Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Số chuyên đề: Nông nghiệp bền vững vì an ninh lương thực và an toàn thực phẩm
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

*DOI:10.22144/ctujos.2025.232*

# ĐẶC ĐIỂM HÓA LÝ, VI SINH CỦA NEM CHUA ĐỒNG THÁP VÀ PHÂN LẬP VI KHUẨN LACTIC CÓ KHẢ NĂNG SINH ACID γ-AMINOBUTYRIC

Nguyễn Ngọc Thạnh[1], Bùi Đỗ Kim Tuyến[1], Lưu Minh Châu[1], Trần Minh Phúc[2], Tôn Nữ Thùy An[3], Bùi Hoàng Đăng Long[1], Nguyễn Văn Thành[1] và Huỳnh Xuân Phong[1*]
[1]*Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ, Việt Nam*
[2]*Khoa Sinh hóa – Thực phẩm, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long, Việt Nam*
[3]*Phòng Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Việt Nam*
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): hxphong@ctu.edu.vn*

***Thông tin chung (Article Information)***

*Nhận bài (Received): 08/08/2025*
*Sửa bài (Revised): 27/09/2025*
*Duyệt đăng (Accepted): 17/11/2025*

***Title:*** *Physio-biochemical characteristics of fermented pork in Dong Thap and isolation of γ-aminobutyric acid producing lactic acid bacteria*

***Author:*** *Nguyen Ngoc Thanh[1], Bui Do Kim Tuyen[1], Luu Minh Chau[1], Tran Minh Phuc[2], Ton Nu Thuy An[3], Bui Hoang Dang Long[1], Nguyen Van Thanh[1] and Huynh Xuan Phong[1*]*

***Affiliation(s):*** *[1]Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Viet Nam; [2]Faculty of Biochemistry and Food Technology, Vinh Long University of Technology Education, Viet Nam; [3]Department of Science and Technology, Nguyen Tat Thanh University, Viet Nam*

## TÓM TẮT

*Nem chua là sản phẩm lên men từ thịt nhờ vào hoạt động của vi khuẩn lactic. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các đặc điểm hóa lý và vi sinh cơ bản của sản phẩm nem chua Đồng Tháp đồng thời phân lập và xác định đặc điểm của vi khuẩn lactic có khả năng sinh acid γ-aminobutyric (GABA). Các mẫu nem chua được thu thập tại 3 cơ sở (ký hiệu HH, HK, CH) để xác định các đặc điểm hóa lý và làm nguồn phân lập vi khuẩn lactic. Kết quả cho thấy các mẫu nem có hàm lượng acid tổng dao động trong khoảng 15,75 - 27,00 g/kg, hàm lượng nitơ formol 0,63 - 1,34 g/kg và hàm lượng GABA ở mức 1,49 - 2,82 mg/g. Tổng số vi sinh vật hiếu khí được xác định trong khoảng $2,0x10^5$ - $5,9x10^5$ CFU/g và vi khuẩn lactic là $2,1x10^6$ - $5,7x10^6$ CFU/g. Trong đó, 22 chủng vi khuẩn có khả năng phát triển trên môi trường MRS với đặc điểm điển hình của vi khuẩn lactic đã được sơ tuyển. Dựa vào khả năng sinh GABA, 6 chủng vi khuẩn lactic tiềm năng với hàm lượng GABA ở mức 2,93 - 3,26 mg/g đã được tuyển chọn.*

***Từ khoá:*** *Acid γ-aminobutyric, GABA, nem chua, vi khuẩn lactic*

## ABSTRACT

*Nem chua is a fermented meat product produced through the activity of lactic acid bacteria (LAB). This study aimed to isolate, select, and characterize specific LAB strains with the capacity to synthesize γ-aminobutyric acid (GABA) in nem chua samples originating from Dong Thap province, Vietnam. Samples were collected from three local production facilities (HH, HK, and CH) and subjected to microbial isolation and characterization. Analytical results show that the samples had total acids of 15,75 - 27,00 g/kg, formol nitrogen of 0,63 - 1,34 g/kg, and GABA concentrations of 1,49 - 2,82 mg/g. Total aerobic counts were $2.0x10^5$ - $5.9x10^5$ CFU/g and lactic acid bacteria were $2.1x10^6$ - $5.7x10^6$ CFU/g. Preliminary screening identified 22 strains capable of growing on MRS medium with the typical morphological and physicochemical characteristics of lactic acid bacteria. Based on the GABA production potential, 6 strains were selected with the high GABA concentrations of 2.93 - 3.26 mg/g.*

***Keywords:*** *γ-aminobutyric acid, fermented pork, GABA, lactic acid bacteria*

## 1. GIỚI THIỆU

Thịt lên men chua là một trong những sản phẩm được sử dụng phổ biến, đặc biệt là ở các quốc gia châu Á như Trung Quốc, Thái Lan, Nhật Bản, Việt Nam,… Thịt lên men chua có hương vị, màu sắc và cấu trúc đặc biệt được làm từ thịt sống nhờ vào tác động của vi sinh vật hoặc enzyme trong điều kiện kiểm soát nhiệt độ và độ ẩm (Liu et al., 2021). Trong quá trình lên men, thịt sống trải qua hàng loạt các quá trình biến đổi nhờ vào sản phẩm của vi sinh vật, đặc biệt là vi khuẩn lactic (LAB) (Peng et al., 2024).

