



**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**  
**ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG**


**NGUYỄN THỊ THANH HÀ**

**NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH LÊN MEN AXIT LACTIC TỪ  
LỖI NGÔ**


**CHUYÊN NGÀNH: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM  
VÀ ĐỒ UỐNG**

**MÃ SỐ: 60.54.02**

**TÓM TẮT LUẬN VĂN THẠC SĨ KỸ THUẬT**



**Đà Nẵng – Năm 2012**



Công trình được hoàn thành tại  
**ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG**

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS TRƯƠNG THỊ MINH HẠNH

Phản biện 1: .....

Phản biện 2: .....

Luận văn sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm Luận văn tốt nghiệp  
thạc sĩ kỹ thuật họp tại Đại học Đà Nẵng vào ngày ..... tháng  
..... năm 2012

Có thể tìm hiểu luận văn tại:

- Trung tâm Thông tin-Học liệu, Đại học Đà Nẵng
- Trung tâm học liệu, Đại học Đà Nẵng

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của đề tài

Axit lactic là một axit hữu cơ không màu, có hương vị nhẹ, được hình thành do quá trình lên men tự nhiên trong các sản phẩm như: Phô mai, sữa chua, nước tương, sản phẩm thịt và rau muối chua. Axit lactic được ứng dụng nhiều trong công nghiệp thực phẩm, công nghiệp nhẹ và trong y tế. Trong y học và dược học, axit lactic để chữa bệnh đường ruột, phẫu thuật chỉnh hình, ứng dụng trong nha khoa, lactac canxi là loại dược phẩm bổ sung canxi dưới dạng dễ hấp thu cho cơ thể. Trong công nghiệp nhẹ, axit lactic dùng làm dung môi công nghiệp trong sản xuất sơn, vecni, nhuộm và thuốc da. Trong những năm gần đây, ý thức về vấn đề môi trường đã được nâng cao, xu hướng nghiên cứu hiện nay là các nhà khoa học đang tập trung để nghiên cứu chế tạo ra các loại vật liệu có khả năng phân hủy hoàn toàn trong điều kiện môi trường tự nhiên sau khi hết niên hạn sử dụng. Hàng loạt vật liệu mới được phát hiện, nghiên cứu và đưa vào ứng dụng thực tiễn, trong số đó đáng chú ý một trong số polyme đó phải kể đến polylactic axit (PLA). PLA là một loại polyeste mạch thẳng, thuộc nhựa nhiệt dẻo, sản phẩm của quá trình trùng ngưng axit lactic, một loại nguyên liệu được điều chế từ: tinh bột (sắn, ngô,...), ri đường bằng phương pháp lên men hoặc tổng hợp qua quá trình đường hóa. 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.

Axit lactic được sản xuất từ nguồn cơ chất giàu cacbon như đường, sữa, ri đường.... từ nhiều nguồn nguyên liệu khác nhau, và phế thải nông nghiệp đang được các nhà nghiên cứu đang quan tâm

tới vì nó là nguồn phế phẩm khổng lồ và rẻ tiền, như hạt mít, rơm rạ, bã sắn, bã ngô, cám mì, rỉ đường, bã mía, lõi ngô..., axit lactic dùng làm nguyên liệu trong công nghệ lên men, nhằm làm hạ giá thành cho sản phẩm. Axit lactic thật sự có ý nghĩa không chỉ về mặt kinh tế mà còn trong đời sống.

Ngô được coi là nguồn lương thực quan trọng của con người và là nguồn thức ăn chính trong chăn nuôi, ngoài ra ngô còn được dùng làm thực phẩm sạch, giàu dinh dưỡng đáp ứng cho tiêu thụ hàng ngày của con người. Ở nước ta trong những năm gần đây, diện tích ngô có sự thay đổi theo chiều hướng tích cực, năng suất ngô liên tục tăng vì thế sản lượng ngô cũng không ngừng tăng. Năm 2000 nước ta có diện tích trồng ngô là 730,2 ngàn hecta với năng suất trung bình là 27,5 tạ/ha, năm 2004 là 991,1 ngàn hecta với năng suất trung bình là 34,6 tạ/ha, đến năm 2008, diện tích trồng ngô của nước ta là 1125,9 ngàn hecta với năng suất là 40,2 tạ/ha, năm 2010 diện tích trồng ngô của nước ta là 1126,9 ngàn hecta với sản lượng 4060,8 nghìn tấn [34]. Đắk Lắk hiện là một trong những tỉnh có diện tích, sản lượng ngô lai lớn nhất nước với tổng diện tích ngô hàng năm khoảng 120.000 ha và sản lượng đạt trên 520.000 tấn ngô hạt [33]. Dự kiến, trong thời gian tới tỉnh Đắk Lắk sẽ tăng diện tích cây ngô lên khoảng 140.000 ha với sản lượng khoảng 600.000 tấn và trở thành tỉnh có diện tích và sản lượng ngô nhiều nhất nước nên đây cũng là nguồn lõi ngô thải ra rất nhiều [33]. Hiện nay, lượng lõi ngô thải ra hầu như không được tận dụng để có giá trị cao, sau thu hoạch người nông dân chỉ giải phóng nguyên liệu bằng cách đốt ngay trên đồng ruộng tạo ra những chất độc có hại như CO<sub>2</sub>, bụi ....điều này gây ô nhiễm môi trường rất lớn và gây lãng phí nguồn nguyên liệu có

nguồn gốc từ thực vật này, nên việc tận dụng lõi ngô trong sản xuất mang ý nghĩa rất lớn cho cuộc sống, vừa tăng giá trị kinh tế đồng thời giải quyết được vấn đề ô nhiễm môi trường đang là vấn đề nan giải hiện nay.

