

## CÁC ĐẶC TÍNH MÀNG CHỐNG THẤM SINH HỌC CHITOSAN KẾT HỢP VỚI LIGNIN THU HỒI TỪ BÃ MÍA

Chu Thị Thanh<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Tuyết<sup>2</sup>, Nguyễn Ngọc Kiên<sup>1</sup>,  
Ngô Thị Thương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Bích Thủy<sup>3</sup>, Lê Thị Thu Hương<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Khoa Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Sinh viên K60, Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>3</sup>Trường THPT Quang Hà, Vĩnh Phúc

\*Tác giả liên hệ: chuthithanh.hus@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.11.2019

Ngày chấp nhận đăng: 23.04.2021

### TÓM TẮT

Hiện nay nhu cầu toàn xã hội trong sự phát triển các loại màng sinh học dễ phân hủy để thay thế vật liệu nhựa tổng hợp ngày càng tăng lên nhanh chóng. Mục tiêu của nghiên cứu này là thu hồi lignin từ bã mía - phụ phẩm của ngành sản xuất mía đường bằng phương pháp thủy phân kiềm để tổng hợp ra các loại màng sinh học từ chitosan và lignin góp phần hạn chế ô nhiễm môi trường. Kết quả nghiên cứu cho thấy lignin được tách ra từ bã mía sau 2h thủy phân với tỉ lệ NaOH/bã mía (1/10 w/w) và kết tủa bằng dung dịch axit tại pH = 2. Các màng tạo thành được đo các đặc tính: độ ẩm, độ dày, lực phá vỡ và khả năng chống thấm nước. Trong đó, màng được tạo thành từ chitosan và lignin theo tỉ lệ thể tích (1C:1L v/v), độ dày màng từ 27,19-30,13 $\mu$ m, lực phá vỡ màng 259.000-312.000 N/m<sup>2</sup> có khả năng chống thấm nước tốt nhất và kháng khuẩn với chủng vi sinh vật *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*.

Từ khóa: Bã mía, chitosan, lignin, màng chống thấm, màng sinh học.

### Properties of Biological Waterproof Films Combination Chitosan and Lignin Extracted from Sugarcane Bagasse

#### ABSTRACT

Currently, the global demand for development of biodegradable films to replace synthetic plastic materials has been rapidly increased. In this study, we aimed to extract lignin from sugarcane bagasse by-products of the sugarcane industry in order to fabricate biological membranes from chitosan and lignin to reduce environmental pollution. The results revealed that lignin was successfully extracted from sugarcane bagasse by alkaline hydrolysis method in 2h with weight ratio NaOH/ sugarcane bagasse of 1:10 w/w and precipitation at pH = 2 by acidic solution. Properties of films were measured: moisture, film thickness, tensile strength and waterproof. The biological waterproof films were synthesized from chitosan and lignin with a volume ratio (1C:1L v/v), the film thickness of 27,19-30,13 $\mu$ m and the tensile strength of 259.000-312.000 N/m<sup>2</sup> and antimicrobial activity with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Biological films, chitosan, lignin, sugarcane bagasse, waterproof membranes.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các loại màng bọc và túi được tạo ra từ quá trình polyme hóa etilen và vinyl clorua tạo ra các túi nilon PE, PVC sử dụng rất rộng rãi ở hầu hết các nước trên thế giới với ưu điểm rất rẻ tiền, nhẹ, thuận tiện sử dụng, có khả năng tạo hình đa dạng để bao bọc và đóng gói các sản

phẩm. Các loại màng PE, PVC, PET và PE khi sản xuất thường được thêm các chất hóa dẻo DEHA, LDPE, DEHP... thuộc nhóm phthalates (PAEs) từ 10% tới 60% khối lượng màng nhằm cải tiến khả năng đàn hồi, khả năng kéo giãn và dễ tạo hình (Giuliani & cs., 2020). Các chất phtalates là những chất cấm sử dụng do tác động đến hormone gây rối loạn nội tiết, ảnh

hưởng đến sức khỏe sinh sản, gây ung thư và rất khó phân hủy phải mất từ 200-500 năm mới có thể phân hủy một túi nilon trong môi trường tự nhiên, do vậy gây ảnh hưởng rất lớn đến môi trường và sức khỏe con người. Tại hội thảo khoa học Kiểm soát ô nhiễm môi trường do sử dụng túi nilon khó phân hủy năm 2018 tại Quy Nhơn, các nhà khoa học dùng cụm từ “ô nhiễm trắng” để nói về hiện tượng ô nhiễm do túi nilon gây ra thảm họa đối với môi trường. Trên thế giới và cả ở Việt Nam, việc hạn chế sử dụng và tiến tới thay thế các bao bì, túi nilon bằng các loại vật liệu mới an toàn, thân thiện với sức khỏe và môi trường đang ngày càng được quan tâm (Rai & cs., 2017).

