



DOI:10.22144/ctu.jou.2025.230

TUYỂN CHỌN VI KHUẨN LACTIC CÓ KHẢ NĂNG SINH γ -AMINOBUTYRIC ACID (GABA) TỪ KIM CHI VÀ DƯA CẢI MUỐI CHUA

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm*, Lê Thị Như Huỳnh, Đinh Ngọc Bích và Trần Hữu Hậu

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

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

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 29/07/2025

Sửa bài (Revised): 18/08/2025

Duyệt đăng (Accepted): 14/11/2025

Title: Selection of lactic bacteria capable of producing γ -aminobutyric acid (GABA) from kimchi and pickled mustard greens

Author: Huynh Ngoc Thanh Tam*, Le Thi Nhu Huynh, Dinh Ngoc Bich and Tran Huu Hau

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

TÓM TẮT

Gamma-aminobutyric acid (GABA) là một acid amin có vai trò như chất dẫn truyền thần kinh ức chế và mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe. Nghiên cứu này nhằm phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic (LAB) sinh GABA từ kim chi và dưa cải thu thập tại Cần Thơ và Vĩnh Long. Trong nghiên cứu, 26 dòng vi khuẩn LAB trên môi trường MRS đã được phân lập. Quá trình sàng lọc theo các tiêu chí sinh acid lactic, tiềm năng probiotic và tạo GABA đã xác định năm dòng LAB: KC5, KC9, DC4, DC9 và DC11. Cả năm dòng đều cho khả năng sinh acid lactic cao và ổn định sau 48 giờ lên men, trong đó dòng KC5 đạt hàm lượng cao nhất là 26,93 g/L. Đặc biệt, dòng KC5 còn thể hiện khả năng sinh GABA vượt trội, đạt 2,146 mg/mL sau 72 giờ lên men trong môi trường MRS lỏng có bổ sung 0,25% MSG ở 37°C. Phân tích trình tự 16S rRNA xác định dòng KC5 thuộc loài *Limosilactobacillus fermentum* (PX136141.1), với tiềm năng ứng dụng cao trong phát triển thực phẩm chức năng lên men giàu GABA.

Từ khóa: Dưa cải, kim chi, *Limosilactobacillus fermentum*, lên men, vi khuẩn lactic (LAB), γ -aminobutyric acid (GABA)

ABSTRACT

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is an amino acid that serves as an inhibitory neurotransmitter, offering several health benefits. This study aimed to isolate and select lactic acid bacteria (LAB) strains capable of producing GABA from traditional fermented products such as kimchi and pickled mustard greens, collected from Can Tho city and Vinh Long province. A total of 26 LAB strains were isolated on MRS medium. Through a selection process based on lactic acid production, probiotic potential, and GABA biosynthetic capacity, five LAB strains (KC5, KC9, DC4, DC9, and DC11) were selected. All five strains exhibited high and stable lactic acid production after 48 hours of fermentation, with strain KC5 showing the highest yield at 26.93 g/L. Notably, strain KC5 also demonstrated superior GABA production, reaching 2.146 mg/mL after 72 hours of fermentation in MRS broth supplemented with 0.25% monosodium glutamate (MSG) at 37°C. 16S rRNA gene sequencing identified KC5 as *Limosilactobacillus fermentum* (PX136141.1), with high potential for application in the development of GABA-enriched fermented functional foods.

Keywords: Fermentation, kimchi, lactic acid bacteria (LAB), *Limosilactobacillus fermentum*, pickled mustard greens, γ -aminobutyric acid (GABA)

1. GIỚI THIỆU

Vi khuẩn acid lactic (LAB) là nhóm vi khuẩn Gram dương, có hình que hoặc hình cầu, không sinh bào tử, thường không di động, catalase và oxidase âm tính (Abee et al., 1999). Chúng là vi khuẩn kỵ khí tùy nghi, có khả năng lên men carbohydrate để tạo acid lactic, góp phần vào việc hạ pH môi trường và ức chế vi sinh vật gây hư hỏng (Nguyen et al., 2022). Nhờ đó, LAB giữ vai trò quan trọng trong quá trình lên men thực phẩm truyền thống như sữa chua, kim chi, dưa muối, góp phần cải thiện mùi vị, kéo dài thời gian bảo quản và tăng giá trị dinh dưỡng của sản phẩm. Bên cạnh đó, LAB còn có khả năng tổng hợp các hợp chất chuyển hóa thứ cấp có hoạt tính sinh học như acid hữu cơ, exopolysaccharide, bacteriocin, vitamin và đặc biệt là gamma-aminobutyric acid (GABA). GABA là một acid amin có chức năng như một chất dẫn truyền thần kinh ức chế, mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe như hỗ trợ điều hòa huyết áp, giảm căng thẳng và cải thiện giấc ngủ (Hepsomali et al., 2020; Almutairi et al., 2024; Icer et al., 2024; Xu et al., 2025).

GABA là một acid amin đóng vai trò như chất dẫn truyền thần kinh, giúp ức chế tín hiệu thần kinh và làm dịu hệ thần kinh, từ đó giảm lo âu, căng thẳng và sợ hãi. GABA được sử dụng để hỗ trợ điều trị mất ngủ, trầm cảm, tăng miễn dịch, điều hòa huyết áp, giảm béo phì và cải thiện thị lực (Cui et al., 2020). Một số dòng LAB có khả năng sản xuất GABA nhờ enzyme L-glutamate decarboxylase (GAD), giúp LAB chống chịu môi trường axit bằng cách chuyển L-glutamate thành GABA và CO₂. Do đó, các loại sản phẩm lên men giàu GABA truyền thống như kim chi và dưa cải muối chua sử dụng các dòng lên men bằng vi khuẩn lactic (LAB) được xem là phương pháp tự nhiên và hiệu quả để sản xuất GABA (Devi et al., 2023). Trong nghiên cứu này, việc phân lập LAB từ kim chi và dưa cải có khả năng sản xuất GABA đã được thực hiện và tiềm năng của chúng trong việc sản xuất sản phẩm muối chua giàu GABA cũng đã được tiến hành nghiên cứu.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và hóa chất

Mẫu kim chi cải thảo (*Brassica pekinensis* Rupr.) và dưa cải bẹ xanh (*Brassica campestris* L.) được thu từ các chợ tại phường Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ và xã Tân Quới, tỉnh Vĩnh Long. Mẫu được bảo quản trong thùng chứa mẫu ở nhiệt độ 4 - 10°C và vận chuyển về phòng thí nghiệm.

