

# NGHIÊN CỨU TẠO SẢN PHẨM CHỨC NĂNG TỪ TINH BỘT CHUỐI VÀ BỘT VI GÓI PROBIOTIC

Nguyễn Thị Quỳnh Mai\*, Đào Thị Mỹ Linh,  
Kiều Yến Vy, Sơn Thiên Nga, Nguyễn Đăng Khoa

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

\*Email: maintq@hufi.edu.vn

Ngày nhận bài: 19/10/2020; Ngày chấp nhận đăng: 02/12/2020

## TÓM TẮT

Chuối xanh được xem là loại trái cây chứa hàm lượng tinh bột kháng tự nhiên cao, đây là loại tinh bột có nhiều tác dụng tốt cho sức khỏe. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tạo sản phẩm chức năng từ tinh bột chuối Laba và lợi khuẩn *Lactobacillus plantarum* đã được vi gói. Tinh bột chuối thu nhận được có hàm lượng tinh bột kháng  $22,49 \pm 0,58\%$ , có tác động tích cực đến sự sinh trưởng của *L. plantarum* khi so sánh với môi trường MRS đối chứng không có nguồn cacbon. Vi khuẩn được vi gói với skim milk bằng pháp sấy phun, cho hiệu suất vi gói đạt  $77,88 \pm 1,08\%$ . Tỷ lệ sống sót của vi khuẩn trong bột vi gói khi đi qua điều kiện mô phỏng của hệ tiêu hóa là 80,52%. Phối trộn tinh bột chuối và vi khuẩn vi gói ở tỷ lệ 2:1 (w/w) được đánh giá cảm quan tốt nhất, với mật độ *L. plantarum* đạt  $1,15 \times 10^9$  CFU/g, protein 10,8%, carbohydrate 76,7%, chất béo tổng số nhỏ hơn 0,3%. So với chế phẩm vi gói bằng sữa gầy, lợi khuẩn trong sản phẩm (khi có thêm thành phần tinh bột chuối) có thể vượt qua các tác động bất lợi trong điều kiện mô phỏng của dạ dày, ruột non để tồn tại ở đoạn cuối ống tiêu hóa với tỷ lệ sống sót cao hơn, đạt 89,95%.

Từ khóa: *Lactobacillus plantarum*, probiotic, sữa gầy, tinh bột chuối, vi gói.

## 1. MỞ ĐẦU

Chuối xanh chứa hàm lượng tinh bột cao, chiếm đến 70-80% trọng lượng khô, bị biến đổi dần thành đường trong quá trình chín và được xem là nguồn nguyên liệu giàu tinh bột kháng (resistant starch – RS) [1]. Đây là loại tinh bột chủ yếu cấu tạo từ mạch thẳng (amylose), vượt qua được tác động thủy phân của enzyme tiêu hóa, tồn tại đến ruột già và được các lợi khuẩn (đặc biệt là nhóm *Bifidobacterium* và *Lactobacillus*) lên men tạo các acid béo mạch ngắn, chủ yếu là acid butyric [2]. Tinh bột kháng có tác động sinh lý như một chất xơ, hoạt động như prebiotic đường ruột. Một số nghiên cứu cho thấy, việc bổ sung chất xơ hòa tan có thể góp phần làm giảm cân, chủ yếu bằng cách tăng cảm giác no và giảm sự thèm ăn. Tinh bột kháng cũng có tác dụng tương tự. Thêm tinh bột kháng vào các bữa ăn thì chúng sẽ làm tăng cảm giác no và giúp chúng ta ăn ít lại, do đó giảm lượng calo đưa vào cơ thể, nhờ đó mà giảm cân [3]. Tinh bột kháng làm chậm quá trình tiêu hóa và hấp thu carbohydrate, kích hoạt các gen tổng hợp glycogen giúp cơ thể lưu trữ nhiều carbohydrate hơn trong cơ và gan [4]. Trong các nghiên cứu trên động vật, quá trình lên men tinh bột kháng tạo ra các acid béo mạch ngắn làm tăng độ acid đường ruột. Nhờ đó cải thiện sự hấp thu khoáng chất, làm tăng sự phát triển của vi khuẩn có lợi và ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn có hại. Các acid béo chuỗi ngắn (sản phẩm lên men tinh bột kháng) cung cấp năng lượng cho tế bào ruột kết, thúc đẩy chức năng ruột [5]. Do vậy, tinh bột chuối xanh đã thu hút nhiều nghiên cứu ứng dụng trong tạo mì sợi [6], bánh mì [7], bánh quy [8]. Theo báo cáo của Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp

(FAO) từ năm 2003, Việt Nam là một trong 20 quốc gia xuất khẩu chuối lớn nhất thế giới [9]. Việt Nam có khoảng hơn 30 giống chuối, phổ biến có giống chuối tiêu, chuối tây và những giống đặc sản của mỗi vùng như chuối Ngự, chuối tiêu Hồng (Nam Định), chuối Cau (miền Trung), chuối Com (Đông Nai), chuối Laba (Lâm Đồng), chuối Bom ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long và miền Đông Nam Bộ. Trong đó, chuối Laba được trồng nhiều và cho năng suất cao ở Lâm Đồng (đặc biệt ở các huyện Đơn Dương, Đức Trọng, Lâm Hà). Đây là một trong các loại cây trồng tạo nên thương hiệu riêng cho địa phương. Chuối Laba có vị thơm ngon, dẻo ngọt đặc trưng nên rất được ưa chuộng. Hiện nay, loại trái cây này được xuất khẩu nhiều sang thị trường Nhật Bản. Việc nghiên cứu, phát triển các sản phẩm có giá trị từ chuối Laba sẽ góp phần tạo thêm sự đa dạng các sản phẩm chế biến từ nguyên liệu sẵn có ở địa phương.