Lõi ngô với thành phần chính là xenluloza 32,3-45,6%; 39,8% hemixenluloza - chủ yếu là pentosan, và lignin 6,7-13,9% [17], lõi ngô cung cấp hàm lượng xenluloza cao để sau khi thủy phân tạo điều kiện cho quá trình lên men axit lactic. Hiện nay, việc sử dụng phế liệu, phế thải trong sản xuất nông nghiệp đối với nước ta còn rất mới mẻ và là hướng đi đang được các nhà khoa học lựa chọn, trong đó công nghệ lên men axit lactic từ phế phẩm nông nghiệp là một hướng đi mới giúp thu nhận được sản phẩm mong muốn và giải quyết được vấn đề môi trường. Nên chúng tôi quyết định chọn đề tài “*Nghiên cứu quá trình lên men axit lactic từ lõi ngô*” để đem lại lợi ích cho ngành nông nghiệp nước nhà.

## **2. Mục đích nghiên cứu**

- Xác định thành phần hóa học của lõi ngô.
- Xây dựng quy trình kỹ thuật lên men axit lactic bằng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* từ dịch thủy phân lõi ngô.

## **3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu**

- Sử dụng lõi ngô được thu mua ở các hộ gia đình tại Phường Khánh Xuân – Thành Phố Buon Ma Thuột – Tỉnh Đắk Lắk.
- Lên men axit lactic từ dịch thủy phân lõi ngô ở qui mô phòng thí nghiệm.

## **4. Phương pháp nghiên cứu**

- Phương pháp hóa lý
- Phương pháp hóa học

- Phương pháp vi sinh
- Phương pháp toán học

### **5. Ý nghĩa khoa học của đề tài**

- Sử dụng các phương pháp khoa học, thiết bị hiện đại để nghiên cứu quá trình lên men axit lactic từ lõi ngô.

- Phân tích và xác định hàm lượng xenluloza có trong lõi ngô, thành phần dịch lên men và xác định hàm lượng axit lactic bằng các phương pháp phân tích hiện đại.

### **6. Ý nghĩa thực tiễn của đề tài**

- Nghiên cứu giúp nâng cao được giá trị sử dụng lõi ngô, từ đó mang lại lợi ích kinh tế cho người nông dân.

- Hạ giá thành sản phẩm axit lactic.

- Nghiên cứu này giúp tái sử dụng phế phẩm lõi ngô nên có ý nghĩa rất lớn trong việc giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường.

- Mở rộng ứng dụng công nghệ vi sinh trong công nghiệp thực phẩm và một số lĩnh vực khác.

- Tăng nguồn thu nhập cho người nông dân cũng như nhà sản xuất. Giảm lượng axit lactic ngoại nhập, chủ động sản xuất, tiết kiệm ngoại tệ.

### **7. Kết cấu của luận văn**

Luận văn 77, gồm 35 hình, 9 bảng. Ngoài phần mở đầu, kết luận và kiến nghị, danh mục, tài liệu tham khảo, luận văn gồm các phần chính sau:

Chương 1 – Tổng quan tài liệu

Chương 2 – Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu.

Chương 3 – Kết quả và thảo luận

## CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN

### 1.1. Cây ngô và phụ phẩm từ cây ngô

### 1.2. Giới thiệu chung về lõi ngô

1.2.1. *Xenluloza [51]*

1.2.2. *Lignin [51]*

1.2.3. *Hemixenluloza [51]*

### 1.3. Quá trình tiền xử lý và thủy phân lõi ngô bằng axit

1.3.1. *Quá trình tiền xử lý lõi ngô*

1.3.2. *Quá trình thủy phân lõi ngô*

### 1.4. Tổng quan về quá trình lên men lactic

1.4.1. *Giới thiệu về axit lactic [52].*

1.4.2. *Vi sinh vật lên men axit lactic [50]*

1.4.3. *Các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình lên men lactic  
[11][54]*

1.4.4. *Các giai đoạn chủ yếu của quá trình lên men lactic [46]*

1.4.5. *Giới thiệu về chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* và  
*Lactobacillus casei*.*

1.4.5.1. *Chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* [57]*

1.4.5.2. *Chủng vi khuẩn *Lactobacillus casei* [58]*

1.4.6. *Ứng dụng của axit lactic*

### 1.5. Tình hình nghiên cứu quá trình lên men axit lactic từ nguyên liệu giàu xenluloza ở Việt Nam và trên thế giới.

1.5.1. *Những nghiên cứu ngoài nước*

1.5.2. *Những nghiên cứu trong nước*

## CHƯƠNG 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. *Lỗi ngô*

2.1.2. *Chủng vi khuẩn L. plantarum và L. casei*

2.1.3. *Hóa chất nghiên cứu*

2.1.4. *Thiết bị thí nghiệm*

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. *Phương pháp hoá lý*

2.2.2. *Phương pháp tiền xử lý nguyên liệu và thủy phân lõi ngô*

2.2.3. *Phương pháp lên men axit lactic [30]*

2.2.4. *Phương pháp xử lý sau lên men để định lượng axit lactic*

*[13] [30].*

2.2.5. *Phương pháp vi sinh vật*

2.2.6. *Phương pháp điều chỉnh nồng độ đường trong dịch thủy phân lõi ngô để lên men [30]*



## CHƯƠNG 3

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Khảo sát một số thành phần hóa học của lõi ngô nguyên liệu trước khi xử lý

Trước khi tiến hành thực hiện việc nghiên cứu quá trình lên men axit lactic từ lõi ngô, chúng tôi tiến hành xác định một số thành phần hóa học của lõi ngô như xenluloza, lignin, độ ẩm...

Kết quả được thể hiện ở bảng 3.1.

*Bảng 3.1. Một số thành phần hóa học của lõi ngô nguyên liệu*

Thành phần	%
Xenluloza	44%
Lignin	11,2%
Độ ẩm	12,6%

Từ kết quả thể hiện ở bảng 3.1 cho thấy, lõi ngô nguyên liệu chứa hàm lượng xenluloza khá cao so với tỷ lệ chung của các loại lõi ngô trên thế giới [17] [19]. Hàm lượng xenluloza sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến hàm lượng đường thu được sau quá trình thủy phân, hàm lượng xenluloza càng cao thì hàm lượng đường càng nhiều. Hàm lượng lignin 11,2%, so với hàm lượng lignin có trong lõi ngô trên thế giới 6,7- 24,5%. Như vậy, lõi ngô nguyên liệu có thể được xem là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho việc sản xuất axit lactic.