Chitosan là một polysaccharide mạch thẳng, có nguồn gốc từ các thành phần cấu trúc của vỏ các loài giáp xác như tôm, cua... đã được nhiều nhóm nghiên cứu làm màng bảo quản thực phẩm do có đặc tính kháng khuẩn, kháng nấm tự nhiên (Châu Văn Minh & Bùi Văn Miên, 1997). Màng bọc thực phẩm được tạo ra bằng cách kết hợp chitosan và các chất khác nhau như glycerol, gelatin, polysaccharide, tinh bột để cải tiến tính chất vật lý và cơ học của màng: Màng chitosan kết hợp glycerol (Lê Hồ Khánh Hỷ & cs., 2016; Priyadarshi & cs., 2018), màng chitosan-gelatin (Lê Thị Minh Thùy, 2008; Atmaka & cs., 2018). Màng chitosan kết hợp tinh bột ngô (Bof & cs., 2016). Sự kết hợp giữa lignin và chitosan để tạo màng bao gói thực phẩm có khả năng kháng khuẩn Gram âm và Gram dương đã được chứng minh trong nghiên cứu của Sudheer Rai (Rai & cs., 2017). Các màng bọc từ chitosan đã được chứng minh có khả năng bảo quản các loại trái cây, bảo quản các loại hải sản, cá ngừ, thực phẩm tươi sống, trứng và thịt... màng bọc chitosan vừa giúp kéo dài thời gian bảo quản mà không cần sử dụng các hóa chất, đồng thời giảm tỉ lệ thất thoát chất dinh dưỡng so với màng nilon do khi tạo thành lớp phủ chặt chẽ (Lê Hồ Khánh Hỷ & cs., 2016; Lê Thị Minh Thùy & cs., 2008; Muxika & cs., 2017). Màng chitosan có khả năng ngăn cản được các phân tử khí xuyên qua, đồng thời do có khả năng kháng nấm và kháng khuẩn tự nhiên (Muxika & cs., 2017; Trần Thị Luyến & Lê Thanh Long, 2007).

Lignin hay còn gọi linhin là một hợp chất cao phân tử có cấu trúc vô định hình chiếm khoảng 1/3 sinh khối của cây trồng. Đây là một loại polyme phức tạp, bao quanh tế bào thực vật, tạo độ cứng cho cây trồng. Hàm lượng lignin trong gỗ khoảng 20-40% (Novaes & cs., 2010), bã mía khoảng 25-32% (Haghdan & cs., 2016), rơm rạ khoảng 20% (Vũ Đình Ngọc & cs., 2017)... Trong ngành công nghiệp sản xuất giấy và bột giấy, quá trình sản xuất khi bột gỗ được xử lý kiềm để tách lấy xenlulo còn sinh ra một lượng lớn chất thải hữu cơ chứa lignin trong dung dịch bị thải bỏ gây ô nhiễm môi trường.

Bã mía là một trong những loại sợi phong phú và có sẵn trong tự nhiên, một phụ phẩm từ các nhà máy mía đường sau khi ép mía để sản xuất đường. Trong bã mía chủ yếu chứa cellulose, hemicellulose và lignin được kết nối với nhau tạo thành tế bào vững chắc Trên thế giới, lượng bã mía những năm gần đây lên tới  $1,7 \times 10^3$  triệu tấn/năm. Brazil là nước sản xuất mía lớn nhất thế giới, lượng bã mía ghi nhận tới 175 triệu tấn/năm vào năm 2011. Ở nhiều nước như Mỹ, Cuba, Ai Cập đã sử dụng bã mía làm bột giấy và sản xuất giấy công nghiệp, vật liệu ván ép, sản xuất hộp đựng thực phẩm thay thế hộp xốp (Motaung & cs., 2017). Việt Nam cũng là quốc gia xuất khẩu mía đường lớn thứ 4 trong khu vực Đông Nam Á. Lượng bã mía thải ra mỗi năm rất lớn nếu không được xử lý sẽ gây ô nhiễm môi trường. Do đó, nếu bã mía được tận dụng để tạo các sản phẩm như giấy, hộp đựng thực phẩm, màng bọc thực phẩm, nhiên liệu sinh học... vừa mang lại giá trị kinh tế vừa góp phần giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường. Trong quá trình sản xuất giấy từ bã mía, các nhà máy chỉ quan tâm lấy bột giấy bã mía còn phần nước thải chứa một lượng lớn lignin thường không được tận dụng mà xả ra môi trường gây ô nhiễm môi trường nước.

Trên thế giới và Việt Nam, các loại màng bọc thực phẩm được tạo ra từ chitosan kết hợp với phụ gia như gelatin, glycerol, tinh bột... đã được nhiều tác giả nghiên cứu. Tuy nhiên, ở Việt Nam chưa có công trình nghiên cứu về khả năng tạo màng giữa chitosan và lignin được công bố. Do đó, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu thu hồi lignin từ bã mía theo phương pháp thủy

phân kiềm, đồng thời kết hợp giữa lignin với chitosan để tạo màng sinh học có khả năng chống thấm và kháng khuẩn tốt có thể ứng dụng trong đời sống.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Toàn bộ thân mía sau khi được cạo lớp vỏ mỏng bên ngoài, cho qua máy ép để lấy nước bán tại các cửa hàng nước mía ở khu vực Gia Lâm, phần bã mía còn lại được thu gom đem về phòng thí nghiệm rửa sạch dưới vòi nước, cắt thành các đoạn ngắn cỡ 2-3cm, sấy khô ở nhiệt độ 70°C trong 24h đến độ ẩm 15%. Bã mía khô cho vào máy nghiền nhỏ và rây qua rây có kích thước lỗ sàng 5mm. Bột bã mía được bảo quản trong túi nilon kín.

Hóa chất sử dụng: Bột chitosan được mua từ công ty TNHH MTV chitosan VN, NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, axit axetic (độ tinh khiết phân tích ≥ 99,9%).

Dung dịch chitosan 2% (w/v) được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2g chitosan trong 100 ml dung dịch axit axetic 2%, khuấy đều và để qua đêm cho chitosan tan hoàn toàn (Lê Hồ Khánh Hỷ & cs., 2016; Rai & cs., 2017).

