

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN LACTIC CÓ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP AMYLASE VÀ BACTERIOCIN

Nguyễn Thị Minh Hằng¹, Nguyễn Minh Thu²

¹ThS. Trường Đại học Lâm nghiệp

²SV. Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Hệ vi khuẩn lactic trong các sản phẩm muối chua truyền thống ở Việt Nam có vai trò quan trọng trong chế biến và bảo quản thực phẩm. Từ 98 chủng vi khuẩn phân lập trong nước muối chua dưa, hành, cà đã tuyển chọn được 7 chủng có khả năng sinh nhiều axit lactic. Trong số đó có 3 chủng lên men đồng hình: ND5, NC7 và NH10, chúng có khả năng sinh amylase cao (đường kính vòng thủy phân tinh bột: 18-21 mm) trong môi trường MRS có 2% tinh bột ở 37°C, pH 7. Hai chủng ND5 và NH10 sinh bacteriocin có khả năng ức chế các vi sinh vật gây bệnh: *E. coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Bacillus cereus* với đường kính vòng vô khuẩn 20-26 mm, riêng chủng NC7 chỉ ức chế được *Bacillus cereus*. Ba chủng này ứng dụng tốt trong sản xuất axit lactic, amylase và bacteriocin phục vụ cho chế biến và bảo quản thực phẩm.

Keywords: *Amylase, Bacteriocin, chất diệt khuẩn, lên men lactic đồng hình, vi khuẩn lactic*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong công nghiệp chế biến và bảo quản thực phẩm, các loại sản phẩm tươi sống như: thịt, cá, trứng, sữa, rau, củ, quả rất dễ bị thối hỏng và bị nhiễm các vi sinh vật gây bệnh (như *Salmonella*, *shigella*, *E. coli*, *Vibro inaba*, *streptococcus*...) nên việc sử dụng các chất bảo quản thực phẩm là rất cần thiết [2]. Tuy nhiên, các loại hóa chất bảo quản đang được sử dụng rộng rãi như hiện nay đã gây ra những hiện tượng ngộ độc thực phẩm hàng loạt, ảnh hưởng xấu đến sức khỏe cộng đồng. Việc nghiên cứu tìm ra các chất bảo quản thực phẩm có nguồn gốc sinh học là rất cần thiết. Nhiều kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước đã chỉ ra rằng vi khuẩn lactic có khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh nhờ hoạt chất Bacteriocin [5]. Ngoài ra, khả năng sinh amylase thủy phân tinh bột và một số hoạt tính sinh học quý khác cũng được nghiên cứu, phát hiện ở các vi khuẩn lactic. Vì vậy, vi khuẩn lactic là nguồn vi sinh vật có tiềm năng để nghiên cứu thu nhận amylase, sản xuất với quy mô lớn dùng trong công nghiệp do nhóm vi khuẩn này có khả năng chịu axit, sinh trưởng tốt và đảm bảo chất lượng sản phẩm lên men ổn định ở các điều

kiện môi trường có các giá trị pH khác nhau [3]. Trong nghiên cứu này, tác giả trình bày kết quả phân lập và tuyển chọn một số chủng vi khuẩn lactic có đồng thời một số đặc tính sinh học quý: khả năng lên men lactic đồng hình, khả năng phân giải tinh bột và sinh chất diệt khuẩn Bacteriocin.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- *Nguồn vi sinh vật:* Nước dưa muối, nước hành muối, nước cà muối thu thập tại chợ Xuân Mai và các vùng phụ cận tại Chương Mỹ, Hà Nội.

- *Các vi khuẩn kiểm định:* *Salmonella sp.*, *E. coli*, *Shigella sp.*, *Bacillus cereus*...do Viện Công nghệ sinh học Lâm Nghiệp, Trường Đại học Lâm Nghiệp cung cấp.

