

## OPTIMIZATION OF THE LACTIC ACID FERMENTATION FROM TOFU SOUR LIQUID AND APPLICATION IN THE PRODUCTION OF ANTIBACTERIAL SOAP AGAINST *Propionibacterium acnes* PO

Bui Hoang Dang Long, Ly Xuan Mai, Luu Minh Chau, Nguyen Ngoc Thanh, Huynh Xuan Phong\*

Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Received:</b> 16/3/2021</p> <p><b>Revised:</b> 21/5/2021</p> <p><b>Published:</b> 28/5/2021</p>	<p>The objectives of this study were to screen for a strain of lactic acid bacteria to attempt the production of soap with the inhibitory effect on <i>Propionibacterium acnes</i> PO. Twenty strains of lactic acid bacteria were screened for lactic acid production and antibacterial properties. The optimal conditions for lactic acid fermentation including inoculation density (<math>10^5</math>, <math>10^6</math>, and <math>10^7</math> cells/mL), initial sugar content (3, 6, and 9% w/v), and pH level (5, 6, and 7) were investigated. Along with, the suitable blending content of fermented tofu sour liquid form soap with inhibitory effect on <i>P. acnes</i>. The results showed that <i>Lactobacillus plantarum</i> L39 could create 7.35 g/L acid lactic from tofu sour liquid and possess inhibitory effects with 16.00 mm inhibitory distance. The suitable conditions for lactic acid fermentation were determined at the initial sugar content of 8% (w/v), pH 5.6, and inoculum density of <math>10^7</math> cells/mL with final lactic acid of 10.275 g/L. Soap produced from fermented liquid with 20% blending content (w/w) showed an inhibitory effect on <i>P. acnes</i> with a 15.67mm inhibitory zone with sensorial results of 86.6% texture score, 86.6% color score, and 93.44% odor score.</p>
<p><b>KEYWORDS</b></p> <p>Antibacterial properties</p> <p>Lactic acid fermentation</p> <p>Tofu sour liquid</p> <p>Lactic acid bacteria</p> <p>Lactate soap</p>	

## TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN LÊN MEN ACID LACTIC TỪ NƯỚC CHUA TÀU HỦ CỦA VI KHUẨN LACTIC ỨNG DỤNG TRONG THỬ NGHIỆM SẢN XUẤT XÀ PHÒNG KHÁNG KHUẨN *Propionibacterium acnes* PO

Bùi Hoàng Đăng Long, Lý Xuân Mai, Lưu Minh Châu, Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong\*

Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
<p><b>Ngày nhận bài:</b> 16/3/2021</p> <p><b>Ngày hoàn thiện:</b> 21/5/2021</p> <p><b>Ngày đăng:</b> 28/5/2021</p>	<p>Nghiên cứu này nhằm tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men acid lactic và kháng khuẩn <i>Propionibacterium acnes</i> PO nhằm thử nghiệm sản xuất xà phòng từ nước chua tàu hủ lên men. Điều kiện tối ưu cho quá trình lên men acid lactic bao gồm mật độ giống chủng (<math>10^5</math>, <math>10^6</math> và <math>10^7</math> tb/mL), hàm lượng đường ban đầu (3; 6 và 9% w/v) và pH (5; 6 và 7) cũng được khảo sát. Đồng thời khảo sát hàm lượng nước chua thích hợp (15; 20; 25% w/v) phối chế sản xuất xà phòng khả năng kháng khuẩn <i>P. acnes</i>. Kết quả cho thấy chủng vi khuẩn <i>Lactobacillus plantarum</i> L39 có khả năng lên men acid lactic đạt 7,35 g/L và khả năng kháng khuẩn tốt với khoảng cách kháng khuẩn đạt 16,00 mm. Điều kiện thích hợp cho lên men acid lactic từ nước chua tàu hủ được xác định ở hàm lượng đường 8% (w/v), pH 5,6 và mật độ giống chủng <math>10^7</math> tế bào/mL với hàm lượng acid lactic đạt 10,275 g/L. Xà phòng được thử nghiệm sản xuất từ nước chua lên men cho thấy, thể tích nước chua bổ sung đạt 20% (w/w) tạo ra xà phòng có khả năng kháng vi khuẩn <i>P. acnes</i> PO với đường kính vòng kháng đạt 15,67 mm và có kết quả cảm quan với 86,6% điểm kết cấu, 86,6% điểm màu sắc và 93,4% điểm mùi hương.</p>
<p><b>TỪ KHÓA</b></p> <p>Khả năng kháng khuẩn</p> <p>Lên men lactic</p> <p>Nước chua tàu hủ</p> <p>Vi khuẩn lactic</p> <p>Xà phòng lactic</p>	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4173>

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

## 1. Giới thiệu

Vi khuẩn lactic là một trong các nhóm vi sinh vật phổ biến nhất trong tự nhiên [1]. Đây là nhóm vi khuẩn xuất hiện chủ yếu trong sản phẩm lên men truyền thống như dưa cải muối chua, sữa chua, cơm mẻ, nem chua và một số sản phẩm men tiêu hoá đông khô. Trong những năm gần đây, có rất nhiều công trình nghiên cứu về ứng dụng vi khuẩn lactic trong hoá mỹ phẩm nhờ khả năng sinh acid lactic và bacteriocin [2], [3]. Trong đó, bacteriocin là nhóm chất kháng khuẩn có khả năng ức chế các nhóm vi sinh vật có hại. Nhờ vào tác dụng kháng khuẩn chuyên biệt và an toàn, bacteriocin được ứng dụng nhiều trong điều trị bệnh da liễu, tiêu hoá và an toàn thực phẩm [4].

