

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG VI KHUẨN *CUTIBACTERIUM ACNES* CỦA BỘT NGHỆ LÊN MEN BỞI *LACTOBACILLUS SPP.*

Nguyễn Thanh Tố Nhi^{1,*}, Phạm Song Phi Thuyền¹, Phạm Đa Nguyên¹, Đinh Thị Hoàng Nhi¹, Lâm Bội Oanh¹, Nguyễn Thanh Ngân¹, Nguyễn Hoàng Thiên Kim¹, Nguyễn Thanh Long¹, Phạm Thị Tuyết Nhung¹, Lâm Minh Ý¹

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Tóm tắt: Công nghệ lên men bột nghệ vàng (BNV) bằng các vi sinh vật như *Lactobacillus spp.* trong điều trị các vấn đề da liễu, đặc biệt là liên quan đến vi khuẩn *Cutibacterium acnes* là một hướng nghiên cứu đầy tiềm năng. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm sàng lọc hoạt tính kháng *C. acnes* của BNV không và có lên men bởi các loài *Lactobacillus spp.* riêng lẻ. BNV ban đầu được ủ với enzyme pectinase trong 1 giờ, 3 giờ, 5 giờ, sau đó lên men riêng lẻ 0,1%, 0,5%, 1,0%, 2,0%, 3,0% *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* trong 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ. Các mẫu BNV được chiết cao còn 96,0% bằng phương pháp ngâm lạnh kết hợp siêu âm, đánh giá hoạt tính kháng khuẩn *C. acnes*. Kết quả cho thấy so với BNV ban đầu, BNV được ủ với enzyme pectinase 30.000 U/g trong đệm acetate pH 5,0, 50 °C, 1 giờ, lên men với 3,0% *L. casei* trong 48 giờ cho hoạt tính kháng *C.acnes* tốt hơn với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC = 32 µg/mL) giảm 32 lần. Như vậy, hoạt tính kháng *C. acnes* đã được cải thiện đáng kể sau khi lên men bởi *Lactobacillus spp.*, đặc biệt là 3,0% *L. casei* trong 48 giờ.

Từ khóa: bột nghệ vàng, *Curcuma longa*, *Cutibacterium acnes*, hoạt tính kháng khuẩn, *Lactobacillus*, lên men bán rắn

1. GIỚI THIỆU

Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) thuộc họ Gừng, phổ biến ở các vùng khí hậu nhiệt đới ẩm như Đông Nam Á và Nam Á, trong đó có Việt Nam. Nghệ vàng chứa nhiều hợp chất chuyển hóa thứ cấp, đặc biệt là curcuminoid, có tác dụng kháng ung thư, kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hóa, và bảo vệ gan, thần kinh (Đỗ Huy Bích và cộng sự, 2006; Meng và cộng sự, 2018). *Lactobacillus spp.* là một chi vi khuẩn gram dương, hình que, không sinh bào tử, ưa acid, kỵ khí tùy ý (Kumar và Kumar, 2014). Theo phân loại mới nhất, nhóm vi khuẩn acid lactic bao gồm 40 chi, nhưng chỉ có 12 chi được áp dụng trong các quá trình lên men thực phẩm, trong đó, *Lactobacillus* là chi được sử dụng phổ biến nhất để lên men trái cây và rau quả (Szutowska, 2020). Trong quá trình lên men, vi khuẩn acid lactic kết hợp một số đặc tính như probiotic (Quinto và cộng sự, 2014), tăng hàm lượng dinh

dưỡng bằng cách chuyển đổi nồng độ đường (Septembre-Malaterre và cộng sự, 2018), tăng cường sinh khả dụng của các chất dinh dưỡng (Filannino và cộng sự, 2015), hoạt tính kháng khuẩn (Šušaković và cộng sự, 2010) và chống oxy hóa (Rodríguez và cộng sự, 2009), sinh tổng hợp vitamin, phân hủy các độc tố (Swain và cộng sự, 2014) và tăng tính cảm quan. Năm 2019, nghiên cứu của Yong và cộng sự (2019) cho thấy bột nghệ lên men bằng *L. plantarum* có tác dụng kháng viêm, và hàm lượng curcumin tăng lên $6,26 \pm 0,95\%$, ngoài ra độc tính tế bào trong nghệ cũng giảm bớt so với mẫu nghệ chưa lên men. Nghiên cứu gần đây nhất của Lin và cộng sự (2024), cho kết quả nghệ lên men bởi 2,0% *L. paracasei* làm giảm nồng độ curcuminoid, tuy nhiên thông qua quá trình chuyển hóa của *L. paracasei* thì sinh khả dụng của curcuminoid có thể tăng lên do quá trình glycosyl hoặc methyl hóa. Ngoài ra, nghệ lên men bằng *L. casei* còn có

