

ỨNG DỤNG VI KHUẨN LACTIC TRONG SẢN XUẤT THỬ NGHIỆM NƯỚC TẮY RỬA SINH HỌC TỪ NƯỚC CHUA TÀU HỦ

Luu Minh Châu, Trần Thị Thảo Nguyên, Lý Thị Thùy Duyên, Trần Thị Xuân Nghi,
Lê Quốc Việt, Bùi Hoàng Đăng Long, Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong*

Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học - Đại học Cần Thơ

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm sản xuất thử nghiệm nước tẩy rửa sinh học từ quá trình lên men acid lactic bằng nước chua tàu hủ. Mười chủng vi khuẩn lactic được thử nghiệm lên men acid lactic ở 37°C và được khảo sát khả năng kháng khuẩn với chủng chỉ thị là *Bacillus subtilis*. Điều kiện tối ưu cho quá trình lên men acid lactic được khảo sát và dịch lên men được kiểm tra khả năng tẩy rửa carbohydrate, protein và lipid. Kết quả có 6 chủng (*L. casei* L9, *L. acidophilus* L11 và *L. plantarum* (L26, L30, L37 và L52)) được tuyển chọn do có khả năng lên men tốt với hàm lượng acid lactic trong khoảng 2,78-3,08 g/L. Sáu chủng này đều có đặc tính kháng khuẩn chỉ thị *B. subtilis*. Trong đó, chủng *L. plantarum* L30 có khả năng tạo vùng kháng khuẩn cao nhất, đạt 16,33 mm. Điều kiện thích hợp cho sản xuất acid lactic từ nước chua tàu hủ của chủng L30 được xác định với hàm lượng đường 7,73% (w/v), pH 5,54 và mật số giống chủng 10^7 tế bào/mL với hàm lượng acid lactic đạt 10,03 g/L và 10,39 g/L ở quy mô 100 mL và 1 L. Dịch lên men ở nồng độ acid lactic 1,0% (w/v) có khả năng tẩy rửa carbohydrate, protein và lipid với hiệu suất lần lượt là 96,49%, 93,31% và 90,91%. Hàm lượng chất hoạt động bề mặt phù hợp cho khả năng tẩy rửa được xác định ở 10% CAPB với hiệu suất tẩy rửa carbohydrate, protein và lipid đạt lần lượt là 97,91%, 98,08%, 93,00%.

Từ khóa: Khả năng kháng khuẩn; lên men acid lactic; nước chua tàu hủ; nước tẩy rửa sinh học; vi khuẩn lactic.

Ngày nhận bài: 20/11/2019; Ngày hoàn thiện: 12/6/2020; Ngày đăng: 10/7/2020

APPLICATION OF LACTIC BACTERIA IN EXPERIMENTAL PRODUCTION OF BIO-DETERGENT FROM TOFU SOUR LIQUID

Luu Minh Chau, Tran Thi Thao Nguyen, Ly Thi Thuy Duyen, Tran Thi Xuan Nghi,
Le Quoc Viet, Bui Hoang Dang Long, Nguyen Ngoc Thanh, Huynh Xuan Phong*

Biotechnology Research and Development Institute - Can Tho University

ABSTRACT

This study attempted to produce a bio-detergent from lactic acid fermentation using tofu sour liquid. Ten strains of lactic acid bacteria were tested for lactic acid fermentation at 37°C and were analyzed for antibacterial activity against *Bacillus subtilis* as the indicator strain. The optimal conditions for the fermentation were investigated and the fermentation products were tested for the ability to clean carbohydrate, protein and lipid. As a result, 6 strains (*L. casei* L9, *L. acidophilus* L11, and *L. plantarum* (L26, L30, L37 and L52)) were selected due to their highest fermentation ability with the highest lactic acid content at 2.78-3.08 g/L. These 6 strains all had antibacterial properties with indicating *B. subtilis* and created an antibacterial range of 16.33 mm with *L. plantarum* L30. The suitable conditions for lactic acid production from tofu sour liquid of *L. plantarum* L30 are determined at a sugar content of 7.73% (w/v), pH 5.54 and lactic bacteria inoculum 10^7 cells/mL with a content of lactic acid reached 10.03 g/L and 10.39 g/L at 100 mL and 1 L scales, respectively. Fermented liquid at 1.0% (w/v) lactic acid has the ability to clean carbohydrates, proteins and lipids with the efficiency of 96.49%, 93.31% and 90.91%, respectively. The suitable surfactant content was determined at 10% CAPB, with the carbohydrate, protein and lipid cleaning efficiency at 97.91%, 98.08% and 93.00%.

Keywords: Antibacterial ability; lactic acid fermentation; tofu sour liquid; bio-detergent; lactic acid bacteria.

