

## KHẢO SÁT KHẢ NĂNG LÊN MEN ACID LACTIC TỪ DỊCH THỦY PHÂN LỖI NGÔ BẰNG ENZYME VISCOZYME®L

• ThS. Đào Thị Mỹ Linh<sup>(\*)</sup>, ThS. Nguyễn Thị Quỳnh Mai<sup>(\*)</sup>,  
Dương Kim Ngọc<sup>(\*\*)</sup>, Mai Thị Linh<sup>(\*\*)</sup>

### Tóm tắt

*Nghiên cứu tiến hành thủy phân lõi ngô, một nguồn phế liệu nông nghiệp giàu cellulose bằng enzyme VISCOZYME®L nhằm thu được dịch thủy phân giàu glucose. Dịch sau thủy phân được dùng thay thế glucose thương mại trong thành phần môi trường MRS để đem lại lợi ích về kinh tế. Quá trình lên men *Lactobacillus plantarum* trong môi trường trên nhằm thu nhận acid lactic. Kết quả cho thấy, nồng độ enzyme VISCOZYME®L thích hợp cho quá trình thủy phân lõi ngô là 5% (v/v), dịch thu được có hàm lượng đường khử là 63,54 g/l. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men được khảo sát, ở điều kiện thích hợp là tỷ lệ giống 6% (v/v), nồng độ đường 6% (w/v), thời gian kết thúc lên men 84 h, hàm lượng acid lactic là 23,7 g/l.*

*Từ khóa: Acid lactic, lõi ngô, enzyme VISCOZYME®L, yếu tố ảnh hưởng.*

### 1. Đặt vấn đề

Với thế mạnh trong phát triển nông nghiệp, nước ta hiện có nhiều nguồn phế liệu giàu cellulose như rơm rạ, bã mía, lõi ngô... Chúng đang được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu để ứng dụng lên men thu sản phẩm từ vi sinh vật. Trong đó, lõi ngô là nguồn phế liệu của cây ngô hiện có sản lượng nhiều (theo Niên giám thống kê 2013 là 5193,5 nghìn tấn), sau khi cung cấp hạt để làm ngũ cốc, phục vụ chăn nuôi... lõi ngô thải ra hầu như không được tận dụng và chúng được tiêu hủy bằng cách đốt ngay trên đồng ruộng tạo ra khí, bụi... gây ô nhiễm môi trường và lãng phí. Vì vậy việc tận dụng lõi ngô trong sản xuất có ý nghĩa vừa tăng giá trị kinh tế đồng thời giải quyết được vấn đề môi trường.

Lõi ngô có hàm lượng cellulose 32,3-45,6 %, hemicellulose (39,8%), lignin (6,7-13,9%) [4], để có thể tận dụng được nguồn cacbonhydrat này cần phải có quá trình thủy phân để chuyển hoá thành đường khử. Quá trình thủy phân có thể dùng acid hoặc kiềm nhưng nhược điểm là phải thu hồi hoá chất, thiết bị dễ bị ăn mòn, có thể tạo ra độc tố [2]. Để khắc phục nhược điểm này, người ta có thể dùng enzyme thủy phân như là một phương pháp thay thế thân thiện với môi trường, do có điều kiện phản ứng “êm dịu” hơn (pH, nhiệt độ, áp suất), hiệu suất

thủy phân khoảng (75-85%) và hiện vẫn đang được nghiên cứu để cải tiến hiệu suất (85-95%) [5]. Dịch sau thủy phân sẽ dùng cho các quá trình lên men thu sản phẩm như acid lactic, ethanol, sinh khối vi sinh vật... giúp giảm giá thành sản phẩm do được sản xuất từ nguồn nguyên liệu rẻ tiền.