tác dụng trên bệnh béo phì thông qua việc điều hòa quá trình chuyển hóa lipid, viêm và sự nhạy cảm với insulin. Năm 2022, Nguyen Thi Thu Ha và cộng sự (2022) đã phân lập được 4 chất curcuminoid từ chiết xuất ethanol của thân rễ củ Nghệ vàng bao gồm curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin và cyclocurcumin. Cấu trúc hóa học của 4 chất này được thể hiện qua phổ NMR và phổ MS. IC_{50} của 4 chất curcuminoid này đạt giá trị từ 9,23 đến 14,6 $\mu\text{g/ml}$ trong thử nghiệm loại bỏ gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) so với chứng dương là resveratrol ($IC_{50} = 11,5 \mu\text{g/ml}$). Nghiên cứu của Nguyễn Thanh Tổ Nhi và cộng sự (2024) đã cho kết quả so với cao chiết bột củ Nghệ ban đầu, cao chiết bột củ Nghệ được xử lý pectinase trong 1 giờ, sau lên men 72 giờ với tỷ lệ cấy *L. casei* 2,0% (tt/kl), cho MIC thấp hơn, giảm 16 lần (*Staphylococcus aureus* kháng methicillin), 32 lần (*Staphylococcus aureus* nhạy methicillin), hơn 16 lần (*Candida albicans*). Như vậy, ở Việt Nam, nghiên cứu về công nghệ lên men Nghệ còn hạn chế, mở ra cơ hội mới cho lĩnh vực sinh học và y dược.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu

Dược liệu sử dụng trong nghiên cứu là thân rễ Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) trưởng thành, được thu hoạch vào tháng 11-12 tại xã Tân Khánh Trung, huyện Lập Vò, tỉnh Đồng Tháp, sau đó được định danh hình thái, vi phẫu. Thân rễ Nghệ vàng được rửa sạch bằng nước máy nhằm loại bỏ bụi, tạp cơ học, để ráo, cắt lát, sấy khô ở 70 °C, trong 4 ngày, sau đó được xay mịn và sàng qua rây 35 mm theo Dược Điển Việt Nam V, bảo quản trong lọ thủy tinh tránh ánh sáng.

Vi sinh vật thử nghiệm bao gồm: *Lactobacillus plantarum* ATCC 21028, *Lactobacillus reuteri* ATCC 23272, *Lactobacillus casei* ATCC 393, *Cutibacterium*

acnes ATCC 6919.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp xử lý BNV với enzyme

Thử nghiệm được tiến hành dựa trên nghiên cứu của Le-Tan và cộng sự (2021). Cân 75g BNV ban đầu vào 150 mL đệm acetate pH 5,0 đã có sẵn enzyme pectinase với hoạt độ 30.000 U/g, ủ mẫu ở 50 °C trong 1 giờ, 3 giờ, 5 giờ. Trước khi thu mẫu, bất hoạt enzyme ở 80 °C, 5 phút. Tiến hành loại bỏ dịch lọc bằng cách ly tâm (5600 rpm trong 5 phút), thu cặn và rửa cặn nhiều lần bằng nước cất cho tới khi nước rửa đạt pH 6,5. Cặn sau khi rửa là BNV đã được xử lý với pectinase ở các thời gian khác nhau, và được sử dụng trực tiếp cho các thử nghiệm tiếp theo.

2.2.2 Phương pháp khảo sát điều kiện lên men BNV

BNV sau khi xử lý với enzyme pectinase ở thời gian thích hợp, được điều chỉnh độ ẩm bằng môi trường MRS sao cho đạt 45,0 – 55,0% phù hợp cho quá trình lên men bán rắn (Liu và cộng sự, 2022) (MRS: BNV = 0,5 : 1,0), tiệt trùng bằng cách hấp ở 110 °C, 15 phút. Huyền dịch các chủng *L. casei*, *L. plantarum*, *L. reuteri* có mật độ 10^6 CFU/mL được cấy riêng lẻ vào BNV với các tỷ lệ khảo sát là 0,1%, 0,5%, 1,0%, 2,0%, 3,0% (tt/kl) (Lv và cộng sự, 2023), được ủ ở 37 °C, trong bình kín, thu mẫu sau 24, 48 và 72 giờ (Wu và cộng sự, 2018). Mỗi thử nghiệm được lặp lại 3 lần. Sau đó, mẫu được ly tâm 10.000 rpm trong 5 phút, loại dịch nổi, thu được BNV sau lên men dùng cho thử nghiệm chiết xuất cao.

2.2.3 Phương pháp chiết cao BNV

Thử nghiệm được tiến hành dựa trên nghiên cứu của Nguyễn Văn Hân (2022). Các mẫu BNV được chiết xuất bằng phương pháp ngâm lạnh trong cồn 96,0% (BNV : dung môi = 1 : 10) 60 phút, sau đó được siêu âm ở 50 °C, 30 phút. Dịch chiết được lọc qua giấy lọc và cô quay thu hồi dung môi ở

55 °C. Độ ẩm của cao được xác định bằng cân sấy ẩm (không quá 20,0%), theo ĐDVN V (Bộ Y Tế, 2018).

2.2.4 Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp giếng khuếch tán

Phương pháp giếng khuếch tán được thực hiện để đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của mẫu thử nghiệm, theo hướng dẫn của Viện Tiêu chuẩn xét nghiệm lâm sàng Hoa Kỳ (CLSI) M02-A12 có cải tiến (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015b). Chủng vi khuẩn *C. acnes* được nuôi cấy trong môi trường thạch BHA khoảng 48 – 72 giờ, 37 °C, nuôi trong bình có túi ủ kỵ khí. Dùng que cấy lấy khoảng 3 – 4 khóm giống nhau về hình thái pha trong dung dịch nước muối sinh lý bổ sung 0,05% Tween 80 và phân tán đều bằng máy vortex. Huyền dịch vi khuẩn sau khi pha loãng đạt mật độ khoảng $1-2 \times 10^8$ CFU/mL sẽ được trải đều lên toàn bộ bề mặt thạch MHA. Đục các giếng có đường kính 6 mm, sau đó bơm khoảng 60 μ L cao chiết BNV (50 mg/mL trong DMSO 10,0%) vào giếng. Cuối cùng, các đĩa thạch được ủ ở tủ ẩm 37 °C, trong bình có túi ủ kỵ khí, kiểm tra kết quả sau 72 giờ, nếu có xuất hiện vùng ức chế rõ rệt xung quanh giếng thử nghiệm, chứng tỏ kết quả dương tính, dịch chiết có chứa hoạt chất kháng vi khuẩn.