Xà phòng là một trong những sản phẩm được sử dụng hằng ngày của con người và rất được quan tâm. Về bản chất, xà phòng hoá học chứa nhiều chất hoạt động bề mặt với pH thấp (5-7) có tác động xấu lên bề mặt da người như triệt tiêu độ ẩm, tồn dư hoá chất và dễ gây dị ứng da. Trong khi đó, xà phòng truyền thống là kết quả của phản ứng xà phòng hoá giữa acid béo và kiềm, ít gây kích ứng da và an toàn với sức khoẻ [5].

Nước chua, một phụ phẩm của quá trình kết tinh tàu hủ, có chứa nhiều chất dinh dưỡng tồn dư có thể được ứng dụng làm môi trường lên men vi sinh vật [6]. Các thử nghiệm sử dụng nước chua tàu hủ vào lên men acid lactic được chứng minh có hiệu suất nuôi cấy vi khuẩn lactic cao [7].

Trong quá trình lên men acid lactic có nhiều sản phẩm được tạo ra, trong đó có acid lactic và bacteriocin là hai sản phẩm được quan tâm nhất. Cùng với các gốc acid hữu cơ thông dụng, acid lactic có khả năng trị mụn và xoá vết thâm trên da nhờ vào cơ chế gây tổn thương da ở mức giới hạn, phá huỷ lớp biểu bì da bị thâm và kích thích quá trình tái tạo da thay thế [8]. Acid lactic giúp làm trắng da và dưỡng ẩm, đồng thời giúp cải thiện trạng thái, sắc tố và vẻ bên ngoài của da [9]. Hơn nữa, bacteriocin sinh ra bởi quá trình lên men có khả năng ức chế các vi khuẩn gây mụn [10].

Ứng dụng acid lactic bổ sung cùng với bacteriocin vào xà phòng được chứng minh có khả năng đối kháng vi khuẩn *Propionibacterium acnes* gây mụn phân lập từ da người [11]. Quá trình xà phòng hóa nước chua làm thay đổi pH và nhiệt độ có ảnh hưởng đến hoạt tính bacteriocin. Do đó, việc xác định điều kiện thích hợp để xà phòng hóa nước chua tàu hủ mang ý nghĩa quan trọng. Việc sử dụng nước chua tàu hủ để lên men acid lactic giúp giảm thiểu ô nhiễm môi trường và giảm chi phí sản xuất. Do đó, ứng dụng lên men acid lactic bằng nước chua tàu hủ để sản xuất xà phòng có tiềm năng tạo sản phẩm an toàn sức khoẻ và hỗ trợ điều trị mụn.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Hai mươi chủng vi khuẩn lactic phân lập từ nem chua và sản phẩm lên men từ các nghiên cứu trước [12], [13]. Nước chua tàu hủ thu thập từ cơ sở sản xuất tương chao Vĩnh Trân (đường Trần Việt Châu, phường An Hòa, quận Ninh Kiều, TP. Cần Thơ). Chủng vi khuẩn *Propionibacterium acnes* PO được phân lập, định danh từ nghiên cứu của Bùi Hoàng Đăng Long và đồng tác giả [11]. Các chủng vi khuẩn lactic được tăng sinh và nuôi cấy bằng môi trường MRS (Sigma-Alrich:  $K_2HPO_4$  2 g/L; glucose 20 g/L;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,2 g/L;  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0,05 g/L; cao trích thịt 8 g/L; peptone 10 g/L;  $Na_2CO_3 \cdot 3H_2O$  5 g/L; tri-ammonium citrate 2 g/L; cao trích nấm men 4 g/L). Chủng *P. acnes* PO được tăng sinh và nuôi cấy bằng môi trường BHI (Brain Heart Infusion, Sigma-Alrich: cao trích tim bò 5 g/L; cao trích não bê 12,5 g/L;  $Na_2HPO_4$  2,5 g/L; D-glucose 2 g/L; peptone 10 g/L; NaCl 5 g/L).

### 2.2. Tuyển chọn vi khuẩn lactic có khả năng lên men acid lactic và kháng khuẩn *P. acnes* PO

**Khảo sát khả năng lên men acid lactic từ nước chua tàu hủ của các chủng vi khuẩn:** Hai mươi chủng vi khuẩn lactic được tăng sinh trong các ống nghiệm chứa 5 mL môi trường MRS broth trong 36 giờ, ủ tĩnh vi hiếu khí, đến mật độ  $10^7$  tế bào/mL. Bổ sung 1 mL dịch tăng sinh vi khuẩn lactic vào bình tam giác chứa 99 mL dịch nước chua tàu hủ đã khử trùng nhiệt ướt ( $121^\circ C/15$  phút) và ủ tĩnh ở  $37^\circ C$ . Ghi nhận hàm lượng acid lactic mỗi ngày trong 7 ngày.

**Khảo sát khả năng kháng khuẩn *P. acnes* PO của các chủng vi khuẩn lactic:** Khả năng kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic được khảo sát bằng phương pháp đối kháng vạch thẳng vuông góc [14]. Các chủng vi khuẩn lactic được tăng sinh ống nghiệm chứa 5 mL môi trường MRS broth ở điều kiện vi hiếu khí trong 36 giờ đến khi đạt mật độ  $10^7$  tế bào/mL. Chủng *P. acnes* PO được tăng sinh trong ống nghiệm chứa 5 mL môi trường BHI broth, ủ kỵ khí trong 72 giờ đến khi đạt mật độ  $10^7$  tế bào/mL. Nhỏ giọt 10  $\mu$ L dịch tăng sinh và trải các chủng vi khuẩn lactic được khảo sát dọc theo một đường thẳng rộng 1 cm được kẻ cố định từ trên xuống trên đĩa thạch MRS chứa 0,2% (w/v)  $\text{CaCO}_3$ , ủ ở  $37^\circ\text{C}$  trong 24 giờ. Nhỏ 1  $\mu$ L dịch tăng sinh *P. acnes* PO và trải theo vạch ngang vuông góc với vạch vi khuẩn đã mọc (cấy từ mép đĩa petri vào trong) và sau đó ủ ở  $37^\circ\text{C}$  trong 24 giờ. Khả năng kháng khuẩn được xác định bằng cách đo khoảng cách vùng kháng khuẩn theo đơn vị mm.

