

VI KHUẨN LACTIC: TIỀM NĂNG KHAI THÁC CÁC SẢN PHẨM CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC CAO CHO ỨNG DỤNG THỰC PHẨM VÀ DƯỢC PHẨM

Nguyễn Phú Thọ[✉], Nguyễn Hữu Thanh

Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Vi khuẩn Lactic (LAB) đóng một vai trò quan trọng trong các ứng dụng công nghiệp thực phẩm, dược phẩm. Cùng với axit lactic, việc sản xuất bacteriocin và các hợp chất kháng nấm có thể áp dụng làm chất bảo quản trong một số loại thực phẩm. Hơn nữa, nhờ các đặc tính tăng cường sức khỏe, một số chủng probiotic có nguồn gốc từ LAB đã được khai thác ứng dụng trong dược phẩm và thực phẩm chức năng. LAB cũng có tiềm năng để sản xuất các chất có hoạt tính sinh học như exopolysaccharide, axit lipoteichoic, axit linoleic liên hợp,... với các ứng dụng khác nhau. Để khai thác hiệu quả quá trình lên men LAB, các thách thức vẫn nằm ở sự kết hợp của quá trình lên men và tách chiết để đảm bảo sự ổn định hoạt tính sinh học của các sản phẩm lên men.

Từ khóa: Bacteriocin, exopolysaccharide, probiotic, vi khuẩn Lactic Metanol.

LACTIC ACID BACTERIA: POTENTIAL FOR HIGH BIODIVERSITY PRODUCTS FOR FOOD AND PHARMACEUTICAL APPLICATIONS

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are of great importance for their wide applications in the food and pharmaceutical industries. Bacteriocins and antifungal compounds as well as lactic acid are produced by LAB, which can be used as food preservatives. Furthermore, with their health-promoting properties, several probiotic strains derived from LAB have been exploited for applications in pharmaceuticals and functional foods. The enormous potential of LAB to produce bioactive substances such as exopolysaccharides, lipoteichoic acid, conjugated linoleic acid, etc., is expanding their industrial applications. To efficiently exploit LAB fermentation, however, the combination of fermentation and extraction processes must ensure the bioactivity stability of the fermentation products, which still remains a challenge.

Keywords: Bacteriocin, exopolysaccharide, probiotic, Lactic acid bacteria.

[✉] Tác giả liên hệ: Nguyễn Phú Thọ
Email: nptho@agu.edu.vn
Doi: 10.56283/1859-0381/287

Gửi bài: 16/8/2022

Chỉnh sửa: 14/9/2022

Chấp nhận đăng: 18/10/2022

Xuất bản online: 9/11/2022

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn Lactic (Lactic acid bacteria, LAB) được biết gắn liền với quá trình lên men và bảo quản thực phẩm từ thời xa xưa. Ngày nay LAB là nhóm vi sinh vật được sử dụng phổ biến trong nhiều lĩnh vực khác nhau. LAB được sử dụng làm giống khởi động (Starter culture) để lên men sữa, rau, thịt, cá và ngũ cốc, và cả thức ăn gia súc ở dạng ủ chua. Ngoài ra, LAB còn được sử dụng cho các quá trình lên men sản xuất exopolysaccharide (EPS), axit hữu cơ, các hợp chất polyol, hợp chất thơm, bacteriocin... phục vụ cho các mục đích khác nhau như cải thiện cấu trúc, mùi vị, bảo quản thực phẩm cũng như tác dụng đối với sức khỏe [1].

Trong số các chất chuyển hóa của LAB, axit lactic và bacteriocin là các sản phẩm trao đổi chất ngoại bào được sản xuất liên tục trong quá trình tăng trưởng và tồn tại trong dịch lên men. Khi kết

thúc quá trình lên men, sinh khối tế bào thường được loại bỏ. Tuy nhiên, gần đây sự quan tâm đến sinh khối tế bào như một sản phẩm giá trị gia tăng sử dụng như nguồn protein bổ sung. Nếu chủng LAB có các đặc tính probiotic thì sinh khối của chúng cũng có thể được khai thác làm thực phẩm chức năng. Ngoài ra, vách tế bào LAB là một lớp dày bao gồm peptidoglycan, axit teichoic và axit lipoteichoic, EPS và các protein bề mặt, đây cũng là những hợp chất có tiềm năng cao cho các ứng dụng công nghệ sinh học [2].

