

DEVELOPMENT OF A PROBIOTIC GRANULE FORMULATION CONTAINING *BACILLUS SUBTILIS* AND *BACILLUS CLAUSII*

Nguyen Thi Huong, Ngo Nguyen Quynh Anh*

Hai Duong Central College of Pharmacy - 324 Nguyen Luong Bang, Le Thanh Nghi Ward, Hai Phong City, Vietnam

Received: 12/09/2025

Revised: 02/10/2025; Accepted: 09/10/2025

ABSTRACT

Objective: This study aimed to develop a formulation and manufacturing process for a probiotic granule product containing two beneficial strains, *Bacillus subtilis* M70 and *Bacillus clausii* M31, as well as to establish in-house quality specifications and evaluate the stability of the final product.

Methods: The probiotic granules were prepared using an optimized wet granulation method. Quality control parameters were evaluated according to the Vietnamese Pharmacopoeia V, including sensory properties, uniformity of mass, moisture content, disintegration time, and enumeration of viable microorganisms. The stability of the product was investigated under real-time (30°C ± 2°C, 75% ± 5% RH) and accelerated (40°C ± 2°C, 75% ± 5% RH) storage conditions.

Results: An optimized wet granulation process (drying at 40°C for 10 minutes) was successfully established, achieving a spore survival rate of 97.0%. The final product met all in-house specifications, featuring low moisture content (2.51%), rapid disintegration (2.19 minutes), and a high viable count (> 10⁹ CFU/g). Stability testing confirmed that the product remained stable for 5 months under real-time conditions and showed controlled degradation under accelerated conditions.

Conclusion: The study successfully developed an optimized manufacturing process and in-house standards for granules containing *B. subtilis* and *B. clausii*. The product met all quality criteria and demonstrated good stability, providing a strong scientific basis for future commercial development.

Keywords: Probiotics, yeast, granules, stability.

*Corresponding author

Email: qanhk63hup@gmail.com Phone: (+84) 988185505 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD18.3455>

NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN CHẾ PHẨM CỐM VI SINH CHỨA *BACILLUS SUBTILIS* VÀ *BACILLUS CLAUSII*

Nguyễn Thị Hường, Ngô Nguyễn Quỳnh Anh*

Trường Cao đẳng Dược Trung ương Hải Dương - 324 Nguyễn Lương Bằng, P. Lê Thanh Nghị, Tp. Hải Phòng, Việt Nam

Ngày nhận: 12/09/2025

Ngày sửa: 02/10/2025; Ngày đăng: 09/10/2025

ABSTRACT

Mục tiêu: Nghiên cứu này nhằm xây dựng công thức, quy trình bào chế chế phẩm cốm vi sinh chứa hai chủng lợi khuẩn *Bacillus subtilis* M70 và *Bacillus clausii* M31, đồng thời xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và đánh giá độ ổn định của chế phẩm.

Phương pháp nghiên cứu: Chế phẩm cốm vi sinh được bào chế bằng phương pháp xát hạt ướt. Các chỉ tiêu chất lượng được đánh giá theo Dược điển Việt Nam V, bao gồm tính chất cảm quan, độ đồng đều khối lượng, độ ẩm, độ rã và định lượng vi khuẩn sống. Độ ổn định của chế phẩm được khảo sát trong điều kiện lão hóa cấp tốc ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $75\% \pm 5\%$ RH) và điều kiện bảo quản thường ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $75\% \pm 5\%$ RH).

Kết quả: Quy trình bào chế cốm bằng phương pháp xát hạt ướt đã được tối ưu hóa (sấy 40°C , 10 phút), giúp tỷ lệ sống sót của bào tử đạt 97,0%. Sản phẩm thành phẩm đạt tiêu chuẩn cơ sở với độ ẩm thấp (2,51%), độ rã nhanh (2,19 phút) và hàm lượng vi khuẩn sống cao ($> 10^9$ CFU/g). Chế phẩm đạt yêu cầu tiêu chuẩn cơ sở đã đề ra. Các thử nghiệm độ ổn định cho thấy sản phẩm đạt yêu cầu ổn định trong 5 tháng ở điều kiện thường ($30^{\circ}\text{C}/75\%$ RH) và cho thấy sự suy giảm có kiểm soát ở điều kiện cấp tốc.

