

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH PREBIOTIC CỦA CHIẾT XUẤT TỎI BỞI VI KHUẨN *Lactobacillus plantarum* CMT1

Nguyễn Kim Huyền, Phan Thị Cẩm Tú*

Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: ptctu@ctu.edu.vn

Ngày nhận bài: 17.05.2025

Ngày chấp nhận đăng: 29.10.2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng sử dụng chất chiết tỏi và tăng trưởng của lợi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT1 khi bổ sung prebiotic từ chiết xuất tỏi như là nguồn carbon trong điều kiện phòng thí nghiệm. Nghiên cứu bao gồm 5 thí nghiệm: (1) đánh giá khả năng sử dụng prebiotic; (2) đánh giá sự tăng trưởng của vi khuẩn *L. plantarum* CMT1 trong môi trường có bổ sung chất chiết tỏi; (3) đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn gây bệnh cho tôm; (4) đánh giá chỉ số prebiotic của chiết xuất tỏi và (5) xác định khả năng tiết enzyme ngoại bào của vi khuẩn *L. plantarum* CMT1 khi nuôi trong môi trường có bổ sung chiết xuất tỏi. Kết quả thí nghiệm cho thấy lợi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT1 có thể sử dụng chiết xuất tỏi như là nguồn carbon trong quá trình lên men lactic. Sau 48 giờ nuôi cấy, sự phát triển của lợi khuẩn *L. plantarum* CMT1 trong môi trường có bổ sung chất chiết tỏi khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Ngoài ra, việc bổ sung chất chiết tỏi làm tăng cường hoạt động enzyme amylase, protease và leu-aminopeptidase so với nghiệm thức đối chứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy bổ sung 1% chất chiết xuất tỏi kích thích sự phát triển của lợi khuẩn *L. plantarum* CMT1 và ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* và *Vibrio harveyi*.

Từ khóa: Chất chiết tỏi, *Lactobacillus plantarum*, prebiotic, enzyme ngoại bào.

Evaluation of Prebiotic Activity of Garlic Extract on *Lactobacillus plantarum* CMT1

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the utilization of garlic extract and growth performance of the probiotic *Lactobacillus plantarum* CMT1 when using prebiotic from garlic extract as a carbon source *in vitro* condition. The study was conducted with five experiments: (1) evaluating the ability to digest prebiotic; (2) evaluating the growth of *Lactobacillus plantarum* CMT1 using garlic extract as a prebiotic; (3) evaluating the ability to inhibit pathogenic bacteria using garlic extract; (4) evaluating prebiotic activity score; and (5) determining the ability to secrete extracellular enzymes of *Lactobacillus plantarum* CMT1 when garlic extract was used as a carbon source. The results show that *Lactobacillus plantarum* CMT1 could use garlic extract as a carbon source for lactic acid fermentation. After 48 hours of culture, the growth of *Lactobacillus plantarum* CMT1 in the treatment supplemented with garlic extract was significantly higher than in the control. The addition of garlic extract enhanced the extracellular enzyme activities, such as amylase, protease, and leu-aminopeptidase compared to those of the control treatment. The results show that the addition of 1% garlic extract could enhance the growth of *Lactobacillus plantarum* CMT1 and inhibit the growth of pathogenic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi*.

Keywords: Extracellular enzyme, *Lactobacillus plantarum*, garlic extract, prebiotic.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hệ vi khuẩn lactic được tìm thấy hầu hết ở các sản phẩm trái cây và rau quả trong quá trình lên men và là hệ vi sinh vật thiết yếu trong hệ tiêu hóa của người và động vật (Ljungh

& Wadström, 2006). Trong quá trình lên men, axit lactic là sản phẩm chính của quá trình chuyển hoá carbohydrate cùng với các sản phẩm khác như axit acetic, ethanol và CO₂. Vi khuẩn lactic có đặc tính của một probiotic tiềm năng và khi sử dụng nồng độ thích hợp sẽ mang lại

nhiều lợi ích sức khỏe cho vật chủ (Hill & cs., 2014). Hơn nữa, nhóm vi khuẩn này góp phần điều khiển các chức năng sinh lý trong hệ thống tiêu hóa thông qua cải thiện khả năng tiêu hóa và ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh (Ljungh & Wadström, 2006; Lievin-Le & Servin, 2014). *Lactobacillus* là nhóm vi khuẩn lactic được sử dụng khá phổ biến trong sản phẩm probiotic trong nuôi trồng thủy sản. Chúng được tìm thấy trong các thực phẩm lên men và trong đường tiêu hóa của cá, tôm (Bucio & cs., 2006). Hầu hết các loài *Lactobacillus* được bổ sung bằng cách phối trộn qua thức ăn cho động vật thủy sản, nhằm ức chế vi khuẩn gây bệnh, cải thiện sự cân bằng của hệ vi khuẩn đường ruột, tăng cường hoạt động của các enzyme tiêu hóa, từ đó thúc đẩy hiệu suất tăng trưởng và khả năng kháng bệnh của vật chủ (Ringø & cs., 2018).

Prebiotics là hợp chất xơ không tiêu hóa, có tác dụng thúc đẩy hoạt động của các vi sinh vật có lợi trong đường tiêu hóa (Bozkurt & cs., 2014). Prebiotic có khả năng thúc đẩy sự phát triển của nhóm vi khuẩn *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* trong hệ tiêu hóa mà không bị thủy phân khi đi qua đường ruột (Kneifel & cs., 2000). Một số cơ chất carbohydrate có đặc tính của prebiotic bao gồm fructooligosaccharides (FOS), inulin, galactooligosaccharides (GOS) và lactulose (Fuller & Gibson, 1998). Synbiotic được định nghĩa là sự kết hợp giữa các probiotic và prebiotic, có tác động tích cực lên vật chủ thông qua cải thiện tỉ lệ sống và hoạt động của nhóm vi sinh vật trong hệ tiêu hóa (Kolida & Gibson, 2011). Tuy nhiên, các prebiotic thương mại có giá thành sản phẩm rất cao. Vì vậy, nhiều nghiên cứu đã thực hiện để chọn lọc các hoạt chất có đặc tính prebiotic từ tự nhiên có giá thành sản phẩm thấp và phổ biến kết hợp với các chủng probiotic để phát triển thành các sản phẩm synbiotic phục vụ cho ngành thủy sản. Chẳng hạn, Abidin & cs. (2022) báo cáo rằng hoạt tính enzyme đường ruột ở *L. vannamei* được cải thiện đáng kể khi tôm được cho ăn thức ăn bổ sung *L. acidophilus* (1×10^7 CFU/g) kết hợp chiết xuất lá chùm ngây, *Moringa oleifera* (2,5 g/kg). Gần đây, nghiên cứu của Phan & cs. (2025) cho thấy rằng việc bổ sung synbiotic từ