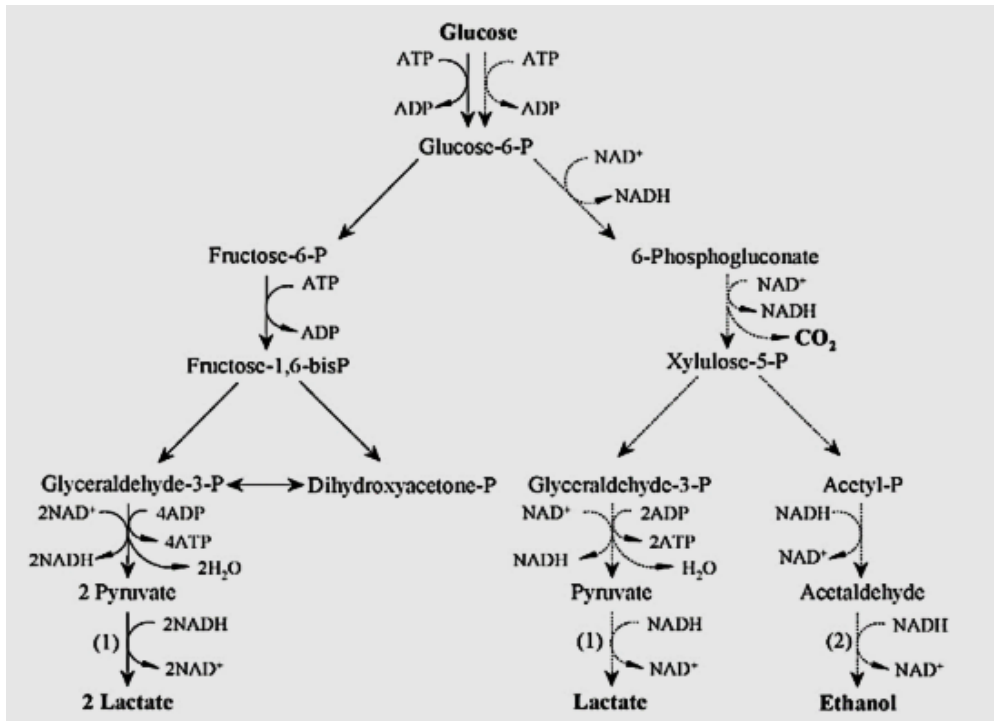
Hiện nay, những nghiên cứu cơ bản và ứng dụng của LAB đã được đề cập rộng rãi trong nhiều tài liệu khác nhau. Bài tổng quan này tóm tắt và thảo luận về các sản phẩm lên men từ LAB được áp dụng cho công nghiệp thực phẩm và dược phẩm.

II. GIỚI THIỆU VỀ LAB

LAB là nhóm vi khuẩn Gram dương không di động, đa dạng về mặt sinh thái bao gồm một số chi (*Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Weissella*, v.v. trong thứ tự bộ Lactobacillales) thuộc ngành (Phylum) Firmicutes, và chi *Bifidobacterium* kỵ khí thuộc ngành Actinobacteria. Các chủng giống LAB được thương mại hoá hiện nay chủ yếu thuộc các chi *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, trong khi các chế phẩm probiotic phổ biến nhất thuộc về các chi *Lactobacillus* và *Bifidobacterium* [3].

Trong quá trình chuyển hoá, do thiếu hệ thống hô hấp chức năng nên LAB thu năng lượng thông qua quá trình

phosphoryl hóa ở mức cơ chất theo hai con đường chuyển hóa để lên men hexose, tức là lên men đồng hình và lên men dị hình (Hình 1). Con đường chuyển hóa đầu tiên (lên men đồng hình) dựa trên quá trình đường phân với việc tạo thành axit lactic là chủ yếu, trong khi con đường thứ hai (lên men dị hình), được gọi là con đường pentose phosphat, được đặc trưng để sản xuất CO₂ và ethanol, hoặc axetat cùng với axit lactic. *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* và một số loài *Lactobacillus* thuộc nhóm LAB lên men đồng hình. Trong khi đó chi *Leuconostoc*, *Weissella* và một số loài *Lactobacillus* thuộc nhóm LAB lên men dị hình [4].



