

Cải thiện khả năng sống sót của *Lactobacillus plantarum* VAL6 bằng đáp ứng thích nghi với sốc môi trường

Nguyễn Hữu Thanh^{1*}, Nguyễn Thành Dũng², Nguyễn Phú Thọ¹, Nguyễn Thị Tố Uyên³, Bùi Nhi Bình³, Phạm Thúy Vy³, Nguyễn Hoàng Tính³, Đặng Chí Thiện³, Nguyễn Thị Bích Như³

¹Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 18 Ung Văn Khiêm, phường Đồng Xuân, TP Long Xuyên, tỉnh An Giang, Việt Nam

²Trường THPT Nguyễn Trung Trực - Kiên Giang, 393 Nguyễn Bình Khiêm, phường Vĩnh Thanh, TP Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam

³Trung tâm Ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ, Sở Khoa học và Công nghệ Cần Thơ, 166 Nguyễn Văn Cừ, phường An Bình, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

Ngày nhận bài 8/9/2021; ngày chuyển phản biện 13/9/2021; ngày nhận phản biện 1/10/2021; ngày chấp nhận đăng 14/10/2021

Tóm tắt:

Để chứng minh sự thích nghi của vi khuẩn lactic (LAB) với sốc môi trường có thể cải thiện khả năng sống sót của tế bào trong quá trình sấy đông khô, chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* VAL6 được nuôi cấy dưới các điều kiện gây sốc khác nhau như nhiệt độ, pH và sự tăng nồng độ CO₂. Kết quả phân tích mật số cho thấy, vi khuẩn này có khả năng sống sót ở các điều kiện môi trường khắc nghiệt như pH 2,5, nhiệt độ 47°C và điều kiện yếm khí do CO₂ tạo ra. Đặc biệt, việc nuôi cấy tăng cường CO₂ có thể kích thích làm tăng mật số của *L. plantarum* VAL6 (đạt 9,4 so với 9 LogCFU/ml ở điều kiện nuôi cấy bình thường). Sau khi tế bào được thích nghi với sốc môi trường ở pH 3,5, tỷ lệ sống sót sau sấy đông của *L. plantarum* VAL6 đạt cao nhất là 28% (cao hơn khoảng 2.500 lần so với đối chứng không gây sốc). Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng sử dụng sốc môi trường để cải thiện tỷ lệ sống sót của chủng giống LAB khởi động cho các ứng dụng thực phẩm.

Từ khóa: *Lactobacillus plantarum*, sốc môi trường, vi khuẩn lactic.

Chỉ số phân loại: 2.10

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, probiotic đã được ứng dụng rộng rãi trong ngành công nghệ thực phẩm và dược phẩm nhờ những lợi ích sức khỏe mà nó mang lại. Nhiều chế phẩm probiotic thương mại hiện nay là thành viên của LAB [1, 2]. Nhiều LAB quen thuộc và được công nhận an toàn thuộc chi *Lactobacillus*, thường được sử dụng trong quá trình lên men rau, trái cây và sữa [3]. *Lactobacillus* cũng có mặt như một hệ vi sinh vật niêm mạc bình thường của người và động vật. Chúng chủ yếu là ưa hoặc kỵ khí, không gây bệnh và thích điều kiện có tính axit của đường tiêu hóa. Các nghiên cứu cho thấy tiêu thụ lợi khuẩn *Lactobacillus* giúp duy trì sức khỏe và ngăn ngừa nhiễm trùng đường ruột [4]. Do đó, các loài *Lactobacillus* được sử dụng phổ biến nhất trong các chế phẩm probiotic bao gồm: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri* và *Lactobacillus rhamnosus* [5, 6].

Trong các ứng dụng thực phẩm và dược phẩm, chế phẩm probiotic dạng bột vi khuẩn sẽ thuận tiện hơn trong vận chuyển và kết hợp vào các hoạt động chế biến khác như phối trộn và đóng viên [7, 8]. So với sản phẩm dạng lỏng, chế phẩm dạng bột có lợi thế trong việc duy trì hoạt động của các thành phần có hoạt tính sinh học, giúp kéo dài thời hạn sử dụng của sản phẩm [9]. Tuy nhiên, hiệu suất sản xuất

và mật số sống sót của LAB trong quá trình sấy khô bảo quản thường không cao nên giá thành sản xuất cao và thời gian bảo quản ngắn. Một nghiên cứu đã chứng minh khả năng sống sót của *L. plantarum* sau khi sấy phun chỉ khoảng 0,85% [10]. Tỷ lệ sống sót sau sấy thấp, thời gian bảo quản ngắn nên sẽ đẩy giá thành lên rất cao, làm hạn chế khả năng sử dụng của chế phẩm probiotic.

