

VI GỐI *Lactobacillus plantarum* VỚI HỖN HỢP SKIM MILK VÀ TINH BỘT CHUỐI GIÀU RS BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẤY PHUN

Đào Thị Mỹ Linh*, Nguyễn Đăng Khoa, Sơn Thiên Nga

Nguyễn Thị Quỳnh Mai, Lê Thị Thúy

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

*Email: linhdtm@hufi.edu.vn

Ngày nhận bài: 24/11/2020; Ngày chấp nhận đăng: 29/3/2021

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm tạo ra các vi hạt *Lactobacillus plantarum* bằng phương pháp sấy phun với mong muốn tăng cường khả năng sống sót của probiotic khi qua hệ thống tiêu hóa. Hiệu quả tạo vi hạt với chất mang skim milk 15-25% (w/v) và tỷ lệ phối trộn skim milk: tinh bột chuối giàu RS (15-25% : 1,5%) được khảo sát. Sự ổn định của vi hạt trong các điều kiện nhiệt độ bảo quản khác nhau (37 °C và 4 °C) được tiến hành theo dõi. Hiệu quả bảo vệ của vi hạt so với chủng tự do được đánh giá trong điều kiện mô phỏng của hệ tiêu hóa. Kết quả cho thấy, khả năng bảo vệ và hiệu suất vi gói không có sự khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức sấy với skim milk so với nghiệm thức skim milk bổ sung tinh bột chuối giàu RS. Mật độ *Lactobacillus plantarum* trong vi hạt vẫn duy trì 10^8 CFU/g sau 28 ngày bảo quản và tỷ lệ sống sót sau 6 giờ trong môi trường mô phỏng hệ thống tiêu hóa đạt trên 50%.

Từ khóa: Điều kiện mô phỏng tiêu hóa, *Lactobacillus plantarum*, skim milk, tinh bột kháng, sấy phun.

1. MỞ ĐẦU

Lactobacillus plantarum là một loại vi khuẩn gram dương, hình que và không gây bệnh, có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ 12-40 °C. Loại vi khuẩn này hội tụ đầy đủ các tính chất của một probiotic như khả năng sống sót qua đường tiêu hóa, chịu được acid và môi trường dạ dày, khả năng bám dính biểu mô ruột, tính đối kháng vi sinh vật gây bệnh, tăng cường miễn dịch cũng như hoàn toàn không sinh độc tố. Bên cạnh đó, tính chất đặc trưng của *Lactobacillus plantarum* là khả năng chỉ chuyển hóa được tyrosine và arginine trong số các loại acid amine. Quá trình dị hóa arginine có đến sáu con đường khác nhau và đều sinh ra nitric oxide. Sự có mặt của nitric oxide giúp ngăn chặn các vi sinh vật gây bệnh như *Candida albicans*, *E.coli*, *Shigella*, *Helicobacter pylori*, các amip và kí sinh trùng, ngoài ra còn đóng vai trò điều tiết máu và các chất dinh dưỡng tới mô trong cơ thể [1].

Skim milk (SM) là phức hợp chứa lactose, chất béo, casein, whey protein và nhiều muối vô cơ, là một chất mang hiệu quả cho sấy phun mẫu probiotic. Để tăng cường hiệu quả bảo vệ, nhiều chất mang khác được phối trộn với skim milk như whey protein, trehalose, monosodium glutamate, glycerol, betaine, adonitol, sucrose, lactose, tinh bột glucose, inulin gum acacia và oligosaccharides [2].

Tinh bột kháng (resistant starch - RS) là tinh bột và các sản phẩm thoái hóa của nó, không được tiêu hóa khi đi qua ruột non. Tinh bột kháng phân thành 4 loại: RS1, RS2, RS3 và RS4 [3], không tiêu hóa được ở ruột non nên không giải phóng glucose mà nó đi thẳng xuống

ruột già để được các vi khuẩn sống ở đại tràng lên men, tiêu hóa tạo ra các acid béo chuỗi ngắn, bao gồm acetate, propionate và butyrate và làm gia tăng khối lượng vi khuẩn.

Ngày nay, việc tạo vi hạt probiotic bằng phương pháp sấy phun được lựa chọn bởi nhiều đặc tính ưu việt như khả năng bảo vệ probiotic khỏi các tác động nhiệt và điều kiện cực đoan của đường tiêu hóa, ngoài ra còn cho phép giải phóng chúng trong các điều kiện cụ thể. Bên cạnh đó, các chất mang skim milk và tinh bột chuối giàu RS đã được chứng minh về hiệu quả tăng cường sự sống của probiotic trong quá trình sấy phun và có giá trị về mặt kinh tế [4]. Vì vậy, trong nghiên cứu này, lợi khuẩn *Lactobacillus plantarum* được sấy phun với chất mang là skim milk và có bổ sung tinh bột chuối giàu RS nhằm đánh giá khả năng bảo vệ của nhóm chất mang tới khả năng sống của *Lactobacillus plantarum* trong quá trình sấy phun, thời gian bảo quản và khả năng sống sót trong hệ thống mô phỏng đường tiêu hóa.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Chủng giống *Lactobacillus plantarum* được cung cấp bởi Ngân hàng giống của Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP. Hồ Chí Minh.

Sữa tách béo (Skim cream instant power) của Công ty The A2 New Power (Newzealand).

Môi trường MRS agar, MRS broth, muối mật của Himedia Ấn Độ.

Tinh bột chuối giàu RS được thu nhận từ thịt chuối xanh xay nhuyễn, sau đó lọc rửa bã nhiều lần. Dịch cuối cùng tiếp tục được lọc qua vải lọc NMO kích thước lỗ 35 micron và để lắng, thu phần tinh bột trắng, sấy khô, sau đó nghiền và đồng nhất qua rây 200 mesh. Tinh bột chuối thu nhận hàm lượng RS là 23,36%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xây dựng đường cong sinh trưởng và nhân sinh khối *Lactobacillus plantarum*

Thực hiện nuôi cấy chủng giống *L. plantarum* trên ống thạch nghiêng. Sau 48 giờ nuôi cấy, tiến hành tăng sinh giống cấp 1 bằng cách lấy một vòng sinh khối giống cho vào ống nghiệm có chứa 5 mL MRS broth, ủ 37 °C trong 48 giờ. Sau đó, lắc đều sinh khối trong ống nghiệm và cho vào từng bình tam giác chứa 100 mL môi trường MRS broth đã được hấp khử trùng ở 121 °C, 15 phút. Tiếp tục ủ ở 37 °C và lấy mẫu xác định mật độ khuẩn lạc ở từng mốc thời gian sau mỗi 2 giờ nuôi cấy.

Sau khi xây dựng được đường cong tăng trưởng, tiến hành tăng sinh khối giống. Thu nhận sinh khối tươi tại giai đoạn cân bằng và ly tâm 5000 vòng/phút trong 10 phút loại bỏ dịch, thu cặn. Sau đó ly tâm rửa sinh khối 3 lần với NaCl 0,85%. Mỗi ống ly tâm chứa sinh khối thu được từ mỗi bình tăng sinh cấp 2 được cho vào 1 mL NaCl 0,85%. Sinh khối được bảo quản ở 4 °C tối đa 3 ngày trước khi thực hiện sấy phun.

