



DOI:10.22144/ctujos.2024.480

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH LÊN MEN SỮA CHUA BỔ SUNG BẮP TÍM SỬ DỤNG VI KHUẨN LACTIC CÓ KHẢ NĂNG SINH ACID GAMMA-AMINOBUTYRIC

Hoàng Anh Phương, Trần Lê Thanh Ngọc, Huỳnh Thị Ngọc Trâm, Nguyễn Thị Cẩm Tú, Lâm Dương Hồng Thắm, Nguyễn Thị Minh Thu, Lưu Minh Châu, Nguyễn Ngọc Thạnh, Bùi Hoàng Đăng Long và Huỳnh Xuân Phong*

Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): hxphong@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 16/04/2024

Sửa bài (Revised): 21/05/2024

Duyệt đăng (Accepted): 24/08/2024

Title: Study on the fermentation process of purple corn supplemented yogurt using lactic acid bacteria capable of producing gamma-aminobutyric acid

Author(s): Hoang Anh Phuong, Tran Le Thanh Ngoc, Huynh Thi Ngoc Tram, Nguyen Thi Cam Tu, Lam Duong Hong Tham, Nguyen Thi Minh Thu, Luu Minh Chau, Nguyen Ngoc Thanh, Bui Hoang Dang Long and Huynh Xuan Phong*

Affiliation(s): Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Viet Nam

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn acid lactic (LAB) có khả năng sinh tổng hợp acid γ -aminobutyric (GABA) và acid lactic cao để ứng dụng trong quy trình lên men sữa chua bổ sung bắp tím. Kết quả đã phân lập được 15 chủng LAB từ 4 mẫu sữa lên men và tuyển chọn được 4 chủng LAB có khả năng sinh GABA và acid lactic với hàm lượng cao bao gồm chủng V3, V4, Y2, Y4. Bốn chủng này được thử nghiệm lên men sữa chua bổ sung bắp tím với mật số ban đầu là 10^4 , 10^6 và 10^8 CFU/mL. Kết quả cho thấy chủng V3 với mật số 10^8 CFU/mL là thích hợp nhất để lên men sữa chua bắp tím và được xác định là *Lactiplantibacillus pentosus*. Tỷ lệ nguyên liệu thích hợp cho quá trình lên men cũng được xác định với tỷ lệ bắp tím và sữa là 2:8 (v/v), đường bổ sung là 4% (w/v) và lên men ở nhiệt độ 43°C trong 8 giờ cho sản phẩm có màu hồng nhạt với cấu trúc, mùi vị thơm ngon đặc trưng.

Từ khóa: Acid γ -aminobutyric, acid lactic, bắp tím, sữa chua, vi khuẩn lactic

ABSTRACT

The research aims to isolate and select lactic acid bacteria (LAB) strains capable of synthesizing γ -aminobutyric acid (GABA) and lactic acid production for application in the yogurt fermentation supplemented with purple corn. The results have isolated 15 LAB strains from fermented milk samples and selected 4 LAB strains capable of producing GABA and lactic acid with high levels, including strains V3, V4, Y2, and Y4. These 4 strains were tested in purple corn-supplemented yogurt fermentation with an initial density of 10^4 , 10^6 , and 10^8 CFU/mL. The results showed that strain V3, with a density of 10^8 CFU/mL was the most suitable for fermentation and was identified as *Lactiplantibacillus pentosus*. The appropriate ingredient ratio for the fermentation was determined with a purple corn and milk ratio of 2:8 (v/v), supplemented sugar at 4% (w/v) and fermentation at 43°C for 8 h, resulting in a light pink product with a structured, aromatic, and delicious taste.

Keywords: γ -aminobutyric acid, lactic acid, lactic acid bacteria, purple corn, yogurt

1. GIỚI THIỆU

Sữa chua là sản phẩm từ sữa được lên men bởi vi khuẩn lactic. Quá trình lên men chuyển đổi đường trong sữa thành acid lactic, tạo ra một sản phẩm có cấu trúc đặc, lắng mịn và vị chua dịu nhẹ. Sữa chua có hàm lượng dinh dưỡng cao, chứa nhiều protein, canxi, vitamin và vi sinh vật có lợi cho con người (Donovan et al., 2014). Ngày nay, sữa chua được phổ biến trên toàn thế giới và trở thành một loại thực phẩm có nhiều lợi ích về mặt dinh dưỡng và sức khỏe. Việc sử dụng sữa chua có thể giúp duy trì trạng thái cân bằng của hệ vi sinh đường ruột, tăng cường miễn dịch, giảm nguy cơ mắc các vấn đề tim mạch và chống ung thư (El-Abadi et al., 2014). Chính vì vậy mà thị trường sữa chua ngày càng tăng trưởng và trở nên đa dạng để đáp ứng nhu cầu sử dụng của người tiêu dùng. Hiện nay, sữa chua được sản xuất dưới nhiều dạng từ sữa chua tự nhiên không đường đến sữa chua có hương vị, sữa chua hỗn hợp được bổ sung các thành phần khác nhau như trái cây, các loại hạt hoặc đường (Weerathilake et al., 2014).

Bắp tím (*Zea mays* L.) là giống bắp có nguồn gốc ở Peru. Về thành phần, bắp tím tương tự như các loại bắp vàng khác với hàm lượng tinh bột khoảng 61-78%, hàm lượng protein chiếm khoảng 6-12%, lipid từ 3-6% (tính trên chất khô), cùng các loại khoáng chất và vitamin. Tuy nhiên, chính sự hiện diện của anthocyanin, một hợp chất phenolic hòa tan trong nước tạo ra màu đỏ tím đặc trưng cho giống bắp này cũng như tạo nên sự khác biệt giữa bắp tím với các giống bắp thông thường khác. Hàm lượng anthocyanin trong bắp tím dao động từ 6,8 đến 82,3 mg/g tùy thuộc vào phần nguyên liệu (Ai & Jane, 2016). Bên cạnh đó, anthocyanin có trong bắp tím, được xem là có liên quan đến khả năng giảm nguy cơ mắc bệnh tim mạch, béo phì, tiểu đường, ung thư và các bệnh mãn tính (Koneczak & Zhang, 2004; He & Giusti, 2010). Bên cạnh các sắc tố, các hợp chất phenolic khác trong bắp tím cũng được đánh giá là có tác dụng làm giảm các bệnh mãn tính như tăng huyết áp, tiểu đường và ung thư (Kim et al., 2013; Long et al., 2013). Vì vậy, đã có nhiều nghiên cứu tập trung và đặc biệt là chú ý nhiều hơn đến các nguồn "hợp chất thực vật" có trong giống bắp tím này.

Acid gamma-aminobutyric (GABA) là một acid amin có chức năng quan trọng trong hệ thần kinh và được biết đến là có tác dụng hỗ trợ một số bệnh liên quan đến hệ thần kinh như bệnh Parkinson, Huntington, Alzheimer cùng một số loại bệnh khác (Diez-Gutiérrez et al., 2020). Hiện nay, quá trình sản xuất GABA bằng lên men vi sinh vật (vi khuẩn, nấm

men, nấm mốc) đang được ứng dụng rộng rãi và có hiệu quả cao trên thế giới, đặc biệt là vi khuẩn acid lactic (Dhakal et al., 2012). Trước đây, GABA được hình thành như một sản phẩm phụ của quá trình lên men thực phẩm và vi khuẩn lactic đóng vai trò chính trong quá trình lên men các loại thực phẩm này. Tuy nhiên, ngày nay, các loại thực phẩm có GABA hoặc thúc đẩy sản sinh GABA đang được nghiên cứu và phát triển mạnh mẽ vì tính chất có lợi của hợp chất này trong việc duy trì sức khỏe của não bộ. Trong nghiên cứu này, quy trình lên men sữa chua có bổ sung bắp tím được nghiên cứu và chủng LAB có khả năng sinh acid γ -aminobutyric được ứng dụng với mục đích nhằm tạo nên một sản phẩm mới có giá trị cao về mặt sinh học và dinh dưỡng, hấp dẫn về mặt cảm quan và mang đến cho người tiêu dùng những lợi ích sức khỏe bổ sung ngoài dinh dưỡng cơ bản.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và hóa chất