Received: 20/11/2019; Revised: 12/6/2020; Published: 10/7/2020

* Corresponding author. Email: hxphong@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Từ lâu, vi khuẩn acid lactic (LAB) và acid lactic đã được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực và đóng vai trò quan trọng trong cuộc sống của con người. Bản chất của quá trình lên men acid lactic là sự chuyển hoá đường glucose thông qua quá trình đường phân và lên men tạo thành acid. Acid lactic và một số hợp chất sinh ra trong quá trình lên men như bacteriocin đã được ứng dụng trong bảo quản thực phẩm, y tế, dược phẩm và công nghệ vật liệu [1]. Một trong các ứng dụng tiềm năng của acid lactic là sản xuất chất tẩy rửa. Với đặc tính này, acid lactic làm tăng tính hoà tan của chất bẩn và giảm tương tác với vật cần làm sạch.

Cùng với sự phát triển của hoá học tổng hợp, nước rửa chén là một trong những loại nước tẩy rửa phổ biến nhất trong các gia đình hiện nay. Tuy nhiên, những loại nước tẩy rửa công nghiệp đa phần đều được sản xuất từ các chất hóa học. Những chất này có nguy cơ dẫn đến gây viêm da kích thích và nếu không được rửa sạch sẽ lưu lại trên chén đĩa và đưa vào cơ thể sẽ gây ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khỏe người sử dụng. Do đó, việc thay thế nước rửa chén hoá học bằng các loại hợp chất có nguồn gốc tự nhiên để đảm bảo an toàn sức khỏe là cần thiết.

Tàu hủ là loại thực phẩm phổ biến trong nền ẩm thực Việt Nam và được sản xuất ngày càng nhiều trên quy mô lớn. Tuy nhiên, quá trình sản xuất tàu hủ sinh ra nhiều phụ phẩm trong đó có nước chua tàu hủ, nếu không được xử lý đúng cách, đều bị thải ra môi trường gây ô nhiễm và tạo mùi hôi cho nguồn nước ngọt và nước ngầm. Vì thế, đã có nhiều nghiên cứu làm giảm ô nhiễm như nuôi cấy vi tảo *Chlorella* sp. trong nước thải của ngành công nghiệp tàu hủ [2], sản xuất bio-hydrogen từ chất thải chế biến tempeh và tàu hủ [3]. Nước chua tàu hủ được biết đến như một nguồn dinh dưỡng tốt để sản xuất sinh khối và bacteriocin từ vi khuẩn lactic nhờ vào sự đa dạng các chất dinh dưỡng còn sót lại từ đậu

nành. Từ các vấn đề trên, nghiên cứu được tiến hành với mục đích sử dụng vi khuẩn lactic và nguồn nước chua tàu hủ để lên men lactic. Đồng thời, thử nghiệm sử dụng sản phẩm lên men để tạo ra một loại nước tẩy rửa sinh học vừa hiệu quả, vừa có khả năng kháng khuẩn, cũng là để góp phần hạn chế ô nhiễm môi trường và giảm chi phí xử lý nước thải.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Nước chua tàu hủ được thu từ cơ sở sản xuất tương chao Vĩnh Trân (phường An Hòa, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ) và được lọc qua vải the trước khi sử dụng. Mười chủng LAB được tuyển chọn và lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ gồm *Lactobacillus delbrueckii* L2, *L. plantarum* (L7, L26, L30, L37, L39, L52 và L54) *L. casei* L9, *L. acidophilus* L11 [4]. Môi trường MRS (De Man, Rogosa, Sharpe), môi trường TSB (Trypto-casein soy broth), agar, CaCO₃, NaOH 0,1N (Việt Nam), bovine serum albumin (Rockford, Hoa Kỳ), D-glucose, H₂SO₄, phenol, coomassie brilliant blue (Merck, Đức); akyl polyglucoside (APG), cocamidopropyl betaine (CAPB) (Azelis, Bỉ); Bộ nhuộm Gram, thuốc thử oxidase và catalase (Công ty Nam Khoa Biotech, Việt Nam).

2.2. Tuyển chọn các chủng LAB có khả năng lên men acid lactic trong môi trường nước chua tàu hủ:

Nhằm mục đích đánh giá khả năng lên men của các chủng LAB ở 37°C trong môi trường nước chua tàu hủ. Vi khuẩn được chuẩn bị trong ống nghiệm chứa 5 ml môi trường MRS lỏng và ủ lactic ở nhiệt độ phòng (28-30°C) trong 48 giờ. Nước chua tàu hủ được lọc qua vải the để loại bỏ phần lớn cặn tàu hủ và điều chỉnh pH 6,5 bằng NaOH 1 N. Chủng 1 mL dịch tăng sinh (mật số 10⁹ tế bào/mL) vào các bình tam giác chứa 99 mL nước chua tàu hủ (đã khử trùng ở 121°C trong 20 phút), lắc đều và ủ ở 37°C trong 7 ngày. Hàm lượng acid tổng sau mỗi ngày lên men được xác định bằng phương pháp chuẩn độ sử dụng NaOH 0,1 N [5].

