

CHỌN VÀ KHẢO SÁT VÀI ĐẶC TÍNH CỦA VI KHUẨN LACTIC. BƯỚC ĐẦU ỨNG DỤNG VÀO MUỐI CHUA NẤM RƠM, NẤM BÀO NGƯ, ĐẬU HÀ LAN

Trịnh Thị Hồng

Khoa Sinh Học, Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên, Đại Học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh.
(Bài nhận ngày 25 tháng 9 năm 2003)

TÓM TẮT: Phân lập vi khuẩn Lactic từ một số thực phẩm truyền thống (như: yaourt,...). Kết quả: phân lập được 10 chủng; chọn được 2 chủng có khả năng lên men tạo acid lactic mạnh nhất trên MRS: *Lactobacillus sp.* (chủng L₁) là 1,767%, *Lactobacillus sp.* (chủng L₂) là 1,553%.

Môi trường nuôi cấy vi khuẩn là nước chiết giá đậu, với nguồn carbon sacccharose, ở nhiệt độ phòng thí nghiệm trong 20 giờ, sử dụng từng chủng riêng rẽ và chủng phối hợp để muối chua nấm rơm. Nhận định sơ bộ qua thử nếm thì việc sử dụng chủng hỗn hợp L₁L₂ cho sản phẩm đạt chất lượng cao nhất. Dịch lên men có hương thơm dịu và nấm ăn ngon, giòn, giữ được hương vị nấm tươi, vừa ăn vào ngày thứ 3, và lưu trữ đến ngày thứ 5 sản phẩm còn ngon miệng. Điều kiện tốt nhất để muối chua nấm rơm: cấy chủng hỗn hợp L₁L₂ với tỷ lệ 1%; pH=7; nhiệt độ 25⁰C; hàm lượng benzoat natri 0,04%.

Từ điều kiện tối ưu để muối chua nấm rơm, áp dụng để muối chua nấm bào ngư, đậu hà lan. Kết quả cho thấy: muối chua nấm bào ngư cho kết quả tốt, ăn ngon ở ngày thứ 6-7; và muối chua đậu hà lan cho sản phẩm giòn, ăn ngon ở ngày thứ 3-4, ít hư hỏng.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ xưa con người đã sử dụng quá trình lên men tự nhiên để bảo quản thực phẩm và tạo sự đa dạng sản phẩm. Mỗi dân tộc hình thành nên các món ăn truyền thống và đặc trưng từ những sự lên men này. Dần dần các sản phẩm lên men chiếm vị trí quan trọng trong việc cung cấp thực phẩm cho thế giới do sự gia tăng dinh dưỡng, dễ hấp thu, rẻ tiền, thông dụng. Đặc biệt sự lên men lactic có tác dụng chữa bệnh và tăng tuổi thọ, có ý nghĩa trong y học.

Tuy nhiên, một số thực phẩm vẫn còn lên men theo phương pháp truyền thống không thể đáp ứng nhu cầu xã hội do năng suất thấp, hiệu quả kém, chất lượng không ổn định nên các nhà nghiên cứu đã tiến hành chọn giống vi sinh, tiến hành giữ giống ở dạng thuần khiết, và ứng dụng chúng vào sản xuất quy mô lớn.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành chọn giống vi khuẩn lactic từ những thực phẩm thông dụng (yaourt, dưa cải, ..), tìm điều kiện nuôi cấy tối ưu, khảo sát điều kiện ảnh hưởng đến quá trình muối chua nấm rơm, từ đó bước đầu ứng dụng để muối chua nấm bào ngư, đậu hà lan.

VẬT LIỆU – PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu:

- Nguồn phân lập: Yaourt, dưa cải, tôm chua, nem chua, men tiêu hoá sống.
- Nguyên liệu để muối chua: nấm rơm, nấm bào ngư, đậu hà lan.

- Môi trường: MRS đặc và dịch thể.
Carbonat calci.
Nước chiết giá đậu.
Nước chiết rau cải.

