

PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN LACTIC TỪ DỊCH QUẢ XOÀI CÁT HÒA LỘC (*MANGIFERA INDICA*) LÊN MEN TỰ NHIÊN

• DANH THỊ HUYỀN TRANG¹ - HUỖNH THỊ NGỌC DIỆP¹
- VÕ THỊ CẨM MY¹ - THÁI ÁNH HIỀN¹ - HUỖNH KIM YẾN^{1*}

¹Khoa Khoa học Thực phẩm và Sức khỏe, Trường Đại học Kiên Giang

*Email: hkyen@vnkgu.edu.vn

TÓM TẮT:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và định danh vi khuẩn lactic từ dịch xoài cát Hòa Lộc hướng đến ứng dụng trong các sản phẩm lên men từ xoài. Kết quả phân lập được 5 dòng vi khuẩn lactic, đa số khuẩn lạc có hình tròn, màu trắng sữa, kích thước khuẩn lạc từ 1,5 - 3,5 mm. Đa số các chủng là Gram dương, tế bào dạng que ngắn và catalase âm tính. Thử nghiệm khả năng sinh axit lactic có giá trị dao động từ 1,53 đến 1,80 mg/mL. Trong đó, chủng HL2 có khả năng sinh axit lactic cao nhất và được chọn để định danh bằng phân tích trình tự 16S RNA. Kết quả định danh cho thấy chủng HL2 được xác định là *Lactiplantibacillus plantarum*. Kết quả nghiên cứu góp phần đa dạng chủng vi khuẩn lactic trong quá trình lên men tự nhiên và cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo về tiềm năng ứng dụng của chủng vi khuẩn này trong việc sản xuất các sản phẩm lên men từ xoài cát Hòa Lộc.

Từ khóa: vi khuẩn lactic, xoài cát Hòa Lộc, định danh, *Lactiplantibacillus plantarum*.

1. Đặt vấn đề

Xoài cát Hòa Lộc (*Mangifera indica* L.) là loại cây ăn quả được đánh giá cao về mặt chất lượng và giá trị kinh tế. Quả khi chín có màu vàng, vị ngọt, hương thơm đặc trưng và được thị trường ưa chuộng [1]. Quả là nguồn cung cấp dinh dưỡng phong phú, chứa nhiều glucid, vitamin C, khoáng chất và các hợp chất sinh học có hoạt tính chống oxy hóa [2]. Hàm lượng đường hòa tan cao trong quả chín, đặc biệt là sucrose, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình lên men [3].

Bên cạnh đó, vi khuẩn lactic có khả năng sinh trưởng trong môi trường acid, có mùi chua đặc trưng [4]. Sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn lactic trong quá trình lên men không chỉ góp phần tạo acid

hữu cơ, cải thiện hương vị và cấu trúc sản phẩm mà còn giúp ức chế vi sinh vật gây hư hỏng, từ đó nâng cao chất lượng và độ an toàn của thực phẩm [5]. Tuy nhiên, thành phần và đặc điểm của hệ vi khuẩn lactic trong các sản phẩm lên men tự nhiên từ trái cây, đặc biệt là từ xoài cát Hòa Lộc, vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Việc phân lập các chủng vi khuẩn lactic từ nguồn nguyên liệu bản địa không chỉ có ý nghĩa về mặt khoa học mà còn mở ra tiềm năng ứng dụng trong công nghệ chế biến các sản phẩm lên men và đa dạng hóa sản phẩm nâng cao giá trị kinh tế từ trái xoài cát Hòa Lộc.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

Xoài cát Hòa Lộc (*Mangifera indica* L.) được thu hái tại Xã Châu Thành, tỉnh An Giang. Hóa chất sử dụng là thuốc thử catalase H_2O_2 3%, NaOH, ethanol 96%, phenolphthalein. Môi trường MRS được dùng để phân lập vi khuẩn lactic.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập vi khuẩn lactic

Xoài sau khi thu hái được rửa sạch và thu phần thịt quả. Thịt quả xay nhuyễn và ép lọc để thu dịch xoài, sau đó tiến hành lên men tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong 7 ngày. Dịch lên men được pha loãng và cấy trải lên môi trường MRS. Các đĩa petri được ủ ở 30°C trong 72 giờ. Các khuẩn lạc đặc trưng được chọn và cấy rìa nhiều lần trên môi trường MRS agar để thuần khiết. Độ trong của các chủng được kiểm tra bằng kính hiển vi, sau đó tiếp tục nuôi cấy để quan sát đặc điểm khuẩn lạc [6].

