

# Khảo sát điều kiện thu nhận axit gamma-aminobutyric từ dịch cám gạo bằng *Lactobacillus*

Ngô Đại Hùng<sup>1</sup>, Trần Quốc Tuấn<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Nhật Hằng<sup>1</sup>, Ngô Đại Nghiệp<sup>2\*</sup>, Võ Thanh Sang<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Thủ Dầu Một

<sup>2</sup>Khoa Sinh học - Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,  
Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

<sup>3</sup>Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

Ngày nhận bài 1/7/2020; ngày chuyển phản biện 14/7/2020; ngày nhận phản biện 26/8/2020; ngày chấp nhận đăng 18/9/2020

## Tóm tắt:

Axit gamma-aminobutyric (GABA) là một chất có hoạt tính sinh học phân bố rộng rãi ở cả thực vật và động vật, có nhiều lợi ích cho sức khỏe. Mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát điều kiện tối ưu nuôi cấy *Lactobacillus fermentum* từ dịch cám gạo có khả năng sinh GABA hàm lượng cao. GABA được xác định bằng phương pháp sắc ký bản mỏng TLC. Trong nghiên cứu này, điều kiện thu nhận GABA bởi *L. fermentum* từ dịch chiết cám gạo được khảo sát. Chúng vi khuẩn *L. fermentum* cho thấy có tiềm năng sinh GABA cao. Các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình sản xuất GABA như: carbon, nitơ, khoáng, nồng độ cơ chất monosodium glutamate (MSG) và các điều kiện pH, thời gian cho quá trình lên men được khảo sát. Chúng *L. fermentum* được nuôi trong môi trường cám gạo bổ sung 1,5% lactose, 2% cao nấm men và 1% MSG, pH 6,0 trong thời gian 48 giờ cho kết quả nồng độ GABA đạt được cao (736 mg/l).

**Từ khóa:** axit gamma-aminobutyric (GABA), dịch cám gạo, hoạt tính sinh học, *Lactobacillus fermentum*, sắc ký bản mỏng (TLC).

**Chỉ số phân loại:** 2.8

## Đặt vấn đề

Axit gamma-aminobutyric (GABA) được phân bố rộng rãi ở thực vật, động vật và vi sinh vật, hoạt động như chất dẫn truyền thần kinh ức chế trong hệ thống thần kinh trung ương của động vật có vú [1]. GABA cho thấy nhiều hoạt tính sinh học như bảo vệ hệ thần kinh, chống tăng huyết áp, chống đái tháo đường, chống ung thư và chống rối loạn thần kinh. Đồng thời, GABA giúp cải thiện nhiều chức năng sinh lý ở người như làm chắc thành mạch máu, điều hòa bài tiết insulin, ngăn ngừa gia tăng cholesterol trong máu, cải thiện đột quy, cải thiện chức năng gan, thận, giúp chống lại các bệnh mãn tính liên quan đến rượu [2, 3].

Hiện nay, GABA được sản xuất từ nhiều nguồn khác nhau như từ vi sinh vật, hạt đậu xanh nảy mầm [4]... Đặc biệt, GABA được sản xuất bằng phương pháp lên men sử dụng vi khuẩn và nấm đang được ứng dụng rộng rãi và có hiệu quả cao như *Lactobacillus sakei* B2-16 từ kim chi (GABA 68,05 g/l), *Lactobacillus brevis* OPK-3 từ kim chi Hàn Quốc (GABA 84,29 g/kg) và *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* IFO 32002 (GABA 17,4 g/l) [5-8]. Việc sinh tổng hợp GABA theo phương pháp sinh học có nhiều tiềm năng hơn so với phương pháp tổng hợp hóa học vì quy trình phản ứng đơn giản, hiệu quả xúc tác cao, điều kiện

phản ứng không quá khắc nghiệt và tương thích với môi trường [9].

Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện với các vi khuẩn lactic có khả năng sinh GABA từ thực phẩm lên men truyền thống và tối ưu hóa việc sản xuất GABA sử dụng vi khuẩn lactic cho mục đích công nghiệp [10]. Nghiên cứu của Ratanaburee và cộng sự [11] cho thấy hàm lượng GABA là 4.000 mg/l được tạo ra từ *Lactobacillus plantarum* DW 12 trong môi trường MRS (De Man, Rogosa, Sharpe) có bổ sung 1% MSG, pH 6 và 6% sucrose trong 45-60 ngày. Komatsuzaki và cộng sự [12] đã công bố khả năng sản xuất GABA cao nhất từ *Lactobacillus paracasei* NFRI 7415 ở pH 5 là 210 mM. Ở Việt Nam, đã có một số công trình nghiên cứu về sản xuất GABA theo hướng nghiên cứu ứng dụng các chất có nguồn gốc tự nhiên để làm thực phẩm chức năng, như nghiên cứu của tác giả Lý Thị Kim Tuyền [13] cho thấy hàm lượng GABA đạt đến 682 mM với điều kiện lên men của *Lactobacillus* spp. từ cám gạo. Trong nghiên cứu này, GABA được sản xuất bằng *Lactobacillus* từ nguồn nguyên liệu tự nhiên và rẻ tiền là dịch cám gạo bằng cách xác định một số thành phần bổ sung vào môi trường (nguồn carbon, nitơ, khoáng và nồng độ cơ chất), đồng thời lựa chọn các điều kiện nuôi cấy (pH và thời gian) lên men thích

