Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2024.315

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN LACTIC TỪ MỘT SỐ LOẠI MẮM ĐƯỢC SẢN XUẤT TẠI THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Võ Thị Thảo Sương[1], Hồ Thị Tường Vy[2], Nguyễn Lâm Nhã Tường[2], Lưu Minh Châu[3], Nguyễn Ngọc Thạnh[3] và Huỳnh Xuân Phong[3*]

[1]*Học viên ngành Vi sinh vật học, Trường Đại học Cần Thơ*
[2]*Sinh viên ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ*
[3]*Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ*
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): hxphong@ctu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 06/10/2023
Sửa bài (Revised): 08/11/2023
Duyệt đăng (Accepted): 08/06/2024

Title: *Isolation and selection of lactic acid bacteria from fermented fish produced in Can Tho city*

Author(s): *Vo Thi Thao Suong, Ho Thi Tuong Vy, Nguyen Lam Nha Tuong, Luu Minh Chau, Nguyen Ngoc Thanh and Huynh Xuan Phong[*]*

Affiliation(s): *Can Tho University*

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn những chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh enzyme ngoại bào (protease và amylase) và khả năng lên men sinh acid lactic cao. Kết quả dựa trên cơ sở xác định hình thái, sinh lý, sinh hóa đã phân lập được 28 chủng vi khuẩn lactic từ 5 mẫu mắm và các chủng vi khuẩn này đều là Gram dương, catalase âm tính, oxidase âm tính và không có khả năng di động. Khi đánh giá khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng được phân lập, kết quả cho thấy có 22 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải protein (chiếm 78,57%) và 6 chủng vi khuẩn không có khả năng phân giải protein (chiếm 21,43%). Mặt khác, trong số 28 chủng chỉ có 21 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải tinh bột và 7 chủng vi khuẩn không có khả năng phân giải. Bên cạnh đó, hàm lượng acid lactic của 28 chủng sinh ra cao nhất sau 3 ngày lên men và dao động trong khoảng 8,4 - 15,0 g/L. Từ đó cho thấy các chủng vi khuẩn lactic này là những chủng có tiềm năng ứng dụng trong quá trình lên men mắm cá, giúp nâng cao chất lượng sản phẩm.

Từ khoá: *Acid lactic, enzyme ngoại bào, mắm cá, vi khuẩn lactic*

ABSTRACT

This study was conducted to isolate and select lactic bacteria strains that can produce extracellular enzymes (protease and amylase) and ferment with high levels of lactic acid. Based on the morphological, physiological, and biochemical determination, the results were to isolate 28 strains of lactic bacteria from 5 fermented fish samples, and these bacterial strains were all Gram-positive, catalase-negative, oxidase-negative, and had no mobility. When evaluating the ability of isolated strains to produce extracellular enzymes, the results showed that there were 22 bacterial strains with proteolytic ability, accounting for 78.57%, and 6 bacterial strains without proteolytic ability, accounting for 21.43%. Among the 28 strains, only 21 bacterial strains were capable of degrading starch, and 7 bacterial strains were not. In addition, the lactic acid content of 28 strains was the highest after 3 days of fermentation and ranged from 8.4 to 15 g/L. These findings indicate that these lactic bacteria strains have the potential to be used in the fermentation process of fermented fish, helping to improve product quality.

Keywords: *Extracellular enzymes, fermented fish, lactic acid, lactic bacteria*

1. GIỚI THIỆU

Việt Nam có bờ biển trải dài từ Bắc đến Nam cùng với hệ thống sông ngòi dày đặc, chính vì vậy đã cung cấp một lượng lớn nguồn thủy sản, góp phần quan trọng cho sự phát triển của nền kinh tế. Nguồn cung thủy sản lớn hơn sản lượng tiêu thụ dẫn đến các loại thủy sản sẽ bị hư hỏng, từ xưa ông bà ta đã biết cách bảo quản thủy hải sản bằng nhiều cách khác nhau như ướp muối, phơi khô hay làm mắm,… Hiện nay, nhờ vào công nghệ tiên tiến người ta đã bổ sung thêm một số phương pháp bảo quản hiện đại như đông lạnh, đóng hộp,… Trong đó, mắm là một trong những sản phẩm lên men truyền thống lâu đời và rất đặc trưng ở Việt Nam, đặc biệt là khu vực Nam Bộ, nơi dùng mắm phổ biến nhất và được mệnh danh là "thủ phủ" của mắm. Mắm có ba đặc trưng cơ bản, đó là nguyên liệu thuỷ sản, ướp muối và thời gian lâu ngày nên có thể hiểu mắm là một loại thức ăn chế biến từ thuỷ sản ướp muối để lâu ngày cho lên men (Vương, 2000).