chất chiết trái nhàu kết hợp với vi khuẩn *L. plantarum* có tác dụng tốt trong việc thúc đẩy tăng trưởng và làm tăng mật độ vi khuẩn có lợi ở đường ruột của tôm thẻ chân trắng.

Tỏi (*Allium sativum* L.), thuộc họ Liliaceae, được sử dụng làm gia vị và làm thuốc từ rất lâu đời. Trong tỏi có chứa ít nhất 33 hợp chất lưu huỳnh, 17 axit amin, một số enzyme, khoáng chất và vitamin, có tác dụng tốt trong việc kháng khuẩn, kháng virus, kháng nấm, chống oxy hóa, là chất kích thích miễn dịch hiệu quả, thúc đẩy tăng trưởng và cải thiện chất lượng thịt (Corzo-Martinez & cs., 2007). Ngoài ra, trong chất chiết tỏi có chứa hàm lượng polysaccharide tương đối cao có thể kích thích sự phát triển của một số nhóm vi khuẩn có lợi và có thể sử dụng như một prebiotic tự nhiên. Adebisi & cs. (2017) đã báo cáo rằng tỏi có thể được sử dụng như một loại prebiotic tự nhiên trong thức ăn ở mức nồng độ 1,0%, có tác dụng tốt trong việc cải thiện hiệu suất tăng trưởng. Một vài nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng tỏi có tác động tích cực đến hiệu suất tăng trưởng, hoạt tính enzyme tiêu hóa, phản ứng miễn dịch và hệ vi sinh vật đường ruột ở một số loài cá như cá chép, cá rô phi và giáp xác như tôm thẻ chân trắng (Lee & Gao, 2012; Tazikeh & cs., 2020). Tuy nhiên, nghiên cứu về việc sử dụng tỏi như một synbiotics với lợi khuẩn *Lactobacillus plantarum* vẫn còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích đánh giá hoạt tính prebiotic của chất chiết tỏi trong việc kích thích tăng trưởng của vi khuẩn probiotic trong điều kiện *in vitro*.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm thực hiện

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 12/2024 đến tháng 04/2025 tại Phòng Thí nghiệm chế phẩm sinh học, Tòa nhà Phúc hợp Phòng thí nghiệm (CTU-RLC), Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Vật liệu

Chuẩn bị vi khuẩn: Vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT1: chủng vi khuẩn

L. plantarum CMT1 được phân lập từ ruột tôm thẻ chân trắng trong nghiên cứu trước đó của Tu & cs. (2024) và được lưu trữ ở -80°C có chứa 20% glycerol tại Phòng Thí nghiệm chế phẩm sinh học, Trường Thủy sản. Vi khuẩn được hoạt hóa và nuôi tăng sinh trên môi trường Man Rogosa Sharpe (MRS, Merck) Broth ở 37°C trong 24 giờ. Sau đó, dung dịch được ly tâm với tốc độ 3.000 vòng/phút trong 10 phút để thu sinh khối tế bào và rửa 3 lần bằng nước muối sinh lý để đạt mật độ 10^8 CFU/ml bằng phương pháp đo OD 600nm mật độ quang. Đồng thời, mật độ vi khuẩn *L. plantarum* CMT1 được kiểm tra lại trên môi trường MRS agar bằng phương pháp cấy trải (APHA, 2017).

Chuẩn bị chất chiết tảo: Tảo được bóc vỏ, rửa sạch và cắt thành từng lát mỏng, sau đó sấy khô bằng tủ sấy ở nhiệt độ dưới 50°C. Sau khi được làm khô, tảo được nghiền mịn và bảo quản kín gió, khô ráo cho đến khi sử dụng. Tảo được chiết xuất theo phương pháp của Ng & See (2018) với một vài điều chỉnh nhỏ. Trong đó, 100g tảo nghiền mịn được ly trích trong 1.000ml nước cất ở 80-90°C khoảng 20 phút. Sau đó, dung dịch được ly tâm ở 5.000 vòng/phút trong thời gian 15 phút để loại bỏ tạp chất. Phần dịch bên trên được thu và cô quay bằng máy chân không (Heidolph, Germany) trước khi đông khô bằng máy đông khô lạnh (SP Scientific, UK) trong 48 giờ.

2.3. Bố trí thí nghiệm

2.3.1. Khả năng sử dụng chất chiết xuất tảo bởi *Lactobacillus plantarum* CMT1

Lactobacillus plantarum CMT1 được nuôi tăng trưởng trong môi trường dinh dưỡng MRS ở 37°C trong 24 giờ. Sau đó, vi khuẩn được ly tâm ở tốc độ 3.000 vòng/phút trong 10 phút. Vi khuẩn được rửa lại ba lần. Tiếp đến dung dịch vi khuẩn được cấy lên đĩa thạch MRS có chứa 1% chất chiết tảo ly trích và 0,006 g/100ml chất chỉ thị Bromocresol tím (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). Đánh giá khả năng sử dụng các chất chiết tảo như là nguồn carbon được quan sát thông qua sự chuyển màu của môi trường xung quanh khuẩn lạc từ màu tím sang

màu vàng theo nghiên cứu của Giang & cs. (2021) với một vài thay đổi nhỏ. Trong đó, nghiệm thức bổ sung 1% FOS (Fructooligosaccharide) cũng được thực hiện tương tự để so sánh như nghiệm thức đối chứng. Thí nghiệm được lập 6 lần cho mỗi nghiệm thức.