Bắp tím và sữa Vinamilk (sữa tươi (99,7%), chất ổn định (471, 460(i), 407, 466), vitamin (A, D3), khoáng chất sodium selenite) được mua tại các hệ thống siêu thị Cần Thơ. Bốn mẫu sữa lên men truyền thống ở Quận Ninh Kiều (thành phố Cần Thơ) và được sử dụng làm nguồn phân lập (ký hiệu là Y, P, V, T). Các hóa chất và môi trường nuôi cấy vi sinh vật gồm MRS lỏng (Himedia, Ấn Độ), GABA (Sigma-Aldrich, Đức), monosodium glutamate (MSG) (Ajinomoto, Việt Nam), n-butanol, acid acetic, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, CaCO_3 , (Xilong Scientific, Trung Quốc), ninhydrin (Sigma-Aldrich, Đức), NaOH 0,1N (CEMACO, Việt Nam), bộ nhuộm Gram, thuốc thử catalase và oxidase (Nam Khoa Biotech, Việt Nam).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập các chủng LAB từ các mẫu sữa lên men

Mẫu 1 mL sữa lên men được tăng sinh trong môi trường MRS lỏng trong 36 giờ ở 37°C. Dịch tăng sinh được pha loãng đến nồng độ 10^{-5} và trải 0,1 mL trên môi trường MRS agar có bổ sung 0,5% CaCO_3 , ủ ở 37°C. Sau 48 giờ, những khuẩn lạc đặc trưng (tròn, trơn, lồi, bìa nguyên, xuất hiện vòng phân giải CaCO_3 xung quanh khuẩn lạc) được chọn để cấy chuyển nhiều lần cho đến khi khuẩn lạc đồng nhất. Những chủng phân lập được kiểm tra hình thái và quan sát độ thuần dưới kính hiển vi quang học, sau đó thực hiện nhuộm Gram, thử nghiệm catalase, oxidase và kiểm tra khả năng di động để xác định các chủng LAB (Axelsson, 2004).

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

Các chủng LAB được tăng sinh trong môi trường MRS lỏng trong 36 giờ ở 37°C (mật số khoảng 10^9 CFU/mL). Sau đó, các chủng LAB được lên men tĩnh trong 5 mL môi trường MRS lỏng có bổ sung 3% monosodium glutamate (MSG) và ủ ở 37°C trong 24 giờ. Tiếp theo, 1 mL dịch lên men được ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Hai μ L dịch sau khi ly tâm được chấm trên tấm sắc ký bản mỏng Silicagel 60 TLC F₂₅₄ (Merck, Đức) đã được hoạt hóa bằng cách sấy ở 90°C trong 30 phút, để các chấm khô trong 3 phút, tiếp theo đặt tấm sắc ký TLC vào bể chứa hỗn hợp dung môi (n-butanol, acid acetic và nước với tỷ lệ là 5:3:2 v/v/v) có bổ sung 1,2% (w/v) ninhydrin và để yên ở 30°C (Qiu et al., 2010). Quá trình sắc ký kết thúc khi dung môi cách đỉnh tấm sắc ký TLC khoảng 1 cm và tiến hành sấy ở 70°C trong 80 phút để xuất hiện các đốm GABA. Sau đó, các đốm này được chiết xuất với 5 mL dung dịch ethanol 75% và CuSO₄.5H₂O 0,6% (w/v) với tỉ lệ là 38:2 (v/v) bằng cách lắc cho đến khi các đốm GABA hoà tan hết vào dung dịch. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 512 nm. Định lượng GABA trong các mẫu dựa vào đường chuẩn GABA (0,05-1,5 mg/mL) (Li et al., 2009).

2.2.3. Khảo sát khả năng lên men lactic của các chủng LAB phân lập

Các chủng LAB được tăng sinh trong môi trường MRS lỏng trong 36 giờ ở 37°C (mật số khoảng 10^9 CFU/mL). Môi trường MRS lỏng (pH 6,5) được cho vào bình tam giác 250 mL và khử trùng nhiệt ướt ở 121°C trong 20 phút. Sau đó, 1 mL dịch tăng sinh các chủng LAB được cho vào các bình tam giác chứa 99 mL môi trường MRS lỏng, lắc nhẹ để vi khuẩn phân tán đều và ủ ở 37°C trong 5 ngày. Hàm lượng acid lactic sinh ra trong 5 ngày lên men được xác định bằng phương pháp chuẩn độ (Nguyen & Hwang, 2016).

2.2.4. Xác định chủng LAB và mật số thích hợp cho quá trình lên sữa chua bổ sung bắp tím

Các chủng LAB được tăng sinh trong môi trường MRS lỏng trong 36 giờ ở 37°C (mật số khoảng 10^9 CFU/mL) và được pha loãng để đạt mật số tế bào lần lượt là 10^4 , 10^6 và 10^8 CFU/mL. Dịch tăng sinh được bổ sung vào dịch sữa đã được thanh trùng (sữa đặc và sữa tươi theo tỷ lệ 3:1 v/v) với nồng độ 10% (v/v) và ủ ở 37°C trong 24 giờ để tạo thành “men cái”.

Bắp tím được rửa sạch với nước, tách hạt và xay nhuyễn với sữa tươi không đường theo tỷ lệ 2:8 (w/v). Hỗn hợp vừa mới xay nhuyễn được lọc bằng rây lọc thực phẩm (đường kính lỗ lọc là 1 mm) để thu dung dịch sữa bắp tím. Tiếp theo, sữa đặc được bổ sung vào hỗn hợp sữa bắp tím theo tỷ lệ 3:1 (v/v) và đường sucrose cũng được cho vào toàn bộ hỗn hợp trên với nồng độ 3% (w/v). Cuối cùng, toàn bộ hỗn hợp được thanh trùng ở 80°C trong 10 phút và làm nguội đến khoảng 43°C. Chủng 10% (v/v) men cái vào hỗn hợp sữa bắp tím và ủ ở 43°C trong 8 giờ. Các giá trị như pH và hàm lượng acid lactic được ghi nhận sau khi kết thúc quá trình lên men. Sản phẩm được đánh giá cảm quan theo các chỉ tiêu được mô tả trong TCVN 7030:2002 và các mẫu dùng để đánh giá cảm quan được bảo quản trong tủ lạnh (4-6°C) trong 24 giờ.

Chủng LAB có khả năng lên men sữa chua bổ sung bắp tím tốt nhất được định danh bằng phương pháp sinh học phân tử. Phần mềm BLAST được sử dụng để so sánh mức độ tương đồng của chuỗi trình tự vùng 16S rRNA với dữ liệu trên ngân hàng gene của NCBI (National Center for Biotechnology Information) để xác định tên loài của chủng vi khuẩn.

2.2.5. Xác định tỷ lệ giữa bắp tím, sữa và đường bổ sung thích hợp cho quá trình lên sữa chua bổ sung bắp tím

Chủng LAB và mật số đã được xác định từ thí nghiệm trước sẽ được sử dụng để chuẩn bị men cái. Bắp tím được rửa sạch với nước, tách hạt và xay nhuyễn với sữa tươi không đường theo tỷ lệ lần lượt là 1:9, 2:8, 3:7, 4:6 và 5:5 (w/v). Hỗn hợp vừa mới xay nhuyễn được lọc bằng rây lọc thực phẩm (đường kính lỗ lọc là 1 mm) để thu dung dịch sữa bắp tím. Tiếp theo, sữa đặc được bổ sung vào hỗn hợp sữa bắp tím theo tỷ lệ 3:1 (v/v) và đường sucrose cũng được cho vào toàn bộ hỗn hợp trên với nồng độ khảo sát lần lượt là 4, 8, 12% (w/v). Cuối cùng, toàn bộ hỗn hợp được thanh trùng ở 80°C trong 10 phút và chủng 10% (v/v) men cái vào hỗn hợp sữa bắp tím rồi ủ ở 43°C trong 8 giờ. Các chỉ tiêu cũng được đánh giá tương tự như thí nghiệm 2.2.4.