Probiotic là những vi sinh vật sống khi hiện diện với số lượng đủ trong đường tiêu hóa sẽ mang lại những tác động có lợi cho cơ thể chủ [10]. Các tác động có lợi cho sức khỏe bao gồm ức chế vi khuẩn bất lợi đường ruột do ưu thế cạnh tranh vị trí bám, dinh dưỡng; giúp tăng cường đáp ứng miễn dịch, nhất là miễn dịch tự nhiên; có tác động chống ung thư ở khía cạnh giúp gắn kết và phân hủy các chất gây ung thư, sản xuất ra những hợp chất kháng ung thư, điều hòa những enzyme tiền chất gây ung thư; tác động chống dị ứng; tăng khả năng dung nạp của cơ thể với lactose, giúp tránh khỏi tình trạng đầy hơi, khó tiêu khi hấp thu những loại thức ăn có chứa nhiều lactose [11]. Do vậy, hiện nay trên thị trường thế giới đã xuất hiện nhiều dòng sản phẩm probiotic, tập trung vào nhóm sản phẩm từ sữa và nước trái cây. Tuy nhiên, để phát huy được các tính chất có lợi này, probiotic cần phải vượt qua được điều kiện khắc nghiệt ở dạ dày và đến được ruột già cư trú và sinh trưởng được tại đây [10]. Để thực hiện được điều này, các phương pháp vi gói probiotic đã được nghiên cứu và chứng minh có hiệu quả bảo vệ probiotic trong môi trường bất lợi. Trong đó, vi gói bằng sấy phun thể ưu điểm chi phí tương đối thấp, dễ vận hành, tốc độ sản xuất cao và khả năng ứng dụng trong quy mô công nghiệp [12].

Xuất phát từ các vấn đề nêu trên, nghiên cứu được thực hiện nhằm thu nhận tinh bột chuối; tạo bột vi gói vi khuẩn *L. plantarum* và đánh giá hiệu quả bảo vệ vi khuẩn trong điều kiện mô phỏng hệ tiêu hóa; xác định công thức phối trộn tạo sản phẩm probiotic từ tinh bột chuối hướng tới sự đa dạng hóa các sản phẩm chế biến từ chuối cũng như làm phong phú thêm các loại thực phẩm probiotic.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Chuối Laba xanh (*Musa* sp.) được thu mua ở huyện Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng khi đạt độ trưởng thành 3 tháng tuổi.

Chủng *L. plantarum* nhận từ bộ sưu tập giống probiotic, Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP. Hồ Chí Minh. Giống được giữ trong glycerol 10% ở -18 °C và trên môi trường MRS-agar ở 4 °C.

Sữa bột gầy (skim cream instant milk powder) của Công ty The A2 milk powder (Newzealand), đường isomatl của Công ty Vikybomi, Việt Nam.

Các môi trường, hóa chất khác bao gồm MRS broth, MRS agar (Hi-media, Ấn Độ); pepsin,  $\alpha$ -amylase, amyloglucosidase, muối mật (Sigma - Aldrich, Mỹ), pancreatin (Công ty TNHH Mediphar USA, Việt Nam), các khoáng  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Trung Quốc).

Thiết bị chính sử dụng bao gồm: máy ly tâm Hermle Z206A, tủ sấy Memmert UN110, tủ ẩm lắ ổn nhiệt LSI-3016R, thiết bị sấy phun EYELA SD1000.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Thu nhận tinh bột chuối

Thực hiện theo phương pháp của Waliszewski *et al.* (2003) và điều chỉnh cho phù hợp: chuối xanh được rửa sạch, để ráo, tách bỏ vỏ chuối. Phần thịt quả được cắt thành từng lát mỏng, rửa, ngâm trong dung dịch  $\text{NaHSO}_3$  0,5% với tỷ lệ 1 : 2 (w/v). Sau đó, hỗn hợp được xay nhuyễn ở tốc độ thấp trong 10 phút, sau đó lọc rửa bã nhiều lần qua các rây 35, 50, 100 mesh [13]. Dịch cuối cùng tiếp tục được lọc qua vải lọc NMO kích thước lỗ 35 micron, và để lắng ở nhiệt độ 8 °C, ly tâm 5000 vòng/phút trong 10 phút, thu phần tinh bột trắng, sấy ở 50 °C trong 24 giờ, sau đó nghiền và đồng nhất qua rây 200 mesh. Tinh bột chuối thu nhận sau mỗi mẻ (400 – 500 g) được chia bảo quản trong chai thủy tinh 250 mL (50 gam/chai), thực hiện xác định hàm lượng tinh bột kháng, hình dạng và kích thước hạt.

### 2.2.2. Chuẩn bị sinh khối vi khuẩn

*L. plantarum* được nhân giống cấp 2 trong 450 mL môi trường MRS lỏng trong 48 giờ ở nhiệt độ 37 °C. Sau đó ly tâm (5000 vòng/phút trong 15 phút) thu sinh khối, rửa 3 lần bằng muối sinh lý, hoàn nguyên với 10 mL nước muối sinh lý vô trùng để thu được sinh khối đậm đặc với mật độ đạt 11,47 log(CFU/mL).

### 2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của tinh bột chuối đến sinh trưởng của *L. plantarum*

Thực hiện theo Lopes *et al.* (2016) và điều chỉnh cho phù hợp [14]: dựa trên môi trường MRS cơ bản, chuẩn bị 3 môi trường gồm: MT1 (MRS chứa 1% glucose), MT2 (MRS không chứa glucose), MT3 (MRS chứa 1% tinh bột chuối). Cây 1% dịch sinh khối *L. plantarum* (đã pha loãng đến khoảng  $10^8$  CFU/mL theo thang Mc Faland) vào mỗi môi trường. Trãi đĩa xác định mật độ vi khuẩn (CFU/mL) tại mỗi thời điểm 24 và 48 giờ.

### 2.2.4. Sấy phun tạo chế phẩm vi gói *L. plantarum*

Thực hiện theo Teanpaisan *et al.* (2012) và điều chỉnh cho phù hợp [15]: chuẩn bị dung dịch sữa gầy 20% được hoàn nguyên trong nước vô trùng khuấy liên tục 450 vòng/phút trong 30 phút để cải thiện sự hoàn nguyên của bột. Mỗi mẻ sấy phun chuẩn bị 500 mL dịch sữa gầy. Bổ sung 2% (v/v) sinh khối vi khuẩn vào dung dịch và đồng hóa. Sau đó, thực hiện sấy phun ở nhiệt độ hoạt động đầu vào 130 °C và nhiệt độ đầu ra là 76 °C ± 5 °C, tốc độ nhập liệu 250 mL/giờ, tốc độ dòng khí khô 40 L/phút và áp suất không khí 1,8 atm. Chế phẩm vi gói được thu ở đáy cyclone, chuyển vào lọ vô trùng và được lưu trữ ở 4 °C. Xác định hiệu quả vi gói thông qua tỷ lệ sống sót của vi khuẩn trong quá trình vi gói.

