ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ AXIT YẾU VÀ CHẤT KHÁNG KHUẨN TỰ NHIÊN LÊN QUÁ TRÌNH LÊN MEN MALOLACTIC CỦA *STREPTOCOCCUS MUTANS* Ở DẠNG HUYỀN DỊCH VÀ BIOFILM

Nguyễn Thị Mai Phương*, Hoàng Phương Hà, Phạm Thị Trà, Trần Thị Nhung

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *phuong_nguyen_99@yahoo.com

TÓM TẮT: Mục đích của nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số axit yếu và chất kháng khuẩn thực vật lên quá trình MLF của *S. mutans* ở cả trạng thái tự do và biofilm. Các kết quả thu được đã cho thấy, tất cả các axit yếu được kiểm tra gồm triclosan, indomethacin, axit carpric, fluo và axit lauric đều ức chế mạnh MLF của *S. mutans* với nồng độ ức chế 50% hoạt tính (IC_{50}) lần lượt đạt 0,22; 0,25; 0,08; 4,8 và 2,2 mM. Các tế bào trên biofilm cũng bị ức chế bởi các axit yếu này nhưng ở những nồng độ cao hơn từ 10-50 lần. Đối với hai chất kháng khuẩn thực vật được kiểm tra là α-mangostin và axit asiatic thì chỉ có α-mangostin thể hiện hoạt tính ức chế MLF của *S. mutans* với IC_{50} đạt 45 μM cho tế bào tự do và > 120 μM cho biofilm. MLF của *S. mutans* không nhạy cảm với axit asiatic ngay cả ở những nồng độ cao tới > 50 mM. Như vậy, có thể kết luận MLF của *S. mutans* nhạy cảm với α-mangostin và các axit yếu trong đó có fluo và triclosan là những chất kháng khuẩn thường được bổ sung vào các sản phẩm vệ sinh răng miệng.

Từ khóa: Streptococcus mutans, asiatic acid, α-mangostin, malolactic fermentation, MLF, week acids.

MỞ ĐẦU

Lên men malolactic (malolactic fermentation, MLF) có vai trò quan trọng trong công nghiệp sản xuất rượu [6]. Trong quá trình lên men này, axit L-malic dicarboxylic được chuyển hoá thành axit L-lactic monocarboxylic và giải phóng CO_2, giúp làm tăng hương vị và làm giảm độ axit của rượu. Sự lên men này cũng được phát hiện ở nhiều vi khuẩn lactic (LAB) khác như các thành viên của chi *Lactobacillus, Leuconostoc* và *Streptococcus* [5, 6]. Quá trình decarboxyl hóa của L-malic được thực hiện nhờ enzyme malolactic (MLE) với sự có mặt của NAD^+ và Mn^{2+} [15]. Sự lên men cũng đi kèm với quá trình sinh tổng hợp ATP được xúc tác bởi enzyme $F(H^+)$-ATPase trên màng và dẫn đến sự kiềm hóa tế bào chất do L-lactic hình thành có độ axit thấp hơn L-malic cùng với khả năng kiềm hóa nhờ CO_2. Gần đây, Sheng & Marquis (2006) [13] đã phát hiện thấy *Streptococcus mutans* UA159 có mang gene *smu* 0123 mã hóa cho MLE có trình tự amino acid tương tự như trình tự của enzyme này ở các chủng LAB [1, 5]. Khi nghiên cứu về sinh lý của quá trình này, các tác giả đã phát hiện thấy MLF có vai trò làm kiềm hóa mảng bám răng (dental plaque). Khả năng *S. mutans* đồng hóa malate ở pH 4,0 thông qua MLF thực sự cao hơn nhiều so với khả năng đường phân của chúng [13]. Vì thế, khi có mặt L-malate, MLF đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng chống chịu axit ở *S. mutans.*