Hình 1. Các con đường chuyển hoá của LAB, lên men đồng hình (nét liền) và dị hình (nét đứt). P, phosphate; ADP, adenosine 5'-diphosphate; ATP, adenosine 5'-triphosphate; NAD⁺, nicotinamide adenine dinucleotide; NADH, nicotinamide adenine dinucleotide; (1), lactate dehydrogenase; (2), alcohol dehydrogenase [5]

III. CÁC SẢN PHẨM LÊN MEN TỪ LAB VÀ ỨNG DỤNG

3.1. Axit lactic

Axit lactic (axit 2-hydroxypropanoic) là một phân tử bất đối với hai đồng phân quang học, L-axit lactic và D-axit lactic, có thể được sản xuất thông qua tổng hợp hóa học hoặc lên men vi sinh vật. Tuy nhiên, phần lớn axit lactic thương mại hiện nay được sản xuất thông qua con đường công nghệ sinh học (qua lên men LAB đồng hình và dị hình). Một số loài LAB chỉ có thể tổng hợp một trong hai loại đồng phân quang học của axit lactic, cho phép sử dụng trong một số ứng dụng chuyên biệt. Trong số các vi khuẩn L-axit lactic có *L. amilophylus*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. rhamnosus*... Trong khi đó, *L. coryniformis* tổng hợp D-axit lactic một cách đặc hiệu, còn *L. plantarum* và

L. pentosus có thể sản xuất cả hai loại đồng phân. Hầu hết quá trình lên men sản xuất axit lactic bằng lên men LAB nhằm vào đồng phân dạng L-axit lactic. Đặc biệt, ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm rất ưa chuộng đồng phân này, chất duy nhất có thể được chuyển hóa trong cơ thể con người [6].

3.2. Bacteriocin

Bacteriocin là các peptit nhỏ có đặc tính kháng khuẩn thường được sản xuất bởi LAB, các hợp chất này hoạt động chống lại các vi khuẩn Gram dương khác. Do đặc tính kháng khuẩn của chúng, một số bacteriocin như nisin và pediocin được sử dụng làm chất bảo quản trong các sản phẩm thực phẩm để ức chế sự phát triển của vi sinh vật gây hư hỏng và

gây bệnh. Ngoài ra, bacteriocin được cho là đóng góp vào khả năng ức chế vi khuẩn gây hại của tế bào, đây là một đặc điểm quan trọng đối với một số LAB được sử dụng như giống khởi động trong thực phẩm lên men. Việc sử dụng bacteriocin hoặc LAB sản xuất bacteriocin có thể cải thiện độ an toàn, kiểm soát hệ vi sinh đối với sản phẩm lên men, và tăng thời hạn sử dụng của sản phẩm giúp cải thiện tổng thể các khía cạnh an toàn của thực phẩm. Cơ chế kháng khuẩn chung của bacteriocin dựa trên sự phá vỡ màng tế bào thông qua hình thành các lỗ hoặc “tác dụng tẩy rửa”, như trong trường hợp của nisin [7].

Dựa trên cấu trúc và đặc tính của chúng, bacteriocin có thể được phân loại thành ba loại khác nhau bao gồm Loại I là các peptit có chứa lanthionine. Chúng có thể là chuỗi dài với điện tích dương (phân lớp A, ví dụ, nisin), hoặc hình cầu mang điện tích âm hoặc không mang điện (phân lớp B, ví dụ, mersacidin). Loại II là các peptit bền nhiệt, không chứa lanthionin. Các phân lớp của chúng phụ thuộc vào hoạt động (phân lớp A, ví dụ, pediocin; phân nhóm B, ví dụ, lactococcin, plantaricin; phân nhóm C, ví dụ, axitocin). Loại III là các peptit lớn, không bền với nhiệt, không được đặc trưng cho lắm. Chúng là các protein thủy phân thường được phân loại là murein-hydrolases (ví dụ, helveticin) [8]. Mặc dù có nhiều loại bacteriocin do LAB sản xuất nhưng chỉ có nisin và pediocin được bán trên thị trường, chủ yếu được sử dụng làm chất bảo quản thực phẩm, đặc biệt là trong các sản phẩm sữa. Tuy nhiên, do sự gia tăng các chủng kháng kháng sinh và nhu cầu ngày càng tăng đối với thực phẩm chế biến tối thiểu và sạch, việc nghiên cứu và phát triển các bacteriocin mới là một trong những lợi ích chính trong lĩnh vực công nghệ sinh

học LAB. Mặc dù có nhiều vi khuẩn mới hoặc các peptit giống như bacteriocin từ LAB được phát hiện hàng năm, nhưng những thách thức đặt ra vẫn cản trở việc ứng dụng thương mại của các hợp chất này. Trước khi xem xét sản xuất công nghiệp, các nghiên cứu xây dựng quy trình tối ưu hóa để tổng hợp bacteriocin và quá trình tinh chế tiếp theo của các hợp chất này vẫn rất cần thiết. Ngoài ra, kỹ thuật tạo chủng giống có khả năng sản xuất bacteriocin cao cũng là hướng nghiên cứu đầy hứa hẹn vì hầu hết các chủng hoang dại có thể sinh bacteriocin nhưng không thể ứng dụng vào sản xuất công nghiệp do năng suất thấp.

