



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0041660

(51)⁷ C12P 1/04; C11D 3/38

(13) B

(21) 1-2019-05342

(22) 30/09/2019

(45) 25/11/2024 440

(43) 26/04/2021 397

(73) Công ty Cổ phần Thương mại Thảo mộc Sinh thái (VN)

199/14 Đặng Văn Bị, Khu phố 4, phường Trường Thọ, quận Thủ Đức, thành phố Hồ Chí Minh

(72) Lê Hải Quang (VN).

(54) CHẾ PHẨM TẨY RỬA SINH HỌC VÀ QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm tẩy rửa sinh học chứa dịch lên men từ cà chua, dịch lên men từ táo mèo và dịch lên men từ vỏ quả thanh long. Chế phẩm tẩy rửa sinh học theo sáng chế này cũng có thể chứa thêm các thành phần khác như tinh dầu tự nhiên, tinh bột sắn được làm biến tính, metyl xenluloza và các chất điều chỉnh pH. Sáng chế còn đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm tẩy rửa sinh học bao gồm các thành phần nêu trên.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm tẩy rửa sinh học chứa dịch lên men từ cà chua, dịch lên men từ táo mèo và dịch lên men từ vỏ quả thanh long. Chế phẩm tẩy rửa sinh học theo sáng chế này cũng có thể chứa thêm các thành phần khác như tinh dầu tự nhiên, tinh bột sắn được làm biến tính, metyl xenluloza và các chất điều chỉnh pH. Sáng chế còn đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm tẩy rửa sinh học bao gồm các thành phần nêu trên.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Chất tẩy rửa là chất được dùng để làm tăng tác dụng tẩy sạch của nước với các chất bẩn. Khi hòa tan trong nước, chất tẩy rửa làm giảm sức căng bề mặt giữa nước và các chất bẩn, nhờ đó làm cho chất bẩn dễ thấm ướt và dễ bị lôi kéo ra khỏi bề mặt dính bẩn, đi vào môi trường nước. Kết quả là bề mặt dính bẩn được tẩy rửa sạch. Chất tẩy rửa thường chứa các chất hoạt động bề mặt vô cơ hoặc hữu cơ.

Các chất tẩy rửa thuộc loại vô cơ có thể là các chất có kiềm tính, các muối trung tính và các chất không tan trong nước như cao lanh, bentonit. Các chất tẩy rửa thuộc loại hữu cơ về cơ bản có thể chia ra loại cation, anion, lưỡng tính. Các chất tẩy rửa thuộc loại hữu cơ có tác dụng ưu việt hơn các chất tẩy rửa thuộc loại vô cơ.

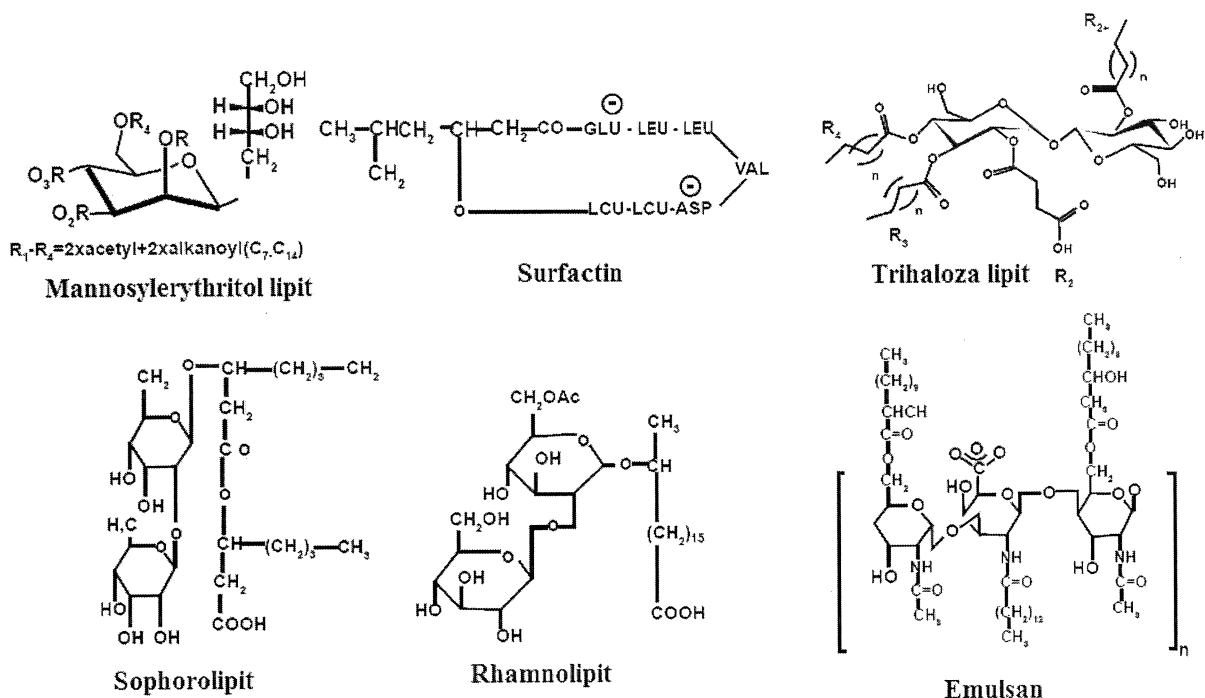
Chất hoạt động bề mặt là thành phần quan trọng nhất của chất tẩy rửa. Nó có mặt ở tất cả các chất tẩy rửa khác nhau với nhiệm vụ là tẩy đi các vết bẩn và những chất lơ lửng trong nước giặt để cho chúng không bám trở lại trên bề mặt. Chất hoạt động bề mặt là hợp chất hóa học có sức căng bề mặt nhỏ hơn sức căng bề mặt của dung môi, và trong dung dịch, nồng độ của nó ở bề mặt cao hơn trong dung dịch, làm giảm sức căng bề mặt của dung dịch. Nếu có nhiều hơn hai chất lỏng không hòa tan thì chất hoạt động bề mặt làm tăng diện tích tiếp xúc giữa hai chất lỏng đó. Khi hòa chất hoạt động bề mặt vào trong một chất lỏng thì các phân tử của chất hoạt động bề mặt có xu hướng tạo đám (gọi là mixen), nồng độ mà tại đó các phân tử bắt đầu tạo đám được gọi là nồng độ tạo đám

giới hạn.