Nguồn nguyên liệu giàu cellulose ngoài việc được ứng dụng trong thu nhận ethanol nhiên liệu còn được ứng dụng trong lên men thu acid lactic do nhu cầu cao trên thị trường vì những lợi ích của nó mang lại. Acid lactic được ứng dụng nhiều trong các lĩnh vực y dược (lactac canxi là loại dược phẩm bổ sung canxi dưới dạng dễ hấp thu cho cơ thể), công nghiệp (acid lactic dùng làm dung môi sản xuất sơn, vecni, nhuộm và thuốc da), ngành vật liệu mới (polylactic acid (PLA) được xem là sự lựa chọn thích hợp để thay thế chất dẻo có nguồn gốc từ dầu mỏ vì nó có khả năng phân hủy và độc tính thấp. C. Ruengruglikit và cộng sự (2004) đã thực hiện lên men từ dịch thủy phân lõi ngô bằng *Rhizopus orysee* thu được acid lactic có hàm lượng là  $299,4 \pm 6,8$  g/kg chất khô; Limin Wanga và cộng sự (2010) đã sử dụng rỉ mật từ lõi ngô, một dạng phế phẩm rẻ tiền sau quá trình sản xuất xylitol, để tận dụng lên men thu được acid lactic có hàm lượng là 74,7 g/l bằng vi khuẩn *Bacillus* sp chủng XZL9.

Trong khảo sát này, lõi ngô được xử lý và thủy phân bằng enzyme VISCOZYME®L, dịch sau thủy phân được sử dụng bổ sung vào môi trường MRS để xác định khả năng lên men acid lactic của chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* từ nguồn này.

<sup>(\*)</sup> Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh.

<sup>(\*\*)</sup> Cử nhân, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh.

## 2. Nội dung nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

#### 2.1.1. Vật liệu

*Lõi ngô*: được mua từ các nhà nông tại huyện Mỹ Xuyên, tỉnh Bến Tre.

Lõi ngô rửa sạch, loại bỏ tạp chất và phơi khô, nghiền nhỏ bằng máy xay để được kích thước hạt mịn và bảo quản ở nhiệt độ phòng để sử dụng làm nguyên liệu cho cả quá trình khảo sát.

*Enzyme VISCOZYME<sup>®</sup>L* của hãng Novozymes có hoạt độ 100 FBG/g gồm xylanase, hemicellulase, cellulase.

*Chủng vi sinh vật: Lactobacillus plantarum* được cung cấp bởi Công ty Trách nhiệm hữu hạn Tiên Phong và bảo quản ở 4°C.

*Môi trường lên men*: bổ sung dịch thủy phân lõi ngô theo tỷ lệ thí nghiệm vào môi trường MRS.

#### 2.1.2. Phương pháp nghiên cứu

*Xác định mật độ tế bào*: Tiến hành dựng đường chuẩn thể hiện mối quan hệ tuyến tính giữa mật độ tế bào và giá trị OD<sub>600 nm</sub>.

Vi sinh vật được tăng sinh trong môi trường MRS broth, sau đó được pha loãng ở các nồng độ và thời gian khác nhau, tiến hành đo OD<sub>600 nm</sub> (A) bằng máy SP-3000 nano và trải đĩa trên môi trường MRS agar ủ ở 37°C trong 48 giờ, sau đó tiến hành đếm khuẩn lạc (CFU). Sử dụng phần mềm Excel của Microsoft để xử lý số liệu, kết quả đường chuẩn:

$$\text{Log} \left( \frac{\text{CFU}}{\text{ml}} \right) = 1.9791 A + 8.2389$$

Ở các thí nghiệm xác định mật độ tế bào, chúng tôi tiến hành đo OD sau khi kết thúc thời gian nuôi cấy, dựa vào đường chuẩn để suy ra mật độ tế bào.

#### *Xác định hàm lượng cellulose trong lõi ngô*

Loại các chất khác (lignin, hemicellulose, tro...) bằng kiềm và halogen (NaClO) để thu được cellulose trắng [7].

Hàm lượng cellulose:  $X = m_2/m_1 * 100$ .

Trong đó:  $m_1$ : Khối lượng mẫu;  $m_2$ : Lượng bã cellulose.

#### *Xác định hàm lượng đường khử*

Hàm lượng đường khử trong dịch thủy phân lõi ngô được định lượng bằng phương pháp DNS (dinitrosalicylic acid), dựa trên cơ sở phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử dinitrosalicylic

acid. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỉ lệ thuận với nồng độ đường khử trong một phạm vi nhất định, được xác định bằng cách đo OD ở bước sóng 540 nm.