#### 3.2. Khảo sát quá trình tiền xử lý nguyên liệu

Lõi ngô sau khi được xác định thành phần hóa học sẽ được đem đi tiền xử lý trong dung dịch  $H_2SO_4$  0,5%, trong 30 phút [30]. Sau đó được đem đi xác định hàm lượng xenluloza, lignin và độ ẩm.

Kết quả được thể hiện ở bảng 3.2.

*Bảng 3.2. Một số thành phần hóa học của lõi ngô sau tiền xử lý*

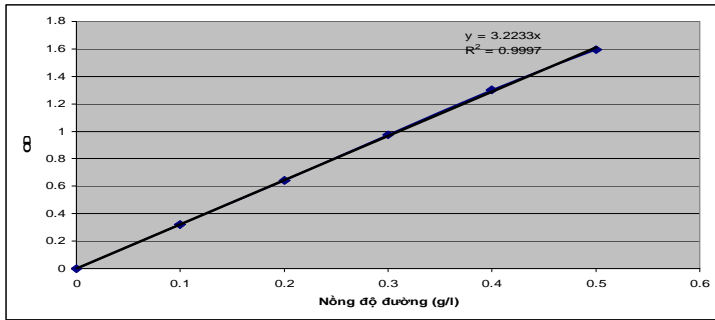
Thành phần	%
Xenluloza	74%
Lignin	10,8%
Độ ẩm	8%

Kết quả trên cho thấy % của xenluloza đã thay đổi đáng kể so với nguyên liệu đầu, tức quá trình xử lý đã hòa tan các hợp chất khác như lignin, hemixenluloza để chuyển hóa thành xenluloza, hàm lượng lignin thay đổi không đáng kể. Độ ẩm của lõi ngô giảm sau do quá trình tiền xử lý làm giảm đi khả năng giữ nước của các cấu trúc trong lõi ngô, điều này tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân sau này. Vì thế chúng tôi tiến hành xử lý toàn bộ lõi ngô nguyên liệu theo phương pháp trên để phục vụ cho quá trình nghiên cứu tiếp theo.

### **3.3. Khảo sát quá trình thủy phân lõi ngô.**

Lõi ngô sau khi xử lý sẽ được đưa đi thủy phân với  $H_2SO_4$  15%. Với tỷ lệ 1:10 (W/v), ở nhiệt độ  $121^{\circ}C$ , thời gian 90 phút. Sau khi thủy phân đem đi trung hòa NaOH 15% lọc tách bã thu được dịch sau khi thủy phân. Sau khi thu được dịch thủy phân chúng tôi tiến hành xác định hàm lượng đường khử của dịch thủy phân bằng phương pháp so màu sử dụng axit dinitrosalicylic (DNS) đã được trình bày ở mục 2.1.3 phụ lục 2. Để xác định nồng độ đường tôi tiến hành xây dựng đường chuẩn đường glucoza để từ đường chuẩn này ta tính toán được nồng độ đường dựa vào phương trình đường chuẩn.

Kết quả xây dựng đường chuẩn được trình bày ở mục 3.1 phụ lục 3 và đồ thị ở hình 3.3 sau :



Hình 3.1. Đường chuẩn đường glucoza

Dựa vào phương trình đường chuẩn và kết quả đo OD của dịch đường thủy phân chúng tôi xác định được nồng độ đường của dịch thủy phân. Kết quả đo nồng độ đường của 3 mẫu được thể hiện ở bảng 3.3 sau:

Bảng 3.3. Kết quả đo nồng độ dịch đường sau khi thủy phân

Mẫu	OD (x)	Nồng độ đường g/l (y) $y = 3,2233x$
1	1,253	38,87
2	1,199	37,19
3	1,178	36,54
Kết quả trung bình		37,53

Như vậy, dịch thủy phân của chúng tôi thu được có nồng độ dịch đường là 37,53 g/l, hiệu suất của quá trình thủy phân là 74,04% [mục 2.3 phụ lục 2] so sánh với các công trình nghiên cứu trên thế giới thì hàm lượng đường chúng tôi thu được là khá cao.

### \* Khảo sát lượng bã sau thủy phân

Sau khi thủy phân bã thu được trên giấy lọc được đem đi rửa sạch, sấy khô đến khối lượng không đổi đem với đi cân, với 50g cơ chất lõi ngô sau khi thủy phân thu được 12,8g bã. Sau đó chúng tôi tiến hành xác định hàm lượng xenluloza và độ ẩm. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.3.

*Bảng 3.4. Một số thành phần hóa học của bã*

Thành phần	Tỷ lệ (%)
Độ ẩm	8%
xenluloza	34%

Với kết quả thể hiện ở bảng 3.4 trên ta thấy, hàm lượng xenluloza trong bã còn khá cao nên chúng tôi tiếp tục tiến hành khảo sát quá trình thủy phân xenluloza trong bã để xem hiệu suất tái sử dụng của bã. Quá trình thủy phân được tiến hành 10g bã trong 100ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, thủy phân ở nhiệt độ 121<sup>0</sup>C, thời gian 90 phút. Kết quả thu được dịch đường có nồng độ đường khử là 3,04 g/l, nồng độ đường khử này rất thấp so với lượng xenluloza trong bã thu được. Theo kết quả nghiên cứu ở bảng 3.4 và một số công trình nghiên cứu [24] tận dụng bã ngô sau quá trình thủy phân chủ yếu là thành phần xenluloza khó thủy phân và một số thành phần khác. Nên lượng bã này không thể tái sử dụng mà nó chỉ có thể sử dụng cho mục đích khác ít có giá trị kinh tế hơn [55].

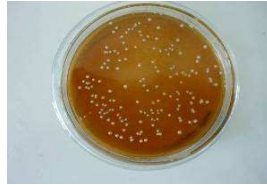
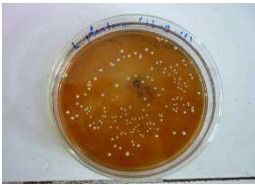
### 3.4. Khảo sát quá trình chuẩn bị giống vi khuẩn lactic

#### 3.4.1. Quá trình hoạt hóa chủng giống vi khuẩn

Môi trường để nuôi cấy vi khuẩn *Lactobacillus casei* và vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* là môi trường MRS agar của Merck,

Đức. Đây là môi trường có pha chế sẵn, được trình bày ở mục 1.2 phụ lục 1.

