

Evaluation of potentials of bioactive compounds extracted from purple onion (*Allium cepa* L.) for culturing *Lactobacillus plantarum* to develop probiotics in broilers

Hai V. Phan¹, Phuong T. A. Hoang^{2*}, Vi D. Y. Ta³, & Hoa X. Nguyen¹

¹Department of Veterinary, University of Agriculture and Forestry, Hue University, Hue, Vietnam

²Department of Veterinary, Tay Nguyen University, Buon Ma Thuot, Vietnam

³Department of Biology, Hue University, Hue, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: September 11, 2024

Revised: November 14, 2024

Accepted: November 18, 2024

Keywords

Bile salts

Fermentation

Lactobacillus plantarum

Purple onion

Temperature

*Corresponding author

Hoang Thi Anh Phuong

Email:

htaphuong@ttn.edu.vn

ABSTRACT

This study evaluated potentials of purple onion (*Allium cepa* L.) extract and its application in probiotics as a feed additive for broilers. The results showed that purple onion extract contained compounds with prebiotic potential with high contents of Fructooligosaccharide, Quercetin 3,40-diglucoside, Quercetin 40-monoglucoside and Quercetin aglycone, which promoted the growth of all three strains *L. plantarum* 1582, *L. plantarum* WCFS1, *L. plantarum* JDM1, especially at 40% dilution. The strain *L. plantarum* 1582, which exhibited superior probiotic properties (acid resistance 8.97 log CFU/g, bile salt tolerance 10.42 log CFU/g, temperature tolerance 7.51 - 8.10 log CFU/g, maintaining a high cell density in gut after 24 - 72 h 4.93 - 5.96 log CFU/g), was used in the *in vivo* purple onion fermented product test. Oral administration of the fermented product to broiler chickens showed that *L. plantarum* 1582 survived well in the gastrointestinal tract, especially in the small intestine and ceca for 24 - 48 h. It can be concluded that the purple onion extract has potential as a prebiotic and the purple onion-fermented product with *L. plantarum* 1582 can be used as a feed additive. However, further *in vivo* studies are needed to evaluate the efficacy of this product under real conditions.

Cited as: Phan, H. V., Hoang, P. T. A., Ta, V. D. Y., & Nguyen, H. X. (2025). Evaluation of potentials of bioactive compounds extracted from purple onion (*Allium cepa* L.) for culturing *Lactobacillus plantarum* to develop probiotics in broilers. *The Journal of Agriculture and Development* 24(2), 73-83.

Đánh giá khả năng của các hoạt chất chiết xuất từ hành tím (*Allium cepa* L.) dùng trong nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* để tạo chế phẩm probiotic sử dụng trên gà thịt

Phan Vũ Hải¹, Hoàng Thị Anh Phương^{2*}, Tạ Đặng Ý Vi³ & Nguyễn Xuân Hòa¹

¹Bộ Môn Thú Y, Trường Đại Học Nông Lâm, Đại Học Huế, Huế

²Bộ Môn Thú Y, Trường Đại Học Tây Nguyên, Buôn Ma Thuột

³Bộ Môn Sinh Học, Trường Đại Học Sư Phạm, Đại Học Huế, Huế

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 11/09/2024

Ngày chỉnh sửa: 14/11/2024

Ngày chấp nhận: 18/11/2024

Từ khóa

Hành tím

Lactobacillus plantarum

Lên men

Muối mật

Nhiệt độ

*Tác giả liên hệ

Hoang Thi Anh Phuong

Email:

htaphuong@ttn.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đánh giá khả năng tiên sinh học của chiết xuất hành tím (*Allium cepa* L.) và ứng dụng của nó trong chế phẩm sinh học làm chất phụ gia thức ăn cho gia cầm. Kết quả cho thấy chiết xuất hành tím chứa các hợp chất có tiềm năng prebiotic với hàm lượng cao của Fructooligosaccharit, Quercetin 3,40-diglucoside, Quercetin 40-monoglucoside và Quercetin aglycone, thúc đẩy sự tăng trưởng của cả 3 chủng *L. plantarum* 1582, *L. plantarum* WCFS1 và *L. plantarum* JDM1, đặc biệt ở nồng độ pha loãng 40%. Chủng *L. plantarum* 1582 thể hiện đặc tính probiotic vượt trội (khả năng kháng axit 8,97 log CFU/g, muối mật 10,42 log CFU/g, nhiệt độ 7,51 - 8,10 log CFU/g, duy trì mật độ tế bào cao trong cơ quan tiêu hóa sau 24 - 72 giờ 4,93 - 5,96 log CFU/g) - đã được sử dụng trong thử nghiệm chế phẩm lên men hành tím (HTLM). Bổ sung HTLM theo đường uống cho gà thịt cho thấy *L. plantarum* 1582 đã tồn tại tốt trong đường tiêu hóa, đặc biệt ở ruột non và manh tràng trong 24 - 48 giờ. Từ kết quả nghiên cứu đạt được cho thấy chế phẩm HTLM có tiềm năng sử dụng như một chất phụ gia thức ăn trong chăn nuôi gà thịt. Tuy nhiên, cần có thêm các nghiên cứu *in vivo* để đánh giá hiệu quả của HTLM này trong điều kiện thực tế.

