

SÀNG LỌC VI KHUẨN LACTIC CÓ HOẠT TÍNH GIẢM CHOLESTEROL

Dương Nhật Linh^{1*}, Lê Thị Anh Thiện¹, Phạm Trần Phương Dung¹,
Phạm Thị Minh Trang¹, Nguyễn Văn Minh¹, Trần Cát Đông²

¹Trường Đại học Mở tp Hồ Chí Minh, * duongnhatlh@gmail.com

²Trường Đại học Y Dược tp Hồ Chí Minh

TÓM TẮT: Cholesterol trong máu cao làm tăng nguy cơ bệnh tim mạch, do đó việc kiểm soát cholesterol máu là một trong những điều kiện tiên quyết nhằm ngăn ngừa bệnh tim mạch. Trong những năm gần đây đã có nhiều nghiên cứu về vi khuẩn lactic có tác dụng làm giảm cholesterol. Nghiên cứu của chúng tôi trình bày kết quả sàng lọc hoạt tính khử liên hợp muối mật, khả năng sinh enzyme thủy phân muối mật (bile salt hydrolaza-BSH) và khả năng hấp thu cholesterol qua liên kết với bề mặt tế bào của các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ sữa mẹ, phân su em bé, rau quả muối chua và sữa chua lên men tự nhiên. Kết quả thu được 32 chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh enzyme BSH và hấp thu cholesterol. Trong đó, chủng VN2.2 cho hoạt tính riêng của enzyme BSH cao nhất đạt 5,061 U/mg, chủng YK1.1 có khả năng hấp thu cholesterol qua liên kết với bề mặt tế bào cao nhất đạt 79,921%. Các chủng này cần được nghiên cứu thêm để ứng dụng làm probiotic.

Từ khóa: Enzyme bile salt hydrolaza, cholesterol, khử liên hợp mật, muối natri taurocholate, vi khuẩn lactic.

MỞ ĐẦU

Cholesterol tăng làm tăng nguy cơ bệnh tim và đột quỵ. Trên toàn cầu, một phần ba bệnh tim thiếu máu cục bộ là do cholesterol cao. Nhìn chung, cholesterol tăng được ước tính gây ra 2,6 triệu ca tử vong (4,5% của tổng số) và 29,7 triệu người khuyết tật năm sống điều chỉnh (DALYs), hoặc 2,0% tổng DALYs. Tăng cholesterol là nguyên nhân chính của gánh nặng bệnh tật ở cả các nước phát triển và đang phát triển như là một yếu tố nguy cơ bệnh tim thiếu máu cục bộ và đột quỵ. Giảm 10% hàm lượng cholesterol huyết thanh ở nam giới trong độ tuổi 40 đã được báo cáo là giảm 50% bệnh tim trong vòng 5 năm, giảm cholesterol huyết thanh tương tự cho những người đàn ông từ 70 tuổi có thể dẫn đến giảm trung bình 20% trong bệnh tim xảy ra trong vòng 5 năm tới [14].

Việc giảm cholesterol là vấn đề rất quan trọng để ngăn ngừa bệnh tim mạch [5]. Trong những năm gần đây, đã có nhiều báo cáo cho thấy rằng enzyme bile salt hydrolaza (BSH) từ vi khuẩn (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*) có tác dụng làm giảm cholesterol [6, 8]. Ngoài ra, vi khuẩn lactic còn có khả năng giảm cholesterol bằng cách kết dính trực tiếp lên bề mặt tế bào [13].

Giảm cholesterol bởi vi khuẩn lactic là vấn đề đang được các nhà khoa học ngoài nước quan tâm nghiên cứu. Ở Việt Nam, các nhóm tác giả nghiên cứu đánh giá khả năng giảm cholesterol của các chủng vi khuẩn lactic nhưng chỉ ở điều kiện in vitro và chưa có sản phẩm ứng dụng. Nghiên cứu của Hoàng Quốc Khánh & Phạm Thị Lan Thanh (2011) [4] đã phân lập và xác định 15 chủng *Lactobacillus*. Trong đó, có 11 chủng có khả năng khử mức cholesterol huyết thanh in vitro đáng kể 10-33,34%. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập vi khuẩn lactic từ sữa mẹ, phân su em bé, các thực phẩm dành cho người và đánh giá in vitro hoạt tính làm giảm cholesterol để tạo nguồn chủng cho đánh giá in vivo.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguồn phân lập: rau quả lên men tự nhiên và sữa chua lên men tự nhiên được mua tại Thủ Dầu Một, Bình Dương; phân su em bé và sữa mẹ được lấy từ Khoa Hậu phẫu-Hậu sản B, bệnh viện Hùng Vương, thành phố Hồ Chí Minh.

