

ĐÁNH GIÁ QUÁ TRÌNH HOẠT HÓA GIỐNG SẢN XUẤT QUY MÔ CÔNG NGHIỆP CỦA BA CHỦNG VI KHUẨN LACTIC

Phạm Thị Trang¹, Nguyễn Quang Tính¹, Nguyễn Thu Quyên¹, Nguyễn Thị Bích Đào¹, Phạm Lê Anh Tuấn²
và Phạm Văn Tuấn³

¹Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên; ²Trường Đại học Y Hà Nội;
³Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Lào Cai

Tác giả liên hệ: Phạm Thị Trang, Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.
Tel: 0948 429 425. Email: phamthitrang@tuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá quá trình hoạt hóa giống của 03 chủng vi khuẩn *Lactic* ở quy mô công nghiệp để sản xuất thành chế phẩm sinh học có chứa vi khuẩn *Lactic* có tính ứng dụng cao trong chăn nuôi nhằm góp phần hạn chế tình trạng kháng kháng sinh ở động vật. Quá trình hoạt hóa giống được đánh giá bằng thí nghiệm khoanh giấy khuếch tán, khả năng sinh acid lactic và hoạt độ bacteriocin. Qua nghiên cứu, chúng tôi đã đánh giá được quá trình hoạt hóa 3 chủng vi khuẩn *Lactic*. Cụ thể ở cả 3 chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* UL485; *Bifidobacterium animalis* NG52 và *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 được khảo sát, đều có khả năng ức chế vi khuẩn tốt trên thí nghiệm khoanh giấy và hàm lượng acid lactic đạt >13g/lít và hoạt độ bacteriocin >1.000AU/ml, chứng tỏ chủng giống đã được hoạt hóa tốt và có thể sử dụng cho các quy trình tiếp theo.

Từ khóa: Vi khuẩn, *Lactic*, *Lactobacillus plantarum* UL485, *Bifidobacterium animalis* NG52, *Pediococcus pentosaceus*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, thức ăn chăn nuôi chủ yếu sử dụng kháng sinh bổ sung nhằm giúp vật nuôi phòng bệnh và tăng trưởng. Các chất kháng sinh bổ sung vào thức ăn chăn nuôi đã được sử dụng từ những năm 1940 trong khẩu phần ăn của lợn nhằm tăng khả năng sinh trưởng, tăng hiệu quả sử dụng thức ăn và phòng bệnh cho vật nuôi. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra nhiều tác hại của việc bổ sung kháng sinh trong chăn nuôi tới sức khỏe con người như: Tồn dư kháng sinh trong thịt gây hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn làm tăng chi phí điều trị và ảnh hưởng tính mạng, gây dị ứng và ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị bệnh cho người tiêu dùng...

Tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu điều tra và kết quả cho thấy tình hình sử dụng kháng sinh trong thức ăn trong chăn nuôi vẫn rất phổ biến và tồn dư kháng sinh trong sản phẩm chăn nuôi. Báo cáo của Cục thú y (2016), trong số các cơ sở khảo sát có 63% cơ sở tuân thủ liều lượng và liệu trình sử dụng kháng sinh. Có 86% số cơ sở biết về quy định ngừng sử dụng kháng sinh trước khi xuất chuồng và 83% cơ sở đã ngừng sử dụng kháng sinh điều trị bệnh theo quy định. Tuy nhiên đó là việc sử dụng kháng sinh trong điều trị, còn việc sử dụng thức ăn chứa kháng sinh thì có đến 50% số cơ sở vẫn sử dụng cho đến khi xuất chuồng.

Theo một nghiên cứu của Viện Chăn nuôi quốc tế và Học viện Nông nghiệp Việt Nam, có khoảng 90% người tiêu dùng được phỏng vấn lo lắng về an toàn thực phẩm khi tiêu dùng thịt lợn (Phạm Văn Hùng và cs., 2017). Trong đó, phần lớn người tiêu dùng lo sợ dùng phải thịt lợn bệnh, lợn chết và thịt tồn dư thuốc, hóa chất độc hại với sức khỏe con người. Để thay thế kháng sinh trong thức ăn chăn nuôi hiệu quả, an toàn và bền vững đang được các nước chăn nuôi phát triển thực hiện đó là sử dụng probiotic. Như vậy, sử dụng chế phẩm sinh học bổ sung vào thức ăn chăn nuôi sẽ là giải pháp góp phần giải quyết được nhiều vấn đề bức thiết

của ngành chăn nuôi như giảm chi phí chăn nuôi (thức ăn, thuốc thú y); giảm rủi ro (giảm tỷ lệ chết); nâng cao chất lượng sản phẩm động vật; loại bỏ tồn dư kháng sinh trong sản phẩm (thịt, trứng, sữa); tăng hiệu quả kinh tế cho người chăn nuôi, chăn nuôi an toàn, bền vững đồng thời giảm thiểu ô nhiễm môi trường chăn nuôi. Chính vì vậy, việc nghiên cứu sản xuất các chế phẩm thay thế kháng sinh trong chăn nuôi tại Việt Nam cũng phù hợp với xu thế chăn nuôi hiện nay, góp phần tạo sản phẩm sạch là hết sức ý nghĩa.

