

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN TỐC ĐỘ TĂNG TRƯỞNG CỦA VI KHUẨN LACTIC PHÂN LẬP TỪ NEM CHUA

Nguyễn Thị Xuân Hồng*, Nguyễn Đức Quỳnh Anh

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Xuân Hồng <ntxhong@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 02-4-2026; Ngày chấp nhận đăng: 20-4-2026)

Tóm tắt. Vi khuẩn lactic đóng vai trò quan trọng trong ngành công nghiệp thực phẩm và cũng là đối tượng tiềm năng để sản xuất chế phẩm sinh học probiotics trong nuôi trồng thủy sản. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố lên tốc độ tăng trưởng của một số chủng vi khuẩn lactic phân lập từ nem chua. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố pH (6,0; 7,5 và 8,5), độ muối (10‰, 20‰ và 30‰) và nhiệt độ (28°C, 33°C và 38°C) cho thấy vi khuẩn hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 có khả năng sinh trưởng tốt ở các nghiệm thức thí nghiệm, trong đó sinh khối vi khuẩn đạt tối đa ở pH = 6,0, độ muối 10‰, nhiệt độ 38°C với mật độ nuôi cấy ban đầu là 2×10^6 CFU/mL. Cả hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 đều được xác định là *Lactobacillus fermentum* khi định danh bằng phương pháp MALDI-TOF MS.

Từ khóa: mật độ ban đầu, môi trường tối ưu, nuôi trồng thủy sản, vi khuẩn lactic

Factors influencing the growth rate of lactic acid bacteria isolated from fermented pork “nem chua”

Nguyen Thi Xuan Hong*, Nguyen Duc Quynh Anh

University of Agriculture and Forestry, Hue University, 120 Phung Hung St., Hue, Vietnam

* Correspondence to: Nguyen Thi Xuan Hong <ntxhong@hueuni.edu.vn>

(Received: 2 April 2026; Accepted: 20 April 2026)

Abstract. Lactic acid bacteria (LAB) play an important role in the food industry and is also a potential candidate for the production of probiotic products in aquaculture. Therefore, this study was conducted to determine the factors influencing the growth rate of lactic acid bacteria strains, NC3 and NC7, isolated from fermented pork “nem chua”. The effects of pH (6.0, 7.5, and 8.5), salinity (10‰, 20‰, and 30‰), and temperature (28 °C, 33 °C, and 38 °C) on the growth of LAB strains were investigated. The results showed that both NC3 and NC7 exhibited good growth under the experimental conditions, with maximal growth observed at pH= 6.0, salinity of 10‰, and a temperature of 38 °C, with an initial inoculum concentration of 2×10^6 CFU/mL. Both bacterial strains NC3 and NC7 were identified as *Lactobacillus fermentum* by MALDI-TOF MS.

Keywords: initial density, optimum condition, aquaculture, lactic acid bacteria

1 Đặt vấn đề

Vi khuẩn lactic (LAB) được phân lập lần đầu tiên vào năm 1907 và từ lâu đã trở thành phần thiết yếu trong sản xuất thực phẩm cũng như hỗ trợ sức khỏe dưới dạng các chế phẩm sinh học [1; 2]. LAB thường bao gồm nhiều loài khác nhau thuộc các chi như *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, và *Weissella* [3]. Nhờ vào khả năng sản sinh các hợp chất kháng khuẩn, như axit lactic và bacteriocin, LAB không chỉ giúp bảo quản thực phẩm một cách tự nhiên, ngăn chặn sự phát triển của các vi khuẩn gây hại [2; 4] mà còn tạo ra các sản phẩm lên men có giá trị dinh dưỡng cao. Các nghiên cứu gần đây cũng chỉ ra rằng LAB có tác dụng tích cực đối với sức khỏe đường ruột, như cải thiện hệ vi sinh vật đường ruột, hỗ trợ tiêu hóa và tăng cường hệ miễn dịch. Vì vậy, LAB không chỉ là thành phần quan trọng trong các sản phẩm thực phẩm lên men mà còn được ứng dụng rộng rãi trong các chế phẩm sinh học hỗ trợ sức khỏe, mở ra nhiều triển vọng ứng dụng trong điều trị và phòng bệnh.

Trong lĩnh vực thủy sản, LAB được ứng dụng để cải thiện sức khỏe động vật thủy sản. Các chủng LAB (như *Lactiplantibacillus plantarum*, *Pediococcus acidolactici*, *Lactobacillus curvatus*,...) có khả năng ức chế sự phát triển của nhiều vi khuẩn gây bệnh nguy hiểm trong cả môi trường nước ngọt và nước mặn, bao gồm *Photobacterium damsela*, *Vibrio alginolyticus*, *Listonella anguillarum*, *Edwardsiella ictaluri*, *Aeromonas hydrophila*, *V. parahaemolyticus*, *Edwardsiella tarda*, và *V. harveyi* [5; 6]. Bên cạnh đó, LAB còn hỗ trợ cải thiện tiêu hóa, tăng cường hệ miễn dịch và giảm thiểu tác động của stress đối với thủy sản [7; 8; 9]. Việc sử dụng LAB trong nuôi trồng thủy sản không chỉ giúp giảm thiểu việc sử dụng kháng sinh mà còn nâng cao chất lượng sản phẩm thủy sản, đáp ứng yêu cầu an toàn thực phẩm ngày càng cao.

Kết quả nghiên cứu gần đây của chúng tôi cho thấy *Pediococcus pentosaceus* phân lập từ mắ

cá com có tiềm năng ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản nhờ vào đặc tính chịu mặn, chịu axit, khả năng tự kết dính cao và kháng vi khuẩn gây bệnh *Vibrio parahaemolyticus* trong điều kiện *in vivo* [10]. Tương tự, *P. pentosaceus* đã được phát hiện có lợi cho cua bùn và tôm thẻ chân trắng nhờ vào khả năng ức chế vi khuẩn, tăng cường miễn dịch và thúc đẩy tăng trưởng [11, 12].