#### *Xử lý sau lên men để định lượng acid lactic*

Sau khi lên men, ngoài acid lactic dịch lên men còn có calcium lactate, sinh khối vi sinh vật, CaCO<sub>3</sub> thừa và các tạp chất khác, do đó cần tiến hành xử lý dịch sau lên men để thu được acid lactic thô đem đi định lượng.

Cho 50 ml dịch sau lên men vào bình, đun nóng đến 80-90°C trong 20 phút nhằm tiêu diệt vi sinh vật và ly tâm loại bỏ cặn, xác vi sinh vật; dịch ly tâm thu được bổ sung Ca(OH)<sub>2</sub> nâng pH lên 10-11; tiến hành quá trình kết tủa calcium lactate ở nhiệt độ 5-10°C sau 18 giờ; thu nhận calcium lactate bằng quá trình lọc. Rửa kết tủa calcium lactate bằng 10 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N để chuyển calcium lactate thành acid lactic và tạo kết tủa CaSO<sub>4</sub>.

#### *Xác định hàm lượng acid lactic bằng phương pháp chuẩn độ*

Phương pháp dựa trên phản ứng trao đổi proton giữa NaOH 0,1 N chuẩn và acid lactic sau lên men sử dụng chỉ thị phenolphthalein; hút 1 ml dịch lên men sau xử lý, pha loãng 50 lần với nước cất; thêm 3 giọt thuốc thử phenolphthalein và tiến hành chuẩn độ với NaOH 0,1 N; ghi nhận thể tích NaOH tiêu tốn và tính ra hàm lượng acid lactic theo công thức sau:

$$A = \frac{V_{\text{NaOH}} \times 0,09 \times S}{V_{\text{mẫu}}}$$

Trong đó: A: hàm lượng acid lactic (g/l);  $V_{\text{NaOH}}$ : thể tích NaOH tiêu tốn (ml);

S: Độ pha loãng (lần);  $V_{\text{mẫu}}$ : Thể tích acid lactic đem chuẩn độ (ml).

*Xử lý số liệu*: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Kết quả thí nghiệm được lặp lại 3 lần, xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI, Excel 2013.

## 2.2. Bố trí thí nghiệm

### 2.2.1. Tiền xử lý và khảo sát một số thành phần hoá học của lõi ngô

Lõi ngô được tiền xử lý với kiềm (KOH 2%), nhiệt độ 121°C trong 15 phút; sau đó, lọc lấy phần chất khô, rửa nước cất đến pH 7 và sấy ở nhiệt độ 65°C [10].

### 2.2.2. Khảo sát nồng độ enzyme trong giai đoạn thủy phân

Thí nghiệm với 5 nghiệm thức có nồng độ enzyme 1%, 3%, 5%, 7%, 9% (v/v) pha trong dung dịch đệm citrate/acetate 0,1 M, cố định hàm lượng bã ngô là 10%; thực hiện thủy phân ở nhiệt độ 50°C, pH = 4,8, chế độ lắc 150 rpm, thời gian 24 giờ; xác định hàm lượng đường khử sinh ra bằng phương pháp DNS [10].

### 2.2.3. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men tạo acid lactic

Trong quá trình lên men, yếu tố tỷ lệ giống (2-7% v/v), nồng độ đường (3-7% w/v), thời gian (48-96 giờ) ảnh hưởng tới khả năng sinh acid lactic của vi khuẩn. Khảo sát sự tác động của các yếu tố (Bảng 1) xác định hàm lượng acid lactic được tạo ra. Môi trường lên men gồm các thành phần của môi trường MRS loại bỏ glucose và dịch thủy phân lõi ngô thêm vào tỉ lệ của thí nghiệm [10], [6], [1].

**Bảng 1. Các yếu tố ảnh hưởng tới khả năng sinh acid lactic**

STT	Yếu tố	Nghiệm thức
1	Tỷ lệ giống % (v/v)	2-3-4-5-6-7
2	Nồng độ đường % (w/v)	3-4-5-6-7
3	Thời gian (giờ)	48-60-72- 84-96

## 2.3. Kết quả và thảo luận

### 2.3.1. Tiền xử lý và khảo sát một số thành phần hóa học của bột lõi ngô

Lõi ngô sau khi tiền xử lý bằng KOH 2%, đem đi xác định hàm lượng cellulose và độ ẩm. Kết quả thu được thể hiện ở Bảng 2.

