

Khảo sát một số hoạt tính probiotic của Kefir chanh dây truyền thống và Kefir chanh dây bổ sung *Lactobacillus casei* VTCC186

- Quách Đức Tính
- Tống Thành Trung
- Nguyễn Ngọc Duy
- Nguyễn Thúy Hương

Trường Đại học Bách Khoa, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 04 tháng 03 năm 2013, nhận đăng ngày 26 tháng 8 năm 2013)

TÓM TẮT

Kefir là sản phẩm được lên men từ hệ vi sinh vật phong phú bao gồm nhóm vi khuẩn lactic (LAB), nấm men và một số nhóm khác. Kefir được xem như là một sản phẩm probiotic tự nhiên. Tuy nhiên, vẫn chưa có một bằng chứng rõ ràng nào về hoạt tính probiotic của sản phẩm truyền thống. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã làm rõ một số hoạt tính probiotic của Kefir chanh dây truyền thống và Kefir chanh dây giàu probiotic bổ sung vi khuẩn probiotic

(*Lactobacillus casei* VTCC186). Kết quả nghiên cứu cho thấy: Mật độ vi khuẩn lactic và nấm men đều tăng tương ứng 1,99 và 2,01 lg(cfu/mL) so với sản phẩm Kefir chanh dây truyền thống, hệ vi khuẩn lactic trong hai sản phẩm đều có khả năng sống trong điều kiện dịch dạ dày nhân tạo pH2 sau 120 phút với tỷ lệ sống sót lần lượt là 39,36% và 52,01%, có khả năng chịu muối mật, có hoạt tính kháng *Salmonella* sp. cũng như *Bacillus subtilis* và làm giảm cholesterol.

Từ khóa: Kefir, chanh dây, probiotic, *Lactobacillus casei* VTCC186.

GIỚI THIỆU

Sản phẩm Kefir là một dạng của sản phẩm yaghourt, đây là một sản phẩm cao cấp hơn yaghourt bởi vì yaghourt được làm trong thời gian ngắn, chứa ít vi khuẩn có hoạt tính mạnh. Hệ vi khuẩn trong yaghourt sẽ giảm dần vài ngày trong hệ tiêu hóa. Còn Kefir thì chứa nhiều hệ vi sinh vật hơn. Hơn thế nữa, những vi sinh vật có mặt trong Kefir được tạo từ một chuỗi vi sinh vật có hoạt tính mạnh, các chủng vi sinh vật này sẽ giúp tiêu diệt hay bất hoạt các vi sinh vật gây bệnh. Do đó, Kefir có vai trò hỗ trợ hệ tiêu hóa

và giúp cải thiện hệ thống miễn dịch [1, 2]. Hệ vi sinh vật có trong Kefir phát triển mạnh trong môi trường bơ sữa, chúng sử dụng lactose và protein tạo ra những sản phẩm mà con người có thể dễ dàng tiêu hóa và sử dụng [3]. Hệ vi sinh vật này sẽ giúp tăng cường tiêu hóa và sử dụng protein bằng cách phân cắt trước các protein thành các peptide có hoạt tính sinh học. Như tryptophan, một amino acid cần thiết cho cơ thể có rất nhiều trong Kefir, đã được biết đến với khả năng giảm căng thẳng cho hệ thần kinh [3, 4]. Kefir còn loại

