quả bài kiểm tra f-tests cho thấy rằng phương sai của hai mẫu không khác nhau đáng kể ($P > 0,05$), do đó bài kiểm tra Student's t-tests hai mẫu (hai mặt) không ghép đôi (phương sai bằng nhau) đã được áp dụng. Kết quả bài kiểm tra Student's t-tests hai mẫu (hai mặt) không ghép đôi cho thấy rằng có sự khác biệt đáng kể trong hiệu quả thủy phân ở hàm lượng cơ chất 2,5% hoặc 5% (w/v) ($P < 0,05$) (Bảng 1). Ở mức hàm lượng 2,5%, có sự khác biệt đáng kể trong hiệu quả thủy phân cho rơm lúa mì được hấp khử trùng hoặc rơm được hấp khử trùng và tiền xử lý bằng *S. rugosoannulata* ($P < 0,05$), tuy nhiên sự khác biệt là không đáng kể khi hàm lượng cơ chất là 5% ($P > 0,05$) (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng hàm lượng cơ chất 2,5% (w/v) nên được áp dụng cho các nghiên cứu tương lai và hiệu quả của tiền xử lý bằng chủng nấm mục trắng *S. rugosoannulata* cho mục đích tăng cường quá trình đường hóa của rơm lúa mì đã được chứng minh.



Hình 1. Lượng đường thu được từ các công thức thí nghiệm

Bảng 1. Kết quả kiểm tra f-tests và Student's t-tests hai mẫu (hai mặt) không ghép đôi được thực hiện bằng Microsoft® Excel® 2013 khi so sánh kết quả thủy phân bằng hỗn hợp Celluclast 1.5 L/ Viscozyme L ở hàm lượng cơ chất 2,5% và 5% (w/v). Sự so sánh được thực hiện cho rơm lúa mì được hấp khử trùng hoặc rơm được hấp khử trùng và tiền xử lý bằng *S. rugosoannulata*

	f-tests	Student's t-tests
Rơm lúa mì được hấp khử trùng	0,383	0,017
Rơm lúa mì được hấp khử trùng và được ủ với <i>S. rugosoannulata</i>	0,165	0,016

Bảng 2. Kết quả kiểm tra f-tests và Student's t-tests hai mẫu (hai mặt) không ghép đôi được thực hiện bằng Microsoft® Excel® 2013 khi so sánh kết quả thủy phân bằng hỗn hợp Celluclast 1.5 L/ Viscozyme L của rơm lúa mì được hấp khử trùng hoặc rơm được hấp khử trùng và tiền xử lý bằng *S. rugosoannulata*. Sự so sánh được thực hiện cho hàm lượng cơ chất 2,5% và 5% (w/v)

Hàm lượng cơ chất (w/v) %	f-tests	Student's t-tests
2,5	0,137	0,001
5	0,449	0,522

Hiệu quả của hỗn hợp Celluclast 1.5 L/ Viscozyme L đã được chứng minh và so sánh với những hỗn hợp khác bởi một số nhóm nghiên cứu. Ví dụ, hai hỗn hợp nhị phân của các chế phẩm enzyme thương mại có hoạt tính cellulase và hemicellulase (Celluclast 1.5 L/Viscozyme L và Cellic® Ctec2/Cellic® Htec2) đã được sử dụng để thủy phân bã cây thù (không qua tiền xử lý) (López-Gutiérrez *et al.*, 2021). Hỗn hợp Celluclast 1.5 L với Viscozyme L đã được chứng minh là có khả năng đường hóa bã cây thù cao hơn, mặc dù hỗn hợp nhị phân của Cellic® Ctec2 với Cellic® Htec2 được thiết kế để đường hóa sinh khối lignocellulose (López-Gutiérrez *et al.*, 2021). Một ưu điểm khác của Celluclast 1.5 L và Viscozyme L là chúng rẻ hơn và có sẵn trên toàn thế giới (López-Gutiérrez *et al.*, 2021).

