

# Ảnh hưởng của quá trình đông hóa và thời gian bảo quản kem đá tới khả năng sống của vi khuẩn *Lactobacillus casei* và *Bifidobacterium bifidum*

Liêu Mỹ Đông<sup>1\*</sup>, Đặng Thị Kim Thúy<sup>2</sup>, Nguyễn Thuý Hương<sup>3</sup>

**Tóm tắt**— Vi khuẩn *Bifidobacterium bifidum* và *Lactobacillus casei* được bổ sung riêng lẻ vào trong kem đá có đông hóa hoặc không đông hóa. Các mẫu kem đá được bảo quản ở  $-18^{\circ}\text{C}$  trong 100 ngày và được kiểm tra mật độ trong suốt quá trình bảo quản và trong môi trường dạ dày (SGF) và muối mật (SIF) nhân tạo. Kết quả thu được cho thấy, mật độ vi khuẩn *Bifidobacterium bifidum* và *Lactobacillus casei* ở trong các mẫu kem đá đều giảm đi sau 100 ngày bảo quản. Quá trình đông hóa trong sản xuất kem đá đã ảnh hưởng đáng kể ( $p < 0,05$ ) đến mật độ của vi khuẩn probiotic trong quá trình bảo quản lạnh. Ngoài ra, điều kiện bảo quản lạnh đông đã ảnh hưởng đến mật độ vi khuẩn probiotic khi ủ trong môi trường SGF và SIF. Thời gian bảo quản càng dài thì mức nhạy cảm của vi khuẩn probiotic đối với môi trường SGF và SIF càng lớn. Nghiên cứu cũng cho thấy, ở điều kiện SGF, sự khác biệt giữa mẫu có đông hóa và không đông hóa chỉ có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) sau 100 ngày bảo quản kem đá.

**Từ khóa**— *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, kem đá, đông hóa, muối mật nhân tạo, dạ dày nhân tạo.

## 1 GIỚI THIỆU

Probiotic được định nghĩa là “những vi sinh vật sống mà khi dùng với số lượng thích hợp sẽ mang lại những lợi ích sức khỏe cho cơ thể chủ” [1]. Việc nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn probiotic

vào các sản phẩm thực phẩm ngày càng tăng cao và nhận rất nhiều quan tâm hiện nay [2,3,4]. Probiotic thường được bổ sung vào trong các sản phẩm sữa lên men hoặc không lên men như sữa chua, kem đá... và được xem như là các thực phẩm vừa giữ được hương vị truyền thống vừa mang lại những lợi ích cho sức khỏe [3,5]. Khác với các sản phẩm sữa lên men, sản phẩm kem đá không lên men ngoài giá trị dinh dưỡng cao thì đây cũng là sản phẩm có pH dao động gần pH7 nên là môi trường lý tưởng để đưa những vi khuẩn probiotic vào trong khẩu phần ăn của con người [3,5]. Tuy nhiên, sự có mặt của oxy trong quá trình sản xuất và quá trình bảo quản lạnh đông... được xem là những tác nhân chính gây nên những tác động đến mật độ của vi khuẩn probiotic [4,6].

Các nghiên cứu trước đây cho thấy, điều kiện bảo quản lạnh cùng với quá trình sản xuất kem đá làm hình thành nên cấu trúc xốp, tạo điều kiện cho oxy tiếp xúc và gây tổn thương tế bào vi khuẩn probiotic trong quá trình bảo quản [4,7]. Sự xuất hiện của oxy trong kem đá dẫn đến gây độc đối với vi khuẩn probiotic trong quá trình bảo quản [4]. Tuy nhiên, nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình sản xuất và điều kiện bảo quản kem đá tới khả năng sống của vi khuẩn probiotic cũng như những tác động của chúng lên khả năng chống chịu điều kiện dạ dày và muối mật nhân tạo theo thời gian bảo quản chưa được công bố đầy đủ. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng của quá trình đông hóa (“quay kem”) và nhiệt độ lạnh tới tỉ lệ sống của hai chủng vi khuẩn probiotic là *Lactobacillus casei* và *Bifidobacterium bifidum* bổ sung trong kem đá trong quá trình bảo quản. Ảnh hưởng của điều kiện bảo quản kem đá tới khả năng chống chịu điều kiện pH thấp và muối mật nhân tạo cũng được đánh giá trong nghiên cứu này.