LAB gây ra quá trình acid hóa nguyên liệu nhờ vào các sản phẩm hữu cơ như acid lactic, acid acetic, ethanol, enzyme và bacteriocin (Sionek et al., 2023). Chính vì vậy, thành phần chủng vi khuẩn lactic tham gia vào quá trình lên men rất quan trọng, ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm lên men. LAB là nhóm vi khuẩn Gram dương, có dạng hình cầu hoặc hình que, không sinh bào tử và không di động, sản phẩm chính là acid lactic (Mora-Villalobos et al., 2020). Bên cạnh đó, LAB được phát hiện có khả năng tổng hợp sinh học cao các hợp chất hoạt tính sinh học (Franciosi et al., 2015). Một trong những hợp chất tổng hợp quan trọng nhất là acid γ-aminobutyric (GABA), được hình thành do quá trình decarboxyl hóa acid L-glutamic, được xúc tác bởi enzyme glutamate decarboxylase (GAD) (Diana et al., 2014). GABA được biết là có hiệu quả cao trong việc cải thiện các triệu chứng mất ngủ và trầm cảm, tăng cường khả năng miễn dịch và điều hòa máu (Abdou et al., 2006).

Ở một số nghiên cứu trước đây, kỹ thuật lên men acid lactic đã được ứng dụng để làm giàu hàm lượng GABA như lên men họ đậu (Montagano et al., 2025), đánh giá khả năng lên men sinh GABA của *Lactiplantibacillus plantarum* (Iorizzo et al., 2023). Nem chua Lai Vung là một đặc sản nổi tiếng của tỉnh Đồng Tháp, được sản xuất thông qua quá trình lên men acid lactic từ nguyên liệu chính là thịt. Việc nghiên cứu, đánh giá và tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic có hoạt tính cao và phù hợp với điều kiện lên men không chỉ góp phần nâng cao giá trị sản phẩm mà còn giúp ổn định chất lượng trong quá trình sản xuất. Các chủng vi sinh vật được phân lập trực tiếp từ sản phẩm tại các cơ sở sản xuất địa phương sẽ cung cấp cơ sở dữ liệu vi sinh phong phú và sát thực tế hơn cho việc ứng dụng trong thực tiễn.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thu nhận mẫu

Các mẫu nem chua được thu thập trực tiếp từ ba cơ sở sản xuất nổi tiếng tại Lai Vung, Đồng Tháp (ký hiệu HH, HK và CH). Trong đó, HK được thu thập 2 loại có chất lượng khác nhau được kí hiệu là HK20 (loại thường) và HK40 (loại thượng hạng). Việc lấy mẫu được thực hiện vào ngày thứ ba của quá trình lên men. Ngay sau khi thu nhận, các mẫu được bảo quản trong thùng cách nhiệt chứa đá gel để duy trì nhiệt độ thấp và được vận chuyển về phòng thí nghiệm nhằm đảm bảo tính nguyên vẹn và đại diện của vi sinh vật trong mẫu. Mẫu được bảo quản lạnh (4 - 6°C) và tiến hành xử lý trong vòng 24 giờ để duy trì đặc tính vi sinh vật ban đầu. Sau đó, mẫu được chia nhỏ, đồng nhất trong điều kiện vô trùng và sử dụng để phân lập vi khuẩn.

### 2.2. Phương pháp phân tích

Việc xác định thành phần hóa học của nem chua được thu thập tại cơ sở sản xuất được thực hiện bằng cách trộn đều mẫu và cân chính xác 20 g mẫu để thực hiện theo các phương pháp phân tích. Độ ẩm của nem chua được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 105ºC theo TCVN 8135:2009 (Ministry of Science and Technology, 2009a). Hàm lượng acid tổng được xác định bằng phương pháp chuẩn độ theo TCVN 8210:2009 (Ministry of Science and Technology, 2009b) và giá trị pH được đo bằng pH kế theo hướng dẫn của TCVN 4835:2002 (Ministry of Science and Technology, 2002). Hàm lượng nitơ formol sử dụng phương pháp chuẩn độ theo TCVN 3707:1990 (Ministry of Science and Technology, 1990) và hàm lượng acid γ-aminobutyric (GABA) được xác định bằng phương pháp sắc ký giấy bản mỏng (Li et al., 2009).

Vi sinh vật được xác định theo các phương pháp TCVN tương ứng, bao gồm mật số tổng vi sinh vật hiếu khí sử dụng TCVN 9977:2013 (Ministry of Science and Technology, 2013), mật số vi khuẩn lactic theo TCVN 7906:2008 (Ministry of Science and Technology, 2008) và tổng mật số nấm men – nấm mốc theo TCVN 8275-2:2010 (Ministry of Science and Technology, 2010), định lượng *E. coli* theo TCVN 7924-3:2017 (Ministry of Science and Technology, 2017) và Coliforms theo TCVN 4882:2007 (Ministry of Science and Technology, 2007).

Các đặc điểm sinh hóa cơ bản vi khuẩn đã được kiểm tra, bao gồm việc xác định Gram bằng thử nghiệm với KOH (Buck, 1982), thử khả năng sinh catalase (Khatoon et al., 2022), oxidase (Michel et al., 1998) và khả năng di động của vi khuẩn sử dụng môi trường thạch mềm (Partridge & Harshey, 2020). Việc thử nghiệm kiểu lên men được thực hiện bằng phương pháp sử dụng ống Durham (Duong et al., 2023).

