

ĐẶC ĐIỂM SINH HÓA VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA CÁC CHỦNG VI KHUẨN LACTIC PHÂN LẬP TỪ CÀ CHUA

Lê Quốc Việt¹, Lưu Minh Châu¹, Trần Thị Giang¹,
Nguyễn Ngọc Thanh¹, Hà Thanh Toàn¹, Huỳnh Xuân Phong^{1,*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định các đặc tính sinh lý, sinh hoá đặc trưng các chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ cà chua và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn đối với hai chủng vi khuẩn chỉ thị là *Bacillus cereus* và *Escherichia coli* bằng phương pháp vạch thẳng vuông góc. Kết quả cho thấy, có 15/18 chủng vi khuẩn thuộc nhóm vi khuẩn lactic. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của 15 chủng vi khuẩn lactic với *B. cereus* cho thấy, khoảng cách đối kháng dao động từ $13,67 \pm 3,79$ mm đến $30,33 \pm 8,14$ mm, trong đó có 4 chủng thể hiện tính kháng mạnh (>25 mm) là TO15, TO16, TO24 và TO41. Hoạt tính kháng *E. coli* thể hiện ở mức trung bình với khoảng kháng khuẩn từ $12,67 \pm 0,58$ mm đến $18,00 \pm 2,65$ mm, trong đó 4 chủng có hoạt tính kháng khuẩn cao là TO23, TO43, TO34 và TO31 (khoảng kháng khuẩn dao động 16,00 - 18,00 mm).

Từ khoá: Đặc tính sinh học, đối kháng, hoạt tính kháng khuẩn, vi khuẩn lactic.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, an toàn thực phẩm là một trong những chủ đề cấp thiết và quan trọng đối với sức khỏe cộng đồng. Việc nghiên cứu các phương pháp mới để bảo quản thực phẩm thay thế cho việc bảo quản bằng các chất hoá học là rất cần thiết, trong đó phương pháp sinh học ngày càng được ưu tiên bằng cách sử dụng các vi sinh vật, enzyme hoặc các chất sinh học để ức chế sự phát triển của các vi khuẩn gây hại, cải thiện chất lượng và gia tăng thời gian bảo quản của thực phẩm [1]. Những ưu điểm của phương pháp này là giảm sử dụng các chất bảo quản hóa học có nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe, quá trình lên men axit lactic, cũng như góp phần làm tăng giá trị dinh dưỡng và hương vị của thực phẩm.

Vi khuẩn lactic là một nhóm vi khuẩn Gram dương, tế bào có hình cầu hoặc que, đơn hay ghép chuỗi, oxidase và catalase âm tính, không sinh bào tử và không di động [2]. Vi khuẩn lactic có thể phân loại theo nhiều tiêu chí, như khả

năng chịu nhiệt, khả năng sử dụng các nguồn các bon, khả năng tạo ra các sản phẩm phụ khác nhau trong quá trình lên men [3]. Khả năng lên men đường thành axit lactic là một đặc tính quan trọng trong bảo quản thực phẩm của vi khuẩn lactic vì axit lactic có tác dụng ức chế sự phát triển của các vi sinh vật gây hư hỏng và bệnh tật. Vi khuẩn lactic có thể sản sinh ra các chất kháng khuẩn như: Hydrogen peroxide, ethanol, axit acetic, axit propionic và các peptide kháng khuẩn hay bacteriocin. Các chất kháng khuẩn này có tác dụng ức chế sự phát triển của các vi khuẩn gây bệnh [4]. Vi khuẩn lactic cũng có tác dụng tốt cho sức khỏe con người và thường được công nhận là an toàn vì chúng có thể cải thiện hệ tiêu hóa, tăng cường hệ miễn dịch, ngăn ngừa các bệnh nhiễm trùng và ung thư [5]. Vì vậy, việc nghiên cứu và xác định các chủng vi khuẩn lactic có khả năng kháng khuẩn từ thực phẩm mang lại ý nghĩa thực tiễn và khoa học, nhằm ứng dụng các chủng vi khuẩn có đặc tính tốt trong chế biến cũng như bảo quản thực phẩm an toàn theo hướng sinh học.

¹ Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm,

Trường Đại học Cần Thơ

* Email: hxphong@ctu.edu.vn

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu**

Mười tám chủng vi khuẩn được phân lập từ trái cà chua và 2 chủng vi khuẩn chỉ thị (*Bacillus cereus* ATCC 11778 và *Escherichia coli* ATCC 25922) được lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Vi sinh công nghiệp, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

Môi trường nuôi cấy: MRS broth (De Man, Rogosa và Sharpe; Hi Media, Ấn Độ) và LB broth (Luria - Bertani; Hi Media, Ấn Độ).