Bài nhận ngày 20 tháng 4 năm 2016, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 10 tháng 4 năm 2017.

Liêu Mỹ Đông - Khoa Công nghệ thực phẩm, Đại học Công nghiệp Thực phẩm Tp Hồ Chí Minh (\*e-mail: lieudong289@gmail.com)

Đặng Thị Kim Thúy - Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Nguyễn Thuý Hương - Bộ môn Công nghệ Sinh học, trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Tp. HCM.

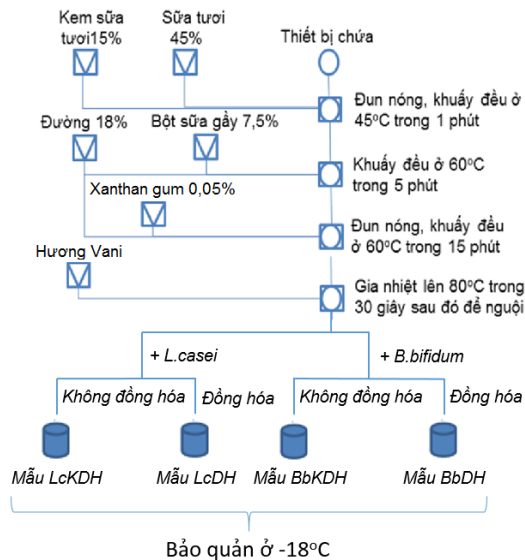
## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP.

### 2.1 Chủng vi sinh vật, điều kiện nuôi cấy và thu nhận

Giống vi khuẩn *Lactobacillus casei* VTCC AS186 và *Bifidobacterium bifidum* VTCC AS1.1886 từ bộ sưu tập giống của bộ môn Công nghệ Sinh học trường Đại học Bách khoa, Tp.HCM được nhân lên trên môi trường MRS ở 37°C sau 20 giờ (đối với *L.casei*) và 24 giờ (đối với *B.bifidum*) nuôi cấy, sinh khối được thu nhận và dùng cho quá trình tiếp theo.

### 2.2 Quy trình tạo kem đá

Quá trình tạo kem đá-probiotic được thực hiện theo mô tả của Homayouni và cộng sự (2008) [8] với một số thay đổi được trình bày tóm lược trong sơ đồ 1 (thành phần bổ sung dưới dạng v/v hoặc w/v). Thành phần nguyên liệu chính bao gồm: kem sữa tươi (President, Pháp, 12% béo), sữa tươi không đường (Vinamilk, Việt Nam 3,8% béo), đường (Biên Hòa, Việt Nam), bột sữa gầy tách béo (Devondale, Úc, 0,1% béo), xanthan gum (Himedia, Ấn Độ).



Hình 1. Quy trình tạo kem đá-probiotic

Kem đá sau khi được bổ sung vi khuẩn *L.casei* hoặc *B.bifidum*, bao gồm hai mẫu có đồng hóa bổ sung *L.casei* (mẫu LcDH) hoặc *B.bifidum* (mẫu BcDH) và hai mẫu không đồng hóa bổ sung *L.casei* (mẫu LcKDH) hoặc *B.bifidum* (mẫu BbKDH). Các mẫu sau đó được bảo quản ở điều kiện -18°C. Mật độ vi khuẩn *L.casei* và *B.bifidum* trong kem đá được xác định trước khi bảo quản và sau mỗi 20 ngày trong suốt 100 ngày bảo quản.

Quá trình đồng hóa trong khảo sát này là công đoạn “quay kem” nhằm mục đích gia tăng cấu trúc xốp của sản phẩm kem đá. Mẫu đồng hóa có thể tích sau công đoạn “quay kem” cao hơn 60% so với ban đầu. Sự khác biệt về thể tích giữa mẫu đồng hóa và không đồng hóa được tính thông qua giá trị “overrun” theo công thức sau [7]:

$$\text{Overrun} = \frac{V_{hh} - V_{bd}}{V_{bd}} \times 100\%$$

Trong đó:

$V_{hh}$ : Thể tích của hỗn hợp kem sau đồng hóa

$V_{bd}$ : Thể tích của kem trước khi đồng hóa

### 2.3 Khảo sát khả năng sống của *L.casei* và *B.bifidum* trong điều kiện SGF và SIF

Môi trường dạ dày nhân tạo (Simulated Gastric Fluid: SGF) bao gồm 9 g/l NaCl + 3 g/l pepsin điều chỉnh pH về 2,5 bằng HCl 5M và muối mật nhân tạo (Simulated Intestinal Fluid: SIF) bao gồm 9 g/l NaCl + 3 g/l muối mật điều chỉnh đến pH 7 bằng NaOH 5M. *L.casei* và *B.bifidum* có trong kem đá được kiểm tra mật độ sau 2 giờ ủ ở điều kiện SGF và sau 4 giờ ủ ở điều kiện SIF. Tỷ lệ tế bào sống được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ sống } \% = \frac{\log \text{CFU/g Sau khi ủ}}{\log \text{CFU/g Trước khi ủ}} \times 100\%$$

Các mẫu sản phẩm được kiểm tra định kỳ sau khi tạo kem đá và sau 20, 60 và 100 ngày bảo quản.

### 2.4 Phân tích thống kê

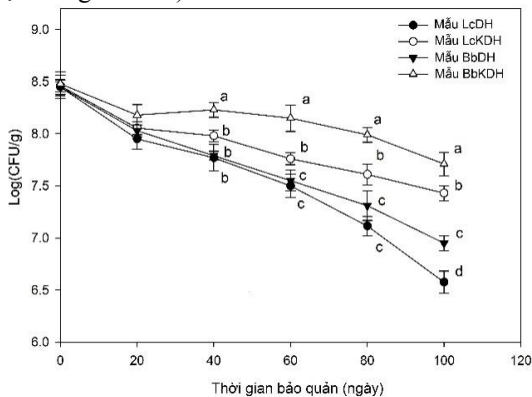
Số lượng tế bào sống được kiểm tra gián tiếp bằng phương pháp trải đĩa. Các thí nghiệm được lặp lại ba lần để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và kiểm định Tukey HSD dùng để so sánh sự khác biệt giữa các nhóm. Số liệu được xử lý thông qua phần mềm Statgraphics centurion 15.1.

## 3 KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN.

### 3.1 Ảnh hưởng của thời gian bảo quản tới mật độ của *L.casei* và *B.bifidum*

Mật độ tế bào *L.casei* và *B.bifidum* theo thời gian bảo quản được trình bày ở hình 1. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mật độ vi khuẩn probiotic của cả bốn mẫu đều sụt giảm theo thời gian bảo quản trong đó mẫu đồng hóa (LcDH và BbDH) cho tỷ lệ sống thấp hơn so với mẫu không đồng hóa (LcKDH và BbKDH). Mật độ vi khuẩn probiotic ở bốn mẫu LcDH; LcKDH; BbDH và BbKDH ban đầu đạt 8,45; 8,46; 8,45 và 8,48 log CFU/g, sau 100 ngày bảo quản, sự khác biệt giữa các mẫu có ý nghĩa

( $p < 0,05$ ) với mật độ tương ứng giảm còn 6,57; 7,43; 6,95; và 7,71 log CFU/g (hình 1). Nhìn chung, mật độ của vi khuẩn probiotic ở cả bốn mẫu đều giảm nhanh sau 20 ngày bảo quản. Mẫu BbKDH cho mật độ probiotic ổn định và có sự khác biệt ( $p < 0,05$ ) so với các mẫu khác sau 40 ngày bảo quản và sau 60 ngày bảo quản ở cả hai mẫu không đồng hóa (BbKDH và LcKDH) đều cho mật độ vi khuẩn probiotic cao hơn so với mẫu có đồng hóa (BbDH và LcDH) (hình 1). pH của bốn mẫu kem đá đều giảm nhẹ theo thời gian bảo quản từ 6,3 ban đầu giảm còn 5,9 và không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ) giữa các mẫu (số liệu không thể hiện trong bài báo).