**Bảng 2. Một số thành phần hóa học của lõi ngô**

Giai đoạn	Thành phần	Khối lượng trước (m1)	Khối lượng sau (m2)	Hàm lượng (%)
Trước tiền xử lý	Độ ẩm	100,20	86,70	13,50
	Cellulose	4,00	1,67	<b>41,75</b>
Sau tiền xử lý	Độ ẩm	100,07	90,80	9,27
	Cellulose	4,00	3,22	<b>80,50</b>

Từ kết quả thể hiện ở Bảng 2 cho thấy, lõi ngô nguyên liệu chứa hàm lượng cellulose (41,75%), tương đương với kết quả phân tích thành phần lõi ngô (44%) của tác giả Nguyễn Phước Minh (2014) [7].

Trong lõi ngô, ngoài thành phần cellulose, hemicellulose, lignin còn có các thành phần khác

chiếm 12,6% [7]. Hàm lượng cellulose sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng đường thu được sau quá trình thủy phân, hàm lượng cellulose càng cao thì hàm lượng đường càng nhiều. Sau khi tiền xử lý, hàm lượng của cellulose đã thay đổi đáng kể so với nguyên liệu đầu, bởi vì quá trình này đã loại bỏ được các tạp chất khác như lignin, hemicellulose để làm tăng hàm lượng cellulose. Khi thủy phân, hemicellulose chuyển hóa thành xylan tiếp đến xylose và nhanh chóng chuyển thành fucfural. Các sản phẩm khác (methanol, formic, acid acetic, acid propionic và hydroxy-1-propanone, hydroxy-1-butanone và 2-furfuraldehyde) do sự thoái giáng của xylan sẽ gây ảnh hưởng không tốt đến sự phát triển của vi sinh vật lên men [6].

Độ ẩm của lõi ngô giảm đi do khả năng giữ nước của các cấu trúc trong lõi ngô thay đổi, điều này tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân tiếp sau.

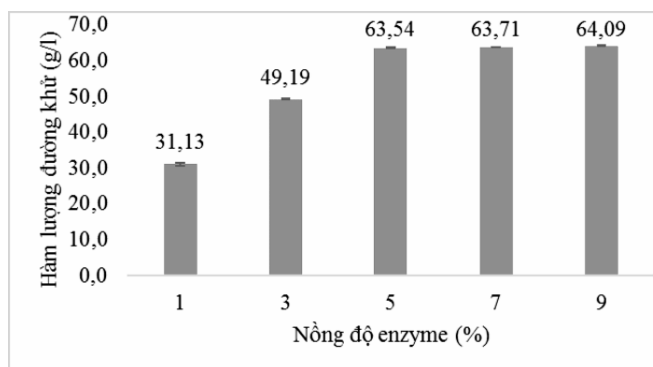
### 2.3.2. Khảo sát nồng độ enzyme VISCOZYME®L trong giai đoạn thủy phân

Nồng độ enzyme ảnh hưởng tới quá trình chuyển hoá cơ chất, là yếu tố tác động tới hiệu quả của quá trình thủy phân. Nồng độ enzyme thích hợp sẽ làm cho vận tốc phản ứng đạt cực đại, hàm lượng đường khử cao nhất.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân**

Nồng độ enzyme (% v/v)	Hàm lượng đường khử (g/l)
1	31,13 ± 0,42 <sup>a</sup>
3	49,19 ± 0,18 <sup>b</sup>
5	63,54 ± 0,06 <sup>c</sup>
7	63,71 ± 0,08 <sup>c</sup>
9	64,09 ± 0,10 <sup>c</sup>

Ghi chú: Các ký tự khác nhau biểu diễn mức độ khác biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.



**Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme VISCOZYME®L đến hàm lượng đường khử trong quá trình thủy phân**

Từ kết quả thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy có sự phụ thuộc của hàm lượng đường khử sinh ra so với sự thay đổi nồng độ enzyme VISCOZYME<sup>®</sup>L khi thủy phân cellulose (Hình 1).

Nồng độ enzyme tăng thì lượng đường khử tạo thành tăng lên (nồng độ enzyme 1% lượng đường khử là 31,13 g/l, tương tự 3% là 49,19 g/l, 5% là 63,54 g/l). Nhưng tiếp tục tăng nồng độ enzyme lên 7% và 9% thì hàm lượng đường khử tăng lên không có sự khác biệt có ý nghĩa (Bảng 3). Điều này có thể được giải thích bởi ảnh hưởng nồng độ enzyme tới vận tốc phản ứng, trong điều kiện thừa cơ chất, tốc độ phản ứng phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ enzyme, nồng độ sản phẩm tăng lên, nhưng nồng độ enzyme tăng tới một mức độ nào đó thì có sự bão hòa, vận tốc phản ứng tăng chậm lại. Chính vì vậy, khi nghiên cứu vai trò xúc tác của enzyme, người ta cần xác định nồng độ thích hợp của enzyme để tránh sự lãng phí.

Trong nghiên cứu này, enzyme VISCOZYME<sup>®</sup>L nồng độ 5% được sử dụng để thủy phân lõi ngô thu được dịch có hàm lượng đường khử là 63,54 g/l. Các tác giả khác sử dụng phương pháp acid để thủy phân thu được dịch sau thủy phân có hàm lượng đường khử 37,53 g/l [7], 37,69 g/l [1], 52,20 g/l [9]. Như vậy so với phương pháp hóa học, việc thủy phân lõi ngô bằng enzyme cho kết quả khả quan hơn do chế phẩm VISCOZYME<sup>®</sup>L là tổ hợp của ba enzyme xylanase, hemicellulase, cellulase nên phân cắt triệt để.

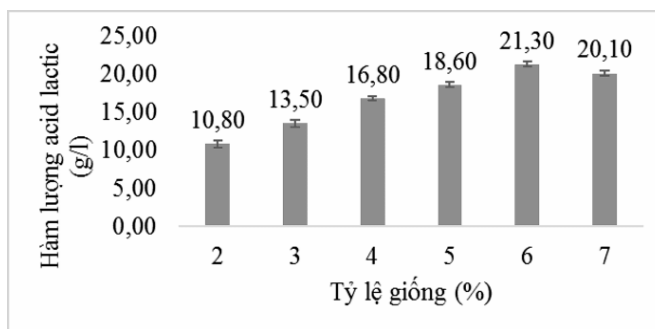
### 2.3.3. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình thu nhận acid lactic

Với điều kiện lên men gồm glucose 5%, nhiệt độ 37°C, pH = 6, thời gian lên men 72 giờ, mật độ tế bào lớn hơn 107 tế bào/ml. Tỷ lệ giống được bố trí 6 nghiệm thức 2-7%. Kết quả thể hiện ở Bảng 4 và Hình 2.

**Bảng 4. Kết quả khảo sát tỷ lệ giống đến hàm lượng acid lactic**

Tỷ lệ giống (%)	Hàm lượng acid lactic (g/l)
2	10,80 ± 0,52 <sup>a</sup>
3	13,50 ± 0,52 <sup>b</sup>
4	16,80 ± 0,30 <sup>c</sup>
5	18,60 ± 0,30 <sup>d</sup>
6	21,30 ± 0,30 <sup>f</sup>
7	20,10 ± 0,30 <sup>e</sup>

Ghi chú: Xem Bảng 3.



**Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến hàm lượng acid lactic**

Khi tỷ lệ giống tăng từ 2-6%, hàm lượng acid lactic tạo thành dao động từ 10,80 g/l – 21,30 g/l. Tỷ lệ giống ở 6%, hàm lượng acid thu được cao nhất là 21,30 g/l, có nghĩa là khi tỷ lệ giống tăng thì hàm lượng acid lactic cũng tăng theo nhưng đến một giá trị nhất định thì hàm lượng acid lactic giảm. Điều này có nghĩa là tỷ lệ giống tăng trong một giới hạn nhất định sẽ sản sinh ra lượng acid lactic cao, nhưng nếu vượt quá giới hạn đó thì lượng acid lactic sinh ra giảm.