- *Môi trường MRS* (để phân lập vi khuẩn lactic) gồm (g/l): thạch 15,0; glucose 20,0; CaCO₃ 5,0; Cao thịt 10,0; Cao nấm men 5,0; Pepton 10,0; Tween 80 1,0; K₂HPO₄ 2,0; CH₃COONa 5,0; Triamoniumcitrat 2,0; MgSO₄.7H₂O 0,58; MnSO₂.4H₂O 0,28; pH 7,0.

- *Các loại môi trường MRS I, MRS II, MRS III* có thành phần giống MRS, bổ sung thêm

glucose 20 g/l cho MRS I; glucose 10 g/l và tinh bột 10 g/l cho MRS II; tinh bột 20 g/l cho MRS III.

- *Môi trường MPA* (để kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn) gồm (g/l): Thạch 15,0; Pepton 5,0; NaCl 1,0; Cao thịt 2,0; nước cất, pH 7,0.

Các môi trường MRS I (bổ sung 2% glucose), MRSII (bổ sung 1% glucose + 1% tinh bột), MRSIII (bổ sung 2% tinh bột). Môi trường thạch thường (g/l) sử dụng để kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn của vi khuẩn lactic (thành phần gồm: thạch 15,0 g/l + pepton 5,0 g/l + NaCl 1,0 g/l + cao thịt 2,0 g/l + nước cất, pH = 7.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Phân lập vi khuẩn lactic*: Pha loãng mẫu đến các nồng độ khác nhau: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ...; hút 0,05 ml dịch mẫu ở mỗi nồng độ nhỏ lên đĩa petri chứa môi trường MRS đặc, gạt đều sao cho dịch mẫu trải đều trên mặt thạch, nuôi ở 37°C trong 48 giờ; chọn những khuẩn lạc mọc riêng rẽ có những đặc điểm đặc trưng của vi khuẩn lactic, hình tròn, có màu trắng đục, nhẵn và có vòng phân giải CaCO_3 ; tiến hành cấy sang đĩa thạch MRS khác theo đường rích rạch nhằm làm cho các khuẩn lạc mọc rời nhau để thuần khiết, tinh sạch khuẩn lạc.

Nuôi 48 giờ trên máy lắc 200 vòng/phút các chủng phân lập được trong môi trường MRS dịch thể ở 37°C, bình nào có màu trắng đục thì bình đó có vi khuẩn lactic phát triển (theo Therner).

- *Phương pháp chuẩn độ Therner*: Khả năng sinh axit lactic mạnh hay yếu của các chủng vi khuẩn lactic được xác định bằng phương pháp chuẩn độ Therner. Lấy 10 ml dịch nuôi lắc đã li tâm cho vào ống nghiệm, bổ sung 20 ml nước cất và 1-2 giọt Phenolphthalein (nồng độ 1% trong cồn 90°). Chuẩn độ bằng NaOH 0,1N đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 30 giây thì dừng lại. Ghi lại thể tích NaOH đã dùng để chuẩn độ.

Độ axit được tính theo độ Therner:

$$^{\circ}\text{T} = V_{\text{NaOH}} \text{ tiêu tốn} \times 10$$

$$\% \text{ axit lactic} = ^{\circ}\text{T} \times 0,009$$

Trong đó: $^{\circ}\text{T}$ là độ Therner, 1°T tương ứng với 9 mg axit lactic.

- *Xác định hoạt tính amylase bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch*: Lên men các chủng vi khuẩn lactic trong môi trường MRS lỏng, nuôi lắc ở 37°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút, trong 24-48 giờ. Li tâm dịch nuôi ở 7000 vòng/phút, loại bỏ sinh khối, thu dịch trong. Dùng khoan nút chai khoan các lỗ thạch trên đĩa petri chứa môi trường thạch có bổ sung 1% tinh bột. Nhỏ 0,1 ml dịch enzym thô đã li tâm vào lỗ thạch, để vào tủ ấm 5-6 giờ cho lượng dịch trong lỗ thạch thủy phân tinh bột. Nhuộm màu bằng dung dịch Lugol 5%. Hoạt tính amylase được đo bằng đường kính vòng phân giải tinh bột xung quanh lỗ thạch, tức là $D - d$, mm. Trong đó: D là đường kính vòng phân giải (mm), d là đường kính lỗ thạch (mm).