Chất hoạt hóa bề mặt sinh học là những hợp chất có cấu trúc đa dạng về hoạt tính bề mặt được tổng hợp bởi vi sinh vật. Tất cả chất hoạt hóa bề mặt sinh học là hợp chất lưỡng cực, có cấu tạo gồm một nhóm ưa nước (thường là phân tử đường hoặc axit amin) và một nhóm kỵ nước (thường là axit béo). Do cấu tạo phân cực, chất hoạt hóa bề mặt sinh học có xu hướng co cụm tại bề mặt và mặt phân cách giữa 2 chất (có thể là chất lỏng-chất lỏng, chất lỏng-chất rắn), kết quả là làm giảm sức căng bề mặt (giữa chất lỏng và không khí) và giảm sức căng giữa 2 chất (chất lỏng-chất lỏng và chất lỏng-chất rắn).

Không giống như chất hoạt động bề mặt hóa học, chất hoạt hóa bề mặt sinh học thường phân loại theo bản chất các nhóm phân cực, chất hoạt hóa bề mặt sinh học được phân loại dựa vào thành phần hóa học và nguồn gốc vi sinh vật tạo ra. Nhìn chung, chất hoạt hóa bề mặt sinh học được chia làm các nhóm chính: glycolipit; lipopeptit và lipoprotein; phospholipit và axit béo.

Công thức cụ thể của một số chất hoạt động bề mặt sinh học như sau:



Để tăng hiệu quả tẩy rửa các chất hoạt động bề mặt, trong các chất tẩy rửa thương phẩm (kem giặt, bột giặt) người ta còn đưa thêm vào các chất phụ gia vô cơ như natri tripoliphosphat, natri sulfat, natri cacbonat...

Tài liệu “Somporn Tanskul, Korntip Amornthatree, Nathakan Jaturonlak, *A new cellulose-producing bacterium, Rhodococcus sp. MI 2: Screening and optimization of culture conditions*, Carbohydrate Polymers, Volume 92, Issue 1, 2013, Pages 421-428, ISSN 0144-8617, công bố ngày 16/09/2012, đề cập đến sản phẩm lên men từ quả cà chua và thanh long, sử dụng chủng vi sinh vật *Acetobacter Xylinum* và phương pháp sản xuất sản phẩm này.

Tài liệu EP 2 666 370 A1, công bố ngày 26/07/2012, đề cập đến sản phẩm lên men từ hỗn hợp rau, quả trong đó bao gồm quả cà chua, thanh long từ các chủng vi sinh vật *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* và phương pháp sản xuất sản phẩm này.

Tài liệu “Viet Anh, N. T. (2018). *Study on treatment technology of “Tao Meo” using pectinase enzyme in “Tao Meo” vinegar production by submerged method*. Vietnam Journal of Science and Technology, 54(4A), 298., công bố ngày 07/10/2018, đề cập đến sản phẩm lên men từ quả táo mèo từ các chủng vi sinh vật *Saccharomyces cerevisiae* 7012, *Acetobacter pomorum* M5 và phương pháp sản xuất sản phẩm này.

Tài liệu “Viện Công nghiệp thực phẩm: *Nghiên cứu công nghệ sản xuất đồ uống chức năng từ quả táo mèo bằng phương pháp lên men axetic sử dụng vi sinh vật Acetobacter*, Đề tài cấp Bộ Công Thương, 2011, tr. 15-32.”, công bố ngày 31/12/2011, đề cập đến sản phẩm lên men từ quả táo mèo từ các chủng vi sinh vật *Acetobacter* và phương pháp sản xuất sản phẩm này.

Tài liệu “Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K., & Guzel-Seydim, Z. B. (2014). *Functional properties of vinegar*. Journal of Food Science,

79(5)., công bố ngày 08/05/2014, đề cập đến công dụng của giấm hoa quả, là một sản phẩm lên men từ hoa quả.

Theo xu thế hiện nay, để bảo vệ môi sinh, người ta thiên về sản xuất và sử dụng các chất tẩy rửa với các phụ gia dễ phân hủy sinh học, ít độc. Với việc phát triển khoa học kỹ thuật tăng nhanh, có rất nhiều nhà khoa học chú ý và tập trung vào nghiên cứu các sản phẩm lên men, tìm kiếm và khai thác cây thảo mộc nhằm tạo ra các sản phẩm tự nhiên trong đó có các chất hoạt động bề mặt sinh học cũng như để tạo ra chế phẩm tẩy rửa sinh học.

Acetobacter xylinum là trực khuẩn không di động, tạo thành váng nhẵn và khá dày. Váng này có chứa hemixenluloza nên khi gặp H_2SO_4 và thuốc nhuộm iot sẽ bắt màu xanh. Có thể tích lũy 4,5% axit axetic trong môi trường. Thường gặp loài vi khuẩn này cùng với nấm men trong “nấm chè”, còn gọi là “thủy hoài sâm”, một loại sản phẩm giải khát bổ dưỡng theo cách làm của người Trung Hoa. Đó là một loại nước chua có vị thơm dùng để pha nước giải khát trong các gia đình người Trung Hoa, trên mặt nước có một váng vi sinh vật dày được nuôi sống bằng nước chè và đường.

Tác giả sáng chế đã tiến hành các nghiên cứu sâu rộng và xác định được tính năng rất tốt để làm chế phẩm tẩy rửa của các chiết xuất từ các loại trái cây được lên men bằng các vi sinh vật, nhằm thay thế dần các chất phụ gia có nguồn gốc hóa học.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Để giải quyết các vấn đề nêu trên, tác giả sáng chế đã tiến hành các nghiên cứu sau rộng để tạo ra chế phẩm tẩy rửa sinh học thân thiện với con người và môi trường cũng như tận dụng các sản phẩm nông nghiệp và phế phẩm nông nghiệp.