Kết quả thực nghiệm được phân tích bằng phần mềm Statgraphics Centurion (phiên bản 15.2.11.0). Mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần được trình bày dưới dạng độ lệch chuẩn (±SD). Phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) với kiểm định LSD được sử dụng để xác định sự khác biệt ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa các trung bình.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Thành phần hóa học cơ bản của nem chua

Việc xác định thành phần hóa học cơ bản của sản phẩm trước khi phân lập vi khuẩn lactic là bước quan trọng trong nghiên cứu vi sinh thực phẩm. Thành phần hóa học cơ bản không chỉ cung cấp thông tin về giá trị dinh dưỡng mà còn giúp đánh giá môi trường sống tiềm năng cho vi khuẩn lactic. Một số thành phần hóa học cơ bản trong mẫu nem chua thu thập tại 3 cơ sở sản xuất được thể hiện Bảng 1.

**Bảng 1. Thành phần hóa học cơ bản trong nem chua**

| Chỉ tiêu | Mẫu nem chua | | | |
|---|---|---|---|---|
| | HH | HK20 | HK40 | CH |
| Độ ẩm (%) | 41,28±1,2$^{d}$ | 44,42±1,95$^{c}$ | 53,08±0,92$^{a}$ | 50,60±0,89$^{b}$ |
| Hàm lượng acid tổng (g/kg) | 15,75±2,25$^{b}$ | 18,00±0,2$^{b}$ | 27,00±2,25$^{a}$ | 18,75±1,3$^{b}$ |
| Giá trị pH | 4,39±0,012$^{b}$ | 4,40±0,01$^{b}$ | 4,22±0,006$^{c}$ | 4,70±0,016$^{a}$ |
| Hàm lượng nitơ formol (g/kg) | 0,63±0,02$^{d}$ | 0,88±0,03$^{c}$ | 1,34±0,02$^{a}$ | 0,98±0,026$^{b}$ |
| Hàm lượng GABA (mg/g) | 1,54±0,04$^{c}$ | 2,82±0,02$^{a}$ | 1,49±0,04$^{c}$ | 2,22±0,03$^{b}$ |

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).*

Kết quả phân tích Bảng 1 cho thấy nem chua được thu thập ở 3 cơ sở có hàm lượng các chất hóa học khác nhau và khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả này cho thấy rằng thành phần và hàm lượng các chất phối trộn vào nem chua rất đa dạng. Đối với mẫu thượng hạng (HK40) có độ ẩm cao hơn (52,08%), hàm lượng acid tổng đạt cao nhất (27,00 g/kg) dẫn đến giá trị pH (4,22) thấp nhất trong tất cả các mẫu nem chua được khảo sát. Từ dữ liệu nghiên cứu cho thấy quá trình lên men ở mẫu HK40 diễn ra mạnh, dẫn đến hàm lượng đạm nitơ formol hình thành nhiều (1,34 g/kg). Hàm lượng acid γ-aminobutyric (GABA) ở mẫu nem chua của HK20 cao nhất (2,82 mg/g). Kết quả thu được có thể khẳng định sơ bộ rằng trong tất cả các mẫu nem đều chứa GABA. Kết quả phân tích thành phần hóa học sản phẩm nem chua phù hợp với một số nghiên cứu trước đây (Tran et al., 2011; Vuong et al. 2023) đồng thời cho thấy có sự hiện diện của GABA trong các mẫu nem chua thu thập.

### 3.2. Kết quả phân tích mật số vi sinh vật trong các mẫu nem chua

Các mẫu nem chua được thu thập tại 3 cơ sở sản xuất trên địa bàn tỉnh Đồng Tháp được phân tích định lượng vi sinh vật thông qua các chỉ tiêu vi sinh quan trọng gồm: tổng số vi sinh vật hiếu khí (TPC), vi khuẩn lactic (LAB), tổng số nấm men - nấm mốc, vi sinh vật gây bệnh Coliforms và *E. coli*. Các chỉ tiêu này không chỉ phản ánh mật số vi sinh ban đầu của sản phẩm mà còn là cơ sở để đánh giá mức độ an toàn thực phẩm. Kết quả định lượng vi sinh vật của các mẫu nem được trình bày ở Bảng 2.

Kết quả phân tích thể hiện Bảng 2 cho thấy tất cả các mẫu nem chua được thu thập ở cả 3 cơ sở đều đạt yêu cầu tiêu chuẩn về vi sinh vật trong sản phẩm thịt không qua chế biến theo TCVN 7050:2020 (Ministry of Science and Technology, 2020) và QCVN 8-3:2012/BYT (Ministry of Health, 2012). Theo đó, tổng số vi sinh vật hiếu khí ở mẫu nem chua HH cao nhất ($5,9\times10^5$ CFU/g) và thấp nhất là mẫu HK40 ($2,0\times10^5$ CFU/g). Mẫu HK40 có giá trị pH là thấp nhất (4,22) và hàm lượng acid tổng được xác định là cao nhất (27,00 g/kg) nên rất có khả năng các vi sinh vật hiếu khí bị ức chế hoạt động bởi vi khuẩn lactic (Daliri et al., 2020). Vi khuẩn lactic quyết định phần lớn vị chua và chất lượng của sản phẩm nem chua. Mật số vi khuẩn lactic ở mẫu HH là cao nhất và thấp nhất là ở mẫu HK20 với mật số lần lượt là $5,7\times10^6$ và $2,1\times10^6$ CFU/g. Nguyên nhân của sự khác biệt này có thể là do thành phần nguyên liệu và công thức phối trộn khác nhau. Tuy nhiên, việc so với một số nghiên cứu khác có mật số vi khuẩn lactic từ 8,0 đến 9,0 log CFU/g (Kameník et al., 2013; Mataragas et al., 2015) thì kết quả nghiên

cứu này có mật số vi khuẩn lactic thấp hơn. Bên cạnh đó, tổng nấm men - nấm mốc (1,9 - 7,7×$10^3$ CFU/g), Coliforms và *E. coli* có mật số khác nhau. Nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt này rất có thể là do thành phần các nguyên liệu có khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật như tỏi, ớt,… của mỗi loại nem khác nhau. Tuy nhiên, ở tất cả các mẫu nem chua thu nhận được thì các chỉ tiêu vi sinh vật đều đạt yêu cầu đối với sản phẩm thịt không qua chế biến nhiệt theo QCVN 8-3:2012/BYT (Ministry of Health, 2012).