trừ các chất độc không mong muốn trong cơ thể, ngăn ngừa sự oxy hóa. Kefir còn giúp giảm cholesterol trong máu, kích thích hệ miễn dịch tạo ra kháng thể, giúp giảm stress và giảm căng thẳng do có độ rượu nhẹ [4]. Tuy nhiên, vẫn chưa có một bằng chứng rõ ràng nào về các hoạt tính probiotic của sản phẩm truyền thống. Trong nghiên cứu này, chúng tôi cố gắng làm rõ một số hoạt tính probiotic của Kefir chanh dây truyền thống và Kefir chanh dây giàu probiotic bằng cách bổ sung vi khuẩn probiotic *Lactobacillus casei* VTCC186 qua các tiêu chí: mật độ LAB, nấm men, khả năng kháng khuẩn, khả năng chịu dịch dạ dày nhân tạo, muối mật và hấp thu cholesterol.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Hạt Kefir có nguồn gốc từ Mỹ, chủng giống probiotic *Lactobacillus casei* VTCC 186, *Salmonella sp.*, *Bacillus subtilis* được cung cấp bởi bộ môn Công nghệ sinh học trường Đại học Bách Khoa – Đại học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh. Sữa tươi tiệt trùng không đường của Vinamilk (dung để giữ hạt và lên men), dịch ép chanh dây từ trái chanh dây Đà Lạt và đường kính trắng tinh luyện của công ty đường Biên Hòa.

MT01-Môi trường MRS lỏng: dùng để nhân giống, nuôi cấy, khảo sát vi khuẩn *L. casei* VTCC 186.

MT02-Môi trường MRS agar: xác định mật độ vi khuẩn lactic và chủng *L. casei* VTCC 186.

MT03-Môi trường PGA: dùng để xác định mật độ nấm men trong sản phẩm Kefir chanh dây và Kefir chanh dây giàu probiotic.

MT04-Môi trường NA (Nutrient Agar): dùng trong các thí nghiệm khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và giữ giống *Salmonella sp.*, *Bacillus subtilis*.

MT05-Môi trường NB (Nutrient Broth): dùng tăng sinh, nuôi cấy *Salmonella sp.*, *Bacillus subtilis*.

MT06-Môi trường MRS điều chỉnh đặc trưng cho *L. casei*: dùng xác định mật độ *L. casei* VTCC 186 trong sản phẩm Kefir chanh dây giàu probiotic.

MT07-Môi trường MRS muối mật (Muối mật - Simulated Intestinal Fluid: SIF bao gồm NaCl 9g/l, mật bò 3g/l, pH=6,5): dùng trong thí nghiệm kiểm tra khả năng chịu muối mật của hai sản phẩm.

MT08- Môi trường MRS dịch dạ dày nhân tạo (Dịch dạ dày nhân tạo - Simulated Gastric Juice: SGJ bao gồm NaCl 9g/l, pepsin 3g/l, pH=2): dùng trong thí nghiệm kiểm tra khả năng chịu dịch dạ dày nhân tạo của hai sản phẩm.

MT09-Môi trường cholesterol (cholesterol 100g, muối mật 30g, MRS 1L, pH=2): dùng trong thí nghiệm kiểm tra hấp thu cholesterol của hai sản phẩm.

Phương pháp

Kí hiệu: Mẫu A: Sản phẩm Kefir chanh dây giàu probiotic. Mẫu D: Sản phẩm Kefir chanh dây truyền thống

Khả năng chịu được điều kiện dịch dạ dày nhân tạo

Nguyên tắc: Các mẫu sẽ được cho vào môi trường dạ dày nhân tạo SGJ. Theo nghiên cứu của Zhou và cộng sự (2009) cho rằng giá trị pH 2 và pH 3 được xem là giới hạn quyết định trong sàng lọc các chủng vi sinh vật có khả năng sống sót. Thời gian xử lý mô phỏng theo thời gian lưu của thức ăn trong dạ dày từ 2 giờ đến 3 giờ [5].

Tiến hành: Chuẩn bị môi trường MRS dạ dày nhân tạo pH 2 cho vào các ống nghiệm và đem thanh trùng ở nhiệt độ 90°C trong 5 phút. Bổ sung dịch sản phẩm A, D sau khi đã lên men với tỷ lệ cấy giống 10%. Tiến hành xác định mật độ vi sinh vật bằng phương pháp cấy trải trên đĩa petri sau các khoảng thời gian: 0; 60; 120 phút.

Khả năng chịu muối mật

Nguyên tắc: Sản phẩm đạt tiêu chuẩn probiotic phải có vi sinh vật có khả năng sống và phát triển trên môi trường có bổ sung muối mật (một thành phần được tiết ra trong quá trình tiêu hóa thức ăn). Chính nhờ khả năng này mà vi khuẩn mới có thể tồn tại và phát triển trong cơ thể.