2.2.5 Xác định nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu (MIC) bằng phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng

Phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng được thực hiện dựa trên đĩa nhựa 96 giếng theo CLSI M07 – A10 có cải tiến (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015a), môi trường thử nghiệm là MHB. Các cao chiết BNV được hòa tan trong DMSO 1,0% để đạt nồng độ thử nghiệm là 50 mg/mL, sau đó pha loãng

trong môi trường thử nghiệm sao cho tạo thành dãy có nồng độ sau bằng $\frac{1}{2}$ nồng độ trước, khoảng nồng độ của cao BNV trong giếng thử nghiệm là 1024 μ g/mL - 8 μ g/mL. Chủng dương là levofloxacin có khoảng nồng độ từ 8 μ g/mL - 0,0625 μ g/mL (Gonzalez và cộng sự, 2010). Nồng độ cuối của DMSO được sử dụng làm chứng âm là 0,05%. Huyền dịch vi khuẩn được thêm vào để đạt mật độ cuối là 5×10^5 CFU/mL. Đĩa được ủ ở 37 °C, 72 giờ, trong bình có túi ủ kỵ khí. Sau ủ, 30 μ L resazurin 0,015% (kl/tt) được thêm vào mỗi giếng và ủ tiếp 2 – 4 giờ (Elshikh và cộng sự, 2016). Giá trị MIC được xác định là nồng độ thấp nhất của cao chiết ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn (giữ nguyên màu xanh của resazurin). Thử nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.6 Phương pháp xử lý số liệu

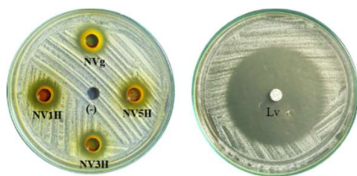
Sự khác biệt giữa các mốc thời gian xử lý BNV bởi enzyme pectinase và các điều kiện lên men BNV với chủng *Lactobacillus spp.* được xác định bằng phân tích thống kê một nhân tố (one-way ANOVA), phân tích thống kê hai nhân tố (two-way ANOVA), với mức ý nghĩa thống kê $p < 0,05$. Phân tích hậu kiểm Tukey được sử dụng để so sánh cặp khi có sự khác biệt có ý nghĩa. Tất cả các phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism 10.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả xử lý BNV bằng enzyme pectinase

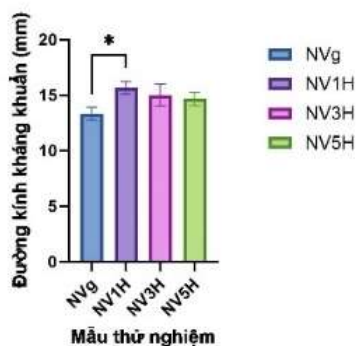
3.1.1 Kết quả kháng khuẩn bằng phương pháp giếng khuếch tán

Kết quả đường kính vòng kháng khuẩn của các cao chiết BNV ban đầu và sau khi xử lý enzyme pectinase được trình bày ở Hình 1 và Hình 2.



Hình 1. Thử nghiệm giếng khuếch tán của cao BNV ban đầu, sau xử lý enzyme pectinase và chứng dương

(-): thay cao bằng DMSO 10,0%, Lv: Levofloxacin
 NVg: Cao BNV không xử lý enzyme pectinase,
 NV1H: Cao BNV sau xử lý enzyme pectinase 1 giờ,
 NV3H: Cao BNV sau xử lý enzyme pectinase 3 giờ,
 NV5H: Cao BNV sau xử lý enzyme pectinase 5 giờ



Hình 2. Đường kính vòng kháng khuẩn *C. acnes* của cao BNV ban đầu và sau xử lý pectinase

*: khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$)

Bảng 1. Kết quả MIC của cao BNV ban đầu và sau xử lý enzyme pectinase

Mẫu thử nghiệm	NVg	NV1H	NV3H	NV5H	Kháng sinh Levofloxacin
MIC ($\mu\text{g/mL}$)	1024	512	512	1024	0,5

(-): thay cao bằng DMSO 1,0%, Cao (-): Cao BNV không xử lý pectinase, không vi khuẩn

Dựa vào kết quả Bảng 1 cho thấy, MIC của các mẫu cao chiết nằm trong khoảng từ 512 $\mu\text{g/mL}$ đến 1024 $\mu\text{g/mL}$. Mẫu cao BNV sau khi xử lý enzyme pectinase trong 1 giờ và 3 giờ đạt kết quả tốt nhất, giảm 2 lần so với mẫu BNV ban đầu và sau khi đã xử lý enzyme 5 giờ. Điều này cho thấy thời gian xử lý enzyme kéo dài đến 5 giờ không mang lại sự cải thiện về khả năng kháng khuẩn, thậm chí có thể làm giảm hiệu quả kháng khuẩn so với thời gian xử lý 1 giờ

Dựa vào kết quả phân tích thống kê ảnh hưởng 1 nhân tố (one – way ANOVA) đối với đường kính vòng kháng khuẩn, kết quả phân tích hậu kiểm Tukey cho thấy đường kính vòng kháng khuẩn của cao BNV sau khi xử lý enzyme pectinase 1 giờ lớn hơn so với các mẫu cao BNV ban đầu và có xử lý enzyme pectinase ở 3 giờ và 5 giờ. Đồng thời sự khác biệt về đường kính vòng kháng khuẩn của mẫu cao BNV sau xử lý enzyme pectinase ở 1 giờ và mẫu cao BNV ban đầu là có ý nghĩa với mức giá trị $p < 0,05$.