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm tẩy rửa sinh học bao gồm dịch lên men từ cà chua, dịch lên men từ táo mèo và dịch lên men từ vỏ quả thanh long.

Theo một phương án, chế phẩm tẩy rửa sinh học theo sáng chế còn bao gồm tinh dầu tự nhiên, tinh bột sắn biến tính, methyl xenluloza, các chất đệm điều chỉnh pH.

Theo một phương án, trong chế phẩm tẩy rửa sinh học theo sáng chế, dịch cà chua lên men, dịch táo mèo lên men và dịch lên men từ vỏ quả thanh long thu được từ việc lên men lần lượt cà chua, táo mèo và vỏ quả thanh long bằng chủng vi khuẩn lên men *Acetobacter Xylinum*.

Theo một phương án, trong chế phẩm tẩy rửa sinh học theo sáng chế, tinh dầu tự nhiên được chọn từ nhóm bao gồm tinh dầu vỏ cam, tinh dầu vỏ bưởi, tinh dầu xả, tinh dầu bạc hà, tinh dầu quế, tinh dầu oải hương, tinh dầu trầu không, tinh dầu quế.

Theo một phương án khác, trong chế phẩm tẩy rửa sinh học theo sáng chế còn bao gồm tinh chất nghệ nano (danh pháp khoa học của cây Nghệ là *Curcuma longa*).

Theo một phương án, chế phẩm tẩy rửa sinh học theo sáng chế chứa:

- dịch cà chua lên men với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 20 đến 30% trọng lượng;
- dịch táo mèo lên men với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 20 đến 30% trọng lượng;
- dịch lên men từ vỏ quả thanh long với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 10 đến 20% trọng lượng;
- tinh dầu tự nhiên với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,5% trọng lượng;
- tinh bột biến tính với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 5 đến 10% trọng lượng;
- metyl xenluloza với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 5 đến 10% trọng lượng;
- muối Na_3PO_4 với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,5% trọng lượng;
- NaOH với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,5% trọng lượng.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất quy trình sản xuất chất tẩy rửa sinh học bao gồm các bước:

- (i) tuyển chọn nguyên liệu, xử lý và đánh giá các chỉ tiêu hóa sinh, vi sinh, kim loại nặng để đảm bảo đạt chỉ tiêu và đưa vào quy trình sản xuất;
- (ii) tăng sinh sơ cấp chủng *Acetobacter Xylinum*, được phân lập và tuyển chọn trong môi trường tự nhiên, trên môi trường dịch chiết táo mèo đã thanh trùng môi

trường với điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút, sau quá trình tăng sinh kết thúc, dịch lên men táo mèo có pH bằng 3;

(iii) tăng sinh thứ cấp trên môi trường dịch cà chua đã được thanh trùng ở điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút để đảm bảo giữ được nhiều nhất giá trị dinh dưỡng cũng như hàm lượng hoạt chất sinh học có trong dịch chiết và sử dụng dịch lên men táo mèo thu được ở bước (ii) làm môi cho quá trình lên men dịch cà chua nhằm tận dụng môi trường axit có trong dịch lên men táo mèo gây ức chế vi sinh vật ngoại lai và tạo đà cho quá trình lên men được thuận lợi;

(iv) tăng sinh thứ cấp trên môi trường dịch vỏ thanh long đã được thanh trùng ở điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút để đảm bảo giữ được nhiều nhất giá trị dinh dưỡng cũng như hàm lượng hoạt chất sinh học có trong dịch chiết và sử dụng dịch lên men táo mèo thu được ở bước (ii) làm môi cho quá trình lên men dịch vỏ thanh long đỏ, nhằm tận dụng môi trường axit có trong dịch lên men táo mèo gây ức chế vi sinh vật ngoại lai và tạo đà cho quá trình lên men được thuận lợi;

(iv) lọc thô các dịch lên men qua màng lọc hoặc thiết bị lọc khung bản để thu được dịch lên men cà chua có pH bằng 2,5 – 3,5 và dịch vỏ thanh long đỏ lên men có pH bằng 2,5 – 3,5;

(v) trộn đều các dung dịch lên men thu được ở trên với tinh dầu tự nhiên, NaOH, Na₃PO₄, tinh bột đã làm biến tính và metyl xenluloza để thu được chế phẩm tẩy rửa sinh học thành phẩm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Xuất phát từ đề việc mong muốn tạo ra chế phẩm tẩy rửa sinh học thân thiện với con người và môi trường cũng như tận dụng các sản phẩm nông nghiệp và phế phẩm nông nghiệp, tác giả sáng chế để tiến hành các nghiên cứu nhằm mục đích sản xuất chế

phẩm tẩy rửa sinh học bao gồm dịch lên men từ cà chua, dịch lên men từ táo mèo và dịch lên men từ vỏ quả thanh long.

Cà chua (danh pháp hai phần *Solanum Lycopersicum*) là sản phẩm nông nghiệp phổ biến ở nhiều quốc gia. Với hàm lượng carbohydrat, đường, chất xơ, và chất béo phù hợp cho mục đích lên men để tạo ra các chất hoạt động bề mặt sinh học. Bảng 1 cho thấy hàm lượng của các chất này trong cà chua.