Về bản chất, mắm là sản phẩm của quá trình lên men lactic của vi khuẩn lactic có sẵn trong cá hay muối. Các chủng vi khuẩn lactic có trong những loại mắm khác nhau có thể không cùng loài do chúng phụ thuộc vào nguồn carbohydrate được sử dụng, hàm lượng và các thời điểm bổ sung muối hoặc các loại thính, đường được bổ sung trong quá trình ủ mắm. Hiện nay, các công trình nghiên cứu về lên men nói chung đã được thực hiện và công bố nhiều từ lâu, về khía cạnh lên men mắm cá người ta thường tập trung vào các sản phẩm nước mắm, "mắm xác" dường như bị bỏ quên. Nhung và ctv. (2014) đã phân lập một số giống vi khuẩn tham gia vào quá trình làm mắm bao gồm *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus farciminis* và *Staphylococcus hominis*, từ đó làm tiền đề nhằm cung cấp thêm thông tin khoa học về sản phẩm mắm truyền thống của Việt Nam. Tương tự, với mục đích cung cấp một phần thông tin về sự đa dạng, tính chất của hệ vi khuẩn lactic có trong mắm, cụ thể là mắm ruốc Huế, nhóm nghiên cứu của Thủy và ctv. (2019) cũng đã thực hiện khảo sát một số tính chất có lợi của các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ mắm ruốc Huế.

Trên thị trường, các loại mắm hiện nay thường được sản xuất theo phương pháp "gia truyền", vì vậy có nhiều yếu tố tác động đến chất lượng sản phẩm và có nguy cơ bị "mai một". Vi sinh vật là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng rất lớn đến một số sản phẩm lên men. Với khoa học công nghệ phát triển như hiện nay thì việc bổ sung vi sinh vật vào quá trình sản xuất đang được ứng dụng rộng rãi chẳng hạn như sữa chua, tương chao, nước uống lên men,… Trong nhiều nghiên cứu, ngoài lợi ích thúc đẩy tiến độ quá trình lên men, vi sinh vật giúp cải thiện tính chất cảm quan thông qua các quá trình như lên men carbohydrate, phân giải đạm, oxy hóa chất béo và tạo hương trong quá trình chuyển hóa (1-propanol, 2-methylpropanal và benzaldehyde). Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tạo tiền đề cho việc tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có đặc tính tốt để ứng dụng bổ sung vào quá trình làm mắm, cho ra sản phẩm có kết hợp giữa lên men truyền thống và sử dụng chủng giống vi sinh vật thuần chủng trong lên men, giúp nâng cao và ổn định chất lượng sản phẩm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Năm mẫu mắm dùng để phân lập vi khuẩn lactic được sản xuất tại Cần Thơ gồm mắm cá linh Út Anh - Thốt Nốt (UA), mắm cá sặc Bà Đầm - Thới Lai (BD), mắm cá chốt Kim Nga - Thới Lai (KN), mắm cá lóc Trần Văn Hon - Ô Môn (TVH) và mắm cá lóc Cô Bảy - Ô Môn (CB).

Hóa chất sử dụng: Hóa chất nhuộm Gram, thuốc thử catalase H_2O_2 3%, thuốc thử oxidase, (Nam Khoa Biotek, Việt Nam), NaOH 0,1N (Cemaco, Việt Nam), iod, kali iodide (Merck, Đức).

Môi trường MRS có chứa chiết xuất nấm men 0,4%, chiết xuất thịt bò 0,8%, peptone 1%, D-glucose 2%, K_2HPO_4 0,2%, $MgSO_4$ 0,02%, $MnSO_4$ 0,004%, Tween 80 0,1%, $C_2H_3NaO_2$ (sodium acetate) 0,5% (De et al., 1960).

2.2. Phân lập các chủng vi khuẩn lactic từ các loại mắm cá

Mười gram mỗi mẫu mắm được cho vào bình tam giác chứa 90 mL môi trường MRS lỏng đã thanh trùng và ủ ở 37ºC trong 24 giờ để tăng sinh mẫu. Dịch tăng sinh được pha loãng đến nồng độ thích hợp và sử dụng 0,1 mL dung dịch pha loãng trải trên đĩa môi trường MRS Agar (có chứa 0,5% $CaCO_3$) và ủ ở 37ºC trong 24 - 48 giờ. Chọn các khuẩn lạc làm tan $CaCO_3$ và tiến hành cấy truyền nhiều lần để thu được các chủng vi khuẩn thuần (Khunajakr et al., 2008). Xác định đặc điểm hình thái của các chủng vi khuẩn đã phân lập bao gồm hình dạng, màu sắc, bìa và độ nổi. Đồng thời, thử nghiệm các hoạt tính sinh hóa như oxidase và catalase của các chủng vi khuẩn đã phân lập (Axelsson et al., 2004).