Phân lập vi khuẩn lactic

Mẫu được pha loãng trong đệm PBS (phosphate buffered saline) với độ pha loãng

10^{-1} đến 10^{-3} . Tiến hành trải đều 100 μ L dung dịch ở mỗi độ pha loãng lên đĩa thạch MRS Agar (de Man, Rogosa & Sharpe) có bổ sung 1% CaCO_3 . Ủ các đĩa ở $35^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ trong 24-48 giờ. Chọn những khuẩn lạc có vòng tan CaCO_3 xung quanh, làm thuần chủng [8]. Một số thử nghiệm được thực hiện như sau: khảo sát đại thể, vi thể, catalase, oxidase, định tính acid lactic bằng thuốc thử Uffelmann. Chủng thu được nuôi trên môi trường MRS dịch thể cho các thí nghiệm tiếp theo.

Thử nghiệm khả năng chịu đựng muối mật

Chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường canh MRS bổ sung 0,3% muối mật. Sau 8 giờ nuôi cấy ở $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$, tiến hành đo OD dịch nuôi cấy ở bước sóng 625 nm. Thí nghiệm đối chứng được nuôi cấy trong môi trường canh MRS không bổ sung muối mật. Chủng vi khuẩn được ghi nhận có khả năng chịu đựng muối mật khi giá trị OD_{625} tăng lên 0,3 đơn vị [7].

Thử nghiệm khả năng chịu đựng liên hợp muối mật

Chủng vi khuẩn được pha loãng đạt nồng độ 10^6 tế bào/mL. Chủng vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường MRS agar bổ sung muối natri taurocholate có nồng độ: 0,125%; 0,25%; 0,5%; 0,75%, 1%; 1,25%; 1,5%, 2%, 5%, 10% ở $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Sau 24 giờ, chúng tôi quan sát sự phát triển của các chủng vi khuẩn trên môi trường có bổ sung muối natri taurocholate ghi nhận chủng có khả năng chịu đựng muối mật liên hợp [10].

Định tính khả năng sinh bile salt hydrolaza (BSH)

Thí nghiệm được tiến hành với mẫu thí nghiệm và mẫu đối chứng. Mẫu thí nghiệm: môi trường MRS agar bổ sung 0,5% muối natri taurocholate. Mẫu đối chứng: môi trường MRS agar. Dịch vi khuẩn được tằm bằng giấy lọc chuyên biệt và đặt trên môi trường, ủ ở $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Sau 72 giờ, xuất hiện kết tủa xung quanh vòng vi khuẩn ghi nhận kết quả dương tính [10].

Cách thu dịch enzyme từ dịch nuôi cấy vi khuẩn

Chủng vi khuẩn dương tính với khả năng sinh enzyme bile salt hydrolaza được nuôi cấy

trong 5 mL môi trường MRS ở $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2/24$ giờ. Dịch nuôi cấy được ly tâm 9600 vòng/10 phút ở 4°C thu cặn tế bào, rửa trong NaCl 0,9% và ly tâm 9600 vòng/10 phút/ 4°C . Sau đó, đệm phosphate 0,1 M pH 6,8 được thêm vào mẫu để đạt giá trị OD_{600} bằng 1. DTT 0,1 M được thêm vào mẫu đến nồng độ cuối cùng 10 mM và mẫu được giữ ở nhiệt độ $0-5^\circ\text{C}$. Tế bào được phá vỡ bằng phương pháp tán sóng siêu âm ở điều kiện nhiệt độ không đổi. Mẫu được tiến hành ly tâm ở 9600 vòng/10 phút/ 4°C , thu dịch nổi chứa enzyme BSH [12].

