

PHÂN LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA VI KHUẨN LACTIC ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ NEM CHUA BẾN TRE

Nguyễn Ngọc Thanh¹, Trần Thị Thùy Dương², Lưu Minh Châu¹, Bùi Hoàng Đăng Long¹,
Nguyễn Văn Thành¹, Đoàn Thị Kiều Tiên², Huỳnh Xuân Phong^{1*}

¹ Viện công nghệ sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

² Khoa Công nghệ Sinh Hóa - Thực phẩm, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ, Cần Thơ, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Huỳnh Xuân Phong <hxphong@ctu.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 18-09-2025; Hoàn thành phản biện: 13-03-2026; Ngày chấp nhận đăng: 31-03-2026)

Tóm tắt. Nem chua là một sản phẩm lên men truyền thống và là nguồn cung cấp dồi dào các vi khuẩn lactic (LAB) có tiềm năng probiotic. Việc phân lập và đánh giá một số đặc tính sinh học của LAB từ nem chua Bến Tre cũng như tiềm năng probiotic cần được nghiên cứu và ứng dụng như nguồn giống thuần chủng. Kết quả đã phân lập được 20 chủng LAB từ 5 mẫu nem chua được thu nhận từ 4 cơ sở ở Bến Tre. Trong đó, chủng XL1.3 cho hàm lượng acid cao nhất (25,54 g/L) sau 3 ngày nuôi cấy trong môi trường MRS. Khi bổ sung 3% (w/v) monosodium glutamate (MSG) trong môi trường MRS, tất cả các chủng đều có khả năng sinh γ -aminobutyric acid (GABA) với nồng độ 1,24–3,24 mg/mL sau 2 ngày lên men. Kết quả đánh giá tiềm năng probiotic của 8 chủng có khả năng tổng hợp GABA cho thấy chỉ có chủng NA1.3 có thể sống sót ở pH 2 và các chủng phân lập được có khả năng tồn tại ở pH 3, trong đó chủng NA2.4 đạt mật số cao nhất (7,05 log CFU/mL). Về khả năng kết dính, các chủng PD1.4, NA2.4 và NA1.3 có tỷ lệ kết dính cao (19,99–21,48%), trong đó chủng NA1.3 không chỉ là chủng duy nhất sống sót ở pH 2 mà còn có khả năng kết dính tốt. Kết quả cho thấy NA1.3 có khả năng tồn tại ở dạ dày và tiềm năng bám dính tại ruột, là hai đặc điểm quan trọng của một chủng probiotic triển vọng ứng dụng trong lên men nem chua.

Từ khóa: γ -aminobutyric acid (GABA), đặc tính sinh học, nem chua, vi khuẩn lactic acid

Isolation and evaluation of biological characteristics of lactic acid bacteria from Ben Tre fermented pork

Nguyen Ngoc Thanh¹, Tran Thi Thuy Duong², Luu Minh Chau¹, Bui Hoang Dang Long¹,
Nguyen Van Thanh¹, Doan Thi Kieu Tien², Huynh Xuan Phong^{1*}

¹ Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Cantho, Vietnam

² Faculty of Biological, Chemical and Food Technology, Can Tho University of Technology, Cantho, Vietnam

* Correspondence to Huynh Xuan Phong <hxphong@ctu.edu.vn>

(Received: 18 September 2025; Revised: 13 March 2026; Accepted: 31 March 2026)

Abstract. Fermented pork (nem chua) is a traditional product and a rich source of lactic acid bacteria (LAB) with probiotic potential. This study aimed to isolate and evaluate key biological properties of LAB from Ben Tre fermented pork, including lactic acid production, GABA biosynthesis, and probiotic potential in terms of acid tolerance and autoaggregation. A total of 20 LAB strains were isolated from 5 fermented samples during 5 days of fermentation, with the highest lactic acid concentration (25.54 g/L) observed on day 3. In MRS medium supplemented with 3% (w/v) monosodium glutamate (MSG), all

strains were capable of producing γ -aminobutyric acid (GABA) after 2 days of incubation, with concentrations ranging from 1.24 to 3.24 mg/mL. The eight strains with the highest GABA biosynthesis capacity were selected for probiotic evaluation. Among them, only NA1.3 strain survived at pH 2, while all strains remained viable at pH 3, with NA2.4 strain showing the highest bacterial density (7.05 log CFU/mL) after 3 h. Regarding autoaggregation ability, PD1.4, NA2.4, and NA1.3 exhibited the highest autoaggregation rates (19.99–21.48%). These findings indicate that NA1.3 strain is a potential candidate for future applications in fermented pork production.

Keywords: γ -aminobutyric acid (GABA), biological characteristics, fermented pork, lactic acid bacte

1 Mở đầu

Quá trình lên men của nhiều sản phẩm lên men truyền thống thường được khởi đầu bởi các chủng LAB có nguồn gốc tự nhiên, vốn hiện diện sẵn trong nguyên liệu thô, thiết bị chế biến hoặc môi trường sản xuất, mà không cần bổ sung giống khởi động thương mại [1]. Các chủng LAB này, thông qua quá trình thích nghi lâu dài với điều kiện môi trường đặc thù, có thể biểu hiện những đặc tính sinh lý và chuyển hóa riêng biệt [2]. Việc phân lập và tuyển chọn các chủng LAB tự nhiên từ những sản phẩm truyền thống để sử dụng làm giống khởi động đang ngày càng được quan tâm, do chúng thường thể hiện nhiều đặc điểm có lợi trong việc cải thiện chất lượng và giá trị cảm quan của thực phẩm lên men. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, việc ứng dụng các chủng LAB có nguồn gốc tự nhiên thay vì chủng thương mại có thể mang lại hiệu quả cao hơn trong việc tăng cường giá trị dinh dưỡng, đặc biệt là mùi vị và đặc trưng cảm quan của sản phẩm lên men [3, 4].

Tại Việt Nam, có nhiều loại thực phẩm lên men truyền thống có nguồn gốc cả động vật và thực vật như nem chua, mắm tôm, mắm cá, rau quả muối chua, sữa chua, kefir, cơm rượu,... Các sản phẩm này chủ yếu được lên men nhờ hệ vi sinh vật tự nhiên, trong đó LAB đóng vai trò quan trọng. Với lịch sử sử dụng lâu đời và tính an toàn cao, phần lớn các chủng LAB đều được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) công nhận là an toàn GRAS (Generally Recognized as Safe) [5]. Gần đây, LAB thu hút sự quan tâm mạnh mẽ từ giới nghiên cứu nhờ khả năng sinh

tổng hợp γ -aminobutyric acid (GABA) – một chất dẫn truyền thần kinh ức chế quan trọng trong hệ thần kinh trung ương của người và động vật [6–8]. Bên cạnh khả năng sinh GABA và các tác dụng tăng cường sức khỏe, nhiều chủng LAB còn thể hiện tiềm năng probiotic, được đánh giá thông qua khả năng chịu acid, chịu muối mật và bám dính vào tế bào biểu mô vật chủ [9].