1. Đặt Vấn Đề

Trong nhiều thập kỷ qua, thuốc kháng sinh đã được sử dụng rộng rãi trong ngành chăn nuôi gà thịt, đặc biệt là các chất kích thích tăng trưởng kháng sinh (Antibiotic Growth Promoters - AGPs). Tuy nhiên, việc sử dụng AGPs đã gây ra lo ngại về kháng thuốc, do khả năng tạo ra sự kháng thuốc ở con người khi tiêu thụ sản phẩm chăn nuôi. Việc cấm sử dụng AGPs có thể ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe và năng suất của gà, tuy nhiên những nghiên cứu gần đây cho thấy

chế phẩm probiotics được xem là một giải pháp hiệu quả tiềm năng thay thế cho AGPs.

Prebiotics là những chất nền không tiêu hóa được, có thể được lên men chọn lọc bởi một số vi sinh vật trong đường tiêu hóa, như *Lactobacillus* và *Bifidobacterium*, từ đó mang lại lợi ích cho sức khỏe vật chủ (Mansouri, 2016). Khi được lên men bởi các vi khuẩn, prebiotics giúp tạo ra các acid béo chuỗi ngắn (Short-Chain Fatty Acids - SCFA) như acetate, propionate và butyrate, những chất này có lợi cho sức khỏe

đường ruột và toàn cơ thể. Các vi khuẩn sinh acid lactic, đặc biệt là *Lactobacillus* spp., sử dụng prebiotics làm nguồn carbon và năng lượng. Quá trình lên men này không chỉ giúp tăng số lượng vi khuẩn lactic trong ruột mà còn tăng cường khả năng ức chế các vi khuẩn gây bệnh thông qua việc tạo ra axit lactic, hạ thấp pH của môi trường ruột (Saad & ctv., 2013). Như vậy, chức năng chính của prebiotics là thúc đẩy sự phát triển và hoạt động của vi khuẩn có lợi, từ đó hỗ trợ sức khỏe tổng thể của vật nuôi. Gilchrist & ctv. (2007) đã báo cáo rằng hầu hết mọi oligo- và polysaccharide đều là prebiotic, đặc biệt là fructans - một nhóm carbohydrate dự trữ, chủ yếu là fructooligosaccharides (FOS). Theo Kareem & ctv. (2015), một chất chỉ được coi là prebiotic khi đáp ứng ba điều kiện: (i) không bị thủy phân hay hấp thụ trong phần trên của đường tiêu hóa; (ii) có khả năng lên men chọn lọc bởi vi sinh vật có lợi trong ruột kết, kích thích sự phát triển của chúng; (iii) thúc đẩy sự thay đổi tích cực trong hệ vi sinh vật ruột, chẳng hạn như tăng cường hoạt động của *Lactobacillus*.

Hành tím (*Allium cepa* L.), một nông sản tại miền Trung Việt Nam, là nguồn giàu các hợp chất hoạt tính sinh học có lợi đối với sức khỏe chẳng hạn như các hợp chất phenolic, đặc biệt là flavonoid và một số hợp chất hữu cơ lưu huỳnh có đặc tính sinh học kháng khuẩn và chống oxy hóa (Wilson & ctv., 2007). Bên cạnh đó, quercetin là một flavonoid có mặt trong cây họ hành (*Alliaceae*) mặc dù quercetin không trực tiếp hoạt động như một prebiotic, nhưng nó có thể ảnh hưởng đến hệ vi sinh vật đường ruột và hỗ trợ quá trình lên men của các prebiotic khác như inulin và FOS (Kumar & ctv., 2022). Tuy nhiên, một số chiết xuất thực vật trong đó có củ hành tím cũng có thể gây mất cân bằng lợi khuẩn trong ruột (Myers & ctv., 2009), nên cần tìm kiếm các chất sinh học hữu ích cho việc tái

tạo hệ vi sinh vật đường ruột. Men vi sinh có vai trò điều chỉnh hệ vi sinh vật đường ruột và ngăn chặn sự phát triển của mầm bệnh (Wang & ctv., 2018), trong khi prebiotic được chuyển hóa chọn lọc bởi các vi khuẩn đường tiêu hóa có lợi (Sunu & ctv., 2019). Lên men thảo dược với men vi sinh có thể cải thiện hoạt tính và năng suất chiết xuất của các thành phần chức năng của chúng nâng cao giá trị sử dụng cho vật nuôi.

Chính vì vậy, giả thuyết nghiên cứu được đưa ra rằng FOS và quercetin trong hành tím có thể hoạt động như một prebiotic tự nhiên; khi hành tím được lên men bởi chủng lợi khuẩn *Lactobacillus plantarum*, sự phát triển của vi khuẩn có lợi được tăng cường, tăng sức chống chọi của vi khuẩn với điều kiện khắc nghiệt của cơ quan tiêu hóa gia cầm và từ đó tuyển chọn được chủng lợi khuẩn thích hợp nhất để tiến hành thử nghiệm *in vivo* trên gà thịt.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Vật liệu

Chủng vi khuẩn: Ba chủng đã phân lập và tuyển chọn từ phân gà bản địa (Gà Kiến, Thừa Thiên Huế) bao gồm *L. plantarum* 1582, *L. plantarum* WCFS1, *L. plantarum* JDM1 với Genbank ID tương ứng là MT597487.1, AL935263.2, CP001617.1, để lên men củ hành tím. Chủng vi khuẩn được duy trì tại Phòng thí nghiệm Vi sinh, Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Các chủng *L. plantarum* được nuôi cấy chuyển tiếp ba lần trong môi trường MRS dưới điều kiện yếm khí ở 37°C trong 24 giờ. Ở lần nuôi cấy cuối cùng, chủng lợi khuẩn được ủ trong điều kiện yếm khí ở 37°C trong 12 giờ; chuẩn độ canh khuẩn tại 0,5 McFarland, dùng phương pháp pha loãng và đếm mật độ tế bào tại nồng độ pha loãng và xác định nồng độ pha loãng đạt mật độ vi khuẩn

10^8 CFU/mL, tại mật độ vi khuẩn này dịch canh khuẩn được sử dụng làm giống cho quá trình lên men củ hành tím.