- *Phương pháp xác định hoạt tính catalase*: Nhỏ trực tiếp vài giọt H_2O_2 3% lên bề mặt khuẩn lạc vi khuẩn lactic đã được nuôi 48 giờ trong môi trường MRS ở 37°C. Quan sát sự xuất hiện bọt khí bằng mắt thường. Nếu thấy có xuất hiện bọt khí thì phản ứng là dương tính, ngược lại không xuất hiện bọt khí là phản ứng catalase âm tính (James G.C).

- *Phương pháp xác định khả năng di động của vi khuẩn*: Chủng vi khuẩn được cấy vào các ống nghiệm chứa môi trường MRS đặc theo phương thẳng đứng, nuôi ở 37°C trong 48 giờ. Nếu vi khuẩn mọc lan ra xung quanh đường cấy chứng tỏ vi khuẩn có khả năng di động. Nếu vi khuẩn chỉ mọc thẳng đứng theo đường cấy chứng tỏ vi khuẩn không có khả năng di động (James G.C).

- *Phương pháp xác định kiểu lên men*: Phương pháp xác định kiểu lên men lactic đồng hình và dị hình dựa vào khả năng sinh

khí CO₂ trong quá trình lên men glucose của vi khuẩn lactic. Cho ống Durham vào ống nghiệm chứa 5 ml môi trường MRS, hấp khử trùng ở 12°C trong 15 phút; cấy chủng vi khuẩn lactic cần thử vào ống nghiệm, nuôi ở 37°C trong 48 giờ. Nếu ống Durham nổi lên trên bề mặt môi trường thì chứng tỏ chủng vi khuẩn sinh khí CO₂ (lên men lactic dị hình); nếu ống Durham chìm chứng tỏ chủng vi khuẩn không sinh khí CO₂ (lên men lactic đồng hình).

- *Xác định hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp đục lỗ thạch*: Lên men các chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính amylase đã được tuyển chọn trong môi trường MRS dịch thể, lắc 200 vòng/phút trong 48 giờ ở nhiệt độ 37°C. Ly tâm dịch nuôi 12000 vòng/phút, loại sinh khối, thu dịch Bacteriocin thô. Nhỏ 0,5 ml dịch bacteriocin thô vào các lỗ thạch trên đĩa đã cấy sẵn vi khuẩn kiểm định, nuôi ở 37°C, 24 giờ. Khả năng ức chế vi khuẩn kiểm định được xác định bằng đường kính vòng vô khuẩn xung quanh lỗ thạch: D – d, mm. Trong đó: D là đường kính vòng vô khuẩn (mm), d là đường kính lỗ thạch (mm).

- *Xác định hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp thổi thạch*: 3 chủng vi khuẩn lactic nuôi trên môi trường thạch MRS. Dùng khoan nút chai khoan các thổi thạch có chứa các chủng này và đặt lên môi trường MPA đã cấy sẵn vi sinh vật kiểm định. Để lạnh 4°C khoảng 2-4 giờ cho Bacteriocin khuếch tán vào thạch, rồi nuôi tiếp trong tủ ấm cho vi sinh vật kiểm định phát triển.

Vi khuẩn được chọn lọc để thử hoạt tính nuôi trên môi trường LB đặc. Dùng khoan nút chai khoan các thổi thạch có chứa vi sinh vật đối kháng đã nuôi trên đĩa peptri sau 48 giờ. Đặt thổi thạch lên bề mặt môi trường đã cấy sẵn vi sinh vật kiểm định. Sau 48 giờ nuôi trong tủ ấm và đưa ra quan sát vòng kháng khuẩn xung quanh thổi thạch: D – d, mm.