3.3. Khai thác sinh khối LAB

3.3.1. Probiotic

Sau khi sản xuất các chất chuyển hóa ngoại bào, toàn bộ tế bào có thể được sử dụng như một sản phẩm probiotic, một ứng dụng dễ dàng vì không cần chiết xuất. Một số chủng LAB đặc trưng cho tiềm năng probiotic. Thuật ngữ probiotic đề cập đến “các vi sinh vật sống, khi được sử dụng với lượng thích hợp, mang lại lợi ích sức khỏe cho vật chủ”. Sự quan tâm ngày càng tăng việc sử dụng các vi sinh vật này để điều trị các bệnh cụ thể hoặc các triệu chứng liên quan đã thúc đẩy thực hiện nhiều nghiên cứu toàn diện. Probiotic thường được thêm vào thực phẩm như chất bổ sung và cung cấp các lợi ích cho người sử dụng chẳng hạn như duy trì hệ vi sinh vật đường ruột khỏe mạnh, giảm mức cholesterol và điều chỉnh phản ứng miễn dịch. Probiotic chủ yếu được sử dụng để điều trị rối loạn tiêu hóa và các bệnh đường tiêu hóa, cũng như các bệnh về da, miệng, đường tiết niệu và đường hô hấp [9].

Hầu hết các probiotic có trên thị trường thuộc các chi *Lactobacillus*,

Enterococcus, *Streptococcus* và *Bifidobacterium*. Các chi khác như *Roseburia spp.*, *Akkermansia spp.*, *Propionibacterium spp.* và *Faecalibacterium spp.* cũng cho thấy các đặc điểm probiotic đầy hứa hẹn và hiện đang được đánh giá [10]. Cần lưu ý là hầu hết các thông tin liên quan đến đặc tính probiotic đều có nguồn gốc từ các nghiên cứu nuôi cấy tế bào *in vitro* hoặc thử nghiệm *in vivo* bằng cách sử dụng các mô hình và thông tin này phải được chứng thực để sử dụng kết quả ở quy mô công nghiệp.

Trong những năm gần đây, ngày càng có nhiều quan tâm đến việc xác định đặc tính của các chủng LAB mới từ các nguồn khác nhau để sử dụng chúng làm probiotic hoặc cho các ứng dụng khác [11]. Tuy nhiên, song song với các nỗ lực phân lập và xác định các đặc tính probiotic, việc xác định ở cấp độ loài và dưới loài là cần thiết cho mục đích thương mại. Phương pháp nhận dạng phổ biến nhất là dựa trên trình tự của vùng bảo tồn gen 16S rRNA; thông thường, điều này được sử dụng để xác định vị trí phát sinh loài của các dòng phân lập [12]. Khi một số chủng được nghiên cứu, các công cụ phân tử khác có thể được sử dụng để phân loại và chọn lọc các dòng phân lập, ví dụ, DNA marker trong phản ứng PCR, điện di gradient gel biến tính (DGGE), DNA đa hình được khuếch đại ngẫu nhiên (RAPD), và gần đây là giải trình tự toàn bộ bộ gen.

Đánh giá đặc tính probiotic thường dựa trên khả năng sống sót của dòng trong các điều kiện đường tiêu hóa, chẳng hạn như pH thấp và khả năng kháng lysozyme. Các đặc điểm khác như tính kháng muối mật, tính nhạy cảm với kháng sinh và khả năng bám dính vào niêm mạc ruột, tế bào biểu mô của người

[13]. Trong điều kiện bình thường, probiotic có thể tổng hợp các chất chuyển hóa có hoạt tính kháng khuẩn như exopolysaccharide, bacteriocin và axit hữu cơ. Hơn nữa, probiotic cũng sử dụng cơ chế kết tụ tạo điều kiện cho việc đào thải mầm bệnh ra khỏi hệ tiêu hóa. Sự đối kháng cũng liên quan đến việc sản xuất axit lactic và axit axetic trong quá trình chuyển hóa carbohydrate, tạo điều kiện cho pH môi trường thấp hơn và ức chế sự phát triển của một số vi sinh vật gây bệnh [14]. Do đó, tính đối kháng với vi khuẩn gây bệnh cũng là một đặc tính mong muốn để được coi là một probiotic. Về đáp ứng miễn dịch, probiotic có thể kích thích sự tiết kháng thể của tế bào chủ. Sự gia tăng phản ứng miễn dịch được đánh giá thông qua việc đồng nuôi cấy probiotic với các tế bào của hệ thống miễn dịch, cho phép phát hiện và định lượng các cytokine; là hợp chất liên quan đến miễn dịch. Thông qua các nghiên cứu *in vivo*, các kết quả đầy hứa hẹn của probiotic về tăng cường tính kháng với các bệnh liên quan đến hệ thống miễn dịch như bệnh viêm ruột và các triệu chứng dị ứng [15].