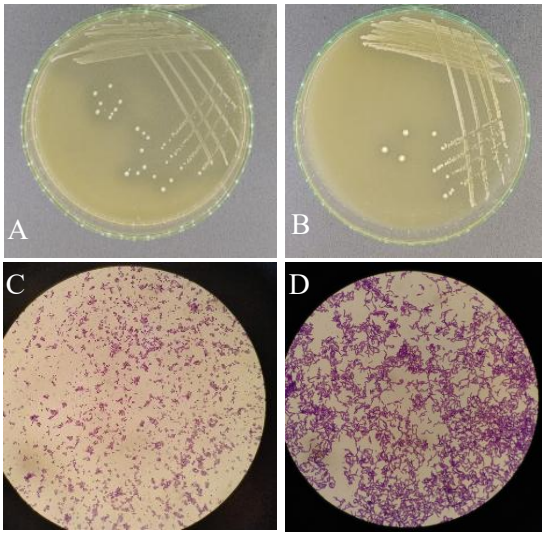
**Bảng 2. Mật số vi sinh vật trong các mẫu nem chua**

| Chỉ tiêu | Mẫu nem chua | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | HH | HK20 | HK40 | CH | QCVN 8-3:2012/BYT |
| TPC (CFU/g) | 5,9×$10^{5a}$ | 3,6×$10^{5c}$ | 2,0×$10^{5d}$ | 5,2×$10^{5b}$ | 5×$10^6$ |
| LAB (CFU/g) | 5,7×$10^{6a}$ | 2,1×$10^{6d}$ | 4,4×$10^{6b}$ | 2,7×$10^{6c}$ | - |
| Nấm men – nấm mốc (CFU/g) | 7,7×$10^{3a}$ | 1,9×$10^{3d}$ | 6,8×$10^{3b}$ | 5,9×$10^{3c}$ | - |
| Coliforms (MPN/g) | 27 | < 3 | < 3 | 1,2 | - |
| *E. coli* (MPN/g) | < 3 | < 3 | < 3 | 3 | 5×$10^2$ CFU/g |

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác biệt ý nghĩa thống kê (p < 0,05); Dấu "-": không qui định.*

### 3.3. Phân lập và xác định đặc tính của các chủng vi sinh vật lên men

Kết quả phân lập xác định được 22 chủng vi khuẩn có khả năng phát triển trên môi trường MRS agar từ mẫu nem thu thập được (Bảng 3). Các chủng vi khuẩn được quan sát hình thái bằng kính hiển vi quang học và đặc điểm khuẩn lạc xuất hiện trên môi trường MRS agar (Hình 1) cho thấy sự đa dạng về hình thái tế bào bao gồm dạng cầu, dạng trực khuẩn ngắn và dài, thường tồn tại ở dạng đơn hoặc chuỗi. Đồng thời, khuẩn lạc xuất hiện trên môi trường MRS agar có dạng hình tròn đều, màu trắng ngà hoặc trắng đục với bề mặt trơn, lồi và bìa nguyên. Đồng thời, Hình 1A và Hình 1B cũng cho thấy khuẩn lạc xuất hiện trên môi trường MRS agar có bổ sung $CaCO_3$ tạo được vòng sáng phân giải xung quanh. Điều này chứng tỏ các chủng vi khuẩn có khả năng sinh acid và phân giải $CaCO_3$ (Afoakwa et al., 2008). Với các đặc điểm hình thái tế bào và khuẩn lạc được ghi nhận, các chủng vi khuẩn phân lập có các đặc điểm cơ bản điển hình và tương đồng với các kết quả nghiên cứu về vi khuẩn lactic (Nguyen et al., 2015; Leska et al., 2022; Duong et al., 2023; Khushboo et al. 2023).




**Hình 1. Đặc điểm khuẩn lạc và hình dạng tế bào**

*Ghi chú: A, C: chủng HK20.2; B, D: chủng HK40.1.*

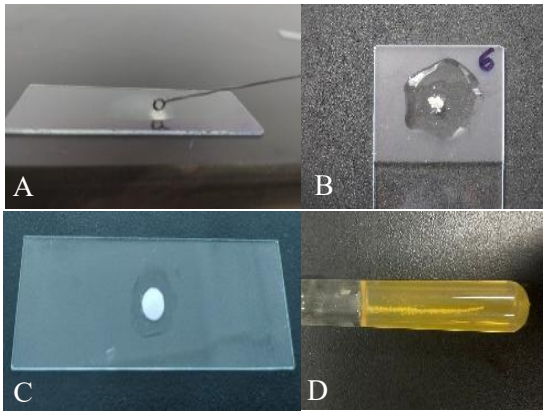
**Bảng 3. Đặc điểm hình thái các dòng vi khuẩn phân lập**

| STT | Chủng phân lập | Hình thái khuẩn lạc | Hình dạng tế bào |
|---|---|---|---|
| 1 | HH.1, HH.3, HH.7, HK40.2 | Tròn, trắng ngà, trơn, lồi, bìa nguyên | Que dài, đơn |
| 2 | HH.2, HH.4, HK20.4, HK40.1 | Tròn, trắng đục, trơn, lồi, bìa nguyên | Que dài, kết chuỗi |
| 3 | HK20.2, HK20.5, CH.1, CH.3, CH.4, CH.5 | Tròn, trắng đục, trơn, lồi, bìa nguyên | Cầu đơn |
| 4 | HK20.1, HK20.3, CH.2, CH.6 | Tròn, trắng ngà, trơn, lồi, bìa nguyên | Cầu đơn |
| 5 | HH.5, HH.6 | Tròn, trắng đục, trơn, lồi, bìa nguyên | Que dài, đơn |
| 6 | HK40.3 | Tròn, trắng đục, trơn, lồi, bìa nguyên | Cầu đôi |
| 7 | CH.7 | Tròn, trắng ngà, trơn, lồi, bìa nguyên | Cầu kết chuỗi |