Các axit yếu như fluo, triclosan, indomethacin đã được phát hiện là có khả năng kháng vi khuẩn sâu răng bởi vì chúng là những chất mang proton hiệu quả qua màng [2, 8, 11, 12]. Khi có mặt các axit yếu trong môi trường pH thấp như trong mảng bám răng, chúng sẽ đi qua màng tế bào vào trong tế bào chất. Tại đây, ở điều kiện pH cao hơn (gần trung tính), chúng sẽ phân ly để giải phóng proton H^+ làm axit hóa tế bào chất, dẫn đến làm ngừng trệ các quá trình trao đổi chất của vi khuẩn [7]. Như vậy, các axit yếu chỉ có hiệu quả kháng *S. mutans* cao khi điều kiện pH môi trường thấp (pH < 5,0). Cùng với các axit yếu, một số chất kháng khuẩn tự nhiên cũng được phát hiện là có khả năng gây chết vi khuẩn *S. mutans* mạnh hơn ở điều kiện pH thấp (pH 4,0 và 5,0) so với pH trung tính (pH 6,0 và 7,0). Trong khi đó, MLF là quá trình lên men thực hiện tại điều kiện pH thấp. Như vậy vấn đề đặt ra ở đây là các axit yếu và các chất kháng khuẩn tự nhiên có ảnh hưởng như thế nào đến quá trình MLF. Nghiên cứu trước đây của Sheng & Marquis (2006) [13] cũng đã bước đầu đề cập tới khả năng ức chế quá trình

MLF của một số axit yếu nhu fluo, triclosan. Tuy nhiên, việc đánh giá một cách đầy đủ và có hệ thống ảnh hưởng của các chất này lên quá trình MLF của *S. mutans*, bao gồm cả trang thái biofilm vẫn chưa được thực hiện.

Bài báo này trình bày những kết quả nghiên cứu của chúng tôi về tác dụng của một số axit yếu và chất kháng khuẩn tự nhiên lên MLF ở vi khuẩn *S. mutans* ở cả dạng tự do và biofilm. Các kết quả thu được là những dẫn liệu mới về tác dụng của các chất này lên quá trình sinh chất kiềm mới của *S. mutans* thông qua con đường MLF, đồng thời góp phần khẳng định tác dụng đa đích (multitarget) của chúng lên vi khuẩn *S. mutans*.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Streptococcus mutans UA159 là quà tặng của giáo sư Robert E. Marquis, Đại học tổng hợp Rochester, New York, Hoa Kỳ. Chủng vi khuẩn được nuôi giữ và cấy chuyển hàng tuần trên môi trường thạch chứa bovine heart infusion-BHI agar (Difco Laboratories, Detroit, MI, Hoa Kỳ). Tế bào được nuôi cấy trong môi trường TYM chứa 3% tryptone, 0,5% cao nấm men, 25 mM glucose và 50 mM L-malic để cảm ứng hoạt tính enzyme malolactic (MLE).

Phương pháp

Đo sự lên men malolactic

Tế bào *S. mutans* UA159 được thu hoạch ở giai đoạn đầu của pha ổn định (stationary phase) và được rửa 2 lần bằng ly tâm ở tốc độ 6000 *g*/phút trong 15 phút ở 4°C với dung dịch muối có chứa KCl 50 mM và $MgCl_2$ 1 mM. Sau đó tế bào được hòa trở lại với dung dịch muối ở mật độ tế bào khoảng 1,1 mg trọng lượng khô/ml. L-malate ở pH 4,0 được thêm vào ở nồng độ cuối cùng là 10 mM để bắt đầu phản ứng. Hoạt tính lên men MLF được đánh giá thông qua việc xác định hàm lượng L-malic (μmole) đã được chuyển hóa thành axit L-lactic trong 120 phút sử dụng kít của hãng Boehringer Mannheim (Darmstadt, Đức) có chứa enzyme L-malic dehydrogenase. Đây là phương pháp đặc hiệu để xác định axit L-malic [14]. Hoạt tính lên men của mẫu đối chứng (không xử lý chất kháng khuẩn) được tính là 100%.

Đo sự tạo chất kiềm của MLF

Sự kiềm hóa môi trường bởi MLF của *S. mutans* ở dạng huyền dịch và biofilm được đánh giá thông qua sự tăng pH của môi trường sử dụng điện cực đo pH. Tế bào dạng tự do và biofilm được chuẩn bị như cho việc đo MLF đã trình bày ở trên. Giá trị pH môi trường được điều chỉnh đến 4,0 và L-malate được thêm vào để đạt nồng độ cuối cùng là 25 mM [13].

