

MỘT SỐ TÍNH CHẤT VỀ TIỀM NĂNG PROBIOTIC CỦA CÁC CHỦNG *Lactobacillus pentosus*

Trần Thanh Quỳnh Anh^{1*}, Đỗ Thị Bích Thủy², Nguyễn Thị Vân Anh¹

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế;

²Đại học Duy Tân.

*Tác giả liên hệ: ttqanh@hueuni.edu.vn; tranthanhquynhanh@huaf.edu.vn

Nhận bài: 24/10/2024 Hoàn thành phản biện: 09/12/2024 Chấp nhận bài: 04/12/2024

TÓM TẮT

Trong công trình này, chúng tôi đã tiến hành khảo sát tiềm năng probiotic của 5 chủng *Lactobacillus pentosus* (ký hiệu là M1, M2, M3, M4, M5). Kết quả khảo sát cho thấy, cả 5 chủng đều có khả năng chịu acid cao, ở pH 2,5 sau 4 giờ có tỷ lệ sống sót rất cao từ 81,73% đến 106,57%. Khả năng tự kết dính cao nhất là chủng *L. pentosus* M2 (99,24%), thấp nhất là chủng *L. pentosus* M3 (15,83%). Khả năng đồng kết dính và bám dính với dung môi của các chủng ở mức độ trung bình, trong đó chủng *L. pentosus* M2 có khả năng đồng kết dính với *Staphylococcus aureus* và *Salmonella typhimurium* cao hơn (17,14% và 23,70%) so với các chủng còn lại. Đa số các chủng có khả năng chịu pepsin, muối mật và dịch tụy rất cao. Tỷ lệ sống sót của các chủng *L. pentosus* trong môi trường pepsin dao động từ 86,40% - 95,57%, cao nhất là *L. pentosus* M2 (95,57%) và thấp nhất *L. pentosus* M3 (86,40%). Tỷ lệ sống sót trong điều kiện muối mật và dịch tụy của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) lần lượt là 95,83%, 96,54%, 90,90%, 93,59% và 87,40%.

Từ khóa: Bám dính dung môi, Chịu acid, *Lactobacillus pentosus*, Probiotic, Tự kết dính

CHARACTERIZATION OF PROBIOTIC POTENTIAL IN *Lactobacillus pentosus* STRAINS

Tran Thanh Quỳnh Anh^{1*}, Do Thi Bích Thủy², Nguyen Thi Van Anh¹

¹University of Agriculture and Forestry, Hue University;

²Duy Tan University.

*Corresponding author: ttqanh@hueuni.edu.vn; tranthanhquynhanh@huaf.edu.vn

Received: October 24, 2024 Revised: December 9, 2024 Accepted: December 4, 2024

ABSTRACT

In this study, a survey of the probiotic potential of 5 lactic acid bacteria strains (*Lactobacillus pentosus*: M1, M2, M3, M4, M5) was conducted. The results indicated that all five strains exhibited high acid tolerance at pH 2.5 after four hours, with survival rates ranging from 81.73% to 106.57%. The strain *L. pentosus* M2 demonstrated the highest autoaggregation ability at 99.24%, while *L. pentosus* M3 exhibited the lowest at 15.83%. Coaggregation assays and hydrophobicity assay of the strains were generally at an average level; however, *L. pentosus* M2 showed superior coaggregation assays with *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium*, with rates of 17.14% and 23.70%, respectively, compared to the other strains. Most strains displayed very high tolerance to pepsin, bile salts, and pancreatic juice. The survival rate of *L. pentosus* strains in a pepsin medium ranged from 86.40% to 95.57%, with *L. pentosus* M2 having the highest survival rate at 95.57% and *L. pentosus* M3 the lowest at 86.40%. In bile salt and pancreatic juice conditions, the survival rates of *L. pentosus* strains (M1, M2, M3, M4, M5) were 95.83%, 96.54%, 90.90%, 93.59%, and 87.40%, respectively.

Keywords: Acid tolerance, Autoaggregation, Hydrophobicity, *Lactobacillus pentosus*, Probiotic

1. MỞ ĐẦU

Vi khuẩn lactic (Lactic acid bacteria, LAB) đóng vai trò quan trọng đối với sức khỏe con người. Trong đường tiêu hóa, LAB có nhiều tính chất có ích cho sức khỏe nhờ vào tiềm năng probiotic của chúng (Masood và cs., 2011) (Fernandez-Pacheco và cs., 2018). Probiotic là những vi sinh vật có lợi cho vật chủ thường gặp là vi khuẩn và nấm men. Các probiotic được bổ sung vào chế độ ăn nhằm cân bằng hệ vi khuẩn đường ruột, cải thiện sức khỏe. Đây là những vi sinh vật còn sống khi đưa vào cơ thể một lượng đầy đủ sẽ có lợi cho sức khỏe của vật chủ (Markowiak và cs., 2017). Các chủng probiotic cũng có thể góp phần tăng cường hệ thống miễn dịch của vật chủ (Cotter và cs., 2005). Vì vậy, ngày càng có nhiều nghiên cứu tập trung vào lĩnh vực này (Sanchart và cs., 2018) (Nithya và cs., 2023) (Yan và cs., 2023).