Chủng vi khuẩn *Lactobacillus casei* và chủng *Lactobacillus plantarum* ở dạng đông khô, hoạt hóa ở môi trường trên. Cấy chuyển 2 cấp và giữ ở nhiệt độ 0°C. Mục đích tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lên men.



Hình 3.5. Chủng *L. plantarum*      Hình 3.6. Chủng *L. casei* hoạt hóa

### 3.4.2. Lựa chọn chủng vi khuẩn để tham gia vào quá trình lên men lactic

Chủng giống vi khuẩn sau khi hoạt hóa, cấy chuyển nhân giống cấp 1 thì tiến hành lên men trong 2 môi trường:

+ Tiến hành cấy 2 chủng vi khuẩn vào môi trường MRS lỏng ở nhiệt độ 37°C, 48 giờ để xác định năng lực lên men của hai chủng vi khuẩn bằng cách đo pH môi trường lên men.

+ Tiến hành lên men 2 chủng vi khuẩn vào môi trường dịch thủy phân lõi ngô có nồng độ đường 5 % đã bổ sung thành phần dinh dưỡng đã trình bày ở mục 1.3 phụ lục 1 và hấp tiệt trùng. Quá trình lên men được thực hiện ở điều kiện nhiệt độ 37°C, thời gian 48 giờ, pH = 6 [2][30]. Sau đó tiến hành xác định hàm lượng axit lactic tạo thành để xác định năng lực lên men của hai chủng vi khuẩn.

Kết quả được thể hiện ở bảng 3.5 và 3.6 sau:

Bảng 3.5. pH môi trường MRS lên men của hai chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* và *Lactobacillus casei*

Môi trường MRS	Chủng <i>L. plantarum</i>	Chủng <i>L. casei</i>
pH	4,25	4,75

Bảng 3.6. Hàm lượng axit lactic của hai chủng vi khuẩn *L. plantarum* và *L. casei* lên men trong môi trường dịch thủy phân

	Chủng <i>L. plantarum</i>	Chủng <i>L. casei</i>
Hàm lượng axit lactic (g/l)	12,83	11,64

Qua kết quả bảng 3.5 và 3.6 đều cho thấy năng lực sinh axit lactic của chủng *L. plantarum* đều cao hơn chủng *L. casei*. Kết quả của bảng 3.5, tôi thấy pH của môi trường lên men chủng vi khuẩn *L. plantarum* có pH = 4,25 thấp hơn pH của môi trường lên men chủng vi khuẩn *L. casei* có pH = 4,75. Điều này chứng tỏ môi trường lên men của chủng vi khuẩn *L. plantarum* sản sinh axit lactic nhiều hơn môi trường lên men của chủng *L. casei*. Kết quả của bảng 3.6, tôi thấy vi khuẩn *L. plantarum* cho hàm lượng axit lactic là 12,83 g/l cao hơn hàm lượng axit lactic mà vi khuẩn *L. casei* sinh ra là 11,64 g/l khi lên men trong môi trường dịch thủy phân lõi ngô. Điều này cho thấy cả hai chủng vi khuẩn đều có khả năng sinh axit lactic trong môi trường dịch thủy phân lõi ngô, như vậy môi trường dịch thủy phân lõi ngô cũng là môi trường tốt cho quá trình lên men lactic. Tuy nhiên, vi khuẩn *L. plantarum* sản sinh ra hàm lượng axit lactic cao hơn. Kết quả trên cũng đúng theo nghiên cứu của tác giả Adesolcan[12] đã nghiên cứu khả năng sản xuất axit lactic của 6 chủng vi khuẩn khác nhau đã cho thấy chủng vi khuẩn *L. plantarum*

là chủng có khả năng lên men cao nhất. Nên chúng tôi quyết định chọn chủng vi khuẩn *L. plantarum* làm chủng vi khuẩn để tiến hành lên men axit lactic.

### **3.4.3. Khảo sát quá trình nhân chủng giống vi khuẩn**

#### **3.4.3.1. Nuôi cấy và nhân giống chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum***

Chủng vi khuẩn *L. plantarum* sau khi hoạt hóa sẽ được tiến hành nhân giống cấp 1 trong môi trường MRS có thành phần đã được trình bày ở mục 1.2 phụ lục 1 ở nhiệt độ 30<sup>0</sup>C, thời gian 48 giờ, sau đó đem đi bảo quản ở nhiệt độ 0<sup>0</sup>C để phục vụ cho nghiên cứu. Sau khi nhân giống cấp 1 chúng tôi tiến hành nhân giống cấp 2 chủng vi khuẩn *L. plantarum* trong môi trường dịch thủy phân lõi ngô, quá trình nhân giống này nhằm mục đích là tạo điều kiện cho chủng vi khuẩn thích nghi dần với môi trường lên men tạo điều kiện cho quá trình lên men đạt hiệu quả hơn.

#### **3.4.3.2. Xác định số lượng tế bào vi sinh vật trong môi trường lên men**

Trong nghiên cứu, để đáp ứng được số lượng tế bào vi khuẩn cho quá trình lên men, chúng tôi tiến hành xác định số lượng tế bào vi khuẩn trong dịch lên men bằng cách xác định gián tiếp số lượng vi khuẩn thông qua phương pháp định lượng tế bào bằng phương pháp đo mật độ quang [57].

Tiến hành pha loãng vi khuẩn đã nuôi cấy ở môi trường lên men trong nước cất ở nhiều độ pha loãng khác nhau thành nhiều bậc pha loãng bậc 10 liên tiếp sao cho độ pha loãng và mật độ tế bào vi khuẩn thích hợp để xuất hiện các khuẩn lạc riêng lẻ trên bề mặt

thạch. Tiến hành đếm số khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch suy ra số lượng tế bào/ml dịch nuôi cấy.

