

ĐÁNH GIÁ TIỀM NĂNG PROBIOTIC CỦA *Lactobacillus plantarum* VÀ THỬ NGHIỆM BỔ SUNG TRONG ĐỒ UỐNG NƯỚC ỔI

Nguyễn Thị Lâm Đoàn*, Nguyễn Thị Thanh Thủy

Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: nlldoan@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 27.03.2021

Ngày chấp nhận đăng: 04.05.2021

TÓM TẮT

Sản phẩm probiotic có nguồn gốc thực vật ngày càng được quan tâm nghiên cứu. Ổi là loại quả có hàm lượng xơ, vitamin C cao, chứa nhiều hoạt chất kháng oxy hóa tốt cho sức khỏe. *Lactobacillus plantarum* là loài vi khuẩn lactic an toàn, được ứng dụng nhiều trong lên men thực phẩm. Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá tiềm năng probiotic từ các chủng thuộc loài *Lactobacillus plantarum*. Bằng phương pháp xác định mật độ quang ở bước sóng 620nm; phương pháp đục lỗ thạch trên môi trường có bổ sung cơ chất tương ứng; phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch đã xác định *L. plantarum* DH 7.12 có đặc tính probiotic tốt như chịu được pH của dạ dày; muối mật; sinh cả 3 enzyme ngoại bào (amylase, protease, cellulase); kháng vi khuẩn gây bệnh *E. coli* và *Salmonella typhimurium*. Khi bổ sung *L. plantarum* DH 7.12 với nồng độ tế bào 10^8 CFU/ml vào trong nước ổi, sau 28 ngày bảo quản ở nhiệt độ $5 \pm 1^\circ\text{C}$, sản phẩm đảm bảo về chất lượng cảm quan và lượng vi khuẩn probiotic còn lại đạt 10^7 CFU/ml.

Từ khóa: *Lactobacillus plantarum*, nước ổi, probiotic.

Assessment of Probiotic Potential Characteristics *Lactobacillus plantarum* and Preliminary Application in the Production of Guava Juice

ABSTRACT

Probiotic beverage products derived from plants are increasingly interested in research. Guava is a fruit with high fiber, vitamin C content and contains many active antioxidants that are good for health. *Lactobacillus plantarum* is a safe lactic acid bacterium, widely used in food fermentation. This study aimed to evaluate probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains. By measuring $OD_{620\text{nm}}$, applying the agar punching method on the medium with the corresponding substrate supplementation, the diffusion on agar plates method. *L. plantarum* DH 7.12 was determined with good probiotic properties such as low stomach pH tolerance, bile salt tolerance, generate all 3 extracellular enzymes (amylase, protease, cellulase), antagonist to pathogens *E. coli* and *Salmonella*. When *L. plantarum* DH 7.12 was added into guava juice with cell concentration 10^8 CFU/ml. The product was assured of organoleptic quality and the remaining amount of probiotic bacteria reached 10^7 CFU/ml after 28 days of storage at a temperature $5 \pm 1^\circ\text{C}$

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, guava juice, probiotic.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồ uống probiotic là sản phẩm bổ sung vi sinh vật sống, có ảnh hưởng tích cực đến sức khỏe con người như giúp tiêu hóa thức ăn, ngăn chặn tác hại của các vi khuẩn khác xâm nhập vào đường ruột, cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột... (Huỳnh Xuân Phong & cs., 2017; Saba & cs., 2018). Vi khuẩn đóng vai trò probiotic thường là vi khuẩn lactic như *Lactobacillus*,

Lactococcus, *Enterococcus*..., nhóm *Bifidobacterium*, nấm men *Saccharomyces cerevisiae* và một số loài thuộc nhóm vi khuẩn *Bacillus* (European Food Safety Authority, 2013). Đa số các vi khuẩn probiotic bổ sung vào đồ uống đều thuộc dòng vi khuẩn *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* (Lourens & Viljoen, 2001). Đã có nghiên cứu chứng minh mức độ an toàn và khả năng hỗ trợ sức khỏe của hai dòng vi khuẩn này, đây cũng là vi khuẩn thông dụng

trong hệ thống tiêu hóa của con người (Shah, 2000). *Lactobacillus plantarum* là một trong những loài thuộc nhóm *Lactobacillus* đã được một số nghiên cứu cho thấy có hoạt tính probiotic và ứng dụng chúng trong tạo ra sản phẩm thực phẩm probiotic (Cebeci & Gurakan, 2003). Đoàn Anh Dũng & cs. (2015) đã nghiên cứu sử dụng vi khuẩn probiotic *L. plantarum* trong chế biến sữa chua; Trương Thị Thúy Nguyên & cs. (2020) ứng dụng *L. plantarum* HCM2 trong lên men nem chua nấm rơm.