Thực phẩm lên men truyền thống không chỉ là một loại thực phẩm phổ biến ở các nước Đông Nam Á mà chúng còn là nguồn LAB có tiềm năng probiotic. Gần đây, đã có nhiều nhà nghiên cứu tập trung vào việc phân lập các chủng LAB có tiềm năng probiotic từ thực phẩm lên men truyền thống. Srinivash và cs. (2023) đã phân lập và nghiên cứu một số tính chất có tiềm năng probiotic của 41 chủng LAB từ một số thực phẩm lên men truyền thống như: phô mai, sữa đông, nước gạo lên men, sữa chua. Các đặc tính tiềm năng probiotic của chủng *Pediococcus acidilactici* TMAB26 được phân lập từ cà chua ngâm truyền thống của Ấn Độ và đánh giá các ứng dụng của nó như một tác nhân chống ung thư và chống viêm nhiễm trong ống nghiệm được công bố bởi Barigela và cs., (2021). Dogra và cs. (2021) đã tiến hành nghiên cứu tập trung vào việc phân lập LAB từ bột nhào lên men truyền

thống còn sót lại 'maleda' Himachal Pradesh (Ấn Độ) để đánh giá tiềm năng probiotic. Bên cạnh đó, Bhagat và cs. (2020) cũng đã nghiên cứu đặc tính probiotic của chủng *P. acidilactici* SMVDUDB2 được phân lập từ sản phẩm phô mai lên men truyền thống.

Mắm rò, một loại thực phẩm lên men truyền thống ở Huế, được sản xuất từ cá rô, một loại cá kình con. Sau khi làm sạch, cá rô được trộn với muối (khoảng 5% khối lượng cá rô), cho vào lọ và nén chặt, sau đó, lên men ở nhiệt độ phòng trong vòng 30 ngày để có được sản phẩm là mắm rò. Quá trình chuyển hóa bởi LAB trong quá trình lên men tạo ra mùi vị và hương thơm của mắm rò. Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều thông tin về việc nghiên cứu LAB từ mắm rò. Trong công trình này, chúng tôi khảo sát một số tính chất có tiềm năng probiotic của các chủng *L. pentosus* được phân lập từ mắm rò Huế như khả năng chịu acid; khả năng tự kết dính và đồng kết dính; khả năng bám dính với dung môi; khả năng chịu pepsin và khả năng chịu muối mật và dịch tụy.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu này được phân lập từ mắm rò Huế và định danh bằng phương pháp MALDI TOF MS và giải trình tự rpoA gene tại phòng thí nghiệm vi sinh vật, Đại học Ghent, Vương Quốc Bỉ. Các chủng này hiện đang được bảo quản tại trung tâm lưu trữ vi khuẩn BCCM/LMG, Đại học Ghent, Vương Quốc Bỉ với ký hiệu là R-66854, R-66855, R-66856, R-66857 và R-66858 tương ứng cho các chủng *Lactobacillus pentosus* M1, *Lactobacillus pentosus* M2, *Lactobacillus pentosus* M3, *Lactobacillus pentosus* M4 và *Lactobacillus pentosus* M5.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát khả năng chịu acid

Khả năng chịu acid của các chủng được đánh giá qua lượng vi khuẩn sống sót sau khi ủ ở pH 2,5 với các mốc thời gian 0 giờ và 4 giờ. Sinh khối của LAB thu được (nuôi trong môi trường MRS lỏng ở 37°C trong 24 giờ) bằng phương pháp ly tâm và được tái huyền phù bằng dung dịch đệm phosphate (PBS), hỗn hợp huyền phù được điều chỉnh ở pH 2,5 và nuôi ở 37°C trong 4 giờ. Tiến hành đo mật độ quang với bước sóng 600 nm (A_{600}) ở hai mốc thời gian là 0 giờ (A_{T_0}) và 4 giờ (A_{T_4}) (Li và cs., 2020).

Tỷ lệ sống sót của vi khuẩn được tính theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ sống sót (H\%)} = (A_{T_4} / A_{T_0}) \times 100 (\%)$$

2.2.2. Khảo sát khả năng tự kết dính và đồng kết dính

Khả năng tự kết dính của các chủng LAB được xác định theo phương pháp của Li và cs. (2020). Ngay sau khi nuôi cấy trong môi trường MRS lỏng ở 37°C trong 24 giờ, sinh khối của LAB thu được bằng cách ly tâm. Sau đó, tái huyền phù trong dung dịch đệm phosphate (PBS) và đo mật độ quang ở 600 nm (A_{600}) (A_0). Phần dung dịch trên thu được sau khi ủ huyền phù tế bào LAB ở 37°C trong 20 giờ và A_{600} (A_{20}). Khả năng tự kết dính của các chủng LAB được tính theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ tự kết dính (\%)} = [(A_0 - A_{20}) / A_0] \times 100$$

Sự kết dính đồng thời giữa LAB và các vi khuẩn gây bệnh được thực hiện theo phương pháp của Li và cs. (2020). Huyền phù của các chủng LAB và ba chủng gây bệnh đường ruột *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* và *Salmonella*

typhymurium (Cung cấp bởi phòng thí nghiệm Miễn dịch học và Vi sinh, Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Huế) được nuôi cấy qua đêm. Dịch huyền phù của vi khuẩn lactic (1,5 mL) ($A_{\text{probiotic}}$) và dịch huyền phù của vi khuẩn khác (1,5 mL) ($A_{\text{pathogens}}$) được trộn đều và ủ ở 37°C trong 5 giờ. Tiến hành đo độ hấp thụ của dịch nổi ở 600 nm (A_{mix}). Khả năng đồng kết dính của các chủng LAB được tính theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ đồng kết dính (\%)} = [1 - A_{\text{mix}} / (A_{\text{probiotic}} + A_{\text{pathogens}}) / 2] \times 100$$