### 2.3. Khảo sát điều kiện thích hợp cho khả năng lên men acid lactic từ chủng vi khuẩn tuyển chọn

Vi khuẩn tuyển chọn được tăng sinh trong 36 giờ trong ống nghiệm chứa 5 mL môi trường MRS broth đến mật độ  $10^7$  tế bào/mL, ủ tĩnh vi hiếu khí. Chủng 1 mL dịch tăng sinh ở các mật độ  $10^7$ ;  $10^8$  và  $10^9$  tế bào/mL vi khuẩn lactic vào môi trường nước chua tàu hủ được điều chỉnh hàm lượng đường (3; 6 và 9% w/v) và pH (5,0; 6,0 và 7,0). Ủ các nghiệm thức ở  $37^\circ\text{C}$  trong 7 ngày. Thu mẫu mỗi ngày 1 mL và xác định hàm lượng acid sinh ra bằng phương pháp chuẩn độ acid [15].

### 2.4. Thử nghiệm sản xuất xà phòng từ nước chua tàu hủ có khả năng kháng khuẩn *P. acnes* PO

Xà phòng phối trộn dung dịch nước chua tàu hủ được tạo ra từ phản ứng xà phòng hóa dầu dừa và dung dịch NaOH (22% w/v) theo tỷ lệ dầu dừa và dung dịch NaOH là 10:1 (g:g). Nhiệt độ phản ứng ở  $85^\circ\text{C}$  [16]. Thanh trùng dung dịch nước chua tàu hủ đã lên men bằng  $\text{NaHSO}_3$  (140 mg/L) Sau phản ứng xà phòng hóa hạ nhiệt đến  $45^\circ\text{C}$ , phối trộn 10% (v/v) thể tích nước chua tàu hủ đã lên men (đã thanh trùng bằng  $\text{NaHSO}_3$  140 mg/L) theo điều kiện đã khảo sát. Xà phòng kết đông được cắt thành bánh và ủ trong 3 ngày để kết thúc phản ứng xà phòng hóa hoàn toàn và phân tích các chỉ tiêu: pH xà phòng, khả năng kháng khuẩn *P. acnes* PO bằng phương pháp khuếch tán giếng thạch [17], hàm lượng NaOH tự do (% w/w) được xác định bằng phương pháp chuẩn độ và cảm quan sản phẩm được đánh giá theo Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 2224:1991).

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Khả năng lên men acid lactic của các chủng vi khuẩn trong môi trường nước chua tàu hủ

Hai mươi chủng LAB được lên men ở môi trường nước chua tàu hủ trong 7 ngày ở nhiệt độ  $37^\circ\text{C}$ . Khả năng lên men được theo dõi bằng cách phân tích hàm lượng acid lactic sinh ra bằng phương pháp chuẩn độ và kết quả được trình bày ở Bảng 1. Nhìn chung, hàm lượng acid lactic tăng từ ngày 1 đến ngày 3. Ở ngày 3, hàm lượng acid của các chủng sinh ra cao nhất, L39 và HCM2, với khả năng sinh acid cao nhất lần lượt là 7,35 g/L và 7,58 g/L. Thấp nhất là chủng Thai82 với 1,28 g/L acid lactic. Ở ngày lên men thứ 4 đến thứ 7 hàm lượng acid giảm. Hàm lượng acid của L39 từ 7,35 g/L giảm xuống còn 5,33 g/L ở ngày lên men thứ 7. Sự suy giảm acid lactic sau khi đạt hàm lượng cao nhất cũng được ghi nhận trong nghiên cứu đi trước khi acid lactic bị tiêu thụ để sinh năng lượng khi nguồn cacbon còn lại hạn chế ở nửa sau giai đoạn lên men [18]. Nghiên cứu của Elferink và đồng tác giả (2001) đã kết luận khi chuyển hóa, mỗi mol acid lactic được chuyển thành 0,5 mol acid acetic, 0,5 mol 1,2-propanediol và ethanol [19]. Xét về khả năng lên men, chủng *L. plantarum* L39 và chủng HCM2 có khả năng lên men tốt nhất.

Hàm lượng acid sinh ra từ nước chua là thấp hơn so với lên men trong môi trường MRS với vi khuẩn *L. casei* L9 sinh ra 21,15 g/L acid lactic [7]. Trong nghiên cứu lên men acid lactic từ rỉ đường, hàm lượng acid tổng đạt 10,20 g/L [20]. Kết quả lên men acid lactic ở môi trường MRS tốt hơn do vi khuẩn lactic có nhu cầu dinh dưỡng phức tạp, môi trường dinh dưỡng cần bổ sung các loại amino acid cũng như các khoáng vi lượng để hoạt động chuyển hóa tối ưu [21]. Tuy

nhiên, việc ứng dụng một phụ phẩm để lên men là phù hợp với xu hướng phát triển bền vững và thân thiện môi trường.