Hiện nay, ngoài sản phẩm probiotic phổ biến từ sữa thì sản phẩm đồ uống probiotic có nguồn gốc từ thực vật ngày càng được quan tâm do chúng chứa nhiều khoáng chất, vitamin, chất xơ và chất chống oxy hóa (Lu & cs., 2008). Sản phẩm nước uống probiotic từ cà chua, chuối, xoài đã được nghiên cứu, sản xuất, góp phần đa dạng hóa sản phẩm (Luckow & Delahunty, 2004; Tsen & cs., 2004; Reddy & cs., 2015). Ổi là loại cây ăn quả, thích nghi với điều kiện sinh thái đa dạng, được trồng phổ biến ở nước ta, chứa nhiều chất dinh dưỡng, đặc biệt hàm lượng vitamin C cao (Saba & cs., 2018; Phạm Thị Vinh & cs., 2017). Nghiên cứu ứng dụng probiotic trong sản xuất đồ uống từ quả ở Việt Nam vẫn còn hạn chế, đặc biệt đồ uống nước ổi. Mục đích của nghiên cứu là khảo sát đặc tính probiotic của chủng vi khuẩn *L. plantarum* trong bộ sưu tập chủng của Nguyen & cs. (2013) và bước đầu thử nghiệm bổ sung vào đồ uống nước ổi. Sản phẩm cuối cùng phải đảm bảo chất lượng cảm quan và mật độ vi khuẩn đạt được từ 10^6 - 10^7 CFU/ml, ở ngưỡng này vi khuẩn probiotic có khả năng mang lại lợi ích cho sức khỏe con người (Shah, 2000; Dinh & Shah, 2008; Robinson, 1987).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Tổng số 19 chủng *L. plantarum* (DH5.1, DH5.2, DH5.6, DH5.7, DH5.9, DH5.10, DH5.18, DH5.19, DH5.22, DH6.3, DH6.9, DH6.12, DH6.20, DH6.22, DH7.3, DH7.11, DH7.12, DH7.19, DH7.21) phân lập từ nem chua (Nguyen & cs., 2013), lưu giữ tại Bộ sưu tập giống BCCM/LMG Bacteria Collection Ghent

University (<http://bccm.belspo.be>) và Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam được sử dụng trong nghiên cứu này.

Vi khuẩn kiểm định gồm *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 và *E. coli* ATCC 25922 được cung cấp từ Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Ổi găng được thu mua tại Đông Du, Gia Lâm, Hà Nội. Ổi sau khi thu hoạch được làm sạch, nghiền, chà lấy dịch quả và phối chế với tỉ lệ dịch quả 25%, bổ sung đường sucrose để làm tăng hàm lượng chất khô đạt 11°Bx (Nguyễn Đức Hạnh & Hoàng Thị Lệ Hằng, 2014).

2.2. Môi trường nuôi cấy

Môi trường Man Rogosa Sharpe (MRS) được sử dụng để nuôi cấy và hoạt hóa chủng *L. plantarum*. Môi trường Luria-Bertani (LB) được sử dụng để nuôi cấy vi khuẩn kiểm định. Môi trường chứa tinh bột, casein và CMC (CarboxyMethyl Cellulose) để xác định khả năng sinh amylase, protease và cellulase (Nguyễn Thị Lâm Đoàn & Nguyễn Thị Thanh Thủy, 2018).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp công nghệ

Quy trình sản xuất nước ổi bổ sung *L. plantarum* có hoạt tính probiotic được thể hiện trong hình 1.

2.3.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm khảo sát đặc tính probiotic của vi khuẩn *L. plantarum*

Sự thích ứng môi trường axit dạ dày của các vi khuẩn *L. plantarum* được xác định sử dụng phương pháp của Ramos & cs., 2013, kết hợp với phương pháp của Hoàng Quốc Khánh & Phạm Thị Lan Thanh (2011) có điều chỉnh đo ở bước sóng OD_{620nm} để đánh giá sự thích ứng môi trường axit dạ dày của các chủng *L. plantarum* qua lượng tế bào sống sót ở môi trường có độ pH khác nhau. Chủng *Lactobacillus* sau 24h nuôi cấy ở 37°C, ly tâm dịch nuôi cấy 5.000 vòng/phút trong 5 phút, loại bỏ dịch, thu cặn tế bào, rửa cặn tế bào bằng nước cất và đưa vào trong dung dịch PBS (Phosphate Buffer Saline)

