



PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI KHUẨN LACTIC ỨNG DỤNG TRONG LÊN MEN SỮA CHUA BỔ SUNG TẢO SPIRULINA

Nguyễn Ngọc Thanh¹, Huỳnh Xuân Phong¹, Nguyễn Thị Việt Trinh¹, Huỳnh Thị Thu Ba¹,
Bùi Hoàng Đăng Long¹ và Ngô Thị Phương Dung¹

¹ Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 14/03/2015

Ngày chấp nhận: 28/10/2015

Title:

Isolation and selection of lactic acid bacteria applied in spirulina supplemented yogurt fermentation

Từ khóa:

Lên men acid lactic, sữa chua, tảo Spirulina, vi khuẩn lactic

Keywords:

Lactic acid bacteria, lactic acid fermentation, yogurt, Spirulina sp.

ABSTRACT

This study aimed to isolate and select lactic acid bacteria possessing good fermentation capacity and to apply in spirulina-supplemented yogurt fermentation. Results showed that 22 strains were isolated from yogurt samples. Besides, bacterial cells whose colonies were round, convex and white colored were immobilized, spherical or rod-shaped, organized in pairs or beads, positive-Gram. In addition, those strains could not perform oxidase and catalase activities. Seven lactic acid bacteria strains (S4, B1, B4, B5, D1, S1, and S2) were initially selected and showed high lactic acid fermentation based on the ability to oxidize lactate on test medium containing bromocresol purple with 1.5 to 1.9 diameter halozones. Experiments testing on milk fermentation supplemented with Spirulina sp. at 41°C in 8 hours indicated that all 7 lactic acid bacteria isolates obtained fermentation capacities to produce lactic acid concentration at 2.97-6.03 g/L and cell density at 10.91-10.98 log CFU/mL. Among those isolates, S2 (produced 6.03 g/L lactic acid concentration and 10.98 log CFU/mL cell density) was the most promising isolate and was molecularly determined to be *Lactobacillus plantarum* (Accession no. AB510752.1) with 92% similarity.

TÓM TẮT

Nghiên cứu với mục đích nhằm phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men tốt và ứng dụng để sản xuất sữa chua bổ sung tảo Spirulina. Kết quả đã phân lập được 22 chủng vi khuẩn lactic từ 7 mẫu sữa chua, các chủng phân lập có khuẩn lạc hình tròn, mô, trắng đục, tế bào hình cầu hoặc que ngắn, kết đôi hoặc chuỗi, không di động, Gram dương, oxidase và catalase âm tính. Sơ tuyển được 7 chủng vi khuẩn lactic (S4, B1, B4, B5, D1, S1 và S2) có khả năng sinh acid lactic mạnh dựa trên khả năng oxy hoá lactate trên môi trường có chỉ thị bromocresol purple, đường kính vòng phân giải trong khoảng 1,5-1,9 cm. Thử nghiệm khả năng lên men sữa có bổ sung tảo Spirulina ở nhiệt độ ủ 41°C trong 8 giờ cho thấy cả 7 chủng vi khuẩn đã phân lập đều có khả năng lên men với hàm lượng acid trong khoảng 2,97-6,03 g/L và mật số 10,91-10,98 log CFU/mL. Trong đó, chủng S2 phân lập từ sữa chua (hàm lượng acid dịch lên men là 6,03 g/L và mật số đạt 10,98 log CFU/mL) là chủng có triển vọng nhất và được định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử là *Lactobacillus plantarum* (Accession no. AB510752.1) với độ tương đồng ở mức 92%.