Nem chua là một trong những sản phẩm lên men truyền thống điển hình của Việt Nam, được chế biến từ thịt và bì heo phối trộn với gia vị, được ủ lên men tự nhiên trong 3–5 ngày mà không cần xử lý nhiệt. Sản phẩm sau lên men có hương vị đặc trưng với sự hài hòa giữa vị ngọt, mặn, chua và cay, cấu trúc dai giòn cùng màu sắc hấp dẫn, tạo nên sức hấp dẫn riêng biệt. Bên cạnh nem chua thịt, Việt Nam cũng có một số sản phẩm phát triển gần đây là các sản phẩm nem chua chay. Các sản phẩm khá phổ biến hiện nay được làm từ nguyên liệu thực vật như củi buôi hoặc đu đủ bào sợi, kết hợp với nước khế, tỏi và gia vị, rồi lên men nhờ hệ vi sinh vật tự nhiên có trong nguyên liệu và môi trường sản xuất. Tại Bến Tre, việc tận dụng nguồn phụ phẩm dồi dào từ củi buôi đã góp phần hình thành món nem chua vỏ buôi – một đặc sản địa phương độc đáo, ngày càng được nhiều du khách biết đến và ưa chuộng [10].

Tuy nhiên, cho đến nay, các nghiên cứu về đặc tính của LAB phân lập từ các sản phẩm nem chua chay còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các chủng LAB từ hai loại nem chua – nem chua thịt

và nem chua chay từ cùi bưởi tại Bến Tre. Các chủng LAB được đánh giá dựa trên những đặc tính sinh học có lợi như khả năng sinh acid, tổng hợp GABA, chịu pH thấp và khả năng bám dính. Kết quả nghiên cứu kỳ vọng sẽ góp phần cung cấp nguồn giống thuần chủng tiềm năng phục vụ cho quá trình lên men lactic, đặc biệt là trong sản xuất nem chua.

2 Phương pháp

2.1 Nguyên vật liệu và hóa chất

Các mẫu nem chua được thu mua tại các cơ sở sản xuất ở Bến Tre. Mỗi mẫu thu khối lượng ít nhất 500 g, bao gồm Cơ sở 1 – NA (xã Mỏ Cày Nam) và Cơ sở 2 – XL (xã Giao Long); Cơ sở 3 – PD (xã Phú Đức) và Cơ sở 4 – VS (xã Phú Đức). Các mẫu này được trữ trong ngăn mát tủ lạnh (4–5°C) không quá 5 ngày.

Các hóa chất kiểm tra sinh hóa (nhuộm Gram, thử catalase và oxidase) sử dụng của Nam Khoa Biotek, Việt Nam. NaOH 0,1N (Cemaco, Việt Nam), GABA chuẩn (A2129, Merck KGaA, Đức) và một số hóa chất cơ bản tại phòng thí nghiệm. Môi trường *Lactobacillus* MRS agar (M641I, Himedia, Ấn Độ).

2.2 Phân lập và xác định đặc điểm của các chủng LAB trong nem chua

Năm gram (5 g) nem được tăng sinh trong bình tam giác có chứa 95 mL môi trường MRS. Các bình này được ủ ở 37°C trong 24–48 giờ và dịch tăng sinh được pha loãng đến nồng độ thích hợp. Sau đó, 0,1 mL dịch pha loãng được trải trên môi trường MRS agar có bổ sung CaCO₃ (0,5% w/v) và ủ ở 37°C trong 24–48 giờ. Các khuẩn lạc có khả năng phân giải CaCO₃ được cấy chuyển nhiều lần đến khi thu được các chủng LAB thuần khi có sự tương đồng về đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường thạch và đồng nhất về hình thái tế bào khi quan sát dưới kính hiển vi. Đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của các chủng vi khuẩn cũng như các

đặc sinh lý, sinh hóa của các chủng vi khuẩn được xác định theo Bergey's [11].

2.3 Khảo sát khả năng lên men của các chủng LAB phân lập

Các chủng LAB được nuôi cấy trong 5 mL môi trường MRS, nhiệt độ 37°C trong 24 giờ (mật số tế bào khoảng 10⁹ tế bào/mL). Sau đó, 0,1 mL dịch tăng sinh được chuyển vào ống nghiệm chứa 9 mL môi trường MRS. Các ống nghiệm được lên men ở 37°C trong 5 ngày [12]. Hàm lượng acid được ghi nhận qua mỗi ngày lên men bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH 0,1 N.

2.4 Khảo sát khả năng sinh GABA của các chủng LAB phân lập

Các chủng LAB được nuôi cấy tương tự như mô tả ở trên. Sau đó, 0,1 mL dịch tăng sinh được chuyển vào ống nghiệm chứa 9 mL môi trường MRS có bổ sung 3% MSG (w/v), pH ban đầu là 4,5. Các ống nghiệm được lên men tĩnh ở 37°C trong 24 giờ [13]. Hàm lượng GABA sinh ra trong môi trường được xác định bằng phương pháp quang phổ dựa trên phản ứng với phenol và natri hypochloride thông qua đường chuẩn GABA theo mô tả của Zhang và cộng sự [14].

2.5 Khảo sát khả năng chịu pH thấp của các chủng LAB phân lập

Sử dụng 1 mL dịch tăng sinh vi khuẩn LAB để chuyển vào ống nghiệm chứa 9 mL môi trường MRS với pH ban đầu là 1, 2, 3 (sử dụng HCl 5%). Các ống nghiệm được ủ ở 37 °C trong 3 giờ [15]. Mật số LAB được xác định bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường MRS [16].

2.6 Khảo sát khả năng tự kết dính của các chủng LAB phân lập

Các chủng LAB được nuôi cấy tương tự. Sinh khối sau khi nuôi cấy được thu nhận bằng cách ly tâm dịch nuôi 5.000 vòng/phút trong 5

phút ở 4 °C và rửa hai lần bằng đệm phosphate pH 7,2. Sinh khối sau đó được tái huyền phù trong các ống nghiệm sao cho OD_{600nm} của dung dịch đạt khoảng 0,25. Các ống nghiệm chứa 1 mL dịch huyền phù vi khuẩn được trộn đều trong 10 giây và để yên ở 37 °C trong 5 giờ. Đo OD_{600nm} lớp dịch phía trên ở các thời điểm 0 giờ và sau 5 giờ [17].

$$\text{Tỷ lệ tự kết dính (\%)} = \left(1 - \frac{At}{Ao}\right) \times 100$$

trong đó, At và Ao là OD_{600nm} tại thời điểm 5 giờ và 0 giờ.

2.7 Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

pH được xác định bằng máy đo pH Horiba (pH1100, Nhật Bản). Hàm lượng acid tổng được xác định bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH 0,1 N [18]. Hàm lượng GABA được xác định dựa trên phản ứng với phenol và natri hypocloride tạo ra sản phẩm màu xanh lam [14]. Xác định mật số LAB bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường thạch MRS ở 37 °C [16].

Phân tích phương sai (ANOVA) được sử dụng để đánh giá sự khác biệt đáng kể giữa nhiều

nhóm theo các phương pháp khảo sát khác nhau, sau đó là thử nghiệm LSD bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Hoa Kỳ) và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ). Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (± SD) của thí nghiệm được lặp lại ba lần với p < 0,05 có ý nghĩa thống kê.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả phân lập và xác định đặc điểm của các chủng vi khuẩn phân lập

Năm mẫu nem chua Bến Tre được thu thập từ 4 cơ sở sản xuất (lên men 3 ngày) được pha loãng và cấy trên môi trường MRS agar để phân lập LAB. Kết quả đã phân lập được 20 chủng LAB (Bảng 1). Trong đó, mẫu nem chua NA1 và XL1 phân lập được số lượng chủng vi khuẩn cao nhất (5 chủng/mẫu nem), kế đến là mẫu nem NA2 và PD1, mỗi loại phân lập được 4 chủng LAB. Riêng mẫu nem VS1 chỉ phân lập được 2 chủng. Nhìn chung, LAB đều hiện diện trong các mẫu nem với sự đa dạng về số lượng và chủng loại.

Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của các chủng vi khuẩn phân lập

Mẫu nem chua	Số chủng phân lập	Ký hiệu chủng phân lập	Đặc điểm khuẩn lạc nuôi cấy trên môi trường MRS ở 37 °C					Hình dạng tế bào
			Hình dạng	Độ nổi	Dạng bìa	Màu sắc	Bề mặt	
NA1 (cơ sở 1)	5	NA1.1	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Hình cầu
		NA1.2	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Que ngắn
		NA1.3	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Hình cầu
		NA1.4	Tròn	Phẳng	Hoi gợn sóng	Trắng ngà	Gồ ghề, khô	Que ngắn
		NA1.5	Tròn	Lài	Hoi gợn sóng	Trắng sữa	Tron, khô	Que ngắn
NA2 (cơ sở 1)	4	NA2.1	Tròn	Lài	Nguyên	Trắng ngà	Tron, ướt	Hình cầu
		NA2.2	Tròn	Phẳng	Hoi gợn sóng	Trắng ngà	Gồ ghề, khô	Que ngắn
		NA2.3	Tròn	Lài	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Hình cầu
		NA2.4	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Que ngắn

Mẫu nem chua	Số chủng phân lập	Ký hiệu chủng phân lập	Đặc điểm khuẩn lạc nuôi cấy trên môi trường MRS ở 37 °C					Hình dạng tế bào
			Hình dạng	Độ nổi	Dạng bìa	Màu sắc	Bề mặt	
(cơ sở 2)	5	XL1.1	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Que ngắn
		XL1.2	Tròn	Lài	Nguyên	Trắng ngà	Tron, khô	Hình cầu
		XL1.3	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Hình cầu
		XL1.4	Tròn	Lài	Nguyên	Trắng sữa	Tron, khô	Que ngắn
		XL1.5	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng sữa	Tron, láng	Hình cầu
(cơ sở 3)	2	VS1.1	Tròn	Lài	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Que dài
		VS1.2	Tròn	Lài	Hoi gợn sóng	Trắng sữa	Gồ ghề, khô	Que dài
(cơ sở 4)	4	PD1.1	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng ngà	Tron, láng	Hình cầu
		PD1.2	Tròn	Phẳng	Hoi gợn sóng	Trắng sữa	Gồ ghề, khô	Hình cầu
		PD1.3	Tròn	Mô	Nguyên	Trắng ngà	Tron, ướt	Hình cầu
		PD1.4	Tròn	Lài	Nguyên	Trắng sữa	Tron, ướt	Que ngắn

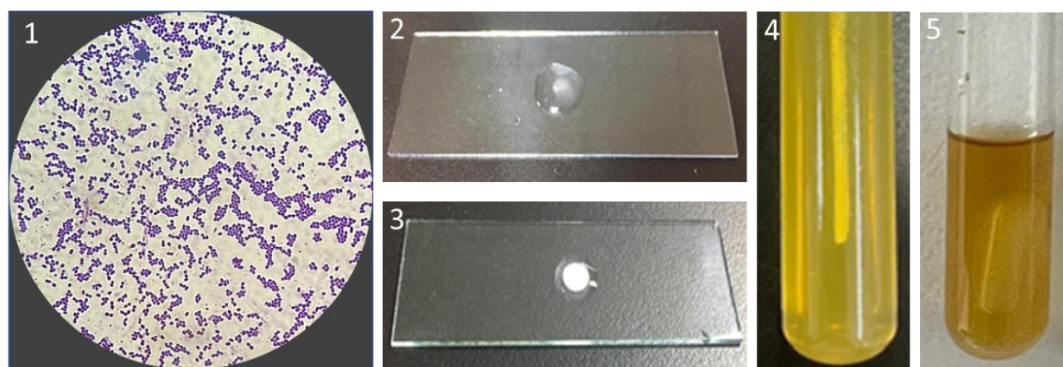
* Nem chua chay

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy các chủng vi khuẩn phân lập từ các mẫu nem chua có đặc điểm khuẩn lạc tương đối đồng nhất, với một số khác biệt nhỏ giữa các cơ sở sản xuất. Các chủng đều có khuẩn lạc tròn, đa số có bìa nguyên (15/20 chủng, chiếm tỷ lệ 75%), một số ít có dạng hơi gợn sóng (5/20 chủng, chiếm tỷ lệ 25%); độ nổi thuộc dạng mô (9/20 chủng, 45%), lồi (8/20 chủng, 40%) hoặc phẳng (3/20, 15%); màu sắc chủ yếu là trắng sữa (14/20 chủng, 70%) hoặc trắng ngà (6/20 chủng, 30%); quan sát bề mặt cho thấy khuẩn lạc thuộc dạng tron, ướt đối với nhiều chủng (11/20 chủng,

55%), tron, láng (2/20 chủng, 10%) hoặc tron, khô (3/20 chủng, 15%), riêng một số có bề mặt gồ ghề và khô (4/20 chủng, 20%). Kết quả quan sát dưới kính hiển vi cho thấy có 2 nhóm vi khuẩn chính là cầu khuẩn được ghi nhận ở các chủng NA1.1, NA1.3, NA2.1, NA2.3, XL1.2, XL1.3, XL1.5, PD1.1, PD1.2 và PD1.3 (chiếm tỷ lệ 50%). Các chủng còn lại là nhóm trực khuẩn dạng que ngắn (NA1.2, NA1.4, NA1.5, NA2.2, NA2.4, XL1.1, XL1.4, PD 1.4; tỷ lệ 40%) và que dài (VS1.1 và VS1.2; tỷ lệ 10%).

Bảng 2. Kết quả thử nghiệm sinh lý và sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập

Chủng LAB	Nhuộm Gram	Oxidase	Catalase	Di động	Lên men
NA1.2, NA1.3, NA1.4, NA1.5, NA2.1, NA2.2, NA2.3, NA2.4, XL1.1, XL1.2, XL1.3, XL1.4, XL1.5, VS1.1, PD1.1, PD1.2, PD1.3, PD1.4	+	-	-	-	Đồng hình
NA1.1, VS1.2	+	-	-	-	Dị hình



Hình 1. Hình dạng tế bào và một số thử nghiệm sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập

1) Nhuộm Gram tế bào và hình dạng của LAB quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính 100X; 2) Thử nghiệm catalase; 3) Thử nghiệm oxidase; 4) Thử nghiệm khả năng di động; 5) Thử nghiệm kiểu lên men (đồng hình hay dị hình)