Kết luận: Nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình bào chế tối ưu và tiêu chuẩn cơ sở cho cốm vi sinh chứa *B.subtilis* và *B.clausii*. Sản phẩm đạt tất cả các chỉ tiêu chất lượng, bảo toàn được hàm lượng vi khuẩn sống cao. Chế phẩm chứng minh được độ ổn định tốt ở điều kiện bảo quản thực tế và cấp tốc. Chế phẩm có độ ổn định tốt, là cơ sở khoa học quan trọng để phát triển sản phẩm thương mại.

Từ khóa: Lợi khuẩn, men vi sinh, cốm, độ ổn định.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hệ vi sinh vật đường ruột đóng vai trò thiết yếu trong việc duy trì sức khỏe con người, và sự mất cân bằng của hệ vi sinh vật này có liên quan đến nhiều bệnh lý tiêu hóa. Probiotic, được định nghĩa là các vi sinh vật sống khi được đưa vào cơ thể với một lượng đủ sẽ mang lại lợi ích sức khỏe cho vật chủ, là một giải pháp hàng đầu để phục hồi sự cân bằng hệ vi sinh [1]. Trong số các vi sinh vật probiotic, vi khuẩn sinh bào tử thuộc chi *Bacillus*, như *Bacillus subtilis* và *Bacillus clausii*, đã nhận được sự quan tâm đặc biệt. Khả năng hình thành nội bào tử giúp chúng sống sót qua môi trường acid khắc nghiệt của dạ dày, đi đến ruột, nảy mầm và phát huy tác dụng có lợi, bao gồm cân bằng hệ vi sinh, ức chế mầm bệnh và điều hòa hệ miễn dịch [2].

Mặc dù có khả năng chống chịu tốt, khả năng sống của bào tử *Bacillus* vẫn có thể bị ảnh hưởng trong

quá trình bào chế và bảo quản. Tạo hạt là một kỹ thuật phổ biến để cải thiện độ trơn chảy và các đặc tính dược học của bột, nhưng thường bao gồm các công đoạn làm ẩm và sấy khô, đưa vào hai yếu tố bất lợi là độ ẩm và nhiệt độ, vốn được biết là ảnh hưởng tiêu cực đến sự sống của bào tử [3-4]. Do đó, việc xây dựng một quy trình sản xuất giúp giảm thiểu các yếu tố gây stress này là hết sức cần thiết.

Hơn nữa, để đảm bảo chất lượng và hiệu quả của sản phẩm, cần có các tiêu chuẩn kiểm soát chất lượng chặt chẽ và đặc thù. Các tiêu chuẩn này không chỉ bao gồm các phép thử dược phẩm thông thường (ví dụ: độ đồng đều khối lượng, độ rã) mà còn cả các phép thử vi sinh chuyên biệt để định danh chính xác và định lượng số lượng bào tử sống [5]. Cuối cùng, việc chứng minh độ ổn định của sản phẩm trong suốt hạn dùng, đặc biệt là ở những vùng khí hậu

*Tác giả liên hệ

Email: qanhk63hup@gmail.com Điện thoại: (+84) 988185505 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD18.3455>

khắc nghiệt như vùng nhiệt đới, là một yêu cầu bắt buộc về mặt quản lý và lâm sàng.