Chiết xuất hành tím: Hành tím (*Allium cepa* L. var. *aggregatum* - NCBI Genbank ID: NC_057575.1, 4-5 tháng) được trồng theo tiêu chuẩn Vietgap TCVN 11892-1:2017 (VS, 2017) tại Điền Môn, Phong Điền, Thừa Thiên Huế. Quy trình chiết xuất hành tím dựa theo Yadav & ctv. (2015) với một với một số điều chỉnh. Tóm tắt quy trình: hành tím rửa sạch ngâm trong dung dịch NaCl 5%/120 phút và được khử trùng bằng đèn UV (30 mW/cm^2), sau đó 100 g hành được nghiền nát để thu dịch chiết, sau đó lọc qua vải màn (2 lớp) và ly tâm ở 5000 vòng/phút trong 15 phút để loại bỏ phần không hoà tan.

2.2. Phương pháp

Định lượng được chất tiềm năng prebiotic của hành tím

Thực hiện định lượng các hoạt chất Fructooligosaccharide và Quercetin trong dịch chiết hành tím (Onion Extract – OE) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography – HPLC) tại Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc và thực phẩm (HueQC, TT-Huế).

Đánh giá khả năng sống sót của *L. plantarum* trong dịch chiết hành tím

Chuẩn bị OE pha loãng với nước cất vô trùng ở 4 nồng độ (20%, 40%, 60% và 80%) lên men với từng chủng *L. plantarum* (10^8 CFU/mL) ở tỷ lệ 100:1 (v/v). Thay thế môi trường lên men OE bằng môi trường MRS (deMan, Rogosa và Sharpe) lỏng để làm đối chứng. Sức đề kháng của *L. plantarum* trong OE dựa theo phương pháp Masalam & ctv. (2018). Khoảng 24 giờ sau khi cho hành tím lên men với *L. plantarum*,

mẫu được đồng nhất; hút 1 mL từ mỗi độ pha loãng (20%, 40%, 60% và 80%) cấy vào môi trường LB (Luria Bertani) agar, ủ trong tủ ấm ở nhiệt độ $35 \pm 10^\circ\text{C}$ trong vòng 24 - 48 giờ; mật độ vi khuẩn trung bình được tính từ ba lần lặp lại, tại nồng độ dịch HTLM có mật độ vi khuẩn lớn nhất được sử dụng tạo chế phẩm (TCVN 6261:2007) (VS, 2007).

Đánh giá khả năng kháng axit và muối mật của *L. plantarum*

Các chủng *L. plantarum* ở các mức nồng độ lên men được nuôi cấy ở 37°C trong 24 giờ, và tạo huyền phù trong 10 mL MRS với pH = 2 và 50 mL MRS chứa 0,3% muối mật; dịch canh khuẩn được điều chỉnh ở nồng độ 10^8 CFU/mL, và các ống dịch canh khuẩn được ủ ở 37°C trong 3 giờ; hút 300 μL dịch canh khuẩn ở 0, 1, 2, và 3 giờ để đo mật độ tăng trưởng bằng quang phổ kế ở 600 nm; hút 100 μL mẫu dịch cấy lên môi trường LB agar để đếm tổng số *Lactobacillus* (TCVN 6261:1997) (VS, 1997).

Đánh giá khả năng chịu nhiệt của *L. plantarum*

Vì khuẩn *L. plantarum* ở các mức nồng độ lên men tối ưu được cấy vào môi trường MRS chứa hỗn hợp hành tím và thức ăn công nghiệp (AG – 311S, Công ty CP Agrifeed Việt Nam), sau đó ủ ở các nhiệt độ khác nhau (25°C , 35°C , 45°C và 55°C) (Mallappa & ctv., 2019). Số lượng khuẩn lạc *Lactobacillus* được đếm và tính giá trị trung bình (TCVN 6261:1997) (VS, 1997).

Đánh giá chế phẩm hành tím lên men với chủng *L. plantarum* in vivo

Quy trình tạo chế phẩm sinh học được sửa đổi từ Mangisah & ctv. (2021). Một cách ngắn gọn, chủng *L. plantarum* (được tuyển chọn từ nghiên cứu *in vitro*) giống thuần đã được nuôi cấy tăng sinh trên thạch MRS và được ủ yếm

khí trong 2 ngày ở 38°C. Sữa gầy (20 g) được pha loãng trong 180 mL nước cất và khuấy đều cho đến khi đồng nhất làm môi trường phát triển cho vi khuẩn (nguồn lactose). Các chủng *Lactobacillus* thu được bằng sữa gầy (200 mL) và ủ ở 38°C trong 2 ngày trong điều kiện yếm khí. Để sản xuất chế phẩm, 100 g OE được trộn và đặt trong một bình kỵ khí, hòa tan trong 200 mL sữa gầy có chứa *Lactobacillus* (chuẩn bị trước đó), và trộn cho đến khi đồng nhất, pH của môi trường lên men 6,0. Quá trình lên men được thực hiện ở 30°C trong 18 giờ và lắc ở tốc độ 100 vòng/phút, sử dụng chủng *Lactobacillus* ($> 10^8$ CFU/mL).