2.2.2. Phương pháp xác định đặc điểm hình thái và sinh hóa của các chủng vi khuẩn lactic

- Phương pháp quan sát đặc điểm hình thái: Trong quá trình cấy chuyển, các chủng được lựa chọn phải có hình thái đồng nhất, không xuất hiện dấu hiệu tạp nhiễm. Sau đó, đặc điểm hình thái khuẩn lạc như màu sắc, hình dạng, bề mặt và bìa khuẩn lạc được ghi nhận. [6].

- Phương pháp quan sát tế bào vi khuẩn và nhuộm Gram: Các chủng vi khuẩn sau khi phân lập được quan sát hình thái tế bào bằng kính hiển vi quang học kết hợp với kỹ thuật nhuộm Gram [7].

- Phản ứng phát hiện enzyme catalase: Hoạt tính

catalase của các chủng vi khuẩn được xác định bằng cách nhỏ dung dịch H_2O_2 3% lên sinh khối vi khuẩn đã được nuôi cấy 48 giờ và quan sát sự hình thành bọt khí. Kết quả dương tính khi xuất hiện bọt khí oxy, ngược lại là âm tính khi không có bọt khí [8].

- Phương pháp xác định hàm lượng acid lactic: Khả năng sinh acid của các chủng vi khuẩn được xác định bằng phương pháp chuẩn độ Therner. Lấy 10 ml dịch nuôi cấy đã ly tâm cho vào ống nghiệm, bổ sung 20 ml nước cất và 1-2 giọt Phenolphthalein (nồng độ 1% trong cồn 90°). Chuẩn độ bằng NaOH 0,1N đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền trong 30 giây thì dừng lại. Ghi lại thể tích NaOH đã dùng để chuẩn độ. Độ axit được tính theo độ Therner theo công thức: $^\circ\text{T} = V \text{ NaOH tiêu tốn} \times 10$; % axit lactic = $^\circ\text{T} \times 0,009$ trong đó: $^\circ\text{T}$ là độ Therner, 1°T tương ứng với 9 mg acid lactic [9].

2.2.3. Phương pháp nhận diện vi khuẩn bằng phương pháp PCR

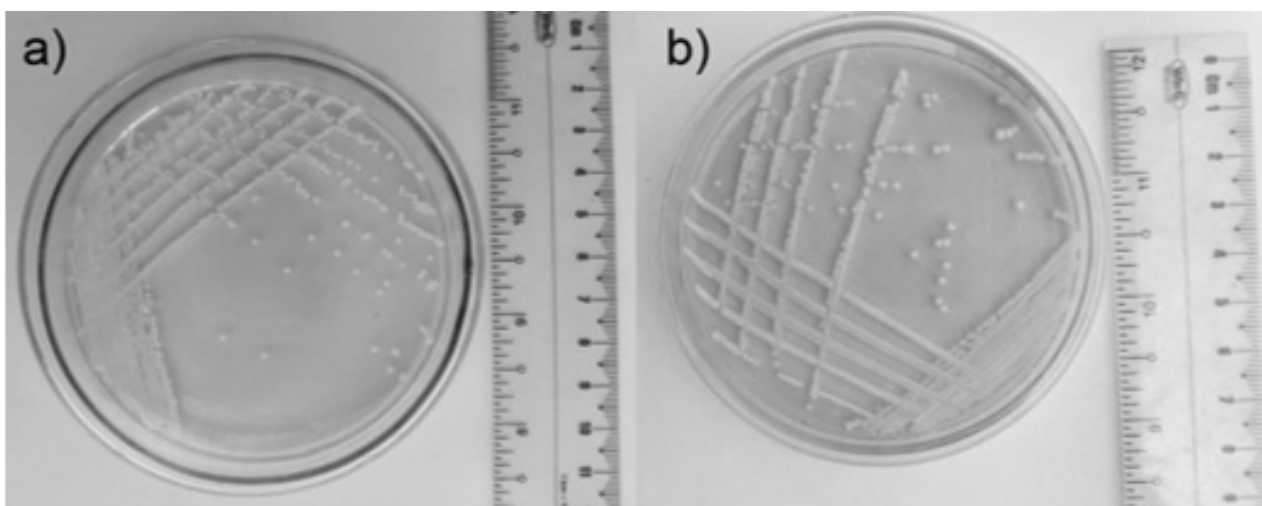
Chủng vi khuẩn tuyển chọn được ly trích DNA tổng số và khuếch đại gen 16S rRNA bằng cặp mồi 27F và 1492R [10]. Sản phẩm PCR sau đó được giải trình tự và so sánh với các trình tự trên cơ sở dữ liệu NCBI bằng công cụ BLAST nhằm xác định mức độ tương đồng và định danh vi khuẩn ở mức độ loài.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn lactic