1 GIỚI THIỆU

Sữa chua là sản phẩm được lên men từ sữa nhờ vi khuẩn lactic, việc bổ sung những thực phẩm có lợi cho sức khỏe vào khẩu phần ăn luôn được quan tâm (Varga, 2006). Trong quá trình lên men, acid lactic có khả năng ngăn chặn và hạn chế vi sinh vật hoạt động phân giải lipid, protein, giúp bảo quản sữa. Sản phẩm có độ tiêu hoá cao bởi các chất đã chuyển sang dạng cơ thể dễ hấp thu, đặc biệt là đối với người già và trẻ em. Nhờ khả năng tạo ra acid lactic từ các nguồn carbohydrate khác nhau mà các chủng vi khuẩn lactic được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như công nghiệp, nông nghiệp, môi trường, y dược và đặc biệt là trong lĩnh vực chế biến và bảo quản thực phẩm. Các sản phẩm thực phẩm do vi khuẩn lactic lên men đã cung cấp cho hệ tiêu hóa một lượng lớn lợi khuẩn, giúp hệ tiêu hóa hoạt động tốt hơn, chất dinh dưỡng từ thực phẩm được hấp thu ở mức cao nhất (Abee *et al.*, 1999).

Năm 1973, Tổ chức Lương nông quốc tế (FAO) và Tổ chức Y tế thế giới (WHO) đã chính thức công nhận Spirulina là nguồn dinh dưỡng và dược liệu quý, đặc biệt trong chống suy dinh dưỡng và chống lão hóa. Việc bổ sung tảo Spirulina vào thực phẩm hàng ngày là xu hướng nhằm tạo ra các sản phẩm vừa có giá trị dinh dưỡng cao vừa có giá trị về mặt sinh học (Lê Văn Lăng, 1999). Với mục tiêu kết hợp những đặc tính quý của tảo và sữa chua, sữa chua bổ sung tảo Spirulina sẽ hứa hẹn cho thị trường một sản phẩm mới và mang giá trị dinh dưỡng cao. Việc phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic cũng như bước đầu ứng dụng lên men sữa chua bổ sung tảo Spirulina được thực hiện, đây là bước rất quan trọng để có được chủng vi khuẩn lactic triển vọng có khả năng lên men trong môi trường sữa bổ sung tảo Spirulina.

1.1 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

1.1.1 Vật liệu và hóa chất

– Vật liệu: các mẫu sữa chua trên thị trường (mua tại siêu thị Co.opmart - Thành phố Cần Thơ, ký hiệu: T, S, C; cửa hàng tạp hoá B1 – Đại học Cần Thơ, ký hiệu: B; siêu thị Big C, ký hiệu: V, D, Y), sữa đặc, sữa tươi, bột tảo Spirulina (Công ty CP Tảo Vĩnh Hảo, Bình Thuận).

– Hóa chất: MRS agar (Merck), MRS broth (Merck), yeast extract (Ấn Độ), beef extract, peptone, glucose, K_2HPO_4 , $MnSO_4$, $CaCO_3$, NaOH 0,1 N, bromocresol purple,...

1.2 Phương pháp nghiên cứu

1.2.1 Phân lập vi khuẩn lactic từ các mẫu sữa chua

Mẫu được đồng hóa và lấy 20 mL dung dịch cho vào 100 mL môi trường MRS broth để nuôi tăng sinh vi khuẩn lactic có trong sữa chua. Mẫu được ủ ở 37°C trong 24 giờ và lắc ở 150 vòng/phút. Môi trường sau khi ủ được pha loãng ở nồng độ 10^{-2} , trải 30 μ L trên đĩa chứa môi trường MRS agar và ủ ở 37°C. Sau 48 giờ, quan sát và chọn những khuẩn lạc đặc trưng để cấy phân lập nhiều lần trên môi trường MRS agar đến khi thu được các khuẩn lạc đồng nhất.

1.2.2 *Xác định các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa*

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào vi khuẩn: Các chủng phân lập được kiểm tra hình thái tế bào dưới kính hiển vi ở vật kính X100.

Đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa: Kiểm tra một số đặc tính đặc trưng của vi khuẩn lactic như nhuộm Gram, thử nghiệm catalase và oxydase, kiểm tra khả năng phân giải $CaCO_3$.

