

# ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG VI SINH VẬT GÂY BỆNH TRUYỀN QUA THỰC PHẨM CỦA XẠ KHUẨN NỘI CỘNG SINH TRÊN CÂY QUẾ\*

Vũ Thị Hạnh Nguyễn<sup>1</sup>, Đinh Thị Mỹ Linh<sup>2</sup>, Lâm Xuân Thanh<sup>3</sup>,  
Vũ Thu Trang<sup>4</sup>, Phí Quyết Tiến<sup>5</sup>

Nghiên cứu đánh giá khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh có nguồn gốc thực phẩm của 20 chủng xạ khuẩn phân lập từ Quế (*Cinnamomum sp.*). Xạ khuẩn được lên men trên môi trường YIM 38, sau đó xác định hoạt tính kháng khuẩn của dịch lên men bằng phương pháp đục lỗ thạch. **Kết quả:** 20 chủng xạ khuẩn đều có khả năng kháng ít nhất 1 vi sinh vật kiểm định trong đó: 45% số chủng kháng *Escherichia coli* ATCC 11105; 65% số chủng kháng *Bacillus cereus* ATCC 11778, số chủng kháng *Salmonella enterica* ATCC 14028 và *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 đều là 85%. Đặc biệt, chủng YBQ 080 cho thấy hoạt tính rất mạnh, vòng kháng khuẩn trên (23,3mm ± 0,12) với *Salmonella enterica* ATCC 14028. **Kết luận:** xạ khuẩn thu nhận từ quế có thể ứng dụng trong bảo quản thực phẩm, phòng chống các bệnh truyền qua thực phẩm.

**Từ khóa:** Cây quế, hoạt tính kháng vi sinh vật, xạ khuẩn nội cộng sinh

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thực phẩm chứa mầm bệnh ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người và hiện đang trở thành một trong những nguyên nhân gây ra các dịch bệnh. Mặc dù áp dụng tiến bộ kỹ thuật trong công nghệ và quy phạm vệ sinh an toàn thực phẩm nhưng nguy cơ nhiễm các vi sinh vật gây bệnh trong quá trình chế biến thực phẩm ngày càng gia tăng [3]. Để kiểm soát vấn đề này, các chất bảo quản hóa học đã được đưa vào sử dụng. Tuy nhiên, dù chỉ sử dụng một lượng nhỏ các chất bảo quản hoá học trong thời gian dài đều có thể gây hại cho người tiêu dùng. Do đó, cần có các biện pháp bảo quản thực phẩm khác an toàn hơn. Bảo quản thực phẩm bằng các hợp chất sinh học có nguồn gốc tự nhiên để ức chế hay tiêu diệt các vi sinh vật không mong muốn có

mặt trong thực phẩm là hướng giải pháp tiềm năng.

Xạ khuẩn nội cộng sinh là những sinh vật sống bên trong các mô thực vật mà không gây hại hay cạnh tranh dinh dưỡng với cây chủ [2]. Một số công bố cho thấy các hợp chất chuyển hóa do xạ khuẩn nội cộng sinh tạo ra trên cây dược liệu rất đa dạng mặt về số lượng và chức năng như các chất kháng vi sinh vật, chất kiểm soát sinh học, chất chống oxy hóa...[1]. Cho tới nay, số lượng các nghiên cứu về xạ khuẩn nội cộng sinh trên cơ thể thực vật vẫn còn rất hạn chế, vì vậy cơ hội để phân lập được các loài xạ khuẩn từ các cây dược liệu hứa hẹn tiềm năng khai thác trong y học, nông nghiệp, và các ngành công nghiệp khác là vô cùng lớn. Công dụng và dược tính của cây quế đã được biết đến từ lâu và được sử dụng cho nhiều