Sự sống sót của vi khuẩn probiotic trong quá trình sản xuất và sử dụng phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, chẳng hạn như lựa chọn chủng, điều kiện nuôi cấy, môi trường lên men, điều kiện sấy khô và lựa chọn chất nền thực phẩm để đảm bảo vi khuẩn sống sót đi đến đường ruột. Trạng thái sinh lý thích nghi với môi trường nuôi cấy cũng có thể là một yếu tố chính ảnh hưởng đến khả năng tồn tại của vi khuẩn probiotic. Chẳng hạn như cảm ứng thích nghi với các sốc môi trường có thể cải thiện khả năng chống lại quá trình lạnh đông và làm khô ở vi khuẩn. Để tạo ra phản ứng thích nghi của tế bào, người ta đã cố gắng nuôi cấy *Lactobacillus* trong các điều kiện dưới ngưỡng gây chết, bao gồm sử dụng nhiệt độ cao và thấp, thay đổi pH, ôxy và áp suất thẩm thấu, cũng như bổ sung các chất ức chế như muối mật [11-13].

Trong nghiên cứu này, để chứng minh sự thích nghi của LAB với sốc môi trường có thể cải thiện khả năng sống sót của tế bào trong quá trình sấy đông khô, chủng vi khuẩn

*Tác giả liên hệ: Email: nhuuthanh@agu.edu.vn

Improving the viability of *Lactobacillus plantarum* VAL6 using environmental-stress adaptation

Huu Thanh Nguyen^{1*}, Thanh Dung Nguyen²,
Phu Tho Nguyen¹, Thi To Uyen Nguyen³,
Nhi Binh Bui³, Thuy Vy Pham³, Hoang Tinh Nguyen³,
Chi Thien Dang³, Thi Bich Nhu Nguyen³

¹An Giang University, Vietnam National University - Ho Chi Minh City,

18 Ung Van Khiem Street, Dong Xuyen Ward, Long Xuyen City, An Giang Province, Vietnam

²Nguyen Trung Truc High School - Kien Giang,

393 Nguyen Binh Khiem Street, Vinh Thanh Ward, Rach Gia City, Kien Giang Province, Vietnam

³Science and Technology Application Center, Can Tho City Department of Science and Technology,

166 Nguyen Van Cu Street, An Binh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

Received 8 September 2021; revised 1 October 2021; accepted 14 October 2021

Abstract:

To demonstrate the adaptation of lactic acid bacteria to environmental stresses can improve cell viability during freeze-drying, the *Lactobacillus plantarum* VAL6 strain was cultured under different stress conditions, including temperature, pH, and increase in CO₂ concentration. The results of densitometry analysis showed that the strain was able to survive in harsh environmental conditions such as at pH 2.5, the temperature at 47°C, and in anaerobic conditions created by CO₂. In particular, the CO₂ intensification culture could stimulate an increase in the density of *L. plantarum* VAL6, reaching 9.4 compared to 9 LogCFU/ml under normal culture conditions. After cells were adapted to environmental stress at pH 3.5, the highest survival rate after freeze-drying of *L. plantarum* VAL6 was 28% (2,500 times higher than that of the control). The results showed the potential to use environmental stresses to increase the survival rate of starter lactic acid bacteria strains for food applications.

Keywords: environmental stress, lactic acid bacteria, *Lactobacillus plantarum*.

Classification number: 2.10

L. plantarum VAL6 đã được nuôi cấy trong các điều kiện gây sốc môi trường khác nhau bao gồm nhiệt độ, pH và sự tăng nồng độ CO₂. Sự cải thiện khả năng sống sót được đánh giá thông qua sự thay đổi mật số của vi khuẩn trong suốt quá trình gây sốc và tỷ lệ sống sót sau khi sấy đông khô.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

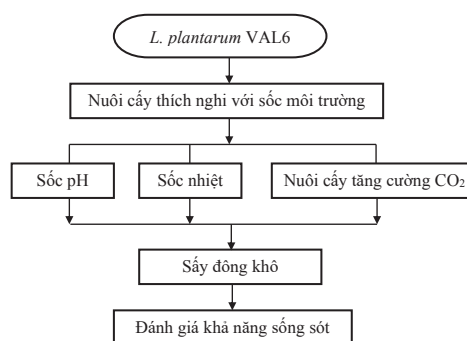
2.1. Vật liệu

Chủng vi khuẩn *L. plantarum* VAL6 được cung cấp từ Bộ môn Công nghệ sinh học, Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học