Các vi khuẩn *Lactic* được xếp chung vào họ *Lactobacteriaceae*, là những trực khuẩn, cầu khuẩn Gram dương, không tạo thành bào tử, hầu hết không di động, hô hấp tùy tiện, thu nhận năng lượng nhờ phân giải hydrat cacbon và tiết ra acid lactic. Vi khuẩn *Lactic* là vi sinh vật kỵ khí không bắt buộc. Quá trình lên men xảy ra tốt nhất trong môi trường axit pH từ 4,5 - 6,8. Nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men từ 10 - 50°C. Tuy nhiên, mỗi loài có khoảng nhiệt độ thích hợp khác nhau, nếu nhiệt độ lớn hơn 80°C vi khuẩn *Lactic* bị tiêu diệt hoàn toàn, vì vậy, để sản xuất thức ăn chăn nuôi có bổ sung chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn *Lactic* cần lưu ý ngưỡng nhiệt độ công đoạn trộn chế phẩm và tạo viên. Các chế phẩm chứa vi khuẩn *Lactic* đều cho thấy hiệu quả trong chữa trị những rối loạn và viêm nhiễm bao gồm: viêm ruột kết, đầy hơi, ung bướu, làm hạ cholesterol trong máu, đau đầu, viêm âm đạo không điển hình và cải thiện được tình trạng không sử dụng được lactose. Van Hoang V. và cs. (2018) đã nghiên cứu biểu hiện gen mã hóa các tế bào tái tổ hợp các chất gây dị ứng trong vi khuẩn *Lactic*. Đồng Thị Hoàng Anh và cs. (2018), Uyen Nguyen Quynh và cs. (2018) đã nghiên cứu một số các đặc điểm hoạt hóa, đặc tính sinh bacteriocin của vi khuẩn *Lactic*. Tuy nhiên, các nghiên cứu này mới ở quy mô phòng thí nghiệm, chưa có nghiên cứu ở quy mô công nghiệp. Chính vì vậy, để ứng dụng rộng rãi hơn trong thực tiễn, việc nghiên cứu các đặc tính của vi khuẩn *Lactic* và hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm sinh học từ các chủng vi khuẩn *Lactic* là hết sức cần thiết.

Để nâng cao số lượng cũng như chất lượng sản phẩm chăn nuôi phục vụ cho nhu cầu tiêu dùng trong nước cũng như xuất khẩu, việc nghiên cứu sản xuất các chế phẩm men vi sinh nói chung và chế phẩm từ vi khuẩn *Lactic* nói riêng, an toàn sinh học và áp dụng vào thực tiễn sản xuất là điều hết sức cần thiết. Nhằm có cơ sở cho việc sản xuất chế phẩm từ vi khuẩn *Lactic*, chúng tôi đã tiến hành: **“Đánh giá quá trình hoạt hóa giống sản xuất của 03 chủng vi khuẩn *Lactic* ở quy mô công nghiệp”**.

Mục tiêu nghiên cứu: Đánh giá quá trình hoạt hóa giống sản xuất của 03 chủng vi khuẩn *Lactic* ở quy mô công nghiệp để sản xuất thành công chế phẩm sinh học có chứa vi khuẩn *Lactic* có tính ứng dụng cao trong chăn nuôi nhằm góp phần hạn chế tình trạng kháng kháng sinh ở động vật.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Chủng vi khuẩn lactic *Bifidobacterium animalis* NG52 và *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 và *Lactobacillus plantarum* UL485 được nhận từ bộ sưu tập giống của Viện Vi sinh vật và công nghệ sinh học – Đại học quốc gia Hà Nội cung cấp.

Các hóa chất, môi trường theo Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 7906:2008ISO 15214:1998:

Hóa chất: cao thịt, pepton, cao nấm men, glucoza, CH₃COONa, MgSO₄.7H₂O, Phenolphtalein (Trung Quốc, Đức, Sigma).

Môi trường MRSA (g/l): Glucoza-20,2; K₂HPO₄-2,0; CH₃COONa-5,0, Cao thịt-10,0; Pepton-10,0g, MgSO₄.7H₂O-0,58g; Cao nấm men-5,0g, MnSO₄.4H₂O-0,28g; Tween 80-1ml, Agar-15g, Nước cất vừa đủ 1lít, pH 6, khử trùng 121°C/20 phút.

Môi trường MRS: Peptone 10g Cao thịt 5g Cao nấm men 5g; Glucose 20g; Tween 80 1m;l Diamonium hydrogen citrate 2g; Sodium acetate 5g; MgSO₄.7H₂O 0,2g; MnSO₄.H₂O 38mg; K₂HPO₄ 2g; Nước cất đủ 1000ml pH = 6,5 và Một số môi trường cơ bản của vi khuẩn Lactic...

