

# ẢNH HƯỞNG CỦA KỸ THUẬT BAO GÓI VÀ DỊCH CỎ NGỌT (*Stevia rebaudiana*) ĐẾN KHẢ NĂNG SỐNG CỦA *Lactobacillus plantarum* TRONG MÔI TRƯỜNG DỊCH TIÊU HÓA NHÂN TẠO

Lưu Hoàng Diệu, Thái Ngọc Phương Uyên, Nguyễn Thị Tường Vi,  
Ngô Đình Thị Kim Quyên, Nguyễn Phan Khánh Hòa, Lê Thị Thúy Hằng,  
Nguyễn Thị Thùy Dương, Liêu Mỹ Đông\*

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

\*Email: donglm@hufi.edu.vn

Ngày nhận bài: 10/6/2022; Ngày chấp nhận đăng: 26/10/2022

## TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, kỹ thuật bao gói nén đùn (EM) và nhũ hóa (IM) (có và không có bổ sung cỏ ngọt) đến hiệu suất bao gói và khả năng tồn tại của *Lactobacillus plantarum* LV 11 trong dịch dạ dày nhân tạo (SGF) và muối mật nhân tạo (SIF) được khảo sát. Quá trình bao gói bằng kỹ thuật EM cho hiệu quả bao gói cao hơn ( $p < 0,05$ ) so với IM ở cùng nồng độ alginate, trong đó, alginate 2% (w/v) cho hiệu quả bao gói tốt nhất ở cả hai kỹ thuật. Ở khảo sát điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo, *L. plantarum* tự do nhạy cảm với điều kiện pH thấp và không còn tế bào sống sót nào được ghi nhận sau 2 giờ ủ. Mức độ nhạy cảm của *L. plantarum* đối với môi trường SGF cao hơn đáng kể so với môi trường SIF, trong đó kỹ thuật vi bao cho hiệu quả bảo vệ *L. plantarum* cải thiện đáng kể so với tế bào tự do. Việc bổ sung cỏ ngọt vào quá trình bao gói là cần thiết giúp cải thiện khả năng sống của vi khuẩn *L. plantarum* trong điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo. Kỹ thuật vi bao nén đùn giúp cải thiện khả năng sống sót của *L. plantarum* trong điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo hiệu quả hơn so với kỹ thuật nhũ hóa. Kỹ thuật nhũ hóa với khả năng tạo chế phẩm kích thước nhỏ nhưng vẫn đảm bảo hiệu quả bảo vệ vi khuẩn probiotic, cho thấy tiềm năng ứng dụng vào các sản phẩm thực phẩm đòi hỏi cao về mặt cảm quan.

*Từ khóa:* Cỏ ngọt, probiotic, nhũ hóa, nén đùn, tiêu hóa nhân tạo, bao gói.

## 1. MỞ ĐẦU

Probiotic là vi sinh vật sống mà khi được sử dụng với số lượng thích hợp sẽ mang lại lợi ích sức khỏe cho vật chủ, mà hầu hết một số tác dụng có lợi cho sức khỏe của probiotic đều liên quan đến hệ tiêu hóa [1, 2]. Tuy nhiên, để mang lại lợi ích sức khỏe thì số lượng probiotic trong các sản phẩm phải đạt trên  $10^6$  -  $10^7$  CFU/g hoặc CFU/mL [3]. Vi khuẩn lactic là những vi sinh vật probiotic quan trọng nhất thường liên quan đến đường tiêu hóa của con người [1]. Điểm đáng quan tâm là khả năng tồn tại của hầu hết các vi sinh vật probiotic có thể bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như điều kiện bất lợi của đường tiêu hóa, ma trận thực phẩm, nhiệt độ trong quá trình chế biến và bảo quản [4]. Do đó, nâng cao khả năng sống của vi khuẩn probiotic vượt qua các ảnh hưởng của các tác nhân trên là rất cần thiết, trong đó công nghệ bao gói là một giải pháp thích hợp và hiệu quả. Kỹ thuật bao gói giúp tách probiotic ra khỏi môi trường, từ đó có thể giảm thiểu tổn thất tế bào với tỷ lệ giải phóng được kiểm soát trong các điều kiện cụ thể như đường tiêu hóa, đồng thời kéo dài thời hạn sử dụng probiotic trong quá trình bảo