2.2.2. Ảnh hưởng của chất mang đến quá trình tạo vi hạt bằng phương pháp sấy phun

Quá trình tạo vi hạt *L. plantarum* được khảo sát với nồng độ skim milk khác nhau (15, 20 và 25%) cũng như tỷ lệ phối trộn skim milk với dịch tinh bột chuối giàu RS đã hồ hóa (nồng độ 1,5%) tương ứng các nồng độ skim milk như trên với các thông số sấy phun như nhiệt độ đầu vào 130 °C, nhiệt độ đầu ra 76 °C ± 5 °C, lưu lượng dòng nhập liệu 0,48 L/giờ, tốc độ dòng khí khô 50 L/phút và áp suất không khí 0,3 Mpa [5]. Hiệu quả quá trình vi gói

được đánh giá bằng mật độ tế bào vi khuẩn. Các vi hạt sau sấy phun với SM và SM-RS được xác định hình dạng và kích thước hạt bằng kính hiển vi điện tử quét.

2.2.3. Độ ổn định của vi hạt trong quá trình bảo quản và khả năng sống sót trong điều kiện tiêu hóa mô phỏng

Vi hạt *L. plantarum* được tiến hành bảo quản ở 2 điều kiện nhiệt độ phòng (37 °C) và nhiệt độ lạnh (4 °C) trong 4 tuần. Đánh giá tỷ lệ sống của vi hạt ở từng điều kiện bảo quản.

Đánh giá hiệu quả bảo vệ của chủng vi gỏi so với chủng tự do trong điều kiện tiêu hóa mô phỏng theo de Araújo Etchepare và cộng sự (2016) và Maciel và cộng sự (2014) [6, 7] có sửa đổi: Chuẩn bị các bình tam giác chứa 0,1 g vi hạt hoặc 1 mL sinh khối tươi (vào các bình riêng lẻ) trong dung dịch AJG (artificial gastric juice) có thành phần 0,11 g/L CaCl₂, 1,12 g/L KCl, 2 g/L NaCl, 0,4 g/L KH₂PO₄ và điều chỉnh về pH 2,0 bằng HCl 1N, hấp khử trùng 121 °C, 15 phút. Sau đó bổ sung 3 g/L pepsin. Các thí nghiệm được thực hiện ở 37 °C và lắc ở 150 vòng/phút. Tiến hành thay đổi pH theo thời gian tương ứng với pH của dạ dày, ruột non, ruột già và các thành phần có trong từng giai đoạn của hệ thống tiêu hóa thực. Sau 2 giờ ủ và lắc, điều chỉnh pH của cả 2 mẫu về pH 5,0 bằng NaHCO₃ 1N. Đồng thời bổ sung thêm 0,1 g/L pancreatin và 1 g/L muối mật vào cả 2 mẫu. Tiếp tục ủ ở 37 °C, lắc 150 vòng/phút. Sau 4 giờ ủ và lắc, điều chỉnh pH mẫu về pH 7,5. Thực hiện lấy mẫu cấy trải và xác định mật độ khuẩn lạc ở từng mốc thời gian mỗi 1 giờ một lần, trong 6 giờ. Đánh giá tác động bảo vệ chủng vi khuẩn qua sự so sánh tỷ lệ sống sót của từng giai đoạn (1, 2, 3, 4, 5, 6 giờ) so với giai đoạn đầu (0 giờ).

2.2.4. Nhân sinh khối chủng *Lactobacillus plantarum*

L. plantarum được tăng sinh theo tỷ lệ 1% (v/v) ở 20 giờ, 37 °C trong môi trường MRS broth để đạt mật độ sinh khối cao nhất. Với mỗi ống sinh khối thu được sau ly tâm cô đặc được bổ sung 1 mL NaCl 0,85% đã hấp tiệt trùng ở 121 °C, 15 phút.

2.2.5. Xác định mật độ tế bào bằng phương pháp trải đĩa

Theo TCVN 7849:2008 (ISO 20128:2006) mật độ khuẩn lạc có trong 1 gam mẫu được tính theo công thức sau:

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1n_2)d}$$

Trong đó: $\sum c$ là tổng số khuẩn lạc đặc trưng đếm được trên tất cả các đĩa được giữ lại; n_1 là số đĩa được giữ lại ở độ pha loãng thứ nhất; n_2 là số đĩa được giữ lại ở độ pha loãng thứ hai; d là hệ số pha loãng tương ứng với độ pha loãng thứ nhất được giữ lại.

2.2.6. Hiệu suất vi gỏi quá trình sấy phun

Hiệu suất vi gỏi (EE) là tỷ lệ sống của các sinh vật trong quá trình vi gỏi, tính toán theo phương trình sau:

$$EE \% = (N / N_0) \times 100$$

Trong đó N là số lượng tế bào khả thi (log CFU/g) được giải phóng từ vi hạt và N_0 là số lượng tế bào khả thi (log CFU/g) tự do trong dung dịch trước quá trình sấy phun [5].

2.2.7. Hiệu suất thu hồi quá trình sấy phun

Hiệu suất thu hồi sản phẩm của quá trình sấy được tính bằng % khối lượng sản phẩm thu được sau sấy phun so với khối lượng chất mang trong dịch nhập liệu.

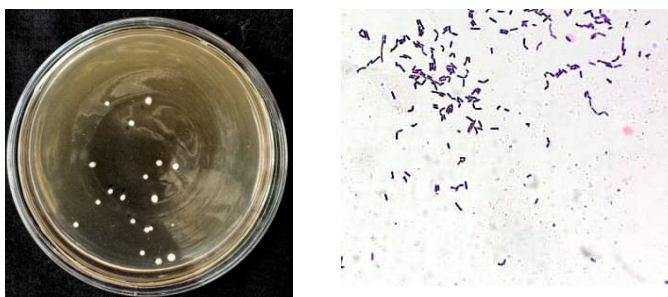
2.2.8. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Tất cả thí nghiệm được lặp lại 3 lần, các số liệu được ghi nhận và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010, đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp thống kê ANOVA và kiểm định LSD với độ tin cậy 95% bằng Statgraphic XVI, đồ thị được vẽ bằng phần mềm Origin 8.5.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái sinh học và đường cong sinh trưởng của *Lactobacillus plantarum*

Giống *L. plantarum* trước khi sử dụng được cấy tạo khuẩn lạc đơn trên môi trường MRS để kiểm tra độ đồng nhất. Sau đó thực hiện nhuộm Gram để quan sát hình thái tế bào. *L. plantarum* được cấy trên môi trường MRS rắn, ủ ở 37 °C trong 48 giờ để quan sát hình thái khuẩn lạc. Khuẩn lạc *L. plantarum* có dạng chấm tròn nhỏ, bìa nguyên, màu trắng sữa, bề mặt bóng, hơi nhô cao, đường kính 0,2-0,4 cm. *L. plantarum* là vi khuẩn gram dương, hình que, kết đôi hoặc kết chuỗi (Hình 1).