Hiện nay, người ta quan tâm nhiều hơn đến việc hiểu cách thức probiotic tương tác với vật chủ. Nhiều nghiên cứu đang tập trung vào việc điều chỉnh phản ứng miễn dịch, sản xuất axit hữu cơ và các hợp chất kháng khuẩn, tương tác với hệ vi sinh vật sẵn có của vật chủ, cải thiện tính toàn vẹn của màng bảo vệ ruột và sản xuất các chất chuyển hóa thứ cấp có lợi cho vật chủ. Tuy nhiên, điều quan trọng là phải đánh giá các vi sinh vật probiotic tiềm năng để xác nhận lợi ích của chúng đối với sức khỏe con người và chứng minh việc sử dụng chúng đúng cách.

3.3.2. Axit lipoteichoic

Màng sinh chất của vi khuẩn được bao quanh bởi một vách cho phép phân loại vi khuẩn là Gram dương và Gram âm. Vách tế bào của vi khuẩn Gram dương và màng ngoài của vi khuẩn Gram âm lần lượt chứa các phân tử lipid mang điện tích âm như axit lipoteichoic (LTA) và lipopolysaccharide. Các phân tử LTA được cấu tạo từ một glycolipid và polymer ưa nước của glycerophosphat được liên kết cộng hóa trị [16]. LTA lần đầu tiên được phân lập từ *L. arabinosus* vào những năm 1960. Kể từ đó, các nghiên cứu khác nhau đã báo cáo các biến thể về cấu trúc và chức năng của LTA theo các chi và loài vi khuẩn [17]. Ở cấp độ tế bào, chức năng của LTA liên quan đến việc điều chỉnh các enzyme tự phân vách tế bào trong quá trình phân chia tế bào, điều này rất quan trọng đối với sự phát triển và tăng sinh của tế bào [18]. Ở cấp độ công nghiệp, LTA cho thấy một loạt các ứng dụng tiềm năng trong thực phẩm và dược phẩm.

Một số nghiên cứu cho thấy LTA có đặc tính chống sự hình thành màng sinh học ở vi khuẩn gây bệnh nên thể hiện khả năng điều trị hoặc ngăn ngừa các bệnh truyền nhiễm qua đường miệng. Hơn nữa, LTA cũng cho thấy hoạt tính chống viêm để điều trị viêm đại tràng và đặc tính điều hòa miễn dịch. Weill và cộng sự (2012) đã thực hiện các thử nghiệm *in vivo* trên chuột và chứng minh rằng việc uống LTA tinh khiết từ *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103) có thể điều chỉnh khả năng ức chế miễn dịch trước bức xạ tia cực tím và sự phát triển khối u da [19].

Các báo cáo đầu tiên liên quan đến việc thu hồi LTA được công bố vào năm 1975. Việc chiết xuất LTA thực hiện bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ ở nhiệt độ cao. Nhiều năm sau, kỹ thuật sắc ký đã được sử dụng để thay thế chiết bằng dung môi hữu cơ nhằm tăng năng suất tinh chế. Tuy nhiên, hai kỹ thuật tách chiết đó đều không thân thiện với môi trường. Do đó, các công nghệ thay thế, chẳng hạn như công nghệ tách bằng màng đang được sử dụng để làm sạch LTA. Đây là một trong những cách tiếp cận mới cho việc nghiên cứu và phát triển quy trình thu hồi hợp chất này [20].

3.3.3. Các hợp chất khác có tiềm năng công nghiệp do LAB sản xuất

Như đã đề cập, LAB là một trong những nhóm vi sinh vật được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp chủ yếu do khả năng sản xuất axit lactic, bacteriocin và sử dụng nó như một probiotic. LAB là nhóm vi khuẩn có tiềm năng lớn để sản xuất các chất có hoạt tính sinh học. Hơn nữa, những tiến bộ hiện nay trong công nghệ sinh học đã tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển các chủng mới có thể tạo ra một loạt các hợp chất cho các ứng dụng khác nhau như chất tạo hương, chất kháng khuẩn, dược phẩm, hợp chất tạo kết cấu, vitamin, chất làm ngọt, và các chất dinh dưỡng [21]. Bảng 2 tóm tắt các chất chuyên hóa thứ cấp có tiềm năng công nghiệp được sản xuất bởi LAB. Theo quan điểm công nghiệp, chi *Streptococcaceae* và *Lactobacillaceae* đại diện cho các đơn vị phân loại quan trọng nhất vì chúng bao gồm số lượng LAB được thương mại hóa cao nhất.