Môi trường MRS lỏng (De Man, Rogosa và Sharpe, Himedia, Ấn Độ), GABA chuẩn (Trung Quốc), Monosodium glutamate (MSG), CaCO₃ (Xilong, Trung Quốc), bộ nhuộm Gram (Nam Khoa, Việt Nam), thuốc thử catalase (Xilong, Trung Quốc), oxidase (Nam Khoa, Việt Nam) và indole (Merck, Đức).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập và nhận diện vi khuẩn lactic

Mẫu kim chi cải thảo (pH 4,5 - 5,1; độ mặn 70 - 75 ppt) và dưa cải bẹ xanh (pH 4,19 - 4,6; độ mặn 25 - 30 ppt) được lấy 10 g, đồng nhất trong 90 mL môi trường MRS lỏng bằng máy đập mẫu, sau đó ủ lactic ở 37°C trong 48 giờ. Sau khi ủ, 100 µL dung dịch mẫu được trải trên đĩa môi trường thạch MRS và ủ ở nhiệt độ 37°C. Sau 48 giờ, những khuẩn lạc đặc trưng xuất hiện đã được quan sát và chọn, sau đó việc cấy chuyển được thực hiện cho đến khi xác định được độ thuần của các dòng vi khuẩn.

Đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường MRS được quan sát dưới kính hiển vi soi nổi (Carl Zeiss, Đức). Đặc điểm tế bào được ghi nhận bằng kính hiển vi quang học (Primo Star iLed, Carl Zeiss, Đức) ở độ phóng đại x1000 và xác định các đặc điểm sinh hóa catalase và oxidase. Các dòng vi khuẩn được tuyển chọn dựa trên đặc điểm điển hình của vi khuẩn acid lactic. Khuẩn lạc quan sát được có màu trắng sữa hoặc trắng đục, bề mặt láng, dạng lồi mô hoặc lồi, với rìa khuẩn lạc nguyên hoặc hơi chia thùy. Hình thái tế bào đa dạng gồm dạng que, cầu, cầu đôi hoặc chuỗi cầu. Các dòng đều bắt Gram dương và âm tính với phản ứng catalase và oxidase (Ary et al., 2021; Angadi et al., 2021).

2.2.2. Khảo sát khả năng lên men acid lactic của các dòng vi khuẩn đã phân lập

Hàm lượng acid lactic được xác định theo phương pháp chuẩn độ acid (Nguyen & Hwang, 2016). Các dòng vi khuẩn lactic được nuôi tăng sinh trong 10 mL môi trường MRS lỏng, ủ lactic ở 37 °C trong 24 giờ. Sau đó, 1 mL dịch tăng sinh được cấy chuyển vào 6 mL môi trường MRS lỏng mới và tiếp tục lên men tĩnh ở 37 °C trong 72 giờ. Hàm lượng acid lactic sinh ra được xác định sau 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ.

Tại mỗi thời điểm, 1 mL dịch lên men từ mỗi ống nghiệm được lấy và cho vào một ống nghiệm mới, sau đó thêm 1 - 2 giọt phenolphthalein làm chỉ thị màu. Chuẩn độ bằng dung dịch NaOH 0,1 N được thêm từ từ, mỗi lần 25 µL, cho đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng. Hàm lượng acid lactic

trong 1 mL dịch mẫu được tính theo công thức của Nguyen and Hwang (2016):

$$A = k \times V \times 1000$$

Trong đó: A là hàm lượng acid lactic trong 1 mL mẫu (g/L), V là thể tích NaOH đã sử dụng (mL) và k là hệ số quy đổi acid tổng về acid tương ứng với 1 mL NaOH 0,1N (k = 0,009)

2.2.3. Khảo sát đặc tính probiotic các dòng vi khuẩn acid lactic đã tuyển chọn

Khả năng chịu pH: Vi khuẩn LAB sau khi được nuôi tăng sinh (mật số đạt 10^7 CFU/mL) được chuyển 100 μ L vào môi trường MRS có pH 2 (sử dụng HCl 3M để điều chỉnh) và ủ lactic ở 37°C. Sau 24 giờ, mật số vi khuẩn trên môi trường thạch MRS được xác định bằng phương pháp nhỏ giọt đếm sống (Hoben & Somasegaran, 1982).

Khả năng chịu muối mật: Vi khuẩn LAB (mật số 10^7 CFU/mL) được chuyển 100 μ L vào môi MRS có bổ sung 0,3% muối mật, ủ lactic ở 37°C. Sau 4 giờ, việc xác định mật số vi khuẩn trên môi trường thạch MRS được tiến hành bằng phương pháp nhỏ giọt đếm sống (Hoben & Somasegaran, 1982).

Khả năng chịu kháng sinh: Vi khuẩn LAB (mật số 10^7 CFU/mL) được trải trên môi trường NA, sau đó lần lượt đặt đĩa giấy có tấm kháng sinh (ampicilline 10 μ g, ofloxacin 30 μ g và tetracycline 30 μ g) và ủ ở 37°C. Sau 24 giờ, việc ghi nhận đường kính vòng kháng khuẩn (nếu có) và việc xác định mức độ nhạy cảm với kháng sinh được tiến hành. Mẫu được xem là kháng khi đường kính vòng kháng khuẩn \leq 14 mm và nhạy cảm khi $>$ 14 mm (Sharma et al., 2017).

Khả năng tự bám dính: Tế bào vi khuẩn được rửa 2 lần bằng dung dịch đệm PBS (8 g NaCl; 0,2 g KCl; 1,44 g; Na_2PO_4 ; 0,24 g KH_2PO_4 ; nước cất đủ 1 L, pH 7,2 vô trùng), sau đó được tái huyền phù trong đệm PBS và ghi nhận mật số vi khuẩn bằng giá trị OD ở bước sóng 600 ($\text{OD}_{\text{ban đầu}}$). Sau đó, huyền phù vi khuẩn được ủ trong điều kiện tĩnh ở 37°C trong 5 giờ và xác định giá trị OD_{sau} trên bề mặt. Tỷ lệ tự kết dính được tính bằng phần trăm độ giảm mật độ quang học (OD_{600}) của dịch nổi sau thời gian ủ tĩnh so với giá trị ban đầu (Huynh et al., 2023).

$$[(\text{OD}_{\text{ban đầu}} - \text{OD}_{\text{sau}}) / \text{OD}_{\text{ban đầu}}] \times 100$$

2.2.4. Đánh giá khả năng sinh GABA của các dòng vi khuẩn lactic đã được tuyển chọn

Hàm lượng GABA trong dung dịch sau lên men của các dòng vi khuẩn lactic được xác định bằng phương pháp sắc ký bản mỏng TLC (Li et al., 2009).