2.2.3. Khảo sát khả năng bám dính với dung môi

Huyền phù tế bào vi khuẩn thu được sau khi ly tâm (DLAB- Mỹ) dịch nuôi cấy (2000 vòng/phút, 4°C, 10 phút), rửa hai lần và tái huyền phù bằng dung dịch KNO_3 0,1 M được bổ sung các dung môi hữu cơ khác nhau (chloroform, ethyl acetate, xylene). Tỷ lệ dung môi và dung dịch huyền phù là 1:2 (v/v) và đo độ hấp thụ A_{600} (A_0). Hỗn hợp này được ủ trong 10 phút, lắc trong 2 phút và ủ lại trong 20 phút ở nhiệt độ phòng. Sau khi lắng, thu pha lỏng ở phía trên và đo độ hấp thụ A_{600} (A_1) (Li và cs., 2020).

Tỷ lệ vi khuẩn bám dính dung môi (%) được tính bằng công thức:

$$H(\%) = (A_0 - A_1 / A_0) * 100$$

2.2.4. Khảo sát khả năng chịu pepsin

Để đánh giá khả năng chịu pepsin của các chủng LAB trong dạ dày được khảo sát theo phương pháp của Oh và cs. (2018). Dịch dạ dày mô phỏng chứa 3 mg/mL pepsin (Sigma-Aldrich, Hàn Quốc) trong dung dịch NaCl 0,85% và được điều chỉnh đến pH 2,5. Sinh khối của chủng vi khuẩn thu được bằng cách nuôi cấy qua đêm, ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút ở 4°C trong

2 phút và được tái huyền phù bằng dung dịch pepsin. Sau đó, hỗn hợp được đo A 600 nm (T_0) rồi tiến hành ủ ở 37°C trong 4 giờ và xác định mật độ tế bào A 600 nm (T_4). Tỷ lệ sống sót (%) được tính theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ sống sót (\%)} = (T_4/T_0) \times 100$$

2.2.5. Khảo sát khả năng chịu muối mật và dịch tụy

Khả năng chịu muối mật và dịch tụy được đánh giá theo Oh và cs. (2018). Môi trường được mô phỏng bằng cách thêm dung dịch muối vô trùng (0,85% NaCl, w/v) vào 1 mg/mL pancreatin (Sigma-Aldrich, Hàn Quốc) và 0,3% (w/v) muối mật (Sigma-Aldrich, Hàn Quốc). Huyền phù tế bào LAB thu được sau khi ủ trong môi trường nuôi cấy MRS lỏng trong 24 giờ. Sau đó, huyền phù tế bào LAB (1 mL) được đưa vào môi trường mô phỏng. Tiến hành đo mật độ quang với bước sóng 600 nm ở thời điểm ban đầu (AT_0) và sau 6 giờ ủ (AT_6).

Tỷ lệ sống sót của vi khuẩn được tính theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ sống sót (H\%)} = (AT_6 / AT_0) \times 100 (\%)$$

2.3. Phương pháp phân tích số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý thống kê ANOVA trên phần mềm SPSS 20. Sai khác thống kê giữa các trung bình được xác định bằng Duncan's test. Giá trị phương sai (SD) giữa 3 thí nghiệm lặp lại cũng được tính toán trên phần mềm này.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng chịu acid

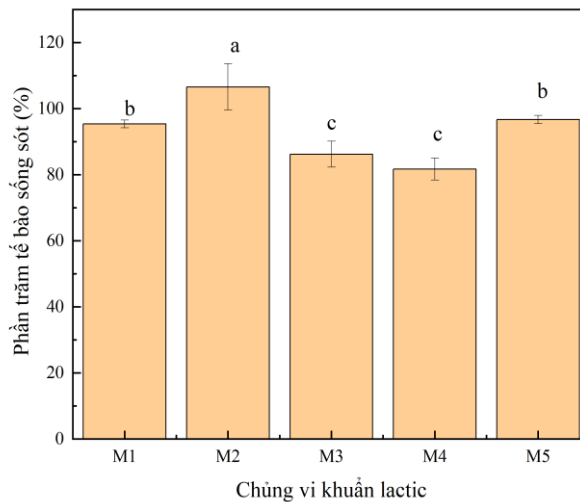
Tỷ lệ tế bào sống sót của cả 5 chủng *L. pentosus* trong dịch acid có pH 2,5 sau 4 giờ dao động từ 81,73% đến 106,57% (Hình 1). Trong đó, chủng *L. pentosus* M2 có khả năng chịu acid cao nhất với tỷ lệ tế bào sống sót là 106,57%. Điều đó chứng tỏ các chủng này không những sống sót mà còn phát triển được trong mức acid này. Chủng có khả năng sống sót thấp nhất trong 5 chủng được khảo sát ở môi trường acid là *L. pentosus* M4 với 81,73%.

Kết quả này khá phù hợp với các công bố trước đây về khả năng chịu acid của LAB. Kết quả nghiên cứu của Kabore và cs. (2012) cho thấy khi khảo sát khả năng chịu acid của 9 chủng LAB ở pH 2,5 sau 4 giờ ủ thì có 3/9 chủng có khả năng sống sót. Trong đó, chủng *P. acidilactici* L87 có tỷ lệ sống sót cao nhất (107,9%), tỷ lệ sống sót của tế bào giảm nhẹ (96,2%) đối với chủng *P. acidilactici* L169 và chủng *Enterococcus faecium* L154 có tỷ lệ sống sót giảm mạnh, chỉ còn 28,04%. Các chủng còn lại không tồn tại ở pH 2,5 trong 4 giờ. Như vậy, khả năng chịu acid của các chủng vi khuẩn lactic thay đổi rất lớn tùy theo chủng.