1.2.3 *Sơ tuyển các chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men acid lactic*

Các chủng vi khuẩn có đặc tính của vi khuẩn lactic được ủ trong ống nghiệm chứa 5 mL môi trường MRS broth trong 24 giờ ở 37°C. Khoan giếng thạch trên môi trường MRS agar có bổ sung bromocresol purple 0,01% và $CaCO_3$ 0,05%. Cho 7 μ L dung dịch nuôi cấy vào các giếng thạch và ủ ở 37°C. Đo và so sánh vòng phân giải sinh ra xung quanh giếng sau 48 giờ. Các nghiệm thức được thực hiện 3 lần lặp lại. Các chủng có khả năng sinh acid mạnh sẽ được tuyển chọn để thử khả năng lên men sữa có bổ sung tảo Spirulina.

1.2.4 *Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng ứng dụng lên men sữa bổ sung tảo Spirulina*

Các chủng vi khuẩn lactic đã sơ tuyển được nuôi ủ tăng sinh khối trong 10 mL môi trường MRS broth trong 24 giờ ở 37°C. Chủng 10% (v/v) dịch tăng sinh vào dịch sữa và ủ ở 41°C trong 24 giờ để chuẩn bị men cái (Hồ Thị Lệ, 2009).

Pha dịch sữa (sữa đặc : nước cất : sữa tươi = 1 : 1 : 2) và bổ sung 8% (v/v) dịch tảo (Hồ Thị Lệ, 2009). Rót vào mỗi hũ thủy tinh 50 mL dịch sữa có bổ sung tảo, chủng 10% (v/v) men cái của từng chủng vi khuẩn lactic và ủ ở nhiệt độ 41°C trong 8 giờ. Đo pH, độ Brix và xác định hàm lượng acid có

trong sữa chua. Mật số vi khuẩn lactic được xác định bằng phương pháp đếm sống trên môi trường MRS agar. Sản phẩm được đánh giá cảm quan theo các chỉ tiêu được mô tả trong TCVN 7030:2002. Các nghiệm thức được thực hiện 3 lần lặp lại.

1.2.5 Định danh chủng vi khuẩn acid lactic có khả năng lên men acid lactic cao

Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men sữa bổ sung tảo Spirulina tốt nhất để định danh bằng phương pháp sinh học phân tử. Sử dụng phần mềm BLAST để so sánh mức độ tương đồng của chuỗi trình tự vùng 16S rRNA với dữ liệu trên ngân hàng gene của NCBI (National Center for Biotechnology Information) để xác định tên loài của chủng vi khuẩn.

1.2.6 Các phương pháp phân tích

- Phương pháp xác định pH và Brix: xác định bằng máy đo pH và Brix kế.
- Phương pháp xác định acid tổng: chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1N.
- Phương pháp xác định mật số vi khuẩn lactic: phương pháp đếm sống.
- Phương pháp đánh giá cảm quan: theo các chỉ tiêu của TCVN 7030:2002

2 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

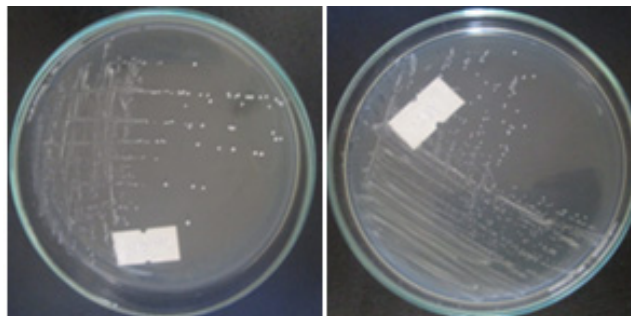
2.1 Phân lập vi khuẩn lactic từ các mẫu sữa chua

Kết quả phân lập được 22 chủng vi khuẩn từ 7 mẫu sữa chua. Cụ thể các nguồn sữa chua và ký hiệu các chủng vi khuẩn phân lập như sau:

- Mẫu Sữa chua 1 phân lập được dòng 5 vi khuẩn (ký hiệu: T1, T2, T3, T4, T5).
- Mẫu Sữa chua 2 phân lập được dòng 4 vi khuẩn (ký hiệu: S1, S2, S3, S4).
- Mẫu Sữa chua 3 phân lập được dòng 1 vi khuẩn (ký hiệu: C1).
- Mẫu Sữa chua 4 phân lập được dòng 5 vi khuẩn (ký hiệu: B1, B2, B3, B4, B5).
- Mẫu Sữa chua 5 phân lập được dòng 5 vi khuẩn (ký hiệu: V1, V2, V3, V4, V5).
- Mẫu Sữa chua 6 phân lập được dòng 1 vi khuẩn (ký hiệu: D1).
- Mẫu Sữa chua 7 phân lập được dòng 1 vi khuẩn (ký hiệu: Y1).

2.1.1 Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào vi khuẩn

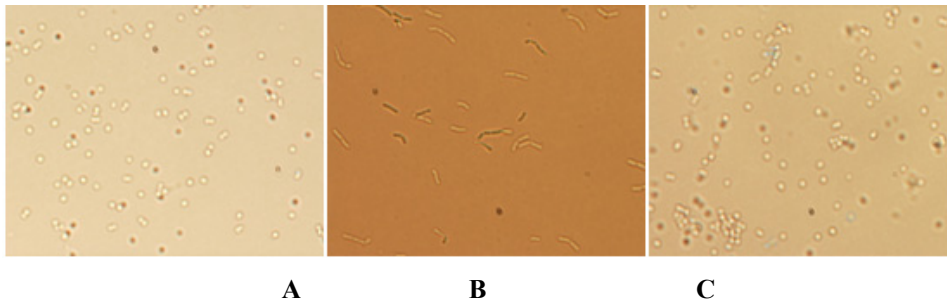
Sau nhiều lần cấy phân lập trên môi trường MRS agar đã thu được các khuẩn lạc có dạng tròn, trắng đục, không màu, bờ láng, bìa nguyên (Hình 1). Khuẩn lạc phân lập đều nằm trên đường cấy và không lẫn với những khuẩn lạc có hình thái và màu sắc lạ.



Hình 1: Khuẩn lạc của chủng T1 (A) và Y1 (B)

Các chủng vi khuẩn T3, T2, C, B4, V3, D, S1 và V1 có đặc điểm tế bào: hình cầu, kết chuỗi. Các chủng Y1, V5, B2, B5, S4 và S2 có đặc điểm tế bào: que ngắn, kết chuỗi. Các chủng T4, S1, B3 và V2 có dạng tế bào là hình cầu, kết đôi. Các chủng T5 và T1 có dạng tế bào hình que, kết đám. Chủng

B3 có dạng tế bào hình que, kết đôi. Chủng V4 có dạng tế bào hình que cong, kết đám. Hình ảnh đại diện một số dạng tế bào phân lập được trình bày ở Hình 2. Tất cả các chủng vi khuẩn này đều không di động.



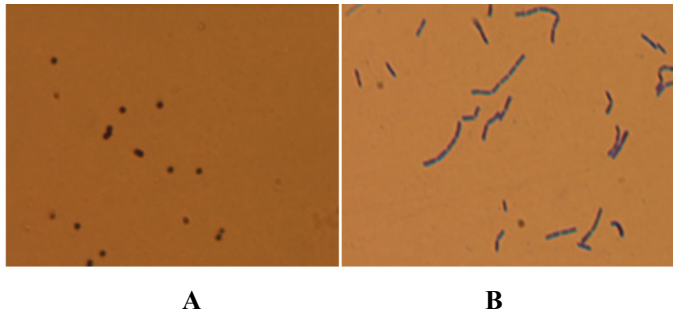
Hình 2: Tế bào chủng B1 (A), B2 (B) và S1 (C)

2.1.2 Đặc điểm sinh lý và sinh hóa

Một số thử nghiệm đặc trưng để xác định các đặc tính sinh lý và sinh hoá của vi khuẩn lactic bao gồm: nhuộm Gram, thử nghiệm catalase và

oxidase, kiểm tra khả năng phân giải CaCO₃.