Tốc độ phát triển của vi sinh vật cũng như hiệu quả hoạt động của các enzyme do vi sinh vật sản sinh chịu ảnh hưởng lớn bởi một số yếu tố như thành phần loài vi sinh vật, môi trường nuôi cấy cũng như mật độ tiếp giống ban đầu...[13]. Do đó, việc tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy phù hợp với đặc tính của từng loài và xác định đúng thời điểm thu sinh khối vi sinh vật cao nhất sẽ làm tăng hiệu quả sử dụng vi sinh vật có lợi (probiotic) trong thực tiễn. Đây là nghiên cứu đầu tiên đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố (mật độ ban đầu, nhiệt độ, pH, độ mặn) lên khả năng sinh trưởng của LAB phân lập được từ sản phẩm nem chua lên men ở Huế.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Phương pháp phân lập và xác định một số đặc tính lý hoá học của vi khuẩn lactic

Mẫu nem chua sử dụng để phân lập vi khuẩn lactic trong nghiên cứu này được lên men theo phương pháp truyền thống tại thành phố Huế (nem chua bà Hảo) và phân lập theo phương pháp của Hồng và cs. [14]. Cụ thể: đồng nhất 1 g mẫu trong dung dịch NaCl (0,85%) vô trùng bằng đĩa thủy tinh vô trùng, lấy 1 mL dung dịch sau đồng nhất đi nuôi cấy tăng sinh trong môi trường MRS (deMan, Rogosa and Sharpe, Hemidia, Ấn Độ) lỏng ở 30 °C trong 24 giờ. Sau đó trải đều 20 µL huyền phù vi khuẩn lên đĩa thạch MRS, ủ ở 30 °C và kiểm tra sự phát triển của khuẩn lạc sau 24-48 giờ. Các chủng vi khuẩn nghi ngờ là vi khuẩn lactic được lựa chọn dựa trên các đặc điểm đặc trưng như tế bào có dạng hình que hoặc cầu khuẩn, Gram

duyệt, làm tan CaCO_3 , không di động, âm tính với phản ứng catalase và oxidase.

Khả năng di động và làm tan CaCO_3 của vi khuẩn lactic được khảo sát lần lượt trên môi trường thạch bán lỏng MRS + 0,3% agar [15] và MRS + 1% CaCO_3 [16]. Các đĩa nuôi cấy được ủ 24 giờ ở 30 °C sau đó quan sát vùng trong suốt hình thành xung quanh khuẩn lạc.

Phản ứng catalase được thực hiện bằng cách kiểm tra khả năng tạo bọt hoặc không tạo bọt của khuẩn lạc trong dung dịch H_2O_2 3% [17]. Phản ứng oxidase được đánh giá thông qua khả năng làm đổi màu Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride của vi khuẩn lactic [18].

2.2 Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng sinh trưởng của các chủng vi khuẩn phân lập được

Anh hưởng của mật độ ban đầu đến khả năng sinh trưởng của vi khuẩn lactic

Thí nghiệm được bố trí 3 nghiệm thức với mật độ ban đầu của vi khuẩn lactic lần lượt là 2×10^6 CFU/mL; 3×10^6 CFU/mL và 4×10^6 CFU/mL. Cụ thể, các chủng vi khuẩn lactic được nuôi tăng sinh trong môi trường MRS ở nhiệt độ 28 °C, pH=6,0 (pH của môi trường MRS) trong 60 giờ. Sau 60 giờ nuôi tăng sinh liên tục, mật độ tiếp giống ban đầu cho tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn tốt nhất sẽ được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Anh hưởng của nhiệt độ đến tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn lactic

Các chủng vi khuẩn sẽ được nuôi tăng sinh trong môi trường MRS ở ba nhiệt độ khác nhau là 28 °C, 33 °C và 38 °C, pH=6. Tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn được xác định qua giá trị OD600 sau mỗi 12 giờ và kéo dài trong 60 giờ. Mỗi nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Anh hưởng của pH và nồng độ muối đến tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn lactic

Trong thí nghiệm này, các chủng vi khuẩn lactic lần lượt được nuôi tăng sinh trong môi trường MRS với ba mức pH khác nhau là 6,0; 7,5 hoặc 8,5 và ba nồng độ muối khác nhau là 10‰, 20‰ và 30‰. Tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn được xác định qua giá trị OD600 sau mỗi 12 giờ trong 60 giờ nuôi liên tục. Các nghiệm thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.3 Định danh vi khuẩn lactic bằng phương pháp MALDI-TOF MS

Chuẩn bị mẫu theo phương pháp của Drevinek và cs. [19]. Một khuẩn lạc thuần sẽ được đồng nhất trong 300 μL nước cất vô trùng, thêm 900 μL ethanol tuyệt đối vào mẫu và trộn đều, ly tâm ở 13000 rpm trong 2 phút ở 4 °C, sau đó loại bỏ hoàn toàn dịch nổi, để khô mẫu ở nhiệt độ phòng trong 5-10 phút. Tiếp theo thêm 30-50 μL acid formic 70%, trộn đều rồi thêm 30-50 μL acetonitrile, trộn đều và ly tâm ở 13000 rpm trong 2 phút ở 4 °C. Lấy 1 μL dịch nổi chấm lên đĩa MALDI, để khô rồi thêm 1 μL matrix. Sau đó mẫu được phân tích bằng hệ thống MALDI TOF/TOF™ Analyzer (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA). Số liệu được xử lý bằng phần mềm Data Explorer (Applied Biosystem) và hệ thống Bionumerics [20]. Mẫu vi khuẩn được định danh tại Lab vi sinh, Khoa kỹ thuật sinh học, Trường Đại học Ghent, Vương quốc Bỉ.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Mật độ của mỗi chủng vi khuẩn lactic trong cùng một nghiệm thức được xử lý thống kê one-way ANOVA bằng phần mềm SPSS 20.0, kết quả có ý nghĩa thống kê khi $p \leq 0,05$.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả phân lập vi khuẩn lactic

Tổng cộng 7 khuẩn lạc nghi ngờ là vi khuẩn lactic đã được lựa chọn từ môi trường thạch MRS. Các khuẩn lạc này có màu trắng sữa hoặc trắng đục, khuẩn lạc có dạng tròn dẹt hoặc hơi lồi và đều có khả năng làm tan CaCO_3 trên môi trường thạch MRS có bổ sung 1% CaCO_3 . Kết quả nhuộm Gram cho thấy tất cả 7 chủng vi khuẩn đều là Gram

đương và có dạng hình que (bảng 1, hình 1). Ngoài ra, các chủng vi khuẩn phân lập được đều không có khả năng di động, âm tính với phản ứng oxidase và catalase. Đây là những đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hoá điển hình của vi khuẩn lactic như đã được mô tả trước đó bởi Thuý và cs. [21], Hong và cs. [10]. Dựa vào các kết quả về đặc điểm hình thái, sinh lý của các 7 chủng vi khuẩn phân lập (NC1,

