

TÌM HIỂU NHÓM VI KHUẨN ƯA MUỐI PHÂN LẬP TỪ MUỐI BIỂN

Nguyễn Thúy Hương

Khoa Công nghệ thực phẩm - Đại học Nông Lâm Tp.HCM

(Bài nhận ngày 07 tháng 11 năm 2001)

TÓM TẮT:

Trong quá trình tìm hiểu về nhóm vi sinh vật ưa muối, về nguyên nhân gây ra hư hỏng nhóm thực phẩm mặn, chúng tôi tiến hành phân lập vi khuẩn có khả năng chịu mặn từ các nguồn muối biển. Bài viết này trình bày kết quả nghiên cứu về phân loại, đặc điểm sinh hóa, sinh lý và khả năng phân giải protein trên thực phẩm của các chủng vi sinh vật trên.

I. Lời mở đầu:

Muối thường được dùng như là phương cách để bảo quản và chế biến thực phẩm. Tuy nhiên, vi khuẩn ưa muối luôn được tìm thấy với số lượng lớn trong thực phẩm mà muối bổ sung vào như là chất bảo quản. Sự hiện diện của vi khuẩn ưa muối chính là nguyên nhân gây ra hư hỏng các nhóm thực phẩm có độ mặn cao (thịt muối, cá muối, cá mắm, nước mắm, ...).

Vậy nhóm vi khuẩn ưa muối này có nguồn gốc từ đâu? Giải quyết một phần câu hỏi này đó là nội dung của bài viết. Chúng tôi tiến hành phân lập vi khuẩn ưa muối ngay trên nguyên liệu muối biển được thu thập từ một số cơ sở sản xuất muối trong nước được bán trên thị trường thành phố Hồ Chí Minh. Ở đây chúng tôi trình bày những kết quả nghiên cứu về hình thái, đặc điểm sinh lý, sinh hóa và phân loại các chủng thu được, đồng thời khảo sát khả năng phân giải protein của các chủng trên môi trường thực phẩm.

II. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu:

II.1. Nguồn phân lập và môi trường nuôi cấy.

Các chủng vi sinh vật ưa muối được phân lập từ các mẫu muối thu thập từ 6 cơ sở sản xuất muối.

Môi trường nuôi cấy: sử dụng môi trường nuôi cấy vi khuẩn Nutrient broth (NB) và Nutrient agar (NA) có cải tiến với nồng độ muối NaCl 5%, 10%, 15%, 20% và 25%.

II.2. Phương pháp nghiên cứu.

- Phân lập và xác định số lượng bằng phương pháp pha loãng trực tiếp trên môi trường NA có cải tiến để môi trường đạt nồng độ NaCl từ 5-25%.

- Để chọn lựa sơ bộ và đánh giá hoạt độ protease ngoại bào, tiến hành cấy từng chủng cần khảo sát thành đường trên môi trường thử hoạt tính thạch đĩa. Đo đường phân giải.

- Phân loại các chủng qua khảo sát các đặc điểm về hình thái, sinh lý hóa và hệ thống phân loại Bergey [1,2,4].

III. Kết quả và thảo luận.

III.1. Phân lập vi khuẩn.

Bằng phương pháp phân tích vi sinh vật trong các mẫu muối thu thập từ các cơ sở sản xuất muối, chúng tôi phân lập được 5 chủng vi khuẩn khác nhau về hình thái và các đặc

điểm phát triển. Năm chủng vi khuẩn phân lập được ký hiệu M1, M2, ... , M5. Số lượng và chủng loại vi khuẩn ở các mẫu muối hạt đa dạng và phong phú hơn trong các mẫu muối bột (có qua sơ chế).

Trong muối biển có chứa một số lượng lớn vi khuẩn ưa muối, chúng thuộc hệ vi sinh vật nước biển. Vì vậy đã có một số lượng đáng kể nhóm vi khuẩn này trong các ruộng muối. Đối với muối bột có qua sơ chế, nên số lượng chủng loại vi khuẩn ưa muối có giảm đi rõ rệt. Cụ thể như sau:

Từ 3 mẫu muối hạt thu được 4 chủng M1, M2, M3, M4.