Khả năng sống sót của *L. plantarum* vi gói và tự do trong điều kiện mô phỏng hệ tiêu hóa được khảo sát theo phương pháp của Maciel *et al.* (2014) và Etchepare *et al.* (2016) với vài thay đổi [16, 17]. Mẫu vi khuẩn vi gói (1 g) và sinh khối tự do (1 mL) được đưa vào dịch dạ dày nhân tạo AGJ (artificial gastric juice: 0,11 g/L  $\text{CaCl}_2$ ; 1,12 g/L  $\text{KCl}$ ; 2 g/L  $\text{NaCl}$ ; 0,4 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; pepsin 3 g/L, pH 2,0), ủ 37 °C trong 2 giờ. Sau đó, vi khuẩn được tiếp xúc với điều kiện dịch ruột nhân tạo bằng cách chỉnh pH của dịch lên 5,0 bằng  $\text{NaHCO}_3$ , bổ sung pancretin (0,1 g/L) và muối mật (1 g/L), ủ 37 °C trong 2 giờ. Cuối cùng pH của dịch được chỉnh lên 7,5 và tiếp tục ủ 37 °C trong 2 giờ tiếp theo. Các mẫu đều được thực hiện nuôi cấy trên máy lắc ở 120 vòng/phút. Tại các thời điểm 0, 1, 2, 4, 5, 6 giờ, các mẫu được lấy ra trải đĩa xác định mật độ vi khuẩn sống trong dịch.

### 2.2.5. Phối trộn tinh bột chuối và *L. plantarum* vi gói tạo sản phẩm bột probiotic uống liền

Sản phẩm tinh bột chuối probiotic được thử nghiệm phối trộn với tổng khối lượng 20 g/gói gồm tinh bột chuối, bột vi gói *L. plantarum* và đường ăn kiêng isomalt. Trong đó, đường ăn kiêng bổ sung cố định là 2 gam, tỷ lệ phối trộn tinh bột chuối và bột vi gói thiết lập ở 3 mức 1:1; 2:1; 3:1 (w/w). Pha 1 gói bột với 100 mL nước ấm (40-50 °C), khuấy đều. Đánh giá cảm quan so hàng về vị của các mẫu. Công thức có kết quả cảm quan tốt nhất sẽ được thực hiện theo dõi sự thay đổi tỷ lệ sống sót của *L. plantarum* trong điều kiện hệ tiêu hóa mô phỏng tương tự như đã mô tả ở phần trên, đồng thời phân tích một số chỉ tiêu hóa lý cho sản phẩm.

## 2.3. Phương pháp phân tích

*Xác định hàm lượng tinh bột kháng:* thực hiện theo quy trình của Hung Pham *et al.* (2013) [18]: 1 g tinh bột (tính theo trọng lượng khô) được hòa với 25 mL đệm acetate (pH 6,0), đun sôi cách thủy 30 phút. Dịch huyền phù được xử lý với enzyme amylase (7000 U/g tinh bột) ở 37 °C trong 2 giờ và sau đó với enzyme amyloglucosidase (50 U/g tinh bột) ở 60 °C trong 30 phút. Hỗn hợp được ly tâm (lực ly tâm 1500 g, 15 phút). Phần cặn được rửa 3 lần với nước cất và sau đó sấy khô ở 50 °C trong 48 giờ. Hàm lượng RS (%) được tính bằng khối lượng cặn thu được (tính theo trọng lượng khô) so với mẫu ban đầu.

*Xác định độ ẩm:* sử dụng cân sấy ẩm AMB50.

*Xác định mật độ vi khuẩn:* bằng phương pháp trải đĩa trên môi trường MRS agar [19].

*Xác định hiệu suất vi gói:* theo công thức  $EY(\%) = (\log N / \log N_0) \times 100$ , trong đó N là số mật độ tế bào được giải phóng từ hạt vi gói (CFU/mL);  $N_0$  là mật độ vi khuẩn tự do ban đầu trước khi sấy phun (CFU/mL) [16].

*Xác định cấu trúc, kích thước:* cấu trúc bề mặt của tinh bột chuối và hạt vi gói vi khuẩn *L. plantarum* bằng cách chụp SEM. Một gam mẫu tinh bột và bột vi gói được đựng riêng trong các túi zipper và gửi phân tích tại Trung tâm Công nghệ Việt Đức - Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.Hồ Chí Minh.

*Phương pháp đánh giá cảm quan:* sử dụng phương pháp so hàng [20]. Mời 15 thành viên đã được sàng lọc sơ bộ về khả năng cảm quan, mỗi người được nhận 3 mẫu tinh bột chuối probiotic đựng trong cốc có ký hiệu A, B, C đã được mã hóa trên cốc. Mỗi thành viên uống thử các mẫu, sắp xếp chúng theo cường độ về mùi vị yêu thích cảm nhận được từ cao xuống thấp. Đánh giá các mẫu theo mức giảm dần từ 1 đến 3, với thứ tự 1 là thích nhất và 3 là không thích nhất.

*Xác định các chỉ tiêu tinh bột tổng, protein, lipid, tổng cacbohydrate, tổng vi khuẩn hiếu khí:* mẫu được gửi phân tích tại Công ty TNHH DV KHCN Khuê Nam.