2.3.2. Đánh giá sự tăng trưởng của *Lactobacillus plantarum* CMT1 trong môi trường có bổ sung chất chiết tảo

Vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT1 được chuẩn bị như mô tả ở trên. Sau đó được nuôi tăng sinh trong môi trường MRS broth có bổ sung 1% chất chiết tảo. Sự phát triển của *Lactobacillus plantarum* CMT1 được đánh giá thông qua sự tăng trưởng hấp thụ ở bước sóng 600nm tại các thời điểm 0, 6, 12, 24, 36 và 48h bằng máy quang phổ (Alpha Helios, Thermo Fisher Scientific, USA) (Giang & cs., 2021). pH cũng được theo dõi xuyên suốt quá trình như một trong những chỉ tiêu gián tiếp phản ánh sự tăng trưởng và tiêu hoá chất prebiotic. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 6 lần lặp lại.

2.3.3. Đánh giá khả năng tăng trưởng của vi khuẩn gây bệnh cho tôm trong môi trường có bổ sung chất chiết từ tảo

Chất chiết xuất tảo được đánh giá khả năng ức chế tăng trưởng của vi khuẩn gây bệnh. Hai dòng vi khuẩn gây bệnh phổ biến trên tôm là *Vibrio parahaemolyticus* và *V. harveyi* được chọn lựa để đánh giá. Vi khuẩn *V. harveyi* và *V. parahaemolyticus* được chuẩn bị bằng cách nuôi cấy trên môi trường chứa 1% chiết xuất tảo. Sự phát triển của vi khuẩn được quan sát thông qua độ hấp thụ ở bước sóng 600nm tại các thời điểm 0, 6, 12, 24, 36 và 48 giờ (Giang & cs., 2021). Tương tự như ở các thí nghiệm trên, thí nghiệm cũng được thực hiện với 6 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức.

2.3.4. Đánh giá chỉ số prebiotic của chất chiết tảo

Chỉ số prebiotic được đánh giá dựa theo phương pháp của Huynh & cs. (2018). Probiotic, *L. plantarum* CMT1 được nuôi tăng sinh trong môi trường MRS có bổ sung 1% glucose hoặc 1% chất chiết tảo. Thí nghiệm được thực hiện với 6

lần lặp lại. Giá trị OD được ghi nhận lúc 0 giờ và 24 giờ, sau đó chỉ số prebiotic được tính toán dựa vào công thức của Huỳnh & cs. (2018).

$$\text{Chỉ số prebiotic} = \frac{OD_{t(\text{Lac.} - \text{Pre.})} - OD_{i(\text{Lac.} - \text{Pre.})}}{OD_{t(\text{Lac.} - \text{Glu.})} - OD_{i(\text{Lac.} - \text{Glu.})}} - \frac{OD_{t(\text{Vib.} - \text{Pre.})} - OD_{i(\text{Lac.} - \text{Pre.})}}{OD_{t(\text{Vib.} - \text{Glu.})} - OD_{i(\text{Vib.} - \text{Glu.})}}$$

Trong đó: OD_i và OD_t là giá trị OD ở bước sóng 600nm ghi nhận vào lúc 0 giờ và sau 24 giờ nuôi cấy; Lac.-Pre. và Lac.-Glu. tương ứng với môi trường nuôi *Lactobacillus* sp. bổ sung các hợp chất chiết xuất từ tỏi và glucose; Vib.-Pre. và Vib.-Glu. tương ứng với môi trường nuôi các chủng vi khuẩn *Vibrio* spp. bổ sung các hợp chất chiết xuất tỏi và glucose.

2.3.5. Xác định khả năng tiết enzyme ngoại bào (protease, α-amylase, leu-aminopeptidase) của vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT1 khi nuôi trong môi trường có bổ sung chất chiết tỏi

Vi khuẩn probiotic được nuôi cấy trong môi trường MRS broth với 1% của chiết xuất tỏi và môi trường chứa 1% glucose được sử dụng làm đối chứng. Sau 24 giờ ủ ở 37°C, các tế bào được loại bỏ bằng phương pháp ly tâm ở tốc độ 8.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C, và dịch chiết không tế bào (CFS) được thu thập để đánh giá hoạt tính protease, α-amylase và leu-aminopeptidase. Protease, α-amylase và leu-aminopeptidase được phân tích dựa theo phương pháp của Lowry & cs. (1951), Bernfeld (1955) và Ezquerro & cs. (1999), tương ứng tại Phòng Thí nghiệm chế phẩm sinh học, Trường

Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Mỗi nghiệm thức được thực hiện với 6 lần lặp lại.

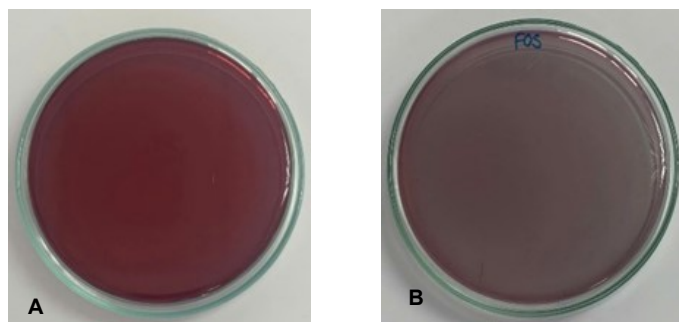
2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được tính trung bình, độ lệch chuẩn và so sánh sự khác biệt giữa hai nghiệm thức bằng kiểm định T-test trong SPSS 21.0 ở mức ý nghĩa P < 0,05.