2.2.6. Đánh giá chất lượng và khả năng kháng oxy hóa của sữa chua có bổ sung bắp tím

Quy trình lên men sữa chua có bổ sung bắp tím với một số điều kiện được xác định từ các thí nghiệm trước bao gồm chủng LAB, mật số, tỷ lệ bắp tím, sữa và đường bổ sung. Sữa chua được tiến hành lên men có bổ sung và không bổ sung bắp tím (đối chứng) ở 43°C trong 8 giờ. Các chỉ tiêu của sản

phẩm được phân tích như giá trị pH, hàm lượng acid tổng (g/L), mật số vi khuẩn (log CFU/mL), khả năng kháng oxy hóa (%) và các chỉ tiêu cảm quan.

2.2.7. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

- Kiểm tra đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường và tế bào vi khuẩn dưới kính hiển vi quang học.
- Xác định hàm lượng GABA bằng phương pháp sắc ký bản mỏng TLC (Li et al., 2009).
- Xác định pH bằng pH kế (Horiba, Nhật Bản).
- Xác định hàm lượng acid lactic bằng phương pháp chuẩn độ sử dụng dung dịch NaOH 0,1N (Nguyen & Hwang, 2016).
- Xác định mật số vi khuẩn lactic bằng phương pháp đếm sống trên môi trường MRS theo TCVN 7906:2008 (Ministry of Science and Technology, 2008).
- Định danh vi khuẩn bằng phương pháp giải trình tự vùng gen 16S rDNA sử dụng cặp mồi 27F (5'-ACGGTTACCTTGTTACGACT-3') và 1492R (5'-AGAGTTTGATCTGGCTC-3') (William et al., 1991).
- Xác định khả năng kháng oxy bằng phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH (Ye et al., 2013).
- Đánh giá cảm quan theo các chỉ tiêu như màu sắc, mùi, vị, trạng thái (Ministry of Science and Technology, 2002).

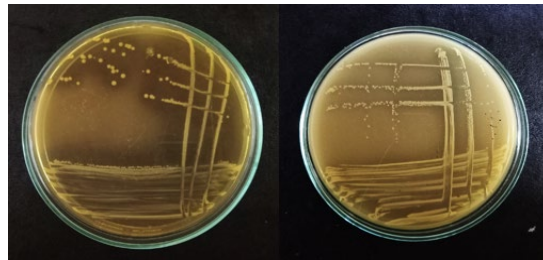
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập các chủng LAB từ các mẫu sữa lên men

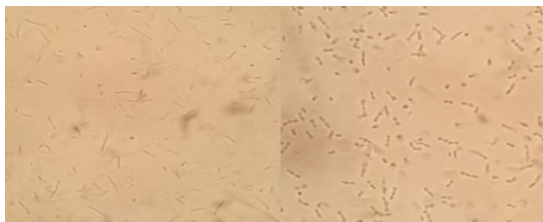
Từ 4 mẫu sữa chua thu thập ở các điểm bán sữa chua lên men truyền thống, 15 chủng vi khuẩn được phân lập. Trong đó, mẫu sữa chua Y phân lập được 4 chủng vi khuẩn (ký hiệu Y1, Y2, Y3, Y4). Mẫu sữa chua P phân lập được 3 chủng (ký hiệu P1, P2, P3). Mẫu sữa chua V phân lập được 4 chủng vi khuẩn (ký hiệu V1, V2, V3, V4) và mẫu sữa chua T phân lập được 4 chủng (ký hiệu T1, T2, T3, T4). Khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn này khi phát triển trên môi trường MRS agar có bổ sung CaCO₃, ủ kỵ khí 48 giờ ở 37°C đều có dạng hình tròn, trơn, lồi, bìa nguyên, có mùi chua đặc trưng của acid và xuất hiện vòng phân giải CaCO₃ xung quanh khuẩn lạc (Hình 1). Điểm đặc biệt là khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn này phân lập từ sữa chua đều có màu trắng sữa thay vì trắng ngà hay trắng trong như trong một số công bố kết quả phân lập vi khuẩn lactic khác (Mai et al., 2008; Nguyen et al., 2015).

Kiểm tra đặc điểm hình thái trên kính hiển vi quang học, trong số 15 chủng có 8 chủng có hình

dạng que ngắn (Y2, Y3, Y4, P1, P2, V1, V2 V3), 2 chủng hình que dài (Y1, P3), 1 chủng có hình cầu đơn (T4), 1 chủng với hình cầu đôi (T1) và 3 chủng dạng cầu kết chuỗi (V4, T2, T3). Hình ảnh đại diện một số dạng tế bào phân lập được thể hiện trong Hình 2.



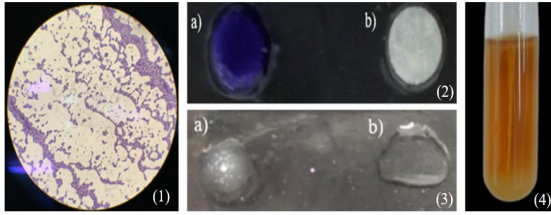
Hình 1. Khuẩn lạc của chủng V3 (bên trái) và T1 (bên phải) phát triển trên môi trường MRS



Hình 2. Hình dạng tế bào của chủng V2 (bên trái) và chủng T3 (bên phải) trên kính hiển vi độ phóng đại 1.000 lần

Bên cạnh đó, một số thử nghiệm để kiểm tra đặc điểm sinh hóa của các chủng vi khuẩn lactic đã được thực hiện và kết quả cho thấy 15 chủng vi khuẩn phân lập thuộc Gram dương bắt màu xanh tím của thuốc nhuộm crystal violet; oxidase và catalase đều cho kết quả âm tính khi không có hiện tượng đổi màu giấy thử có tấm tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride hay sủi bọt khí. Tất cả các chủng vi khuẩn qua thử nghiệm khả năng di động trên môi trường bán lỏng (0,5% agar) cũng cho thấy 100% chủng vi khuẩn không có khả năng di động (Hình 3).

Nhìn chung, kết quả kiểm tra một số đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của 15 chủng vi khuẩn phân lập cho thấy phù hợp với các đặc điểm đặc trưng của LAB như khả năng phân giải CaCO₃, khuẩn lạc có hình dạng tròn đều, bìa nguyên, trơn, lồi, màu trắng (sữa, ngà, trong). Tế bào có dạng hình que (ngắn, dài) hoặc hình cầu (đơn, đôi, kết chuỗi), Gram dương, catalase và oxidase âm tính, không di động như mô tả của Axelsson (2004).



Hình 3. Hình ảnh đại diện kết quả nhuộm Gram và một số thử nghiệm oxidase, catalase, khả năng di động của các chủng LAB

Ghi chú: (1): kết quả nhuộm Gram; (2) và (3): thử nghiệm oxidase và catalase, trong đó: (a)-dương tính, (b)-âm tính; (4): kiểm tra khả năng di động trên môi trường MRS bán lỏng

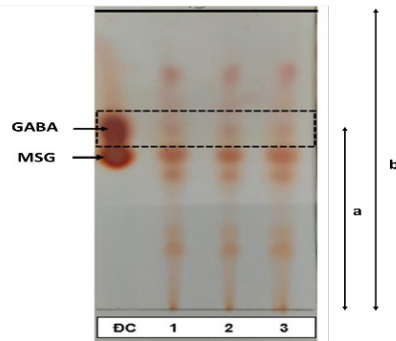
3.2. Khả năng sinh GABA của các chủng LAB phân lập

Sau khi phân lập, 15 chủng LAB được lên men tĩnh trong môi trường MRS lỏng có bổ sung 3% MSG (w/v) ở 37°C trong 24 giờ để xác định khả năng sinh GABA. Kết quả sắc ký cho thấy trong dịch lên men có chứa GABA và được thể hiện qua vị trí tương ứng với GABA chuẩn trong Hình 4.