Xác định hoạt tính bile salt hydrolaza

Hoạt tính enzyme BSH được xác định thông qua định lượng lượng acid amin giải phóng từ cơ chất muối mật liên hợp theo phương pháp của Tanaka et al. (1999) [11]. Theo đó, acid amin được định lượng với thuốc thử ninhydrin, sử dụng taurin chuẩn xây dựng đường chuẩn. Hàm lượng protein tổng được xác định bằng phương pháp Bradford, sử dụng bovine serum albumin (BSA) xây dựng đường chuẩn theo mô tả của Bradford (1976) [2]. Tính toán kết quả hoạt tính chung và hoạt tính riêng. Một đơn vị hoạt tính enzyme (U) được định nghĩa là lượng enzyme cần thiết để giải phóng 1 μmol acid amin từ cơ chất trong 1 phút [7].

Khả năng loại bỏ cholesterol qua liên kết với bề mặt tế bào

Chúng tôi tiến hành chuẩn bị môi trường MRS bổ sung 0,3% muối mật. Dung dịch cholesterol khử trùng (10 mg/mL trong ethanol) được thêm vào môi trường đạt nồng độ cuối cùng là 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ và bổ sung 1% dịch vi khuẩn vào môi trường nuôi cấy ở $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Sau 24 giờ, tế bào vi khuẩn được loại khỏi dịch nuôi cấy bằng phương pháp ly tâm ở 9600 vòng/10 phút/ 4°C và xác định các nồng độ cholesterol còn lại trong môi trường bằng phương pháp so màu của Rudel và Morris (1973): mỗi mL dịch môi trường còn lại bổ sung thêm 1 mL dung dịch KOH 33% (khối lượng/thể tích) và 2 mL ethanol 95° , trộn đều trong 1 phút và đặt vào bể ổn nhiệt ở 60°C trong 15 phút. Sau khi làm mát, 3 mL hexane và 2 mL nước cất được thêm vào, trộn đều trong 1 phút và để yên 15 phút, hút 1 mL lớp hexane chuyển vào ống nghiệm và làm bay hơi bằng áp suất

thấp. Phần còn lại được ngay lập tức hòa tan trong 2 mL thuốc thử o-phthalaldehyde có nồng độ 0,5 mg/mL, trộn đều, để yên 10 phút. Sau đó, 0,5 mL H₂SO₄ đậm đặc được thêm vào và hỗn hợp được trộn đều trong 1 phút. Độ hấp phụ được đọc ở bước sóng 550 nm sau 10 phút [7].

Xử lý kết quả

Kết quả được xử lý thống kê ANOVA của phần mềm Excel với độ tin cậy P<0,05. Kết quả trình bày gồm giá trị trung bình ± sai số chuẩn.

Phương pháp định danh

Tiến hành định danh trực khuẩn lactic bằng phương pháp sinh hóa theo mô tả của Martin & Stanley (2006) [9]. Cầu khuẩn lactic được định danh theo khóa phân loại của Bergey (1994) [3].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập vi khuẩn lactic

Chúng tôi đã phân lập được 188 chủng từ các mẫu thực phẩm lên men, sữa chua, phân su, sữa mẹ và sàng lọc được 114 chủng vi khuẩn có dạng trực khuẩn, không sinh bào tử, catalase âm, oxidase âm, sinh acid lactic.

Thử nghiệm khả năng chịu đựng muối mật

Vi khuẩn lactic chịu đựng được muối mật ở nồng độ cao làm tăng khả năng tồn tại của chúng trong đường tiêu hóa [10]. Sàng lọc khả năng chịu đựng muối mật là một sàng lọc bước đầu đơn giản để tuyển chọn những chủng có khả năng sinh enzyme BSH.

Từ 114 chủng vi khuẩn lactic phân lập, chúng tôi thu được 72 chủng vi khuẩn lactic có khả năng chịu đựng được muối mật 0,3%.