Bên cạnh việc quan sát đặc điểm hình thái, các chủng LAB cũng được kiểm tra các thử nghiệm sinh lý và sinh hóa. Kết quả nhuộm Gram cho thấy tất cả các chủng đều thuộc nhóm Gram dương, xác nhận đặc điểm cấu trúc thành tế bào của vi khuẩn lactic. Các thử nghiệm oxidase và catalase đều cho kết quả âm tính, phù hợp với đặc tính kỵ khí tùy ý hoặc vi hiếu khí của nhóm vi khuẩn này [11,19]. Đồng thời, tất cả các chủng đều không có khả năng di động. Về kiểu lên men, hầu hết các chủng đều thực hiện lên men đồng hình, không tạo khí trong ống Durham. Riêng 2 chủng NA1.1 và VS1.2 có sự xuất hiện của bọt khí CO₂ trong ống Durham nên 2 chủng này thuộc kiểu lên men dị hình. Điều này cho thấy trong nem chua, LAB thường chủ yếu thực hiện lên men đồng hình để duy trì độ chua ổn định và kiểm soát chất lượng sản phẩm. Tuy nhiên, ngoài lactic acid, lên men dị hình còn sản sinh các hợp chất như ethanol, acetic acid, CO₂ và các hợp chất thơm khác, góp phần tạo nên hương vị đặc trưng của nem chua. Xác định chủng vi khuẩn lactic lên men đồng hình hay dị hình sẽ cung cấp thông tin rất quan trọng trong việc tạo và duy trì độ acid, giúp giữ độ chua ổn định chất lượng cũng như tạo hương vị đặc trưng của sản phẩm. Từ kết quả thử nghiệm đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập cho thấy có

những đặc điểm tương đồng với nhóm LAB theo mô tả của Vos và cộng sự [11], König & Fröhlich [18] và Lahtinen và cộng sự [20].

Các nghiên cứu gần đây cũng đã tập trung vào việc phân lập và tuyển chọn các chủng LAB có đặc tính phù hợp để làm vi khuẩn giống. Trong đó, nghiên cứu của Duong và cộng sự đã phân lập 19 chủng LAB từ nhiều loại nem chua thương mại, bao gồm cả sản phẩm truyền thống và công nghiệp [21]. Tương tự, Nguyen và cộng sự (2021) đã thu nhận 6 chủng LAB thuộc chi *Lactobacillus* từ dưa chua và nem chua thu thập tại Gia Lâm, Hà Nội, nhằm ứng dụng trong bảo quản nấm sò [22]. Trước đó, Truong và cộng sự (2020) đã phân lập 20 chủng LAB từ nem chua thương mại tại Việt Nam và Thái Lan, trong đó có một chủng tiềm năng để sản xuất nem chua nấm rom [23]. Nhìn chung các kết quả cho thấy, LAB rất đa dạng về chủng loại và có thể được tìm thấy dễ dàng trong các loại thực phẩm, đặc biệt là thực phẩm lên men.

3.2 Khả năng lên men của các chủng LAB phân lập

Vi khuẩn lactic acid có khả năng sinh ra lactic acid, làm giảm pH của môi trường, ức chế sự phát triển của nhiều loại vi khuẩn có hại, đặc biệt là vi khuẩn gây bệnh và vi khuẩn gây thối rữa

thực phẩm. Kết quả phân tích thể hiện ở Bảng 3 cho thấy sau 5 ngày lên men, 20 chủng LAB đều có khả năng sinh lactic acid trong môi trường MRS. Cụ thể, ở ngày đầu tiên, hàm lượng acid dao động từ 5,93–16,58 g/L, thấp nhất trong 5 ngày khảo sát. Nguyên nhân là do vi khuẩn còn trong giai đoạn thích nghi và phát triển sinh khối. Trong đó, chủng NA2.1 có tốc độ thích nghi nhanh nhất, tạo ra 16,58 g/L lactic acid. Các chủng LAB như NA1.3, NA2.3, XL1.4, PD1.1, PD1.2, PD1.3 và VS1.2 có xu hướng tăng sau 2 ngày lên men nhưng lại giảm qua ngày thứ 3 và tiếp tục tăng vào ngày 4, ngày 5. Nguyên nhân là do sự tích lũy acid làm giảm pH môi trường, ức chế sự sinh trưởng của LAB [24]. Tuy nhiên, hàm lượng acid lại tiếp tục tăng qua các ngày tiếp theo là do lúc này chúng đã dần thích nghi tốt với điều kiện môi trường vào ngày thứ 3 và 4 của quá trình lên men, hàm lượng lactic acid của các chủng LAB thể

hiện xu hướng biến động không đồng nhất. Cụ thể, nồng độ lactic acid dao động trong khoảng 9,68–25,43 g/L ở ngày 3 và 8,55–21,60 g/L ở ngày 4. Trong số các chủng được khảo sát, chủng XL1.3 ghi nhận giá trị lactic acid cao nhất vào ngày 3 (25,43 g/L), đồng thời cũng là giá trị cực đại trong suốt 5 ngày theo dõi. Ngược lại, chủng XL1.1 cho thấy xu hướng tăng dần theo thời gian, đạt cực đại vào ngày 4 (21,60 g/L) trước khi giảm nhẹ ở ngày 5. Việc tăng mạnh hàm lượng acid trong quá trình lên men giúp tạo ra môi trường ưu thế cho nhóm vi khuẩn lactic đồng thời ức chế được nhóm vi khuẩn gây bệnh và gây hỏng thực phẩm, đây là ưu điểm quan trọng của các chủng vi khuẩn lactic lên men đồng hình trong sản phẩm nem chua. Kết quả phù hợp với tỷ lệ xuất hiện cao hơn của nhóm vi khuẩn này như đã được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 3. Hàm lượng lactic acid sinh ra trong môi trường MRS theo thời gian của các chủng LAB

Chủng	Hàm lượng acid (g/L)				
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
NA1.1	11,93±0,23 ^{cd}	13,05±0,45 ^{bc}	24,23±0,47 ^a	19,35±0,23 ^b	13,73±0,23 ^h
NA1.2	13,95±0,45 ^{bc}	10,58±0,45 ^d	12,38±0,45 ^{ef}	13,65±0,13 ^{fg}	16,13±0,56 ^f
NA1.3	8,55±1,03 ^{hi}	15,53±0,23 ^a	12,90±0,13 ^{ef}	16,80±1,02 ^{cd}	13,28±0,23 ^{hi}
NA1.4	6,98±0,23 ^{jk}	13,43±1,24 ^b	18,38±0,85 ^c	17,10±0,60 ^c	18,75±0,35 ^{cd}
NA1.5	10,20±0,26 ^{fg}	12,83±0,59 ^{bc}	18,45±0,23 ^c	15,75±0,45 ^{de}	19,65±0,56 ^c
NA2.1	16,58±0,35 ^a	15,30±1,03 ^a	11,70±0,23 ^f	10,05±0,34 ⁱ	12,45±0,35 ^{ij}
NA2.2	10,88±0,13 ^{defg}	12,38±0,98 ^{bc}	12,60±0,59 ^{ef}	13,20±0,57 ^g	11,25±0,23 ^{kl}
NA2.3	11,25±0,81 ^{def}	12,98±0,72 ^{bc}	12,60±0,23 ^{ef}	18,53±1,15 ^b	18,60±0,57 ^{cd}
NA2.4	11,63±0,35 ^{de}	11,95±0,47 ^c	21,15±1,03 ^b	18,60±0,47 ^b	17,18±0,57 ^{ef}
XL1.1	7,88±0,23 ^{ij}	14,55±0,34 ^a	20,85±0,47 ^b	21,60±0,81 ^a	14,93±0,69 ^g
XL1.2	6,08±0,81 ^k	8,48±0,35 ^e	10,35±1,35 ^g	8,55±1,03 ^j	10,43±1,02 ^l
XL1.3	11,25±0,60 ^{def}	12,38±0,59 ^{bc}	25,43±1,03 ^a	14,48±0,91 ^{fg}	16,58±0,69 ^f
XL1.4	9,60±0,13 ^{gh}	12,30±1,02 ^{bc}	12,00±0,91 ^{ef}	18,45±0,23 ^b	23,85±1,35 ^a
XL1.5	11,30±2,00 ^{def}	12,83±0,59 ^{bc}	16,38±0,57 ^d	11,30±0,68 ^{hi}	18,15±0,57 ^{de}
VS1.1	13,20±0,72 ^b	14,85±0,45 ^a	18,38±0,69 ^c	19,13±0,45 ^b	22,80±0,94 ^b
VS1.2	13,20±0,72 ^b	10,20±0,79 ^d	9,68±0,81 ^g	11,18±0,56 ^{hi}	16,65±0,60 ^f
PD1.1	8,33±0,45 ^{hi}	15,60±0,35 ^a	13,13±0,13 ^e	14,25±0,79 ^{fg}	14,78±0,35 ^g