Bên cạnh đó, hàm lượng GABA trong dịch lên men của 15 chủng LAB cũng được xác định và trình bày trong Bảng 1. Kết quả định lượng hàm lượng GABA của các chủng LAB được xác định dựa trên đường chuẩn GABA (0,05-1,5 mg/mL) có phương trình tuyến tính $y = 0,4743x - 0,3404$ với $R^2 = 0,9951$ và có giá trị dao động từ 0,892 đến 1,236 mg/mL.

Kết quả được thể hiện trong Bảng 1 cho thấy hàm lượng GABA sinh tổng hợp bởi chủng V3 là cao vượt trội với hàm lượng là 1,236 mg/mL và

khác biệt có ý nghĩa thống kê với các chủng còn lại, kể đến là chủng Y4 và Y2 với hàm lượng GABA lần lượt là 0,981 và 0,959 mg/mL. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của Song & Yu (2018) ghi nhận hàm lượng GABA nằm trong khoảng 0,15-0,38 mg/mL trong sữa đậu đỗ sau 48 giờ lên men bởi 8 chủng vi khuẩn lactic khác nhau. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu đã đưa ra kết quả hàm lượng GABA khá cao, chủng *L. brevis* được phân lập từ kim chi tạo ra 26,7 mg/mL GABA sau 72 giờ ủ trong trường bổ sung 5% MSG (Kim et al., 2012). Chủng *L. sakei* tạo ra 39,7 mg/mL GABA sau 48 giờ ủ trong trường bổ sung 7% MSG (Kook et al., 2010). Nồng độ GABA lên đến 103,5 mg/mL được ghi nhận với chủng *L. brevis* sau 36 giờ lên men trong nghiên cứu của Li et al. (2010). Điều này cho thấy khả năng sản xuất GABA của các chủng LAB là rất khác nhau.



Hình 4. Các đốm GABA trên bản mỏng TLC từ dịch lên men của chủng V₃ sau khi sắc ký

Ghi chú: (ĐC): hỗn hợp dung dịch GABA (2 mg/mL) và MSG (2 mg/mL); (a): khoảng cách di chuyển của chất phân tích (GABA); (b): khoảng cách di chuyển của dung môi; (1), (2) và (3): vị trí chấm mẫu của dịch lên men 24 giờ trong môi trường MRS lỏng bổ sung 1% MSG.

Bảng 1. Hàm lượng GABA sinh ra của 15 chủng LAB phân lập

Chủng LAB	Hàm lượng GABA (mg/mL)	Chủng LAB	Hàm lượng GABA (mg/mL)	Chủng LAB	Hàm lượng GABA (mg/mL)
Y1	0,916 ^{def}	P2	0,922 ^{def}	V4	0,945 ^{cd}
Y2	0,959 ^{bc}	P3	0,910 ^{ef}	T1	0,937 ^{cde}
Y3	0,896 ^f	V1	0,915 ^{def}	T2	0,902 ^f
Y4	0,981 ^b	V2	0,910 ^{ef}	T3	0,941 ^{cde}
P1	0,892 ^f	V3	1,236 ^a	T4	0,902 ^f

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% ($p < 0,05$).

Việc sản xuất GABA của vi sinh vật bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố bao gồm đặc điểm di truyền của vi sinh vật, điều kiện nuôi cấy (nhiệt độ, pH, thời gian) và môi trường (sự hiện diện của glutamate và pyridoxal 5'-phosphate, PLP). Một số chủng LAB đã được báo cáo là có khả năng sản xuất GABA và

việc sản xuất GABA cao có liên quan đến hoạt động của enzyme glutamate decarboxylase (Ueno, 2000; Dhakal et al., 2012). Nồng độ acid glutamic trong chất nền thực phẩm phải đủ cao để tăng sản xuất GABA. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Hussin et al. (2021) đã thực hiện việc tăng cường sản xuất

GABA tự nhiên trong sữa chua bằng cách bổ sung các loại đường đơn và chỉ cần sử dụng glutamate cũng như PLP ở mức thấp nhất. Nhìn chung, các chủng LAB phân lập từ 4 mẫu sữa chua khảo sát đều có khả năng sinh tổng hợp GABA.

3.3. Khả năng lên men lactic của các chủng LAB phân lập

Bên cạnh khả năng sinh GABA, các chủng LAB cũng được đánh giá khả năng lên men acid lactic. Mười lăm chủng LAB được lên men 7 ngày trong môi trường MRS ở 37°C và phân tích hàm lượng acid lactic sinh ra mỗi ngày bằng phương pháp chuẩn độ. Kết quả được ghi nhận ở Bảng 2.

Bảng 2: Hàm lượng acid lactic sinh ra của 15 chủng LAB phân lập trong 7 ngày lên men

Chủng LAB	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7
V3	16,35 ^{ab}	16,43 ^{cd}	19,13 ^a	21,08 ^a	18,45 ^a	18,22 ^a	19,12 ^a
Y1	15,53 ^{cd}	16,77 ^c	18,90 ^{ab}	18,57 ^b	18,68 ^a	18,00 ^a	18,53 ^{ab}
P1	15,60 ^c	17,44 ^b	16,32 ^{gh}	18,48 ^b	16,54 ^d	15,43 ^{efg}	17,55 ^{de}
T3	13,35 ^f	15,75 ^{fg}	15,87 ^{hi}	18,45 ^b	13,95 ^g	13,95 ^{hi}	15,30 ⁱ
T4	13,73 ^f	18,23 ^a	18,38 ^{bc}	18,45 ^b	18,23 ^{ab}	18,23 ^a	18,57 ^{ab}
P3	16,54 ^a	16,32 ^{cde}	16,60 ^{fg}	18,38 ^b	15,60 ^{ef}	15,36 ^{efg}	18,11 ^{bcd}
Y3	14,85 ^{de}	15,87 ^{efg}	17,44 ^e	18,34 ^b	15,75 ^{ef}	16,76 ^{bc}	17,65 ^{cde}
V2	12,60 ^g	16,77 ^c	17,55 ^{de}	18,30 ^b	15,75 ^{ef}	16,43 ^{cd}	16,43 ^g
Y4	15,53 ^{cd}	16,32 ^{cde}	17,44 ^e	18,23 ^b	15,53 ^f	14,63 ^{fgh}	17,22 ^{ef}
Y2	15,75 ^{bc}	16,28 ^{cde}	17,55 ^{de}	18,15 ^b	17,33 ^c	16,20 ^{cde}	17,33 ^e
T2	13,73 ^f	15,53 ^{fg}	16,43 ^g	18,00 ^{bc}	15,75 ^{ef}	13,62 ⁱ	15,64 ^{hi}
P2	15,60 ^c	16,50 ^c	17,33 ^e	17,33 ^c	15,83 ^{def}	15,08 ^{fg}	16,65 ^{fg}
V4	13,05 ^{fg}	16,35 ^{cde}	17,10 ^{ef}	17,25 ^c	15,19 ^f	14,52 ^{ghi}	16,32 ^g
V1	14,63 ^e	15,98 ^{def}	15,75 ⁱ	17,22 ^c	15,68 ^{ef}	15,53 ^{def}	16,20 ^{gh}
T1	13,05 ^{fg}	14,91 ^h	15,53 ⁱ	15,98 ^d	15,42 ^f	13,99 ^{hi}	16,54 ^g

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% ($p < 0,05$).

