

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH**  
**KHOA KỸ THUẬT THỰC PHẨM VÀ MÔI TRƯỜNG**



**KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP**

**PHÂN LẬP PROBIOTICS TỪ NHIỀU  
NGUỒN KHÁC NHAU VÀ KHẢO SÁT  
SỰ KÍCH THÍCH TĂNG TRƯỞNG  
BẰNG PREBIOTIC**

**TRẦN PHẠM YẾN NHI**

Tp.HCM, tháng 10 năm 2023

TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH  
KHOA KỸ THUẬT THỰC PHẨM VÀ MÔI TRƯỜNG



KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

PHÂN LẬP PROBIOTICS TỪ NHIỀU  
NGUỒN KHÁC NHAU VÀ KHẢO SÁT  
SỰ KÍCH THÍCH TĂNG TRƯỞNG  
BẰNG PREBIOTIC

TRẦN PHẠM YẾN NHI  
ThS. NGUYỄN NHƯ NGỌC

Tp.HCM, tháng 10 năm 2023

**CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH**

Cán bộ hướng dẫn: *(ghi tên và ký duyệt)*

Cán bộ chấm phân biện: *(ghi tên và ký duyệt)*

Khóa luận được bảo vệ tại HỘI ĐỒNG CHẤM BẢO VỆ LUẬN VĂN ĐẠI HỌC  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH, ngày 26 tháng 9 năm 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NGUYỄN TẤT THÀNH  
KHOA KỸ THUẬT THỰC PHẨM & MÔI TRƯỜNG  
BỘ MÔN: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

## NHIỆM VỤ LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP

HỌ VÀ TÊN: TRẦN PHẠM YẾN NHI

MSSV: 1900007035

NGÀNH: CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

LỚP: 19DTP1A

Tên Khóa luận:

Tiếng Việt: Phân lập probiotic từ nhiều nguồn khác nhau và khảo sát sự kích thích tăng trưởng bằng prebiotic

Tiếng Anh: Isolation of probiotic bacteria from different sources and their growth stimulation by prebiotics

Nhiệm vụ Khóa luận:

- Phân lập và định danh các chủng vi sinh vật từ các nguồn kim chi, sữa chua, yến mạch.
- Khảo sát hoạt tính của probiotic
- Đánh giá khả năng kích thích tăng trưởng của probiotic thông qua các nồng độ khác nhau của prebiotic

Ngày giao Khóa luận:

Ngày hoàn thành nhiệm vụ:

Họ tên cán bộ hướng dẫn: ThS Nguyễn Như Ngọc

Nội dung và yêu cầu KLTN đã được Hội Đồng chuyên ngành thông qua.

Tp.HCM, ngày 25 tháng 9 năm 2023

**TRƯỞNG BỘ MÔN**

**CÁN BỘ HƯỚNG DẪN**

**ThS. Đặng Thanh Thủy**

**ThS. Nguyễn Như Ngọc**

**TRƯỞNG/PHÓ KHOA**

## LỜI CẢM ƠN

Để có thể hoàn thành được đề tài này, em được nhận vô vàn sự giúp đỡ từ phía thầy cô cũng như bạn bè xung quanh. Trước tiên, em xin gửi lời cảm ơn đến cô Nguyễn Như Ngọc và thầy Nguyễn Quốc Duy đã tận tình hướng dẫn cũng như giúp đỡ em rất nhiều trong suốt quá trình làm luận văn. Cùng với lời động viên và chia sẻ kiến thức, thầy cô đã soi sáng và truyền nguồn cảm hứng và động lực giúp em có thể hoàn thành tốt nhất bài luận văn của mình.

Và em cũng xin dành một lời tri ân to lớn và sâu sắc nhất đối với những thầy cô của Khoa Kỹ thuật Thực Phẩm và Môi Trường - Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, những người đã truyền đạt cho em nhiều kiến thức bổ ích và tạo điều kiện để em hoàn thành việc học tập và rèn luyện suốt những năm em học tập tại trường.

Do kiến thức và thời gian còn có hạn nên bài viết không tránh khỏi những thiếu sót, kính mong quý thầy cô cùng các bạn góp ý giúp em rút được kinh nghiệm hoàn thiện tốt hơn nữa.

Em xin chân thành cảm ơn!

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài “**PHÂN LẬP PROBIOTIC TỪ NHIỀU NGUỒN KHÁC NHAU VÀ KHẢO SÁT SỰ KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG BẰNG PREBIOTIC**” là công trình nghiên cứu của cá nhân tôi được thực hiện dưới sự hướng dẫn của **ThS. Nguyễn Như Ngọc** và **ThS. Nguyễn Quốc Duy**. Những số liệu, kết quả và nội dung trình bày trong khóa luận này là các nghiên cứu nguyên thủy (original research) chưa được công bố trên bất kỳ tạp chí hay tài liệu học thuật nào cho đến thời điểm hiện tại.