quản [5]. Alginate là một chất mang với khả năng tạo gel khi có mặt của các ion canxi tạo thành calcium-alginate được sử dụng rộng rãi để “bẫy” các vi khuẩn probiotic và là vật liệu được chứng minh không độc hại và tương thích sinh học [6-9]. Về mặt cấu tạo alginate là một polysaccharide dị hợp mạch thẳng gồm hai phân tử  $\beta$ -D-mannuronic acid (M) và  $\alpha$ -L-guluronic acid (G) liên kết với nhau thông qua liên kết 1  $\rightarrow$  4 glycoside, thu nhận được từ một số loại tảo [6, 10, 11]. Trong các nghiên cứu trước đây, kỹ thuật bao gói này cho khả năng bảo vệ tốt vi khuẩn probiotic trong điều kiện bất lợi [7, 10]. Tuy nhiên, do tính nhạy cảm với môi trường acid của alginate đã làm cho các sinh vật probiotic vi bao trong chất mang này vẫn bị tác động bởi điều kiện pH thấp. Do đó, để nâng cao khả năng sống sót của vi khuẩn probiotic trong các điều kiện bất lợi, việc kết hợp alginate với các thành phần bổ sung đã nhận được nhiều quan tâm [12]. Các nghiên cứu gần đây đã cho thấy cỏ ngọt (*Stevia rebaudiana*) có độ ngọt gấp 100-300 lần sucrose, được sử dụng như một chất tạo ngọt và thay thế đường trong ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm [13]. Ngoài ra, các thành phần trong cỏ ngọt được chứng minh là đóng vai trò như một nguồn prebiotic, có tác dụng kích thích sự phát triển của vi khuẩn probiotic [14]. So với phương pháp nén đùn, phương pháp nhũ hóa dễ mở rộng quy mô sản xuất hơn nhờ vào sự tiện lợi cũng như dễ dàng trong quá trình sản xuất bởi tính sẵn có nhằm mang lại hiệu quả về chi phí [15]. Thêm vào đó, các yếu tố về nồng độ, độ nhớt của hỗn hợp vi bao trước khi gel hóa, loại chất nhũ hóa được sử dụng cần được xem xét bởi chúng sẽ ảnh hưởng đến đường kính cuối cùng của vi hạt [16]. Trong nghiên cứu này, *Lactobacillus plantarum* LV 11 được bao gói bằng kỹ thuật nén đùn và nhũ hóa, với sodium alginate làm chất mang chính. Chế phẩm bao gói được đánh giá so sánh về hiệu suất bao gói và tỷ lệ sống của *L. plantarum* được bao gói bằng kỹ thuật nhũ hóa có và không có bổ sung dịch cỏ ngọt ở các nồng độ khác nhau trong dịch dạ dày nhân tạo (SGF) và muối mật nhân tạo (SIF).

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Chuẩn bị chủng vi khuẩn

*Lactobacillus plantarum* LV 11 được cung cấp từ bộ sưu tập giống của Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM. Vi khuẩn *L. plantarum* được hoạt hóa trên môi trường MRS agar và được nhân giống trên môi trường MRS lỏng trong 24 giờ ở 37 °C. Sinh khối sau đó được thu nhận sử dụng trong quá trình bao gói cho các bước tiếp theo.

Cỏ ngọt (*Stevia rebaudiana*) ở dạng khô được xay nhỏ thành bột mịn và được rây qua với kích thước 0,5 mm. Dịch cỏ ngọt được chiết xuất bằng nước nóng (65 °C) tỷ lệ tối ưu 1:20 (cỏ ngọt: nước) trong 3 giờ. Dịch trích ly được sử dụng cho quá trình vi bao tiếp theo.

### 2.2. Chế phẩm bao gói của *L. plantarum*

#### 2.2.1. Bao gói bằng kỹ thuật nén đùn

Bao gói bằng kỹ thuật nén đùn (EM) được mô tả theo phương pháp của Ezekiel và cộng sự (2020) [12] với vài thay đổi được tóm tắt như sau: Hỗn hợp bao gồm *L. plantarum* (10 Log CFU/mL) và sodium alginate ở các nồng độ khác nhau 1,5%; 2,0% và 2,5% w/v được tiêm qua kim tiêm vô trùng đường kính trong là 0,813 mm vào 50 mL dung dịch CaCl<sub>2</sub> 0,05M trong 30 phút. Chế phẩm sau đó được thu nhận và đánh giá hiệu quả vi bao.

