

# TUYỂN CHỌN VÀ NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ LÊN KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP GAMMA - AMINOBUTYRIC ACID (GABA) CỦA CHỦNG VI KHUẨN LACTIC TỪ MẮM NÊM HUẾ

Nguyễn Thị Diễm Hương, Đỗ Thị Bích Thủy

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

## TÓM TẮT

Gamma - aminobutyric acid (GABA) là một amino acid phi protein có bốn carbon trong phân tử. GABA là một hợp chất hoạt tính sinh học cho lợi ích sức khỏe và phân phối rộng rãi ở cả thực vật, động vật và vi sinh vật. Mục tiêu của nghiên cứu này là tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp GABA cao. Chủng này sau đó đã được nghiên cứu ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy đến sản xuất GABA của nó. Theo đó, 6 chủng vi khuẩn lactic ký hiệu là MN2, MN3, MN4, MN5, MN9 và MN12 được phân lập từ mắm nêm Huế đã được đánh giá có khả năng sinh tổng hợp GABA khi nuôi cấy trong môi trường MRS có bổ sung 1% monosodium glutamat (MSG) ở 37°C. Chủng MN12 có khả năng sinh tổng hợp GABA cao nhất (1684,89 mg/mL) và được xác định là *P. pentosaceus* (kết quả không được công bố trong bài báo này). Vì vậy, *P. pentosaceus* MN12 đã được chọn để nghiên cứu khả năng sinh tổng hợp GABA của nó trong các điều kiện nuôi cấy khác nhau. Kết quả cho thấy, hàm lượng GABA đạt mức cao nhất khi chủng *P. pentosaceus* MN12 được nuôi cấy trong môi trường MRS được bổ sung 1% MSG, pH 7 ban đầu và ở 45°C. Trong điều kiện nuôi cấy trên, hàm lượng GABA đạt được là 2597,12 mg/L.

*Từ khóa:* Gamma - aminobutyric acid (GABA), monosodium glutamat (MSG), pH, nhiệt độ, vi khuẩn lactic.

## MỞ ĐẦU

Gamma - aminobutyric acid (GABA) là một amino acid có chức năng chính trong việc giảm bớt sự hoạt động của các neuron thần kinh, đảm bảo duy trì hoạt động bình thường của não bộ nên có tác dụng an thần, giảm stress... Vì vậy, trong những thập niên gần đây, nhiều công trình đã cố gắng tìm các giải pháp làm giàu hàm lượng hợp chất này trong thực phẩm ngày càng tăng lên (Song, Yu, 2016).

GABA có thể được tìm thấy từ các loại rau quả nhưng với lượng rất nhỏ, trong khoảng từ 0,03 đến 2  $\mu\text{mol/g}$  khối lượng tươi. Vì vậy, các sản phẩm thực phẩm được chế biến từ các nguyên liệu đó không có hàm lượng GABA cao. Hơn nữa, GABA được sản xuất bằng phương pháp tổng hợp hóa học không cho phép sử dụng làm phụ gia thực phẩm (Wu, Shah, 2016).

Nhiều công trình công bố có liên quan đến hoạt động sau thu hoạch để làm tăng hàm lượng GABA trong các loại ngũ cốc (Lu *et al.*, 2008). Các công bố này tập trung vào việc xác định điều kiện nảy mầm (Trương Nhật Trung & Đồng Thị Anh Đào, 2016), điều kiện ngâm và ủ thích hợp (Nguyễn Văn Toàn *et al.*, 2019).