Chủng	Hàm lượng acid (g/L)				
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5
PD1.2	10,58±0,39 ^{defg}	12,83±0,68 ^{bc}	10,20±0,69 ^s	10,43±0,69 ^{hi}	11,93±0,68 ^{ik}
PD1.3	10,50±0,69 ^{efg}	10,73±0,35 ^d	9,98±0,69 ^s	11,70±0,60 ^h	12,90±0,35 ^{hij}
PD1.4	8,33±1,25 ^{hi}	13,35±0,35 ^b	20,18±1,24 ^b	14,63±1,41 ^{ef}	16,28±0,57 ^t

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% ($p < 0,05$)

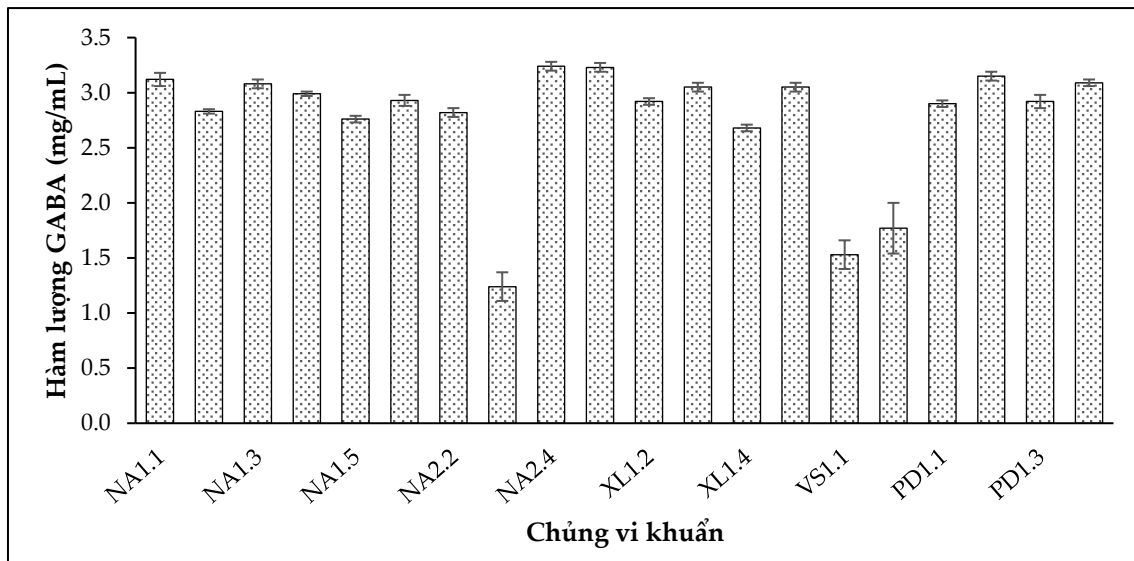
Kết quả này có sự tương đồng so với các nghiên cứu trước đây, xu hướng sinh acid đạt đỉnh trong vòng 48–72 giờ rồi giảm dần khi kéo dài thời gian lên men [22,23]. Nghiên cứu của Nguyen và cộng sự [22] cho thấy 2 chủng vi khuẩn D2.1 và D2.2 có khả năng sinh lactic acid cao nhất ở mức 19,17 g/L (D2.1) và 19,38 g/L (D2.2) sau 72 giờ nuôi cấy trong môi trường MRS. Nghiên cứu của Truong và cộng sự [23] cũng xác định các chủng vi khuẩn lactic phân lập cho hàm lượng acid ở mức 10,5–21,0 g/L khi nuôi cấy ở điều kiện tương tự. Nguyên nhân của sự giảm này là do thời gian nuôi cấy kéo dài có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng của vi khuẩn, đồng thời sự tích lũy acid dẫn đến giảm pH và ức chế LAB. Ngoài ra, một số loài LAB có thể sử dụng lactic acid làm cơ chất trong điều kiện thiếu oxy hoặc chuyển sang con đường lên men dị hình tạo ra ethanol, acetic acid, acetaldehyde, diacetyl và 1,2-propanediol dẫn đến giảm lượng lactic acid [24, 25]. Xét về hàm lượng acid sinh ra, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cao hơn trong công bố của Le và cộng sự (đạt 18,30 g/L sau 72 giờ lên men) và công bố của Truong và cộng sự (đạt 21,0 g/L sau 96 giờ lên men) [13, 23]. Nhìn chung, mỗi loài LAB có một cơ chế chuyển hóa riêng biệt, đặc tính khác nhau, ảnh hưởng đến tốc độ và lượng acid mà chúng sản xuất.

3.3 Khả năng sinh GABA của các chủng LAB được phân lập

Kết quả ở Hình 2 cho thấy 20 chủng LAB đều có khả năng sinh GABA trong môi trường

MRS có bổ sung 3% MSG (w/v), pH 4,5 sau 2 ngày lên men. Các chủng NA2.4, XL1.1, PD1.2, NA1.1, PD1.4, NA1.3, XL1.5, XL1.3, NA1.4, NA2.1, XL1.2 và PD1.3 có hàm lượng GABA sinh ra ở mức cao và nằm trong khoảng 2,92–3,24 mg/mL, khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các chủng với nhau, trong đó NA2.44 có hàm lượng GABA cao nhất là 3,24 mg/mL. Ngược lại, chủng NA2.3 có hàm lượng GABA thấp nhất là 1,24 mg/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại.

Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh LAB có khả năng chuyển hóa MSG thành GABA với vai trò của enzyme glutamate decarboxylase (GAD). Đây là enzyme được mã hóa bởi *gad* operon với các gen *gadA*, *gadB* và *gadC* [26]. Hệ gen này đồng thời cũng giúp LAB có khả năng tồn tại ở điều kiện môi trường acid của các sản phẩm lên men [27]. Năm 2021, Ngo và cộng sự xác định các chủng LAB có khả năng sinh GABA (1,351–4,279 mg/mL sau 72 giờ) trong môi trường MRS bổ sung 4% w/v [28]. Tương tự, Yogeswara và cộng sự đã phân lập 12 chủng LAB có khả năng sản xuất GABA ở mức 1,11–2,68 mg/mL sau 24 giờ nuôi cấy trong môi trường MRS lỏng có bổ sung 5% w/v MSG [29]. Kết quả ở Bảng 4 cho thấy đã xác định được 8 chủng LAB (NA1.1, NA1.3, NA2.4, PD1.2, PD1.4, XL1.1, XL1.3 và XL1.5) có khả năng sinh GABA cao nhất để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Hàm lượng GABA sinh ra trong môi trường MRS sau 2 ngày lên men của các chủng LAB

3.4 Khả năng chịu pH thấp của các chủng LAB phân lập

Khả năng chịu acid là tiêu chí quan trọng để đánh giá tiềm năng probiotic của vi khuẩn, đặc biệt trong điều kiện dạ dày (pH từ 1,5–2,0). Giá trị pH (2–3) trong 3 giờ là ngưỡng quan trọng để sàng lọc các chủng LAB tiềm năng [9]. Do đó, thí nghiệm được tiến hành nhằm đánh giá khả năng sống sót của các chủng LAB trong môi trường có pH 1, 2 và 3 sau 3 giờ ủ.