2.3. Khảo sát khả năng tạo chất kháng khuẩn của các chủng LAB: Nhằm khảo sát khả năng kháng khuẩn của các chủng LAB được tuyển chọn trên môi trường MRS. Các bước tiến hành theo phương pháp của Annuk (2003) [6]: cấy các chủng LAB dọc theo một đường thẳng trên đĩa thạch MRS chứa 0,2% CaCO_3 và ủ ở 37°C trong 24 giờ. Tiến hành cấy vi khuẩn *B. subtilis* theo các vạch ngang vuông góc với vạch vi khuẩn đã mọc (cấy từ mép đĩa petri vào trong), tiếp tục ủ ở 37°C trong 24 giờ. Khả năng kháng khuẩn được xác định bằng cách đo khoảng cách vùng kháng khuẩn theo đơn vị mm.

2.4. Tối ưu hóa điều kiện lên men acid lactic trong nước chua tàu hũ: Chủng LAB có khả năng lên men và tạo chất kháng khuẩn tốt nhất từ các thí nghiệm trên được tuyển chọn sử dụng trong thử nghiệm này. Vi khuẩn được tăng sinh trong môi trường MRS cho đến khi mật số đạt 10^9 tế bào/mL. Thí nghiệm được thực hiện với 99 mL nước chua tàu hũ lên men ở 37°C với 3 nhân tố: mật số giống chủng (10^5 , 10^6 và 10^7 tb/mL), hàm lượng đường ban đầu (3, 6 và 9%) và pH (5, 6 và 7). Sau đó, tiến hành thử nghiệm lên men acid lactic từ nước chua tàu hũ ở quy mô 1 lít.

2.5. Khảo sát khả năng tẩy rửa của dịch lên men acid lactic từ nước chua: Nhằm khảo sát khả năng tẩy rửa của dịch lên men acid lactic đối với 3 yếu tố gồm carbohydrate (sucrose), protein (yeast extract) và lipid (dầu đậu nành). Đũa thủy tinh khoảng 2 cm được làm bẩn với đường, protein và lipid. Tiếp theo, rửa đũa thủy tinh bằng cách cho đũa vào trong dịch lên men, lắc trong 10 phút, sau đó chuyển vào trong bình tam giác chứa nước máy, tiếp tục lắc trong 5 phút. Cuối cùng xác định lượng bám có trên bề mặt đũa thủy tinh của 3 yếu tố khảo sát. So sánh khả năng tẩy rửa của dịch lên men với nước tẩy rửa hóa học và sinh học trên thị trường. Sử dụng phương pháp Phenol – Sulfuric xác định hàm lượng đường [7], xác định hàm lượng protein bằng phương pháp Bradford [8] và dựa trên chỉ số xà phòng để xác

định hàm lượng lipid [9]. Hiệu suất tính dựa trên lượng chất bẩn bám trên bề mặt đũa trước và sau khi rửa. Trong đó a là lượng chất bẩn bị loại bỏ, b là lượng chất bẩn bám ban đầu.

$$H = \frac{a}{b} \times 100(\%)$$

2.6. Khảo sát ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt đến khả năng tẩy rửa của dịch lên men: Nhằm khảo sát hàm lượng chất hoạt động bề mặt bổ sung thêm vào dịch lên men cho khả năng tạo bọt và giảm sức căng bề mặt của chất bẩn. Thử nghiệm được tiến hành với 2 loại chất hoạt động bề mặt có nguồn gốc tự nhiên gồm APG và CAPB ở 2 nồng độ 10% và 15%.

2.7. Phân tích và xử lý kết quả: Kết quả được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies Inc., Hoa Kỳ).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khả năng lên men acid lactic của các chủng LAB trong môi trường nước chua tàu hũ ở 37°C

