

TUYỂN CHỌN VI KHUẨN LACTIC CÓ MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC ĐỂ ỨNG DỤNG TRONG XỬ LÝ PHẾ PHỤ PHẨM NÔNG NGHIỆP LÀM THỨC ĂN CHĂN NUÔI CHO GIA SÚC NHAI LẠI

Nguyễn Thị Lâm Đoàn*, Lưu Thị Thủy Dương

Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email*: nlddoan@yahoo.com

Ngày gửi bài: 16.10.2017

Ngày chấp nhận: 26.12.2017

TÓM TẮT

Sau mùa thu hoạch hầu hết phụ phẩm từ rơm rạ, rễ cây, thân cây... được người dân đốt gây ô nhiễm môi trường. Việc sử dụng chúng làm nguồn thức ăn phong phú cho chăn nuôi là giải pháp tối ưu để giảm thiểu chất thải. Do có tỷ lệ xơ cao nên nguồn thức ăn này có tỷ lệ tiêu hóa và giá trị năng lượng thấp. Chính vì vậy, nghiên cứu này nhằm mục đích tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có một số đặc tính sinh học như khả năng sinh axit lactic cao, sinh một số enzyme ngoại bào (amylase, cellulase, xylanase) và có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh để ứng dụng trong xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp nói chung, nghiên cứu này bước đầu ứng dụng các chủng được tuyển chọn trong xử lý rơm làm thức ăn chăn nuôi bò. Kết quả nghiên cứu cho thấy từ 61 chủng vi khuẩn lactic đã tuyển chọn được 27 chủng có sinh axit lactic cao (200 - 263°C) và chúng đều sinh trưởng và phát triển ở nhiệt độ (37°C). Từ 27 chủng này, 8 chủng được xác định có khả năng sinh cả 3 enzyme ngoại bào amylase, cellulase, xylanase với đường kính vòng phân giải cơ chất đạt từ 7 - 33 (mm). Tiếp đó, từ 8 chủng sinh cả 3 enzyme ngoại bào nghiên cứu đã tìm ra được 3 chủng có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh cụ thể là chủng T6.2 kháng vi khuẩn gram dương *Listeria monocytogenes* và 2 chủng C3.15, C3.19 kháng vi khuẩn gram âm *E.coli*, cả ba chủng này đều phân giải rơm nhưng chủng C3.19 có khả năng phân giải mạnh nhất.

Từ khóa: Vi khuẩn lactic, enzyme ngoại bào, kháng vi khuẩn gây bệnh, phế phụ phẩm nông nghiệp.

Selection of Lactic Acid Bacteria with Bioactive Characteristics for Application in Agricultural Waste Treatment for Making Feed for Ruminants

ABSTRACT

After the harvest, most by-products from rice straws, plant roots, and stems etc are burned by farmers. This activity causes environmental pollution. The use of variable source of agricultural by-products as feed for livestock is considered as one of the alternative reduce waste. Agricultural by products have high fiber content, low digestibility and energy value. This study aimrd to select lactic acid bacteria with biological characteristics such as high lactic acid production, production of some extracellular enzymes (amylase, cellulase, xylanase) and antibacterial activity against pathogenic bacteria for treatment of agricultural by-product as cattle feed. Results of this study showed that from 61 strains lactic bacteria isolated, 27 strains were selected with high lactic acid production (200 - 263°C) and good growth at 37°C. From 27 strains, 8 strains were identified with extracellular enzyme production of amylase, cellulase, and xylanase with ring diameter of substrate resolution of 7 - 33 mm. In addition, this study revealed 3 strains with antibacterial properties such as T6.2 strain against gram positive *Listeria monocytogenes* and two strains, C3.15 and C3.19, against gram-negative (*E. coli*). Three strains were capable of decomposing straws, but the C3.19 showed strongest decomposition.

