

tannins. *Postharvest Biology Technology*, 12: 265-271.

**Teixeira B., Marques A., Ramos C., Neng N.R., Nogueira J.M.F., Saraiva, J.A., Nunes M.L.**, 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43 (1): 587-595.

**Vázquez-Gutiérrez J.L., Hernando I., Quiles A.**, 2013. Changes in tannin solubility and microstructure of high hydrostatic pressure-treated persimmon cubes during storage at 4°C. *European Food Research and Technology*, 237: 9-17.

**Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernández López J., Pérez-Álvarez J.**, 2008. Antibacterial activity of lemon

(*Citrus limon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Journal of Food Safety*, 28 (4): 567-576.

**Yamada H., Ando T., Tsutani K., Amano S., Yamamoto Y.**, 2009. Mechanism of browning occurring during the processing of semidried persimmon. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 78 (1): 124-130.

**Zheng G.H. & Sugiura A.**, 1990. Changes in sugar composition in relation to invertase activity in the growth and ripening of persimmon (*Diospyros kaki*) fruits. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 59: 281-287.

## Effects of a mixture of betel leaf and pomelo peel essential oils on the quality of cold-air dried Nhan Hau persimmon cultivar (*Diospyros kaki* Thunb.)

Dinh Thi Hien

### Abstract

Nhan Hau cold-air dried persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) is one of the most popular fruit products in East Asia. The quality of dried persimmon depends on many factors, including: raw material quality, drying method, spray solution, misting method and preservation, all of which affect color, tannin content, sugar levels, and other quality attributes. This study aimed to evaluate the use of essential oils as an alternative to chemical preservatives for the preservation of Nhan Hau freeze-dried persimmons at 20°C. A mixture of betel leaf essential oil and pomelo peel essential oil at a concentration of 10%, combined with 3% citric acid was periodically sprayed onto the surface of peeled persimmons every 72 hours over a four-week period. The results showed that sugar content increased, tannin content decreased, and both color and storage quality of the persimmons were improved compared to the control after four weeks of cold-air drying.

**Keywords:** Nhan Hau persimmon, cold-air drying, essential oil, tannin, sugar content

Ngày nhận bài: 05/6/2025

Người phản biện: PGS.TS. Hoàng Thị Lệ Hằng, PGS.TS Phạm Anh Tuấn

Ngày phản biện: 15/7/2025

Ngày duyệt đăng: 22/12/2025

## ĐÁNH GIÁ ĐIỀU KIỆN TĂNG TRƯỞNG VÀ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP EXOPOLYSACCHARIDE (EPS) CỦA CÁC CHỦNG *Lactobacillus* sp.

Lê Văn Hậu<sup>1\*</sup>, Nguyễn Phúc Long<sup>2</sup>, Trịnh Văn Có<sup>3</sup>, Ngô Huỳnh Phương Thảo<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

*Lactobacillus* thuộc nhóm vi khuẩn lactic (Lactic Acid Bacteria - LAB) có khả năng sinh tổng hợp exopolysaccharide (EPS), một loại polysaccharide ngoại bào được tiết ra môi trường nuôi cấy. Nghiên cứu này đánh giá điều kiện ảnh hưởng đến khả năng tăng trưởng và sinh tổng hợp EPS được thu từ dịch lên men bằng phương pháp phenol-sulfuric của bốn chủng *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khoảng thời gian từ 24 đến 48 giờ là thời điểm tốt nhất để thu nhận sinh khối vi khuẩn. Hàm lượng EPS thu được cao nhất khi tăng sinh cả bốn chủng *Lactobacillus* sp. trong môi trường MRS lỏng ở cùng điều kiện (pH 6,0, nhiệt độ 28°C và 24 giờ) với hàm lượng EPS đạt từ 829,14 đến 1.032,28 µg/mL. Riêng đối với *L. salivarius*, điều kiện pH 5,0 cho hàm lượng EPS cao hơn. Khả năng hòa tan EPS trong nước của cả bốn chủng đạt từ 88,35 đến 91,01%. Những kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng các chủng *Lactobacillus* trong sản xuất EPS phục vụ cho các mục đích công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và nông nghiệp.

**Từ khóa:** Exopolysaccharide, *Lactobacillus* sp., phenol-sulfuric, Lactic acid bacteria

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xu hướng ứng dụng polymer tự nhiên trong nhiều lĩnh vực đã thúc đẩy sự phát triển của các nghiên cứu nhằm sản xuất exopolysaccharide từ vi khuẩn (Nguyen *et al.*, 2020)

EPS có nguồn gốc từ vi khuẩn sở hữu cấu trúc đặc thù, mang lại tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong hóa học, y học và công nghiệp thực phẩm (Kanmani *et al.*, 2011). Tuy nhiên, việc

<sup>1</sup> Phòng Công nghệ Sinh học Thủy sản, Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Khoa Khoa học Sinh học, Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh; <sup>3</sup> Khoa Khoa học Ứng dụng, Đại học Tôn Đức Thắng

\* Tác giả liên hệ, email: lvhau.shtp@tphcm.gov.vn

khai thác và thương mại hóa EPS, đặc biệt là từ vi khuẩn lactic, vẫn còn gặp nhiều trở ngại do sản lượng sinh khối thấp. Kể từ khi LAB được công nhận là an toàn (GRAS - *Generally Recognized As Safe*), việc tối ưu hóa quy trình thu nhận và tách chiết EPS đã trở thành hướng tiếp cận đầy hứa hẹn nhằm sản xuất EPS đáp ứng các yêu cầu trong ngành thực phẩm (Harutoshi, 2013). Nhờ cấu trúc đa dạng và tính an toàn cho con người, EPS do vi khuẩn lactic sinh tổng hợp thu hút sự quan tâm hơn so với EPS từ các loài khác (Luyen *et al.*, 2018). Thành phần monosaccharide, vị trí liên kết và đặc tính ứng dụng của EPS do LAB tạo ra phụ thuộc vào chủng vi khuẩn, điều kiện nuôi cấy và môi trường (Robijn *et al.*, 1996). EPS có khả năng tăng cường miễn dịch, kháng virus và chống oxy hóa (Ismail & Nampoothiri, 2013; Wang *et al.*, 2014). *Lactobacillus* sp. là trực khuẩn Gram dương, kỵ khí tùy nghi, không sinh bào tử, không di động và phản ứng âm tính với catalase và oxidase; được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm và sản xuất chế phẩm sinh học nhờ khả năng sinh axit, tạo mùi và thủy phân protein (Wang *et al.*, 2021). Nguyễn Phú Thọ và cộng sự (2020) đã nghiên cứu sản xuất EPS từ vi khuẩn *L. plantarum* phân lập từ các sản phẩm lên men truyền thống và ứng dụng trong lĩnh vực chăn nuôi và thủy sản. Bên cạnh đó, Trương Tiến Công và cộng sự (2022) đã tiến hành nghiên cứu sử dụng EPS như một loại prebiotic nhằm kích thích hệ miễn dịch trên tôm sú. Vì vậy, việc nghiên cứu đánh giá khả năng sinh tổng hợp EPS giữa các chủng *Lactobacillus* sp. khác nhau nhằm tối ưu hóa hiệu quả sử dụng toàn bộ sinh khối vi khuẩn lactic sống cùng với các hợp chất sinh học trong dịch lên men là cần thiết. Mục tiêu hướng đến là tạo ra các sản phẩm sinh học có khả năng tăng cường sức đề kháng và nâng cao hệ miễn dịch cho các loài thủy sản, góp phần xây dựng mô hình nuôi trồng thủy sản an toàn và bền vững.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bốn chủng vi khuẩn *Lactobacillus* sp. dùng trong nghiên cứu gồm: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum* phân lập từ ruột