3.1.2 Kết quả xác định MIC bằng phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng

Kết quả nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu (MIC) của các cao BNV ban đầu và sau khi xử lý enzyme bằng phương pháp vi pha loãng trên đĩa 96 giếng với nồng độ ban đầu của các mẫu là 1024 ($\mu\text{g/mL}$), nồng độ ban đầu của kháng sinh Levofloxacin là 8 ($\mu\text{g/mL}$) được thể hiện qua Bảng 1.

và 3 giờ. Do đó, theo kết quả của phương pháp khuếch tán và phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng, BNV sau xử lý enzyme pectinase 1 giờ được chọn cho thử nghiệm lên men với từng loài *Lactobacillus spp.*. Kết quả nghiên cứu tương đồng với nghiên cứu của (Le-Tan và cộng sự, 2021) năng suất chiết xuất của curcumin đạt 53,0% khi ủ Nghệ với enzyme pectinase trong 1 giờ, cao hơn so với mẫu không xử lý với enzyme pectinase trước khi chiết

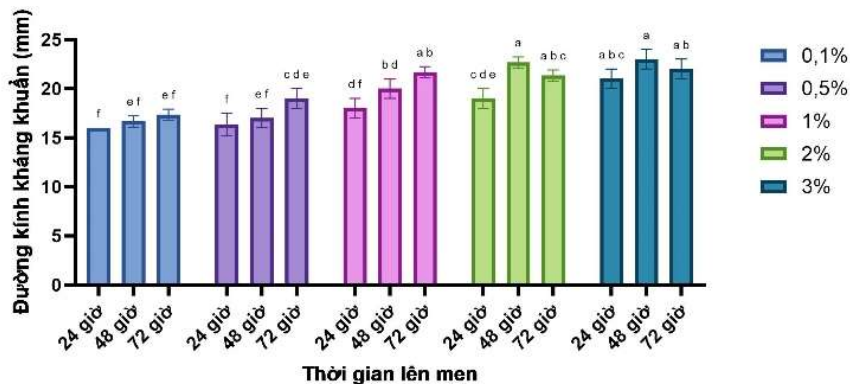
xuất. Ngoài ra, Muniglia và cộng sự (2014) đã chứng minh khi thời gian xử lý enzyme quá lâu, có thể dẫn đến sự phân hủy các hợp chất hoạt tính sinh học như curcumin, polyphenol, và anthocyanidin. Tiếp xúc kéo dài ở nhiệt độ cao hoặc quá trình oxy hóa cũng gây ra sự phân hủy hoạt tính sinh học. Điều này cũng lý giải cho hoạt tính kháng *C.acnes* của cao BNV sau xử lý pectinase 5 giờ (MIC = 1024 $\mu\text{g/mL}$) giảm hơn so với 1

giờ và 3 giờ (MIC = 512 $\mu\text{g/mL}$).

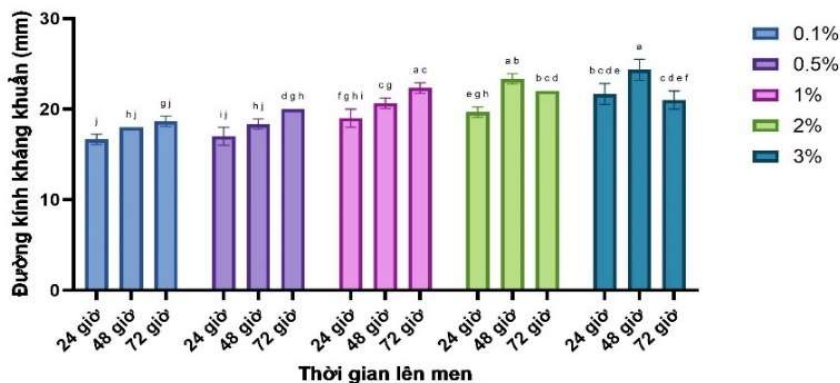
3.2 Kết quả khảo sát điều kiện lên men BNV bằng *Lactobacillus* spp.