Dung dịch muối đệm phosphate (phosphate buffer saline - PBS): KH₂PO₄ 4,5 g K₂HPO₄ 11,6 g NaCl 8 g Nước cất đủ 1000ml

MRS cải tiến (bao gồm cao thịt bò (10g/l), cao nấm men (5g/l), trypton (10g/l), sucrose (20g/l), ammonium citrate (2g/l), MgSO₄ (0.2g/l), MnSO₄ (0.05g/l), Tween 80 (1ml/l)) pH môi trường là 6,0.

Dụng cụ và thiết bị: gồm các dụng cụ và thiết bị cơ bản trong phòng thí nghiệm vi sinh.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 6 đến tháng 12 năm 2022.

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Chăn nuôi Thú y, trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

Nội dung nghiên cứu

Đánh giá quá trình hoạt hóa giống của chủng *Bifidobacterium animalis* NG52.

Đánh giá quá trình hoạt hóa giống của chủng *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9.

Đánh giá quá trình hoạt hóa giống của chủng *Lactobacillus plantarum* UL485.

Phương pháp nghiên cứu

Vi khuẩn được hoạt hóa trong dung dịch MRS (Peptone 10g Cao thịt 5g Cao nấm men 5g; Glucose 20g; Tween 80 1m;l Diamonium hydrogen citrate 2g; Sodium acetate 5g; MgSO₄.7H₂O 0,2g; MnSO₄.H₂O 38mg; K₂HPO₄ 2g; Nước cất đủ 1.000ml pH = 6,5) trong 48 giờ nuôi ở 30°C, lấy dịch nuôi vi khuẩn ly tâm và thử nghiệm. Quá trình hoạt hóa giống được đánh giá bằng thí nghiệm khoanh giấy khuếch tán, khả năng sinh acid lactic và hoạt độ bacteriocin.

Các chỉ tiêu nghiên cứu

Khả năng hoạt hóa và sinh acid lactic của vi khuẩn sau quá trình hoạt hóa.

Hoạt độ bacteriocin của vi khuẩn sau quá trình hoạt hóa.

Xác định khả năng hoạt hóa giống bằng thí nghiệm khoanh giấy khuếch tán

Phương pháp này dựa trên khả năng đối kháng của vi khuẩn thử nghiệm (*Lactic*) và vi khuẩn chỉ thị (*E. coli*).

Mẫu thí nghiệm chứa vi khuẩn *Lactic* được đồng hóa và pha loãng ở nồng độ 10⁻². 1 ml dịch pha loãng được cho vào đĩa petri vô trùng và trộn với 9 ml MRS agar (đã được ổn định ở 43°C). Sau khi lớp môi trường thứ nhất đông, lớp môi trường MRS agar thứ hai được đổ lên

cho đến khi kín bề mặt (tương ứng 2 ml). Dịch khuẩn *E. Coli* đã đồng hóa được nhỏ lên 1 khoanh giấy nhỏ đặt tại chính giữa đĩa petri. Khả năng phát triển của vi khuẩn được đo bằng kích thước đường tròn với tâm là khoanh giấy.

Xác định khả năng sinh acid lactic

Khả năng sinh acid của các chủng vi khuẩn Lactic được xác định bằng phương pháp Therner. Lấy 10 ml dịch nuôi cấy đã ly 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 0,1 M đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 30 giây thì dừng lại. Ghi lại thể tích NaOH đã dùng để chuẩn độ. Tính độ acid theo công thức Therner.

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

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

Phương pháp xác định hoạt độ bacteriocin (AU/ml)

Dịch nuôi cấy vi khuẩn được pha loãng ở nồng độ 10^{-2} và nhỏ trên đĩa môi trường MRS đã chứa vi khuẩn chỉ thị. Sau 24 – 48 giờ xác định học độ bacteriocin. Hoạt độ của bacteriocin được thể hiện thông qua nhiều đơn vị khác nhau: AU/ml (arbitrary unit/activity unit). Hoạt độ bacteriocin được thể hiện bằng AU/ml (activity unit) là nghịch đảo của nồng độ pha loãng lớn nhất trong dãy pha loãng liên tục 1/2 mà tại đó vẫn ức chế chủng kiểm định. AU/ml được tính bằng công thức:

$$\text{AU/ml} = 1/V \times 2n \times 1000$$

Trong đó: V là lượng thể tích dịch pha loãng hút vào mỗi giếng để thử hoạt tính (μl);