Kwun và cs. (2020) đã khảo sát khả năng chịu acid của 245 chủng LAB phân lập từ thực phẩm lên men truyền thống của Hàn Quốc. Khi sàng lọc các chủng chịu acid, chỉ có 10 chủng cho thấy khả năng chịu được pH 2,5 trong 4 giờ. Tất cả 10 chủng LAB đều có tỷ lệ tế bào sống sót lớn hơn 90% sau 2 giờ ủ trong môi trường MRS (pH 2,5). Trong số đó, chủng *Lactobacillus sakei* MBEL1403 có tỷ lệ sống sót cao nhất ($99,29 \pm 0,42\%$), chủng *L. sakei* MBEL1361 có tỷ lệ sống sót thấp nhất ($93,21 \pm 0,07\%$).

Bên cạnh đó, Mulaw và cs. (2019) đã tiến hành khảo sát khả năng chịu acid của các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ các thực phẩm lên men truyền thống của Ethiopia ở các giá trị pH 2; 2,5 và 3 qua 2 mốc thời gian là 3 giờ và 6 giờ. Kết quả cho thấy rằng, *L. sakei* được phân lập từ *Kocho* có tỷ lệ sống sót là $90,13 \pm 1,10\%$ ở pH 2,5 sau 3 giờ ủ.

So sánh với các công bố cho thấy rằng các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) được phân lập từ mắm rò có tỷ lệ sống sót vượt trội hơn so với các chủng LAB đã được công bố trước đó. Điều này chứng tỏ các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) có khả năng chịu acid tốt, đáp ứng được tiêu chí chịu acid của các chủng probiotic.



Hình 1. Khả năng sống sót của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) ở pH 2,5. Các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, Duncan's test, ($p < 0,05$). (M1: *L. pentosus* M1; M2: *L. pentosus* M2; M3: *L. pentosus* M3; M4: *L. pentosus* M4; M5: *L. pentosus* M5)

3.2. Khả năng tự kết dính và đồng kết dính

3.2.1. Khả năng tự kết dính

Khả năng tự kết dính của các chủng được khảo sát khá cao, dao động từ 54,60% đến 99,24%, ngoại trừ chủng *L. pentosus* M3 (15,83%) (Hình 2).

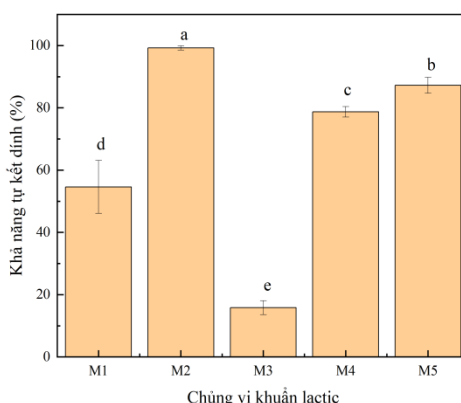
Srinivash và cs. (2023) đã khảo sát khả năng tự kết dính của 4 chủng LAB phân lập từ các sản phẩm thực phẩm lên men truyền thống. Trong nghiên cứu này, khả năng tự kết dính của 4 chủng LAB trong đệm phosphate có pH kiềm đã được theo dõi trong suốt 5 giờ ở nhiệt độ 30°C. Tỷ lệ

phần trăm tự kết dính của các chủng LAB được chọn thay đổi từ 65% đến 76%. Trong đó, chủng *Lactobacillus delbrueckii* GRIPUMSK thể hiện phần trăm tự kết dính cao nhất ($75,91 \pm 0,17\%$) gần như tương tự đối với *L. hirsilactics* CH4 ($74,99 \pm 0,16\%$), tiếp theo là chủng *L. johnsonii* PUMSKGRI ($69,10 \pm 0,014\%$) và phần trăm tự kết dính thấp nhất đã được báo cáo trong trường hợp chủng *L. leichmannii* SKGRIPUM ($65,40 \pm 0,029\%$) sau 5 giờ ủ. Bên cạnh đó, Escobar-Sanchez và cs. (2023) đã công bố khả năng tự kết dính của *Pediococcus pentosaceus* 1101 trong đệm phosphate (pH 7,2) ở nhiệt độ

phòng qua các khoảng thời gian khác nhau (0, 2, 4, 6, 20 và 24 giờ). Kết quả cho thấy rằng khả năng tự kết dính của chủng *P. pentosaceus* 1101 đạt cao nhất (86,7%) sau 24 giờ ủ, tỷ lệ phần trăm tự kết dính của *P. pentosaceus* 1101 thấp nhất (10,7%) sau 2 giờ ủ. Ngoài ra, trong khoảng thời gian từ 4 giờ - 20 giờ, phần trăm tự kết dính của *P. pentosaceus* 1101 dao động trong khoảng từ 14,7% - 62,9%.

Các chủng *L. pentosus* (M2, M4, M5) có khả năng tự kết dính khá cao (từ 78,69%

đến 99,24%) so với các kết quả đã được công bố. Nhờ có khả năng tự kết dính mà các LAB cùng một loài có thể liên kết được với nhau tạo thành các “tổ”, vì thế chúng giúp tăng cường sức sống và sự phát triển của chủng theo kiểu mối quan hệ hỗ trợ. Khả năng tự kết dính còn có sự liên quan đến khả năng bám dính đường ruột và còn làm tăng khả năng lưu lại trong đường tiêu hóa của chủng vi sinh vật.