Keywords: Lactic acid bacteria, extracellular enzyme, antibacterial, agricultural by-product

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là nước nông nghiệp, các nguồn nguyên liệu từ phế phụ phẩm của ngành nông nghiệp rất lớn. Các phế phụ phẩm này có thể được làm chất đốt gây ô nhiễm môi trường sống nghiêm trọng hoặc chúng không được sử dụng rất lãng phí (Lê Phú Tuấn và cs., 2016). Sử dụng được nguồn nguyên liệu này để sản xuất thức ăn chăn nuôi sẽ mang lại hiệu quả kinh tế lớn và bảo vệ môi trường. Tuy nhiên, mặt hạn chế của chúng là một số loại có hàm lượng chất xơ rất cao, rơm lúa chứa 34%, lá mía chứa 43% tính theo chất khô nên chúng có tỷ lệ tiêu hóa và giá trị dinh dưỡng thấp, trâu bò không thích ăn. Chính vì vậy, việc nghiên cứu sử dụng chúng phục vụ cho đời sống càng trở nên cần thiết. Hiện nay, phương pháp chế biến phế phụ phẩm nông nghiệp làm thức ăn chăn nuôi cho bò chủ yếu là sử dụng hóa chất như phương pháp kiềm hóa, phương pháp ủ ure, ví dụ rơm đem kiềm hóa sẽ mềm hơn, có mùi thơm dễ chịu và là nguồn thức ăn tốt giàu dinh dưỡng cho bò (Đỗ Văn Quang, 2009). Phương pháp sử dụng vi sinh vật đến nay vẫn còn hạn chế, chỉ có một số ít nghiên cứu như nghiên cứu chế biến và bảo quản thức ăn thô xanh bằng vi khuẩn (Đào Thị Lương và cs., 2010) và một số nghiên cứu sử dụng chế phẩm vi sinh xử lý phế phụ phẩm thành phân hữu cơ (Lê Phú Tuấn và cs., 2016; Đỗ Văn Quang, 2009). Vi khuẩn lactic là nhóm vi khuẩn an toàn và có nhiều ứng dụng đặc biệt trong xử lý phế phụ nông nghiệp. Quá trình xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp chính là quá trình ủ chua thức ăn thô xanh, xảy ra chính nhờ nhóm vi khuẩn lactic vốn có sẵn trên bề mặt của các phế phụ phẩm này hoặc do quá trình bổ sung các chủng vi khuẩn lactic vào. Chúng lên men tạo ra axit lactic có khả năng ức chế, tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh chứa trong thực vật, nhờ vậy mà thức ăn ủ chua có thể bảo quản được hàng năm (Đào Thị Lương và cs., 2010). Ngoài ra, các chủng vi khuẩn lactic còn sinh ra các chất ức chế vi khuẩn gây bệnh trong đường ruột và sinh enzyme giúp cải thiện sự tiêu hóa hấp thu thức ăn (Nguyễn Quốc Đạt và cs.,

1998). Do đó, nghiên cứu này nhằm tìm ra các chủng vi khuẩn lactic có một số hoạt tính sinh học như sinh axit lactic cao, sinh một số enzyme ngoại bào (amylase, cellulase, xylanase), khả năng ức chế các vi khuẩn gây bệnh để xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp cụ thể bước đầu ứng dụng trong xử lý rơm giúp tận dụng được nguồn nguyên liệu này.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cơ chất dùng để xử lý: Phế phụ phẩm nông nghiệp (rơm) được lấy tại làng Hoài Thị, xã Liên Bảo, huyện Tiên Du, tỉnh Bắc Ninh vào tháng 6/2016.

2.2. Nguồn vi sinh vật

61 chủng vi khuẩn lactic được cung cấp từ phòng thí nghiệm của Bộ môn Hóa sinh - Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. 61 chủng này được phân lập từ cà muối trong đó 49 chủng được phân lập từ cà muối trên địa bàn Gia Lâm - Hà Nội, ký hiệu là C; 12 chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ cà muối trên địa bàn Tiên Du - Bắc Ninh, ký hiệu là (T, M, và N).

Các vi khuẩn gây bệnh: *Listeria monocytogenes*, *E.coli* và *Salmonella typhimurium* được cung cấp từ Viện Công nghệ sinh học - Viện hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

2.3. Môi trường nghiên cứu

Môi trường MRS dịch thể dùng để nuôi cấy và hoạt hóa các chủng vi khuẩn lactic (g/l): Glucose - 20,0; NaH_2PO_4 - 2,0; CH_3COONa - 5,0; Cao thịt - 10,0; Triamoni xitrat - 2,0; Pepton - 10,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1; Cao nấm men - 5,0; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 0,05; Tween 80 - 1 ml; Nước cất vừa đủ - 1 lít; pH = 6,5; khử trùng $121^\circ\text{C}/15$ phút.