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy rằng chủng nấm mục trắng phân hủy lignin *S. rugosoannulata* đã dẫn đến việc tiền xử lý nấm hiệu quả vượt quá giá trị kiểm soát tương ứng. Quan sát này đã chứng thực cho những phát hiện trước đó. Từ lâu, người ta đã chỉ ra rằng quá trình phân giải lignin (delignification) là điều kiện tiên quyết quan trọng để quá trình đường hóa thủy phân hiệu quả lignocellulose và do đó là thách thức lớn đối với việc sử dụng thành công lignocellulose (Andlar *et al.*, 2018). Đối với vấn đề này, nấm mục trắng là chủng nấm phân hủy lignin chính trong tự nhiên và khả năng phân hủy lignin của chúng rõ ràng vượt trội so với nấm mục nâu và nấm mục mềm (Andlar *et al.*, 2018). Do đó, nấm mục trắng là chất xúc tác sinh học hấp dẫn để tiền xử lý sinh khối lignocellulose và hứa hẹn mang lại sản lượng đường cao nhờ quá trình đường hóa bằng enzyme. Ví dụ, việc ứng dụng thành công nấm mục trắng *Trametes hirsuta* để xử lý sơ bộ rơm rạ và thân cây ngô đã được mô tả trước đây (Sun *et al.*, 2011; Sariha *et al.*, 2012). Nấm mục trắng *Ipex lacteus* được sử dụng để xử lý sinh học thân cây ngô, đi kèm với việc sản xuất nhiều loại enzyme thủy phân và oxy hóa ngoại bào (Du *et al.*, 2011).

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, quá trình đường hóa của rơm lúa mì đã được đánh giá thông qua việc sử dụng hỗn hợp chế phẩm enzyme thương mại là Celluclast 1,5 L và Viscozyme L. Kết quả thử nghiệm cho thấy thủy phân bằng hỗn hợp enzyme Celluclast 1.5 L/Viscozyme L nên được áp dụng ở hàm lượng cơ chất là 2,5%. Tiền xử lý bằng chủng nấm mục trắng phân hủy lignin *S. rugosoannulata* cho lượng đường khử thu nhận được cao hơn đáng kể so với đối chứng, với lượng đường lặn lượt là 63,0 và 32,6 mg/g trọng lượng khô.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin cảm ơn Hauke Harms, Thomas Maskow, Sven Paufler, Madlen Schubert, Stefanie Loth, Claudia Heber, Martina Kolbe, Katrin Lübke, Chau Nguyen, Quỳnh Nguyen, và Han Nguyen vì sự hỗ trợ tuyệt vời về thực nghiệm và kỹ thuật cũng như hỗ trợ về mặt phương pháp. Chúng tôi cũng chân thành cảm ơn sự tài trợ từ Đề án Đào tạo giảng viên có trình độ tiến sĩ cho các trường đại học, cao đẳng giai đoạn 2010-2020 (Đề án 911) của Chính phủ Việt Nam cho học bổng Tiến sĩ của Dương Hiểu Linh tại Đức. Công trình này được hỗ trợ bởi Hiệp hội các Trung tâm Nghiên cứu Đức Helmholtz trong khuôn khổ Nền tảng Tích hợp "Tapping nature's potential for sustainable production and a healthy environment" tại UFZ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Andlar M, Rezić T, Marđetko N, Kracher D, Ludwig R, Šantek B (2018). Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Eng Life Sci*, 18(11):768–778.
- Du W, Yu H, Song L, Zhang J, Weng C, Ma F, Zhang X (2011). The promoting effect of byproducts from *Ipex lacteus* on subsequent enzymatic hydrolysis of bio-pretreated cornstalks. *Biotechnol Biofuels*, 4:1–8.
- Duong HL (2024). Fungal Decomposition of Lignocellulosic Solid Substrates: Applicability and Information Value of Biocalorimetry for Ecological and Biotechnological Research. *PhD dissertation. Faculty of Life Sciences, University of Leipzig, Germany*. Available at: <https://phucvu.thuvientphcm.gov.vn/Viewer/EBook/794048>
- García-Torreiro M, López-Abelairas M, Lu-Chau TA, Lema JM (2016). Fungal pretreatment of agricultural residues for bioethanol production. *Ind Crops Prod*, 89:486–492.
- Gonçalves C, Rodríguez-Jasso RM, Gomes N, Teixeira JA, Belo I (2010). Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. *Analytical Methods*, 2:2046–2048.
- Janusz G, Pawlik A, Sulej J, Świdarska-Burek U, Jarosz-Wilkolazka A, Paszczyński A (2017). Lignin degradation: Microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS Microbiol Rev*, 41:941–962.
- López-Gutiérrez I, Razo-Flores E, Méndez-Acosta HO, Amaya-Delgado L, Alariste-Mondragón F (2021). Optimization by response surface methodology of the enzymatic hydrolysis of non-pretreated agave bagasse with binary mixtures of commercial enzymatic preparations. *Biomass Convers Biorefin*, 11:2923–2935.
- Saini JK, Saini R, Tewari L (2015). Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. *3 Biotech*, 5:337–353.
- Sariha M, Arora A, Nain L (2012). Pretreatment of paddy straw with *Trametes hirsuta* for improved enzymatic saccharification. *Bioresour Technol*, 104:459–465.
- Sun FH, Li J, Yuan YX, Yan ZY, Liu XF (2011). Effect of biological pretreatment with *Trametes hirsuta* yj9 on enzymatic hydrolysis of corn stover. *Int Biodeterior Biodegradation*, 65:931–938.
- Zoghliami A, Paës G (2019). Lignocellulosic biomass: Understanding recalcitrance and predicting hydrolysis. *Front Chem*, 7:1–11.