Nồng độ alginate cho hiệu quả bao gói tốt nhất sẽ được sử dụng kết hợp với dịch cỏ ngọt (0,5%; 1,0%; 1,5% v/v) theo quy trình tương tự như trên. Chế phẩm vi bao được khảo sát trong điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo.

### 2.2.2. Bao gói bằng kỹ thuật nhũ hóa

Bao gói bằng kỹ thuật nhũ hóa (IM) được thực hiện theo phương pháp của Jin và cộng sự (2020) [10] với vài thay đổi được tóm tắt như sau: Hỗn hợp bao gồm *L. plantarum* (10 Log CFU/mL) và sodium alginate ở các nồng độ khác nhau 1,5%; 2,0% và 2,5% w/v. Thêm 100 mL dầu và Tween 80 1,5% v/v vào cốc, sau đó đem khuấy trên máy khuấy từ 500 vòng/phút trong 15 phút để thu được hệ nhũ tương nước/dầu. Thêm từ từ 100 mL CaCl<sub>2</sub> 0,1M vào cốc và khuấy trong 30 phút. Chế phẩm bao gói được thu nhận bằng cách ly tâm và rửa bằng dung dịch NaCl 0,9% (w/v) vô trùng.

Nồng độ alginate cho hiệu quả bao gói tốt nhất sẽ được sử dụng kết hợp với dịch cô ngọt (0,5%; 1,0%; 1,5% v/v) theo quy trình tương tự như trên. Chế phẩm vi bao được khảo sát trong điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo.

### 2.3. Đánh giá hiệu suất bao gói

Hiệu suất vi bao được thực hiện theo phương pháp của Ezekiel & cộng sự (2020) đã được chỉnh sửa: Cân 1 g chế phẩm cho vào bình tam giác có nút mài đã vô trùng, thêm 99 mL dung dịch đệm photphate và tiến hành đập mẫu trong 15 phút để các viên nang được phá hủy hoàn toàn. Mẫu sau đó được pha loãng xác định số tế bào sống trên môi trường thạch MRS sau 48 giờ ủ ở 37 °C, thực hiện tương tự đối với *L. plantarum* tự do được dùng để đối chứng [12]. Tiến hành tính hiệu suất bao gói sau nhũ hóa theo công thức:

$$\text{Hiệu suất bao gói} = \frac{\sum \log \text{ sau vi bao}}{\sum \log \text{ trước vi bao}} \times 100\%$$

### 2.4. Ảnh hưởng của bao gói bằng kỹ thuật nén đùn và nhũ hóa đến khả năng sống của *L. plantarum* tự do và chế phẩm *L. plantarum* trong SGF và SIF

Khả năng tồn tại của *L. plantarum* tự do và vi bao trong điều kiện đường tiêu hóa mô phỏng (GIT) được mô tả theo phương pháp của Arslan-Tontul và cộng sự (2017) [2] có chỉnh sửa và bổ sung: Thực hiện với 1 g mẫu được ủ trong 9 mL dịch dạ dày nhân tạo (SGF) (bao gồm 9 g/L NaCl và 3 g/L pepsin được hiệu chỉnh đến pH 2,5 bằng dung dịch HCl 5N) hoặc 9 mL môi trường muối mật nhân tạo (SIF) (bao gồm 9 g/L NaCl chứa 3 mL/L muối mật). Tỷ lệ sống sót của chế phẩm bao gói *L. plantarum* được đánh giá sau 2 giờ ủ trong SGF hoặc 4 giờ ủ trong SIF. Các mẫu chứa *L. plantarum* tự do được dùng để đối chứng. Lượng tế bào *L. plantarum* sống sót trong chế phẩm bao gói được xác định bằng phương pháp trải đĩa trên môi trường thạch MRS ủ ở 37 °C trong 72 giờ, tiến hành lặp lại 3 lần. Kết quả được biểu diễn dưới dạng Log CFU/g.