Dung dịch sau lên men được chuyển vào eppendorf và ly tâm ở 10000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó chuyển dịch trong qua ống eppendorf mới. Châm 2 μ L dịch trong sau khi ly tâm, 2 μ L dung dịch GABA, MSG chuẩn (2 mg/mL) lên bản mỏng silica gel (5x10 cm) đã kích hoạt bằng cách sấy ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút, các vết chấm cách nhau 1 cm và cách dung môi 1,5 cm, đợi các chấm mẫu khô trong 3 phút, sau đó đặt bản mỏng vào bể chạy sắc ký có chứa 20 mL hỗn hợp dung môi gồm n-butanol, acid acetic và nước (tỉ lệ 5:3:2) bổ sung 1,2% (w/v) ninhydrin. Khi dung môi sắc ký cách đỉnh của tấm sắc ký khoảng 0,5 cm thì lấy bản mỏng ra và cho vào tủ sấy ở 70°C trong 80 phút để nhận diện các đốm GABA.

Định lượng GABA sinh ra: Các đốm GABA tinh khiết xác định trên bản mỏng sắc ký được cắt và cho vào ống nghiệm có chứa 5 mL dung dịch ethanol 75%: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,6% với tỉ lệ 38:2 (v/v), vortex cho đến khi các đốm GABA tinh khiết hoà tan hết vào dung môi. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 512 nm. Định lượng GABA trong các mẫu dựa vào đường chuẩn GABA. Hàm lượng GABA được xác định dựa trên đường chuẩn GABA (0,5 - 3,0 mg/mL) có phương trình tuyến tính $y = 0,0338x - 0,0226$ với $R^2 = 0,9821$.

2.2.5. Định danh dòng vi khuẩn đã tuyển chọn

Dòng vi khuẩn được chọn được cấy chuyển vào môi trường MRS và tiến hành định danh bằng phương pháp khuếch đại trình tự gene PCR giải trình tự gene 16S rRNA. Cặp mồi 27F và 1492R được sử dụng để khuếch đại đoạn gen mục tiêu (PCR) có trình tự như sau: 27F: (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3') và 1492R: (5'-TACGGTTACCTTGTACACT-3') (Tran et al., 2022). Sau đó, việc giải trình tự đoạn gene 16S rRNA được tiến hành. Sau khi có kết quả, trình tự được thu thập từ kết quả BLAST gen 16S rRNA của dòng vi khuẩn đã tuyển chọn với cơ sở dữ liệu Ngân hàng gen NCBI. Tiến hành giống cột (multiple sequence alignment) bằng thuật toán clustal W trên phần mềm Bioedit phiên bản 7.2.1. Chương trình MEGA X (Kumar et al., 2018) được sử dụng để xây dựng gián đồ phát sinh loài theo phương pháp Maximum Likelihood với mô hình tiến hóa Kimura 2-parameter (Kimura et al, 1980). Độ tin cậy của gián đồ được kiểm định bằng phương pháp bootstrap với 1000 lần lặp lại. Loài *Pediococcus damnosus* được sử dụng làm nhóm ngoại (outgroup).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

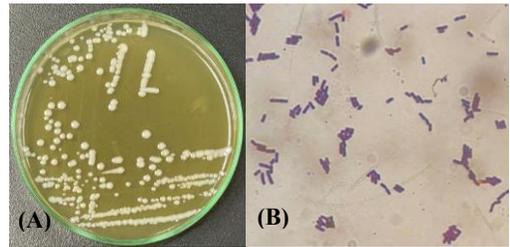
Các số liệu thu được từ thí nghiệm được phân tích phương sai (ANOVA) bằng phần mềm Minitab 16.0, với mức ý nghĩa thống kê 5% ($p < 0,05$). Dữ liệu được ghi nhận và biểu diễn kết quả bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và nhận diện vi khuẩn lactic

Việc phân lập được 26 dòng vi khuẩn lactic trên môi trường MRS từ các sản phẩm muối chua tại thành phố Cần Thơ và tỉnh Vĩnh Long, gồm 14 dòng (53,8%) từ kim chi và 12 dòng (46,2%) từ dưa cải. Tất cả có khuẩn lạc màu trắng đục hoặc trắng sữa, dạng tròn, bìa nguyên, trong đó có 15 dòng có độ nổi lồi và 11 dòng có độ nổi mô, kích thước khuẩn lạc dao động từ 0,5 đến 4 mm. Hơn thế nữa, các dòng vi khuẩn đều Gram dương, không sinh indole và catalase âm tính (Bảng 1, Hình 1).

Dựa vào mô tả hình thái khuẩn lạc trên môi trường MRS và các đặc điểm sinh hóa, kết quả cho thấy tất cả các dòng vi khuẩn đều tương đồng với đặc điểm của vi khuẩn acid lactic. Khuẩn lạc có màu trắng đục hoặc trắng sữa, hình tròn với bìa nguyên, bề mặt láng và có độ nổi lồi hoặc mô. Các chủng đều bất Gram dương và âm tính với phản ứng oxidase và catalase (Arimah et al., 2014; Do et al., 2014; Ary et al., 2021; Angadi et al., 2021).



Hình 1. Đặc điểm hình thái của vi khuẩn lactic

Ghi chú: (A) Hình dạng khuẩn lạc và (B) hình thái tế bào dòng DC10 sau khi nhuộm Gram.