**Bảng 1.** Hàm lượng acid tổng (g/L) sinh ra ở các ngày lên men của 20 chủng LAB ở nhiệt độ 37°C

Chủng	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
Thai22	1,43 <sup>h</sup>	1,73 <sup>h</sup>	4,58 <sup>d</sup>	4,05 <sup>c</sup>	4,20 <sup>efg</sup>	3,38 <sup>cd</sup>	4,20 <sup>efg</sup>
L39	3,53 <sup>b</sup>	6,08 <sup>a</sup>	7,35 <sup>a</sup>	6,15 <sup>a</sup>	6,15 <sup>abcd</sup>	5,48 <sup>a</sup>	5,33 <sup>bcde</sup>
Thai82	0,90 <sup>i</sup>	1,05 <sup>i</sup>	1,28 <sup>i</sup>	1,13 <sup>h</sup>	1,65 <sup>i</sup>	1,28 <sup>f</sup>	1,50 <sup>j</sup>
HK162	2,03 <sup>efg</sup>	3,08 <sup>de</sup>	4,88 <sup>d</sup>	3,83 <sup>cd</sup>	5,18 <sup>cde</sup>	4,28 <sup>bc</sup>	5,55 <sup>abcd</sup>
HCM2	3,15 <sup>c</sup>	5,40 <sup>bc</sup>	7,58 <sup>a</sup>	5,78 <sup>sb</sup>	6,98 <sup>a</sup>	5,63 <sup>a</sup>	5,18 <sup>cde</sup>
L26	4,05 <sup>a</sup>	4,88 <sup>c</sup>	6,15 <sup>c</sup>	6,75 <sup>a</sup>	5,48 <sup>abcd</sup>	4,80 <sup>ab</sup>	5,40 <sup>bcd</sup>
Thai32	3,23 <sup>bc</sup>	3,38 <sup>d</sup>	4,05 <sup>def</sup>	3,30 <sup>cde</sup>	3,60 <sup>fgh</sup>	3,08 <sup>de</sup>	3,75 <sup>fgh</sup>
L54	2,25 <sup>de</sup>	2,63 <sup>ef</sup>	3,38 <sup>fg</sup>	2,70 <sup>efg</sup>	3,08 <sup>fgh</sup>	2,33 <sup>e</sup>	3,00 <sup>hi</sup>
L30	3,45 <sup>bc</sup>	5,85 <sup>ab</sup>	6,23 <sup>bc</sup>	5,78 <sup>ab</sup>	6,45 <sup>abc</sup>	4,88 <sup>ab</sup>	6,45 <sup>ab</sup>
L11	2,03 <sup>efg</sup>	2,55 <sup>ef</sup>	3,60 <sup>efg</sup>	2,85 <sup>defg</sup>	3,23 <sup>fgh</sup>	2,48 <sup>ef</sup>	3,15 <sup>ghi</sup>
L7	2,03 <sup>efg</sup>	2,33 <sup>fg</sup>	3,30 <sup>fgh</sup>	2,78 <sup>efg</sup>	3,38 <sup>fgh</sup>	3,08 <sup>de</sup>	4,58 <sup>def</sup>
L9	2,40 <sup>d</sup>	5,93 <sup>ab</sup>	7,05 <sup>ab</sup>	5,93 <sup>ab</sup>	6,68 <sup>ab</sup>	5,40 <sup>a</sup>	5,93 <sup>abc</sup>
L2	2,10 <sup>defg</sup>	2,33 <sup>fg</sup>	3,08 <sup>gh</sup>	5,10 <sup>b</sup>	6,53 <sup>ab</sup>	5,63 <sup>a</sup>	6,68 <sup>a</sup>
GT31	1,80 <sup>g</sup>	2,3 <sup>fgh</sup>	3,38 <sup>fg</sup>	2,85 <sup>defg</sup>	4,95 <sup>de</sup>	5,48 <sup>a</sup>	5,78 <sup>abc</sup>
TX21	3,45 <sup>bc</sup>	3,53 <sup>d</sup>	4,28 <sup>de</sup>	3,08 <sup>cdefg</sup>	4,20 <sup>efg</sup>	2,85 <sup>de</sup>	3,60 <sup>fghi</sup>
TX7	2,33 <sup>de</sup>	2,78 <sup>ef</sup>	3,23 <sup>fgh</sup>	2,78 <sup>efg</sup>	3,38 <sup>fgh</sup>	3,30 <sup>d</sup>	3,08 <sup>ghi</sup>
TX5	2,18 <sup>def</sup>	2,40 <sup>fg</sup>	3,08 <sup>gh</sup>	3,23 <sup>cdef</sup>	4,43 <sup>ef</sup>	3,38 <sup>cd</sup>	4,50 <sup>def</sup>
TX3	1,88 <sup>fg</sup>	1,95 <sup>gh</sup>	2,48 <sup>h</sup>	2,10 <sup>gh</sup>	3,08 <sup>gh</sup>	2,50 <sup>de</sup>	2,55 <sup>ij</sup>
L52	2,10 <sup>defg</sup>	2,33 <sup>fg</sup>	3,38 <sup>fg</sup>	2,63 <sup>efg</sup>	3,38 <sup>fgh</sup>	2,63 <sup>de</sup>	2,93 <sup>hi</sup>
TX61	2,33 <sup>de</sup>	2,70 <sup>ef</sup>	3,30 <sup>fgh</sup>	2,25 <sup>fg</sup>	2,85 <sup>hi</sup>	2,33 <sup>e</sup>	2,70 <sup>hi</sup>

\*Ghi chú: Giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%.

### 3.2. Khả năng tạo chất kháng khuẩn *P. acnes* PO của chủng vi khuẩn lactic

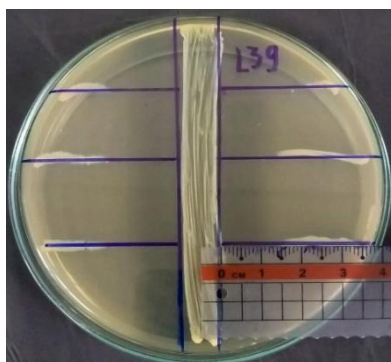
Kết quả kháng khuẩn ở Bảng 2 cho thấy, trong 20 chủng vi khuẩn lactic có 12 chủng có khả năng tạo kháng khuẩn ức chế vi khuẩn *P. acnes* PO.

