

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN LACTIC SINH BACTERIOICIN TỪ NƯỚC ĐƯA LÊN MEN TRUYỀN THỐNG NHẪM BẢO QUẢN NGUYÊN LIỆU THỦY SẢN

Nguyễn Văn Duy, Lưu Thị Thủy

Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang

TÓM TẮT

Vi khuẩn lactic từ sữa đã được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm vì có hoạt tính kháng nhiều loại vi sinh vật có hại. Chúng có thể sản sinh không chỉ các acid hữu cơ mà còn sinh ra các bacteriocin kháng khuẩn và các loại peptide kháng nấm. Bacteriocin có bản chất là protein, có khả năng tiêu diệt các vi khuẩn Gram dương và/hoặc Gram âm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân lập được 69 chủng vi khuẩn lactic từ nguồn nước đưa lên men truyền thống. Trong số đó, hai chủng ký hiệu T8 và T13 có khả năng sinh bacteriocin mạnh nhất. Sau khi nuôi hai chủng này, dịch bacteriocin đã được tách chiết và nghiên cứu phổ kháng khuẩn, độ bền với nhiệt, pH và enzyme. Kết quả cho thấy chúng có hoạt tính diệt khuẩn mạnh với cả vi khuẩn Gram dương và vi khuẩn Gram âm. Chủng T8 và T13 tiết ra bacteriocin nhóm I (Lantibiotic) với đặc tính bền nhiệt ở 121°C trong 15 phút, bền trong dải pH 4-10, bền với enzyme proteinase K nhưng bị bất hoạt khi xử lý với enzyme α -chymotrypsin. Kết quả nghiên cứu ứng dụng dịch bacteriocin từ chủng T8 trong bảo quản cá gia truyền cho thấy chất lượng cảm quan, hóa học và vi sinh của cá gia vẫn được duy trì sau 7 ngày bảo quản ở 0-4°C. Những kết quả trên cho thấy tiềm năng sử dụng dịch bacteriocin của hai chủng này như chất bảo quản sinh học cho các sản phẩm thực phẩm và thủy sản.

Từ khóa: bacteriocin, bảo quản thực phẩm, Lantibiotic, vi khuẩn lactic

MỞ ĐẦU

Vi khuẩn lactic luôn được công nhận là an toàn để sử dụng trong quá trình lên men thực phẩm truyền thống (Diop *et al.*, 2007). Khi ứng dụng trong bảo quản thực phẩm, chúng giúp giảm bớt sự phát triển của các chất bảo quản hóa học cũng như cường độ xử lý nhiệt. Do đó làm cho thực phẩm sau bảo quản vẫn giữ được trạng thái tự nhiên và đảm bảo tính chất cảm quan và dinh dưỡng. Khi sử dụng trong bảo quản nguyên liệu thủy sản tươi đánh bắt xa bờ, chúng giúp giảm chi phí và nhu cầu về đá lạnh cũng như duy trì độ tươi thơm đảm bảo giá nguyên liệu ổn định. Ngoài ra, chúng còn có thể thay thế các chất bảo quản thực phẩm hiện tại để đáp ứng nhu cầu tiêu dùng ngày càng tăng về tính an toàn, độ tươi ngon, thực phẩm an toàn, thực phẩm chế biến tối thiểu và gia tăng sản phẩm có tính cảm quan mới lạ như giảm tính acid hoặc giảm nồng độ muối (De Vuyst, Leroy, 2007).

Việc sử dụng những vi sinh vật không gây bệnh và những chất chuyển hóa của chúng để làm tăng thời gian bảo quản thực phẩm là phương pháp bảo quản sinh học đang có nhiều triển vọng và được khuyến khích phát triển ở nhiều nước trên thế giới. Theo hướng này, một số chủng vi khuẩn lactic đã cho thấy chúng có khả năng sản sinh chất kháng sinh

có bản chất protein gọi là bacteriocin với phổ ức chế rộng các vi sinh vật gây bệnh (Cotter *et al.*, 2005). Trong những năm gần đây, người ta đã nghiên cứu sử dụng bacteriocin trong bảo quản thực phẩm và nhận thấy có thể kéo dài thời gian bảo quản, tăng cường bảo vệ thực phẩm trong các điều kiện nhiệt độ bất thường, làm giảm nguy cơ truyền bệnh qua chuỗi thức ăn, giảm thiệt hại kinh tế do hư hỏng thực phẩm, giảm tỷ lệ sử dụng phụ gia trong bảo quản thực phẩm. (Gálvez *et al.*, 2007)