NC2, NC3, NC4, NC5, NC6, NC7) và theo hướng dẫn phân loại của Axelsson, 2004 [22] các chủng vi khuẩn này bước đầu được xác định là vi khuẩn lactic. Trong đó, chủng vi khuẩn NC3 và NC7 có tốc độ sinh trưởng và khả năng làm tan CaCO_3 tốt nhất. Vì vậy, hai chủng vi khuẩn này được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Hình dạng khuẩn lạc (a) và hình thái tế bào (x40) (b) của chủng vi khuẩn NC3

Bảng 1. Một số đặc điểm hình thái và chỉ tiêu sinh lý của các chủng vi khuẩn phân lập được

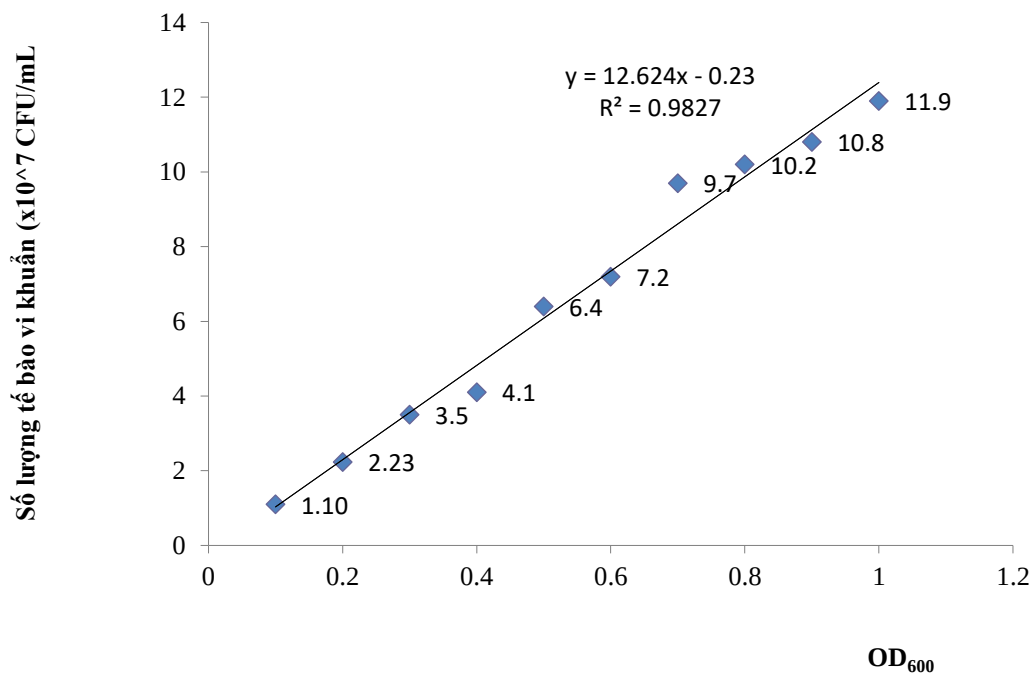
Đặc điểm	Chủng vi khuẩn						
	NC1	NC2	NC3	NC4	NC5	NC6	NC7
Hình dạng khuẩn lạc	Tròn lồi, trắng sữa	Tròn lồi, trắng đục	Tròn lồi, trắng sữa	Tròn dẹt, trắng đục	Tròn lồi, trắng đục	Tròn lồi, trắng sữa	Tròn dẹt, trắng sữa
Kích thước (mm)	1,0-1,5	1,0-1,7	1,5-2,0	1,0-1,5	1,0-1,5	1,5-1,7	1,5-2,0
Hình dạng vi khuẩn	Hình que	Hình que	Hình que	Hình que	Hình que	Hình que	Hình que
Nhuộm Gram	+	+	+	+	+	+	+
Khả năng làm tan CaCO_3 (cm)	0,7	0,9	2,0	1,2	1,2	1,5	2,2
OD ₆₀₀	0,7	0,6	1,2	0,9	0,7	0,7	1,1

Ghi chú: (+): dương tính

3.2 Xây dựng đường chuẩn tương quan giữa mật độ vi khuẩn và OD₆₀₀

Đường chuẩn tương quan giữa OD₆₀₀ và mật độ tế bào được xây dựng dựa trên chủng NC3. Cụ thể: huyền phù vi khuẩn sau khi nuôi cấy qua đêm được pha loãng từ 10⁻¹ đến 10⁻¹⁰ bằng dung dịch

NaCl 0,85% vô trùng. Mỗi mức pha loãng sẽ tiến hành đo OD₆₀₀ và đếm khuẩn lạc trên môi trường MRS agar bằng phương pháp trải đĩa để xây dựng phương trình đường chuẩn tương quan giữa giá trị OD₆₀₀ và mật độ tế bào đếm được. Kết quả được thể hiện ở hình 2.