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục đích: xây dựng và tối ưu hóa quy trình bào chế cốm vi sinh chứa *B.subtilis* và *B.clausii* ở quy mô phòng thí nghiệm; xây dựng một bộ tiêu chuẩn cơ sở để kiểm soát chất lượng sản phẩm thành phẩm; đánh giá độ ổn định của chế phẩm đã bào chế ở cả điều kiện bảo quản thực và cấp tốc.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và thiết bị

Bột đông khô chứa bào tử *Bacillus subtilis* M70 và *Bacillus clausii* M31 được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu và Kinh doanh Dược, Trường Cao đẳng Dược Trung ương Hải Dương. Các tá dược (lactose, tinh bột, saccharose, sucralose, natri alginat, glycerin, magnesi stearat, talc) và các môi trường vi sinh (LB agar, SDA, TBX agar) đều đạt tiêu chuẩn dược điển hoặc tiêu chuẩn cơ sở.

Các thiết bị chính sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: cân phân tích (Sartorius, Đức), kính hiển vi soi nổi (Nikon, Nhật Bản), tủ sấy (Memmert, Đức), máy đếm khuẩn lạc (SIBATA, Nhật Bản), tủ cấy vi sinh an toàn sinh học (AIRTECH, Nhật Bản) và các dụng cụ phòng thí nghiệm khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng quy trình bào chế, thiết lập tiêu chuẩn cơ sở và đánh giá độ ổn định của cốm vi sinh chứa *B.subtilis* và *B.clausii*.

Cốm vi sinh được bào chế bằng phương pháp xát hạt ướt. Các thông số công nghệ trọng yếu ảnh hưởng đến độ sống sót của bào tử được khảo sát và tối ưu hóa, bao gồm:

- Ảnh hưởng của độ ẩm tương đối môi trường (khảo sát ở các mức 30%, 55%, 75%, 90% RH); điều kiện sấy (khảo sát nhiệt độ trong khoảng 30-50°C và thời gian 5-15 phút); ảnh hưởng của tá dược dính (khảo sát với nước và các dung dịch ethanol có nồng độ khác nhau).

Từ đó, một quy trình bào chế hoàn chỉnh ở quy mô phòng thí nghiệm được thiết lập.

Các chỉ tiêu chất lượng của cốm thành phẩm được xây dựng và đánh giá theo các phương pháp quy định trong Dược điển Việt Nam V.

- Cảm quan: quan sát bằng mắt thường về màu sắc, hình dạng, độ đồng nhất và độ tơi xốp của hạt cốm.

- Kích thước hạt: xác định bằng phương pháp đo trực tiếp trên kính hiển vi soi nổi có gắn thước đo.

- Độ ẩm: xác định bằng phương pháp mất khối lượng

do làm khô.

- Độ đồng đều khối lượng: theo chuyên luận Phụ lục 11.3, Dược điển Việt Nam V.

- Định tính: dựa trên kết quả nhuộm Gram và quan sát hình thái khuẩn lạc trên môi trường thạch dinh dưỡng.

- Định lượng vi khuẩn sống: xác định mật độ vi khuẩn sống (CFU/g) của từng chủng bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch.

- Giới hạn nhiễm khuẩn: thử nghiệm giới hạn tổng số nấm men, nấm mốc và sự hiện diện của *E.coli*, Coliforms theo chuyên luận Phụ lục 13.6, Dược điển Việt Nam V.

Sản phẩm cốm được đóng trong gói kín và bảo quản ở hai điều kiện theo hướng dẫn của ASEAN:

- Điều kiện dài hạn (điều kiện thực): nhiệt độ 30°C/ độ ẩm tương đối 75%.

- Điều kiện lão hóa cấp tốc: nhiệt độ 40°C/ độ ẩm tương đối 75%.

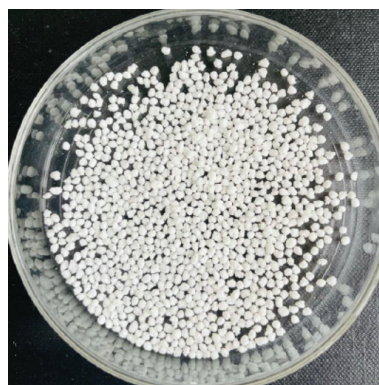
Các mẫu được lấy ra tại các thời điểm 0, 1, 2, 3, 4, 5 tháng và tiến hành đánh giá lại toàn bộ các chỉ tiêu chất lượng đã xây dựng trong tiêu chuẩn cơ sở.