Tiến hành: Chuẩn bị môi trường MRS và bổ sung muối mật để đạt nồng độ cuối 0,3%. Cho vào các ống nghiệm vô trùng 10 mL MT07 rồi bổ sung 1 mL dịch mẫu A, D. Tiến hành xác định mật độ vi sinh vật bằng phương pháp cấy trải đĩa sau các khoảng thời gian: 0; 2; 4 giờ.

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn

Khảo sát khả năng kháng khuẩn của các vi sinh vật thử nghiệm đối với một số vi khuẩn gây hại như *B. subtilis*, *Salmonella* sp. theo phương pháp của Aslim và cộng sự (2005) [6].

Nguyên tắc: Thực hiện theo nguyên tắc khuếch tán trên đĩa thạch, nguyên tắc này dựa trên khả năng kháng các vi sinh vật chỉ thị của hai sản phẩm.

Tiến hành: Dịch sữa của hai sản phẩm sau khi được lên men tiến hành đem ly tâm 4000 rpm, 10 phút để thu dịch nổi bên trên. Các chủng *Salmonella* sp. và *B. subtilis* được nuôi cấy 12 giờ và cấy trải trên các đĩa môi trường NA (25ml/đĩa) với thể tích 20 μ L. Sau đó, sử dụng ống thép đã được vô trùng đục các lỗ đường kính 5 mm trên các đĩa thạch. Dịch của mẫu A, D được cho vào các lỗ thạch với thể tích 35 μ L. Đọc kết quả các đĩa thạch sau 12 giờ ủ ở 37°C.

Khả năng kháng khuẩn của hai sản phẩm được xác định dựa vào đường kính vòng vô khuẩn xuất hiện xung quanh lỗ thạch [7].

Khả năng chịu cholesterol

Tiến hành tương tự phương pháp xác định khả năng chịu dịch dạ dày nhân tạo nhưng bổ sung cholesterol để đạt nồng độ cuối 100 μ g/mL. Sau 2,5 giờ cấy đem mẫu xác định nồng độ

cholesterol còn lại và mật độ tế bào của mẫu A, D tại: 0; 1; 2 và 2,5 giờ bằng phương pháp trải đĩa.

Xác định hàm lượng cholesterol.

Tiến hành: Định lượng cholesterol trong môi trường như mô tả sau: Ly tâm dịch vi khuẩn sau 2,5 giờ nuôi cấy, thu nhận dịch nổi. 1ml dịch nổi, thêm 1ml KOH (33%) và 2 ml ethanol, vortex, ủ 60°C, 15 phút. Bổ sung 3ml hexane, lắc đều. Thêm 2ml nước cất, lắc đều. Hút 1 ml lớp hexane chuyển vào ống nghiệm. Làm tan trong 2ml 0-phthalaldehyde, 10 phút. Thêm 0,5ml H₂SO₄, lắc đều 1 phút. Đo OD 550 nm sau 60 phút. Đường chuẩn xây dựng giá trị cholesterol tuyến tính với giá trị OD đã được xây dựng trước đó. Dựa vào giá trị OD ở trên. Thế vào phương trình đường chuẩn suy ra hàm lượng cholesterol hiện diện trong dung dịch sau 20 giờ nuôi cấy [8].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