Dung dịch lignin 0,5% (w/v) được chuẩn bị bằng cách hòa tan 1g lignin khô trong 200ml dung dịch NaOH 0,1M (Ajao & cs., 2018).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Ảnh hưởng của các điều kiện công nghệ đến khối lượng lignin thu được từ bã mía (Rai & cs., 2017; Vũ Đình Ngộ & cs., 2017; Wunna & cs., 2017)

*TN1. Ảnh hưởng của pH đến khả năng kết tủa lignin*

Cho 50g bã mía cho vào cốc thủy tinh chịu nhiệt dung tích 2.000ml có chứa 700ml dung dịch NaOH (tỉ lệ NaOH/bã mía 1/10 w/w), đun sôi hỗn hợp trong thời gian 1h. Dịch lọc thu được sau khi đun được chia vào 4 cốc thủy tinh, mỗi cốc chứa 80ml dung dịch. Cho từ từ từng giọt H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% vào dung dịch để điều chỉnh pH từ 1 đến 4. Ly tâm tách phần kết tủa ra khỏi dung

dịch và sấy khô. Cân khối lượng lignin rắn thu được sau khi sấy.

#### *TN2. Khảo sát thời gian thủy phân bã mía*

Chuẩn bị 4 cốc chịu nhiệt có dung tích 2.000ml, cho vào mỗi cốc 5g NaOH rắn sau đó thêm vào các cốc 700ml nước cất và 50g bã mía khuấy đều. Đun sôi hỗn hợp bã mía trong cốc theo khoảng thời gian khảo sát là 30 phút; 1h; 2h; 3h. Hút 80ml dung dịch sau thủy phân cho vào cốc thủy tinh, thêm từ từ dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% đến pH = 2 để tách lignin ra khỏi dung dịch. Ly tâm tách phần kết tủa ra khỏi dung dịch và sấy khô thu khối lượng lignin rắn.

#### *TN3. Khảo sát tỉ lệ NaOH/bã mía*

Lấy 3 cốc thủy tinh chịu nhiệt dung tích 2000ml đánh số thứ tự từ 1 đến 3. Cân lần lượt 2,5g, 5g và 10g NaOH rắn cho vào từng cốc tương ứng, sau đó thêm 700ml nước cất và 50g bã mía (tương đương với các tỉ lệ khối lượng NaOH/ bã mía 1/20, 1/10 và 1/5 w/w). Tiến hành đun sôi hỗn hợp bã mía trong thời gian 2h sau đó hút 80ml dung dịch sau thủy phân và thêm từ từ dung dịch axit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% đến pH = 2 để kết tủa lignin. Ly tâm tách kết tủa và sấy khô để thu lignin rắn.

#### 2.2.2. Nghiên cứu quá trình tạo màng từ chitosan và lignin

Dung dịch chitosan và lignin được phối trộn theo các tỉ lệ khác nhau và được đổ vào khuôn nhựa mica có cùng kích thước 26 × 20 × 3cm. Sau đó được sấy tại nhiệt độ 40°C đến khi màng khô và bóc ra khỏi khuôn (Lê Hồ Khánh Hỷ & cs., 2016, Rai & cs., 2017).

### 2.3. Phương pháp phân tích

#### 2.3.1. Xác định độ ẩm màng (Rai & cs., 2017)

Màng được xác định khối lượng trước và sau khi sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ 80°C trong 48h. Độ ẩm màng được tính theo công thức:

$$\text{Độ ẩm màng (\%)} = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100$$

Trong đó m<sub>0</sub>: là khối lượng màng trước khi sấy; m<sub>1</sub>: là khối lượng màng sau khi sấy khô.

**Bảng 1. Các công thức phối trộn màng chitosan và lignin**

| Thể tích dung dịch 150ml                   | Thể tích dung dịch 200ml                   |
|--|--|
| CT1.1 Chitosan                             | CT2.1 Chitosan                             |
| CT1.2. Tỷ lệ chitosan : lignin (2C:1L v/v) | CT2.2. Tỷ lệ chitosan : lignin (2C:1L v/v) |
| CT1.3. Tỷ lệ chitosan : lignin (1C:1L v/v) | CT2.3. Tỷ lệ chitosan : lignin (1C:1L v/v) |
| CT1.4. Tỷ lệ chitosan : lignin (1C:2L v/v) | CT2.4. Tỷ lệ chitosan : lignin (1C:2L v/v) |
| CT1.5. Lignin                              | CT2.5. Lignin                              |

### 2.3.2. Xác định độ dày của màng (TCVN 10101:2013)

Sử dụng kính hiển vi điện tử quét (SEM, Model NANOSEM 450, Hà Lan) để đo độ dày màng với độ chính xác đến  $\pm 0,001\text{mm}$ . Đo tại các vị trí của 4 góc màng và giữa màng tại 10 điểm cách đều nhau dọc theo chiều rộng màng. Giá trị trung bình cộng nằm trong dung sai cho phép  $\pm 10\%$ .

### 2.3.3. Xác định lực phá vỡ màng

Mẫu được cắt ra thành những mảnh nhỏ, rồi được gắn chặt vào một vòng tròn có đường kính 50mm. Sau đó, dùng một thanh hình trụ bằng thép đặt chính giữa ngay phía trên màng để lực tác dụng vào bề mặt màng (phần tiếp xúc với màng là hình tròn đường kính 7mm). Lực tương tác với màng được ghi lại bằng đồng hồ có độ chính xác đến 0,1N, giới hạn đo là 100N. Từ từ tăng giá trị của lực tác dụng vào màng từ 0 đến 100N, bước nhảy là 0,1N để xác định lực phá vỡ màng.