Quốc gia TP Hồ Chí Minh. Thành phần môi trường MRS nuôi cấy vi khuẩn [14]: Yeast extract 2%; Peptone 1%; Glucose 2%; NaCl 0,5%; K₂HPO₄ 0,2%; MgSO₄ 0,02%; MnSO₄ 0,004%; Tween 80 0,1%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm gây sốc môi trường: Các thí nghiệm gây sốc môi trường được thực hiện độc lập trong Bioreactor 5 l (BIOSTAT, Sartorius Stedim, Germany). Cụ thể, 5 l môi trường MRS được cấy với 100 ml dịch giống vi khuẩn (OD₅₉₅=1,5). Thực hiện nuôi cấy ở điều kiện bình thường (pH=6,8, nhiệt độ 37°C và tốc độ khuấy được đặt ở 250 vòng/phút) khoảng 24 giờ. Việc nuôi cấy thích nghi với sốc môi trường được thực hiện như mô tả ở hình 1.



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm gây sốc môi trường.

Để đánh giá ảnh hưởng của sốc pH lên khả năng sống sót của vi khuẩn, sau 24 giờ nuôi cấy ở điều kiện bình thường, các nuôi cấy được xử lý ở các pH bằng 2,5; 3; 3,5; 8; 8,5 và 9. Các mốc thời gian xử lý là 1, 3, 5 và 7 giờ.

Để đánh giá ảnh hưởng của sốc nhiệt lên khả năng sống sót của vi khuẩn, sau 24 giờ nuôi cấy ở điều kiện bình thường, các nuôi cấy được xử lý ở các nhiệt độ 15, 25, 42 và 47°C. Các mốc thời gian xử lý là 1, 3, 5 và 7 giờ.

Thí nghiệm tăng nồng độ CO₂ được thực hiện ở giai đoạn đầu của nuôi cấy. Ngay sau khi chủng giống đầu tiên đưa vào nuôi cấy, CO₂ được cung cấp liên tục với tốc độ 50 cm³/lít môi trường/phút. Các nghiệm thức về thời gian tăng cường CO₂ được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm nuôi cấy tăng cường CO₂.

Nghiệm thức	Thời gian sục CO ₂ (giờ)	Thời gian không sục CO ₂ (giờ)	Tổng thời gian nuôi cấy (giờ)
Đối chứng	0	24	24
Xử lý 1 giờ	1	23	24
Xử lý 2 giờ	2	22	24
Xử lý 4 giờ	4	20	24
Xử lý 24 giờ	24	0	24

Chuẩn bị huyền phù vi khuẩn để sấy đông khô: Quá trình đông khô được thực hiện bằng cách ly tâm 10 ml dung dịch huyền phù tế bào ở tốc độ 6.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C để thu sinh khối tế bào. Tế bào được rửa 3 lần bằng nước muối sinh lý đã khử trùng để loại các thành phần môi trường. Tất cả các tế bào tiếp tục được làm đông lạnh đến -20°C trước khi đông khô. Khả năng sống sót sau đông khô (%) được tính bằng cách lấy mật số vi khuẩn còn sống sau sấy đông khô chia cho mật số vi khuẩn trước khi sấy đông khô (tức sau khi gây sốc môi trường) rồi nhân với 100.

Đếm mật số vi khuẩn: Vi khuẩn được đếm mật số trên môi trường MRS agar sau 48 giờ nuôi cấy ở 37°C từ 3 nồng độ pha loãng liên tiếp. Sau khi ủ, chọn đĩa có số lượng khuẩn lạc 25-300 khuẩn lạc và đếm số khuẩn lạc có trên đĩa. Số khuẩn lạc có trong mẫu được tính dựa theo công thức:

$$A \text{ (CFU/ml)} = \frac{N}{n1Vf1 + n2Vf2}$$

trong đó: A là số tế bào (đơn vị hình thành khuẩn lạc) vi khuẩn trong 1 ml mẫu; N là tổng số khuẩn lạc đếm được trên các đĩa đã chọn; ni là số lượng đĩa cấy tại độ pha loãng thứ i; V là thể tích dịch mẫu (ml) cấy vào trong mỗi đĩa; fi là độ pha loãng tương ứng.