### 2.5. Phân tích thống kê

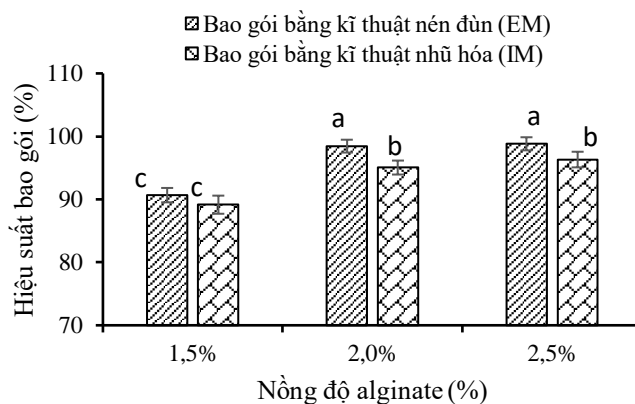
Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ba lần, và kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Kiểm định Tukey dùng để so sánh sự khác biệt giữa các nhóm. Tất cả các tính toán thống kê được thực hiện bằng phần mềm Sigmaplot phiên bản 11.0.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của kỹ thuật bao gói đến hiệu suất vi bao

Ảnh hưởng của kỹ thuật nén đùn (EM) và nhũ hóa (IM) tới hiệu suất bao gói được trình bày ở Hình 1. Kết quả thu được cho thấy kỹ thuật EM cho hiệu quả bao gói cao hơn ( $p < 0,05$ ) so với IM ở cùng nồng độ alginate. Nhìn chung, hiệu quả vi bao ở kỹ thuật EM tăng từ 90,67%

lên 98,82% khi gia tăng nồng độ alginate từ 1,5% (w/v) lên 2,5% (w/v) trong khi ở kỹ thuật IM cho hiệu quả vi bao từ 89,15% lên 96,32% tương ứng (Hình 1).

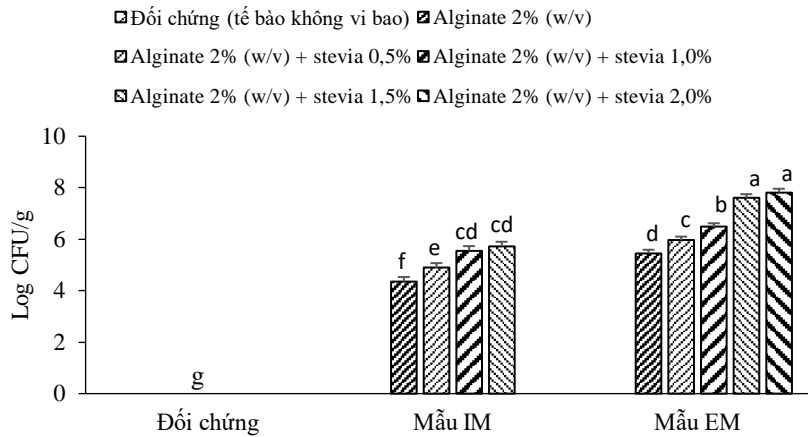


Hình 1. Hiệu suất bao gói của IM và EM  
<sup>abc</sup> là các kí tự thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) giữa các mẫu.

Trong các nghiên cứu trước đây cho thấy, hiệu suất bao gói phụ thuộc vào kỹ thuật bao gói được sử dụng. Nghiên cứu của Dehkordi và cộng sự (2020) chỉ ra rằng chất mang alginate có thể cho hiệu suất bao gói có thể đạt 93,69% khi kết hợp cùng với whey protein [17]. Trong khi đó, nghiên cứu của Mokhtari và cộng sự (2017) sử dụng sodium alginate 2,0% làm chất mang để bao gói *Lactobacillus acidophilus* và *Bifidobacterium bifidum* bằng kỹ thuật nhũ hóa với hiệu suất bao gói đạt 88,33% [18]. Một nghiên cứu khác của Zhang và cộng sự (2015) sử dụng pectin làm chất mang để bao gói *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 bằng phương pháp nhũ hóa cho hiệu suất bao gói đạt 90% [19]. So với kỹ thuật nhũ hóa, bao gói vi khuẩn probiotic bằng kỹ thuật nén đùn thường cho hiệu quả vi bao cao hơn. Nghiên cứu của Mahmoud và cộng sự (2020) chỉ ra rằng chất mang alginate kết hợp với skim milk, dextrin, whey protein isolate và chitosan làm chất mang để bao gói *L. plantarum* bằng phương pháp nén đùn cho hiệu quả bao gói ghi nhận được tương ứng từ 94,94% - 98,11% [11]. Tương tự, nghiên cứu của Ezekiel và cộng sự (2020) sử dụng các chất mang bao gồm sodium alginate, sodium alginate kết hợp với chitosan, tinh bột sắn và tinh bột hi-maize để bao gói *Lactobacillus rhamnosus* GG hiệu quả bao gói bằng kỹ thuật EM đạt trong khoảng từ 98,10% đến 99,88% [12]. Kết quả cho thấy, hiệu quả bao gói bằng kỹ thuật EM cao hơn kỹ thuật IM và nồng độ alginate 2% (w/v) cho hiệu quả bao gói tốt nhất ở mỗi kỹ thuật vi bao trong khảo sát này (Hình 1). Nồng độ chất mang alginate 2% (w/v) được lựa chọn để đánh giá vai trò của cỏ ngọt trong điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo.