<sup>1</sup>ThS - Viện CNSH, Viện Hàn lâm KHCN VN  
E-mail: hagiangyeu@yahoo.com

<sup>2</sup>KS - Viện CNSH CNTP, ĐHBK HN

<sup>3</sup>PGS.TS - Viện CNSH CNTP, ĐHBK HN

<sup>4</sup>TS - Viện CNSH CNTP, ĐHBK HN

<sup>5</sup>TS, Viện CNSH, Viện Hàn lâm KHCN VN

Ngày nhận bài: 16/03/2016

Ngày phản biện đánh giá: 31/3/2016

Ngày đăng bài: 15/4/2016

mục đích trong lĩnh vực y dược và bảo quản thực phẩm. Cho đến nay, chưa có nhiều công trình nghiên cứu về xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế được công bố trên thế giới cũng như Việt Nam. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sẽ tiến hành đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn gây bệnh truyền qua thực phẩm và vi khuẩn thực phẩm như *Escherichia coli* ATCC 11105, *Salmonella enterica subsp*, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* ATCC 11778 của một số chủng xạ khuẩn phân lập từ cây quế tại Tỉnh Yên Bái, Việt Nam. [4]

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng :

#### 2.1.1. Chủng giống vi sinh vật:

Bộ sưu tập các chủng xạ khuẩn nội cộng sinh được phân lập từ các mẫu cây quế, thu thập tại Xã Tân Hợp, Huyện Văn Yên, Tỉnh Yên Bái và bảo quản giống tại Phòng Công nghệ lên men, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các chủng vi sinh vật kiểm định: *Salmonella enterica* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 11105, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 nhận từ Bộ sưu tập giống VSV của Phòng Công nghệ lên men, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

#### 2.1.2. Các hóa chất sử dụng

Các hóa chất chính: tinh bột tan (Việt Nam), pepton (Trung Quốc), cao nấm men, cao thịt (Merck-Đức), agar (Việt Nam). Các hóa chất tinh khiết và thông dụng khác dùng trong phân lập và nghiên cứu: các nguồn đường, trypton, các acid amin được cung cấp bởi hãng Sigmal,

Mỹ. Nước Milli-Q hoặc nước tiệt trùng được sử dụng trong tất cả thí nghiệm.

### 2.2. Phương pháp

#### 2.2.1. Phương pháp thu nhận dịch xạ khuẩn:

Các chủng xạ khuẩn sau khi được phân lập sẽ được đem đi hoạt hóa trong các ống nghiệm chứa môi trường lỏng YIM 38 (Bột đậu tương 12g, manitol : 5g, H<sub>2</sub>O cho đủ 1000ml, chỉnh pH đến 7; Môi trường hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút bằng nồi hấp MC-40DP (Hãng ALP, Nhật Bản) với thể tích 3-5ml ở điều kiện nhiệt độ 30°C trong 2 ngày. Tiếp đó sẽ chuẩn bị các bình tam giác chứa môi trường lỏng YIM 38, thể tích 30-50ml, sau đó sẽ đổ toàn bộ dịch trong ống nghiệm có chứa xạ khuẩn sau khi đã hoạt hóa vào bình tam giác vừa chuẩn bị trên để tiến hành lên men trong điều kiện 30°C, có lắc 200 rpm/phút, thời gian 5 ngày trong tủ cấy (Hãng ESCO, Pháp). Cuối cùng tiến hành ly tâm thu dịch xạ khuẩn bằng máy ly tâm (Hãng Thermo Scientific, Đức) và kết quả thu được 105ml dịch xạ khuẩn long huyết để sử dụng cho nghiên cứu [6].

#### 2.2.2. Xác định hoạt tính kháng khuẩn của dịch xạ khuẩn bằng phương pháp đục lỗ thạch

Khả năng kháng vi sinh vật kiểm định của các chủng xạ khuẩn nội cộng sinh được xác định theo phương pháp đục lỗ thạch [6]. 100 µl vi sinh vật kiểm định với nồng độ 10<sup>8</sup>CFU/ml (OD=0.1) được trang đều trên đĩa thạch MHB, sau đó đục lỗ thạch đường kính 6 mm, nhỏ 100 µl dịch nuôi cấy xạ khuẩn vào lỗ thạch. Sau đó các đĩa được ủ trong tủ ấm IFA-110L-8 (Hãng ESCO, Pháp) ở 37°C trong điều kiện hiếu khí trong 24 giờ. Sau 24 giờ vòng tròn kháng khuẩn được đo và ghi lại

theo mm và đường kính được xác định bằng giá trị trung bình của ít nhất hai lần thí nghiệm lặp. Khả năng ức chế vi sinh vật được thể hiện bằng đường kính của vòng tròn kháng khuẩn.