Tạo biofilm

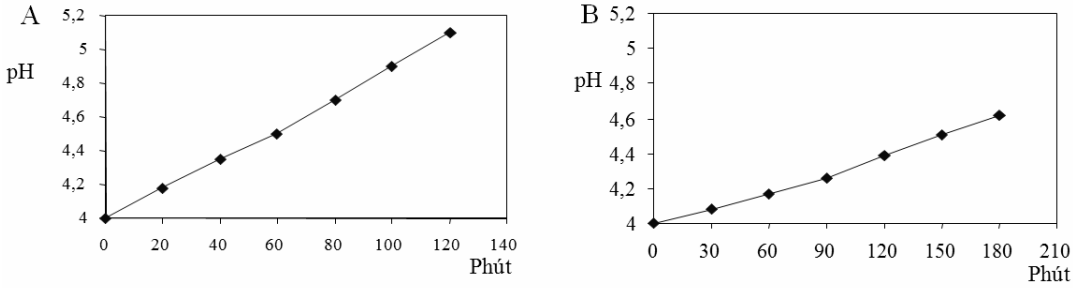
Biofilm (mô hình mô phỏng mảng bám răng) được hình thành trên các lam kính thuỷ tinh có kích thước 2 × 9,5 cm hoặc trên các đĩa hydoxyapatite, hay trên các bản nhựa polystyrene đáy phẳng 96 giếng (Greiner bio-one, mClear Plate Black, Hoa Kỳ) tùy theo mục đích từng thí nghiệm. Môi trường cho nuôi cấy tế bào biofilm có chứa tryptone 3%, dịch chiết nấm men 0,5% và sucrose 1%. Biofilm thường được thu hoạch vào ngày thứ 5. Để tách rời các tế bào khỏi màng biofilm, các màng này trước tiên được tách khỏi giá thể thuỷ tinh vào trong dung dịch peptone 1%. Sau đó các màng biofilm này sẽ được làm đồng nhất bằng máy nghiền đồng thể và máy siêu âm trong 15 giây. Việc xử lý này đảm bảo tạo được huyền dịch tế bào đồng nhất với các tế bào được tách rời nhau khi quan sát dưới kính hiển vi phân cực [12].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