*Phân tích và xử lý số liệu:* các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, thực hiện theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên (RCD). Kết quả được xử lý bằng phần mềm Excell 2014, thống kê Statgraphics Centurion XV.I và vẽ đồ thị bằng phần mềm Origin.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Hình dạng, kích thước và hàm lượng RS trong tinh bột chuối Laba

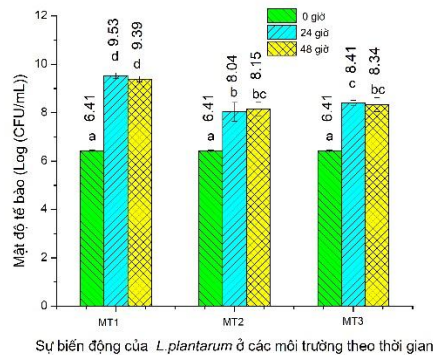
Tinh bột chuối Laba thu nhận được có màu trắng tươi, hạt mịn, độ tinh sạch khá cao với hàm lượng tinh bột tổng đạt 91,3%. Theo kết quả chụp SEM, hạt tinh bột được ghi nhận có hình bầu dục, thuận dài, kích thước dao động 12-40  $\mu\text{m}$  (Hình 2a). Hàm lượng tinh bột kháng của tinh bột chuối Laba đạt khá cao  $22,49 \pm 0,58\%$ . Hàm lượng tinh bột kháng sẽ khác nhau tùy

thuộc vào giống chuối. Tác giả Hung Pham *et al.* (2013) thực hiện cùng phương pháp phân tích đã xác định được hàm lượng RS trong tinh bột chuối sứ thu thập ở tỉnh Trà Vinh là 11,2% [18].

### 3.2. Đánh giá tác động của tinh bột chuối Laba đến sự sinh trưởng của *L. plantarum*

Tinh bột kháng là phần tinh bột không được tiêu hóa bởi enzyme amylase tuyến tụy ở ruột non, tồn tại được đến ruột già và được lên men bởi hệ vi sinh vật đường ruột của người. Tinh bột kháng được xem là prebiotic (carbohydrate không bị tiêu hóa, hấp thu ở ruột non, thúc đẩy sự tồn tại của các lợi khuẩn ở đại tràng) là cơ chất lên men được cho sự phát triển của lợi khuẩn probiotic đặc biệt là nhóm *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* [21]. Do vậy tinh bột chuối được sử dụng như nguồn cacbon trong môi trường nuôi cấy *L. plantarum* để đánh giá sự tác động lên sinh trưởng của lợi khuẩn này.

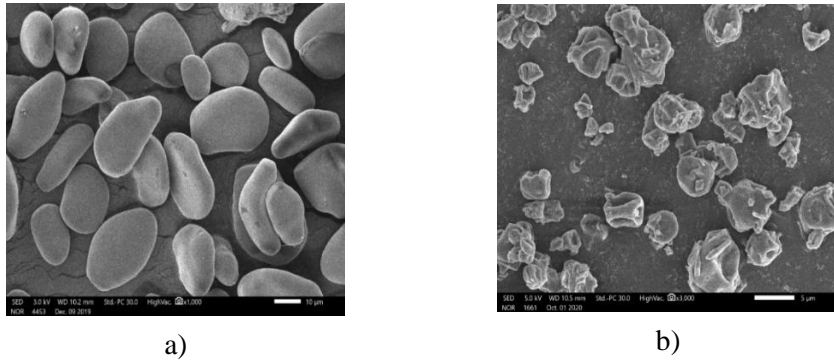
Kết quả ở Hình 1 cho thấy, sau 24 giờ nuôi cấy, mật độ vi khuẩn trong cả 3 môi trường đều tăng nhanh so với ban đầu và ổn định trong 24 giờ nuôi cấy tiếp theo. So với MT1 (MRS không bổ sung nguồn cacbon), sự sinh trưởng của vi khuẩn trong hai môi trường còn lại thể hiện cao hơn do đều được bổ sung nguồn cacbon. Ở môi trường 1 (MRS bổ sung glucose) thể hiện sự sinh trưởng mạnh nhất, tăng 3,12 log so với ban đầu, đạt mật độ 9,53 log(CFU/mL); tiếp đến là MT3 (thay thế glucose bằng tinh bột chuối) sự sinh trưởng tăng 2 log với mật độ 8,41 log(CFU/mL). Điều này dễ dàng giải thích do glucose là đường đơn nên trong quá trình trao đổi chất vi sinh vật dễ sử dụng hơn so với tinh bột. Qua kết quả này, có thể chứng minh tinh bột chuối có tác động tích cực trong sự sinh trưởng của *L. plantarum*. Trong nghiên cứu về đặc tính prebiotic của các dạng bột chuối của Thái Lan, Powthong *et al.* (2018) cũng ghi nhận sự kích thích sinh trưởng của các dạng bột chuối đến các lợi khuẩn thuộc chủng *Lactobacillus* [22].



Hình 1. Sự sinh trưởng của *L. plantarum* trong các môi trường khác nhau (Các ký tự a, b, c khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%)

### 3.3. Tạo bột vi gói *L. plantarum* và đánh giá hiệu quả bảo vệ lợi khuẩn của hạt vi gói

Các lợi khuẩn trước khi bổ sung vào các dạng thực phẩm rất được quan tâm bảo vệ nhằm duy trì sức sống tốt trong sản phẩm cũng như khi qua hệ tiêu hóa. Sấy phun là phương pháp vi gói có nhiều ưu điểm được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp. Mặc dù nhược điểm lớn nhất là nhiệt độ sấy cao có nguy cơ làm chết tế bào, tuy nhiên nhiều nghiên cứu cũng đã thành công trong việc sản xuất bột từ môi trường sữa gầy chứa các lợi khuẩn khác nhau có số lượng sống sót cao [23]. Trong nghiên cứu của Zheng *et al.* (2015) cũng chứng minh sữa gầy hoàn nguyên là chất bảo vệ phù hợp cho nhóm vi khuẩn lactic trong quá trình sấy phun [24]. Do vậy, trong nghiên cứu này, *L. plantarum* được vi gói với chất mang là bột sữa gầy hoàn nguyên ở nồng độ 20% thông qua phương pháp sấy phun.