### 2.3.4. Xác định tính chống thấm của màng (TCVN 9067-4-2012)

Khả năng chống thấm của màng được xác định bằng cách đặt các màng lên trên phễu và rót vào màng 30 ml nước, quan sát khả năng nước chảy qua lớp màng của các công thức mỗi giờ trong 7 ngày.

### 2.3.5. Thử khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp đục lỗ thạch

Công thức tạo màng có khả năng chống thấm tốt nhất được đem thử khả năng kháng khuẩn trên hai chủng vi sinh vật. Vi khuẩn Gram (+) *Staphylococcus aureus* và vi khuẩn

Gram (-) *Escherichia coli*. Các chủng vi sinh vật được cất ở tủ -80°C và hoạt hóa để đạt nồng độ  $10^6$  cfu/ml trước khi tiến hành thí nghiệm.

Tiến hành thí nghiệm bằng cách sử dụng pipet hút dung dịch vi sinh vật đã được hoạt hóa và trang đều trên bề mặt thạch, đục lỗ trên bề mặt thạch. Hút lần lượt 50 $\mu\text{l}$  dung dịch mẫu nhỏ vào giếng thạch. Đậy nắp đĩa petri lại và cho vào tủ ấm 37°C để vi khuẩn phát triển trong 18-24h. quan sát và đo đường kính vòng vi khuẩn trên đĩa thạch.

### 2.3.6. Xử lý số liệu

Kết quả thí nghiệm được xử lý trên phần mềm Minitab 17 theo phương pháp phân tích phương sai ANOVA một yếu tố. Các giá trị trung bình được so sánh theo chuẩn Turkey. Kết quả thí nghiệm được biểu diễn bằng đồ thị Microsoft Excel.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

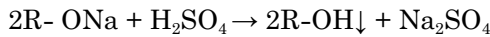
### 3.1. Ảnh hưởng các yếu tố đến khối lượng lignin thu hồi từ bã mía

#### 3.1.1. Ảnh hưởng của pH đến khả năng kết tủa lignin

Bã mía sau khi thủy phân kiềm sẽ phá vỡ các liên kết của hợp chất cao phân tử lignin chuyển thành dạng muối R-ONa trong dung dịch. Do đó, để kết tủa lignin từ dung dịch cần điều chỉnh về môi trường axit. Khối lượng lignin thu được khi thay đổi pH thể hiện tại bảng 2.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy pH ảnh hưởng trực tiếp tới khối lượng lignin thu hồi được. Khối lượng lignin thu được ở 4 giá trị pH đều khác nhau có ý nghĩa thống kê. Tại giá trị pH = 2,

khối lượng lignin thu được là nhiều nhất. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của nhóm tác giả Vũ Đình Ngô (Vũ Đình Ngô & cs., 2017) khi tiến hành thu hồi lignin từ rơm sử dụng axit HCl để điều chỉnh dịch lọc về môi trường pH = 2, sản phẩm lignin thu được có màu nâu đen. Phương trình phản ứng để thu hồi lignin được biểu diễn như sau:



Do khi thủy phân trong môi trường kiềm, các liên kết ete bị phá vỡ, các hợp chất cao phân tử lignin bị cắt đứt nhanh chóng thành dạng muối natri R-ONa, sau đó lignin được tách ra khỏi dung dịch bằng axit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> chuyển thành dạng kết tủa ROH (quá trình Kraft lignin tách lignin từ dịch đen sản xuất giấy tại pH = 2,5). Tại pH = 4 nồng độ axit chưa đủ lớn để kết tủa hoàn toàn lignin nên khối lượng lignin thu được là thấp nhất. Do đó, chúng tôi chọn môi trường pH = 2 để thu hồi lignin từ dung dịch thủy phân bã mía để khảo sát các điều kiện tiếp theo.

### 3.1.2. Khảo sát thời gian thủy phân bã mía

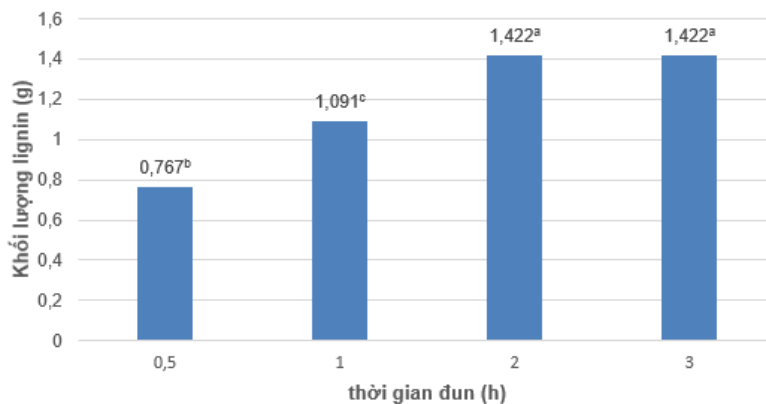
Khi thời gian đun càng kéo dài thì lượng lignin được tách ra khỏi bã mía càng nhiều (Hình 1). Khi tăng thời gian đun từ 0,5h đến 2h khối lượng lignin thu được tăng gấp 2 lần (từ 0,767g lên 1,422g). Tuy nhiên khi tiếp tục kéo dài thời gian thủy phân lên 3h thì khối lượng lignin thay đổi không có ý nghĩa thống kê với mức tin cậy 95% so với thời gian đun 2h.