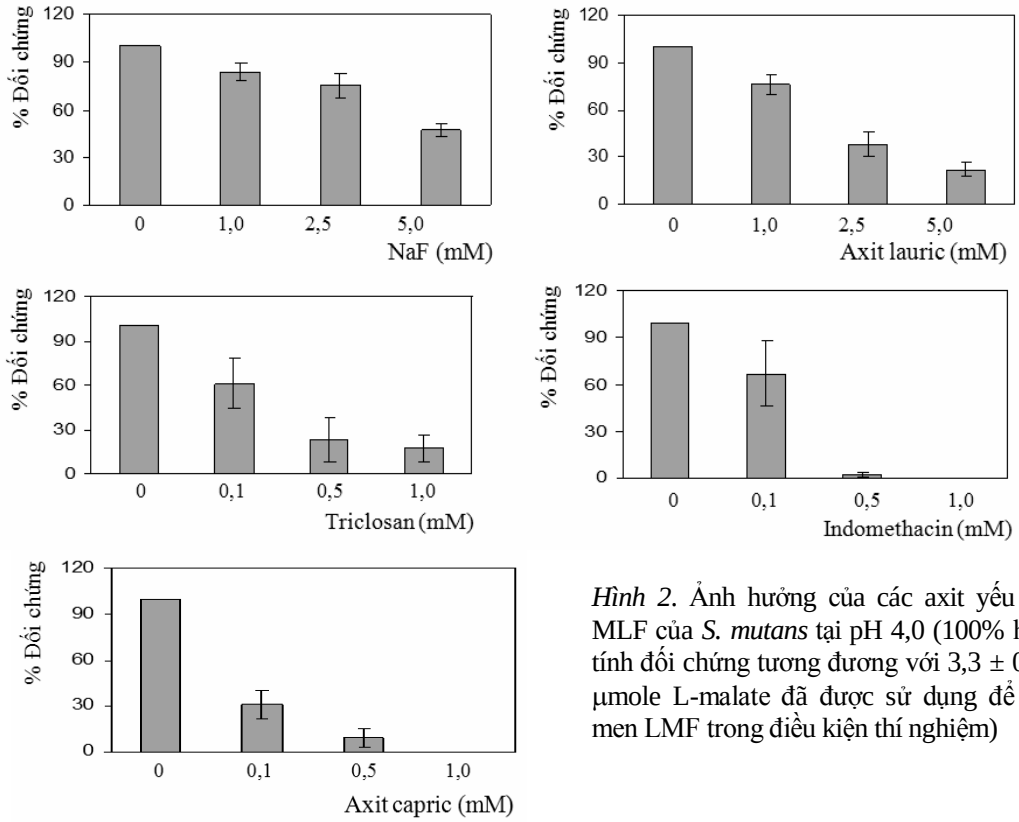
Sự sinh chất kiềm trong quá trình MLF

Khi lên men MLF, axit L-malic dicarboxylic được chuyển hoá thành axit L-lactic monocarboxylic và giải phóng CO_2. Quá trình lên men dẫn đến sự kiềm hóa tế bào chất do L-lactic hình thành có độ axit thấp hơn L-malic cùng với khả năng kiềm hóa môi trường nhờ CO_2 [13]. Như vậy, quá trình sinh chất kiềm của MLF có thể theo dõi bằng việc tăng pH của môi trường sử dụng điện cực đo pH. Trong thí nghiệm này, pH môi trường đã được theo dõi khi *S. mutans* ở dạng huyền dịch và biofilm tiến hành lên men malolactic tại pH = 4,0 là pH thích hợp nhất cho MLF ở vi khuẩn này như Sheng & Marquis (2006) [13] đã phát hiện trước đây. Kết quả thu được ở hình 1 cho thấy, giá trị pH đã tăng thêm > 1 đơn vị đối với tế bào dạng tự do. Các tế bào trên biofilm

thường có quá trình sinh lý diễn ra chậm hơn nên giá trị pH chỉ tăng > 0,5 đơn vị (hình 1). Các số liệu thu được chứng tỏ rằng MLF ở *S. mutans* đã sinh chất kiềm, giúp vi khuẩn thích nghi tốt hơn khi gặp điều kiện stress axit như trong mảng bám răng.



Hình 1. Sự sinh chất kiềm trong MLF của *S. mutans* tại pH 4,0
A. Tế bào huyền dịch ; B. Tế bào biofilm.



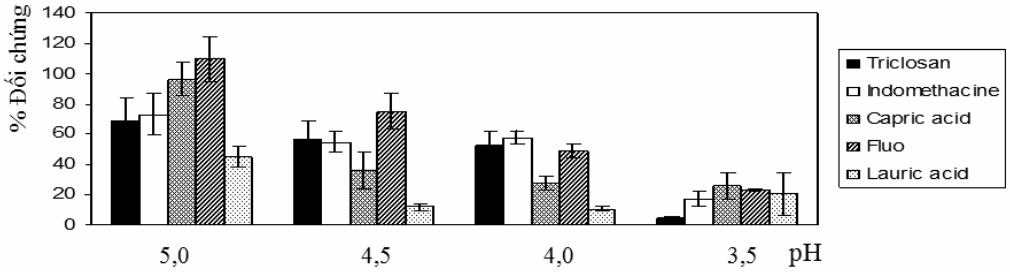
Hình 2. Ảnh hưởng của các axit yếu lên MLF của *S. mutans* tại pH 4,0 (100% hoạt tính đối chứng tương đương với 3,3 ± 0,47 µmole L-malate đã được sử dụng để lên men LMF trong điều kiện thí nghiệm)

Ảnh hưởng của các chất kháng khuẩn lên MLF của tế bào *S. mutans* ở dạng huyền dịch

Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy, tác dụng của các axit yếu lên *S. mutans* thể hiện hoạt tính mạnh nhất tại pH = 4,0 là pH của mảng bám răng khi vi khuẩn tiêu thụ hydratcarbon. Đồng thời, pH = 4 cũng được phát hiện là thích hợp nhất cho MLF của *S. mutans* [13]. Vì thế, chúng tôi đã tiến hành đánh giá tác dụng của các axit yếu gồm: fluo, triclosan, indomethacin, axit lauric, axit capric lên vi khuẩn *S. mutans* ở điều kiện pH này. Kết quả thu được trong hình 2 cho thấy, các chất