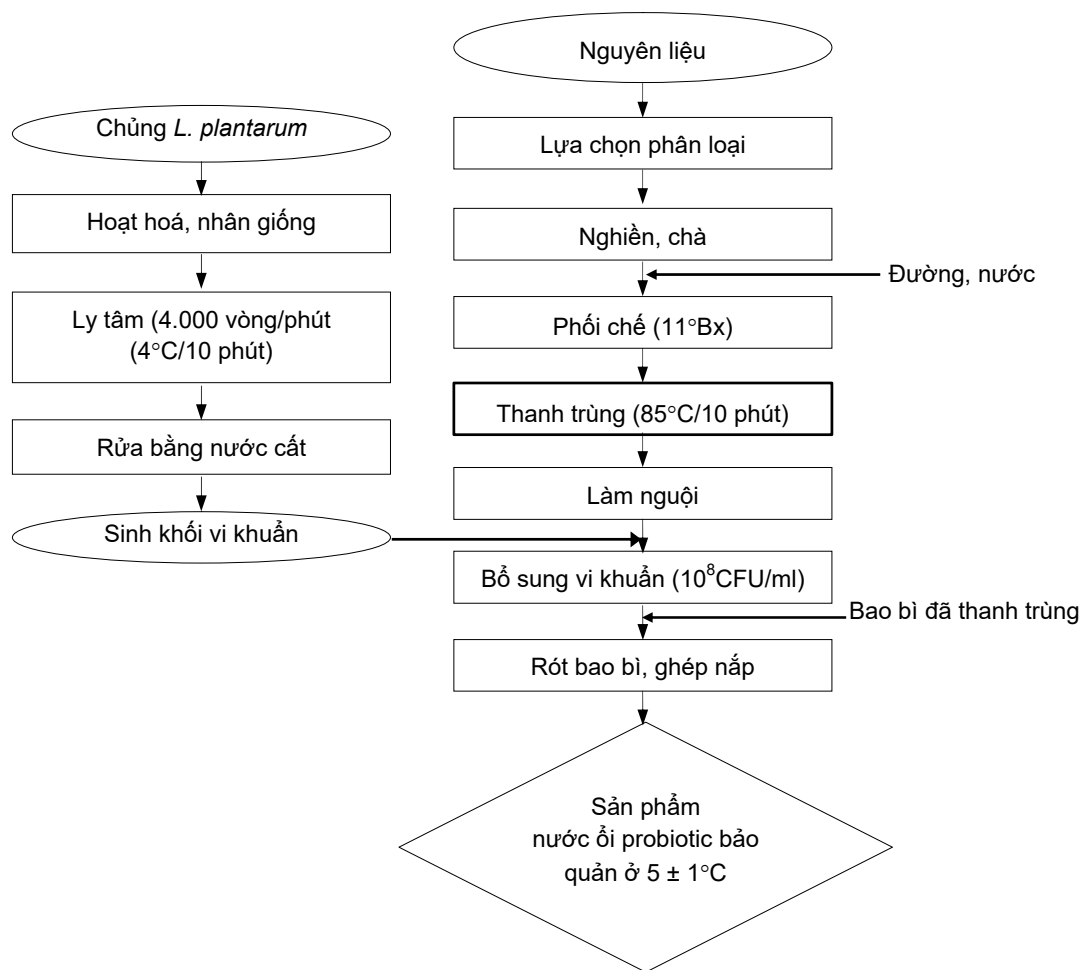
pH = 2, pH = 3 (môi trường tương tự như pH trong dạ dày). Sau thời điểm 0h, 3h, chuyển tế bào vi khuẩn trong dung dịch PBS vào môi trường MRS, nuôi cấy ở 37°C trong 24h. Đo độ đục của môi trường sau thời gian nuôi cấy, so sánh giá trị OD của chủng. Khả năng chịu axit được xác định dựa vào giá trị $\Delta OD > 0$ (hiệu số của giá trị OD đo tại thời điểm 3h và giá trị OD đo tại thời điểm 0h) ở mỗi nồng độ pH.

Khả năng chịu muối mật: Mức độ chịu muối mật được xác định dựa trên phương pháp của Gilliland & Walker (1990). Vi khuẩn được nuôi trong môi trường MRS lỏng có bổ sung 0,3% muối mật ở 37°C trong 4h. Dựa vào giá trị OD_{620nm} sau khi nuôi 4h so với ban đầu nếu tăng lên 0,3 đơn vị thì chủng đó có khả năng chịu muối mật.

Khả năng sinh enzyme ngoại bào: Chủng

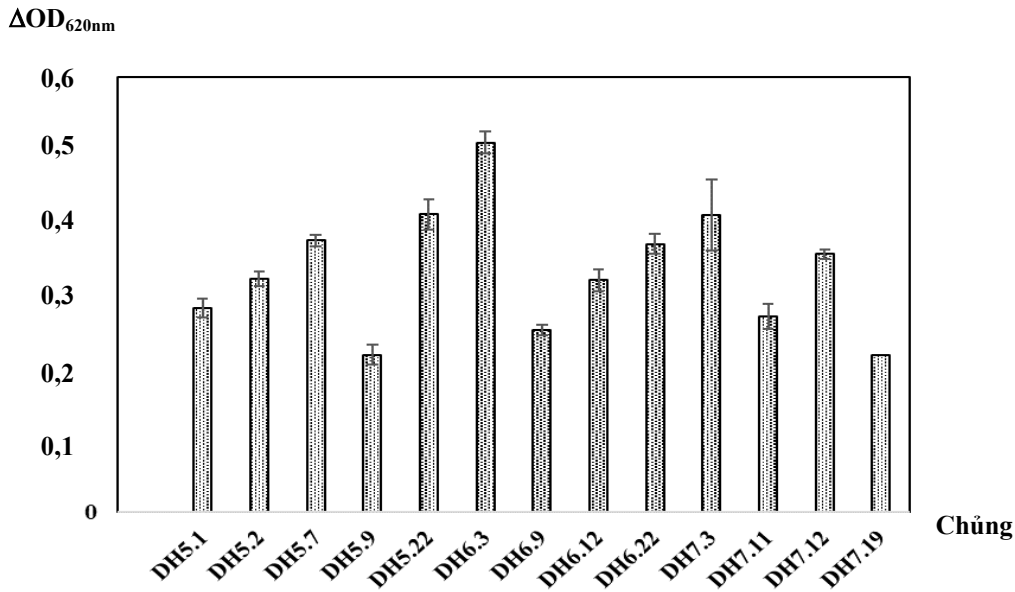
được kiểm tra khả năng sinh amylase, protease và cellulase thông qua phương pháp đục lỗ thạch của Nguyễn Lâm Dũng & cs. (1976) trên môi trường có bổ sung cơ chất tương ứng tinh bột, casein, CMC 1%. Hoạt tính của enzyme được đo bằng đường kính vòng phân giải cơ chất xung quanh lỗ thạch, tức D - d. Trong đó: D là đường kính vòng phân giải (mm), d là đường kính lỗ thạch (5mm).

Khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh: Vi khuẩn kiểm định sử dụng là *S. typhimurium* ATCC 13311 và *E. coli* ATCC 25922. Sử dụng phương pháp khuếch tán thạch của Nguyễn Lâm Dũng & cs. (1976) với hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá bằng hiệu số D - d (mm), D là đường kính vòng kháng khuẩn (mm), d là đường kính lỗ thạch (5mm).