Vi khuẩn lactic (LAB - lactic acid bacteria) là nhóm vi sinh vật được xem là an toàn nhất trong việc ứng dụng vào bảo quản và chế biến thực phẩm. Bên cạnh có tác dụng bảo quản thực phẩm do có khả năng sinh tổng hợp lactic acid và bacteriocin, chúng còn có tiềm năng probiotic như khả năng làm giảm cholesterol, kích thích hoạt động của hệ miễn dịch, ức chế sự phát triển của vi sinh vật có hại trong đường ruột... Đặc biệt, vi khuẩn lactic đã được ứng dụng để lên men và thu được hàm lượng lớn GABA từ thực phẩm. Hơn nữa, thực phẩm chức năng dần thay thế một số loại thuốc điều trị nhất định. Một số sản phẩm thực phẩm lên men giàu GABA có tiềm năng giúp cho bệnh nhân kiểm soát huyết áp mà không cần thuốc. Một số vi khuẩn lactic đã được sử dụng để sinh tổng hợp GABA trong các sản phẩm thực phẩm lên men có chức năng probiotic. Vì thế, việc kết hợp tính chất probiotic cùng với sinh tổng hợp GABA cao càng góp phần nâng cao giá trị dinh dưỡng của thực phẩm (Kook *et al.*, 2010). Hay nói cách khác, quá trình nghiên cứu sinh tổng hợp GABA thông qua quá trình lên men bởi vi khuẩn lactic sẽ tạo ra các sản phẩm thực phẩm đa chức năng.

Vì vậy, bên cạnh hoạt động sau thu hoạch làm tăng hàm lượng GABA cho các loại hạt nông sản, gần đây, trên thế giới nhiều công trình nghiên cứu có liên quan đến việc tìm kiếm các chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp GABA cao (Haixing *et al.*, 2008), tối ưu hóa điều kiện lên men sinh tổng hợp GABA cao (Li *et al.*, 2010; Cho *et al.*, 2011) cũng như sử dụng nhóm vi khuẩn này trong sản xuất thực phẩm (Sanchart *et al.*, 2017).

Nói tóm lại, do những tính chất ưu việt về khả năng sinh tổng hợp GABA của vi khuẩn lactic mà việc nghiên cứu tìm kiếm nguồn vi khuẩn lactic, tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy và ứng dụng vào sản xuất lên men thực phẩm đã bắt đầu được nghiên cứu bởi các nhà khoa học trên thế giới. Tuy nhiên, số lượng các công bố chưa phong phú ở trên thế giới cũng như trong nước. Vì vậy, đề tài "Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố lên khả năng sinh tổng hợp Gamma - aminobutyric acid (GABA) của chủng vi khuẩn lactic tuyển chọn từ mắm nêm Huế" thành công sẽ làm tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng trong tương lai tạo ra những sản phẩm thực phẩm đa chức năng.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Nguyên liệu

Các chủng vi khuẩn lactic (ký hiệu MN2, MN3, MN4, MN5, MN9 và MN12) phân lập từ mứt nêm Huế được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Vi sinh, Khoa Cơ khí và Công nghệ, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

### Phương pháp

#### Phương pháp phân tích hàm lượng GABA (Syu *et al*, 2008)

Dịch nuôi cấy vi khuẩn đã được ly tâm tách tế bào có chứa GABA (1 mL) được hòa loãng với 9 mL nước khử ion. Hỗn hợp sau khi lắc ở 160 vòng/phút trong 90 phút, nhiệt độ phòng được thêm 1 mL acid sulfosalicylic 3% và ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 5 phút. Dịch thu được sau ly tâm (100  $\mu$ L) được thêm vào 100  $\mu$ L NaHCO<sub>3</sub> 100 mM và 100  $\mu$ L 4-dimethylaminoazobenzen - 4-sulfonylchloride (Dabsyl-Cl) 4 mM, trong acetonitrile. Hỗn hợp có pH 7,5 - 8, được gia nhiệt ở 70°C trong 20 phút để xảy ra phản ứng tạo dẫn xuất. Phản ứng được dừng lại bằng cách làm mát mẫu và thêm 0,5 mL cồn tuyệt đối, để trên nước đá (0°C) 30 phút và ly tâm ở 16.000 vòng/phút, 4°C trong 5 phút. Cuối cùng, dịch nổi được thu nhận và lọc qua màng lọc 0,22  $\mu$ m để phân tích trên HPLC. GABA tinh khiết được sử dụng làm chất chuẩn.

Thông số phân tích trên HPLC: Mô hình HPLC (Shimadzu, Japan) dùng để phân tích GABA gồm: cột C18 có kích thước 25 cm x 4,6 mm, 5  $\mu$ m. Hệ thống HPLC được vận hành với đầu dò UV-Vis cài đặt bước sóng 465 nm. Pha động được sử dụng là ammonium acetate buffer 25 mM chứa 0,1% acetic acid:acetonitrile (26:74, theo thể tích), tốc độ dòng 1 mL/min, thể tích hút mẫu 10  $\mu$ L, nhiệt độ cột 55°C.