Môi trường nuôi vi sinh vật gây bệnh LB (g/l): Cao nấm men - 5,0; Pepton - 10; NaCl - 10; Nước cất vừa đủ - 1 lít; pH = 7,0; khử trùng $121^\circ\text{C}/15$ phút.

Tuyển chọn vi khuẩn lactic có một số hoạt tính sinh học để ứng dụng trong xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp làm thức ăn chăn nuôi cho gia súc nhai lại

2.4. Xác định khả năng sinh axit lactic

Khả năng sinh axit lactic của các chủng vi khuẩn lactic được sử dụng phương pháp chuẩn độ Therner như mô tả của Nguyễn Thị Minh Hằng và Nguyễn Minh Thư (2013). Sau khi nuôi cấy các chủng vi khuẩn lactic ở 30°C trong 48 h, 10 ml dịch nuôi cấy được bổ sung 20 ml nước cất và thêm 1 - 2 giọt phenolphthalein 1%. Chuẩn độ bằng NaOH 0,1N đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 30 giây thì dừng lại. Ghi lại thể tích dung dịch NaOH 0,1N đã dùng để chuẩn độ. Độ axit được tính theo độ Therner theo công thức: $^{\circ}\text{T} = V_{\text{NaOH}} \times \text{tiêu\,tồn} \times 10$. Trong đó: $^{\circ}\text{T}$ là độ Therner; 10 là số mililit dịch nuôi cấy dùng chuẩn độ

2.5. Xác định khả năng sinh trưởng và phát triển

Tất cả các chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh axit lactic cao là kết quả của thí nghiệm trước sẽ được kiểm tra khả năng sinh trưởng và phát triển ở 37°C. Khả năng sinh trưởng và phát triển được tiến hành ở 37°C là kế thừa kết quả nghiên cứu của Đào Thị Lương và cs. (2010). Nhóm tác giả này cũng nghiên cứu khả năng sinh trưởng và phát triển của các chủng vi khuẩn lactic để ứng dụng trong chế biến và bảo quản thức ăn thô xanh và phụ phẩm nông nghiệp. Ngoài ra, nhiệt độ này cũng là nhiệt độ thích hợp cho vi khuẩn phát triển ở trong dạ dày bò.

Các chủng vi khuẩn lactic tuyển chọn được nuôi trong môi trường MRS lỏng ở 37°C trong 48 h. Đo giá trị OD ở bước sóng 620 nm của các chủng tại 0 h và 48 h. Khả năng chịu được nhiệt của các chủng này được xác định bằng cách so sánh các giá trị OD 620 nm của các chủng tại 0 h và 48 h (Nguyễn Lân Dũng và cs., 1976)

2.6. Xác định khả năng sinh một số enzyme ngoại bào (amylase, cellulase và xylanase)

Xác định khả năng sinh một số enzyme ngoại bào amylase, cellulase và xylanase được sử dụng phương pháp đục lỗ thạch trên môi trường có bổ sung cơ chất tương ứng tinh bột, CMC (Carboxymethyl cellulose), xylan theo

phương pháp của Nguyễn Lân Dũng và cs. (1976). Các chủng vi khuẩn lactic được hoạt hóa trong môi trường MRS lỏng. Sau 48 giờ nuôi ở 30°C, lấy dịch nuôi vi khuẩn lactic đem ly tâm với tốc độ 6.000 vòng/ phút trong 30 phút, ở 4°C. Sau đó thu lấy dịch ly tâm. Dùng nút khoan có đường kính 7 mm, đục lỗ thạch trên đĩa petri của 3 loại môi trường: môi trường tinh bột (thử hoạt tính enzyme amylase), môi trường CMC (thử hoạt tính enzyme cellulase), môi trường xylan (thử hoạt tính enzyme xylanase). Với mỗi chủng vi khuẩn lactic, tiến hành nhỏ 0,1 ml dịch ly tâm đã thu vào lỗ thạch. Sau khi nhỏ dịch để đĩa thạch trong tủ lạnh ở 4°C khoảng 2 h nhằm mục đích dịch ly tâm khuếch tán đều vào trong thạch. Để đĩa thạch vào tủ ấm 30°C trong 48 h để lượng dịch trong lỗ thạch thủy phân cơ chất, sau đó đĩa thạch được nhuộm màu bằng dung dịch Lugol 5%. Hoạt tính của các enzyme được đo bằng đường kính vòng phân giải cơ chất xung quanh lỗ thạch, tức D - d. Trong đó: D là đường kính vòng phân giải (mm), d là đường kính lỗ thạch (7mm).