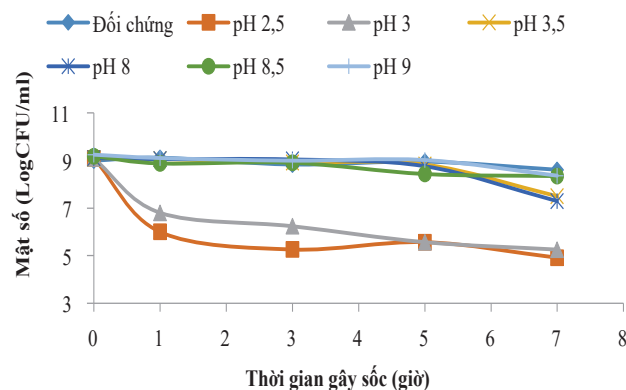
Xử lý thống kê: Các thí nghiệm xử lý gây sốc môi trường và sấy đông khô được thực hiện độc lập ba lần lặp lại. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng phép thử Student's t với khoảng tin cậy 95%.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thay đổi mật số vi khuẩn dưới tác động của sốc môi trường

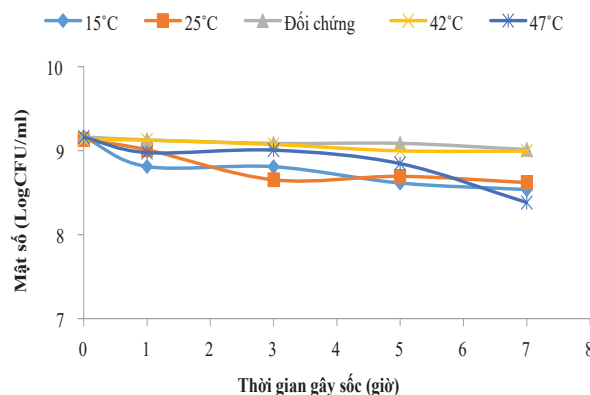
Các điều kiện sốc môi trường được chứng minh ảnh hưởng đáng kể đến sự sống sót, sự tăng trưởng, khả năng lên men và khả năng tồn tại của vi khuẩn [15]. Do đó, nghiên cứu đã đánh giá sự thay đổi mật số *L. plantarum* VAL6 trong suốt thời gian gây sốc. Nhìn chung, các sốc môi trường được kiểm tra có thể ảnh hưởng đến sự phát triển nhưng không gây chết hoàn toàn đối với vi khuẩn.

Mật số *L. plantarum* VAL6 tương đối ổn định dưới tác động của sốc ở pH 3,5 và ở pH kiềm. Tuy nhiên, dưới tác động của pH thấp 2,5-3, mật số vi khuẩn giảm mạnh. Ở pH 2,5 và 3, mật số giảm nhanh sau 1 giờ gây sốc còn 6 và 6,8 LogCFU/ml và sau đó giảm nhẹ trong suốt thời gian xử lý. Ngược lại, sốc ở pH cao (pH 8-9) và ở pH 3,5, mật số *L. plantarum* VAL6 ít thay đổi trong suốt thời gian gây sốc (hình 2).



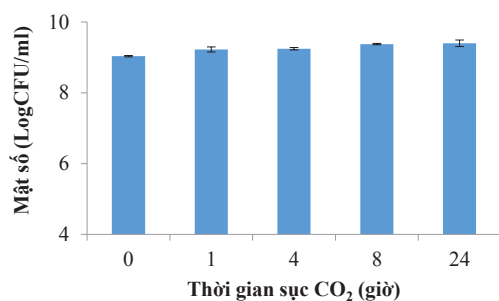
Hình 2. Ảnh hưởng của sốc pH lên mật số *L. plantarum* VAL6.

Để xác định khả năng chịu đựng sốc nhiệt của vi khuẩn, nghiên cứu đã đánh giá sự thay đổi mật số dưới tác động của các nhiệt độ khác nhau. Kết quả cho thấy mật số *L. plantarum* VAL6 ít thay đổi dưới điều kiện sốc nhiệt (hình 3). Ở điều kiện sốc 42°C, mật số *L. plantarum* VAL6 dao động khoảng 9,2 LogCFU/ml, khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$) khi so sánh với đối chứng không gây sốc. Tuy nhiên, ở 47°C, mật số *L. plantarum* VAL6 giảm nhẹ và còn khoảng 8,38 LogCFU/ml sau 7 giờ gây sốc. Ở các điều kiện xử lý nhiệt độ thấp (15 và 25°C), mật số *L. plantarum* VAL6 bắt đầu giảm sau 1 giờ xử lý và dao động trong khoảng 8,5-8,7 LogCFU/ml trong suốt quá trình xử lý.



Hình 3. Ảnh hưởng của sốc nhiệt lên mật số *L. plantarum* VAL6.

Không giống với những yếu tố gây sốc, sự tăng nồng độ CO₂ lại kích thích làm tăng mật số *L. plantarum* VAL6 (hình 4). Dưới điều kiện nuôi cấy tăng cường CO₂, mật số vi khuẩn dao động trong khoảng 9,2-9,4 LogCFU/ml, so với điều kiện không gây sốc chỉ đạt khoảng 9 LogCFU/ml. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu không tìm thấy sự khác biệt ($p > 0,05$) về mật số ở hai điều kiện xử lý CO₂ trong 4 và 24 giờ.