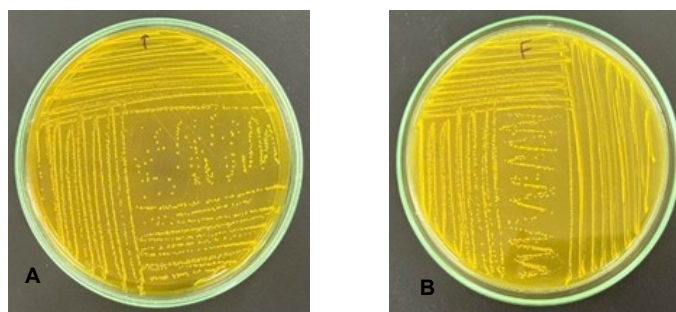
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng sử dụng chất chiết xuất tỏi bởi *Lactobacillus plantarum* CMT1

Sau 24 giờ nuôi cấy, sự phát triển của lợi khuẩn *L. plantarum* CMT1 được thể hiện thông qua sự chuyển màu của môi trường xung quanh khuẩn lạc từ màu tím (Hình 1) sang màu vàng (Hình 2) trong môi trường có bổ sung 1% chất chiết tỏi và 1% FOS. Kết quả là sau 24 giờ được cấy lên đĩa có bổ sung prebiotic, môi trường nuôi cấy chuyển hoàn toàn sang màu vàng (Hình 2). Qua đó cho thấy, chất chiết tỏi có thể sử dụng như là một nguồn carbon cho sự phát triển của lợi khuẩn *L. plantarum* CMT1 trong quá trình nuôi cấy. Theo nghiên cứu của Fei & cs. (2015), tỏi có chứa hơn 200 chất bao gồm polysaccharides, protein, lipid, vitamin, nguyên tố vi lượng, flavonoid và hợp chất organosulfur. Trong đó, polysaccharides là thành phần chính, chiếm khoảng 26-30% trọng lượng tỏi tươi (Fei & cs., 2015) và fructooligosacchrides (FOS) chiếm 3,34% b/b (Sunu & cs., 2019). Kết quả nghiên cứu tương tự cũng được đánh giá khả năng sử dụng prebiotic từ các chiết xuất từ tự nhiên như chuối và khoai lang trắng bởi vi khuẩn *Lactobacillus* sp. (Giang & cs., 2021).



Hình 1. Môi trường có bổ sung 1% chất chiết tỏi (A) và 1% FOS (B)



Hình 2. Khả năng sử dụng chất chiết tỏi (A) và FOS (B) của *Lactobacillus plantarum* CMT1 sau 48 giờ nuôi cấy

3.2. Đánh giá sự tăng trưởng của *Lactobacillus plantarum* CMT1 trong môi trường có bổ sung chất chiết xuất tỏi

Khả năng kích thích tăng trưởng của vi khuẩn *L. plantarum* CMT1 trong môi trường MRS có bổ sung chất chiết tỏi được thể hiện qua hình 3. Mật độ vi khuẩn *L. plantarum* CMT1 ở nghiệm thức tăng dần từ 0 giờ đến 72 giờ nuôi cấy và mật độ vi khuẩn tăng nhanh từ 12 giờ đến 72 giờ. Bên cạnh đó, mật độ vi khuẩn ở nghiệm thức có bổ sung 1% chất chiết tỏi ($OD = 1,624$) đạt giá trị cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ($OD = 1,435$) ($P < 0,05$). Kết quả nghiên cứu tương tự được ghi nhận bởi Rusdi & Yuniarni (2024), bổ sung 1% bột vỏ chuối *Musa acuminata* có tác dụng thúc đẩy tăng trưởng của *L. acidophilus* so với nghiệm thức không bổ sung bột vỏ chuối. Thành phần polysaccharides trong tỏi chứa 85% hàm lượng fructose, 14% glucose và 1% galactose (Hang, 2005), với carbohydrate đóng vai trò như là chất nền kích thích sự phát triển của vi khuẩn *Lactobacillus*. Theo Lopes & cs. (2016), bổ sung các chất có hoạt tính như prebiotic làm tăng 85% mật số *Lactobacillus* spp. Nghiên cứu *in vitro* được thực hiện bởi Sunu & cs. (2019) chứng minh rằng chất chiết tỏi làm tăng đáng kể mật số của *L. acidophilus* ngay cả khi bổ sung ở nồng độ thấp nhất, nhờ vào hàm lượng fructooligosaccharide trong tỏi hoạt động như prebiotic. Thêm vào đó, một nghiên cứu khác cho thấy thành phần polysaccharides trong chất

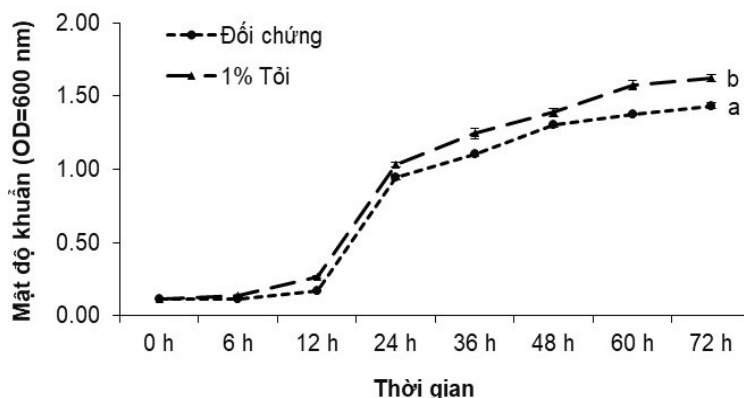
chiết tỏi có hiệu quả tốt trong việc thúc đẩy sự phát triển của nhiều dòng *Lactobacillus* như *L. casei*, *L. paracasei*, *L. johnsonii* (Lu & cs., 2021). Ngoài ra, so với tất cả các chủng *Lactobacillus* khác thì *L. plantarum* có khả năng sử dụng carbohydrate tốt hơn, góp phần tạo nên khả năng thích nghi rộng trong nhiều môi trường khác nhau với các loại carbohydrate khác nhau (Fuhren & cs., 2020). Theo Zhao & cs. (2021), nhóm vi khuẩn *Lactobacilli* chuyển đổi polysaccharides thành các axit béo chuỗi ngắn (SCFA). Hàm lượng các axit béo tăng có thể được nhận biết thông qua việc pH của dung dịch nuôi cấy vi khuẩn giảm. Thật vậy, trong nghiên cứu này, pH trong môi trường nuôi cấy *L. plantarum* CMT1 có chứa chiết tỏi giảm từ 6,45 xuống 5,81 trong 72 giờ nuôi cấy.