\*Tác giả liên hệ: Email: ndnghiep@hcmus.edu.vn; vtsang@ntt.edu.vn

# Optimisation of culture conditions for gamma-aminobutyric acid production in rice bran extracts

Dai Hung Ngo<sup>1</sup>, Quoc Tuan Tran<sup>2</sup>, Thi Nhat Hang Nguyen<sup>1</sup>,  
Dai Nghiep Ngo<sup>2\*</sup>, Thanh Sang Vo<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Thu Dau Mot University

<sup>2</sup>Faculty of Biology - Biotechnology, University of Science,  
Vietnam National University, Ho Chi Minh City

<sup>3</sup>NTT Hi-Tech Institute, Nguyen Tat Thanh University

Received 1 July 2020; accepted 18 September 2020

## Abstract:

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a potent bioactive component that widely exists in both plants and animals, has numerous health benefits. This study aimed to optimise the fermentation process conditions for the growth of *Lactobacillus fermentum* from rice bran extracts that have high potential to produce GABA. GABA content was assessed by thin-layer chromatography (TLC) method. In this study, fermenting conditions for medium production of GABA by *L. fermentum* from rice bran extracts were optimised. *L. fermentum* showed high potential for GABA-producing ability. Some factors influencing the GABA production such as carbon sources, nitrogen sources, mineral salt sources, substrate concentration of monosodium glutamate (MSG), pH, and the time of fermentation were investigated. When the *L. fermentum* is cultivated in the rice bran extracts medium supplemented with 1.5% lactose, 2% yeast extract, and 1% MSG with pH 6.0 in 48 h, this strain showed high GABA at a concentration of 736 mg/l.

**Keywords:** biological activities, gamma-aminobutyric acid (GABA), *Lactobacillus fermentum*, rice bran extracts, thin layer chromatography (TLC).

**Classification number:** 2.8

hợp để tăng khả năng sinh tổng hợp GABA.

## Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### Vật liệu

Vi khuẩn *L. fermentum* được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh hóa, Khoa Sinh học - Công nghệ sinh học (Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh). Mẫu cám gạo tách béo được mua tại Công ty TNHH Wilmar Agro Việt Nam, Chi nhánh Khu công nghiệp Thốt Nốt (TP Cần Thơ).

Môi trường sinh tổng hợp GABA: thành phần môi trường MRS (De Man, Rogosa, Sharpe) gồm 20 g glucose; 10 g peptone; 10 g cao thịt; 5 g cao nấm men; 0,1 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 1 ml Tween 80, 5 g natri axetat, 2 g  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ , 2 g amoni citrate, 0,05 g  $MnSO_4$ , 10 g agar, 1% MSG và nước cất vừa đủ 1.000 ml.

Môi trường lên men khảo sát: dịch chiết cám gạo + 1% glucose + 1% cao nấm men + 1% MSG. Môi trường được đựng trong chai thủy tinh 100 ml (50 ml môi trường/chai) đậy nút bông và được hấp khử trùng ở 121°C trong 15 phút.

### Nuôi cấy và bảo quản chủng *Lactobacillus*

Phương pháp giữ giống: dùng que cấy vòng lấy khuẩn lạc từ ống thạch nghiêng cấy rĩa trên môi trường MRS thạch nghiêng, đem ủ ở nhiệt độ 37°C trong vòng 24 giờ. Sau đó lưu trữ ở 4°C, tiến hành cấy chuyển định kỳ 3 tuần 1 lần để giữ giống ở trạng thái tốt nhất. Các thao tác và dụng cụ được sử dụng trong điều kiện vô trùng (trong tủ cấy).

Phương pháp hoạt hóa giống (tăng sinh): dùng que cấy vòng lấy sinh khối từ ống thạch nghiêng, cấy vào bình thủy tinh chứa 30 ml MRS lỏng (đã hấp khử trùng), đem lắc ở nhiệt độ 37°C trong vòng 16-18 giờ.

Phương pháp nuôi cấy chủng *Lactobacillus* sinh tổng hợp GABA: cấy 1 ml dung dịch tăng sinh vi khuẩn vào bình thủy tinh có chứa môi trường nuôi cấy. Tiến hành nuôi lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ 37°C trong 48 giờ. Dịch lên men được đem đi ly tâm 10.000 vòng/phút trong 15 phút để thu dịch. Sau đó tiến hành xác định hàm lượng GABA.