Bảng 1. Các chất chuyển hóa thứ cấp được sản xuất bởi LAB [22]

Chất chuyển hoá	Hàm lượng	Vi khuẩn	Hoạt tính sinh học
2,3 butanediol	32 g/L	<i>Lactococcus lactis</i>	Hóa chất dùng trong ngành nhựa
Axit 2-pyrrolidone-5-carboxylic (Axit Pyroglutamic)	-	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Pediococcus</i> spp.	Kháng khuẩn
Axit azelaic	2,71 mg/L	<i>Leuconostoc citreum</i> L123	Kháng nấm
Axit caproic	102 mg/L	<i>L. sanfrancisco</i> CB1	Kháng khuẩn, hương vị và tiền chất nhiên liệu
Axit linoleic liên hợp	40 g/L	<i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Propionibacterium freudenreichii</i> , <i>L. plantarum</i> AKU 1009a	Giảm chất sinh ung thư, xơ vữa động mạch và mỡ trong cơ thể
Cyclic dipeptides	-	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Leuconostoc</i> spp., <i>Weissella</i> spp., và <i>Lactococcus lactis</i>	Kháng virus, kháng nấm
Diacetyl và acetoin	DC 3,5 mg/L AMC 2,6 g/L	<i>Leuconostoc</i> sp., <i>Streptococcus diacerylactis</i>	Hương vị và hương thơm
Exopolysaccharide	5,12 g/L	<i>L. acidophilus</i>	Chống oxy hoá; kháng khuẩn, kháng ung thư; kháng khối u; tăng cường miễn dịch
Axit lipoteichoic	-	<i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>L. rhamnosus</i> GG	Điều hoà miễn dịch
Axit mevalonic Mevalonolactone	-	<i>L. plantarum</i> VTT E-78076	Kháng nấm
Axit phenyl lactic và β -hydroxyphenyl acetic	-	<i>L. plantarum</i> strain 21B	Kháng nấm
Reuterin (3-hydroxypropionaldehyde)	8 mg/L	<i>L. reuteri</i>	Kháng khuẩn
Chất tạo ngọt (mannitol, tagatose, sorbitol, trehalose)	-		Công nghiệp thực phẩm
Vitamin (nhóm B)	-		Thực phẩm bổ sung

Ngoại trừ sản xuất công nghiệp probiotic, sinh khối tế bào thường được

xem như một sản phẩm phụ trong hầu hết các quy trình công nghệ sinh học.

Ngay cả trong trường hợp tế bào được sử dụng xúc tác cho các quá trình lên men, cuối cùng chúng cũng bị loại bỏ. Tuy nhiên, tế bào LAB chứa các hợp chất khác nhau có giá trị thương mại, chẳng hạn như LTA hoặc axit linoleic liên hợp (CLA). CLA có tiềm năng lớn như một sản phẩm dược phẩm và nó có thể được sản xuất bởi LAB thông qua quá trình đồng phân hóa axit linoleic hoặc từ dầu của cây thầu dầu thông qua quá trình khử nước của axit ricinoleic. LAB tạo ra các đồng phân CLA (cis-9, trans-11; trans-9, trans-11; trans-9, cis-11) với các tỷ lệ khác nhau, nhưng một số chủng chỉ tạo ra một đồng phân duy nhất [23]. Có đến 70% CLA được tích lũy nội bào hoặc liên kết với tế bào. Điều này có nghĩa là LTA và CLA sẽ được thu hồi và tách chiết sau khi phá vỡ tế bào.

Trong trường hợp thu hồi và tinh sạch axit lactic sau khi tách tế bào, phần dịch lỏng phía trên thường được lọc để loại bỏ các mảnh vụn tế bào và các đại phân tử. Sau bước này, các axit hữu cơ như axit azelaic (AA) và axit caproic (CA) có thể được tách ra khỏi hỗn hợp thông qua quá trình chiết xuất hữu cơ. Axit azelaic là một axit dicarboxylic no 7 carbon có đặc tính kháng khuẩn. Trong khi đó, CA là một chất béo trung tính có 6 carbon được sử dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm. Trong cả hai trường hợp, có các báo cáo về phương pháp chiết lỏng-lỏng với dung môi hữu cơ được sử dụng để thu hồi các hợp chất này [24].