Hình 2. Khả năng tự kết dính của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5)
Các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, Duncan's test, ($p < 0,05$).
(M1: *L. pentosus* M1; M2: *L. pentosus* M2; M3: *L. pentosus* M3; M4: *L. pentosus* M4;
M5: *L. pentosus* M5)

3.2.2. Khả năng đồng kết dính

Đồng kết dính được định nghĩa là quá trình kết dính của vi khuẩn probiotic và vi khuẩn gây bệnh (De Souza và cs., 2019). Nhờ vậy mà các probiotic có thể kìm hãm sự phát triển của chúng và cuối cùng tiêu diệt chúng bằng cách tạo ra các hợp chất kháng khuẩn tấn công trực tiếp vào tế bào vi khuẩn gây bệnh (Riaz Rajoka và cs., 2017).

Bảng 1 cho thấy rằng các chủng đều có khả năng kết dính với các chủng được thử nghiệm. Trong đó, tỷ lệ phần trăm kết dính của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) với các chủng vi khuẩn khác (*E. coli*, *S. aureus* và *S. typhimurium*) từ 0,82% đến 23,70%. Ba chủng *L. pentosus*

M1, *L. pentosus* M3 và *L. pentosus* M4 không có khả năng kết dính với *E. coli*. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy rằng sự kết dính của các chủng vi khuẩn lactic với các vi khuẩn khác là khác nhau và phụ thuộc vào các chủng loài. Hơn nữa, mỗi chủng *L. pentosus* cho thấy tỷ lệ phần trăm đồng kết dính khác nhau với các vi khuẩn khác nhau. Khả năng đồng kết dính có thể có tầm quan trọng lớn đối với các chủng *L. pentosus* để ức chế sự bám dính của mầm bệnh lên bề mặt tế bào biểu mô và cản trở sự xâm nhập của mầm bệnh (Riaz Rajoka và cs., 2017).

Zawistowska-Rojek và cs. (2022) đã khảo sát khả năng đồng kết dính của *Lactobacillaceae* với các chủng vi khuẩn gây bệnh đường ruột (*E. coli*, *E. faecalis* và

S. typhimurium). Tỷ lệ đồng kết dính cao nhất được quan sát thấy giữa các chủng thuộc họ *Lactobacillaceae* và *E. faecalis* (khoảng 33,8%), trong khi tỷ lệ thấp nhất được ghi nhận trong các thử nghiệm được thực hiện với *S. typhimurium* (khoảng 28,7%).

Gandomi và cs. (2019) đã công bố khả năng đồng kết dính của các chủng *Lactobacillus plantarum* với các vi khuẩn gây bệnh (*S. typhimurium*, *S. aureus*, *E. coli* và *Listeria monocytogenes*). Trong nghiên cứu này, các chủng *L. plantarum* (F16 và F7) có tỷ lệ đồng kết dính cao hơn so với *S. typhimurium* với tỷ lệ đồng kết dính lần lượt là 49,04% và 29,55%. *L. plantarum* F2 cho thấy khả năng kết dính cao với *E. coli* và *L. monocytogenes* với tỷ lệ đồng kết dính lần lượt là 29,6% và 29,3%, trong khi tỷ lệ đồng kết dính của nó với *S. typhimurium* chỉ là

1,46%. Hơn nữa, *L. plantarum* F21 cho thấy mức độ đồng kết dính thấp nhất (2,66%) với *S. aureus*.

Qua các công bố trên, có thể nhận thấy rằng khả năng đồng kết dính với các loài vi khuẩn khác của LAB dao động trong khoảng từ 1,5% đến 49%. Các chủng có kết quả đồng kết dính từ khoảng 20% trở lên được xem là tỷ lệ đồng kết dính khá cao, có thể sử dụng để tiếp tục sàng lọc làm probiotic (Gandomi và cs., 2019).

Kết quả của công trình này cho thấy rằng, khả năng đồng kết dính với các vi khuẩn khác của *L. pentosus* M2 được khảo sát trong nghiên cứu khá cao. Điều này chứng tỏ khả năng kết dính của các chủng LAB phân lập từ mắm rò Huế là tốt. Dựa vào kết quả trên, *L. pentosus* M2 có thể được xem xét để tuyển chọn làm probiotic.

Bảng 1. Khả năng đồng kết dính (%) của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5)

Chủng vi khuẩn khác	Chủng vi khuẩn lactic				
	<i>L. pentosus</i> M1	<i>L. pentosus</i> M2	<i>L. pentosus</i> M3	<i>L. pentosus</i> M4	<i>L. pentosus</i> M5
<i>E. coli</i>	-	2,07 ^b ± 0,30	-	-	4,28 ^a ± 0,66
<i>S. aureus</i>	0,82 ^c ± 0,12	17,14 ^a ± 0,55	12,20 ^b ± 1,14	9,28 ^c ± 0,31	3,08 ^d ± 0,28
<i>S. typhimurium</i>	11,17 ^c ± 0,28	23,70 ^a ± 0,52	4,63 ^d ± 0,61	11,38 ^c ± 0,43	16,62 ^b ± 1,11

Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, Duncan's test, ($p < 0,05$); (-) : không có khả năng đồng kết dính với vi khuẩn khác.

3.3. Khả năng bám dính với dung môi

Khả năng bám dính vào thành đường ruột là một yếu tố thiết yếu khi lựa chọn một loại vi sinh vật probiotic (Lebeer và cs., 2010). Tính kỵ nước bề mặt tế bào của probiotic có liên quan với khả năng kết dính của nó.