2.2. Phương pháp**2.2.1. Xác định các đặc điểm hình thái và sinh lý của các chủng vi khuẩn**

Tăng sinh 18 chủng vi khuẩn trong 20 mL môi trường MRS lỏng ở 37 °C trong 24 giờ, sau đó cấy các chủng vi khuẩn lên môi trường thạch MRS (1,5% agar) và ủ ở 37 °C trong 48 giờ.

Xác định đặc điểm hình thái và tế bào vi khuẩn: Quan sát khuẩn lạc (hình thái, màu sắc, kích thước) trên các đĩa môi trường và đặc điểm tế bào (hình dạng) dưới kính hiển vi điện tử (vật kính X100) của 18 chủng vi khuẩn [6].

Kiểm tra một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa đặc trưng của vi khuẩn lactic:

Khả năng sinh enzyme catalase: Dựa vào khả năng tạo bọt khí (dương tính) hay không tạo bọt khí (âm tính) của các chủng vi khuẩn khi cho khuẩn lạc vào dung dịch hydrogen peroxide 3% [7].

Khả năng sinh enzyme oxidase: Dựa vào khả năng làm thay đổi màu giấy lọc có tẩm thuốc thử tetramethyl -p - phenylenediamine dihydrochloride 1% của các chủng vi khuẩn [8].

Khả năng di động: Dựa vào đặc điểm không chuyển động của vi khuẩn lactic, cấy một đường thẳng vào ống nghiệm chứa môi trường MRS bán đặc (0,5% agar), quan sát đường cấy sau 24 giờ ủ ở 37°C. Nếu đường cấy lan rộng trong môi trường chứng tỏ vi khuẩn có khả năng di động, ngược lại là không có tính di động [9].

2.2.2. Khảo sát hoạt tính kháng vi khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic

Phương pháp vạch thẳng vuông góc được sử dụng để kiểm tra khả năng kháng khuẩn của các chủng vi khuẩn lactic với hai chủng vi khuẩn chỉ thị là *B. cereus* ATCC 11778 và *E. coli* ATCC 25922 [10]. Đầu tiên, các chủng vi khuẩn lactic khảo sát được cấy dọc theo một đường thẳng có chiều rộng khoảng 0,5 cm trên đĩa MRS agar có bổ sung 0,2% (w/v) CaCO_3 , ủ ở 37 °C trong 24 giờ cho vi khuẩn phát triển. Tiếp theo, khuẩn chỉ thị *E. coli* và *B. cereus* sẽ được cấy theo các vạch ngang vuông góc (chiều rộng 0,5 cm) với vạch vi khuẩn lactic đã mọc từ đường cấy trước đó (cấy từ mép đĩa petri vào trong) và tiếp tục ủ ở 37 °C trong 24 giờ. Khoảng kháng khuẩn được tính bằng cách đo từ mép vạch thẳng cấy vi khuẩn lactic đến vị trí gần nhất của khuẩn lạc chủng vi khuẩn chỉ thị phát triển trên môi trường thạch [10]. Hoạt tính kháng khuẩn được xếp hạng là cao khi chiều rộng kháng khuẩn >25 mm, trung bình là 12 - 25 mm và thấp <12 mm [11].

2.3. Xử lý số liệu

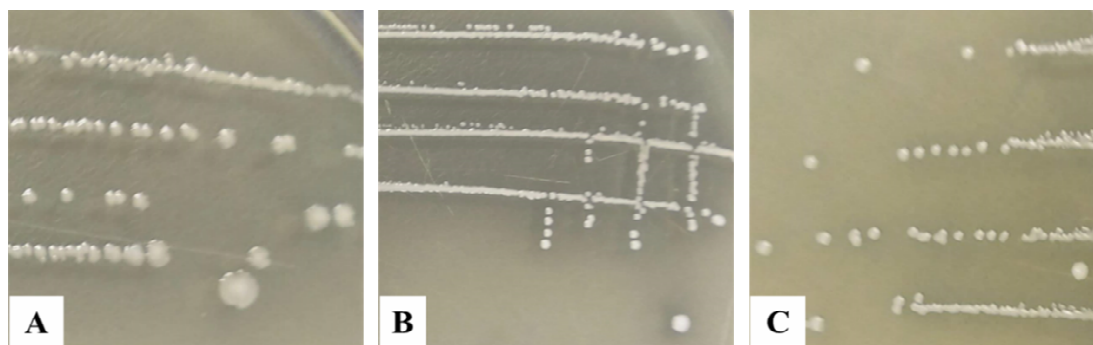
Các thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần, số liệu được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ). Kết quả trình bày là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Rstudio v.4.3.0 (Posit Software, Hoa Kỳ). So sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5% ($p < 0,05$) bằng kiểm định Duncan.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**3.1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của các chủng vi khuẩn**

Bảng 1 và hình 1 cho thấy, 18 chủng vi khuẩn có sự khác nhau về màu sắc, kích thước khuẩn lạc khi cấy trên môi trường MRS agar sau 48 giờ. Màu sắc khuẩn lạc gồm: Trắng trong (22,22%), trắng ngà (33,33%) và trắng đục (44,45%), trong đó khuẩn lạc màu trắng đục chiếm tỉ lệ cao nhất. Màu sắc khuẩn lạc đặc trưng của vi khuẩn lactic là thường có màu trắng đục, trắng trong hoặc trắng ngà, khuẩn lạc dạng tròn, lồi có bìa nguyên hoặc chia thùy [6].

Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của 18 chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn	Hình thái khuẩn lạc	Kích thước khuẩn lạc (mm)	Hình thái tế bào
TO12	Tròn, trắng trong, trơn, lồi, bìa nguyên	2,8 - 3,0	Hình que ngắn, đơn
TO18, TO52	Tròn, trắng trong, trơn, lồi, bìa nguyên	3,0 - 3,2	Hình que dài, đơn
TO23	Tròn, trắng trong, trơn, lồi, chia thùy	3,9 - 4,0	Hình que dài, đơn
TO14, TO15, TO24, TO44	Tròn, trắng đục, trơn, lồi, bìa nguyên	1,5 - 2,0	Hình que ngắn, đơn
TO31, TO34, TO35	Tròn, trắng đục, trơn, lồi, bìa nguyên	2,1 - 2,5	Hình que ngắn, kết đôi
TO41	Tròn, trắng đục, trơn, lồi, bìa nguyên	1,5 - 2,0	Hình cầu, kết đôi
TO16, TO42	Tròn, trắng ngà, trơn, lồi, bìa nguyên	2,5 - 3,5	Hình que dài, đơn
TO43, TO51	Tròn, trắng ngà, trơn, lồi, bìa nguyên	1,0 - 2,0	Hình que ngắn, đơn
TO13, TO22	Tròn, trắng ngà, trơn, lồi, bìa nguyên	1,0 - 1,5	Hình cầu, kết chuỗi

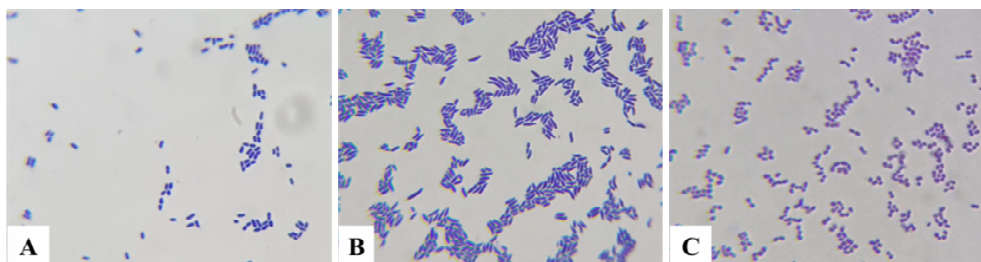


Hình 1. Khuẩn lạc của một số chủng vi khuẩn sau khi cấy trên môi trường MRS agar bổ sung 0,5% CaCO_3 sau 48 giờ ủ ở 37°C

A: trắng trong - chủng TO23, B: trắng sữa - chủng TO41, C: trắng ngà - chủng TO51.

Bên cạnh đó, khi quan sát đặc điểm hình thái tế bào của các chủng vi khuẩn có các hình dạng gồm: Hình que ngắn, hình que dài hoặc hình cầu, tế bào có thể kết đôi hoặc kết chuỗi (Hình 2). Vi khuẩn lactic có thể có nhiều hình dạng tế bào khác

nhau, nhưng hai hình dạng phổ biến nhất là hình que (bacilli) và hình cầu (cocci) [6]. Mặt khác, hình dạng tế bào của vi khuẩn lactic còn phụ thuộc vào loài, điều kiện môi trường và cách thức sinh sản của chúng [12].



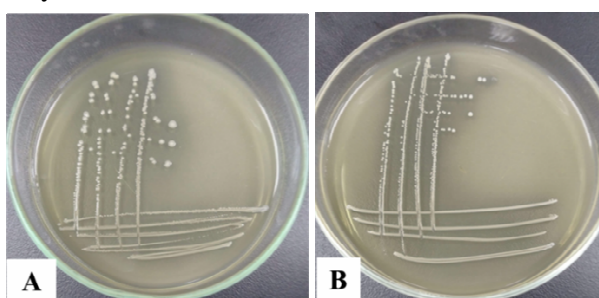
Hình 2. Hình dạng tế bào của các chủng vi khuẩn quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính X100

A: chủng TO31 - que ngắn, B: chủng TO16 - que dài, C: chủng TO41 - hình cầu.