Qua 48 giờ kết thúc quá trình ủ ở 30°C, chúng tôi đếm số lượng khuẩn lạc mọc trên các đĩa thạch. Ở mức độ pha loãng  $10^7$  trên 2 đĩa petri chúng tôi đếm được số khuẩn lạc mọc trên 2 đĩa theo thứ tự từng đĩa là: 86 và 102. Chúng tôi xác định được mật độ tế bào chủng vi khuẩn *L. plantarum* trong môi trường nuôi cấy ở mức pha loãng  $10^7$  là  $I = 9,4 \times 10^9$  CFU/ml [mục 2.2 phụ lục 2]. Kết quả này đảm bảo cho quá trình lên men đạt hiệu quả vì  $I > 3,1 \times 10^9$  CFU/ml [27].

Kết quả của việc đo OD tương ứng với số lượng tế bào đếm được ở mỗi độ pha loãng khác nhau được trình bày ở bảng 3.7.

Bảng 3.7. Kết quả đo OD tương ứng với mật độ tế bào chủng *L. plantarum*

STT	Mức pha loãng	OD	Số lượng tế bào (CFU/ml)
1	$10^4$	0,361	.....
2	$10^5$	0,218	.....
3	$10^6$	0,187	$2,62 \times 10^9$
4	<b><math>10^7</math></b>	<b>0,139</b>	<b><math>9,4 \times 10^9</math></b>
5	$10^8$	0,098h	$15 \times 10^9$

Từ kết quả ở bảng 3.7, chúng tôi tiến hành xây dựng đường chuẩn số lượng tế bào giống với trục tung là độ đục ( $OD_{620nm}$ ), trục hoành là số lượng tế bào giống. Tìm phương trình biểu diễn đường chuẩn dạng:  $y = a \cdot x + b$  với  $y = OD_{620nm}$ ;  $x =$  số lượng tế bào giống (CFU/ml), từ phương trình chúng tôi có thể định lượng mật độ tế bào một cách gián tiếp thông qua việc đo mật độ quang OD ở bước sóng 620 nm.



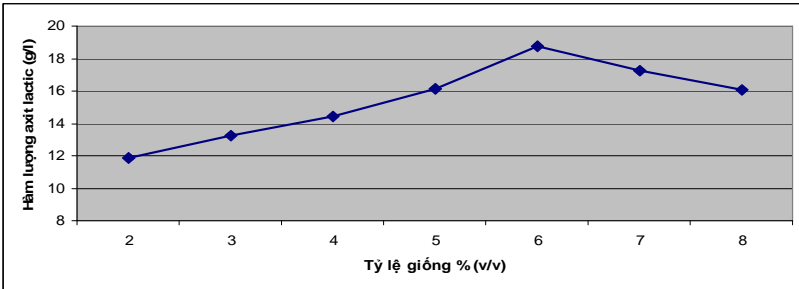
### 3.5. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men.

Dịch đường sau khi điều chỉnh về nồng độ khảo sát 5% (g/100 ml), chúng tôi tiến hành bổ sung thành phần dinh dưỡng như đã trình bày ở mục 1.3 phụ lục 1, tiếp đến là hấp thanh trùng và lên men.

#### 3.5.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men.

Cố định nồng độ đường 5%, nhiệt độ 37°C, pH = 6, thời gian 72h. Tiến hành chuẩn bị 7 mẫu thí nghiệm với tỷ lệ giống khác nhau 2 – 8%, mật độ tế bào là  $9,4 \times 10^9$  tế bào/ml. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở hình 3.11 sau

:



Hình 3.11. Ảnh hưởng của tỷ lệ giống đến quá trình lên men axit lactic

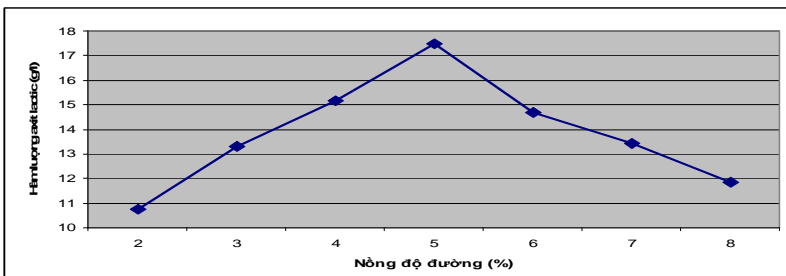
Qua kết quả của hình 3.11 trên ta thấy khi tỷ lệ giống tăng thì hàm lượng axit lactic cũng tăng dao động từ 11,88 – 18,76 (g/l), đạt cực đại là tỷ lệ giống ở 6% thì hàm lượng axit thu được cao nhất 18,76%, có nghĩa là khi tỷ lệ giống tăng thì hàm lượng axit lactic cũng tăng theo nhưng đến một giá trị nhất định thì hàm lượng axit lactic giảm có nghĩa là tỷ lệ giống tăng trong một giới hạn nhất định sẽ sản sinh ra lượng axit lactic cao, nhưng nếu vượt qua giới hạn đó

thì hàm lượng axit sẽ giảm. Nếu tỷ lệ giống bổ sung vào quá ít thì sẽ không đủ cho quá trình lên men, thời gian lên men sẽ kéo dài, tốn thời gian và năng lượng. Ngược lại, nếu tỷ lệ giống nhiều áp suất thẩm thấu giảm, tế bào vi sinh vật bị ức chế đồng thời tỷ lệ giống nhiều sẽ tạo sự cạnh tranh dinh dưỡng trong giai đoạn sinh trưởng, sản phẩm axit lactic sinh ra sẽ thấp, và làm tăng chi phí cho quá trình nhân giống đồng thời sẽ gây ức chế một số quá trình lên men sinh ra các sản phẩm phụ. Việc tìm ra tỷ lệ giống thích hợp cho quá trình lên men rất là cần thiết. Qua kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở tỷ lệ giống 6% chúng tôi cũng thu được hàm lượng axit lactic cao nhất gần đúng với nghiên cứu của tác giả Shadi Bolourian [27] đã nghiên cứu rằng tỷ lệ giống *Lactobacillus plantarum* 5% cho vào quá trình lên men lactic là tốt nhất.