Bảng 1. Đặc điểm của các dòng vi khuẩn phân lập

Dòng vi khuẩn	Khuẩn lạc				Tế bào		Sinh hóa			
	Màu sắc	Dạng	Độ nổi	Dạng bìa	KT (mm)	Hình thái	Gram	Indol	Catalase	Oxidase
DC1	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	1,0 - 3,0	Que ngắn	+	-	-	-
DC2	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	0,8 - 2,0	Cầu đôi	+	-	-	-
DC3	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	1,0 - 3,0	Que ngắn	+	-	-	-
DC4	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	1,0 - 4,0	Que ngắn	+	-	-	-
DC5	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	0,8 - 2,0	Que dài	+	-	-	-
DC6	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	0,8 - 2,0	Que ngắn	+	-	-	-
DC7	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	0,9 - 2,0	Que ngắn	+	-	-	-
DC8	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	1,0 - 4,0	Que ngắn	+	-	-	-
DC9	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	1,0 - 3,0	Que ngắn	+	-	-	-
DC10	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	0,7 - 2,0	Cầu đơn	+	-	-	-
DC11	Trắng đục	Tròn	Mô	Nguyên	0,7 - 2,0	Cầu chuỗi	+	-	-	-
DC12	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	1,0 - 3,0	Que ngắn	+	-	-	-
KC1	Trắng sữa	Tròn	Lồi	Nguyên	0,5 - 1,5	Que ngắn	+	-	-	-
KC2	Trắng đục	Tròn	Mô	Nguyên	1,0 - 2,5	Que ngắn	+	-	-	-
KC3	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	0,5 - 2,0	Que dài	+	-	-	-
KC4	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	1,0 - 3,0	Que ngắn	+	-	-	-
KC5	Trắng đục	Tròn	Lồi	Nguyên	1,0 - 1,5	Que ngắn	+	-	-	-
KC6	Trắng sữa	Tròn	Lồi	Nguyên	0,5 - 2,5	Que ngắn	+	-	-	-
KC7	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	0,5 - 1,5	Que ngắn	+	-	-	-
KC8	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	1,0 - 1,5	Que ngắn	+	-	-	-
KC9	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	1,0 - 1,5	Que ngắn	+	-	-	-
KC10	Trắng đục	Tròn	Mô	Nguyên	0,5 - 1,0	Que ngắn	+	-	-	-
KC11	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	0,5 - 1,0	Que ngắn	+	-	-	-
KC12	Trắng sữa	Tròn	Mô	Nguyên	0,5 - 1,0	Que ngắn	+	-	-	-
KC13	Trắng sữa	Tròn	Lồi	Nguyên	0,5 - 1,5	Que ngắn	+	-	-	-
KC14	Trắng đục	Tròn	Mô	Nguyên	0,5 - 1,5	Que ngắn	+	-	-	-

Ghi chú: Ký hiệu các dòng vi khuẩn được phân lập đặt tên dựa theo tên và địa điểm thu mẫu: DC là mẫu dưa cải: dòng 1 - 9 từ mẫu thu tại Vĩnh Long, dòng 10 - 12 từ mẫu thu tại Cần Thơ. KC là mẫu kim chi: dòng 1 - 9 thu mẫu tại Cần Thơ, dòng 10 - 14 thu mẫu tại Vĩnh Long. Hình thái khuẩn lạc được quan sát trên môi trường MRS sau 24 giờ nuôi cấy. “+” dương tính, “-” âm tính.

3.2. Khả năng lên men acid lactic

Hàm lượng acid lactic sinh ra của 26 dòng vi khuẩn tại ba thời điểm 24, 48 và 72 giờ có sự khác biệt (Bảng 2). Dòng vi khuẩn KC5 thể hiện khả năng sinh acid lactic vượt trội, với hàm lượng lần lượt 20,25±1,96; 26,93±1,48 và 23,38±0,98 g/L sau 24, 48 và 72 giờ, luôn nằm trong nhóm có giá trị cao nhất tại cả ba thời điểm khảo sát. Một số dòng khác như KC9, DC11, DC4 và DC9 cũng cho thấy hàm lượng acid lactic cao, dao động từ 15,0 đến 20,7 g/L sau 72 giờ. Ngược lại, các dòng KC3, KC6 và KC10 có khả năng sinh acid lactic rất thấp, dưới 3,1 g/L tại tất cả các thời điểm.

Hàm lượng acid lactic đạt cao nhất tại thời điểm 48 giờ và có xu hướng giảm ở 72 giờ đối với hầu hết các dòng vi khuẩn khảo sát. Sự sụt giảm có thể được lý giải là do sau 48 giờ, quá trình lên men bị gián đoạn khi vi khuẩn bước vào pha suy vong. Trong giai đoạn này, sự thiếu hụt dinh dưỡng trong môi trường có thể gây bất lợi cho sự tăng trưởng và làm suy giảm các hoạt động chuyển hóa, dẫn đến giảm

hiệu suất chuyển hóa thành acid lactic (Leroy & De Vuyst, 2001). Hàm lượng acid lactic của các dòng vi khuẩn đạt giá trị cao nhất tại 48 và 72 giờ, sau đó giảm dần khi thời gian lên men kéo dài đến 96 giờ (Hoang, 2014; Bui et al., 2024). Thí nghiệm này cũng cho kết quả tương đương với công bố của Hoang et al. (2018), với hàm lượng acid lactic của các dòng LAB dao động trong khoảng 10,5 – 21,0 g/L. Ngoài ra, ri đường được sử dụng làm nguồn carbon của Bui et al. (2019) cũng cho thấy hàm lượng acid lactic cao nhất đạt 18,30 g/L, tương đồng với kết quả thu được trong nghiên cứu này.

Trong thí nghiệm này, các dòng vi khuẩn có khả năng sinh acid lactic cao chủ yếu thuộc nhóm DC, bên cạnh một số dòng thuộc nhóm KC. Dựa trên hàm lượng acid lactic thu được sau 48 giờ lên men, năm dòng tiềm năng gồm KC5, KC9 (từ mẫu kim chi) và DC4, DC9, DC11 (từ mẫu dưa cải) đã được lựa chọn để tiếp tục sử dụng trong các thí nghiệm kế tiếp.