Bảng 2 cho thấy khả năng bám dính dung môi (ethyl acetate và xylene) của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) dao động trong khoảng từ 2,12% đến 17,47%. Khả năng bám dính dung môi ethyl acetate của các chủng *L. fermentum*, *L. brevis* và *L. plantarum* có tỷ lệ bám dính

nằm trong khoảng 4,95% - 12,84% (Grujovic và cs., 2019). Trong khi đó, *Lactobacillus acidophilus* SAM1 và *Lactiplantibacillus plantarum* SAM2, có khả năng bám dính với ethyl acetate lần lượt là 88,1% và 82,8% (EL-Sayed và cs., 2022). Theo nghiên cứu của Dlamini và cs. (2019) về khả năng bám dính với ethyl acetate của các chủng *Lactobacillus reuteri* ZJ625, *L. reuteri* VB4, *Lactobacillus salivarius* ZJ614 và *Streptococcus salivarius* NBRC13956 cho kết quả nằm trong khoảng 2% - 60%.

Kết quả khảo sát khả năng bám dính với dung môi chloroform của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) cho thấy

tỷ lệ bám dính dao động khoảng từ 2,33% đến 56,19% trong đó chủng *L. pentosus* M2 có tỷ lệ bám dính cao nhất (56,19%) và thấp nhất là chủng *L. pentosus* M5 (2,33%) (Bảng 2). Kết quả này khá tương đồng với kết quả của Grujovic và cs. (2019). Nhóm tác giả này đã khảo sát khả năng bám dính với chloroform của một số chủng *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. plantarum* và cho thấy tỷ lệ bám dính với dung môi chloroform nằm trong khoảng từ 10,79 đến 21,57%. Dlamini và cs. (2019) cũng đã ghi

nhận khả năng bám dính với chloroform của các chủng *L. reuteri* ZJ625, *L. reuteri* VB4, *L. salivarius* ZJ614 và *S. salivarius* NBRC13956 thay đổi trong khoảng 68% - 75%.

Như vậy, các chủng được khảo sát trong nghiên cứu này cho kết quả bám dính dung môi dao động từ 2,12% đến 56,19% có thể được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. Khả năng bám dính với dung môi (%) của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5)

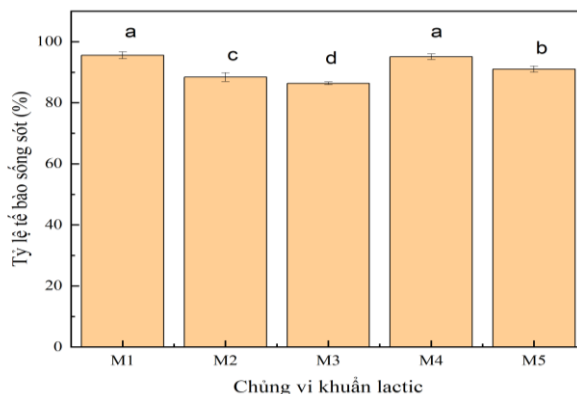
Dung môi	Chủng vi khuẩn lactic				
	<i>L. pentosus</i> M1	<i>L. pentosus</i> M2	<i>L. pentosus</i> M3	<i>L. pentosus</i> M4	<i>L. pentosus</i> M5
Ethyl acetate	17,47 ^a ± 0,66	13,87 ^b ± 0,41	7,72 ^d ± 0,62	9,13 ^c ± 0,30	6,72 ^c ± 0,50
Chloroform	2,22 ^d ± 0,13	56,19 ^a ± 0,91	29,15 ^b ± 0,65	9,06 ^c ± 0,74	2,33 ^d ± 0,29
Xylene	2,12 ^d ± 0,18	8,08 ^b ± 0,78	3,59 ^c ± 0,49	8,42 ^{ab} ± 0,47	9,24 ^a ± 0,79

Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, Duncan's test, ($p < 0,05$); (-) : không có khả năng đồng kết dính với vi khuẩn khác.

3.4. Khả năng chịu pepsin

Kết quả cho thấy rằng khả năng chịu pepsin được mô phỏng như trong hệ thống tiêu hóa con người của các chủng *L. pentosus* được nghiên cứu là rất tốt. Tất cả các chủng có khả năng sống sót từ 86,40% đến 95,58%. Đặc biệt, các chủng *L. pentosus* M1, *L. pentosus* M2 và *L. pentosus* M5 có khả năng sống sót trên

90%, lần lượt là 95,58%, 95,10% và 91,03% (Hình 3). Trong số 29 chủng LAB phân lập từ sản phẩm lên men từ đậu nành của Hàn Quốc đã được nghiên cứu khả năng kháng pepsin, chủng *P. acidilatici* SKL1418, *L. plantarum* JDFM44 và *Enterococcus faecium* CK-5 cũng có khả năng sống sót trên 90%; *L. plantarum* SDL 1413 và *L. pentosus* SC48 cho thấy khả



Hình 3. Khả năng chịu pepsin của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) (Các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, Duncan's test, ($p < 0,05$). (M1: *L. pentosus* M1; M2: *L. pentosus* M2; M3: *L. pentosus* M3; M4: *L. pentosus* M4; M5: *L. pentosus* M5)

năng sống sót thấp nhất (< 40%) đã được công bố bởi Oh và cs. (2018).