### III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1. Hoạt tính kháng khuẩn của xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế

Hoạt tính kháng khuẩn của dịch lên men 20 chủng xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế ở Yên Bái được khảo sát đối với 4 chủng vi khuẩn kiểm định là những vi khuẩn gây bệnh có nguồn gốc thực phẩm: *Escherichia coli* ATCC 11105, *Salmonellaenterica subsp*, *Staphylococcus epidemidis* ATCC 12228 và *Bacillus cereus* ATCC 11778, kết quả nghiên cứu

được thể hiện trên Bảng 1. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chủng xạ khuẩn thể hiện hoạt tính khuẩn trên tất cả 4 vi sinh vật kiểm định. Trong đó, chủng YBQ80 thể hiện hoạt tính cao nhất với *Salmonellaenterica* ATCC 14028, vòng kháng khuẩn lên đến 23,3±0,12mm. Chủng YBQ119 có hoạt tính thấp nhất là 4,2±0,09mm với *Bacillus cereus* ATCC 11778. Trong đó có tới 5 chủng có khả năng ức chế cả 4 vi sinh vật kiểm định là YBQ 059, YBQ116, YBQ 080, YBQ121, YBQ125 và có 1 chủng xạ khuẩn kháng duy nhất 1 vi sinh vật kiểm định là chủng YBQ025. Điều này chứng tỏ xạ khuẩn phân lập từ quế có thể là nguồn sinh các hợp chất kháng khuẩn tiềm năng ứng dụng trong tương lai.

**Bảng 1. Khả năng kháng vi sinh vật kiểm định của 20 chủng xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế**

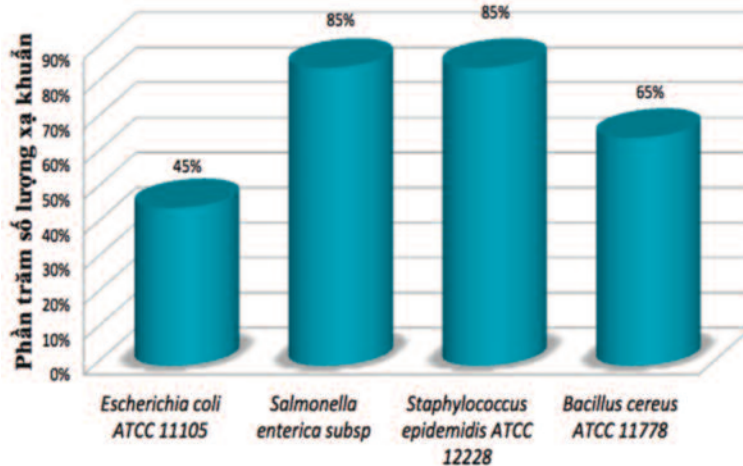
Đường kính vòng kháng khuẩn (D-d, mm±SD)											
STT	Ký hiệu chủng	1	2	3	4	STT	Ký hiệu chủng	1	2	3	4
1	YBQ 025	0	0	14 ±0,17	0	11	YBQ 092	13,8±0,14	14,7±0,14	7,8±0,28	0
2	YBQ 040	0	16 ±0,35	15,7±0,12	0	12	YBQ 094	12,5±0,94	17,5±0,05	6,8±0,44	0
3	YBQ 046	9,2 ±0,13	15±0,1	12,3±0,23	0	13	YBQ 105	0	14,5±0,26	14,7±0,32	12,1±0,1
4	YBQ 047	0	18,8±0,3	19,5±0,13	8,8±0,08	14	YBQ 107	0	12±0,53	12,3±0,23	0
5	YBQ 056	0	15,5 ±0,28	19,3±0,15	15±0,05	15	YBQ 115	0	0	9,7±0,15	9,6±0,12
6	YBQ 059	12±0,26	16,7 ±0,12	15±0,26	10,1±0,05	16	YBQ 116	6,8±0,08	13±0,14	15,7±0,06	7,9±0,04
7	YBQ 065	0	16,7 ±0,21	20±0,26	9,1±0,07	17	YBQ 118	0	16±0,2	0	10,5±0,05
8	YBQ 075	0	17,7 ±0,15	19,3±0,12	0	18	YBQ 119	0	0	11,6±0,23	4,2±0,09
9	YBQ 080	14,5 ±0,06	23,3 ±0,12	18,7±0,06	15,8±0,49	19	YBQ 121	11,4±0,05	15,5±0,09	9±0,1	7,4±0,40
10	YBQ 090	14,2 ±0,07	16,7 ±0,12	0	11,7±0,08	20	YBQ 125	12,1±0,13	14,3±0,06	18,3±0,21	16,4±0,34