Bảng 2. Hàm lượng acid lactic của các dòng vi khuẩn LAB

Dòng vi khuẩn	Hàm lượng acid lactic sinh (g/L)			Dòng vi khuẩn	Hàm lượng acid lactic sinh ra (g/L)		
	24 giờ	48 giờ	72 giờ		24 giờ	48 giờ	72 giờ
KC1	11,55 ^{hijk} ±0,56	13,20 ^{hi} ±1,04	13,57 ^{fghi} ±1,74	KC14	11,55 ^{hijk} ±1,50	11,78 ⁱ ±0,13	10,8 ^l ±0,45
KC2	9,52 ^k ±1,10	13,20 ^{hi} ±1,03	11,45 ^{kl} ±0,56	DC1	9,55 ^k ±1,34	13,9 ^{gh} ±0,68	12,77 ^{hijk} ±0,70
KC3	2,77 ^l ±0,34	3,60 ^l ±0,22	3,07 ^m ±0,12	DC2	11,85 ^{hij} ±2,09	14,25 ^{fgh} ±1,01	11,55 ^{kl} ±0,57
KC4	10,27 ^{jk} ±0,79	14,50 ^{efgh} ±0,94	13,04 ^{ghij} ±0,6	DC3	15,00 ^{ef} ±1,13	16,18 ^{def} ±1,67	11,63 ^{jkl} ±0,13
KC5	20,25 ^a ±1,96	26,93 ^a ±1,48	23,38 ^a ±0,98	DC4	12,38 ^{ghi} ±2,03	26,25 ^a ±2,60	16,84 ^c ±1,20
KC6	2,77 ^l ±0,13	2,92 ^l ±0,22	2,40 ^m ±0,12	DC5	10,57 ^{ijk} ±0,46	16,35 ^{def} ±1,10	14,30 ^{efg} ±0,70
KC7	12,00 ^{hij} ±0,68	13,55 ^{hi} ±0,75	12,37 ^{hjk} ±0,38	DC6	13,35 ^{fgh} ±2,03	15,00 ^{defgh} ±1,72	12,60 ^{ghjk} ±1,56
KC8	2,77 ^l ±0,13	3,67 ^l ±0,12	3,45 ^m ±0,56	DC7	16,20 ^{ce} ±3,09	18,68 ^c ±0,90	13,10 ^{ghij} ±0,12
KC9	12,2 ^{hij} ±0,57	22,50 ^b ±0,01	15,83 ^{cd} ±1,28	DC8	17,40 ^{bc} ±0,79	16,50 ^{dc} ±0,47	15,00 ^{def} ±1,04
KC10	2,70 ^l ±0,22	3,59 ^l ±0,22	2,92 ^m ±0,45	DC9	11,40 ^{hijk} ±0,57	22,10 ^b ±1,70	15,45 ^{cde} ±0,57
KC11	3,07 ^l ±0,13	3,97 ^l ±0,12	3,11 ^m ±0,33	DC10	18,45 ^{ab} ±0,39	15,90 ^{defg} ±3,40	13,88 ^{fgh} ±0,57
KC12	2,62 ^l ±0,34	2,70 ^l ±0,38	2,43 ^m ±0,13	DC11	18,15 ^{abc} ±0,13	23,34 ^b ±1,48	20,70 ^b ±0,23
KC13	11,92 ^{hij} ±1,03	15,30 ^{defghj} ±1,2	13,78 ^{fghi} ±1,74	DC12	14,40 ^{efg} ±2,03	16,58 ^{cde} ±2,02	12,45 ^m ±2,09

Ghi chú: Giá trị trong cột là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn (SD). Các giá trị trung bình trong cùng một cột thêm 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).

3.3. Đặc tính probiotic của các dòng vi khuẩn LAB đã tuyển chọn

Kết quả nghiên cứu cho thấy, cả 5 dòng acid lactic đều thể hiện khả năng sống sót ở môi trường pH 2,0 trong ít nhất 2 giờ và khả năng chống chịu với nồng độ muối mật cao từ 0,3 đến 0,5%, kháng kháng sinh tốt và khả năng tự kết dính trên 55% (Bảng 3). Khả năng sinh trưởng và phát triển của 5 dòng, đặc biệt là hai dòng KC5 và KC9 có mật số cao nhất khác biệt ý nghĩa so với các dòng còn lại

lần lượt đạt 6,72 và 6,58 log CFU/mL ở pH 2,0 và 7,3 log CFU/mL trong môi trường có muối mật, trong khi dòng DC11 sống sót kém nhất (5,09 log CFU/mL).

Ngoài ra, khả năng tự kết dính vào bề mặt biểu mô ruột là một đặc tính sinh học quan trọng khác để các dòng probiotic có thể bám dính tác dụng tại đường tiêu hóa đạt cao nhất của KC5 (68,6%) và thấp nhất là DC11 (55%), cho thấy tiềm năng ứng dụng probiotic mạnh mẽ, do bám dính là điều kiện

cốt lõi để vi khuẩn có thể định cư và phát huy tác dụng tại ruột (Baick & Kim, 2015). Với ba loại kháng sinh phổ biến gồm ampicillin (ức chế tổng hợp vách tế bào), tetracycline (ức chế tổng hợp

protein) và ofloxacin (ức chế tổng hợp acid nucleic), tất cả các dòng đều kháng với ba loại kháng sinh cho thấy khả năng thích nghi tốt và phù hợp với các báo cáo trước đó (Sharma et al., 2017).

Bảng 3. Đặc tính probiotic của 5 dòng LAB

Dòng vi khuẩn	pH 2 logCFU/mL	Muối mật logCFU/mL	Tự kết dính (%)	Mức độ nhạy cảm với kháng sinh		
				Ampicillin (10 µg)	Tetracycline (10 µg)	Ofloxacin (10 µg)
DC4	5,74 ^b ±0,24	6,31 ^b ±0,09	61,40 ^a ±0,50	R	R	R
DC9	5,64 ^b ±0,19	6,50 ^b ±0,43	56,20 ^b ±3,10	R	R	R
DC11	5,09 ^c ±0,05	6,54 ^b ±0,47	55,00 ^b ±2,80	R	R	R
KC5	6,72 ^a ±0,04	7,33 ^a ±0,05	68,60 ^a ±3,00	R	R	R
KC9	6,58 ^a ±0,03	7,30 ^a ±0,02	65,70 ^a ±0,90	R	R	R

Ghi chú: “R” kháng (resistant). Giá trị trong cột là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn (SD). Các giá trị trung bình trong cùng một cột thêm 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% ($p < 0,05$).