2.3. Khảo sát khả năng sinh enzyme ngoại bào của vi khuẩn lactic

Các chủng vi khuẩn phân lập được tăng sinh trong 5 mL môi trường MRS lỏng, ủ ở 37ºC trong 24 giờ. Sau đó, 2 mL dung dịch tăng sinh vi khuẩn lactic được ly tâm với tốc độ 6.000 vòng/phút trong 20 phút ở 4ºC và thu phần dung dịch trong. Phần dung dịch sau ly tâm (50 µL) được bơm vào các giếng (6 mm) đã được tạo trên đĩa môi trường. Sau đó đĩa thạch được ủ ở tủ lạnh 4ºC trong 2 giờ nhằm khuếch tán dung dịch ly tâm rồi tiến hành ủ 37ºC trong 48 giờ.

Môi trường phân giải protein gồm có peptone 0,5%, chiết xuất thịt bò 0,3%, chiết xuất nấm men 0,1%, sữa tươi tiệt trùng (Vinamilk) 30% và agar 2% (Toàn và ctv., 2022).

Môi trường phân giải tinh bột gồm có NH_4Cl 0,9%, K_2HPO_4 0,05%, $MgSO_4.7H_2O$ 0,05%, $CaCO_3$ 0,3%, glucose 2%, tinh bột tan 1% và agar 2% (Toàn và ctv., 2022). Sau khi ủ 48 giờ nhỏ vào đĩa thạch dung dịch Lugol (iod 1%, kali iodide 2% w/v trong nước).

Kích thước vòng tạo enzyme ngoại bào phân giải cơ chất được đo trên đĩa thạch. Đường kính thủy phân được tính theo công thức: Đường kính thủy phân = D – d. Trong đó, D: đường kính vòng phân giải, d: đường kính giếng (6 mm) (Dũng và ctv., 1976).

2.4. Khảo sát khả năng lên men trong môi trường MRS

Các chủng vi khuẩn lactic phân lập được nuôi cấy trong 5 mL môi trường MRS lỏng, nuôi lắc 180 vòng/phút ở 37ºC trong 24 giờ (mật số đạt khoảng 10^8 tế bào/mL). Sau 24 giờ nuôi lắc, dung dịch vi khuẩn được tiếp giống vào bình chứa 20 mL môi trường MRS lỏng với tỷ lệ tiếp giống 10% (v/v), nuôi lắc 180 vòng/phút ở 37ºC (Huyền và ctv., 2021). Hàm lượng acid lacid sinh ra trong 4 ngày được xác định bằng phương pháp chuẩn độ (Nguyen & Hwang, 2016).

2.5. Phương pháp phân tích số liệu

Kết quả được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ). Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Hoa Kỳ) ở mức ý nghĩa 5%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập các chủng lactic từ mắm

Từ 5 mẫu mắm (mắm cá linh, mắm cá sặc, mắm cá chốt và 2 mắm cá lóc) đã phân lập được 28 chủng vi khuẩn. Mắm cá linh phân lập được 6 chủng vi khuẩn, chiếm 21,42% tổng số chủng phân lập được. Mắm cá sặc phân lập được 5 chủng vi khuẩn, chiếm 17,86%. Mắm cá chốt phân lập được 4 chủng vi khuẩn, chiếm 14,29% tổng số chủng phân lập. Mắm cá lóc tại cơ sở Trần Văn Hon phân lập được 8 chủng vi khuẩn, chiếm 28,57% tổng số chủng phân lập được. Mắm cá lóc cô Bảy phân lập được 5 chủng vi khuẩn, chiếm 17,86% tổng số chủng phân lập. Điều này cho thấy vi khuẩn lactic xuất hiện ở trong hầu hết các mẫu mắm.

Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc và hình dạng tế bào của các chủng vi khuẩn

STT	Chủng	Màu sắc	Bìa	Độ nổi	Hình dạng
1	UA1	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đơn
2	UA2	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu kết chuỗi
3	UA3	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu tạo đám
4	UA4	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đôi
5	UA5	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que đôi
6	UA6	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que dài đơn
7	BD1	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu tạo đám
8	BD2	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đơn
9	BD3	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đôi
10	BD4	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que dài xếp chuỗi
11	BD5	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que ngắn đôi
12	KN1	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đơn
13	KN2	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đôi
14	KN3	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu tạo đám
15	KN4	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que dài đôi
16	TVH1	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đơn