3.3. Đánh giá khả năng tăng trưởng của vi khuẩn gây bệnh trên tôm trong môi trường có bổ sung chất chiết tỏi

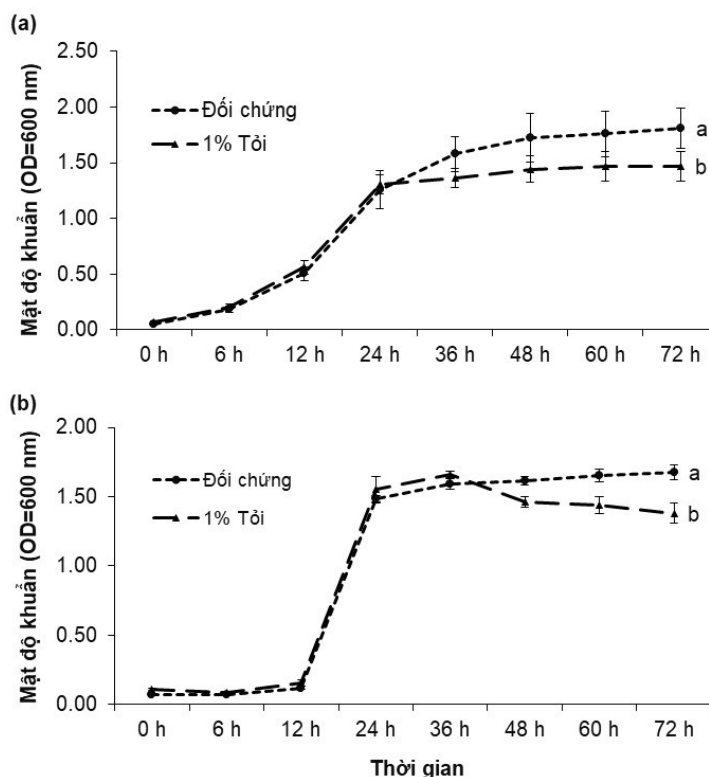
Sự tăng trưởng của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong 72 giờ nuôi cấy được thể hiện ở hình 4a. Mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở cả hai nghiệm thức tăng dần từ 0 giờ đến 24 giờ nuôi cấy. Theo đó, sự tăng trưởng của vi khuẩn ở nghiệm thức có bổ sung 1% chất chiết tỏi có xu hướng giảm và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ($P < 0,05$) sau 24 giờ nuôi cấy. Giá trị OD trung bình ghi nhận được lần lượt là 1,810 ở nghiệm thức đối chứng và 1,465 ở nghiệm thức có bổ sung 1% chất chiết tỏi sau 72 giờ. Tương tự, mật độ của vi khuẩn *V. harveyi* ở

hai nghiệm thức có xu hướng tăng mạnh sau 24 giờ nuôi cấy (Hình 4b). Trong đó, tăng trưởng của vi khuẩn ở nghiệm thức có chứa 1% chất chiết tỏi giảm mạnh và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ($P < 0,05$) sau 48 giờ nuôi cấy. Sau 72 giờ nuôi cấy, giá trị OD trung bình ở nghiệm thức đối chứng đạt 1,676 và ở nghiệm thức có bổ sung 1% chất chiết tỏi đạt 1,380. Theo nghiên cứu của Shang & cs.

(2019) và Zhang & cs. (2024), trong tỏi có chứa nhiều hợp chất kháng khuẩn, đặc biệt là allicin. Hoạt tính kháng khuẩn của allicin thường bị ảnh hưởng bởi thành phần trong môi trường nuôi cấy, do tương tác với cysteine và protein trong môi trường, nên hiệu quả ức chế thường chỉ rõ rệt sau 24 giờ được chứng minh trong nhiều thử nghiệm *in vitro* (Ankri & Mirelman, 1999; Miron & cs., 2000).



Hình 3. Tăng trưởng của *Lactobacillus plantarum* CMT1 trong môi trường có bổ sung 1% chất chiết tỏi



Hình 4. Tăng trưởng của *Vibrio parahaemolyticus* (a) và *Vibrio haveyi* (b) trong môi trường có bổ sung 1% chất chiết tỏi

Kết quả nghiên cứu này cho thấy rõ, bổ sung 1% chất chiết tảo có tác dụng hiệu quả trong việc ức chế sự phát triển của nhóm vi khuẩn gây bệnh như *V. parahaemolyticus* và *V. harveyi*. Nghiên cứu bởi Rusdi & Yuniarni (2024), bổ sung chiết xuất từ vỏ chuối làm ức chế sự phát triển của *Escherichia coli*. Ngoài ra, Sunu & cs. (2019) cũng nêu lên rằng bổ sung prebiotic ở nồng độ từ 0,1-0,2% có thể làm tăng mật số vi khuẩn có lợi và giảm số lượng vi khuẩn có hại. Thật vậy, prebiotics có tác dụng kích thích sự phát triển của các lợi khuẩn đường ruột như Bifidobacteria và Lactobacilli, đồng thời làm giảm số lượng vi khuẩn gây bệnh và do đó giúp duy trì cân bằng hệ vi khuẩn đường ruột (Barratt & cs., 2022).

3.4. Đánh giá chỉ số prebiotic của chất chiết tảo

Chỉ số prebiotic của chất chiết tảo được thể hiện qua hình 5. Trong đó, chỉ số prebiotic của chất chiết tảo được đánh giá bởi vi khuẩn *L. plantarum* CMT1 và *V. parahaemolyticus* ở 24 giờ nuôi cấy đạt giá trị trung bình là 0,180. Tương tự, giá trị prebiotic của chất chiết tảo được đánh giá trên vi khuẩn *L. plantarum* CMT1 và *V. haveyi* sau 24 giờ là 0,131 và không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Kết quả trong nghiên cứu này thấp hơn so với chỉ số prebiotic của chất chiết từ khoai lang trắng (0,25) được đánh giá trên vi khuẩn *Lactobacillus* sp. và *V. parahaemolyticus* được thực hiện bởi nhóm nghiên cứu của Giang & cs. (2021). Kết quả nghiên cứu tương tự được ghi nhận từ chiết xuất vỏ chuối với chỉ số prebiotic đạt 0,21 được đánh giá trên vi khuẩn *L. acidophilus* và *E. coli* (Rusdi & Yuniarni, 2024). Điều này có thể giải thích là do sự khác nhau của các hợp chất oligosaccharides có trong các nguồn prebiotic và từng loài vi khuẩn khác nhau. Ngoài ra, Figueroa-González & cs. (2019) cũng giải thích rằng sự biến động về chỉ số prebiotic đối với các loại prebiotic khác nhau trên cùng một chủng vi khuẩn *Lactobacillus* là do sự đa dạng về mặt trao đổi chất của chúng. Chỉ số prebiotic cao cho thấy hiệu quả của