Ở Việt Nam hiện nay đã có một vài nghiên cứu về khả năng sinh bacteriocin của vi khuẩn lactic. Điển hình như nhóm tác giả ở Viện Công nghệ sinh học Hà Nội đã nghiên cứu khả năng sinh bacteriocin của ba chủng vi khuẩn lactic phân lập từ sữa bò tươi và nhận thấy bacteriocin của chúng thể hiện tính bền nhiệt, bền acid nhưng rất nhạy cảm với trypsin (Nguyễn Thị Đà *và cs.*, 2008). Một nghiên cứu khác cho thấy vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* sản sinh bacteriocin có khả năng kháng một số vi khuẩn gây bệnh trong thực phẩm như *E. coli*, *Salmonella* và một số vi khuẩn lactic khác (Lê Thị Hồng Tuyết, Hoàng Quốc Khánh, 2004). Ngoài ra, bacteriocin từ *Lactococcus lactis* đã được thu nhận, cố định trên chất mang cellulose vi khuẩn và bước đầu ứng dụng trong bảo quản thịt tươi sơ chế (Nguyễn Thủy Hương, Trần Thị Tường An, 2008).

Mục tiêu của nghiên cứu này là tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh bacteriocin mạnh từ nước dưa lên men truyền thống, từ đó thu nhận chất này và nghiên cứu phổ kháng khuẩn, độ bền với nhiệt, pH và enzyme, định lượng sử dụng chúng trong bao quản thực phẩm và nguyên liệu thủy sản. Đây là thông báo đầu tiên ở Việt Nam về tính chất của các bacteriocin nhóm I (lantibiotic) từ vi khuẩn lactic.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu dưa muối

Tổng số 10 mẫu nước dưa muối được mua từ các chợ ở thành phố Nha Trang, Khánh Hòa từ tháng 8 đến tháng 12 năm 2010.

Vi sinh vật chủ thí

Các chủng vi khuẩn gây bệnh hoặc gây thối thực phẩm (*Bacillus cereus* B11, *Salmonella typhimurium* Sall, *Vibrio parahaemolyticus* C1) được lấy từ bộ sưu tập giống vi sinh vật của Viện Công nghệ sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nha Trang. Các chủng này được nuôi trên các môi trường tương ứng là TSA, XLD và TCBS ở nhiệt độ 37°C (Trần Linh Thuộc, 2007) để làm chung chỉ thị nhằm tuyển chọn các vi khuẩn lactic sinh bacteriocin.

Phân lập vi khuẩn lactic

Mẫu nước dưa muối được pha loãng tới các nồng độ từ 10^1 đến 10^8 bằng dung dịch NaCl 0,9% vô trùng, sau đó được cấy trang trên môi trường chọn lọc MRS (De Man et al., 1960) và nuôi ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ. Các chủng vi khuẩn lactic được bảo quản trong glycerol 30% ở -80°C. Nhuộm Gram, quan sát đặc điểm hình thái và tiến hành các thử nghiệm hóa sinh được thực hiện theo mô tả của Trần Linh Thuộc (2007).

Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic sinh bacteriocin

Hoạt tính bacteriocin từ các chủng vi khuẩn lactic phân lập được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên thạch (well diffusion assay). Sau 16-24h nuôi trên môi trường MRS ở 37°C, dịch nuôi cấy vi khuẩn lactic được ly tâm với tốc độ 6000

vòng/phút trong 30 phút ở 4°C để loại sinh khối, dịch nổi được điều chỉnh pH đến 7,0 bằng dung dịch NaOH 1N. Các chủng vi sinh vật chủ thí được cấy trang trên đĩa thạch mềm (0,75%) có bổ sung dịch nhuộm màu methylene blue 0,4% và đục lỗ với đường kính 5 mm, nhỏ vào 200 μ l dịch nổi sau ly tâm ở trên và ủ ở nhiệt độ 37°C trong 12-24h. Hoạt tính bacteriocin của mẫu thí nghiệm được xác định theo đường kính vòng kháng khuẩn (D-d, mm) trong đĩa D và d lần lượt là các đường kính của vòng ức chế và lỗ thạch (Detaz et al., 2005).