3.2.1 Kết quả kháng khuẩn bằng phương pháp giếng khuếch tán

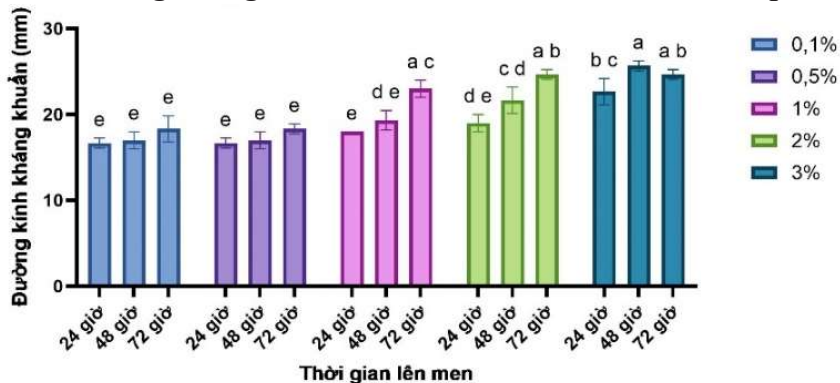
Kết quả đường kính vòng kháng khuẩn *C. acnes* của các mẫu cao chiết BNV sau khi lên men bằng *Lactobacillus* spp. được thể hiện ở Hình 3, Hình 4 và Hình 5.



Hình 3. Khả năng kháng *C. acnes* của cao BNV lên men bởi *L. reuteri*

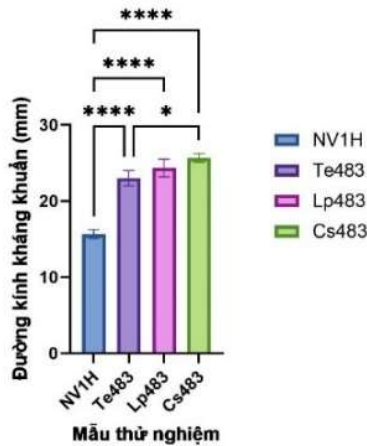


Hình 4. Khả năng kháng *C. acnes* của cao BNV lên men bởi *L. plantarum*



Hình 5. Khả năng kháng *C. acnes* của cao BNV lên men bởi *L. plantarum*

Các giá trị trung bình của các mẫu cao BNV lên men cùng một loài *Lactobacillus* sp. có chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)



Hình 6. Khả năng kháng *C. acnes* của cao BNV lên men 3,0% *Lactobacillus* spp.

*: khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) **: khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,01$) ***: khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,001$) ****: khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,0001$), Te483: Cao BNV lên men chủng *L. reuteri* 3,0% 48 giờ, Lp483: Cao BNV lên men chủng *L. plantarum* 3,0% 48 giờ, Cs483: Cao BNV lên men chủng *L. casei* 3,0% 48 giờ

Dựa trên phân tích thống kê hai yếu tố (two-way ANOVA), kết quả phân tích hậu kiểm Tukey cho thấy tỷ lệ cấy chủng ban đầu và thời gian lên men ảnh hưởng đến đường kính vòng kháng khuẩn ($p < 0,05$). Hình 3, hình 4 và hình 5 cho thấy cao BNV lên men với 0,5% *L. reuteri*, 1,0% *L. reuteri*, 0,5% *L. plantarum*, 1,0% *L. plantarum*, thu mẫu ở 72 giờ cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thu mẫu ở 24 giờ ($p < 0,05$). Cao BNV lên men với 1,0% *L. casei*, 2,0% *L. casei* thu mẫu ở 72 giờ cho đường kính vòng kháng khuẩn cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thu mẫu ở 24 giờ và 48 giờ ($p < 0,05$). Tuy nhiên, cao BNV lên

men với 2,0% *L. reuteri*, 2,0% *L. plantarum*, 3,0% *L. casei*, thu mẫu ở 48 giờ cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thu mẫu ở 24 giờ ($p < 0,05$). Đồng thời, cao BNV lên men với 3,0% *L. plantarum*, thu mẫu ở 48 giờ cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thu mẫu ở 24 giờ và 72 giờ ($p < 0,05$). Như vậy, khi tỷ lệ cấy ban đầu tăng lên thì thời gian lên men được rút ngắn lại và kết quả đường kính vòng kháng khuẩn là cao nhất và nhìn chung BNV lên men với 3,0% *Lactobacillus* spp., sau 48 giờ cải thiện đáng kể đường kính vòng kháng khuẩn *C. acnes*. Kết quả phân tích thống kê một yếu tố (one-way ANOVA) về đường kính vòng kháng khuẩn của các mẫu BNV không và có lên men với 3,0% *Lactobacillus* spp., sau 48 giờ được thể hiện ở hình 6 cho thấy, cao BNV lên men với 3,0% *L. casei* sau 48 giờ cho đường kính vòng kháng khuẩn *C. acnes* cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với cao BNV đã xử lý enzyme pectinase 1 giờ, không lên men và cao BNV lên men với 3,0% *L. reuteri* sau 48 giờ. Tóm lại, BNV lên men với 3,0% *L. casei* sau 48 giờ đã cải thiện đáng kể đường kính vòng kháng khuẩn *C. acnes*.

3.1.2 Kết quả xác định MIC bằng phương pháp vi pha loãng trong môi trường lỏng

Kết quả thử nồng độ ức chế tối thiểu MIC của các cao chiết BNV sau khi lên men bằng phương pháp vi pha loãng trên đĩa 96 giếng với nồng độ ban đầu của các mẫu là 1024 ($\mu\text{g/mL}$), được thể hiện qua Bảng 2.