Môi trường lên men các cacbonhydrat.
Yeast extract pepton.
Môi trường xử lý sơ bộ

- Thuốc thử: Uphenmen.
- Thuốc nhuộm: Coomasis.

Phương pháp:

Phân lập, sơ chọn chủng có khả năng tạo acid lactic:

Pha loãng mẫu trong nước vô trùng và cấy trên môi trường chứa calci carbonat. Nuôi ở nhiệt độ phòng và theo dõi sự phát triển của khuẩn lạc sau 20 giờ nuôi cấy. Chọn vi khuẩn có vòng trong quanh khuẩn lạc và tiếp tục làm thuần.

Định tính và định lượng acid lactic, acid tổng:

Định tính acid lactic:

Thực hiện: Cấy vi khuẩn vào 10ml môi trường MRS dịch thể. Nuôi tĩnh ở nhiệt độ phòng 3 ngày. Ly tâm. Sử dụng 3ml dịch trong và 2ml thuốc thử uphenmen; quan sát sự đổi màu thuốc thử từ xanh dương đậm sang vàng. Chọn khuẩn lạc có khả năng làm chuyển màu rõ nhất để tiếp tục nghiên cứu.

Đối chứng: thuốc thử + môi trường không cấy vi khuẩn hoặc môi trường có vi khuẩn không tạo acid lactic; môi trường + acid lactic thuần.

Định lượng acid lactic:

Nguyên tắc: dùng phương pháp enzym.

Acid lactic tồn tại ở 2 dạng: D-lactic và L-lactic.

Khi có mặt của D-lactate dehydrogenase (D-LDH), acid D-lactic bị oxy hoá bởi NAD^+ (nicotinamide adenin dinucleotide) thành pyruvate.

D-LDH



Sự oxy hoá acid L-lactic đòi hỏi sự có mặt của enzym L-lactate dehydrogenase (L-LDH):

L-LDH



Sự cân bằng của những phản ứng này gần như nằm hoàn toàn về phía lactate. Tuy nhiên, phản ứng tiếp theo của pyruvate được tăng tốc bởi enzym Glutamate pyruvate transaminase (GPT) với sự có mặt của L-Glutamate, sự cân bằng bị thay đổi nghiêng về phía pyruvate và NADH:



Số lượng NADH tạo thành trong phản ứng trên tỷ lệ với số lượng acid lactic.

Xác định NADH bằng sự hấp thu ánh sáng của nó ở 334, 340, hay 365 nm.

Thực hiện: Nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường MRS dịch thể. Sau 3 ngày, sử dụng dịch nuôi cấy này để đo hàm lượng acid lactic.

Định lượng acid tổng: dùng dung dịch kiểm chuẩn NaOH hay KOH với chất chỉ thị màu phenolphthalein.

Khảo sát vài đặc tính của các chủng được chọn:

Khảo sát các đặc điểm sinh lý sinh hoá của chủng và sơ bộ định danh đến cấp độ giống. Chúng tôi ký hiệu chúng: L_1 , L_2 .

Điều kiện nuôi cấy vi khuẩn L_1L_2 để vi khuẩn phát triển mạnh và có số lượng nhiều:

Thông qua sự xác định hàm lượng acid toàn phần, và đếm số lượng khuẩn lạc của dịch nuôi cấy.

Nuôi cấy 0,2ml dịch giống 24 giờ trên: MRS dịch thể, nước chiết giá đậu, yeast extract pepton, nước chiết rau cải ở nhiệt độ phòng trong 2 ngày. Tìm môi trường thích hợp và thay đổi nguồn carbon khác nhau (saccharose, glucose, ..). Sau đó sử dụng môi trường tối hảo này để tìm điều kiện nhiệt độ và pH thích hợp thông qua sự xác định hàm lượng acid tổng cao nhất.