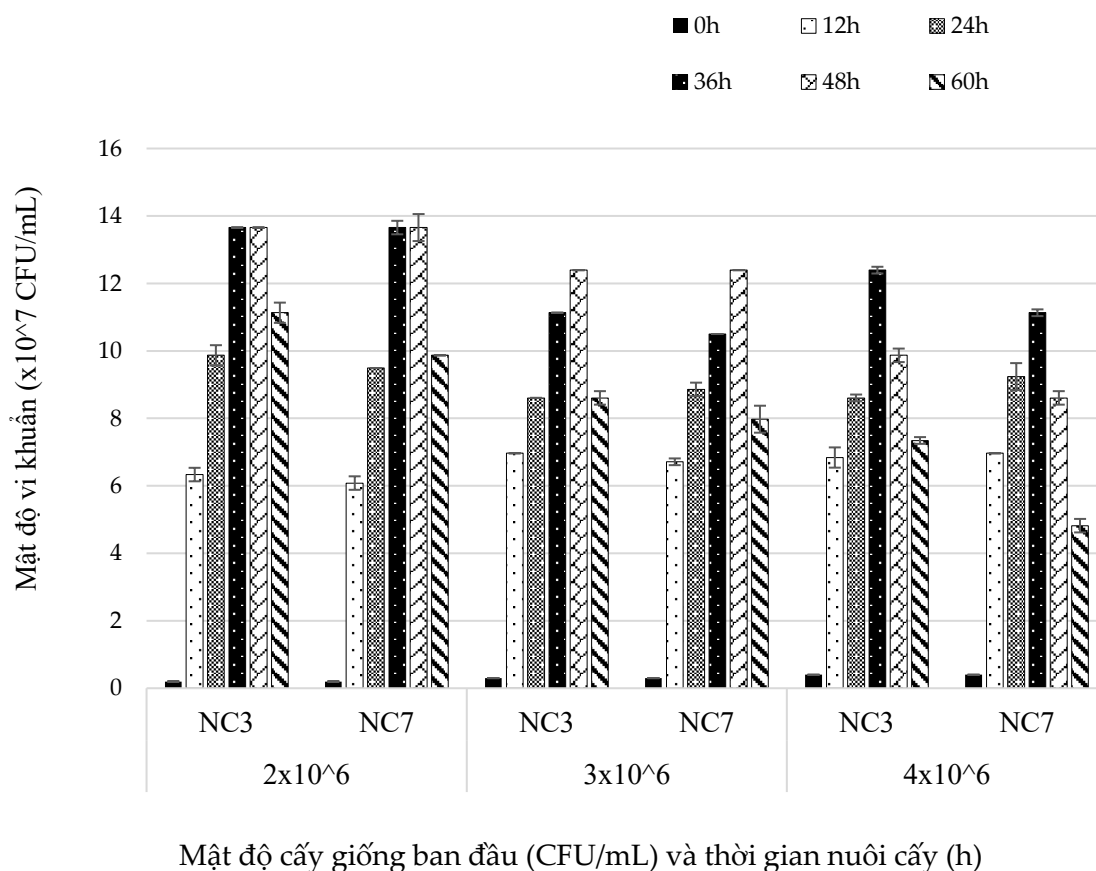
Hình 2: Đường chuẩn tương quan giữa OD₆₀₀ và mật độ tế bào của chủng vi khuẩn NC3

Kết quả hình 2 cho thấy phương trình hồi quy biểu diễn mối tương quan giữa độ hấp thụ quang học (OD₆₀₀) và mật độ tế bào có hệ số xác định $R^2=0,9827$ ($>0,95$), chứng tỏ mối tương quan tuyến tính rất chặt chẽ giữa hai đại lượng. Do đó, phương trình này có độ tin cậy cao và có thể sử dụng để ước tính mật độ tế bào vi khuẩn cho hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 trong các thí nghiệm tiếp theo vì 2 chủng vi khuẩn này đều có hình thái tế bào và kích thước khuẩn lạc tương tự nhau.

3.3 Ảnh hưởng của mật độ ban đầu đến tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn lactic

Tốc độ sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 phụ thuộc vào mật độ tế bào nuôi cấy

ban đầu. Ở nghiệm thức 1 (2×10^6 CFU/mL) hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 đạt mật độ cao nhất sau 36 giờ nuôi cấy. Nghiệm thức 2 (3×10^6 CFU/mL) và nghiệm thức 3 (4×10^6 CFU/mL) sinh khối vi khuẩn của hai chủng NC3 và NC7 đạt giá trị cao nhất sau 36 và 48 giờ nuôi cấy nhưng thấp hơn giá trị mức cực đại của nghiệm thức 1 (2×10^6 CFU/mL) (Hình 3). Kết quả này cho thấy với mật độ cấy giống ban đầu phù hợp với hai chủng NC3 và NC7 là 2×10^6 CFU/mL và phù hợp với hiệu ứng Allee [23]. Mật độ ban đầu thấp thường cho tốc độ sinh trưởng tối đa cao hơn [23]. Vì vậy mật độ ban đầu 2×10^6 CFU/mL được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.



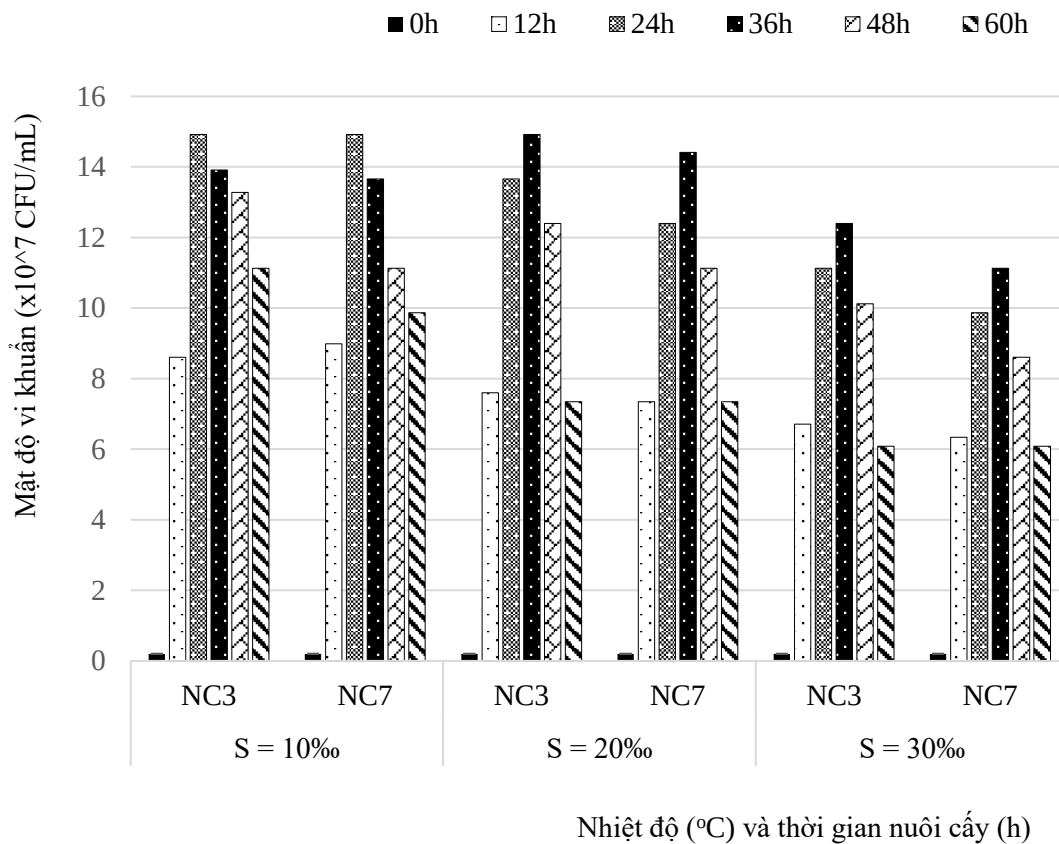
Hình 3. Mật độ của chủng vi khuẩn NC3 và NC7 ở ba mật độ nuôi ban đầu khác nhau