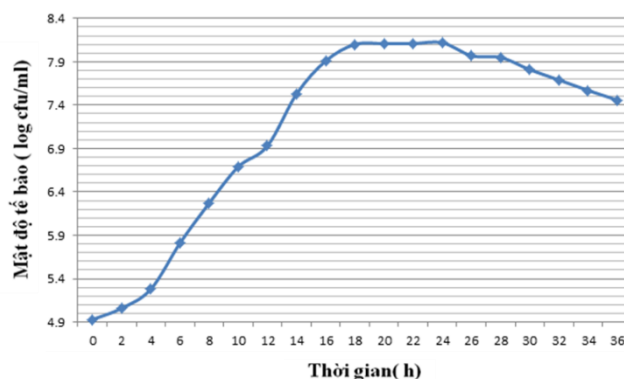


Hình 1. Hình thái đại thể và vi thể của *L. plantarum*

Sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật chịu tác động của nhiều yếu tố, khi nuôi cấy sinh vật trong những điều kiện thích hợp (pH, nhiệt độ, v.v) các tế bào sẽ sinh sản nhanh chóng và có thể được biểu thị bằng đường cong sinh trưởng theo thời gian. Đây là cơ sở cho việc xác định số lượng tế bào và tốc độ tăng trưởng của một sinh vật tại các mốc thời gian.

Nuôi sinh khối *L. plantarum* ở điều kiện nhiệt độ 37 °C và theo dõi mật độ tế bào vi sinh vật mỗi 2 giờ tăng trưởng trong khoảng thời gian từ 0-36 giờ. Kết quả được ghi nhận ở Hình 2. Đường cong sinh trưởng của *L. plantarum* cho thấy giai đoạn thích nghi trong khoảng 0-4 giờ, sau đó diễn ra quá trình tăng trưởng cực đại ở 20 giờ và giai đoạn cân bằng từ 20-24 giờ nuôi cấy. Sau 24 giờ, quần thể bước vào giai đoạn suy vong. Theo nghiên cứu của Đoàn Anh Dũng và cộng sự (2015), mật độ sinh khối *L. plantarum* đạt cao nhất là $3,60 \times 10^9$ CFU/mL ở 24 giờ khi ủ ở 37 °C [8]. Perdana và cộng sự (2013) nghiên cứu sấy phun và làm lạnh đông chủng *L. plantarum* WCFS1 với mật độ 10^9 CFU/mL khi tăng sinh trong môi trường MRS broth ở 30 °C trong 16 giờ [9]. *L. plantarum* A17 cũng được tăng sinh trong môi trường MRS với 17 giờ ủ để sinh khối bước vào giai đoạn sinh trưởng muộn cho mật độ sinh khối đạt $2-3 \times 10^9$ CFU/mL [10]. So sánh thời gian sinh trưởng của chủng *L. plantarum* nhận thấy rằng, nhiệt độ nuôi cấy là một trong những nhân tố ảnh hưởng đến thời gian thu nhận để mật độ sinh

khối đạt được cao nhất. Thời gian thích nghi (lag time) tỷ lệ nghịch với nhiệt độ ủ, trong khi tốc độ tăng trưởng riêng tăng lên theo nhiệt độ.

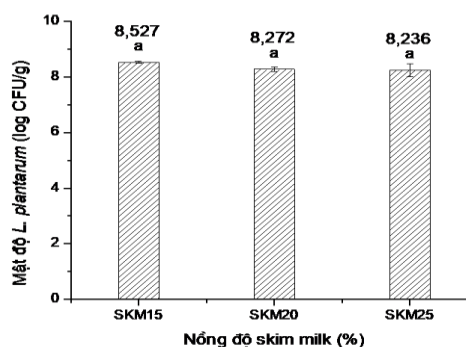


Hình 2. Đồ thị đường cong tăng trưởng của *L. plantarum* trên môi trường MRS broth

Đối với chủng *L. plantarum* thời gian kết thúc pha thích nghi (pha lag) khoảng 3,5 giờ khi nuôi cấy ở 25 °C [11]. Còn thời gian của pha lũy thừa (pha log) thay đổi tùy thuộc vào chủng vi sinh vật và thành phần của môi trường, tuy nhiên, trung bình có thể kéo dài 6 đến 12 giờ. Đối chiếu với đường cong tăng trưởng trên Hình 2 cho thấy sau 20 giờ nuôi cấy, mật độ sinh khối đạt được dao động khoảng $1,27-1,32 \times 10^8$ CFU/mL (từ 18-24 giờ nuôi cấy). Khi nuôi cấy *L. fermentum*, *L. acidophilus* La-5 trong môi trường MRS broth ở 37 °C thu được mật độ tương ứng là $11,88 \pm 0,05$ log CFU/mL trong 18-20 giờ [12], 10^{12} CFU/g trong 15 giờ [5], điều này chứng tỏ mỗi loài có sự thích nghi với môi trường khác nhau và quá trình sinh trưởng cũng khác nhau. Do đó, để chuẩn bị sinh khối trong quá trình nghiên cứu cần tăng sinh giống theo quy trình đã thực hiện ở trên và thu sinh khối ở các mốc thời gian từ 18 đến 24 giờ nuôi cấy ở các bình tăng sinh cấp 2.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ skim milk đến mật độ *Lactobacillus plantarum* đã bao gói

Các dung dịch chất mang skim milk được chuẩn bị lần lượt với nồng độ 15, 20 và 25% (w/v) và bổ sung 1% (v/v) giống *L. plantarum* với mật độ $15,889 \pm 0,049$ log CFU/mL. Kết quả khảo sát được trình bày trong Hình 3, cho thấy mật độ *L. plantarum* ở các nghiệm thức sấy phun với chất mang SM ở các nồng độ 15, 20 và 25% (w/v) lần lượt đạt $8,527 \pm 0,038$, $8,272 \pm 0,091$, $8,236 \pm 0,243$ (log CFU/mL) và không có sự khác biệt về mật thống kê. Do đó, có thể kết luận nồng độ SM tối thiểu ở 15% (w/v) đã có tác dụng bảo vệ chủng *L. plantarum* khi sấy phun.



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ skim milk đến mật độ *Lactobacillus plantarum* vi gói
^a là giá trị trung bình cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

Theo Lian và cộng sự (2002) trong số các vi sinh vật thử nghiệm, chủng *Bifidobacteria longum* B6 ít nhạy cảm nhất với việc sấy phun và thể hiện tỷ lệ sống sót cao đạt 82,6% với chất mang là SM [2]. Theo Crowe và cộng sự (1998), các thành phần sữa gây đường như vượt trội hơn trong việc tương tác trực tiếp với các nhóm phân cực của phospholipid màng và do đó giảm thiểu thiệt hại trên màng tế bào trong quá trình sấy phun và kéo dài thời gian bảo quản. Thành phần lactose trong sữa có thể đóng vai trò chủ đạo trong việc bảo vệ vi khuẩn bằng cách tương tác trực tiếp với các phân tử sinh học nhạy cảm [13]. SM chứa nhiều Ca^{2+} , có thể bảo vệ tế bào chống lại stress nhiệt từ 2 khía cạnh. Thứ nhất, nó ổn định cấu trúc tế bào khi chịu áp lực nhiệt, có thể là màng tế bào chất; thứ hai, nó kết hợp với protein sữa để tạo thành các khối kết tụ với các tế bào LAB, giúp giảm bớt căng thẳng do mất nước nhanh chóng và nhiệt độ tăng cao [14].