Xác định độ bền với nhiệt độ, pH và enzyme

Để xác định độ bền nhiệt, dịch bacteriocin được xử lý ở nhiệt độ 60°C, 100°C trong 60 phút và 121°C trong 15 phút. Để xác định độ bền với enzyme, dịch bacteriocin được trộn với proteinase K (Promega) hoặc α -chymotrypsin (Promega) nồng độ cuối cùng đạt 1 mg/ml, ủ ở 50°C trong 3h, sau đó bất hoạt enzym tại 80°C trong 20 phút. Để xác định độ bền pH, dịch nổi được điều chỉnh đến các giá trị pH trong khoảng từ 2-12 bằng dung dịch HCl 1N hoặc NaOH 1N, và ủ trong 20 phút ở nhiệt độ 37°C (Lee et al., 2007). Sau khi xử lý nhiệt, pH hoặc enzyme, các mẫu được trung hòa tồn pH 7 và sau đó xác định hoạt tính còn lại của bacteriocin như mô tả ở trên.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập vi khuẩn lactic từ nước dưa lên men truyền thống

Từ 10 mẫu nước dưa muối được mua từ các chợ tại Nha Trang, Khánh Hòa, chúng tôi đã tiến hành phân lập các chủng vi khuẩn lactic trên môi trường chọn lọc MRS. Sau 24 giờ nuôi cấy, 69 chủng vi khuẩn lac nhỏ, màu trắng sữa, tròn nhẵn, một số có tâm trắng đục ở giữa, đã được lựa chọn và thuần khiết. Khi tiến hành nhuộm Gram và quan sát dưới kính hiển vi, tất cả 69 chủng này đều là vi khuẩn Gram dương, dạng trực khuẩn, cầu khuẩn hoặc cầu trực khuẩn. Khi tiến hành các thử nghiệm hóa sinh cho thấy chúng không sinh bào tử, catalase âm tính, oxydase âm tính và phân giải được CaCO₃. Theo Trần Linh Thuộc (2007) thì 69 chủng vi khuẩn này đều có các đặc điểm của vi khuẩn lactic.

Hoạt tính kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic

Kết quả từ Bảng 1 cho thấy 19 chủng trong số

69 chủng vi khuẩn lactic phân lập được có khả năng ức chế ít nhất 2 trong 3 chủng vi sinh vật chỉ thị với đường kính kháng khuẩn $d \geq 5$ mm. Tất cả 19 chủng này đều kháng được *B. cereus* B1.1 thuộc nhóm vi khuẩn Gram dương và *S. typhimurium* Sal1 thuộc nhóm Gram âm. Trong số đó, năm chủng vi khuẩn lactic T4, T8, T12, T13 và O16 có khả năng kháng cả 3 vi khuẩn chỉ thị (Hình 1). Hơn nữa, những kết quả mới đây của nhóm nghiên cứu chúng tôi còn chỉ

ra rằng dịch chiết tế bào của năm chủng vi khuẩn này có phổ kháng khuẩn rộng đối với các nhóm vi sinh vật gây bệnh hoặc gây thối thực phẩm như *Salmonella*, *Bacillus*, *E. coli*, *Vibrio*, *Staphylococcus aureus* và *Clostridium perfringens* (Nguyễn Văn Duy, 2011). Điều này mở ra tiềm năng ứng dụng của các chủng vi khuẩn này trong việc kéo dài thời gian và nâng cao hiệu quả bảo quản thực phẩm và nguyên liệu thủy sản.

Bảng 1. Hoạt tính kháng vi sinh vật chỉ thị của các chủng vi khuẩn lactic phân lập được

STT	Chủng vi khuẩn lactic	Đường kính vòng kháng khuẩn (D-d, mm)		
		<i>S. typhimurium</i> Sal1	<i>B. cereus</i> B1.1	<i>V. parahaemolyticus</i> C1
1	T4	7.5	11	9
2	T7	7.5	5	
3	T8	14,5	15	8
4	T10	8,5	12	
5	T11	10	6,5	
6	T12	9	10	8
7	T13	14	18,5	6
8	T14	11	6	
9	T15	10,5	9	
10	L1	6		
11	L2	7,5		
12	L3	8,5		
13	L4	8		
14	L5	10	5	
15	L8	9	5,5	
16	O10	6	10,5	
17	O16	7	11	8
18	O13	6	15	
19	O12	8	10,5	