Từ 3 mẫu muối bột thu được 2 chủng M5, M6 .

(Tuy nhiên chủng M6 sau được xác định là trùng với chủng M1)

III.2. Kết quả khảo sát phân loại 5 chủng vi khuẩn chịu muối được phân lập từ muối biển.

Những khảo sát về đặc điểm sinh lý sinh hóa được trình bày ở bảng 1. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, cả 5 chủng đều phát triển ở nhiệt độ từ 20-37°C tuy mức sinh trưởng có khác nhau. Chủng M1 có nhiệt độ sinh trưởng tối ưu là 30°C, còn chủng M2 là trong khoảng từ 20-30°C và M4 có thể phát triển mạnh từ 20-37°C.

Bảng 1. Đặc điểm sinh lý sinh hóa của 5 chủng vi khuẩn chịu muối

| Tên chủng | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 |
|--------------------|------|-----|-----|-----|-----|
| Đặc điểm | | | | | |
| Nhiệt độ | 5°C | - | - | - | - |
| | 20°C | ++ | +++ | +++ | +++ |
| | 30°C | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | 37°C | + | ++ | + | +++ |
| | 45°C | - | - | - | - |
| Hoạt tính Catalase | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) |
| Dịch hóa Gelatin | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) |
| Độ mặn (% NaCl) | 5 | + | + | + | + |
| | 10 | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | 15 | +++ | ++ | +++ | +++ |
| | 20 | + | + | - | +++ |
| | 25 | - | - | - | - |

Ghi chú: +++ phát triển mạnh, ++ phát triển vừa, (+) dương tính
+ phát triển chậm, - không phát triển, (-) âm tính

Qua khảo sát ở 4 nồng độ muối từ 5-20% NaCl cả 5 chủng đều có dấu hiệu phát triển ở 5% NaCl. Ở nồng độ muối từ 10-15% tất cả các chủng đều phát triển tốt. Ở nồng độ muối 20% chỉ có M3 bị đình chỉ, các chủng khác vẫn phát triển, trong đó 2 chủng M4, M5 phát triển rất mạnh. Nồng độ 25% làm cho các chủng hoàn toàn ngừng phát triển.

Như vậy 5 chủng vi khuẩn trên có thể xếp vào nhóm vi khuẩn ưa muối vừa (Moderate halophiles) [3,4] và chúng có vùng nhiệt sinh trưởng thích hợp từ 20-30°C.

Khảo sát đặc điểm hình thái học, tế bào học của 5 chủng trên được trình bày qua bảng 2. Kết hợp kết quả bảng 1, bảng 2 và dựa vào khoá phân loại của Bergey để định tên cho các chủng trên. Trên các mẫu muối biển có sự xuất hiện của các giống Bacillus và Micrococcus. Tuy nhiên chúng có tác động như thế nào đến những nhóm thực phẩm có nồng độ muối từ 5-25% ?

Chúng tôi tiến hành khảo sát sơ chọn và đánh giá hoạt độ Protease của 5 chủng vi khuẩn trên.

Bảng 2. Đặc điểm về hình thái học và tế bào học.

| Tên chủng | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 |
|----------------------|-------------------------|---|-------------------------|-------------------|-------------------|
| Đặc điểm | | | | | |
| Hình dạng | Trực khuẩn ngắn, nhỏ | Trực khuẩn không phình to khi có bào tử | Trực khuẩn | Cầu khuẩn | Cầu khuẩn |
| Kích thước tế bào | 5 x 0,5µm | 10 x 0,5µm | 3 x 0,9µm | 0,5 x 1µm | 0,8 x 1,5µm |
| Bào tử | + | + | + | - | - |
| Vị trí bào tử | Lệch tâm gần đầu tế bào | Lệch tâm ở đầu tế bào | Lệch tâm ở đầu tế bào | - | - |
| Nhuộm Gram | + | + | + | + | + |
| Màu sắc khuẩn lạc | Xám trắng Nhãn Mép lồi | Hồng Trắng nhạt Mép lồi | Vàng nhạt Mép lõm nhiều | Trắng đục | Trắng nhạt |
| Kích thước khuẩn lạc | Lan trên bề mặt | Lan trên bề mặt | Lan trên bề mặt | 3-3,5 mm | 3-4,5mm |
| Định tên | Bacillus sp M1 | Bacillus sp M2 | Bacillus sp M3 | Micrococcus sp M4 | Micrococcus sp M5 |