Trong đó, D là đường kính vòng vô khuẩn (mm), d là đường kính thổi thạch (mm).

- *Xác định ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng sinh amylase của các chủng vi khuẩn lactic*:

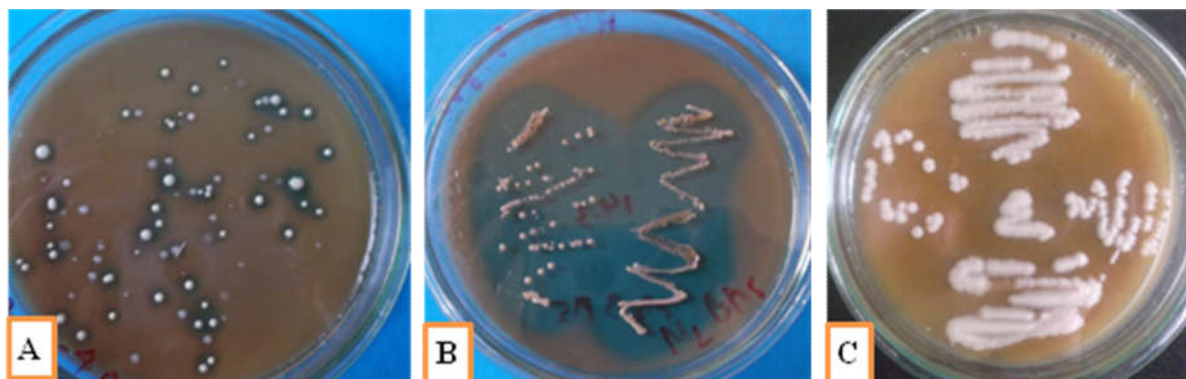
+ *Xác định ảnh hưởng của nguồn carbon*: Các chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính amylase cao được nuôi lắc 200 vòng/phút, ở 37°C, thời gian 48 giờ trong các môi trường MRS lỏng có sự khác nhau về nguồn carbon: Môi trường MRS I có 2% glucose, môi trường MRS II có 1% glucose và 1% tinh bột tan, môi trường MRS III có 2% tinh bột tan. Xác định khả năng sinh amylase bằng phương pháp đục lỗ thạch.

+ *Xác định ảnh hưởng của pH ban đầu*: Các chủng vi khuẩn được lên men trong môi trường MRS dịch thể có các giá trị pH ban đầu khác nhau (pH = 5; 6; 7 và 8), lắc với tốc độ 200 vòng/phút, ở 37°C, trong 48 giờ. Ly tâm dịch lên men và xác định hoạt tính amylase qua đường kính vòng phân giải tinh bột.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và thuần khiết giống

Từ một số sản phẩm lên men: nước dưa, nước hành, nước cà muối chua, tiến hành phân lập theo phương pháp đã nêu ở trên. Sau 36-48 giờ nuôi trong tủ ấm cho thấy trên mặt thạch xuất hiện nhiều loại khuẩn lạc với kích thước, hình dạng khác nhau nhưng chủ yếu là những khuẩn lạc có màu trắng sữa, tròn nhẵn và có vòng trong suốt xung quanh do CaCO₃ bị phân giải bởi axit lactic. Sau khi tiến hành tinh sạch, thu nhận các chủng thuần khiết bằng phương pháp cấy rìa trên đĩa thạch MRS, mật độ tế bào giảm dần theo vết cấy, xuất hiện các khuẩn lạc rời mọc riêng rẽ, đã phân lập được 98 chủng vi khuẩn lactic dựa trên quan sát hình thái khuẩn lạc bằng mắt thường. Các chủng vi khuẩn này tiếp tục được nghiên cứu các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa (hình 3.1).