Kết quả phân lập thu được 5 chủng vi khuẩn hình thành khuẩn lạc rõ ràng trên môi trường MRS agar, chủ yếu dọc theo đường cấy. Các khuẩn lạc có hình

Hình 1: Hình thái khuẩn lạc vi khuẩn phân lập; Chủng HL1 (a), chủng HL2 (b)



Bảng 1. Hình thái khuẩn lạc của vi khuẩn phân lập

Chủng vi khuẩn	Hình thái khuẩn lạc	Kích thước khuẩn lạc (mm)
HL1	Tròn, trắng sữa, mô, bìa nguyên	1,5 - 2,0
HL2	Tròn, trắng sữa, mô, bìa nguyên	2,0 - 3,0
HL3	Tròn, trắng sữa, lồi, bìa nguyên	2,5 - 3,0
HL4	Tròn, trắng ngà, mô, bìa nguyên	1,5 - 2,0
HL5	Tròn, trắng sữa, mô, bìa nguyên	2,5 - 3,5

thái đồng nhất, không xuất hiện dạng bất thường (Hình 1).

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc sau 48 giờ nuôi cấy (Bảng 1) cho thấy các chủng vi khuẩn phân lập có sự tương đồng cao về hình dạng cơ bản. Tất cả các khuẩn lạc đều có dạng tròn, bìa nguyên, đặc trưng điển hình của vi khuẩn lactic trên môi trường MRS agar. Các chủng vẫn thể hiện một số khác biệt về màu sắc, độ nổi và kích thước khuẩn lạc. Màu sắc dao động từ trắng sữa đến trắng ngà; phần lớn khuẩn lạc có dạng mô, riêng chủng HL3 có dạng lồi. Kích thước khuẩn lạc sau 48 giờ dao động từ 1,5-3,5 mm. Trong đó, chủng HL5 có kích thước lớn nhất, trong khi HL1 và HL4 có kích thước nhỏ hơn.

Kết quả quan sát hình thái khuẩn lạc của các

chủng vi khuẩn tại Bảng 1 cho thấy, sự tương đồng rõ rệt với các đặc điểm điển hình của vi khuẩn acid lactic đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đó. Cụ thể, các khuẩn lạc có dạng tròn, màu trắng sữa đến trắng ngà, bìa nguyên và kích thước phù hợp với mô tả về vi khuẩn lactic phân lập trên trái ổi của Huỳnh Ngọc Thanh Tâm và cộng sự [11].

3.2. Kết quả xác định điểm hình thái, sinh hóa và khả năng sinh axit lactic

Kết quả nhuộm Gram cho thấy, tất cả các chủng HL1-HL5 thuộc nhóm vi khuẩn Gram dương. Quan sát dưới kính hiển vi cho thấy, các chủng chủ yếu có dạng hình que (HL1, HL2, HL4, HL5) với kích thước dao động trong khoảng $3-8 \mu\text{m} \times 0,7-1 \mu\text{m}$; riêng chủng HL3 có dạng cầu với kích thước khoảng

Bảng 2. Đặc điểm nhuộm Gram và khả năng sinh axit lactic của các chủng vi khuẩn phân lập