tôm, cá rô phi tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long (kể thừa từ các nghiên cứu trước) và *Lactobacillus salivarius* (Đại học Quốc gia TP. HCM). Tất cả bốn chủng đã được định danh bằng phương pháp giải trình tự gen đoạn 16S rDNA và so sánh trình tự với dữ liệu trên ngân hàng gene NCBI, lần lượt tương đồng 99,16% *Lactiplantibacillus plantarum* strain SKL-19 (MH424457.1), 99,38% *Lactobacillus acidophilus* strain BCRC10695 (NR\_043182.1), 99,35% *Lactobacillus fermentum* strain 27291 (GU372717.1) và 98,46% *Lactobacillus salivarius* strain TCMM17 (KP255977.1).

Hóa chất, môi trường sử dụng: D-glucose (Cat#1.08342.1000, Merck), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc (Cat#1.00731.1000, Merck), Trichloroacetic acid (Cat#76.03.9, Merck), phenol (Cat#108.95.2, Xilong), EtOH tinh luyện 96% (Cat#64.17.5, Chemsol) và MRS broth (Cat#GM369-500G, Himedia).

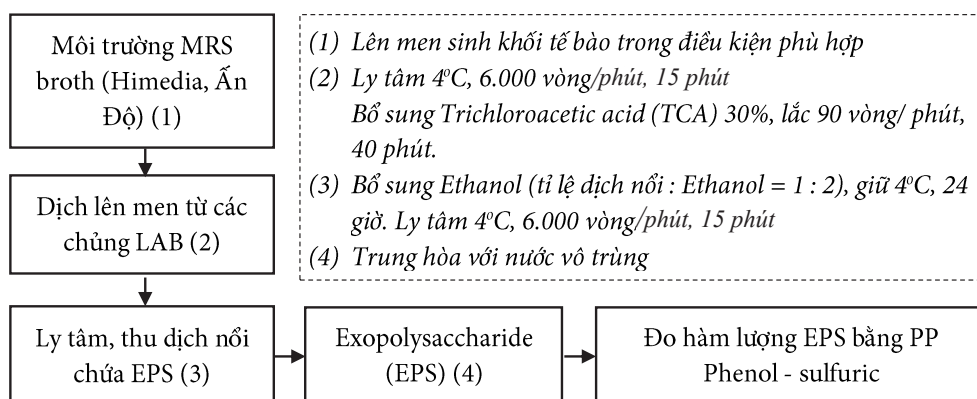
### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Đánh giá điều kiện ảnh hưởng quá trình tăng trưởng và sinh tổng hợp EPS

Đánh giá điều kiện pH (5, 6 và 7), thời gian nuôi cấy (0 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ) và nhiệt độ (28°C và 30°C) lên quá trình tăng trưởng và sinh tổng hợp EPS của bốn chủng vi khuẩn *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius*. Bốn chủng vi khuẩn được tăng sinh 5% (v/v) trong môi trường MRS (Himedia, Ấn Độ) ở các điều kiện pH, nhiệt độ và thời gian khác nhau. Biểu đồ đường cong tăng trưởng và hàm lượng EPS được xác định ở các mốc thời gian nuôi cấy tại 0 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường MRS Agar (Himedia, Ấn Độ) có bổ sung 0,75% CaCO<sub>3</sub> và đo hàm lượng EPS bằng phương pháp Phenol - sulfuric.

#### 2.2.2. Phương pháp thu nhận và tách chiết EPS sinh tổng hợp từ *Lactobacillus* sp.

Sinh khối vi khuẩn các chủng *Lactobacillus* sp. sau khi lên men được tiến hành thu nhận và tách chiết EPS theo sơ đồ mô tả ở hình 1 (Yuksekdag & Aslim, 2008).



Hình 1. Sơ đồ thu nhận và tách chiết EPS sinh tổng hợp từ *Lactobacillus* sp.

### 2.2.3. Xác định hàm lượng EPS bằng phương pháp Phenol - sulfuric

Nguyên tắc dựa vào phản ứng thủy phân các polysaccharide thành monosaccharide và tạo màu với phenol, dung dịch tạo thành có độ hấp thụ cực đại tại bước sóng  $\lambda = 490 \text{ nm}$ .

*Xây dựng đường chuẩn D-glucose:*

Cân chính xác 0,25 (g) D-glucose cho vào bình định mức 250 mL, rồi định mức bằng nước cất, được dung dịch A có nồng độ dung dịch D-glucose là 1.000  $\mu\text{g/mL}$ .

Pha loãng dung dịch A có nồng độ dung dịch D-glucose là 100  $\mu\text{g/mL}$  (dung dịch B). Lần lượt lấy 0 mL; 25 mL; 50 mL; 75 mL và 100 mL dung dịch B pha thành 100 mL thu được dung dịch D-glucose có nồng độ là 0  $\mu\text{g/mL}$ ; 25  $\mu\text{g/mL}$ ; 50  $\mu\text{g/mL}$ ; 75  $\mu\text{g/mL}$  và 100  $\mu\text{g/mL}$ .

Pha dung dịch C là dung dịch D-glucose có nồng độ 250  $\mu\text{g/mL}$  từ dung dịch A. Lần lượt lấy 50 mL; 60 mL; 70 mL và 80 mL dung dịch C pha thành 100 mL thu được dung dịch D-glucose có nồng độ là 125  $\mu\text{g/mL}$ ; 150  $\mu\text{g/mL}$ ; 175  $\mu\text{g/mL}$  và 200  $\mu\text{g/mL}$ .

Mỗi mẫu lấy 1 mL cho vào ống nghiệm có nắp vặn, thêm vào mỗi ống nghiệm 1 mL dung dịch phenol 5%, 5 mL dung dịch  $\text{H}_2\text{SO}_4$  đậm đặc, lắc đều các ống nghiệm. Đặt các ống nghiệm vào cốc nước sôi trong 2 phút, sau đó làm nguội các ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Đo độ hấp thụ quang (A) của các dung dịch này ở bước sóng 490 nm, thu được các giá trị độ hấp thụ quang. Từ các kết quả thu được, xây dựng đường chuẩn D-glucose.