Nếu tỉ lệ giống bổ sung vào thấp sẽ không đủ cho quá trình lên men, thời gian lên men sẽ dài, tốn thời gian và năng lượng. Ngược lại, nếu tỉ lệ giống cao thì dẫn đến cạnh tranh cơ chất, chất dinh dưỡng trong quá trình sinh trưởng nên sản lượng acid lactic sinh ra thấp và tăng chi phí cho quá trình nhân giống.

Tỷ lệ giống thích hợp cho quá trình lên men acid lactic là 6%, tương đối phù hợp với một số kết quả nghiên cứu trước đây của Shadi Bolourian, 2010 đã nghiên cứu tỉ lệ giống 5% cho vào quá trình lên men acid lactic là tốt nhất [3], Nguyễn Phước Minh, 2014 tỉ lệ giống để tạo ra hàm lượng acid lactic cao nhất là 6% [7].

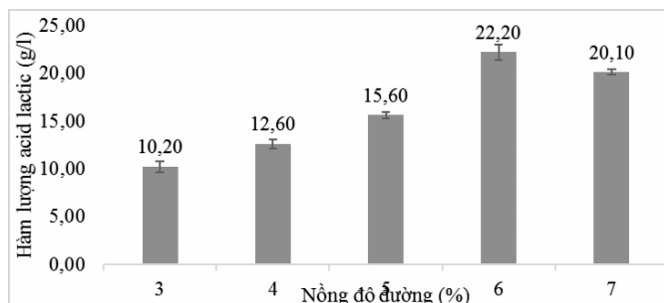
### 2.3.4. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình thu nhận acid lactic

**Bảng 5. Kết quả khảo sát nồng độ đường đến hàm lượng acid lactic**

Nồng độ đường (% w/v)	Hàm lượng acid lactic (g/l)
3	10,20 ± 0,60 <sup>a</sup>
4	12,60 ± 0,52 <sup>b</sup>
5	15,60 ± 0,3 <sup>c</sup>
6	22,20 ± 0,79 <sup>e</sup>
7	20,10 ± 0,3 <sup>d</sup>

Ghi chú: Xem Bảng 3.

Tiến hành khảo sát ở các nồng độ đường khác nhau 3-7%, với các điều kiện cố định như sau: pH = 6, thời gian lên men là 72 giờ, nhiệt độ 37°C, với tỷ lệ giống đã khảo sát ở trên. Kết quả được thể hiện ở Bảng 5.



**Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến hàm lượng acid lactic**

Quan sát đồ thị Hình 3 và Bảng 5, chúng tôi nhận thấy có sự phụ thuộc của hàm lượng acid lactic sinh ra vào sự thay đổi của nồng độ đường bổ sung. Khi nồng độ đường tăng từ 3-6% thì hàm lượng acid lactic tăng từ 10,2 g/l-22,2 g/l, nồng độ đạt 6% thì hàm lượng acid lactic ở mức cao nhất 22,2 g/l, nhưng khi nồng độ 7% thì hàm lượng acid giảm còn 21,60 g/l.

Đường là dưỡng chất quan trọng cho quá trình lên men lactic, đóng vai trò cung cấp nguồn cacbon cho vi sinh vật. Khi hàm lượng đường ít thì không đủ dưỡng chất cho quá trình lên men. Khi hàm lượng đường cao trong môi trường có thể xảy ra hiện tượng sốc thẩm thấu. Lượng đường nếu được đưa vào môi trường nuôi cấy với một lượng thích hợp thì sẽ giúp chủng nghiên cứu sinh trưởng và sinh tổng hợp tốt.

Trong điều kiện thí nghiệm, nguồn cacbon được cung cấp dưới dạng đường đơn glucose. Đường này sẽ được vi khuẩn lên men tạo ra acid lactic. Vì vậy, việc điều chỉnh nồng độ đường phù hợp cho quá trình lên men là rất cần thiết. Kết quả này gần đúng với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Minh Phước, 2014 thu nhận được hàm lượng acid lactic 17,5 g/l với nồng độ glucose là 5% [7].