STT	Chủng	Màu sắc	Bìa	Độ nổi	Hình dạng
17	TVH2	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đôi
18	TVH3	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que ngắn đôi
19	TVH4	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que dài xếp chuỗi
20	TVH5	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que ngắn đơn
21	TVH6	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que dài đôi
22	TVH7	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que ngắn xếp chuỗi
23	TVH8	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu tạo đám
24	CB1	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que ngắn đơn
25	CB2	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đôi
26	CB3	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu đơn
27	CB4	Trắng đục	Nguyên	Mô	Que ngắn xếp chuỗi
28	CB5	Trắng sữa	Nguyên	Mô	Cầu tạo đám

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn được phân lập có dạng tròn, bìa nguyên, độ nổi mô chiếm 100% và kích thước của các khuẩn lạc nằm trong khoảng 0,5 - 2,0 mm. Đối với màu sắc, các khuẩn lạc có màu trắng sữa là chủ yếu (chiếm tỷ lệ 57,14%), còn lại là khuẩn lạc có màu trắng đục (chiếm 42,86%). Mặt khác, khuẩn lạc của các chủng này còn có mùi chua đặc trưng của acid và xuất hiện vòng phân giải $CaCO_3$ trên môi trường thạch. Khi quan sát dưới kính hiển vi, kết quả cho thấy tế bào của các chủng vi khuẩn có dạng hình cầu (đơn, đôi, tạo đám, kết chuỗi) và hình que (dài, ngắn, xếp chuỗi), trong đó dạng hình cầu chiếm 57,14% và dạng còn lại chiếm 42,56%. Bên cạnh đó, đặc điểm sinh hóa của các chủng vi khuẩn lactic cũng được thử nghiệm và kết quả cho 28 chủng vi khuẩn phân lập thuộc Gram dương, oxidase và catalase đều cho kết quả âm tính. Tất cả các chủng vi khuẩn qua thử nghiệm khả năng di động trên môi trường bán lỏng cũng cho thấy 100% chủng vi khuẩn không có khả năng di động.

Nhìn chung, qua một số thử nghiệm khác nhau có thể nhận định 28 chủng vi khuẩn phù hợp với các đặc điểm của vi khuẩn lactic như phân giải $CaCO_3$, khuẩn lạc có màu trắng sữa và trắng đục, tế bào có dạng hình que hoặc hình cầu, Gram dương, catalase và oxidase âm tính, không di động theo như mô tả của Salminen et al. (2004).

3.2. Khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng vi khuẩn lactic

Các chủng vi khuẩn lactic đã phân lập được đánh giá khả năng sinh enzyme ngoại bào thông qua phương pháp khuếch tán giếng thạch. Trong tổng số 28 chủng vi khuẩn lactic thì có 22 chủng có thể phân giải protein và 21 chủng phân giải tinh bột, điều này đã cho thấy hầu hết vi khuẩn phân lập được có khả năng sinh enzyme ngoại bào với tỷ lệ trên 70%. Kết quả kích thước vòng phân giải cơ chất protein được thể hiện qua Bảng 2 và phân giải cơ chất tinh bột thể hiện ở Bảng 3.

Đường kính vòng phân giải tạo ra giữa các chủng vi khuẩn khác nhau là do khả năng sinh protease của các chủng vi khuẩn khác nhau. Đường kính càng lớn nghĩa là vi khuẩn có khả năng tiết ra protease càng nhiều. Dựa vào Bảng 2 cho thấy hầu hết các chủng vi khuẩn lactic đều có khả năng sinh enzyme protease. Trong đó, có 22 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải protein chiếm 78,57%, 6 chủng vi khuẩn không có khả năng giải protein chiếm 21,43%. Có 8 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải protein với hoạt lực cao là CB1, CB4, UA6, BD5, TVH3, TVH4, TVH5 và TVH6 với đường kích vòng phân giải dao động khoảng 2,80 - 3,93 cm (chiếm 28,57%). Trong đó, chủng CB4 có đường kính vòng phân giải lớn nhất (3,93 cm), kế đến là chủng UA6 với đường kính vòng phân giải là 3,80 cm (Hình 1). Riêng chủng KN4 có đường kính vòng phân giải nhỏ nhất với 0,47 cm. Các chủng vi khuẩn có khả năng sinh enzyme protease mạnh và lớn hơn so với kết quả nghiên cứu của Nhung và ctv. (2019) khi các chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ sản phẩm lên men đường kính vòng phân giải lớn nằm trong khoảng 1,65 - 3,00 cm (Nhung và ctv., 2019). Các kết quả có sự khác nhau có thể lý giải là do nguồn phân lập của các nghiên cứu khác nhau. Do đó, khả năng sinh enzyme protease của các chủng vi khuẩn lactic là khác nhau.