(Chú thích, - đường kính < 5 mm)

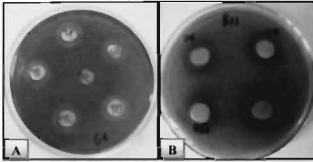
Đặc biệt, hai chủng T8 và T13 thể hiện hoạt tính ức chế cao nhất đối với các chủng vi sinh vật chỉ thị, đường kính vòng kháng khuẩn $d > 10$ mm, trong đó mạnh nhất là với *B. cereus* B1.1 ($d \geq 15$ mm). Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về các vi khuẩn sinh bacteriocin, rằng chúng thể hiện tính kháng rõ rệt với các chủng vi khuẩn có quan hệ chủng loại gần gũi. Chẳng hạn, một bacteriocin có tên gọi sakacin C2 từ vi khuẩn *Lactobacillus sake* C2 được phân lập từ bắp cải lên men truyền thống ở Trung Quốc, đã thể hiện hoạt tính kháng khuẩn rộng, trong đó kháng mạnh nhất với các vi khuẩn Gram dương có quan hệ gần gũi như *Lactobacillus*

delbrueckii, *L. acidophilus*, *Listeria innocua* và *S. aureus*, kháng yếu hơn với các vi khuẩn Gram âm như *E. coli*, *Salmonella typhimurium* và *Shigella flexneri* (Gao et al., 2010).

Ảnh hưởng của enzyme proteinase K và *α*-chymotrypsin

Khả năng kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic có thể do một hay vài cơ chế phối hợp như sinh ra các acid hữu cơ (acid acetic, acid lactic) và các chất kháng sinh có bản chất khác nhau (Cotter et al., 2005). Trong thí nghiệm nói trên, ảnh hưởng của

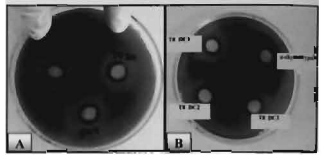
các acid hữu cơ đến hoạt tính kháng khuẩn của T9 chúng vi khuẩn đã được loại bỏ vì dịch nổi sau ly tâm đã được trung hòa về pH 7. Để xác nhận bản chất protein của bacteriocin có mặt trong dịch nổi sau ly tâm, chúng tôi kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn của dịch nổi sau ly tâm từ nấm chủng vi khuẩn lacte T4, T8, T12, T13 và O16 sau khi xử lý với các enzyme proteinase K và α -chymotrypsin



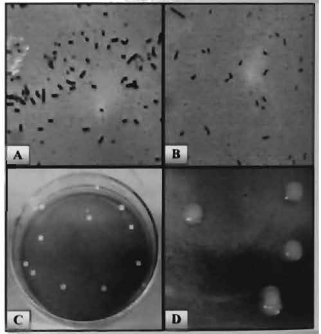
Hình 1. Hoạt tính kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lacte với *V. parahaemolyticus* C1 (A) và *B. cereus* B11 (B)

Kết quả minh họa từ hình 2 cho thấy hoạt độ bacteriocin của dịch nuôi cấy sau ly tâm của cả nấm chủng vẫn được duy trì gần như không đổi sau khi xử lý với proteinase K ở nồng độ cuối cùng 1 mg/ml so với mẫu đối chứng (xử lý bằng nước cất). Điều này cũng tương tự khi dịch nổi sau ly tâm của các chủng T4, T12 và O16 được xử lý với α -chymotrypsin. Tuy nhiên, khi dịch nổi sau ly tâm của hai chủng T8 và T13 được xử lý với α -chymotrypsin ở nồng độ cuối cùng 1 mg/ml thì hoạt độ bacteriocin của chúng rất thấp, không thấy xuất hiện vòng kháng khuẩn như mẫu đối chứng. Điều này cho thấy, trong nấm chủng vi khuẩn lacte kiểm tra thì chỉ có hai chủng T8 và T13 có hoạt tính bacteriocin. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn 2 chủng này để tiến hành các bước thí nghiệm tiếp theo. Kết quả nghiên cứu các đặc điểm hình thái của hai chủng này được minh họa trong hình 3.