Để xác định thời gian nuôi cấy tối hảo, lấy mẫu và xác định khả năng tăng trưởng ở những khoảng thời gian khác nhau: 0, 4, ..., 36 giờ bằng phương pháp đo độ đục (độ dài sóng 610 nm) và đếm số khuẩn lạc ở thời điểm tế bào tăng trưởng tốt nhất.

Thực hiện muối chua nấm rơm:

Rửa sạch, xử lý sơ bộ: bằng môi trường xử lý sơ bộ.

Chần nấm: bằng nước vừa sôi trong 2'-3' rửa lại ngay với nước sôi để nguội.

Thực hiện muối chua:

Dịch muối chua chứa 1% giống vi khuẩn được nuôi cấy 20 giờ; 2,5% NaCl; 1% saccharose; 0,05% benzoat natri. Mỗi mẫu 50g nấm + 100 ml dịch muối chua.

Đối chứng: không sử dụng vi khuẩn; và lô sử dụng acid lactic tinh khiết 0,5%.

Đánh giá sơ bộ qua thử nếm: Chọn thời điểm thích hợp để khảo sát tiếp.

Điều kiện ảnh hưởng đến quá trình muối chua nấm rơm: Thay đổi điều kiện thí nghiệm, lấy mẫu, xác định hàm lượng acid tổng và đánh giá sơ bộ qua thử nếm trong các thí nghiệm về:

Mật độ tế bào trong dịch muối chua: sử dụng dịch muối chua với số lượng vi khuẩn khác nhau trong thời gian trên.

Ảnh hưởng của nhiệt độ: Muối chua trong điều kiện tốt như trên và để ở nhiệt độ: 20, 25, 30°C.

Ảnh hưởng của hàm lượng benzoat natri: dịch lên men chứa 0,02-0,04 ...-0,1% benzoat natri.

Ứng dụng muối chua nấm bào ngư, đậu hà lan:

Muối chua nấm bào ngư:

Sử dụng kết quả thu được ở trên để ứng dụng lên men lactic nấm bào ngư. Đây là loại nấm nở nên giai đoạn chần nhanh hơn nấm rơm (1,5-2 phút).

Rửa sạch, xử lý sơ bộ, chần nấm.

50 gram nấm+ 100ml dịch muối chua. Tiến hành lên men: Nhận xét và xác định hàm lượng acid tổng vào những thời điểm 0 ngày, 2 ngày, 4 ngày, 6 ngày, ...

Muối chua đậu hà lan: thực hiện tương tự. Nhận xét và xác định hàm lượng acid tổng và nhận xét vào những thời điểm 0 ngày, 2 ngày, 4 ngày, 6 ngày, ...

KẾT QUẢ- BIỆN LUẬN

Phân lập và sơ chọn chủng: phân lập được 10 chủng vi khuẩn có khả năng tạo vòng tan trên môi trường CaCO₃. Trong cùng điều kiện nuôi cấy, chúng tôi chọn được 2 chủng: L₁, L₂ có vòng tan lớn nhất.

Định tính và định lượng acid lactic:

Định tính acid lactic: Cả 2 chủng L₁, L₂ đều làm chuyển màu rõ với thuốc thử uphenmen.

Định lượng acid lactic: Bằng phương pháp enzym chúng tôi đo hàm lượng acid lactic của 2 chủng L₁, L₂ sau 3 ngày nuôi cấy tương ứng là 1,7671% và 1,5531%.

Khảo sát vài đặc tính của các chủng được chọn:

Qua khảo sát đặc tính sinh lý, sinh hoá cho thấy L₁ và L₂ có sự khác biệt về:

- + Hình dạng khuẩn lạc trên môi trường MRS đặc.
- + Cách phát triển trong môi trường MRS lỏng.
- + Một vài đặc tính sinh lý, sinh hoá.

Do chưa thể khảo sát một số đặc tính xác định loài nên chỉ có thể xác định là:

L₁: *Lactobacillus sp*₁ . .

L₂: *Lactobacillus sp*₂ . .