Do đó, để tiết kiệm thời gian và năng lượng, chỉ cần tiến hành thủy phân bã mía trong kiềm với thời gian 2h. Quá trình xử lý kiềm làm phá vỡ tế bào do hòa tan các lignin, hemicellulose và cắt đứt các liên kết ete, este giữa lignin với hemicellulose để phân tách các liglocellulose thành lignin, hemicellulose, cellulose. Quá trình xử lý kiềm để tách lignin từ bã mía, khi tăng nhiệt độ đun lên 121°C, nhóm tác giả Sudheer Rai (Rai & cs., 2017) chỉ cần thủy phân trong 30 phút với nồng độ NaOH 1%. Tại nhiệt độ thủy phân kiềm NaOH 1M thấp tại 30°C thì thời gian cần kéo dài lên tới 18 h để tách được lignin ra khỏi rơm rạ (Xiao & cs., 2001).

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của pH đến khối lượng lignin

| Giá trị pH                | 1                          | 2                          | 3                          | 4                          |
|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Khối lượng lignin (g)     | 0,965                      | 1,097                      | 1,018                      | 0,784                      |
|                           | 0,962                      | 1,090                      | 1,020                      | 0,777                      |
|                           | 0,960                      | 1,086                      | 1,002                      | 0,781                      |
| Khối lượng trung bình (g) | 0,962 <sup>a</sup> ± 0,002 | 1,091 <sup>b</sup> ± 0,005 | 1,013 <sup>c</sup> ± 0,006 | 0,781 <sup>d</sup> ± 0,004 |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang các chữ khác nhau (a, b, c, d) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).



Ghi chú: Các giá trị trung bình mang các chữ khác nhau (a, b, c) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

**Hình 1.** Ảnh hưởng của thời thủy phân đến khối lượng lignin

**Bảng 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ khối lượng NaOH/bã mía**

| Tỉ lệ NaOH/bã mía (w/w) | 1/20                       | 1/10                       | 1/5                        |
|-------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Khối lượng Lignin(g)    | 0,908 <sup>b</sup> ± 0,002 | 1,422 <sup>a</sup> ± 0,002 | 1,423 <sup>a</sup> ± 0,003 |

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang các chữ khác nhau (a, b) là khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

### 3.1.3. Khảo sát tỉ lệ NaOH/ bã mía

Mục đích của quá trình thủy phân kiềm sẽ làm phá vỡ thành tế bào do kiềm hòa tan các hemicellulose, lignin, phân hủy các liên kết este do đó khi tăng nồng độ NaOH thì quá trình thủy phân hemicellulose, độ hòa tan lignin trong NaOH và sự trương nở cấu trúc cellulose sẽ tăng lên tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình hòa tan lignin ra khỏi bã mía. Khối lượng lignin thu được trong TN3 được thể hiện tại bảng 3.

Bảng 3 cho thấy khi tăng khối lượng NaOH từ 2,5g lên 5g khối lượng lignin thu được tăng từ 0,908g lên 1,422g khoảng 1,56 lần, nhưng tiếp tục tăng gấp đôi khối lượng NaOH thì sự thay đổi không đáng kể do khi nồng độ NaOH quá cao sẽ làm tăng độ nhớt dung dịch làm giảm tốc độ khuếch tán ion OH<sup>-</sup> vào bên trong nguyên liệu, nên khả năng cắt các liên kết sẽ trở lên chậm lại, hiệu quả xử lý không tăng thêm. Do đó, tỉ lệ NaOH/bã mía là 1/10 w/w được lựa chọn để thủy phân bã mía. Nhóm nghiên cứu Wunna đã khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình xử lý kiềm để tách lignin từ bã mía đã nhận thấy khi thay đổi đồng thời các yếu tố nhiệt độ, nồng độ kiềm với thời gian sẽ ảnh hưởng đến khối lượng lignin thu được. Điều kiện tối ưu tìm được khi thủy phân để thu hồi lignin ở nhiệt độ 120°C trong 1h với tỉ lệ khối lượng NaOH 2% và tỉ lệ chất rắn: lỏng là 1:20 w/v (Wunna & cs., 2017).

### 3.2. Hình ảnh màng sinh học từ chitosan và lignin

Với 10 công thức phối trộn tỉ lệ giữa chitosan và lignin thì công thức CT1.5 và CT2.5 khi chỉ có dung dịch lignin không tạo được màng. Các tỉ lệ phối trộn chitosan với lignin và công thức chỉ chứa chitosan đều thành các màng mỏng và bóng, các màng được làm khô ở nhiệt độ 40°C, màng có thể bóc ra dễ dàng khỏi khuôn nhựa. Hình 2 là ảnh một màng thu được.

Màng chỉ chứa chitosan có màu trắng ngà, sáng, bề mặt nhẵn, bóng. Các màng được tạo bởi dung dịch hỗn hợp chitosan và lignin có màu hơi vàng nâu, do thành phần lignin được phối trộn vì bột lignin khi được tách ra từ bã mía và hòa tan trong dung dịch NaOH 0,1M có màu nâu. Khi hàm lượng lignin trong hỗn hợp càng nhiều thì màu sắc màng càng đậm. Bề mặt các màng này cũng đều nhẵn và bóng. Phương pháp tạo chế tạo màng đơn giản, chitosan được hòa tan trong dung dịch axit axetic loãng 2% và lignin tan trong NaOH 0,1M sau khi bay hơi để lại lớp màng trên khuôn nhựa, dễ dàng bóc tách ra khỏi khuôn.