Thí nghiệm *in vivo*: Tổng số 36 gà con giống 3F Việt (1 ngày tuổi) được chia thành 2 nhóm (3 ô chuồng, 6 con/ô). Hiệu chỉnh mật độ vi khuẩn trong dịch HTLM tại 10^9 CFU/mL, thực hiện cô đặc dịch HTLM bằng cách: ly tâm dung dịch để thu các tế bào vi khuẩn tại phần lắng; loại bỏ một phần hoặc toàn bộ phần dịch phía trên để làm giảm thể tích dung dịch; hoà lại phần lắng vi khuẩn vào một thể tích dung dịch ít hơn để đạt được mật độ mong muốn. Chế phẩm HTLM được bổ sung dưới dạng hoà vào nước uống cho gà. Nhóm thí nghiệm được bổ sung 1 mL chế phẩm lên men chứa 10^9 CFU/mL *L. plantarum*, nhóm đối chứng nhận 1 mL nước cất. Gà được nuôi trong lồng sắt (0,9 x 0,5 x 0,5 m) với điều kiện ánh sáng liên tục và nhiệt độ 35°C. Chuồng và sàn được khử trùng bằng nhiệt và povidine 10%. Chế độ ăn phối trộn theo tiêu chuẩn 10

TCN 661-2005. Thức ăn và nước tiết trùng (UV) cho gà được cung cấp tự do. Gà được giết mổ nhân đạo để thu thập mẫu dịch từ hồi tràng, manh tràng, ruột già tại thời điểm 24, 48, 72 giờ sau khi bổ sung chế phẩm (Mangisah & ctv., 2021). Tổng số khuẩn lạc *Lactobacillus* tính theo đơn vị CFU/g (TCVN 6261:1997) (VS, 1997). Quy trình liên quan đến việc sử dụng gà được thực hiện theo các tiêu chuẩn và phê duyệt đạo đức của Ủy ban Phúc lợi Động vật, Đại học Huế, Việt Nam (Số HUVNO21).

2.3. Phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm được thực hiện ba lần độc lập và dữ liệu được biểu thị dưới dạng trung bình (Mean) $\pm$ độ lệch chuẩn (SD) và tỉ lệ %. Đơn vị khuẩn lạc CFU được biểu thị dưới dạng log CFU/g. Số liệu được quản lý bằng phần mềm Exel 2020, và phân tích thống kê bằng phần mềm IBM.SPSS (Phiên bản 22) với oneway ANOVA, hậu kiểm bằng phép thử Tukey và được coi là có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Xác định các hoạt chất kháng khuẩn tiềm năng của chiết xuất hành tím

Kết quả nghiên cứu về hàm lượng của các chất tiềm năng trong hoạt động prebiotic (fructooligosaccharide và quercetin) trong hành tím và tác động đối với sự phát triển của lợi khuẩn *L. plantarum* được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Định lượng một số hoạt chất tiềm năng prebiotic chính có trong chiết xuất củ hành tím

Thành phần	Nồng độ* (t_R , phút)
Fructooligosaccharit	3,34 $\pm$ 0,26 (5,35)
Quercetin 3,4°-diglucoside	240,01 $\pm$ 0,39 (33,30)
Quercetin 4°-monoglucoside	159,86 $\pm$ 0,09 (42,45)
Quercetin aglycone	24,13 $\pm$ 0,08 (48,17)

*Nồng độ tính bằng mg/100 g khối lượng khô; t_R : thời gian lưu.

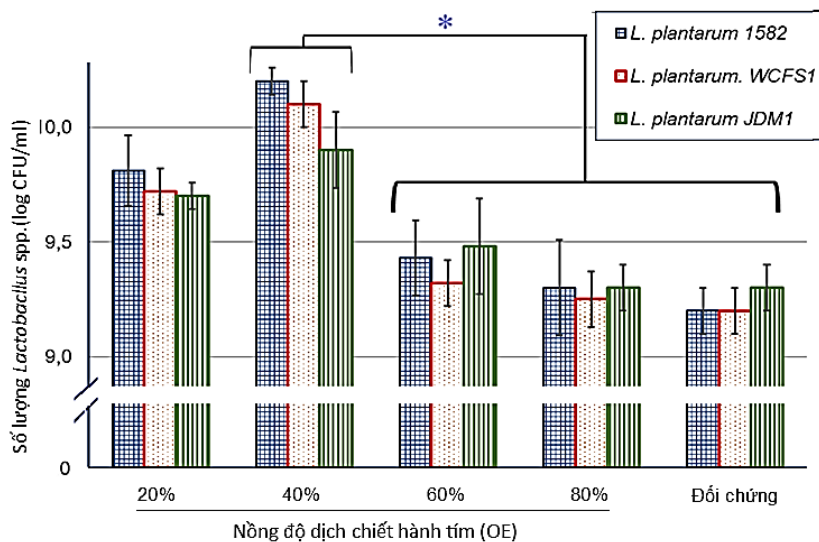
Nghiên cứu này cho thấy hàm lượng Fructooligosacarit (FOS) trong hành tím là 3,34 mg/100 g khối lượng khô. Kết quả phân tích hàm lượng FOS từ củ hành tím trồng ở Điện Môn, Phong Điền, Thừa Thiên Huế, tương đương với kết quả của Altuntas & ctv. (2019). Tác giả Diriba-Shiferaw & ctv. (2013) cho biết FOS có mặt trong các loại rau quả, ở các cây họ hành chiếm khoảng 1 - 2%. Chất FOS là một loại carbohydrate không tiêu hóa được, đóng vai trò như nguồn thức ăn cho các vi khuẩn có lợi trong đường ruột, từ đó thúc đẩy sự phát triển của lợi khuẩn (Altuntas & ctv., 2019).