Hình 2. Mật độ vi khuẩn probiotic theo thời gian bảo quản. (abc tại cùng một thời điểm trong quá trình bảo quản, những giá trị dính kèm với những chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ))

Điều kiện bảo quản có ý nghĩa quan trọng đối với vi khuẩn probiotic. Các chủng vi khuẩn này phải đảm bảo ổn định trong suốt quá trình bảo quản và đạt trên 6 log CFU/g sản phẩm [9]. Kem đá bổ sung probiotic thường có pH cao hơn so với kem đá lên men. Nghiên cứu của Gulden và cộng sự (2006) cho thấy, kem đá lên men có pH vào khoảng 5,0 ÷ 5,5 trong khi kem đá bổ sung probiotic có pH vào khoảng 5,7 ÷ 6,6. Điều kiện pH này sẽ không gây ảnh hưởng đến vi khuẩn probiotic vốn rất nhạy cảm với điều kiện pH thấp [5].

Các nghiên cứu trước đây đều cho thấy vi khuẩn probiotic có thể tồn tại trong kem đá suốt thời gian bảo quản ở điều kiện -18 đến -25°C [2,5,7]. Tuy nhiên, mật độ của vi khuẩn probiotic đã sụt giảm nhiều trong quá trình bảo quản. Eliana và cộng sự (2013) cho rằng, thành phần của kem đá như hàm lượng béo trong kem đá không ảnh hưởng đến mật độ của vi khuẩn probiotic trong quá trình sản xuất, trong quá trình bảo quản kem đá cũng như trong điều kiện muối mật và dạ dày nhân tạo [3]. Tương

tự, loại đường cũng không ảnh hưởng đến khả năng sống sót của vi khuẩn probiotic, tuy nhiên, quá trình sản xuất (lên men hoặc không lên men) có ảnh hưởng đến số lượng probiotic ban đầu [5]. Điều này cho thấy, đối với kem đá probiotic thì điều kiện bảo quản lạnh và sự xuất hiện của oxy trong quá trình sản xuất kem đá là tác nhân chính gây chết tế bào vi khuẩn probiotic [4,8].

Hiện tượng mật độ vi khuẩn probiotic giảm mạnh trong thời gian đầu của quá trình bảo quản cũng đã được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đây [7,8]. Theo Reza và cộng sự (2011), sự sụt giảm mật độ probiotic gây ra trong giai đoạn sản xuất và quá trình bảo quản kem đá [10]. Nghiên cứu của Haroldo và cộng sự (2007) cho thấy, mật độ vi khuẩn probiotic giảm nhanh trong quá trình làm lạnh khi bổ sung vào kem đá [7]. Ordonez và cộng sự (2000) cho rằng, tác động đột ngột của điều kiện lạnh dẫn đến thay đổi đột ngột áp suất thẩm thấu là nguyên nhân gây chết tế bào [6]. Ngoài ra, sự tan chảy trong quá trình tiêu thụ sản phẩm cũng là nguyên nhân gây chết vi khuẩn probiotic do quá trình đông đá kết hợp với sự tan chảy tạo ra những nhân tố có hại đối với vi khuẩn probiotic như ion  $H^+$ , acid hữu cơ... [10].

Trong nghiên cứu này, mật độ vi khuẩn probiotic ở cả bốn mẫu đều giảm nhanh sau 20 ngày bảo quản (hình 1). Quá trình đông lạnh có thể gây chết tế bào do tác động lên thành tế bào hoặc phá vỡ màng tế bào, điều này là do sự hình thành các tinh thể băng bên trong tế bào hoặc bên ngoài tế bào và từ các chất hòa tan bên trong môi trường ngoài tế bào [8,12].

Ngoài tác động của điều kiện lạnh, oxy cũng là nguyên nhân chính gây nên tình trạng sống kém của probiotic trong quá trình bảo quản [13]. Với cấu trúc xốp đặc trưng, sản phẩm kem đá mang trong đó một lượng lớn oxy, là chất độc đối với chủng *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* [13]. Ordonez và cộng sự (2000) cho rằng sự xuất hiện của oxy trong sản phẩm là nguyên nhân khiến cho mật độ vi khuẩn probiotic giảm trong quá trình bảo quản. Quá trình sản xuất kem đá đã tác động đến lượng oxy trong sản phẩm, làm ảnh hưởng đến khả năng sống sót của vi khuẩn probiotic. Nghiên cứu của Juliana và cộng sự (2012) khảo sát khả năng sống sót của vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* trong kem đá với giá trị “overrun” đạt 45%, 60%, và 90%. Kết quả cho thấy, ở giá trị “overrun” là 90% và 60% mật độ tế bào sụt giảm tương ứng 2 log và 1 log sau 60 ngày bảo quản trong khi ở giá trị “overrun” 45%, mật độ tế bào không thay đổi trong suốt quá trình bảo quản. Các giá trị