So sánh mật độ vi sinh trong hai sản phẩm

Kết quả mật độ LAB, nấm men của sản phẩm Kefir chanh dây truyền thống (mẫu D) với tỉ lệ cấy hạt Kefir 5% (w/v), sản phẩm Kefir chanh dây giàu probiotic bằng cách bổ sung vi khuẩn probiotic *L. casei* VTCC186 3% (v/v) với tỉ lệ cấy hạt 5% (w/v) dừng lên men chính tại độ chua 95⁰Th được thể hiện ở Bảng 1. Qua số liệu cho thấy khi tiến hành bổ sung *L. casei* VTCC186 để lên men về thời gian được rút ngắn đi đáng kể từ 12 giờ giảm còn 9,5 giờ và sản phẩm vẫn đạt về giá trị cảm quan. Ngoài ra, về chỉ tiêu vi sinh của sản phẩm: Mật độ vi khuẩn lactic và nấm men đều tăng tương ứng 1,99 và 2,01 lg(cfu/mL) so với sản phẩm Kefir chanh dây truyền thống. Sản phẩm sau lên men đạt được mật độ 9 lg(cfu/mL) (cả mật độ vi khuẩn lactic tổng lẫn mật độ chủng probiotic), đạt tiêu chuẩn probiotic của EU FAIR [9].

Bảng 1. Kết quả một số chỉ tiêu của hai sản phẩm

Các chỉ tiêu	Mẫu D	Mẫu A
Thời gian lên men (giờ)	12	9,5
Độ cồn (v/v)	1,15%±0,00	2,38%±0,00
Độ chua (⁰ Th)/pH	95/4,47	95/4,49
Mật độ LAB lg(cfu/mL)	7,78±0,00	9,77±0,01
Mật độ <i>L. casei</i> lg(cfu/mL)		9,71±0,00
Mật độ nấm men lg(cfu/mL)	5,98±0,03	7,99±0,00

Như vậy, với tỉ lệ cấy bổ sung vi khuẩn probiotic *L. casei* VTCC186 3% (v/v) làm mật độ LAB và nấm men tăng lên đáng kể.

Khả năng chịu được điều kiện dịch dạ dày nhân tạo

Với sự có mặt của sữa và mối quan hệ cộng sinh, sức sống của vi sinh vật trong điều kiện dịch dạ dày nhân tạo có thể sẽ thay đổi so với trong môi trường MRS. Do đó, chúng tôi đã tiến hành kiểm tra khả năng chịu dịch dạ dày nhân tạo ở pH 2 của hệ vi khuẩn lactic của các sản phẩm trong thời gian 120 phút. Kết quả mật độ vi sinh vật trong thời gian kiểm tra được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Kiểm tra khả năng chịu dịch dạ dày nhân tạo của hệ vi khuẩn lactic trong các sản phẩm.

Mẫu	Mật độ vi khuẩn lg(cfu/mL)		
	0 phút	60 phút	120 phút
D	7,24±0,01	3,08±0,00	2,85±0,00
A	8,19±0,02	4,51±0,01	4,26±0,01

Sau thời gian 120 phút trong điều kiện dịch dạ dày nhân tạo, các vi khuẩn lactic trong sản phẩm vẫn còn có khả năng sống sót với mật độ khá cao. Mẫu D có mật độ vi khuẩn lactic đạt 2,85±0,00 lg(cfu/mL) trong khi mẫu A đạt mật độ 4,26±0,01 lg(cfu/mL), tỷ lệ sống sót của 2 sản phẩm lần lượt là 39,36% và 52,01%.

Mặc dù chủng probiotic bổ sung *L. casei* VTCC 186 không có khả năng sống sót sau 90