### 3.2. Ảnh hưởng của bao gói bằng kỹ thuật nhũ hóa đến khả năng sống của *L. plantarum* trong SGF

Khả năng sống sót của *L. plantarum* bao gói và tự do trong môi trường SGF được trình bày ở Hình 2. Kết quả thu được cho thấy khả năng sống của *L. plantarum* bị ảnh hưởng đáng kể bởi điều kiện pH thấp và không còn tế bào sống sót nào được ghi nhận sau 2 giờ ủ trong điều kiện này. Khả năng sống sót của probiotic bao gói được cải thiện đáng kể với mật độ tế bào đạt được sau 2 giờ ủ trong SGF là 4,35 Log CFU/g ở mẫu IM và 5,45 Log CFU/g ở mẫu EM tương ứng. Tác động của cỏ ngọt cũng thể hiện rõ thông qua tỷ lệ vi khuẩn probiotic sống sót được cải thiện đáng kể ( $p < 0,05$ ) khi gia tăng nồng độ cỏ ngọt từ 0,5% tới 2% (v/v) (Hình 2). Ở mẫu IM, tỷ lệ sống sót của *L. plantarum* đạt được hiệu quả nhất với nồng độ cỏ ngọt là 1% (v/v), trong khi hiệu quả đạt được ở mẫu EM là 1,5% (v/v).



Hình 2. Ảnh hưởng của bao gói bằng kỹ thuật nhũ hóa và nén đùn đến khả năng sống của *L. plantarum* trong SGF.

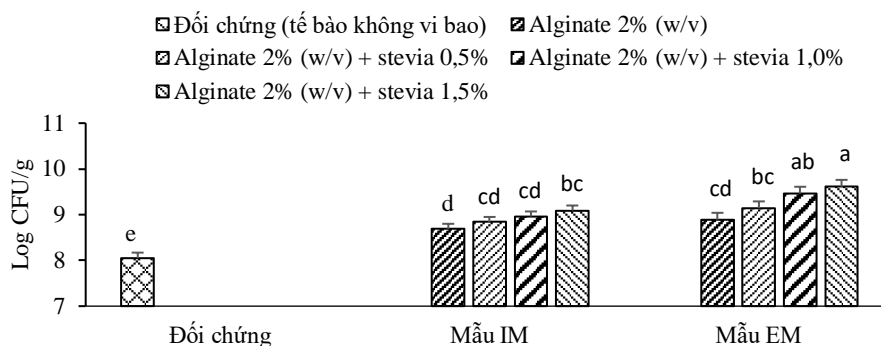
abcdefg là các kí tự thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) giữa các mẫu.

Điều kiện dịch tiêu hóa là một trong những tác nhân gây chết vi khuẩn probiotic. Nghiên cứu của Jin và cộng sự (2020) chỉ ra rằng *Lactobacillus casei* Shirota (LcS) sau 1,5 giờ và 3 giờ với SGF mật độ tế bào còn lại tương ứng là 4,84 và 3,57 Log CFU/g [10]. Tương tự, nghiên cứu của Dehkordi và cộng sự (2020) cho rằng mật độ tế bào *L. acidophilus* sau khi ủ 2 giờ trong SGF giảm còn 2,85 Log CFU/mL [17]. Điều này cho thấy điều kiện SGF với giá trị pH thấp là tác nhân gây chết các vi khuẩn probiotic vốn rất nhạy cảm với điều kiện môi trường này [2]. Mặc dù các chế phẩm bao gói đã cho phép sự khuếch tán của dịch tiêu hóa vào hạt làm giảm khả năng sống của probiotic. Tuy nhiên, tỷ lệ chết thấp hơn đáng kể so với tế bào tự do chỉ ra rằng quá trình bao gói đã cải thiện khả năng tồn tại của các chế phẩm sinh học trong điều kiện tiêu hóa nhân tạo [20].