### 3.5.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men.

Thí nghiệm được tiến hành với các điều kiện như sau: Tỷ lệ giống bổ sung là 6%, pH = 6, thời gian 72h, nhiệt độ 37<sup>0</sup>C, khảo sát ở các nồng độ đường khác nhau 1 – 7%.

Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở hình 3.12 sau:

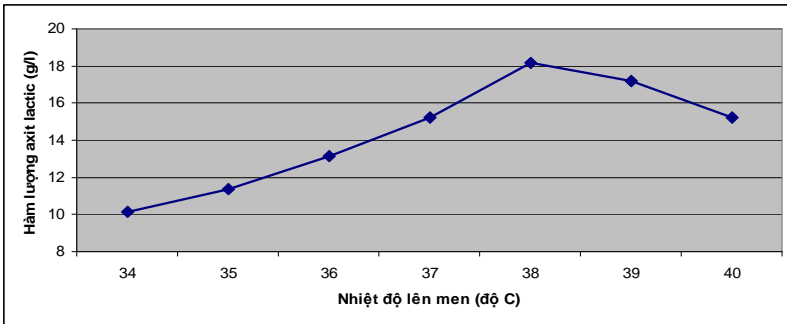


*Hình 3.12. Ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men axit lactic*

Qua kết quả hình 3.12 tôi thấy thấy nồng độ đường càng tăng thì hàm lượng axit lactic càng tăng, nhưng nếu nồng độ đường càng cao thì hàm lượng axit lactic lại giảm. Khi nồng độ đường tăng từ 1 -5% thì hàm lượng axit lactic cũng dao động từ 10,74 – 17,50 (g/l), nồng độ đạt 5% thì hàm lượng axit lactic ở mức cao nhất, khi nồng độ 6 – 8% thì hàm lượng axit lactic giảm. Điều này cho thấy khi nồng độ đường cao quá thì sẽ không thích hợp cho vi khuẩn hoạt động, sẽ ức chế quá trình sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn lactic. Vì thế, cần phải điều chỉnh nồng độ đường phù hợp để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lên men. Trong nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ đường đến quá trình lên men lactic thì chúng tôi thấy ở nồng độ đường 5% là thu được hàm lượng axit lactic cao nhất là 17,5%. Kết quả này gần đúng với nghiên cứu với tác giả Xueliang Shen Liming Xia khi nghiên cứu sản xuất axit lactic từ một số phế phẩm nông nghiệp, trong đó có lõi ngô, ông cho rằng hàm lượng glucoza 6% là thích hợp [28].

**3.5.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men.**

Thí nghiệm được tiến hành ở khoảng nhiệt độ 34- 40<sup>0</sup>C để xác định nhiệt độ tốt nhất cho quá trình lên men. Với các điều kiện cố định nồng độ đường 5%, tỷ lệ giống 6%, thời gian 72h. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở hình 3.12 sau:

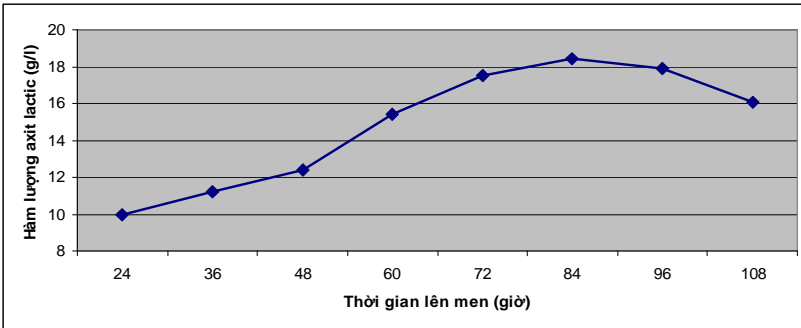


*Hình 3.13. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men axit lactic*

Đồ thị hình 3.13 cho ta thấy, ở khoảng nhiệt độ  $34^{\circ}\text{C}$  đến  $38^{\circ}\text{C}$  hàm lượng axit lactic tăng theo chiều tăng của nhiệt độ, nhưng khi nhiệt độ tăng đến  $39^{\circ}\text{C}$  thì giảm. Với nhiệt độ khoảng  $34 - 38^{\circ}\text{C}$  thì hàm lượng axit lactic thu được tăng dần từ 10,14 – 18,18 g/l, đến nhiệt độ  $39 - 40^{\circ}\text{C}$  thì hàm lượng axit lactic giảm từ 18,18 g/l xuống 17,08 – 15,22 g/l, điều này cho thấy nhiệt độ thích hợp cho việc tạo thành axit lactic là  $38^{\circ}\text{C}$ , ở nhiệt độ này hàm lượng axit lactic thu được là cao nhất. Trong nghiên cứu của chúng tôi thì nhiệt độ thích hợp để mà để mà sinh ra hàm lượng axit lactic cao nhất là  $38^{\circ}\text{C}$  thu được hàm lượng là 18,18g/l. Đây là hàm lượng cũng tương đối cao so với các nghiên cứu đi trước. So với một số tài liệu nước ngoài mà chúng tôi tham khảo thì nhiệt độ người ta thu được hàm lượng axit lactic cao nhất cũng nằm trong khoảng  $35 - 39^{\circ}\text{C}$  [26][28][30].

#### **3.5.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men.**

Quá trình được tiến hành tỷ lệ giống bổ sung 5%, pH = 6, nồng độ đường 5%, nhiệt độ  $38^{\circ}\text{C}$ , các mốc thời gian 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 và 108 giờ. Các kết quả được thể hiện ở mục 3.4 phụ lục 3 và được biểu diễn ở đồ thị 3.14 sau:



Hình 3.14. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men axit lactic

Quan sát hình 3.14 ta thấy khi thời gian tăng từ 24 giờ đến 84 giờ thì hàm lượng axit lactic cũng tăng rõ rệt, đạt cực đại là 18,43 g/l ở thời gian 84 giờ, nhưng khi thời gian tăng 96 - 108 giờ thì hàm lượng axit lactic lại giảm 17,87 – 16,06 g/l. Điều này cho thấy thời gian cũng ảnh hưởng đến quá trình sản sinh ra axit lactic.