Về nồng độ chất mang dùng để bao gói, theo Huang và cộng sự (2018), nồng độ chất mang khoảng 20-30% là tốt nhất, đảm bảo khả năng tồn tại cao của vi khuẩn trong vi nang [15]. Cũng theo đó, nghiên cứu của Ananta và cộng sự (2005) cho thấy *L. rhamnosus* GG khi vi gói bởi sữa gây nồng độ 20% (w/v) bằng kỹ thuật sấy phun với nhiệt độ đầu ra 80 °C cho tỷ lệ sống đạt 60% [16]. Nghiên cứu sấy phun *L. paracasei* NFBC 338 và *L. salivarius* UCC 118 bằng chất mang skim milk với nồng độ 20% cũng được Gardiner và cộng sự (2000) khẳng định là tốt nhất khi sấy phun với nhiệt độ đầu ra 80-85 °C. Bột sấy phun có độ ẩm 4,1-4,2% và số lượng khả thi là $3,2 \times 10^9$ CFU/g đối với NFBC 338 và $5,2 \times 10^7$ CFU/g đối với *L. salivarius* UCC 118 [17].

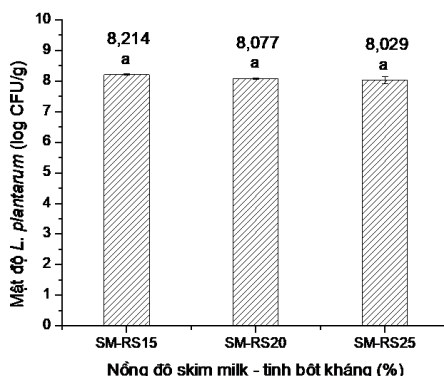
Theo Liêu Mỹ Đông và cộng sự (2015) việc gia tăng nhiệt độ sấy phun ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ sống của probiotic. Tỷ lệ sống của probiotic giảm mạnh gần 55% khi nhiệt độ đầu vào của quá trình sấy phun là 130 °C và giảm đến 80% khi nhiệt độ đầu vào là 150 °C, trong khi tỷ lệ tế bào sống sót có thể đạt 81,17% với nhiệt độ đầu vào của quá trình sấy là 100 °C [18]. Theo Ananta và cộng sự (2005), tỷ lệ sống sót tỷ lệ nghịch với nhiệt độ đầu ra và độ ẩm tăng khi nhiệt độ đầu ra không khí giảm. Tỷ lệ sống của vi sinh vật là 60% và độ ẩm bột sau sấy dưới 4% được ghi nhận khi sấy phun ở nhiệt độ đầu ra 80 °C, tổn thương màng tế bào và mức độ phá hủy màng tế bào khi gia tăng nhiệt độ đầu ra là nguyên nhân chính gây chết tế bào [16].

Để đảm bảo bột sau sấy có độ ẩm càng thấp càng tốt và tỷ lệ sống sót cao, thí nghiệm đã tiến hành điều chỉnh thông số nhiệt độ đầu vào lên 130 °C và nhiệt độ đầu ra dao động khoảng 75-80 °C. Tuy nhiên, độ ẩm bột sau sấy vẫn còn cao lần lượt là 9,12%, 9,52% và 10,01% tương ứng SM15, SM20 và SM25, điều này có thể là do ảnh hưởng của tốc độ dòng nhập liệu. Tốc độ bơm nhập liệu tăng, đồng nghĩa với thời gian lưu của vật liệu sấy trong buồng sấy giảm, do đó hiệu quả sấy sẽ không cao, độ ẩm sẽ tăng, phần hạt ẩm dính lại trong buồng sấy cũng tăng dẫn đến hiệu suất thu hồi sản phẩm sau quá trình sấy phun giảm [19]. Độ ẩm của bột có liên quan mật thiết đến nhiệt độ và độ ẩm không khí đầu ra. Sự thay đổi độ ẩm không khí đầu ra có thể do sự thay đổi độ ẩm tuyệt đối của không khí đầu vào, tổng hàm lượng chất rắn cô đặc, tốc độ kết tinh và nhiệt độ không khí đầu ra. Với độ ẩm tương đối của không khí là 7% thì độ ẩm của bột là 5,1% [20]. Vậy, với độ ẩm bột thu được trong thí nghiệm có thể thấy độ ẩm tương đối không khí đầu vào của thiết bị sấy phun có thể ở mức 14%.

Từ đó có thể thấy, với mật độ giống ban đầu ở mức $>10^{15}$ CFU/mL để sau sấy mật độ đạt $>10^8$ CFU/g với các thông số sấy phun đã được chọn là phù hợp. Theo khuyến cáo, một sản phẩm dạng probiotic có mật độ tối thiểu 10^8 tế bào được xem là đảm bảo tác dụng của probiotic đối với sức khỏe người tiêu dùng [21].

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ kết hợp nồng độ skim milk với tinh bột chuối giàu RS tới khả năng sống sót của *Lactobacillus plantarum* đã bao gói

Do tinh bột chuối giàu RS có tính dẻo và độ nhớt tăng lên sau hồ hóa, vì vậy, tỷ lệ tinh bột được chọn khảo sát ở nồng độ thấp 1,5%. Trong nghiên cứu này, tinh bột đã được thử với tỷ lệ cao hơn nhưng quá trình sấy phun không thực hiện được. Để không ảnh hưởng tới hoạt động của kim phun, dung dịch sấy phun được chuẩn bị có chất mang là hỗn hợp SM:RS với tỷ lệ là 15:1,5; 20:1,5; 25:1,5 (%) (w/v). Bổ sung 1% (v/v) giống *L. plantarum* có mật độ $15,819 \pm 0,049$ log CFU/mL. Kết quả khảo sát cho thấy mật độ lợi khuẩn đạt $8,214 \pm 0,034$, $8,077 \pm 0,015$, $8,029 \pm 0,124$ (log CFU/g) tương ứng các tỷ lệ SM:RS = 15:1,5; 20:1,5; 25:1,5% (w/v) và có sự khác biệt có ý nghĩa không nhiều ở các nghiệm thức (Hình 4).



Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ kết hợp nồng độ skim milk với tinh bột chuối giàu RS tới khả năng sống sót của *L. plantarum* đã bao gói

^a là giá trị trung bình cột sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$)

Với việc bổ sung tinh bột kháng giàu RS vào SM để tạo hỗn hợp các chất mang sấy phun cho tỷ lệ sống của *L. plantarum* thấp hơn so với các thành phần chất mang chỉ chứa skim milk có sự khác biệt rõ ở SM25 $67,29 \pm 0,50\%$ so với tỷ lệ SM-RS khác (Bảng 1).