### 2.2.4. Đánh giá khả năng hòa tan trong nước của EPS

Khả năng hòa tan trong nước của các EPS tách chiết từ dịch nuôi cấy các chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* được thực hiện theo Ahmed và cộng sự (2013).

Khả năng hòa tan (%) = Khối lượng của EPS trong dịch nổi / Khối lượng mẫu EPS.

### 2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thô được xử lý và tính toán bằng Excel 2016. Sự sai khác giữa các số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 21, với số mẫu lặp lại là 3 và sai số giữa các thí nghiệm với mức ý nghĩa ( $p < 0,05$ ).

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

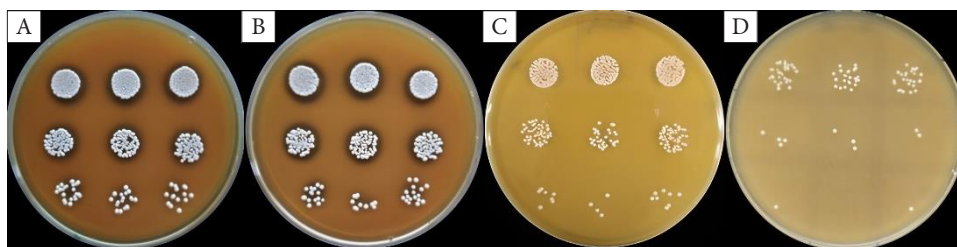
Thời gian: 10/2022 - 10/2023.

Địa điểm: Phòng CNSH Thủy sản, Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh.

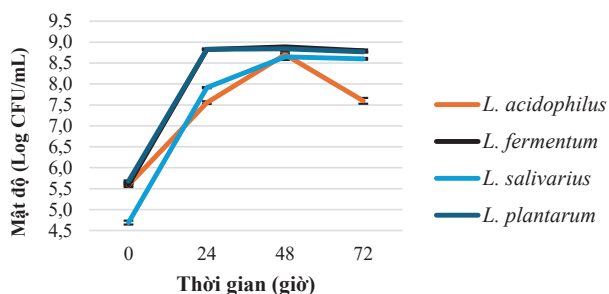
## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Đánh giá điều kiện ảnh hưởng quá trình tăng trưởng và sinh tổng hợp EPS

Quá trình sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn diễn ra qua bốn giai đoạn khác nhau. Trong giai đoạn lũy thừa (pha log), tế bào sinh trưởng mạnh mẽ và tăng số lượng theo cấp số nhân. Đây là thời điểm thuận lợi để thu nhận tối đa các sản phẩm được tạo ra từ quá trình trao đổi chất. Mỗi chủng *Lactobacillus* sp. khác nhau có thời gian tăng trưởng, hình dạng khuẩn lạc và màu sắc khác nhau (Hình 2). Tùy vào mục đích thu nhận sinh khối tế bào hay sản phẩm thứ cấp, cần xác định chính xác thời điểm tương ứng trong quá trình nuôi cấy.



**Hình 2.** Hình thái khuẩn lạc của bốn chủng *L. plantarum* (A), *L. acidophilus* (B), *L. fermentum* (C), *L. salivarius* (D) phát triển trên môi trường MRS agar 0,75%  $\text{CaCO}_3$

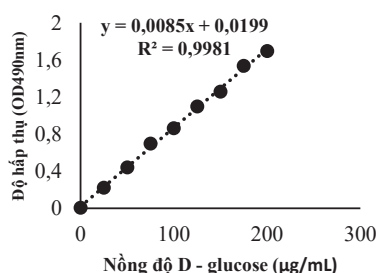


**Hình 3.** Đường cong tăng trưởng của bốn chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* qua các mốc thời gian tăng trưởng trong môi trường MRS lỏng

Kết quả từ hình 3 cho thấy cả bốn chủng vi khuẩn

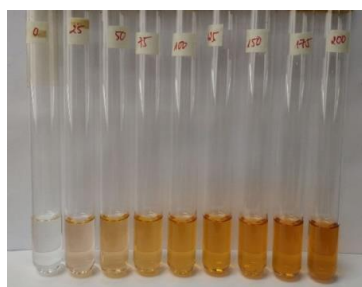
đều tăng trưởng mạnh trong 24 giờ đầu và đạt mật độ cực đại sau 48 giờ nuôi cấy. Theo Trần Thị Ngọc Ánh và cộng sự (2018), thời gian tăng sinh tối ưu của vi khuẩn LAB là 24 giờ, tuy nhiên trong thí nghiệm này, sinh khối cao nhất đạt được sau 48 giờ. Do đó, hai mốc thời gian 24 và 48 giờ được chọn để đánh giá điều kiện thu nhận sinh khối của các chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum* và *L. salivarius* trong nghiên cứu này. Qua thí nghiệm thăm dò cho thấy, nhiệt độ là một trong những yếu tố có ảnh hưởng rõ rệt nhất đối với khả năng sinh trưởng và sản sinh EPS. Do đó, trong nghiên cứu này yếu tố nhiệt độ được chọn để đánh giá ở biên độ hẹp

(28 - 30°C). Hàm lượng EPS của các chủng *Lactobacillus* sp. được xác định căn cứ theo phương trình đường chuẩn



D-glucose tại hình 4.

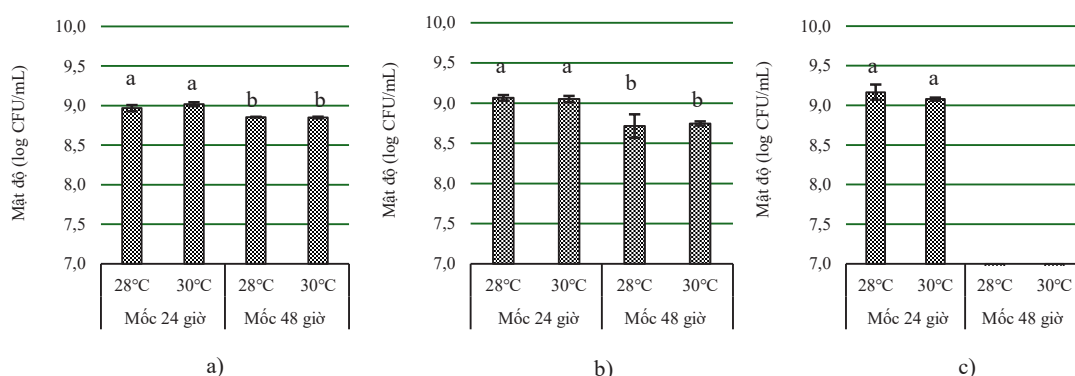
Kết quả xây dựng đường chuẩn D-glucose:



**Hình 4.** Phương trình đường chuẩn D-glucose (trái); phản ứng màu của đường chuẩn bằng phương pháp phenol - sulfuric (phải)