phút trong điều kiện dịch dạ dày nhân tạo và hệ vi sinh vật trong hạt Kefir chỉ có một số chủng như chủng D3 – *L. pentosus* (đã được phân lập, định danh, sàng lọc qua các tiêu chí về hoạt tính probiotic trong mẫu hạt Kefir) có khả năng sống trong dịch dạ dày nhân tạo sau 120 phút nhưng hệ vi khuẩn lactic trong các sản phẩm vẫn có khả năng sống với tỷ lệ và mật độ khá cao trong môi trường dịch dạ dày nhân tạo. Ngoài ra, nấm men trong sản phẩm có thể phát triển ở điều kiện pH thấp chính là tác nhân hỗ trợ hệ vi khuẩn lactic chống chịu điều kiện pH thấp này. Chính mối quan hệ cộng sinh giữa hệ vi sinh vật này đã tăng cường khả năng sống sót của chúng. Sự tham gia có mặt của sữa trong sản phẩm đã góp phần bảo vệ vi sinh vật khỏi tác động của pH thấp và các enzyme. Các protein sữa khi đông tụ sẽ góp phần vào việc bảo vệ vi sinh vật hạn chế tiếp xúc với các enzyme tiêu hóa. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Al-Saleh và cộng sự (2006), khi bổ sung vào môi trường MRS nuôi cấy các chủng *B. infantis* DSM 20088 và chủng *B. angulatum* DSM 20098 thì nhận thấy tỷ lệ sống sót tăng lên đáng kể. Khi nuôi cấy trong môi trường MRS, chủng *B. infantis* DSM 20088 không có khả năng sống sót sau 1,5 giờ ở pH2 còn chủng *B. angulatum* DSM 20098 có tỷ lệ sống sót 26% trong cùng thời gian. Khi bổ sung 1% sữa gây vào môi trường MRS, tỷ lệ sống của 2 chủng này tương ứng là 98% và 95% sau 1,5 giờ, tỷ lệ này tương ứng là 89% và 42% sau 2 giờ xử lý với dịch dạ dày nhân tạo [10].

Như vậy, khả năng sống sót của hệ vi khuẩn lactic trong sản phẩm trong dịch dạ dày nhân tạo pH2 là khá cao. Do đó, có thể đánh giá rằng, hệ vi sinh vật này có thể di chuyển qua dạ dày đến khu trú và phát triển ở ruột non.

Kiểm tra khả năng chịu muối mật

Sau khi di chuyển qua dạ dày, thức ăn sẽ đến ruột non. Để có thể bám dính và khu trú ở ruột non, hệ vi sinh vật trong hạt phải có khả năng chống chịu lại muối mật. Muối mật là một chất

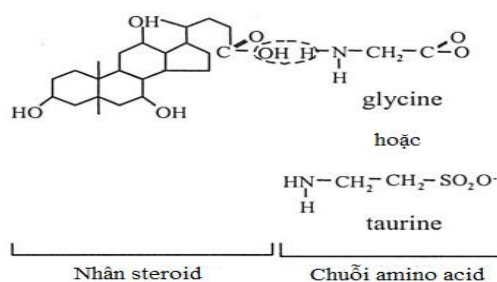
lông màu vàng xanh có thành phần chính bao gồm acid mật, cholesterol, phospholipid và được tổng hợp ở trung tâm của tế bào gan, trữ ở túi mật. Khi thức ăn đi vào dạ dày, muối mật sẽ được tiết ra và tham gia chủ yếu trong việc nhũ tương và hòa tan lipid, đóng vai trò quan trọng trong việc tiêu hóa chất béo. Tuy thế, muối mật có thể gây độc với tế bào vi sinh vật bằng các tương tác với màng [11].

Từ bảng 3 nhận thấy mật độ vi khuẩn lactic trong sản phẩm Kefir truyền thống và Kefir giàu probiotic đều tăng lên sau thời gian 4 giờ. Trong 2 giờ đầu, mật độ vi sinh vật tăng lên chậm vì đây là giai đoạn hệ vi sinh vật trong các sản phẩm thích nghi với môi trường có muối mật. Muối mật tác động đến các tế bào vi sinh vật sẽ làm hạn chế sự phát triển của chúng. Tuy nhiên, trong 2 giờ tiếp theo, tốc độ phát triển của các vi sinh vật tăng lên đáng kể. Nguyên nhân là do một số protein và enzyme trên màng tế bào vi khuẩn lactic có khả năng trung hòa tác động của muối mật bằng cách cắt đứt liên kết N-acyl giữa gốc steroid và chuỗi amino acid bên của acid mật (Hình 1) [11, 12].

Bảng 3. Kiểm tra khả năng chịu muối mật của hệ vi khuẩn lactic trong các sản phẩm.