2.7. Xác định hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh

Khả năng kháng các vi khuẩn gây bệnh (*Listeria monocytogenes*, *E.coli* và *Salmonella typhimurium*) của vi khuẩn lactic được xác định theo phương pháp khuếch tán thạch của Herrerros *et al.* (2005)

Các chủng vi khuẩn lactic (tuyển chọn ở các thí nghiệm trước) được nuôi cấy trong môi trường MRS lỏng ở 30°C trong 18 - 20 h, sau đó ly tâm 6.000 vòng/ phút trong 20 phút thu dịch nổi và chỉnh pH về trung tính (6,7 - 7) bằng NaOH 1N để loại yếu tố hạn chế vi khuẩn gây bệnh do sinh axit.

Đối với các chủng vi khuẩn gây bệnh được nuôi qua đêm trong môi trường LB lỏng ở 30°C trong 24 h. Sau đó bổ sung 30 µl dung dịch mỗi chủng vi khuẩn gây bệnh vừa nuôi cấy đó vào môi trường LB agar và khoan lỗ thạch, kích thước lỗ thạch (d = 7 mm).

Nhỏ 80 µl dịch ly tâm của các chủng vi khuẩn lactic đã được chỉnh pH vào các lỗ thạch và giữ ở

nhiệt độ 4°C trong 4 h, sau đó giữ ở 30°C trong 24 h. Căn cứ vào việc xuất hiện vòng ức chế vi khuẩn gây bệnh để xác định chủng có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh. Hoạt tính được đánh giá bằng hiệu số D - d (mm), trong đó D là đường kính vòng kháng khuẩn (mm), d là đường kính lỗ thạch (mm). Hiệu số này càng lớn thì khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh càng cao.

2.8. Bước đầu đánh giá khả năng phân giải rơm của các chủng được tuyển chọn

Đánh giá khả năng phân giải rơm của các chủng được tuyển chọn theo phương pháp của Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp (2011) được tiến hành như sau: các chủng tuyển chọn được nuôi cấy trong môi trường MRS lỏng nuôi ở 30°C trong 24h. Các chủng này được tiếp giống với tỷ lệ 1% vào 100ml môi trường MRS lỏng tiến hành trong bình tam giác (0,5g rơm/100ml môi trường), sau 10 và 15 ngày đánh giá khả năng phân giải dựa trên khối lượng khô mất đi của rơm. Công thức tính khả năng phân giải:

(Khối lượng ban đầu - Khối lượng lúc sau)/Khối lượng ban đầu x 100

2.9. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Excel để tính các giá trị trung bình. So sánh thống kê bằng phương pháp ANOVA trong phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh axit lactic cao

Vi khuẩn lactic lên men tạo ra axit lactic có khả năng ức chế, tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh chứa trong thực vật và trong đường ruột giúp cải thiện sự tiêu hóa hấp thu thức ăn (Đào Thị Lương và cs., 2010; Nguyễn Quốc Đạt và cs., 1998).

Do đó, 61 chủng vi khuẩn lactic được nuôi trên môi trường MRS dịch thể trong 48 h, hàm lượng axit tổng số của dịch nuôi cấy được xác định bằng phương pháp chuẩn độ Therner như

