ISO 9001 : 2008

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH

HỘI ĐỒNG KHOA HỌC

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG

XÁC ĐỊNH CÁC THÀNH PHẦN DINH DƯỠNG KHÁC NHAU LÊN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA VI KHUẨN *Lactobacillus garvieae* TRONG VIỆC PHÒNG HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TÍNH TRÊN TÔM BIỂN

Chủ nhiệm đề tài: **NGUYỄN THỊ DIỄM THÚY**

Chức danh: **Sinh viên lớp Đại học nuôi trồng thủy sản 2015**

Đơn vị: **Khoa Nông nghiệp – Thủy sản**

Trà Vinh, ngày tháng năm 2017

ISO 9001 : 2008

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH

HỘI ĐỒNG KHOA HỌC

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG

XÁC ĐỊNH CÁC THÀNH PHẦN DINH DƯỠNG KHÁC NHAU LÊN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA VI KHUẨN *Lactobacillus garvieae* TRONG VIỆC PHÒNG HOẠI TỬ GAN TỤY CẤP TÍNH TRÊN TÔM BIỂN

Xác nhận của cơ quan chủ quản

Chủ nhiệm đề tài

Nguyễn Thị Diễm Thúy

Trà Vinh, ngày tháng năm 2017

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện tại trường Đại học Trà Vinh với mục đích tìm ra được một số thành phần dinh dưỡng phù hợp cho sự phát triển của vi khuẩn lactic có khả năng ứng dụng vào việc nuôi tăng sinh khối vi khuẩn phục vụ cho ngành nuôi trồng thủy sản, chính vì vậy đề tài " xác định các thành phần dinh dưỡng khác nhau lên sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus gavaee* trong việc phòng hoại tử gan tụy cấp trên tôm biển" được tiến hành trong thời gian từ tháng 8/2016 đến tháng 7/2017. Nghiên cứu gồm các nội dung như sau: thử nghiệm khả năng phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* trên các môi trường (1) mật rĩ đường, (2) cơm rượu, (3) nước mía, (4) bột mì, (5) cà rốt + khoai tây + rĩ đường, (6) nước dừa khô, và (7) nghiệm thức đối chứng (MRS bổ sung 1,5% NaCl). Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại trong ống nghiệm có nắp chứa 10 mL môi trường thí nghiệm bổ sung 1,5% NaCl, ủ 48h và đếm số lượng vi khuẩn bằng cách tán đều trên đĩa thạch MRS agar có bổ sung 1,5% NaCl và so màu quang phổ. Kết quả thí nghiệm đã chỉ ra rằng ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức cà rốt + khoai tây + rĩ đường mật số vi khuẩn lactic là cao nhất và không khác biệt có ý nghĩa thống kê thể hiện lần lượt là ($1,15x\ 10^9 \pm 4x\ 10^7$ CFU/mL và $9,7x\ 10^8 \pm 3,6x\ 10^7$CFU/mL), mật số vi khuẩn lactic thấp nhất là ở nghiệm thức cơm rượu 60% ($4,2x\ 10^7 \pm 1,5x\ 10^7$) các nghiệm thức còn lại cho kết quả từ ($5,3x\ 10^7 \pm 5,2x\ 10^7$ đến $5x\ 10^8 \pm 1,4x\ 10^7$ CFU/mL). Tóm lại nghiệm thức cà rốt+ khoai tây+ rĩ đường cho kết quả tốt nhất, có thể ứng dụng các thành phần này vào việc nuôi vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* nhằm tiết kiệm được chi phí cho người sử dụng đồng thời có thể tận dụng được nguồn nguyên liệu sẵn có tại địa phương.

MỤC LỤC

PHẦN MỞ ĐẦU 1

1. Tính cấp thiết của đề tài 1

2. Tổng quan nghiên cứu 2

2.1. Tình hình bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nước lợ 2

2.2. Một số nguyên lí kháng khuẩn từ vi khuẩn Lactic 5

2.3. Các nghiên cứu về thành phần dinh dưỡng của vi khuẩn Lactic 6

3. Mục tiêu 7

4. Đối tượng, phạm vi và phương pháp nghiên cứu 7

4.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu 7

4.2. Quy mô nghiên cứu 7

4.3. Phương pháp nghiên cứu 7

4.3.1. Chuẩn bị thí nghiệm 7

4.3.2. Tiến hành thí nghiệm……...8

PHẦN NỘI DUNG 11

Kết quả thử nghiệm các thành phần dinh dưỡng khác nhau lên sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus gariveae* 11

PHẦN KẾT LUẬN 16

1. Kết luận..... 16

2. Kiến nghị 16

TÀI LIỆU THAM KHẢO.....17

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Tên hình	Số trang
Hình 1: Mật số vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* trên đĩa thạch	11

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Tên bảng	**Số trang**
Bảng 1: Biến động của mật số vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* ở các môi trường nuôi khác nhau.	12

LỜI CẢM ƠN

Em xin chân thành gửi lời cảm ơn đến các quý thầy cô và Ban lãnh đạo khoa Nông nghiệp - Thủy sản, phòng Khoa học công nghệ và Ban lãnh đạo trường Đại học Trà Vinh đã tạo những điều kiện tốt nhất và kinh phí cho em thực hiện đề tài này.

Em xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến cô Nguyễn Thị Trúc Linh và cô Nguyễn Thị Hồng Nhi đã tận tình hướng dẫn và chỉ dạy cũng như giúp đỡ em về cơ sỡ vật chất để đạt được kết tốt trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Trân trọng cảm ơn quý thầy cô Bộ môn Thủy sản trường Đại học Trà Vinh đã chỉ dẫn và giúp đỡ em trong thời gian thực hiện đề tài.

Cuối cùng xin cảm ơn các bạn sinh viên lớp DA15TS đã tận tình giúp đỡ, động viên và chia sẻ trong thời gian thực hiện để có thể đạt được kết quả như mong muốn.

Xin chân thành cảm ơn!

PHẦN MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Việc nuôi tôm sú, tôm thẻ đem lại nguồn lợi nhuận lớn, góp phần vào việc phát triển nền kinh tế nước nhà. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, việc nuôi tôm của người dân gặp nhiều khó khăn do phát sinh nhiều dịch bệnh ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng và phát triển của tôm. Một trong những dịch bệnh nghiêm trọng và gây thiệt hại nặng nề nhất đó là bệnh hoại tử gan tụy cấp tính. Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính xuất hiện sớm nhất ở Trung Quốc năm 2009 sau đó đến Việt Nam 2010 tiếp đến là Thái Lan và Malaysia gây thiệt hại rất lớn cho người nuôi tôm. Theo thống kê của Zorriehzahra and Banaederakhshan (2015) bệnh hoại tử gan tụy cấp tính gây thiệt hại trên 1 tỷ USD hàng năm. Bệnh gây chết trên đối tượng tôm thẻ và tôm sú ở 10-45 ngày sau khi thả giống. Tỷ lệ gây chết có thể lên đến 100% đối với những ao nhiễm nặng. Nguyên nhân gây bệnh là do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang thể thực khuẩn (Trần Hữu Lộc., 2013).