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, sau 1 ngày lên men, hàm lượng acid tăng dần, đạt từ 1,88 g/L đến 2,85 g/L. Nhìn chung, hàm lượng acid lactic sinh ra của các chủng có sự tăng giảm không đều trong những ngày đầu. Ở ngày lên men thứ 4 thì các chủng đều sinh acid ở mức ổn định và không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê. Ở ngày thứ 5, hàm lượng acid tăng và đạt cao nhất ở hầu hết các chủng (trừ L52) đạt từ 2,48 đến 3,00 g/L. Sau ngày 5, hàm lượng acid giảm dần. Theo Leroy (2001), khi bước vào pha quân bình của quá trình nuôi cấy theo mẻ (batch fermentation), khả năng tăng sinh vi khuẩn chậm, dinh dưỡng môi trường giảm dần đến khả năng lên men suy giảm [10]. Trong quá trình lên men phụ của vi khuẩn lactic theo nghiên cứu của Elferink (2001), vi khuẩn lactic thích ứng với điều kiện dinh dưỡng hạn chế ở pH thấp bằng cách tiêu thụ chính acid lactic. Lúc này, mỗi mol acid lactic được chuyển thành khoảng 0,5 mol acid acetic, 0,5 mol 1,2-propanediol và

ethanol. Ở độ pH trên 5,8 hầu như không có sự giảm acid lactic được tìm thấy [11]. Có thể thấy, hàm lượng acid lactic cao nhất ở ngày lên men thứ 5. Trong đó chủng *L. plantarum* L30 cho hàm lượng acid lactic cao nhất (3,08 g/L), khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 5% so với các chủng còn lại với độ tin cậy là 95%, kể đến là chủng L9, L37, L52, L11 và L26 với hàm lượng acid lactic lần lượt đạt 3,00 g/L, 3,00 g/L, 2,85 g/L, 2,78 g/L, 2,78g/L. Chủng cho hàm lượng acid lactic thấp nhất là L54 (2,48 g/L).

3.2. Khả năng tạo chất kháng khuẩn của các chủng LAB được tuyển chọn

Theo kết quả ở bảng 2, 6 chủng được tuyển chọn đều có khả năng kháng khuẩn. Trong đó, 4 chủng có tính kháng trung bình với chiều rộng vùng kháng khuẩn 12,00-16,33 mm và 3

chủng có tính kháng yếu với chiều rộng vùng kháng khuẩn 10,66-11,00 mm. Trong đó, *L. plantarum* L30 có khả năng tạo khoảng kháng khuẩn lớn nhất đạt 16,33 mm (Hình 1). Có thể thấy, hoạt tính kháng khuẩn có sẵn trong tế bào LAB đã có tác động ức chế sự sinh trưởng của *B. subtilis* [12]. Kết quả này tương đồng với Lertcanawanichakul [13] khi nghiên cứu trên 40 chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ các loại thực phẩm lên men thì hầu hết các chủng phân lập cho thấy sự ức chế chống lại các nhóm vi khuẩn đối kháng. Dựa vào kết quả này, *L. plantarum* L30 được chọn để thực hiện thí nghiệm tối ưu hóa điều kiện sản xuất acid trong nước chua tàu hủ vì vừa có khả năng lên men mạnh cũng như khả năng kháng khuẩn cao hơn so với các chủng còn lại.

Bảng 1. Hàm lượng acid tổng (g/L) sinh ra ở các ngày lên men của 10 chủng LAB

Chủng	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
L2	2,40 ^b	2,10 ^d	2,25 ^{bc}	2,48 ^a	2,63 ^{cd}	2,33 ^d	2,55 ^c
L7	2,63 ^{ab}	2,33 ^c	2,70 ^a	2,63 ^a	2,70 ^{bcd}	2,55 ^{bcd}	2,55 ^{bc}
L9	2,55 ^b	2,32 ^c	2,33 ^{bc}	2,40 ^a	3,00 ^{ab}	2,85 ^a	2,25 ^a
L11	1,95 ^c	2,48 ^{bc}	2,48 ^{ab}	2,70 ^a	2,78 ^{abcd}	2,55 ^{bcd}	2,70 ^a
L26	2,85 ^a	2,48 ^{bc}	2,70 ^a	2,55 ^a	2,78 ^{abcd}	2,70 ^{ab}	2,55 ^{ab}
L30	2,55 ^b	2,40 ^c	2,48 ^{ab}	2,55 ^a	3,08 ^a	2,40 ^{cd}	2,85 ^a
L37	1,88 ^c	2,78 ^a	2,70 ^a	2,55 ^a	3,00 ^{ab}	2,70 ^{ab}	2,55 ^{ab}
L39	2,63 ^{ab}	2,48 ^{bc}	2,10 ^c	2,55 ^a	2,63 ^{cd}	2,40 ^{cd}	2,48 ^{bc}
L52	2,55 ^b	2,70 ^{ab}	2,33 ^{bc}	2,70 ^a	2,85 ^{abc}	2,63 ^{abc}	2,25 ^{ab}
L54	2,40 ^b	2,78 ^a	2,70 ^a	2,78 ^a	2,48 ^d	2,63 ^{abc}	2,40 ^{bc}

*Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê 5% ($P < 0,05$).