Bảng 2 cho thấy 15 chủng LAB khi lên men trong môi trường MRS đều hình thành acid lactic. Ngày thứ nhất của quá trình lên men, hàm lượng acid lactic nằm trong khoảng 12,06-16,54 g/L. Theo đó, hàm lượng acid lactic tăng dần qua ngày 2, ngày 3 và đạt cao nhất vào ngày thứ 4 trong cả quá trình ghi nhận chỉ tiêu. Trong đó, chủng V3 là chủng sinh ra hàm lượng acid lactic cao nhất trong 15 chủng với hàm lượng acid lactic cao nhất là 21,08 g/L và có sự khác biệt về mặt thống kê so với các chủng còn lại. Tuy nhiên, kết quả phân tích cho thấy lượng acid lactic trong môi trường có xu hướng giảm ở ngày 5 và ngày 6, sau đó tăng nhẹ trở lại ở ngày thứ 7. Hàm lượng acid lactic tăng mạnh sau 4 ngày đầu lên men là do sự tăng trưởng của LAB cùng với quá trình chuyển hóa đường tạo ra acid lactic trong môi trường. Tuy nhiên, nguyên nhân hàm lượng acid giảm sau 4 ngày và tăng sau 1 ngày là yếu tố thời gian nuôi cấy ảnh hưởng đến việc tăng số lượng tế bào vi khuẩn. Để chuyển hóa được hết nguồn dinh dưỡng thành acid lactic, vi khuẩn cần thời gian nhất định và đủ lượng khuẩn nhưng nếu thời gian quá dài tác động ngược lại làm giảm số lượng vi khuẩn và lượng acid sinh ra. Ngoài ra, trong điều kiện bất lợi với hàm lượng acid quá cao, LAB thích ứng với điều

kiện dinh dưỡng hạn chế ở pH thấp bằng cách tiêu thụ chính acid lactic (Elferink et al., 2001). Kết quả này cũng khá tương đồng với kết quả được công bố của Truong et al. (2020) với hàm lượng acid lactic của các chủng LAB cũng nằm trong khoảng 10,5-21,0 g/L và lên men từ ri đường của Bui et al. (2019) có hàm lượng acid đạt cao nhất là 18,30 g/L. Kết quả cho thấy chủng V3 có khả năng sinh acid lactic cao hơn so với các chủng LAB được phân lập.

Các kết quả đánh giá chung về khả năng sinh GABA và sinh acid lactic cho thấy 4 chủng LAB được chọn để tiến hành lên men thử nghiệm sữa chua có bổ sung bắp tím là Y2, Y4, V3 và V4. Do các chủng này đều có khả năng sinh GABA và acid lactic với hàm lượng cao đáng kể.

3.4. Xác định chủng LAB và mật số thích hợp cho quá trình lên sữa chua có bổ sung bắp tím

Bốn chủng LAB (Y2, Y4, V3, V4) ở các mật số khác nhau (10^8 , 10^6 , 10^4 CFU/mL) được khảo sát để chọn ra chủng LAB và mật số thích hợp cho quá trình lên men. Sau 8 giờ lên men ở nhiệt độ 43°C, sữa chua thành phẩm được ghi nhận các chỉ tiêu và kết quả được thể hiện trong Bảng 3.

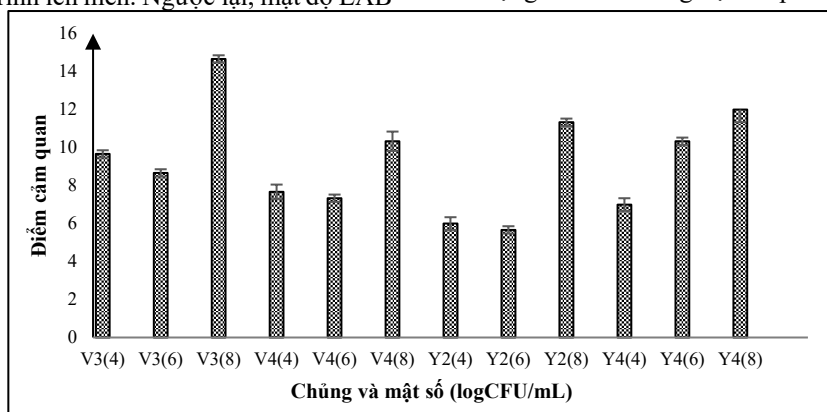
Bảng 3. Ảnh hưởng của chủng LAB và mật số đến quá trình lên men sữa chua bắp tím

Chủng LAB	Mật số (CFU/mL)	pH	Hàm lượng acid tổng (g/L)
V ₃	10 ⁸	4,60 ⁱ	8,10 ^a
V ₃	10 ⁶	4,81 ^h	4,60 ^f
V ₃	10 ⁴	4,89 ^g	4,20 ^f
V ₄	10 ⁸	4,57 ^j	6,78 ^{ed}
V ₄	10 ⁶	5,23 ^e	5,22 ^e
V ₄	10 ⁴	5,29 ^d	4,56 ^f
Y ₂	10 ⁸	4,04 ^k	6,24 ^d
Y ₂	10 ⁶	5,50 ^b	4,08 ^{fg}
Y ₂	10 ⁴	5,86 ^a	6,24 ^d
Y ₄	10 ⁸	5,01 ^f	7,62 ^{ab}
Y ₄	10 ⁶	4,82 ^h	7,14 ^{bc}
Y ₄	10 ⁴	5,34 ^c	5,40 ^e

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 trong Bảng 3 cho thấy giá trị pH của sữa chua bắp tím sau khi lên men từ 4 chủng LAB đều có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê và dao động từ 4,04 đến 5,86 g/L. Bên cạnh đó, hàm lượng acid tổng sinh ra cũng có sự khác biệt giữa các chủng. Cụ thể, ở cùng mật số 10⁸ CFU/mL thì chủng V3 có hàm lượng acid lactic cao nhất (8,1 g/L), kế đến là chủng Y4 (7,62 g/L) nhưng khác biệt không có ý nghĩa. Chủng có hàm lượng acid lactic thấp nhất là Y2, chỉ với 6,24 g/L. Mặt khác, lượng acid sinh ra có xu hướng giảm khi mật số giảm dần từ 10⁸ xuống 10⁴ CFU/mL. Nguyên nhân có thể là do mật số vi khuẩn thấp khi vào môi trường mới cần có thời gian thích nghi để phát triển đến mật số thích hợp và thực hiện quá trình lên men. Ngược lại, mật độ LAB

càng cao thì quá trình lên men diễn ra nhanh chóng và hình thành nhiều acid lactic. Nhìn chung, kết quả Bảng 2 cho thấy chỉ có nghiệm thức V3 với mật số 10⁸ CFU/mL có pH 4,6 và hàm lượng acid tổng là 8,10 g/L thích hợp trong khoảng pH 4,1-4,6 và hàm lượng acid tổng 7-9 g/L. Mặt khác, xét về điểm cảm quan, kết quả ở Hình 5 cho thấy sữa chua được lên men bởi chủng V3 ở mật số 10⁸ CFU/mL được đánh giá cao hơn và có sự khác biệt rõ rệt với các nghiệm thức được lên men bởi các chủng LAB còn lại. Sữa chua bắp tím được lên men bởi chủng V3 cho ra cấu trúc đặc, mịn, có mùi hương đặc trưng của sữa chua, mùi vị chua, ngọt hài hoà. Từ đó, chủng LAB V3 với mật số 10⁸ CFU/mL được chọn để định danh và sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 5. Kết quả đánh giá cảm quan theo của các mẫu sữa chua lên men bởi các dòng LAB và mật số khác nhau

Chủng V3 được giải trình tự bằng cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3') và 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACT-3') tại vùng gen 16S rDNA thu được chuỗi trình tự với 806 nucleotide như sau:

```
CGGCTANCGGGAGCTTCATAACGGAAA
TNNNTTGGTCGGGTCGAGCTTTTGAGTGGC
GAACTGGTGAGTACCAGAAGCGGGGGATA
ACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATA
ACAACCTGGACC GCATGGTCCGAGTTTGA
```

AGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGT
 CCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTA
 ACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCG
 ACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGA
 CTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAG
 GCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGAC
 GAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAG
 TGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTG
 TTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAAC
 TGTTACAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAA
 AGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
 GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGG
 ATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCG
 GTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGG
 CTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGG
 GAAACTTGAGTTGCAGAAGAGGACCCATG
 TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAA

GAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCGCT
 GAGGCTCGAAGCAAACAGGATTAGATACC
 CTTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGT
 GGGGGCTTTGCCAAACAAAAANCCATTTCC
 AAATTTAATTNTTTATGATCTTCCNAGGTN
 CCTACGAAG

Công cụ Nucleotide BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) được sử dụng để so sánh trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng V3 với trình tự của các chủng vi khuẩn trong ngân hàng gen trên NCBI. Kết quả so sánh độ tương đồng cho thấy chủng LAB V3 được tuyển chọn tỷ lệ tương đồng cao nhất với *Lactiplantibacillus pentosus* (Accession no. MW435848.1) ở mức 99,50% (Hình 6).