#### Phương pháp nghiên cứu khả năng sinh tổng hợp GABA của chủng vi khuẩn lactic được phân lập từ mứt nêm Huế

Sinh khối thu được ở trên được cấy vào môi trường MRS lỏng có bổ sung 1% MSG với mật độ tế bào ban đầu 10<sup>7</sup> CFU/mL. Quá trình nuôi cấy để vi khuẩn lactic sinh tổng hợp GABA được thực hiện ở 37°C, không lắc trong 24 giờ. Dịch nổi thu được sau khi ly tâm (4°C, 12.000 vòng/phút) để loại bỏ tế bào và tiến hành phân tích hàm lượng GABA bằng HPLC. Từ kết quả phân tích, tuyển chọn chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp GABA cao.

#### Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng sinh GABA của vi khuẩn lactic (Lu *et al.*, 2008)

Việc xác định một số thông số thích hợp cho chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp GABA cao được thực hiện tuân tự theo từng yếu tố một. Điều đó có nghĩa là khi thực hiện thay đổi yếu tố này thì các yếu tố khác được cố định. Theo đó, các yếu tố được khảo sát trong công trình này gồm hàm lượng monosodium glutamate bổ sung làm môi trường MRS (0; 0,5; 1; 1,5 và 2%), pH ban đầu (4; 5; 6; 7 và 8) và nhiệt độ nuôi cấy (30; 35; 40; 45 và 50°C). Hàm lượng GABA trong môi trường nuôi cấy được xác định bằng phương pháp HPLC.

#### Phương pháp xử lý số liệu

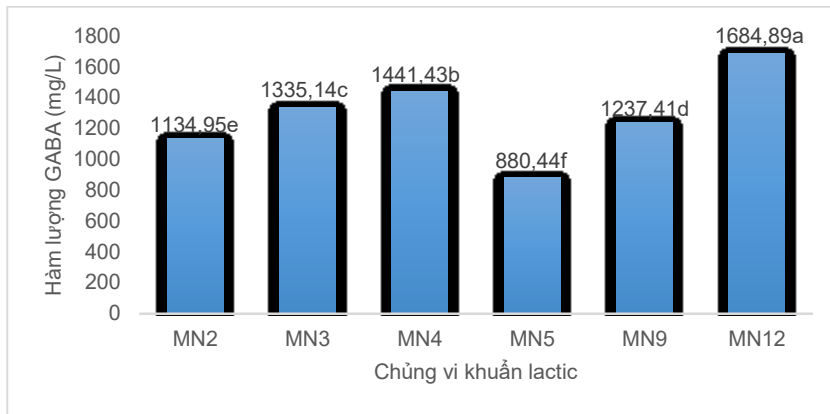
Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý thống kê ANOVA trên phần mềm SPSS 2.0. Sai khác thống kê giữa các trung bình được xác định bằng Duncan's test.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Khảo sát khả năng sinh tổng hợp GABA của các chủng vi khuẩn lactic phân lập và tuyển chọn từ mứt nêm Huế

Dựa vào biểu đồ hình 1 ta có thể thấy rằng tất cả các chủng vi khuẩn lactic được nuôi cấy trong môi trường MRS lỏng có chứa 1% MSG ở 37°C, 24 giờ đều có khả năng sinh tổng hợp GABA. Trong đó chủng MN12 có khả năng sinh ra lượng GABA cao nhất với kết quả là 1684,89 mg/L và chủng MN5 sinh ra lượng GABA thấp nhất với kết quả là 880,44 mg/L. Các chủng vi khuẩn lactic còn lại có hàm lượng GABA sinh ra nằm ở mức trung bình, dao động trong khoảng 1134,95 đến 1441,43 mg/L. Điều này có thể lý giải: GABA được tổng hợp từ L-glutamate decarboxylase (GAD), một enzyme có trong vi khuẩn lactic. L-glutamate decarboxylase (GAD), sẽ tiêu thụ H<sup>+</sup> để xúc tác quá trình khử carboxyl của glutamate tạo GABA, đồng thời trong quá trình này GAD đòi hỏi phải có pyridoxal phosphate (PLP) làm đồng yếu tố. Vậy nên những chủng vi khuẩn được nuôi cấy trong cùng môi trường MRS lỏng có chứa 1% MSG ở 37°C, 24 giờ nhưng khả năng sinh GABA của các chủng không giống nhau, nó phụ thuộc vào khả năng hoạt động của enzyme L- glutamate decarboxylase (GAD) và pyridoxal 50-phosphate (PLP) có trong mỗi chủng.