Bảng 2. Bảng kết quả MIC của các cao BNV sau lên men

Mẫu cao BNV lên men (1024 $\mu\text{g/mL}$)	Ký hiệu mẫu	MIC
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 0,1% 24 giờ	Te2401	512
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 0,1% 48 giờ	Te4801	512
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 0,1% 72 giờ	Te7201	512
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 0,5% 24 giờ	Te2405	512

BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 0,5% 48 giờ	Te4805	512
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 0,5% 72 giờ	Te7205	256
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 1,0% 24 giờ	Te241	256
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 1,0% 48 giờ	Te481	128
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 1,0% 72 giờ	Te721	128
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 2,0% 24 giờ	Te242	256
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 2,0% 48 giờ	Te482	64
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 2,0% 72 giờ	Te722	128
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 3,0% 24 giờ	Te243	128
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 3,0% 48 giờ	Te483	64
BNV lên men chủng <i>L. reuteri</i> 3,0% 72 giờ	Te723	64
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 0,1% 24 giờ	Lp2401	512
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 0,1% 48 giờ	Lp4801	256
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 0,1% 72 giờ	Lp7201	256
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 0,5% 24 giờ	Lp2405	512
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 0,5% 48 giờ	Lp4805	256
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 0,5% 72 giờ	Lp7205	128
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 1,0% 24 giờ	Lp241	256
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 1,0% 48 giờ	Lp481	128
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 1,0% 72 giờ	Lp721	128
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 2,0% 24 giờ	Lp242	128
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 2,0% 48 giờ	Lp482	64
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 2,0% 72 giờ	Lp722	64
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 3,0% 24 giờ	Lp243	64
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 3,0% 48 giờ	Lp483	32
BNV lên men chủng <i>L. plantarum</i> 3,0% 72 giờ	Lp723	64
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 0,1% 24 giờ	Cs2401	512
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 0,1% 48 giờ	Cs4801	512
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 0,1% 72 giờ	Cs7201	256

BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 0,5% 24 giờ	Cs2405	512
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 0,5% 48 giờ	Cs4805	256
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 0,5% 72 giờ	Cs7205	256
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 1,0% 24 giờ	Cs241	256
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 1,0% 48 giờ	Cs481	128
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 1,0% 72 giờ	Cs721	64
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 2,0% 24 giờ	Cs242	256
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 2,0% 48 giờ	Cs482	64
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 2,0% 72 giờ	Cs722	32
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 3,0% 24 giờ	Cs243	64
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 3,0% 48 giờ	Cs483	32
BNV lên men chủng <i>L. casei</i> 3,0% 72 giờ	Cs723	32

Dựa vào kết quả Bảng 2 cho thấy, cao chiết BNV sau khi lên men với 2,0% *L. casei*, 3,0% *L. casei* sau 72 giờ và 3,0% *L. plantarum*, 3,0% *L. casei* sau 48 giờ cho giá trị MIC thấp nhất là 32 µg/mL so với cao chiết BNV sau khi xử lý enzyme pectinase 1 giờ, không lên men. Như vậy giá trị MIC càng thấp khi tăng tỷ lệ cấy vi khuẩn ban đầu, và có thể rút ngắn được thời gian lên men. Do đó, thông qua thử nghiệm vi pha loãng trong môi trường lỏng, BNV lên men với 3,0% *Lactobacillus spp.*, sau 48 giờ đều cải thiện hoạt tính kháng khuẩn (MIC = 32 µg/mL đối với *L. plantarum* và *L. casei*, MIC = 64 µg/mL đối với *L. reuteri*). Tóm lại, thông qua hoạt tính kháng khuẩn, BNV lên men với 3,0% *Lactobacillus spp.* sau 48 giờ cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn cao nhất, thể hiện rõ nhất khi lên men bằng *L. casei*, tăng khoảng 1,6 lần so với BNV có xử lý pectinase 1 giờ, không lên men và giá trị MIC thấp nhất, thể hiện ở cả 3 loài *Lactobacillus spp.* khảo sát, giảm 16 lần so với BNV có xử lý pectinase 1 giờ, không lên men. Kết quả tương đồng với nghiên cứu của (Salve và cộng sự, 2023) cũng khẳng định việc lên

men Nghệ vàng trong 48 giờ ở 37 °C làm tăng đáng kể hàm lượng curcuminoid, bao gồm curcumin, demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin, các hoạt tính kháng viêm và hoạt tính chống oxy hóa cũng được nâng cao. Trong nghiên cứu của Lin và cộng sự (2024), *L. paracasei* 2,0% được bổ sung vào môi trường lên men bột thân rễ Nghệ vàng cho kết quả tăng sinh khả dụng của curcuminoid do quá trình glycosyl hoặc methyl hóa, mặc dù hàm lượng curcuminoid giảm. Ngoài ra, cao BNV lên men bởi *L. casei* 3,0%, *L. plantarum* 3,0%, sau 48 giờ đều cho kết quả MIC = 32 µg/mL, tuy nhiên cao BNV lên men bởi *L. casei* 3,0%, 48 giờ cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn cao hơn BNV trước lên men và lên men bởi *L. reuteri* (p<0,05), trong khi cao BNV lên men bởi *L. plantarum* 3,0%, 48 giờ cho kết quả đường kính vòng kháng khuẩn cao hơn BNV trước lên men (p<0,05) và cao hơn BNV lên men bởi *L. reuteri* không có ý nghĩa thống kê. Do đó, BNV có xử lý pectinase 1 giờ và được lên men bởi *L. casei* đã cải thiện hoạt tính kháng *C. acnes* rõ rệt hơn khi được lên men bởi *L. reuteri* và *L. plantarum*.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỊNH HƯỚNG NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu đã thiết lập được quy trình xử lý BNV ban đầu: BNV được ủ với enzyme pectinase 30.000 U/g trong hệ đệm acetate pH 5,0, nhiệt độ 50 °C trong 1 giờ. Kết quả cho thấy hoạt tính kháng khuẩn *C. acnes* ở điều kiện trên là tốt nhất, đường kính vòng kháng khuẩn là $15,67 \pm 0,58$ mm, nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu là 512 µg/mL. Đồng thời thiết lập được điều kiện lên men BNV bởi *L. casei* với các thông số như: BNV được làm ấm bằng MRS (MRS : BNV = 0,5 : 1), mật độ vi khuẩn đầu vào 10^6