Mặc dù alginate được biết đến là một chất mang được sử dụng phổ biến để bao gói probiotic, tuy nhiên chúng probiotic bao gói vẫn bị tác động bởi trong điều kiện dịch dạ dày [12]. Vì vậy, các nghiên cứu kết hợp alginate với các thành phần bổ sung được thực hiện nhằm cải thiện khả năng sống sót của vi khuẩn probiotic trong điều kiện bất lợi này. Trong các nghiên cứu trước đây cho thấy việc kết hợp alginate với các thành phần chất mang khác giúp cải thiện đáng kể khả năng sống của vi khuẩn probiotic. Ezekiel và cộng sự (2020) ghi nhận được rằng khả năng sống sót của các tế bào *L. rhamnosus* (LGG) được bao gói bằng chất mang sodium alginate kết hợp với tinh bột sắn và tinh bột hi-maize cao hơn so với bao gói chỉ với chất mang là sodium alginate ở thử nghiệm SGF [12]. Tương tự, nghiên cứu của Dehkordi và cộng sự (2020) cho rằng khi tăng nồng độ whey protein isolate và alginate thì khả năng sống sót của các tế bào vi khuẩn probiotic *L. acidophilus* trong điều kiện thử nghiệm ở SGF cao nhất đến 87% (số lượng tế bào ghi nhận là 8 Log CFU/mL) [17]. Kết quả thu được từ nghiên cứu cho thấy việc bổ sung cỏ ngọt trong quá trình vi bao là cần thiết giúp cải thiện đáng kể khả năng sống của *L. plantarum* trong điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo (Hình 2). Cỏ ngọt có chứa thành phần được chứng minh có vai trò như một prebiotic [14], giúp nâng cao đáng kể khả năng sống sót của vi khuẩn probiotic trong điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo (Hình 2). Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy có sự khác biệt về nồng độ cỏ ngọt bổ sung trong quá trình vi bao, trong đó kỹ thuật vi bao EM có nồng độ cỏ ngọt đạt hiệu quả tốt nhất, cao hơn so với kỹ thuật vi bao IM.

### 3.3. Ảnh hưởng của bao gói bằng kỹ thuật nhũ hóa đến khả năng sống của *L. plantarum* trong SIF

Khả năng sống của *L. plantarum* dạng chế phẩm bao gói và tự do sau khi ủ trong SIF 4 giờ được trình bày ở Hình 3. Có sự khác biệt đáng kể ( $p < 0,05$ ) giữa tế bào tự do và tế bào bao gói. Khác với môi trường SGF, sự khác biệt của các mẫu bổ sung cỏ ngọt ở các nồng độ khác nhau không được ghi nhận. Kết quả thu được chỉ ra rằng, mật độ tế bào tự do vẫn sống sót trong 4 giờ ủ ở môi trường SIF với số lượng *L. plantarum* giảm đi 1,5 Log CFU/g. Đối với mẫu chế phẩm IM ủ ở cùng điều kiện mật độ *L. plantarum* giảm đi tương ứng giảm khoảng 0,96 Log CFU/g, trong khi ở mẫu EM ghi nhận ở mức giảm 0,76 Log CFU/g (Hình 3).



Hình 3. Ảnh hưởng của bao gói bằng kỹ thuật nhũ hóa và nén đùn đến khả năng sống của *L. plantarum* trong SIF. <sup>abcde</sup> là các kí tự thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) giữa các mẫu.

So với điều kiện SGF, mức độ nhạy cảm của vi khuẩn probiotic đối với môi trường SIF thấp hơn đáng kể. Trong các nghiên cứu trước đây kỹ thuật vi bao giúp cải thiện khả năng sống của vi khuẩn probiotic trong điều kiện SIF [10]. Bên cạnh đó, việc kết hợp alginate với vật liệu khác sẽ giúp hạn chế cấu trúc xốp này, cản trở sự khuếch tán SIF vào trong chế phẩm bao gói, làm giảm tính thấm của dung dịch muối mật qua các hạt vi bao từ đó nâng cao khả năng bảo vệ tế bào vi khuẩn probiotic [12]. Các thành phần trong cỏ ngọt *stevia* được chứng minh là đóng vai trò như một nguồn prebiotic, có tác dụng kích thích sự phát triển của vi khuẩn probiotic [14]. Chính nhờ vào tất cả điều này sẽ bảo vệ các tế bào vi khuẩn *L. plantarum* khỏi sự tương tác với muối mật và cho phép chúng phát triển và nhân lên thông qua chu kỳ tăng trưởng của chúng [10]. Tương tự như vậy, việc bổ sung vi bao với prebiotic đã bảo vệ probiotic *L. acidophilus* tốt, cải thiện khả năng sống sót của chúng trong điều kiện bảo quản và đường tiêu hóa nhân tạo khi so sánh với probiotic tự do đã được ghi nhận trong nghiên cứu của Silva và cộng sự (2018) [20]. Điều đó có thể thấy việc kết hợp với *stevia* đã góp phần cung cấp nguồn carbohydrate để tiếp cận cho vi khuẩn probiotic trong ruột, từ đó kích thích khả năng hoạt động và phát triển của probiotic, từ đó nâng cao khả năng sống sót của *L. plantarum* trong điều kiện bất lợi (Hình 2 và 3).