này đều có tác dụng ức chế MLF với các giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% hoạt tính MLF) đạt 0,22; 0,25 và 0,08 mM, tương ứng với các chất indomethacin, trichlosan và axit capric. Axit lauric và fluo cũng có khả năng ức chế MLF nhưng ở những nồng độ cao hơn đến >10 lần. Giá trị IC_{50} cho các chất này lần lượt là 4,8 và 2,2 mM. Điều thú vị là các nghiên cứu trước đây về tác dụng của fluo lên quá trình hô hấp của *S. mutans* [8] hay sinh NH_3 của *S. salivarius* và *S. rattus* nhờ hệ thống urease và arginin deiminase [2, 3] đều cho thấy chất này có tác dụng ức chế mạnh hơn hẳn so với các axit yếu khác. Trong thí nghiệm ở đây, fluo lại tỏ ra có tác dụng ức chế MLF kém hơn nhiều. Lý do vì sao có hiện tượng này là vấn đề cần phải tiếp tục nghiên cứu.

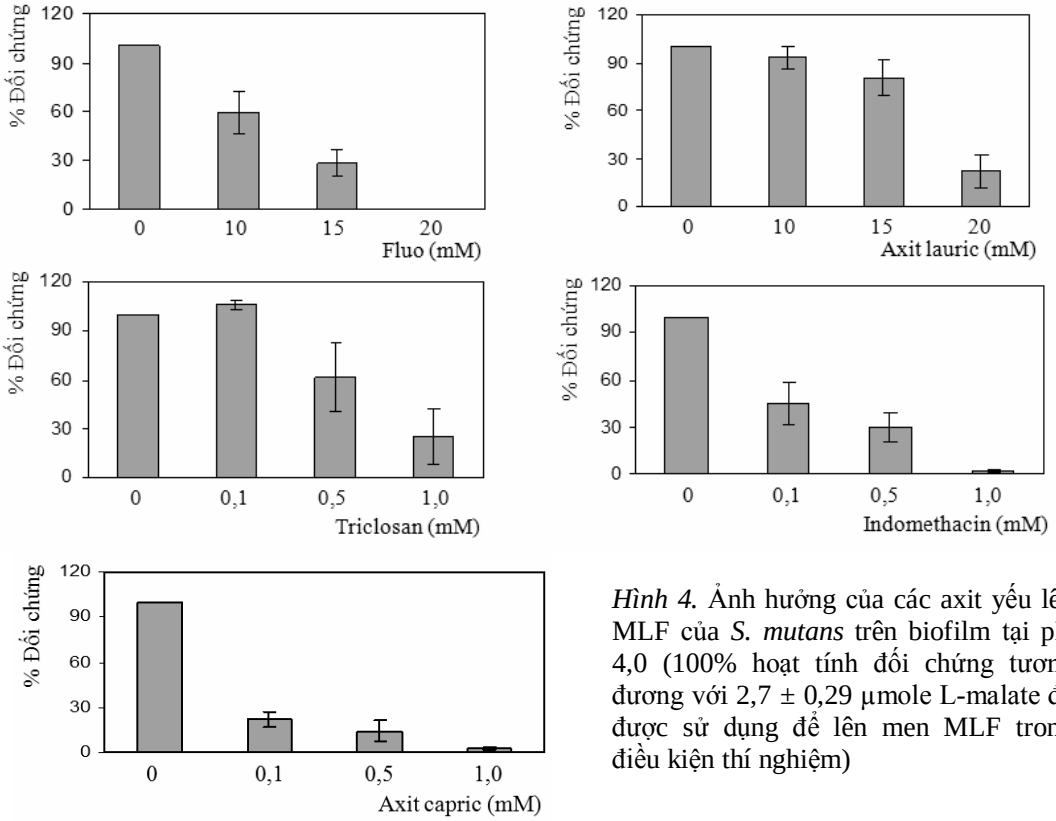
Ảnh hưởng của các axit yếu lên MLF của *S. mutans* ở các điều kiện pH thấp khác gồm pH 5,0; 4,5 và 3,5 cũng được kiểm tra nhằm chứng minh ảnh hưởng của các axit yếu lên MLF là theo cơ chế phụ thuộc pH. Số liệu thu được ở hình 3 cho thấy, ở nồng độ 0,1 mM với các chất indomethacin, axit capric, triclosan và 2,5 mM với các chất fluo và axit lauric, MLF của *S. mutans* đã bị ức chế ở tất cả các pH kiểm tra theo cơ chế phụ thuộc pH. Giá trị pH càng thấp thì khả năng ức chế MLF càng cao. Điều này phù hợp với việc khả năng vận chuyển proton qua màng tăng lên khi ΔpH giữa trong và ngoài màng có sự chênh lệch càng lớn. Phát hiện này cũng đã được tìm thấy trong các nghiên cứu về ảnh hưởng của các chất này lên quá trình hô hấp ở *S. mutans* và sinh kiềm thông qua hệ thống urease và arginin deiminase ở các vi khuẩn xoang miệng khác [2, 3, 8, 11].