Al-Saleh et al. (2006) [1] ghi nhận 3 chủng *L. acidophilus*, 2 chủng *Bifidobacteria* và *Streptococcus thermophilus* DSM 20.617 có khả năng phát triển trong môi trường có bổ sung 0,3% muối mật. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự với nghiên cứu trên.

Thử nghiệm khả năng chịu đựng muối mật liên hợp

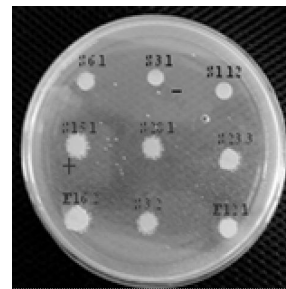
Thử nghiệm khả năng chịu đựng muối mật liên hợp tiếp tục sàng lọc sâu hơn những chủng vi khuẩn lactic có tiềm năng cao về khả năng sinh enzyme BSH.

Trong 72 chủng có khả năng chịu đựng muối mật, tiến hành kiểm tra khả năng chịu đựng muối mật liên hợp. Kết quả cho 69 chủng có khả năng chịu đựng muối mật liên hợp dao động từ 0,125-10%.

Theo nghiên cứu của Noriega et al. (2005) [10], tác giả ghi nhận nồng độ muối mật liên hợp ức chế tối thiểu đối với sự phát triển của vi khuẩn lactic với khoảng dao động từ 0,125-2%. Kết quả thí nghiệm cho thấy các chủng vi khuẩn lactic của chúng tôi có khả năng chịu đựng muối mật liên hợp cao hơn dao động 0,125-10%.

Định tính khả năng sinh bile salt hydrolaza

Từ 69 chủng vi khuẩn lactic cho khả năng chịu đựng muối mật liên hợp, tiến hành kiểm tra khả năng sinh enzyme BSH trên môi trường thạch đĩa 0,5% muối mật liên hợp natri taurocholate. Kết quả có 32 chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh enzyme BSH tạo vòng kết tủa xung quanh khuẩn lạc. Kết quả định tính khả năng sinh enzyme BSH của một số chủng vi khuẩn lactic được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Định tính khả năng sinh enzyme bile salt hydrolaza

Thí nghiệm của Noriega et al. (2005) [10] khảo sát hoạt động thủy phân muối mật của 13 chủng *Bifidobacteria*. Kết quả thu được có 12 chủng vi khuẩn thử nghiệm cho kết quả định tính enzyme BSH dương tính khi môi trường bổ sung 0,5% muối mật liên hợp (taurodeoxycholate và glycodeoxycholate), ngoại trừ chủng *B. animalis* IPLA 658 không có khả năng phát triển trong bất kỳ loại muối mật nào.

Xác định hoạt tính bile salt hydrolaza

Đã xác định hoạt tính enzyme của 32 chủng có khả năng sinh enzyme BSH (hình 2).

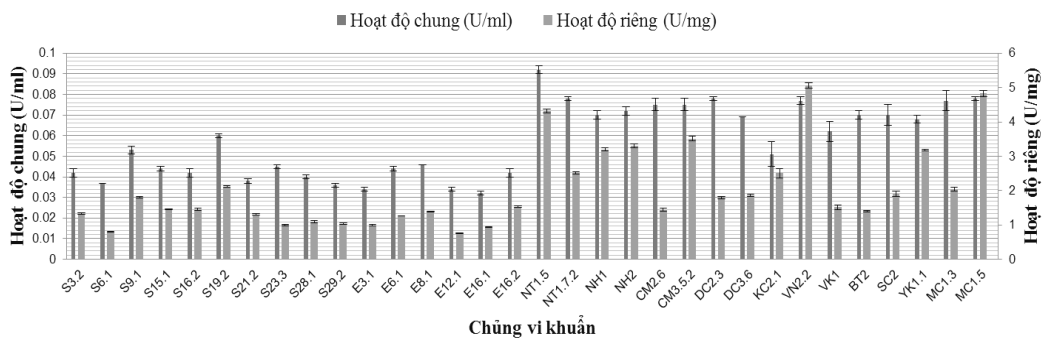
Kết quả ở hình 2 cho thấy, 32 chủng cho hoạt tính chung dao động trong khoảng từ 0,032-0,092 U/mL và hoạt tính riêng dao động trong khoảng 0,748-5,061 U/mg. Trong đó có chủng vi khuẩn lactic VN2.2 có hoạt tính riêng cao nhất đạt 5,061 U/mg.

