

## ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY ĐẾN TỐC ĐỘ TĂNG SINH CỦA VI KHUẨN *Lactobacillus acidophilus*

Phạm Đình Khôi<sup>(1)</sup>, Nguyễn Thị Ngọc Nhi<sup>(2)</sup>, Trần Quỳnh Hoa<sup>(1)</sup>

(1)Trường Đại học Công thương Thành phố Hồ Chí Minh; (2)Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 19/6/2025; Chấp nhận đăng 4/8/2025

Liên hệ email: nhintn@tdmu.edu.vn

### Tóm tắt

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của nguồn và nồng độ carbon, tỷ lệ phối trộn cao thịt: cao nấm men, cũng như tốc độ sục khí đến sự tăng sinh của vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus*. Kết quả cho thấy glucose và fructose là các nguồn carbon phù hợp, trong đó glucose ở nồng độ 2,5% cho sinh khối cao nhất  $3,633 \pm 0,076^a$ g/L sau 24 giờ. Tỷ lệ cao thịt: cao nấm men 1:2 đạt sinh khối cao nhất là  $3,517 \pm 0,076^a$ g/L và tốc độ sục khí phù hợp là 0,4 v/v/m với sinh khối là  $3,970 \pm 0,141^a$ g/L. Tốc độ sục khí thích hợp không chỉ đảm bảo cung cấp đủ oxy hòa tan mà còn giúp hạn chế tích tụ các chất chuyển hóa thứ cấp có khả năng gây ức chế vi sinh vật. Những dữ liệu này cung cấp cơ sở khoa học hữu ích cho việc thiết lập môi trường lên men hiệu quả trong sản xuất quy mô công nghiệp.

**Từ khóa:** cao thịt, cao nấm men, nồng độ glucose, sinh khối, tốc độ sục khí

### Abstract

#### EFFECTS OF CULTIVATION CONDITIONS ON THE GROWTH RATE OF *Lactobacillus acidophilus*

This study was conducted to evaluate the effects of carbon sources and concentrations, the mixing ratio of peptone to yeast extract, as well as aeration rate on the biomass production of *Lactobacillus acidophilus*. The results showed that glucose and fructose were suitable carbon sources, among which glucose at 2.5% yielded the highest biomass of  $3.633 \pm 0.076^a$ g/L after 24 hours. A meat extract to yeast extract ratio of 1:2 produced the highest biomass ( $3.517 \pm 0.076^a$ g/L), and the optimal aeration rate was found to be 0.4 v/v/m, resulting in a biomass of  $3.970 \pm 0.141^a$ g/L. Appropriate aeration not only ensured sufficient dissolved oxygen but also helped reduce the accumulation of secondary metabolites that may inhibit microbial growth. These findings provide a scientific basis for designing efficient fermentation conditions applicable to large-scale probiotic production.

### 1. Mở đầu

Nghiên cứu các điều kiện nuôi cấy thích hợp để tăng sinh khối vi khuẩn probiotic, đặc biệt là *Lactobacillus acidophilus*, là một bước then chốt trong quá trình lên men và sản xuất chế phẩm sinh học. Sinh khối cao không chỉ làm tăng hiệu quả công nghệ lên men, mà còn giúp nâng cao mật độ tế bào sống, đồng thời hỗ trợ sản xuất các hợp chất sinh học có giá trị như acid hữu cơ, bacteriocin và exopolysaccharide (EPS) (Abbasiliasi

và cs., 2017; Mani-López và cs., 2022). Các nghiên cứu gần đây đã khẳng định rằng khả năng sinh trưởng của *L. acidophilus* phụ thuộc vào thành phần môi trường nuôi cấy, bao gồm nguồn carbon, nguồn nitrogen, các yếu tố vi lượng, và điều kiện vật lý như pH, nhiệt độ và tốc độ sục khí (Meng và cs., 2021). Trong đó, nguồn nitrogen sinh học như cao nấm men được chứng minh là cung cấp acid amin tự do, peptid ngắn và nucleotide, hỗ trợ đáng kể cho quá trình tổng hợp protein nội bào và tốc độ tăng sinh (Zhang và cs., 2021; Ulmer và cs., 2022). Đồng thời, điều kiện sục khí hợp lý giúp duy trì nồng độ oxy hòa tan cần thiết cho các phản ứng trao đổi chất hiếu khí trong giai đoạn tăng trưởng (Hsieh và cs., 2016). Do đó, việc nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến tốc độ tăng sinh của *L. acidophilus* là cần thiết, góp phần bổ sung dữ liệu vào quy trình sản xuất probiotic trên quy mô thực nghiệm và công nghiệp.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