Ghi chú: 1. *Escherichia coli* ATCC 11105; 2. *Salmonellaenterica* ATCC 14028; 3. *Staphylococcus epidemidis* ATCC 12228; 4. *Bacillus cereus* ATCC 11778.

### 3.2. So sánh khả năng kháng khuẩn của các chủng xạ khuẩn với vi khuẩn kiểm định :

Trong 20 chủng xạ khuẩn, 9 chủng kháng *E. coli* ATCC 11105 (chiếm 45%); 17 chủng kháng *S. epidermidis* ATCC

12228 (chiếm 85%); 13 chủng kháng *Bacillus cereus* ATCC 11778 (chiếm 65%) và 17 chủng kháng *Salmonella enterica* ATCC 14028 (chiếm 85%) (Hình 1).



**Hình 1. Khả năng kháng vi sinh vật kiểm định của 20 chủng xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế**

Kết quả cho thấy, các chủng ức chế sự phát triển của vi sinh vật gây bệnh ở mức độ khác nhau (Bảng 2). Nhận thấy, đa số các chủng xạ khuẩn thể hiện ở vòng kháng khuẩn phần lớn đạt trong khoảng 10-20mm. Ví dụ, 16 chủng thể hiện vòng kháng khuẩn cao (10-20mm) với *Salmo-*

*nellaenterica* ATCC 14028 và không có vòng kháng khuẩn nào dưới 10mm. Tuy nhiên, hiệu quả kháng khuẩn kém hơn với chủng chịu nhiệt *Bacillus cereus* ATCC 11778, 6 trên tổng số 13 chủng có vòng kháng khuẩn dưới 10mm.

**Bảng 2. So sánh khả năng kháng vi sinh vật kiểm định của 20 chủng xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế**

Chủng vi sinh vật kiểm định	Chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng vi sinh vật (chủng)		
	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)		
	≤ 10	10-20	≥20
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11105	2	7	0
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028	0	16	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	4	12	1
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	6	7	0

Đã có nhiều nghiên cứu trên thế giới chứng minh các hoạt chất sinh học được tổng hợp từ vi khuẩn nội cộng sinh và nấm nội cộng sinh trên cây dược liệu có khả năng kháng khuẩn, ứng dụng trong công nghệ thực phẩm. Cùng trong lĩnh vực này, chưa có nhiều công bố quốc tế về tiềm năng ứng dụng của xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế. Tuy nhiên, nhiều công trình nghiên cứu cho thấy tiềm năng kháng vi sinh vật của các chủng xạ khuẩn nội cộng sinh. Nghiên cứu của Li và cộng sự (2012) đã thông báo, nhiều chủng xạ khuẩn nội cộng sinh thể hiện phổ kháng khuẩn rộng và có hoạt tính mạnh mẽ, đặc biệt ức chế mạnh với 3 chủng gây bệnh liên quan đến thực phẩm là *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*. [5]. Kết quả nghiên cứu của Li và cộng sự là tương tự như khả năng ức chế vi khuẩn và nấm của các chủng xạ khuẩn nội cộng sinh trong nghiên cứu này. Tuy nhiên cho đến nay số lượng báo cáo đề cập đến đặc tính kháng khuẩn của xạ khuẩn nội cộng sinh trên mô sống của thực vật và quế tại Việt Nam chưa nhiều. Do vậy, nghiên cứu sàng lọc các chủng xạ khuẩn sản sinh các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn cao ứng dụng trong nhiều lĩnh vực là hướng nghiên cứu quan trọng góp phần tìm nguồn dược liệu quý mà vẫn bảo vệ sự đa dạng tài nguyên thực vật Việt Nam.