Hình 1. Hoạt tính kháng khuẩn của chủng *L. plantarum* L30

Bảng 2. Khả năng kháng *Bacillus subtilis* của các chủng vi khuẩn acid lactic tuyển chọn

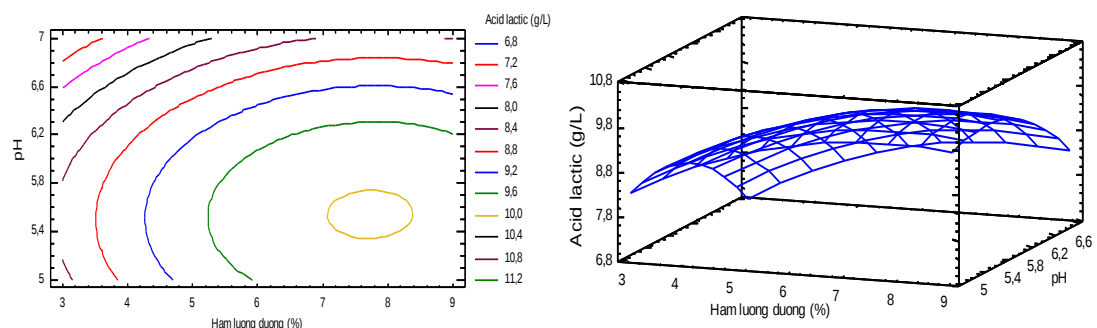
Chủng LAB	Khoảng cách kháng khuẩn (mm)	Chủng LAB	Khoảng cách kháng khuẩn (mm)
L30	16,33 ^a	L37	12,00 ^b
L26	16,00 ^a	L11	11,00 ^b
L9	12,33 ^b	L52	10,67 ^b

*Ghi chú: *Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê 5% ($P < 0,05$).

Bảng 3. Khả năng lên men acid lactic của *L. plantarum* L30 ở các điều kiện tối ưu hóa

Đường – pH – Log mật số	Hàm lượng acid lactic (g/l)	pH	Đường – pH – Log mật số	Hàm lượng acid lactic (g/l)	pH	Đường – pH – Log mật số	Hàm lượng acid lactic (g/l)	pH
3-5-5	4,65 ^{no}	3,89	6-5-5	9,23 ^{bc}	3,51	9-5-5	7,65 ^{fg}	3,52
3-5-6	4,50 ^o	3,87	6-5-6	9,00 ^{bc}	3,48	9-5-6	7,50 ^g	3,49
3-5-7	8,70 ^{cde}	3,65	6-5-7	9,45 ^b	3,40	9-5-7	9,00 ^{bc}	3,44
3-6-5	5,33 ^{klmn}	3,83	6-6-5	5,48 ^{ikl}	3,83	9-6-5	8,93 ^{bcd}	3,58
3-6-6	5,70 ^{ik}	3,79	6-6-6	6,08 ⁱ	3,86	9-6-6	8,10 ^{efg}	3,63
3-6-7	8,20 ^{def}	3,64	6-6-7	9,23 ^{bc}	3,60	9-6-7	11,33 ^a	3,54
3-7-5	4,80 ^{lmno}	3,94	6-7-5	5,48 ^{ikl}	3,75	9-7-5	4,73 ^{mno}	3,84
3-7-6	5,00 ^{iklm}	3,8	6-7-6	6,08 ⁱ	3,75	9-7-6	4,58 ^o	3,74
3-7-7	6,83 ^h	3,65	6-7-7	7,73 ^{fg}	3,62	9-7-7	8,25 ^{def}	3,55

*Ghi chú: Giá trị trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê 5% ($P < 0,05$).



Hình 2. Đồ thị mật đáp ứng và đường mức thể hiện sự tác động của mật số giống chủng, hàm lượng đường và pH lên khả năng sinh acid của *L. plantarum* L30

3.3. Tối ưu hóa điều kiện lên men acid lactic trong nước chua tàu hủ bằng LAB

Kết quả tối ưu hóa khả năng sinh acid của *L. plantarum* L30 ở các hàm lượng đường, pH và mật số chủng được trình bày ở bảng 3 và Hình 2. Số liệu của thí nghiệm được ghi nhận và phân tích bằng phần mềm thống kê Statgraphic Centurion XVI thu được phương trình:

$$\begin{aligned} \text{Hàm lượng acid} = & -22,2833 + 8,67778 \cdot X + 14,1458 \cdot Y - 7,35 \cdot Z - 0,0694444 \cdot X \cdot X - \\ & 1,09792 \cdot X \cdot Z - 1,21042 \cdot X \cdot Y - 0,7375 \cdot Y \cdot Y - \\ & 0,86875 \cdot Y \cdot Z + 1,175 \cdot Z \cdot Z + 0,175 \cdot X \cdot Y \cdot Z. \end{aligned}$$

Trong đó: X là hàm lượng đường ban đầu (3-9%), Y là giá trị pH (5-7), Z là log mật số giống chủng (5-7 log tb/mL).