Các kết quả được xử lý và trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD).

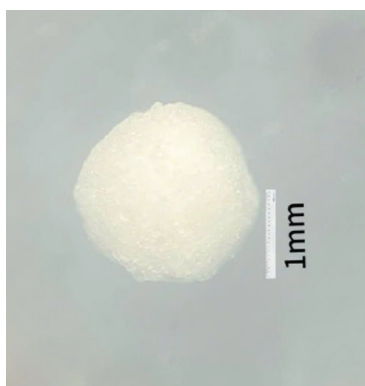
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Quy trình bào chế

Kết quả cho thấy khả năng sống sót của bào tử *Bacillus* rất nhạy cảm với các yếu tố môi trường. Độ sống sót giảm đáng kể khi độ ẩm tăng, chỉ còn 80,5% ở 75% RH và 60,6% ở 90% RH sau 7 ngày. Nghiên cứu sấy chỉ ra rằng nhiệt độ 40°C trong 10 phút là điều kiện tối ưu, cho tỷ lệ sống sót cao (97,0%) đồng thời loại bỏ ẩm hiệu quả (độ ẩm còn 3,5%). Từ đó, quy trình tối ưu được xác lập với việc kiểm soát độ ẩm môi trường < 55% và điều kiện sấy 40°C trong 10 phút.



Hình ảnh cốm trên đĩa Petri



Hình ảnh 1 hạt cốm

Hình 1. Hình ảnh cốm vi sinh

3.2. Đặc điểm và tiêu chuẩn chất lượng của cốm thành phẩm

Sản phẩm cốm thu được từ quy trình tối ưu có dạng hạt đồng nhất, màu trắng và trơn chảy tốt. Sản phẩm đáp ứng tất cả các chỉ tiêu trong tiêu chuẩn cơ sở đã xây dựng (bảng 1).

Bảng 1. Tóm tắt tiêu chuẩn cơ sở và kết quả kiểm nghiệm cốm thành phẩm

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Kết quả	Phương pháp thử
Cảm quan	Cốm trắng, đồng nhất, khô tơi	Đạt	Cảm quan
Kích thước hạt	2,0 mm $\pm$ 10%	2,01 $\pm$ 0,04 mm	Kính hiển vi
Độ đồng đều khối lượng	3,0g $\pm$ 7,5%	2,9791 $\pm$ 0,04 g	Dược điển Việt Nam V
Độ ẩm	$\leq$ 5,0%	2,51 $\pm$ 0,01%	Dược điển Việt Nam V 9.6
Độ rã	$\leq$ 5 phút	2,19 $\pm$ 0,13 phút	Dược điển Việt Nam V
Định tính	Trực khuẩn Gram dương	Đạt	Nhuộm Gram
Hàm lượng <i>B.subtilis</i>	$\geq 1,0 \times 10^9$ CFU/g	$3,0 \times 10^9$ CFU/g	Đếm khuẩn lạc
Hàm lượng <i>B.clausii</i>	$\geq 1,0 \times 10^9$ CFU/g	$3,1 \times 10^9$ CFU/g	Đếm khuẩn lạc
Nấm men, nấm mốc	≤ 100 CFU/g	< 10 CFU/g	Dược điển Việt Nam V
<i>E. coli</i> và <i>Coliforms</i>	KPH trong 1g / ≤ 10 CFU/g	Đạt	Dược điển Việt Nam V

3.2.1. Kết quả định tính

- Quan sát hình thái khuẩn lạc: trên môi trường LB agar, cả hai chủng vi khuẩn đều phát triển thành các khuẩn lạc có đặc điểm hình thái đặc trưng. Khuẩn lạc có màu trắng đục, dạng tròn, mép nguyên, kích thước tương đối đồng đều.