Ngoài ra, kết quả phân tích còn cho thấy có sự hiện diện của những hợp chất quercetin 3,4'-diglucoside, quercetin 4'-monoglucoside và

quercetin aglycone (Bảng 1). Đây là những hợp chất thuộc nhóm flavonoid, được biết đến với khả năng chống oxy hóa và kháng viêm mạnh mẽ. Một số nghiên cứu gần đây cho thấy rằng các flavonoid cũng có thể có tác dụng như prebiotic, bằng cách điều chỉnh hệ vi sinh vật đường ruột và thúc đẩy sự phát triển của các vi khuẩn có lợi (Sagar & ctv., 2022).

Kết quả ở Bảng 1 cũng cho thấy thời gian lưu của mỗi chất cũng khác nhau, đây là thời gian để các hợp chất chính di chuyển qua cột phân tích và được ghi nhận. Thời gian để đi qua cột phân tích và được phát hiện ở các hoạt chất Fructooligosacarit, Quercetin 3,4'-diglucoside, Quercetin 4'-monoglucoside, Quercetin aglycone lần lượt là 5,35; 33,30; 42,45 và 48,17 phút.

3.2. Khả năng sống sót của *L. plantarum* trong dịch hành tím



Hình 1. Mức độ tối ưu của nồng độ dịch hành tím lên men với *L. plantarum*. Giá trị có dấu * biểu thị sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả từ Hình 1 cho thấy ở số lượng *Lactobacillus* (9,31 - 10,19 CFU/g) sống sót tốt sau 24 giờ nuôi cấy trong OE ở các nghiệm thức bổ sung một trong 3 chủng *L. plantarum* 1582, *L. plantarum* WCFS1 và *L. plantarum* JDM1 là tương đương hoặc cao hơn đối chứng (9,22 - 9,31 CFU/g trong môi trường MRS lỏng); sai khác có ý nghĩa

thống kê ($P < 0,05$) ở nghiệm thức 40% so với các nghiệm thức còn lại. Tương tự, một số nghiên cứu cho thấy bổ sung prebiotic như oligosaccharide có thể tăng 81% thành phần *Lactobacillus* spp. (Sanches Lopes & ctv., 2016), và bổ sung prebiotic ở mức 0,1 - 0,2% có thể làm tăng vi khuẩn có lợi và giảm vi khuẩn có hại (Pop & ctv., 2021).

3.3. Khả năng kháng axit, muối mật và nhiệt độ trong cơ quan tiêu hóa gia cầm

Khả năng kháng axit và muối mật là hai yếu tố quan trọng để vi khuẩn probiotics có thể sống sót và phát triển trong môi trường đường tiêu

hóa của gà. Khả năng chịu nhiệt của probiotic là một yếu tố quan trọng trong quá trình sản xuất và bảo quản sản phẩm, cũng như khả năng tồn tại của chúng khi đi qua đường tiêu hóa. Kết quả khả năng kháng axit, muối mật và chịu nhiệt của các chủng *L. plantarum* thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Khả năng kháng axit, muối mật và nhiệt độ của các chủng *L. plantarum* (log CFU/g)

Môi trường	<i>L. plantarum</i> WCFS1	<i>L. plantarum</i> 1582	<i>L. plantarum</i> JDM1	<i>P</i>
Cơ quan tiêu hóa				
Axit	8,77 ^b ± 0,34	8,97 ^a ± 0,14	8,73 ^b ± 0,21	0,035
Muối mật	9,93 ^b ± 0,34	10,42 ^a ± 0,32	10,18 ^{ab} ± 0,04	0,021
Nhiệt độ				
25°C	7,91 ^A ± 0,39	7,51 ^b ± 0,23	7,77 ^{ab} ± 0,19	0,533
35°C	7,94 ± 0,17	8,10 ± 0,04	7,96 ± 0,25	0,461
45°C	7,77 ^{ab} ± 0,05	7,51 ^{abAB} ± 0,37	7,62 ^{abA} ± 0,10	0,038
55°C	7,65 ^{ab} ± 0,02	7,59 ^{ab} ± 0,39	7,22 ^{bC} ± 0,06	0,029
<i>P</i>	0,039	0,011	0,016	-

Chú thích: Giá trị có chữ cái mũ A,B trong cùng một cột và a,b trong cùng một hàng khác nhau biểu thị sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả cho thấy cả ba chủng *L. plantarum* đều thể hiện khả năng sống sót tốt trong môi trường axit (pH = 2) với giá trị log CFU/g cao (> 8,7 CFU/g). Trong đó, chủng *L. plantarum* 1582 cho thấy khả năng chịu axit tốt nhất (8,97 log CFU/g) ($P = 0,021$) so với chủng *L. plantarum* WCFS1 và *L. plantarum* JDM1 (Bảng 2). Tương tự, một số nghiên cứu cũng cho thấy enzyme protease ảnh hưởng đến khả năng kháng axit của *Lactobacillus* (Gupta & ctv., 2017); trong đó, aminopeptidase có thể ảnh hưởng đến sự thích nghi và tăng trưởng của *Lactobacillus* trong điều kiện axit (Hill & ctv., 2018). Theo Damayanti & ctv. (2017), *Lactobacillus* có khả năng tồn tại trong môi trường axit nhờ sự hiện diện của enzyme histidine decarboxylase và quá trình khử amin của enzyme arginine. Khả năng chịu axit của *Lactobacillus* cao nhờ khả năng duy trì pH tế bào chất ở độ kiềm cao hơn pH bên ngoài và

khả năng chống rò rỉ tế bào cao hơn (Jiang & ctv., 2017; Souza & ctv., 2018).