Trong quá trình lên men, các EPS được giải phóng. EPS là các polymer phân nhánh của đường (hoặc các dẫn xuất) có giá trị thương mại do đặc tính của chúng như là chất tạo kết cấu thực phẩm và các thuộc tính tăng cường sức khỏe [25]. Kết tủa EPS thu được thông qua bổ sung ethanol, nhưng việc sử dụng

dung môi này không tương thích với quá trình tách chiết axit lactic vì nồng độ dung môi này có thể làm tăng tổng thể tích hoạt động. Tuy nhiên, qua quá trình lọc và siêu lọc, axit lactic vẫn còn trong dòng chất thấm và EPS được giữ lại trong một dung dịch có thể tích thấp hơn. Lúc này, có thể tinh chế EPS thông qua kết tủa bằng ethanol.

Một số dipeptit mạch vòng có thể được khai thác trong quá trình lên men LAB như axit 2-pyrrolidone-5-carboxylic (được sử dụng làm chất giữ ẩm cho các sản phẩm dành cho da và tóc) [26]. Các phân tử phân cực khác như đường, axit hữu cơ nhỏ và vitamin đi theo con đường tinh chế tương tự như axit lactic và phương pháp sắc ký sẽ là cần thiết để tách chúng [27]. Bước cuối cùng trong quy trình tách chiết axit lactic là chưng cất để loại bỏ nước khỏi dung dịch axit lactic cuối cùng. Các hợp chất dễ bay hơi được tạo ra bởi LAB, ví dụ, reuterin và diacetyl (DC), có thể được thu hồi thông qua chưng cất ở 78–82 °C và 86–87 °C, tương ứng. Reuterin là một chất kháng khuẩn mạnh, và DC được sử dụng như một chất bổ sung thực phẩm và đồ uống do có hương vị bơ đặc trưng của nó. Acetoin, tiền chất của DC, cũng có thể được thu hồi sau quá trình chuyển đổi enzyme thành DC. Theo nghĩa này, việc bổ sung thêm bước chưng cất sẽ hữu ích để thu hồi cả hai hợp chất và loại bỏ acetoin khỏi phần nổi phía trên.

Tóm lại, một số lựa chọn trong đó quá trình sản xuất/tinh chế axit lactic có thể được kết hợp với việc thu hồi các hợp chất có giá trị cao khác thường bị loại bỏ trong quá trình tách chiết. Tuy nhiên, các thách thức vẫn nằm ở sự kết hợp của quá trình lên men và tách chiết sao cho việc sản xuất tất cả các hợp chất được bền vững.

IV. KẾT LUẬN

LAB là một nhóm đa dạng các vi khuẩn Gram dương có nhiều tiềm năng trong lên men sản xuất các sản phẩm sinh học có giá trị. Trong đó, axit lactic đã được sử dụng phổ biến trong chế biến thực phẩm. LAB còn được biết đến với khả năng sản xuất bacteriocin dùng như chất bảo quản. Các sản phẩm probiotic có nguồn gốc từ vi khuẩn này xuất hiện nhiều trong cả lĩnh vực dược phẩm và thực phẩm chức năng. Ngoài ra, lên men

LAB cũng có tiềm năng khai thác các sản phẩm có giá trị sinh học cao như EPS, LTA, CLA, các hợp chất polyol, các hợp chất thơm,... phục vụ cho các mục đích khác nhau như cải thiện cấu trúc, mùi vị thực phẩm cũng như tác dụng đối với sức khỏe. Tuy nhiên, để khai thác hiệu quả các sản phẩm lên men, cần có sự kết hợp tối ưu giữa quá trình lên men và tách chiết.