Trên thực tế, có nhiều biện pháp được đề xuất để ngăn chặn sự lây lan của dịch bệnh như dùng hóa chất diệt khuẩn, sử dụng kháng sinh. Tuy nhiên, các biện pháp này có thể không có hiệu quả cao do chúng phát sinh nhiều vi khuẩn gây bệnh kháng lại với kháng sinh cũng như sự tồn lưu thuốc, hóa chất và kháng sinh trong cơ thể thịt tôm làm rào cản cho việc xuất nhập khẩu sang thị trường thế giới. Vì thế sử dụng biện pháp sinh học có thể được xem là biện pháp tối ưu do vừa có thể ngăn chặn được dịch bệnh, vừa không làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm và thân thiện với môi trường.

Hiện nay, người nuôi bắt đầu sử dụng chế phẩm sinh học có nguồn gốc từ vi khuẩn lactic để bổ sung vào thức ăn trong nuôi tôm. Tuy nhiên, người nuôi hoàn toàn phụ thuộc vào chế phẩm của nhà cung ứng, chưa tìm được nguồn nguyên liệu rẻ tiền, dễ tìm, và dễ thực hiện tại địa phương để nuôi cấy vi khuẩn. Vì thế có thể sử dụng các nguồn có sẵn, rẽ tiền, dễ tìm có tại địa phương như nước mía, rỉ đường, cơm rượu, bột mì và nước dừa khô, khoai tây, cà rốt,…để nuôi tăng sinh vi khuẩn và trộn vào thức ăn cho tôm nhằm giúp tôm tiêu hóa tốt hơn và ngăn chặn được bệnh hoại tử gan tụy cấp.

Vi khuẩn lactic được ứng dụng rộng rãi trong việc sản xuất chế phẩm sinh học, bổ sung vào trong thức ăn động vật thủy sản, chăn nuôi cũng như bón vào ao nuôi để ức

chế các loài vi khuẩn gây bệnh. Trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Trúc Linh (2015) đã tìm được 1 chủng vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* có khả năng kháng với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* với đường kính vô trùng 18,5mm và chủng vi khuẩn này có thể phòng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính. Theo nghiên cứu của Võ Trường Thạch (2013) đã nghiên cứu vi khuẩn lactic phát triển tốt ở môi trường có đầy đủ các chất: cacbon, Ni tơ, Vitamin, và các chất khoáng. Trong khi đó, môi trường nước mía, mật rĩ đường, cơm rượu, nước dừa khô, bột mì, khoai tây và cà rốt không những rất dễ tìm, gần gũi với người dân mà còn chứa đầy đủ thành phần dưỡng chất như cascbon, ni tơ, vitamin, khoáng. Vì vậy nghiên cứu " Xác định các thành phần dinh dưỡng khác nhau lên sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* trong việc phòng hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm biển" được tiến hành.

2. Tổng quan nghiên cứu

2.1. Tình hình bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nước lợ

Năm 2009, trên thế giới xuất hiện dịch bệnh hội chứng hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND), chưa xác định được tác nhân, gây chết với tỉ lệ cao, gây tổn thất nghiêm trọng cho nghề nuôi tôm. Ở Trung Quốc, AHPND xảy ra vào năm 2009. Đến năm 2011, sự bùng phát bệnh trở nên nghiêm trọng, đặc biệt ở các trang trại với lịch sử nuôi tôm hơn 5 năm và ở khu vực gần biển sử dụng nguồn nước rất mặn, dịch bệnh đã lây lan sang 4 tỉnh nuôi tôm ở Hải Nam, Quảng Đông, Phúc Kiến và Quảng Tây đã bị thiệt hại hơn 80% trong nửa đầu năm 2011 (Panakorn, 2012).

Ở Malaysia, AHPND đã được báo cáo đầu tiên vào giữa năm 2010 ở các bang bờ Đông: Pahang và Johor, dịch bệnh AHPND bùng phát làm giảm đáng kể sản lượng tôm thẻ chân trắng từ 70.000 triệu tấn vào năm 2010 xuống còn 40.000 triệu tấn vào năm 2011 (Eduardo and Mohan, 2012). Sau đó dịch bệnh AHPND lan sang các bang Sabah và Sarawak, dự báo sản lượng năm 2012 chỉ có 30.000 tấn và vào tháng 04/2012 sẽ tệ hơn dự kiến (Eduardo and Mohan, 2012).

Ở Thái Lan, với bề dày kinh nghiệm nuôi tôm công nghiệp khá lâu trên 30 năm, người nuôi đã sử dụng con giống chất lượng và quy trình kỹ thuật tiên tiến, tỷ lệ sống của tôm nuôi đạt 60-80%. Thế nhưng bệnh AHPND lần đầu tiên được báo cáo trên các trang trại nuôi tôm ở phía Đông Vịnh Thái Lan vào cuối năm 2011 và ảnh hưởng trên

tôm thẻ trong suốt thời gian 15-35 ngày sau khi thả nuôi, với tỉ lệ chết cao (100% ở 1 số ao) (FAO, 2013). Vào đầu năm 2012 bệnh AHPND được báo cáo ở bờ biển phía Đông (Vịnh Thái Lan) trong thời gian này bệnh AHPND gây thiệt hại khoảng 50% diện tích nuôi tôm ở một số khu vực như: Chachoengsao, Rayong, Chantiburi và tỉnh Trad và ở phần phía Nam của quốc gia thuộc tỉnh : Surattani và Songkhla. Tôm bị nhiễm bệnh có biểu hiện lâm sàng như: hôn mê, bỏ ăn, mềm vỏ, màu nhạt, tuyến gan tụy teo lại (FAO, 2013).

Ở Việt Nam theo tổng cục Thuỷ sản (2012) hội chứng hoại tử gan tụy cấp tính đã xuất hiện khắp vùng nuôi tôm ven biển ở 9 tỉnh khu vực ĐBSCL vào năm 2010 và đến năm 2011 thì bùng phát thành dịch trên diện rộng, gây thiệt hại hơn 97.000 ha (đa phần là tôm sú); tập trung nhiều nhất tại các tỉnh Sóc Trăng, Bạc Liêu, Bến Tre và Cà Mau.

Tháng 05/2011, dịch bệnh lan rộng tại các vùng nuôi tôm khu vực ĐBSCL khiến cho diện tích nuôi tôm bị thiệt hại nặng. Diện tích thả nuôi tôm sú và tôm thẻ chân trắng của cả nước là 558.342 ha, riêng khu vực ĐBSCL có diện tích nuôi tôm bị thiệt hại là 52.470 ha. Trong đó Sóc Trăng có hơn 25.000 ha tôm nuôi thâm canh, bán thâm canh bị mất trắng (Báo Công Thương, ngày 16/02/2012). Hơn thế nữa, vào tháng 6/2011, với 11.000 ha tôm sú ở Bạc Liêu, 6.200 ha ở Trà Vinh và 20.000 ha ở Sóc Trăng bị thiệt hại (Mooney, 2012).