Hình 3.1. Khuẩn lạc vi khuẩn lactic trên môi trường MRS

A - ở nồng độ 10^{-4} ; B - vòng trong suốt do sự phân giải $CaCO_3$ có trong môi trường; C - khuẩn lạc chủng NH10

3.2. Xác định hàm lượng axit lactic

Sau khi tinh sạch được 98 chủng được đánh giá là vi khuẩn lactic theo hình thái khuẩn lạc, tiến hành nuôi cấy để chọn lọc vi khuẩn lactic trong môi trường MRS dịch thể. Kết quả có 90 chủng là vi khuẩn lactic, 8 chủng còn lại không

sống trên môi trường MRS nên bị loại. Tiến hành chuẩn độ axit bằng phương pháp chuẩn độ Thener để chọn ra các chủng có khả năng sinh axit lactic mạnh. Kết quả đã chọn được 7 chủng có khả năng sinh axit lactic nhiều nhất (bảng 3.2) với hàm lượng axit từ 1,93-2,18 mg/ml.

Bảng 3.1. Khả năng sinh axit lactic của 7 chủng lactic

Ký hiệu chủng	Hàm lượng axit lactic (mg/ml)
NH4	1,93
NH9	1,92
NH10	2,06
NH11	1,94
ND5	1,99
NC6	1,94
NC7	2,18

3.3. Sàng lọc các chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính amylase

Từ 7 chủng có khả năng sinh nhiều axit lactic xác định khả năng sinh amylase của chúng. Kết quả xác định hoạt tính amylase

được trình bày ở bảng 3.2 và hình 3.2. Trong 7 chủng vi khuẩn lactic, lựa chọn được 3 chủng có hoạt tính amylase cao và ổn định nhất đó là: ND5, NC7 và NH10 với đường kính vòng phân giải tinh bột 18-21 mm.

Bảng 3.2. Hoạt tính amylase của 7 chủng vi khuẩn lactic

STT	Ký hiệu chủng	Nguồn mẫu phân lập	Đường kính vòng thủy phân tinh bột, D - d, mm
1	NH4	Nước hành muối	15
2	NH9	Nước hành muối	15

3	<u>NH10</u>	Nước hành muối	<u>20</u>
4	NH11	Nước hành muối	8
5	<u>ND5</u>	Nước dừa muối	<u>18</u>
6	NC6	Nước cà muối	17
7	<u>NC7</u>	Nước cà muối	<u>21</u>

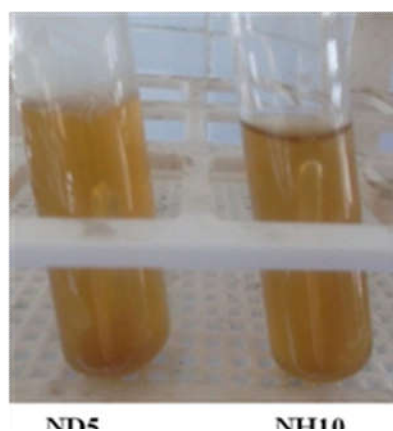
3.4. Xác định kiểu lên men của 7 chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính amylase

Kết quả xác định kiểu lên men của 7 chủng vi khuẩn lactic được thể hiện trên hình 3.3. Trong 7 chủng thì có 4 chủng lên men lactic đồng hình, không sinh khí CO₂ là ND5, NC7,

NH10 và NC6. Tuy nhiên, 3 chủng ND5, NC7 và NH10 có hoạt tính amylase cao đồng thời có khả năng lên men lactic đồng hình được tiếp tục sử dụng để xác định ảnh hưởng của một số yếu tố nuôi cấy đến hoạt tính amylase.