Bacteriocin từ các chủng T8 và T13 bền với proteinase K nhưng bị bất hoạt bởi α -chymotrypsin nên có thể thuộc vào nhóm lantibiotic và mang một số acid amin bất thường như lanthionine (Lan), α -methylanthionine (MeLan), dehydroalanine, và dehydrobutyrine (Chen, Hoover, 2003). Để kiểm tra giả thuyết này, chúng tôi tiếp tục xác định độ bền nhiệt và pH của chủng vi các lantibiotic thường bền với hai yếu tố này.



Hình 2. Vòng kháng khuẩn của dịch bacteriocin từ chủng T8 sau xử lý với proteinase K (A) và với α -chymotrypsin (B) Mẫu đối chứng 1, không xử lý nhiệt; T8 BH: mẫu đối chứng 2, xử lý ở 50°C trong 3h, proK mẫu xử lý với 1mg/ml proteinase K và sau đó xử lý ở 50°C trong 3h (B) T8 DC1 mẫu đối chứng 1, không xử lý nhiệt, T8 DC2, T8 DC3 mẫu đối chứng 2, xử lý ở 50°C trong 3h; α -chymotrypsin mẫu xử lý với 1mg/ml α -chymotrypsin và sau đó xử lý ở 50°C trong 3h. Vi sinh vật chỉ thị *Bacillus cereus* B11



Hình 3. Hình ảnh tế bào nhuộm Gram và khuẩn lạc của chủng vi khuẩn lacte T8 (A và C) và T13 (B và D)

Độ bền nhiệt và pH của dịch bacteriocin thô

Kết quả kiểm tra độ bền nhiệt cho thấy dịch bacteriocin của hai chủng vi khuẩn lacte T8 và T13 có độ bền nhiệt cao. Sau khi xử lý nhiệt tại 60°C trong 30 phút, 100°C trong 30 phút hay thậm chí ở điều kiện khử trùng tại 121°C trong 15 phút, hoạt tính còn lại của chúng vẫn duy trì lần lượt là 92-94%, 61-63% và 86-88%. Kết quả này là tương tự với một số nghiên

cứu khác về nhóm bacteriocin bền nhiệt, có trọng lượng phân tử thấp. Một nghiên cứu về các chủng *Lactobacillus* phân lập từ phế liệu rau quả tại các chợ

địa phương ở Ấn Độ đã cho thấy chúng có thể sinh tổng hợp các loại bacteriocin bền nhiệt ở 100°C hoặc 121°C trong 10 phút (Lade *et al.*, 2006)

Bảng 2. Hoạt tính kháng *Bacillus cereus* B1 1 của dịch bacteriocin từ các chủng T8 và T13 sau khi xử lý nhiệt và pH.

Chủng vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn (D-d, mm)	Đôi chủng									
		Độ bền nhiệt			Độ bền pH						
		60°C, 30'	100°C, 30'	121°C, 15'	2	4	6	7	8	10	12
T8	16	15	10	14	5	13,5	14	15,5	15	12	0
T13	18	16,5	11	15,5	6	14	15	17,5	14	12	0

Tương tự, kết quả kiểm tra độ bền pH từ Bảng 2 chỉ ra rằng dịch bacteriocin của các chủng T8 và T13 bền trong khoảng pH 4-10, dai pH bền này khá rộng so với các nghiên cứu trước đây. Điều này có ý nghĩa thực tiễn rất lớn bởi phần lớn các bacteriocin từ vi khuẩn lactic có khoảng hoạt động pH rất hẹp, và chịu yếu hoạt động tốt ở pH acid do sản sinh ra acid lactic và acid acetic trong quá trình lên men. Chẳng hạn, tại pH kiềm, plantaricin C, một peptide có khối lượng 3,5 kDa có nguồn gốc từ *Lactobacillus plantarum* LL441, bị bất hoạt nhưng phục hồi hoạt tính trở lại tại pH acid (González *et al.*, 1994).

Hơn nữa, plantaricin C còn là một bacteriocin rất bền nhiệt (bền trong điều kiện xử lý nhiệt 100°C trong 60 phút, 121°C trong 15 phút), bền với các dung môi hữu cơ (methanol, chloroform, acetonitrile) và các enzyme pepsin, proteinase K, α -amylase và lipase, nhưng bị bất hoạt bởi pronase, trypsin, và α -chymotrypsin (1 mg/ml) (Gonzalez *et al.*, 1994).