*Ghi chú: Các chủng vi sinh vật được ký hiệu theo tên cơ sở sản xuất, bao gồm HH, HK và CH.*

### 3.4. Đặc điểm sinh lý và sinh hóa các chủng vi khuẩn phân lập

Việc kiểm tra các đặc tính sinh hóa (Hình 2) của các dòng vi khuẩn phân lập được thực hiện thông qua khả năng sinh nhớt (thử với KOH), sinh enzyme catalase (thử với $H_2O_2$, 3%), sinh enzyme oxidase (thuốc thử tetramethyl-p-phenylenediamine) và khả năng di động (thử trên môi trường bán rắn MRS agar 0,5%). Kết quả ở Bảng 4 cho thấy tất cả 22 dòng vi khuẩn phân lập được xác định không có khả năng sinh nhớt, không kéo sợi; không có sủi bọt khi tiếp xúc với $H_2O_2$, kết quả này cho thấy catalase âm tính; oxidase âm tính và không có khả năng mọc lan khi cấy trên môi trường bán rắn MRS agar, nghĩa là cả 22 dòng vi khuẩn phân lập được không có khả năng di động.




**Hình 2. Thử đặc điểm sinh hóa của chủng HK20.1**

*Ghi chú: A: thử KOH; B: thử catalase; C: thử oxidase; D: thử khả năng di động.*

**Bảng 4. Đặc điểm sinh hóa và lên men của các dòng vi khuẩn**

| STT | Chủng vi khuẩn | KOH | Catalase | Oxidase | Khả năng di động | Kiểu lên men | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Đồng hình | Dị hình |
| 1 | HH.1 | - | - | - | - | + | - |
| 2 | HH.2 | - | - | - | - | + | - |
| 3 | HH.3 | - | - | - | - | + | - |
| 4 | HH.4 | - | - | - | - | + | - |
| 5 | HH.5 | - | - | - | - | + | - |
| 6 | HH.6 | - | - | - | - | + | - |
| 7 | HH.7 | - | - | - | - | + | - |
| 8 | HK20.1 | - | - | - | - | + | - |
| 9 | HK20.2 | - | - | - | - | + | - |
| 10 | HK20.3 | - | - | - | - | + | - |
| 11 | HK20.4 | - | - | - | - | - | + |
| 12 | HK20.5 | - | - | - | - | + | - |
| 13 | HK40.1 | - | - | - | - | + | - |
| 14 | HK40.2 | - | - | - | - | + | - |
| 15 | HK40.3 | - | - | - | - | + | - |
| 16 | CH.1 | - | - | - | - | + | - |
| 17 | CH.2 | - | - | - | - | + | - |
| 18 | CH.3 | - | - | - | - | + | - |
| 19 | CH.4 | - | - | - | - | + | - |
| 20 | CH.5 | - | - | - | - | + | - |
| 21 | CH.6 | - | - | - | - | + | - |
| 22 | CH.7 | - | - | - | - | + | - |

*Ghi chú: (-): âm tính; (+): dương tính.*

Dựa trên các kết quả nhận định ban đầu về đặc điểm khuẩn lạc, hình thái tế bào và thử các phản ứng sinh hóa. Việc thử đặc điểm kiểu lên men của các dòng vi khuẩn đã được tiến hành nhằm củng cố hơn nhận định về các chủng vi khuẩn phân lập được. Vi khuẩn lactic có thể thực hiện hai kiểu lên men chính là lên men đồng hình và lên men dị hình, tùy thuộc vào đặc điểm enzyme và con đường chuyển hóa. Trong môi trường nuôi cấy MRS lỏng có đặt chuông Durham để phát hiện sinh khí, nếu chủng vi khuẩn lactic thực hiện lên men đồng hình, sản phẩm chủ yếu tạo thành là acid lactic, do đó không có sự sinh khí và chuông Durham không xuất hiện bọt khí. Lên men đồng hình góp phần tạo nên vị chua đặc trưng

cũng như khả năng ức chế vi sinh vật gây hư hỏng, từ đó nâng cao tính ổn định và thời gian bảo quản của các sản phẩm. Ngược lại, khi vi khuẩn lactic thực hiện lên men dị hình, ngoài acid lactic còn sinh ra các sản phẩm phụ như ethanol, acid acetic, $CO_2$ và một số acid hữu cơ khác, dẫn đến sự tích tụ khí trong chuông Durham (Beresford, 2011). Đây là cơ sở để phân biệt kiểu lên men của vi khuẩn lactic thông qua hiện tượng sinh khí trong quá trình nuôi cấy. Lên men dị hình góp phần tạo nên mùi và vị đặc trưng cho các sản phẩm lên men.