3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tốc sinh trưởng của vi khuẩn lactic

Tốc độ sinh trưởng của hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 trong môi trường có nhiệt độ khác nhau được trình bày ở hình 4. Ở cùng nhiệt độ thí nghiệm 28 °C, 33 °C hoặc 38 °C, tốc độ sinh trưởng của hai chủng NC3 và NC7 không có sự khác biệt. Nhìn chung, trong khoảng nhiệt độ 28 °C đến 38 °C, nhiệt độ càng tăng thời gian vi khuẩn đạt cực đại càng rút ngắn. Ở nhiệt độ 38 °C, mật độ vi khuẩn cao hơn so với 2 nghiệm thức còn lại.

Ở nhiệt độ 38 °C, hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 đạt mật độ cực đại chỉ sau 24 giờ nuôi cấy với giá trị 15x10⁷ CFU/mL trong khi ở nhiệt độ 28 °C mật độ vi khuẩn đạt cao nhất sau 36 giờ nuôi

cấy với 13x10⁷ CFU/mL. Như vậy, trong nghiên cứu này, 38°C là nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của NC3 và NC7, đây cũng là mức nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng của nhiều vi khuẩn lactic. Kết quả này cũng hoàn toàn tương đồng với một số nghiên cứu trước đây trên vi khuẩn lactic. Nghiên cứu của Xu và cs. [27] cho thấy nhiệt độ tăng từ 15 °C lên 37 °C thúc đẩy sự sinh trưởng mạnh mẽ của vi khuẩn lactic *P. pentosaceus*, làm giảm nhanh giá trị pH và do đó ức chế sự phát triển của các vi khuẩn *Pseudomonas*, *Micrococcaceae* và *Enterobacteriaceae* trong sản phẩm xúc xích lên men từ cá mè trắng. Kết quả nghiên cứu của Wayah và cs. [28] cho thấy nhiệt độ lên men tối ưu của *L. fermentum* GA715 là 37 °C và pH: 6-7.

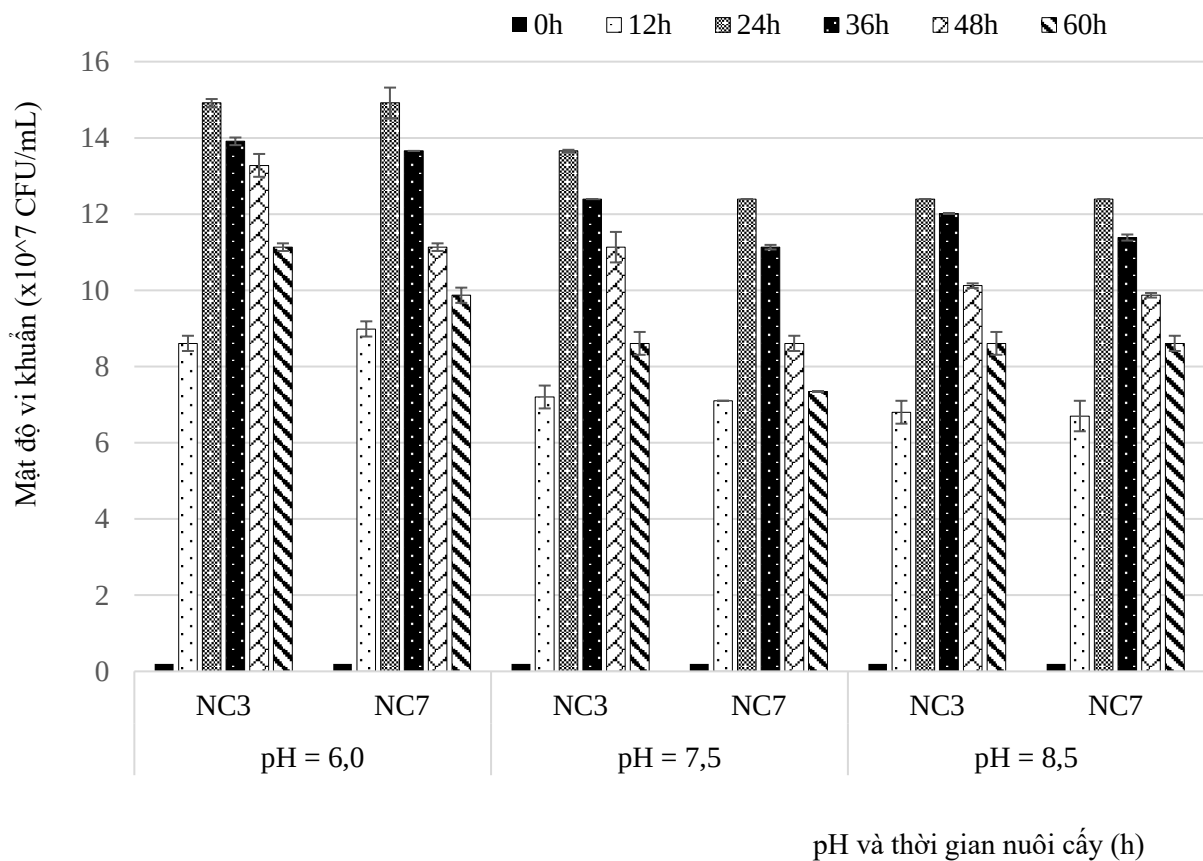


Hình 4. Mật độ của chủng vi khuẩn NC3 và NC7 nuôi cấy ở các mức nhiệt độ khác nhau

3.5 Ảnh hưởng của pH đến tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn lactic

Cả 2 chủng vi khuẩn NC3 và NC7 sinh trưởng tốt trong môi trường MRS lỏng có pH dao động từ 6,0 đến 8,5. Tuy nhiên, pH = 6,0 (pH của môi trường MRS) là pH môi trường tối ưu cho sự sinh trưởng của 2 chủng vi khuẩn thí nghiệm, mật độ vi khuẩn đạt giá trị cực đại sau 24 giờ nuôi cấy với giá trị là 15×10^7 CFU/mL đối với NC3 và NC7 (Hình 5). Theo Van và Scarpa [24]; Verma và cs. [25]; Yusoff và cs. [26], pH thích hợp cho việc nuôi trồng các đối tượng thủy sản dao động từ 6,0-8,5 tùy thuộc vào loài và môi trường sống.