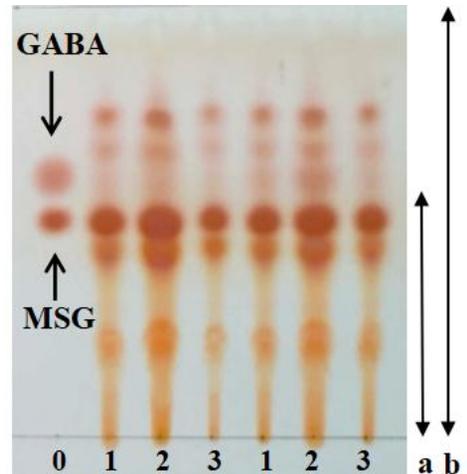
3.4. Khả năng sinh GABA của các dòng LAB sinh acid lactic cao đã được tuyển chọn

Năm dòng vi khuẩn lactic (LAB) được tuyển chọn từ các mẫu kim chi cải thảo và dưa cải muối chua đều có khả năng sinh tổng hợp gamma-aminobutyric acid (GABA) sau 72 giờ lên men ở 37°C và xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng TLC (Hình 2). Kết quả quan sát bản TLC cho thấy cả 5 dòng vi khuẩn đều xuất hiện các đốm tại vị trí tương đồng với đốm của chất chuẩn GABA, với hệ số di chuyển (Rf) dao động từ 0,57 đến 0,60, tương ứng với Rf của GABA chuẩn là 0,60. Hàm lượng GABA của 5 dòng vi khuẩn sinh ra trong quá trình lên men dao động từ 0,86 đến 2,146 mg/mL (Bảng 4). Trong số các dòng được khảo sát, KC5 và KC9 có hàm lượng GABA cao nhất, lần lượt đạt 2,146 mg/mL và 1,923 mg/mL, điều này cho thấy khả năng chuyển hóa glutamate thành GABA hiệu quả. Ngược lại, dòng DC4 tạo ra hàm lượng GABA thấp nhất, chỉ đạt 0,860 mg/mL.

GABA đã được chứng minh mang lại nhiều lợi ích sinh học, trong đó liều bổ sung từ 28 mg/người ở đối tượng trưởng thành (độ tuổi trung bình 35,9 ± 5,2 năm) cho thấy hiệu quả trong việc giảm stress, tăng thư giãn, điều hòa miễn dịch và cải thiện hoạt động thần kinh phó giao cảm (Nakamura et al., 2009). Trên cơ sở đó, nhiều nghiên cứu khi được thực hiện đã tập trung khai thác khả năng sinh GABA của vi khuẩn acid lactic. Theo Le et al. (2023) và Tran et al. (2023) khi bổ sung 3% MSG vào môi trường MRS, các chủng LAB có thể sản

sinh GABA với hàm lượng dao động từ 1,2 đến 1,6 mg/mL chỉ sau 24 giờ lên men.

Trong thí nghiệm này, hàm lượng GABA của năm dòng vi khuẩn lactic đã được phân tích. Trong đó, dòng KC5 thể hiện hiệu suất sinh GABA cao nhất, đạt 2,641 mg/mL, do đó đã được lựa chọn để định danh đến mức độ loài bằng kỹ thuật giải trình tự và phân tích vùng gen 16S.



Hình 2. Bản mỏng sắc ký lớp mỏng định tính GABA

Ghi chú: (0): dung dịch GABA chuẩn; MSG chuẩn (2 mg/mL); (1,2,3): dòng vi khuẩn; (a): khoảng cách di chuyển của chất phân tích (GABA); (b): khoảng cách di chuyển của dung môi.

Bảng 4. Hàm lượng GABA của 5 dòng LAB

Vi khuẩn	a (cm)	b (cm)	R _f =a/b ¹	Hàm lượng GABA (mg/mL) ²
DC4	4,60	7,70	0,60	0,86 ^c ±0,36
DC9	4,60	7,70	0,60	1,44 ^{bc} ±0,21
DC11	4,80	7,70	0,60	1,78 ^{ab} ±0,18
KC5	4,75	8,20	0,58	2,146 ^a ±1,19
KC9	4,70	8,20	0,57	1,923 ^{ab} ±0,04

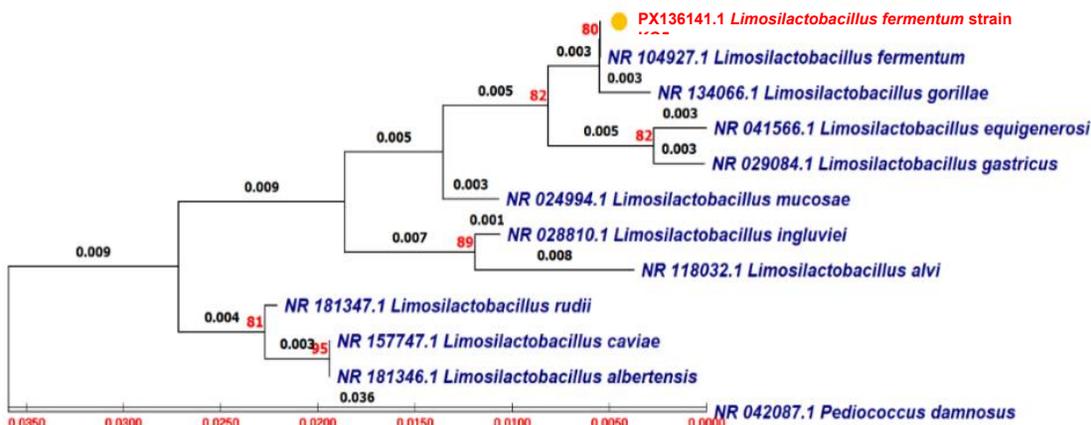
Ghi chú: 1 giá trị R_f của đốm GABA chuẩn (2mg/mL) trên bản mỏng là 0,6; 2 giá trị trong cột là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn (SD). Các giá trị trung bình trong cùng một cột thêm sau có các mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% (p < 0,05).

3.5. Định danh dòng vi khuẩn LAB đã tuyển chọn

Dựa trên giải đồ phả hệ từ gen 16S rRNA, loài vi khuẩn KC5 thuộc chi *Limosilactobacillus* được phân loại thành ba nhánh rõ rệt: Nhánh 1 gồm dòng KC5 và *L. fermentum*, *L. gorilla*, *L. equigenerosi*, *L. gastricus* với bootstrap 80 – 82 và chiều dài nhánh 0,003 - 0,005; (ii) cụm *L. ingluviei*, *L. alvi* (bootstrap 89, 0,001–0,008); (iii) nhánh *L. rudii*, *L. caviae*, *L. albertensis* (81 – 95, 0,000 – 0,004). Nhóm ngoại (Out-group) *Pediococcus damnosus* tách riêng hoàn toàn, xác nhận ranh giới chi. Ở nhánh 1, dòng KC5 đồng dạng hoàn toàn về mặt di truyền với *L. fermentum* với tỷ lệ bootstrap 80% và cùng nhóm với các loài trong nhóm phức hệ *L. fermentum* (Zheng et al., 2020), trong khi tách xa hai cụm còn lại. Khoảng sai khác < 1 % và hỗ trợ bootstrap cao cho thấy KC5 phù hợp định danh là *L. fermentum* strain KC5; cần kiểm chứng thêm bằng average nucleotide identity (ANI)/ multilocus sequence

analysis (MLSA) và đặc điểm sinh hóa để hoàn thiện hồ sơ dòng. Kết quả cho thấy phương pháp định danh phân tử có độ chính xác cao, xác định KC5 thuộc loài *L. fermentum*. Trình tự vùng gene của KC5 đã được đăng ký trên cơ sở dữ liệu NCBI với mã số PX136141.1. Kết quả nghiên cứu đã gợi mở tiềm năng ứng dụng của dòng KC5 trong nghiên cứu thực phẩm lên men giàu GABA.