Tôi ủy quyền sử dụng mọi nội dung trong nghiên cứu này cho **ThS. Nguyễn Như Ngọc** và **ThS. Nguyễn Quốc Duy** trong các công bố khoa học, các nghiên cứu và đề tài cấp cao hơn (Thạc sĩ, Tiến sĩ) mà không có bất kỳ tranh chấp nào về quyền tác giả và sở hữu trí tuệ. Ngoài ra, tôi xác nhận tư cách đồng tác giả dưới tên **Trần Phạm Yến Nhi/Nhi Tran** với email liên hệ **1900007035@nttu.edu.vn** thuộc Khoa Kỹ thuật Thực phẩm và Môi trường (Đại học Nguyễn Tất Thành).

Tôi xin cam đoan những lời khai trên là đúng sự thật và hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về tính xác thực.

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 11 tháng 9 năm 2023

**Tác giả luận văn**

**(Ký và ghi rõ họ tên)**

**Trần Phạm Yến Nhi**

## TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, các chủng vi sinh vật được phân lập từ các nguồn khác nhau như kim chi, yến mạch và kefir. Sau đó được tiến hành quan sát các đặc điểm hình thái, kiểm tra sinh hóa, định danh bằng kỹ thuật 16S rRNA và đánh giá các hoạt tính của chúng trước khi đánh giá khả năng kích thích sinh trưởng bằng prebiotic. Sau khi phân lập và định danh thu được kết quả là *Lac\_KC* – *Lactiplantibacillus plantarum* và *Ped\_KC* – *Pediococcus acidilactici* được phân lập từ kim chi, *Leu\_KF* – *Leuconostoc lactis* và *Weissella cibaria* phân lập từ kefir và *Wei\_O* – *Weissella cibaria* phân lập từ yến mạch. Kết quả khảo sát mức độ sống sót trong môi trường MRS lỏng và được ủ 37 °C của các chủng vi khuẩn cho thấy pha cân bằng ba chủng *Lac\_KC*, *Ped\_KC* và *Leu\_KF* đều đạt giá trị cao từ ngày 3 - 5 khảo sát (khoảng 10.34-10.36 log CFU/ml). Các khảo sát về đặc tính probiotic cho thấy khả năng tự kết dính của chủng *Ped\_KC* đạt giá trị cao nhất 51,9% lần so với các chủng. Khác với tự kết dính thì khả năng đồng kết dính của *Wei\_KF* ở thời điểm 24 giờ đạt giá trị kết dính cao nhất (26.6%). Ngoài ra, các chủng đều có khả năng kháng lại các nhóm kháng sinh như Penicillin, Ampicillin, Amoxicillin, Erythromycin, Levofloxacin và Tetracycline, tuy nhiên lại không kháng lại Cephalosporins. Ngoài ra khi khảo sát khả năng tồn tại trong dịch miệng mô phỏng các kết quả cho thấy các chủng hầu như không có thay đổi nhiều về số lượng tế bào. Tuy nhiên sau khi tiếp xúc với môi trường dịch dạ dày mô phỏng pH 2.0, hai chủng *Leu\_KF* và *Wei\_KF* chết hoàn toàn sau 1 – 3 giờ ủ. *Wei\_O* là chủng có khả năng chống chịu acid tốt nhất đạt 3.1 log CFU/mL. Nhìn chung khả năng kích thích sinh trưởng của ba chủng *Ped\_KC*, *Leu\_KF* và *Wei\_O* ở cả ba nồng độ (0%, 0.1%, 0.5%) đạt giá trị cao so với hai chủng còn lại.

## ABSTRACT

*In this study, microbial strains were isolated from different sources such as kimchi, oats and kefir. Then, the morphological characteristics, biochemical tests, identification using 16S rRNA technique and evaluation of the strain's activities were conducted before evaluating the ability to stimulate growth with prebiotics. After isolation and identification, the results were Lac\_KC – Lactiplantibacillus plantarum and Ped\_KC – Pediococcus acidilactici isolated from kimchi, Leu\_KF – Leuconostoc lactis and Weissella cibaria isolated from kefir and Wei\_O – Weissella cibaria isolated from oats. The results of surveying the survival level in liquid MRS environment and incubated at 37 °C of bacterial strains showed that the equilibrium phase of three strains Lac\_KC, Ped\_KC and Leu\_KF all reached high values from days 3 - 5 of the survey (about 10.34 -10.36 log CFU/ml). Surveys on probiotic properties showed that the auto-aggregation ability of the Ped\_KC strain reached the highest value of 51.9% compared to other strains. Unlike auto-aggregation, the co-aggregation ability of Wei\_KF at 24 hours reached the highest aggregation value (26.6%). In addition, all strains are resistant to antibiotic groups such as Penicillin, Ampicillin, Amoxicillin, Erythromycin, Levofloxacin and Tetracycline, but are not resistant to Cephalosporins. In addition, when examining the ability to survive in simulated oral fluid, the results showed that the strains had almost no change in cell number. However, after exposure to a simulated gastric fluid environment of pH 2.0, the two strains Leu\_KF and Wei\_KF died completely after 1 - 3 hours of incubation. Wei\_O is the strain with the best acid resistance, reaching 3.1 log CFU/mL. In general, the growth stimulation ability of the three strains Ped\_KC, Leu\_KF and Wei\_O at all three concentrations (0%, 0.1%, 0.5%) reached high values compared to the other two strains.*