Như vậy, năm chủng *L. pentosus* được khảo sát trong nghiên cứu này có khả năng thích nghi với điều kiện môi trường có sự hiện diện của pepsin, đáp ứng được tiềm năng probiotic trong hệ tiêu hóa của con người.

3.5. Khả năng chịu muối mật và dịch tụy

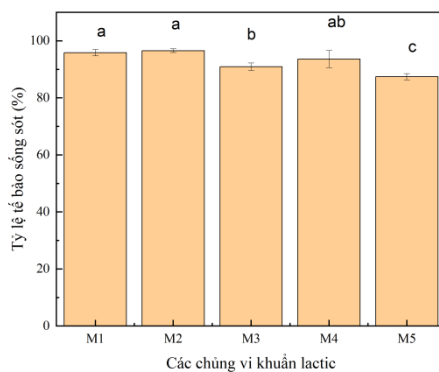
Sự tiếp xúc với muối mật và dịch tụy là một thử thách cho các vi khuẩn xâm nhập vào đường tiêu hóa. Muối mật hoạt động như một chất tẩy rửa sinh học, làm phá hủy màng tế bào vi khuẩn, muốn tồn tại được vi khuẩn phải có khả năng chịu muối mật (Mozzi và cs., 2010).

Khả năng sống sót trong môi trường mô phỏng như trong đường ruột con người có muối mật và dịch tụy của các chủng *L. pentosus* khá cao, khả năng sống sót đều trên 85%. Trong đó, có đến 4 chủng có phần trăm sống sót trên 90% (Hình 4). Chủng *L. pentosus* M2 có phần trăm sống sót cao nhất (96,54%), thấp nhất là *L. pentosus* M5 (87,40%).

Oh và cs. (2018) đã tiến hành khảo sát khả năng chịu muối mật và dịch tụy của

các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ tương đậu nành lên men của Hàn quốc cho thấy, các chủng LAB có khả năng chống chịu cao (> 50%) với môi trường mô phỏng dịch ruột sau 4 giờ ủ. *Streptococcus thermophilus* SCML 337 và *S. thermophilus* SCML 300 có khả năng kháng muối mật và dịch tụy mạnh với tỷ lệ sống lần lượt là 93,5% và 55,9%. Trong các chủng *Pediococcus* sp., chỉ có *P. acidilatici* SDL 1402, *P. acidilatici* SDL 1405 và *P. acidilatici* SDL 1406 cho thấy khả năng sống sót cao trong đường ruột mô phỏng. *Weissella cibaria* SCCB2306 và *E. faecium* SC 54 cũng cho thấy khả năng kháng muối mật và dịch tụy cao, lần lượt là 74,72% và 62,793%.

Kết quả ở Hình 4 có thể thấy rằng, tất cả các chủng *L. pentosus* được phân lập từ mắm rò có tỷ lệ sống sót vượt trội và đồng đều hơn so với các LAB đã được công bố trước đó. Điều này chứng tỏ các chủng nghiên cứu có khả năng chịu muối mật và dịch tụy tốt, đáp ứng được tiềm năng probiotic trong hệ tiêu hóa của con người.



Hình 4. Khả năng chịu muối mật và dịch tụy của các chủng *L. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) Các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, Duncan’s test, (p<0,05). (M1: *L. pentosus* M1; M2: *L. pentosus* M2; M3: *L. pentosus* M3; M4: *L. pentosus* M4; M5: *L. pentosus* M5)