Bảng 1: Thành phần các chất trong 100g cà chua sống

Carbohydrat	Đường	Chất xơ	Chất béo	Chất đạm	Vitamin C	Nước và thành phần khác
4g	2,6g	1g	0,2g	1g	13mg	Còn lại

Trong khi đó, quả táo mèo (tên khoa học *Docynia indica*) chứa khoảng 0,7% chất đạm, 0,2% chất béo, 22% chất đường và các acid hữu cơ và chứa một lượng lớn vitamin C. Với thành phần như vậy, dịch chiết táo mèo rất thích hợp để làm cơ chất lên men ở bước đầu, tức là bước tăng sinh sơ cấp vi khuẩn lên men. Ngoài ra, sản phẩm lên men từ táo mèo cũng đã được biết là có nhiều tác dụng tốt bao gồm cả tác dụng dưỡng da và trị mụn, vì vậy việc sử dụng dịch chiết táo mèo lên men trong chế phẩm theo sáng chế cũng có tác dụng bổ sung các tác dụng này cho chế phẩm, đặc biệt khi chế phẩm được pha chế để sử dụng làm nước rửa tay.

Tác giả sáng chế cũng đã phát hiện ra rằng vỏ quả thanh long (tên khoa học *Hylocereus undatus* – ruột trắng, *Hylocereus costaricensis* – ruột đỏ, *Hylocereus megalanthus* – ruột trắng vỏ vàng và *Hylocereus undatus costaricensis* – ruột tím hồng với vỏ hồng hoặc đỏ) có chứa các thành phần tạo màu tự nhiên là các chất betacyanin với các ưu điểm như có mùi thơm tự nhiên, không độc hại. Đa số các betacyanin khác được tạo thành do phản ứng glucosyl hóa một trong hai nhóm chức – OH tự do của vòng cyclo-DOPA của betanidin, trong đó thường gặp nhất là sự glucosyl hóa ở vị trí 5. Dẫn xuất betacyanin quan trọng và thường gặp nhất trong tự nhiên là betacyanin. Các chất tạo

màu này được sản sinh ngay trong quá trình lên men và do đó tạo ra màu tự nhiên cũng như hương tự nhiên cho các chế phẩm theo sáng chế.

Ngoài ra, trong vỏ thanh long cũng chứa các chất chống oxy hóa mạnh, các chất này sẽ được lưu giữ trong quá trình lên men và tạo cho các chế phẩm theo sáng chế các tính chất như làm sáng da, làm giảm các vết sạm đen trên gia.

Tác giả sáng chế đã nghiên cứu các chủng vi khuẩn lên men khác nhau để tìm kiếm chủng tốt nhất thực hiện quá trình lên men các nguyên liệu nêu trên nhằm tạo ra chế phẩm có hoạt tính hoạt động bề mặt tốt nhất, tức là tạo ra các chất hoạt động bề mặt sinh học tốt nhất cho chế phẩm theo sáng chế, đồng thời vẫn duy trì được các đặc tính tốt của các nguyên liệu ban đầu như màu sắc, mùi hay các đặc tính đối với da người.

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng, vi khuẩn *Acetobacter xylinum* đáp ứng tốt nhất các đòi hỏi đã nêu.

Ở bước thứ nhất, tác giả sáng chế phân lập và tuyển chọn vi khuẩn *Acetobacter xylinum* từ tự nhiên.

Vi khuẩn *Acetobacter* có thể được phân lập từ giấm, rượu, bia, hoa quả, chuối chín, váng giấm... Ví dụ: muốn phân lập vi khuẩn *Acetobacter*, theo kinh nghiệm dân gian, lấy một phần rượu hoà với 7 phần nước lã, đựng trong cốc miệng rộng, giữ ở tủ ấm 30°C trong 2-3 ngày, rượu sẽ đục và trên bề mặt xuất hiện một váng mỏng, tiếp đó lấy váng mỏng này pha loãng ra, và phân lập trên môi trường thạch đĩa.

Sau khi chuẩn bị nguyên liệu và xử lý và đánh giá các chỉ tiêu hóa sinh, vi sinh, kim loại nặng để đảm bảo đạt chỉ tiêu và đưa vào quy trình sản xuất, vi khuẩn *Acetobacter xylinum* được tăng sinh sơ cấp trong môi trường dịch chiết táo mèo. Dịch chiết táo mèo có thể là dịch chiết bằng dung môi etanol, hoặc etanol và nước.

Ở đây, các nguyên liệu đầu vào của quá trình lên men như cà chua, táo mèo hay vỏ quả thanh long cần được làm sạch, cắt nhỏ, tiếp đó có thể được lên men trực tiếp hoặc chiết xuất bằng dung môi trước khi lên men.

Các nguyên liệu nếu được lên men trực tiếp có thể được xử lý để giảm nồng độ kim loại nặng hoặc các muối khác. Nồng độ muối của một môi trường cụ thể cũng có tác động tương ứng đến quá trình sản xuất chất hoạt động bề mặt vì hoạt động tế bào của vi sinh vật bị ảnh hưởng bởi nồng độ muối. Tuy nhiên, các quan sát đã được tiến hành và nhận thấy đối với một số sản phẩm chất hoạt động bề mặt không bị ảnh hưởng nhiều.

Tất cả các nguyên liệu cũng được thanh trùng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút, trước khi được cấy vi khuẩn để lên men.

Thông thường, để ức chế sự phát triển của các loại nấm men *Mycoderma* mà phát triển đồng thời với sự phát triển của vi khuẩn *Acetobacter*, môi trường nuôi cấy vi khuẩn luôn chứa từ 1 đến 1,5% axit axetic. Vì vậy, dịch chiết etanol của táo mèo là rất phù hợp cho việc tăng sinh sơ cấp chủng vi khuẩn này khi vừa là môi trường tốt cho vi khuẩn phát triển, đồng thời cũng chứa hàm lượng axit axetic đủ để có thể ức chế các loại nấm men *Mycoderma*.

Nhiệt độ lên men trong bước này thường nằm trong khoảng từ 20°C đến 25°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 20 giờ đến 28 giờ. Sản phẩm lên men sau bước này có độ pH khoảng 3 và được sử dụng để lên men cà chua và vỏ thanh long đỏ.

Các bước lên men dịch cà chua và dịch vỏ thanh long đỏ có thể được tiến hành đồng thời trong các bể lên men khác nhau.