Hình 4. Mật số *L. plantarum* VAL6 dưới điều kiện nuôi cấy tăng cường CO₂.

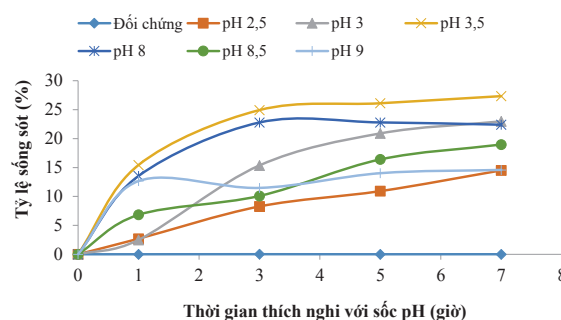
Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng các chủng probiotic *Lactobacillus* có khả năng đi qua dạ dày đến khu trú vào hệ đường ruột người và động vật, giúp tăng cường sức khỏe cho vật chủ [16]. Để có hiệu quả trong sử dụng, vi khuẩn probiotic phải sống sót qua đường tiêu hóa và đến ruột non [17]. Các vi khuẩn probiotic phải đối phó với môi trường thù địch trong suốt quá trình chúng đi qua đường tiêu hóa [18]. Do đó, việc xác định khả năng chịu đựng của chủng probiotic đối với các sốc môi trường là hết sức cần thiết. Trong nghiên cứu hiện tại, kết quả đã chứng minh *L. plantarum* VAL6 có khả năng sống sót ở các điều kiện môi trường khắc nghiệt như pH axit rất thấp (pH 2,5), nhiệt độ cao 47°C và điều kiện yếm khí do CO₂ tạo ra. Điều này cho thấy tiềm năng sử dụng *L. plantarum* VAL6 như một vi khuẩn probiotic.

Một điều khá thú vị được phát hiện trong nghiên cứu này là việc nuôi cấy tăng cường CO₂ lại kích thích làm tăng mật số của *L. plantarum* VAL6. CO₂ thường được sử dụng để khử ôxy môi trường trước khi nuôi cấy vi khuẩn probiotic [19]. Một số bằng chứng đã chứng minh rằng CO₂ có thể điều hòa sinh lý và quá trình chuyển hóa năng lượng của tế bào bằng cách điều tiết hoạt động của các enzyme liên quan đến quá trình glycolysis. Ngoài ra, các enzyme phosphoenolpyruvate carboxylase và carbamoyl-phosphate synthase trên vi khuẩn probiotic có vai trò xúc tác sự cố định CO₂ để sinh tổng hợp aspartate, arginine và uracil [20]. Đây là những yếu tố giúp kích thích sự phát triển của vi khuẩn làm tăng mật số. Một số kết quả nghiên cứu trước đây cũng đã chứng minh vai trò của CO₂ đối với sự phát triển của vi khuẩn probiotics. Các nguồn cacbon vô cơ như HCO₃⁻ hoặc CO₂ có liên quan đến các đặc điểm sinh lý và kích thích sự phát triển của *L. plantarum* [21]. Tương tự, chủng *L. plantarum* VAL6, tốc độ phát triển của *L. plantarum* WCFS1 theo thời gian có thể được kích thích bằng cách tăng mức độ cung cấp CO₂ [22].

3.2. Khả năng sống sót sau sấy đông khô của *L. plantarum* VAL6

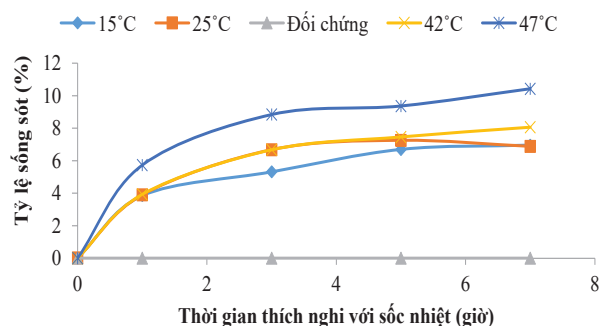
Để chứng minh vi khuẩn sau khi thích nghi với sốc môi trường có khả năng sống sót tốt hơn trong quá trình sấy đông khô, nghiên cứu đã so sánh tỷ lệ % sống sót sau sấy đông khô của vi khuẩn được gây sốc và không gây sốc.