## 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu thu được cho thấy, ở cùng nồng độ alginate, hiệu quả vi bao *L. plantarum* ở kỹ thuật nén đùn (EM) cao hơn kỹ thuật nhũ hóa (IM). Mức độ nhạy cảm của *L. plantarum* đối với môi trường SGF cao hơn đáng kể so với môi trường SIF, trong đó kỹ thuật vi bao cho hiệu quả bảo vệ *L. plantarum* cải thiện đáng kể so với tế bào tự do. Bên cạnh đó, việc bổ sung cỏ ngọt vào quá trình bao gói là cần thiết giúp cải thiện khả năng sống của vi khuẩn *L. plantarum* trong điều kiện dịch tiêu hóa nhân tạo. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, kỹ thuật vi bao nén đùn giúp cải thiện khả năng sống sót của *L. plantarum* trong điều kiện dịch

tiêu hóa nhân tạo hiệu quả hơn so với kỹ thuật nhũ hóa. Kỹ thuật nén đùn với kích thước chế phẩm lớn mang lại lợi thế trong việc bảo vệ vi khuẩn probiotic. Tuy nhiên, kích thước chế phẩm lớn là vấn đề cần xem xét khi bổ sung vào thực phẩm có yêu cầu cao về mặt cảm quan, nơi mà chế phẩm vi bao bằng kỹ thuật nhũ hóa với kích thước chế phẩm nhỏ cho ưu điểm vượt trội so với kỹ thuật nén đùn.

**Lời cảm ơn:** Kết quả nghiên cứu này là một phần thuộc đề tài nghiên cứu khoa học được tài trợ bởi Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM (mã đề tài: 93/HĐ-DCT 2022).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Malmo C., La Stora A., and Mauriello G. - Microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 cells coated in alginate beads with chitosan by spray drying to use as a probiotic cell in a chocolate soufflé. *Food and Bioprocess Technology* **6** (3) (2013) 795-805.
2. Arslan-Tontul S., and Erbas M. - Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. *Lwt-food Science and Technology* **81** (2017) 160-169.
3. Călinoiu L.-F., Ștefănescu B. E., Pop I. D., Muntean L., and Vodnar D. C. - Chitosan coating applications in probiotic microencapsulation. *Coatings* **9** (3) (2019) 194.
4. Arslan-Tontul S., Erbas M., and Gorgulu A. - The Use of probiotic-loaded single-and double-layered microcapsules in cake production. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* **11** (3) (2019) 840-849.
5. Fareez I.M., Lim S. M., Mishra R. K., and Ramasamy K. - Chitosan coated alginate-xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of *Lactobacillus plantarum* LAB12. *International Journal of Biological Macromolecules* **72** (2015) 1419-1428.
6. Trabelsi I., Ayadi D., Bejar W., Bejar S., Chouayekh H., and Salah R. B. - Effects of *Lactobacillus plantarum* immobilization in alginate coated with chitosan and gelatin on antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules* **64** (2014) 84-89.
7. Kamalian N., Mirhosseini H., Mustafa S., and Abd Manap M. Y. - Effect of alginate and chitosan on viability and release behavior of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4 in simulated gastrointestinal fluid. *Carbohydrate polymers* **111** (2014) 700-706.
8. Yeung R.A. and Kennedy R.A. - A comparison of selected physico-chemical properties of calcium alginate fibers produced using two different types of sodium alginate. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **90** (2019) 155-164.
9. Reig-Vano B., Tylkowski B., Montané X., and Giamberini M. - Alginate-based hydrogels for cancer therapy and research. *International Journal of Biological Macromolecules* **170** (2021) 424-436.
10. Jin H.S., Fei Y. S., Yan C. K., Kuan C. H., and Wei S. W. Y. - Effect of gums coating materials on the survival of microencapsulated probiotics under simulated gastrointestinal conditions. *Materials Today: Proceedings* **29** (2020) 16-19.
11. Mahmoud M., Abdallah N. A., El-Shafei K., Tawfik N. F., and El-Sayed H. S. - Survivability of alginate-microencapsulated *Lactobacillus plantarum* during storage, simulated food processing and gastrointestinal conditions. *Heliyon* **6** (3) (2020) e03541.
12. Ezekiel O.O., Okechie I.D., and Adedeji O.E. - Viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in simulated gastrointestinal conditions and after baking white pan bread at different temperature and time regimes. *Current Microbiology* **77** (12) (2020) 3869-3877.
13. Ahmad J., Khan I., Blundell R., Azzopardi J., and Mahomoodally M. F. - *Stevia rebaudiana* Bertoni.: an updated review of its health benefits, industrial applications and safety. *Trends in Food Science & Technology* **100** (2020) 177-189.