**2.1. Vật liệu nghiên cứu:** Chủng vi khuẩn *L. acidophilus* được phân lập từ ruột của thu ở xã Tam Giang Tây, huyện Ngọc Hiển, Cà Mau, được cấp mã trên NCBI (ID: OR921215).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon, nồng độ carbon và thời gian nuôi cấy đến tốc độ tăng sinh *L. acidophilus*: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên theo kiểu thừa số 2 nhân tố, nhân tố thứ nhất là nguồn carbon (3 nguồn carbon: glucose, maltose, fructose), nhân tố thứ hai là nồng độ carbon (5 mức độ: 2%; 2,5%; 3%; 3,5%; 4%) sau 24 giờ nuôi cấy. Lấy 10mL giống chuẩn dạng lỏng *L. acidophilus*, cấy vào bình erlen 500mL chứa 200mL môi trường MRS có hiệu chỉnh đã được hấp tiệt trùng ở 121°C trong 15 phút. Nuôi trên máy lắc ổn nhiệt với tốc độ lắc 120 vòng/phút, nhiệt độ 37°C. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Khảo sát ảnh hưởng của tỉ lệ cao thịt: cao nấm men đến sự tăng sinh *L. acidophilus*: Sử dụng giá trị thời gian nuôi cấy, nguồn và nồng độ carbon từ kết quả trên và có sự thay đổi tỉ lệ cao thịt:cao nấm men theo từng nghiệm thức (1:0; 1:1; 1:2; 2:1; 0:1).

Khảo sát ảnh hưởng của tốc độ sục khí đến sự tăng sinh *L. acidophilus*: Lấy 65mL giống chuẩn dạng lỏng *L. acidophilus*, cấy vào bình 2000mL chứa 1300mL môi trường MRS lỏng với các thông số đã được xác định từ thí nghiệm trên. Nuôi trên hệ thống 10 bình lên men loại 2000mL, ổn nhiệt, sục khí với các tốc độ 0,2; 0,3; 0,4 lít không khí/lít môi trường/phút (v/v/m), nhiệt độ 37°C, lặp lại 3 bình/tốc độ sục khí.

Chỉ tiêu đánh giá: lượng sinh khối tế bào g/L (các mẫu muối cấy được ly tâm và sấy thăng hoa)

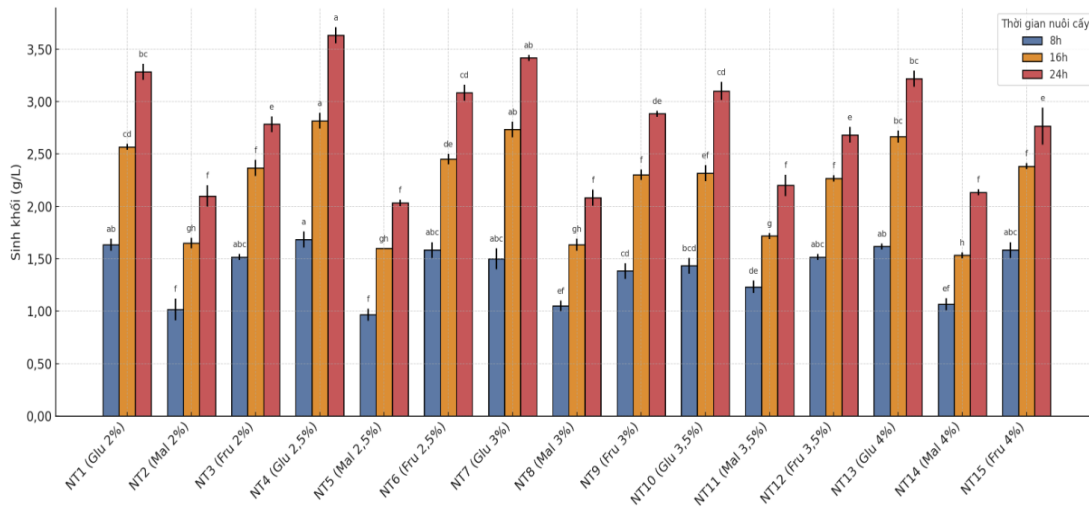
**2.3. Phương pháp xử lý số liệu:** Các số liệu thô được nhập liệu, xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Excel 2013 và Minitab 16. Phần mềm Minitab 16 được sử dụng để phân tích phương sai (ANOVA), các giá trị trung bình được so sánh bằng phép thử Tukey.