3.2. Đặc điểm sinh lý, sinh hoá của các chủng vi khuẩn

Khả năng phân giải CaCO_3 : Vi khuẩn lactic là một nhóm vi khuẩn có khả năng phân giải CaCO_3 trên môi trường MRS agar. Khi vi khuẩn lactic phát triển trên MRS agar, chúng chuyển hoá glucose và tiết ra các axit hữu cơ (chủ yếu là axit lactic) làm giảm pH của môi trường. Các axit này tác dụng với CaCO_3 và chuyển hóa thành muối

canxi, CO_2 và H_2O , do đó vùng phân giải càng rộng thì khả năng sinh axit của chủng vi khuẩn lactic càng cao [2], [4]. Kết quả cho thấy, trên bề mặt môi trường xuất hiện vùng sáng trong nên có sự hiện diện của vi khuẩn sinh axit (Hình 3). Trong nghiên cứu này, 18 chủng vi khuẩn khi cấy trên môi trường MRS agar có bổ sung 0,5% (w/v) CaCO_3 đều có khả năng tạo vùng phân giải trên bề mặt môi trường.



Hình 3. Chủng vi khuẩn TO13 (A) và TO44 (B) phân giải CaCO_3 tạo vùng phân giải trên môi trường thạch MRS

Nhuộm Gram: Đây là một phương pháp phân loại vi khuẩn dựa trên cấu trúc của tế bào, vi khuẩn Gram dương có hàm lượng peptidoglycan trong vỏ tế bào cao hơn, trong khi vi khuẩn Gram âm có

hàm lượng phospholipid cao hơn. Kết quả cho thấy, tất cả 18 chủng vi khuẩn đều bắt màu xanh tím của phẩm nhuộm crystal violet, chứng tỏ chúng đều là vi khuẩn Gram dương (Bảng 2).

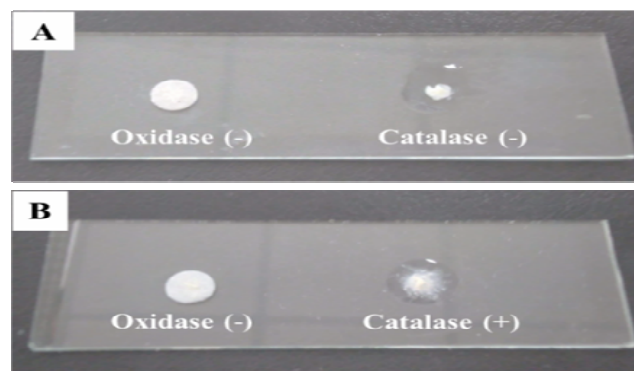
Bảng 2. Kết quả thử nghiệm các đặc tính sinh lý, sinh hoá của 18 chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn	Nhuộm Gram	Thử nghiệm oxidase	Thử nghiệm catalase	Khả năng di động
TO12, TO14, TO15, TO16, TO23, TO24, TO31, TO34, TO35, TO41, TO42, TO43, TO44, TO51, TO52	Gram dương	-	-	-
TO13, TO18, TO22	Gram dương	-	+	-

Ghi chú: (+): Dương tính; (-): Âm tính.

Thử nghiệm oxidase: Cytochrome oxidase là một enzyme tham gia vào quá trình hô hấp của vi khuẩn và có thể được sử dụng làm chỉ thị phân loại vi khuẩn. Khi vi khuẩn có enzyme cytochrome oxidase, thuốc thử không màu bị khử sẽ trở thành sản phẩm có màu xanh. Kết quả cho thấy, 18 chủng vi khuẩn đều âm tính với oxidase, tức là không có sự xuất hiện của màu xanh trên giấy lọc có tẩm tetramethyl - p - phenylenediamine dihydrochloride 1% sau 10 giây (Hình 4). Điều này chứng tỏ 18 chủng vi khuẩn phân lập được từ cà chua không có enzyme oxidase (Bảng 2).

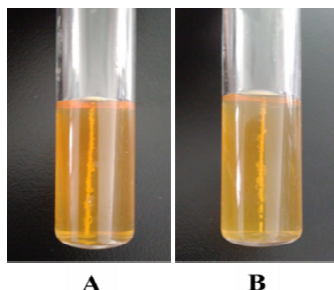
Thử nghiệm catalase: Kết quả cho thấy, 15 chủng vi khuẩn không có hoạt tính catalase. Tuy nhiên, 3 chủng vi khuẩn (TO13, TO18, TO22) được xác định là có hoạt tính catalase vì có sự xuất hiện của bọt khí trong dung dịch (Hình 4). Thử nghiệm catalase được sử dụng để phát hiện việc sản xuất enzyme catalase trong vi sinh vật do catalase đẩy nhanh quá trình phân hủy hydrogen peroxide thành nước và oxy. Ở các sinh vật gây bệnh, enzyme catalase bảo vệ chúng khỏi tác hại oxy hóa và điều này có liên quan đến khả năng gây bệnh của vi sinh vật.