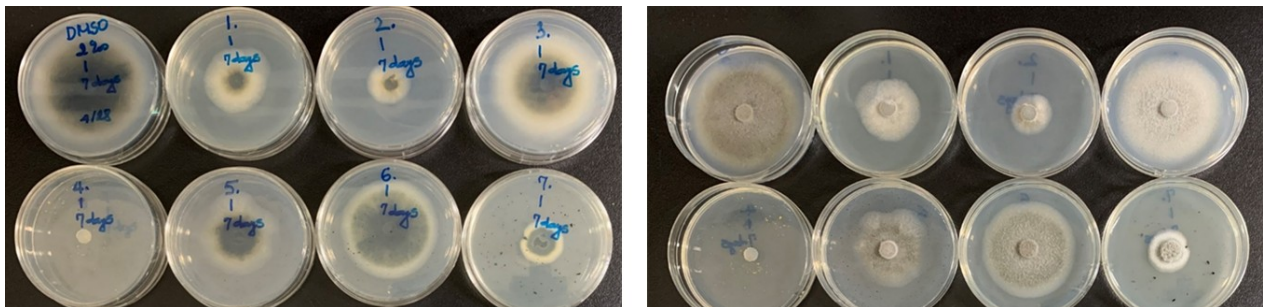
2n: là độ pha loãng thứ n mà có thể hiện hoạt tính bacteriocin.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đánh giá quá trình hoạt hóa giống của chủng *Bifidobacterium animalis* NG52

Đánh giá quá trình hoạt hóa ở quy mô 200 lít/ mẻ

Chúng tôi đã sử dụng thí nghiệm khoanh giấy khuếch tán để đánh giá liệu quá trình hoạt hóa giống có thành công hay không. Quá trình hoạt hóa có hiệu quả nếu hàm lượng acid lactic đạt $> 13 \text{ g/lit}$ và hoạt độ bacteriocin $> 1.000 \text{ AU/ml}$.



Hình 1. Mặt trước (Trái) và mặt sau (phải) của thí nghiệm khuếch tán trên đĩa thạch của chủng *Bifidobacterium animalis* NG52 sau hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ

Kết quả cho thấy: chủng giống sau khi hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ có khả năng ức chế vi khuẩn tốt.

Bảng 1. Hàm lượng acid lactic và hoạt độ bacteriocin của chủng *Bifidobacterium animalis* NG52 sau hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ theo thời gian

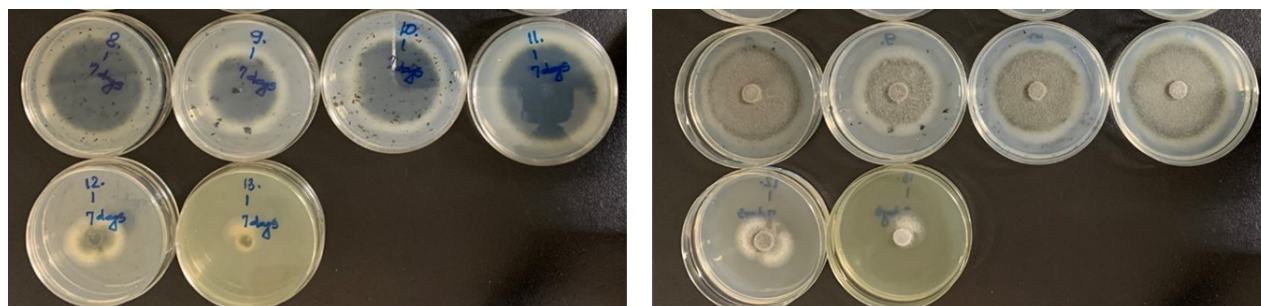
Thời gian	Hàm lượng acid lactic (g/lít)	Hoạt độ Bacteriocin (AU/ml)
24h	15,19	1.312,8
48h	14,51	1.309,1
72h	14,36	1.265,4
96h	14,23	1.141,2

Qua Hình 1 và Bảng 1 cho thấy: Sau quá trình hoạt hóa 24h ở quy mô 200 lít/mẻ, chủng *Bifidobacterium animalis* NG52 có hàm lượng acid lactic đạt 15,19g/lít và hoạt độ bacteriocin 1.312,8 AU/ml, và giảm dần theo thời gian, tuy nhiên đến 96h, hàm lượng acid lactic vẫn đạt 14,23 g/lít, hoạt độ bacteriocin vẫn đạt 1.142,2 AU/ml. Điều đó chứng tỏ chủng giống đã được hoạt hóa tốt và có thể sử dụng cho các quy trình tiếp theo.

Theo Đồng Thị Hoàng Anh và cs. (2018), điều kiện nuôi cấy tối ưu của chủng vi khuẩn *Latic* để thu được hoạt tính bacteriocin lớn nhất là ở 30°C trong 24 giờ, với điều kiện này nhóm tác giả đã thu được sản phẩm với hoạt độ bacteriocin đạt 1.600 AU/ml. Như vậy, theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi, ở quy mô công nghiệp sau 24 giờ hoạt độ bacteriocin đạt 1.312,8 AU/ml, thấp hơn so với nghiên cứu ở điều kiện phòng thí nghiệm, nhưng vẫn đảm bảo ở mức mong muốn > 1.000 AU/ml.