## 3. Kết quả nghiên cứu

### 3.1. Ảnh hưởng của nguồn carbon và nồng độ carbon đến tốc độ tăng sinh *L. acidophilus*

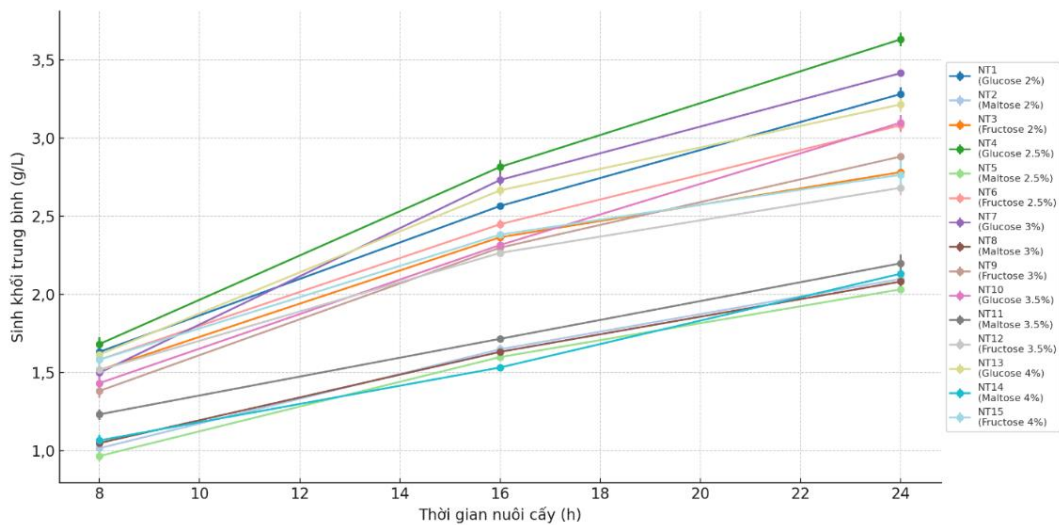
Hình 1 cho thấy, nguồn carbon, nồng độ carbon và thời gian nuôi cấy là những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tốc độ tăng sinh của *L. acidophilus*. Các nghiệm thức sử dụng glucose và fructose ở nồng độ 2,5-3% (NT4, NT6, NT7) cho kết quả sinh khối vượt

trội ở các thời điểm (8h, 16h và 24h). Đặc biệt, nghiệm thức NT4 (glucose 2,5%) đạt sinh khối cao nhất với  $3,633 \pm 0,076^{ag/L}$  sau 24 giờ, cho thấy đây là điều kiện nuôi cấy thích hợp trong phạm vi khảo sát (hình 1).



**Hình 1.** Ảnh hưởng của nguồn carbon và nồng độ carbon đến tốc độ tăng sinh *L. acidophilus*

Chú thích: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c) biểu thị các nhóm khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Tukey ( $p < 0.05$ ).