Nguồn: Hoàng Lệ Hằng & cs. (2010); Nguyễn Đức Hạnh & Hoàng Thị Lệ Hằng (2014).

Hình 1. Quy trình thí nghiệm sản xuất nước ổi có bổ sung probiotic



Hình 2. Khả năng chịu axit của 13 chủng *L. plantarum* tại pH2

Mật độ tế bào *L. plantarum* có hoạt tính probiotic trong nước ôi: Quy trình hình thành đồ uống nước ôi probiotic được mô tả trong hình 1. Mật độ vi khuẩn probiotic được bổ sung vào thời điểm ban đầu là 10^8 CFU/ml, điều kiện bảo quản $5 \pm 1^\circ\text{C}$ (Nguyễn Đức Hạnh & Hoàng Thị Lệ Hằng, 2014). Mật độ *L. plantarum* trong môi trường nước ôi được đánh giá dựa trên số lượng vi khuẩn probiotic sống và đánh giá cảm quan của sản phẩm ở các thời gian 0, 7, 14, 21, 28, 30 ngày trong điều kiện bảo quản $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.3.3. Phương pháp phân tích

Phân tích chỉ tiêu vi sinh: Xác định khả năng sống sót của chủng vi khuẩn probiotic bằng phương pháp đếm khuẩn lạc theo TCVN 7906:2008 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2008).

2.3.4. Phương pháp đánh giá cảm quan

Đánh giá cảm quan bằng phương pháp cho điểm theo TCVN 3215-79. Sử dụng hệ điểm 20 xây dựng trên thang thống nhất 6 bậc 5 điểm. Chỉ tiêu được đánh giá gồm màu, mùi - vị và trạng thái của sản phẩm. Các chỉ tiêu này có hệ số quan trọng lần lượt là 1,2; 2,0; 0,8. Theo mức điểm, chất lượng cảm quan nước ôi probiotic sẽ được xếp thành 5 hạng tốt, khá, loại trung bình (đạt), kém và rất kém. Sản phẩm đạt khi điểm

tổng hợp có mức điểm thấp nhất là 11,2 điểm và mỗi chỉ tiêu lớn hơn hoặc bằng 2,8.

2.3.5. Xử lý số liệu

Phần mềm Excel được sử dụng để tính các giá trị trung bình. Dùng ANOVA trong Excel để xử lý số liệu thống kê mô tả.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc tính probiotic của các chủng *L. plantarum*

3.1.1. Đánh giá sự thích ứng môi trường axit thấp của các chủng

19 chủng *L. plantarum* trong bộ sưu tập trước tiên được đánh giá khả năng chịu axit.

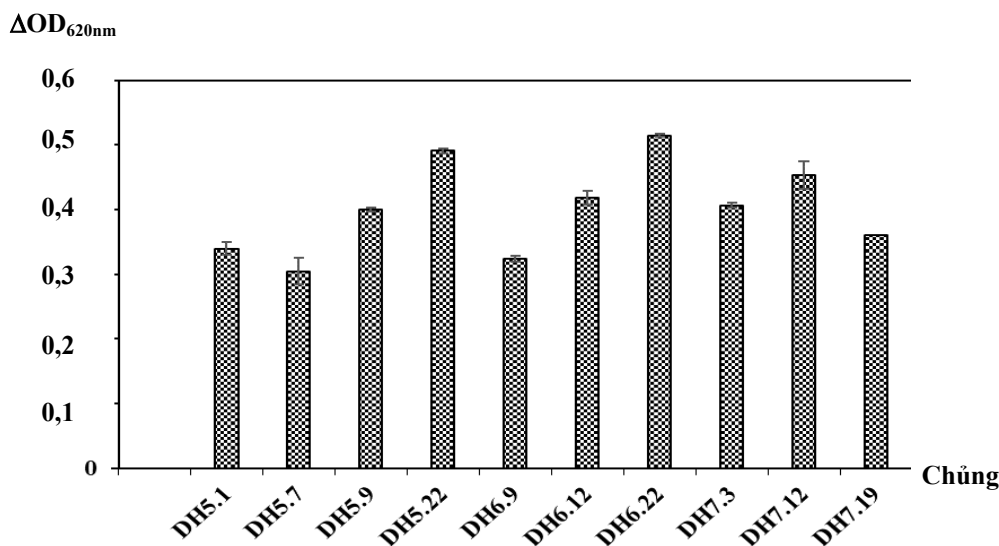
Kết quả khả năng chịu axit của các chủng thuộc loài *L. plantarum* cho thấy, có 17/19 chủng có khả năng chịu được pH = 3 sau 3h, còn tại pH = 2 có 13 chủng có thể chống chịu trong 3h. Một số nghiên cứu đã chỉ ra pH = 2 và pH = 3 trong thời gian 3h là giới hạn quyết định sàng lọc của các chủng (Ramos & cs., 2013; Mishra & Prasad, 2005). Có 13 chủng có khả năng chịu được pH = 2 (Hình 2) được sử dụng cho nghiên cứu khả năng chịu muối mật. Tỷ lệ các chủng thử nghiệm chịu pH2 cao hơn so với nghiên cứu khác. Theo Ramos

& cs. (2013), từ 234 LAB được phân lập từ một số thực phẩm lên men truyền thống có 51 chủng có khả năng sinh trưởng ở pH = 2 sau 3h. Kết quả này gần tương tự với kết quả đạt được bởi Mishra và Prasad, 2005, tất cả 7 chủng *L. casei* được nghiên cứu đều có khả năng chịu được pH = 3 sau 3h, trong đó 3 chủng chịu được pH = 2. *L. plantarum* LY-78 có hoạt tính probiotic phân lập từ nem chua cũng có khả năng chịu được pH = 2 (Huỳnh Phan Phương Trang, 2018).