Hình 4. Mẫu thử nghiệm oxidase và catalase của chủng vi khuẩn TO52 (A) và TO13 (B)

Ký hiệu (-): Âm tính; (+): Dương tính.

Thử nghiệm khả năng di động: Di động là một đặc tính quan trọng của vi khuẩn, liên quan đến khả năng gắn bám dính và chuyển động trong môi trường. Kết quả quan sát cho thấy, 18 chủng vi khuẩn đều không có khả năng di động. Đây là một trong các đặc điểm giúp phân biệt các chủng vi khuẩn lactic, khi chúng đã thích nghi với môi trường lên men và không cần di chuyển để tìm kiếm nguồn dinh dưỡng.



Hình 5. Đường cấy của chủng vi khuẩn TO44 (A) và TO16 (B) trong môi trường MRS bán đặc (0,5% agar)

Dựa vào các kết quả quan sát thí nghiệm nhuộm Gram, thử nghiệm oxidase, catalase và khả năng di động đã xác định được 15/18 chủng vi khuẩn phân lập từ trái cà chua phù hợp các đặc điểm sinh lý, sinh hoá của vi khuẩn lactic (Gram dương, oxidase và catalase âm tính, không di động) là các chủng: TO12, TO14, TO15, TO16, TO23, TO24, TO31, TO34, TO35, TO41, TO42, TO43, TO44, TO51 và TO52. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Sajur và cs (2007) [13], đã phân lập được 35 chủng vi khuẩn lactic từ nhiều mẫu nước sốt cà chua và tất cả các chủng LAB phân lập được là Gram dương, âm tính với catalase, không sinh bào tử, tế bào không di động. Nghiên cứu của Wu và cs (2014b) [14] cũng cho thấy, sự đa dạng của vi khuẩn lactic có trong trái cà chua khi phân lập được 108 chủng vi khuẩn lactic với các loài được xác định như: *Lactobacillus harbinensis*, *L. manihotivorans*, *L. helveticus*, *L. camelliae*, *L. pontis*, *L. amylovorus*, *L. hilgardii*, *L. panis*, *L. vaginalis* và *L. rapi*.

3.3. Khả năng đối kháng với vi khuẩn Gram dương

Khả năng kháng vi khuẩn *B. cereus* (vi khuẩn Gram dương gây bệnh thường gặp trong thực phẩm) của 15 chủng vi khuẩn lactic được đánh giá bằng phương pháp vạch thẳng vuông góc thông qua việc xác định khoảng cách vùng ức chế của các chủng vi khuẩn lactic trên môi trường nuôi cấy chứa *B. cereus*. Kết quả cho thấy, có 4 chủng vi khuẩn lactic thể hiện hoạt tính kháng *B. cereus* mạnh (+++) là TO15, TO16, TO24 và TO41, với vùng ức chế đều lớn hơn 25 mm, khác biệt có ý

nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với 11 chủng còn lại (Bảng 3). Trong đó, chủng TO15 có tính kháng cao nhất là $30,33 \pm 8,14$ mm (Hình 6A). Các chủng TO12, TO14, TO23, TO31, TO34, TO35, TO42, TO43, TO44, TO51 và TO52 có hoạt tính kháng *B. cereus* ở mức trung bình (++) với đường kính vùng ức chế dao động từ $13,67 \pm 3,79$ mm đến $23,67 \pm 5,51$ mm. Riêng chủng TO14 có hoạt tính kháng khuẩn thấp nhất được ghi nhận là $13,67 \pm 3,79$ mm (Hình 6B). Kết quả cho thấy, tiềm năng của các chủng vi khuẩn lactic trong việc kiểm soát sự phát triển của *B. cereus* trong thực phẩm.

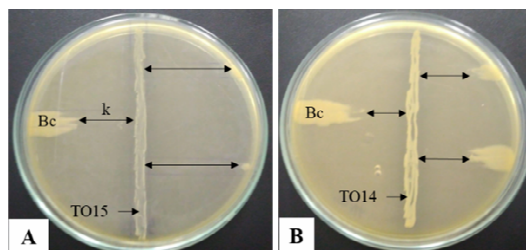
Bảng 3. Hoạt tính kháng *Bacillus cereus* của các chủng vi khuẩn lactic

STT	Chủng	Khoảng cách kháng khuẩn (mm) ¹	Tính kháng khuẩn ²
1	TO12	$14,33 \pm 0,58$ ^{de}	++
2	TO14	$13,67 \pm 3,79$ ^e	++
3	TO15	$30,33 \pm 8,14$ ^a	+++
4	TO16	$26,00 \pm 4,58$ ^{ab}	+++
5	TO23	$23,00 \pm 2,00$ ^{bc}	++
6	TO24	$25,67 \pm 0,58$ ^{ab}	+++
7	TO31	$23,33 \pm 0,58$ ^{bc}	++
8	TO34	$20,67 \pm 1,53$ ^{bcd}	++
9	TO35	$20,00 \pm 2,00$ ^{bcde}	++
10	TO41	$25,33 \pm 5,03$ ^{ab}	+++
11	TO42	$20,67 \pm 1,15$ ^{bcd}	++
12	TO43	$23,67 \pm 5,51$ ^{bc}	++
13	TO44	$20,00 \pm 1,00$ ^{bcde}	++
14	TO51	$17,67 \pm 1,53$ ^{cde}	++
15	TO52	$18,33 \pm 2,52$ ^{cde}	++