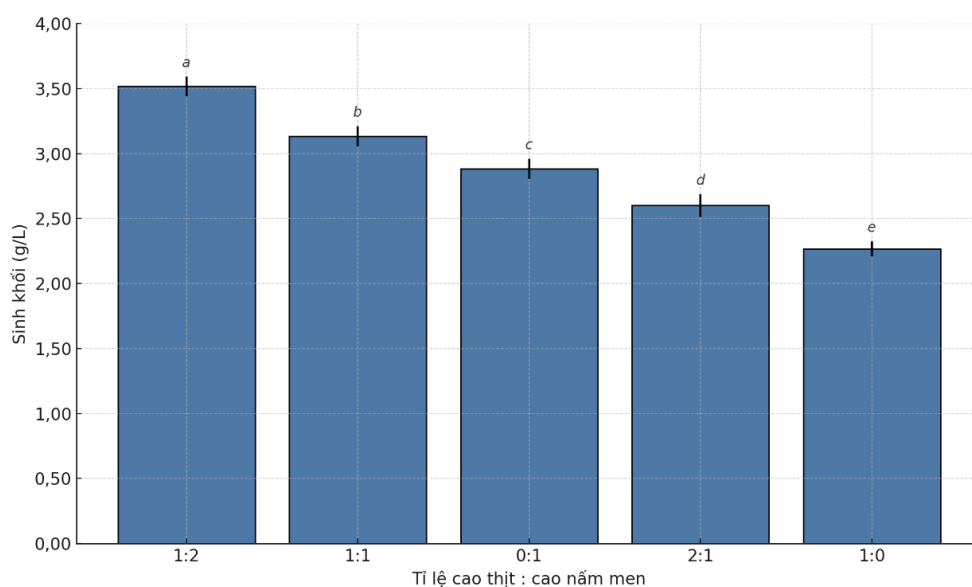
**Hình 2.** Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến tốc độ tăng sinh *L. acidophilus*

Hình 2 cho thấy, xu hướng gia tăng sinh khối theo thời gian được quan sát rõ rệt ở tất cả các nghiệm thức, từ 8h đến 24h, phù hợp với giai đoạn log trong đường cong sinh trưởng vi khuẩn, chưa có dấu hiệu suy giảm sinh khối sau 24h, điều này gợi ý rằng môi trường vẫn đủ dinh dưỡng và không bị ức chế bởi pH thấp hoặc các chất chuyển hóa tích tụ. Về nguồn carbon, maltose là loại đường cho hiệu suất thấp nhất ở các nồng độ thí nghiệm, với sinh khối chỉ dao động quanh mức 2,0-2,2g/L sau 24 giờ, thấp hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Meng và cs. (2021) khi khảo sát nhu cầu dinh dưỡng của *L. acidophilus* LA-5 trong sữa lên men cũng ghi nhận rằng glucose là hai nguồn carbon phù hợp, giúp nâng cao sinh khối, giữ pH ổn định và tăng hoạt tính enzyme nội bào. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Dewi và cs. (2020) cũng xác nhận rằng glucose và

fructose không chỉ giúp *L. acidophilus* tăng sinh tốt hơn mà còn hỗ trợ tích lũy polyphenol và tăng cường hoạt tính chống oxy hóa trong sản phẩm lên men từ rong biển. Điều này cho thấy rằng việc lựa chọn nguồn carbon không chỉ tác động đến sinh khối mà còn ảnh hưởng đến giá trị sinh học của sản phẩm. Kết quả nghiên cứu có thể định hướng cho các ứng dụng thực tế trong công nghệ lên men probiotic, sản xuất sinh khối làm men giống.

### 3.2 Ảnh hưởng của tỉ lệ cao thịt: cao nấm men đến sự tăng sinh *L. acidophilus*

Hình 3 cho thấy, nghiệm thức chứa tỉ lệ 1:2 (cao thịt: cao nấm men) cho sinh khối cao nhất  $3,517 \pm 0,076^a$ g/L, kế đến là nghiệm thức 1:1 và 0:1, trong khi nghiệm thức chỉ chứa cao thịt (1:0) đạt sinh khối thấp nhất  $2,267 \pm 0,058^e$ g/L, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Cao nấm men chứa các thành phần sinh học dễ tiêu như peptid ngắn, acid amin tự do, nucleotide, vitamin nhóm B và khoáng chất vi lượng, trong khi cao thịt giàu protein nhưng thiếu yếu tố tăng trưởng chuyên biệt. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Zhang và cs. (2021), cho thấy môi trường giàu chiết xuất nấm men giúp tăng sinh khối và khả năng tổng hợp EPS ở *L. paracasei*, đồng thời nâng cao tính ổn định của tế bào. Bên cạnh đó, theo Ulmer và cs. (2022), vi khuẩn lactic biểu hiện khả năng hấp thu acid amin và peptid rất chọn lọc, đặc biệt trong các môi trường bán tổng hợp. Nguồn nitrogen có cấu trúc phân tử phù hợp sẽ giúp rút ngắn thời gian pha lag và kéo dài pha log, dẫn đến hiệu suất sinh khối cao hơn. Đặc biệt, Abbasiliasi và cs. (2017) chỉ ra rằng nồng độ bacteriocin có thể được điều chỉnh thông qua các yếu tố lên men như nguồn carbon, nitrogen, pH, nhiệt độ và thời gian nuôi cấy. Môi trường chứa cao nấm men, sẽ kích hoạt quá trình phiên mã các gene mã hóa bacteriocin, giúp nâng cao hoạt tính sinh học tiềm năng của dòng vi khuẩn này.