So sánh với nghiên cứu của Liong et al. (2005) [6], tác giả xác định hoạt tính chung và hoạt tính riêng của các chủng *Lactobacillus*, cho thấy hoạt tính riêng của chủng vi khuẩn lactic VN2.2 (5,061 U/mg) cao gấp 2,6 lần so với hoạt tính riêng của của chủng *L. casei* ASCC 1520 (1,93 U/mg).

Khả năng loại bỏ cholesterol qua liên kết với bề mặt tế bào

Khả năng loại bỏ cholesterol qua liên kết với bề mặt tế bào là một trong hai cơ chế làm giảm cholesterol của các chủng vi khuẩn lactic.

Chúng tôi tiến hành khảo sát khả năng loại bỏ cholesterol của 72 chủng vi khuẩn lactic có khả năng chịu đựng muối mật 0,3%, có 69 chủng có khả năng giảm cholesterol trong môi trường nuôi cấy. Kết quả khả năng giảm cholesterol của 69 chủng vi khuẩn lactic được trình bày ở bảng 1.



Hình 2. Hoạt tính chung và hoạt tính riêng của các chủng vi khuẩn lactic

Bảng 1. Khả năng giảm cholesterol sau 24 giờ và 48 giờ

Mã chủng	Mức độ giảm cholesterol sau 24 giờ (%)	Mức độ giảm cholesterol sau 48 giờ (%)	Mã chủng	Mức độ giảm cholesterol sau 24 giờ (%)	Mức độ giảm cholesterol sau 48 giờ (%)
S1.12	47,16±1,93	35,55±1,64	NT1.7.2	54,338±3,787	24,050±9,342
S3.1	41,17±2,06	28,11±1,49	NH1	55,245±1,571	51,073±1,995
S3.2	37,36±1,70	29,38±2,26	NH2	61,774±2,739	47,446±4,183
S4.1	56,23±1,64	39,72±2,03	CM1.2	63,225±8,194	32,574±3,668
S4.2	50,78±2,93	39,72±1,94	CM1.3	64,676±3,083	32,211±2,969
S6.1	39,72±1,75	13,60±1,07	CM2.4	65,220±3,300	47,083±6,180
S9.1	38,09±1,56	51,15±1,23	CM2.6	51,436±4,937	51,618±6,666
S10.1	41,35±2,68	27,39±1,82	CM2.7	55,789±2,792	67,759±5,359
S12.1	8,89±1,36	34,28±2,77	CM3.2	54,519±7,824	41,280±2,558
S15.1	19,77±1,69	35,91±1,03	CM3.3	58,872±4,051	51,436±0,314
S16.1	29,20±2,31	23,94±1,73	CM3.4	65,764±4,002	59,416±2,816
S16.2	35,01±1,26	30,29±1,85	CM3.5.2	54,519±3,573	48,353±3,224
S17.1	42,26±2,12	39,00±2,31	CM3.6.1	46,358±7,722	47,809±4,218
S19.2	15,42±1,58	12,33±0,80	CM3.6.2	50,529±1,550	19,516±5,117
S20.1	28,84±3,32	29,93±1,37	DC1.2	44,182±7,261	19,516±0,960
S21.2	16,50±2,01	35,73±2,60	DC2.1	74,288±2,739	30,579±7,722
S23.2	21,58±2,14	31,92±2,49	DC2.3	54,882±3,774	22,962±2,635