– *Nhuộm Gram*: Tất cả tế bào của 22 chủng vi khuẩn phân lập đều bắt màu tím xanh của phẩm nhuộm crystal violet (Hình 3), chứng tỏ các chủng vi khuẩn thuộc vi khuẩn Gram dương.



Hình 3: Mẫu nhuộm Gram của chủng vi khuẩn V2 (A) và T2 (B) ở độ phóng đại X100

– *Thử nghiệm catalase*: Các chủng vi khuẩn trên đều không xảy ra hiện tượng hình thành bọt khí khi kiểm tra với H₂O₂ 30% nên các chủng vi khuẩn này không có enzyme catalase.

– *Thử nghiệm oxidase*: Không xuất hiện màu tím sẫm khi cho các chủng vi khuẩn lên giấy có thuốc thử Tetramethyl-p-phenyldiamin dihydrochlorid 1% nên chúng không có thể hiện hoạt tính của enzyme oxidase.

Qua các thử nghiệm trên, có thể kết luận các chủng vi khuẩn được phân lập thuộc nhóm vi khuẩn lactic dựa trên các đặc tính điển hình: Gram dương, catalase và oxydase âm tính, tế bào vi khuẩn có dạng hình que hoặc hình cầu, khuẩn lạc có dạng tròn, trắng đục, không màu, bờ láng, bìa

nguyên (Abee *et al.*, 1999).

2.2 Sơ tuyển các chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men lactic

Sau 48 giờ ủ, tất cả các chủng phân lập đều có khả năng sinh acid và phân giải CaCO₃ trên môi trường nuôi cấy. Kết quả xác định đường kính vòng phân giải (cm) được trình bày ở Bảng 1. Trong 22 chủng vi khuẩn phân lập, 7 chủng có đường kính vòng phân giải lớn nhất: B1 (1,9 cm), B4 (1,83 cm), S4 (1,67 cm), S2 (1,67 cm), D1 (1,63 cm), S1 (1,60 cm) và B5 (1,50 cm) và không có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%. Kết quả cho thấy 7 chủng này có khả năng sinh acid lactic tốt nên được chọn để thử nghiệm khả năng lên men sữa có bổ sung Spirulina.

Bảng 1: Đường kính trung bình (cm) vòng phân giải CaCO₃ của các chủng vi khuẩn

Nguồn phân lập	Tên chủng vi khuẩn	Đường kính trung bình vòng phân giải (cm)
Sữa chua - Nhà học B1	B1	1,90 ^a
Sữa chua - Nhà học B1	B4	1,83 ^{ab}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	S4	1,67 ^{abc}
Sữa chua - siêu thị Big C	S2	1,67 ^{abc}
Sữa chua - siêu thị Big C	D1	1,63 ^{abc}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	S1	1,60 ^{abc}
Sữa chua - siêu thị Big C	B5	1,50 ^{abcd}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	T5	1,40 ^{bcd}
Sữa chua - siêu thị Big C	V5	1,40 ^{bcd}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	C1	1,37 ^{cde}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	T2	1,37 ^{cde}
Sữa chua - siêu thị Big C	V1	1,33 ^{cdef}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	T4	1,30 ^{cdef}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	T1	1,30 ^{cdef}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	T3	1,10 ^{deffg}
Sữa chua - Nhà học B1	B2	1,10 ^{defg}
Sữa chua - Nhà học B1	B3	1,10 ^{defg}
Sữa chua - siêu thị Big C	Y1	1,10 ^{defg}
Sữa chua - siêu thị Big C	V2	1,10 ^{defg}
Sữa chua - siêu thị Co.opmart	S3	0,93 ^{efg}
Sữa chua - siêu thị Big C	V3	0,90 ^{fg}
Sữa chua - siêu thị Big C	V4	0,70 ^g

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định LSD

2.3 Tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng lên men sữa bổ sung tảo Spirulina

Sau 8 giờ ủ, pH, độ Brix và acid tổng của các mẫu sữa chua bổ sung tảo Spirulina được phân tích và kết quả được thể hiện ở Bảng 2. Giá trị pH của 7 chủng vi khuẩn lactic giảm và trong khoảng 4,91-