Thống kê của Tổng cục Thủy sản (2013) trong năm 2012, cả nước có khoảng 100.776 ha diện tích tôm nước lợ bị thiệt hại do dịch bệnh, trong đó tôm sú là 91.174 ha gây thiệt hại lớn về kinh tế cho người nuôi và ảnh hưởng đến sản lượng, giá trị xuất khẩu. Nguyên nhân chủ yếu được xác định là do dịch bệnh hoại tử gan tụy và bệnh đốm trắng gây ra kèm theo một số nguyên nhân như thời tiết biến đổi bất thường, chất lượng môi trường nuôi chưa tốt; nuôi tôm không theo lịch thời vụ khuyến cáo; sử dụng hóa chất, thuốc thú y, chế phẩm sinh học còn tùy tiện, chưa được kiểm soát chặt chẽ; chất lượng con giống chưa bảo đảm,.... Các địa phương bị dịch bệnh nhiều nhất là Sóc Trăng thiệt hại 23.371,5 ha (56,6% diện tích thả nuôi); Bạc Liêu 16.919 ha (50% diện tích thả nuôi); Bến Tre thiệt hại 2.237 ha nuôi thâm canh, bán thâm canh (29,06% diện tích thả nuôi); Trà Vinh thiệt hại 12.200 ha (49,3% diện tích thả nuôi). Riêng Tiền Giang, diện tích tôm nuôi thâm canh và bán thâm canh bị thiệt hại là 922,88 ha, chiếm 30,63% tổng diện tích thả nuôi tôm.

Đầu vụ nuôi năm 2013, tình hình dịch bệnh vẫn tiếp tục diễn biến và gây thiệt hại đến diện tích nuôi tôm ở một số tỉnh ĐBSCL. Theo Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn tỉnh Trà Vinh, tính đến tháng 3, trên địa bàn tỉnh đã có gần 400 hộ nuôi tôm tại các huyện Duyên Hải, Cầu Ngang và Trà Cú thả nuôi tôm thẻ chân trắng thì trong đó có gần một nửa trong số này đã bị thiệt hại và chưa có dấu hiệu dừng lại. Tình trạng tương tự cũng được ghi nhận ở một số ao nuôi tôm sú thâm canh thuộc các huyện Đầm Dơi, Phú Tân, Cái Nước với thiệt hại trên 116 ha trong số 2.740 ha diện tích tôm đang nuôi. Trong 3 tháng đầu năm 2013, sản lượng nuôi trồng thuỷ sản của tỉnh Cà Mau chỉ đạt 45.000 tấn, thấp hơn nhiều so với cùng kỳ, báo hiệu một năm kinh tế thuỷ sản đang đứng trước nhiều khó khăn. Nguyên nhân tôm chết ở 2 tỉnh đã được xác định đa phần do nhiễm bệnh đốm trắng và hoại tử gan tụy cấp làm cho tôm chết ở giai đoạn 25- 40 ngày tuổi, gây thiệt hại nặng, đặt ra nhiều thách thức cho nghề nuôi tôm trong năm.

Năm 2014 tổng diện tích tôm nuôi bị hội chứng hoại tử gan tụy cấp là 5.591,74 ha, chiếm 0,82% diện tích nuôi của cả nước. Tôm bị nhiễm bệnh hoại tử gan tụy cấp chủ yếu tôm thẻ chân trắng (*http://www.fistenet.gov.vn*).

Theo báo cáo của Tổng cục thủy sản, ước tính quý 1 năm 2015 các tỉnh ven biển khu vực Nam Bộ đã thả nuôi 506.000 ha, trong đó tôm sú là 491.000 ha, tôm thẻ chân trắng 15.000 ha. Đối với tình hình dịch bệnh, theo báo cáo của Cục Thú y, tính đến 25/03/2015, tổng diện tích nuôi tôm nước lợ bị thiệt hại là 2.244 ha. Về tác nhân gây bệnh thì dịch bệnh đốm trắng đang diễn biến phức tạp và trên diện rộng, sau đó là bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (*http://www.sonnptnt.soctrang.gov.vn*).

Các kết quả vừa nêu đã cho thấy rằng tình hình dịch bệnh hoại tử gan tụy ở nhiều quốc gia trên thế giới đã và đang diễn biến rất phức tạp thể hiện cụ thể là vào năm 2011-2012 dịch bệnh gây thiệt hại rất lớn đối với người nuôi tôm, thiệt hại ước tính trung bình trên 50% tổng diện tích tôm nuôi ở một số nước châu Á như Trung Quốc, Thái Lan, Malaysia, và cả Việt Nam. Trong thời gian này tác nhân gây bệnh chưa được xác định vì thế người nuôi rất khó kiểm soát được dịch bệnh. Tuy nhiên, năm 2013 tác nhân gây bệnh đã được xác định là do vi khẩn *Vibrio parahaemolyticus* nhưng đến nay dịch bệnh vẫn chưa có dấu hiệu dừng lại mà còn diễn biến phức tạp, gây thiệt hại nghiêm trọng cho người nuôi tôm. Để hạn chế tác nhân gây bệnh người nuôi thường sử dụng kháng sinh và các hóa chất diệt khuẩn. Điều này làm tăng nguy cơ kháng thuốc

kháng sinh và dễ gây ô nhiễm môi trường. Vì vậy để hạn chế ô nhiễm môi trường và nâng cao chất lượng sản phẩm cũng như đẩy lùi được dịch bệnh hoại tử gan tụy cấp thì cần có những nghiên cứu thật sâu về việc sử dụng vi khuẩn có lợi đối kháng với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* đặc biệt là sử dụng nhóm vi khuẩn lactic để khống chế nhóm vi khuẩn gây bệnh này.

Nhóm vi khuẩn lactic là nhóm vi khuẩn được ứng dụng rộng rãi trong việc chế biến các sản phẩm sinh học , bổ sung vào thức ăn của động vật thuỷ sản, thức ăn chăn nuôi cũng như việc bón vào ao nuôi dể ức chế các loài vi khuẩn gây bệnh cho động vật thuỷ sản. Trong nhóm vi khuẩn lactic thì dòng vi khuẩn *Lactobacillus* có khả năng tiết ra chất ức chế lại các loài vi khuẩn gây hại cho tôm giống *Lactobacillus* đã dược nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều lĩnh vực.

2.2. Một số nguyên lí kháng khuẩn từ vi khuẩn Lactic

Vi khuẩn lactic bao gồm một số giống: *Carnobacterim, Enterococcus, Lactobaccillus, Lactococcus, Lactophaera, Leuconostoc, Melissococcus, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus, và Weissella* thuộc ngành Fermicute (Jay.,2000; Ercolini *et al*., 2001; Holzapfel *et al*.,2001).