Mẫu	Mật độ vi khuẩn lg(cfu/mL)		
	0 giờ	2 giờ	4 giờ
D	7,22±0,02	7,92±0,01	9,11±0,03
A	7,89±0,00	8,29±0,01	9,53±0,01

Kết quả này của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Al-Saleh và cộng sự (2006). Theo Al-Saleh (2006), trong thời gian 3 giờ đầu, tốc độ phát triển của *L. acidophilus* DSM 20079 và DSM 20242 trong môi trường MRS có bổ sung muối mật nồng độ 0,3% thay đổi không đáng kể, giá trị OD₆₂₀ ở mức ngang bằng so với thời điểm 0 giờ. Tuy nhiên, sau 5 giờ nuôi cấy, mật độ vi sinh vật tăng lên đáng kể và tiếp tục tăng lên sau 24 giờ khảo sát.



Hình 1. Cấu tạo của acid mật. [12]

Như vậy, hệ vi sinh vật trong các sản phẩm có khả năng thích nghi với điều kiện môi trường có sự hiện diện của muối mật. Do đó, có thể đánh giá hệ vi sinh vật này khi đến khu trú trong ruột non sẽ có khả năng phát triển mạnh mẽ.

Kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn

Khi đến khu trú và phát triển ở ruột non, các vi khuẩn probiotic phải thể hiện được các đặc tính chức năng của chúng. Một trong các đặc tính này bao gồm khả năng kháng lại vi sinh vật gây bệnh. Do đó, trong thí nghiệm này, chúng tôi đã tiến hành khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các sản phẩm với hai chủng vi sinh vật kiểm định là *B. subtilis* và *Salmonella* sp. Kết quả được thể hiện ở Bảng 4 và Hình 2.

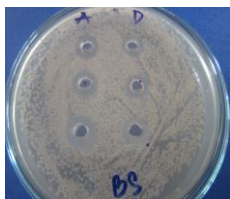
Kết quả cho thấy các sản phẩm đều có khả năng kháng khuẩn, khả năng kháng vi khuẩn Gram dương của các sản phẩm tốt hơn khả năng kháng vi khuẩn Gram âm. Mặt khác, sản phẩm truyền thống đã được chứng minh là có khả năng kháng *Salmonella* sp. Điều này phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả khác [13]. Sản phẩm Kefir chanh dây giàu probiotic có hoạt tính kháng khuẩn tăng cao hơn so với sản phẩm truyền thống, nguyên nhân có thể là do sự gia tăng mật độ vi sinh vật dẫn đến sự sụt giảm pH trong dịch sản phẩm cao hơn so với sản phẩm truyền thống. pH trong sản phẩm Kefir chanh dây giàu probiotic thấp hơn nên sẽ có khả năng kháng khuẩn mạnh mẽ hơn so với sản phẩm truyền thống. Hai sản phẩm này có khả năng kháng khuẩn là nhờ sự hiện diện của vi khuẩn lactic trong sản phẩm tham gia biến đổi cơ chất thành

acid lactic làm giảm pH, ức chế các loại vi sinh vật gây bệnh và lên men thối. Ngoài ra, trong quá trình lên men Kefir, một số sản phẩm khác cũng có vai trò ức chế sự phát triển của các vi sinh vật hiếu khí đường ruột như H₂O₂, CO₂, diacetyl, acetaldehyde và đặc biệt là bacteriocin [14].

Bảng 4. Đường kính vòng trong kháng khuẩn của hai sản với hai chủng kiểm định.

Mẫu	Đường kính vòng trong kháng khuẩn (mm)	
	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Bacillus subtilis</i>
D	7,17±0,29	8,00±0,00
A	10±0,00	11,67±0,29

Như vậy, hoạt tính kháng khuẩn của hai dòng sản phẩm đều có. Khả năng kháng cả vi khuẩn Gram dương và vi khuẩn Gram âm của Kefir chanh dây giàu probiotic cao hơn Kefir chanh dây truyền thống. Do đó, có thể kết luận rằng chúng tôi đã thành công bước đầu trong việc nâng cao chất lượng probiotic của sản phẩm.



Kháng *Bacillus subtilis*



Kháng *Salmonella* sp.