Nghiên cứu khả năng sản xuất GABA từ vi khuẩn lactic (lactic acid bacteria-LAB) được phân lập từ kim chi đã được công bố bởi Cho và đồng tác giả (2011). LAB cho hàm lượng GABA cao nhất là *Lactobacillus buchneri* trong số các chủng được sàng lọc. Điều kiện thích hợp để sản xuất GABA của *L. buchneri* trong môi trường MRS là 5,83 mg/mL ở pH 4,2 và bổ sung 3% NaCl. Lượng GABA trong kim chi chua được bổ sung vi khuẩn *L. buchneri* là 616,5 mg/L, cao hơn khoảng 8 lần so với mẫu đối chứng.



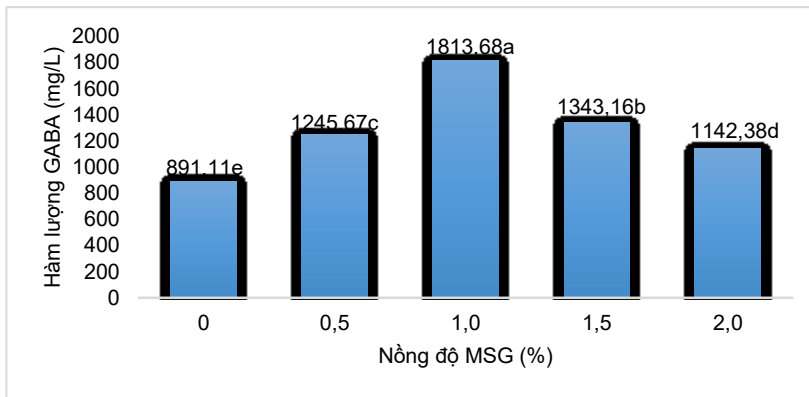
**Hình 1. Hàm lượng GABA của các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ mứt nộm Huế**

Tế bào được nuôi trong môi trường MRS với mật độ ban đầu là  $5.10^6$  CFU/mL ở 37°C trong 24 giờ. Nồng độ GABA được định lượng bằng phương pháp HPLC. Các cột không có cùng chữ cái in thường là khác nhau có nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Trong số các chủng vi khuẩn lactic nuôi cấy trong môi trường MRS chứa 1% MSG với mật độ nuôi cấy ban đầu  $5.10^6$  CFU/ml ở 37°C, 24 giờ thì chủng *P. pentosaseus* MN12 có khả năng sinh tổng hợp GABA cao nhất nên được tuyển chọn để tiến hành những thí nghiệm về ảnh hưởng của một số yếu tố lên khả năng sinh tổng hợp GABA.

**Ảnh hưởng của hàm lượng MSG bổ sung lên khả năng sinh tổng hợp GABA của *P. pentosaseus* MN12**

GABA là sản phẩm chuyển hóa sinh học của glutamate, được xúc tác bởi enzyme glutamate decarboxylase (GAD) trong nhiều tế bào sống trong đó có LAB. Hoạt tính của GAD càng mạnh thì lượng GABA tạo ra càng nhiều. Sự hiện diện của monosodium glutamate (MSG) là rất cần thiết để sản xuất GABA. Tuy nhiên, nếu trong môi trường có nồng độ MSG cao sẽ tạo ra áp suất thẩm thấu làm ảnh hưởng không tốt đến quá trình chuyển hóa của vi khuẩn lactic để tạo ra GABA. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành khảo sát khả năng sinh tổng hợp GABA của chủng *P. pentosaseus* MN12 khi thay đổi thành phần phần trăm glutamate trong môi trường nuôi cấy.



**Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ MSG đến khả năng sinh GABA của chủng *P. pentosaseus* MN12**

Tế bào được nuôi trong môi trường MRS với mật độ ban đầu là  $5.10^6$  CFU/mL ở 37°C trong 24 giờ. Nồng độ GABA được định lượng bằng phương pháp HPLC. Các cột không có cùng chữ cái in thường là khác nhau có nghĩa ( $p < 0,05$ ).

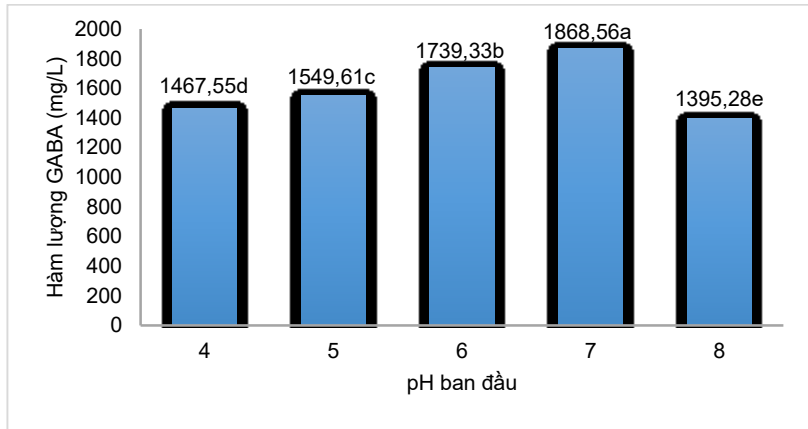
Hàm lượng GABA sinh tổng hợp trong môi trường tăng tỷ lệ thuận với sự tăng nồng độ MSG từ 0 đến 1% (w/v) và giảm dần ở nồng độ MSG từ 1,5-2% (Hình 2). Lượng GABA sinh ra là khác nhau ở các công thức MSG bổ sung khác nhau, sự sản sinh GABA ở các nồng độ khác nhau đều sai khác có ý nghĩa thống kê, thấp nhất ở nồng độ MSG 0% và đạt cao nhất là 1813,68 mg/L trong môi trường nuôi cấy có bổ sung MSG 1%. Khi trong môi trường có bổ sung MSG, hàm lượng GABA tạo ra cao hơn hẳn trong môi trường không có MSG, hàm lượng GABA ở nồng độ MSG 0,5% là 1245,67 mg/L so với 891,11 mg/L ở môi trường không bổ sung MSG.

Kết quả nghiên cứu nhận được hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của Microbiol (2013). Để tăng cường sản xuất GABA, tác giả đã sử dụng chủng *Lactobacillus rhamnosus* YS9 được phân lập từ rau quả lên men truyền thống của Trung Quốc. Khi điều kiện pH nuôi cấy được điều chỉnh theo pH tối ưu của hoạt động glutamate decarboxylase, nuôi cấy *L. rhamnosus* YS9 trong môi trường bổ sung 200 mM MSG và 200 mM pyridoxal phosphate (PLP), sản xuất 187 mM GABA. Tăng nồng độ MSG dẫn đến tăng hàm lượng GABA và năng suất GABA ngoại bào cao nhất được ghi nhận với 200 mM MSG, mặc dù tốc độ tăng trưởng tế bào đường như bị ức chế nhẹ. Từ kết quả này đã chỉ ra rằng, việc sản xuất GABA có thể được cải thiện khi tăng nồng độ MSG được

thêm vào môi trường nuôi cấy, và nồng độ MSG trên một mức nhất định sẽ kìm hãm sự phát triển của tế bào. Kết quả nghiên cứu này cho thấy nồng độ MSG 1% là phù hợp để bổ sung vào môi trường nuôi cấy sản xuất GABA từ chủng LAB này.