Limosilactobacillus fermentum là trực khuẩn hình que, Gram dương, không sinh bào tử, yếm khí tùy nghi với bộ gen ~2,0 – 2,3 Mb, GC ≈ 51 % và hầu như không chứa gen độc lực hay kháng kháng sinh; đặc điểm này được khẳng định qua các phân tích probiogenomic của dòng *L. fermentum* 3872 và SD7 (Ullah et al., 2024; Yaikhan et al., 2025). Các gene quy định khả năng chịu acid mật và tổng hợp exopolysaccharide (EPS) giúp vi khuẩn tồn tại ở pH ≤ 3, muối mật 0,5 % và bám mạnh lên tế bào HT-29 (tỷ kết tụ ≈ 85 %) (Prakash et al., 2023). Nhiều dòng còn tiết bacteriocin-like substances ức chế *Salmonella*, *E. coli* và *S. aureus*; đặc biệt, dòng A51 có khả năng sinh EPS cao, nâng chất lượng sản phẩm sữa lên men (Wei et al., 2025). Về hoạt tính sinh học, các thử nghiệm *in vivo* chứng minh *L. fermentum* làm tăng superoxide dismutase/ catalase, giảm malondialdehyde, điều hòa IL-6, IL-8, IL-10 và ức chế NF-κB, giúp giảm viêm đại tràng và stress oxy hóa (Liu et al., 2022; Zhang et al., 2025). Những kết quả này cũng phù hợp với dữ liệu về tiềm năng chống oxy hóa của *L. fermentum* (Paulino do Nascimento et al., 2022). Tổng hợp các đặc điểm như chịu acid-mật, kháng khuẩn, chống oxy hóa, điều biến miễn dịch và an toàn di truyền lý giải vì sao dòng KC5 được định danh là *L. fermentum* và là ứng viên probiotic giàu tiềm năng.



Hình 3. Cây phân loại của dòng vi khuẩn KC5 được vẽ bằng phần mềm Mega 11

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, năm dòng vi khuẩn acid lactic (KC5, KC9, DC4, DC9 và DC11) có tiềm năng probiotic ứng dụng trong lên men thực phẩm đã được tuyển chọn. Đặc biệt, dòng KC5 phân lập

từ kim chi thể hiện khả năng sinh GABA cao nhất với hàm lượng đạt 2,146 mg/mL và được định danh là *Limosilactobacillus fermentum* (PX136141.1). Kết quả này cho thấy KC5 có tiềm năng để phát triển các chủng LAB sinh GABA phục vụ trong công nghiệp lên men thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Abee, T., Beldman, G., Broek, B., Houben, J., Nout, R., Rombouts, F., Schoustra, S., Voragen, F., Wouters, J., Noomen, A., & Walstra, P. (1999). *Food Fermentation Part 1*. Department of Food Technology and Nutritional Sciences, Wageningen Agriculture University.
- Almutairi, S., Sivadass, A., & Kwakowsky, A. (2024). The effect of oral GABA on the nervous system: potential for therapeutic intervention. *Nutraceuticals*, 4(2), 241-259. <https://doi.org/10.3390/nutraceuticals4020015>
- Angadi, V., Ramkumar, C., Hiremath, J. P., & Prabha, R. (2021). Phenotypic identification of lactic isolates obtained from fermented Idli batter. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 10(3), 1718–1724. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2021.1003.214>
- Arimah, B. D., Ogunlowo, O. P., Adebayo, M. A., & Jesumirhewe, C. (2014). Identification of lactic acid bacteria isolated from selected Nigerian food and comparison of their bacteriocins activities. *International Journal of ChemTech Research*, 6, 929-937.
- Ary, E., Dadrasnia, A., Ameen, F., Alwakeel, S., & Ismail, S. (2021). Antimicrobial screening of lactic acid bacteria isolated from fermented milk buffalo (Dadih). *Int J Sci Res Publ*, 11(4), 70-80. <https://doi.org/10.29322/IJSRP.11.04.2021.p11209>
- Baick, S. C., & Kim, C. H. (2015). Assessment of characteristics and functional properties of *Lactobacillus* species isolated from kimchi for dairy use. *Korean Journal of Food Science of Animal Resources*, 35(3), 339. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.3.339>
- Bui, H. Đ. L., Pham, Q. S., Huynh, X. P., Nguyen, N. T., & Ngo, T. P. D. (2019). Study of conditions for lactic acid fermentation from sugarcane molasses using thermotolerant lactic acid bacteria. *CTU Journal of Science*, 55 (Special issue on Biotechnology), 103-109 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2019.050>
- Bui, T. L. A, Nguyen, T. T. N. S., Dao, N. M., Hoang, D. H., Vo, V. C., Nguyen, D. H., & Do, D. T. (2024). Evaluation of the ability to inhibit bacteria that cause foodborne illness of two probiotic strains *E. faecium* F26BA và *E. faecium* F54BA. *Journal of Military Medicine*, 372, 4–8 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.59459/1859-1655/JMM.500>
- Cui, Y., Miao, K., Niyaphorn, S., & Qu, X. (2020). Production of Gamma-Aminobutyric Acid from Lactic Acid Bacteria: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 995. <https://doi.org/10.3390/ijms21030995>
- Devi, P. B., Ganesan, A., & Palanisamy, B. (2023). Gamma-aminobutyric acid (GABA) production by potential probiotic strains of indigenous fermented foods origin and RSM-based production optimization. *LWT—Food Science and Technology*, 176, 114511. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114511>
- Do, T. T. N., Nguyen, V. T., & Nguyen, H.H. (2014). Identification and characterization of some biochemical properties of lactic acid bacteria strains in fermented snakehead fish paste. *CTU Journal of Science*, 33, 53–66 (in Vietnamese).
- Hepsomali, P., Groeger, J. A., Nishihira, J., & Scholey, A. (2020). Effects of oral gamma-aminobutyric acid (GABA) administration on stress and sleep in humans: A systematic review. *Frontiers in neuroscience*, 14, 559962. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00923>
- Hoang, N. P. T., Bui, H. D. L., Nguyen, N. T., Huynh, X. P., & Ngo, T. P. D. (2018). Characterization of newly isolated thermotolerant lactic acid bacteria and lactic acid production at high temperature. *International Food Research Journal*, 25(2), 523-526.
- Hoang, T. H. A. (2014). Isolating, characterizing lactic acid bacteria in fermented coffee. *The University of Danang-Journal of Science and Technology*, 7(80), 1-4 (in Vietnamese).
- Hoben, H. J., & Somasegaran, P. (1982). Comparison of the pour, spread, and drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. in inoculants made from presterilized peat. *Applied and environmental microbiology*, 44(5), 1246-1247. <https://doi.org/10.1128/aem.44.5.1246-1247.1982>
- Huynh, N. T. T., Huynh, Y. N., Lam, C. T., Nguyen, T. B. (2023). Identification of lactic acid bacteria in acerola fruit (*Malpighia glabra* L.) and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. *CTU Journal of Science*,