#### IV. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

Nghiên cứu về hoạt tính kháng khuẩn của 20 chủng xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế với 4 chủng vi khuẩn gây bệnh trong thực phẩm là *Escherichia coli* ATCC 11105, *Salmonella enterica* subsp., *Staphylococcus epidermidis* ATCC

12228 và *Bacillus cereus* ATCC 11778 cho thấy các chủng xạ khuẩn thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với cả 4 chủng vi khuẩn với đường kính dao động từ 10-20mm. Trong đó, chủng YBQ80 thể hiện hoạt tính cao nhất với *Salmonella enterica* ATCC 14028 (23,3±0,12mm). Chủng YBQ119 có hoạt tính thấp nhất với *Bacillus cereus* ATCC 11778 (4,2±0,09mm). Năm chủng có khả năng ức chế cả 4 VSV kiểm định là YBQ 059, YBQ 116, YBQ 080, YBQ 121, YBQ 125. Một chủng kháng duy nhất 1 vi kiểm định là chủng YBQ025. Điều đó chứng tỏ xạ khuẩn phân lập từ quế có thể là nguồn sinh kháng sinh tiềm năng ứng dụng trong bảo quản thực phẩm, phòng chống các bệnh truyền qua thực phẩm.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adhikari A, Basnyat R (1999). *Phenotypic characteristics of Xanthomonas campestris pv. campestris from Nepal*. EJPP, 105(3), pp. 303-305.
2. Bacon C.W, White J.F (2000). *Microbial endophytes*. New York. Marcel Dekker.
3. Besselink M.G, van Santvoort H.C, Buskens E et al (2008). *Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial*. Lancet. No.371, pp.651–659.
4. Chiang Y.C, Yang C.Y, Li C et al (2006). *Identification of Bacillus spp., Escherichia coli, Salmonella spp., Staphylococcus spp. and Vibrio spp. with 16S ribosomal DNA-based oligonucleotide array hybridization*. International journal of Food Microbiol. No.107, pp.131-137.
5. Li J, Zhao G.Z, Huang H.Y et al (2012). *Isolation and characterization of culturable endophytic actinobacteria associ-*

- ated with *Artemisia annua* L. Antonie van Leeuwenhoek. No.101, pp.515-527.
6. Tung Q.N, Nhan K.T, Son C.K et al (2014). *Đánh giá và sàng lọc xạ khuẩn nội cộng sinh trên cây quế có khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh*. Tạp chí Công

nghệ Sinh học. No2(12), pp. 365-371.

\* *Nghiên cứu này được thực hiện nhờ Hỗ trợ của Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Gen và đề tài cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam mã số VAST04.07/16-17*

### Summary

#### **DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAIST FOODBORN BACTERIA OF ACTINOMYCETES ISOLATED FROM CINNAMOMUM SP.**

This study determined the antimicrobial activity of twenty actinomycetes isolated from *Cinnamomum* sp. against 4 foodborne bacteria. Actinomycetes were cultured on YIM 38, and the antimicrobial activity of the suspension cultures was determined by using well diffusion method. The results indicated that all 20 tested strains of actinomycetes showed the antimicrobial activity against at least one foodborne strain. The antimicrobial activity of actinomycetes against *Escherichia coli* ATCC 11105, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Salmonella enterica* subsp and *Staphylococcus epidemidis* were 45, 65, 85 and 85 %, respectively. Especially, YBQ80 showed the strongest antimicrobial effect ( $23.3 \pm 0.12$ mm in diameter) against *Salmonella enterica* ATCC 14028. The results indicated that the actinomycetes isolated from *Cinnamomum* sp. could be the potential source for food preservation and medical treatment of foodborne diseases.

**Keywords:** *Cinnamon, Antimicrobial resistance, Endophytic actinomycetes.*