prebiotic trong việc thúc đẩy sự phát triển của các lợi khuẩn và ức chế sự phát triển của các khuẩn gây bệnh. Ngược lại, giá trị prebiotic thấp hoặc âm cho thấy sự phát triển của các lợi khuẩn không được hỗ trợ bởi prebiotic, trong khi đó thì prebiotic sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho các vi khuẩn có hại phát triển (Rana & cs., 2024).

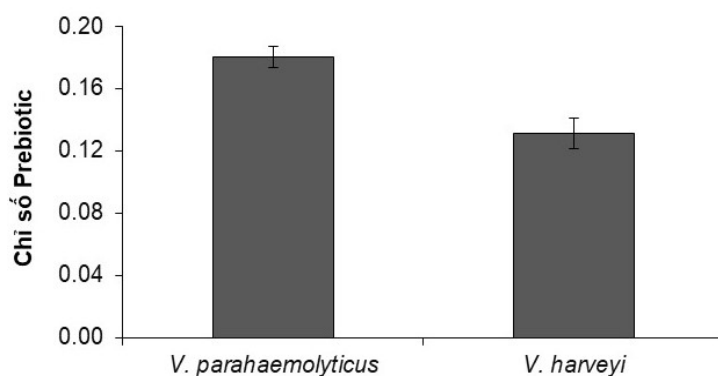
3.5. Xác định khả năng tiết enzyme ngoại bào (protease, α -amylase, leu-aminopeptidase) của vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT1 khi nuôi trong môi trường có bổ sung chất chiết tảo

Khả năng tiết enzyme ngoại bào của *L. plantarum* CMT1 nuôi trong môi trường có bổ sung 1% chất chiết tảo được thể hiện qua hình 6. Nhìn chung, hầu hết enzyme ở nghiệm thức có bổ sung 1% glucose và 1% chất chiết tảo khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng. Trong đó, enzyme amylase đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức bổ sung 1% glucose, kể đến là nghiệm thức bổ sung 1% chất chiết tảo và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng (Hình 6a). Kết quả nghiên cứu tương tự được ghi nhận ở enzyme leu-aminopeptidase. Theo đó, nghiệm thức 1% glucose và 1% chất chiết tảo có giá trị cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng ($P < 0,05$) (Hình 6c). Đối với enzyme ngoại bào protease, nghiệm thức đối chứng đạt giá trị thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức có bổ sung 1% chất chiết tảo và 1% glucose. Tuy nhiên, không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê giữa hai nghiệm thức bổ sung chất chiết tảo và glucose ($P > 0,05$).

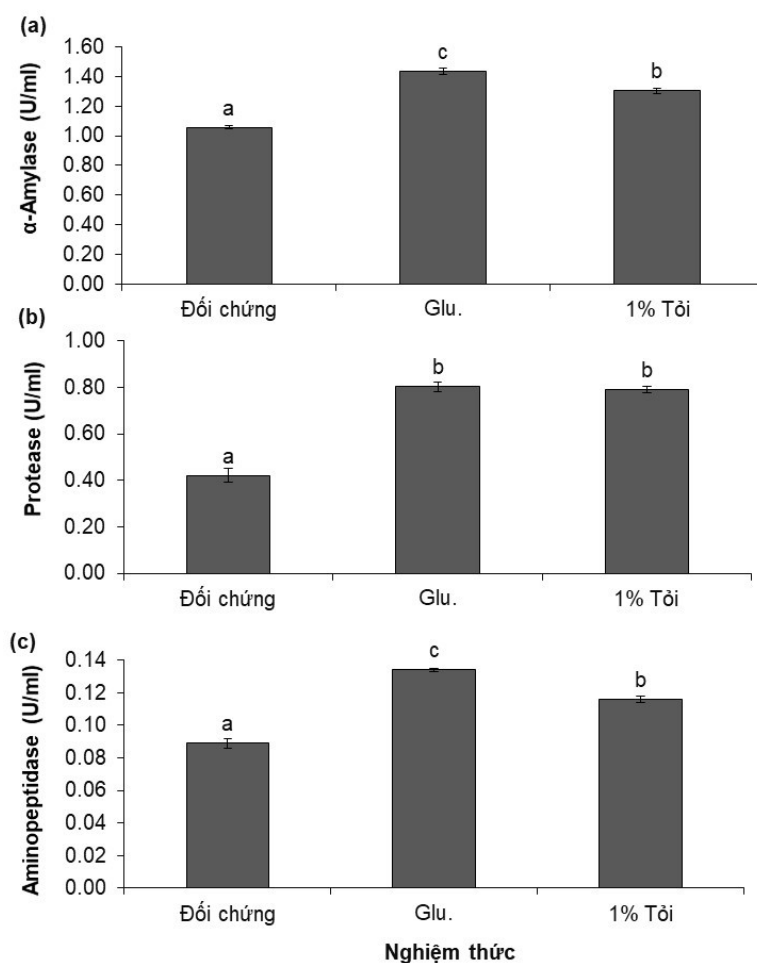
Lactobacillus có khả năng tiết ra các enzyme ngoại bào như protease, α -amylase và leu-aminopeptidase (Huỳnh Trường Giang & cs., 2020). Trong đó, α -amylase là enzyme tham gia vào quá trình chuyển hóa tinh bột thành các dạng đường đơn như glucose và maltose. Theo Saxena & cs. (2007), hàm lượng amylase ngoại bào được tiết ra bởi vi khuẩn *Bacillus* sp. đạt giá trị tối đa khi bổ sung tinh bột như là nguồn carbon. Tương tự vậy, *L. plantarum* A.S1.2 và