Ghi chú: ¹ Giá trị trung bình của ba lần lặp lại trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. ² Tính kháng khuẩn: (+): thấp, khoảng cách kháng khuẩn < 12 mm; (++) : trung bình, khoảng cách kháng khuẩn từ 12 – 25 mm; (+++) : cao, khoảng cách kháng khuẩn > 25 mm [11].

Vi khuẩn lactic có thể ức chế sự phát triển của các vi sinh vật khác bằng cách bài tiết các sản phẩm chuyển hóa như: Acid hữu cơ, hydrogen peroxide, diacetyl và bacteriocin. Bacteriocin có

khả năng phá hủy tế bào chất của các vi khuẩn khác và màng tế bào trở nên không ổn định và gây ra sự ly giải tế bào [4].



Hình 6. Khoảng cách kháng khuẩn (k) của chủng vi khuẩn lactic TO15 (A) và TO14 (B) với *B. cereus* (Bc)

Theo Hulgere và cs (2023), khi đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của 7 chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ các sản phẩm bột lên men với một số mầm bệnh là vi khuẩn Gram dương cho thấy, các chủng vi khuẩn lactic đều có tiềm năng chống lại các mầm bệnh thử nghiệm như *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* và *Staphylococcus aureus* [15].

3.4. Khả năng đối kháng với vi khuẩn Gram âm

Kết quả đánh giá khả năng kháng vi khuẩn chỉ thị *E. coli* của 15 chủng vi khuẩn lactic thể hiện trong bảng 4. Tất cả 15 chủng LAB đều thể hiện hoạt tính kháng với *E. coli* ở mức trung bình (++) với khoảng kháng khuẩn từ $12,67 \pm 0,58$ mm đến $18,00 \pm 2,65$ mm. Bốn chủng có khả năng kháng

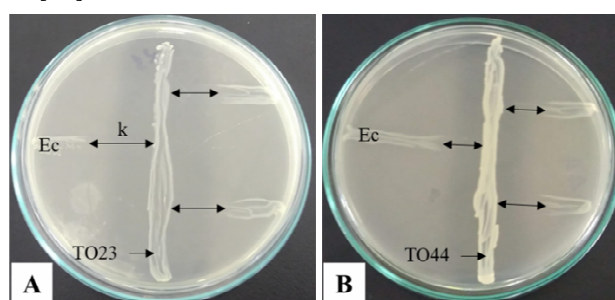
cao nhất là TO23, TO43, TO34 và TO31, với khoảng cách vùng kháng khuẩn trong khoảng 16,00 - 18,00 mm và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), lần lượt là $18,00 \pm 2,65$ mm (Hình 7A), $16,67 \pm 0,58$ mm, $16,33 \pm 0,58$ mm và $16,00 \pm 0,00$ mm. Các chủng TO12, TO14, TO15, TO16, TO24, TO35, TO41, TO42, TO44, TO51 và TO52 có khoảng cách ức chế *E. coli* từ $12,67 \pm 0,58$ mm đến $15,67 \pm 0,00$ mm, trong đó 2 chủng có hoạt tính kháng vi khuẩn *E. coli* thấp nhất là TO44 ($12,67 \pm 0,58$ mm) và TO35 ($12,67 \pm 1,15$ mm) (Hình 7B). Kết quả cho thấy, tiềm năng ứng dụng của vi khuẩn lactic trong việc ngăn chặn sự phát triển của *E. coli*, vi khuẩn gây bệnh đường tiêu hóa phổ biến ở người và động vật.

Bảng 4. Hoạt tính kháng *Escherichia coli* của các chủng vi khuẩn lactic

STT	Chủng	Khoảng cách kháng khuẩn (mm) ¹	Tính kháng khuẩn ²
1	TO12	$14,67 \pm 1,15$ ^{bcd}	++
2	TO14	$13,33 \pm 2,08$ ^{ef}	++
3	TO15	$14,33 \pm 1,15$ ^{bcd}	++
4	TO16	$15,67 \pm 0,58$ ^{bcd}	++
5	TO23	$18,00 \pm 2,65$ ^a	++
6	TO24	$14,33 \pm 0,58$ ^{bcd}	++
7	TO31	$16,00 \pm 0,00$ ^{abcd}	++