Hình 2. Khả năng kháng khuẩn *Bacillus subtilis* và *Salmonella* sp của mẫu A, D.

Khả năng chịu cholesterol

Nồng độ cholesterol đầu: 100 µg/mL. Qua phương pháp phân tích cho thấy nồng độ cholesterol sau 2,5 giờ của mẫu A, D lần lượt là: 71,2 µg/mL và 72,08 µg/mL. Kết quả từ bảng 5 cho thấy mật độ vi sinh vật giảm dần sau 2.5 giờ xử lý với môi trường có bổ sung cholesterol nồng độ 100 µg/mL, giảm từ 7,31±0,02 l g(cfu/mL) xuống còn 4,43±0,02 lg(cfu/mL) đối với mẫu A tương tự ở mẫu D giảm từ 6,23±0,04 l g(cfu/mL) xuống còn 3,89±0,11 l g(cfu/mL). Nguyên nhân là do cholesterol liên kết với màng tế bào vi sinh

vật sẽ làm tăng sức căng bề mặt màng tế bào dẫn đến sức sống của vi sinh vật giảm xuống. Ngoài ra, ở bảng 5 nhận thấy từ 0 giờ đến 2 giờ, mật độ vi khuẩn giảm mạnh và đến 2,5 giờ thì mật độ có sự tăng nhẹ trở lại cho thấy hai mẫu A, D có các vi khuẩn có hiện tượng chết lâm sàng có thể là do hệ vi sinh vật trong sản phẩm bị shock khi được cho vào môi trường MT09.

Bảng 5. Kết quả mật độ vi sinh vật của mẫu A, D trong MT09 trong 2,5 giờ.

Mẫu	Mật độ vi khuẩn lg(cfu/mL)			
	0 giờ	1 giờ	2 giờ	2.5 giờ
D	6,23±0,04	3,14±0,02	2,46±0,15	3,89±0,11
A	7,31±0,02	4,40±0,02	4,13±0,16	4,43±0,02

Bên cạnh đó, sự làm giảm cholesterol nhờ hệ vi sinh vật trong mẫu A, D sau 2,5 giờ (giảm 28,08% và 27,92% cholesterol) cho thấy có nhiều giả thuyết về khả năng loại cholesterol của hệ vi sinh vật trong sản phẩm nói chung cũng như hệ vi khuẩn lactic trong sản phẩm nói riêng. Sự phân giải các muối mật làm tăng sự hấp thu cholesterol và các chất béo qua lòng ruột, khi các muối mật được vi sinh vật phân giải tạo thành các acid mật tự do nhiều sẽ dẫn đến cholesterol ở gan tham gia sản xuất tạo acid mật để bù đắp cho lượng acid mật bị thất thoát. Cơ chế này cũng góp phần làm giảm lượng cholesterol. Ngoài ra việc phân giải muối mật tạo ra acid mật tự do còn làm phá vỡ các hạt cholesterol ổn định. Nguyên nhân do cholesterol đồng kết tủa với các acid mật tự do này ở các giá trị pH nhỏ hơn 5,5 tạo thành các chuỗi acid béo ngắn và được loại ra khỏi cơ thể qua phân.

Như vậy, từ kết quả trên cho thấy khả năng hấp thu cholesterol của hai sản phẩm và mẫu A có độ hấp thu cao hơn mẫu D là 0,16%.

KẾT LUẬN

Kefir được xem là một sản phẩm probiotic tự nhiên. Tuy nhiên, khi nâng cao giá trị probiotic của sản phẩm này cho thấy có sự cải thiện rõ rệt về hoạt tính. Cụ thể, mật độ vi khuẩn lactic và

nấm men đều tăng tương ứng 1,99 và 2,01 lg(cfu/mL) so với sản phẩm Kefir chanh dây truyền thống, hệ vi khuẩn lactic trong hai sản phẩm đều có khả năng sống trong điều kiện dịch dạ dày nhân tạo pH2 sau 120 phút với tỷ lệ sống sót lần

lượt là 39,36% và 52,01%, có khả năng chịu muối mật sau 4 giờ, có hoạt tính kháng *Salmonella* sp. cũng như *Bacillus subtilis* và làm giảm cholesterol đến 28,08% và 27,92%.