Một ví dụ quan trọng khác là nisin, một bacteriocin đầu tiên được thương mại hóa và đang trở thành chất phụ gia trong công nghiệp thực phẩm tại hơn 50 nước trên toàn thế giới (Hata *et al.*, 2010). Đây là một polypeptide thuộc lớp Lantibiotic, trong mạch có 34 acid amin được tạo ra nhờ quá trình lên men của *Lactococcus lactis* (Kojic *et al.*, 1991). Tuy nhiên, độ bền của nisin chỉ thể hiện tốt trong điều kiện acid. Khi tăng pH từ 3 tới 7, nisin trở nên không bền với ảnh hưởng của nhiệt độ, giảm một nửa hoạt tính khi xử lý ở nhiệt độ 121°C trong 15 phút.

Dịch bacteriocin từ các chủng T8 và T13 có nhiều đặc điểm gần giống nhất với sakacin C2 từ chủng *Lactobacillus sake* C2 phân lập từ bắp cải lên men truyền thống ở Trung Quốc. Chúng đều thể hiện phổ kháng khuẩn rộng, bền nhiệt ở 121°C trong 15 phút và

bền trong dai pH rộng (Gao *et al.*, 2010). Tuy nhiên, trong khi dịch bacteriocin từ các chủng T8 và T13 bền trong dai pH từ 4-10 thì sakacin C2 bền ở pH 3-8. Khác biệt lớn nhất là dịch bacteriocin từ các chủng T8 và T13 bền với proteinase K nhưng bị bất hoạt bởi α -chymotrypsin, trong khi đó sakacin C2 bị bất hoạt với tất cả 3 enzyme protease là proteinase K, pepsin và trypsin. Vì vậy, bacteriocin từ hai chủng T8 và T13 có thể thuộc lớp I (Lantibiotic) trong khi sakacin C2 được xếp vào lớp II.

Với kết quả khảo sát trên, có thể các chủng T8 và T13 đã sản sinh ra một loại bacteriocin mới thuộc nhóm lantibiotic có phổ kháng khuẩn rộng, bền nhiệt, bền pH, nên cần được định danh vi khuẩn đến loài, tinh chế và nghiên cứu sâu hơn về các đặc điểm cấu trúc và độ bền của bacteriocin từ hai chủng này. Đồng thời, chúng có triển vọng ứng dụng cao, có thể làm chất phụ gia bổ sung vào thực phẩm không có tính acid như thực phẩm đông lạnh hay bổ sung trong giai đoạn làm chín thực phẩm.

Khi thử nghiệm sử dụng dịch bacteriocin từ chủng T8 trong bảo quản cá giò nguyên liệu tươi cho thấy trong điều kiện bảo quản lạnh ở 4°C, chất lượng cảm quan, hóa học và vi sinh của cá giò vẫn được duy trì sau 7 ngày bảo quản bằng dịch bacteriocin (Nguyễn Văn Duy, Phạm Ngọc Minh Quỳnh, *kết quả chưa công bố*). Điểm cam quan của mẫu cá giò có những dịch bacteriocin cao hơn 37% so với mẫu đối chứng (mẫu không có dịch bacteriocin) trong điều kiện bảo quản lạnh. Chất lượng hóa học của cá giò được đánh giá qua hai thông số, hàm lượng protein tổng số và hàm lượng NH₃. Hàm lượng protein tương đối của mẫu cá thí nghiệm lớn hơn mẫu đối chứng 27,4% nhưng hàm lượng NH₃ tương đối thấp hơn 18,9%. Điều này có thể do bacteriocin ức chế một phần vi khuẩn gây thối phân hủy protein thành peptide và amino acid nên lượng NH₃ tạo

thành ít hơn. Cuối cùng, sau khi lây nhiễm với vi khuẩn *Salmonella* và *Vibrio cholerae*, ở các mẫu cá giò có nhúng dịch bacteriocin sự gia tăng mật độ tế bào của 2 loại vi khuẩn này giảm trong ứng dụng và 3 lần so với mẫu đối chứng. Những kết quả thử nghiệm ban đầu nói trên cho thấy khả năng ứng dụng rất tốt của dịch bacteriocin từ vi khuẩn lactic T8 trong bao quan nguyên liệu thủy sản nội chung và cá giò nơi riêng.