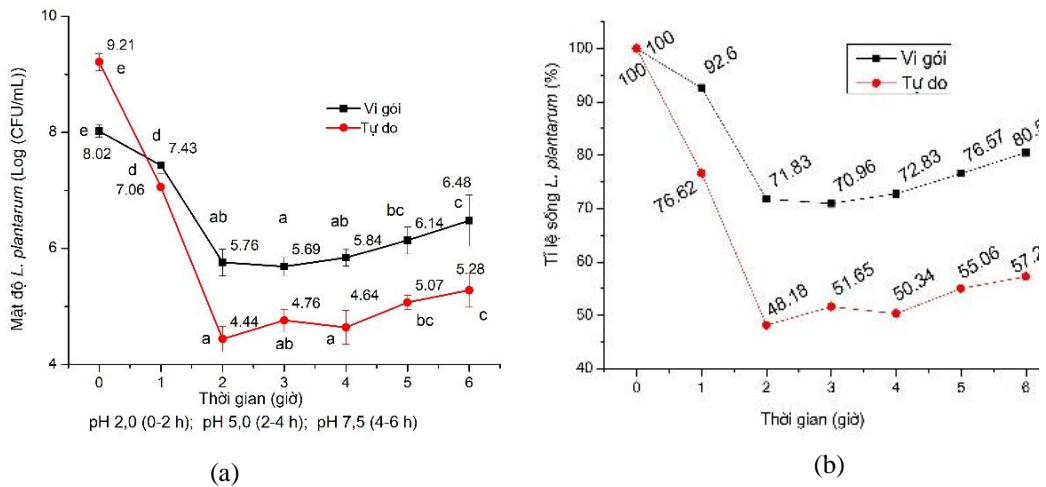
Hình 2. Hình ảnh chụp SEM của tinh bột chuối (a) (ở độ phóng đại 1000 lần) và bột vi gói *L. plantarum* (b) (ở độ phóng đại 3000 lần)

Qua quá trình tác động bởi nhiệt độ sấy đầu vào 130 °C, nhiệt độ đầu ra 60-70 °C, bột vi gói thu được ở dạng bột mịn, trắng ngà, độ ẩm  $5,23 \pm 0,05\%$ . Các hạt có kích thước khoảng 3-12  $\mu\text{m}$ , dạng hình cầu, lõm nhiều chỗ trên bề mặt hạt (Hình 2b). Hình dạng tương tự cũng được ghi nhận khi sấy phun *L. acidophilus* với sữa gầy và whey protein, hiện tượng lõm và xẹp bề mặt hạt là do tác động nhiệt trong quá trình sấy phun [25].

Hiệu quả vi gói *L. plantarum* khá cao ở  $77,88 \pm 1,08\%$ , với mật độ vi khuẩn trong bột đạt 9,02 log (CFU/g). Trong các nghiên cứu khác liên quan đến sấy phun vi khuẩn lactic với sữa gầy hoàn nguyên, các tác giả cũng ghi nhận hiệu quả vi gói trên 60%. Teanpaisan *et al.* (2012) vi gói *L. paracasei* SD1 với hiệu quả vi gói 60% khi thực hiện sấy phun ở 170 °C nhiệt độ đầu vào 60 °C nhiệt độ đầu ra [15]. Maciel *et al.* (2014) cũng ghi nhận hiệu quả vi gói *L. acidophilus* La-5  $77,73 \pm 5,95\%$  với sữa gầy hoàn nguyên 30% ở nhiệt độ sấy cao (180 °C nhiệt độ đầu vào, 85 - 95 °C nhiệt độ đầu ra, tốc độ nhập liệu 8 mL/phút) [16]. Dimitrellou *et al.* (2016) cũng vi gói *L. casei* ATCC 393 đạt hiệu quả  $72,5 \pm 0,7\%$  ở nhiệt độ sấy đầu vào và ra lần lượt là 170 °C và 80 °C. Việc bảo vệ vi khuẩn của sữa gầy hoàn nguyên được giải thích do các thành phần có mặt trong sữa, đặc biệt là lactose. Trong suốt quá trình sấy, lactose tương tác với các thành phần màng tế bào làm giảm thiểu tối đa các tổn hại [26]. Hơn nữa,  $\text{Ca}^{2+}$  trong sữa cũng giúp ổn định màng tế bào khi chịu tác động của nhiệt độ.  $\text{Ca}^{2+}$  còn kết hợp với các protein trong sữa tạo thành khối kết tụ với các tế bào vi khuẩn, điều này giúp giảm đi áp lực gây ra do sự mất nước nhanh chóng và sự tăng nhiệt độ [24].

Tác động bảo vệ vi khuẩn nhờ quá trình vi gói với sữa gầy hoàn nguyên được thực hiện qua sự theo dõi sự sống sót của chúng trong các điều kiện mô phỏng của hệ tiêu hóa. Các kết quả thể hiện trong Hình 3.

Trong quá trình tiếp xúc liên hoàn với các điều kiện mô phỏng hệ tiêu hóa, vi khuẩn vi gói và tự do đều thể hiện xu hướng giảm mật độ nhanh chóng sau khi tiếp xúc môi trường ở dạ dày (pH 2,0) trong 2 giờ, sau đó mật độ tăng dần lên khi trải qua tiếp theo 2 giờ ở điều kiện ruột non (pH 5,0) và 2 giờ ở điều kiện đại tràng (pH 7,5). Điều này chứng tỏ, pH thấp ở dạ dày là nguyên nhân gây chết chủ yếu cho vi khuẩn, khi đã vượt qua được giai đoạn này thì vi khuẩn có thể ổn định và phát triển mật độ ở các đoạn sau của hệ tiêu hóa (khi pH dần trung tính). So sánh về sự thay đổi mật độ, vi khuẩn vi gói cho thấy sự giảm mật độ thấp hơn nhiều khi tiếp xúc môi trường dạ dày ở pH 2,0; chỉ giảm 2,27 log (CFU/mL), tỷ lệ sống sót tương ứng đạt 71,83%; trong khi đó vi khuẩn tự do giảm gấp đôi mật độ (4,77 log (CFU/mL)), tỷ lệ sống sót chỉ đạt 48,18%. Do đó, ở vi khuẩn vi gói giữ được mật độ luôn cao hơn vi khuẩn tự do khi đi tiếp đến môi trường ruột non và đạt 6,48 log (CFU/mL) khi đến đại tràng, nhiều hơn 1 log (CFU/mL) so với vi khuẩn tự do (Hình 3).