# MỞ ĐẦU

## 1. Đặt vấn đề

Ngày nay khoa học ngày càng tiến bộ kéo theo đó là sự gia tăng dân số, đồng thời ngày càng có nhiều sự quan tâm hơn về các chế phẩm sinh học có tác dụng cải thiện sức khỏe liên quan đến men vi sinh. Việc bổ sung lợi khuẩn qua thực phẩm vẫn được thực hiện và mang lại nhiều thành tựu trong ngành công nghệ thực phẩm như kiểm soát nhiễm trùng đường tiêu hóa, bệnh tiêu chảy do kháng sinh, các bệnh về tim mạch và ung thư đại trực tràng (Shokryazdan et al., 2017). Các vi sinh vật phổ biến nhất được thêm vào thực phẩm để tăng khả năng sinh học như là các chủng vi khuẩn lactic (LAB). Vi khuẩn acid lactic (LAB) đã được sử dụng trong nhiều thế kỷ để sản xuất các sản phẩm lên men từ sữa, thịt, rau và đồ uống có cồn, cũng như trong bánh mì bột chua, LAB trình bày các hệ thống phân giải protein chịu trách nhiệm về các cảm quan của thực phẩm lên men, hơn nữa một số chủng LAB cũng có thể tạo ra exopolysaccharides (EPS) có thể tăng chất lượng thực phẩm (Abarquero et al., 2022). Men vi sinh thường được sử dụng trong lĩnh vực dược phẩm và thực phẩm vì chúng thường được sử dụng dưới dạng thuốc, thực phẩm chức năng, sữa công thức cho trẻ em hoặc thức ăn chăn nuôi (Gu et al., 2022). Probiotic thường được ứng dụng trong nhiều loại thực phẩm bổ sung dinh dưỡng, thực phẩm y tế và dược phẩm (Saxelin et al., 2005). Theo định nghĩa mới nhất về prebiotic, người ta hy vọng rằng nó có thể tạo ra những thay đổi lớn đối với hệ vi sinh vật chủ, không chỉ ở đường ruột (Monteagudo-Mera et al., 2019). Khác với probiotic, prebiotic là thành phần thực phẩm chức năng nổi bật với vai trò tăng cường sức khỏe đã được khẳng định rõ ràng để kết hợp với probiotic tăng khả năng phát triển khỏe mạnh giúp của hệ vi sinh vật đường ruột bằng việc kích thích chúng (Vera et al., 2021). Một số lợi ích có thể mang lại của prebiotic như là thay đổi hệ vi sinh có trong đường tiêu hóa, cải thiện chức năng, giảm độ pH trong ruột và giảm mức độ các chất chuyển hóa nitơ (Peng et al., 2020). Ngoài ra trong đường tiêu hóa, EPS đóng vai trò cực kỳ quan trọng với sức khỏe của vật chủ, nó hoạt động như một prebiotic để thúc đẩy sự tăng trưởng vi khuẩn có lợi và cung cấp các chất chuyển hóa như acid béo chuỗi ngắn (SCFA) (M.-G. Lee et al., 2022). Nhiều loại polysaccharide ngoại bào từ LAB đã được công bố rộng rãi mang

lại tiềm năng “prebiotic”. EPS từ LAB thể hiện khả năng chọn lọc các vi khuẩn có lợi trong đường tiêu hóa tương tự như các prebiotic khác (Hongpattarakere et al., 2012).

Do vậy, nghiên cứu dưới đây nhằm định danh các chủng từ các nguồn thực vật như kim chi, kefir, yến mạch và đánh giá hoạt tính của những LAB đã được phân lập trước đó. Ngoài ra còn khảo sát khả năng ảnh hưởng của prebiotic lên sự sinh trưởng của vi khuẩn LAB.

## **2. Mục tiêu nghiên cứu**

Nghiên cứu này nhằm phân lập, định danh vi sinh vật từ các nguồn thực vật như kim chi, kefir, yến mạch. Bên cạnh đó đánh giá một số hoạt tính của các probiotic và đánh giá sự kích thích tăng trưởng của probiotic qua các nồng độ prebiotic khác nhau.

## **3. Nội dung nghiên cứu**

Để thực hiện được quá trình khảo sát tốt nhất và dễ phân tích sự tăng trưởng nên đề tài “Phân lập probiotics từ nhiều nguồn khác nhau và khảo sát sự kích thích tăng trưởng bằng prebiotic” được phân tích với các nội dung:

- i. Phân lập và định danh các chủng vi sinh vật từ các nguồn kim chi, sữa chua kefir và yến mạch.
- ii. Khảo sát hoạt tính probiotic của các chủng vi khuẩn lactic phân lập.
- iii. Đánh giá khả năng kích thích tăng trưởng của probiotic thông qua các nồng độ khác nhau của prebiotic.

## **4. Phạm vi nghiên cứu**

Nghiên cứu trên phạm vi thực hiện phân lập *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc lactis* và *Weissella cibaria* từ kim chi, kefir, yến mạch và khảo sát sự kích thích tăng trưởng bằng prebiotic.