Kết quả nghiên cứu cho thấy không có chủng nào sống sót tại pH 1 sau 3 giờ ủ. Theo kết quả được trình bày ở Bảng 4, tại thời điểm 0 giờ,

7/8 chủng LAB có khả năng sống sót ở pH 2, trong đó NA1.3 đạt mật số vi khuẩn cao nhất (7,29 log CFU/mL), không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với NA2.4 (7,28 log CFU/mL) nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các chủng còn lại. Đáng chú ý, mật số của XL1.3 không được ghi nhận tại pH 2 ở thời điểm 0 giờ, có thể do chủng này nhạy cảm với pH thấp, dẫn đến tổn thương màng tế bào và làm chết các tế bào trong thời gian ngắn. Sau 1 giờ ủ ở pH 2, chỉ còn các chủng NA1.3 và PD1.2 sống sót với mật số lần lượt là 5,43 và 4,34 log CFU/mL. Sau 3 giờ, NA1.3 là chủng duy nhất còn tồn tại, tuy nhiên mật số vi khuẩn tiếp tục giảm theo thời gian.

Bảng 4. Mật số LAB trong môi trường MRS ở pH 2 và 3 sau 3 giờ nuôi cấy

Chủng	Mật số LAB (logCFU/mL) ở pH 2				Mật số LAB (logCFU/mL) ở pH 3			
	0 giờ	1 giờ	2 giờ	3 giờ	0 giờ	1 giờ	2 giờ	3 giờ
NA1.1	5,99±0,06 ^b	-	-	-	7,18±0,01 ^c	6,68±0,04 ^d	5,45±0,01 ^f	4,48±0,06 ^g
NA1.3	7,29±0,03 ^a	5,43±0,01 ^a	4,98±0,03 ^a	3,69±0,13 ^a	7,45±0,02 ^a	6,93±0,08 ^e	5,33±0,01 ^g	6,89±0,04 ^b
NA2.4	7,28±0,03 ^a	-	-	-	7,35±0,00 ^b	7,40±0,01 ^a	7,26±0,01 ^a	7,05±0,01 ^a
XL1.1	4,10±0,02 ^f	-	-	-	6,39±0,02 ^g	7,18±0,01 ^b	7,01±0,05 ^b	6,23±0,02 ^d
XL1.3	-	-	-	-	6,74±0,03 ^e	6,14±0,01 ^e	5,69±0,04 ^e	5,02±0,04 ^f
XL1.5	4,31±0,04 ^e	-	-	-	6,99±0,06 ^d	6,77±0,01 ^d	6,35±0,04 ^d	5,89±0,01 ^e

Chủng	Mật số LAB (logCFU/mL) ở pH 2				Mật số LAB (logCFU/mL) ở pH 3			
	0 giờ	1 giờ	2 giờ	3 giờ	0 giờ	1 giờ	2 giờ	3 giờ
PD1.2	4,54±0,04 ^d	4,34±0,08 ^b	-	-	7,17±0,01 ^c	7,02±0,05 ^c	6,82±0,01 ^c	6,55±0,01 ^c
PD1.4	4,75±0,04 ^c	-	-	-	6,41±0,07 ^f	5,24±0,01 ^f	4,54±0,04 ^s	4,28±0,06 ^h

Ghi chú: Các giá trị trung bình ± sai số chuẩn có kí hiệu chữ cái khác nhau đi kèm kết quả thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

Kết quả ở Bảng 4 cũng cho thấy tất cả các chủng LAB đều có khả năng sống sót sau 3 giờ ở điều kiện pH 3. Cụ thể, chủng NA2.4 có mật số vi khuẩn khá cao (7,05 logCFU/mL) và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại. Nhìn chung, các chủng LAB có xu hướng giảm mật số qua các giờ lên men liên tiếp. Tuy nhiên, chủng XL1.1 khả năng duy trì mật số và thích nghi tốt sau một giờ lên men từ 6,39 lên đến 7,18 logCFU/mL. Ngoài ra, chủng NA1.3 có mật số vi khuẩn cao nhất tại thời điểm ban đầu là 7,45 logCFU/mL khác biệt có ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại, nhưng có xu hướng giảm mật số sau 2 giờ lên men và tăng trở lại sau 3 giờ lên men là 6,89 logCFU/mL.

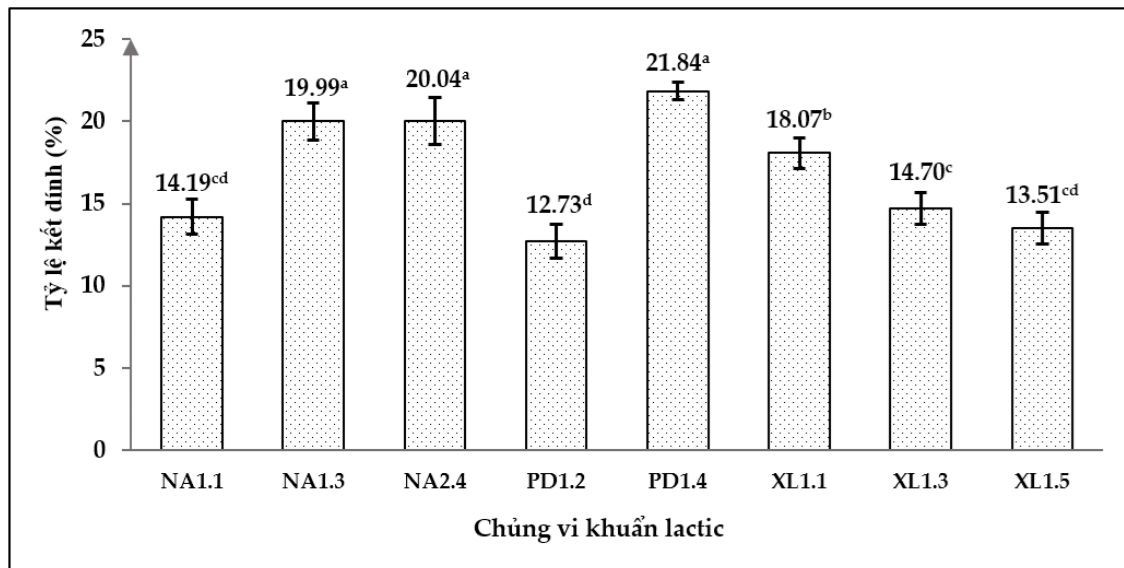
Khi pH giảm quá thấp, ion H⁺ xâm nhập vào tế bào, làm biến đổi cấu trúc protein và enzyme, dẫn đến mất hoạt tính của các enzyme thiết yếu cho sự sinh trưởng, thậm chí gây phá vỡ màng tế bào [30]. Do đó, LAB thường có khả năng sống sót thấp trong môi trường acid mạnh. Tuy nhiên, một số chủng có thể thích nghi nhờ các cơ chế bảo vệ như điều hòa pH nội bào thông qua bơm H⁺ ra ngoài bằng ATPase, hoặc sử dụng hệ enzyme arginine deiminase để chuyển hóa arginine thành ornithine, NH₃ và CO₂, góp phần duy trì pH nội bào [31]. Nhờ đó, LAB vẫn có thể tồn tại và phát triển trong điều kiện acid thấp.