3.1.2. Đánh giá khả năng chịu muối mật

Trong 13 chủng được khảo sát khả năng chịu muối mật có 10 chủng có khả năng chịu

muối mật, sau 4h $\Delta OD_{620nm} > 0,3$ (Hình 3). Theo một số nghiên cứu đã chỉ ra nồng độ muối 0,3% thường được dùng để sàng lọc những chủng probiotic và là nồng độ muối mật trung bình trong ruột người, thời gian lưu trữ thức ăn trong ruột khoảng 4h (Gillilan & Walker, 1990). Muối mật tham gia vào quá trình tiêu hóa để phân cắt và hấp thụ chất béo, ngoài ra chúng cũng ngăn cản sự tồn tại của các vi sinh vật trong ruột. Muối mật được gan sản xuất từ quá trình chuyển hóa cholesterol (Baron & Hylemon, 1997). Đối với cơ thể người, nồng độ muối mật 0,3% được xem là nồng độ trung bình hiện diện ở ruột non (Gilliland & cs., 1985).

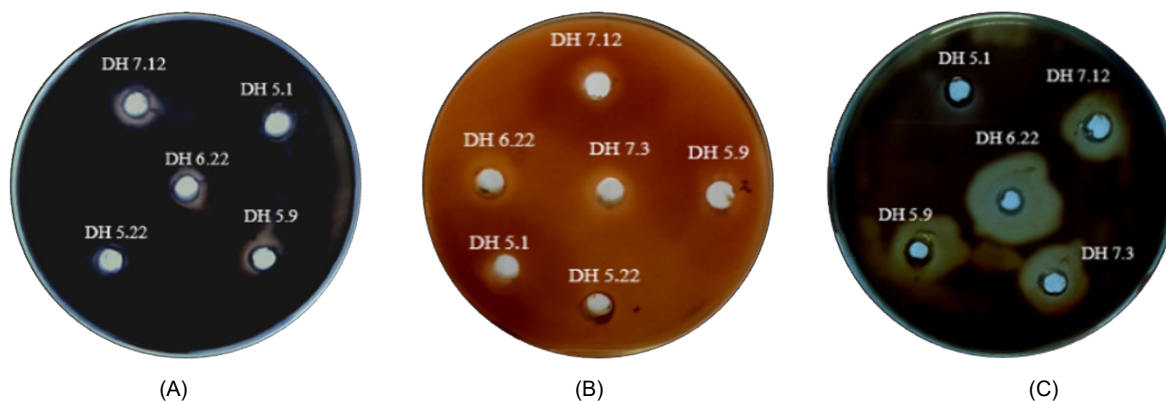


Hình 3. Khả năng chịu muối mật của 10 chủng *L. plantarum* chịu muối mật

Bảng 1. Khả năng sinh một số enzyme ngoại bào của các chủng tuyển chọn

Ký hiệu chủng	Đường kính vòng phân giải cơ chất D-d (mm)		
	Amylase	Protease	Cellulase
DH5.1	2,0 ± 0,23	2,0 ± 0,04	2,0 ± 0,17
DH5.7	4,0 ± 0,29	ND	3,5 ± 0,29
DH5.9	4,0 ± 0,32	4,5 ± 0,05	10,0 ± 0,29
DH5.22	2,0 ± 0,1	ND	ND
DH6.9	ND	ND	3,5 ± 0,29
DH6.12	3,0 ± 0,31	3,5 ± 0,5	ND
DH6.22	4,0 ± 0,19	11,0 ± 0,29	16,0 ± 0,04
DH7.3	2,5 ± 0,48	8,0 ± 0,35	11,0 ± 0,05
DH7.12	6,0 ± 0,29	9,0 ± 0,3	9,0 ± 0,29
DH7.19	3,0 ± 0,25	ND	ND

Ghi chú: ND (not determine): không xác định.



Ghi chú: (A): Amylase; (B): Protease; (C): Cellulase.

Hình 4. Khả năng sinh một số enzyme ngoại bào của chủng *L. plantarum*

Tỷ lệ số chủng tuyển chọn chịu muối mật trong nghiên cứu này cũng cao hơn một số nghiên cứu khác. Ramos & cs. (2013) đã xác định được 51 chủng có khả năng kháng muối mật 0,3% từ 234 chủng vi khuẩn lactic phân lập từ một số thực phẩm lên men truyền thống. Liang & Shah (2005) đã tiến hành khảo sát khả năng tăng trưởng của vi khuẩn lactic trong môi trường MRS có 0,3% muối mật, kết quả cho thấy *L. casei* ASCC 290 và *L. casei* ASCC1520 cho $\Delta OD > 0,3$ sau 4h.

Có 10 chủng chịu pH = 2, chịu muối mật tốt ở trên sẽ được lựa chọn cho nghiên cứu tiếp theo.

3.1.3. Đánh giá khả năng sinh enzyme ngoại bào

Khả năng sinh enzyme của 10 chủng được thể hiện trong bảng 1, hình 4.