Hình 3. Sự thay đổi mật độ (a) và tỷ lệ sống sót (b) của *L. plantarum* qua các điều kiện mô phỏng hệ tiêu hóa

(Các ký tự a, b, c khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%)

Xét về tỷ lệ sống sót ở đoạn cuối cùng của hệ tiêu hóa, vi khuẩn vi gói đạt mức cao 80,52%, vi khuẩn tự do chỉ đạt 57,29%. Xu hướng này cũng được nhiều tác giả báo cáo trong các nghiên cứu chứng minh sự được bảo vệ với sữa gầy của vi khuẩn vi gói khi đi qua điều kiện hệ tiêu hóa mô phỏng. Paez *et al.* (2013) thực hiện sấy phun ba chủng *Lactobacillus* với sữa gầy, ở cả 3 loài đều thấy sự giảm mạnh mật độ sau khi qua điều kiện pH 2,0 ở dịch dạ dày nhân tạo sau 90 phút, tuy nhiên mật độ giữ không đổi khi trải qua tiếp theo 60 phút trong dịch ruột nhân tạo; ở các vi khuẩn vi gói thể hiện mật độ sống sót cao hơn 1 log (CFU/mL) so với dạng tự do [23]. Trong nghiên cứu của Maciel *et al.* (2014), *L. acidophilus* La-5 ở dạng tự do giảm mạnh 3,11 log (CFU/mL), trong khi dạng vi gói với whey không thay đổi, dạng vi gói với sữa gầy hoàn nguyên tăng 1,64 log (CFU/mL) khi đi đến môi trường mô phỏng của đại tràng. Sự phục hồi của vi khuẩn ở cuối đường tiêu hóa mô phỏng được cho là do pH trung tính ở giai đoạn đường ruột. Tác giả cũng gợi ý rằng, sự phục hồi cao của vi khuẩn vi gói trong sữa gầy còn do sự phân hủy protein trong quá trình di chuyển, giải phóng peptide và các acid amin hỗ trợ sự phát triển của vi khuẩn [16]. Ditrimeidou *et al.* (2016) ghi nhận sự giảm mật độ 4 lần ở dịch dạ dày nhân tạo (pH 2,0), và giảm 2 lần mật độ ở dịch ruột nhân tạo của *L. casei* ATCC 393 dạng tự do so với vi khuẩn vi gói [26].

### 3.4. Tạo sản phẩm tinh bột chuối probiotic

Tinh bột chuối được xem là dạng tinh bột kháng loại 2, đây là loại tinh bột được ghi nhận có nhiều giá trị cho sức khỏe. Do vậy, nguyên liệu này thích hợp để tạo thực phẩm chức năng. Tinh bột chuối được gia tăng thêm giá trị có lợi cho sức khỏe bằng cách bổ sung probiotic, sẽ tạo thêm sự phong phú, đa dạng cho các nhóm sản phẩm probiotic. Vì vậy, trong nghiên cứu này, tinh bột chuối được phối trộn cùng *L. plantarum* đã vi gói nhằm tăng sự sống sót của vi khuẩn khi đi vào hệ tiêu hóa. Ba tỷ lệ phối trộn tinh bột chuối và bột vi gói được lựa chọn là 1:1, 2:1 và 3:1 (w/w). Kết quả đánh giá cảm quan bằng phương pháp so hàng về vị của 3 công thức bột được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả cảm quan so hàng của các công thức phối trộn tinh bột chuối và probiotic vi gói

Tỷ lệ tinh bột và bột vi gói (w/w)	Mức đánh giá
1 : 1	2,00 ± 0,53 <sup>b</sup>
2 : 1	1,47 ± 0,74 <sup>a</sup>
3 : 1	2,07 ± 0,81 <sup>c</sup>

(<sup>a, b, c</sup>: các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%)

Mẫu ở tỷ lệ phối trộn tinh bột và bột vi gói là 2:1 nhận được điểm so hàng thấp nhất, chứng tỏ được ưa thích nhất trong 3 mẫu với mô tả vị ngọt thanh, thơm mùi sữa. Mật độ *L. plantarum* trong mẫu đạt  $1,15 \times 10^9$  CFU/g, phù hợp với khuyến cáo của WHO về một sản phẩm probiotic mật độ lợi khuẩn phải đạt trên  $10^6$  CFU/g. Sản phẩm được phân tích tiếp theo các thành phần dinh dưỡng và chỉ tiêu tổng vi khuẩn hiếu khí. Kết quả trong Bảng 2 cho thấy hàm lượng protein, carbohydrate của tinh bột chuối probiotic lần lượt là 10,8%; 76,7%; hàm lượng béo nhỏ hơn 0,3%. Tổng số vi sinh vật hiếu khí là  $4,7 \times 10^3$  CFU/g, nằm trong khoảng cho phép của TCVN 7404 : 2004 về bột sữa gầy.

Bảng 2. Chỉ tiêu hóa lý và vi sinh của sản phẩm tinh bột chuối probiotic

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Kết quả	Phương pháp thử
1	Protein	%	10,8	Mod. AOAC 991.20 (*)
2	Carbohydrate	%	76,7	Mod. AOAC 948.22 (*)
3	Béo tổng	%	<0,3	FDA Reg. 21 VFR 101.9
4	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/g	$4,7 \times 10^3$	IOS 4833-1:2013(*) (b)

(\*): Chỉ tiêu được VILAS công nhận theo ISOMEC 17025:2017

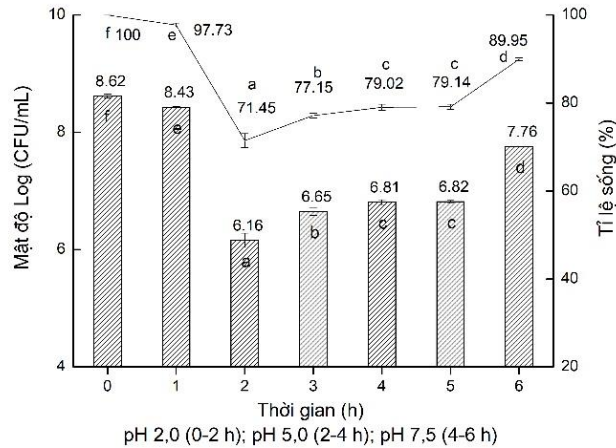
(b): Chỉ tiêu được Cục An toàn Thực phẩm – Bộ Y Tế chỉ định

Sản phẩm tinh bột chuối probiotic khi được sử dụng sẽ đi qua hệ thống tiêu hóa, do vậy lợi khuẩn sẽ chịu tác động của các điều kiện bất lợi ở dạ dày pH thấp (khoảng 2,0-3,0), muối mật, các enzyme tiêu hóa ở ruột non trước khi đến cư trú được ở ruột già. Sự sống sót của *L. plantarum* trong sản phẩm được theo dõi khi trải qua các điều kiện mô phỏng của đường tiêu hóa (Hình 4).