“overrun” khác nhau không ảnh hưởng đến cảm quan của sản phẩm [4]. Tương tự, với giá trị “overrun” là 95%, nghiên cứu của Homayouni và cộng sự (2008) cho thấy mật độ vi khuẩn *Bifidobacteriulactis* (Bb-12) và *Lactobacillus casei* (Lc-01) trong kem đá giảm mạnh tương ứng 2,9 log CFU/g và 3,4 log CFU/g sau 180 ngày bảo quản [8]. Mật độ của vi khuẩn *L.plantarum* trong kem đá với giá trị “overrun” đạt khoảng 64% sau 90 ngày bảo quản chỉ còn dưới 6 log CFU/g từ 8,3 log CFU/g ban đầu cũng đã được báo cáo bởi Hoda và cộng sự (2014) [7].

Kết quả tương tự cũng thu được trong nghiên cứu này cho thấy, với giá trị “overrun” là 60% ở các mẫu đồng hóa đều cho tỉ lệ sống của vi khuẩn probiotic thấp hơn so với mẫu không đồng hóa ở cùng điều kiện bảo quản (hình 1). Điều này là do quá trình đông lạnh kết hợp với khuấy trộn trong giai đoạn làm kem đá đã làm gia tăng lượng oxy gây ảnh hưởng tiêu cực đến mật độ của vi khuẩn probiotic. Nghiên cứu này cũng cho thấy, sau 100 ngày bảo quản ở các mẫu đều có mật độ vi khuẩn probiotic đạt yêu cầu về sản phẩm bổ sung probiotic (hình 1).

### 3.2 Ảnh hưởng của quá trình đồng hóa, thời gian bảo quản tới khả năng chống chịu điều kiện SGF và SIF của *L.casei* và *B.bifidum*

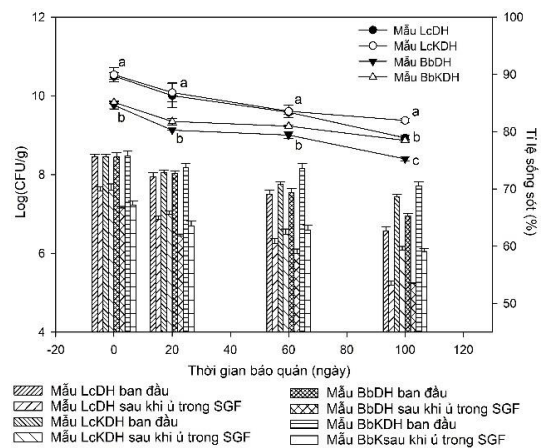
Ảnh hưởng của điều kiện SGF và SIF cũng như tỉ lệ sống sót của vi khuẩn *L.casei* và *B.bifidum* theo thời gian bảo quản được trình bày ở hình 2 và hình 3 (biểu đồ cột là mật độ vi khuẩn Log CFU/g; đồ thị đường là tỉ lệ sống sót của vi khuẩn theo thời gian bảo quản).

Ở điều kiện SGF, tỉ lệ sống sót của vi khuẩn probiotic trước và sau khi ủ trong SGF giảm đi theo thời gian bảo quản sản phẩm. Tỉ lệ sống sót của vi khuẩn probiotic trong các mẫu LcDH; LcKDH; BbDH và BbKDH trước khi bảo quản đạt tương ứng 89,70%; 89,95%; 84,62% và 85,14%, sau 100 ngày bảo quản, tỉ lệ sống sót của vi khuẩn probiotic giảm đi ( $p<0,05$ ) tương ứng còn 78,93%; 81,96%; 75,25% và 78,47%. Trong quá trình bảo quản, mẫu chứa vi khuẩn *B.bifidum* cho mật độ tế bào cao hơn ( $p<0,05$ ) so với mẫu chứa vi khuẩn *L.casei* (hình 1). Tuy nhiên, khả năng sống sót của *B.bifidum* trong môi trường SGF thấp hơn ( $p<0,05$ ) so với *L.casei* (hình 2). Sự khác biệt giữa mẫu đồng hóa và không đồng hóa không có ý nghĩa ( $p>0,05$ ) trong suốt 60 ngày bảo quản và sự khác biệt ( $p<0,05$ ) này chỉ có ý sau 100 ngày bảo quản kem đá (hình 2).