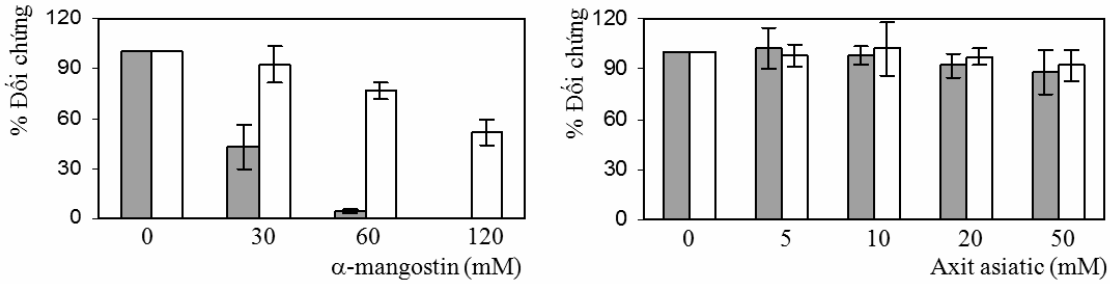
Hình 3. Ảnh hưởng của các axit yếu lên MLF của *S. mutans* tại các giá trị pH khác nhau. (100% hoạt tính đối chứng lần lượt tương ứng với giá trị 3,1 ± 0,23; 3,4 ± 0,31; 3,6 ± 0,29; 3,5 ± 0,36 µmole L-malate đã được sử dụng để lên men LMF trong 120 phút tại pH 5,0; 4,5; 4,0; 3,5)

Ảnh hưởng của các axit yếu lên MLF của tế bào *S. mutans* ở dạng biofilm

Sâu răng là bệnh gây ra do quá trình hình thành biofilm. Các vi khuẩn sâu răng tồn tại trên biofilm gọi là mảng bám răng. Các nghiên cứu đã chứng minh tế bào tồn tại trên các biofilm có khả năng chống chịu rất cao với các chất kháng khuẩn [11, 12]. Vì thế, các nghiên cứu chỉ thực sự có ý nghĩa khi được thực hiện với các tế bào trên biofilm. Như vậy, bước nghiên cứu trên biofilm rất quan trọng, giúp cung cấp những thông tin chìa khóa để khẳng định và phát triển các sản phẩm vệ sinh răng miệng mới. Trong nghiên cứu này, biofilm của *S. mutans* được tạo ra trên lam kính sử dụng môi trường chứa tryptone, cao nấm men và sucrose (TYS). Ảnh hưởng của các axit yếu lên MLF của *S. mutans* trên biofilm cũng được thực hiện tại pH = 4,0. Hoạt tính lên men MLF được đánh giá thông qua việc xác định hàm lượng L-malic đã được lên men sử dụng kít của hãng Boehringer Mannheim (Darmstadt, Đức) [14]. Kết quả thu được ở hình 4 cho thấy, axit capric và indomethacin vẫn là những chất ức chế MLF mạnh nhất với giá trị IC_{50} đạt khoảng 0,3 và 0,4 mM. Triclosan cũng có tác dụng này nhưng yếu hơn (IC_{50} ~ 1,5 mM). Các chất fluo và axit lauric cũng ức chế MLF của *S. mutans* trên biofilm nhưng ở những nồng độ cao hơn với IC_{50} lần lượt đạt 17 và 12 mM. Như vậy, các số liệu thu được đã chứng tỏ rằng các axit yếu có tác dụng ức chế MLF của *S. mutans* ở cả dạng tự do và biofilm.