Điều kiện nuôi cấy vi khuẩn L₁L₂ để vi khuẩn phát triển mạnh và có số lượng nhiều:

Ảnh hưởng của môi trường:

Cấy vi khuẩn L₁, L₂ trên các loại môi trường khác nhau ở nhiệt độ phòng. Xác định hàm lượng acid tổng sau 2 ngày nuôi cấy. Trên môi trường MRS và môi trường nước chiết giá đậu chủng L₁, L₂ có khả năng tạo acid tổng cao nhất (trên MRS: chủng L₁, L₂ cho hàm lượng acid tổng tương ứng là 1,609% và 1,602%. Trên môi trường nước chiết giá đậu là 1,449% và 1,461% tương ứng với chủng L₁, L₂). Chứng tỏ trong nước chiết giá đậu cũng có đủ nguồn dinh dưỡng cho vi khuẩn phát triển tốt. Do tính kinh tế nên chúng tôi chọn môi trường nước chiết giá đậu để nghiên cứu tiếp.

Ảnh hưởng của nguồn Carbon:

Sau 2 ngày nuôi cấy trong môi trường nước chiết giá đậu với những nguồn cacbon khác nhau, xác định hàm lượng acid tổng của từng chủng trong mỗi nguồn carbon khác nhau. Chúng tôi nhận thấy nguồn carbon là saccharose cho hàm lượng acid tổng khá (1,354% và 1,461% tương ứng đối với chủng L₁, L₂), và rẻ tiền nên chúng tôi chọn saccharose làm nguồn cacbon để nuôi cấy tiếp.

Ảnh hưởng của nhiệt độ:

Nuôi cấy trên môi trường nước chiết giá đậu có nguồn cacbon là saccharose để ở nhiệt độ khác nhau. Sau 48 giờ nuôi cấy, kết quả cho thấy chủng sản sinh hàm lượng acid tổng cao ở nhiệt độ thích hợp nhất là 30-35⁰C (chủng L₁: 1,461%; chủng L₂: 1,445%). Để đơn giản chúng tôi chọn nhiệt độ phòng để nuôi cấy.

Ảnh hưởng của pH ban đầu:

Nuôi cấy trong môi trường nước chiết giá đậu có nguồn cacbon là saccharose để ở nhiệt độ phòng với pH ban đầu thích hợp nhất cho hoạt động sống của vi khuẩn là 6,5-7,5 (hàm lượng acid tổng tương ứng của chủng L₁, L₂ là 1,511% và 1,504%).

Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy:

Để chọn thời điểm thích hợp cho vi khuẩn phát triển mạnh nhất. Chúng tôi nuôi cấy vi khuẩn trong các điều kiện tốt nhất như trên và sử dụng quang phổ kế xác định trị số mật độ quang ở từng thời điểm (mỗi 4 giờ) của sự nuôi cấy của vi khuẩn.

Kết quả cho thấy, ở giai đoạn 4-8 giờ vi khuẩn sinh sản mạnh và đạt cực đại ở 20 giờ đối với chủng L₁ và ở 24 giờ đối với chủng L₂ và sau đó trị số mật độ quang giảm dần, từ 32-36 giờ gần như không đổi. Vì vậy, chúng tôi chọn thời điểm 20 giờ cho cả 2 chủng. Thực hiện đếm số lượng tế bào ở thời điểm này cho kết quả:

$$L_1 = 21,32 \times 10^8 \text{ tb/ml.}$$

$$L_2 = 18,92 \times 10^8 \text{ tb/ml.}$$

Thực hiện muối chua nấm rơm:*** Sử dụng chủng vi khuẩn riêng rẽ:**

Sau khi rửa sạch, xử lý sơ bộ, chần nấm, chúng tôi thực hiện muối chua. Dùng 1% giống vi khuẩn 20 giờ; 2,5% NaCl; 1% saccharose; 0,05% benzoat natri. Xác định acid tổng ở những thời điểm khác nhau (bảng 1):

Bảng 1. Hàm lượng acid tổng (%) trong dịch muối chua nấm rơm sử dụng chủng L_1 , L_2 riêng rẽ.