Hình 3.2. Hoạt tính amylase của 3 chủng vi khuẩn lactic: 1-NH10; 2-ND5; 3-NC7; DC- Đối chứng

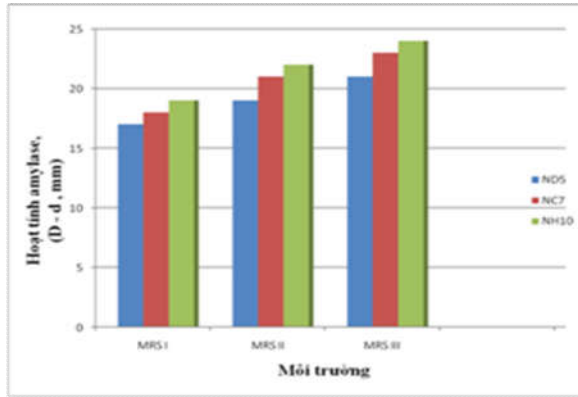


Hình 3.3. Khả năng lên men lactic đồng hình của chủng vi khuẩn lactic ND5 và NH10

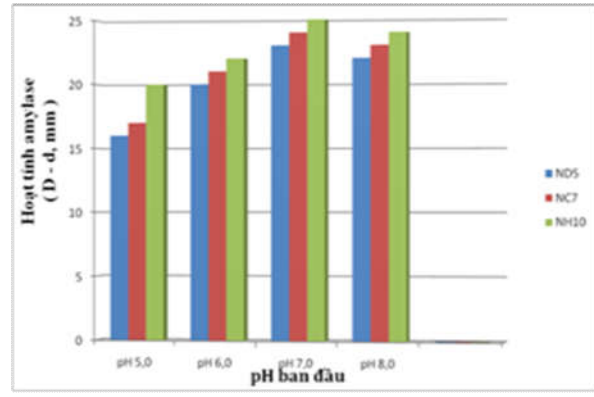
3.5. Ảnh hưởng của nguồn cacbon và pH ban đầu đến hoạt tính amylase của 3 chủng vi khuẩn lactic

Kết quả được thể hiện trên hình 3.4 và 3.5. Từ kết quả thu được cho thấy hoạt tính amylase của 3 chủng đều đạt cao nhất (đường kính vòng thủy phân từ 18-21 mm) khi nuôi trong môi trường MRS có tinh bột 2% và điều kiện pH ban đầu là 7 ở nhiệt độ 37°C. Điều này cũng cho thấy, tinh bột là nguồn cacbon phù hợp được xem như cơ chất cảm ứng tốt có trong môi trường nuôi cấy để kích thích các chủng sản sinh nhiều amylase. Ngoài ra, để các điều kiện nuôi cấy như nhiệt độ, pH, tốc độ khuấy, hàm lượng oxy... cũng ảnh hưởng nhiều đến khả năng sinh amylase ở vi sinh vật. Trong

nghiên cứu này, để khảo sát ảnh hưởng của các giá trị pH ban đầu của môi trường nuôi cấy đến khả năng sinh amylase của các chủng vi khuẩn lactic, các giá trị pH được khảo sát là 5, 6, 7 và 8. Kết quả thu được trên hình 3.5 cho thấy ở giá trị pH 7, hoạt tính amylase của các chủng vi khuẩn lactic cao nhất. Ở pH 5, pH 6 hoặc pH8 đường kính vòng thủy phân tinh bột của các chủng trên đĩa thạch giảm. Điều đó cho thấy khi pH giảm hoặc tăng lên khả năng tổng hợp amylase giảm đi rõ rệt. Chính vì vậy, việc lựa chọn các giá trị pH ban đầu để phù hợp cho quá trình sinh tổng hợp amylase ở các chủng cũng cần quan tâm khi nuôi cấy thu nhận amylase từ vi khuẩn lactic.



Hình 3.4. Ảnh hưởng của nguồn cacbon đến hoạt tính amylase của 3 chủng ND5, NC7 và NH10



Hình 3.5. Ảnh hưởng của pH ban đầu đến hoạt tính amylase của 3 chủng ND5, NC7 và NH10

3.6. Khả năng di động và một số đặc điểm sinh học của 3 chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính amylase cao nhất

Khi cấy trong môi trường MRS đặc theo phương thẳng đứng, cả 3 chủng này đều mọc thẳng theo đường cấy, chứng tỏ các chủng đều không có khả năng di động. Kết quả nhuộm

Gram cho thấy cả 3 chủng vi khuẩn lactic ND5, NC7 và NH10 đều bắt màu tím (vi khuẩn Gram dương). Hình thái khuẩn lạc, hình dạng tế bào và một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa khác của 3 chủng được thể hiện trên hình 3.6 và bảng 3.3.