Đánh giá quá trình hoạt hóa ở quy mô 500 lít/ mẻ

Trước tiên, chúng tôi sử dụng thí nghiệm khoan giấy khuếch tán để đánh giá liệu quá trình hoạt hóa giống có thành công hay không.



Hình 2. Mặt trước (Trái) và mặt sau (phải) của thí nghiệm khuếch tán trên đĩa thạch của chủng *Bifidobacterium animalis* NG52 sau hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ

Kết quả cho thấy: chủng giống sau khi hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ có khả năng ức chế vi khuẩn tốt.

Bảng 2. Hàm lượng acid lactic và hoạt độ bacteriocin của chủng *Bifidobacterium animalis* NG52 sau hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ theo thời gian

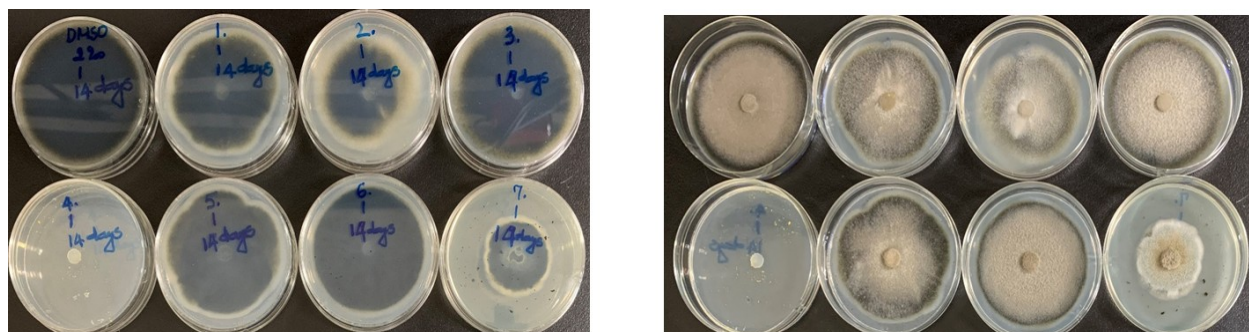
Thời gian	Hàm lượng acid lactic (g/lít)	Hoạt độ Bacteriocin (AU/ml)
24h	15,03	1.346,0
48h	14,67	1.311,9
72h	14,33	1.253,6
96h	13,93	1.145,4

Qua Hình 2 và Bảng 2 cho thấy: Sau quá trình hoạt hóa 24h ở quy mô 500 lít/mẻ, chủng *Bifidobacterium animalis* NG52 có hàm lượng acid lactic đạt 15,03 g/lít và hoạt độ bacteriocin 1.346,0 AU/ml, và giảm dần theo thời gian, đến 96h, hàm lượng acid lactic vẫn đạt 13,93 g/lít, hoạt độ bacteriocin vẫn đạt 1.145,4 AU/ml. Như vậy, chủng giống đã được hoạt hóa tốt và có thể sử dụng cho các quy trình tiếp theo.

Đánh giá quá trình hoạt hóa giống của chủng *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9

Đánh giá quá trình hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ

Tương tự như trên, chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm khoan giấy khuếch tán để đánh giá hiệu quả quá trình hoạt hóa giống có thành công hay không.



Hình 3. Mặt trước (Trái) và mặt sau (phải) của thí nghiệm khuếch tán trên đĩa thạch của chủng *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 sau hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ

Kết quả cho thấy, chủng giống sau khi hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ có khả năng ức chế vi khuẩn tốt.

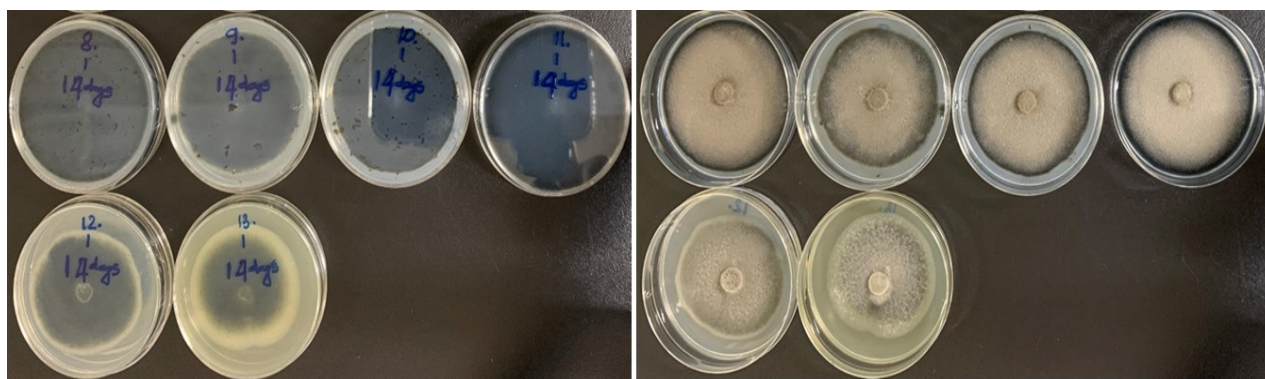
Bảng 3. Hàm lượng acid lactic và hoạt độ bacteriocin của chủng *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 sau hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ theo thời gian