### 3.3. Các đặc tính của màng

Sau khi màng được hình thành, tiến hành xác định các chỉ tiêu độ ẩm màng bằng phương pháp sấy ở nhiệt độ 80°C, xác định độ dày màng bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét và lực phá vỡ màng theo các công thức phối trộn tỉ lệ giữa chitosan và lignin được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4 cho thấy độ ẩm màng dao động trong khoảng 15-25%, màng có tỉ lệ chitosan : lignin (2C:1L v/v) tương ứng công thức CT1.2.và CT2.2 có độ ẩm cao hơn các công thức màng còn lại và màng dày hơn có độ ẩm cao hơn. Với công thức màng CT1.4 là màng mỏng nhất độ dày 22,12µm có lực phá vỡ màng nhỏ nhất từ 130.000 N/m<sup>2</sup>, khi giảm tỉ lệ lignin trong màng xuống với tỉ lệ chitosan: lignin (1C:1L v/v) tại CT1.3 thì lực phá vỡ tăng lên gấp khoảng 2 lần. Màng chỉ có chứa chitosan CT1.1 có độ ẩm thấp nhất nhưng có độ dày lớn 50,97µm và lực phá vỡ màng lớn 624.000 N/m<sup>2</sup>. Khi thể tích đổ màng 200ml, độ dày và lực phá vỡ tăng lên, tương ứng với CT2.1 màng chỉ chứa chitosan có lực phá vỡ tới 728.000 N/m<sup>2</sup> khi màng có độ dày 55,10µm. So sánh với kết quả nghiên cứu của tác giả Bùi Văn Miên & cs.

(2003), màng hình thành từ chitosan/ PEG-EG (với nồng độ phụ gia tối ưu là 10% so với chitosan, tỉ lệ PEG : EG là (1:1) thì lực phá vỡ màng là 6,86 kg/cm<sup>2</sup>, với độ dày màng 52,6µm, nếu màng không được bổ sung chất phụ gia, lực phá vỡ màng chỉ 1,66 kg/cm<sup>2</sup> thấp hơn từ 6-7 lần

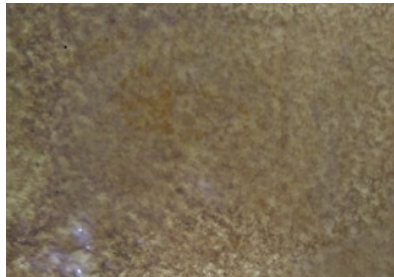
so với kết quả của nghiên cứu không cần bổ sung chất phụ gia với độ dày màng chitosan 50,97 µm ở CT1.1 có lực phá vỡ 624.000 N/m<sup>2</sup> (tương đương 6,24 kg/cm<sup>2</sup>) và màng chitosan dày 55,10µm ở CT2.1 có lực phá vỡ màng 728.000 N/m<sup>2</sup> (tương đương 7,28 kg/cm<sup>2</sup>).



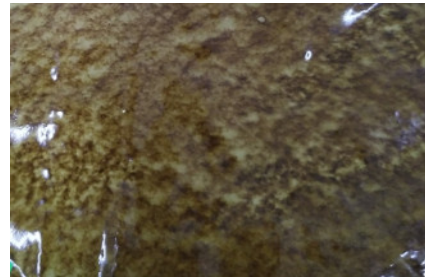
CT1.1



CT1.2



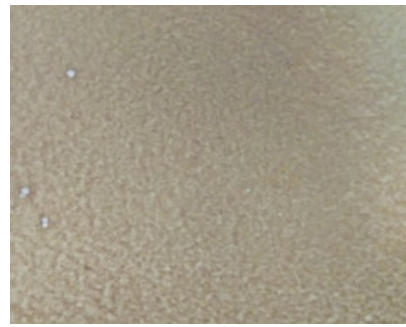
CT1.3



CT1.4



CT1.5



CT2.2

**Hình 2. Màng sinh học từ chitosan và màng phối trộn chitosan/lignin**

**Bảng 4. Một số chỉ tiêu màng tạo bởi chitosan và lignin**

| Công thức màng                      | Tổng thể tích đổ màng 150ml |         |         |         | Tổng thể tích đổ màng 200ml |         |         |         |
|-------------------------------------|-----------------------------|---------|---------|---------|-----------------------------|---------|---------|---------|
|                                     | CT1.1                       | CT1.2   | CT1.3   | CT1.4   | CT2.1                       | CT2.2   | CT2.3   | CT2.4   |
| Độ ẩm (%)                           | 14,99                       | 24,46   | 20,68   | 18,35   | 16,31                       | 25,34   | 22,08   | 19,81   |
| Lực phá vỡ màng (N/m <sup>2</sup> ) | 624.000                     | 286.000 | 259.000 | 130.000 | 728.000                     | 702.000 | 312.000 | 156.000 |
| Độ dày (µm)                         | 50,97                       | 47,88   | 27,19   | 22,12   | 55,10                       | 49,41   | 30,13   | 27,25   |

Ghi chú: C: chitosan, L: lignin.