Kết quả xác định kiểu lên men của các chủng vi khuẩn được trình bày ở Bảng 4 cho thấy, trong tổng số 22 chủng vi khuẩn được phân lập từ mẫu nem chua, chỉ có một chủng duy nhất (HK20.4) thể hiện đặc điểm của quá trình lên men dị hình, thể hiện qua sự xuất hiện bọt khí trong ống Durham. Kết quả này khẳng định sự đa dạng chủng vi khuẩn lactic tham gia vào quá trình lên men, tạo nên sự đa dạng về chất lượng sản phẩm. Điều này cho thấy phần lớn acid hữu cơ được hình thành trong sản phẩm nem chua là kết quả của quá trình lên men đồng hình, chủ yếu do các chủng vi khuẩn lactic sinh ra và chiếm ưu thế trong hệ vi sinh vật đặc trưng của sản phẩm.

### 3.5. Đánh giá khả năng sinh GABA của các dòng vi khuẩn

Trong quá trình sinh trưởng, các chủng vi khuẩn lactic lên men các loại đường như glucose, lactose và sucrose, tạo ra acid lactic. Khi thời gian lên men kéo dài, acid lactic liên tục được sinh ra và tích lũy trong môi trường nuôi cấy, dẫn đến sự giảm pH và làm môi trường trở nên acid (Abedi & Hashemi, 2020). Để thích nghi và tồn tại trong điều kiện này, một số chủng LAB đã phát triển các cơ chế kháng acid, trong đó có hệ thống tổng hợp GABA (acid γ-aminobutyric) thông qua phản ứng khử carboxyl của glutamate nhờ enzyme glutamate decarboxylase (GAD), đồng thời tiêu thụ một proton ($H^+$). Cơ chế này đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì cân bằng pH nội bào và bảo vệ tế bào khỏi stress acid (Nakatani et al., 2022). Kết quả phân tích hàm lượng GABA trong môi trường MRS lỏng được lên men bởi 22 dòng vi khuẩn phân lập được trong các mẫu nem chua từ 3 cơ sở được thể hiện Bảng 5.

Kết quả cho thấy tất cả các chủng vi khuẩn lactic phân lập được đều có khả năng sinh GABA, chứng tỏ tiềm năng ứng dụng rộng rãi của nguồn vi sinh vật này trong thực phẩm chức năng. Hàm lượng GABA thu được trong môi trường MRS lên men biến động đáng kể tùy thuộc vào từng chủng. Cụ thể, chủng CH.4 tạo ra hàm lượng GABA cao nhất (3,26 mg/g), không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với chủng HK40.1 (3,12±0,07 mg/g), nhưng cao hơn rõ rệt so với các chủng còn lại ($p < 0,05$). Ngược lại, hai chủng HK20.3 (0,82±0,23 mg/g) và HK20.5 (0,81±0,24 mg/g) cho kết quả thấp nhất. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, nhiều tác giả cũng ghi nhận sự khác biệt lớn giữa các chủng LAB về khả năng sinh GABA, dao động trong khoảng từ dưới 1 mg/g đến trên 3 mg/g tùy chủng và điều kiện nuôi cấy. Chuah et al. (2024) báo cáo chủng *Lactobacillus brevis* có thể sinh đến 3,22 mg/mL GABA, trong khi một số chủng *Lactococcus lactis* chỉ đạt thấp hơn 1 mg/mL (Dovom et al., 2023). Sự khác biệt này thường được lý giải bởi hoạt tính của enzyme glutamate decarboxylase (GAD) vốn đặc trưng cho từng loài, đồng thời còn chịu ảnh hưởng bởi điều kiện môi trường (pH, nguồn carbon, thời gian và nhiệt độ lên men).

**Bảng 5. Khả năng sinh GABA của các chủng vi khuẩn**

| STT | Mẫu men chua | Hàm lượng GABA (mg/g) | STT | Mẫu men chua | Hàm lượng GABA (mg/g) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | HH.1 | 2,93±0,01$^{cde}$ | 12 | HK20.5 | 0,81±0,24$^{j}$ |
| 2 | HH.2 | 2,04±0,12$^{h}$ | 13 | HK40.1 | 3,12±0,07$^{ab}$ |
| 3 | HH.3 | 2,10±0,10$^{h}$ | 14 | HK40.2 | 2,41±0,06$^{g}$ |
| 4 | HH.4 | 2,99±0,12$^{bc}$ | 15 | HK40.3 | 1,75±0,04$^{i}$ |
| 5 | HH.5 | 2,04±0,14$^{h}$ | 16 | CH.1 | 2,74±0,02$^{f}$ |
| 6 | HH.6 | 2,63±0,05$^{f}$ | 17 | CH.2 | 2,80±0,02$^{def}$ |
| 7 | HH.7 | 2,74±0,02$^{f}$ | 18 | CH.3 | 2,78±0,13$^{ef}$ |
| 8 | HK20.1 | 3,07±0,10$^{bc}$ | 19 | CH.4 | 3,26±0,00$^{a}$ |
| 9 | HK20.2 | 1,73±0,13$^{i}$ | 20 | CH.5 | 2,66±0,09$^{f}$ |
| 10 | HK20.3 | 0,82±0,23$^{j}$ | 21 | CH.6 | 2,41±0,02$^{g}$ |
| 11 | HK20.4 | 2,96±0,13$^{bcd}$ | 22 | CH.7 | 2,79±0,14$^{def}$ |

*Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).*

Từ kết quả phân tích hàm lượng GABA có trong các mẫu nem chua được thu thập từ ba cơ sở sản xuất tại tỉnh Đồng Tháp, 6 chủng có khả năng sinh GABA cao đã được chọn ra, bao gồm HH.1, HH.4, HK20.1, HK20.4, HK40.1 và CH.4 (hàm lượng GABA trong khoảng 2,93 - 3,26 mg/g). Kết quả thu nhận từ nghiên cứu cũng cho thấy hàm lượng GABA trên sản phẩm thịt lên men (nem chua) cao hơn so với sản phẩm mắm rò và dịch cám gạo lên men acid lactic, hàm lượng GABA được xác định lần lượt là 2,12 mg/mL và 0,74 mg/mL (Le & Do, 2020; Ngo et al., 2021).