Chúng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* khi được đưa vào môi trường dinh dưỡng, chúng sẽ sử dụng đường 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 axit lactic ít, thời gian lên men quá dài thì sau khi vi khuẩn đã sử dụng hết cơ chất để sinh ra axit lactic, nếu không dừng lên men lại thì vi khuẩn lactic sẽ tiếp tục sử dụng hàm lượng axit 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 axit lactic tốt nhất.

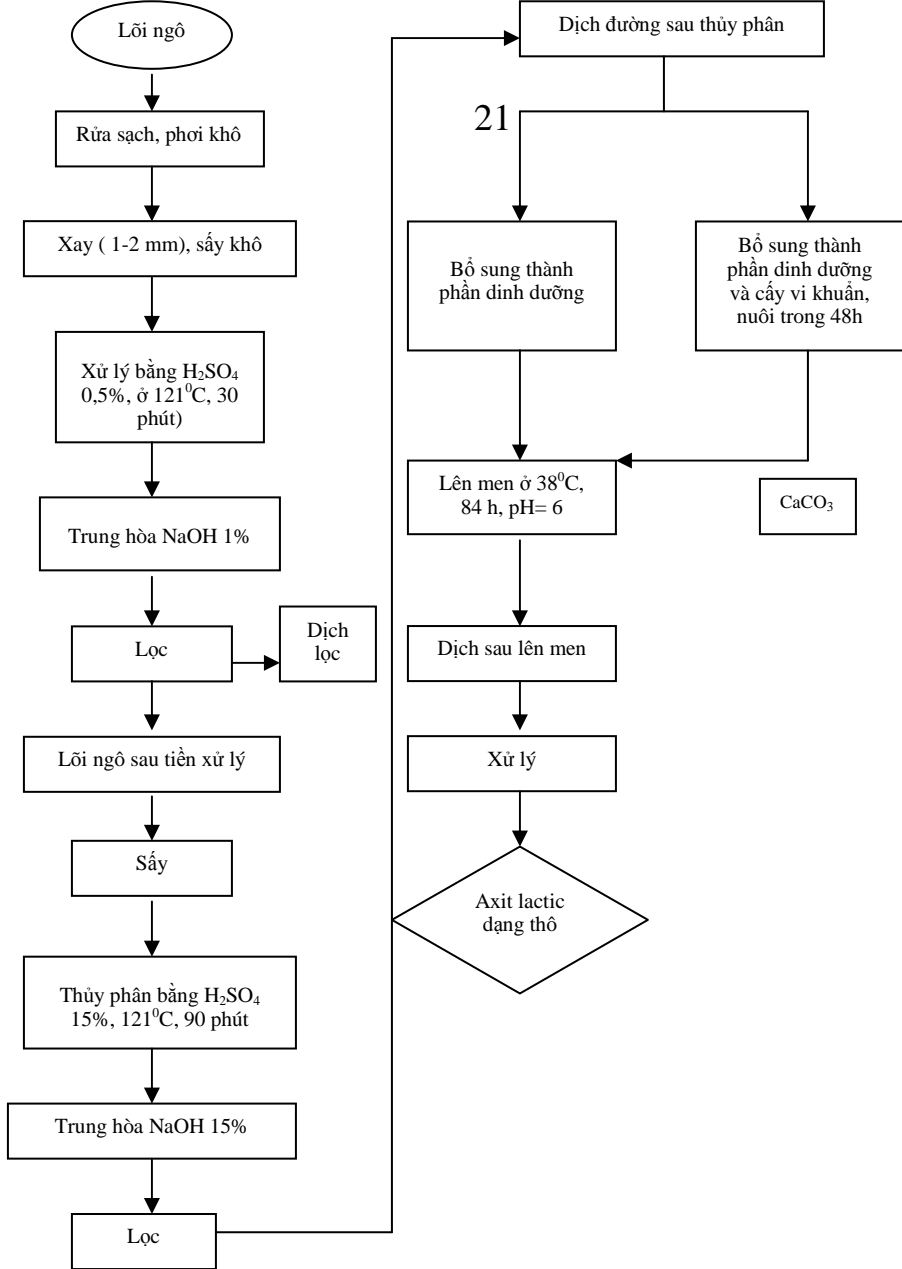
### 3.6. Tiến hành lên men các điều kiện tối ưu

Sau khi nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men axit lactic, chúng tôi tiến hành lên men các điều kiện tối ưu trên để đánh giá hiệu quả của quá trình lên men.

Tiến hành thí nghiệm với các điều kiện: Nồng độ đường 5%, pH = 6, tỷ lệ giống là 6%, nhiệt độ 38<sup>0</sup>C, thời gian là 84 giờ. Sau khi thực hiện thí nghiệm, chúng tôi thu được hàm lượng axit lactic cao nhất 19,07 (g/l). Đây là hàm lượng khá cao so với các nghiên cứu trên thế giới. Theo nghiên cứu của Hassan K. Sreenath, AnaB.Moldes, RichardG.Koegel & Richard J. Straub<sup>1</sup>(2001) nghiên cứu sản xuất axit lactic từ các phế phẩm nông nghiệp thì với nguyên liệu là lõi ngô cho hàm lượng axit lactic là 20g/l [19]. Hay nghiên cứu của của Zulfiqar đã nghiên cứu quá trình sản xuất axit lactic từ lõi ngô cho hàm lượng axit latic là 25,62g/l [29]. Nghiên cứu của Limin Wanga đã nghiên cứu sản xuất axit lactic từ rỉ đường của lõi ngô, phế thải của sản xuất xylitol bởi chủng vi khuẩn *Bacillus* cho hàm lượng axit lactic 26,4 g/l [22]. Nhìn chung qua kết quả nghiên cứu của các nghiên cứu trên thế giới thì hàm lượng axit lactic chúng tôi thu được thì cũng tương đối cao.