Bảng 1. Tỷ lệ sống sót của *L. plantarum* trong vi nang chứa SM và SM kết hợp RS

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống sót (%)	Nghiệm thức	Tỷ lệ sống sót (%)
SM15	$67,21^c \pm 1,11$	SM-RS15	$65,15^a \pm 0,12$
SM20	$66,45^{bc} \pm 0,52$	SM-RS20	$65,31^{ab} \pm 0,78$
SM25	$67,29^c \pm 0,50$	SM-RS25	$65,67^{ab} \pm 0,53$

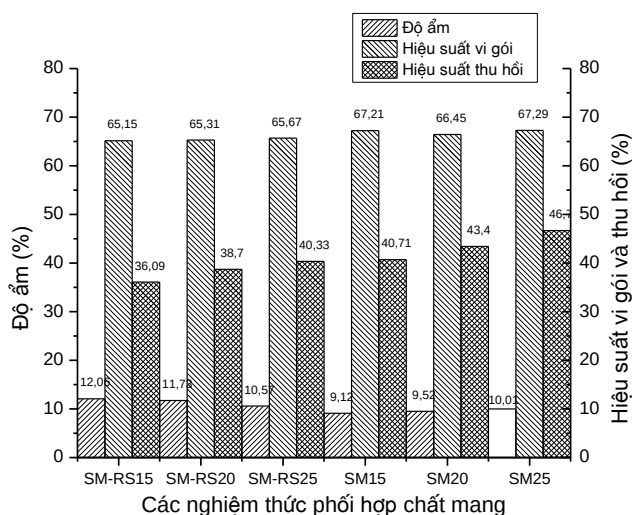
^{abc} là giá trị trung bình cột sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$)

Nghiên cứu về tác dụng của tinh bột kháng trong sấy phun bảo vệ chủng *L. rhamnosus* GG cho thấy sự kết hợp các chất vi gói với sự hiện diện của tinh bột kháng có hiệu quả hơn trong việc bảo vệ vi sinh vật này [22]. Một nghiên cứu khác cũng được Ying và cộng sự (2013) thực hiện trước đó về tác dụng hỗ trợ của RS với WPI (whey protein isolate) đối với chủng LGG cho thấy vi nang bao gói bởi WPI hoặc WPI kết hợp với RS cung cấp sự bảo vệ tốt hơn cho LGG trong dung dịch đậm nước táo và citrate so với công thức chỉ chứa RS trong mọi điều kiện lưu trữ. Sự bảo vệ được giải thích là do khả năng WPI tạo ra một môi trường vi mô cho LGG cách ly các tế bào khỏi các ứng suất của môi trường bên ngoài [23]. Ying và cộng sự (2016) cũng sử dụng tinh bột (10-20% w/v) làm chất mang cho hiệu quả bảo vệ tốt hơn so với inulin (10-20% w/v) trong cùng điều kiện sấy phun, với mật độ *L. rhamnosus* sau sấy tương ứng đạt 65-74% và 43-54% so với mật độ giống bổ sung trước sấy [22]. Lian và cộng

sự (2002) đã so sánh tác động của tinh bột kháng với các chất mang, kết quả cho thấy chủng *B. infantis* B6 sống sót tốt hơn với gum arabic, sau đó là gelatin và thấp nhất là tinh bột hòa tan. Tỷ lệ sống sót của *B. longum* B6 với 10% gum arabic và tinh bột hòa tan lần lượt là 41,2% và 29,1%, cao nhất trong số các nồng độ khác nhau của chất mang được thử nghiệm. Khi nồng độ gum arabic hoặc tinh bột hòa tan tăng lên, tỷ lệ sống sót của *B. longum* B6 giảm [2]. Việc đánh giá hiệu quả bảo vệ của tinh bột kháng như một chất mang vẫn còn có sự khác biệt giữa các nghiên cứu.

Trong nghiên cứu, việc bổ sung thêm tinh bột kháng vào skim milk để tạo hỗn hợp chất mang, chưa thấy rõ hiệu quả bảo vệ tốt hơn so với chất mang chỉ chứa skim milk, thể hiện ở tỷ lệ sống sót của chủng *L. plantarum* (Bảng 1). Điều này có thể lý giải là do tinh bột có thể đã phá vỡ cấu trúc liên kết cho cơ chế tạo vết nứt trên bề mặt hạt sấy phun của skim milk theo như nhận định của Lian và cộng sự (2012) [2], làm cho nhiệt khó thoát khỏi vi nang, thời gian probiotic tiếp xúc nhiệt càng lâu thì tỷ lệ sống sót sẽ càng thấp. Ananta và cộng sự (2005) cũng chứng minh việc bổ sung 2 loại prebiotic (oligofructose và polydextrose) không mang lại sự khác biệt đáng kể nào so với việc sử dụng chất mang chỉ chứa 20% (w/v) skim milk để bảo vệ chủng *L. rhamnosus* GG khi sấy phun ở nhiệt độ đầu ra 80 °C. Mặt khác, việc giảm nồng độ skim milk khi bổ sung thêm prebiotic làm giảm hiệu suất bảo vệ trong thời gian bảo quản bột [16].

Bên cạnh đó, tinh bột có tính dẻo, đặc biệt sau khi hồ hóa tinh bột làm liên kết hydro bị phá vỡ, do đó, độ nhớt dung dịch chất mang tăng lên là một nguyên nhân làm hiệu suất thu hồi bột thấp hơn và độ ẩm bột cao hơn các nghiệm thức chỉ chứa SM (Hình 5). Với dung dịch chất mang có độ nhớt cao yêu cầu lưu lượng dòng nhập liệu lớn, mà việc tăng tốc độ dòng nhập liệu thì dễ làm các hạt bám vào thành dẫn đến độ ẩm tương đối của không khí đầu ra đạt tới 30% [20]. Mức độ ẩm không khí đầu ra càng cao sẽ làm độ ẩm bột càng cao. Điều này được thể hiện ở mức độ ẩm của các nghiệm thức kết hợp SM với RS cao hơn các nghiệm thức chỉ chứa SM. Cụ thể, độ ẩm của bột probiotic sau vi gói với hỗn hợp SM-RS lần lượt đạt 12,06%, 11,73%, 10,58%, 9,12%, 9,52% và 10,01% tương ứng SM-RS15, SM-RS20 và SM-RS25.

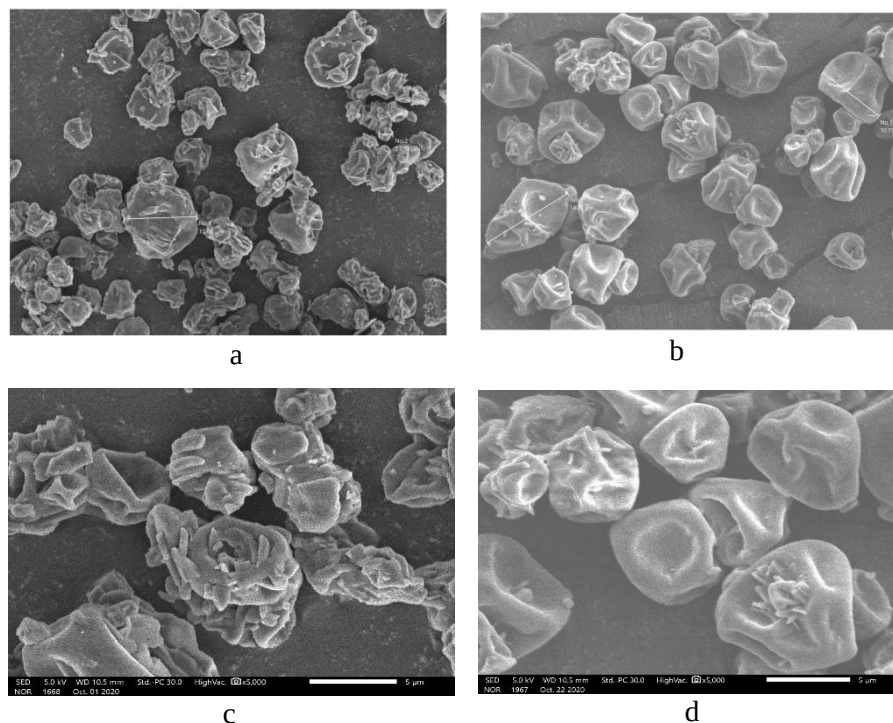


Hình 5. Các chỉ tiêu đánh giá vi gói *L. plantarum* sấy phun với SM và SM kết hợp RS