Thời gian (ngày)	0	1	2	3	4	5	6
Chủng							
L_1	0,045	0,103	0,271	0,385	0,461	0,486	0,512
L_2	0,045	0,141	0,322	0,411	0,520	0,603	0,620
Không vi khuẩn	0,025	0,101	0,212	0,221	0,237	0,286	0,317

Hàm lượng acid tổng tăng nhanh từ ngày thứ 1-4, và chậm dần kể từ ngày thứ 5.

Nhận xét:**Lô sử dụng chủng vi khuẩn thuần:**

Ngày thứ 1 dịch lên men có màu vàng nhạt, hơi vẫn đục. Ngày thứ 2, thứ 3 dịch lên men đục nhiều hơn, có hương thơm nhẹ. Nấm ăn ngon, giòn, có vị chua.

Đối với lô sử dụng chủng L_1 : nấm giòn, có hương thơm, dễ chịu, vị chua nhẹ.

Đối với lô sử dụng chủng L_2 : nấm giòn, không thơm, có vị chua ngon miệng.

Quan sát những ngày tiếp theo: nấm chua nhiều hơn, còn giòn. Thành phẩm có thể sử dụng và vừa ăn vào ngày thứ 3.

Lô muối thường:

Ngày thứ 1 dịch lên men hơi vẫn đục. Ngày tiếp theo xuất hiện 1 ít màng trắng, mùi hơi hôi, và sau đó màng nhầy nhiều, dày, thành từng mảng, dịch đục nhiều và nấm bắt đầu bị nhớt. Tai nấm mềm.

Sự hư hỏng xảy ra thường xuyên khi không thêm vi khuẩn thuần.

Lô sử dụng acid lactic thuần:

Dịch muối chua trong, màu hơi vàng, nấm chua và ăn được vào ngày thứ 3, không bị nhiễm, hăng mùi hoá chất, nấm chuyển màu hơi nâu, ăn không ngon.

*** Sử dụng chủng hỗn hợp L_1L_2 :**

Trộn 2 chủng theo tỉ lệ 1:1. Thực hiện muối chua ở những điều kiện tương tự như trên. Kết quả ghi nhận trong bảng 2:

Bảng 2. Hàm lượng acid tổng (%) trong dịch muối chua nấm rơm khi sử dụng chủng riêng rẽ và chủng phối hợp L_1L_2 ở ngày thứ 3:

Vi khuẩn	L_1	L_2	L_1L_2
Hàm lượng acid tổng (%)	0,407	0,433	0,492

Nhận xét: Sản phẩm thơm, ngon hơn so với khi sử dụng từng chủng.

Kết quả cho thấy: với sự hiện diện của vi khuẩn lactic L_1 , L_2 nấm vẫn giòn khi muối chua; chứng tỏ sản phẩm vẫn giữ độ bền chắc của nguyên liệu do vi khuẩn không phá huỷ vách tế bào thực vật. Sự chênh lệch nồng độ muối giữa dịch muối chua và nguyên liệu nên một phần chất dinh dưỡng từ trong tế bào thoát ra tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn lactic sản

có phát triển mạnh. Vì vậy có thể chống được sự tạp nhiễm của vi sinh vật gây hại. Và khi sử dụng chủng phối hợp L₁L₂, chúng tạo cho sản phẩm đặc biệt hơn.

Điều kiện ảnh hưởng đến quá trình muối chua nấm rơm:

Mật độ tế bào trong dịch muối chua: Sử dụng số lượng tế bào ban đầu khác nhau, muối chua nấm rơm trong điều kiện tốt được xác định từ phần trên. Sau 3 ngày ghi nhận hàm lượng acid tổng trong dịch muối chua được ghi nhận trong bảng 3:

Bảng 3. Hàm lượng acid tổng (%) trong dịch muối chua nấm rơm khi số lượng tế bào ban đầu khác nhau:

Mật độ tế bào (x 10 ⁶ tb/ml)	10,06	20,12	30,18
Hàm lượng acid tổng (%)	0,416	0,452	0,478

Tuy hàm lượng acid tổng có thay đổi nhưng về hương vị không khác biệt nhiều. Từ kết quả trên chúng tôi chọn mật độ tế bào 20,12 x 10⁶ tb/ml dịch muối chua.