Các kết quả thu được trong nghiên cứu này tương đồng với một số công bố trước đây. Ở pH ≤ 2,0, hầu như không phát hiện tế bào vi khuẩn

sống sau 1 giờ, cho thấy phần lớn các chủng LAB phân lập không thể tồn tại trong môi trường acid khắc nghiệt. Theo Chemlal-Kherraz và cộng sự, tất cả các chủng LAB phân lập từ ruột cá rô sông Nile đều có khả năng sống sót ở pH 3, trong đó ba chủng vẫn tồn tại ở pH 2 sau 3 giờ ủ, nhưng không có chủng nào sống sót ở pH 1 [32]. Nghiên cứu của Nguyen và cộng sự ghi nhận 6/7 chủng LAB phân lập từ sữa dê và chế phẩm men tiêu hóa có thể chịu được pH 3 trong 3 giờ, với mật số trung bình dao động từ 7,93–9,10 logCFU/mL [33]. Những nghiên cứu này khẳng định khả năng chịu acid của LAB là khác nhau tùy thuộc vào từng loài và chủng cụ thể. Do đó, việc sàng lọc LAB trong điều kiện acid khắc nghiệt đóng vai trò quan trọng trong việc lựa chọn các chủng vi khuẩn có tiềm năng ứng dụng làm men vi sinh.

3.5 Khả năng tự kết dính các chủng LAB phân lập

Khả năng tự kết dính là một tiêu chí quan trọng trong sàng lọc probiotic. Tính chất này giúp các tế bào LAB liên kết với nhau, tạo thành hàng rào sinh học ngăn cản sự xâm nhập của vi khuẩn gây bệnh. Đồng thời, khả năng tự kết dính còn liên quan mật thiết đến khả năng bám dính vào tế bào biểu mô ruột, giúp LAB chống lại sự đào thải do nhu động ruột và nâng cao khả năng tồn tại trong đường tiêu hóa [34]. Khả năng tự kết dính của các chủng LAB phân lập từ nem chua được trình bày trong Hình 3.



Hình 3. Khả năng tự kết dính của các chủng vi khuẩn lactic

Các chữ cái khác nhau ở các cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); I: Độ lệch chuẩn của 3 lần lặp lại với số liệu trên mỗi cột thể hiện giá trị trung bình.

Kết quả thí nghiệm được thể hiện dạng biểu đồ ở Hình 3 cho thấy 8 chủng khảo sát đều có khả năng tự kết dính với nhau trong dung dịch đệm phosphate (pH 7,2). Khả năng tự kết dính của các chủng dao động từ 12,73% đến 21,84%. Trong đó, chủng PD1.4, NA2.44 và NA1.3 có tỷ lệ kết dính cao (19,99–21,48%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại ở mức ý nghĩa 5%. Trong đó, chủng PD1.4 có tỷ lệ kết dính cao nhất (21,84%) và chủng PD1.2 có tỷ lệ kết dính thấp nhất (12,73%). Sự kết dính có liên quan đến bề mặt của các tế bào vi khuẩn do sự tương tác vật lý giữa bề mặt vi khuẩn bao gồm lực van der Waals và tương tác tĩnh điện hay có liên quan các chất tiết ra, chẳng hạn như exopolysaccharide, giúp chúng kết dính với nhau hoặc với các bề mặt khác [35, 36].

Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Do và Nguyen xác định chủng *L. fermentum* NU17 phân lập từ ruột cá nục có tỷ lệ kết dính đạt 36,58% [37] và Nguyen và cộng sự cho thấy khả năng tự kết dính của chủng *Pediococcus pentosaceus* R6 đạt 47% và thấp nhất là *L. fermentum* NU1 đạt 36% được phân lập từ mắm cá com [38]. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu khả năng tự kết dính

của chủng *Bifidobacterium* ở 37 °C bởi Rahman và cộng sự nằm trong khoảng 0,9% đến 13,2%, thấp hơn so với kết quả nghiên cứu này [39]. Từ các kết quả thu được, có thể kết luận rằng mỗi chủng LAB có khả năng tự kết dính khác nhau, thậm chí là các chủng khác nhau trong cùng một loài cũng có tỷ lệ tự kết dính là rất khác nhau.

4 Kết luận

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy 8 chủng vi khuẩn lactic được chọn lọc từ 20 chủng ban đầu phân lập từ 4 cơ sở sản xuất nem chua Bến Tre có khả năng sống sót trong môi trường pH 3, có khả năng sinh GABA và tỷ lệ kết dính cao. Kết quả nghiên cứu này là tiền đề quan trọng cho việc nghiên cứu cho các nghiên cứu tiếp theo xác định các đặc tính probiotic và khả năng kháng khuẩn của chủng vi khuẩn, giúp mở rộng tiềm năng ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm nói chung và nem chua nói riêng.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được tài trợ kinh phí từ đề tài khoa học và công nghệ Bộ Giáo dục và Đào tạo (mã số B2024-TCT-13).