Bảng 2. Khả năng phân giải protein của các chủng vi khuẩn lactic

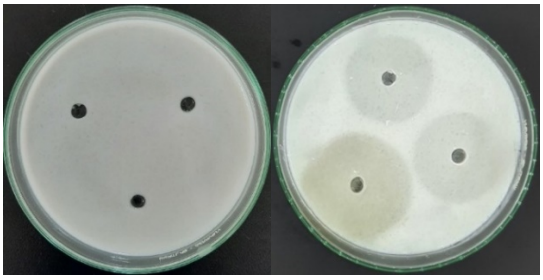
STT	Chủng	Đường kính (cm)	STT	Chủng	Đường kính (cm)
1	UA1	$2,50^{cde}$±0,89	15	KN4	$0,47^{gh}$±0,06
2	UA2	$1,43^{defg}$±0,15	16	TVH1	$1,03^{fgh}$±0,06
3	UA3	$1,27^{efg}$±0,12	17	TVH2	$0,93^{fgh}$±0,12
4	UA4	$1,40^{defg}$±0,10	18	TVH3	$2,90^{abc}$±0,10
5	UA5	$1,10^{fgh}$±0,17	19	TVH4	$3,33^{abc}$±0,12
6	UA6	$3,80^{ab}$±0,00	20	TVH5	$3,03^{abc}$±0,32
7	BD1	$0,00^{h}$±0,00	21	TVH6	$2,80^{abc}$±1,73
8	BD2	$0,00^{h}$±0,00	22	TVH7	$2,60^{bcd}$±0,35
9	BD3	$0,00^{h}$±0,00	23	TVH8	$0,00^{h}$±0,00
10	BD4	$0,00^{h}$±0,00	24	CB1	$3,33^{abc}$±0,12
11	BD5	$2,80^{abc}$±0,20	25	CB2	$0,97^{fgh}$±0,06
12	KN1	$0,90^{fgh}$±0,10	26	CB3	$2,10^{cdef}$±0,10
13	KN2	$2,47^{cde}$±0,12	27	CB4	$3,93^{a}$±0,12
14	KN3	$0,53^{gh}$±0,06	28	CB5	$0,00^{h}$±0,00

Các giá trị trung bình của cùng một cột, theo sau có các mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Duncan

Bảng 3. Khả năng phân giải tinh bột của các chủng vi khuẩn lactic

STT	Chủng	Đường kính (cm)	STT	Chủng	Đường kính (cm)
1	UA1	$1,10^{fg}$±0,17	15	KN4	$1,43^{def}$±0,25
2	UA2	$1,17^{f}$±0,40	16	TVH1	$1,87^{bcdef}$±0,12
3	UA3	$3,60^{a}$±0,35	17	TVH2	$0,87^{fg}$±0,12
4	UA4	$1,33^{def}$±0,49	18	TVH3	$1,57^{cdef}$±0,45
5	UA5	$0,00^{g}$±0,00	19	TVH4	$2,47^{abcd}$±0,12
6	UA6	$3,53^{a}$±0,23	20	TVH5	$1,03^{fg}$±0,15
7	BD1	$0,00^{g}$±0,00	21	TVH6	$2,67^{abc}$±0,25
8	BD2	$1,23^{ef}$±0,06	22	TVH7	$2,87^{ab}$±0,42
9	BD3	$0,00^{g}$±0,00	23	TVH8	$0,00^{g}$±0,00
10	BD4	$0,93^{fg}$±0,32	24	CB1	$2,37^{bcde}$±0,78
11	BD5	$1,47^{def}$±0,81	25	CB2	$1,07^{fg}$±0,12
12	KN1	$0,00^{g}$±0,00	26	CB3	$1,87^{bcdef}$±0,12
13	KN2	$0,00^{g}$±0,00	27	CB4	$1,67^{cdef}$±1,03
14	KN3	$1,33^{def}$±0,31	28	CB5	$0,00^{g}$±0,00

Các giá trị trung bình của cùng một cột, theo sau có các mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Duncan