Một số các nghiên cứu trước đây trên LAB cũng ghi nhận pH ảnh hưởng đến khả năng thích ứng của vi khuẩn và hoạt tính của các enzyme từ đó ảnh hưởng đến khả năng lên men của sản phẩm. pH thích hợp cho sinh trưởng và hoạt tính enzyme của *P. pentosaceus* và *Lactobacillus* sp. dao động từ pH 6,0 đến pH 8,0 [29; 30; 31]. *P. pentosaceus* 1101 phân lập từ thịt lên men được cho là loài rộng pH, có khả năng phát triển tốt trong phạm vi pH từ 2,0-7,0, tuy nhiên pH tối ưu thường ở phạm vi trung tính (pH=7,0) hoặc có tính axit nhẹ [31].



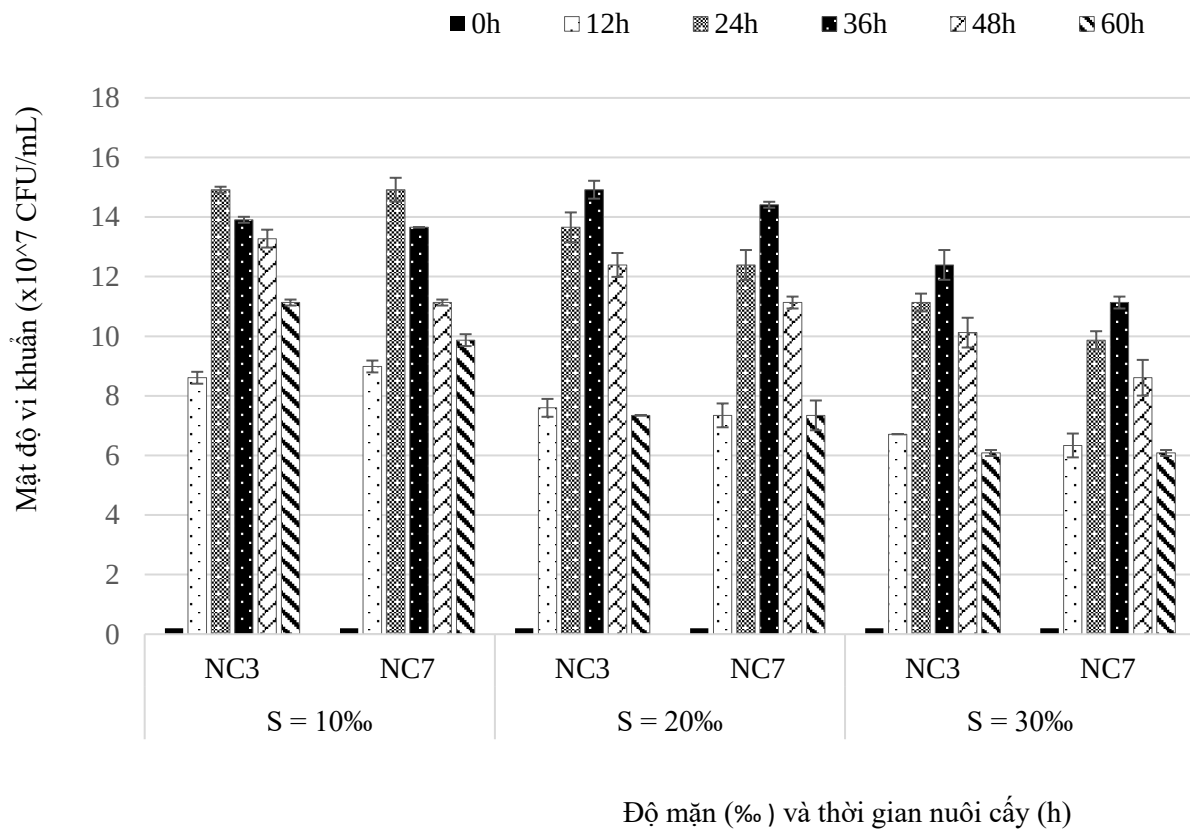
Hình 5. Mật độ của chủng NC3 và NC7 nuôi cấy ở các giá trị pH khác nhau

3.6 Ảnh hưởng của nồng độ muối đến tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn lactic

Nhìn chung cả các chủng vi khuẩn thí nghiệm đều sinh trưởng khá tốt ở ba nồng độ muối (10‰; 20‰ và 30‰) sau 60 giờ nuôi cấy (Hình 6). Tuy nhiên, ở 10‰ và 20‰, 2 chủng NC3 và NC7 đều sinh trưởng nhanh và đạt sinh khối lớn nhất sau 24 giờ và 36 giờ nuôi cấy.

Ở nồng độ muối 30‰, sự phát triển của 2 chủng vi khuẩn NC3 và NC7 thấp hơn và quá trình

thích nghi với môi trường diễn ra chậm hơn so với mẫu nuôi cấy khác. Mật độ tế bào đạt cực đại sau 36 giờ nuôi cấy tuy nhiên sinh khối thu được thấp rõ rệt so với hai nồng độ muối thấp hơn ($p < 0,05$). Kết quả nghiên cứu trên *Lactobacillus plantarum* và *L. lactis* cũng cho thấy ở nồng độ muối $\geq 30‰$, sự sinh trưởng và mật độ cực đại của vi khuẩn giảm đáng kể do tế bào phải sử dụng năng lượng cho việc cân bằng áp suất thẩm thấu [32].