8	TO34	$16,33 \pm 0,58^{abc}$	++
9	TO35	$12,67 \pm 1,15^f$	++
10	TO41	$13,67 \pm 1,53^{def}$	++
11	TO42	$14,67 \pm 1,15^{bcdef}$	++
12	TO43	$16,67 \pm 0,58^{ab}$	++
13	TO44	$12,67 \pm 0,58^f$	++
14	TO51	$15,00 \pm 1,00^{bcdef}$	++
15	TO52	$14,00 \pm 1,00^{cdef}$	++

Ghi chú: ¹ Giá trị trung bình của ba lần lặp lại trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. ² Tính kháng khuẩn: (+): Thấp, khoảng cách kháng khuẩn < 12 mm; (++) : Trung bình, khoảng cách kháng khuẩn từ 12 – 25 mm; (+++) : Cao, khoảng cách kháng khuẩn > 25 mm [11].



Hình 7. Khoảng cách kháng khuẩn (k) của chủng vi khuẩn lactic TO23 (A) và TO44 (B) với *E. coli* (Ec)

Kết quả nghiên cứu này tương tự với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Lâm Đoàn (2018), nghiên cứu khả năng kháng khuẩn của 12 chủng vi khuẩn lactic cho thấy, 6 chủng (T1.3, D4.3, D5.5, M8.1, M9.5 và M9.8) đều thể hiện tính kháng vi khuẩn gây bệnh, trong đó có 4 chủng T1.3, D5.5, M8.1 và M9.8 có khả năng kháng 3 chủng vi khuẩn gây bệnh trong thực phẩm như *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* và *Escherichia coli* [12].

Vi khuẩn lactic được xem là một nhân tố quan trọng có tác dụng kháng khuẩn đối với các mầm bệnh tiềm ẩn trong thực phẩm (*Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Salmonella Typhimurium*) nhờ vào đặc tính sản sinh axit hữu cơ và bacteriocin hiện diện ở hầu hết

các chủng vi khuẩn lactic. Trong đó, có thể đến các chủng thuộc *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weisella* và các chủng này thường được tìm thấy trong các sản phẩm lên men truyền thống [16].

Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra 15 chủng vi khuẩn lactic có mức độ kháng vi khuẩn Gram dương (*B. cereus*) tốt hơn vi khuẩn Gram âm (*E. coli*), khi có 4/15 chủng thể hiện tính kháng mạnh khi có khoảng cách vùng ức chế cao hơn 25 mm. Điều này có thể giải thích rằng, các peptide chống vi khuẩn, thường được gọi là bacteriocin do vi khuẩn lactic tiết ra có tác dụng chính là ức chế sự tổng hợp màng sinh học. Tuy nhiên, cấu trúc màng tế bào vi khuẩn Gram âm có một lớp màng ngoài phức tạp hơn so với vi khuẩn Gram dương, lớp màng ngoài này có thể ngăn