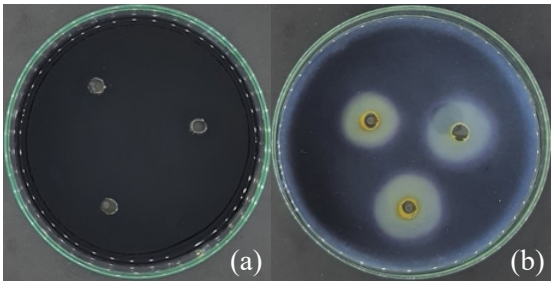


Hình 1. Khả năng phân giải protein của vi khuẩn lactic

(a): Đối chứng, (b): Chủng UA6

Tương tự như khả năng phân giải protein, khả năng sinh enzyme amylase của các chủng vi khuẩn lactic cũng được đánh giá thông qua đường kính vòng phân giải tinh bột. Đường kính càng lớn nghĩa là vi khuẩn có khả năng tiết ra enzyme amylase càng nhiều. Dựa vào Bảng 3 cho thấy hầu hết các chủng vi khuẩn lactic đều có khả năng tổng hợp enzyme amylase. Trong đó, có 21 chủng vi khuẩn có khả năng phân giải tinh bột (chiếm 75%), 7 chủng vi khuẩn không có khả năng phân giải tinh bột (chiếm 25%). Chủng UA3 có đường kính vòng phân giải lớn nhất (3,60 cm) còn chủng TVH2 có đường kính vòng phân giải thấp nhất (0,87 cm). Năm chủng vi khuẩn UA3, UA6, TVH4 (Hình 2), TVH6 và TVH7 có khả năng phân giải tinh bột cao với đường kính vòng phân giải dao động trong khoảng 2,47 - 3,60 cm, chiếm 17,86% trong tổng số 28 chủng vi khuẩn phân lập được. Khả năng sinh enzyme của các chủng vi khuẩn này khá cao và tương tự với nghiên cứu của

Nhung và ctv. (2019) với đường kính vòng phân giải từ 1,8 đến 2,8 cm. Tuy nhiên, khả năng phân giải tinh bột của các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ mắm lại cao hơn nghiên cứu của Lương và ctv. (2010), theo nhóm tác giả này đường kính vòng phân giải tinh bột chỉ dao động trong khoảng 0,7 - 1,3 cm. Điều này có thể là do nguồn gốc phân lập hay đặc tính của các chủng khi biểu hiện trên môi trường tinh bột cũng có sự khác nhau.



Hình 2. Khả năng phân giải tinh bột của vi khuẩn lactic

(a) Đối chứng, (b) Chủng TVH4

3.3. Khả năng lên men trong môi trường MRS của các chủng vi khuẩn lactic

Khả năng sinh acid lactic của các chủng vi khuẩn lactic khi lên men trong môi trường MRS lỏng sau 1, 2, 3 và 4 ngày lên men được ghi nhận ở Bảng 4. Có thể thấy các chủng vi khuẩn đều có khả năng lên men và hình thành acid lactic. Cụ thể, hàm lượng acid lactic của 28 chủng dao động khoảng 6,0 - 11,7 g/L sau 1 ngày lên men; 6,6 - 15,0 g/L sau 2 ngày lên men; 8,4 - 15 g/L sau 3 ngày lên men; và 6,6 - 12,0 g/L sau 4 ngày lên men. Phần lớn hàm lượng acid lactic sinh ra đạt cao nhất ở 3 ngày sau khi lên men. Tuy nhiên, khi ghi nhận hàm lượng acid lactic ở ngày thứ 4 của quá trình lên men thì hàm lượng acid actic có dấu hiệu giảm. Điều này có thể giải thích là do ở ngày 1 và 2, vi khuẩn đang dần thích nghi với môi trường và sau đó mới sinh trưởng mạnh mẽ và chuyển hóa đường thành acid lactic (đạt đỉnh ngày 3). Đến ngày thứ 4 thì quá trình lên men đã bước vào pha suy vong, dinh dưỡng môi trường cạn kiệt tạo điều kiện bất lợi cho khả năng tăng trưởng và ngăn cản các hoạt động chuyển hóa của vi khuẩn, dẫn đến khả năng lên men suy giảm (Leroy, 2001).

Trong 28 chủng vi khuẩn, chủng UA5, UA6, BD2, TVH1 và TVH5 đều sinh hàm lượng acid cao nhất là 15,0 g/L sau 3 ngày lên men, riêng chủng UA6 đạt mức 15,0 g/L ở cả sau 2 và 3 ngày lên men. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu đi trước của Nam và Thịnh (2006) với hàm lượng acid sinh ra bởi các chủng vi khuẩn phân lập nằm trong khoảng 8,0 - 29,0 g/L và nghiên cứu của Trang và Mẫn với chủng vi khuẩn lactic HN11 và HN34 cho hàm lượng acid lần lượt là 10,94 g/L và 12,76 g/L.