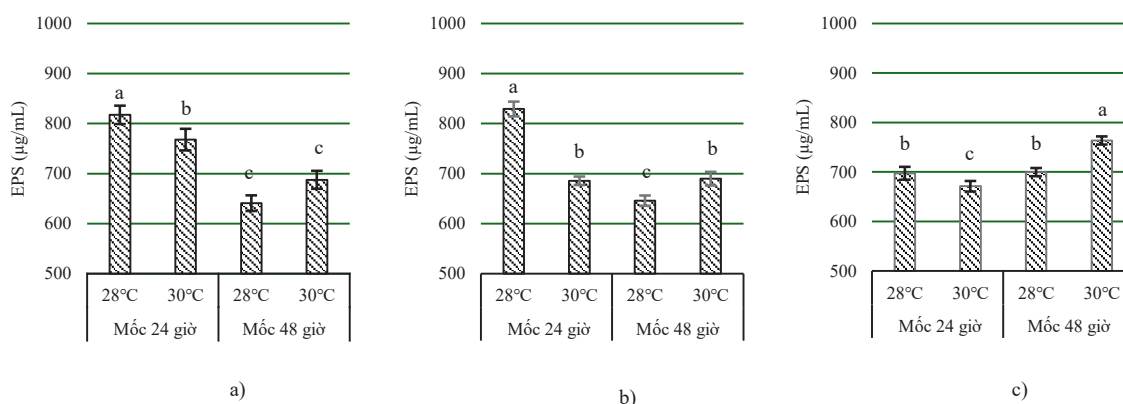
Mật độ vi khuẩn (log CFU/mL) nêu tại hình 5 và hàm lượng EPS (µg/mL) nêu tại hình 6 của chủng vi

khuẩn *L. plantarum*.



**Hình 5.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến khả năng tăng trưởng của vi khuẩn *L. plantarum* ở điều kiện pH khác nhau

Ghi chú: (a) pH 5,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0.



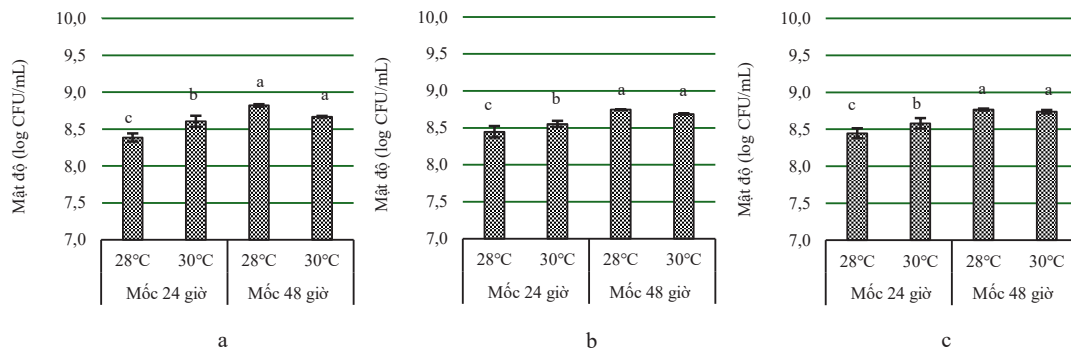
**Hình 6.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến khả năng tổng hợp EPS của vi khuẩn *L. plantarum* ở điều kiện pH khác nhau

Ghi chú: (a) pH 5,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0.

Chủng *L. plantarum* đạt sinh khối cực đại sau 24 giờ lên men ở tất cả các mức pH: pH 5,0 ( $1,04 \times 10^9$  CFU/mL) tại 30°C, pH 6,0 ( $1,17 \times 10^9$  CFU/mL) và pH 7,0 ( $1,50 \times 10^9$  CFU/mL) tại 28°C. Trong khoảng pH 5 - 7 và nhiệt độ 28 - 30°C, thời gian là yếu tố ảnh hưởng chính đến hiệu suất sinh khối. Phân tích thống kê cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa sinh khối thu được sau 24 và 48 giờ, xác định 24 giờ là thời điểm tối ưu để tăng sinh *L. plantarum*.

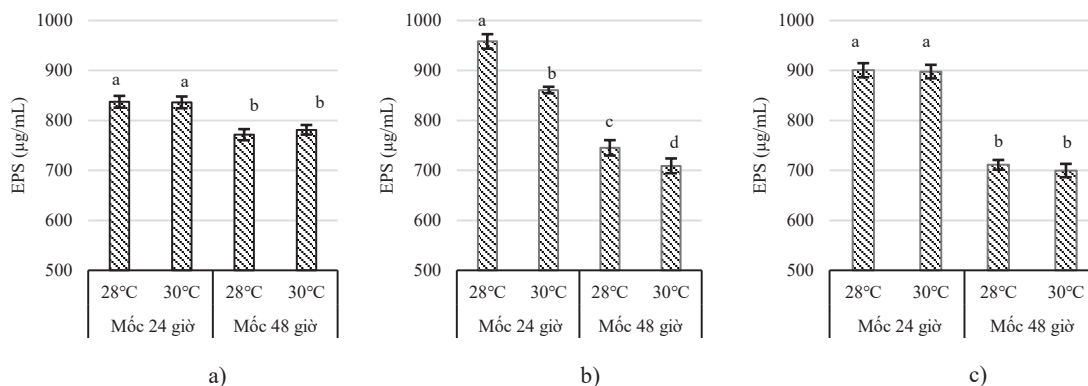
Ngược lại, quá trình thu nhận EPS chịu ảnh hưởng tương tác giữa nhiệt độ và thời gian. Tại pH 5,0, lượng EPS cao nhất thu được sau 24 giờ lên men ở 28°C (817,37 µg/mL), cao hơn so với 30°C (767,96 µg/mL). Do đó, điều kiện tối ưu để thu EPS tại pH 5,0 là 28°C trong 24 giờ.

Mật độ vi khuẩn (log CFU/mL) nêu tại hình 7 và hàm lượng EPS (µg/mL) nêu tại hình 8 của chủng vi khuẩn *L. acidophilus*.



**Hình 7.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến khả năng tăng trưởng của vi khuẩn *L. acidophilus* ở điều kiện pH khác nhau

Ghi chú: (a) pH 5,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0.