14. Lemus-Mondaca R., Vega-Gálvez A., Zura-Bravo L., and Ah-Hen K. - *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry* **132** (3) (2012) 1121-1132.
15. McClements D.J. - Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **17** (5) (2012) 235-245.
16. Iravani S., Korbekandi H., and Mirmohammadi S.V. - Technology and potential applications of probiotic encapsulation in fermented milk products. *Journal of Food Science and Technology* **52** (8) (2015) 4679-4696.
17. Dehkordi S.S., Alemzadeh I., Vaziri A. S., and Vossoughi. - Optimization of alginate-whey protein isolate microcapsules for survivability and release behavior of probiotic bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **190** (1) (2020) 182-196.
18. Mokhtari S., Jafari S. M., Khomeiri M., Maghsoudlou Y., and Ghorbani. - The cell wall compound of *Saccharomyces cerevisiae* as a novel wall material for encapsulation of probiotics. *Food Research International* **96** (2017) 19-26.
19. Zhang Y., Lin J., and Zhong Q. - The increased viability of probiotic *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 encapsulated in emulsions with multiple lipid-protein-pectin layers. *Food Research International* **71** (2015) 9-15.
20. Silva K.C.G., Cezarino E.C., Michelon M., and Sato A.C.K. - Symbiotic microencapsulation to enhance *Lactobacillus acidophilus* survival. *LWT* **89** (2018) 503-509.

## ABSTRACT

### EFFECT OF ENCAPSULATION TECHNIQUE AND *Stevia rebaudiana* ON *Lactobacillus plantarum* VIABILITY UNDER SIMULATED DIGESTIVE FLUID

Luu Hoang Dieu, Thai Ngoc Phuong Uyen, Nguyen Thi Tuong Vi,  
Ngo Dinh Thi Kim Quyen, Nguyen Phan Khanh Hoa,  
Le Thi Huy Hang, Nguyen Thi Thuy Duong, Lieu My Dong\*  
*Ho Chi Minh City University of Food Industry*  
\*Email: donglm@hufi.edu.vn

In this study, the effect of different encapsulation methods extrusion (EM) and internal emulsion (IM) methods (with and without the addition of stevia) on *Lactobacillus plantarum* LV 11 viability during the encapsulation process, as well as under simulated gastric (SGF) and intestinal juices (SIF) were evaluated. The results showed that the encapsulation efficiency of EM samples was significantly higher than IM samples, in which alginate concentration at 2% (w/v) showed the best results in both methods. In the SGF test, the free cell samples showed sensitivity to low pH conditions and no viable cells were recorded after 2 h of incubation. The sensitivity of *L. plantarum* to SGF medium was significantly higher than that of SIF medium, in which the encapsulation technique showed a significantly improved protective effect of *L. plantarum* compared to free cells. The addition of stevia to the encapsulation process was necessary to improve the viability of *L. plantarum* bacteria under simulated digestive fluid. The extrusion technique improved the survival of *L. plantarum* under SGF conditions compared to the emulsion technique. The emulsification technique, with the ability to produce small-sized preparation, but still ensures effective protection of probiotic bacteria that shows the potential for application in food products.

**Keywords:** Emulsion, extrusion, microencapsulation, simulated digestive fluid, stevia.