Bảng 4. Hàm lượng acid lactic sinh ra của các chủng vi khuẩn lactic theo thời gian

Chủng vi khuẩn lactic	Hàm lượng acid lactic (g/L)			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
UA1	$9,6^{abc}$±1,04	$12,0^{bc}$±1,04	$14,4^{ab}$±1,80	$8,4^{bc}$±1,04
UA2	$6,0^{f}$±1,04	$7,8^{fg}$±1,04	$8,4^{e}$±1,04	$12,0^{a}$±1,04
UA3	$10,8^{a}$±1,80	$12,0^{bc}$±1,04	$13,8^{abc}$±1,04	$12,0^{a}$±1,04
UA4	$6,6^{ef}$±1,04	$12,6^{b}$±1,80	$15,0^{a}$±2,08	$8,4^{bc}$±1,04
UA5	$7,2^{def}$±0,00	$9,6^{cdef}$±1,04	$10,2^{de}$±1,04	$8,4^{bc}$±1,04
UA6	$8,4^{bcde}$±1,04	$15,0^{a}$±1,04	$15,0^{a}$±1,04	$12,0^{a}$±1,04
BD1	$7,8^{cdef}$±1,04	$10,2^{bcdef}$±1,04	$10,2^{de}$±1,04	$10,8^{a}$±1,80
BD2	$8,4^{bcde}$±1,04	$12,0^{bc}$±1,04	$15,0^{a}$±2,08	$10,2^{ab}$±1,04
BD3	$10,2^{ab}$±1,04	$11,4^{bcd}$±2,08	$10,8^{de}$±1,80	$7,2^{cd}$±0,00
BD4	$9,6^{abc}$±1,04	$10,2^{bcdef}$±1,04	$10,8^{de}$±1,80	$6,6^{gh}$±1,04
BD5	$8,4^{bcde}$±1,04	$8,4^{efg}$±1,04	$10,2^{de}$±1,04	$8,4^{bc}$±1,04
KN1	$9,0^{abcd}$±1,80	$10,2^{bcdef}$±1,04	$12,0^{bcd}$±1,04	$6,6^{gh}$±1,04
KN2	$7,8^{cdef}$±1,04	$11,4^{bcd}$±2,08	$13,8^{abc}$±1,04	$10,2^{ab}$±1,04
KN3	$8,4^{bcde}$±1,04	$10,2^{bcdef}$±1,04	$12,0^{bcd}$±1,04	$7,8^{cd}$±1,04
KN4	$8,4^{bcde}$±1,04	$10,2^{bcdef}$±1,04	$10,2^{de}$±1,04	$10,2^{ab}$±1,04
TVH1	$6,0^{f}$±1,04	$6,6^{g}$±1,04	$15,0^{a}$±2,08	$6,6^{cd}$±1,04
TVH2	$7,8^{cdef}$±1,04	$10,8^{bcde}$±1,80	$10,2^{de}$±1,04	$6,6^{cd}$±1,04
TVH3	$7,8^{cdef}$±1,04	$10,2^{bcdef}$±1,04	$10,2^{de}$±1,04	$7,2^{cd}$±0,00
TVH4	$7,8^{cdef}$±2,08	$12,0^{bc}$±1,04	$10,2^{de}$±1,04	$8,4^{bc}$±1,04
TVH5	$7,8^{cdef}$±2,08	$10,8^{bcde}$±1,80	$15,0^{a}$±2,08	$7,8^{cd}$±1,04
TVH6	$8,4^{bcde}$±1,04	$10,2^{bcdef}$±1,04	$12,6^{abcd}$±1,80	$7,2^{cd}$±1,80

Chủng vi khuẩn lactic	Hàm lượng acid lactic (g/L)			
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4
TVH7	$7,2^{def}$±0,00	$8,4^{efg}$±1,04	$10,2^{de}$±1,04	$7,2^{cd}$±0,00
TVH8	$8,4^{bcde}$±1,04	$9,6^{cdef}$±2,08	$8,4^{e}$±1,04	$6,0^{d}$±1,04
CB1	$6,6^{ef}$±1,04	$6,6^{g}$±1,04	$8,4^{e}$±1,04	$7,8^{cd}$±1,04
CB2	$8,4^{bcde}$±1,04	$10,8^{bcde}$±1,80	$10,2^{de}$±1,04	$8,4^{bc}$±1,04
CB3	$7,8^{cdef}$±1,04	$9,0^{defg}$±1,80	$13,8^{abc}$±2,75	$7,2^{cd}$±0,00
CB4	$8,4^{bcde}$±1,04	$10,2^{bcdef}$±1,04	$10,8^{de}$±1,80	$6,0^{d}$±1,04
CB5	$9,0^{abcd}$±0,00	$10,8^{bcde}$±1,80	$11,4^{cd}$±2,08	$6,6^{cd}$±1,04

Các giá trị trung bình của cùng một cột, theo sau có các mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định Duncan.

4. KẾT LUẬN

Kết quả phân lập được 28 chủng vi khuẩn lactic từ 5 loại mắm sản xuất tại thành phố Cần Thơ. Hầu hết các chủng vi khuẩn đều có khả năng phân giải tinh bột và protein với tỷ lệ tương ứng lần lượt là 21/28 chủng (75,00%) và 22/28 chủng (78,58%). Ngoài ra, trong số các chủng có khả năng sinh acid lactic thì chủng UA6 có khả năng sinh acid lactic cao nhất với hàm lượng 15,0 g/L ở thời điểm sau 2 và 3 ngày lên men và chủng này cũng có khả năng phân giải protein và tinh bột cao với đường kính phân giải lần lượt là 3,8 cm và 3,53 cm. Từ đó cho thấy chủng UA6 là chủng vi khuẩn lactic có tiềm năng ứng dụng vào quá trình làm mắm.