KẾT LUẬN

Chúng tôi đã phân lập được 69 chủng vi khuẩn lactic từ nguồn nước đưa lên men truyền thống ở Việt Nam. Trong số đó, hai chủng vi khuẩn lactic ký hiệu T8 và T13 có khả năng sinh tổng hợp bacteriocin với hoạt tính kháng mạnh đối với các vi khuẩn gây bệnh hoặc gây thối thực phẩm như *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* và *Salmonella typhimurium*. Các chủng T8 và T13 có khuẩn lạc nhỏ, tròn, màu trắng sữa, tế bào hình que, thuộc vi khuẩn Gram dương. Chúng sinh ra bacteriocin thuộc nhóm I (Lantibiotic) với đặc tính bền nhiệt ở 121°C trong 15 phút, bền pH 4-10 và bền với proteinase K nhưng bị bất hoạt bởi a-chymotrypsin. Dịch bacteriocin từ chủng T8 được đầu được thử nghiệm bao quan cá giò tươi cho thấy chất lượng cảm quan, hóa học và vi sinh của cá giò vẫn được duy trì sau 7 ngày bao quan ở 0-4°C. Những tính chất này chỉ ra triển vọng ứng dụng rất lớn của chúng trong bao quan thực phẩm và nguyên liệu thủy sản, góp phần giảm thiệt hại kinh tế do hư hỏng thực phẩm, đảm bảo chất lượng và an toàn thực phẩm.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo, mã số B2010-13-54

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Chen H, Hoover DG (2003) Bacteriocins and their food applications. *Compr Rev Food Sci F* 2: 82-100

Cotter PD, Hill C, Ross RP (2005) Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol* 3(10): 777-88.

De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME (1960) A medium for the cultivation of lactobacilli. *J Appl Bacteriol* 23: 130-135.

De Vuyst L, Leroy F (2007) Bacteriocins from lactic acid

bacteria: production, purification, and food applications. *J Mol Microbiol Biotechnol* 13(4): 194-9.

Deraz SI, Karlsson FN, Heddström M, Andersson MM, Mattiasson B (2005) Purification and characterization of acidacin D20079, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. *J Biotechnol* 117(4): 343-54

Diop MB, Dauphin RD, Tine E, Ngom A, Destain J, Thonart P (2007) Bacteriocin producers from traditional food products. *Biotechnol Agron Soc Environ* 11(4): 275-281.

Galvez A, Abriouel H, López RL, Ben Omar N (2007) Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol* 120(1-2): 51-70

Gao Y, Jia S, Gao Q, Fan Z (2010) A novel bacteriocin with a broad inhibitory spectrum produced by *Lactobacillus sake* C2 isolated from traditional Chinese fermented cabbage. *Food Control* 21: 76-81

Gonzalez B, Arca P, Mayo B, Suárez JE (1994) Detection, purification, and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin. *Appl Environ Microbiol* 32: 2158-2163.

Hata T, Tanaka R, Ohmomo S (2010) Isolation and characterization of plantaricin ASM1: A new bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* A-1. *Int J Food Microbiol* 137: 94-99

Kojic M, Stivcevic J, Banina A, Topisirovic L (1991) Bacteriocin-producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. diacetylactis NS0. *Appl Environ Microbiol* 57: 1835-1837.

Lade HS, Chitanand MP, Gyananath G, Kadam TA (2006) Studies on some properties of bacteriocins produced by *Lactobacillus* species isolated from agro-based waste. *Int J Microbiol* 2(1)

Lê Thị Hồng Tuyết, Hoàng Quốc Khánh (2004) Một số đặc tính của bacteriocin sản xuất bởi vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus*. Báo cáo Hội nghị khoa học Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh

Lee KH, Park JY, Jeong SJ, Kwon GH, Lee HJ, Chang HC, Chung DK, Lee JH, Kim JH (2007) Characterization of paraplantaricin C7, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus paraplantarum* C7 isolated from kimchi. *J Microbiol Biotechnol* 17(2): 287-96

Nguyễn Thị Đà, Hoa Thị Minh Tú, Lê Thanh Bình (2008) Một số tính chất của bacteriocin được tổng hợp bởi vi khuẩn lactic phân lập từ sữa bò tươi. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 46(6): 33-41.

Nguyễn Thúy Hương, Trần Thị Thuong An (2008) Thu nhận bacteriocin bằng phương pháp lên men bởi tế bào *Lactococcus lactis* cố định trên chất mang cellulose vi