3.4. Hình dạng và kích thước hạt qua kính hiển vi điện tử quét

L. plantarum vi gói với skim milk 15% (w/v) và skim milk 15% kết hợp tinh bột chuối giàu RS (w/v) được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM) và được thể hiện trong Hình 6. Vi hạt được chụp SEM từ Hình 6 (a) và (b) với độ phóng đại 2000 lần có thể thấy bề mặt hạt đều có vết lõm. Điều này được lý giải là do sự bay hơi nhanh chóng của các giọt chất lỏng

trong quá trình sấy phun [2]. Mặt khác, việc sử dụng nhiệt độ sấy đầu vào cao cũng là nguyên nhân tạo nên độ lõm ở lớp bề mặt vi hạt, góp phần chống lại sự tạo vết nứt và khuếch tán chất tan [24].



Hình 6. Hình dạng vi hạt *L. plantarum* SM15 (a, c) và SM-RS15 (b, d) với độ phóng đại 2000 và 5000 lần

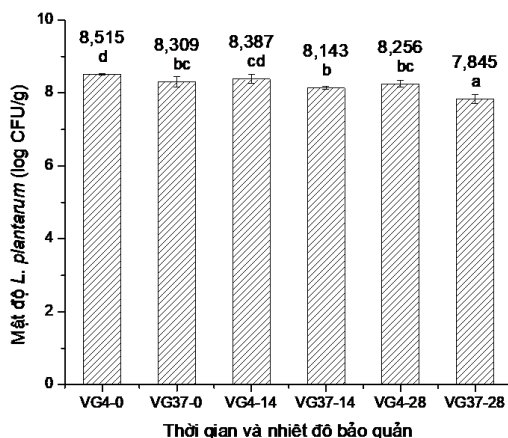
Vi hạt được bao gói bởi SM (Hình 6a) sần sùi và có tồn tại các vết nứt trên bề mặt. Kết quả này tương đồng với nhận định của Lian và cộng sự (2012) khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét cho thấy bề mặt của các vi hạt *Bifinobacterium* được bao gói bởi sữa gầy (skim milk) xuất hiện sần sùi với các vết nứt nhìn thấy được. Các vết nứt này có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc thoát nhiệt từ bên trong vi hạt sau khi sấy, ít gây tổn thương bởi nhiệt cho các vi sinh vật vi gói [2]. Ngược lại, bề mặt các vi hạt được vi gói bằng SM kết hợp RS (Hình 6b) hoàn toàn nhẵn và không thấy xuất hiện vết nứt. Nghiên cứu của Ortega và cộng sự (2017) khi vi gói chủng *L. plantarum* và *L. acidophilus* chỉ với tinh bột kháng Hi-maize thì vi hạt tạo thành có hình như bánh rán, bề mặt nhẵn và có độ lõm [25]. Còn Domian và cộng sự (2015) thực hiện vi gói dầu bằng tinh bột ngô cho thấy bề mặt không có vết nứt, tròn trịa và lõm vào tạo các khoang đặc trưng [26]. Rajam và cộng sự (2012) cho rằng bề mặt có các vết lõm, hốc trên hạt vi gói bởi FOS và whey protein và các nếp nhăn trên FOS và whey protein biến tính có thể liên quan tới nhiệt độ sấy thấp cũng như hiệu ứng cơ chế kết hợp của nguyên tử và các đặc tính tạo màng khác nhau của vật liệu sử dụng đóng gói [27].

Dựa vào thang đo trong phần mềm hệ thống trả kết quả hình chụp SEM trên kính hiển vi điện tử quét JSM-IT 200 (Hình 6) cho thấy kích thước hạt vi gói bởi SM dao động từ 2,038-10,66 μm , trong khi kích thước của các vi hạt bao gói bởi hỗn hợp SM và RS dao động từ 1,952-14,22 μm . Có sự khác biệt về kích thước hạt ở 2 vật liệu vi gói SM và SM kết hợp RS là do sự hình thành màng khác nhau và đặc tính tạo bọt của vật liệu thường được sử dụng để đóng gói. Nghiên cứu của Rajam và cộng sự (2015) thực hiện vi gói *L. plantarum* cho kích thước vi hạt dao động từ 6,68-23,89 μm tùy thuộc vào vật liệu cũng như tỷ lệ vật liệu bao gói như FOS 15,44 μm ; FOS kết hợp whey protein tỷ lệ 1:1 là 7,34 μm , 1:1,5 là 8,97 μm ; FOS

kết hợp với whey protein biến tính 1:1 là 6,68 μm , 1:1,5 là 13,62 μm . Tuy nhiên, sự thay đổi tỷ lệ chất mang không làm ảnh hưởng tới hình thái vi nang [28].

3.5. Đánh giá tính ổn định của vi hạt *L. plantarum* trong quá trình bảo quản

Hình 7 cho thấy khả năng tồn tại của vi nang *L. plantarum* bảo quản ở nhiệt độ phòng (37 °C) và điều kiện làm lạnh (4 °C) trong thời gian 28 ngày.

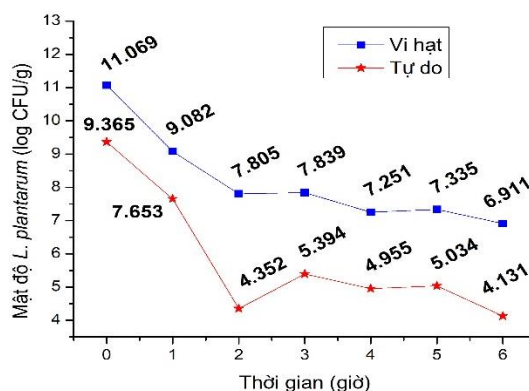


Hình 7. Tính ổn định của vi gói *L. plantarum* trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ khác nhau
^{abcd} là giá trị trung bình cột sự sai khác ký tự có ý nghĩa sai khác về mặt thống kê ($p < 0,05$)

Khi bảo quản trong điều kiện phòng (37 °C) khả năng tồn tại của vi nang *L. plantarum* sau 28 ngày giảm gần 1 log CFU/g từ $8,309 \pm 0,141$ xuống còn $7,845 \pm 0,119$ log CFU/g. Đối với bảo quản điều kiện lạnh (4 °C), mật độ *L. plantarum* giảm rất ít sau gần 28 ngày, từ $8,515 \pm 0,012$ giảm còn $8,256 \pm 0,091$ log CFU/g. Sau 28 ngày bảo quản, khả năng tồn tại của *L. plantarum* dạng tự do và dạng vi nang vẫn cao hơn 10^6 log CFU/g, giá trị ngưỡng được khuyến nghị để thực phẩm phát huy lợi ích probiotic [29]. Lượng vi sinh vật giảm dần trong quá trình bảo quản có thể do nhiều yếu tố: pH, nồng độ oxy hòa tan, nhiệt độ, độ ẩm. Trong đó, nồng độ oxy hòa tan đóng vai trò đáng kể trong việc hạn chế sự sống sót của vi khuẩn vi hiếu khí. Oxy và ẩm từ môi trường có thể khuếch tán qua bao bì nên lượng vi sinh vật càng giảm không chỉ phụ thuộc thời gian mà còn phụ thuộc vào vật liệu bao bì chứa [30]. Mặt khác, các đặc điểm rào cản bảo vệ của vật liệu đóng gói và hút chân không có thể đã góp phần vào sự ổn định vi sinh của vi nang trong quá trình bảo quản.