LỜI CẢM TẠ

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ của Trường Đại học Cần Thơ và Sở Khoa học và Công nghệ TP. Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Axelsson, L. (2004) Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In Salminen, S., Wright, A. V., & Ouwehand, A. (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, (pp. 1-67). https://doi.org/10.1201/9780824752033.ch1

De Man, J. C., Rogosa, D., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology*, *23*(1), 130-135. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x

Dũng, N. L., Mượn, Đ. X., Tiến, N. P, Trạch, Đ. Đ., & Ty, P. V. (1976). *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học*. Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật Hà Nội, Tập 2.

Huyền, N. T., Anh. L. T. M., Thủy, N. T. B., Nghiễn, N. X., Dầu, T. T, Trang, P. T. T., Ly, V. T, Anh, N. H., Hà, H. H, Hạnh, Đ, T., & Cảnh, N. X. (2021). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn lactic và ứng dụng trong thử nghiệm chế biến tạo sản phẩm nấm sò lên men. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, *19*(3), 379-388.

Khunajakr, N., Wongwicharn, A., Moonmangmee, D., & Tantipaiboonvut, S. (2008). Screening and identification of lactic acid bacteria producing antimicrobial compounds from pig gastrointestinal tracts. *Current Applied Science and Technology*, *8*(1),8-17.

Leroy, F., & De Vuyst, L. (2001). Growth of the bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* strain CTC 494 in MRS broth is strongly reduced due to nutrient exhaustion: A nutrient depletion model for the growth of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(10), 4407-4413. https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4407-4413.2001

Lương, Đ.T., Đào, N. T. A., Quy, N. T. K., Quyên, T. T. L., Hợp, D. V., Việt, T. Q., Len, N. T., & Huyền, B. T. T. (2010). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic dùng trong chế biến và bảo quản thức ăn, thô xanh và phụ phẩm nông nghiệp cho gia súc nhai lại. *Di truyền học và Ứng dụng, 6,* 1-8.

Nam, V. X., & Thịnh, Đ. T. (2006). Tuyển chọn vi khuẩn lactic cho quá trình lên men axit lactic. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nhiệt đới, 11*, 1-12.

Nguyen, L., & Hwang, E. S. (2016). Quality characteristics and antioxidant activity of yogurt supplemented with aronia (*Aronia melanocarpa*) juice. *Preventive Nutrition and Food Science*, *21*(4), 330. https://doi.org/10.3746/pnf.2016.21.4.330

Nhung, Đ. T. T., Hiệp. N. H., & Thành, N. V (2014). Định danh và xác định một số đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn lactic trong sản phẩm mắm chua cá sặc. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, *33*, 53-60. https://doi-ctu.jvn.2014.197.html

Nhung, N. T. H., Thương, L. T., Hằng, N. T. T., & Huyền, N. T. (2019). Tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có tiềm năng ứng dụng tạo chế phẩm sinh học probiotic bổ sung vào thức ăn chăn nuôi. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm*

nghiệp, *2*, 19-27. https://doi.org/10.34238/tnu-jst.2020.03.1868

Salminen, S., & Von Wright, A. (Eds.). (2004). *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 3rd edition, CRC Press, New York. https://doi.org/10.1201/9780824752033

Thủy, Đ. T. B., Hương, N. T. D., Thanh, Đ. T. T. (2019). Xác định một số tính chất có lợi của các chủng vi khuẩn lactic phân lập được từ mắm ruốc Huế. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, *3*(3), 1458-1467. https://doi.org/10.46826/huaf-jasat.v3n3y2019.297

Toàn, H. T., Thảo, M. T., Phương, N. T., Ngân, T. L., Vinh, B. T., & Điệp, C. N. (2008). Phân lập vi khuẩn phân giải cellulose, tinh bột và protein trong nước rỉ từ bãi rác ở thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 10*, 195-202.

Trang, N. T. & Mẫn, T. Đ. (2008). Một số đặc điểm phân loại của hai chủng vi khuẩn lactic HN11 và HN34 sinh tổng hợp L(+) - lactic axit phân lập tại Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, *6*(4), 505-511.

Vương, T. Q. (2000). *Văn hóa Việt Nam Tìm tòi và suy ngẫm*. Nhà xuất bản Văn Hóa Dân Tộc, Hà Nội.