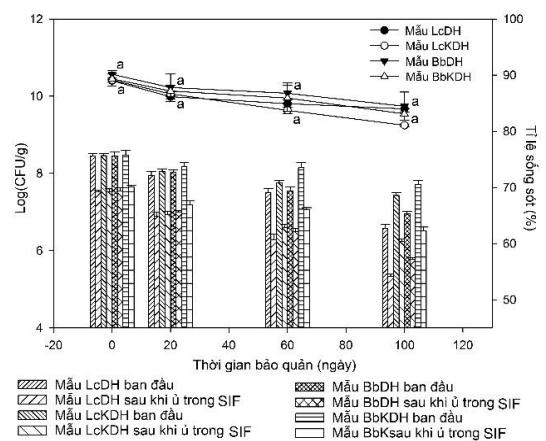
Ở điều kiện SIF, tương tự như ở điều kiện SGF,

tỉ lệ sống sót của vi khuẩn probiotic trước và sau khi ủ trong SIF giảm đi ( $p<0,05$ ) theo thời gian bảo quản. Tuy nhiên, tỉ lệ vi khuẩn probiotic sống sót trong điều kiện SIF cao hơn so với điều kiện SGF (hình 2 và 3).

Tỉ lệ sống sót của vi khuẩn probiotic ở bốn mẫu LcDH; LcKDH; BbDH và BbKDH trước khi bảo quản đạt tương ứng 89,01%; 89,12%; 90,16% và 89,35% sau 100 ngày bảo quản còn 83,98%; 81,07%; 84,45% và 83,09% (hình 2). Khác với điều kiện SGF, ở điều kiện SIF sau 100 ngày bảo quản, sự khác biệt giữa mẫu đồng hóa và không đồng hóa không có sự khác biệt về mật độ thống kê (hình 3).



Hình 3. Mật độ vi khuẩn probiotic trước và sau khi ủ trong môi trường SGF theo thời gian bảo quản. (abc tại cùng một thời điểm của quá trình ủ trong điều kiện SGF, những giá trị đính kèm với những chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ))



Hình 4. Mật độ vi khuẩn probiotic trước và sau khi ủ trong môi trường SIF theo thời gian bảo quản. (abc tại cùng một thời điểm của quá trình ủ trong điều kiện SIF, những giá trị đính kèm với những chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ))

Sau quá trình bảo quản thì điều kiện pH thấp trong dạ dày, muối mật từ dịch ruột... là một trong những tác nhân lớn ảnh hưởng khả năng sống của vi khuẩn probiotic [14]. Khả năng chịu được điều kiện muối mật và dạ dày khác nhau tùy theo chủng và điều kiện kiểm tra (trước hay sau khi bổ sung vào sản phẩm, nồng độ muối mật, giá trị pH) [2,5]. Theo Eliana và cộng sự (2013), pH trong điều kiện dạ dày dao động từ 1,5 đến 4,5 và giá trị này thay đổi phụ thuộc vào thời điểm ăn và loại thực phẩm. Ngoài pH thấp, enzyme tiêu hóa (pepsin) trong dạ dày cũng đã tác động đáng kể đến vi khuẩn. Pepsin kết hợp với pH thấp (từ 2,5 đến 3,5) đã làm tăng hiệu quả tiêu diệt vi khuẩn nhờ vào việc phân giải protein và hiệu quả kháng *E.coli* của pepsin có liên hệ đến pH và nồng độ enzyme sử dụng [15].

Ngoài điều kiện SGF, điều kiện muối mật cũng gây tác động đến vi khuẩn probiotic. Muối mật gây tác động lên màng tế bào vi khuẩn, làm giảm pH nội bào, gây co màng nguyên sinh và vi khuẩn gram dương dễ tác động bởi điều kiện muối mật nhiều hơn vi khuẩn gram âm [14].