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Lactiplantibacillus pentosus strain OHER1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus pentosus	1099	1099	74%	0.0	99.50%	1250	MW435848.1
Lactiplantibacillus paraplantarum strain D19 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus paraplantarum	1083	1083	74%	0.0	98.85%	1493	OR584047.1
Lactiplantibacillus pentosus strain KUMS-C31 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus pentosus	1075	1075	74%	0.0	98.53%	1372	OQ891487.1
Lactiplantibacillus pentosus GPD1-1 gene for 16S rRNA, partial sequence	Lactiplantibacillus pentosus	1075	1075	74%	0.0	98.53%	1408	LC627495.1
Lactiplantibacillus plantarum strain AAAbd 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus plantarum	1074	1074	74%	0.0	98.53%	1470	MW543945.1
Lactiplantibacillus pentosus strain 10Z2R34 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus pentosus	1072	1072	74%	0.0	98.37%	1461	MZ470233.1
Lactiplantibacillus plantarum strain lplaeq1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus plantarum	1070	1070	74%	0.0	98.37%	1403	PP345555.1
Lactiplantibacillus plantarum strain MKTJ23 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus plantarum	1070	1070	74%	0.0	98.37%	1345	OQ308997.1
Lactiplantibacillus plantarum strain POG 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus plantarum	1070	1070	74%	0.0	98.37%	1300	PP115685.1
Lactiplantibacillus pentosus strain RSB3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactiplantibacillus pentosus	1070	1070	74%	0.0	98.37%	1365	OR856051.1

Hình 6. So sánh trình tự 16S rRNA của chủng V3 trên Genbank bằng công cụ Nucleotide BLAST

Lactobacillus pentosus thường được tìm thấy trong hệ vi sinh vật của trái cây và rau quả (Abriouel et al., 2017) và được nghiên cứu bởi những tiềm năng sinh học. Trong đó, có thể kể đến khả năng sinh GABA (Raethong et al., 2022), sản xuất exopolysaccharides (Jiang et al., 2022) hay nổi bật là khả năng kháng một số vi sinh vật gây bệnh. Nghiên cứu của Lakhlifi et al. (2021) cho thấy chủng *L. pentosus* 22B có khả năng tạo ra nhiều loại hợp chất bao gồm acid hữu cơ, hydrogen peroxide, hợp chất peptide, acid béo, hợp chất dễ bay hơi và đã được ứng dụng trong lên men sữa chua như một chất bảo quản sinh học chống lại sự hư hỏng do nấm. Ngoài ra, nghiên cứu của Gizachew et al. (2023) cũng cho thấy hoạt động ức chế các vi khuẩn gây bệnh của *L. pentosus* như *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri* và *Listeria monocytogenes*. Chính vì vậy, chủng *L. pentosus* là chủng vi khuẩn tiềm năng trong việc lên men sữa chua bắp tím với các hoạt tính sinh học nổi bật.

3.5. Tỷ lệ bắp tím, sữa và đường bổ sung thích hợp cho quá trình lên

Thí nghiệm được bố trí với 5 tỷ lệ sữa, bắp thay đổi trên cùng thể tích với 3 tỷ lệ đường 4%, 8%, 12% w/v và được lặp lại 3 lần. Kết quả các thông số như độ pH, hàm lượng acid tổng sau lên men được trình bày ở Bảng 4.

Kết quả cho thấy trong cùng nghiệm thức có tỷ lệ bắp và sữa giống nhau, hàm lượng đường ban đầu có ảnh hưởng đến giá trị pH và sự tạo thành của acid tổng. Ngoài ra, trong cùng một lượng đường bổ sung, tỷ lệ sữa bắp thay đổi thì các giá trị pH và acid tổng cũng thay đổi. Đường bên cạnh đóng vai trò điều vị cho sản phẩm thì còn là nguồn cơ chất để LAB thực hiện quá trình lên men tạo thành acid nên hàm lượng acid lactic sinh ra cao hay thấp sẽ phụ thuộc vào hàm lượng đường sử dụng trong cơ chất lên men. Tuy nhiên, nếu tăng hàm lượng đường ban đầu quá cao, lượng acid tạo thành cũng bị giảm vì hàm lượng đường quá cao làm tăng áp suất thẩm thấu, mất cân bằng trạng thái sinh lý và quá trình trao đổi chất của các tế bào LAB. Thật vậy, kết quả

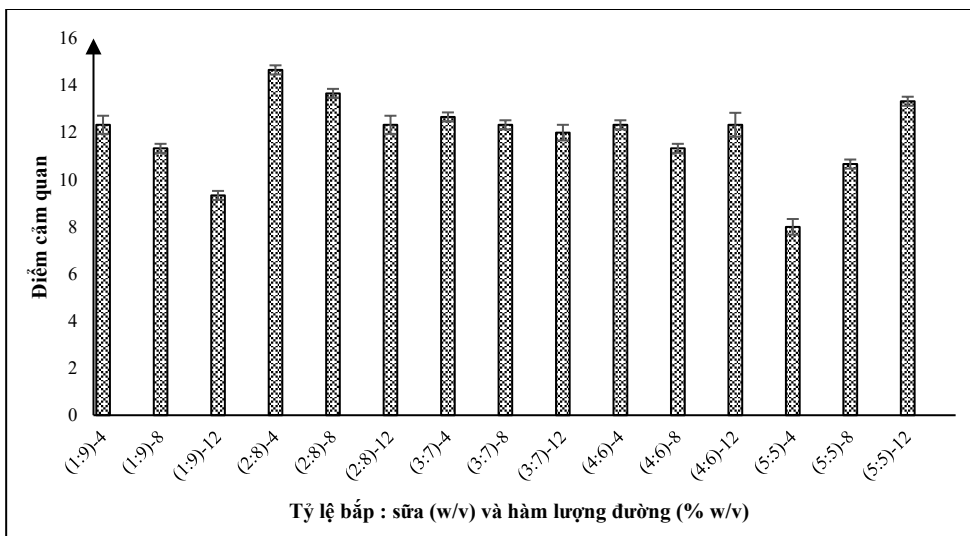
ghi nhận trong Bảng 4 cho thấy các nghiệm thức được bổ sung đường với nồng độ 4% ghi nhận hàm lượng acid cao hơn so với các nghiệm thức còn lại và dao động trong khoảng 8,10-8,82 g/L. Trong khi đó, các nghiệm thức bổ sung đường ở mức 8% chỉ cho hàm lượng acid đạt khoảng 5,46-7,86 g/L. Do đó, hàm lượng đường ban đầu cũng đóng vai trò tạo nên chất lượng của sữa chua bắp tím. Mặt khác, tỉ lệ sữa và bắp cũng đóng vai trò quan trọng trong quá

trình lên men sữa chua bắp tím và sự chuyển hóa tạo thành acid lactic. Bắp tím có nhiều dinh dưỡng như chứa nhiều vitamin và khoáng chất. Chính vì vậy, bắp tím là nguồn nguyên liệu cung cấp thêm nguồn dinh dưỡng cho sự phát triển của LAB và điều này được thể hiện qua kết quả trong Bảng 3. Tuy nhiên, hàm lượng acid tổng giữa các tỷ lệ này có sự khác biệt không đáng kể.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn sữa, bắp, đường đến quá trình lên men sữa chua bắp tím

Tỷ lệ bắp và sữa	Đường (% w/v)	pH	Hàm lượng acid tổng (g/L)
1:9	4	4,62 ^{def}	8,46 ^{ab}
1:9	6	4,81 ^{bc}	5,58 ^g
1:9	8	4,96 ^b	5,46 ^g
2:8	4	4,56 ^{dfe}	8,10 ^{bcd}
2:8	6	4,64 ^{de}	6,24 ^f
2:8	8	4,69 ^{cd}	7,62 ^e
3:7	4	4,7 ^{cd}	8,28 ^{bc}
3:7	6	5,37 ^a	8,19 ^{bcd}
3:7	8	5,28 ^a	6,18 ^f
4:6	4	4,02 ^h	8,82 ^a
4:6	6	4,52 ^{ef}	7,92 ^{cde}
4:6	8	4,24 ^g	7,86 ^{de}
5:5	4	4,13 ^{gh}	8,82 ^a
5:5	6	4,50 ^f	8,10 ^{bcd}
5:5	8	5,33 ^a	6,30 ^f

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% ($p < 0,05$).