- Kết quả nhuộm Gram: khi tiến hành nhuộm Gram và quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 1000x, các tế bào vi khuẩn bắt màu tím xanh đặc trưng, khẳng định đây là vi khuẩn Gram dương. Về hình thái, tế bào có dạng hình que (trực khuẩn), tồn tại riêng rẽ hoặc kết thành chuỗi ngắn. Kết quả định tính tại tất cả các thời điểm kiểm tra đều cho kết quả dương tính (+), phù hợp với đặc điểm của chi *Bacillus*.

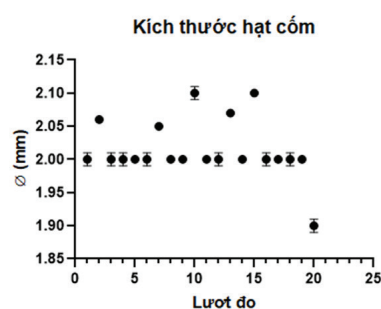
3.2.2. Kết quả định lượng (xác định lượng vi khuẩn sống)

Mật độ vi khuẩn sống của hai chủng *B.subtilis* và *B.clausii* trong sản phẩm cốm thành phẩm được xác định trên 3 lô khác nhau ở thời điểm ban đầu. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

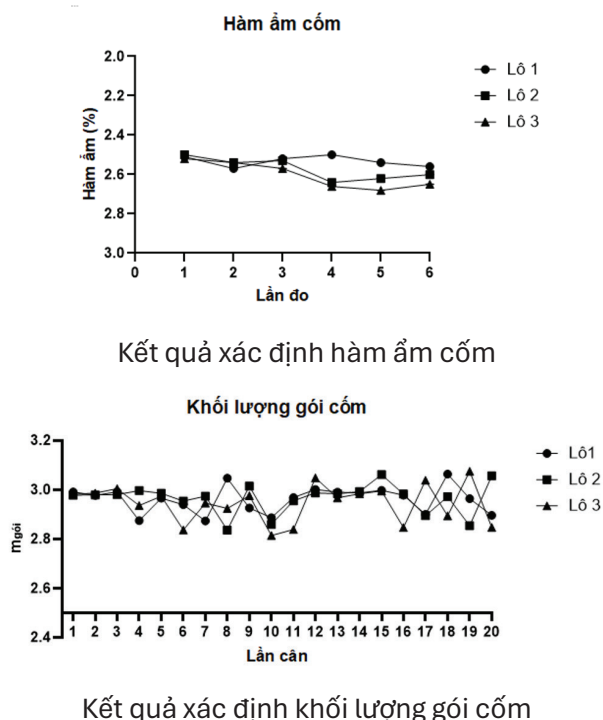
Bảng 2. Kết quả định lượng vi khuẩn sống trong 3 lô sản phẩm (thời điểm T = 0)

Lô sản xuất	Hàm lượng <i>B.subtilis</i>	Hàm lượng <i>B.clausii</i>
Lô 1	$3,2 \times 10^9$ CFU/g	$3,2 \times 10^9$ CFU/g
Lô 2	$3,0 \times 10^9$ CFU/g	$3,0 \times 10^9$ CFU/g
Lô 3	$2,9 \times 10^9$ CFU/g	$2,9 \times 10^9$ CFU/g

Hàm lượng vi khuẩn sống trung bình của *B.subtilis* là $3,0 \times 10^9$ CFU/g và của *B.clausii* là $3,0 \times 10^9$ CFU/g. Cả hai chủng đều có số lượng cao, vượt xa giới hạn tối thiểu cho phép trong tiêu chuẩn cơ sở ($\geq 10^9$ CFU/g), cũng là ngưỡng yêu cầu của FAO (2002). Kết quả cho thấy quy trình bào chế đã bảo toàn tốt mật độ vi sinh vật, đảm bảo sản phẩm có đủ hàm lượng để phát huy hiệu quả sinh học. Sự chênh lệch hàm lượng giữa các lô là không đáng kể, cho thấy quy trình sản xuất có độ lặp lại tốt.