**Bảng 2.** Khả năng kháng khuẩn *P. acnes* PO của các chủng LAB

Chủng vi khuẩn	Khoảng cách kháng khuẩn (mm)	Tính kháng khuẩn <sup>1</sup>	Chủng vi khuẩn	Khoảng cách kháng khuẩn (mm)	Tính kháng khuẩn <sup>1</sup>
Thai22	22,00 <sup>a</sup>	++	HK162	15,00 <sup>de</sup>	++
Thai82	16,67 <sup>b</sup>	++	L11	14,33 <sup>ef</sup>	++
L7	16,67 <sup>b</sup>	++	TX21	14,33 <sup>ef</sup>	++
L39	16,00 <sup>bc</sup>	++	L2	14,00 <sup>f</sup>	++
L52	15,67 <sup>cd</sup>	++	L9	12,00 <sup>g</sup>	++
GT31	15,33 <sup>cd</sup>	++	Thai32	11,33 <sup>g</sup>	+
CV (%)				17,33	

\*Ghi chú: <sup>1</sup>Mức độ xuất hiện khả năng tính kháng khuẩn: (+): chiều rộng vùng kháng khuẩn <12 mm; (++) : chiều rộng vùng kháng khuẩn 12-25 mm; (+++): chiều rộng vùng kháng khuẩn >25 mm (Hutt et al., 2006)

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, trong 20 chủng được tuyển chọn, có 12 chủng có khả năng kháng khuẩn *P. acnes* PO. Trong đó, 11 chủng có tính kháng trung bình với chiều rộng vùng kháng khuẩn 12-22 mm, Thai22 với chiều rộng đường kháng khuẩn là 20,00 mm và 1 chủng có tính kháng yếu với chiều rộng vùng kháng khuẩn nhỏ hơn 12 mm (chủng Thai32 với 11,33 mm). Chiều rộng vùng kháng khuẩn được xác định bằng phương pháp đối kháng vạch thẳng vuông góc được mô tả như ở Hình 1.

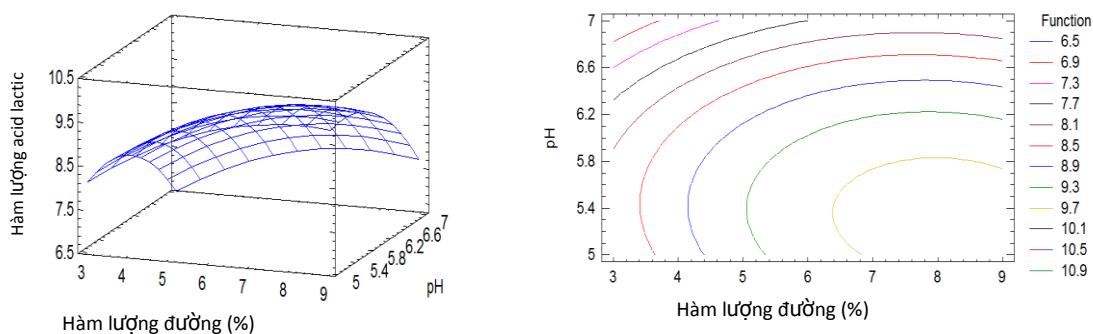


**Hình 1.** Vùng kháng khuẩn *P. acnes* PO tạo ra bởi *L. plantarum* L39 bằng phương pháp vạch thẳng vuông góc  
\*Ghi chú: Chủng L39 là chuỗi khuẩn lạc theo chiều trên xuống, các vạch khuẩn lạc ngang song song với nhau là chủng *P. acnes*. Khoảng cách kháng khuẩn được tính bằng trung bình khoảng cách từ mép khuẩn lạc *L. plantarum* L39 đến điểm đầu các vạch khuẩn lạc *P. acnes*.

Kết quả kháng khuẩn này tương đồng với nghiên cứu của Bùi Hoàng Đăng Long và đồng tác giả (2019) [11]. Trong đó, chủng L39 có khả năng sinh bacteriocin kháng chủng chỉ thị PO trên môi trường nước chua tàu hủ bổ sung sucrose-peptone- $K_2HPO_4$  là 12,67 mm. Cũng trong nghiên cứu trên, môi trường lý tưởng MRS, các chủng LAB có khả năng kháng khuẩn với đường kính vòng kháng là 13,67 mm [22]. Thực tế, khả năng tạo kháng khuẩn trong môi trường nước chua tàu hủ sẽ thấp hơn MRS. Tuy nhiên, có thể tận dụng nước chua tàu hủ như là nguồn phụ phẩm trong nuôi cấy chủng L39 vì mang tính kinh tế và góp phần bảo vệ môi trường. Dựa vào kết quả này, chủng L39 được chọn để thực hiện tối ưu hóa điều kiện sản xuất acid lactic từ nước chua tàu hủ vì có khả năng lên men và kháng khuẩn chỉ thị tốt so với các chủng còn lại.

### 3.3. Điều kiện thích hợp lên men acid lactic của chủng vi khuẩn lactic tuyển chọn trong môi trường nước chua tàu hủ

Bảng 3 trình bày kết quả khảo sát điều kiện lên men và được phân tích bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XVI nhằm thiết lập phương trình hồi quy nhiều biến. Dựa vào phương trình này, khi cố định mật độ giống chủng  $\log 7$  tế bào/mL, hàm lượng đường (3,00-9,00%) và pH (5,00-7,00), hàm lượng acid lactic sinh ra theo phương trình sau: Acid lactic =  $-49,46 + 9,35X - 0,02Y + 15,45Z - 0,06X^2 + 0,68Y^2 - 0,72Z^2 - 1,29XZ - 1,16XY - 1,08YZ + 0,18XYZ$ . Trong đó: X là hàm lượng đường, Y là mật độ chủng và Z là pH. Từ phương trình hồi quy lấy đạo hàm theo từng biến số đường và pH có thể thấy, với hàm lượng đường 8% (w/v), pH 5,6 và mật độ 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. Đồ thị bề mặt đáp ứng và đồ thị đường mức tương quan giữa hàm lượng đường và pH đến hàm lượng acid lactic được trình bày ở Hình 2.