Từ phương trình hồi quy, lấy đạo hàm theo từng biến số đường và pH, hàm lượng đường 7,73% (w/v), pH 5,54 và mật số giống chủng

là log 7 (10^7 tế bào /mL) là điều kiện tối ưu cho khả năng sinh acid lactic trong nước chua tàu hủ. So với lên men trong nước chua tàu hủ khi chưa tối ưu hóa ở bảng 2, hàm lượng acid lactic tăng từ 3,08 g/L lên đến 10,03 g/L (gấp khoảng 3,3 lần) cho thấy quá trình tối ưu hoá, các yếu tố môi trường ở thí nghiệm này là có hiệu quả. Mật số giống chủng là log 7 (10^7 tế bào/mL) được sử dụng trong bố trí thí nghiệm và thu được kết quả cao ở tất cả các nghiệm thức.

Xét về pH, pH 7,0 cho hàm lượng acid thấp hơn pH 5,0 và 6,0. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Khalid (2011) về tăng trưởng tối ưu cho LAB là ở pH 5,5-5,8 [14]. Từ kết quả cho thấy, chủng *L. plantarum* L30 được kích thích sản xuất acid lactic ở pH 5,54 là hoàn toàn thích hợp.

Tóm lại, các yếu tố như hàm lượng đường, pH và nồng độ giống chủng có tác động đến

khả năng sinh acid lactic. Kết quả ở bảng 3 cho thấy nghiệm thức 6-5-7 và nghiệm thức 9-6-7 sinh acid lactic có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Do đó, điều kiện tối ưu đề xuất qua phân tích thống kê hồi quy mặt đáp ứng cho hàm lượng đường 7,73% (w/v), pH 5,54 và mật số giống chủng là $\log 7$ (10^7 tế bào/mL) thì hàm lượng acid lactic sinh ra khoảng 10,03 g/L là chấp nhận được. Ở thí nghiệm này, hàm lượng acid lactic sinh ra trong môi trường nước chua (10,03 g/L) với hàm lượng đường 7,73% (w/v), pH 5,54 và mật số giống chủng là $\log 7$ (10^7 tế bào/mL) là thấp hơn so với nghiên cứu của Ngo et al. [15]. Tuy nhiên, việc sử dụng nước chua để lên men acid lactic mang lại ý nghĩa kinh tế hơn và có tiềm năng sản xuất ở quy mô lớn. Tuy nhiên, việc bổ sung thêm nhiều nguồn dinh dưỡng có thể giúp tăng khả năng sinh acid lactic trên nhựa cây Đuối nhưng lại gây tốn kém chi phí để sản xuất acid lactic ở quy mô công nghiệp [16]. Do đó, việc lên men acid lactic từ việc tận dụng nước chua tàu hủ mang lại ý nghĩa kinh tế trong việc tạo ra nước tẩy rửa sinh học thay vì việc thu hồi acid lactic.

***Khả năng lên men acid lactic từ nước chua tàu hủ ở quy mô 1 lít:** Ở quy mô 1 lít, điều kiện tối ưu được đề xuất bởi phần mềm Statgraphics Centurion version XVI cho kết quả hàm lượng acid lactic sinh ra đạt 10,39 g/l. Tuy thấp hơn nghiệm thức 9-6-7 ở bảng 3 (hàm lượng acid lactic là 11,33 g/l) nhưng không nhiều là do sự ức chế cơ chất hoặc ức chế sản phẩm và lượng chất dinh dưỡng bị hạn chế [17]. Vì vậy, điều kiện được chọn qua phân tích bằng phần mềm là có thể chấp nhận được.

3.4. Khả năng tẩy rửa của dịch lên men acid lactic từ nước chua tàu hủ

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, khả năng tẩy rửa của dịch lên men từ nước chua không có ý nghĩa khác biệt thống kê với các mẫu nước rửa chén sinh học và hóa học có trên thị

trường. Trong đó, hiệu suất rửa đường của mẫu nước rửa chén hóa học là cao nhất với 98,10%, kế đến là sinh học với 97,2% và của dịch lên men trong nghiên cứu này là 96,49%. Tương tự, đối với protein thì khả năng tẩy rửa cũng không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê với hiệu suất rửa của các mẫu hóa học, sinh học và dịch lên men lần lượt là 98,75%, 96,99% và 94,88%. Khi rửa bằng dịch lên men acid lactic thì hiệu suất rửa lipid giữa có nước tẩy rửa không có khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với hiệu suất của mẫu nước rửa chén hóa học là 92,83%, sinh học là 90,24% và dịch lên men là 90,91%. Theo Lichtenberg (2013) thì cơ chế tẩy rửa các vết bẩn dầu bằng các dịch acid lactic nhờ vào tính định hướng ưa nước kỵ nước tạo áp suất hoà tan chất bẩn. Điều này sẽ giúp cho việc phân tán các vết bẩn dầu dưới dạng nhũ tương, ngăn không cho vết bẩn bám trở lại trên bề mặt đã được tẩy rửa [18].