**Hình 8.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến khả năng tổng hợp EPS của vi khuẩn *L. acidophilus* ở điều kiện pH khác nhau

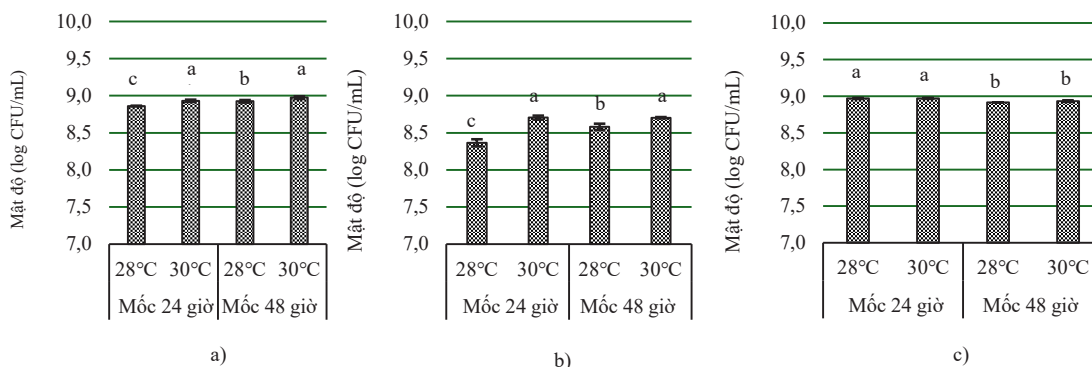
Ghi chú: (a) pH 5,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0.

Nhiệt độ và thời gian nuôi cấy tương tác với nhau cùng ảnh hưởng đến quá trình tăng trưởng của chủng *L. acidophilus* tạo sự khác biệt giữa các nghiệm thức lên men.

Qua hình 7 cho thấy, nồng độ EPS thu được sau 24 giờ cao hơn so với 48 giờ ở cả ba mốc pH. Tại pH 5,0 và 7,0 chỉ yếu tố thời gian ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp EPS, với nồng độ cao nhất lần lượt là 837,37 µg/mL và 900,51 µg/mL (28°C, 24 giờ). Ở pH 6,0 thời gian và nhiệt độ tương tác tạo khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ), EPS đạt cao nhất là 958,16 µg/mL sau 24 giờ và giảm

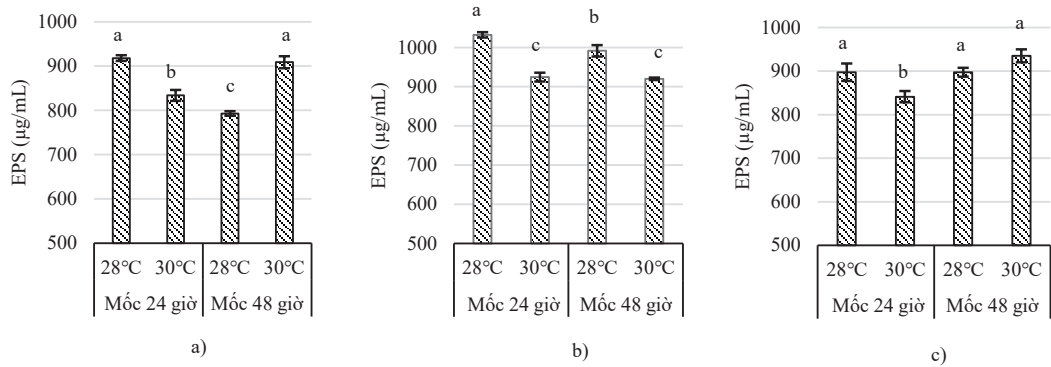
mạnh sau 48 giờ còn 711,10 µg/mL. Quá trình tổng hợp EPS không phụ thuộc vào mật độ sinh khối. Mặc dù sinh khối thu được tối ưu sau 48 giờ ở cả 28°C và 30°C, nhưng để thu EPS hiệu quả, điều kiện tốt nhất là 28°C sau 24 giờ lên men. Đáng chú ý, dù mật độ vi khuẩn không khác biệt giữa các pH, nhưng EPS thu được tại pH 6,0 vượt trội so với pH 5,0 và 7,0.

Mật độ vi khuẩn (log CFU/mL) nêu tại hình 9 và hàm lượng EPS (µg/mL) nêu tại hình 10 của chủng vi khuẩn *L. fermentum*.



**Hình 9.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến khả năng tăng trưởng của vi khuẩn *L. fermentum* ở điều kiện pH khác nhau

Ghi chú: (a) pH 5,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0.



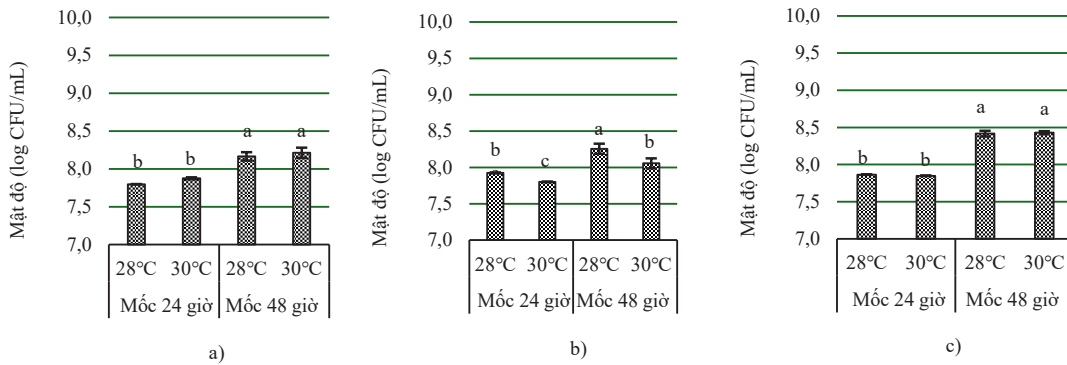
**Hình 10.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến khả năng tổng hợp EPS của vi khuẩn *L. fermentum* ở điều kiện pH khác nhau

Ghi chú: (a) pH 5,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0.

Yếu tố thời gian và nhiệt độ đều ảnh hưởng đến kết quả thu nhận sinh khối EPS. Nồng độ EPS cao nhất đạt 935,02 µg/mL tại 30°C sau 48 giờ, tuy nhiên không khác biệt đáng kể so với các nghiệm thức khác (28°C, 24 và 48 giờ). Đáng chú ý, ở pH 6,0, điều kiện 28°C sau 24 giờ cho

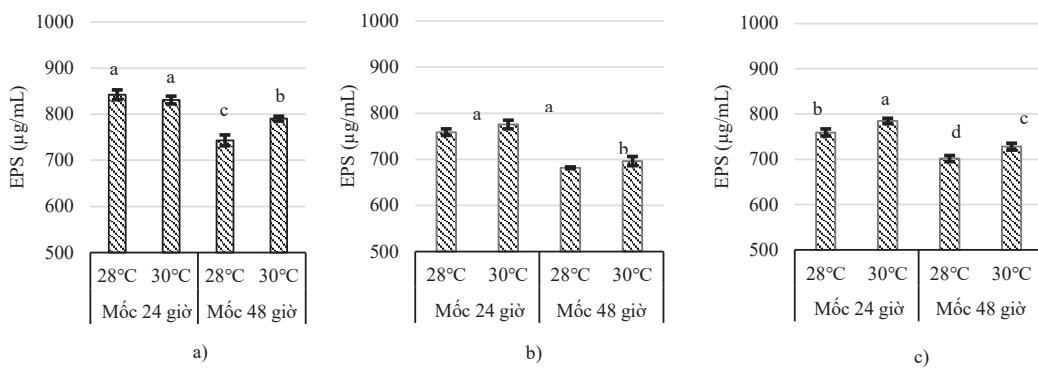
kết quả EPS cao nhất là 1.032,28 µg/mL, được xem là điều kiện tối ưu để khai thác EPS đối với chủng *L. fermentum*.