Hình 7. Kết quả đánh giá cảm quan của các mẫu sữa chua lên men ở các tỷ lệ phối trộn giữa bắp tím, sữa và đường

Khi đánh giá về mặt cảm quan, kết quả ở Hình 7 cho thấy nghiệm thức có tỷ lệ bắp, sữa và đường là 2:8 và 4% được đánh giá cao nhất đạt 14,67/15 điểm vì ở tỷ lệ này sản phẩm có vị chua ngọt vừa phải,

mùi hương đặc trưng của sữa chua kết hợp với mùi hương bắp tím và có màu tím nhạt. Cùng tỷ lệ sữa, bắp nhưng lượng đường bổ sung cao hơn mức 4% thì sản phẩm có vị ngọt gắt vì trong quá trình lên

men vi khuẩn không sử dụng hết lượng đường còn lại. Nếu bổ sung dịch bắp ở tỷ lệ thấp hơn thì hương vị bị ít đi và màu sắc đặc trưng của bắp tím làm cho sản phẩm ít hấp dẫn hơn. Bên cạnh đó, nghiệm thức 5:5 và 12% có điểm đánh giá cảm quan đạt 13,33/15 điểm nhưng tỷ lệ dịch bắp tím cao làm cho sản phẩm ít mùi vị đặc trưng của sữa chua hơn vì đậm mùi của bắp hơn. Như vậy, tỷ lệ bắp, sữa và đường là 2:8 và 4% là tỷ lệ thích hợp để lên men sữa chua bắp tím.

3.6. Đánh giá chất lượng và khả năng kháng oxy hóa của sữa chua có bổ sung dịch bắp tím

Sau 8 giờ lên men ở nhiệt độ 43°C, một số chỉ tiêu đánh giá chất lượng sữa chua có bổ sung và

không bổ sung bắp tím được thể hiện ở Bảng 5. Hàm lượng acid của sữa chua có bổ sung bắp tím có giá trị (7,80 g/L) cao hơn so với giá trị acid của sữa chua không có bổ sung bắp tím (7,62 g/L) nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Trong khi đó, giá trị pH và mật số vi khuẩn có sự khác biệt về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%, cụ thể là ở nghiệm thức sữa chua bắp tím có pH đạt 4,52 và mật số đạt 10,16 logCFU/mL và ở nghiệm thức sữa chua không bổ sung bắp tím có pH đạt 4,63 và mật số đạt 10,06 logCFU/mL.

Bảng 5. Kết quả đánh giá chất lượng giữa sữa chua bổ sung bắp tím và không bổ sung bắp tím

Sữa chua	pH	Hàm lượng acid tổng (g/L)	Mật số LAB (logCFU/mL)	Khả năng kháng oxy hóa (%)	Hàm lượng GABA (mg/mL)	Điểm cảm quan
Bổ sung bắp tím	4,52 ^b	7,80 ^a	10,16 ^a	17,14 ^a	1,295 ^a	14,67 ^a
Không bổ sung bắp tím	4,63 ^a	7,62 ^a	10,06 ^b	6,15 ^a	1,191 ^b	14,33 ^b

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% ($p < 0,05$). Sữa chua của các mẫu đã được pha loãng 10 lần để đánh giá khả năng kháng oxy hóa.

Nguyên nhân có thể là do việc bổ sung dịch bắp tím đã cũng cấp thêm nguồn protein, chất xơ, khoáng chất cùng các nhóm vitamin đã góp phần thúc đẩy quá trình lên men và gia tăng mật số LAB. Bên cạnh đó, hàm lượng GABA trong sữa chua cũng được xác định ở sữa chua không bổ sung và có bổ sung bắp tím với giá trị lần lượt là 1,191 và 1,295 mg/mL. Kết quả cho thấy rằng việc chuyển từ môi trường nuôi cấy (MRS) sang môi trường sữa không làm thay đổi nhiều về quá trình sinh tổng hợp GABA của *L. pentosus*. Tuy nhiên, lượng GABA có trong sữa chua bổ sung bắp tím cao hơn có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê so với sữa chua không được bổ sung và nguyên nhân có thể là do trong bắp tím đã có một lượng GABA nhất định với khoảng 15,27 mg/100 g chất khô theo nghiên cứu của Polthum & Ahromrit (2014).

Bên cạnh đó, hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu sữa chua cũng được xác định bằng phương pháp DPPH và thể hiện trong Bảng 6. Kết quả cho thấy, sữa chua có bổ sung bắp tím có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH với 17,14%, cao rõ rệt và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với sữa chua không bổ sung bắp tím (6,15%). Hoạt động chống oxy hóa của sữa chua có nguồn gốc từ các peptide và acid amin được tạo ra bởi vi khuẩn acid lactic

trong quá trình lên men (Ye et al., 2013) và đối với các nhóm sữa chua tăng cường bổ sung các chiết xuất từ thực vật nói chung có thể là do các hợp chất phenolic, đóng vai trò thiết yếu như chất chống oxy hóa (Csepregi et al., 2016). Trong nghiên cứu này, hàm lượng DPPH bị ức chế bởi sữa chua có bổ sung dịch bắp cao hơn vì trong dịch bắp tím có các chất chống oxy hoá như polyphenol, flavonoid, flavanol và đặc biệt là sắc tố anthocyanin giúp khử các gốc oxy hoá tự do (Yang & Zhai, 2010).

Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy sữa chua có bổ sung dịch bắp tím được đánh giá tốt (Bảng 5). Sản phẩm có cấu trúc mịn, màu sắc đẹp, mùi vị đặc trưng của sản phẩm sữa chua lên men (Hình 8).



Hình 8. Sữa chua có bổ sung bắp tím

4. KẾT LUẬN

Kết quả đã phân lập được 15 chủng LAB có khả năng sinh tổng hợp GABA và lên men trong môi trường MRS từ bốn loại sữa chua khảo sát. Trong đó, chủng V3 được định danh là *L. pentosus* với khả năng sinh GABA và acid lactic cao nhất với giá trị lần lượt là 1,236 mg/mL và 8,10 g/L. Sữa chua bắp tím phối trộn theo tỷ lệ giữa bắp tím và sữa là 2:8 (w/v) với 4% w/v đường bổ sung với nguồn giống ở

mật số 10^8 CFU/mL đã tạo ra sản phẩm có vị chua ngọt vừa phải, mùi hương đặc trưng của sữa chua kết hợp với mùi hương bắp tím, có màu hồng nhạt với hương vị đặc trưng của sữa chua truyền thống.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của Trường Đại học Cần Thơ thông qua đề tài cấp Trường (mã số TSV2022-153).