3.5. Ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt đến khả năng tẩy rửa của dịch lên men

Kết quả thử nghiệm thấy khả năng tẩy rửa của dịch lên men sau khi bổ sung chất hoạt động bề mặt tăng lên và giữa 2 loại chất (APG và CAPB) cũng như giữa các nồng độ bổ sung không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê (Bảng 5). So với APG, CAPB cho khả năng tẩy rửa không khác biệt với chi phí thấp hơn. Ở nồng độ 10% và 15%, các nghiệm thức hiệu suất tẩy rửa chất bẩn là không khác biệt có ý nghĩa. Do CAPB được biết đến là một chất hoạt động bề mặt lưỡng tính được tổng hợp bằng dầu dừa [19]. Với ưu thế an toàn, ở nồng độ 10% (v/v) cho thấy hiệu quả tẩy rửa đường, protein và lipid của dịch lên men được bổ sung đạt lần lượt 97,91%, 98,08% và 93,00%, cao hơn hiệu quả tẩy rửa của dịch lên men trước khi bổ sung CAPB (tương ứng là 96,49%, 94,88% và 90,91%). Hàm lượng chất hoạt động bề mặt trong giới hạn cho phép của TCVN 6971:2001 về nước tẩy rửa [20]. Từ đó cho thấy việc bổ sung chất hoạt động bề mặt là có hiệu quả.

Bảng 4. Khả năng tẩy rửa đường, protein và lipid của dịch lên men nước chua tàu hủ

Mẫu nước tẩy rửa	Hiệu suất tẩy rửa đường (%)	Hiệu suất tẩy rửa protein (%)	Hiệu suất tẩy rửa lipid (%)
Nước rửa chén hóa học	98,10 ^a	98,75 ^a	92,83 ^a
Nước rửa chén sinh học	97,20 ^{ab}	96,99 ^a	90,24 ^a
Dịch sau khi lên men lactic	96,49 ^b	94,88 ^a	90,91 ^a

Bảng 5. Khả năng tẩy rửa đường, protein và lipid của dịch lên men nước chua tàu hủ khi bổ sung chất hoạt động bề mặt

Nghiệm thức	Hiệu suất rửa đường (%)	Hiệu suất rửa protein (%)	Hiệu suất rửa lipid (%)
Dịch lên men + 15% APG	98,06 ^a	98,04 ^a	93,98 ^a
Dịch lên men + 15% CAPB	97,25 ^a	97,66 ^a	91,12 ^a
Dịch lên men + 10% APG	98,10 ^a	97,97 ^a	92,84 ^a
Dịch lên men + 10% CAPB	97,91 ^a	98,08 ^a	93,00 ^a

4. Kết luận

Trong mười chủng LAB được thử nghiệm lên men nước chua tàu hủ, 6 chủng (*L. casei* L9, *L. acidophilus* L11 và *L. plantarum* (L26, L30, L37 và L52)) được tuyển chọn với hàm lượng đạt 2,78-3,08 g/L, trong đó chủng *L. plantarum* L30 lên men acid tốt nhất. Bên cạnh đó, sáu chủng này thể hiện khả năng kháng khuẩn chỉ thị *B. subtilis* với chiều rộng vùng kháng khuẩn trong khoảng 10,67-16,33 mm. Trong đó, *L. plantarum* L30 có chiều rộng kháng khuẩn cao nhất (16,33 mm). Điều kiện thích hợp cho khả năng sinh acid lactic từ nước chua tàu hủ của chủng *L. plantarum* L30 được xác định ở hàm lượng đường 7,73%, pH 5,54 và mật số giống chủng log7 tế bào/ml, hàm lượng acid lactic đạt cao nhất ở mức 10,03 g/L. Khi tăng quy mô lên 1 lít, chủng *L. plantarum* L30 có thể thích ứng và lên men tạo hàm lượng acid lactic đạt 10,39 g/L. Ở hàm lượng acid lactic 1,0% (w/v), dịch lên men acid lactic từ nước chua tàu hủ thể hiện khả năng tẩy rửa hiệu quả đối với đường, protein và lipid với hiệu suất tẩy rửa lần lượt là 96,49%, 94,88% và 90,91%. Hàm lượng chất hoạt động bề mặt phù hợp cho khả năng tẩy rửa được xác định ở 10% CAPB với hiệu suất tẩy rửa carbohydrate, protein và lipid đạt lần lượt là 97,91%, 98,08% và 93,00%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. D. L. Nguyen, *Microbial Technology*, Vol. 2, *Industrial Microbiology*, Ho Chi Minh city National University Publishing House, 2002.