Hình 3.6. Hình dạng tế bào của các chủng vi khuẩn lactic: A-ND5; B-NC7; C-NH10

Bảng 3.3. Một số đặc điểm sinh học, sinh lý và sinh hóa của 3 chủng vi khuẩn lactic

Đặc điểm	Chủng vi khuẩn lactic		
	NC7	ND5	NH10
Hình dạng tế bào	Hình cầu	Hình que ngắn	Hình elip
Sắp xếp tế bào	Đơn, đôi, đám	Đơn, đôi, đám	Đơn, đôi, đám
Nhuộm màu Gram	Gram dương (+)	Gram dương (+)	Gram dương (+)
Hình dạng khuẩn lạc	Tròn, trơn, nhẵn, màu trắng ngà	Tròn, trơn, nhẵn, trắng sữa	Tròn, trơn, nhẵn, màu trắng sữa
Khả năng di động	-	-	-
Hoạt tính catalase	-	-	-
Khả năng sinh axit lactic	+	+	+
Kiểu lên men lactic	Lên men lactic đồng hình	Lên men lactic đồng hình	Lên men lactic đồng hình

Theo kết quả hình thái khuẩn lạc, hình dạng tế bào và một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa của các chủng vi khuẩn lactic phân lập được, tham chiếu với khóa phân loại của Bergey (1986) bước đầu nhận định các chủng vi khuẩn này thuộc họ *Lactobacillus*. Tuy nhiên, cần tiếp tục phân tích trình tự rRNA 16S của các chủng vi khuẩn này để định danh đến tên loài của chúng.

3.7. Khả năng ức chế vi sinh vật gây bệnh của bacteriocin thô sinh ra từ 3 chủng vi khuẩn lactic NC7, ND5 và NH10

Bổ sung 500 µl dịch bacteriocin thô thu được từ dịch lên men 3 chủng vi khuẩn lactic ND5, NC7 và NH10 vào các lỗ trên đĩa thạch chứa môi trường MPA đã cấy sẵn vi sinh vật

gây bệnh. Hoạt tính ức chế một số vi khuẩn gây bệnh (*E.coli*, *Samonella* sp., *Shigella* sp., *Bacillus cereus*) của dịch bacteriocin thô được thể hiện bằng đường kính vòng vô khuẩn xung quanh lỗ thạch được thể hiện ở bảng 3.4 và hình 3.8.

Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn (theo phương pháp thổi thạch) của 3 chủng vi khuẩn lactic đối với *Bacillus cereus* thể hiện trên bảng 3.4 và hình 3.8. Từ các kết quả thu được cho thấy chủng ND5 và NH10 có khả năng ức chế cả 4 chủng vi sinh vật kiểm định *Samonella* sp., *Shigella* sp., *E.coli* và *Bacillus cereus*. Chủng NC7 chỉ có khả năng ức chế *Bacillus cereus*.

Bảng 3.4. Hoạt tính kháng khuẩn của dịch Bacteriocin thô của 3 chủng vi khuẩn lactic

Ký hiệu chủng	Hoạt tính kháng khuẩn (D – d, mm)		
	<i>E. Coli</i>	<i>Samonella</i> sp.	<i>Shigella</i> sp.
ND5	24	26	22
NC7	0	0	0
NH10	22	20	24



Hình 3.7. Khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh của dịch Bacteriocin thô thu được từ sự lên men 3 chủng vi khuẩn lactic: 5-ND5; 7-NC7; 10-NH10

Bảng 3.5. Khả năng kháng *Bacillus cereus* của 3 chủng ND5, NC7, NH10

Ký hiệu chủng	Hoạt tính kháng <i>Bacillus cereus</i> (D – d, mm)
ND5	8
NC7	12
NH10	10