5,76 (pH ban đầu 6,47). Dịch lên men từ chủng S4 và B3 có giá trị pH tương đối cao, lần lượt là 5,76 và 5,73. Giá trị pH dịch lên men các chủng B1, S2, B4, D1 và S1 trong khoảng 4,91-5,26, không khác biệt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% và gần với mức pH tạo mùi vị đặc trưng cho sản phẩm sữa chua, pH trong khoảng 4,2-4,4 (Adam, 2000).

Bảng 2: Giá trị pH, độ Brix và acid tổng sản phẩm trước và sau lên men

Chủng vi khuẩn	pH		°Brix		Acid tổng (% w/v)	Mật số tế bào (log CFU/mL)
	Trước lên men	Sau lên men	Trước lên men	Sau lên men		
S4		5,76 ^a		25,0 ^a	0,39 ^b	10,61 ^d
B4		5,73 ^a		24,8 ^a	0,29 ^c	10,76 ^c
B5		5,00 ^{bc}		20,3 ^b	0,58 ^a	10,56 ^d
D1	6,47	5,26 ^b	27,0	19,2 ^c	0,54 ^a	10,92 ^{ab}
S1		4,91 ^c		20,3 ^b	0,60 ^a	10,79 ^{bc}
S2		5,11 ^{bc}		20,1 ^b	0,61 ^a	10,98 ^a
B1		5,19 ^{bc}		20,3 ^b	0,54 ^a	10,95 ^a

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% theo kiểm định LSD

Độ Brix của dịch lên men từ các chủng vi khuẩn lactic trong khoảng 19,2-25,0°Brix, giảm so với trước khi lên men, độ Brix ban đầu là 27,0°Brix. Dịch lên men từ chủng S4 và B3 có giá

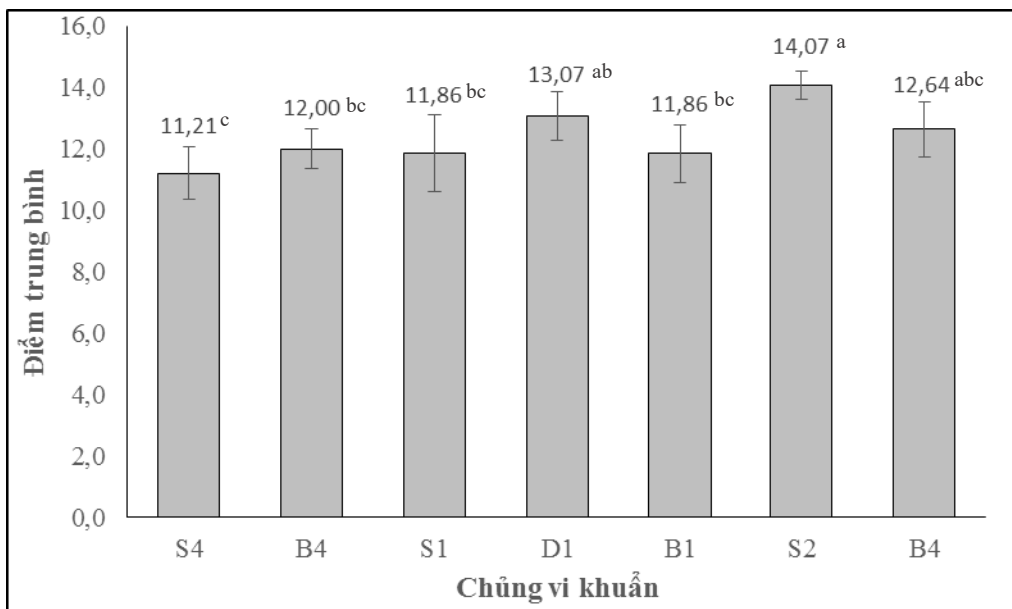
trị độ Brix tương đối cao, lần lượt là 25,0 °Brix và 24,8°Brix, chỉ giảm nhẹ so với độ Brix ban đầu. Độ Brix dịch lên men từ các chủng B1, B5, S1 và S2, trong khoảng 20,1-20,3°Brix, không có sự khác

biệt về ý nghĩa thống kê. Dịch lên men từ chủng D1 có giá trị độ Brix thấp nhất (19,20°Brix), giảm mạnh nhất và khác biệt về ý nghĩa thống kê so với 6 chủng còn lại.