- 59(6), 189-197 (in Vietnamese).
<https://doi.org/10.22144/ctu.jos.2023.224>
- Icer, M. A., Sarikaya, B., Kocyigit, E., Atabilen, B., Çelik, M. N., Capasso, R., & Budán, F. (2024). Contributions of gamma-aminobutyric acid (GABA) produced by lactic acid bacteria on food quality and human health: current applications and future prospects. *Foods*, 13(15), 2437. <https://doi.org/10.3390/foods13152437>
- Kimura M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120. <https://doi.org/10.3390/foods13152437>
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Le, Q. V. (2023). *Isolation, selection of lactic acid bacteria and application in fermentation of tomato juice rich in γ -aminobutyric acid (GABA)* (Master's thesis). Can Tho University (in Vietnamese).
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2001). Growth of the bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* strain CTC 494 in MRS broth is strongly reduced due to nutrient exhaustion: A nutrient depletion model for the growth of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10), 4407-4413. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4407-4413.2001>
- 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>
- Liu, B., Yang, L., Wu, Y., & Zhao, X. (2022). Protective effect of *Limosilactobacillus fermentum* HFY06 on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Frontiers in Microbiology*, 13, 935792. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.935792>
- Nakamura, H., Takishima, T., Kometani, T., & Yokogoshi, H. (2009). Psychological stress-reducing effect of chocolate enriched with gamma-aminobutyric acid (GABA) in humans: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(S5), 106-113. <https://doi.org/10.1080/09637480903124353>
- 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), 330-336. <https://doi.org/10.3746/pnf.2016.21.4.330> (in Vietnamese).
- Nguyen, P. A. T., Tran, H. H., Nguyen, T. N. H., Huynh, V. L., & Do, T. K. (2022). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Vietnamese sour-fermented fish product. *Malaysian Journal of Microbiology*, 18(2), 222-226. <http://dx.doi.org/10.21161/mjm.211255>
- Paulino do Nascimento, L. C., Lacerda, D. C., Ferreira, D. J. S., de Souza, E. L., & Brito Alves, J. L. (2022). *Limosilactobacillus fermentum*: current evidence on the antioxidant properties and opportunities to be exploited as a probiotic microorganism. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 14(5), 960-979. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09943-3>
- Prakash, V., Madhavan, A., Veedu, A. P., Babu, P., Jothish, A., Nair, S. S., & Pal, S. (2023). Harnessing the probiotic properties and immunomodulatory effects of fermented food-derived *Limosilactobacillus fermentum* strains: implications for environmental enteropathy. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1200926. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1200926>
- Sharma, C., Gulati, S., Thakur, N., Singh, B. P., Gupta, S., Kaur, S., & Panwar, H. (2017). Antibiotic sensitivity pattern of indigenous lactobacilli isolated from curd and human milk samples. *3 Biotech*, 7, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0682-0>
- Tran, H. D., Nguyen, N. H. B., Le, Q. V., Luu, M. C., Nguyen, N. T., Dao, T. P., Le, D.T & Huynh, X. P. (2023). Selection and identification of antibacterial and GABA-producing lactic acid bacteria from Vietnamese fermented meat. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1169(1), 1-9. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1169/1/012095>
- Tran, H. H., Nguyen, A. V., Hoang, N. K., Truong, T. B. V., Nguyen, P. A. T. (2022). Selection of bacteria capable of proteolytic and inhibitory *Vibrio* spp. from traditional fish sauce. *CTU Journal of Science*, 58(Special issue on Natural Sciences):192-199 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2022.137>
- Ullah, M., Rizwan, M., Han, J., Raza, A., Chen, Y., Yan, M., & Chen, H. (2024). Comparative probiogenomics analysis of *Limosilactobacillus fermentum* 3872. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 17(2025) 1-18. <https://doi.org/10.1007/s12602-024-10286-4>
- Wei, G., Wang, D., Wang, T., Wang, G., Chai, Y., Li, Y., & Huang, A. (2025). Probiotic potential and safety properties of *Limosilactobacillus fermentum* A51 with high exopolysaccharide production. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1498352. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1498352>

- Xu, J., Ge, Z., Wang, H., Zhang, C., Xu, J., Li, Y., & Du, J. (2025). Long-term GABA supplementation mitigates anxiety by modulating complement and neuroinflammatory pathways. *NPJ Science of Food*, 9(1), 60. <https://doi.org/10.1038/s41538-025-00423-w>
- Yaikhan, T., Wonglapsuwan, M., Pahumunto, N., Nokchan, N., Teanpaisan, R., & Surachat, K. (2025). Probiogenomic analysis of *Limosilactobacillus fermentum* SD7, a probiotic candidate with remarkable aggregation abilities. *Heliyon*, 11(3), e42451. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42451>
- Zhang, H., Wang, H., Li, Y., Leng, Y., Lin, K., & Ren, D. (2025). Uncovering the Beneficial Role of *Limosilactobacillus fermentum* E7 Exhibiting Antioxidant Activity in Ameliorating DSS-Induced Ulcerative Colitis in a Murine Model. *Foods*, 14(1), 137. <https://doi.org/10.3390/foods14010137>
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>