Trong 2 giờ trải qua điều kiện tác động ở điều kiện dạ dày (pH 2,0), mật độ *L. plantarum* giảm 2,46 log (CFU/mL), sau đó mật độ ổn định và tăng dần khi tiếp xúc với điều kiện mô phỏng trong đường ruột (pH dần trung tính), đến cuối đường tiêu hóa mật độ đạt 7,76 log (CFU/mL), ứng với tỷ lệ sống sót so với ban đầu là 89,95%.

Mật độ vi khuẩn ở mẫu sản phẩm tinh bột probiotic qua các điều kiện mô phỏng khác nhau ở hệ tiêu hóa, đặc biệt ở đoạn tiếp xúc môi trường mô phỏng đường ruột, đều cao hơn khoảng 1 log (CFU/mL) so với mẫu bột vi gói (chỉ có vi khuẩn và sữa gầy). Đến cuối ống tiêu hóa (ở điều kiện mô phỏng đại tràng) tỷ lệ sống của *L. plantarum* trong mẫu tinh bột probiotic cao hơn 9,43% so với mẫu vi gói (Hình 3 và 4). Điều này có thể do vi khuẩn đã sử dụng tinh bột chuối (là một dạng tinh bột kháng loại 2) trong thời gian ở điều kiện đường ruột cho sự sinh trưởng.





Hình 4. Sự thay đổi mật độ của *L. plantarum* trong sản phẩm tinh bột chuối probiotic khi trải qua các điều kiện mô phỏng ở hệ tiêu hóa

Sự tác động tích cực trong việc bảo vệ vi khuẩn qua điều kiện bất lợi ở các đoạn ống tiêu hóa của các chế phẩm vi gói/bao gói với tinh bột cũng được ghi nhận trong các nghiên cứu gần đây. Tác giả Nunes *et al.* (2018) đã thực hiện sấy phun *L. acidophilus* La-5 với các chất mang khác nhau (gum arabic, inulin, tinh bột bắp loại Hi-maize, trehalose). Kết quả cho thấy ở điều kiện mô phỏng đoạn cuối ống tiêu hóa (đại tràng), mẫu vi gói có mặt Hi-maize bị giảm mật độ thấp nhất [19]. Trong một nghiên cứu khác, Pankasemsuk *et al.* (2016) bao gói *L. casei* với alginate 2% cùng với 0,5-2% tinh bột (Hi-maize) bằng phương pháp nhũ hóa cũng cho thấy hạt bao gói với 1% hi-maize thúc đẩy tỷ lệ sống sót trong cả dịch dạ dày và dịch mật là cao nhất [27]. De Araújo Etchepare *et al.* (2016) cũng bao gói *L. acidophilus* với alginate theo phương pháp ép đùn cho thấy hạt bao gói có kết hợp với tinh bột kháng (Hi-maize) chống lại tốt nhất các điều kiện tiêu hóa mô phỏng so với hạt bao gói chỉ có alginate [17].

#### 4. KẾT LUẬN

Qua các kết quả thu nhận được cho thấy, tinh bột chuối thu nhận được từ chuối Laba với phân đoạn tinh bột kháng khá cao (22,49%), có tác động tích cực đến sự sinh trưởng của *L. plantarum*. Do vậy, tinh bột chuối được phối trộn với lợi khuẩn đã được vi gói bằng sữa gầy hoàn nguyên tạo sản phẩm bột uống liền có giá trị hỗ trợ tốt cho sức khỏe. Sản phẩm bột được lựa chọn phối trộn ở tỷ lệ 2:1 (w/w) giữa tinh bột chuối và bột vi gói *L. plantarum*. Với các phân tích về chỉ tiêu hóa lý cho thấy, sản phẩm thuộc loại ít chất béo, giàu carbohydrate (trong đó có tinh bột kháng tự nhiên). Mật độ lợi khuẩn trong sản phẩm đạt  $10^9$  CFU/g, đạt yêu cầu của một sản phẩm probiotic. Hơn nữa, lợi khuẩn *L. plantarum* trong sản phẩm có thể vượt qua các điều kiện mô phỏng ở hệ tiêu hóa để đạt tỷ lệ sống sót cao (89,95%) ở đoạn cuối ống tiêu hóa. Những kết quả ban đầu này về sản phẩm tinh bột chuối probiotic sẽ tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo để chứng minh sự hỗ trợ tương tác giữa tinh bột kháng trong chuối xanh với lợi khuẩn khi đi qua các đoạn ống tiêu hóa và cư trú, phát huy tác dụng tại đại tràng, cũng như các tác động có lợi khác; từ đó sẽ hoàn thiện thêm sản phẩm probiotic từ tinh bột kháng nhằm tạo sự đa dạng cho các sản phẩm sẵn có trên thị trường.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này do Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Tp. Hồ Chí Minh bảo trợ và cấp kinh phí theo Hợp đồng số 51/HĐ-DCT ngày 03/09/2019.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Zhang P., Whistler R.L., BeMiller J.N. and Hamaker B.R. - Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility - A review, *Carbohydrate polymers* **59** (4) (2005) 443-458.
2. Khoozani A.A., John B. and Bekhit A.E.D.A. - Production, application and health effects of banana pulp and peel flour in the food industry, *Journal of food science and technology* **56** (2) (2019) 548-559.
3. Bodinham C.L., Frost G.S. and Robertson M.D. - Acute ingestion of resistant starch reduces food intake in healthy adults, *British Journal of Nutrition* **103** (6) (2010) 917-922.
4. Harazaki T., Inoue S., Imai C., Mochizuki K. and Goda T. - Resistant starch improves insulin resistance and reduces adipose tissue weight and CD11c expression in rat OLETF adipose tissue, *Nutrition* **30** (5) (2014) 590-595.
5. Venkataraman A., Sieber J.R., Schmidt A.W., Waldron C., Theis K.R. and Schmidt T.M. - Variable responses of human microbiomes to dietary supplementation with resistant starch, *Microbiome* **4** (1) (2016) 1-9.
6. Choo C.L. and Aziz N.A.A. - Effects of banana flour and  $\beta$ -glucan on the nutritional and sensory evaluation of noodles, *Food Chemistry* **119** (1) (2010) 34-40.
7. Fasolin L.H., Almeida G.C., Castanho P.S., Netto-Oliveira E.R. - Chemical, physical, and sensorial evaluation of banana meal cookies, *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **27** (3) (2007) 787-792.
8. Agama-Acevedo E., Islas-Hernández J.J., Pacheco-Vargas G., Osorio-Díaz P. and Bello-Pérez L.A. - Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with unripe banana flour, *LWT-Food Science and Technology* **46** (1) (2012) 177-182.
9. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (2003). FAOSTAT statistics database (last updated May 2004), Agriculture, Rome, Italy
10. Shori A.B. - Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit, *HAYATI journal of biosciences* **24** (1) (2017) 1-5.
11. Septembre-Malaterre A., Remize F. and Poucheret P. - Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation, *Food Research International* **104** (2018) 86-99.
12. Amin T., Thakur M. and Jain S.C. - Microencapsulation-the future of probiotic cultures, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* **9** (4) (2020) 35-43.
13. Waliszewski K.N., Aparicio M.A., Bello L.A. and Monroy J.A. - Changes of banana starch by chemical and physical modification, *Carbohydrate polymers* **52** (3) (2003) 237-242.
14. Lopes S. M. S., Francisco M. G., Higashi B., de Almeida, R.T.R., Krausová G., Pilau E.J. and de Oliveira A.J.B. - Chemical characterization and prebiotic activity of fructo-oligosaccharides from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) roots and in vitro adventitious root cultures, *Carbohydrate Polymers* **152** (2016) 718-725.
15. Teanpaisan R., Chooruk A., Wannun A., Wichienchot S. and Piwat S. - Survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* SD1 in milk powder using spray drying, *Sonklanakar Journal of Science and Technology* **34** (3) (2012) 247.