**Bảng 5. Khảo sát khả năng chống thấm của màng**

| Công thức màng  | Tổng thể tích đồ màng : 150ml |                      |                 |                  | Tổng thể tích đồ màng : 200ml |                      |                 |                  |
|-----------------|-------------------------------|----------------------|-----------------|------------------|-------------------------------|----------------------|-----------------|------------------|
|                 | CT1.1                         | CT1.2                | CT1.3           | CT1.4            | CT2.1                         | CT2.2                | CT2.3           | CT2.4            |
| Tính chống thấm | Dễ thấm nước                  | Thấm nước sau 3 ngày | Không thấm nước | Thấm nước sau 1h | Dễ thấm nước                  | Thấm nước sau 3 ngày | Không thấm nước | Thấm nước sau 3h |



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*

**Hình 3. Hình ảnh đo đường kính vòng vô khuẩn *S. aureus* và *E. coli***

### 3.4. Xác định khả năng chống thấm nước của màng

Khảo sát khả năng chống thấm nước của màng được đánh giá theo theo TCVN 9067-4-2012. Kết quả nghiên cứu tính chống thấm của các tỉ lệ phối trộn giữa chitosan và lignin được thể hiện tại bảng 5.

Bảng 5 cho thấy, nếu màng chỉ tạo bởi chitosan CT1.1 và CT2.1 có lực phá vỡ màng lớn nhất nhưng rất dễ thấm nước, khi rót nước vào màng thì màng đã thấm nước và trương lên, sau đó nước chảy qua màng dễ dàng. Các công thức được phối trộn thêm lignin thì đã kéo dài được thời gian giữ nước trên màng. Màng CT1.4 và CT2.4 có tỉ lệ chitosan : lignin (1C:2L v/v) thì lực phá vỡ màng là nhỏ nhất và thấm nước sau khoảng thời gian từ 1-3h. Với công thức tạo màng CT1.2 và CT2.2 chỉ thấm nước sau thời gian 3 ngày, màng được tạo theo CT1.3 và

CT2.3 khi tỉ lệ chitosan : lignin là (1C :1L v/v) độ dày màng trong khoảng 27,19-30,13  $\mu\text{m}$  thì đều có khả năng chống thấm nước tốt, sau thời gian quan sát 7 ngày, nước vẫn được giữ trên màng. Do chitosan khi hòa tan trong dung dịch axit có điện tích dương, còn lignin khi hòa tan trong dung dịch kiềm phân tử lignin mang điện tích âm do bị hydroxyl và carboxyl hóa. Khi phối trộn chitosan với lignin với nhau chúng tạo liên kết ngang tạo nên một lớp phủ polymer chặt chẽ (Santam & cs., 2018; Ajao & cs., 2018). Khi tỉ lệ của chitosan với lignin thích hợp vừa để trung hòa phần axit và kiềm thì tạo thành màng có khả năng chống thấm tốt nhất.

### 3.5. Khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp đục lỗ thạch

Kết quả thử khả năng kháng khuẩn trên hai chủng vi khuẩn Gram (+) *Staphylococcus*



*aureus* và vi khuẩn Gram (-) *Escherichia coli* của công thức tạo màng CT1.1 công thức có khả năng chống thấm tốt nhất cho đường kính vòng vô khuẩn lần lượt là 18mm và 16mm. Kết quả phân tích cho thấy khi phối trộn giữa chitosan và lignin để tạo màng có khả năng kháng khuẩn tốt, có thể sử dụng để làm màng ứng dụng trong bao gói sản phẩm. Kết quả thử vi khuẩn được thể hiện trên hình 3.

Kiểm tra hai chủng vi khuẩn Gram (+) *Staphylococcus aureus* và vi khuẩn Gram (-) *Escherichia coli* được a cho thấy khi phối trộn chitosan và lignin để tạo màng sinh học có hoạt tính ức chế vi sinh vật. Trong kết quả nghiên cứu của Rai & cs. (2017), khi chỉ có dung dịch lignin nồng độ 200 $\mu$ g có khả năng kháng khuẩn Gram (+) *Bacillus subtilis* và vi khuẩn Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa* với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 19mm và 14mm, khi kết hợp giữa chitosan và lignin (200 $\mu$ g) để tạo màng đã tăng khả năng kháng khuẩn Gram (-) lên 28mm và Gram (+) là 30mm. Do vi khuẩn Gram dương thường nhạy với các hợp chất vòng thơm và các chất kháng sinh hơn vi khuẩn Gram âm vì trong thành tế bào vi khuẩn gram dương giàu lipoprotein và phospholipid nên có đường kính vô khuẩn lớn hơn. Màng chitosan và lignin được ứng dụng làm bao bì thực phẩm giúp bảo quản và kéo dài thời hạn của thực phẩm.

#### 4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chế tạo thành công màng sinh học khi kết hợp chitosan với lignin, mở ra một hướng nghiên cứu mới về vật liệu thân thiện môi trường từ phụ phẩm nông nghiệp. Trong các tỉ lệ phối trộn chitosan và lignin thì công thức tạo màng CT1.3 và CT2.3 có tỉ lệ chitosan : lignin 1C:1L (v/v) có khả năng chống thấm nước tốt nhất, màng có khả năng kháng khuẩn với hai chủng vi khuẩn *E. coli* và *S. aureus* với đường kính vòng vô khuẩn lần lượt 16mm và 18mm. Các màng sinh học được tạo thành rất mỏng độ dày dao động trong khoảng 22-55 $\mu$ m nhưng có lực phá vỡ màng lớn từ 130.000-728.000 N/m<sup>2</sup> mà không cần bổ sung thêm chất phụ gia và chất hóa dẻo.