Giá trị acid tổng của dịch lên men từ các chủng B1, B4, D1, S1 và S2 tương đối cao (0,54-0,61% (w/v)) và không khác biệt về ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, dịch lên men từ chủng S2 có giá trị acid tổng cao nhất, đạt đến 0,61% (w/v). Dịch lên men từ chủng B4 và S5 có giá trị acid tổng thấp và khác biệt ý nghĩa thống kê với 5 chủng trên, lần lượt là 0,29% và 0,39% (w/v). Giá trị acid tổng càng cao, cho thấy khả năng sinh acid của vi khuẩn lactic trong môi trường dịch lên men càng mạnh.

Mật số (log CFU/mL) của chủng S2, B1 và D1 là cao nhất trong dịch lên men và không khác biệt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%, lần lượt là 10,98; 10,95 và 10,92 log CFU/mL. Chủng S4 và B4 có mật số tế bào thấp hơn nhưng cũng khá cao, lần lượt là 10,61 và 10,56 log CFU/mL.

Kết quả đánh giá cảm quan với hội đồng gồm 7 thành viên cho thấy các mẫu sữa chua lên men từ các chủng S2, D1 và B5 có số điểm đánh giá cảm quan cao và không khác biệt ý nghĩa về mật thống kê, điểm đánh giá lần lượt là 14,07; 13,07 và 11,86. Trong đó, mẫu sữa chua lên men từ chủng S2 có kết quả đánh giá cảm quan cao nhất, đạt 14,07 điểm (Hình 4).



Hình 4: Kết quả đánh giá cảm quan theo TCVN 7030:2002 của các mẫu sữa chua

Ghi chú: Giá trị trong hình là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị trung bình theo sau có các mẫu tự giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa ở độ tin cậy 95%

Kết hợp các kết quả của giá trị pH, độ Brix, acid tổng, mật số tế bào và đánh giá cảm quan thì chủng S2 được tuyển chọn. Các thông số trong sản phẩm lên men với chủng S2: pH 5,11; 20,1°Brix, acid tổng 0,61% (w/v) và mật số 10,98 log CFU/mL. Mẫu sữa chua lên men từ chủng S2 cũng có kết quả đánh giá cảm quan cao nhất so với các mẫu còn lại (điểm đánh giá đạt 14,07/15 điểm).

2.4 Định danh chủng vi khuẩn lactic được tuyển chọn

Chuỗi trình tự nucleotide của chủng S2 được giải trình tự bằng cặp mồi 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACT-3') và 27F (5'-

AGAGTTTGATCCTGGCTC-3') tại vùng gen 16S rRNA đạt 1.354 nucleotide.

```
GTACCTAGTATAACTACAATAACATGCAAT
TCGAACGAACCTGGTATTGATTGGTGCTT
GCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCG
AACTGGTGAGTAACACGTGGGGAACCTGC
CCAGAAGCGGGGATAACACCTGGAAACG
GATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCG
CATGGTCCGAGTTTCAAAGATGGCTTCGGC
TATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATT
AGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATG
GCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGT
AATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGC
GCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGG
```