Việc phân loại vi khuân lactic phần lớn là dựa trên hình thái học, quá trình lên men, khả năng chịu nhiệt, độ mặn , quá trình sản xuất acid lactic, và chịu được acid hoặc kiềm. Phân loại vi khuẩn lactic còn được thực hiện theo con đường hóa học như thành phần acid béo và các thành phần của tế bào, ngoài ra phương pháp sinh học di truyền hiện đại cũng được sử dụng trong phân loại(Wood và Holzapfel., 1995).

Vi khuẩn lactic biểu thị một loạt các hoạt động kháng khuẩn như là: sản xuất các hợp chất kháng khuẩn như ethanol, acid hữu cơ, hydrogen peroxide, diacetyl, reuterin, reutericyclin và đặc biệt là bacteriocin. Bên cạnh việc sản xuất ra hợp chất như bacteriocin, một số vi khuẩn lactic còn có thể tổng hợp peptide kháng khuẩn khác góp phần vào việc bảo quản thực phẩm một cách an toàn. Một trong những đặc điểm của các hợp chất kháng khuẩn là khả năng chống lại các vi khuẩn gây bệnh đường ruột như *Escherichia coli, Salmonella* và nhóm *Vibrio* spp. (De Vuyst và Leroy, 2007).

Acid hữu cơ là sản phẩm chính của quá trình lên men, tùy vào từng chủng vi khuẩn và điều kiện môi trường mà sản phẩm acid là khác nhau (Yang *et al.*, 2000). Acid lactic là sản phẩm chính của quá trình lên men lactic. Acid lactic làm giảm pH

môi trường dẫn đến ảnh hưởng pH nội bào của vi khuẩn gây bệnh nên có tác dụng ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh. Khi acid lactic đi qua màng tế bào, nó sẽ giải phóng ra proton H^+, làm phá hủy cơ chế vận chuyển qua màng tế bào gây chết tế bào vi khuẩn (Đặng Phương Nga và *ctv,* 2007). Mặt khác, pH giảm cũng ức chế quá trình đường phân, tế bào vi khuẩn cạn kiệt năng lượng dẫn đến chết tế bào. Do đó, việc sử dụng chế phẩm chứa vi khuẩn lactic đưa vào đường ruột của vật nuôi sẽ làm giảm pH đường ruột làm cho các vi khuẩn gây bệnh không phát triển được, từ đó làm giảm tác hại cho vi sinh vật gây ra.

2.3. Các nghiên cứu về thành phần dinh dưỡng của vi khuẩn Lactic

Mật rĩ đường có nhiều ưu điểm để tạo môi trường nuôi cấy vi sinh vật do chúng chứa hàm lượng đường cao, các chất hữu cơ, vô cơ, Vitamin và các chất kích thích sinh trưởng. Tuy nhiên mật rỉ đường cũng có một số bất lợi như có màu nâu sẫm, khó phân hũy trong quá trong quá trình lên men, dễ bị vi sinh vật khác xâm nhập. Trong môi trường mật rỉ đường vi khuẩn có khả năng phát triển tốt trong các điều kiện khác nhau.(*http://123doc.org/document/323319-nghien-cuu-qua-trinh-len-men-lactic-tu-mat-ri-duong.htm*).

MRS cải tiến (bao gồm cao thịt bò (10g/L), cao nấm men (5g/L), trupton (10g/L), sucrose (20g/L), ammonium citrote (2g/L), $MgSO_4$ (0.2g/L), $MnSO_4$ (0.05g/L), Tween 80 (1ml/L)) pH môi trường là 6,0 thì vi khuẩn lactic phát triển tốt. (Lê Ngọc Thùy Trang và Phạm Minh Nhật, 2014).

Kim chi, sữa chua vinamilk, sữa chua uống yakult, nước tàu hủ, nem chua, sản phẩm men tiêu hóa đông khô vi khuẩn phát triển rất tốt (lactominplus, bioacimim, zincibio, antibio, probio và probactil) (Ngô Thị Phương Dung *và ctv*., 2011).

Trong sản phẩm mắm chua cá sặc đã phân lập được 4 dòng vi khuẩn trong đó có 3 dòng thuộc nhóm vi khuẩn lactic (Pediococcus acidilactici, Lactobacillus farciminis, Lactobacillus farciminis.) (Đỗ Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Văn Thành và Nguyễn Hữu Hiệp, 2014).

Môi trường cải biến I (100g rau cải xanh, 20g ñường kính, 1g K2HPO4, 0,5g MgSO4: bổ sung tới 1000ml nước.) - Môi trường cải biến II: (100g cà chua, 20g ñường kính, 1g K2HPO4, 0,5g MgSO4: 5g cao nấm men bổ sung tới 1000ml nước.) - Môi trường cải biến III: (100g giá ñỗ, 20g ñường kính, 5g cao nấm men bổ sung tới

1000ml nước.)(Mai Đàm Linh, Đỗ Minh Phương , Phạm Thị Tuyết, Kiều Hữu Ảnh, Nguyễn Thị Giang, 2007)

Vi khuẩn lactic cần nhu cầu dinh dưỡng từ Cacbon, Nitơ, Vitamin và các khoáng chất cần thiết khác. Nghiên cứu của Huỳnh Thị Yến Ly, 2009 đã cho thấy rằng sử dụng nước thảy tàu hủ có bổ sung KH_2PO_4: 0,24%; $(NH_4)_2SO_4$: 0,53%, và sucrose: 14% vi khuẩn lactic phát triển rất tốt. Ngoài ra vi khuẩn lactic còn phát triển tốt trong môi trường dưa muối chua, mấm làm từ cá (Nguyễn Thanh Tâm, 2011). Tuy nhiên, việc sử dụng những sản phẩm rẽ tiền sẵn có, dể làm, mang lại hiệu quả cho người nuôi thì còn rất hạn chế.

3. Mục tiêu

Xác định thành phần dinh dưỡng tối ưu cho phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus garvieae.*

4. Đối tượng, phạm vi và phương pháp nghiên cứu

4.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: chủng vi khuẩn *Lactobacillus garvieae*
- Địa điểm nghiên cứu: phòng thí nghiệm Bộ môn Thủy sản trường Đại học Trà Vinh.
- Thời gian nghiên cứu: 12 tháng (từ 8/2016 đến 7/2017)

4.2. Quy mô nghiên cứu

Đề tài được thực hiện với quy mô cấp trường

4.3. Phương pháp nghiên cứu

4.3.1. Chuẩn bị thí nghiệm

+ Một chủng vi khuẩn lactic kháng mạnh với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* (Nguyễn Thị Trúc Linh, 2015) được trữ tại phòng thí nghiệm Nông nghiệp - Thuỷ sản chuyên sâu, Bộ môn Thuỷ Sản Trường Đại học Trà Vinh. Chủng vi khuẩn này sẽ được nuôi trong 50 mL môi trường MRS broth bổ sung 1,5% NaCl trong 48 giờ, sau 48 giờ xác định mật số vi khuẩn bằng phương pháp so màu quang phổ với bước sóng 610nm và tiến hành thí nghiệm.