Về khả năng kháng muối mật, cả ba chủng *L. plantarum* có thể phát triển và tồn tại trong môi trường chứa muối mật ở nồng độ 0,3% (> 9,9 log CFU/g). Trong đó, chủng *L. plantarum* 1582 (10,42 log CFU/g) cho thấy khả năng chịu muối mật tốt nhất so với 2 chủng còn lại ($P < 0,05$) (Bảng 2). Theo Vecchione & ctv. (2018), khả năng chống chịu của vi khuẩn thể hiện qua sự phát triển của chúng trong những điều kiện môi trường bất lợi như muối mật. Trong nghiên cứu này chủng *L. plantarum* 1582 đã thể hiện khả năng sống sót trong môi trường muối mật. Tác giả O'Flaherty & ctv. (2018) cũng cho biết sự tồn tại của những lợi khuẩn trong môi trường bất lợi như axit dạ dày và muối mật, góp phần mang lại lợi ích cho sức khỏe vật chủ.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy ba chủng *L. plantarum* đều thể hiện khả năng chịu nhiệt tốt ở 25°C và 35°C ($P > 0,05$). Khi nhiệt độ tăng lên 45°C và 55°C, khả năng sống sót của cả 3 chủng đều giảm. Trong đó, chủng *L. plantarum* 1582 thể hiện khả năng chịu nhiệt tốt ở 45°C và 55°C so với các chủng còn lại ($P < 0,05$). Tác giả Schloss (2014) cũng cho biết nhiệt độ cao có thể làm giảm hoạt động sống của vi khuẩn; khi nhiệt độ tăng, tốc độ trao đổi chất của vi khuẩn cũng tăng, nhưng nếu nhiệt độ vượt quá giới hạn chịu đựng, quá trình tăng trưởng của chúng có thể ngừng lại và tế bào bị chết. Nghiên cứu của Fernandes (2017) cho thấy *L. plantarum* có thể sử dụng axit lactic như một nguồn carbon qua con đường chuyển hóa-oxy hóa, điều này làm gia tăng sự phát triển của vi khuẩn trong môi trường có nhiệt độ cao. Trong đó, nhiệt độ tối ưu cho sự

phát triển của vi khuẩn *L. plantarum* nằm trong khoảng 30 - 37°C, và lợi khuẩn này cũng có khả năng chịu nhiệt lên đến 40°C (Ma & ctv., 2021).

Như vậy, chủng *L. plantarum* 1582 chiếm ưu thế hơn về khả năng kháng axit, muối mật và nhiệt độ so với hai chủng còn lại, và chủng này được lựa chọn cho thử nghiệm *in vivo* tiếp theo.

3.4. Khả năng sống của *L. plantarum* trong cơ quan tiêu hóa của gà sau khi uống chế phẩm lên men

Gà thử nghiệm được cho uống chế phẩm hành tím lên men (HTLM), và được mổ khám nhân đạo ở những thời điểm sau 24, 48 và 72 giờ. Trong suốt 3 ngày thử nghiệm, gà không bỏ ăn và không biểu hiện bất kỳ triệu chứng bất thường. Kết quả khả năng sống của *L. plantarum* 1582 thể hiện Bảng 3.

Bảng 3. Khả năng tồn tại của *L. plantarum* 1582 (log CFU/g) ở cơ quan tiêu hóa của gà sau khi bổ sung hành tím lên men (HTLM) (n = 18)

Nghiem thức	Thời điểm sau bổ sung HTLM	Ruột non	Manh tràng	Ruột già	P
Thí nghiệm	24 giờ	5,95 ^A ± 0,01	5,95 ^A ± 0,02	5,88 ^A ± 0,03	0,152
	48 giờ	5,96 ^{aA} ± 0,04	5,75 ^{bAB} ± 0,09	5,61 ^c ± 0,2	0,028
	72 giờ	5,42 ^{aB} ± 0,13	5,62 ^{aBC} ± 0,13	4,93 ^{cB} ± 0,17	0,031
Đối chứng	24 giờ	0	0	0	-
	48 giờ	0	0	0	-
	72 giờ	0	0	0	-
P		0,011	0,032	0,043	-

Chú thích: Các giá trị có chữ số mũ a-c hoặc A,B khác nhau biểu thị sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) trong cùng một hàng hoặc trong cùng một cột.