Kết quả cho thấy sốc pH cải thiện đáng kể tỷ lệ sống sót của *L. plantarum* VAL6 trong quá trình sấy đông khô (hình 5). Tỷ lệ sống sót sau đông khô của tế bào vi khuẩn được gây sốc tăng dần theo thời gian xử lý thích nghi và đạt cao nhất gần 28% đối với tế bào được thích nghi khoảng 7 giờ ở pH 3,5. Trong khi đó, tỷ lệ này chỉ đạt khoảng 0,01% ở tế bào vi khuẩn không được gây sốc.



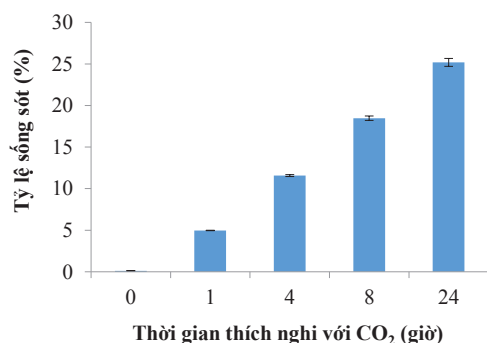
Hình 5. Tỷ lệ sống sót sau đông khô của *L. plantarum* VAL6 sau khi thích nghi với sốc pH.

Tương tự như sốc pH, sự thích nghi với sốc nhiệt cũng giúp tăng cường đáng kể khả năng sống sót sau sấy đông khô của *L. plantarum* VAL6 (hình 6). Nhìn chung, thời gian thích nghi với sốc nhiệt độ càng lâu thì khả năng sống sót càng tăng. Tỷ lệ sống sót cao hơn khi tế bào được xử lý thích nghi với sốc nhiệt ở 47°C, dao động khoảng 8-10% sau 3-7 giờ xử lý.



Hình 6. Tỷ lệ sống sót sau đông khô của *L. plantarum* VAL6 sau khi thích nghi với sốc nhiệt.

Cùng với sự gia tăng mật số, sự sống sót sau sấy đông khô của *L. plantarum* VAL6 được xử lý CO₂ tăng dần theo thời gian sục khí (hình 7). Ở điều kiện 1 giờ sục CO₂, tỷ lệ sống sót của vi khuẩn là 4,97%. Tỷ lệ này tiếp tục tăng và đạt hơn 25% ở điều kiện xử lý CO₂ 24 giờ (sục CO₂ liên tục).



Hình 7. Tỷ lệ sống sót sau đông khô của *L. plantarum* VAL6 sau khi thích nghi với CO₂.

Sự sống sót và phát triển của vi sinh vật phụ thuộc vào khả năng cảm nhận và phản ứng của chúng với các điều kiện môi trường như nhiệt độ, pH, khả năng cung cấp chất dinh dưỡng và mật số tế bào [23]. Các điều kiện sốc môi trường có thể kích thích vi khuẩn tổng hợp nên những yếu tố kháng lại điều kiện môi trường bất lợi. Nghiên cứu về phản ứng của vi khuẩn với nhiệt độ cao đã dẫn đến việc phát hiện ra một tập hợp các protein cảm ứng nhiệt được gọi là protein sốc nhiệt. Tương tự, sốc lạnh dẫn đến sự cảm ứng của một tập hợp các protein được gọi là protein sốc lạnh. Các protein này giúp vi khuẩn chống lại các tác động đa hướng của sốc nhiệt. Các phản ứng của vi khuẩn với sốc môi trường cũng liên quan đến việc thay đổi bên ngoài vách tế bào chẳng hạn như nồng độ CO₂ cao có thể làm thay đổi hình thái và tính chất của màng tế bào [20]. Ngoài ra, dưới tác động của sốc môi trường có thể kích thích tạo ra exopolysacchride (EPS) [24, 25] như một rào cản bảo vệ làm tăng khả năng chịu đựng và cải thiện khả năng sống sót của vi khuẩn. Như vậy, việc tăng cường sản xuất các yếu tố kháng bên trong và sự kích thích sản xuất EPS bên ngoài dưới tác động của sốc môi trường có thể là nguyên nhân chính giúp *L. plantarum* kháng tốt hơn với điều kiện môi trường bất lợi, mà trong trường hợp này là sự mất nước do quá trình sấy đông khô. Thực tế nghiên cứu hiện tại đã chứng minh tỷ lệ sống sót sau sấy đông khô của *L. plantarum* VAL6 được thích nghi với sốc môi trường cao hơn 2500 lần so với vi khuẩn không được thích nghi. Một nghiên cứu trước đây trên *Bifidobacterium bifidum* cũng đã chứng minh mối tương quan giữa sản xuất EPS, sốc môi trường và cải thiện khả năng sống sót trong quá trình sấy đông khô [26]. Trong suốt quá trình đông khô, các EPS được tổng hợp hoạt động như một chất bảo vệ lạnh bảo vệ tế bào khỏi bị đóng băng và các ảnh hưởng sốc do