+ Mía đường được mua tại các hộ dân trồng mía, sau khi mua về mía được rửa sạch bỏ phần vỏ cứng bên ngoài sau đó sử dụng máy ép nước mía để ép lấy nước và dùng lượt mịn để loại bỏ bớt cặn và tiến hành thí nghiệm.

+ Mật rĩ đường được mua từ công ty Trách nhiệm hữu hạn thương mại dịch vụ phát triển kỹ thuật Kim Minh Thành Phố Hồ Chí Minh. Rĩ đường gồm các thành phần: nước, sucroza, glucoza, fructoza, gluxid, khoáng, các chất chứa đạm,...(Wolfrom and Binkley., 1953). Mật rĩ đường sau khi mua về sẽ được pha loãng lần lượt với nước cất để đạt được tỷ lệ 2, 4, 6, 8, 10% trong chai thủy tinh, bổ sung 1,5% NaCl và tiến hành thí nghiệm.

+ Cơm rượu được mua từ các cơ sở sản xuất rượu Xuân Thạnh tại huyện Châu Thành tỉnh Trà Vinh. Cơm rượu sau khi mua về sẽ được pha loãng với nước cất theo tỷ lệ cơm rượu 20, 40, 60, 80%, bổ sung 1,5% NaCl.

+ Nước dừa khô được mua từ các hộ dân trồng dừa, mua dừa khô tại vườn. Dừa sau khi mua về sẽ được bổ ra để lấy nước và bổ sung 1,5% NaCl.

+ Bột mì được mua tại các cửa hàng tạp hóa tại tỉnh Trà Vinh, bột mì phải tinh sạch và không trộn lẫn các loại bột khác.

+ Khoai tây và cà rốt được mua tại siêu thị Coopmart Trà Vinh, Khoai tây và cà rốt sau khi mua về sẽ được rửa sạch gọt bỏ vỏ, thái sợi và đem nấu với nước với tỷ lệ cà rốt, khoai tây và nước là 1:1:4, đun sôi khoảng 15 phút dùng lượt lọc lấy nước chiết, bổ sung 1,5% NaCl và tiến hành thí nghiệm.

4.3.2. Tiến hành thí nghiệm

+ Thử nghiệm khả năng nhân mật số của vi khuẩn lactic với thành phần môi trường nuôi là nước mía nguyên chất .

Thí nghiệm được bố trí với 3 lần lặp lại trong ống nghiệm chứa 10 mL nước mía bổ sung 1,5% NaCl và hấp tiệt trùng ở nhiệt độ 121^0C trong 30 phút, để nguội, tiếp đến hút 1mL vi khuẩn lactic đã được nuôi sau 48 giờ cho vào môi trường thử nghiệm, ủ ở nhiệt độ 28^0C trong 48 giờ. Sau 48 giờ đếm số lượng vi khuẩn bằng cách tán đều trên đĩa thạch MRS agar có bổ sung 1,5% NaCl và so màu quang phổ.

+ Kiểm tra khả năng nhân mật số vi khuẩn lactic với thành phần môi trường nuôi là rỉ đường.

Thí nghiệm 1 nhân tố gồm 5 nghiệm thức: nghiệm thức 1 thành phần rĩ đường là 2%; nghiệm thức 2 chứa thành phần rĩ đường là 4%; nghiệm thức 3 chứa thành phần rĩ đường là 6%; nghiệm thức 4 chứa thành phần rĩ đường là 8%, nghiệm thức 5 chứa thành phần rĩ đường 10%, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần trong ống nghiệm chứa 10 mL dung dịch, bổ sung 1,5% NaCl, sau đó đem hấp tiệt trùng ở nhiệt độ 121^0C trong 30 phút và tiến hành thí nghiệm. Các thao tác tiếp theo được thực hiện giống như môi trường nước mía.

+ Kiểm tra khả năng nhân mật độ vi khuẩn lactic với thành phần môi trường cơm rượu.

Thí nghiệm một nhân tố được bố trí trong ống nghiệm chứa 10mL môi trường gồm 4 nghiệm thức với 3 lần lặp lại: nghiệm thức 1 có chứa 20% thành phần cơm rượu; nghiệm thức 2 chứa 40% thành phần cơm rượu; nghiệm thức 3 chứa 60% thành phần cơm rượu; và nghiệm thức 4 có chứa 80% thành phần cơm rượu. Tất cả các nghiệm thức bổ sung 1,5% NaCl. Các thao tác tiếp theo được thực hiện giống như thí nghiệm của môi trường nước mía.

+ Kiểm tra khả năng nhân mật độ vi khuẩn lactic với thành phần môi trường là nước dừa khô.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại trong ống nghiệm có chứa 10mL nước dừa khô đã được hấp tiệt trùng, bổ sung 1,5% NaCl. Các thao tác tiếp theo được thực hiện giống như thành phần môi trường của nước mía.

+ Thử nghiệm khả năng nhân mật số của vi khuẩn lactic với thành phần môi trường nuôi là bột mì kết hợp với nước mía pha loãng.

Thí nghiệm được bố trí với 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần trong ống nghiệm chứa 10 mL môi trường nuôi của từng nghiệm thức. Nghiệm thức 1: gồm 1% bột mì và 30% nước mía nguyên chất, 69% là nước cất. Nghiệm thức 2: gồm 5% bột mì, 30% nước mía nguyên chất và 65% nước cất; và nghiệm thức 3: gồm 10% bột mì, 30% nước mía nguyên chất và 60% là nước cất. Tất cả các nghiệm thức này bổ sung 1,5% NaCl. Các thao tác tiếp theo được thực hiện giống như thành phần môi trường của nước mía.

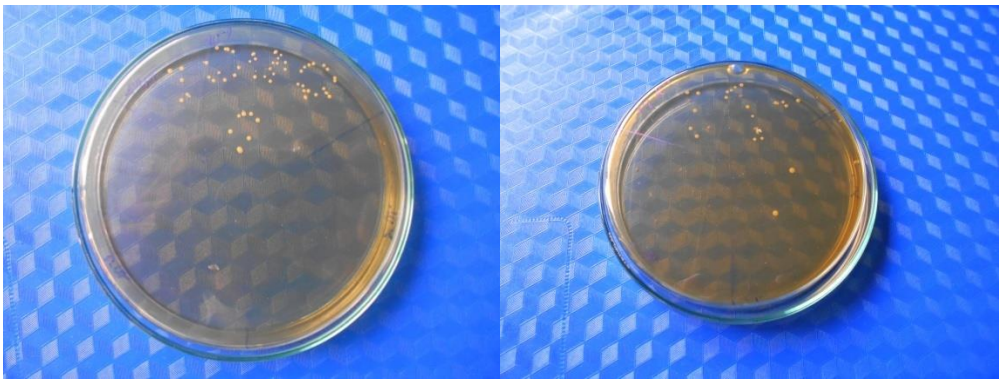
+ Thử nghiệm khả năng nhân mật số của vi khuẩn lactic với thành phần môi trường nuôi là khoai tây kết hợp với cà rốt và rĩ đường.