Bảng 1. Khả năng sinh axit lactic của các chủng vi khuẩn lactic

STT	Ký hiệu chủng	Lượng axit tạo thành (°T)	STT	Ký hiệu chủng	Lượng axit tạo thành (°T)	STT	Ký hiệu chủng	Lượng axit tạo thành (°T)
1	C1.38	201	22	C2.25	187	42	C3.9	237
2	C1.39	219	23	C2.26	210	43	C3.10	190
3	C1.40	189	24	C2.28	228	44	C3.11	206
4	C1.41	231	25	C2.29	176	45	C3.12	187
5	C1.42	193	26	C2.30	195	46	C3.13	216
6	C1.43	191	27	C2.31	149	47	C3.15	256
7	C1.44	210	28	C2.32	192	48	C3.16	152
8	C1.45	150	29	C2.33	189	49	C3.19	215
9	C1.46	135	30	C2.34	198	50	M1.1	263
10	C1.47	176	31	C2.35	176	51	M1.3	210
11	C1.48	213	32	C2.36	145	52	M1.22	194
12	C1.49	233	33	C2.37	148	53	N1.13	150
13	C1.50	193	34	C3.1	121	54	N1.17	208
14	C1.51	215	35	C3.2	239	55	N1.21	50
15	C1.52	226	36	C3.3	197	56	N1.22	62
16	C2.1	197	37	C3.4	201	57	N1.23	242
17	C2.2	202	38	C3.5	223	58	N1.25	74
18	C2.3	192	39	C3.6	136	59	T1.1	155
19	C2.20	200	40	C3.7	243	60	T6.2	233
20	C2.21	163	41	C3.8	145	61	T25.1	77
21	C2.23	206						

Tuyển chọn vi khuẩn lactic có một số hoạt tính sinh học để ứng dụng trong xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp làm thức ăn chăn nuôi cho gia súc nhai lại

mô tả ở 2.4. Kết quả thu được (Bảng 1) cho thấy tất cả các chủng đều có khả năng sinh axit lactic. Trong đó có 27 chủng có khả năng sinh axit lactic cao từ 200 - 263^oT, 30 chủng có khả năng sinh axit từ 100 - 200^oT, 4 chủng có khả năng sinh axit từ 50 - 80^oT (Bảng 1). Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Đào Thị Lương và cs. (2010) hàm lượng axit lactic của các chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ các mẫu cỏ, ngô, nước bún sinh axit lactic trong khoảng từ 89 - 23^oT và cũng tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đó của Mai Đàm Linh và cs. (2007) về khả năng sinh axit lactic của 6 chủng vi khuẩn lactic được phân lập trên địa bàn Hà Nội (từ 157 - 244^oT). 27 chủng có khả năng sinh axit lactic cao được tiếp tục tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Xác định khả năng sinh trưởng và phát triển

Các chủng vi khuẩn sử dụng để phân hủy phế phụ phẩm làm thức ăn cho gia súc nhai lại nên có khả năng sinh trưởng và phát triển được ở nhiệt độ trong dạ cỏ của gia súc. Ngoài ra, nghiên cứu này cũng kế thừa nghiên cứu của Đào Thị Lương và các cs. (2010), nhóm tác giả cũng xác định sự sinh trưởng và phát triển các

chủng vi khuẩn lactic dùng trong chế biến thức ăn thô xanh và phụ phẩm nông nghiệp cho gia súc nhai lại tại nhiệt độ 37^oC. Do đó, 27 chủng có khả năng sinh axit cao của thí nghiệm trước được tiến hành nghiên cứu khả năng sinh trưởng và phát triển trong môi trường MRS ở nhiệt độ 37^oC.

Kết quả thu được cho thấy giá trị OD của 27 chủng sau 48 h đều tăng so với 0 h (Bảng 2), các chủng này đều sinh trưởng và phát triển tốt ở 37^oC. Kết quả này cũng tương tự như kết quả của Đào Thị Lương và cs. (2010), các chủng vi khuẩn lactic của nhóm tác giả cũng sinh trưởng và phát triển ở nhiệt độ này.

3.3. Tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh enzyme ngoại bào

Tiến hành nuôi 27 chủng vi khuẩn lactic trên môi trường MRS lỏng trong 48 h ở 30^oC, hoạt tính enzyme ngoại bào của dịch nuôi cấy được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch trên môi trường có chứa các cơ chất như miêu tả mục 2.6.

Khả năng sinh enzyme được đánh giá qua vòng phân giải cơ chất. Kết quả thu được 8 chủng vi khuẩn lactic (C2.2, C2.23, C3.5, C3.15,