AATCTTCCACAATGGACGAAAAGTCTGATGG
 AGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTT
 CGGCTCGTAAACTCTGTTGTTAAAGAAGA
 ACATATCTGAGAGTAACTGTTTCAGGTATTG
 ACGGTATTTAACCAGAAAAGCCACGGCTAAC
 TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGG
 TGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGT
 AAAGCAGCGCAGCGGTTTTTAAAGTCTGA
 TGTGAAACCTTCGGCTACCGAAGAGTGCA
 TCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAAGG
 ACAGTGGAACTCATGTGTAGCGGTGAATGC
 GTAGATATGTGGAAGACCCAGTGGCGAG
 GCGCTGTCTGGTCTGAACTGACGCTGAGGC
 TCAAAGTATGGGTAGCAACAGGATTAGATC
 CCTGGTAGTCATACCGTAACGATGATGCTA
 GTGTTGGAGGGTTCGCCTTCATGCTGCGC
 TACGCATTAGCATCCGCCGGGAGACGGCC
 CAAGCTGAACTCAAGGATTGACGGGGCCC
 CACAACGGGGAAGTGGGGTTAATTCAGCT
 ACCGAAAACCTTCCAGGCTTGACTACTAGC
 AATCTAAAAATAAACTTCCTTCGGGAATGG
 AACAGGGGGGCAGGTTGCCCACTCGGCG
 GAAATTTGGTTAATCCCCACGAGCCACCTT
 ATACAGTGCACATAAGTGGCACCTGGTGAC
 TGCGGGAAACCGAGAAGGGGGAGACTCAA
 TCCATGCCTTAACTGGCTACCTGCCAAGG
 AGGCACCATTGCATCCAGAACCCACTAAA
 CCTCCTTCGATTAGCGACCCCCAGAACG
 AACTTTATCGGAACAGCGGGGAATTCCGGC
 TGAACCCACCCTAATTTACCACCGGGGCTT
 AACCCCTAGCATTGAGTTTTAAGGCAGGAA
 AGGGGGGGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAATGGGCAAAACCAAAGTGGGGTTATA
 TGGGGGGAAGGTCCAAAG

Sử dụng công cụ Nucleotide BLAST tại website <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> để so sánh trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng S2. Kết quả cho thấy, tỷ lệ tương đồng cao nhất với *Lactobacillus plantarum* (Accession no. AB510752.1) ở mức 92%.

3 KẾT LUẬN

Kết quả phân lập được 22 chủng vi khuẩn lactic thuần từ 7 sản phẩm sữa chua. Sơ tuyển được 7 chủng có khả năng sinh acid lactic mạnh (đường kính vùng phân giải 1,5-1,9 cm). Chủng S2 có hoạt tính lên men cao nhất (hàm lượng acid đạt 0,61% (w/v) và mật số đạt 10,98 log CFU/mL trong 8 giờ lên men) được tuyển chọn để thử nghiệm khả năng lên men sữa chua bổ sung tảo *Spirulina* và được định danh là *Lactobacillus plantarum* (mức độ tương đồng 92%). Sản phẩm lên men được đánh

giá cảm quan các chỉ tiêu theo TCVN 7030:2002 đạt 14,07/15 điểm.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của Trường Đại học Cần Thơ thông qua đề tài cấp Trường năm 2014 (T2014-44) và một phần hỗ trợ từ đề tài Nghị định thư của Bộ Khoa học và Công nghệ (09/2014/HĐ-NĐT).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abee, T., Beldman G., van de Broek B., Houben J., Nout R., Rombouts F., Schuoststra S., Voragen F., Wouters J., Noomen A. and P. Walstra. 1999. *Food Fermentation*. Wageningen Agricultural University, Holland.
- Adam, M.R. and Moss, M.O. 2000. *Food Microbiology*, 2nd ed. RS C, UK.
- Hồ Thị Lệ. 2009. *Nghiên cứu quy trình sữa chua đậu nành tảo Spirulina*. Khoá luận tốt nghiệp, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.
- Lê Văn Lăng. 1999. *Spirulina - Nuôi trồng, Sử dụng trong Y dược và Dinh dưỡng*. Nhà xuất bản Y học.
- TCVN 7030:2002, Sữa chua – Quy định kỹ thuật. 2002. Bộ Khoa học và Công nghệ.
- Varga, L. 2006. Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology* 108, pp.272-275.