Nghiên cứu của Cristina và cộng sự (2002) cho thấy, *L.johnsonii* La1 dạng tươi có khả năng sống trong điều kiện muối mật cao hơn so với dạng bảo quản lạnh nhưng sự khác biệt này chưa đủ để xác định sự tổn thương là do quá trình lạnh đông gây ra. Nhóm nghiên cứu cũng cho rằng không có sự khác biệt về mức độ nhạy cảm của chủng dạng tươi và dạng bảo quản lạnh trong điều kiện SGF [2]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi đồng tình với báo cáo của Priscilla và cộng sự (2014) cho rằng *Bifidobacterium animalis* trong kem đá sau 120 ngày bảo quản nhạy cảm với môi trường SGF hơn ( $p < 0,05$ ) so với 30 ngày bảo quản [16]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, điều kiện bảo quản đã ảnh hưởng đến mật độ vi khuẩn khi ủ trong môi trường SGF và SIF. Thời gian bảo quản càng dài thì mức nhạy cảm của vi khuẩn probiotic đối với môi trường SGF và SIF càng lớn (hình 2 và 3). Theo chúng tôi, điều này là do quá trình bảo quản lạnh theo thời gian dài đã gây tổn thương tế bào vi khuẩn do đó làm tăng tính nhạy cảm của các chủng vi khuẩn này đối với môi trường SGF và SIF. Sự khác biệt giữa mẫu có đông hóa và không đông hóa chỉ có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) sau 100 ngày bảo quản với môi trường SGF (hình 2). Tuy nhiên, sự khác biệt này không đủ để cho thấy oxy có ảnh hưởng đến khả năng chống chịu của vi khuẩn probiotic trong môi trường SGF.

#### 4 KẾT LUẬN.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, kem đá là một môi

trường lý tưởng để đưa vi khuẩn probiotic vào trong khẩu phần ăn của con người. Tuy nhiên, quá trình đông hóa trong sản xuất kem đá và điều kiện bảo quản kem đá ảnh hưởng đến khả năng sống sót của *L.casei* và *B.bifidum*. Quá trình đông hóa trong sản xuất kem đá đã ảnh hưởng đến khả năng sống sót của *L.casei* và *B.bifidum* trong quá trình bảo quản kem đá so với mẫu không đông hóa. Điều kiện lạnh (-18°C) trong quá trình bảo quản kem đá đã làm ảnh hưởng đến khả năng chống chịu điều kiện SGF và SIF của *L.casei* và *B.bifidum*. Quá trình bảo quản càng dài, khả năng chống chịu của vi khuẩn probiotic với môi trường SGF và SIF càng thấp, trong đó sự khác biệt ở giữa mẫu có đông hóa và không đông hóa sau 100 ngày bảo quản chỉ có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) khi kiểm tra trên môi trường SGF.

#### REFERENCES

- [1]. FAO/WHO Experts' Report, Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, 2001.
- [2]. Cristina Alamprese, Roberto Foschino, Margherita Rossi, Carlo Pompei, Lorena Savani. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. *International Dairy Journal*, 12, 201–208, 2002.
- [3]. Eliana dos Santos Leandroa, Emiliane Andrade de Araújo, Lisiane Lopes da Conceição, Célia Alencar de Moraes, Antônio Fernandes de Carvalho., Survival of *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 in ice cream produced with different fat levels and after submission to stress acid and bile salts. *Journal of functional foods*, 5(2013),503–507
- [4]. Juliana L. Ferraz, Adriano G. Cruz, Rafael S. Cadena, Monica Q. Freitas, Uelinton M. Pinto, Celio C. Carvalho, Jose A.F. Faria, and Helena M.A. Bolini., Sensory Acceptance and Survival of Probiotic Bacteria in Ice Cream Produced with Different Overrun Levels. *Journal of Food Science*, 71 (2012), 24-28
- [5]. Gulden Baoyifit, Hakan Kuleaoan, Aynur G. Karahan., Viability of human-derived probiotic lactobacilli in ice cream produced with sucrose and aspartame, *J Ind Microbiol Biotechnol*, 33 (2006), 796–800
- [6]. Ordóñez G, Jeon I and Roberts H (2000) Manufacture of frozen yogurt with ultrafiltered milk and probiotic lactic acid bacteria. *Journal of Food Processing and Preservation* 24 163–176.
- [7]. Hoda S. EL-Sayed, Heba H. Salama and Samah M. EL-Sayed, Production of Synbiotic Ice Cream. *Int.J. ChemTech Res.*, 2014-15, 07 (01), pp 138-147
- [8]. Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M.R., Yarmand, M.S., Razavi, S.H., 2008. Effect of micro-encapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111, p 50–55