Thời gian	Hàm lượng acid lactic (g/lít)	Hoạt độ Bacteriocin (AU/ml)
24h	16,20	1.433,2
48h	15,03	1.419,1
72h	14,88	1.239,1
96h	13,12	1.133,6

Qua Hình 3 và Bảng 3 cho thấy: Sau quá trình hoạt hóa 24h ở quy mô 200 lít/mẻ, chủng *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 có hàm lượng acid lactic đạt 16,20 g/lít và hoạt độ bacteriocin 1.433,2 AU/ml, và giảm dần theo thời gian, sau 96h, hàm lượng acid lactic vẫn đạt 13,12 g/lít, hoạt độ bacteriocin vẫn đạt 1.133,6 AU/ml. Như vậy, hàm lượng acid lactic đạt >13g/lít và hoạt độ bacteriocin >1.000AU/ml, chứng tỏ chủng giống đã được hoạt hóa tốt và có thể sử dụng cho các quy trình tiếp theo.

Đánh giá quá trình hoạt hóa ở quy mô 500 lít/ mẻ

Trước tiên, chúng tôi sử dụng thí nghiệm khoan giấy khuếch tán để đánh giá liệu quá trình hoạt hóa giống có thành công hay không.



Hình 4. Mặt trước (Trái) và mặt sau (phải) của thí nghiệm khuếch tán trên đĩa thạch của chủng *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 sau hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ

Kết quả cho thấy chủng giống sau khi hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ có khả năng ức chế vi khuẩn tốt.

Bảng 4. Hàm lượng acid lactic và hoạt độ bacteriocin của chủng *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 sau hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ theo thời gian

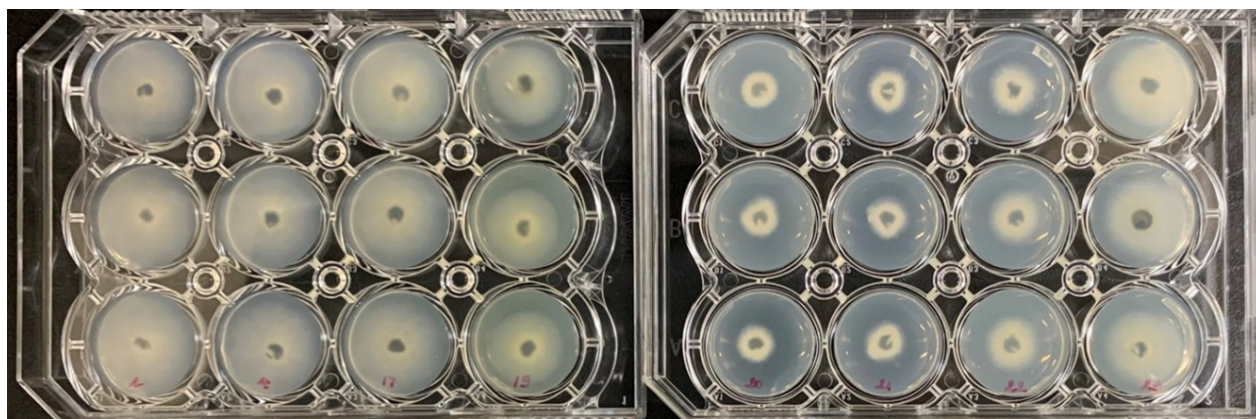
Thời gian	Hàm lượng acid lactic (g/lít)	Hoạt độ Bacteriocin (AU/ml)
24h	15,93	1.498,0
48h	15,11	1.403,4
72h	14,32	1.319,8
96h	13,65	1.143,7

Qua Hình 4 và Bảng 4 cho thấy: Sau quá trình hoạt hóa 24h ở quy mô 500 lít/mẻ, chủng *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 có hàm lượng acid lactic đạt 15,93 g/lít và hoạt độ bacteriocin 1.498,0 AU/ml, và giảm dần theo thời gian, đến 96h, hàm lượng acid lactic vẫn đạt 13,65 g/lít, hoạt độ bacteriocin vẫn đạt 1.143,7 AU/ml. Như vậy, chủng giống đã được hoạt hóa tốt và có thể sử dụng cho các quy trình tiếp theo.

Đánh giá quá trình hoạt hóa giống của chủng *Lactobacillus plantarum* UL485

Đánh giá ở quy mô 200 lít/ mẻ

Trước tiên, chúng tôi sử dụng thí nghiệm khoan giấy khuếch tán để đánh giá liệu quá trình hoạt hóa giống có thành công hay không.