**Ảnh hưởng của pH ban đầu lên khả năng sinh tổng hợp GABA của *P. pentosaseus* MN12**

Giá trị pH ban đầu của môi trường nuôi cấy có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp GABA của các chủng vi khuẩn lactic, làm thay đổi hoạt động của vi khuẩn lactic và của enzyme glutamate decarboxylase (Li *et al.*, 2010). Nghiên cứu này đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện pH ban đầu của môi trường đến khả năng sinh tổng hợp GABA của *P. pentosaseus* MN12 (Hình 3). Hàm lượng GABA sinh ra tăng dần, tỉ lệ thuận với sự tăng dần của giá trị pH từ 4 đến 7, thấp nhất ở pH 4 và 5, đạt 1467,55 mg/L và 1549,61 mg/L và cao nhất là 1868,56 mg/L ở pH bằng 7, sau đó giảm xuống ở pH 8. Kết quả này cho thấy, pH ban đầu trung tính thuận lợi cho sự tích lũy GABA của *P. pentosaseus* MN12 mặc dù hoạt động của decarboxylase cao nhất ở pH 5 (Komatsuzaki *et al.*, 2005). Độ pH trong môi trường lên men thay đổi theo thời gian trong quá trình lên men. Do đó, pH ban đầu ảnh hưởng đến khả năng sinh GABA cuối cùng và độ pH của môi trường phải được điều chỉnh kịp thời để duy trì pH tối ưu (Di Cagno *et al.*, 2010). Trong nghiên cứu này cũng chỉ ra ở pH kiềm tính có thể dẫn đến giảm đáng kể việc sinh tổng hợp GABA do môi trường kiềm có thể ức chế sự phát triển của tế bào.

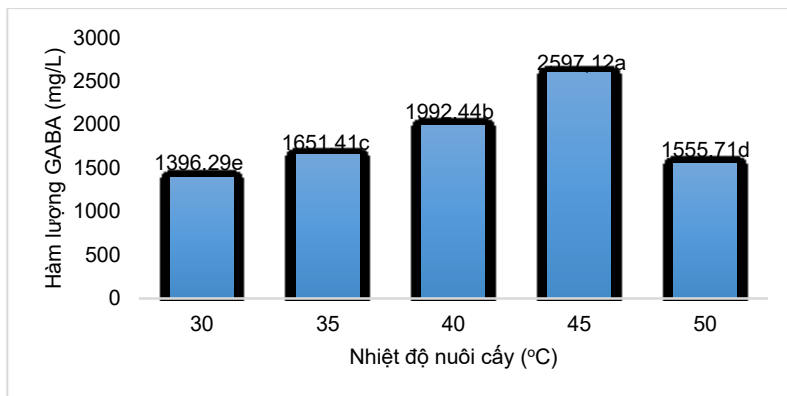


**Hình 3. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh GABA của chủng *P. pentosaseus* MN12**

Tế bào được nuôi trong môi trường MRS với mật độ ban đầu là  $5.10^6$  CFU/mL ở 37°C trong 24 giờ. Nồng độ GABA được định lượng bằng phương pháp HPLC. Các cột không có cùng chữ cái in thường là khác nhau có nghĩa ( $p < 0,05$ ).

**Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy lên khả năng sinh tổng hợp GABA của *P. pentosaseus* MN12**

Nhiệt độ nuôi cấy là một thông số quan trọng trong quá trình sinh tổng hợp GABA bởi LAB vì sự phát triển và hoạt động của tế bào vi khuẩn của GAD đều phụ thuộc vào nhiệt độ (Cui *et al.*, 2020). Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy LAB cho sự tích lũy GABA của *P. pentosaseus* MN12 để tối ưu hóa năng suất. Ở nghiên cứu này, vi khuẩn được nuôi trong môi trường MSR trong điều kiện mật độ tế bào ban đầu  $5.10^6$  CFU/mL, nồng độ MSG 1% và pH 7, hàm lượng GABA được xác định sau 24 giờ nuôi cấy (Hình 4).



**Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến khả năng sinh GABA của chủng *L. pentosus* MN12.**

Tế bào được nuôi trong môi trường MRS với mật độ ban đầu là  $5.10^6$  CFU/mL ở 37°C trong 24 giờ. Nồng độ GABA được định lượng bằng phương pháp HPLC. Các cột không có cùng chữ cái in thường là khác nhau có nghĩa ( $p < 0,05$ ).