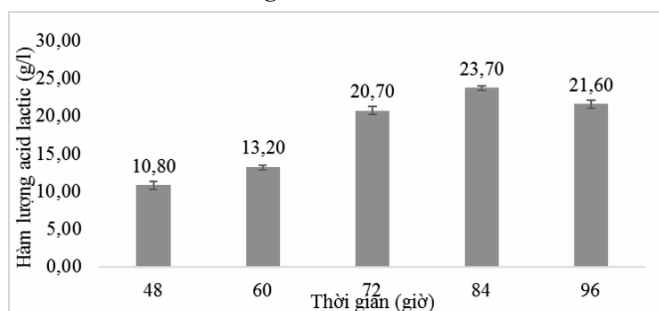
#### 2.3.5. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến quá trình thu nhận acid lactic

Thời gian lên men thu acid lactic được khảo sát trong 48, 60, 72, 84 và 96 giờ để theo dõi quá trình lên men với pH=6, tỷ lệ giống bổ sung, nồng độ đường xác định ở thí nghiệm trên. Hàm lượng acid lactic sinh ra được biểu diễn trong Bảng 6 và Hình 4.

**Bảng 6. Kết quả khảo sát thời gian đến hàm lượng acid lactic**

Thời gian (giờ)	Hàm lượng acid lactic (g/l)
48	10,80 ± 0,52 <sup>a</sup>
60	13,20 ± 0,30 <sup>b</sup>
72	20,70 ± 0,52 <sup>c</sup>
<b>84</b>	<b>23,70 ± 0,30<sup>c</sup></b>
96	21,60 ± 0,52 <sup>d</sup>

Ghi chú: Xem Bảng 3.



**Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng acid lactic**

Thông qua đồ thị Hình 4 và Bảng 6, chúng tôi nhận thấy khi thời gian tăng từ 48 giờ đến 84 giờ thì hàm lượng acid lactic cũng tăng từ 10,8 đến 23,7 g/l và đạt cực đại ở thời gian 84 giờ, nhưng khi thời gian tăng 84-96 giờ thì hàm lượng acid lactic lại giảm còn 21,6 g/l.

Chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* khi được đưa vào môi trường dinh dưỡng, chúng sẽ sử dụng dưỡng chất để sinh trưởng và phát triển, quá trình phát triển cũng đến một giai đoạn thích hợp sẽ dừng lại.

Thời gian lên men tác động đến hiệu suất lên men. Nếu thời gian lên men quá ít lúc này vi sinh vật chưa tổng hợp được hết nguồn dinh dưỡng nên sẽ sản sinh ra acid lactic ít. Nếu thời gian lên men quá dài thì sau khi vi khuẩn đã sử dụng hết cơ chất để sinh ra acid lactic, nếu không dừng lên men lại thì vi khuẩn lactic sẽ tiếp tục sử dụng hàm lượng acid lactic tạo thành làm cơ chất để tạo ra các sản phẩm phụ, điều này không tốt cho quá trình lên men lactic. Vì thế phải tìm ra được thời gian thích hợp để điều khiển quá trình lên men nhằm sản sinh ra hàm lượng acid lactic tốt nhất.

Theo khảo sát của chúng tôi thời gian lên men thích hợp để thu được hàm lượng acid lactic cao nhất là 84 giờ với hàm lượng là 23,7 g/l, cao hơn so với một số nghiên cứu cùng hướng. Tác giả Nguyễn Minh Phước, 2014 thực hiện thủy phân lõi

ngô bằng acid và thời gian lên men 84 giờ, đường 5%, pH 6, nhiệt độ 38°C bằng chủng *L. plantarum* thu được hàm lượng acid lactic là 19,07 g/l [7]. Tác giả Zulfiqar và cộng sự (2009) đã dùng chủng *Lactobacillus delbrukii* lên men dịch thủy phân lõi ngô 4% thời gian 84 giờ, nhiệt độ 40°C cho hàm lượng acid lactic là 17,73 g/l [1].