Hình 5. Mặt trước (Trái) và mặt sau (phải) của thí nghiệm khuếch tán trên đĩa thạch của chủng *Lactobacillus plantarum* UL485 sau hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ

Kết quả cho thấy chủng giống sau khi hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ có khả năng ức chế vi khuẩn tốt.

Bảng 5. Hàm lượng acid lactic và hoạt độ bacteriocin của chủng chủng *Lactobacillus plantarum* UL485 sau hoạt hóa ở quy mô 200 lít/mẻ theo thời gian

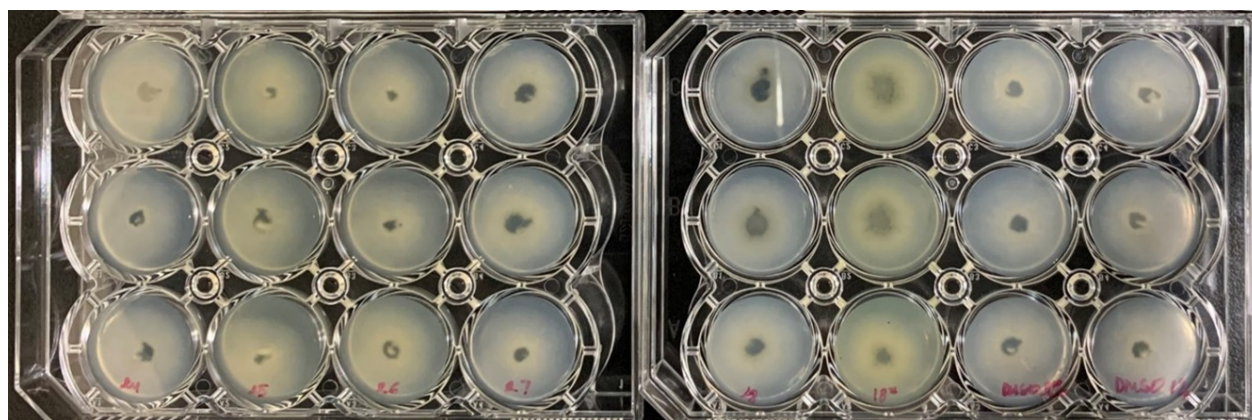
Thời gian	Hàm lượng acid lactic (g/lít)	Hoạt độ Bacteriocin (AU/ml)
24h	15,33	1.456,2
48h	15,11	1.404,3
72h	14,21	1.258,7
96h	13,89	1.187,1

Hàm lượng acid lactic sau khi hoạt hóa 24h đến 96h đều đạt trên 13g/lít và hoạt độ bacteriocin đều đạt trên 1.000AU/ml. Điều này chứng tỏ chủng giống đã được hoạt hóa tốt và có thể sử dụng cho các quy trình tiếp theo.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với kết quả đã công bố nghiên cứu trong phạm vi phòng thí nghiệm của các tác giả Dao Anh Thi Nguyen và cs. (2018), Uyen Nguyen Quynh và cs. (2018). Các tác giả cho biết điều kiện tối ưu để thu được hàm lượng acid lactic và hoạt độ bacteriocin cao là ở nhiệt độ 30°C trong 1 ngày (24 giờ) và hàm lượng acid lactic, hoạt độ bacteriocin giảm dần theo thời gian, đến sau 4 ngày (> 96 giờ) giảm đến mức thấp không có khả năng ức chế vi khuẩn.

Đánh giá ở quy mô 500 lít/mẻ

Trước tiên, chúng tôi sử dụng thí nghiệm khoan giấy khuếch tán để đánh giá liệu quá trình hoạt hóa giống có thành công hay không.



Hình 6. Mặt trước (Trái) và mặt sau (phải) của thí nghiệm khuếch tán trên đĩa thạch của chủng *Lactobacillus plantarum* UL485 sau hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ

Kết quả cho thấy chủng giống sau khi hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ có khả năng ức chế vi khuẩn tốt.

Bảng 6. Hàm lượng acid lactic và hoạt độ bacteriocin của chủng chủng *Lactobacillus plantarum* UL485 sau hoạt hóa ở quy mô 500 lít/mẻ theo thời gian

Thời gian	Hàm lượng acid lactic (g/lít)	Hoạt độ Bacteriocin (AU/ml)
24h	14,91	1.463,5
48h	13,22	1.401,2
72h	13,08	1.239,4
96h	13,02	1.105,9