Ảnh hưởng của nhiệt độ: Thực hiện muối chua ở những nhiệt độ khác nhau. Kết quả ghi nhận trong bảng 4:

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ trong sự tạo acid tổng (%):

Nhiệt độ (±0,5 ⁰ C)	20	25	30
Hàm lượng acid tổng (%)	0,354	0,423	0,487

Nhận xét: 20⁰C, 25⁰C màu sắc nấm tương đối không thay đổi so với nguyên liệu ban đầu, dịch lên men màu vàng nhạt, nấm giòn, có vị chua nhẹ ở ngày thứ 3. Vẫn tiếp tục theo dõi ở ngày thứ 4 nhận thấy nấm thơm, ngon hơn; có thể do nhiệt độ thấp nên sự lên men chậm và giữ được hương thơm hơn. Ở 30⁰C nấm hơi ngả màu sậm hơn nguyên liệu ban đầu, cũng giòn và vị hơi chua hơn 25⁰C.

Ảnh hưởng của hàm lượng benzoat natri: Thay đổi hàm lượng benzoat natri trong dịch muối chua nấm rơm để khảo sát mức độ liên quan đến sự tạp nhiễm trong quá trình muối chua và hàm lượng acid tổng tạo thành. Qua kết quả thu được, chúng tôi nhận thấy ở hàm lượng benzoat natri 0,04% -0,06% cho hàm lượng acid tổng cao (4,81% -5,01%) và 0,04% là hàm lượng tối thiểu có thể ngăn cản sự tạp nhiễm của nấm mốc (bảng 5).

Bảng 5. Mối quan hệ giữa hàm lượng benzoat natri trong dịch muối chua và hàm lượng acid tổng tạo thành.

Hàm lượng benzoat natri (% dịch muối chua)	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
Hàm lượng acid tổng (%)	0,480	0,481	0,501	0,473	0,451

Ứng dụng muối chua nấm bào ngư, đậu hà lan:

Muối chua nấm bào ngư:

Sử dụng chủng hỗn hợp L₁L₂ với tỷ lệ 1%; pH=7; 25⁰C; hàm lượng benzoat natri 0,04% để muối chua nấm bào ngư. Chúng tôi ghi nhận kết quả trong bảng 6:

Bảng 6. Hàm lượng acid tổng (%) theo thời gian.

Thời gian (ngày)	0	2	4	6	8	10	12
Có sử dụng vi khuẩn	0,031	0,272	0,310	0,374	0,374	0,39	0,392
Lên men tự nhiên	0,031	0,266	0,267	0,272	0,284	0,284	0,290

Chúng tôi nhận thấy hàm lượng acid lactic toàn phần tăng dần và tương đối ổn định sau 10 ngày khi sử dụng vi khuẩn lactic.

Sản phẩm giữ được màu trắng tự nhiên, chua nhẹ, ăn ngon vào ngày thứ 6-7, dịch lên men trong (so với nấm rơm) có lẽ do các chất trong nấm ít hoà tan vào dịch lên men.

Lô thí nghiệm lên men tự nhiên mẫu nấm cũng trắng, dịch trong, khi ăn có vẻ lờ lợ nhưng nấm không dễ bị thối.

Muối chua đậu hà lan:

Sử dụng chủng hỗn hợp L_1L_2 với tỷ lệ 1%; pH=7; 25°C; hàm lượng benzoat natri 0,04% để muối chua đậu hà lan.

Bảng 7. Hàm lượng acid tổng (%) theo thời gian.