**Hình 2.** Đồ thị mặt đáp ứng và đường mức của hàm lượng acid lactic sinh ra ở các điều kiện nuôi cấy khác nhau

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, nghiệm thức 24 với hàm lượng đường là 9% (w/v), pH 6,0 mật độ giống chủng là log 7 ( $10^7$  tế bào/mL) cho hàm lượng acid lactic cao nhất là 10,8 g/L, đồng thời hàm lượng acid lactic thấp nhất là 3,98 g/L ở nghiệm thức 1 với hàm lượng đường là 3% (w/v), pH 5, mật độ giống chủng là log 5 ( $10^5$  tế bào/mL).

**Bảng 3.** Khả năng lên men acid lactic từ nước chua tàu hủ của các chủng L39 khi khảo sát hàm lượng sucrose, pH và mật độ giống chủng

Nghiệm thức	Nhân tố			Chỉ tiêu theo dõi	
	Hàm lượng đường (% w/v)	pH trước lên men	Mật độ giống chủng Log (tế bào/mL)	Hàm lượng acid lactic (g/L)	pH sau lên men
1	3	5	5	3,98 <sup>l</sup>	3,98
2	3	5	6	4,43 <sup>kl</sup>	4,00
3	3	5	7	8,70 <sup>cd</sup>	3,91
4	3	6	5	5,33 <sup>ij</sup>	4,05
5	3	6	6	5,70 <sup>hi</sup>	4,06
6	3	6	7	7,88 <sup>e</sup>	3,95
7	3	7	5	4,65 <sup>k</sup>	4,10
8	3	7	6	5,40 <sup>ij</sup>	4,12
9	3	7	7	6,83 <sup>g</sup>	3,98
10	6	5	5	8,48 <sup>d</sup>	3,75
11	6	5	6	9,23 <sup>bc</sup>	3,73
12	6	5	7	9,38 <sup>b</sup>	3,72
13	6	6	5	5,48 <sup>i</sup>	3,93
14	6	6	6	6,83 <sup>g</sup>	3,91
15	6	6	7	8,48 <sup>d</sup>	3,87
16	6	7	5	5,63 <sup>i</sup>	4,00
17	6	7	6	6,23 <sup>h</sup>	4,01
18	6	7	7	7,28 <sup>fg</sup>	3,92
19	9	5	5	7,73 <sup>ef</sup>	3,75
20	9	5	6	8,63 <sup>d</sup>	3,73
21	9	5	7	9,00 <sup>bcd</sup>	3,72
22	9	6	5	8,93 <sup>bcd</sup>	3,81
23	9	6	6	8,48 <sup>d</sup>	3,92
24	9	6	7	10,80 <sup>a</sup>	3,80
25	9	7	5	4,88 <sup>k</sup>	3,94
26	9	7	6	4,58 <sup>k</sup>	3,92
27	9	7	7	7,88 <sup>e</sup>	3,88

\*Ghi chú: Giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%

Mật độ giống chủng là log 7 ( $10^7$  tế bào /mL) được sử dụng trong bố trí thí nghiệm thu được kết quả cao ở tất cả các nghiệm thức. Có thể thấy, mật độ vi khuẩn cao giúp cho việc thích nghi với môi trường và sinh trưởng tế bào ở mức tốt hơn. Ngoài ra, hàm lượng acid lactic sinh ra tỉ lệ thuận với hàm lượng đường ở các nghiệm thức cùng điều kiện pH và mật độ giống chủng. Các nghiệm thức có hàm lượng đường ở mức 9% cho kết quả lên men tốt hơn các nghiệm thức với hàm lượng đường thấp hơn. Về lý thuyết, đường là nguồn carbon và là cơ chất chính cho lên men, quyết định đến hàm lượng acid lactic sinh ra sau lên men. Các chủng vi khuẩn sử dụng nguồn carbon này để cung cấp năng lượng cho các hoạt động của sự sống như duy trì hệ thống khi nhiệt độ môi trường thay đổi, tổng hợp các chất xây dựng tế bào,...[23].

Bên cạnh đó, pH là một trong những yếu tố quan trọng trong quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật. Ở pH 7, tất cả đều sinh acid lactic thấp hơn với các nghiệm thức có pH 5 và 6. Trong lên men lactic, LAB sẽ tạo ra acid lactic làm giảm pH của môi trường và pH thấp sẽ góp

phần ức chế các vi sinh vật tạp nhiễm đồng thời ức chế sự phát triển của bản thân LAB. Khalid đã kết luận tăng trưởng tối ưu cho LAB là ở pH 5,5 - 5,8 [24].

Nghiên cứu của Ngô Thị Phương Dung và đồng tác giả (2017) cho thấy, khi sử dụng *Lactobacillus casei* để lên men trong 1 L môi trường MRS lỏng với điều kiện thích hợp cho hàm lượng acid lactic đạt 21,15 g/L [13]. Với kết quả thí nghiệm này, hàm lượng acid lactic sinh ra trong môi trường nước chua (10,28 g/L) với hàm lượng đường 8% (w/v), pH 5,6 và mật độ giống chủng là  $10^7$  tế bào /mL) là thấp hơn. Lưu ý rằng glucose trong nghiên cứu đi trước là loại đường tối ưu của vi khuẩn lactic nhưng có giá thành khá cao. Việc sử dụng nước chua bổ sung sucrose để lên men thay thế giúp giảm chi phí, đồng thời là một bước nhằm ứng dụng lên men trong điều kiện thực tiễn.