Hình 6. Mật độ của chủng NC3 và NC 7 nuôi cấy ở các nồng độ muối khác nhau

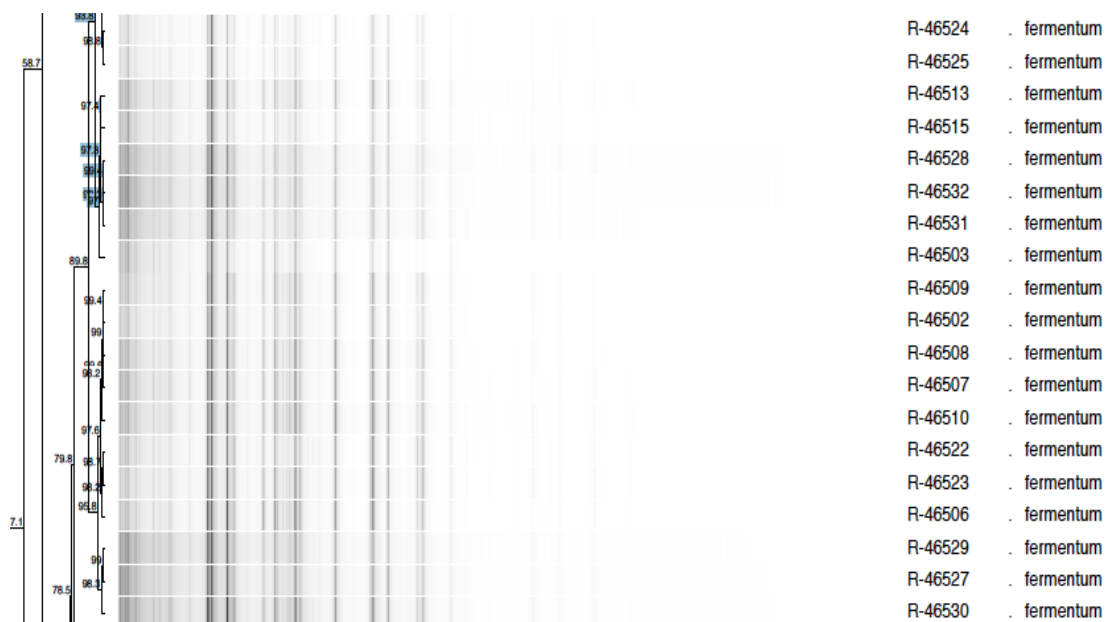
Khả năng chịu muối là đặc điểm quan trọng trong việc tuyển chọn các chủng tiềm năng để sản xuất probiotics đặc biệt trong lĩnh vực thủy sản lợ mặn. Ba nồng độ muối khảo sát trong nghiên cứu này là ngưỡng nồng độ muối tối ưu cho sự sinh trưởng và phát triển của các đối tượng thủy sản nước lợ và mặn [24; 25; 26].

Trong nghiên cứu trước đây, Siddegowda và cs. [33] đã báo cáo chủng *P. pentosaceus* phân lập từ mắm cá có khả năng sinh trưởng tốt ở độ muối lên đến 200‰. Gần đây, chủng *P. pentosaceus* HN10 được xác định có khả năng phát triển ở độ mặn lên đến 250‰. Tuy nhiên, độ mặn thích hợp được xác

định ở 50‰ - 150‰ trong đó nồng độ muối tối ưu cho *P. pentosaceus* HN10 phát triển là 50‰ [34]. Trái lại, một nghiên cứu khác về ảnh hưởng của độ muối đến tốc độ sinh trưởng của chủng vi khuẩn lactic đã cho thấy một số chủng có bị ức chế ở độ muối 40‰ và 60‰ và ngừng sinh trưởng ở độ muối 80‰ [35].

3.7 Kết quả định danh của hai chủng NC3 và NC7

Dựa trên phân tích phổ protein bằng MALDI-TOF của 2 chủng vi khuẩn NC3 (R-46532) và NC7 (R-46503) được định danh là *Lactobacillus fermentum* (Hình 7).



Hình 7. Kết quả phổ protein (MALDI-TOF MS) của 2 chủng vi khuẩn NC3 và NC7

4 Kết luận

Trong nghiên cứu này, hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 được phân lập từ nem chua phát triển tối ưu ở môi trường MRS với pH = 6,0, nhiệt độ 38 °C, nồng độ NaCl 10‰ và mật độ nuôi cấy ban đầu 2×10^6 CFU/mL. Kết quả định danh dựa trên phân tích phổ protein bằng MALDI-TOF MS cho thấy cả hai chủng vi khuẩn NC3 và NC7 đều thuộc loài *Lactobacillus fermentum*. Nghiên cứu có ý nghĩa khi đã xác định được các yếu tố phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của hai chủng vi khuẩn NC3, NC7 và phù hợp với điều kiện môi trường nước trong các hệ thống nuôi trồng thủy sản nước lợ, mặn.

Tài liệu tham khảo

1. Zommiti M, Feuilloley MG, Connil N. Update of probiotics in human world: a nonstop source of

- benefactions till the end of time. Microorganisms. 2020;8(12):1907.
2. Jiang S, Cai L, Lv L, Li L. *Pediococcus pentosaceus*, a future additive or probiotic candidate. Microbial Cell Factories. 2021;20(1):45
3. Cohen DP, Vaughan EE, de Vos WM, Zoetendal EG. Proteomic approaches to study lactic acid bacteria. Therapeutic Microbiology: Probiotics and Related Strategies. 2008;25:205-21.
4. Lee ES, Song EJ, Nam YD, Lee SY. Probiotics in human health and disease: from nutraceuticals to pharmabiotics. Journal of Microbiology. 2018;56(11):773-82.
5. Zhang F, Zhou K, Xie F, Zhao Q. Screening and identification of lactic acid bacteria with antimicrobial abilities for aquaculture pathogens in vitro. Archives of Microbiology. 2022;204(12):689.
6. Thompson J, Weaver MA, Lupatsch I, Shields RJ, Plummer S, Coates CJ, Rowley AF. Antagonistic activity of lactic acid bacteria against pathogenic vibrios and their potential use as probiotics in shrimp (*Penaeus vannamei*)