Thời gian (ngày)	0	2	4	6	8	10	12
Có sử dụng vi khuẩn	0,030	0,325	0,527	0,612	0,731	0,735	0,740
Lên men tự nhiên	0,031	0,267	0,351	0,610	0,623	0,620	0,650

Hàm lượng acid lactic toàn phần tăng dần và tương đối ổn định khoảng 8 ngày.

Sản phẩm không còn xanh tươi, hơi chuyển sang tái xanh. Ăn ngon, khoảng từ 3-6 ngày vẫn còn giòn, chua, thơm nhưng phải giữ lạnh sau 5 ngày.

KẾT LUẬN

Sử dụng chủng phối hợp *Lactobacillus sp₁*, *Lactobacillus sp₂* để muối chua nấm rơm, sản phẩm ăn ngon, đạt hàm lượng acid tổng 0,48% vào ngày thứ 3 (nhiệt độ thường), và 0,42% vào ngày thứ 4 (25°C). Vi khuẩn lactic giúp khống chế sự tạp nhiễm, bảo vệ cấu trúc tế bào và tạo hương vị đặc trưng.

Thời gian khảo sát nấm bào ngư và đậu hà lan dài hơn so với nấm rơm là do nấm bào ngư và đậu hà lan có vách tế bào cứng hơn.

COLLECTION AND STUDY OF SOME LACTIC ACID BACTERIA CHARACTERISTIC. PRELIMINARY APPLICATIONS TO LACTIC ACID FERMENTING OF SALTED *Volvaria esculanta*, *Pleurotus sp.*, *Piscum sativum var. arvense L.*

Trinh Thi Hong

ABSTRACT: Collected lactic acid producing bacteria from the traditional food samples (as yaourt, ..). There are 10 strains; we get 2 strains having the highest lactic acid concentration on MRS: 1.767% as *Lactobacillus sp₁*. (chủng L_1), 1.513% as *Lactobacillus sp₂*. (chủng L_2).

Inoculating the bacteria on the medium contains extract of chicken-pea liquid, saccharose as source carbonhydrat at room temperature in 20 hours. Using the broth culture lonely strain and mixed strain to lactic acid ferment of salted *Volvaris esculanta*. By organoleptic, we found the best quality product when using the mixed strains. It have mild flavor, cracky, appetite at third day and it is also kept the relish of the fresh mushrom. The best conditions to ferment are: using the mixed strains L_1L_2 at ratio 1%; pH=7; $t^0= 25^0C$; 0.04% natri benzoat.

Using the best conditions to lactic acid fermentation of salted *Pterotus sp.*, *Piscum sativum var. arvense L.* The products are appetite at sixth day; and at third or fourth day respectively, rarely addle.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adams, M.R. et al 1995 *Food microbiology*. The Royal society of chemistry.
2. Muray, E>G>D et al, 1995. *Bergey's Manual of determinative Bacteriology*. The Williams and Wilkins company, seventh edition.
3. Hesseltine, C.W. , 1983. *Microbiology of Oriental Fermented Food Ann, Rer. Microbiology*. 37.575.601.
4. Boehringer Mannheim, 1997. D- lactic acid/ L-lactic acid. UV method. Enzymatic Bioanalysis Food Analysis.
5. Nguyễn Lâm Dũng và cộng sự, 1972. *Vi sinh vật học*. NXB Đại học và trung học chuyên nghiệp , Hà Nội. Tập II.
6. Hồ Sưởng và cộng sự, 1972. *Vi sinh vật trong bảo quản và chế biến thực phẩm*. NXB Nông nghiệp.
7. Trần Minh Tâm, 1997. – Các quá trình công nghệ trong chế biến nông sản thực phẩm – Nhà xuất bản nông nghiệp TPHCM.
8. Trần Khắc Thi và cộng sự, 1994 – *Kỹ thuật trồng và chế biến rau xuất khẩu* – Nhà xuất bản nông nghiệp TPHCM.