Kết quả kiểm chứng mô hình tối ưu được đề xuất bởi phần mềm Statgraphics Centurion version XVI khi lên men ở quy mô 100 mL cho thấy hàm lượng acid lactic sinh ra đạt 10,28 g/L. Kết quả cho thấy tương đối so với nghiệm thức số 24 ở Bảng 3 (hàm lượng acid lactic là 10,80 g/L). Vì vậy, điều kiện được chọn qua phân tích bằng phần mềm là có thể chấp nhận được.

### 3.4. Thử nghiệm sản xuất xà phòng từ nước chua tàu hủ có khả năng kháng *P. Acnes* PO

Bảng 4 thể hiện kết quả thử nghiệm tổng hợp xà phòng bằng dầu dừa, dung dịch NaOH và phối trộn các tỉ lệ nước chua tàu hủ. Kết quả cho thấy, nước chua tàu hủ được bổ sung vào xà phòng vẫn duy trì khả năng kháng khuẩn chỉ thị *P. acnes* PO với đường kính vòng kháng cao nhất đạt 17,00 mm ở nghiệm thức bổ sung 25% nước chua và không khác biệt về thống kê với nghiệm thức bổ sung 20% xà phòng (đạt 15,67 mm). Năm 2013, Zoumpopoulou và đồng tác giả đã kết luận khả năng kháng khuẩn của bacteriocin từ vi khuẩn lactic vẫn bền vững khi bổ sung vào chất tẩy rửa như kem đánh răng [25]. Điều này cho thấy, tổng hợp xà phòng vẫn đạt hiệu quả trong duy trì khả năng kháng khuẩn.

**Bảng 4.** Các chỉ tiêu kết quả trong khảo sát khả năng xà phòng hóa nước chua tàu hủ

Tỷ lệ nước chua (% v/v)	pH	Hàm lượng NaOH tự do (% w/w)	Khả năng kháng khuẩn (mm)
15	7,94	0,3333	11,00 <sup>b</sup>
20	7,11	0,0333	15,67 <sup>a</sup>
25	6,65	0	17,00 <sup>a</sup>

Về kết quả cảm quan theo TCVN 2224:1991 trình bày ở Bảng 5, nghiệm thức bổ sung 25% nước chua tuy duy trì tốt khả năng kháng khuẩn nhưng lại có điểm cảm quan khá thấp, mẫu xà phòng này có điểm kết cấu và màu sắc thấp hơn các nghiệm thức còn lại. Ở mức bổ sung 15% và 20% (v/v) nước chua vào xà phòng, điểm cảm quan đạt cao nhất với lần lượt 12,33 và 13,33 điểm, không có khác biệt có ý nghĩa thống kê. Trong 3 nghiệm thức bổ sung, nghiệm thức 20% nước chua cũng cho hàm lượng NaOH đạt 0,0333% (w/w), phù hợp với TCVN 2224:1991 (hàm lượng NaOH nhỏ hơn 0,05%).

**Bảng 5.** Kết quả thống kê cảm quan xà phòng được bổ sung các mức thể tích nước chua

Hàm lượng nước chua bổ sung (% w/w)	Kết cấu (Điểm)	Màu (Điểm)	Mùi (Điểm)	Điểm trung bình
15	4	4	3	12,33 <sup>ab</sup>
15	5	4	4	
15	4	5	4	
20	5	4	5	13,33 <sup>a</sup>
20	5	5	5	
20	3	4	4	
25	3	2	4	9,67 <sup>b</sup>
25	3	3	3	
25	4	3	4	

Tổng hợp yếu tố kháng khuẩn và cảm quan, nghiệm thức bổ sung 20% thể tích nước chua vào xà phòng giúp tạo bánh xà phòng vẫn duy trì khả năng kháng khuẩn tốt (vòng kháng 15,67 mm) và điểm cảm quan đạt trung bình với 86,6% (4,33/5,0) điểm kết cấu, 86,6% (4,33/5,0) điểm màu sắc và 93,4% (4,67/5,0) điểm mùi hương.