Lên men dịch cà chua được tiến hành bằng cách sử dụng dịch lên men táo mèo thu được ở bước trên làm môi cho quá trình lên men dịch cà chua nhằm tận dụng môi trường axit có trong dịch lên men táo mèo gây ức chế vi sinh vật ngoại lai và tạo đà cho quá trình lên men được thuận lợi. Trước khi lên men, dịch cà chua được thanh trùng ở điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút để đảm bảo giữ được nhiều nhất giá trị dinh dưỡng cũng như hàm lượng hoạt chất sinh học có trong dịch chiết. Tỷ lệ dịch lên men táo mèo và dịch cà chua

là nằm trong khoảng từ 1:8 đến 1:12. Thời gian lên men ở bước này là nằm trong khoảng từ 20 đến 30 giờ với điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 25°C.

Tương tự, lên men dịch vỏ quả thanh long được tiến hành bằng cách sử dụng dịch lên men táo mèo thu được ở bước tăng sinh sơ cấp làm môi cho quá trình lên men dịch vỏ quả thanh long nhằm tận dụng môi trường axit có trong dịch lên men táo mèo gây ức chế vi sinh vật ngoại lai và tạo đà cho quá trình lên men được thuận lợi. Trước khi lên men, dịch vỏ quả thanh long được thanh trùng ở điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút để đảm bảo giữ được nhiều nhất giá trị dinh dưỡng cũng như hàm lượng hoạt chất sinh học có trong dịch chiết. Tỷ lệ dịch lên men táo mèo và dịch cà chua là nằm trong khoảng từ 1:8 đến 1:12. Thời gian lên men ở bước này là nằm trong khoảng từ 20 đến 30 giờ với điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 25°C.

Trong các bước lên men này, *A. xylinum* hấp thụ đường glucoza từ môi trường nuôi cấy. Trong tế bào vi khuẩn, glucoza này sẽ kết hợp với axit béo tạo thành một tiền chất nằm trên màng tế bào. Kế đó nó được thoát ra ngoài tế bào cùng với một enzyme. Enzyme này có thể chuyển hóa các glucoza thành thành các chất hoạt động bề mặt sinh học có gốc đường.

Thành phần và hoạt tính nhũ hóa của chất hoạt động bề mặt sinh học tạo ra bởi quá trình lên men phụ thuộc vào điều kiện nuôi cấy, do đó, bản chất của nguồn carbon, nguồn nitơ cũng như tỷ lệ C: N, giới hạn dinh dưỡng, các thông số hóa học và vật lý chẳng hạn như nhiệt độ, sục khí, và pH ảnh hưởng đến lượng chất hoạt động bề mặt sinh học được sản xuất.

Với các nguyên liệu như dịch cà chua, dịch vỏ quả thanh long hay dịch táo mèo, nguồn các bon là dồi dào trong khi nguồn nitơ cũng hiện diện trong các nguyên liệu này.

Nguồn nitơ rất quan trọng trong môi trường sản xuất chất hoạt động bề mặt vì nó rất cần thiết cho sự phát triển của vi sinh vật vì sự tổng hợp protein và enzyme phụ thuộc vào nó. Các hợp chất nitơ khác nhau có thể được bổ sung vào nguyên liệu trước khi lên

men để sản xuất các chất hoạt động bề mặt, ví dụ như urê peptone, chiết xuất men, ammoni sulphat, ammoni nitrat, natri nitrat, chiết xuất thịt và chiết xuất mạch nha. Các chất này có thể được bổ sung với lượng dưới 5 %, tốt hơn là dưới 3%, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 2% trọng lượng mẻ lên men.

Các yếu tố môi trường là những yếu tố cực kỳ quan trọng trong năng suất và đặc tính của chất hoạt động bề mặt sinh học. Để thu được số lượng lớn chất hoạt động bề mặt, luôn cần tối ưu hóa quá trình xử lý sinh học vì sản phẩm có thể bị ảnh hưởng bởi những thay đổi về nhiệt độ, pH, sục khí hoặc tốc độ khuấy trộn.

Nhiệt độ tối ưu nhất cho việc sản sinh chất hoạt động bề mặt sinh học trong quá trình lên men là nằm trong khoảng từ 20°C đến 25°C. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men nói chung và việc tạo chất hoạt động bề mặt sinh học trong quá trình lên men nói riêng là rất quan trọng. Đã có nguyên cứu chỉ ra rằng pH tối ưu của quá trình lên men để sản sinh chất hoạt động bề mặt sinh học là pH kiềm nhẹ (khoảng 8). Tuy nhiên, như đã phân tích ở trên, pH cao là điều kiện không tốt cho sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *A. xylinum*, đồng thời dẫn đến sự phát triển song song của các loại nấm men *Mycoderma* mà ảnh hưởng không tốt đến quá trình lên men và chất lượng sản phẩm thành phẩm.

Việc kiểm soát độ pH trước, trong và sau quá trình lên men là quan trọng để có được quá trình lên men tối ưu cho việc sinh trưởng của vi khuẩn lên men cũng như chọn thời điểm để kết thúc quá trình lên men cho phù hợp. Trải qua quá trình nghiên cứu, tác giả sáng chế đã nhận thấy rằng, pH của dịch chiết táo mèo là phù hợp cho việc tăng sinh sơ cấp của vi khuẩn *A. xylinum*, pH axit của dịch chiết táo mèo hỗ trợ cho vi khuẩn này phát triển trong khi đó ức chế sự phát triển của các nấm men khác. Sản phẩm của bước lên men táo mèo có pH là 3.

Dịch cà chua và dịch vỏ thanh long có pH môi trường tốt cho cho vi khuẩn *A. xylinu*, phát triển và thực hiện quá trình lên men. Vì vậy, không cần phải điều chỉnh độ

pH của các dịch chiết này trước quá trình lên men. Sau khi lên men, pH của sản phẩm ở bước lên men dịch cà chua và dịch vỏ quả thanh long nằm trong khoảng từ 2,5 đến 3,5.