Kết quả trong hình 4 cho thấy, hàm lượng GABA trong môi trường tăng lên khi nhiệt độ tăng từ 30 đến 45°C. Khả năng sinh tổng hợp GABA cao nhất là 2597,12 mg/L đạt được ở 45°C cho thấy đây là nhiệt độ thích hợp cho sinh

tổng hợp GABA bởi *P. pentosaseus* MN12. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nhiệt độ nuôi cấy lên 50°C, hàm lượng GABA giảm tương đối nhiều đạt 1555,71 mg/L. Điều này có thể được giải thích là nhiệt độ cao có ảnh hưởng đến sinh lý của tế bào và hoạt tính của enzyme xúc tác sinh tổng hợp GABA.

Yang và đồng tác giả (2008) khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng sinh tổng hợp GABA của chủng *S. salivarius* subsp. *thermophilus* Y2 cho thấy hàm lượng GABA đạt được cao nhất ở 40°C là 7984,75 mg/L. Tuy nhiên, các chủng LAB khác nhau có nhiệt độ tối thích cho việc sinh GABA khác nhau, *Lb. brevis* NCL912 phát triển và cho hàm lượng GABA cao nhất đạt 149,05 mM khi nuôi ở nhiệt độ 30°C sau 48 giờ nuôi cấy (Haixing *et al.*, 2008). Điều này có thể lý giải nhiệt độ nuôi cấy ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp GABA là do nó tác động đến hoạt động của enzyme GAD. Theo Yang và đồng tác giả (2015), hoạt động của GAD tăng đến mức tối đa để đáp ứng với việc tăng nhiệt độ ở một mức độ nhất định, sau đó giảm dần khi nhiệt độ tăng lên. Mỗi LAB khác nhau có nhiệt độ tối thích trong sinh tổng hợp GABA có thể không giống nhau. Việc sinh tổng hợp GABA của chủng *P. pentosaseus* MN12 trong thí nghiệm này cho thấy nhiệt độ nuôi cấy ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp GABA của chủng này.

## KẾT LUẬN

*P. pentosaseus* MN12 là chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh tổng hợp GABA trong môi trường nuôi cấy MRS. Nghiên cứu này đã cho thấy, khả năng sinh GABA đạt cao nhất ở các điều kiện nồng độ MSG 1%, pH 7 và nhiệt độ nuôi cấy là 45°C. Kết quả này cung cấp những thông tin có ích trong việc tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy sinh GABA cao đối với chủng *P. pentosaseus* MN12 và mở ra hướng nghiên cứu về các chủng LAB có khả năng sản sinh GABA để ứng dụng vào các thực phẩm chức năng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Văn Toàn, Lê Văn Luận, Hồ Đắc Nhân, Tống Thị Quỳnh Anh (2019). Nghiên cứu ảnh hưởng một số yếu tố trong giai đoạn ngâm và ủ đến khả năng sinh tổng hợp gamma aminobutyric acid của giống lúa tím thảo dược Vinh Hòa (VH1). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nông nghiệp* 3(2): 1285-1294.
- Trương Nhật Trung, Đồng Thị Anh Đào (2016). Làm giàu hàm lượng gamma-aminobutyric acid (GABA) trên hạt đậu xanh dưới điều kiện nẩy mầm hypoxiaanaerobic và đánh giá sự hao tổn này sau quá trình luộc. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ* 19 (K7): 88-96.
- Cho SY, Park MJ, Kim KM, Ryu JH, Park HJ (2011). Production of High  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) Sour Kimchi Using Lactic Acid Bacteria Isolated from Mukeunjee Kim chi. *Food Sci Biotechnol* 20(2): 403-408.
- Cui Y, Miao K, Niyaphorn S and Qu X (2020). Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: A systematic review. *Int J Mol Sci* 21(3): 1-21.
- Di Cagno R, Mazzacane F, Rizzello C. G, De Angelis M, Giuliani G, Meloni M, Gobbetti M (2010). Synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus plantarum* DSM19463: Functional grape must beverage and dermatological applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 86(2): 731-741.
- Haixing L, Ting Q, Dandan G, Yusheng C (2010), Medium optimization for production of gamma-aminobutyric acid by *Lactobacillus brevis* NCL912. *Amino Acids* 38: 1439-1445.
- Kook MC, Seo MJ, Cheigh CI, Lee SJ, Pyun YR, Park H (2010). Enhancement of  $\gamma$ -aminobutyric acid production by *Lactobacillus sakei* B2-16 expressing glutamate decarboxylase from *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 53(6): 816\_820.
- Komatsuzaki N, Shima J, Kawamoto S, Momose H, Kimura T (2005). Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus paracasei* isolated from traditional fermented foods. *Food Microbiol* 22(6): 497-504.
- Li H, Qiu T, Huang G, Cao Y (2010). Production of gamma-aminobutyric acid by *Lactobacillus brevis* NCL912 using fed-batch fermentation. *Microb Cell Fact* 9(85): 1-7.
- Lu X, Chen Z, Gu Z, Han Y (2008). Isolation of  $\gamma$ -aminobutyric acid-producing bacteria and optimization of fermentative medium. *Biochem Engin J* 41(1): 48-52.
- Microbiol BJ (2013). Submerged fermentation of *Lactobacillus rhamnosus* YS9 for  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) production. *Braz J Micromiol* 44(1): 183-7.
- Sanchart C, Rattanaporn O, Haltrich D, Phukpattaranont P, Maneerat S (2017). Enhancement of gamma-aminobutyric acid (GABA) levels using an autochthonous *Lactobacillus futsaii* CS3 as starter culture in Thai fermented shrimp (Kung-Som). *World Microb Biotechnol* 33:152.
- Song HY, Yu RC (2016). Optimization of culture conditions for gamma-aminobutyric acid production in fermented adzuki bean milk. *J Food Drug Anal*: 1- 8.
- Syu KY, Lin CL, Huang HC, Lin JK (2008). Determination of theanine, GABA, and other amino acids in green, oolong, black, and Pu-erh teas with dabsylation and high-performance liquid chromatography. *J Agri Food Chem* 56(17): 7637-7643.
- Wu Q, Shah NP (2016). High  $\gamma$ -aminobutyric acid production from lactic acid bacteria: emphasis on *Lactobacillus brevis* as a functional dairy starter. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57: 3661-3672.