Thí nghiệm một nhân tố được thực hiện với 3 lần lặp lại trong ống nghiệm chứa 10mL nước chiết khoai tây và cà rốt, bổ sung 5% rĩ mật đường và 1,5% NaCl. Các thao tác tiếp theo được thực hiện giống như thành phần môi trường của nước mía.

PHẦN NỘI DUNG

Kết quả thừ nghiệm các thành phần dinh dưỡng khác nhau lên sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus gariveae*

Kết quả thí nghiệm cho thấy rằng ở các môi trường nuôi khác nhau thì mật số vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* cũng khác nhau. Mật số vi khuẩn được tán trên đĩa thạch được thể qua Hình 1.



Hình 1: Mật số vi khuẩn *Lactobacillus garvieae*trên đĩa thạch

Kết quả thí nghiệm từ Hình 1 cho thấy rằng ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm, vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* đều phát triển. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với Võ Trường Thạch (2013), vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* đều phát triển trên môi trường có chứa tổ hợp các thành phần Cacbon, Ni tơ, và một số khoáng chất. Tóm lại, vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* đều phát triển trong các môi trường thí nghiệm. Tuy nhiên, mỗi môi trường khác nhau thì vi khuẩn phát triển với mật số khác nhau. Kết quả được thể hiện qua Bảng 1.

Bảng 1: Biến động của mật số vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* ở các môi trường nuôi khác nhau.

Môi trường nuôi *L. garvieae*	Mật số *L. Garvieae* PP so màu quang phổ	Mật số *L. Garvieae* đếm đĩa thạch
MRS	$1{,}15x\ 10^{9} \pm 4x\ 10^{7a}$	$1{,}14x\ 10^{9} \pm 3{,}8x\ 10^{7a}$
Rĩ đường 2%	$1{,}95x\ 10^{8} \pm 2{,}2x\ 10^{7bc}$	$1{,}94x\ 10^{8} \pm 2{,}3x\ 10^{7bc}$
Rĩ đường 4%	$3\ x\ 10^{8} \pm 3x\ 10^{7bc}$	$1{,}93x\ 10^{8} \pm 1{,}4x\ 10^{8bc}$
Rĩ đường 6%	$2{,}7x\ 10^{8} \pm 3{,}7x\ 10^{7bc}$	$2{,}7x\ 10^{8} \pm 5{,}1x\ 10^{7bc}$
Rĩ đường 8%	$2{,}7x\ 10^{8} \pm 3{,}7x\ 10^{7bc}$	$2{,}7x\ 10^{8} \pm 3{,}7x\ 10^{7bc}$
Rĩ đường 10%	$1{,}3x\ 10^{8} \pm 1{,}7x\ 10^{7c}$	$1{,}3x\ 10^{8} \pm 1{,}7x\ 10^{7c}$
Cơm rượu 20%	$1{,}2x\ 10^{8} \pm 3x\ 10^{7c}$	$1{,}2x\ 10^{8} \pm 2{,}8x\ 10^{7c}$
Cơm rượu 40%	$5{,}3x\ 10^{7} \pm 5{,}2x\ 10^{7c}$	$5{,}1x\ 10^{7} \pm 5{,}3x\ 10^{7c}$
Cơm rượu 60%	$4{,}2x\ 10^{7} \pm 1{,}5x\ 10^{7c}$	$4{,}2x\ 10^{7} \pm 1{,}6x\ 10^{7c}$
Cơm rượu 80%	$3{,}3x\ 10^{8} \pm 4{,}1x\ 10^{8bc}$	$3{,}2x\ 10^{8} \pm 4\ x\ 10^{8bc}$
Nướcmía+bộtmì 1%	$6{,}8x\ 10^{7} \pm 4{,}8x\ 10^{7c}$	$6{,}7x\ 10^{7} \pm 4{,}9x\ 10^{7c}$
Nướcmía+bộtmì 5%	$3x\ 10^{8} \pm 1{,}1x\ 10^{8\ bc}$	$3x\ 10^{8} \pm 1{,}1x\ 10^{8bc}$
Nướcmía+bộtmì10%	$2{,}9x\ 10^{8} \pm 7{,}5x\ 10^{7bc}$	$2{,}9x\ 10^{8} \pm 7{,}5x\ 10^{7bc}$
Nước mía	$2{,}2x\ 10^{8} \pm 5x\ 10^{6bc}$	$2{,}2x\ 10^{8} \pm 4x\ 10^{6bc}$
Nước dừa khô	$5x\ 10^{8} \pm 1{,}4x\ 10^{7b}$	$5x\ 10^{8} \pm 4{,}6x\ 10^{6b}$
Cà rốt + khoai tây + rĩ đường	$9{,}7x\ 10^{8} \pm 3{,}6x\ 10^{7a}$	$9{,}7x\ 10^{8} \pm 3{,}6x\ 10^{7a}$

Các giá trị trong cùng một hàng ngang theo sau cùng chữ cái (a, b, c) thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Ngược lại các giá trị trong cùng một hàng ngang khác chử cái (a, b,c) thì khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Kết quả thí nghiệm phân tích đã xác định mật độ vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* theo hai phương pháp so màu quang phổ và đếm trên đĩa thạch của cùng một nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau, thể hiện như sau: Trong tất cả các môi trường nuôi đều thích hợp cho sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus garvieae*. Trong đó, nghiệm thức cà rốt + khoai tây + rĩ đường cho kết quả tốt nhất và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Thể hiện lần lượt là 9,7 x 10^8 CFU/mL và 1,15 x 10^9CFU/mL. Kết quả này có thể được giải thích như sau: môi trường MRS là môi trường đặt trưng chứa đầy đủ các nhu cầu về dinh dưỡng của vi khuẩn *Lactobacillus* vì vậy mật số khuẩn lạc đạt cao nhất là 1,15 x 10^9CFU/mL. Đối với nghiệm thức cà rốt + khoai tây + rĩ đường đạt mật số 9,7 x 10^8CFU/mL do đây là môi trường cung cấp các chất dinh dưỡng cần thiết cho nhu cầu phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus* như trong mật rĩ đường chứa hàm lượng đường cao, các chất hữu cơ, vô cơ, vitamim và các chất kích thích sinh trưởng khác (Lê Văn Việt Mẫn, 2013). Bên cạnh đó, cà rốt chứa hàm lượng đường tổng số, axit, caroten, chất khô, các chất khoáng như Fe, Ca, K, P, vitamin C , B6 và protein (Phạm Thị Nga, 2011), trong khoai tây có các chất như nước, tinh bột, hợp chất nitơ cenlulose, tro, chất béo và các chất khác (Lê Văn Việt Mẫn, 2015), các thành phần này kết hợp lại đã tạo nên một môi trường phát triển tốt đầy đủ các chất dinh dưỡng cần thiết cho vi khuẩn *Lactobacillus garvieae.*