III.3. Kết quả sơ chọn và đánh giá hoạt độ Protease:

Đường phân giải của mỗi chủng trên môi trường thử hoạt tính có protein thịt (D1) và môi trường thử hoạt tính có protein cá (D2). Kết quả trung bình sau 3 lần lặp lại được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Đo đường phân giải Protein

| Tên chủng vi sinh vật | D1 (cm) | D2 (cm) |
|-----------------------|---------|---------|
| M1 | 1,1 | 0,95 |
| M2 | 0,9 | 1,2 |
| M3 | 0,8 | 1 |
| M4 | 1,1 | 1,2 |
| M5 | 1 | 1,1 |

IV. Kết luận:

Tổng hợp các kết quả ở bảng 1, 2, 3 chúng tôi rút ra những nhận xét sau:

- Từ muối biển, đã phân lập được một số chủng vi khuẩn có khả năng chịu muối. Tất cả chúng được xếp vào nhóm vi khuẩn chịu muối ít đến vừa, có vùng nhiệt sinh trưởng từ 20-30°C. Chúng tác động lên các môi trường có Protein thịt cá và đều có khả năng phân giải Protein. Điều này chứng tỏ rằng: các nhóm vi khuẩn chịu muối thích hợp và tồn tại trong môi trường nước biển, sẽ tiếp tục cư trú trong các ruộng muối rồi từ nguyên liệu muối biển chúng nhiễm lên các nhóm thực phẩm có độ muối cao (khi sử dụng muối như là một phương cách bảo quản và chế biến) và làm hư hỏng nhóm thực phẩm này.

-Việc kiểm tra nhóm vi khuẩn ưa muối trong nguyên liệu muối biển có thể loại trừ nguyên nhân chính gây hư hỏng nhóm thực phẩm thịt cá mặn và trở thành một chỉ tiêu bắt buộc trong quá trình kiểm tra chất lượng nguyên liệu muối biển để bảo quản và chế biến thực phẩm. Đồng thời qui định sử dụng muối iốt trong bảo quản và chế biến thực phẩm của Bộ Y tế cần được áp dụng triệt để , bởi vì trong muối iốt (đã qua sơ chế) số lượng và chủng loại vi sinh vật ưa muối cũng giảm hẳn.

THE STUDY OF HALOPHILES ISOLATED FROM SEA-SALT

Nguyen Thuy Huong - Department of Food Technology-HoChiMinh City University of
Agriculture and Forestry

ABSTRACT:

Five strains halophiles were isolated from sea-salt. Their physical , chemical characteristics and protein degradative capacity were studied. The results showed that the conditions for their growth are in solution of 10-20% NaCl at the temperatures of 20-30°C, so they can be connected to the Moderate halophiles.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- [1]. Nguyễn Lân Dũng, 1989, NXB Đại học & Trung học CN
Vi sinh vật tập 2
- [2]. Nguyễn Lân Dũng, Phạm Trân Châu, 1983, NXB Đại học & Trung học CN
Khả năng điều hòa hoạt động của enzyme.
- [3]. Lương Đức Phẩm, Hồ Sưởng, 1982 , NXB Đại học & Trung học CN
Vi sinh vật trong bảo quản và chế biến thực phẩm.
- [4]. Gerard. J. Tortora, Berdel R. Funke, Microbiology, I, 1998.
- [5]. Bergey's Manual of determinative Bacteriology, Baltimore , 1974
- [6]. Ganea C., Gergely C., Ludmann K., Biophysical Journal, 73 (5), 1997
The role of water in the extracellular half channel of bacteriorhodospin