Tài liệu tham khảo

1. Franz CMAP, Huch M, Mathara JM, Abriouel H, Benomar N, Reid G, et al. African fermented foods and probiotics. *Int J Food Microbiol.* 2014;190:84-96.
2. Rodríguez LGR, Mohamed F, Bleckwedel J, Medina R, Vuyst LD, Hebert EM, et al. Diversity and functional properties of lactic acid bacteria isolated from wild fruits and flowers present in Northern Argentina. *Front Microbiol.* 2019;10:1091.
3. Pereira N, Alegria C, Aleixo C, Martins P, Goncalves EM, Abreu M. Selection of autochthonous lab strains of unripe green tomato towards the production of highly nutritious lacto-fermented ingredients. *Foods.* 2021;10(12):2916.
4. Li S, Tao Y, Li D, Wen G, Zhou J, Manickam S, et al. Fermentation of blueberry juices using autochthonous lactic acid bacteria isolated from fruit environment: Fermentation characteristics and evolution of phenolic profiles. *Chemosphere.* 2021;276:130090.
5. US Food and Drug Administration. Generally Recognized as Safe (GRAS). US Food and Drug Administration; 2023.
6. Ly D, Mayrhofer S, Yogeswara IBA, Nguyen TH, Domig KJ. Identification, classification and screening for γ -amino-butyric acid production in lactic acid bacteria from Cambodian fermented foods. *Biomolecules.* 2019;9(12):768.
7. Phuengjayaem S, Booncharoen A, Tanasupawat S. Characterization and comparative genomic analysis of gamma-aminobutyric acid (GABA)-producing lactic acid bacteria from Thai fermented foods. *Biotechnol Lett.* 2021;43(8):1637-1648.
8. Huynh XP, Le QV, Luu MC, Bui HDL, Nguyen NT, Dao TP, et al. Isolation and selection of lactic acid bacteria with the capacity of producing γ -aminobutyric acid (GABA) and antimicrobial activity: its application in fermented meat product. *Curr Nutr Food Sci.* 2023;19:831-837.
9. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int J Environ Res Public Health.* 2014;11(5):4745-4767.
10. Cục Thống kê tỉnh Bến Tre. Niên giám thống kê tỉnh Bến Tre năm 2023. Bến Tre: Cục Thống kê tỉnh Bến Tre; 2024.
11. Vos P, Garrity MG, Jones D, Krieg RN, Ludwig W, Rainey AF, et al. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Volume 3: The Firmicutes. 2nd Edition. New York: Springer New York; 2009.
12. Ngouénam JR, Kenfack CHM, Kouam EMF, Kaktcham PM, Maharjan R, Ngoufack FZ. Lactic acid production ability of *Lactobacillus* sp. from four tropical fruits using their by-products as carbon source. *Heliyon.* 2021;7(5):e07079.
13. Le QV, Pantuprakit C, Luu MC, Nguyen PTT, Nguyen NT, Tran TG, et al. Isolation and selection of γ -aminobutyric acid producing lactic acid bacteria and application in GABA-enriched tomato juice fermentation. *Cienc Rural.* 2024;55:e20230510.
14. Zhang Q, Xiang J, Zhang L, Zhu X, Evers J, van der Werf W, et al. Optimizing soaking and germination conditions to improve gamma-aminobutyric acid content in japonica and indica germinated brown rice. *J Funct Foods.* 2014;10:283-291.
15. Hassanzadazar H, Ehsani A, Mardani K, Hesari J. Investigation of antibacterial, acid and bile tolerance properties of lactobacilli isolated from Koozeh cheese. *Vet Res Forum.* 2012;3(3):181-185.
16. Naghili H, Tajik H, Mardani K, Rouhani SMR, Ehsani A, Zare P. Validation of drop plate technique for bacterial enumeration by parametric and nonparametric tests. *Vet Res Forum.* 2013;4(3):179-183.
17. Tuo Y, Yu H, Ai L, Wu Z, Guo B, Chen W. Aggregation and adhesion properties of 22 *Lactobacillus* strains. *J Dairy Sci.* 2013;96(7):4252-4257.
18. Nguyen L, Hwang ES. Quality characteristics and antioxidant activity of yogurt supplemented with aronia (*Aronia melanocarpa*) juice. *Prev Nutr Food Sci.* 2016;21(4):330-337.
19. König H, Fröhlich J. Lactic Acid Bacteria. In: König H, Uden G, Fröhlich J, editors. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. p. 3-29.
20. Lahtinen S, Ouwehand AC, Salminen S, von Wright A, editors. *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects.* 4th ed. Boca Raton (FL): CRC Press; 2011.
21. Duong THN, Mai TH, Lu BH, Ly TXM, Bui TQH. Isolation and selection of lactic acid bacteria strains present in "Nem chua thit" for use as stater cultures. *Can Tho Uni J Sci.* 2023;59(3B):86-93.
22. Nguyen TH, Le TMA, Nguyen TBT, Ngo XN, Tran TD, Pham TTT, et al. Isolation, selection and

- application of lactic acid bacteria for testing process of producing fermented oyster mushroom. Vietnam J Agr Sci. 2021;19(3):379-388.
23. Truong TTN, Le TMT, Tran NH, Nguyen TMT, Nguyen NT, Bui HDL, et al. Isolation and selection of lactic acid bacteria and application in fermentation of mushroom (*Volvariella volvacea*). Thai Nguyen Uni J Sci Tech. 2020;225(01):3-10.
24. Zhang Z, Tsapekos P, Alvarado-Morales M, Zhu X, Zervas A, Jacobsen CS, et al. Enhanced fermentative lactic acid production from source-sorted organic household waste: Focusing on low-pH microbial adaptation and bio-augmentation strategy. Sci Total Environ. 2022;808:152129.
25. Elferink SJO, Krooneman J, Gottschal JC, Spoelstra SF, Faber F, Driehuis F. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2-propanediol by *Lactobacillus buchmeri*. Appl Environ Microbiol, 2001;67(1):125-132.
26. Langa S, Santos S, Flores JA, Peirotén Á, Rodríguez S, Curiel JA, Landete JM. Selection of GABA-producing lactic acid bacteria strains by polymerase chain reaction using novel *gadB* and *gadC* multispecies primers for the development of new functional foods. Int J Mol Sci. 2024;25(24):13696.
27. Yogeswara IBA, Maneerat S, Haltrich D. Glutamate decarboxylase from lactic acid bacteria — A key enzyme in GABA synthesis. Microorganisms. 2020;8(12):1923.
28. Ngo DH, Tran QT, Nguyen TNH, Huynh AT, Vo TKT, Nguyen TB, et al. Isolation and selection of high gamma aminobutyric acid-producing *Lactobacillus* strains from traditional fermented foods. J Vietnam Agr Sci Technol. 2021;65(1):20-22.
29. Yogeswara IBA, Kusumawati IGAW, Sumadewi NLU, Rahayu ES, Indrati R. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Indonesian fermented foods as γ -aminobutyric acid-producing bacteria. Int Food Res J. 2018;25:1753-1757.
30. Papadimitriou K, Alegría A, Bron PA, de Angelis M, Gobbetti M, Kleerebezem M, et al. Stress physiology of lactic acid bacteria. Microbiol Mol Biol Rev. 2016;80(3):837-890.
31. Sionek B, Szydłowska A, Trzaskowska M, Kolożyn-Kraiewska D. The impact of physicochemical conditions on lactic acid bacteria survival in food products. Fermentation. 2024;10(6):298.
32. Chemlal-Kherraz D, Sahnouni F, Matallah-Boutiba, Zitouni B. The probiotic potential of lactobacilli isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)'s intestine. Afr J Biotech. 2012;11(68):13220-13227.
33. Nguyen PH, Le DT, Tran TM, Nguyen HH. The survey of tolerance to low pH condition and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from goat's milk and probiotics. Can Tho Uni J Sci. 2014;34:8-17.
34. Tawab FIA, Elkadr MHA, Sultan AM, Hamed EO, El-Zayat AS, Ahmed MN. Probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from Egyptian fermented food. Sci Rep. 2023;13(1):16601.
35. Collado MC, Surono I, Meriluoto J, Salminen S. Indigenous dadih lactic acid bacteria: Cell-surface properties and interactions with pathogens. J Food Sci. 2007;72(3):M89-M93.
36. Lukic J, Strahinic I, Milenkovic M, Nikolic M, Tolinacki M, Kojic M, et al. Aggregation factor as an inhibitor of bacterial binding to gut mucosa. Microb Ecol. 2014;68(3):633-644.
37. Do TBT, Nguyen TDH. Determination of probiotic properties and the salt intolerance of lactic acid bacteria strains isolated from gut of pompano. HUAF J Agric Sci Technol. 2008;2(2):799-806.
38. Nguyen TXH, Nguyen NP, Nguyen THL, Do TBT, Nguyen TDH, Nguyen TTG. Potential lactic acid bacteria isolated from fermented anchovy sauce as probiotics in aquaculture. Hue Univ J Sci: Agric Rural Dev. 2022;131(3A):49-60.
39. Rahman MM, Kim WS, Kumura H, Shimazaki K. Autoaggregation and surface hydrophobicity of bifidobacterial. World J Microbiol Biotechnol. 2008;24(8):1593-1598.