Survey of some probiotic activity of traditional passionfruit-Kefir and *Lactobacillus casei* VTCC186 – supplemented passion fruit – Kefir

- Quach Duc Tinh
- Tong Thanh Trung
- Nguyen Ngoc Duy
- Nguyen Thuy Huong

University of Technology, VNU-HCM

ABSTRACT

Kefir is fermented from lactic acid bacteria (LAB), yeasts and some other groups. It's is considered as a natural probiotic products. However, there is no clear evidence that proves the probiotic activity of traditional products In this study, we demonstrated its probiotic activity and made an effort to increase the probiotic activity by adding Lactobacillus casei VTCC186 into passionfruit-Kefir. The

density of LAB and yeast density increased 1,99 and 2,01 lg(cfu/mL) respectively compared with traditional passionfruit-Kefir. In addition, we also examined the gastric and bile salt tolerance of products' microbial flora. Gastric survival rate of traditional Kefir is 39,36% and enriched-probiotic Kefir is 52,01% after 2 hours. Moreover, products had strong antimicrobial activity and reduced cholesterol.

Keywords: Kefir, passionfruit, probiotic, *Lactobacillus casei* VTCC186.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. R.F. Edward, Kefir – a complex probiotic, Chief, *Food Science and Technology Bulletin: Funtional Foods*, Ifis, UK, 2, 1-17 (2005).
- [2]. R.F. Edward, A fermented milk product, *Handbook of fermented functional food*, CRC Press, New York, 89-118 (2008).
- [3]. L. Stepaniak, A. Fetlinski, Fermented milks Kefir, *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2, 1049-1054 (2004).

- [4]. O. Semih, C. Oz-em, Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects, *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 54-59 (2003).
- [5]. J. Zhou, X. Liu, H. Jiang, M. Dong, Analysis of the microflora in Tibetan Kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis, *Food Microbiology*, 26, 770-775 (2009).
- [6]. B. Aslim, et al, Determination of the bacteriocin-like substances produced by some lactic acid bacteria isolated from Turkish dairy products, *Food Science and Technology*, 38, 6, 691-694 (2005).
- [7]. A.Y. Tamine, Production of vitamins, exopolysaccharides and bacteriocins by probiotic bacteria, E. B O'connor, *Probiotic Dairy Product*, Blackwell Publishing, UK, 167-185 (2005).
- [8]. R.F. Edward, Health properties of milk fermented with *Lactobacillus casei* strain Shirota (LcS), K. Miyazaki, T. Matsuzaki, *Handbook of fermented functional foods*, CRC Press, New York, 166-207 (2008).
- [9]. Mattila-Sandholm, et al, Technological challenges for future probiotic foods, *International Dairy Journal*, 12, 2-3, 173-182 (2002).
- [10]. A.A. Al-Saleh, A.A.M. Metwalli, H.M. Abu-Tarboush, Bile Salts and Acid Tolerance and Cholesterol Removal from Media by some Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria, *J. Saudi Soc. For Food and Nutrition*, 1, 1-17 (2006).
- [11]. F. Mozzi, R.R. Raya, G.M. Vignolo, Safety of Lactic Acid Bacteria, Charles M.A.P., *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*, Blackwell Publishing, USA, 393 (2010).
- [12]. M. Begley, C. Hill, C.G.M. Gahan, Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics, *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 3, 1729-1738 (2006).
- [13]. S. Salminen, C. Bouley, M.C.B. Ruault, Functional food science and gastrointestinal physiology and function, *Brazil Journal of Nutrition*, 80, 147-171 (1998).
- [14]. A. Păucean, S. Carmen, Probiotic activity or mixed cultures of Kefir's *Lactobacilli* and non- lactose fermenting yeasts, *Bulletin UASVM, Agriculture*, 65, (2008).