#### LỜI CẢM ƠN

Kết quả nghiên cứu của bài báo nhận được một phần kinh phí hỗ trợ từ đề tài cấp Học viện với mã số T2019-04-18. Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn cán bộ, sinh viên khoa Môi Trường, khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và Khoa Vật lý, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội. Viện Hóa học, Viện Hàn lâm và Khoa học Việt Nam đã hỗ trợ để thực hiện nghiên cứu.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ajao O., Jeaidi J., Benali M., Restrepo M.A., Mehdi El M., Boumghar Y. (2018). Quantification and variability analysis of lignin optical properties for colour-dependent industrial applications. *Molecules*. 23(2) : 377.
- Atmaka W., Yudhistira B. & Putro M.I.S. (2018). Characteristic study of chitosan addition in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) bone base gelatin film. *Conference series Earth and Environmental Science*. 142. DOI:10.1088/1755-1315/142/1/012028.
- Bof M.J., Jimenez A., Locaso D.E., Garcia M.A & Chiralt A. (2016). Grapefruit seed extract and lemon essential oil as active agents in corn starch-chitosan blend films. *Food and Bioprocess Technonogy*. 9(12): 2033-2045.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2012). TCVN 9067-4-2012: quy định phương pháp xác định độ thấm nước dưới áp lực thủy tĩnh của tấm trải chống thấm trên cơ sở bitum biến tính được gia cường bằng sợi hữu cơ và/hoặc sợi vô cơ.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2013). TCVN 10101:2013 - Quy định phương pháp xác định độ dày của mẫu thử màng hoặc tấm chất dẻo bằng phương pháp quét cơ học.
- Bùi Văn Miên & Nguyễn Anh Trinh (2004). Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến độ dày và áp suất phá vỡ của màng chitosan. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp*. 3: 1-6.
- Châu Văn Minh, Phạm Hữu Điền, Đặng Lan Hương, Trịnh Đức Hưng & Hoàng Thanh Hương (1997). Sử dụng chitosan làm chất bảo quản thực phẩm tươi sống. *Tạp chí Hóa học*. 4: 75-78.
- Giuliani A., Zuccarini M., Cichelli A., Khan H & Reale M (2020). Critical review on the presence of Phthalates in food and evidence of their biological impact. *International Journal of Enviromental research and public health*. 17(16): 5655.

- Haghdan S., Rennecker S. & Smith G.D. (2016). Ligin in polymer Composites. Journal and Books. pp. 1-11.
- Lê Hồ Khánh Hỷ, Nguyễn Thu Hồng, Đào Việt Hà, Phạm Xuân Kỳ, Phạm Bảo Vi & Đoàn Thị Thiết (2016). Chế tạo màng chitosan/ glycerol và chitosan/glycerol bổ sung nanochitosan trong bảo quản thực phẩm cá thu. *Tuyển Tập Nghiên Cứu Biển*. 22: 48-58.
- Lê Thị Minh Thủy (2008). Nghiên cứu phối trộn chitosan-gelatin làm màng bọc thực phẩm bao gói bảo quản phi lê cá ngừ đại dương. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*. 1:147- 153.
- Motaung E.T., Mochane J.M. (2017). Systematic review on recent studies on sugar cane bagasse and bagasse cellulose polymer composites. *Journal of thermoplastic composite materials*. 1-17. DOI: 10.1177/0892705717738292.
- Muxika A., Zugasti I., Guerrero P & Caba K. D. L. (2017). Application of chitosan in Food packaging. *Reference Module in Food Science*. 1-12. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.22400-1.
- Novaes E., Kirst M & Chiang V. (2010), Lignin and Biomass: A negative correlation for woof formation and lignin content in trees. *Plant Physiol*. 154(2): 555- 561.
- Priyadarshi R., Sauraj., Kumar B & Negi (2018). Chitosan film incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for extension of green chilli shelf life. *Carbohydrate Polymers*. 1(195): 329: 338.
- Rai S., Dutta P. K & Mehrotra G.K. (2017). Lignin Incorporated Antimicrobial Chitosan Film for Food Packaging Application. *Journal Polymer Material*. 34(1): 171-183.
- Satam C.C., Irvin W.C., Lang W.A., Jallorina R.C.J., Shofner L.M., Reynolds R.J. & Meredith C.J. (2018). Spray-Coated multilayer cellulose nanocrystal-Chitin nanofiber films for barrier applications. *ACS Sustainable chemistry and engineering*. 6 : 10637-10644.
- Trần Thị Luyến & Lê Thanh Long (2007). Nghiên cứu bảo quản trứng gà tươi bằng màng bọc chitosan kết hợp phụ gia. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản, Đại học Nha Trang*. 01: 3-11
- Vũ Đình Ngọc, Trần Thị Hằng & Vũ Đức Cường (2017). Sự ảnh hưởng của các yếu tố tới quá trình tách cellulose và lignin từ rơm rạ bằng phương pháp kiềm. *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*. 22(1): 38-44.
- Wunna K., Nakasaki K & Joseph L. (2017). Effect of alkali pretreatment on removal of lignin from sugarcane bagasse. *Chemical Engineering Transactions*. 56: 1831-1836
- Xiao B., Sun X.F & Sun R. C. (2001). Chemical, structural, and thermal characterization of alkali-soluble lignins and hemicelluloses and cellulose from maize, stems, rye straw, and rice straw. *Polymer Degradation and Stability*. 74(2): 307-319.