Bảng 2. Khả năng sinh trưởng và phát triển của một số chủng vi khuẩn lactic

STT	Ký hiệu chủng	0 h	48 h	STT	Ký hiệu chủng	0 h	48 h
1	C1.38	1.009	2.012	15	C3.4	1.032	2.003
2	C1.39	1.213	2.221	16	C3.5	1.378	2.391
3	C1.41	1.072	2.093	17	C3.7	1.189	2.007
4	C1.44	1.089	2.099	18	C3.9	1.159	2.189
5	C1.48	1.244	2.291	19	C3.11	1.147	2.046
6	C1.49	1.245	2.209	20	C3.13	1.126	2.109
7	C1.51	1.127	2.084	21	C3.15	1.328	2.330
8	C1.52	1.061	2.069	22	C3.19	1.146	2.196
9	C2.2	1.202	2.401	23	M1.1	1.354	2.311
10	C2.20	1.145	2.182	24	M1.3	1.238	2.203
11	C2.23	1.118	2.118	25	N1.17	1.145	2.083
12	C2.26	1.192	2.201 ^b	26	N1.23	1.267	2.297
13	C2.28	1.110	2.167 ^b	27	T6.2	1.707	2.309
14	C3.2	1.166	2.139 ^b				

Bảng 3. Khả năng sinh một số enzyme ngoại bào phân giải cơ chất của của một số chủng vi khuẩn lactic

STT	Ký hiệu chủng	Hoạt tính enzyme (D - d, mm)			STT	Ký hiệu chủng	Hoạt tính enzyme (D - d, mm)		
		Amylase	Cellulase	Xylanase			Amylase	Cellulase	Xylanase
1	C1.38	24	0	0	15	C3.4	0	0	0
2	C1.39	0	0	0	16	C3.5	7	7	21
3	C1.41	0	0	0	17	C3.7	0	0	0
4	C1.44	0	0	0	18	C3.9	20	18	0
5	C1.48	10	0	16	19	C3.11	0	0	16
6	C1.49	22	0	0	20	C3.13	0	0	0
7	C1.51	0	0	0	21	C3.15	18	31	30
8	C1.52	0	0	0	22	C3.19	28	33	32
9	C2.2	7	20	8	23	M1.1	13	22	7
10	C2.20	0	0	0	24	M1.3	27	15	0
11	C2.23	10	9	13	25	N1.17	25	0	33
12	C2.26	0	30	0	26	N1.23	33	27	12
13	C2.28	0	0	0	27	T6.2	27	27	16
14	C3.2	0	30	27					

Chú thích: D - Đường kính vòng phân giải, d - Đường kính lỗ khoan (7 mm)

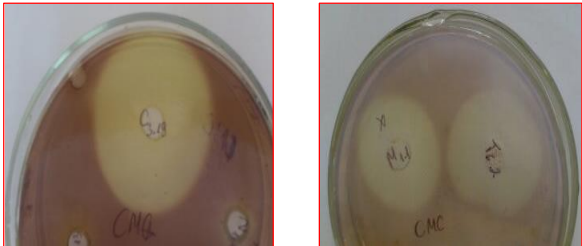
C3.19, M1.1, N1.23, T6.2) có khả năng sinh cả 3 enzyme ngoại bào. Đường kính vòng phân giải cơ chất của 8 chủng vi khuẩn lactic được thể hiện trên bảng 3 và hình 1. Trong đó, 3 chủng C3.15, C3.19 và T6.2 có đường kính vòng phân giải cả 3 loại cơ chất đều khá rộng amylase (từ 18 - 28 mm), cellulase (27 - 33 mm), xylanase (16 - 32 mm). Khả năng sinh các enzyme ngoại bào của 8 chủng này là khá cao và cao hơn

những chủng của Đào Thị Lương và cs. (2010), theo nhóm tác giả này đường kính vòng phân giải amylase (7 - 13 mm), cellulase (8 -12 mm), xylanase (10 - 13 mm). Điều này có thể lý giải là do nguồn phân lập của hai nghiên cứu khác nhau nên các chủng vi khuẩn lactic phân lập được là khác nhau. Do đó khả năng sinh các enzyme của các chủng vi khuẩn lactic trong hai nghiên cứu là khác nhau.