CFU/mL, tỷ lệ cấy chủng là 3,0% và thời gian lên men là 48 giờ. Kết quả cho thấy cao chiết BNV sau lên men với *L. casei* ở điều kiện trên có hoạt tính kháng vi khuẩn *C. acnes* tốt hơn cao chiết BNV ban đầu, đường kính vòng kháng khuẩn *C. acnes* là $25,67 \pm 0,58$ mm (tăng 1,8 lần), nồng độ ức chế vi khuẩn tối thiểu là 32 µg/mL (giảm 32 lần). Bên cạnh đó, nhóm nghiên cứu đề xuất khảo sát hoạt tính kháng viêm, chống oxy hóa, phân tích thành phần hóa học của BNV sau lên men nhằm hỗ trợ định hướng ứng dụng trong mỹ phẩm tốt hơn

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin cảm ơn Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

Thông tin tác giả:

Nguyễn Thanh Tổ Nhi (*Tác giả liên hệ), Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: nttntnhi@ntt.edu.vn

Phạm Song Phi Thuý, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: phithuyen832017@gmail.com

Phạm Đa Nguyên, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: johnathanphamnguyen@gmail.com

Đinh Thị Hoàng Nhi, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: dinhthihoangnhi69@gmail.com

Lâm Bội Oanh, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: lamoanh181003@gmail.com

Nguyễn Thanh Ngân, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: thanhngan2003.beatrix@gmail.com

Nguyễn Hoàng Thiên Kim, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: kimnguyenn2211@gmail.com

Nguyễn Thanh Long, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: nguyenlong290700@gmail.com

Phạm Thị Tuyết Nhung, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: nhg13480@gmail.com

Lâm Minh Ý, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: Lamminh02678@gmail.com

Thông tin bài báo:

Ngày nhận bài: 08/08/2025

Ngày hoàn thiện biên tập: 30/08/2025

Ngày duyệt đăng: 08/09/2025

Ghi chú

Các tác giả xác nhận không có tranh chấp về lợi ích đối với bài báo này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Y Tế. (2018). Dược điển Việt Nam 5. *Nhà xuất bản Y học*, 1264, PL1261.1261.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2015a). Methods for Dilution of Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—10th Edition, CLSI Document M07-A10, Wayne, PA. *Clinical and Laboratory Standards Institute, USA*.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2015b). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard—12th ed CLSI document M02-A12, Wayne, PA.

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, & Nguyễn Thượng Dong. (2006). *Sách Cây thuốc và động vật làm thuốc Tập 2*. HÀ NỘI: NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT.

Elshikh, M., Ahmed, S., Funston, S., Dunlop, P., McGaw, M., Marchant, R., & Banat, I. M. (2016). Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnology letters*, 38(6), 1015-1019.

Filannino, P., Bai, Y., Di Cagno, R., Gobbetti, M., & Gänzle, M. G. (2015). Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus* spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree. *Food microbiology*, 46, 272-279.

Gonzalez, R., Welsh, O., Ocampo, J., Hinojosa-Robles, R. M., Vera-Cabrera, L., Delaney, M. L., & Gomez, M. (2010). Report: In vitro antimicrobial susceptibility of *Propionibacterium acnes* isolated from acne patients in northern Mexico. In. *International Journal of Dermatology: Wiley Online Library*.

Kumar, A., & Kumar, D. (2014). Isolation and characterization of bacteria from dairy samples of Solan in Himachal Pradesh for identification of *Lactobacillus* spp. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 25(110), e114.

Le-Tan, H., Fauster, T., Vladic, J., Gerhardt, T., Haas, K., & Jaeger, H. (2021). Application of emerging cell disintegration techniques for the accelerated recovery of curcuminoids from *curcuma longa*. *Applied Sciences*, 11(17), 8238.

Lin, W.-S., Hwang, S.-E., Koh, Y.-C., Ho, P.-Y., & Pan, M.-H. (2024). Modulatory Effects of *Lactobacillus paracasei*-Fermented Turmeric on Metabolic Dysregulation and Gut Microbiota in High-Fat Diet-Induced Obesity in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(32), 17924-17937.

Liu, Q., Zhong, W., Yang, X., Li, X., Song, Z., Meng, Y., & Zhang, T. (2022). Study on screening of fermentation agents and optimization of the fermentation process for pharyngitis tablet residue. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 981388.

Lv, W., Ma, Y., Zhang, Y., Wang, T., Huang, J., He, S., & Guo, S. (2023). Effects of *Lactobacillus plantarum* fermented Shenling Baizhu San on gut microbiota, antioxidant capacity, and intestinal barrier function of yellow-plumed broilers. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1103023.

Meng, F.-C., Zhou, Y.-Q., Ren, D., Wang, R., Wang, C., Lin, L.-G., & Zhang, Q.-W. (2018). Turmeric: A review of its chemical composition, quality control, bioactivity, and pharmaceutical application. *Natural and artificial flavoring agents and food dyes*, 299-350.