Tài liệu tham khảo

1. Leroy F, De Vuyst L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci Technol*. 2004;15 (2):67-78.
2. Vinusha KS, Deepika K, Johnson TS, Agrawal GK, Rakwal R. RETRACTED: Proteomic studies on lactic acid bacteria: A review. *Biochem Biophys Rep*. 2018;14:140-148.
3. Corona-Hernandez R, Alvarez-Parrilla E, Lizardi-Mendoza J, Islas-Rubio A, De la Rosa L, Wall A. Structural stability and viability of microencapsulated probiotic bacteria: A review. *Compr Rev Food Sci F*. 2013;12.
4. Bosma E, Forster J, Nielsen A. Lactobacilli and pediococci as versatile cell factories – Evaluation of strain properties and genetic tools. *Biotechnol Adv*. 2017;35.
5. Wee Y-J, Kim J-N, Ryu H-W. Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. *Food Technol Biotechnol*. 2006; 44.
6. Castillo Martinez FA, Balciunas EM, Salgado JM, Domínguez González JM, Converti A, Oliveira RPdS. Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends Food Sci Technol*. 2013; 30 (1):70-83.
7. And HC, Hoover DG. Bacteriocins and their food applications. *Compr Rev Food Sci F*. 2003;2 (3):82-100.
8. Zacharof MP, Lovitt RW. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria a review article. *APCBEE Procedia*. 2012;2:50-56.
9. Aleixandre-Tudó JL, Castelló-Cogollos L, Aleixandre JL, Aleixandre-Benavent R. Tendencies and challenges in worldwide scientific research on probiotics. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2020;12 (3):785-797.
10. Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, Gibson GR, Rastall RA. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(10):605-616.
11. Puebla-Barragán S. Forty-five-year evolution of probiotic therapy. *Microbial Cell*. 2019;6.
12. Moraes P, Perin L, Silva A, Nero L. Comparison of phenotypic and molecular tests to identify lactic acid bacteria. *Brazilian J Microbiol*. 2013;44:109-112.
13. García-Ruiz A, González de Llano D, Esteban-Fernández A, Requena T, Bartolomé B, Moreno-Arribas MV. Assessment of probiotic properties in lactic acid bacteria isolated from wine. *Food Microbiol*. 2014;44:220-225.
14. Klewicki R, Klewicka E. Antagonistic activity of lactic acid bacteria as probiotic against selected bacteria of Enterobacteriaceae family in the presence of polyols and their galactosyl derivatives. *Biotechnol Lett*. 2004;26:317-320.
15. Ozdemir O. Various effects of different probiotic strains in allergic disorders: An

- update from laboratory and clinical data. *Clin Exp Immunol.* 2010;160:295-304.
16. Brown S, Santa Maria JP, Jr., Walker S. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2013;67:313-336.
 17. Villéger R, Saad N, Grenier K, Falourd X, Foucat L, Urdaci MC, Bressollier P, Ouk T-S. Characterization of lipoteichoic acid structures from three probiotic *Bacillus* strains: involvement of d-alanine in their biological activity. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2014;106(4):693-706.
 18. Ginsburg I. Role of lipoteichoic acid in infection and inflammation. *Lancet Infect Dis.* 2002;2:171-179.
 19. Weill F, Cela E, Paz M, Ferrari A, Leoni J, Gonzalez Maglio D. Lipoteichoic acid from *Lactobacillus rhamnosus* GG as an oral photoprotective agent against UV-induced carcinogenesis. *Br J Nutr.* 2012;10
 20. Morath S, Geyer A, Hartung T. Structure–function relationship of cytokine induction by lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus*. *J Exp Med.* 2001;193:393-397.
 21. Mays ZJ, Nair NU. Synthetic biology in probiotic lactic acid bacteria: At the frontier of living therapeutics. *Curr Opin Biotechnol.* 2018;53:224-231.
 22. Mora J, Montero-Zamora J, Barboza N, Rojas-Garbanzo C, Usaga J, Redondo-Solano M, Schroedter L, Olszewska-Widdrat A, López-Gómez J. Multi-product lactic acid bacteria fermentations: A review. *Fermentation.* 2020;6:23.
 23. Lee J, Lee MH, Cho EJ, Lee S. High-yield methods for purification of α -linolenic acid from *Perilla frutescens* var. *japonica* oil. *App Biol Chem.* 2016;59 (1):89-94.
 24. Choi K, Jeon B, Kim B-C, Oh M-K, Um Y, Sang B-I. *In situ* biphasic extractive fermentation for hexanoic acid production from sucrose by *Megasphaera elsdenii* NCIMB 702410. *Appl Biochem Biotechnol.* 2013;171.
 25. Bertsch A, Roy D, LaPointe G. Enhanced exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* in Co-culture with *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Sci.* 2019;9:4026.
 26. Yang Z, Suomalainen T, MÄYrÄ-MÄKinen A, Huttunen E. Antimicrobial activity of 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid produced by lactic acid bacteria. *J Food Prot.* 1997;60 (7):786-794.
 27. LeBlanc JG, Laiño J, Valle M, Vannini V, Van Sinderen D, Taranto M, Valdez G, Savoy G, Sesma F. B-Group vitamin production by lactic acid bacteria – current knowledge and potential applications. *J. Appl Microbiol.* 2011;111:1297-1309.