khí bị mất nước. Ngoài ra, quá trình oxy hóa lipid màng trong quá trình sấy cũng làm hư hỏng cấu trúc màng tế bào của LAB [27]. Dưới các điều kiện sốc môi trường, các EPS được tổng hợp với hoạt tính chống oxy hóa cao có thể ức chế hiệu quả quá trình oxy hóa màng dẫn đến tăng khả năng sống sót của vi khuẩn.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã chứng minh việc sử dụng sốc môi trường để kích thích tạo phản ứng thích nghi của tế bào trước khi sấy đông khô có thể giúp cải thiện khả năng sống sót của vi khuẩn. Điều này cho thấy tiềm năng sử dụng sốc môi trường để làm tăng tỷ lệ sống sót của các chủng giống LAB khởi động cho các ứng dụng thực phẩm.

Tiềm năng probiotic của *L. plantarum* VAL6 được thể hiện qua khả năng sống sót ở các điều kiện môi trường khắc nghiệt như pH axit rất thấp (pH 2,5), nhiệt độ cao (47°C) và điều kiện yếm khí do CO₂ tạo ra. Đặc biệt, nuôi cấy tăng cường CO₂ kích thích làm tăng mật số của *L. plantarum* VAL6. Sự thích nghi với các sốc môi trường như nhiệt độ, pH và sự tăng nồng độ CO₂ có thể cải thiện khả năng sống của *L. plantarum* VAL6. Tỷ lệ sống đạt cao nhất (28%) đối với các tế bào được thích nghi ở điều kiện sốc pH 3,5 khoảng 7 giờ (cao hơn khoảng 2.500 lần so với đối chứng).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. Forster, T. Lawley (2015), "Systematic discovery of probiotics", *Nature Biotechnology*, **33**, pp.47-48, DOI: 10.1038/nbt.3111.
- [2] T. Vasiljevic, N.P. Shah (2008), "Probiotics-from metchnikoff to bioactives", *International Dairy Journal*, **18(7)**, pp.714-728, DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.03.004.
- [3] K. Saito, S. Tomita, T. Nakamura (2019), "Aggregation of *Lactobacillus brevis* associated with decrease in pH by glucose fermentation", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **83(8)**, pp.1347-6947, DOI: 10.1080/09168451.2019.1584522.
- [4] Y. Yue, X. Xu, B. Yang, et al. (2020), "Stable colonization of orally administered *Lactobacillus casei* SY13 alters the gut microbiota", *BioMed Research International*, **2020**, DOI: 10.1155/2020/5281639.
- [5] W.M. De Vos (2011), "Systems solutions by lactic acid bacteria: From paradigms to practice", *Microbial Cell Factories*, **10(1)**, DOI: 10.1186/1475-2859-10-S1-S2.
- [6] Z. Ahmed, M.S. Vohra, M.N. Khan, et al. (2019), "Antimicrobial role of *Lactobacillus* species as potential probiotics against enteropathogenic bacteria in chickens", *The Journal of Infection in Developing Countries*, **13(2)**, pp.130-136, DOI: 10.3855/jidc.10542.
- [7] S.H. Peighambari, A.G. Tafti, J. Hesari (2011), "Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: A review", *Trends in Food Science & Technology*, **22(5)**, pp.215-224, DOI: 10.1016/j.tifs.2011.01.009.