## 4. KẾT LUẬN

Kết quả phân tích các thành phần hóa lý và vi sinh cơ bản của các mẫu nem chua được sản xuất tại 3 cơ sở sản xuất tại tỉnh Đồng Tháp cho thấy tất cả các mẫu nem chua đều đạt chất lượng theo quy định về vệ sinh an toàn thực phẩm. Trong nghiên cứu, 22 chủng vi khuẩn với các đặc tính đặc trưng của vi khuẩn lactic đã được phân lập và xác định, trong đó có 6 chủng vi khuẩn được tuyển chọn do có khả năng sinh GABA với hàm lượng trong khoảng 2,93 - 3,26 mg/g. Kết quả nghiên cứu này là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về tính chất của các dòng vi khuẩn lactic và định danh các chủng vi khuẩn cũng như định hướng sử dụng các chủng vi khuẩn thuần chủng này trong quá trình lên men nem chua.

## LỜI CẢM TẠ

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

## TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

Abedi, E., & Hashemi, S. M. B. (2020). Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, *6*(10), e04974. http:doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04974

Abdou, A., Higashiguchi, S., Horie, K., & Kim, M. (2006). Relaxation and immunity enhancement effects of γ-aminobutyric acid (GABA) administration in humans. *BioFactors*, *26*(3), 201-209. http://doi.org/10.1002/biof.5520260305

Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *48*(9), 840-857. https://doi.org/10.1080/10408390701719272

Beresford, T. (2011). Lactic acid bacteria: Citrate fermentation by lactic acid bacteria. In J. W. Fuquay (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 166-172). Academic Press. http://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00272-7

Buck, J. D. (1982). Nonstaining (KOH) method for determination of Gram reactions of marine bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, *44*(4), 992-993. http://doi.org/10.1128/aem.44.4.992993.1982.

Chuah, W. W., Tan, J. S., Oslan, S. N. H., & Raja, P. B. (2024). Enhancing food preservation with postbiotic metabolites γ-aminobutyric acid (GABA) and bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by *Lactobacillus brevis* C23 co-cultures in plant-based medium. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, *54*(4), 514-525. http://doi.org/10.1080/10826068.2023.2252047

Daliri, F., Aboagye, A. A., & Daliri, E. B. M. (2020). Inactivation of foodborne pathogens by lactic acid bacteria. *Journal of Food Hygiene and Safety*, *35*(5), 419-429. http://doi.org/10.13103/JFHS.2020.35.5.419

Diana, M., Quílez, J., & Fecas, M. R. (2014). Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: A review. *Journal of Functional Foods*, *10*, 407-420. https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.004

Dovom, M. R. E., Najafi, M. B. H., Rahnama, P., & Norouzi, N. (2023). Screening of lactic acid bacteria strains isolated from Iranian traditional dairy products for GABA production and optimization by response surface methodology. *Scientific Reports*, *13*, 440. http://doi.org/10.1038/s41598-023-27658-5

Duong, T. H. N., Mai, T. H., Lu, B. H., & Bui, T. Q. H. (2023). Isolation and selection of lactic acid bacteria strains present in "nem chua thit" for use as stater cultures. *CTU Journal of Science*, *59*(3), 86-93 *(in Vietnamese)*. https://doi.org/10.22144/CTU.JVN.2023.136

Franciosi, E., Carafa, I., Nardin, T., Schiavon, S., Poznanski, E., Cavazza, A., Larcher, R., & Tuohy, K. M. (2015). Biodiversity and γ-aminobutyric acid production by lactic acid bacteria isolated from traditional alpine raw cow's milk cheeses. *BioMed Research International*, *2015*, 625740. http://doi.org/ 10.1155/2015/625740

Iorizzo, M., Paventi, G., & Martino, C. D. (2023). Biosynthesis of gamma-aminobutyric acid (GABA) by *Lactiplantibacillus plantarum* in fermented food production. *Food Science*, *Current Issues in Molecular Biology*, *46*(1), 200-220. http://doi.org/10.20944/preprints202311.1843.v1

Kameník, J., Dušková, M., Šedo, O., Saláková, A., Pavlík, Z., Zdráhal, Z., & Karpíšková, R. (2015).

Lactic acid bacteria in hot smoked dry sausage (non-fermented salami): Thermal resistance of *Weissella viridescens* strains isolated from hot smoked dry sausages. *Food Science and Technology*, *61*, 492-495. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.012

Khatoon, H., Chavan, D. D., Anokhe, A., & Kalia, V. (2022). Catalase test: A biochemical protocol for bacterial identification. *AgriCos E-Newsletter*, *3*(1), 53-55.

Khushboo, Karnwal, A., & Malik, T. (2023) Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods. *Frontier in Microbiology*, 14, 1170725. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1170725

Le, T. T. H., & Do, T. T. B. (2020). Effect of some cultural conditons on GABA production of lactic acid bacterial strain isolated from "mam ro". In *National Biotechnology Conference 2020* (475-479). Hue Univeristy Publishing House (*in Vietnamese*).