#### 4. Kết luận

Trong hai mươi chủng LAB được khảo sát, *L. plantarum* L39 cho hàm lượng acid lactic cao nhất đạt 7,375 g/L ở ngày 3 và có khả năng kháng vi khuẩn *P. acnes* PO với khoảng cách kháng khuẩn đạt 16,00 mm. Điều kiện thích hợp để lên men tạo acid lactic từ nước chua tàu hủ được xác định ở hàm lượng đường 8% (w/v), pH 5,6 và mật độ chủng  $10^7$  tế bào/mL. Ở điều kiện thích hợp, *L. plantarum* L39 có khả năng lên men tạo acid lactic từ nước chua tàu hủ đạt 10,28 g/L. Thử nghiệm sản xuất xà phòng từ nước chua tàu hủ cho thấy thể tích nước chua bổ sung đạt 20% tạo ra xà phòng có khả năng kháng vi khuẩn *P. acnes* PO với đường kính vòng kháng đạt 15,67 mm và có kết quả cảm quan tốt với 86,6% (4,33/5,0) điểm kết cấu, 86,6% (4,33/5,0) điểm màu sắc và 93,4% (4,67/5,00) điểm mùi hương.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu được thực hiện thông qua đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở trường Đại học Cần Thơ (mã số đề tài T2020-104).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] K. Sonomoto and A. Yokota (editor), *Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria: Current Progress in Advanced Research*. Caister Academic Press, 2011. ISBN 978-1-904455-82-0.
- [2] A. Ramzi, A. Alsaheb, A. Azzam Aladdin, N. Z. Othman, R. A. Malek, O. M. Leng, R. Aziz, and H. A. El Enshasy, "Lactic acid applications in pharmaceutical and cosmeceutical industries," *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, vol. 7, no. 10, pp. 729-735, 2015.
- [3] B. Cinque, C. L. Torre, E. Melchiorre, G. Marchesani, G. Zoccali, P. Palumbo, L. D. Marzio, A. Masci, L. Mosca, P. Mastromarino, M. Giuliani, and M. G. Cifone, "Use of Probiotics for Dermal Applications," *In Book: Probiotics, Microbiology Monographs*, vol. 21, pp. 221-241, 2011.
- [4] L. De Vuyst and F. Leroy, "Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications," *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, vol. 13, pp. 194-199, 2007.
- [5] R. Wolf and L. C. Parish, "Effect of soaps and detergents on epidermal barrier function," *Clinics in Dermatology*, vol. 30, no. 3, pp. 297-300, 2012.
- [6] J. Hu, W. Lu, C. Wang, R. Zhu, and J. Qiao, "Characteristics of Solid-state Fermented Feed and its Effects on Performance and Nutrient Digestibility in Growing-finishing Pigs," *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 21, no. 11, pp. 1635-1641, 2008.
- [7] H. N. P. Trinh, B. H. D. Long, N. N. Thanh, H. X. Phong, and N. T. P. Dung, "Characterization of newly isolated thermotolerant lactic acid bacteria and lactic acid production at high temperature," *International Food Research Journal*, vol. 25, no. 2, pp. 523-526, 2018.
- [8] G. Kontochristopoulos and E. Platsidaki, "Chemical peels in active acne and acne scars," *Clinics in Dermatology*, vol. 35, no. 2, pp. 179-182, 2017.
- [9] S. Sachdeva, "Lactic acid peeling in superficial acne scarring in Indian skin," *J Cosmet Dermatol.*, vol. 9, pp. 246-248, 2010.
- [10] W. P. Bowe, J. C. Filip, J. M. DiRienzo, A. Volgina, and D. J. Margolis, "Inhibition of *Propionibacterium acnes* by bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by *Streptococcus salivarius*," *Journal of Drugs in Dermatology*, vol. 5, no. 9, pp. 868-870, 2006.
- [11] H. D. L. Bui, T. T. M. Nguyen, X. P. Huynh, T. V. Pham, and N. T. Nguyen, "Isolation and optimisation for culture conditions of lactic acid bacteria for antibacterial properties against *Propionibacterium* spp. isolated from human skin," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, vol. 61, no. 7, pp. 21-28, 2019b.
- [12] T. T. N. Truong, T. M. T. Le, N. H. Tran, T. M. T. Nguyen, H. A. Mai, N. T. Nguyen, H. D. L. Bui, and X. P. Huynh, "Isolation and selection of lactic acid bacteria and application in fermentation of



- mushroom (*Volvariella volvacea*),” (in Vietnamese), *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 225, no. 1, pp. 3-10, 2020.
- [13] T. P. D. Ngo, H. D. L. Bui, N. P. T. Hoang, N. T. Nguyen, and X. P. Huynh, “The selection of thermotolerant lactic acid bacteria and applications for lactic acid production,” (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, vol. 14, no. 3, pp. 58-64, 2017.
- [14] P. Hutt, J. Shchepetova, K. Loivukene, T. Kullisaar, and M. Mikelsaar, “Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens,” *Journal of Applied Microbiology*, vol. 100, pp. 1324-1332, 2006.
- [15] AOAC 1990, Association of Official Analytical Chemists, *Official Methods of Analysis 15th Edition*, (Helrick, K.ed.). AOAC, Arlington, Virginia, 1990.
- [16] T. C. T. Nguyen, N. Q. A. Phan, T. H. N. Le, T. H. Tran, T. H. Le, P. T. N. Nguyen, and L. G. Bach, “Application of Response Surface Methodology to optimize the process of saponification reaction from coconut oil in Ben Tre,” (in Vietnamese), *Journal of Science and Technology – Nguyen Tat Thanh University*, vol. 2, pp. 40-46, 2018.
- [17] N. Hwanhlem, J. M. Chobert, and A. H. Kittikun, “Bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from mangrove forests in southern Thailand as potential bio-control agents in food: isolation, screening and optimization,” *Food Control*, vol. 41, pp. 202-211, 2014.
- [18] J. L. Rombouts, E. Kranendonk, A. Regueira, D. G. Weissbrodt, R. Kleerebezem, and M. van Loosdrecht, “Selecting for lactic acid producing and utilising bacteria in anaerobic enrichment cultures,” *Biotechnology and bioengineering*, vol. 117, no. 5, pp. 1281-1293, 2020.
- [19] 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.
- [20] H. D. L. Bui, Q. S. Pham, X. P. Huynh, N. T. Nguyen, and T. P. D. Ngo, “Study of conditions for lactic acid fermentation from sugarcane molasses using thermotolerant lactic acid bacteria,” *Can Tho University Journal of Science*, Special Issue in Biotechnology, vol. 55, no. 2, pp. 103-109, 2019a.
- [21] L. D. Nguyen, D. Q. Nguyen, and V. T. Pham, *Microbiology*. Vietnam Education Publishing House (in Vietnamese), 1997, p. 83.
- [22] N. N. T. Huynh, X. P. Huynh, H. D. L. Bui, T. Zendo, K. Sonomoto, and T. P. D. Ngo, “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. 07, pp. 51-57, 2017.
- [23] M. R. Adams and M. O. Moss, *Food Microbiology*, The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK, vol. 2, 2000.
- [24] K. Khalid, “An overview of lactic acid bacteria,” *International Journal of Bioscience*, vol. 1, no. 3, pp. 1-13, 2011.
- [25] G. Zoumpopoulou, E. Pepelassi, W. Papaioannou, M. Georgalaki, P. A. Maragkoudakis, P. A. Tarantilis, M. Polissiou, E. Tsakalidou, and K. Papadimitriou, “Incidence of Bacteriocins Produced by Food-Related Lactic Acid Bacteria Active towards Oral Pathogens,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 14, no. 3, pp. 4640-4654, 2013.