16. Maciel G.M., Chaves K.S., Grosso C.R.F. and 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) 1991-1998.
17. de Araújo Etchepare M., Raddatz G.C., Cichoski A.J., Flores É.M.M., Barin J.S., Zepka L.Q. and 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.
18. Hung, P. V., Cham, N. T. M. and Truc, P. T. T. - Characterization of Vietnamese banana starch and its resistant starch improvement, *International Food Research Journal* **20** (1) (2013) 205-211.
19. Nunes G. L., de Araújo Etchepare M., Cichoski A.J., Zepka L.Q., Lopes E.J., Barin J.S., Menezes C.R. - Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying, *LWT* **89** (2018) 128-133.
20. Hà Duyên Tư - Kỹ thuật phân tích cảm quan thực phẩm, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2006.
21. Fuentes-Zaragoza E., Sánchez-Zapata E., Sendra E., Sayas E., Navarro C., Fernández-López J. and Pérez-Alvarez J.A. - Resistant starch as prebiotic: A review, *Starch-Stärke* **63** (7) (2011) 406-415.
22. Powthong, P., Jantrapanukorn, B., Suntornthiticharoen, P. and Laohaphatanalert, K. - Study of prebiotic properties of selected banana species in Thailand, *Journal of Food Science and Technology* **57** (7) (2020) 2490-2500.
23. Páez R., Lavari L., Audero G., Cuatrin A., Zaritzky N., Reinheimer J. and Vinderola G. - Study of the effects of spray-drying on the functionality of probiotic lactobacilli, *International Journal of Dairy Technology* **66** (2) (2013) 155-161.
24. 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.
25. Soukoulis C., Behboudi-Jobbehdar S., Yonekura L., Parmenter C. and Fisk I. - Impact of milk protein type on the viability and storage stability of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 using spray drying, *Food and Bioprocess Technology* **7** (5) (2014) 1255-1268.
26. Dimitrellou D., Kandylis P., Petrović T., Dimitrijević-Branković S., Lević S., Nedović V. and Kourkoutas Y. - Survival of spray dried microencapsulated *Lactobacillus casei* ATCC 393 in simulated gastrointestinal conditions and fermented milk, *LWT-Food Science and Technology* **71** (2016) 169-174.
27. Pankasemsuk T., Apichartsrangkoon A., Worametrachanon S. and Techarang J. - Encapsulation of *Lactobacillus casei* 01 by alginate along with hi-maize starch for exposure to a simulated gut model, *Food Bioscience* **16** (2016) 32-36.

## ABSTRACT

### A STUDY ON FUNCTIONAL FOOD PRODUCTION FROM BANANA STARCH AND MICROENCAPSULATED PROBIOTIC

Nguyen Thi Quynh Mai\*, Dao Thi My Linh,  
Kieu Yen Vy, Son Thien Nga, Nguyen Dang Khoa  
*Ho Chi Minh City University of Food Industry*  
\*Email: [maintq@hufi.edu.vn](mailto:maintq@hufi.edu.vn)

Unripe banana fruits are considered to be rich in resistant starch content. This type of starch possesses potential health benefits. This study was conducted to produce a type of functional food from Laba banana starch and a microencapsulated probiotic species, *Lactobacillus plantarum*. The obtained banana starch had a resistant starch content of  $22.49 \pm 0.58\%$ , showing a positive effect on the growth of *L. plantarum* compared with the control MRS medium without carbon source. *L. plantarum* was microencapsulated with reconstituted skim milk by spray-drying method at inlet temperature of  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$  and outlet temperature of  $60\text{-}70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The encapsulation efficiency was  $77.88 \pm 1.08\%$  and this process provided a high survival probiotic rate of  $80.52\%$  when passing through simulated digestive system. Banana starch and microencapsulated bacteria powder were mixed to obtain a final product. A combination of banana starch and microencapsulated bacteria powder at the ratio of 2:1 (w/w) was scored highest in sensory evaluation. The density of *L. plantarum* of this product was  $1.15 \times 10^9$  CFU/g; protein and carbohydrate content were  $10.8\%$  and  $76.7\%$ , respectively and total fat content was lower than  $0.3\%$ . Microencapsulated probiotic powder supplemented with banana starch exhibited a higher viability ( $89.95\%$ ) at the end of the gastrointestinal tract compared with that of microencapsulated probiotic without supplemented starch.

*Keywords:* Banana starch, *Lactobacillus plantarum*, microencapsulation, probiotic, skim milk.