Sục khí và khuấy trộn là những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến việc sản xuất các chất hoạt động bề mặt vì cả hai đều tạo điều kiện cho việc chuyển oxy từ pha khí sang pha nước. Nó cũng có thể được liên kết với chức năng sinh lý của chất nhũ hóa vi sinh vật, người ta cho rằng việc bổ sung các chất mà tăng cường khả năng hòa tan các chất nền không hòa tan trong nước tạo điều kiện cho việc vận chuyển chất dinh dưỡng đến vi sinh vật. Tác giả sáng chế đã quan sát thấy rằng hiệu suất tốt nhất của chất hoạt động bề mặt là 60g/l thu được khi tốc độ dòng khí là nằm trong khoảng từ 1 l/phút đến 2 l/phút và nồng độ oxy hòa tan được duy trì ở mức nằm trong khoảng từ 40 đến 50% bão hòa.

Các dịch lên men sẽ được lọc thô các dịch lên men qua màng lọc hoặc thiết bị lọc khung bản để thu được dịch các dịch lên men cà chua và dịch lên men vỏ quả thanh long. Đo pH của các dịch lên men này cho thấy pH của dịch lên men cà chua có pH bằng 2,5 – 3,5 và dịch vỏ thanh long đồ lên men có pH bằng 2,5 – 3,5;

Tinh dầu tự nhiên có thể được bổ sung vào chế phẩm theo sáng chế để tạo mùi hương dễ chịu cho sản phẩm thành phẩm cũng như để làm tăng hoạt tính làm sạch của chế phẩm. Các tinh dầu đã được biết là có hoạt tính làm sạch bề mặt như tinh dầu oải hương, loại bỏ vết bẩn dầu mỡ như tinh dầu vỏ chanh, loại bỏ cặn như tinh dầu trà xanh và thậm chí làm sạch vết kẹo cao su như tinh dầu vỏ cam hoặc vỏ bưởi.

Do đó, theo một phương án được ưu tiên, chế phẩm theo sáng chế sẽ bao gồm tinh dầu tự nhiên, trong đó tinh dầu tự nhiên được chọn từ nhóm bao gồm tinh dầu vỏ cam, tinh dầu vỏ bưởi, tinh dầu vỏ chanh, tinh dầu xả, tinh dầu bạc hà, tinh dầu quế, tinh dầu oải hương, tinh dầu trà không, tinh dầu quế.

Các chế phẩm sử dụng cho các mục đích khác nhau có thể chứa các tinh dầu tự nhiên khác nhau cũng như hỗn hợp của các tinh dầu tự nhiên trong số các tinh dầu tự nhiên nêu trên.

Chế phẩm dùng cho tẩy rửa tổng hợp và gia dụng có thể chứa tinh dầu trầu không, tinh dầu quế, tinh dầu xả và tinh dầu vỏ chanh và hỗn hợp của các tinh dầu này.

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa thêm các thành phần khác để phù hợp với mục đích sử dụng. Ví dụ, chế phẩm dùng làm nước rửa chén có thể chứa tinh nghệ hoặc chế phẩm dùng làm nước rửa tay có thể chứa thêm các chất diệt khuẩn, đặc biệt các chất diệt khuẩn sinh học.

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa các chất làm đặc cũng như các chất tạo đồng nhất. Ví dụ, chế phẩm có thể bao gồm bao gồm tinh bột sản biến tính để làm chất làm đặc hoặc chứa methyl xenluloza để làm chất làm đồng nhất hoặc có thể chứa đồng thời các chất này.

Sau khi lên men, các sản phẩm sau lên men theo sáng chế đều có pH thấp, tức là pH axit, pH axit có nhiều ảnh hưởng không tốt đối với người dùng và có thể làm cho chế phẩm theo sáng chế không bền, do đó các chất đệm điều chỉnh pH được bổ sung vào chế phẩm để điều chỉnh pH của chế phẩm về pH nằm trong khoảng từ 4,9 đến 7.

Các chất đệm pH thông thường có thể được sử dụng cho chế phẩm theo sáng chế. Theo một phương án được ưu tiên, hỗn hợp dung dịch NaOH 20% và dung dịch Na_3PO_4 có thể được sử dụng và tỷ lệ tính theo trọng lượng của muối Na_3PO_4 nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,5% trọng lượng chế phẩm, tỷ lệ trọng lượng của NaOH nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,5% trọng lượng chế phẩm.

Theo một phương án được ưu tiên, chế phẩm tẩy rửa sinh học theo sáng chế chứa dịch cà chua lên men với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 20 đến 30% trọng lượng, dịch táo mèo lên men với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 20 đến 30% trọng lượng, dịch lên men từ vỏ quả thanh long với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 10 đến 20% trọng lượng, tinh dầu tự nhiên với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,5% trọng lượng, tinh bột biến tính với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 5 đến 10% trọng lượng, methyl xenluloza với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 5 đến 10% trọng lượng, muối Na_3PO_4 với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,5% trọng lượng, NaOH với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,5% trọng lượng.

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế là đề xuất quy trình sản xuất chất tẩy rửa sinh học bao gồm các bước:

(i) tuyển chọn nguyên liệu, xử lý và đánh giá các chỉ tiêu hóa sinh, vi sinh, kim loại nặng để đảm bảo đạt chỉ tiêu và đưa vào quy trình sản xuất;

(ii) tăng sinh sơ cấp chủng *Acetobacter Xylinum*, được phân lập và tuyển chọn trong môi trường tự nhiên, trên môi trường dịch chiết táo mèo đã thanh trùng môi trường với điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút, sau quá trình tăng sinh kết thúc, dịch lên men táo mèo có pH bằng 3;

(iii) tăng sinh thứ cấp trên môi trường dịch cà chua đã được thanh trùng ở điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút để đảm bảo giữ được nhiều nhất giá trị dinh dưỡng cũng như hàm lượng hoạt chất sinh học có trong dịch chiết và sử dụng dịch lên men táo mèo thu được ở bước (ii) làm môi cho quá trình lên men dịch cà chua nhằm tận dụng môi trường axit có trong dịch lên men táo mèo gây ức chế vi sinh vật ngoại lai và tạo đà cho quá trình lên men được thuận lợi;