### **3.7. Xây dựng quy trình kỹ thuật lên men axit lactic từ lõi ngô ở quy mô phòng thí nghiệm.**

Từ các kết quả đã nghiên cứu, chúng tôi xây dựng quy trình lên men axit lactic với các thông số kỹ thuật cụ thể ở hình 3.15 sau:



Hình 3.15. Quy trình lên men axit lactic từ lõi ngô

### **3.8. Thử nghiệm tinh chế thu nhận axit lactic tinh khiết.**

Qua nghiên cứu lý thuyết và tham khảo các công trình nghiên cứu tinh chế axit lactic ở các nước trên thế giới [21], tôi tiến hành thử nghiệm tinh chế axit lactic từ dịch lên men thu được. Sau khi tiến hành xử lý dịch lên men như đã trình bày ở mục 2.2.4 để xác định hàm lượng axit lactic thô, sử dụng than hoạt tính 1g/l để tẩy màu bằng cách đun nóng dịch 15 – 20 phút sau đó lọc nhiều lần và cô đặc để nâng cao nồng độ dung dịch axit lactic thu được.

Sau khi tinh chế axit lactic, chúng tôi tiến hành định lượng hàm lượng axit lactic thu được bằng phương pháp so màu sử dụng para – oxydiphenyl, mẫu đo ở bước sóng 575 nm. Kết quả hàm lượng axit lactic chúng tôi thu được là 51,81 g/l. Nồng độ axit lactic chúng tôi thu được sau tinh chế là cũng tương đối cao. Tuy nhiên, nó vẫn còn thấp so với nhiều nghiên cứu trên thế giới như là nghiên cứu của Zulfiqar hàm lượng axit lactic sau khi tinh chế là 80 g/l, nghiên cứu của J. Vijayakumar nghiên cứu quá trình tinh chế axit lactic và ứng dụng trong sản xuất cũng đã thu được hàm lượng axit 82% [21], nghiên cứu L Madzingaidzo nghiên cứu tinh chế axit lactic thu được hàm lượng axit lactic cao nhất 85% [53].

Trong nghiên cứu này, các điều kiện công nghệ trong quá trình tinh chế chỉ mang tính chất tham khảo từ các công trình nghiên cứu trên thế giới với một số nguyên liệu có tính chất tương tự. Tuy nhiên, phương pháp tinh chế này đã được sử dụng từ lâu ở các nước trên thế giới, vì quy trình công nghệ đơn giản với các hóa chất phổ biến và dễ kiếm. Ngày nay, nhiều công nghệ sản xuất axit lactic ra đời với những phương pháp hiện đại hơn như sử dụng phương pháp trao đổi ion, phương pháp electron.... vì điều kiện không cho phép



nên chúng tôi chỉ thực hiện phương pháp truyền thống là dùng phương pháp kết tủa vì thể hiệu quả tinh chế axit chưa cao, đây chỉ được xem là quá trình thử nghiệm tinh chế axit lactic từ dịch lên men axit lactic từ lõi ngô.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### 1. KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu, cùng với số liệu thực nghiệm đáng tin cậy, chúng tôi rút ra được kết quả như sau

1. Lõi ngô nguyên liệu được sau thu nhận tại Phường Khánh Xuân – Thành phố Buôn Ma Thuột – Đắk Lắk có độ ẩm là 12,6%, hàm lượng xenluloza 44%, hàm lignin 11,2% là nguyên liệu khá tốt để làm cơ chất cho quá trình lên men axit lactic..
2. Quá trình thủy phân lõi ngô bằng  $H_2SO_4$  15%, ở nhiệt độ  $121^{\circ}C$ , trong thời gian 90 phút, thu được hàm lượng đường tương đối cao 3,7% (g/100 ml), thuận lợi cho quá trình lên men lac tic.
3. Trong 2 loại chủng vi khuẩn đưa vào lựa chọn nghiên cứu, *L. casei* và *L. plantarum* thì *L. Plantarum* là thích hợp nhất cho quá trình lên men lactic vì chủng này có pH môi trường lên men MRS = 4,25 thấp hơn chủng *L. Casei* có pH = 4,75. Chủng *L. Plantarum* cũng cho cho hàm lượng axit lactic là 12,83 g/l cao hơn hàm lượng axit lactic mà chủng *L. casei* thu được là 11,64 g/l.
4. Bã sau quá trình thủy phân không thể tái sử dụng bởi cho hiệu suất thủy phân thấp.

5. Xác định được yếu tố công nghệ tối ưu cho quá trình lên men axit lactic ở điều kiện tỷ lệ giống 6%, nồng độ đường 5%, pH = 6, nhiệt độ 38<sup>0</sup>C, thời gian 84h thu được hàm lượng axit lactic 19,07 g/l

6. Khi tiến hành thử nghiệm tinh chế axit lactic từ dịch lên men với các thông số kỹ thuật được tham khảo từ các công trình nghiên cứu, kết quả hàm lượng axit lactic tinh chế thu được là 51,81 g/l.

## **2. KIẾN NGHỊ**

Vì điều kiện thời gian không cho phép nên chúng tôi không thể mở rộng đề tài này, nên chúng tôi đề xuất hướng phát triển của đề tài như sau:

1. Đề tài chỉ mới nghiên cứu ở quy mô phòng thí nghiệm và trên một đối tượng, cần tiếp tục nghiên cứu các đối tượng phế phẩm nông nghiệp khác và ở quy mô lớn hơn.

2. Trong thời gian hạn hẹp đề tài vẫn chưa nghiên cứu được quá trình thủy phân lõi ngô để lên men axit lactic, cần tiếp tục nghiên cứu vấn đề này.

3. Đề tài chỉ mới quan tâm đến sự chuyển hóa hợp chất xenluloza trong nguyên liệu mà chưa chú ý đến hợp chất khác cũng như ảnh hưởng của các sản phẩm trung gian đến quá trình sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn nghiên cứu.

4. Trong quá trình nghiên cứu đề tài mới chỉ xác định được hàm lượng đường khử được tính theo glucoza làm cơ sở đánh giá mà chưa xác định rõ được hàm lượng đường 5 carbon và 6 carbon. Cần nghiên cứu thêm để đưa ra phương pháp áp dụng hiệu quả.