- [8] N. Fu, S. Huang, J. Xiao, et al. (2018), "Producing powders containing active dry probiotics with the aid of spray drying", *Advances in Food and Nutrition Research*, **85**, pp.211-262, DOI: 10.1016/bs.afnr.2018.02.003.
- [9] G.R. Rama, D. Kuhn, S. Beux, et al. (2020), "Cheese whey and ricotta whey for the growth and encapsulation of endogenous lactic acid bacteria", *Food and Bioprocess Technology*, **13**, pp.308-322, DOI: 10.1007/s11947-019-02395-8.
- [10] W. Lapsiri, B. Bhandari, P. Wanchaitanawong (2012), "Viability of *Lactobacillus plantarum* TISTR 2075 in different protectants during spray drying and storage", *Drying Technology*, **30**(13), pp.1407-1412, DOI: 10.1080/07373937.2012.684226.
- [11] A.R. Dijkstra, W. Alkema, M.J.C. Starrenburg, et al. (2014), "Fermentation-induced variation in heat and oxidative stress phenotypes of *Lactococcus lactis* MG1363 reveals transcriptome signatures for robustness", *Microbial Cell Factories*, **13**(1), DOI: 10.1186/s12934-014-0148-6.
- [12] F. Gaucher, H. Rabah, K. Kponouglo, et al. (2020), "Intracellular osmoprotectant concentrations determine *Propionibacterium freudenreichii* survival during drying", *Applied Microbiology and Biotechnology*, **104**(7), pp.3145-3156, DOI: 10.1007/s00253-020-10425-1.
- [13] S. Settachaimongkon, H.J.F. Valenberg, V. Winata, et al. (2015), "Effect of sublethal preculturing on the survival of probiotics and metabolite formation in set-yoghurt", *Food Microbiology*, **49**, pp.104-115, DOI: 10.1016/j.fm.2015.01.011.
- [14] J.C. De Man, M. Rogosa, M.E. Sharpe (1960), "A medium for the cultivation of Lactobacilli", *Journal of Applied Bacteriology*, **23**(1), pp.130-135, DOI: 10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x.
- [15] T. Zotta, A. Ricciardi, F. Ciocia, et al. (2008), "Diversity of stress responses in dairy thermophilic streptococci", *International Journal of Food Microbiology*, **124**(1), pp.34-42, DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.02.024.
- [16] C.M. Slover, L. Danziger (2008), "Lactobacillus: A review", *Clinical Microbiology Newsletter*, **30**(4), pp.23-27, DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2008.01.006.
- [17] A. Curto, I. Pitino, G. Mandalari, et al. (2011), "Survival of probiotic lactobacilli in the upper gastrointestinal tract using an *in vitro* gastric model of digestion", *Food Microbiology*, **28**(7), pp.1359-1366, DOI: 10.1016/j.fm.2011.06.007.
- [18] N. Beales (2004), "Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: A review", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **3**(1), pp.1-20, DOI: 10.1111/j.1541-4337.2004.tb00057.x.
- [19] B. Ebel, F. Martin, L.D.T. Le, et al. (2011), "Use of gases to improve survival of *Bifidobacterium bifidum* by modifying redox potential in fermented milk", *Journal of Dairy Science*, **94**(5), pp.2185-2191, DOI: 10.3168/jds.2010-3850.
- [20] S. Arioli, P. Roncada, A.M. Salzano, et al. (2009), "The relevance of carbon dioxide metabolism in *Streptococcus thermophilus*", *Microbiology*, **155**(6), pp.1953-1965, DOI: 10.1099/mic.0.024737-0.
- [21] F. Arsène-Ploetze, F. Bringel (2004), "Role of inorganic carbon in lactic acid bacteria metabolism", *Dairy Science and Technology*, **84**, pp.49-59, DOI: 10.1051/lait:2003040.
- [22] M.J.A. Stevens, A. Wiersma, W.M. de Vos, et al. (2008), "Improvement of *Lactobacillus plantarum* aerobic growth as directed by comprehensive transcriptome analysis", *Applied and Environmental Microbiology*, **74**(15), pp.4776-4778, DOI: 10.1128/aem.00136-08.
- [23] B. Buck, M. Azcárate-Peril, T. Klaenhammer (2009), "Role of autoinducer-2 on the adhesion ability of *Lactobacillus acidophilus*", *Journal of Applied Microbiology*, **107**(1), pp.269-279, DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04204.x.
- [24] P.T. Nguyen, T.T. Nguyen, D.C. Bui, et al. (2020), "Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: The manipulation of environmental stresses for industrial applications", *AIMS Microbiology*, **6**(4), pp.451-469, DOI: 10.3934/microbiol.2020027.
- [25] P.T. Nguyen, T.T. Nguyen, T.N.T. Vo, et al. (2021), "Response of *Lactobacillus plantarum* VAL6 to challenges of pH and sodium chloride stresses", *Scientific Reports*, **11**, DOI: 10.1038/s41598-020-80634-1.
- [26] H.T. Nguyen, H. Razafindralambo, C. Blecker, et al. (2014), "Stochastic exposure to sub-lethal high temperature enhances exopolysaccharides (EPS) excretion and improves *Bifidobacterium bifidum* cell survival to freeze-drying", *Biochemical Engineering Journal*, **88**, pp.85-94, DOI: 10.1016/j.bej.2014.04.005.
- [27] P. Teixeira, H. Castro, R. Kirby (1996), "Evidence of membrane lipid oxidation of spray-dried *Lactobacillus bulgaricus* during storage", *Letters in Applied Microbiology*, **22**(1), pp.34-38, DOI: 10.1111/j.1472-765X.1996.tb01103.x.