chặn các hợp chất kháng khuẩn (bacteriocin, các axit béo chuỗi ngắn, axit lactic và axit formic...) từ vi khuẩn lactic tiếp cận với chúng [17], [18].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được 15/18 chủng vi khuẩn phân lập từ cà chua là vi khuẩn lactic dựa vào các đặc điểm hình thái và đặc tính sinh hoá đặc trưng của vi khuẩn lactic. Bên cạnh đó, 15 chủng vi khuẩn lactic đều có khả năng ức chế của đối với *B. cereus* và *E. coli* ở các mức độ khác nhau. Trong đó, 4 chủng vi khuẩn TO15, TO16, TO24, TO41 thể hiện tính kháng khuẩn tốt với *B. cereus* và 4 chủng vi khuẩn TO23, TO31, TO34, TO43 thể hiện tính kháng khuẩn tốt với *E. coli*. Kết quả đã xác định được các đặc tính sinh hóa và khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh của các chủng vi khuẩn phân lập nhằm định hướng nghiên cứu tiếp theo để định danh loài cũng như xác định điều kiện sinh chất kháng khuẩn, từ đó ứng dụng trong chế biến và bảo quản các sản phẩm lên axit lactic.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Schirone, M., Visciano, P., Tofalo, R. & Suzzi, G. (2019). Foodborne pathogens: Hygiene and safety. *Frontiers in Microbiology*. 10, 1974. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01974>
2. Dương Thị Hồng Nga, Mai Thanh Hải, Lư Bảo Hân, Lý Thị Xuân Mai & Bùi Thị Quỳnh Hoa (2023). Phân lập, tuyển chọn dòng vi khuẩn lactic trong nem chua thịt có tiềm năng ứng dụng làm vi khuẩn giống trong sản xuất nem chua. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*. 59(3), 86 - 93. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2023.136>
3. Ngô Thị Phương Dung, Huỳnh Thị Yến Ly & Huỳnh Xuân Phong (2011). Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn lactic có khả năng sinh chất kháng khuẩn. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*. 19(a), 176 - 184.
4. Kurniati, T. H., Rahayu, S., Nathania, I. R. B. & Sukmawati, D. (2021). Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from oncom, a traditional Indonesian fermented food. *AIP Conference Proceedings*. 2331(1): 050017. <https://doi.org/10.1063/5.0043691>
5. Liu, J., Fehér, C., Cao, M., Lu, F. & Jensen, P. R. (2021). Lactic acid bacteria: Microbial metabolism and expanding applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 9, 794164. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.794164>
6. Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In *lactic acid bacteria microbiological and functional aspects*, 3rd Edition: Revised and Expanded. <https://doi.org/10.1201/9780824752033.ch1>
7. Reiner K. (2016). Catalase test protocol. American society for microbiology. Available: <https://asm.org/Protocols/Catalase-Test-Protocol>.
8. Shields P. and Cathcart L. (2016). Oxidase test protocol. American society for microbiology. Available: <https://asm.org/Protocols/Oxidase-Test-Protocol>.
9. Shields P. and Cathcart L. (2011). Motility test medium protocol. American society for microbiology. Available: <https://asm.org/Protocols/Motility-Test-Medium-Protocol>.
10. Annuk, H., Shchepetova, J., Kullisaar, T., Songisepp, E., Zilmer, M. & Mikelsaar, M. (2003). Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *Journal of Applied Microbiology*. 94 (3), 403 - 412. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01847.x>
11. Hutt, P., Shchepetova, J., Loivukene, K., Kullisaar, T. & Mikelsaar, M. (2006). Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *Journal of Applied Microbiology*. 100 (6), 1324 - 1332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02857.x>
12. Nguyễn Thị Lâm Đoàn (2018). Khảo sát và định tên vi khuẩn *Lactobacillus* sp. có đặc tính probiotic từ một số thực phẩm lên men truyền thống. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 10 (95), 90 - 97.
13. Sajur, S. A., Saguir, F. M. & De Nadra, M. C. M. (2007). Effect of dominant specie of lactic acid bacteria from tomato on natural microflora development in tomato purée. *Food Control*. 18 (5), 594 - 600. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.02.006>

14. Wu, J., Du, R., Gao, M., Sui, Y. & Wang, X. (2014b). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from tomato pomace. *Annals of Microbiology*. 64 (4), 1849 - 1855. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0798-3>
15. Hulgere, S. S., Kumari, V. B. C., Alqadi, T., Kumar, S., Cull, C. A., Amachawadi, R. G. & Ramu, R. (2023). Isolation and characterization of lactic acid bacteria with potential probiotic activity and further investigation of their activity by α -amylase and α -glucosidase inhibitions of fermented batters. *Frontiers in Microbiology*. 13, 1042263. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1042263>
16. Bungenstock, L., Abdulmawjood, A. & Reich, F. (2020). Evaluation of antibacterial properties of lactic acid bacteria from traditionally and industrially produced fermented sausages from Germany. *PLOS One*. 15 (3), e0230345. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230345>
17. Reis, J. a. D., De Paula, A. T., Casarotti, S. N. & Penna, A. L. B. (2012). Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: Characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*. 4 (2), 124 - 140. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>
18. Fernandes, A. & Jobby, R. (2022). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential clinical applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 194 (10), 4377 - 4399. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03870-3>

DETERMINATION OF BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM TOMATOES

**Le Quoc Viet¹, Luu Minh Chau¹, Tran Thi Giang¹,
Nguyen Ngoc Thanh¹, Ha Thanh Toan¹, Huynh Xuan Phong¹**

¹*Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University*

Summary

This study aimed to identify lactic acid bacteria strains from tomatoes using physiological and biochemical characteristics, and to evaluate the antibacterial activity of these lactic acid bacteria against 2 indicator bacteria (*Bacillus cereus* and *Escherichia coli*) using the perpendicular “streak-line” method. The results showed that 15/18 bacterial strains belonged to the lactic acid bacteria. The antibacterial activity of 15 lactic acid bacteria strains against *B. cereus* showed that the inhibition zone ranged from 13.67 ± 3.79 mm to 30.33 ± 8.14 mm, of which 4 strains showed strong resistance (>25 mm) were TO15, TO16, TO24 and TO41. Besides, the antibacterial activity against *E. coli* also showed an average level with the inhibition zone from 12.67 ± 0.58 mm to 18.00 ± 2.65 mm, of which 4 strains with high antibacterial activity were TO23, TO43, TO34 and TO31 (inhibition zone around 16.00 - 18.00 mm).

Keywords: *Antibacterial activity, antagonism, biological characteristics, lactic acid bacteria.*

Người phản biện: TS. Đoàn Thị Kiều Tiên

Ngày nhận bài: 20/10/2023

Ngày thông qua phản biện: 15/11/2023

Ngày duyệt đăng: 30/11/2023