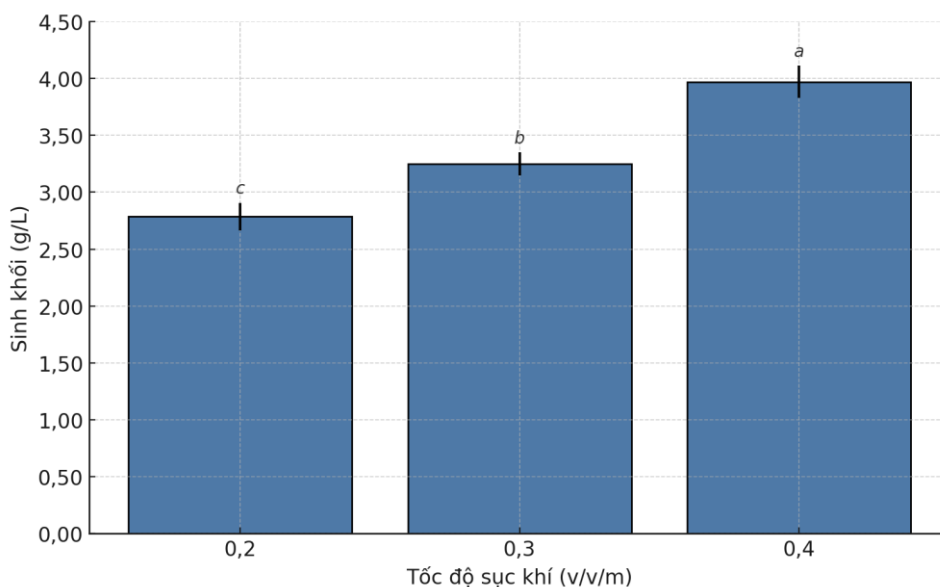
**Hình** Error! No text of specified style in document.. Ảnh hưởng của tỉ lệ cao thịt: cao nấm men đến sự tăng sinh *L. acidophilus*

Chú thích: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c) biểu thị các nhóm khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 3.3 Ảnh hưởng của tốc độ sục khí đến sự tăng sinh *L. acidophilus*

Hình 4 cho thấy tốc độ sục khí có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tăng sinh của *L. acidophilus*, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa các nghiệm thức. Cụ thể, tốc độ sục khí 0,4v/v/m cho sinh khối cao nhất ( $3,970 \pm 0,141^a$ g/L), tiếp đến là