(iv) tăng sinh thứ cấp trên môi trường dịch vỏ thanh long đã được thanh trùng ở điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút để đảm bảo giữ được nhiều nhất giá trị dinh dưỡng cũng như hàm lượng hoạt chất sinh học có trong dịch chiết và sử dụng dịch lên men táo mèo thu được ở bước (ii) làm môi cho quá trình lên men dịch vỏ thanh long đỏ, nhằm tận dụng môi trường axit có trong dịch lên men táo mèo gây ức chế vi sinh vật ngoại lai và tạo đà cho quá trình lên men được thuận lợi;

(iv) lọc thô các dịch lên men qua màng lọc hoặc thiết bị lọc khung bản để thu được dịch lên men cà chua có pH bằng 2,5 – 3,5 và dịch vỏ thanh long đỏ lên men có pH bằng 2,5 – 3,5;

(v) trộn đều các dung dịch lên men thu được ở trên với tinh dầu tự nhiên, NaOH, Na_3PO_4 , tinh bột đã làm biến tính và metyl xenluloza để thu được chế phẩm tẩy rửa sinh học thành phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Chuẩn bị các dịch lên men

Chuẩn bị dung dịch lên mềo táo mềo

Vi khuẩn chọn lọc trong môi trường tự nhiên và được nuôi cấy trong bình tam giác. Tiếp đó, được cấy truyền sang bình 100 lít và sinh trưởng trong thời gian 260 giờ.

Nguyên liệu táo mềo cả quả được rửa sạch và cắt nhỏ và được chiết ngâm bằng etanol để thu được dịch chiết etanol táo mềo.

Cho dịch chiết táo mềo đã pha loãng với nước theo tỷ lệ 1:3 vào bồn lên men hở có dung tích 2000 lít. Bổ sung muối amoni nitrat với lượng khoảng 1% trọng lượng vào bình và thanh trùng ở nhiệt độ 95°C trong thời gian 30 phút.

Cấy truyền vi khuẩn với tỷ lệ 1:10 vào dịch chiết táo mềo đã thanh trùng để bắt đầu giai đoạn lên men. Các điều kiện trong quá trình lên men như sau:

- tốc độ dòng khí là 1/phút;
- nồng độ oxy hòa tan là 45% bão hòa;
- nhiệt độ duy trì nằm trong khoảng từ 20°C đến 25°C;
- thời gian lên men là 24 giờ.

Dung dịch sau lên men có thể được sử dụng cho bước lên men tiếp theo mà không cần xử lý thêm. Dịch lên men táo mềo cũng được lọc để thu dịch trong cho bước chuẩn bị chế phẩm thành phẩm. Kiểm tra độ pH cho thấy pH của dịch lên men là khoảng 3.

Chuẩn bị dịch lên men cà chua và dịch lên men vỏ quả thanh long

Nguyên liệu cà chua cả quả hoặc vỏ thanh long được rửa sạch và xay nhỏ với việc bổ sung nước sạch. Cho nguyên liệu đã xay nhỏ vào bồn lên men có dung tích 2000 lít.

Bổ sung muối amoni nitrat với lượng khoảng 1,2% trọng lượng vào bình và thanh trùng ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 30 phút.

Bổ sung dịch tỷ lệ dịch lên men táo mèo và dịch cà chua cũng như dịch vỏ quả thanh long là 1:9. Các dịch cà chua và dịch vỏ quả thanh long được lên men trong các bồn riêng biệt.

Các điều kiện trong quá trình lên men như sau:

- tốc độ dòng khí là l/phút;
- nồng độ oxy hòa tan là 45% bão hòa;
- nhiệt độ duy trì nằm trong khoảng từ 20°C đến 25°C;
- thời gian lên men là 24 giờ.

Dung dịch sau lên men được tháo ra và được lọc qua màng lọc để thu dịch lọc trong. Kiểm tra độ pH cho thấy pH của dịch lên men của cả hai dịch lên men thu được đều là khoảng 3.

Ví dụ 2: Sản xuất chế phẩm nước giặt

Trộn đều 25kg dịch cà chua lên men, 28kg dịch táo mèo lên men, 15kg dịch lên men từ vỏ quả thanh long, 0,15kg tinh dầu trầu không, 0,2kg tinh dầu xả, 0,1kg tinh dầu chanh, 8kg tinh bột biến tính, 10kg metyl xenluloza, 2,5kg muối Na_3PO_4 và 3kg NaOH và nước để đủ 100kg để thu được chế phẩm thành phẩm. Chế phẩm này được kiểm tra độ pH và hàm lượng chất hoạt động bề mặt theo tiêu chuẩn TCVN 5720: 2001 và cho thấy chế phẩm có pH là 6,6 và hàm lượng chất hoạt động bề mặt là 6,02%.

Ví dụ 3: Sản xuất chế phẩm nước lau đồ gia dụng

Trộn đều 25kg dịch cà chua lên men, 25kg dịch táo mèo lên men, 10kg dịch lên men từ vỏ quả thanh long, 0,15kg tinh dầu trầu không, 0,2kg tinh dầu xả, 0,1kg tinh dầu chanh, 8kg tinh bột biến tính, 9kg metyl xenluloza, 2kg muối Na_3PO_4 và 1,5kg NaOH và nước để đủ 100kg để thu được chế phẩm thành phẩm. Chế phẩm này được kiểm tra độ

pH và hàm lượng chất hoạt động bề mặt theo tiêu chuẩn TCVN 5720: 2001 và cho thấy chế phẩm có pH là 4,9 và hàm lượng chất hoạt động bề mặt là 5,4%.