Kết quả xác định kích thước hạt cốm

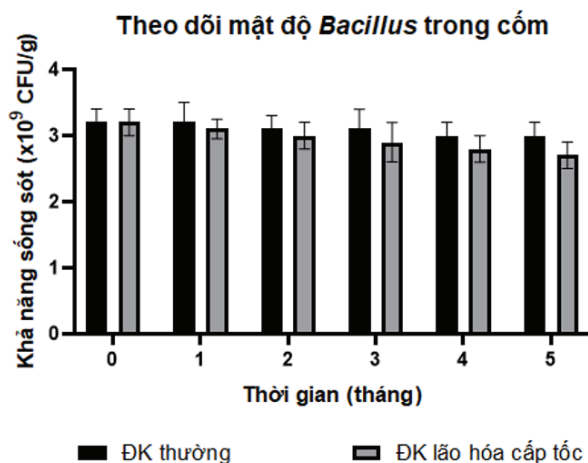


Hình 2. Biểu đồ xác định kết quả sau bào chế cốm

3.3. Kết quả nghiên cứu độ ổn định

Ở điều kiện thực (30°C/75% RH), sản phẩm cho thấy độ ổn định tốt. Trong suốt 5 tháng, các chỉ tiêu cảm quan, kích thước hạt, độ đồng đều khối lượng, độ ẩm và độ rã không thay đổi đáng kể. Hàm lượng CFU của cả hai chủng *B. subtilis* và *B. clausii* được duy trì ổn định và cao hơn nhiều so với giới hạn yêu cầu $\geq 10^9$ CFU/g.

Ở điều kiện lão hóa cấp tốc (40°C/75% RH), các chỉ tiêu vật lý của cốm vẫn duy trì tốt. Tuy nhiên, số lượng bào tử sống có xu hướng giảm dần từ tháng thứ hai. Tại cuối tháng thứ 5, hàm lượng CFU của cả hai chủng giảm khoảng 0,5 log, nhưng vẫn cao hơn ngưỡng có tác dụng.



Hình 3. Theo dõi mật độ *Bacillus* trung bình trong cốm

4. BÀN LUẬN

Trong khuôn khổ của nghiên cứu này, các bước tiếp cận từ phát triển quy trình, xây dựng tiêu chuẩn đến đánh giá độ ổn định đã được thực hiện một cách hệ thống, nhằm hướng tới việc hình thành một tiêu chuẩn cơ sở cho chế phẩm cốm vi sinh chứa hai chủng *Bacillus*. Kết quả từ giai đoạn chuẩn hóa quy trình đã một lần nữa khẳng định tầm quan trọng của việc kiểm soát chặt chẽ độ ẩm và nhiệt độ trong quá trình bào chế các sản phẩm chứa vi sinh vật. Dữ liệu thực nghiệm cho thấy sự suy giảm đáng kể độ sống sót của bào tử ở độ ẩm tương đối cao, điều này có thể được giải thích là do độ ẩm kích hoạt quá trình nảy mầm sớm của bào tử, dẫn đến chết tế bào trong điều kiện không đủ chất dinh dưỡng [4]. Tương tự, sự nhạy cảm của bào tử với nhiệt độ sấy trên 40°C cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây, cho thấy stress nhiệt có thể gây ra những tổn thương không thuận nghịch lên các cấu trúc tế bào quan trọng ngay cả với nội bào tử vốn có sức chống chịu cao [6]. Do đó, việc lựa chọn các thông số công nghệ tối ưu trong nghiên cứu này được xem là một sự cân bằng hợp lý giữa yêu cầu về mặt vật lý (đạt độ ẩm thấp) và mục tiêu bảo toàn hoạt tính sinh học của chế phẩm.