Qua Hình 6 và Bảng 6 cho thấy: Sau quá trình hoạt hóa 24h ở quy mô 500 lít/mẻ, chủng *Lactobacillus plantarum* UL485 có hàm lượng acid lactic đạt 14,91 g/lít và hoạt độ bacteriocin 1.463,5 AU/ml, và giảm dần theo thời gian, đến 96h, hàm lượng acid lactic vẫn đạt 13,02 g/lít, hoạt độ bacteriocin vẫn đạt 1.105,9 AU/ml. Như vậy, chủng giống đã được hoạt hóa tốt và có thể sử dụng cho các quy trình tiếp theo.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu, sau khi hoạt hóa vi khuẩn Lactic trong môi trường MRS, ở 30°C, 48 giờ. Chúng tôi đã đánh giá được quá trình hoạt hóa 3 chủng vi khuẩn Lactic. Cụ thể ở cả 3 chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* UL485; *Bifidobacterium animalis* NG52 và *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 được khảo sát, đều có khả năng ức chế vi khuẩn tốt trên thí nghiệm khoan giấy và hàm lượng acid lactic đạt trên 13g/lít và hoạt độ bacteriocin trên 1.000AU/ml, chúng tỏ chủng giống đã được hoạt hóa tốt và có thể sử dụng cho các quy trình tiếp theo. Khi sử dụng vi khuẩn Lactic vào các quy trình tiếp theo, cần lưu ý các điều kiện thích hợp cho vi khuẩn, đặc biệt, nếu sử dụng phối trộn trực tiếp vào thức ăn chăn nuôi, chú ý nhiệt độ công đoạn trộn và tạo viên không vượt quá 80°C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

Đông Thị Hoàng Anh, Nguyễn Quang Huy và Nguyễn Quỳnh Uyên. 2018. Khảo sát một số đặc điểm của bacteriocin ở chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* UL487 phân lập từ mẫu chao của Huế. Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học tự nhiên và Công nghệ, tập số 33, Số IS (2017) 1-6.

Phạm Văn Hùng, Nguyễn Thị Dương Nga, Nguyễn Thị Thu Huyền, Nguyễn Hữu Nhuận, Ninh Xuân Trung và Trần Văn Long. 2017. Báo cáo điều tra cơ bản - Sản phẩm nộm cho Viện Chăn nuôi Quốc tế của Dự án “Giảm thiểu rủi ro dịch bệnh và nâng cao an toàn vệ sinh thực phẩm trong chăn nuôi lợn ở Việt Nam (LPS/2010/047)”.

<https://baophapluat.vn/tieu-dung-va-du-luan/lo-hong-dan-den-lam-dung-khang-sinh-trong-chan-nuoi-272173.html>

<http://www.fao.org/3/i6386vi/i6386vi.pdf>

Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 7906:2008ISO 15214:1998 về vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – phương pháp định lượng vi khuẩn axit lactic ưa nhiệt trung bình – kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C.

Tiếng nước ngoài

Dao Anh Thi Nguyen, Thanh Thi Luu Hue, Van Hoang Thai and Quynh Nguyen Uyen. 2018. “Primary study on the bacterial strain UL485 isolated from Chao in Hue province, Vietnam”, *Agrica*, Vol. 7: 82-86.

- Uyen Nguyen Quynh and Thuong Thi Vo Lan. 2018. Primary Evaluation of the Cold Shock Protein Existing in the Strain *Lactobacillus Plantarum* U1497 and the Strain's Survival after Temperature Downshock. *Biotechnol Ind J*.
- Van Hoang, V., T. Ochi, K. Kurata, Y. Arita, Y. Ogasahara, and Enomoto, K. 2018. Nisin-induced expression of recombinant T cell epitopes of major Japanese cedar pollen allergens in *Lactococcus lactis*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102: 261-68.
- Uyen Nguyen Quynh, Hoang Thi Dong Anh and My Thi Nguyen Le. 2018. Some Characteristics of the Bacteriocin and Cold Shock Protein of the Strain *Lactobacillus Plantarum* U1485 Isolated from Chao of Hue Province in Vietnam. *BioTechnology: An Indian Journal*, Vol 14 Iss 5.

ABSTRACT

Evaluate the activation process of 3 lactic acid bacteria strains on the industrial scale

Research aims to evaluate the activation process of 3 lactic acid bacteria strains on an industrial scale to successfully produce probiotics containing lactic acid bacteria with high applicability in livestock to minimize antimicrobial resistant of infection bacteria. The activation process was evaluated by diffusion test, lactic acid production and bacteriocin activity. Through the study, we evaluated the activation process of 3 strains of Lactic bacteria. Specifically in all 3 strains of *Lactobacillus plantarum* UL485; *Bifidobacterium animalis* NG52 and *Pediococcus pentosaceus* PT 16.9 were investigated, all strains have good inhibitory ability and lactic acid content is >13g/liter and bacteriocin activity >1.000AU/ml, proving that the strains have been well activated and can be used for further procedures.

Keywords: Bacteria, Lactic, *Lactobacillus plantarum* UL485; *Bifidobacterium animalis* NG52 và *Pediococcus pentosaceus*

Ngày nhận bài: 05/01/2023

Ngày phản biện đánh giá: 13/01/2023

Ngày chấp nhận đăng: 28/02/2023

Người phản biện: TS. Đặng Thị Thanh Sơn