Hình 4. Ảnh hưởng của các axit yếu lên MLF của *S. mutans* trên biofilm tại pH 4,0 (100% hoạt tính đối chứng tương đương với 2,7 ± 0,29 µmole L-malate đã được sử dụng để lên men MLF trong điều kiện thí nghiệm)



Hình 5. Ảnh hưởng của α-mangostin và axit asiatic lên MLF của *S. mutans*. Tế bào tự do: (■); Tế bào biofilm (□). (100% hoạt tính đối chứng tương đương với 3,9 ± 0,51 và 2,4 ± 0,43 lần lượt là lượng µmole L-malate đã được sử dụng để lên men MLF cuả tế bào dạng tự do và tế bào trên biofilm điều kiện thí nghiệm).

Ảnh hưởng của các chất kháng khuẩn tự nhiên α-mangostin và axit asiatic lên MLF của tế bào *S. mutans*

Các nghiên cứu trước đây của Nguyen et al.. (2011) [10] với α-mangostin và Nguyen et al. (2007) [9] với axit asiatic đều phát hiện thấy các chất này có khả năng gây chết vi khuẩn *S. mutans* theo cơ chế phụ thuộc pH. Giá trị pH càng thấp thì khả năng gây chết vi khuẩn càng cao. Điều này gợi ý chúng có hoạt tính sinh học cao ở điều kiện pH thấp. Nhằm tìm hiểu tác dụng của các chất kháng khuẩn sâu răng tự nhiên mới này lên MLF của *S. mutans*, chúng tôi đã tiến hành đánh giá ảnh hưởng của chúng lên MLF ở cả dạng huyền dịch và biofilm tại điều kiện pH = 4,0. Các số liệu trình bày trong

hình 5 đã cho thấy, α-mangostin ức chế mạnh MLF ở dạng huyền dịch với giá trị IC_{50} đạt 45 μM. MLF của *S. mutans* đã bị ức chế hoàn toàn ở nồng độ α-mangostin 120 μM. Trong khi đó, MLF của *S mutans* trên biofilm lại kém nhạy cảm hơn nhiều với α-mangostin. Ở nồng độ α-mangostin 120 μM, khả năng MLF vẫn còn đạt > 50%. Ngược lại, MLF ở cả dạng huyền dịch và biofilm của *S. mutans* khi có mặt axit asiatic đều không bị ức chế (hình 5). Như vậy, ngoài những đích tác dụng đã phát hiện trước đây, α-mangostin còn có thêm đích tác dụng là quá trình MLF của *S. mutans*. Điều này khẳng định thêm tính đa đích tác dụng với *S. mutans* của α-mangostin và khả năng ứng dụng của nó trong các sản phẩm vệ sinh răng miệng.

KẾT LUẬN

Bên cạnh những tính chất kháng khuẩn đã được phát hiện trước đây, α-mangostin và các axit yếu là những chất ức chế MLF của *S. mutans* có hiệu quả. Các chất này đều là những chất có đa đích tác dụng trên *S. mutans* và có khả năng sử dụng để kiểm soát có hiệu quả vi khuẩn *S. mutans*.