Kết quả cho thấy khả năng tồn tại của chủng vi khuẩn trong ruột gà giảm dần theo thời gian sau khi bổ sung HTLM; nhìn chung *L. plantarum* 1582 tồn tại tương đối tốt trong 24 giờ (5,88 - 5,95 log CFU/g) và 48 giờ (5,61 - 5,96 log CFU/g), nhưng sau đó giảm đáng sau 72 giờ (4,93 - 5,62 log CFU/g) ($P < 0,05$). Trong đó, mật độ *L. plantarum*

1582 trong ruột non cao hơn ở manh tràng, ruột già sau 48 giờ ($P < 0,05$). Theo nghiên cứu của Cartman & ctv. (2008), sau 168 giờ, bào tử hiện diện trong đường tiêu hóa gà khoảng 5×10^2 - 5×10^3 CFU/g. Latorre & ctv. (2014) cũng cho biết sau 120 giờ số bào tử trong manh tràng của vật nuôi chỉ còn 10^2 CFU/g.

4. Kết Luận

Nghiên cứu này đã chỉ ra rằng hành tím chứa các hợp chất prebiotic tiềm năng, như fructooligosaccharide và quercetin. Ở nồng độ pha loãng 40%, chiết xuất hành tím đã thúc đẩy sự tăng trưởng của các chủng *L. plantarum*. Trong đó, *L. plantarum* 1582 thể hiện khả năng probiotic vượt trội với khả năng kháng axit, muối mật, nhiệt độ và duy trì mật độ tế bào cao trong thức ăn chăn nuôi. Thử nghiệm *in vivo* trên gà thịt cho thấy *L. plantarum* 1582 có thể tồn tại và hoạt động trong đường tiêu hóa của vật chủ. Kết quả này mở ra hướng phát triển chế phẩm hành tím lên men với *L. plantarum* 1582 như một chất phụ gia thức ăn chăn nuôi tiềm năng góp phần cải thiện sức khỏe đường ruột và năng suất vật nuôi. Tuy nhiên, để khẳng định hiệu quả thực tế của chế phẩm này, cần tiếp tục tiến hành các nghiên cứu *in vivo* sâu rộng hơn trong điều kiện sản xuất thực tế.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Để tiến hành nghiên cứu này nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ kinh phí của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Việt Nam thông qua đề tài Cấp Bộ mã số: B2023-DHH-24.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

Altuntas, S., & Korukluoglu, M. (2019). Growth and effect of garlic (*Allium sativum*) on selected beneficial bacteria. *Food Science and Technology* 39(4), 897-904. <https://doi.org/10.1590/fst.10618>.

Damayanti, E., Istiqomah, L., Saragih, J. E., & Purwoko,

T. (2017). Characterization of lactic acid bacteria as poultry probiotic candidates with aflatoxin B1 binding activities. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 101(1), 1-8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/101/1/012030>.

Diriba-Shiferaw, G., Nigussie-Dechassa, R., Kebede, W., Getachew, T., & Sharma, J. J. (2013). Growth and nutrients content and uptake of garlic (*Allium sativum* L.) as influenced by different types of fertilizers and soils. *Science, Technology and Arts Research Journal* 2(3), 35-50. <https://doi.org/10.4314/star.v2i3.98727>.

Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Ramalhosa, E. (2017). Edible flowers: A review of the nutritional, antioxidant, antimicrobial properties and effects on human health. *Journal of Food Composition and Analysis* 60, 38-50. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.03.017>.

Gilchrist, M. J., Greko, C., Wallinga, D. B., Beran, G. W., Riley, D. G., & Thorne, P. S. (2007). The potential role of concentrated animal feeding operations in infectious disease epidemics and antibiotic resistance. *Environmental Health Perspectives* 115(2), 313-316. <https://doi.org/10.1289/ehp.8837>.

Gupta, A., & Sharma, N. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria-*Pediococcus acidilactici* Ch-2 isolated from Chuli-A traditional apricot product of Himalayan region for the production of novel bioactive compounds with special therapeutic properties. *Journal of Food: Microbiology, Safety and Hygiene* 2(1), 1-11. <https://doi.org/10.4172/2476-2059.1000119>.

Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* group: History and health related applications. *Frontiers in Microbiology* 9, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02107>.

Jiang, T., Li, H., Han, G., Singh, B., Kang, S. K., Bok, J. D., Kim, D. D., Hong, Z. S., Choi, Y. J., & Cho, C. (2017). Oral delivery of probiotics in