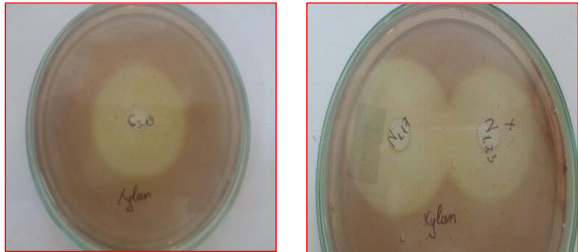


A. Phân giải tinh bột (chủng C3.15, C3.19)

Tuyển chọn vi khuẩn lactic có một số hoạt tính sinh học để ứng dụng trong xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp làm thức ăn chăn nuôi cho gia súc nhai lại



B. Phân giải CMC (chủng M1.1, T6.2 và C3.19)



C. Phân giải Xylan (chủng C3.19, N1.17 và N1.23)

Hình 1. Khả năng phân giải cơ chất của một số chủng vi khuẩn lactic

3.4. Tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh

Các chủng vi khuẩn lactic cần có hoạt tính ức chế vi khuẩn gây bệnh để làm giảm nguy cơ mắc các bệnh đường ruột và tăng khả năng hấp thụ các chất. Do đó, 8 chủng vi khuẩn lactic có

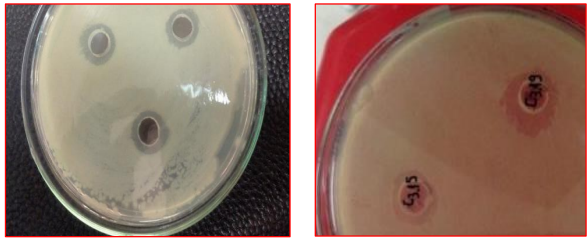
khả sinh cả 3 enzyme ngoại bào được tiếp tục tiến hành kiểm tra khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh.

Kết quả từ bảng 4 và hình 2 cho thấy có 1 chủng T6.2 có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh *Listeria monocytogenes*, 2 chủng C3.15 và

Bảng 4. Khả năng kháng các vi khuẩn gây bệnh của một số chủng vi khuẩn lactic

STT	Ký hiệu chủng	Hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh (D - d, mm)		
		<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
1	C2.2	0	0	0
2	C2.23	0	0	0
3	C3.5	0	0	0
4	C3.15	0	5	0
5	C3.19	0	7	0
6	M1.1	0	0	0
7	N1.23	0	0	0
8	T6.2	11	0	0

Ghi chú: D - d là đường kính vòng kháng khuẩn



Listeria monocytogenes (chủng T6.2) *E. coli* (chủng C3.15 và C3.19)

Hình 2. Hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh của một số chủng vi khuẩn lactic

C3.19 có khả năng kháng *E. coli*. Ba chủng này đều có tiềm năng trong xử lý phế phụ phẩm nông nghiệp và chúng được ứng dụng cho nghiên cứu tiếp theo.

3.5. Bước đầu đánh giá khả năng phân giải rơm của các chủng được tuyển chọn

Rơm chiếm tỉ lệ lớn trong các phế phụ phẩm nông nghiệp ở Việt Nam, nhưng chưa được sử dụng hợp lý, hàm lượng chất xơ cao (40% là cellulose), nên rất khó tiêu hóa và giá trị năng lượng thấp (Đào Văn Quang, 2009). Tiến hành phân giải rơm bằng các chủng vi khuẩn lactic tuyển chọn được với mục đích làm tăng giá trị năng lượng, giúp tiêu hóa dễ dàng hơn và tăng thời gian bảo quản sau khi thu hoạch.

Ba chủng T6.2, C3.15, C3.19 (vừa có khả năng sinh axit, sinh trưởng và phát triển ở 37°C, sinh 3 loại enzyme và kháng được một số vi khuẩn gây bệnh) được sử dụng để đánh giá khả năng phân giải rơm. Khả năng phân giải rơm của các chủng tuyển chọn được tiến hành theo phương pháp của Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp (2011) như đề ra ở mục 2.8. Kết quả đã chỉ ra ở bảng 5 cho thấy khả năng phân giải

rơm của 3 chủng vi khuẩn được chọn tương đối tốt, sau 15 ngày khả năng phân giải rơm từ 58,06 - 64,1%, trong đó chủng C3.19 có khả năng phân giải tốt nhất.

Khả năng phân giải rơm sau 10 ngày và 15 ngày không có sự khác biệt lớn, có thể lý giải là do trong 10 ngày đầu tiên vi khuẩn được bổ sung nguồn cơ chất dồi dào thuận lợi cho việc phát triển tăng sinh khối và tăng các hoạt tính sẵn có nên khả năng phân giải rơm rạ tương đối cao. Đến 15 ngày sau, lúc này nguồn cơ chất bị cạn kiệt, số lượng vi khuẩn giảm dẫn đến khả năng phân giải cũng không tăng lên nhiều. Kết quả này cho thấy khả năng phân giải rơm của các chủng vi khuẩn lactic trong nghiên cứu này cũng tương đồng kết quả phân giải rơm của 4 chủng vi khuẩn được phân lập từ dạ cỏ bò (đạt từ 53,60 - 55,93% sau 10 ngày) của nhóm tác giả Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp (2011).