Ví dụ 4: Sản xuất chế phẩm nước rửa chén

Trộn đều 25kg dịch cà chua lên men, 20kg dịch táo mèo lên men, 10kg dịch lên men từ vỏ quả thanh long, 1kg tinh bột nghệ nano, 0,25kg tinh dầu chanh, 8kg tinh bột biến tính, 9kg metyl xenluloza, 2kg muối Na_3PO_4 và 2,7kg NaOH và nước để đủ 100kg để thu được chế phẩm thành phẩm. Chế phẩm này được kiểm tra độ pH và hàm lượng chất hoạt động bề mặt theo tiêu chuẩn TCVN 5720: 2001 và cho thấy chế phẩm có pH là 6,0 và hàm lượng chất hoạt động bề mặt là 4,93%.

Ví dụ 5: Sản xuất chế phẩm nước rửa bồn cầu

Trộn đều 20kg dịch cà chua lên men, 20kg dịch táo mèo lên men, 10kg dịch lên men từ vỏ quả thanh long, 0,25kg tinh dầu vỏ bưởi, 0,25kg tinh dầu chanh, 6kg tinh bột biến tính, 8kg metyl xenluloza, 2kg muối Na_3PO_4 và 2,5kg NaOH và nước để đủ 100kg để thu được chế phẩm thành phẩm. Chế phẩm này được kiểm tra độ pH và hàm lượng chất hoạt động bề mặt theo tiêu chuẩn TCVN 5720: 2001 và cho thấy chế phẩm có pH là 5,9 và hàm lượng chất hoạt động bề mặt là 4,56%.

Ví dụ 6: Sản xuất chế phẩm nước rửa tay

Trộn đều 22kg dịch cà chua lên men, 22kg dịch táo mèo lên men, 10kg dịch lên men từ vỏ quả thanh long, 0,25kg tinh dầu oải hương, 6kg tinh bột biến tính, 8kg metyl xenluloza, 2kg muối Na_3PO_4 và 3kg NaOH và nước để đủ 100kg để thu được chế phẩm thành phẩm. Chế phẩm này được kiểm tra độ pH và hàm lượng chất hoạt động bề mặt theo tiêu chuẩn TCVN 5720: 2001 và cho thấy chế phẩm có pH là 7 và hàm lượng chất hoạt động bề mặt là 4,72%.

Yêu cầu bảo hộ

1. Chế phẩm tẩy rửa sinh học chứa:

- dịch cà chua lên men với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 20 đến 30% trọng lượng;
- dịch táo mèo lên men với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 20 đến 30% trọng lượng;
- dịch lên men từ vỏ quả thanh long với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 10 đến 20% trọng lượng;
- tinh dầu tự nhiên với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,5% trọng lượng;
- tinh bột biến tính với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 5 đến 10% trọng lượng;
- metyl xenluloza với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 5 đến 10% trọng lượng;
- muối Na_3PO_4 với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,5% trọng lượng;
- NaOH với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,5% trọng lượng;
- tùy ý, nước để vừa đủ 100%.

2. Chế phẩm tẩy rửa sinh học theo điểm 1, trong đó dịch lên men từ cà chua, dịch lên men từ táo mèo và dịch lên men từ vỏ quả thanh long thu được từ việc lên men lần lượt cà chua, táo mèo và vỏ quả thanh long bằng chủng vi khuẩn lên men *Acetobacter Xylinum*.

3. Chế phẩm tẩy rửa sinh học theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 2, trong đó tinh dầu tự nhiên được chọn từ nhóm bao gồm tinh dầu vỏ cam, tinh dầu vỏ bưởi, tinh dầu xả, tinh dầu bạc hà, tinh dầu quế, tinh dầu oải hương, tinh dầu trầu không, tinh dầu chanh.

4. Chế phẩm tẩy rửa sinh học theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó chế phẩm này còn bao gồm tinh chất nghệ nano.

5. Quy trình sản xuất chất tẩy rửa sinh học theo điểm 1, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

(i) tuyển chọn nguyên liệu, xử lý và đánh giá các chỉ tiêu hóa sinh, vi sinh, kim loại nặng để đảm bảo đạt chỉ tiêu và đưa vào quy trình sản xuất;

(ii) tăng sinh sơ cấp chủng *Acetobacter Xylinum*, được phân lập và tuyển chọn trong môi trường tự nhiên, trên môi trường dịch chiết táo mèo đã thanh trùng môi trường với điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút, sau quá trình tăng sinh kết thúc, dịch lên men táo mèo có pH bằng 3;

(iii) tăng sinh thứ cấp trên môi trường dịch cà chua đã được thanh trùng ở điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút để đảm bảo giữ được nhiều nhất giá trị dinh dưỡng cũng như hàm lượng hoạt chất sinh học có trong dịch chiết và sử dụng dịch lên men táo mèo thu được ở bước (ii) làm môi cho quá trình lên men dịch cà chua nhằm tận dụng môi trường axit có trong dịch lên men táo mèo gây ức chế vi sinh vật ngoại lai và tạo đà cho quá trình lên men được thuận lợi;

(iv) tăng sinh thứ cấp trên môi trường dịch vỏ thanh long đã được thanh trùng ở điều kiện nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 110°C và trong thời gian nằm trong khoảng từ 15 phút đến 30 phút để đảm bảo giữ được nhiều nhất giá trị dinh dưỡng cũng như hàm lượng hoạt chất sinh học có trong dịch chiết và sử dụng dịch lên men táo mèo thu được ở bước (ii) làm môi cho quá trình lên men dịch vỏ thanh long đỏ, nhằm tận dụng môi trường axit có trong dịch lên men táo mèo gây ức chế vi sinh vật ngoại lai và tạo đà cho quá trình lên men được thuận lợi;

(iv) lọc thô các dịch lên men qua màng lọc hoặc thiết bị lọc khung bản để thu được dịch lên men cà chua có pH bằng 2,5 – 3,5 và dịch vỏ thanh long đỏ lên men có pH bằng 2,5 – 3,5;

(v) trộn đều các dung dịch lên men thu được ở trên với tinh dầu tự nhiên, NaOH, Na₃PO₄, tinh bột đã làm biến tính và metyl xenluloza để thu được chế phẩm tẩy rửa sinh học thành phẩm.