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Abriouel, H., Pérez Montoro, B., Pérez Pulido, A. J., Knapp, C. W., Caballero Gómez, N., Castillo-Gutiérrez, S., & Benomar, N. (2017). Insight into potential probiotic markers predicted in *Lactobacillus pentosus* MP-10 genome sequence. *Frontiers in Microbiology*, 8, 268876. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00891>
- Ai, Y., & Jane, J. L. (2016). Macronutrients in corn and human nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 581-598. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12192>
- Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, 139, 1-66. <https://doi.org/10.1201/9780824752033.ch1>
- Bui, H. D. L., Pham, Q. S., Huynh, X. P., Nguyen, N. T., & Dung, N. T. P. (2019). Study of conditions for lactic acid fermentation from sugarcane molasses using thermotolerant lactic acid bacteria. *Can Tho University Journal of Science*, 55(2), 103-109 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2019.050>
- Csepregi, K., Neugart, S., Schreiner, M., & Hideg, É. (2016). Comparative evaluation of total antioxidant capacities of plant polyphenols. *Molecules*, 21(2), 208. <https://doi.org/10.3390/molecules21020208>
- Dhakal, R., Bajpai, V. K., & Baek, K. H. (2012). Production of GABA (γ -aminobutyric acid) by microorganisms: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 1230-1241. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400001>
- Diez-Gutiérrez, L., San Vicente, L., Barrón, L. J. R., del Carmen Villarán, M., & Chávarri, M. (2020). Gamma-aminobutyric acid and probiotics: Multiple health benefits and their future in the global functional food and nutraceuticals market. *Journal of Functional Foods*, 64, 103669. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103669>
- Donovan, S. M., & Shamir, R. (2014). Introduction to the yogurt in nutrition initiative and the First Global Summit on the health effects of yogurt. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99(5), 1209S-1211S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.073429>
- El-Abadi, N. H., Dao, M. C., & Meydani, S. N. (2014). Yogurt: role in healthy and active aging. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99(5), 1263S-1270S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.073957>
- Gizachew, S., Van Beeck, W., Spacova, I., Dekeukeleire, M., Alemu, A., Woldemedhin, W. M., Mariam, S. H., Lebeer, S., & Engidawork, E. (2023). Antibacterial and immunostimulatory activity of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from Ethiopian fermented dairy products. *Fermentation*, 9(3), 258. <https://doi.org/10.3390/fermentation9030258>
- He, J., & Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 163-187.
- Hussin, F. S., Chay, S. Y., Hussin, A. S. M., Wan Ibadullah, W. Z., Muhialdin, B. J., Abd Ghani, M. S., & Saari, N. (2021). GABA enhancement by simple carbohydrates in yoghurt fermented using novel, self-cloned *Lactobacillus plantarum* Taj-Apis362 and metabolomics profiling. *Scientific Reports*, 11(1), 9417. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88436-9>
- Jiang, G., He, J., Gan, L., Li, X., & Tian, Y. (2022). Optimization of exopolysaccharides production by *Lactiplantibacillus pentosus* B8 isolated from Sichuan PAOCAI and its functional properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 58(2), 195-205. <https://doi.org/10.1134/S0003683822020107>
- Kim, M. J., & Kim, K. S. (2012). Isolation and identification of γ -aminobutyric acid (GABA)-producing lactic acid bacteria from Kimchi. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 55, 777-785. <https://doi.org/10.1007/s13765-012-2174-6>
- Kim, T. H., Kim, J. K., Kang, Y. H., Lee, J. Y., Kang, I. J., & Lim, S. S. (2013). Aldose reductase inhibitory activity of compounds from *Zea mays* L. *BioMed Research*

- International*, 2013, 727143.
<https://doi.org/10.1155/2013/727143>
- Konczak, I., & Zhang, W. (2004). Anthocyanins - more than nature's colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 239.
<https://doi.org/10.1155/S1110724304407013>
- Kook, M. C., Seo, M. J., Cheigh, C. I., Pyun, Y. R., Cho, S. C., & Park, H. (2010). Enhanced production of gamma-aminobutyric acid using rice bran extracts by *Lactobacillus sakei* B2-16. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(4), 763-766.
<https://doi.org/10.4014/jmb.1610.10008>
- Lakhlifi, T., Es-Sbata, I., Eloirdi, S., El Aamri, L., Zouhair, R., & Belhaj, A. (2021). Biopreservation of yogurt against fungal spoilage using cell-free supernatant of *Lactiplantibacillus pentosus* 22B and characterization of its antifungal compounds. *Food Biotechnology*, 35(4), 327-348.
<https://doi.org/10.1080/08905436.2021.1980004>
- Li, H., Qiu, T., Cao, Y., Yang, J., & Huang, Z. (2009). Pre-staining paper chromatography method for quantification of γ -aminobutyric acid. *Journal of Chromatography A*, 1216(25), 5057-5060.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.04.044>
- Li, H., Qiu, T., Gao, D., & Cao, Y. (2010). Medium optimization for production of gamma-aminobutyric acid by *Lactobacillus brevis* NCL912. *Amino Acids*, 38, 1439-1445.
<https://doi.org/10.1007/s00726-009-0355-3>
- Long N, Suzuki S, Sato S, Naiki-Ito A, Sakatani K, Shirai T, Takahashi, S. 2013. Purple corn color inhibition of prostate carcinogenesis by targeting cell growth pathways. *Cancer Science*, 104, 298-303.
<https://doi.org/10.1111/cas.12078>
- Mai, D. L., Do, M. P., Pham, T. T., Anh, Kieu, H. A., & Nguyen, T. G. (2008). Study on characteristics of lactic acid bacteria isolated in Hanoi. *Vietnam National University, Hanoi Journal of science - Natural Sciences and Technology*, 24, 221-226 (in Vietnamese).
- Ministry of Science and Technology. (2002). TCVN 7030:2002. Yogurt - Technical regulations (in Vietnamese).
- Ministry of Science and Technology. (2008). TCVN 7906:2008. Microorganisms in Food and Animal Feed - Method for Quantifying Mesophilic Lactic Acid Bacteria - Colony Counting Technique at 30°C (in Vietnamese).
- Nguyen, L., & Hwang, E. S. (2016). Quality characteristics and antioxidant activity of yogurt supplemented with aronia (*Aronia melanocarpa*) juice. *Preventive Nutrition and Food Science*, 21(4), 330.
<https://doi.org/10.3746/pnf.2016.21.4.330>
- Nguyen, N. T., Huynh, H. X., Nguyen, T. T. V., Huynh, T. T. B., Bui, H. D. L., & Dung, N. T. P. (2015). Isolation and selection of lactic acid bacteria applied in *Spirulina* supplemented yogurt fermentation. *Can Tho University Journal of Science*, 40(1), 8-14 (in Vietnamese).
- Elferink, S. J. O. Krooneman, J., Gottschal, J. C., Spoelstra, S. F., Faber, F., & Driehuis, F. (2001). Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1, 2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), 125-132.
<https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.125-132.2001>
- Polthum, P., & Ahromrit, A. (2014). GABA content and Antioxidant activity of Thai waxy corn seeds germinated by hypoxia method. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 36(3), 309-316.
- Qiu, T., Li, H., & Cao, Y. (2010). Pre-staining thin layer chromatography method for amino acid detection. *African Journal of Biotechnology*, 9(50), 8679-8681.
- Raethong, N., Santivarangkna, C., Visessanguan, W., Santiyant, P., Mhuanong, W., & Chokesajjawatee, N. (2022). Whole-genome sequence analysis for evaluating the safety and probiotic potential of *Lactiplantibacillus pentosus* 9D3, a gamma-aminobutyric acid (GABA)-producing strain isolated from Thai pickled weed. *Frontiers in Microbiology*, 13, 969548.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.969548>
- Song, H. Y., & Yu, R. C. (2018). Optimization of culture conditions for gamma-aminobutyric acid production in fermented adzuki bean milk. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(1), 74-81.
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.024>
- Truong, T. T. N., Le, T. M. T., Tran, N. H., Nguyen, T. M. T., Mai, H. A., Nguyen, N. T., Bui, H. D. L., Huynh, X. P. (2020). Isolation and selection of lactic acid bacteria and application in fermentation of mushroom (*Volvariella volvacea*). *Thai Nguyen University (TNU) Journal of Science and Technology*, 225, 3-10 (in Vietnamese).
- Ueno, H. (2000). Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 10(1-3), 67-79.
[https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(00\)00114-4](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(00)00114-4)
- Weerathilake, W. A. D. V., Rasika, D. M. D., Ruwanmali, J. K. U., & Munasinghe, M. A. D. D. (2014). The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(4), 1-10.

- <http://www.ijsrp.org/research-paper-0414.php?rp=P282540>
- William, G., M. B. Susan, A. P. Dale, & J. L. David (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2), 697-703.
- Yang, Z., & Zhai, W. (2010). Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(1), 169-176.
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.08.012>
- Ye, M., Ren, L., Wu, Y., Wang, Y., & Liu, Y. (2013). Quality characteristics and antioxidant activity of hickory-black soybean yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 314-318.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.027>