Mật độ vi khuẩn (log CFU/mL) nêu tại hình 11 và hàm lượng EPS (µg/mL) nêu tại hình 12 của chủng vi khuẩn *L. salivarius*.



**Hình 11.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến khả năng tăng trưởng của vi khuẩn *L. salivarius* ở điều kiện pH khác nhau

Ghi chú: (a) pH 5,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0.



**Hình 12.** Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian nuôi cấy đến khả năng tổng hợp EPS của vi khuẩn *L. salivarius* ở điều kiện pH khác nhau

Ghi chú: (a) pH 5,0; (b) pH 6,0; (c) pH 7,0.

So với ba chủng *Lactobacillus* trên, *L. salivarius* có mật độ vi khuẩn thấp hơn. Mật độ vi khuẩn giữa hai mốc thời gian 24 và 48 giờ có sự khác biệt rõ rệt ở cả ba mốc pH, cho thấy thời gian là yếu tố ảnh hưởng chính đến sự tăng trưởng. Đối với giá trị EPS, ở pH 5,0 nồng độ đạt cao nhất

sau 24 giờ (842,08 µg/mL ở 28°C và 830,71 µg/mL ở 30°C), nhưng không có khác biệt đáng kể. Ở pH 7,0, có sự khác biệt rõ rệt, EPS cao nhất là 784,82 µg/mL tại 30°C sau 24 giờ.

Tóm lại, sau khi đánh giá các điều kiện ảnh hưởng đến sinh trưởng và tổng hợp EPS, mật độ vi khuẩn (log

CFU/mL) và nồng độ EPS ( $\mu\text{g/mL}$ ) tối ưu của bốn chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* được tổng hợp trong bảng 1.

**Bảng 1.** Giá trị mật độ vi khuẩn và nồng độ EPS của bốn chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* trong các điều kiện tối ưu

Chủng <i>Lactobacillus</i> sp.	pH	Mật độ (Log CFU/mL)	EPS ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>L. plantarum</i>	5,0	8,97 <sup>b</sup>	817,37 <sup>a</sup>
	6,0	9,06 <sup>a</sup>	829,14 <sup>a</sup>
	7,0	7,15 <sup>a</sup>	763,65 <sup>b</sup>
	<i>p value</i>	0,000	0,003
<i>L. acidophilus</i>	5,0	8,38 <sup>a</sup>	837,37 <sup>c</sup>
	6,0	8,45 <sup>a</sup>	958,16 <sup>a</sup>
	7,0	8,45 <sup>a</sup>	900,51 <sup>b</sup>
	<i>p value</i>	0,593	0,000
<i>L. fermentum</i>	5,0	8,86 <sup>a</sup>	918,15 <sup>b</sup>
	6,0	8,36 <sup>b</sup>	1.032,28 <sup>a</sup>
	7,0	8,93 <sup>a</sup>	935,02 <sup>b</sup>
	<i>p value</i>	0,000	0,000
<i>L. salivarius</i>	5,0	7,80 <sup>b</sup>	842,08 <sup>a</sup>
	6,0	7,80 <sup>b</sup>	775,41 <sup>b</sup>
	7,0	7,85 <sup>a</sup>	784,82 <sup>b</sup>
	<i>p value</i>	0,000	0,000

*Ghi chú:* Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự theo sau khác nhau có sự khác biệt về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ). pH 5,0: 28°C, 24 giờ; pH 6,0: 28°C, 24 giờ; pH 7,0: 30°C, 48 giờ.

Có thể thấy rằng điều kiện nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C, 24 giờ lên men trong môi trường có pH ban đầu bằng 6,0 đạt hiệu quả tổng hợp EPS cao nhất đối với *L. plantarum*. Theo kết quả được công bố bởi Fu và cộng sự (1999) độ pH tối ưu cho sự phát triển của tế bào đồng thời sản sinh ra các hợp chất thứ cấp nằm trong khoảng 5,0 - 6,0 phù hợp với kết quả của nghiên cứu này, ngoài ra nghiên cứu khả năng sinh tổng hợp EPS của *L. plantarum* KF5 trong môi trường MRS có bổ sung whey đạt cao nhất tại pH 6,3 (Wang *et al.*, 2010). Theo nghiên cứu của Tomás và cộng sự (2003), điều kiện tối ưu nhất cho sự phát triển và sản xuất axit lactic của *L. acidophilus* là pH 6,5 hoặc 8,0 được nuôi cấy ở 37°C. Vào năm 1998, Bogovič - Matijašić và Rogelj đã nghiên cứu sản xuất phức hợp bacteriocin bởi chủng *L. acidophilus* LF221 thu được lượng phức hợp cao nhất (106 AU/mL) trong môi trường MRS có pH 6,5. Sự phát triển và tổng hợp EPS bởi chủng *L. fermentum* F6 khi nuôi cấy trong môi trường chứa 10% (w/v) sữa tách béo ở điều kiện pH 6,5 và nhiệt độ 37°C cho sự phát triển tối ưu nhất (Zhang *et al.*, 2011). Yếu tố pH có sự ảnh hưởng đáng kể đến sự phát triển của vi sinh vật, sự thay đổi pH trong môi trường có thể gây ức chế một phần nào đó enzyme trên thành tế bào, đặc biệt là các enzyme tham gia vào quá trình sinh tổng hợp của vi khuẩn (Trần Thị Ái Luyến, 2019).

Khả năng sinh tổng hợp tốt của bốn chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* trong môi trường có pH 6,0 và gần 6,0 tương đồng với một vài nghiên cứu

đã công bố điều kiện ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và sinh tổng hợp của LAB như nghiên cứu của Wang và cộng sự (2010) về khả năng sinh tổng hợp EPS của chủng *L. plantarum* KF5 đạt cao nhất tại pH 6,3, trong khi đó chủng *L. confusus* TISTR 1489 sinh EPS trong môi trường có sự thay thế 100% nước cất bằng nước dừa đạt cao nhất tại pH 5,5 (Seesuriyachan *et al.*, 2011). Nghiên cứu sản xuất polysaccharide ngoại bào bằng *L. sake* 0-1 đạt kết quả cao nhất tại pH 5,8 (Van *et al.*, 1995). Điều kiện pH thấp có thể gây biến tính hoặc bất hoạt một số enzyme đóng vai trò xúc tác trong quá trình tổng hợp EPS, dẫn đến việc giảm năng suất sản phẩm tạo thành, các chất thải có tính axit hoặc kiềm sản sinh trong quá trình sinh trưởng có thể ức chế quá trình sinh tổng hợp sản phẩm tạo thành (Luyen *et al.*, 2018). Ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ và thời gian trong nghiên cứu này hầu hết không giống với các nghiên cứu đã được công bố tuy nhiên mục đích nghiên cứu, điều kiện thực hiện thí nghiệm khác nhau thì sẽ có các yếu tố tác động khác nhau.