0,3v/v/m ( $3,250 \pm 0,102^b$ g/L), trong khi mức 0,2v/v/m chỉ đạt  $2,787 \pm 0,121^c$ g/L. Sự gia tăng tốc độ sục khí đã tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình trao đổi oxy và khuếch tán khí trong môi trường nuôi cấy, thúc đẩy tăng trưởng tế bào và hoạt động enzyme nội bào. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Liu và cs. (2022), sự cung cấp oxy ở mức tối ưu giúp *L. acidophilus* đạt tốc độ sinh trưởng cao hơn và rút ngắn thời gian pha lag trong lên men hiếu khí, oxy giúp hỗ trợ chuyển hóa carbohydrate hiệu quả hơn, từ đó làm tăng mật độ tế bào và năng suất acid hữu cơ. Meng và cs. (2021) cũng ghi nhận rằng tốc độ sục khí và khuấy trộn có ảnh hưởng đáng kể đến cả sinh khối và độ ổn định của *L. acidophilus* trong sữa lên men, đặc biệt là trong giai đoạn sản xuất men giống. Ngoài ra, nghiên cứu của Abbasiliasi và cs. (2017) cũng chỉ ra rằng cường độ sục khí có liên quan đến sản lượng bacteriocin – một chỉ số phản ánh hoạt tính sinh học của chủng vi khuẩn. Việc gia tăng lượng oxy hòa tan ở mức vừa phải có thể kích thích quá trình sinh tổng hợp protein và hoạt chất kháng khuẩn. Điều này cho thấy rằng tăng sinh khối đi đôi với tăng hoạt tính sinh học, mở ra triển vọng sử dụng các điều kiện nuôi cấy tối ưu để sản xuất chế phẩm probiotic có chất lượng cao. Do đó, giá trị 0,4v/v/m được xem là phù hợp nhất trong phạm vi khảo sát.



**Hình 4.** Ảnh hưởng của tốc độ sục khí đến sự tăng sinh *L. acidophilus*

Chú thích: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c) biểu thị các nhóm khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phép thử Tukey ( $p < 0.05$ ).

#### 4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các yếu tố nuôi cấy như nguồn và nồng độ carbon, tỷ lệ phối trộn giữa cao thịt: cao nấm men và tốc độ sục khí có ảnh hưởng đáng kể đến tốc độ tăng sinh khối của *L. acidophilus*. Trong 15 nghiệm thức khảo sát nguồn carbon, glucose và fructose ở nồng độ 2,0-4,0%, cho thấy glucose 2,5% cho sinh khối cao nhất. Tỷ lệ phối trộn 1:2 (cao thịt: cao nấm men) đạt sinh khối cao nhất  $3,517 \pm 0,076^a$ g/L. Về tốc độ sục khí ở mức 0,4v/v/m là phù hợp giúp tăng sinh khối *L. acidophilus* đạt  $3,970 \pm 0,141^a$ g/L, trong khi mức 0,2v/v/m giảm tốc độ tăng sinh đáng kể. Kết hợp các điều kiện nuôi cấy thích hợp có thể rút ngắn thời gian nuôi cấy, nâng cao hiệu suất, đồng thời tăng cường hoạt tính sinh học trong sản xuất các sản phẩm probiotic hoặc men giống vi sinh.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Abbasiliasi, S., Tan, J. S., Ibrahim, T. A. T., Bashokouh, F., Ramakrishnan, N. R., Mustafa, S., & Ariff, A. B. (2017). Fermentation factors influencing the production of bacteriocins by lactic acid bacteria: a review. *Rsc Advances*, 7(47), 29395-29420.
- [2] Dewi, E., Septiningrum, S., Rianingsih, L., & Riyadi, P. (2020). Optimization of carbon source and concentration for *Lactobacillus acidophilus* growth, phenolic production and antioxidant activity in fermented seaweed extract. *iJET*, 11, 495-500.
- [3] Hsieh, S. C., Liu, J. M., Pua, X. H., Ting, Y., Hsu, R. J., & Cheng, K. C. (2016). Optimization of *Lactobacillus acidophilus* cultivation using taro waste and evaluation of its biological activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(6), 2629-2639.
- [4] Mani-López, E., Arrijoja-Bretón, D., & López-Malo, A. (2022). The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria in vitro and foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(1), 604-641. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12849>
- [5] Meng, L., Li, S., Liu, G., Fan, X., Qiao, Y., Zhang, A., ... & Feng, Z. (2021). The nutrient requirements of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and their application to fermented milk. *Journal of Dairy Science*, 104(1), 138-150. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18989>
- [6] Ulmer, A., Erdemann, F., Mueller, S., Loesch, M., Wildt, S., Jensen, M. L., ... & Takors, R. (2022). Differential amino acid uptake and depletion in mono-cultures and co-cultures of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in a novel semi-synthetic medium. *Microorganisms*, 10(9), 1771. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091771>
- [7] Zhang, Y., Dai, X., Jin, H., Man, C., & Jiang, Y. (2021). The effect of optimized carbon source on the synthesis and composition of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus paracasei*. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4023-4032. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19356>