Với 10 chủng đã tuyển chọn, sau khi đánh giá khả năng sinh enzyme đã thu được 05 chủng *L. plantarum* (DH5.1; DH5.9; DH6.22; DH7.3; DH7.12) có khả năng sinh cả 3 enzyme. Hiệu quả của chế phẩm probiotic phụ thuộc rất nhiều vào hoạt tính enzyme ngoại bào, các enzyme này có tác dụng hỗ trợ tiêu hóa thức ăn, tăng cường khả năng hấp thu. Khả năng sinh cellulase của chủng *L. plantarum* là cao hơn so với sinh protease và amylase với đường kính vòng phân giải cơ chất từ 2-16mm, tiếp theo là protease với đường kính vòng phân giải cơ chất từ 2-11mm và cuối cùng là amylase với đường kính vòng phân giải cơ chất chỉ đạt từ 2-6mm. Chủng DH6.22 có khả năng sinh cellulase và protease mạnh nhất với đường kính vòng phân

giải cơ chất tương ứng là 16mm, 11mm. Đối với khả năng sinh amylase chủng DH7.12 có khả năng phân giải cơ chất lớn nhất tạo đường kính vòng phân giải cơ chất là 6mm. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Nhung & cs. (2019) khi nghiên cứu trên chủng lactic phân lập từ các mẫu thực phẩm lên men cũng thu được kết quả đường kính vòng phân giải cơ chất của cellulase và protease cao hơn so với amylase.

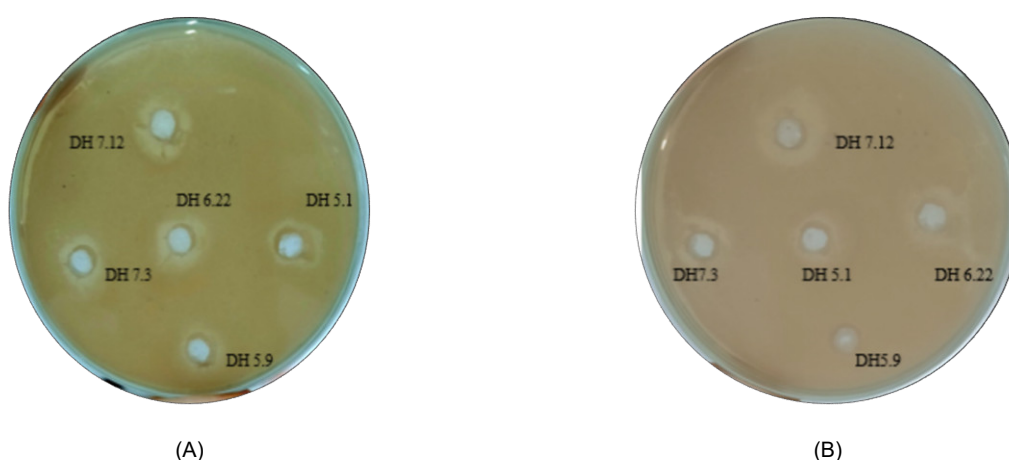
3.3.4. Đánh giá khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh

Có 5 chủng lactic được tuyển chọn tiếp tục kiểm tra khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* và *Salmonella*. Kết quả cho thấy, có 04 chủng có khả năng kháng cả 02 loại vi khuẩn gây bệnh (Bảng 2, Hình 5), trong đó đường kính vòng kháng khuẩn với *Salmonella* (3,5-13,5mm) lớn hơn đối với *E. coli* (2-10,8mm). Chủng DH7.12 có khả năng kháng khuẩn mạnh nhất với đường kính vòng kháng khuẩn *E. coli* là 10,8mm, *S. typhimurium* là 13,5mm tiếp đó đến chủng DH6.22 với đường kính vòng kháng khuẩn *E. coli* là 6,5 mm, *S. typhimurium* là 9,0mm. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Mishra & Prasad (2005) đạt được khi 07 chủng *L. brevis* sử dụng đều có khả năng kháng *E. coli*, *S. typhimurium*. Kết quả này tương đối phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Hằng & Nguyễn Minh Thư (2013) khi nghiên cứu các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ nước dưa muối, hành muối, cà muối với vòng kháng *E. coli* nhỏ hơn vòng kháng *Salmonella*.

Bảng 2. Khả năng kháng *E. coli* và *S. typhimurium* của chủng *L. plantarum*

Ký hiệu chủng	Đường kính vòng kháng khuẩn D-d (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
DH5.1	2,0 ± 0,12	3,5 ± 0,29
DH5.9	2,1 ± 0,10	ND
DH 6.22	6,5 ± 0,23	9,0 ± 0,23
DH 7.3	4,5 ± 0,22	5,0 ± 0,17
DH 7.12	10,8 ± 0,40	13,5 ± 0,29

Ghi chú: ND (not determine): không xác định.



Ghi chú: (A): *E. coli*; (B): *Salmonella typhimurium*.