### 3. Kết luận

Lõi ngô khi được thủy phân bằng enzyme VISCOZYME®L nồng độ 5% (v/v) thu được dịch thủy phân có hàm lượng đường khử là 63,54 g/l.

Dịch đường này được thay thế glucose trong môi trường MRS để lên men thu nhận acid lactic bằng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum*.

Khảo sát các yếu tố phù hợp cho quá trình lên men bao gồm: Tỷ lệ giống 6%, nồng độ đường 6% (g/100 ml), thời gian lên men 84 giờ thu được hàm lượng acid lactic là 23,7 g/l.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy việc sử dụng enzyme trong thủy phân nguyên liệu chứa cellulose cho kết quả khả quan, các thiết bị sử dụng không phức tạp và thân thiện với môi trường. /.

### Tài liệu tham khảo

- [1]. Zulfiqar Ali, Faqir MA and Tahir Sehoor (2009), "Production of lactic acid from corn cobs hydrolysate through fermentation by *Lactobacillus delbrukii*", *African Journal of Biotechnology*, (8), p. 4175-4178.
- [2]. Mustafa Balat (2011), "Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review", *Energy Conversion and Management*, (52), p. 858-875.
- [3]. Shadi Bolourian (2010), "Effect of lactic fermentation (*Lactobacillus plantarum*) on Physicochemical, Flavor, Staling and Crust Properties of Volume bread (Baguette)", *Word Applied Sciences Journal*, 8 (1), p. 101-106.
- [4]. Daron Zych (2008), *The viability of corn cobs as a bioenergy feedstock*, This literature review was undertaken part of a summer internship in renewable energy at the West Central Research and Outreach Center University of Minnesota.
- [5]. Hamelinck CN, Van Hooijdonk G, Faaij APC (2005), "Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term", *Biomass Bioenergy*, (28), p. 384-410.
- [6]. Hassan, Ana B. M, Richard G. K & Richard J. S (2001), "Lactic acid production from agriculture residues", *Biotechnology Letters*, (23), p. 179-184.
- [7]. Nguyễn Phước Minh (2014), "Investigation of lactic acid fermentation from corn by-product using *L. casei* and *L. plantarum* strain", *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 1 (3), p. 92-100.
- [8]. C. Ruengruglikit, Y. D. Hang (2004), "L(+)-Lactic acid production from corncobs by *Rhizopus oryzae* NRRL-395", *Elsevier Science Ltd*, (36), p. 573-575.
- [9]. Limin Wang, Bo Zhao, Bo Liu, Bo Yu, Cuiqing Ma, Fei Su, Dongliang Hua, Qinggang Li, Yanhe Ma, Ping Xu (2010), "Efficient production of Lactic acid from corncob molasses, a waste by-product in xylitol production, by a newly isolated xylose utilizing *Bacillus* sp. Strain", *Bioresource Technology*, (101), p. 7908-7915.
- [10]. Boonyisa Wanitwattanarumlug, Apanee Luengnaruemitchai and Sujitra Wongkasemjit (2012), "Characterization of Corn Cobs from Microwave and Potassium Hydroxide Pretreatment", *International Journal of Chemical and Biological Engineering*, (6), p. 354-358.

## INVESTIGATING LACTIC ACID FERMENTATION FROM CORN COBS HYDROLYZED BY ENZYME VISCOZYME®L

### Summary

This study conducted the process of hydrolyzed corn-cobs, an agricultural waste source rich in cellulose, by enzyme Viscozyme®L as such to produce glucose-rich hydrolysate, which is then used to replace the commercial glucose in MRS for economic benefits. The above method of fermentation by *Lactobacillus plantarum* is to collect lactic acid. The results show that Viscozyme®L enzyme concentrations appropriate for corn-cob hydrolysis is 5% (v/v), the obtained product is 63,54 g/l of treated glucose. The sufficient fermentation conditions are 6% (v/v), glucose concentration 6% (w/v), fermentation time 84 hours, and lactic-acid concentration 23,7 g/l.

Key words: Acid lactic, corn cob, enzyme VISCOZYME®L, factors.

Ngày nhận bài: 23/9/2015; Ngày nhận lại: 05/10/2015; Ngày duyệt đăng: 22/12/2015.