S23.3	6,53±1,70	36,64±2,30	DC3.3	60,323±3,978	36,746±2,199
S25.4	40,08±2,50	11,25±2,31	DC3.6	76,828±5,278	8,271±0,843
S28.1	48,79±2,27	8,34±2,53	KC1.1	63,951±4,937	31,486±4,556
S28.3	24,12±2,85	16,32±2,64	KC1.3	77,734±2,273	32,574±4,446
S29.1	38,63±1,29	19,04±3,04	KC2.1	70,661±4,183	14,982±2,684
S29.2	44,07±1,96	18,86±4,07	KC2.3	54,519±3,019	14,800±3,953
E3.1	50,97±1,92	37,73±0,92	VN2.2	63,769±2,092	3,555±0,649
E6.1	26,12±2,31	17,59±2,07	VN2.3	55,426±2,379	14,256±1,103
E8.1	33,19±2,39	22,85±2,62	VK1	78,460±4,334	24,957±2,520
E12.1	40,81±3,54	22,67±4,71	BT1	75,195±3,147	21,873±5,343
E15.1	57,50±2,48	21,76±1,08	BT2	49,623±2,539	46,539±2,265
E16.1	57,31±3,46	24,67±1,18	SC2	79,548±4,512	26,589±0,791
E16.2	9,25±1,89	17,05±1,24	YK1.1	75,921±11,708	25,138±2,539
NT1.1	62,318±7,617	58,691±4,100	YK1.2	49,985±3,903	38,559±1,786
NT1.2	71,931±2,919	42,549±5,269	MC1.2	68,122±2,206	11,536±2,229
NT1.4	58,510±1,962	48,534±1,786	MC1.3	62,318±1,133	22,055±4,454
NT1.5	59,416±3,573	38,922±4,628	MC1.5	73,744±1,749	10,991±0,960
NT1.7.1	50,348±6,275	39,647±6,166			

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, khảo sát ở 24 giờ, kết quả cho 6 chủng vi khuẩn lactic có khả năng giảm cholesterol dưới 20%, 23 chủng vi khuẩn lactic có khả năng giảm cholesterol từ 20-50%, 30 chủng vi khuẩn lactic có khả năng giảm cholesterol trên 50%, 10 chủng vi khuẩn lactic có khả năng giảm cholesterol cao từ 70,661-79,548%.

Kết quả của chúng tôi tương tự với nghiên cứu của Lim et al. (2004) [6], tác giả phân lập được 7 chủng *Streptococcus*, 11 chủng *Lactobacillus*, 7 chủng *Bifidobacteria* từ đường

ruột người cho hiệu quả giảm cholesterol tương ứng 61,1%, 71,8% và 27,9%.

Định danh

Kết quả định danh 23 trực khuẩn lactic theo mô tả của Martin & Stanley (2006) [9] được trình bày ở bảng 2. Các chủng đều cho mức độ tương đồng 100%.

Có 9 cầu khuẩn lactic được định danh theo khóa phân loại của Bergey theo mô tả của Holt et al. (1994) [3] được trình bày trong bảng 3.

Bảng 2. Kết quả định danh trực khuẩn lactic

Mã chủng	Tên chủng	Mã chủng	Tên chủng	Mã chủng	Tên chủng
S6.1	<i>L. rhamnosus</i>	DC2.3; VN2.2; MC1.5	<i>L. vaginalis</i>	NH2	<i>L. crispatus</i>
S21.2	<i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i>	DC3.6; MC1.3; NT1.7.2	<i>L. diolivorans</i>	CM3.5.2	<i>L. maninotivorans</i>
S28.1; E6.1; KC2.1	<i>L. paraplantarum</i>	SC2	<i>L. malefermentans</i>	YK1.1	<i>L. nagelii</i>
E12.1	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	E16.2; NH1; VK1	<i>L. acidophilus</i>	S23.3	<i>L. brevis</i>
NT1.5; CM2.6	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	BT2	<i>L. casei</i>		

Bảng 3. Kết quả định danh cầu khuẩn lactic

Mã chủng	Tên chủng
S3.2; S9.1; S16.2; S15.1; S19.2	<i>Enterococcus faecium</i>
S29.2; E3.1; E8.1; E16.1	<i>Pediococcus inopinatus</i>