Yang SY, Lü FX, Lu Z, Bie XM, Jiao Y, Sun LJ, Yu B (2008). Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* Y2 under submerged fermentation. *Amino Acids* 34: 473-478.

Yang T, Rao Z, Kimani B. G, Xu M, Zhang X, Yang ST (2015). Two-step production of gamma-aminobutyric acid from cassava powder using *Corynebacterium glutamicum* and *Lactobacillus plantarum*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 42(8): 1157-1165.

## SCREENING AND STUDYING THE EFFECTS OF SOME FACTORS ON THE GAMMA AMINOBUTYRIC ACID (GABA) PRODUCTION OF LACTIC BACTERIA ISOLATED FROM HUE MAM NEM

**Nguyen Thi Diem Huong, Do Thi Bich Thuy\***

*Hue University of Agriculture and Forestry, Hue University*

### SUMMARY

Gamma - aminobutyric acid (GABA) is a four-carbon, non-protein amino acid. It is a bioactive compound for health benefits and widely distributes in both plants, animals and microorganisms. The objective of this study was to screen a high GABA-producing lactic acid bacteria strain. This screened strain was then investigated the effect of some culture conditions on its GABA production. Following it, 6 strains of lactic bacteria denoted by MN2, MN3, MN4, MN5, MN9 and MN12 isolated from Hue mam nem were evaluated that all of them had ability of biosynthesis of GABA when cultured MRS broth supplemented 1% of monosodium glutamate (MSG) at 37°C. The strain MN12 had a highest GABA production (1684.89 mg/mL) and was identified as *P. pentosaceus* (results not published in this paper). So *P. pentosaceus* MN12 was selected for studying its GABA biosynthesis ability in different culture conditions. The results showed that GABA content reached the highest when *P. pentosaceus* MN12 strain was cultured in MRS broth supplemented with 1% monosodium glutamate (MSG), the initial pH 7 and at 45°C. Under above culture conditions the GABA content was obtained 2597.12 mg/L.

**Keywords:** Gamma - aminobutyric acid (GABA), lactic acid bacteria (LAB), monosodium glutamate (MSG), pH, temperature.

---

\* Author for correspondence: Tel: +84-914091340; Email: dothibichthuy@huaf.edu.vn