Leska, A., Nowak, A., & Motyl, I. (2022). Isolation and some basic characteristics of lactic acid bacteria from honeybee (*Apis mellifera* L.) environment - A preliminary study. *Agriculture*, *12*(10), 1562. https://doi.org/10.3390/agriculture12101562

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, Y., Yu, Q., Wan, Z., Liu, J., & Wang, J. (2021). Effect of antioxidant activity of starter cultures on the quality of fermented meat products: A review. *Food Science*, *402*(1), 302-312. https://doi.org/10.7506/spkx1002-6630-20200704-052

Mataragas, M., Rovetto, F., Bellio, A., Alessandria, V., Rantsiou, K., & Decastelli, L. (2015). Differential gene expression profiling of *Listeria monocytogenes* in Cacciatore and Felino salami to reveal potential stress resistence biomarkers. *Food Microbiology*, *46*, 408-417. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.09.003

Michel, H., Behr, J., Harrenga, A., & Kannt, A. (1998). Cytochrome C oxidase: Structure and spectroscopy. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, *27*, 329-356. https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.27.1.329

Ministry of Health. (2012). QCVN 8-3:2012/BYT. National technical regulation of *Microbiological contaminants in food (in Vietnamese)*.

Ministry of Science and Technology. (1990). TCVN 3707:1990. *Aquatic products - Method for the determination of nitrogen amin-amoniac content (in Vietnamese)*.

Ministry of Science and Technology. (2002). TCVN 4835:2002. *Meat and meat products - measurement of pH - Reference method (in Vienamese)*.

Ministry of Science and Technology. (2007) TCVN 4882:2007. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizotal method for the detection and enumeration of coliforms - Most probable number technique (in Vietnamese).*

Ministry of Science and Technology. (2008). TCVN 7906:2008. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – colony-count technique at 30°C (in Vietnamese)*.

Ministry of Science and Technology. (2009a). TCVN 8135:2009. *Meat and meat products - determination of moisture content (in Vienamese).*

Ministry of Science and Technology. (2009b). TCVN 8210:2009. *Cereals and milled cereal products - Determination of titratable acidity (in Vietnamese)*.

Ministry of Science and Technology. (2010). TCVN 8275-2:2010. *Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds – Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0.9 (in Vietnamese)*.

Ministry of Science and Technology. (2013). TCVN 9977:2013. *Foodstuffs - enumeration of aerobic plate count using petrifilmtm count plate (in Vietnamese)*.

Ministry of Science and Technology. (2017). TCVN 7924-3:2017. *Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli - Part 3: Detection and most probable number technique using 5- bromo-4-chloro-3-indolyl-ß-D-glucuronide (in Vietnamese).*

Ministry of Science and Technology. (2020). TCVN 7050:2020. *Non-heat treated meat (in Vietnamese)*.

Mora-Mora-Villalobos, J. A., Zamora, J. M., Barboza, N., & Garbanzo, C. R. (2020). Multi-product lactic acid bacteria fermentations: A review, *Fermentation*, *6*(23), 23. https://doi.org/10.3390/fermentation6010023

Montagano, F., Prete, R., Fanti, F., Orco, F. D. Oliva, E., Compagnone, D., & Corsetti, A. (2025). Enrichment of γ-aminobutyric acid (GABA) in a legume-based beverage through the fermentation by *Lactiplantibacillus plantarum. Current Research in Food Science*, *11*, 101176. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2025.101176

Nakatani, Y., Fukaya, T., Kishino, S., & Ogawa, J. (2022). Production of GABA-enriched tomato juice by *Lactiplantibacillus plantarum* KB1253. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *134*(5), 424-431. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.08.008

Ngo, H. D., Tran, T. Q., Nguyen, H. T. N., Ngo, N. D., & Vo, S. T. (2021). Optimisation of culture conditions for gamma-aminobutyric acid production in rice bran extracts. *Vietnam Journal of Sciences and Technology*, *63*(1), 42-48 (*in Vietnamese*). https://doi.org/10.31276/VJST.63(1).42-48

Nguyen, N. T., Huynh, X. P., Nguyen, T. V. T., Huynh, T. T. B., Bui, H. D. L., & Ngo, T. P. D. (2015). Isolation and selection of lactic acid bacteria applied in spirulina supplemented yogurt fermentation. *CTU Journal of Science*, *40*, 8-14 (*in Vietnamese)*.

Partridge, J. D., & Harshey, R. M. (2020). Investigating flagella-driven motility in *Escherichia coli* by applying three established techniques in a series. *Journal of Visualized Experiments, 159*, e61364. http://doi.org/10.3791/61364

Peng, Z., Jinshan, Z., Jinhong, Z., Chuantao, P. (2024). Progress of research on the relationship between characteristic flavor and microorganisms in fermented meat products. *Science and Technology of Food Industry*, *45*(2), 380-391. http://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023030223

Sionek, B., Szydłowska, A., Küçükgöz, K., & Krajewska, D. K. (2023). Traditional and new microorganisms in lactic acid fermentation of food. *Fermentation*, *9*(12). 019. https://doi.org/10.3390/fermentation9121019

Tran, T. M., Coloe, P. J., Le, M. T., & May, B. K. (2011). Evaluation of the microbiological quality of traditional fermented sausage. *Vietnam Journal of Science and Technology*, *49*(1A), 276-283 *(in Vietnamese)*.

Vuong, T. B., Mai, H. N. T, Tran, H. T., & Prakash, J. (2023). Traditional fermented foods in Vietnamese diet: a potential source of probiotics. *Nutrition and Food Science International Journal*, *12*(4), 555841. http://doi.org/10.19080/NFSIJ.2023.12.555841