IV. KẾT LUẬN

Từ 98 chủng vi khuẩn phân lập được trong nước dưa, nước cà, nước hành muối chua đã chọn ra được 7 chủng có khả năng sinh nhiều axit lactic (hàm lượng axit 1,92-2,18 mg/ml). Trong đó, 3 chủng lên men lactic đồng hình ND5, NC7 và NH10 có khả năng sinh amylase

cao (đường kính vòng thủy phân 18-21 mm) trong môi trường MRS có 2% tinh bột ở 37°C và pH 7.

Hai chủng ND5 và NH10 sinh bacteriocin có khả năng ức chế cả 4 chủng vi khuẩn gây bệnh *E.coli*, *Samonella* sp., *Shigella* sp., *Bacillus cereus* với đường kính vòng vô khuẩn là 20-26 mm, riêng chủng NC7 chỉ ức chế được *Bacillus cereus*. Ba chủng vi khuẩn này ứng dụng được trong sản xuất axit lactic, amylase và bacteriocin phục vụ cho chế biến và bảo quản thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thanh Hiền, Lê Đình Lương, Đoàn Xuân Muộu, Phạm Văn Ty (1978), *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học* tập 3. Nxb KH&KT, Hà Nội.
2. Lương Đức Phẩm (2005), *Vi sinh vật học và an*

toàn vệ sinh thực phẩm, Nxb Nông nghiệp.

3. Lương Đức Phẩm (2009), *Công nghệ sinh học trong bảo quản và chế biến thực phẩm*, Nxb KH&KT, Hà Nội.

4. Eyal AM, Starr JN, Fisher R, Hazen B, Canari R, Witzge DR, Gruber PR and Kolstad JJ (2001), Lactic acid processing, methods, arrangements, and product, U.S Patent, N^o.6320077, USA.

5. Garvie LI, Ed. Sneath A.H.O., Mair S.H, Sharp M.E, Holt GR, Williams and Wilkins Baltimore (1986), *Pediococcus*, In Bergey's manual of Systematic Bacteriology., USA, p: 1043-1080.

6. Klaenhammer TR (1993), *Genetics of bacteriocin produced by lactic acid bacteria*, FEMS Microbiol Rev, 12 p: 38 - 86.

7. James GC, Natalie S (2002), *Microbiology – A Laboratory Manual*, Nineth Edition.

8. Rajiv Vaidya, Pranav Vyas, Chhatpar HS, (2003), *Statistical optimization of medium component for the production of chitinase by Alcaligenes xylosoxydans*, Enzym and Microbial Technology, 33, p: 92 – 96.

ISOLATION AND SELECTION OF AMYLASE AND BACTERIOCIN – PRODUCING LACTIC ACID BACTERIA

Nguyen Thi Minh Hang, Nguyen Minh Thu

SUMMARY

Lactic acid bacteria play important roles in processing and food preservation of Vietnamese fermented food. From 98 lactic acid bacteria isolated from fermented vegetable, 7 strains show the highest lactic acid production. However, there are only 3 strains ND5, NC7 and NH10 determined higher amylase activity on 2% starch containing MRS medium pH 7 at 37°C. These strains were also identified as bacteriocin producing lactic acid bacteria. Two amylase producing lactic bacteria, ND5 and NH10 were found strongly inhibit the pathogenic microorganism as: *E. coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Bacillus cereus* with clear zone from 20-26 mm. But strain NC7 could only inhibit *Bacillus cereus*. Three strains were promising for research of antimicrobial and amylase activity of lactic acid producing bacteria.

Keywords: *amylase, antibacterial activity, bacteriocin, lactic fermentation, lactobacteria, starch*

Người phản biện: TS. Hồ Tuyên

Ngày nhận bài: 22/8/2013

Ngày phản biện: 03/9/2013

Ngày quyết định đăng: 20/9/2013