Chủng vi khuẩn	Nhuộm Gram	Mô tả hình thái	Kích thước tế bào		Hàm lượng axit lactic (mg/ml)
			Chiều dài (μm)	Chiều rộng (μm)	
HL1	Gram dương	Que ngắn	3 - 5	0,8 - 1	$1,57 \pm 0,016^d$
HL2	Gram dương	Que ngắn	4 - 6	0,7 - 1	$1,80 \pm 0,002^b$
HL3	Gram dương	Cầu	0,8 - 1	0,9 - 1	$1,62 \pm 0,003^c$
HL4	Gram dương	Que dài	6 - 8	0,8 - 1	$1,53 \pm 0,041^e$
HL5	Gram dương	Que	3 - 4,5	0,5 - 1	$1,15 \pm 0,041^f$
Đối chứng dương					$1,98 \pm 0,004^a$

0,8-1 μm . Khi kiểm tra với dung dịch H_2O_2 3%, các chủng HL1-HL5 không xuất hiện bọt khí, chứng tỏ không có enzyme catalase. Từ kết quả trên cho thấy, 5 chủng vi khuẩn phân lập được là vi khuẩn Gram dương, không có enzyme catalase phù hợp với đặc điểm sinh học của vi khuẩn lactic.

Kết quả tại Bảng 2 cho thấy, hàm lượng acid lactic sinh ra có sự khác biệt giữa các chủng, dao động trong khoảng 1,15-1,80 mg/mL. Cụ thể, chủng HL2 cho hàm lượng acid lactic cao nhất (1,80 mg/mL), chỉ thấp hơn so với đối chứng dương (1,98 mg/mL). Các chủng HL1, HL3 và HL4 có khả năng sinh axit lactic với giá trị tương ứng là 1,57 mg/mL; 1,62 mg/mL và 1,53 mg/mL, trong khi HL5 cho hàm lượng thấp nhất (1,15 mg/mL). Sự khác biệt này phản ánh sự đa dạng về năng lực lên men và hoạt động trao đổi chất giữa các chủng vi khuẩn trong cùng điều kiện nuôi cấy.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khả năng sinh acid lactic của các chủng HL1-HL5 thấp hơn so với các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ nước ép khóm trong nghiên cứu của Trương Quốc Tất và Nguyễn Duy Khánh [12]. Cụ thể, các chủng trong nghiên cứu này tạo ra hàm lượng acid lactic cao nhất đạt 1,80 mg/mL, trong khi các chủng vi khuẩn phân lập từ nước ép khóm đạt giá trị cao hơn là 4,86 mg/mL trong cùng môi trường nuôi cấy MRS. Sự khác biệt

này có thể liên quan đến đặc điểm sinh học của từng chủng, nguồn nguyên liệu phân lập cũng như khả năng thích nghi và chuyển hóa cơ chất khác nhau giữa các nhóm vi khuẩn lactic.

3.3. Định danh bằng phương pháp sinh học phân tử

Chủng HL2 được chọn để giải trình tự gene 16S rRNA. So sánh bằng dụng cụ Nucleotide BLAST cho thấy, trình tự của HL2 tương đồng 97,48% với trình tự của *Lactiplantibacillus plantarum* (Accession no. MF369886.1). Những đặc điểm này cũng tương đồng với các nghiên cứu trước đây khi kết hợp giữa dữ liệu hình thái, sinh hóa và trình tự 16S rRNA để định danh vi khuẩn lactic. *L. plantarum* được nghiên cứu nhiều nhất trong ngành công nghiệp thực phẩm để sản xuất các loại đồ uống và thực phẩm chức năng mới với các tính năng công nghệ và dinh dưỡng được cải thiện [13].