- [2]. Y. Sudiyani, S. Alawiyah, Y. Anita, and I. B. Adilina, "Characterization of waste water from tofu industry," *International Conference on Chemical Sciences*, Yogyakarta, Indonesia, 2007.
- [3]. Widayat, Philia, John, Wibisono, and Jessica, "Cultivation of microalgae *Chlorella* sp. on fresh water and waste water of tofu industry," *The 2nd International Conference on Energy, Environmental and Information System (ICENIS 2017)*, Semarang, Indonesia, 2018.
- [4]. N. N. T. Huynh, T. P. D. Ngo, X. P. Huynh, K. Sonomoto, T. Zendo, and H. D. L. Bui, "Selection of thermotolerant lactic acid bacteria producing high antibacterial activity and production of biomass from tofu sour liquid," *Can Tho University Journal of Science*, vol. 7, pp. 51-57, 2017.
- [5]. T. M. Le, T. H. Nguyen, T. T. Pham, T. H. Nguyen, and T. L. C. Le, *Analytical Methods in Fermentation Technology*. Science and Technics Publishing House, Hanoi, Vietnam, 2009.
- [6]. H. Annuk, J. Shchepetova, T. Kullisaar, E. Songisepp, M. Zilmer, and M. Mikelsaar, "Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 94, no. 3, pp. 403-412, 2003.
- [7]. M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric method for determination of sugars and related substances," *Analytical Chemistry*, vol. 28, no. 3, pp. 350-356, 1956.
- [8]. M. M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding," *Analytical Biochemistry*, vol. 72, no. 1-2, pp. 248-254, 1976.

- [9]. F. A. Atiku, I. M. Fakai, A. A. Wara, A. U. Birnin-Yauri, and M. A. Musa, "Production of soap using locally available alkaline extract from millet stalk: A study on physical and chemical properties of soap," *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*, vol. 1, no. 7, pp. 1-7, 2014.
- [10]. F. Leroy, and L. De Vuyst, "Growth of the bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* strain CTC 494 in MRS broth is strongly reduced due to nutrient exhaustion: a nutrient depletion model for the growth of lactic acid bacteria," *American Society for Microbiology Journals*, vol. 67, no. 10, pp. 4407-4413, 2001.
- [11]. S. J. W. H. O. Elferink, J. Krooneman, J. C. Gottschal, S. F. Spoelstra, F. Faber, and F. Driehuis, "Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, no. 1, pp. 125-132, 2001.
- [12]. A. C. Ouwehand, and S. Vesterlund, "Antimicrobial components from acid lactic bacteria," In "*Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*", Edited by S. Salminen, A. V. Wright, CRC Press, 2004.
- [13]. M. Lertcanawanichakul, "Isolation and selection of anti-candida albicans producing lactic acid bacteria," *Walailak Journal Science & Technology*, vol. 2, no. 2, pp. 179-187, 2005.
- [14]. K. Khalisanni, "An overview of lactic acid bacteria," *International Journal of Bioscience*, vol. 1, no. 3, pp. 1-13, 2011.
- [15]. T. P. D. Ngo, N. T. Nguyen, X. P. Huynh, H. D. L. Bui, and N. P. T. Hoang, "Selection of thermotolerant lactic acid bacteria and the application in lactic acid fermentation," *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, vol. 14, no. 3B, pp. 58-64, 2017.
- [16]. M. N. Dang, and Q. T. Nguyen, "A study on Lactic acid fermentation of sugar palm (*Arenga Pinnata*) sap by *Lactobacillus casei*," *Science & Technology Development Journal*, vol. 17, no. 3, pp. 65-71, 2014.
- [17]. S. R. Kadam, S. S. Patil, K. B. Bastawde, J. M. Khire, and D. V. Gokhale, "Improve stress of *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2365 to produce lactic acid," *Biochemical Process*, vol. 41, pp. 120-126, 2006.
- [18]. D. Lichtenberg, H. Ahyayauch, and F. M. Göni, "The mechanism of detergent solubilization of lipid bilayers," *Biophysical Journal*, vol. 105, no. 2, pp. 289-299, 2013.
- [19]. A. Gholami, M. Golestaneh, and Z. Andalib, "A new method for determination of cocamidopropyl betaine synthesized from coconut oil through spectral shift of Eriochrome Black T," *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 192, pp. 122-127, 2018.
- [20]. Ministry of Science and Technology, "Vietnam Standard TCVN 6971:2001 - Synthetic detergent for kitchen", Hanoi, 2001.