Hình 5. Khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh của các chủng *L. plantarum*

Bảng 3. Mật độ *L. plantarum* DH6.22 và DH7.12 trong nước ổi ở thời gian bảo quản (CFU/ml)

Chủng <i>L. plantarum</i>	Thời gian bảo quản (ngày)					
	0	7	14	21	28	30
DH6.22	$8,3 \times 10^8$	$7,2 \times 10^7$	$6,4 \times 10^6$	$2,1 \times 10^5$	$1,3 \times 10^4$	$8,9 \times 10^2$
DH7.12	$8,1 \times 10^8$	$6,7 \times 10^8$	$3,9 \times 10^8$	$9,3 \times 10^7$	$4,3 \times 10^7$	$5,7 \times 10^6$

Bảng 4. Chất lượng cảm quan và số lượng *L. plantarum* DH7.12 trong thời gian bảo quản

Thời gian (ngày)	pH	Chất lượng cảm quan	Xếp loại mức chất lượng cảm quan
0	4,15	18,85	Tốt
7	4,14	18,63	Tốt
14	4,13	17,81	Khá
21	4,10	17,12	Khá
28	4,05	15,21	Khá
30	3,82	14,87	Trung bình

Như vậy, nghiên cứu này sau khi khảo sát hoạt tính probiotic của 19 chủng thuộc loài *L. plantarum*, thu được 02 chủng DH6.22 và DH7.12 có hoạt tính probiotic tốt nhất (chịu được axit, muối mật, sinh enzyme ngoài bào và kháng vi khuẩn gây bệnh). Các chủng này bước đầu được thử nghiệm ứng dụng để tạo đồ uống nước ổi.

3.2. Đánh giá mật độ probiotic *L. plantarum* trong nước ổi theo thời gian bảo quản

Kế thừa các kết quả nghiên cứu trước, chủng *L. plantarum* DH6.22 và DH7.12 cũng được đánh giá mật độ tế bào trong 30 ngày bảo quản. Nồng độ các chủng vi khuẩn được bổ sung vào thời điểm ban đầu là bằng nhau là 10^8 CFU/ml, sản phẩm được bảo quản ở $5 \pm 1^\circ\text{C}$ (Nguyễn Đức Hạnh & Hoàng Thị Lệ Hằng, 2014). Kết quả bảng 3 cho thấy, lượng vi khuẩn này giảm dần theo thời gian bảo quản. Chủng *L. plantarum* DH7.12 sinh trưởng, phát triển tốt hơn trong môi trường nước ổi so với chủng *L. plantarum* DH6.22 với lượng tế bào đều cao hơn ở các thời điểm phân tích. Cụ thể ở thời điểm 30 ngày số lượng chủng DH7.12 là $5,7 \times 10^6$ CFU/ml còn chủng DH6.22 là $8,9 \times 10^2$ CFU/ml). Các nghiên cứu trước đã chỉ ra để mang lại lợi ích cho sức khỏe, mật độ vi khuẩn probiotic trong sản phẩm tối thiểu là 10^6 - 10^7 CFU/ml (Shah, 2000; Dinh & Shah, 2008; Robinson, 1987). Tuy nhiên, khả năng tồn tại của các vi khuẩn probiotic trong sản phẩm trên thị trường thường thấp hơn nồng độ này (Anonymous 1992; Shah & cs., 1995). Vì vậy, việc khảo sát mật độ của các chủng probiotic *L. plantarum* DH6.22 và DH7.12 tồn tại trong môi trường nước ổi qua các mốc thời gian bảo quản là cần thiết. Sản phẩm nước quả probiotic thường được nghiên cứu trong khoảng 4 tuần kể từ thời gian tạo ra sản phẩm đến khi tiêu thụ (Dinh & Shah, 2008; Huỳnh Phan Phương Trang, 2018).

3.3. Đánh giá chất lượng cảm quan nước ổi khi bổ sung chủng *L. plantarum* DH7.12

Chất lượng sản phẩm cuối cùng không chỉ cần đạt về số lượng vi khuẩn probiotic mà phải đảm bảo cả về chất lượng cảm quan. Kết quả cho thấy nước ổi bổ sung *L. plantarum* DH 7.12 trong 07 ngày đầu ít thay đổi pH và chất lượng cảm quan. Sau 28 ngày bảo quản ở $5 \pm 1^\circ\text{C}$ chất

lượng cảm quan của sản phẩm đạt mức khá (15,21 điểm). Như vậy, thời gian bảo quản cho sản phẩm nước ổi bổ sung *L. plantarum* DH 7.12 là 28 ngày. Kết quả này cũng gần tương tự như kết quả nghiên cứu của Nguyễn Đức Hạnh & Hoàng Thị Lệ Hằng (2014) khi tác giả sử dụng chủng *L. acidophilus* để tạo nước ổi probiotic, sản phẩm bảo quản được 30 ngày.

4. KẾT LUẬN

Chủng *L. plantarum* DH 7.12 được tuyển chọn có đặc tính probiotic tốt như chịu được pH của dạ dày; muối mật; sinh cả 3 enzyme ngoại bào amylase, protease, cellulase; kháng vi khuẩn gây bệnh *E. coli*, *S. typhimurium* và phát triển tốt trong môi trường nước ổi. Sản phẩm ứng dụng chủng *L. plantarum* DH7.12 với số lượng ban đầu 10^8 CFU/ml trong nước ổi, sau 28 ngày bảo quản ở nhiệt độ $5 \pm 1^\circ\text{C}$ đảm bảo về chất lượng cảm quan và số lượng vi khuẩn probiotic.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anonymous (1992). Yoghurt and probiotics. *Choice*. 11: 32-35.
- Baron S.F. & Hylemon P.B (1997). Biotransformation of bile acids, cholesterol, and steroid hormones, gastrointestinal microbiology. Chapman & Hall Microbiology Series Springer. pp. 470-510.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2008). TCVN 7906:2008. Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - phương pháp định lượng vi khuẩn axit lactic ưa nhiệt trung bình - kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C
- Cebeci A. & Gurakan C. (2003). Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*. 20: 11-518.
- Ding W.K. & Shah N.P. (2008). Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *International Food Research Journal*. 15(2): 219-232.
- Đoàn Anh Dũng, Nguyễn Công Hà, Lý Nguyễn Bình & Lê Nguyễn Đoàn Duy (2015). Nghiên cứu sử dụng vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* trong chế biến sữa chua. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*. 36: 14-20.
- European Food Safety Authority (2013). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed. *EFSA Journal*. 11(11): 3449.
- Gilliland S.E., Nelson C.R. & Maxwell C. (1985). Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 49(2): 377-381.