INVESTIGATE THE EFFECTIVENESS OF FUNGAL PRETREATMENT AND ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WHEAT STRAW WITH A MIXTURE OF COMMERCIAL ENZYMATIC PREPARATIONS

Duong Hieu Linh^{1*}, Dietmar Schlosser²

¹Vietnamese-German University (VGU), Ring Road 4, Quarter 4, Thoi Hoa Ward, Ben Cat City, Binh Duong Province, Vietnam

²Department of Applied Microbial Ecology, Helmholtz-Centre for Environmental Research - UFZ, Permoserstraße 15, 04318 Leipzig, Germany

SUMMARY

Solid-state fermentation using fungi could directly convert lignocellulosic by-products and waste from agriculture and forestry into useful chemicals, building blocks, biosurfactant molecules, composite materials and bioenergy within the frame of biorefinery applications, or simply be used for mushroom production. Fungal pretreatment of lignocellulosic agricultural wastes and their qualification for biorefinery purposes is environmentally friendly and concomitantly combines advantages such as mild reaction conditions, the specificity of enzymatic hydrolysis, no inhibitor formation, and low energy requirements. Lignocellulosic biomass has the different composition and chemical characteristics, thus, it is necessary to determine the effectiveness of enzymatic hydrolysis for each type of biomass. Although the mixtures of commercial enzymatic preparations have shown the capabilities to hydrolyze lignocellulosic biomass, the effectiveness of the enzymatic hydrolysis of the mixtures on wheat straw has not yet been evaluated. Therefore, the present study aims to investigate the effectiveness of the saccharification of wheat straw through the enzymatic hydrolysis by the use of a mixture of commercial enzymatic preparations (namely Celluclast 1.5 L/ Viscozyme L). Moreover, the impact of the mixture on fungal pretreated wheat straw is also assessed. Our experimental results showed that enzymatic hydrolysis with the mixture of Celluclast 1.5 L/Viscozyme L should be applied at the solid loading of 2.5% (w/v). Pretreatment with *Stropharia rugosoannulata* results in a significantly higher sugar amount than the control, with 63.0 and 32.6 mg/g dry mass, respectively.

Keywords: Agricultural wastes, commercial enzymatic preparations, enzymatic hydrolysis, fungal pretreatment, lignocellulose.

* Author for correspondence: Tel: 906464666; Email: linh.duong@vgu.edu.vn