Muniglia, L., Claisse, N., Baudalet, P.-H., & Ricochon, G. (2014). Enzymatic aqueous extraction (EAE). *Alternative solvents for natural products extraction* 167-204.

Nguyễn Thanh Tô Nhi, Phạm Song Phi Thuyền, Đinh Thị Hoàng Nhi, Quang Trọng Minh, & Nguyễn Minh Thái. (2024). Khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật của cao chiết bột củ Nghệ (*Curcuma longa* L.) lên men bằng *Lactobacillus casei*.

Nguyen Thi Thu Ha, Le Thi Tu Anh, & Nguyen Thanh Tra. (2022). Curcuminoids from the Vietnamese *Curcuma longa*: Phytochemical analysis and biological activities. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 64(3), 19-23.

Nguyễn Văn Hân. (2022). Kỹ thuật chiết xuất dược liệu. *NXB Y học*.

Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., & Gírbés, T. (2014). Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food Nutrition Sciences*, 5(18), 1765-1775.

Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., De Las Rivas, B., de Felipe, F. L., Gómez-Cordovés, C., & Muñoz, R. (2009). Food phenolics and lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 132(2-3), 79-90.

Salve, R., Chavan, R., Pawase, P., Kelapure, N., & Jaju, R. (2023). The impact of the fermentation process on bioactive compounds in turmeric: a review. *J Food Chem Nanotechnol*, 9(S1), S367-S374.

Septembre-Malaterre, A., Remize, F., & Pouchet, P. (2018). Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food research international*, 104, 86-99.

Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S. (2010). Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food technology biotechnology*, 48(3), 296-307.

Swain, M. R., Anandharaj, M., Ray, R. C., & Parveen Rani, R. (2014). Fermented fruits and vegetables of Asia: a potential source of probiotics. *Biotechnology research international*, 2014(1), 250424.

Szutowska, J. (2020). Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: A systematic literature review. *European Food Research and Technology*, 246(3), 357-372.

Wu, H., Rui, X., Li, W., Xiao, Y., Zhou, J., & Dong, M. (2018). Whole-grain oats (*Avena sativa* L.) as a carrier of lactic acid bacteria and a supplement rich in angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides through solid-state fermentation. *Food & function*, 9(4), 2270-2281.

Yong, C., Yoon, Y., Yoo, H., & Oh, S. (2019). Effect of *Lactobacillus* fermentation on the anti-inflammatory potential of turmeric. *J. Microbiol. Biotechnol.*

INVESTIGATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF TUMERIC POWDER FERMENTED BY *LACTOBACILLUS SPP.* AGAINST *CUTIBACTERIUM ACNES*

Nguyen Thanh To Nhi^{1,*}, Pham Song Phi Thuyen¹, Pham Da Nguyen¹, Dinh Thi Hoang Nhi¹, Lam Boi Oanh¹, Nguyen Thanh Ngan¹, Nguyen Hoang Thien Kim¹, Nguyen Thanh Long¹, Pham Thi Tuyet Nhung¹, Lam Minh Y¹

¹Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Abstract: Fermentation technology of turmeric powder (TP) with microorganisms, such as *Lactobacillus spp.*, that treat dermatological conditions, particularly those related to *Cutibacterium acnes*, presents a promising research direction. This study aimed to screen the anti-*C. acnes* activity of TP in both non-fermented and fermented turmeric powder with individual *Lactobacillus spp.*. TP was incubated with pectinase enzyme for 1 hour, 3 hours, and 5 hours, and subsequently fermented with *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus plantarum*, and *Lactobacillus casei* at concentrations of 0.1%, 0.5%, 1.0%, 2.0%, and 3.0% for 24, 48, and 72 hours. The TP samples were extracted with 96.0% ethanol using cold soaking combined with ultrasound, and their antibacterial activity against *C. acnes* was evaluated. The results demonstrated that, compared to original TP, TP incubated with 30.000 U/g pectinase enzyme in acetate buffer (pH 5.0, 50°C) for 1 hour and then fermented with 3.0% *L. casei* for 48 hours, exhibits a better anti-*C. acnes* activity, with a 32 times reduction in the minimum inhibitory concentration (MIC = 32 µg/mL). Thus, the anti-*C. acnes* activity was significantly improved after fermentation by *L. spp.*, especially 3.0% *L. casei* for 48h.

Keywords: antibacterial activity, *Curcuma longa*, *Cutibacterium acnes*, *Lactobacillus*, semi-solid fermentation, tumeric powder

Author Information:

Nguyen Thanh To Nhi (*Corresponding author), Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: ntt nhi@ntt.edu.vn

Pham Song Phi Thuyen, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: phithuyen832017@gmail.com

Pham Da Nguyen, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: johnathanphamnguyen@gmail.com

Dinh Thi Hoang Nhi, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: dinhthihoangnhi69@gmail.com

Lam Boi Oanh, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: lamoanh181003@gmail.com

Nguyen Thanh Ngan, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: thanhngan2003.beatrix@gmail.com

Nguyen Hoang Thien Kim, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: kimnguyenn2211@gmail.com

Nguyen Thanh Long, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: nguyenslong290700@gmail.com

Pham Thi Tuyet Nhung, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: nhg13480@gmail.com

Lam Minh Y, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: Lamminh02678@gmail.com

Note

The authors declare no competing interests.