### 3.2. Khả năng hòa tan trong nước của các EPS

Kết quả khảo sát khả năng hòa tan trong nước của các EPS từ bốn chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* được thể hiện thông qua bảng 2.

**Bảng 2.** Độ hòa tan trong nước của các EPS từ bốn chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius*

STT	Chủng vi khuẩn	Độ hòa tan (%) $\pm$ Std
1	<i>L. plantarum</i>	89,12 <sup>a</sup> $\pm$ 1,64
2	<i>L. acidophilus</i>	91,01 <sup>a</sup> $\pm$ 2,51
3	<i>L. fermentum</i>	88,98 <sup>a</sup> $\pm$ 1,34
4	<i>L. salivarius</i>	88,35 <sup>a</sup> $\pm$ 1,64

*Ghi chú:* Trong cùng một cột, các giá trị có ký tự theo sau không khác nhau không có sự khác biệt về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ).

Khả năng hòa tan trong nước của EPS sinh ra từ bốn chủng có sự khác nhau nhưng sự khác biệt không đáng kể về mặt thống kê ( $p > 0,05$ ). Kết quả nghiên cứu được công bố vào năm 2013 của Ahmed và cộng sự cho thấy khả năng hòa tan của EPS sinh ra từ *L. kefiranofaciens* ZW3 tương đối thấp, đạt 14,2%, khi đó độ hòa tan EPS từ chủng *L. fermentum* dao động từ 64% đến 87% (Trần Thị Ái Luyến, 2019). Việc sử dụng trichloroacetic acid ở nồng độ phù hợp trong quá tủa protein sẽ giúp tăng hiệu suất hòa tan của EPS trong nước. Việc EPS thu được từ các chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* có thể hòa tan trong nước, dễ dàng phân tán đồng đều trong dung dịch, đó là điều kiện thuận lợi cho các quá trình biến đổi như tạo gel, ổn định nhũ tương... trong thực phẩm, đặc biệt là trong khâu chế biến thức ăn thủy sản dạng viên nén cho tôm, cá.

## IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1. Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã đánh giá được điều kiện tăng trưởng và khả năng sinh tổng hợp EPS của bốn chủng

*L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* không phụ thuộc vào mật độ sinh khối tế bào vi khuẩn; điều kiện thu nhận EPS cao nhất là lên men sau 24 giờ ở 28°C, pH 6,0 đối với 3 chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum* và trong cùng điều kiện thời gian, nhiệt độ và pH 5,0 đối với chủng *L. salivarius*. Khả năng hòa tan trong nước của chế phẩm EPS thu được từ bốn chủng *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* rất tốt từ 88,35 đến 91,01%.

#### 4.2. Đề nghị

Tiến hành phân tích khối lượng và cấu trúc phân tử polysaccharide trong các mẫu EPS thu được từ các chủng LAB. Đồng thời, cần có thêm các nghiên cứu về đánh giá nguồn dinh dưỡng (carbon và nitơ) thay thế môi trường thương mại MRS (Himedia, Ấn Độ) nhằm giảm chi phí sản xuất EPS trong tương lai và nghiên cứu ứng dụng EPS vào trong nông nghiệp; chế biến thức ăn chăn nuôi, thủy sản và các thử nghiệm trên các đối tượng thú y, thủy sản.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Phú Thọ, Nguyễn Thị Tố Uyên, Nguyễn Thị Thanh Xuân, Hoàng Quốc Khánh & Nguyễn Hữu Thanh, 2020. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn Lactic có khả năng sản xuất Exopolysaccharide từ các thực phẩm lên men. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 11 (20): 109-115.

Trần Thị Ái Luyến, 2019. Nghiên cứu thu nhận, khảo sát cấu trúc và tính chất của Exopolysaccharide sinh tổng hợp từ *Lactobacillus fermentum*. Luận án Tiến sĩ hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Trần Thị Ngọc Ánh, Hoàng Nữ Ngọc Linh, Nguyễn Thị Thu Thảo, Nguyễn Lê Ánh Minh, 2018. Khảo sát việc sử dụng *Lactobacillus plantarum* SD phân lập từ canh trường lên men sữa dừa tự nhiên để sản xuất dầu dừa bằng phương pháp lên men. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 14: 84-92.

Trương Tiến Công, Nguyễn Minh Chơn, Nguyễn Hữu Thanh, Nguyễn Phú Thọ, Trịnh Thị Lan, Nguyễn Hữu Yến Nhi, Nguyễn Thị Thúy Hằng, 2022. Nghiên cứu ảnh hưởng của các hợp chất cao phân tử ngoại bào từ vi khuẩn lactic lên đáp ứng miễn dịch của tôm Sú (*Penaeus monodon*). *Tạp chí Khoa học Công nghệ Việt Nam*, 64 (7): 49-53.

Ahmed Z., Wang Y., Anjum N., Ahmad A., Khan S.T., 2013. Characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir-Part II. *Food Hydrocolloids*, 30: 343-350.

Bogovič-Matijašić B. & Rogelj I., 1998. Bacteriocin complex of *Lactobacillus acidophilus* LF221 - production studies in MRS media at different pH values and effect against *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. *Process Biochemistry*, 33 (3): 345-352.

Fu W. & Mathews A.P., 1999. Lactic acid production from lactose by *Lactobacillus plantarum*: kinetic model

and effects of pH, substrate, and oxygen. *Biochemical Engineering Journal*, 3 (3): 163-170.

Harutoshi T., 2013. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria for food and colon health applications. In *Lactic Acid Bacteria-R & D for Food, Health and Livestock Purposes*. IntechOpen.

Ismail B. & Nampootheri K.M., 2013. Molecular characterization of an exopolysaccharide from a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510 and its efficacy to improve the texture of starchy food. *Journal of Food Science Technology*, 51 (12): 4012-4018.

Kanmani P., Yuvaraj N., Paari K.A., Pattukumar V., Arul V., 2011. Production and purification of a novel exopolysaccharide from lactic acid bacterium *Streptococcus phocae* PI80 and its functional characteristics activity *in vitro*. *Bioresource Technology*, 102: 4827-4833.

Luyen T.T.A., Van T.T.T., Huyen P.T.T., 2018. Biosynthesis and structural characterization of exopolysaccharide from *Lactobacillus fermentum* MC3. *Hue University Journal of Science: Natural Science*, 127: 13-22.