- culture. *Frontiers in Marine Science*. 2022;9:807989.
7. Chizhayeva A, Amangeldi A, Oleinikova Y, Alybaeva A, Sadanov A. Lactic acid bacteria as probiotics in sustainable development of aquaculture. *Aquatic Living Resources*. 2022;35:10.
8. Hoseini SM, Yousefi M, Afzali-Kordmahalleh A, Pagheh E, Taheri Mirghaied A. Effects of dietary lactic acid supplementation on the activity of digestive and antioxidant enzymes, gene expressions, and bacterial communities in the intestine of common carp, *Cyprinus carpio*. *Animals*. 2023;13(12):1934.
9. Amenयोग E, Droepenu EK, Ayisi CL, Boamah GA, Duker RQ, Abarike ED, Huang JS. Impact of probiotics, prebiotics, and synbiotics on digestive enzymes, oxidative stress, and antioxidant defense in fish farming: current insights and future perspectives. *Frontiers in Marine Science*. 2024;11:1368436.
10. Hong NT, Linh NT, Baruah K, Thuy DT, Phuoc NN. The combined use of *Pediococcus pentosaceus* and fructooligosaccharide improves growth performance, immune response, and resistance of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio parahaemolyticus*. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:826151.
11. Won S, Hamidoghli A, Choi W, Bae J, Jang WJ, Lee S, Bai SC. Evaluation of potential probiotics *Bacillus subtilis* WB60, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactococcus lactis* on growth performance, immune response, gut histology and immune-related genes in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Microorganisms*. 2020;8(2):281.
12. Yang Q, Lü Y, Zhang M, Gong Y, Li Z, Tran NT, He Y, Zhu C, Lu Y, Zhang Y, Li S. Lactic acid bacteria, *Enterococcus faecalis* Y17 and *Pediococcus pentosaceus* G11, improved growth performance, and immunity of mud crab (*Scylla paramamosain*). *Fish & shellfish immunology*. 2019;93:135-43.
13. Lê Ngọc Thùy Trang, Phạm Minh Nhựt. 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;36:97-106.
14. Nguyễn Thị Xuân Hồng, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Đỗ Thị Bích Thủy, Phạm Thị Hải Yến, Nguyễn Thị Đào, Nguyễn Nam Quang. Khảo sát hoạt tính bacterioxin của một số chủng vi khuẩn lactic phân lập từ mắm cá rô Huế. *Tạp chí Công nghệ và Khoa học Nông nghiệp*. 2025;9(1):662-4670.
15. Hong NT, Baruah K, Vanrompay D, Bossier P. Characterization of phenotype variations of luminescent and non-luminescent variants of *Vibrio harveyi* wild type and quorum sensing mutants. *Journal of Fish Diseases*. 2016;39(3):317-27.
16. Welsh C. *Microbiology, a laboratory manual*. 11th ed. Harlow: Pearson. 2017.
17. Shangari N, O'Brien PJ. Catalase activity assays. *Current protocols in toxicology*. 2006;27(1):7-.
18. Patricia S, Laura C. Oxidase test protocol. ASM Microbelibrary. 2010.
19. Drevinek M, Dresler J, Klimentova J, Pisa L, Hubalek M. Evaluation of sample preparation methods for MALDI-TOF MS identification of highly dangerous bacteria. *Letters in applied microbiology*. 2012;55(1):40-6.
20. Doan NT, Van Hoorde K, Cnockaert M, De Brandt E, Aerts M, Le Thanh B, Vandamme P. Validation of MALDI-TOF MS for rapid classification and identification of lactic acid bacteria, with a focus on isolates from traditional fermented foods in Northern Vietnam. *Letters in applied microbiology*. 2012;55(4):265-73.

21. Đỗ Thị Bích Thủy, Nguyễn Thị Diễm Hương. Xác định và khảo sát một số tính chất có lợi của chủng *Lactobacillus fermentum* DC1 phân lập từ sản phẩm dưa cải Huế. Tạp chí khoa học, Đại học Huế. 2012;71(2):175–185.
22. Axelsson L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. Food Science and Technology- New York-Marcel Dekker-. 2004;139:1-66.
23. Smith R, Tan C, Srimani JK, Pai A, Riccione KA, Song H, You L. Programmed Allee effect in bacteria causes a tradeoff between population spread and survival. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014;111(5):1969-74.
24. Van Wyk P, Scarpa J. Water quality requirements and management. Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems. 1999;4520:141-61.
25. Verma DK, Satyaveer NK, Kumar P, Jayaswa R. Important water quality parameters in aquaculture: An overview. Agriculture and Environment. 2022;3(3):24-9.
26. Yusoff FM, Umi WA, Ramli NM, Harun R. Water quality management in aquaculture. Cambridge Prisms: Water. 2024;2:e8.
27. Xu Y, Xia W, Yang F, Kim JM, Nie X. Effect of fermentation temperature on the microbial and physicochemical properties of silver carp sausages inoculated with *Pediococcus pentosaceus*. Food Chemistry. 2010;118(3):512-8.
28. Wayah SB, Philip K. Characterization, yield optimization, scale up and biopreservative potential of fermentin SA715, a novel bacteriocin from *Lactobacillus fermentum* GA715 of goat milk origin. Microbial cell factories. 2018;17(1):125.
29. Hofvendahl K, Hahn-Hägerdal B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources1. Enzyme and microbial technology. 2000 Feb;26(2-4):87-107.
30. Oshiro M, Tanaka M, Zendo T, Nakayama J. Impact of pH on succession of sourdough lactic acid bacteria communities and their fermentation properties. Bioscience of microbiota, food and health. 2020;39(3):152-9.
31. Escobar-Sánchez M, Carrasco-Navarro U, Juárez-Castelán C, Lozano-Aguirre Beltrán L, Pérez-Chabela ML, Ponce-Alquicira E. Probiotic properties and proteomic analysis of *Pediococcus pentosaceus* 1101. Foods. 2022;12(1):46.
32. Papadimitriou K, Alegría Á, Bron PA, De Angelis M, Gobbetti M, Kleerebezem M, Lemos JA, Linares DM, Ross P, Stanton C, Turrone F. Stress physiology of lactic acid bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2016;80(3):837-90.
33. (29)Siddegowda GS, Bhaskar N, Gopal S. Fermentative properties of proteolytic *Pediococcus* strains isolated from salt fermented fish hydrolysate prepared using freshwater fish rohu (*Labeo rohita*). Journal of Aquatic Food Product Technology. 2017;26(3):341-55.
34. Thao TT, Lan TT, Phuong TV, Truong HT, Khoo KS, Manickam S, Hoa TT, Tram ND, Show PL, Huy ND. Characterization halotolerant lactic acid bacteria *Pediococcus pentosaceus* HN10 and in vivo evaluation for bacterial pathogens inhibition. Chemical Engineering and Processing-Process Intensification. 2021;168:108576.
35. Zhang H, Wang Q, Liu H, Kong B, Chen Q. In vitro growth performance, antioxidant activity and cell surface physiological characteristics of *Pediococcus pentosaceus* R1 and *Lactobacillus fermentum* R6 stressed at different NaCl concentrations. Food & function. 2020;11(7):6376-86