Đối với nghiệm thức cơm rượu thì mật số vi khuẩn *Lactobacillus* ở nồng độ cơm rượu 80% cho kết quả cao nhất (3,3 x 10^8CFU/mL) và thấp nhất trong thí nghiệm là nghiệm thức cơm rượu 60% với mật số đạt 4,2 x 10^7 CFU/mL. Nghiệm thức này cho kết quả thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Điều này có thể được giải thích như sau theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Huế, 2013 vi khuẩn *Lactobacillus* sẽ phát triển tốt khi môi trường nuôi chứa hợp chất phức hợp chứa cacbon, nitơ. Trong khi đó nguyên liệu cũng như quy trình sản xuất cơm rượu theo phương pháp truyền thống đã hạn chế tác dụng của amylaza lên các mạch tinh bột, làm hiệu suất đường hóa không cao (Đỗ Tiến Thành, 2011). Điều này đã làm ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn do không cung cấp đủ môi trường dinh dưỡng cần thiết cho chúng sinh trưởng và phát triển.

Nhóm nghiệm thức mật rĩ đường kết quả khuẩn lạc ở nồng độ rĩ đường 2% đến rĩ đường 10% khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Nồng độ rĩ đường 4% cho kết quả cao nhất (2,9 x 10^8CFU/mL), thấp nhất là rĩ đường 10% (1,3 x 10^8 CFU/mL). Theo Lê Văn Việt Mẫn, 2013 trong mật rĩ đường chứa hàm lượng đường cao ngoài đường sacharose còn chứa nhiều chất hữu cơ, vô cơ, các chất thuộc vitamin và các chất kích thích sinh trưởng. Tuy nhiên mật rĩ đường cũng có những đặc tính không thích hợp cho quá trình lên men như rĩ đường có màu nâu sẫm màu này khó phân hủy trong quá trình lên men, hàm lượng đường cao nên khi lên men phải pha loãng với tỉ lệ thích hợp, trong mật rĩ đường có chứa một hệ keo khi hệ keo càng cao khả năng hòa tan oxy càng kém và khả năng trao đổi chất của sinh vật càng kém. Vì vậy khi mật rĩ đường pha loãng ở nồng độ 10% thì hàm lượng đường và hệ keo trong nghiệm thức cao làm ảnh hưởng đến khả phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus garvieae.*

Đối với nghiệm thức nước mía + bột mì, kết quả cho thấy rằng mật số vi khuẩn *Lactobacillus garvieae* có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê lẫn nhau nhưng lại khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Trong đó nghiệm thức đạt kết quả cao nhất là nước mía + bột mì 5% (3 x 10^8 CFU/mL) và thấp nhất là nghiệm thức nước mía + bột mì 10% (2,9 x 10^8 CFU/mL). Kết quả này được giải thích như sau: trong nước mía chứa hàm lượng đường cao (glucose,saccharose,..) (Nguyễn Ngộ, 2011), thành phần của bột mì chủ yếu là cacbon. Trong khi đó cacbon lại có vai trò quan trọng trong sự sinh tổng hợp bacteriocin của vi khuẩn *Lactobacillus* (Nguyễn Võ Anh Khoa và *ctv.,* 2013) nhưng khi kết hợp hai nguyên liệu này đã làm nguồn cacbonhydrat dư thừa và khi hòa tan bột mì với nước mía bột mì sẽ không hòa tan hoàn toàn và khi hấp tiệt trùng bột mì sẽ keo sệt lại, hàm lượng bột mì cao thì độ keo sệt càng cao điều này làm ảnh hưởng đến khả năng trao đổi chất của sinh vật làm hạn chế sự phát triển của vi khuẩn .

Nghiệm thức nước mía nguyên chất cho kết quả tương đối tốt (2,2 x 10^8 CFU/mL) nhưng vẫn thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Điều này có thể được giải thích như sau, trong nước mía chứa hàm lượng cacbonhydrat cao (glucose, frutose, saccarose,..) nguồn cacbon có vai trò quan trọng trong sự sinh tổng hợp bacteriocin (Nguyễn Võ Anh Khoa và *ctv,* 2013) cần thiết cho

quá trình phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus garvieae*. Tuy nhiên, khi sử dụng nước mía nguyên chất thì hàm lượng rất cao làm áp suất thẩm thấu của môi trường cao gây ra hiện tượng co nguyên sinh ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của tế bào vi khuẩn đồng thời cũng làm hạn chế khả năng phát triển nhân mật số của vi khuẩn (Nguyễn Mạnh Tuấn, 2012).

Nghiệm thức cuối cùng trong nghiên cứu là môi trường nước dừa khô, kết quả đạt được tương đối tốt (5 x 10^8CFU/mL) so sánh kết quả của nghiệm thức nước dừa khô với nghiệm thức đối chứng ta thấy được giữa chúng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả này có thể được giải thích dựa vào nghiên cứu của Lê Văn Việt Mẫn, 2013 trong nước dừa có chứa đường, hợp chất chứa nitơ, viatmin và khoáng chất khi dừa còn non đường trong nước dừa tồn tại ở dạng glucose và frutose và khi nước dừa khô hàm lượng đường glucose và frutose sẽ giảm dần đồng thời hàm lượng saccharose tăng lên chiếm khoảng 90% tổng lượng đường. Cũng theo Nguyễn Thị Minh Huế (2013) để vi khuẩn *Lactobacillus* phát triển được thì môi trường phải có các cơ chất phức tạp chứa cacbon, nitơ cùng các chất khác. Nghiệm thức nước dừa khô cũng chứa các chất cần thiết trên nên vi khuẩn phát triển với mật số khá tốt.

Qua thí nghiệm đã xác định được một số thành phần dinh dưỡng tối ưu cho sự phát triển của vi khuẩn latic nhưng môi trường có thể được xem là thích hợp nhất là môi trường cà rốt + khoai tây + rĩ đường, nghiệm thức này có thể được dùng để thay tế cho MRS trong việc nuôi tăng sinh khối vi khuẩn *Lactobacillus gariveae.*

PHẦN KẾT LUẬN

1. Kết luận

Vi khuẩn *Lactobacillus gariveae* đều có khả năng phát triển tốt tên tất cả các môi trường thử nghiệm tuy nhiên môi trường thích hợp nhất là cà rốt + khoai tây + rĩ đường. Môi trường vi khuẩn *Lactobacillus gariveae* phát triển kém nhất là nghiệm thức cơm rượu 60%.