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, từ 61 chủng vi khuẩn lactic đã tuyển chọn được 27 chủng có sinh axit lactic cao (200 - 263°T) và chúng đều sinh trưởng

Bảng 5. Khả năng phân giải rơm bởi một số chủng vi khuẩn lactic

Chủng vi khuẩn	Khả năng phân giải rơm (%) sau	
	10 ngày	15 ngày
C3.15	57,29	58,06
C3.19	62,77	64,1
T6.2	60,25	61,57

Tuyển chọn vi khuẩn lactic có một số hoạt tính sinh học để ứng dụng trong xử lý phế phẩm nông nghiệp làm thức ăn chăn nuôi cho gia súc nhai lại

và phát triển ở 37°C. Trong đó, có 8 chủng có khả năng sinh cả 3 enzyme ngoại bào amylase, cellulase và xylanase với đường kính vòng phân giải cơ chất đạt từ 7 - 33 (mm).

Tiếp đó, nghiên cứu đã lựa chọn được 3 chủng có khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh cụ thể là chủng T6.2 kháng vi khuẩn gram dương *Listeria monocytogenes* và 2 chủng C3.15, C3.19 có khả năng kháng vi khuẩn gram âm *E.coli*, kết quả cho thấy cả ba chủng này đều có khả năng phân giải rơm nhưng chủng C3.19 có khả năng phân giải mạnh nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Lân Dũng, Đoàn Xuân Mượng, Nguyễn Phùng Tiến, Đặng Đức Trạch, Phạm Văn Ty (1976). Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học, tập 2, Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
- Nguyễn Quốc Đạt, Vũ Văn Nội, Bùi Thế Đức, Nguyễn Thanh Bình (1998). Khả năng sản xuất của đàn bò cái lai hướng sữa (HF x Lai Sind) trong điều kiện chăn nuôi trang trại ở thành phố Hồ Chí Minh. Báo cáo khoa học, Viện Chăn nuôi. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 16-18.
- Nguyễn Thị Minh Hằng và Nguyễn Minh Thư (2013). Phân lập và tuyển chọn một số chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp amylase và bacteriocin. Tạp chí Khoa học và Công nghệ lâm nghiệp, 3: 3-10.
- Mai Đàm Linh, Đỗ Minh Phương, Phạm Thị Tuyết, Kiều Hữu Anh, Nguyễn Thị Giang (2007). Đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn lactic phân lập trên địa bàn Hà Nội. Tạp chí khoa học, Trường đại học Quốc gia Hà Nội, 24: 211-226.
- Đào Thị Lương, Nguyễn Thị Anh Đào, Nguyễn Thị Kim Quy, Trần Thị Lệ Quỳnh, Dương Văn Hợp, Trần Quốc Việt, Ninh Thị Len, Bùi Thị Thu Huyền (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 - Chuyên san Công nghệ sinh học, 6: 1-6.
- Đỗ Văn Quang (2009). Ứng dụng công nghệ chế biến rác thải sau thu hoạch lúa thành thức ăn chăn nuôi, phân bón để góp phần xử lý ô nhiễm môi trường. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thủy lợi và Môi trường, 25 : 62-64.
- Võ Văn Phước Quê và Cao Ngọc Diệp (2011). Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải cellulose. Tạp chí Khoa học, Trường đại học Cần Thơ, 18a: 177-184.
- Lê Phú Tuấn, Vũ Thị Kim Oanh, Nguyễn Thị Thu Phương (2016). Nghiên cứu xử lý phụ phẩm nông nghiệp thành phân hữu cơ sử dụng chế phẩm vi sinh tại xã Phúc Thuận - Phố Yên - Thái Nguyên. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp, 6: 101-108.
- Herreros M. A., Sandoval H., Gonzalez L., Castro J. M., Fresno J. M., Tornadizo M. E. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). Food Microbiol., 22: 455-459.