3.6. Đánh giá khả năng sống sót của chủng vi hạt *L. plantarum* và chủng tự do trong điều kiện mô phỏng đường tiêu hóa

Đánh giá tỷ lệ sống sót *L. plantarum* tự do và vi nang trong hệ thống đường tiêu hóa mô phỏng với pH thay đổi từ 2,0 đến 7,5. Mật độ tế bào của *L. plantarum* trong vi nang sau 6 giờ là $6,911 \pm 0,032$ log CFU/g, còn probiotic tự do chỉ $4,131 \pm 0,103$ log CFU/mL. Sau khi tiếp xúc 60 phút trong môi trường AJG, pH được điều chỉnh thành 2,0 có bổ sung pepsin (thực quản/dạ dày mô phỏng), mật độ probiotic ở cả dạng vi hạt và tự do so với ban đầu giảm lần lượt là $1,987 \pm 0,043$ và $1,712 \pm 0,072$ log CFU/g. Sau 3 giờ tương đương giai đoạn đầu ở tá tràng có thành phần muối mật, pancreatin với pH môi trường xấp xỉ 5, các vi hạt và probiotic tự do đều cho thấy số lượng tế bào sống sót tăng lên đạt 70,82% và 57,59% cao hơn mức 2 giờ (giai đoạn ruột non) tương ứng vi hạt và dạng tự do là 70,51% và 46,47% (Hình 8). Tuy nhiên, sự gia tăng của probiotic tự do lớn hơn đối với vi hạt. Sự gia tăng số lượng tế bào của vi hạt được quan sát trong môi trường nuôi cấy có thể liên quan đến thực tế rằng chúng đã bị tiêu diệt trong điều kiện acid của thực quản/dạ dày mô phỏng.



Hình 8. Mật độ của *L. plantarum* vi gói và tự do trong điều kiện mô phỏng đường tiêu hóa theo thời gian.

Trong nghiên cứu của Rajam và cộng sự (2012) nhận thấy rằng khả năng tồn tại của probiotic tăng cường khi môi trường nuôi cấy được thêm vào pH 5,0 với pancretin và muối mật [27]. Trong phần cuối cùng của đường tiêu hóa mô phỏng, hồi tràng (pH 7,5) chủng *L. plantarum* tự do giảm khoảng 5,234 log CFU/mL, trong khi các vi nang giảm dao động từ 3,734 đến 4,158 log CFU/mL so với số lượng ban đầu. Sau 6 giờ ở đường tiêu hóa mô phỏng, *L. plantarum* ở dạng tự do giảm đáng kể, tỷ lệ sống chỉ còn 44,11%, trong khi đó vi nang *L. plantarum* duy trì đến 62,44%. Vì vậy, so với probiotic tự do, sự sống sót của *L. plantarum* vi gói cao hơn đáng kể ở giai đoạn cuối trong điều kiện mô phỏng đường tiêu hóa, giúp đánh giá được khả năng bảo vệ của vi nang. Những kết quả này tương đồng với kết quả của Nunes và cộng sự (2018), Maciel và cộng sự (2014), Gebara và cộng sự (2013) [5, 7, 31]. *Lactobacillus plantarum* CFR 2158100 duy trì khả năng tồn tại 100% khi bao gói bằng sấy phun sử dụng sữa tách béo và tiếp xúc với pH 2,0 trong 4 giờ, trong khi tế bào tự do của *Bifidobacterium animalis* Bb-12 giảm bằng 1,51 log CFU/g sau khi tiếp xúc với pH 2,0 trong 3 giờ và bằng 0,73 log CFU/g khi được bao bọc trong whey [32]. Khả năng sống sót của probiotic trong điều kiện mô phỏng đường tiêu hóa ngoài việc phụ thuộc vào chủng vi khuẩn còn phụ thuộc vào sử dụng kỹ thuật vi gói và bổ sung các chất bảo vệ khác.

4. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu cho thấy các vi hạt *L. plantarum* được bao gói với nồng độ chất mang skim milk 15-25% được tạo ra bằng phương pháp sấy phun đều cho hiệu quả bảo vệ cao hơn so với việc phối trộn thêm tinh bột chuối giàu RS vào skim milk. Khi so sánh giữa các nghiệm thức thấy rằng: ở nồng độ skim milk 15% cho tỷ lệ sống cũng như hiệu suất vi gói đạt 67,21%, hiệu suất thu hồi đạt 40,71% và mang lại lợi ích kinh tế hơn do sử dụng lượng chất mang ban đầu thấp nhất. Đối với quá trình bảo quản sau 28 ngày, mật độ vi khuẩn tồn tại trong vi hạt *L. plantarum* ở 2 điều kiện nhiệt độ (37 °C và 4 °C) có xu hướng giảm, tuy nhiên, vẫn nằm trên mức khuyến nghị của chế phẩm sinh học ($\geq 10^6$ CFU/g). Việc đánh giá khả năng sống sót trong hệ thống tiêu hóa mô phỏng cho thấy các vi hạt *L. plantarum* có hiệu quả bảo vệ cao hơn so với chủng tự do trong điều kiện cực đoạn với tỷ lệ sống khi đến ruột già (tương ứng sau 6 giờ) đạt 62,24%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Đăng - Probiotics và sức khỏe, Nhà xuất bản Y học (2019) 65-66.
2. Lian W., Hsiao H., Chou C. - Survival of *Bifidobacteria* after spray-drying, International Journal of Food Microbiology **74** (2002) 79-86.
3. Trần Bá Thoại - Kháng tinh bột (resistant starch) - Chuối xanh: An lành hơn chuối chín!, Tran Ba Thoai's Blog (2017).
4. Favaro-Trindade C.S., Heinemann R.J.B. and Pedroso D.L. - Developments in probiotic encapsulation, CAB Reviews **6** (004) (2011) 1-8.
5. Nunes G.L., de Araújo Etchepare M., Cichoski A.J., Zepka L.Q., Lopes E.J., Barin J.S., de Moraes Flores É.M., da Silva C.D.B. and de Menezes C.R. - Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying, LWT-Food Science and Technology **89** (2018) 128-133.
6. de Araújo Etchepare M., Raddatz G.C., Cichoski A.J., Flores É.M.M., Barin J.S., Zepka Leila L.Q., Jacob-Lopes E., Grosso C.R.F., de Menezes C.R. - Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate, Journal of Functional Foods **21** (2016) 321-329.
7. Maciel G.M., Chaves K.S., Grosso C.R.F., Gigante M.L. - Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials, Journal of Dairy Science **97** (4) (2014) 1991-8.
8. Đoàn Anh Dũng, Nguyễn Công Hà, Lý Nguyễn Bình và Lê Nguyễn Đoàn Duy - Nghiên cứu sử dụng vi khuẩn probiotic *Lactobacillus plantarum* trong chế biến sữa chua, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ **36** (2015) 14-20.
9. Perdana J., Bereschenko L., Fox M.B., Kuperus J.H., Kleerebezem M., Boom R.M. and Schutyser M.A. - Dehydration and thermal inactivation of *Lactobacillus plantarum* WCFS1: Comparing single droplet drying to spray and freeze drying, Food Research International **54** (2) (2013) 1351-1359.
10. Khem S., Woo M.W., Small D.M., Chen X.D. and May B.K. - Agent selection and protective effects during single droplet drying of bacteria, Food Chemistry **166** (2015) 206-214.
11. Selma M.V., MacNaughtan W., Mitchell J., Waites W. - Optimisation of production and storage stability of the starter bacteria *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus plantarum*, Journal of the Science of Food and Agriculture **87** (5) (2007) 765-772.
12. Nguyen Thi My Le, Nguyen Thuy Huong - Microencapsulation of *Lactobacillus fermentum* 39-183 by spray drying in the presence of prebiotics, Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm **13** (1) (2017) 11-20.
13. Crowe J.H., Carpenter J.F., and Crowe L.M. - The role of vitrification in anhydrobiosis, Annual Reviews of Physiology **60** (1) (1998) 73-103.
14. Zheng X., Fu N., Duan M., Woo M.W., Selomulya C. and Chen X.D. - The mechanisms of the protective effects of reconstituted skim milk during convective droplet drying of lactic acid bacteria, Food Research International **76** (2015) 478-488.
15. Huang S., Gaucher F., Cauty C., Jardin J., Le Loir Y., Jeantet R., Chen X.D., Jan G. - Growth in hyper-concentrated sweet whey triggers multi stress tolerance and spray drying survival in *Lactobacillus casei* BL23: from the molecular basis to new perspectives for sustainable probiotic production, Frontiers in Microbiology **9** (2018) 1-12.