Nguyen P.T., Nguyen T.T., Bui D.C., Hong P.T., Hoang Q.K., Nguyen H.T., 2020. Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: The manipulation of environmental stresses for industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6: 451-469.

Robijn G.W., Gallego R.G., Van D.B.D.J., Haas H., Kamerling J.P., Vliegthart J.F., 1996. Structural characterization of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus acidophilus* LMG9433. *Carbohydrate Research*, 288: 203-218.

Seesuriyachan P., Kuntiya A., Hanmoungjai P., Techapun C., 2011. Exopolysaccharide production by *Lactobacillus confusus* TISTR 1498 using coconut water as an alternative carbon source: the effect of peptone, yeast extract and beef extract. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 33 (4): 379-387.

Tomás M.J., Ocana V.S., Wiese B., Nader-Macias M.E., 2003. Growth and lactic acid production by vaginal *Lactobacillus acidophilus* CRL 1259, and inhibition of uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Medical Microbiology*, 52: 1117-1124.

Van D.B.D.J., Robijn G.W., Janssen A.C., Giuseppin M., Vreeker R., Kamerling J.P., Vliegthart J., Ledebor A.M., Verrips C.T., 1995. Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide. *Applied and Environmental microbiology*, 61: 2840-2844.

Wang K., Li W., Rui W., Chen X., Jiang M., Dong M., 2014. Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63: 133-139.

Wang Y., Li C., Liu P., Ahmed Z., Xiao P., Bai X., 2010. Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydrate Polymers*, 82 (3): 895-903.



Wang Y., Wu J., Lv M., Shao Z., Hungwe M., Wang J., Bai X., Xie J., Wang Y., Geng W., 2021. Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9: 612285.

Yuksekdag Z.N. & Aslim B., 2008. Influence of different carbon sources on exopolysaccharide production by

*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (B3, G12) and *Streptococcus thermophilus* (W22). *Brazilian archives of Biology and Technology*, 51: 581-585.

Zhang Y.U., Li S., Zhang C., Luo Y., Zhang H., Yang Z., 2011. Growth and exopolysaccharide production by *Lactobacillus fermentum* F6 in skim milk. *African Journal of Biotechnology*, 10: 2080-2091.

## Evaluation of growth conditions and exopolysaccharide (EPS) biosynthesis capacity of *Lactobacillus* strains

Le Van Hau, Nguyen Phuc Long, Trinh Van Co, Ngo Huynh Phuong Thao

### Abstract

*Lactobacillus* belongs to the group of Lactic Acid Bacteria (LAB) with the ability to biosynthesize exopolysaccharides (EPS), a type of extracellular polysaccharide secreted into the culture medium. This study evaluated the conditions affecting the growth potential and EPS biosynthesis capacities of four *Lactobacillus* strains: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, and *Lactobacillus salivarius* using the phenol-sulfuric acid method to quantify EPS extracted from fermentation broth. The results indicated that the optimal time for harvesting bacterial biomass was between 24 and 48 hours. The highest EPS yields were obtained when all four *Lactobacillus* strains were cultivated in liquid MRS medium under the same conditions (pH 6.0, temperature 28°C, and 24 hours), with EPS concentrations ranging from 829.14 to 1,032.28 µg/mL. Notably, *L. salivarius* produced a higher EPS yield at pH 5.0. The water solubility of EPS from all four strains ranged from 88.35% to 91.01%. These results demonstrate the potential applicability of *Lactobacillus* strains in EPS production for use in the food, pharmaceutical, and agricultural industries.

**Keywords:** Exopolysaccharide, *Lactobacillus*, phenol-sulfuric, lactic acid bacteria

Ngày nhận bài: 06/6/2025

Người phản biện: PGS.TS. Võ Thị Bích Thủy, TS. Phạm Bích Hiền

Ngày duyệt đăng: 14/7/2025

Ngày phản biện: 16/6/2025

## CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG TỚI PHÁT TRIỂN HỢP TÁC XÃ NÔNG NGHIỆP HUYỆN MAI CHÂU, TỈNH HÒA BÌNH

Phan Xuân Tân<sup>1</sup>, Trần Anh Đức<sup>1</sup>, Nguyễn Nam Giang<sup>2\*</sup>

### TÓM TẮT

Phát triển hợp tác xã (HTX) nông nghiệp là một trong những giải pháp quan trọng nhằm tổ chức lại sản xuất và thúc đẩy kinh tế nông nghiệp ở Việt Nam hiện nay. Tuy nhiên, trên thực tế nhiều HTX nông nghiệp tại các địa phương vẫn hoạt động kém hiệu quả, quy mô nhỏ và lợi nhuận thấp. Nghiên cứu này phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của HTX nông nghiệp tại huyện Mai Châu, tỉnh Hòa Bình, qua đó cung cấp cơ sở khoa học cho việc hoàn thiện chính sách hỗ trợ trong thời gian tới. Kết quả cho thấy, giai đoạn 2022 - 2024, hệ thống HTX nông nghiệp tại Mai Châu có sự gia tăng về số lượng, quy mô thành viên, lao động, vốn và doanh thu, tuy nhiên, hiệu quả kinh tế còn hạn chế; lợi nhuận bình quân, hiệu quả sử dụng tài sản và quy mô sản xuất vẫn ở mức thấp. Các yếu tố tác động chủ yếu bao gồm: năng lực quản lý còn yếu, trình độ thành viên không đồng đều, liên kết thị trường lỏng lẻo, khó khăn trong tiếp cận tín dụng và hiệu quả chính sách hỗ trợ chưa cao. Trong đó, trình độ cán bộ quản lý, mức độ gắn kết thành viên, quy mô sản xuất, liên kết chuỗi giá trị và vai trò hỗ trợ của Nhà nước được xác định là các nhân tố then chốt. Trên cơ sở đó, nghiên cứu đề xuất cần triển khai các giải pháp đồng bộ nhằm nâng cao năng lực nội tại của HTX nông nghiệp và cải thiện môi trường hỗ trợ để thúc đẩy phát triển bền vững.

**Từ khóa:** Hợp tác xã nông nghiệp, yếu tố ảnh hưởng, phát triển

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các hợp tác xã nông nghiệp hiện nay được xem là giải pháp đột phá để phát triển nông nghiệp, làm thay đổi căn bản diện mạo nông thôn. Trong những năm qua HTX nông nghiệp Việt Nam đã có những tiến triển đáng

kể về số lượng và quy mô hoạt động. Theo thống kê sơ bộ, tổng số HTX tính đến năm 2023 cả nước có 30.698 HTX, trong đó 20.500 HTX nông nghiệp (chiếm 66,7%) và gần 10.200 HTX phi nông nghiệp (chiếm 33,3%). So với năm 2022, tổng số HTX tăng 1.261 HTX (tăng 4%)

<sup>1</sup> Học viện Nông nghiệp Việt Nam; <sup>2</sup> Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

\* Tác giả liên hệ, email: nng2010@gmail.com