Sản phẩm cốm thành phẩm đã được kiểm nghiệm và cho thấy các chỉ tiêu đều đáp ứng yêu cầu theo Dược điển Việt Nam V. Điều này bước đầu cho thấy tính khả thi của quy trình bào chế đã xây dựng. Việc đạt được độ ẩm cuối cùng thấp (dưới 3%) là một tính chất đáng chú ý, vì đây là yếu tố then chốt liên quan trực tiếp đến độ ổn định lâu dài bằng cách duy trì bào tử ở trạng thái ngủ đông. Hơn nữa, việc sản phẩm đạt hàm lượng vi khuẩn sống cao (trên 10^9 CFU/g cho mỗi chủng) là một tiền đề quan trọng, đáp ứng khuyến cáo của các tổ chức quốc tế về liều lượng cần thiết để có thể phát huy hiệu quả lâm sàng [7].

Dữ liệu độ ổn định ban đầu cung cấp những bằng chứng sơ bộ về tiềm năng của sản phẩm. Ở điều kiện bảo quản thực (30°C/75% RH), sản phẩm cho thấy tính ổn định tốt trong 5 tháng theo dõi, gợi ý về khả năng lưu hành ở vùng khí hậu nhiệt đới mà không cần đến điều kiện bảo quản lạnh. Trong khi đó, sự suy giảm hàm lượng CFU quan sát được ở điều kiện lão hóa cấp tốc là một hiện tượng đã được dự đoán đối với các sản phẩm sinh học và đóng vai trò như một công cụ dự báo hữu ích. Tuy nhiên, cần nhìn nhận rằng đây mới chỉ là những kết quả ban đầu. Để có thể đưa ra kết luận vững chắc hơn, các nghiên cứu tiếp theo cần được tiến hành với thời gian theo dõi dài hạn hơn. Đồng thời, để cải thiện hơn nữa độ ổn định của chế phẩm, đặc biệt là trong điều kiện khắc nghiệt, việc khảo sát bổ sung các tá dược bảo vệ chuyên biệt như trehalose có thể là một hướng đi tiềm năng trong tương lai [9].

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng quy trình bào chế tối ưu cho chế phẩm cốm vi sinh chứa hai chủng *Bacillus subtilis* và *Bacillus clausii* và tiêu chuẩn chất lượng theo quy định Dược điển Việt Nam V. Chế phẩm cho thấy độ ổn định ở điều kiện bảo quản thực trong 5 tháng, khẳng định tiềm năng thương mại hóa mà không cần dây chuyền lạnh. Các kết quả này cung cấp một hồ sơ khoa học hoàn chỉnh, hỗ trợ cho việc sản xuất một sản phẩm probiotic an toàn, hiệu quả và ổn định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, 2001.
- [2] Sadrimovahed M, Ulusoy B.H. *Bacillus clausii*: A Review into Story of Its Probiotic Success and Potential Food Applications. *Fermentation*, 2024, 10 (10): 522.
- [3] Wang G, Chen Y, Xia Y, Song X, Ai L. Characteristics of Probiotic Preparations and Their Applications, *Foods*, 2022 Aug 16, 11 (16): 2472.
- [4] Cho S.S, Finocchiaro E.T. *Handbook of Prebiotics and Probiotics Ingredients*, CRC Press, 2010.
- [5] Bộ Y tế, Dược điển Việt Nam V, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2017.
- [6] Broeckx G, Vandenheuvel D, Claes I, Lebeer S, Kiekens F. Drying techniques for probiotic bacteria. *Drying Technology*, 2016, 34 (2), 137-153.
- [7] Harwood J.F, Farooq M, Turnwall B.T, Richardson A.G. Evaluating Liquid and Granular *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* Broadcast Applications for Controlling Vectors of Dengue and Chikungunya viruses in Artificial Containers and Tree Holes. *J Med Entomol*, 2015 Jul, 52 (4): 663-71.
- [8] Junjie Wu et al. *Bacillus subtilis* YN2014090 Water-Dispersible Granular Formulation for Controlling Powdery Mildew On Cucumber. *Journal of Crop Health*, 2024, 77:1.
- [9] Liu H, Yang S, Wang X, Wang T. Production of trehalose with trehalose synthase expressed and displayed on the surface of *Bacillus subtilis* spores. *Microb Cell Fact*, 2019 Jun 3, 18 (1): 100.