16. Ananta E., Volkert M., Knorr D. - Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG, International Dairy Journal **15** (4) (2005) 399-409.
17. Gardiner G.E., O'sullivan E., Kelly J., Auty M.A.E., Fitzgerald G.F., Collins J.K., Ross R.P., Stanton C. - Comparative survival rates of Human-Derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying, Applied and Environmental microbiology **6** (66) (2000) 2605-2612.
18. Liêu Mỹ Đông, Bùi Văn Hoài, Nguyễn Thúy Hương - Nâng cao khả năng sống của *Lactobacillus casei* vi gỏi bằng kỹ thuật sấy phun với hỗn hợp prebiotic, Tạp chí phát triển Khoa học và Công nghệ **18** (K3) (2015) 66-74.
19. Nguyễn Quốc Sinh, Nguyễn Thị Diễm Hương, Nguyễn Thành Thuận - Ảnh hưởng của một số thông số công nghệ đến chất lượng bột hồng trà hòa tan bằng phương pháp sấy phun, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp **2** (3) (2019) 1217-1226.
20. Wisniewski R. - Spray drying technology review, 45th International Conference on Environmental Systems (2015) 1-46.
21. Lourens-Hattingh A., Viljoen B.C. - Yogurt as probiotic carrier food, International Dairy Journal **11** (1-2) (2001) 1-17.
22. Ying D., Sanguansri L., Weerakkody R., Bull M., Singh T.K., Augustin M.A.- Effect of encapsulant matrix on stability of microencapsulated probiotics, Journal of Functional Foods **25** (2016) 447-458.
23. Ying D., Schwander S., Weerakkody R., Sanguansri L., Gantenbein-Demarchi C., and Augustin M.A. - Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: Probiotic survival in fruit juice, Journal of Functional Foods **5** (1) (2013) 98-105.
24. Rodríguez-Huezo, M. E., Durán-Lugo R., Prando-Barragán LA., Cruz-Sosa F., Lobato-Calleros C., Alvarez-Ramírez J., Vernon-Carter E.J. - Pre-selection of protective colloids for enhanced viability of *Bifidobacterium bifidum* following spray-drying and storage, and evaluation of aguamiel as thermoprotective prebiotic, Food Research International **40** (10) (2007) 1299-1306.
25. Ortega V.V.R. - Comparative viability of spray dried *Lactobacilli* affected by different protective agents and storage conditions, Louisiana State University - LSU Digital Commons (2017) 1-78.
26. Domian E., Brynda-Kopytowska A., Cenkier J., Świrydow E. - Selected properties of microencapsulated oil powders with commercial preparations of maize OSA starch and trehalose, Journal of Food Engineering **152** (2015) 72-84.
27. Rajam R., Karthik P., Parthasarathi S., Joseph G.S., Anandharamakrishnan C. - Effect of whey protein-alginate wall systems on survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, Journal of Functional Foods **4** (4) (2012) 891-898.
28. Rajam R., Anandharamakrishnan C. - Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying, LWT - Food Science and Technology **60** (2) (2015) 773-780.
29. Hamilton-Miller J.M.T., Gibson G.R. - Efficacy studies of probiotics: a call for guidelines, British Journal of Nutrition **82** (1) (1999) 73-75.
30. Chávez B.E., Ledebøer A.M. - Drying of probiotics: Optimization of formulation and process to enhance storage survival, Drying Technology **25** (7-8) (2007) 1193-1201.

31. Gebara C., Chaves K.S., Ribeiro M.C.E., Souza F.N., Grosso C.R., Gigante M.L. - Viability of *Lactobacillus acidophilus* La5 in pectin-whey protein microparticles during exposure to simulated gastrointestinal conditions, Food Research International **51** (2) (2013) 872-878.
32. De Castro-Cislaghi F.P., Carina D.R.E.S., Fritzen-Freire C.B., Lorenz J.G., Sant'Anna E.S. - *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage, Journal of Food Engineering **113** (2) (2012) 186-193.

ABSTRACT

MICROENCAPSULATE *Lactobacillus plantarum* WITH SKIM MILK MIXED BANANA STARCH BY SPRAY DRYING

Dao Thi My Linh*, Nguyen Dang Khoa, Son Thien Nga

Nguyen Thi Quynh Mai, Le Thi Thuy

Ho Chi Minh City University of Food Industry

*Email: linhdtm@hufi.edu.vn

The study aimed to create microencapsulated *Lactobacillus plantarum* by spray-drying method with the desire to enhance the viability of probiotic when passing through the digestive system. The efficiency of encapsulation with skim milk carrier 15-25% (w/v) and skim milk: RS-rich banana starch (15-25% : 1.5%) were investigated. The stability of the microparticles under different storage temperature conditions (37 °C and 4 °C) was observed. The protective effect of microparticles compared with free strains was assessed under simulated digestive system conditions. The results showed that the protection ability and efficiency of encapsulation were not statistically different between the treatments spray-drying with skim milk and the skim milk supplemented with banana starch rich in RS. The number of *L. plantarum* in microencapsulated sample remained 10⁸ CFU/g after 28 days of storage and the survival rate after 6 hours reached over 50% in the artificial conditions of digestive system.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, skim milk, resistant starch RS, spray drying, simulated digestive system.