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu khảo sát một số tính chất về tiềm năng probiotic cho thấy các chủng *Lb. pentosus* (M1, M2, M3, M4, M5) đều có khả năng chịu acid cao với tỷ lệ sống sót lần lượt: 95,38%, 106,57%, 86,22%, 81,73% và 96,70% trong đó tỷ lệ sống sót của chủng *L. pentosus* M2 là cao nhất 106,57%. Khả năng tự kết dính cao nhất là chủng *L. pentosus* M2 (99,24%), thấp nhất là chủng *L. pentosus* M3 (15,83%). Khả năng đồng kết dính và bám dính với dung môi của các chủng ở mức độ trung bình. Đa số các chủng có khả năng chịu pepsin, muối mật và dịch tụy rất cao. Tỷ lệ sống sót trong môi trường pepsin của các chủng dao động từ 86,40% đến 95,57% và tỷ lệ sống sót trong điều kiện muối mật và dịch tụy từ 87,40% đến 96,54%. Tiếp tục khảo sát các tính chất probiotic khác như khả năng kháng kháng sinh, kháng khuẩn và nghiên cứu ứng dụng bổ sung các chủng này vào trong các thực phẩm chức năng probiotic như nước uống lên men rau quả, sữa chua.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barigela, A., & Bhukya, B. (2021). Probiotic *Pediococcus acidilactici* strain from tomato pickle displays anti-cancer activity and alleviates gut inflammation in-vitro. *3 Biotech, 11*(1), 1–11.
- Bhagat, D., Raina, N., Kumar, A., Katoch, M., Khajuria, Y., Slathia, P. S., & Sharma, P. (2020). Probiotic properties of a phytase producing *Pediococcus acidilactici* strain SMVDUDB2 isolated from traditional fermented cheese product, Kalarei. *Scientific Reports, 10*(1), 1–11.
- Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Food microbiology: Bacteriocins: Developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology, 3*(10), 777–788.
- De Souza, B. M. S., Borgonovi, T. F., Casarotti, S. N., Todorov, S. D., & Penna, A. L. B. (2019). *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus fermentum* Strains Isolated from Mozzarella Cheese: Probiotic potential, safety, acidifying kinetic parameters and viability under gastrointestinal tract conditions. *Probiotics and Antimicrobial Proteins, 11*(2), 382–396.
- Dlamini, Z. C., Langa, R. L. S., Aiyegoro, O. A., & Okoh, A. I. (2019). Safety evaluation and colonisation abilities of four lactic acid bacteria as future probiotics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins, 11*(2), 397–402.
- Dogra, Tanvi, Mehra, Rahul, Kumar, Harish, Thakur, & Meenu. (2021). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented food “Maleda” of northern indian state. *Annals. Food Science and Technology, 22*(1).
- EL-Sayed, A. I. M., El-Borai, A. M., Akl, S. H., EL-Aassar, S. A., & Abdel-Latif, M. S. (2022). Identification of *Lactobacillus* strains from human mother milk and cottage cheese revealed potential probiotic properties with enzymatic activity. *Scientific Reports, 12*(1).
- Escobar-Sánchez, M., Carrasco-Navarro, U., Juárez-Castelán, C., Lozano-Aguirre Beltrán, L., Pérez-Chabela, M. L., & Ponce-Alquicira, E. (2023). Probiotic properties and proteomic analysis of *Pediococcus pentosaceus* 1101. *Foods, 12*(1), 1–22.
- Fernandez-Pacheco, P., Arévalo-Villena, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., & Briones Pérez, A. (2018). Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries. *LWT, 97*, 332–340.
- Gandomi, H., Farhangfar, A., Basti, A. A., Misaghi, A., & Noori, N. (2019). Auto and co-aggregation, hydrophobicity and adhesion properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Siahmazgi traditional cheese. *Food & Health Journal, 2*(1), 1–5.
- Grujović, M., Mladenović, K. G., Nikodijević, D. D., & Čomić, L. R. (2019). Autochthonous lactic acid bacteria—presentation of potential probiotics application. *Biotechnology Letters, 41*(11), 1319–1331.
- Kabore, D., Sawadogo-Lingani, H., H.Dicko, M., Diawara, B., & Jakobsen, M. (2012). Acid resistance, bile tolerance and antimicrobial properties of dominant lactic acid bacteria isolated from traditional “maari” baobab seeds fermented condiment.

- African Journal of Biotechnology*, 11(5), 1197–1206.
- Kwun, S. Y., Bae, Y. W., Yoon, J. A., Park, E. H., & Kim, M. D. (2020). Isolation of acid tolerant lactic acid bacteria and evaluation of α -glucosidase inhibitory activity. *Food Science and Biotechnology*, 29(8), 1125–1130.
- Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2010). Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: Comparison with commensals and pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 8(3), 171–184.
- Li, M., Wang, Y., Cui, H., Li, Y., Sun, Y., & Qiu, H. (2020). Characterization of lactic acid bacteria isolated from the gastrointestinal tract of a wild boar as potential probiotics. *Frontiers in Veterinary* 7, 1–10.
- Markowiak, Paulina, and Katarzyna Ślizewska. (2017). “Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health.” *Nutrients* 9.
- Masood, M. I., Qadir, M. I., Shirazi, J. H., & Khan, I. U. (2011). Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. *Critical Reviews in Microbiology*, 37(1), 91–98.
- Mozzi, R. R., Raya, G. M. Vignolo, Safety of Lactic Acid Bacteria, Charles M. A. P. (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel Applications*, Blackwell Publishing. USA, 393.
- Mulaw, G., Sisay Tessema, T., Muleta, D., & Tesfaye, A. (2019). In vitro evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from some traditionally fermented Ethiopian food products. *International Journal of Microbiology*, 1-11
- Nithya, A., Misra, S., Panigrahi, C., & Genu, C. (2023). Probiotic potential of fermented foods and their role in non-communicable diseases management: An understanding through recent clinical evidences. *Food Chemistry Advances*, 3(June 2022), 100381.
- Oh, A., Daliri, E. B. M., & Oh, D. H. (2018). Screening for potential probiotic bacteria from Korean fermented soybean paste: In vitro and *Caenorhabditis elegans* model testing. *LWT - Food Science and Technology*, 88(August 2017), 132–138.
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Siddiq, M., Haobin, Z., Zhu, J., Yan, L., Shao, D., Xu, X., & Shi, J. (2017). Identification, characterization, and probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* isolated from human milk. *Lwt*, 84, 271–280.
- Sanchart, C., Wathanasakphuban, N., Boonseng, O., Nguyen, T. H., Haltrich, D., & Maneerat, S. (2018). Tuna condensate as a promising low-cost substrate for glutamic acid and GABA formation using *Candida rugosa* and *Lactobacillus futsaii*. *Process Biochemistry*, 70(January), 29–35.
- Srinivash, M., Krishnamoorthi, R., Mahalingam, P. U., Malaikozhundan, B., & Keerthivasan, M. (2023). Probiotic potential of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from homemade fermented food products. *Journal of Agriculture and Food Research*, 11(October 2022), 100517.
- Yan, J., Huang, Y., Gao, Z., Zhang, Z., Gu, Q., & Li, P. (2023). Probiotic potential of *Lactiplantibacillus plantarum* ZFM4 isolated from pickles and its effects on human intestinal microecology. *Lwt*, 184(18), 114954.
- Zawistowska-Rojek, A., Kośmider, A., Stępień, K., & Tyski, S. (2022). Adhesion and aggregation properties of *Lactobacillaceae* strains as protection ways against enteropathogenic bacteria. *Archives of Microbiology*, 204(5), 1–13.