B.S1.6 tiết ra enzyme amylase cao nhất khi bổ sung 2% (w/v) maltose, 2% (w/v) chất chiết mạch nha và 2% (w/v) tinh bột (Hattingh & cs., 2015). Protease là enzyme có vai trò quan trọng đối với quá trình thủy phân các liên kết peptide trong phân giải protein (Sulthoniyah & cs., 2015) và

leu-aminopeptidase tham gia vào quá trình thủy phân các peptide thành các axit amin cho vi khuẩn. Theo Mohammed & cs. (2024), bổ sung inulin được chiết xuất từ khoai lang như một prebiotic làm tăng cường khả năng tiết enzyme protease bởi các lợi khuẩn probiotics.



Hình 5. Chỉ số prebiotic của chất chiết tỏi



Hình 6. Khả năng tiết α -amylase (a), protease (b) và leu-aminopeptidase (c) của *Lactobacillus plantarum* CMT1 trong môi trường có chứa 1% chất chiết tỏi

4. KẾT LUẬN

Chiết xuất tỏi có tác dụng như một prebiotic, kích thích sự phát triển của *Lactobacillus plantarum* CMT1 và ức chế sự phát triển của vi khuẩn có hại. Đồng thời, khả năng tiết enzyme ngoại bào (α -amylase, protease và leu-aminopeptidase) của dòng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* CMT1 khi nuôi trong môi trường có bổ sung 1% chất chiết tỏi đều cao hơn so với nuôi trong môi trường không bổ sung chất chiết.

Nghiên cứu tiếp theo cần ứng dụng chất chiết tỏi kết hợp với *Lactobacillus plantarum* CMT1 trên đối tượng động vật thủy sản.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Trường Đại học Cần Thơ, Mã số: T2024-119.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abidin Z., Huang H.T., Hu Y.F., Chang J.J., Huang C.Y., Wu Y.S. & Nan F.H. (2022). Effect of dietary supplementation with *Moringa oleifera* leaf extract and *Lactobacillus acidophilus* on growth performance, intestinal microbiota, immune response, and disease resistance in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*). *Fish & Shellfish Immunology*. 127: 876-890. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.07.007>.
- Adebisi F.G., Ologhobo A.D. & Adejumo I.O. (2017). Efficacy of *Allium sativum* as growth promoter, immune booster and cholesterol-lowering agent on broiler chickens. *Asian Journal of Animal Science*. 11(5): 202-213.
- Ankri S. & Mirelman D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*. 1(2): 125-129.
- APHA (2017). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition. American Public Health Association. Washington DC 20005.
- Barratt M.J., Nuzhat S. & Ahsan K. (2022). *Bifidobacterium infantis* treatment promotes weight gain in Bangladeshi infants with severe acute malnutrition. *Science Translational Medicine*. 14(640): eabk1107.
- Bernfeld P. (1955). Amylases, α and β . In: Abelson J., Simon M., Verdine G., Pyle S. (Eds.), *Methods in Enzymology*. Academic Press. pp. 149-158.
- Bozkurt M., Aysul N., Kucukyilmaz K., Aypak S., Ege G., Catli A.U., Aksit H., Coven F., Seyrek K. & Cinar M. (2014). Efficacy of in-feed preparations of an anticoccidial, multienzyme, prebiotic, probiotic, and herbal essential oil mixture in healthy and *Eimeria* spp.-infected broilers. *Poultry Science*. 93: 389-399.
- Bucio A., Hartemink R., Schrama J.W., Verreth J. & Rombouts F.M. (2006). Presence of *Lactobacilli* in the intestinal content of freshwater fish from a river and from a farm with a recirculation system. *Food Microbiology*. 23(5):476-482.
- Corzo-Martinez M., Corzo N. & Villamiel M. (2007). Biological Properties of Onions and Garlic. *Trends in Food Science and Technology*. 18: 609-625.
- Ezquerro J.M., Garcia-Carreno F.L., Guillermo A.M. & Haard N.F. (1999). Effect of feed diet on aminopeptidase activities from the hepatopancreas of white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Journal of Food Biochemistry*. 23: 59-74.
- Fei M.L., Tong L.I., Wei L.I. & De Yang L. (2015). Changes in antioxidant capacity, levels of soluble sugar, total polyphenol, organosulfur compound and constituents in garlic clove during storage. *Industrial Crops and Production*. 69: 137-142.
- Figueroa-González I., Rodríguez-Serrano G. & Gómez-Ruiz I. (2019). Prebiotic effect of commercial saccharides on probiotic bacteria isolated from commercial products. *Food Science Technology (Brazil)*. 39 (3): 747-753.
- Führen J., Rösch C., Napel M.T., Schols H.A. & Kleerebezem M. (2020). Synbiotic matchmaking in *Lactobacillus plantarum*: Substrate screening and gene-trait matching to characterize strain-specific carbohydrate utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. 86(18)
- Fuller R. & Gibson G.R. (1998). Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut. *Clinical Microbiology and Infection*. 4: 477-48
- Giang H.T., Hai V.H., Tu P.T.C., Ngan P.T.T. & Ut V.N. (2021). Screening utilization of different natural prebiotic extracts by probiotic *Lactobacillus* sp. for development of synbiotic for aquaculture uses. *Can Tho University Journal of Science*. 13: 96-105.
- Hang X. (2005). Isolation and identification of garlic polysaccharide. *Food Science*. 26: 48-51.
- Hattingh M., Alexander A., Meijering I., Van Reenen C.A. & Dicks L.M.T. (2025). Amylolytic strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from barley. *African Journal of Biotechnology*. 14(4): 310-318.
- Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G.R., Merenstein D.J., Pot B. & Sanders M.E. (2014). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus

- statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 11(8): 506-514.
- Huỳnh Trường Giang, Nguyễn Hoàng Nhật Uyên, Vũ Hùng Hải, Phạm Phi Tuyết Ngân & Vũ Ngọc Út (2020). Đánh giá hoạt tính của vi khuẩn *Lactobacillus* từ ruột tôm thẻ chân trắng có tiềm năng probiotic để bổ sung vào thức ăn tôm. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 56(1): 102-111
- Huynh T.G., Shiu Y.L., Nguyen T.P., Hien T.T.T. & Liu C.H. (2018). Effects of synbiotic containing *Lactobacillus plantarum* 7-40 and galactooligosaccharide on the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*. 49: 2416-2428. <https://doi.org/10.1111/are.13701>.
- Kneifel W. (2000). *In vitro* growth behaviour of probiotic bacteria in culture media with carbohydrates of prebiotic importance. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 12(1): 27-34.
- Kolida S. & Gibson G.R. (2011). Synbiotics in health and disease. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2: 373-393
- Lee J. & Gao Y. (2012). Review of the application of garlic, *Allium sativum*, in aquaculture. *J World Aquac Soc*. 43: 447-458.
- Liévin-Le Moal V. & Servin A.L. (2014). Anti-infective activities of lactobacillus strains in the human intestinal microbiota: from probiotics to gastrointestinal anti-infectious biotherapeutic agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 27(2): 167-199.
- Ljungh A. & Wadstrom T. (2006). Lactic acid bacteria as probiotics. *Current Issues in Intestinal Microbiology*. 7(2): 73-90.
- Lopes S.M.S, Francisco M.G, Higashi B, de Almeida R.T.R, Krausová G, Pilau E.J, Goncalves J.E, Goncalves R.A.C. & de Oliveira A.J.B. (2016). Chemical characterization and prebiotic activity of fructooligosaccharides from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) roots and *in vitro* adventitious root cultures. *Carbohydrate Polymers*. 152: 718-725.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193(1): 265-275. [http://doi:10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](http://doi:10.1016/s0021-9258(19)52451-6).
- Lu X., Li N., Zhao R., Zhao M., Cui X., Xu Y. & Qiao X. (2021). *In vitro* prebiotic properties of garlic polysaccharides and its oligosaccharide mixtures obtained by acid hydrolysis. *Frontiers in Nutrition*. 8: 798450.
- Miron T., Shin I., Feigenblat G., Weiner L., Mirelman D., Wilchek M., Rabinkov A. (2002). A spectrophotometric assay for allicin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates. *Analytical Biochemistry*. 307(1): 76-83.
- Mohammed A., Aslamyah S., Zainuddin & Djawad M.I. (2024). *In vitro* evaluation of synbiotics combinations of different inulin concentrations and multi-strains probiotics based on microbial growth and digestive enzymes production. *Biodiversitas*. 25(10): 3693-3702.
- Ng Z.X. & See A.N. (2018). Effect of *in vitro* digestion on the total polyphenol and flavonoid, antioxidant activity and carbohydrate hydrolyzing enzymes inhibitory potential of selected functional plant-based foods. *Journal of food processing and preservation*. 43(4): 1-13.
- Phan T.C.T., Nguyen T.K.L., Pham T.T.N., Truong Q.P., Huynh T.G. & Tran T.T.H. (2025). Synbiotic effects of *Lactobacillus plantarum* CMT1 and *Morinda citrifolia* on the growth performance and disease resistance of whiteleg shrimp. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 275: 111037. doi.org/10.1016/j.cbpb.2024.111037.
- Rana A., Taneja N.K., Raposo A., Alarifi S.N., Teixeira-Lemos E., Lima M.J., Gonçalves J.C. & Dhewa T. (2024). Exploring prebiotic properties and its probiotic potential of new formulations of soy milk-derived beverages. *Frontiers in Microbiology*. 15:1404907.
- Ringø E., Hoseinifar S.H., Ghosh K., Doan H.V., Beck B.R. & Song S.K. (2018). Lactic acid bacteria in finfish-an update. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1-37.
- Rusdi V.B. & Yuniarni U. (2024). Prebiotic activity of Ambon banana (*Musa acuminata* (AAA Group) 'Ambon') peel starch against *Lactobacillus acidophilus* and *Escherichia coli* In. *AIP Conference Proceedings*. 3065: 1.
- Saxena R.K., Dutt K., Agarwal L. & Nayyar P. (2007). A highly thermostable and alkaline amylase from a *Bacillus* sp. PN5. *Bioresource Technology*. 98(2): 260-265
- Shang A., Cao S.Y., Xu X.Y., Gan R.Y., Tang G.Y., Corke H., Mavumengwana V. & Li H.B. (2019). Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*. 8(7): 246.
- Sulthoniyah S.T.M., Hardoko & Nursyam H. (2015). Characterization of extracellular protease lactic acid bacteria from shrimp paste. *Journal of Life Science and Biomedicine*. 5: 01-05.
- Sunu P., Sunarti D., Mahfudz L.D. & Yunianto W.D. (2019). Prebiotic activity of garlic (*Allium sativum*) extract on *Lactobacillus acidophilus*. *Veterinary World*. 12(12): 2046-2051.

- Tazikeh T., Abedian Kenari A., Esmacili M. (2020). Effects of fish meal replacement by meat and bone meal supplemented with garlic (*Allium sativum*) powder on biological indices, feeding, muscle composition, fatty acid and amino acid profiles of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research*. 51: 674-686. <https://doi.org/10.1111/are.14416>.
- Tu P.T.C., Thu N.T., Lien N.T.K., Giang H.T. & Hien T.T.T. (2024). Isolation of *Lactobacillus plantarum* CMT1 from shrimp intestine and its effects on growth and survival of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgah*. 76(2): 215-222.
- Zhang Y., Li L., Ma X., Liu R., Shi R., Zhao D., Li X. (2024). Extraction, purification, structural features, modifications, bioactivities, structure-activity relationships, and applications of polysaccharides from garlic: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 265. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131165>.
- Zhao X., Zhong X., Liu X., Wang X. & Gao X. (2021). Therapeutic and improving function of lactobacilli in the prevention and treatment of cardiovascular-related diseases: a novel perspective from gut microbiota. In *Frontiers in Nutrition*. 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2021.693412>.