KẾT LUẬN

Qua các kết quả nghiên cứu được trình bày ở trên, chúng tôi thu được 32 chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh enzyme BSH và khả năng loại bỏ cholesterol qua liên kết với bề mặt tế bào. Trong đó, chủng vi khuẩn lactic VN2.2 cho hoạt tính riêng của enzyme BSH cao nhất là 5,061 U/mg. Chủng vi khuẩn lactic YK1.1 có khả năng loại bỏ cholesterol trong môi trường nuôi cấy cao nhất đạt 79,921%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Al-Saleh A. A., Metwalli A. A. M., Abu-Tarboush H. M., 2006. Bile salts and acid tolerance and cholesterol removal from media by some lactic acid bacteria and Bifidobacteria. J. Saudi Soc. for Food and Nutrition, 1(1): 1-17.
- Bradford M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72: 248-254.
- Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T., Williams S. T., 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology 9th edition chapter V: 178-222.
- Hoàng Quốc Khánh, Phạm Thị Lan Thanh, 2011. Phân lập, định danh và xác định các chủng *Lactobacillus* có tiềm năng probiotic từ con người. Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ, 14(6): 62-76.
- Lim H. J., Kim S. Y., Lee W. K., 2004. Isolation of cholesterol-lowering lactic acid bacteria from human intestine for probiotic use. J. Vet. Sci., 5(4): 391-395.
- Liong M. T., Shah N. P., 2005. Bile salt deconjugation ability, bile salt hydrolase activity and cholesterol co-precipitation ability of lactobacilli strains. Int. Dairy J., 15: 391-398.
- Liong M. T., Shah N. P., 2005. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of *Lactobacilli* strains. J. Dairy Sci., 88(1): 55-66.
- Maragkoudakis P. A., Zoumpopoulou G., Miaris C., Kalantzopoulos G., Pot B., Tsakalidou E., 2006. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. Int. Dairy J., 16(3): 189-199.
- Martin D., Stanley F., 2006. The Prokaryotes-A Handbook on the Biology of Bacteria. Springer: 320-372.
- Noriega L., Cuevas I., Margolles A., Clara G. de los Reyes-Gavilán, 2005. Deconjugation and bile salts hydrolase activity by *Bifidobacterium* strains with acquired resistance to bile. Int. Dairy J., 16: 850-855.
- Tanaka H., Doesburg K., Iwasaki T., 1999. Screening of lactic acid bacteria for bile salt hydrolase activity. J. Dairy Sci., 82: 2530-2535.
- Nguyễn Minh Thái, Vương Văn Sơn, Dương Nhật Linh, Trần Cát Đông, 2012. Khảo sát tính khử liên hợp muối mật và khả năng làm giảm cholesterol của một số chủng *Lactobacillus*. Y học tp. Hồ Chí Minh, 16: 254-259.
- Ziarno M., Sekul E., Lafraya A. A., 2007. Cholesterol assimilation by commercial yoghurt starter cultures. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 6(1): 83-94.
- WHO, 2013. Raised cholesterol. http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/cholesterol_text/en/index.html. Tra cứu 05/06/2013.

A STUDY ON SCREENING OF CHOLESTEROL-LOWERING LACTIC ACID BACTERIA

Duong Nhat Linh¹, Le Thi Anh Thien¹, Pham Tran Phuong Dung¹,
Pham Thi Minh Trang¹, Nguyen Van Minh¹, Tran Cat Dong²

¹HCMC Open University

²University of Medicine & Pharmacy at HCMC

SUMMARY

Hypercholesterolemia increases the risk of cardiovascular diseases; therefore controlling blood cholesterol levels is a critical measure to prevent cardiovascular diseases. In recent years, there have been many studies on cholesterol-lowering effect of lactic acid bacteria. In this work, we have screened lactic acid bacteria isolated from breast milk, new-born's faeces, fermented vegetables and naturally fermented milk for bile salt deconjugation activity, bile salt hydrolase (BSH) production and ability of cholesterol absorption via binding with cell surface. We have identified 32 strains with BSH producing and cholesterol absorption activities. Among these, strain VN2.2 showed the highest BSH activity of 5.061 U/mg and strain YK1.1 showed the highest cholesterol absorption activity of 79.921%. These strains can be developed further for probiotic application.

Keywords: Bile salt hydrolase, cholesterol, bile salt deconjugation, natri taurocholate, lactic acid bacteria.

Ngày nhận bài: 15-7-2013