2. Kiến nghị

Tiếp tục nghiên cứu thêm về các thành phần dinh dưỡng khác ảnh hưởng lên sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus gariveae* để có được môi trường phát triển tốt nhất.

Ứng dụng môi trường cà rốt + khoai tây + rĩ đường vào việc nuôi tăng sinh khối vi khuẩn *Lactobacillus gariveae* đáp ứng nhu cầu của nghề nuôi tôm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TÀI LIỆU THAM KHẢO TIẾNG VIỆT

Mai Đàm Linh, Đỗ Minh Phương , Phạm Thị Tuyết, Kiều Hữu Ảnh, Nguyễn Thị Giang, 2007. Đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn lactic phân lập trên địa bàn thành phố Hà Nội. Tạp chí khoa học Đại Học Quốc Gia Hà Nội: 224.

Đỗ Tiến Thành, 2011. Nghiên cứu cải tiến quy trình sản xuất rượu đặc sản từ nguyên liệu gạo. Luận văn thạc sĩ ngành công nghệ thực phẩm. Trường Đại học bách khoa Hà Nội.

Đỗ Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Văn Thành và Nguyễn Hữu Hiệp, 2014. Định danh và xác định một số đặc tính sinh hóa của các dòng vi khuẩn Lactic trong sản phẩm mắm chua cá sặc. Tạp chí khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Tr-59.

Đặng phương Nga, Nguyễn Thị Yên, Đỗ Thu Phương, Nguyễn Bá Tú, Lại Thúy Hiền, 2007. Khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh *Vibrio* trong nước nuôi tôm của *Bacillus subtilis* HY1 và *Lactococcus lactics* CCK4. Tạp chí Công nghệ Sinh học 5(3): 383-390.

Lê Ngọc Thùy Trang và Phạm Minh Nhật. Phân lập và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sản sinh hợp chất kháng khuẩn của Lactobacillus plantarum, tạp chí sinh học 2014

Lê Văn Việt Mẫn, 2013. Đề tài công nghệ lên men – Thạch dừa. http://doc.edu.vn/tai-lieu/de-tai-cong-nghe-len-men-thach-dua-52935/. Ngày truy cập 24/9/2017.

Lê Văn Việt Mẫn, 2013. Đề tài sản xuất sinh khối vi khuẩn lactic. . http://tai-lieu.com/tai-lieu/de-tai-cong-nghe-san-xuat-sinh-khoi-vi-khuan-lactic-7847/. Ngày truy cập 24/9/2017.

Lê Văn Việt Mẫn, 2015. Đề tài Snack khoai tây. http://luanvan.net.vn/luan-van/de-tai-snack-khoai-tay-68778/. Ngày truy cập 24/9/2017.

Nguyễn Mạnh Tuấn, 2012. Phân lập và tuyển chọn một số chủng *Lactobacillus* có khả năng sinh axit lactic cao từ các sản phẩm lên men tại khu vực Thành Phố Thái Nguyên.

Nguyễn Thị Minh Huế, 2013.Nghiên cứu các điều kiện tối ưu của quá trình tạo sinh khối vi khuẩn lactic. http://www.zbook.vn/ebook/nghien-cuu-cac-dieu-kien-toi-uu-

cua-qua-trinh-tao-sinh-khoi-vi-khuan-lactic-29340/. Ngày truy cập 24/9/2017.

Nguyễn Thị Trúc Linh, 2015. Selectiocn of lactic acid bacteria that can suppress Vibrio parahaemolyticus bacteria which causes Acute Hepatopancreatic Necrosis disease in white leg shrimp. Aquatic diseases and heath management. IFS 2015.

Nguyễn Ngộ, công nghệ đường mía trường Đại Bách Khoa Hà Nội, 2011-272tr. Thư mục trang 12).

Nguyễn Võ Anh Khoa, 2013. Khảo sát một số nguồn cacbon và nitơ hữu cơ để nâng cao khả năng sinh tổng hợp bacteriocin của chủng Lactobacillus. Hội nghị Khoa học Công Nghệ Sinh học toàn quốc 2013, tr.280.

Ngô Thị Phương Dung *và ctv*. Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic có khả năng kháng khuẩn, tạp chí khoa học trường đại học Cần Thơ 2011.

Phạm Thị Nga, 2011. Nghiên cứu sản xuất sản phẩm probiotic nước cà rốt từ vi khuẩn Lactobacillus Plantarum. Luận văn thạc sĩ kĩ thuật chuyên ngành công nghệ thực phẩm và đồ uống. Trường Đại Học Đà Nẵng.

Trần Hữu Lộc 2013, Nghiên cứu xác định nguyên nhân " hội chứng tôm chết sớm".http://nongnghiep.vn/da-xac-dinh-hoi-chung-tom-chet-som-post112008.html. Ngày truy cập 24/9/2017.

Võ Trường Thạch 2013, vi khuẩn Lactic và quy trình sản xuất nem chua theo phương pháp thủ công. http://luanvan.co/luan-van/vi-khuan-lactic-va-quy-trinh-san-xuat-nem-chua-theo-phuong-phap-thu-cong-2691/. Ngày truy cập 24/9/2017.

TÀI LIỆU THAM KHẢO TIẾNG ANH

De Vuyst and Leroy, 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. J Mol Microbiol Biotechnol. 2007; 13(4): 194-9

Eduardo, M.L. and C.V. Mohan, 2012. Early Mortality Syndrome (EMS)/Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS): An emerging threat in the Asian shrimp industry. NACA, Bangkok, Thailand.

FAO. 2013. Report of fisheries and aquaculture No, 1053. FAO (Mard technical

workshop on early mortality syndrome (EMS) or acute hepatopancreatic necrosis syndrome (AHPNS) of cultured shrimp (under TCP, VIE/3304).

http://www.fistenet.gov.vn.

http://www.sonnptnt.soctrang.gov.vn.

http://123doc.org/document/323319-nghien-cuu-qua-trinh-len-men-lactic-tu-mat-ri-duong.htm

Holzapfel, W.H., P. Haberer, R. Geisen, J. Bjorkroth, U. Schillinger, 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 73, 365S-373S.

Nguyễn Thị Trúc Linh, 2015. Selectiocn of lactic acid bacteria that can suppress Vibrio parahaemolyticus bacteria which causes Acute Hepatopancreatic Necrosis disease in white leg shrimp. Aquatic diseases and heath management. IFS 2015.

Loc Tran, L. Nunan, R. M. Redman, L. L. Mohney, C. R. Pantoja, K. Fitzsimmons, D. V. Lightner, 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. Diseases of aquatic organisms. 105: 45–55.

Wood B. J. and Holzapfel W. H. N., 1995. The Genera of Lactic Acid Bacteria. Springer Science & Business Media, 1995, p: 7-8.

Yang, P., K.N. Liou, M.I. Mishchenko, and B.-C. Gao, 2000: Efficient finite-difference time-domain scheme for light scattering by dielectric particles: Application to aerosols. *Appl. Opt.*, 39, 3727-3737.