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập được 5 chủng vi khuẩn lactic trên môi trường MRS agar. Trong đó, chủng HL2 cho hàm lượng acid lactic cao nhất là 1,80 mg/mL. Chủng vi khuẩn HL2 là chủng vi khuẩn tiềm năng được chọn để giải trình tự gen 16S rRNA, kết quả cho thấy chủng vi khuẩn này là *Lactiplantibacillus plantarum* với độ tương đồng đạt 97,48%■

TÀI LIỆU TRÍCH DẪN VÀ THAM KHẢO:

- [1] Trần Văn Hâu, Nguyễn Chính Linh và Nguyễn Lê Hồ. (2015). Xác định thời điểm thu hoạch của trái xoài cát Hòa Lộc (*Mangifera indica* L.) tại xã Hòa Hưng, huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang. Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 37, 111-119.
- [2] Vergara-Valencia N., Granados-Pérez E., Agama-Acevedo E., Tovar J., Ruales, J., & Bello-Pérez L. A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. LWT-Food Science and Technology, 40(4), 722-729.
- [3] Bello-Pérez L. A., García-Suárez F. J., and Agama-Acevedo E. (2007). Mango carbohydrates. Food, 1 (1), 36-40.
- [4] Lương Đức Phẩm (2002). Vi sinh vật học và an toàn vệ sinh thực phẩm. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- [5] Abee T. and Wouters J. A. (1999). Microbial stress response in minimal processing. International Journal of Food Microbiology, 50(1-2), 65-91.
- [6] Nguyễn Thị Phi Dung, Huỳnh Trương Yến Ly và Hà 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, 19a, 176-184.
- [7] Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Hữu Hiệp (2002). Giáo trình thực tập vi sinh vật đại cương. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- [8] Mai Đăng Linh, Đào Minh Phương, Phan Thị Tuyết, Khương Huy Ảnh và Nguyễn Thanh Giang (2008). Đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn lactic phân lập trên địa bàn thành phố Hà Nội. Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 24, 221-226.

- [9] Nguyễn Thị Minh Hằng và Nguyễn Minh Thư (2013). Phân lập và tuyển chọn một số chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp amylase và bacteriocin. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp, 3, 3-10.
- [10] Dubernet, S., Desmasures, N. and Guéguen M. (2002). A PCR-based method for identification of lactobacilli at the genus level. FEMS Microbiology Letters, 214 (2), 271-275.
- [11] Huỳnh Nguyễn Thanh Tâm, Trần Võ Bảo Nam và Trần Huy Hậu (2025). Selection, identification, and application in yogurt fermentation of lactic acid bacteria isolated from guava (*Psidium guajava* L.) fruits. CTU Journal of Innovation and Sustainable Development, 17(3), 88-98.
- [12] Trương Quốc Tất và Nguyễn Duy Khánh (2024). Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có tiềm năng ứng dụng lên men nước ép khóm (*Ananas comosus* L.). TNU Journal of Science and Technology, 229 (13), 3-11.
- [13] Behera S. S., Ray R. C., & Zdolec N. (2018). *Lactobacillus plantarum* with functional properties: an approach to increase safety and shelf-life of fermented foods. BioMed research international, 2018(1), 9361614.

Ngày nhận bài: 20/01/2026

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 8/02/2026

Ngày chấp nhận đăng bài: 28/02/2026

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIAL FROM NATURALLY FERMENTED HOA LOC MANGO (*MANGIFERA INDICA* L.) JUICE

- DANH THI HUYEN TRANG¹
- HUYNH THI NGOC DIEP¹
- VO THI CAM MY¹
- THAI ANH HIEN¹
- HUYNH KIM YEN^{1*}

¹Faculty of Food Science and Health, Kien Giang University

ABSTRACT:

This study aimed to isolate and identify lactic acid bacteria from Hoa Loc mango (*Mangifera indica* L.) juice for potential application in fermented mango products. Five lactic acid bacteria strains were successfully isolated, forming predominantly round, milky-white colonies with diameters ranging from 1.5 to 3.5 mm. Phenotypic characterization indicated that most isolates were Gram-positive, short rod-shaped, and catalase-negative. Lactic acid production ranged from 1.53 to 1.80 mg/mL among the isolates. Strain HL2 exhibited the highest lactic acid yield and was therefore selected for molecular identification using 16S rRNA gene sequencing, which confirmed its identity as *Lactiplantibacillus plantarum*. These findings contribute to the diversification of lactic acid bacteria resources from natural fermentation systems and provide a scientific foundation for further exploration of this strain's potential in the development of fermented products derived from Hoa Loc mango.

Keywords: lactic acid bacteria, *Mangifera indica* L., Hoa Loc mango, identification, *Lactiplantibacillus plantarum*.