- Gilliland S.E. & Walker D.K. (1990). Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypercholesterolemic effect in humans. *Journal of Dairy Science*. 73(4): 905-909.
- Hoàng Lê Hằng, Nguyễn Đức Hạnh & Nguyễn Khắc Trung (2010). Nghiên cứu nâng cao chất lượng nước ôi bằng chế phẩm enzyme pectinase và enzyme glucoza oxydaza. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển Nông thôn*. tr. 188 -193.
- Hoàng Quốc Khánh & Phạm Thị Lan Thanh (2011). Phân lập, định danh và xác định chủng *Lactobacillus* có tiềm năng probiotic từ con người. *Tạp chí Phát triển Khoa học và công nghệ*. 14(6): 62-76.
- Huỳnh Phan Phương Trang (2018). Thử nghiệm nước chanh dây độ cồn thấp bổ sung probiotic từ vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* LY-78. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ thực phẩm*. 16(1): 56-66.
- Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Thị Pha Ly, Nguyễn Ngọc Thanh & Ngô Thị Phương Dung (2017). Nghiên cứu sản xuất nước cà chua lên men sử dụng chủng vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* 01A. *An Giang University Journal of Science*. 14(2): 24-33.
- Liong M.T. & Shah N.P. (2005). Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. *Journal of Dairy Science*. 88: 55-66.
- Lourens H.A. & Viljoen B.C. (2001). Yoghurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*. 11: 1-17.
- Lu K., Lin W. & Liu J. (2008). The characteristics of nutrient removal and inhibitory effect of ulva clathrata on *Vibrio anguillarum* 65. *Journal of Applied Phycology*. 20(6): 1061-1068.
- Luckow T. & Delahunty C. (2004). Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. *Food Research International*. 37: 805-814.
- Mishra V. & Prasad D. N (2005). Application of *in vitro* methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*. 103: 109-115.
- Nguyễn Đức Hạnh & Hoàng Thị Lê Hằng (2014). Nghiên cứu sử dụng vi khuẩn probiotic trong chế biến đồ uống từ quả ôi. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 2: 31- 35.
- Nguyễn Lâm Dũng, Đoàn Xuân Mượu, Nguyễn Phùng Tiên, Đặng Đức Thạnh & Phạm Văn Ty (1976). Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học (Tập 2). Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
- Nguyễn Thị Hồng Nhung, Lê Thị Thương, Nguyễn Thị Thu Hằng & Nguyễn Thị Huyền (2019). Tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có tiềm năng ứng dụng tạo chế phẩm sinh học (probiotic) bổ sung vào thức ăn chăn nuôi. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*. 2: 18-27.
- Nguyễn Thị Lâm Đoàn & Nguyễn Thị Thanh Thủy (2018). Đánh giá đặc tính probiotic và xác định một số đặc điểm của các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ ruột gà ri. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 7(92): 104-111.
- Nguyễn Thị Minh Hằng & 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.
- Nguyen T.L.D., Van H.K., Cnockaert M., De B.E., Maarten A., Le T.B. & Vandamme P. (2013). A culture-dependent and -independent approach for the identification of lactic acid bacteria associated with the production of nem chua, a Vietnamese fermented meat product. *Journal of Food Research International*. 50: 232-240.
- Phạm Thị Vinh, Vũ Thị Hạnh & Trần Thị Lý (2013). Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (STH) đến chất lượng nước ôi lên men. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 12 (2): 115-118.
- Ramos C.L., Thorsen L., Schwan R.F. & Jespersen L. (2013). Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* isolates from Brazilian food products. *Food Microbiology*. 36: 22-29.
- Reddy L.V., Min J.H. & Wee Y.J. (2015). Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. *Microbiology and Biotechnology Letter*. 43(2): 120-125.
- Robinson R.K. (1987). Survival of *Lactobacillus acidophilus* in fermented products. *Suid Afrikaanse Tydskrif Vir Suiwelkunde*. 19: 25-27.
- Saba N., Narayana S.B., Nalini B.S., Ashiwini G. & Prasad P.B. (2018). Bioenrichment of guava juice with prebiotic and probiotics. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 7(7): 1307-1315.
- Shah N.P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*. 83: 894-907.
- Shah N.P., Lankaputhra W.E.V., Britz M. & Kyle W.S.A. (1995). Survival of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. *Int. Dairy J*. 5: 515-521.
- Trương Thị Thúy Nguyên, Lê Thị Minh Thư, Trần Ngọc Hân, Nguyễn Thị Mỹ Tiên, Mai Hoài Anh, Nguyễn Ngọc Thạnh, Bùi Hoàng Đăng Long & Huỳnh Xuân Phong (2020). Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn lactic và ứng dụng trong lên men nem chua nấm rom (*Volvariella volvacea*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*. 225(1): 3-10.
- Tsen J.H., Lin Y.P. & King A.E. (2004). Fermentation of banana media by using karrageenan immobilized *Lactobacillus acidophilus*. *International Journal of Food Microbiology*. 91: 215- 220.
- Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước (1979). TCVN 3215-79. Sản phẩm thực phẩm phân tích cảm quan. Phương pháp cho điểm.