- poultry using ph-sensitive tablets. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 27(4), 739-746. <https://doi.org/10.4014/jmb.1606.06071>.
- Kareem, K. Y., Loh, T. C., Foo, H. L., Asmara, S. A., Akit, H., Abdulla, N. R., & FoongOoi, M. (2015). Carcass, meat and bone quality of broiler chickens fed with postbiotic and prebiotic combinations. *International Journal of Probiotics and Prebiotics* 10(1), 23-30.
- Kumar, M., Barbhai, M. D., Hasan, M., Punia, S., Dhumal, S., Radha, Rais, N., Chandran, D., Pandiselvam, R., Kothakota, A., Tomar, M., Satankar, V., Senapathy, M., Anitha, T., Dey, A., Sayed, A. A. S., Gadallah, F. M., Amarowicz, R., & Mekhemar, M. (2022). Onion (*Allium cepa* L.) peels: A review on bioactive compounds and biomedical activities. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 146, 112498. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112498>.
- Latorre, J. D., Hernandez-Velasco, X., Kallapura, G., Menconi, A., Pumford, N. R., Morgan, M. J., Layton, S. L., Bielke, L. R., Hargis, B. M., & Téllez, G. (2014). Evaluation of germination, distribution, and persistence of *Bacillus subtilis* spores through the gastrointestinal tract of chickens. *Poultry Science* 93(7), 1793-1800. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03809>.
- Ma, J., Xu, C., Liu, F., Hou, J., Shao, H., & Yu, W. (2021). Stress adaptation and cross-protection of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0628. *CyTA-Journal of Food* 19(1), 72-80. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1859619>.
- Mallappa, R. H., Singh, D. K., Rokana, N., Pradhan, D., Batish, V. K., & Grover, S. (2019). Screening and selection of probiotic *Lactobacillus* strains of Indian gut origin based on assessment of desired probiotic attributes combined with principal component and heatmap analysis. *Food Science and Technology* 105, 272-281. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.002>.
- Mangisah, I., Yunianto, V. D., Sumarsih, S., & Sugiharto, S. (2021). Supplementation of garlic powder and *Lactobacillus casei* to improve nutrient digestibility, physiological conditions, and performance of broiler during starter phase. *Journal of The Indonesian Tropical Animal Agriculture* 46(4), 336-346. <https://doi.org/10.14710/jitaa.46.4.336-346>.
- Mansouri, E. (2016). Viability of *Bifidobacterium bifidum* and *Escherichia coli* in versus prebiotic effects of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*). *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 18(11) 1-17. <https://doi.org/10.17795/zjrms-3771>.
- Masalam, M. S. B., Bahieldin, A., Alharbi, M. G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S. K., Harakeh, S. M., & Al-Hindi, R. R. (2018). Isolation, molecular characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria in Saudi raw and fermented milk. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2018, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2018/7970463>.
- Myers, S. R., Hawrelak, J., & Cattley, T. (2009). Essential oils in the treatment of intestinal dysbiosis: A preliminary *in vitro* study. *Alternative Medicine Review* 14(4), 380-384.
- O'Flaherty, S., Briner Crawley, A., Theriot, C. M., & Barrangou, R. (2018). The *Lactobacillus* bile salt hydrolase repertoire reveals niche-specific adaptation. *MSphere* 3(3), e00140-18. <https://doi.org/10.1128/msphere.00140-18>.
- Pop, C., Suharoschi, R., & Pop, O. L. (2021). Dietary fiber and prebiotic compounds in fruits and vegetables food waste. *Sustainability* 13, 2-18. <https://doi.org/10.3390/su13137219>.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., & Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology* 50(1), 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.014>.
- Sagar, N. A., Pareek, S., Benkeblia, N., & Xiao, J. (2022). Onion (*Allium cepa* L.) bioactives: Chemistry, pharmacotherapeutic functions, and industrial applications. *Food Frontiers* 3(3),

- 380-412. <https://doi.org/10.1002/fft2.135>.
- Sanches Lopes, S. M., Francisco, M. G., Higashi, B., de Almeida, R. T. R., Krausová, G., Pilau, E. J., Gonçalves, J. E., Gonçalves, R. A. C., & Oliveira, A. J. B. (2016). Chemical characterization and prebiotic activity of fructo-oligosaccharides from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) roots and *in vitro* adventitious root cultures. *Carbohydrate Polymers* 152, 718-725. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.043>.
- Schloss, P. D. (2014). An integrated view of the skin microbiome. *Nature* 514(7520), 44-45. <https://doi.org/10.1038/514044a>.
- Souza, L., Araujo, D., Stefani, L., Giometti, I., Cruz-Polycarpo, V., Polycarpo, G., & Mfc, B. (2018). Probiotics on performance, intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens raised with lower or higher environmental challenge. *Austral Journal of Veterinary Sciences* 50(1), 35-41. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-81322018000100107>.
- Sunu, P., Sunarti, D., Mahfudz, L.D., & Yunianto, V.D. (2019). Prebiotic activity of garlic (*Allium sativum*) extract on *Lactobacillus acidophilus*. *Veterinary World* 12(12), 2046-2051. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.2046-2051>.
- Vecchione, A., Celandroni, F., Mazzantini, D., Senesi, S., Lupetti, A., & Ghelardi, E. (2018). Compositional quality and potential gastrointestinal behavior of probiotic products commercialized in Italy. *Frontiers in Medicine* 5, 1-9.
- VS (Vietnam Standards). (2017). Standard No. TCVN 11892-1:2017 dated on October 17th, 2017. Good agricultural practices (Vietgap) - Part 1: Crop production. Retrieved July 10, 2024, from <http://www.vietgap.com/pic/files/tcvn-11892-1-2017.pdf>.
- VS (Vietnam Standards). (2007). Standard No. TCVN 6261:2007 dated on June 19th, 2007. Milk - enumeration of colony-forming units of psychrotrophic microorganisms - colony-count technique at 6.5°C. Retrieved July 10, 2024, from <https://tieuchuan.vsqi.gov.vn/tieuchuan/view?sohieu=TCVN+6261%3A2007>.
- Wang, L., Zhang, H., Rehman, M. U., Mehmood, K., Jiang, X., Iqbal, M., Tong, X., Gao, X., & Li, J. (2018). Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from Tibetan yaks. *Microbial Pathogenesis* 115, 293-298. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.077>.
- Wilson, E. A., & Demmig-Adams, B. (2007). Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of garlic and onions. *Nutrition and Food Science* 37(3), 178-183. <https://doi.org/10.1108/00346650710749071>.
- Yadav, S., Trivedi, N. A., & Bhatt, J. D. (2015). Antimicrobial activity of fresh garlic juice: An *in vitro* study. *An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda* 36(2), 203-207. <https://doi.org/10.4103/0974-8520.175548>.