Lời cảm ơn: Công trình này được hỗ trợ về kinh phí của Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED, mã số 106.05-2011.44).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ansanay V., Dequin S., Blondin B., Barre P., 1993. Cloning, sequence and expression of the gene encoding the malolactic enzyme from *Lactococcus lactis*. FEBS Lett., 332: 74-80.
2. Barboza-Silva E., Castro A. C., Marquis R. E., 2009. Fluoride, triclosan and organic weak acids as modulators of the arginine deiminase system in biofilms and suspension cells of oral streptococci. Oral Microbiol. Immunol., 24(4): 265-71
3. Barboza-Silva E., Castro A. C., Marquis R. E., 2005. Mechanisms of inhibition by fluoride of urease activities of cell suspensions and biofilms of *Staphylococcus epidermidis, Streptococcus salivarius, Actinomyces naeslundii* and of dental plaque. Oral Microbiol. Immunol., 20(6): 323-32.
4. Battermann G., Radler F., 1991. A comparative study of malolactic enzyme and malic enzyme of different lactic acid bacteria. Can. J. Microbiol., 37: 211-217.
5. Denayrolles M., Aigle M., Lonvaud-Funel A., 1994. Cloning and sequence analysis of the gene encoding *Lactobacillus lactis* malolactic enzyme: relationships with malic enzymes. FEMS Microbiol. Lett., 116(1)79-86.
6. Herrero M., García L. A., Díaz M., 2003. Malolactic bioconversion using a *Oenococcus oeni* strain for cider production: effect of yeast extract supplementation. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 30(12): 699-704.
7. Marquis R. E., 1995. Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria, Can. J. Microbiol., 41(11): 955-964.
8. Nguyen P. T. M., Abranches J., Phan T. N., Marquis R. E., 2002. Repressed respiration of oral *Streptoccoci* grown in biofilms. Curr. Microbiol., 44(4): 262-266.
9. Nguyen Q. H., Phan T. N., Ngo V. Q., Phan V. K., 2007. Asiatic acid from *Syzygium resinosum* Gagnep plant and its anticaries activity against *Streptococcus mutans*. J. Pharmacol., 47(375): 19-22.
10. Nguyen P. T. M., Marquis R. E., 2011. Antimicrobial actions of alpha-mangostin against oral *Streptococci*. Can. J. Microbiol., 57(3): 217-25.
11. Phan T. N., Nguyen P. T. M., Abranches J., Marquis R. E., 2002. Fluoride and organic weak acids as respiration inhibitors for oral *Streptococci* in acidified environments. Oral Microl. Immunol., 17(2): 117-121.
12. Phan T. N., Reidmiller J. S., Marquis R. E., 2000. Sensitization of *Actinomyces naeslundii* and *Streptococcus sanguis* biofilms and suspensons to acid damage by fluoride and other weak acids. Arch. Microbiol., 174(4): 248-255.
13. Sheng J., Marquis R. E., 2006. Enhanced axit resistance of oral streptococci at lethal

pH values associated with axit-tolerant catabolism and with ATP synthase activity. FEMS Microbiol. Lett., 262(1): 93-98.

14. Sheng J., Baldeck J. D, Nguyen P. T. M., Quivey Jr. R. G, Marquis R. E., 2010. Alkaline production associated with malolactic fermentation by oral streptococci and protection against acid, oxidative and starvation damage. Can. J. Microbiol., 56(7): 539-47.
15. Strasser de Saad A. M., Pesce de Ruiz Holgado A. A., Oliver G., 1988. Malolactic enzyme in *Lactobacillus murinus*. Biochimie., 70(3): 357-365.

EFFECT OF SOME WEAK ACIDS AND PHYTOCHEMICALS ON MALOLACTIC FERMENTATION BY *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Nguyen Thi Mai Phuong, Hoang Phuong Ha, Pham Thi Tra, Tran Thi Nhung

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Streptococcus mutans and other certain oral lactic-acid bacteria have demonstrated to possess the ability to carry out malolactic fermentation involving decarboxylation of L-malate to yield L-lactic acid and concomitant reduction in acidity. The activity is inducible by L-malate in *S. mutans* growing in suspensions or biofilms. Alkalinization is associated with malolactic fermentation resulted in pH rise. Malolactic fermentation (MLF) has been identified as a major system for alkali production by oral streptococci, including *S. mutans*. Our major objectives in the work described here were to examine the effects of weak acids and some phytochemicals on MLF by *S. mutans* in both suspension and biofilm states. The obtained data indicated that all week acids tested including triclosan, indomethacin, carpric acid, fluoride and lauric acid inhibited MLF by *S. mutans* at IC_{50} of 0.22, 0.25, 0.08, 4.8 và 2.2 mM, respectively. The biofilm cells were also sensitive to the tested agents but at concentration of 10 to 50 folds higher compared to the suspension cells. The inhibition was in a pH dependent manner with increased inhibition was found at lower pH values. For phytochemicals, including α-mangostin and asiatic acid, only α–mangostin showed to be potent for MLF of cells in both suspension and biofilms with IC_{50} of ca. 45 and > 120 μM, respectively. Asiatic acid had no effect on MLF even at a high concentration of > 50 mM. The net conclusion is that MLF of *S. mutans* is sensitive to α-mangostin and weak acids, including fluoride and triclosan, which are commonly added to oral care products.

Keywords: Streptococcus mutans, Asiatic acid, α-mangostin, malolactic fermentation, MLF, week acids.

Ngày nhận bài: 24-10-2012