- [9]. Granato D, Branco GF, Cruz AG, Faria JAF, Shah NP. 2010. Probiotic dairy products as functional foods. *Comp Rev Food Sci Food Saf* 9:455–70.
- [10]. Haroldo Magariños, Sade Selaive, Marcia Costa, Mirtza Flores, Olivia Pizarro., Viability of probiotic microorganisms (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. Lactis Bb-12) in ice cream. *International Journal of Dairy Technology*, 60 (5) (2007), 128-134
- [11]. Reza Mohammadi, Amir Mohammad Mortazavian, Roya Khosrokhavar, Adriano Gomes da Cruz., Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties, *Ann Microbiol* 61(2011):411–424
- [12]. Gill CO. 2006. Microbiology of frozen foods. In: S Da-Wen, editor. Handbook of frozen food processing and packaging. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p. 85–100
- [13]. Talwalkar. A and Kailasapathy. K., 2006. A Review of Oxygen Toxicity in Probiotic Yogurts: Influence on the Survival of Probiotic Bacteria and Protective Techniques. *Institute of Food Technologists*; 3, p 117-124
- [14]. Begley M, Gahan CGM, Hill C (2005) The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev* 29(4):625–651
- [15]. Zhu. H, Hart. C. A, Sales. D and Roberts. N. B., Bacterial killing in gastric juice – effect of pH and pepsin on *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori*, *Journal of Medical Microbiology* (2006), 55, 1265–1270
- [16]. Priscilla Diniz Lima da Silva, Maria de Fátima Bezerra, Karina Maria Olbrich dos Santos, Roberta

Targino Pinto Correia., Potentially probiotic ice cream from goat's milk: Characterization and cell viability during processing, storage and simulated gastrointestinal conditions. *LWT - Food Science and Technology* 62 (1), p452-457, (2015),

**Liêu Mỹ Đông** sinh năm 1982 tại thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam. Thạc sỹ chuyên ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Bách khoa Tp HCM, Việt Nam vào năm 2011. Hiện đang công tác tại Trường đại học Công nghiệp Thực phẩm TpHCM.

**Đặng Thị Kim Thúy** sinh năm 1986 tại thành phố Long Xuyên, Việt Nam. Thạc sỹ chuyên ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Bách khoa Tp HCM, Việt Nam vào năm 2011. Hiện đang công tác tại Viện sinh học nhiệt đới TpHCM.

**Nguyễn Thúy Hương** sinh năm 1967 tại thành phố Đà Lạt, Việt Nam năm. Tiến sĩ chuyên ngành Vi sinh, Trường đại học Khoa học Tự nhiên vào năm 2006. Năm 2010 được công nhận chức danh Phó Giáo sư. Hiện đang công tác tại Trường Đại học Bách khoa Tp HCM.

# The influence of homogenization and storage time on the viability of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum* ice cream

Liêu Mỹ Đông<sup>1\*</sup>, Đặng Thị Kim Thúy<sup>2</sup>, Nguyễn Thúy Hương<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Food Technology, University of Food Industry, Ho Chi Minh city

<sup>2</sup> Institute of Tropical Biology, Ho Chi Minh city

<sup>3</sup> Department of Biotechnology, Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam National University – Ho Chi Minh City

**Abstract**— *Bifidobacterium bifidum* or *Lactobacillus casei* were added independently into ice cream with or without homogenization. The viability of probiotic bacteria during storage, in simulated gastric fluid (SGF) and simulated intestinal fluid (SIF) was investigated. The results showed that the viability of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus casei* in ice cream samples was significantly decreased during 100 days of storage. The homogenization in ice cream processing was a significant effect on the survival of *L.casei* and *B.bifidum* during frozen storage time. In addition, frozen storage time affected the viability of these strain when incubating in SGF and SIF conditions. The longer storage time, the more sensitive probiotic in SGF and SIF condition. The result also indicated, in SGF condition, the difference between homogenization and non-homogenization samples was only statistically significant ( $p < 0,05$ ) after 100 days of storage.

**Index Terms**— *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, ice cream, homogenization, frozen storage.