### Kiểm tra khả năng sinh GABA của chủng *Lactobacillus*

Xác định khả năng sinh GABA của chủng *Lactobacillus* bằng cách lên men trong môi trường MRS lỏng, bổ sung 1% MSG, nuôi lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ 37°C trong 48 giờ. Dịch lên men được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 15 phút để thu dịch. Kiểm tra khả năng sinh GABA của chủng vi khuẩn bằng phương pháp sắc ký bản mỏng (TLC).

### Phương pháp phát hiện GABA bằng TLC [14]

Sử dụng ống thủy tinh mao quản hoặc micropipette hút 2  $\mu$ l dịch trong đã ly tâm từ chủng vi khuẩn *Lactobacillus*

được lên men, 2 µl dung dịch GABA chuẩn 5 mg/ml và 2 µl dung dịch MSG 5 mg/ml chấm vào bản sắc ký. Vết chấm cách mép dưới bản mỏng 1 cm. Các vết chấm phải nhỏ, có đường kính 3-5 mm và cách nhau 10-15 mm. Các vết ở bìa cách bờ bên của bản mỏng ít nhất 1 cm. Các vết chấm phải cùng trên một đường thẳng. Đặt bản mỏng vào bình sắc ký chứa hệ dung môi thích hợp. Tiến hành chạy sắc ký. Sau khi kết thúc, nhuộm bản sắc ký bằng dung dịch ninhydrin và cho vào tủ sấy ở nhiệt độ 90-95°C khoảng 10 phút. Quan sát kết quả và kết luận khả năng sinh GABA.

#### Định lượng GABA trong dịch lên men bằng TLC

Tiến hành chấm sắc ký như trên. Sau khi hiện màu trong tủ sấy, mẫu được cạo và thôi giải với dung dịch ethanol 75%: CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O 0,6% theo tỷ lệ 38:2 và đo OD ở bước sóng 512 nm. Từ các giá trị OD đo được, thế vào phương trình đường chuẩn dựng được để xác định nồng độ GABA.

#### Khảo sát môi trường lên men

**Xử lý cám gạo và chiết xuất dịch cám gạo:** mẫu cám gạo đã tách bèo được pha với nước theo tỷ lệ 1 cám gạo: 5 nước. Đun sôi hỗn hợp cám và nước trong vòng 15 phút và để nguội. Mẫu cám gạo sau khi đun được đem ly tâm 4.000 vòng/phút trong 10 phút, thu dịch cám, bỏ cặn và bổ sung thêm nước. Dịch cám gạo thu được đem pha với các thành phần khảo sát và được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong vòng 15 phút.

**Khảo sát nguồn carbon, nitơ và khoáng thích hợp cho lên men:**

**Nguồn carbon:** dịch chiết từ cám gạo được bổ sung thêm 1% MSG, 1% cao nấm men. Sau đó lần lượt bổ sung thêm 1% glucose, lactose, galactose, fructose, maltose, sucrose vào các chai thủy tinh chứa 50 ml môi trường dịch chiết cám gạo. Tiếp theo, môi trường được hấp khử trùng ở 121°C trong 15 phút, để nguội. Đưa thêm 1% dịch chủng gốc đã được nuôi cấy trong môi trường MRS lỏng trong 16-18 giờ. Thời gian lên men kéo dài 48 giờ, ở 37°C, lắc với tốc độ 200 vòng/phút. Dịch lên men sau 48 giờ được đem đi ly tâm 10.000 vòng/phút trong 15 phút. Tiến hành chạy TLC để định lượng GABA tạo thành trong dịch lên men. Sau đó chọn ra nguồn carbon có khả năng sinh GABA cao nhất và khảo sát tiếp nguồn carbon đó để chọn ra nồng độ thích hợp.

**Nguồn nitơ:** dịch chiết từ cám gạo được bổ sung thêm 1% MSG, 1% glucose. Lần lượt bổ sung 1% cao nấm men, peptone, pepsoy, cao thịt vào các chai thủy tinh chứa 50 ml môi trường dịch chiết cám gạo. Sau đó môi trường được hấp khử trùng ở 121°C trong 15 phút, để nguội. Đưa thêm 1% dịch chủng gốc đã được nuôi cấy trong môi trường MRS lỏng trong 16-18 giờ. Thời gian lên men kéo dài 48 giờ, ở 37°C, lắc với tốc độ 200 vòng/phút. Dịch lên men sau 48 giờ được đem đi ly tâm 10.000 vòng/phút trong 15 phút.

Tiến hành chạy TLC để định lượng GABA tạo thành trong dịch lên men. Sau đó chọn ra nguồn nitơ có khả năng sinh GABA cao nhất và khảo sát tiếp nguồn nitơ đó để chọn ra nồng độ thích hợp.

**Nguồn khoáng:** tiến hành khảo sát trên các nguồn khoáng MnSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O với nồng độ 0,05% trong môi trường dịch chiết cám gạo được bổ sung thêm các thành phần và điều kiện đã khảo sát trước đó. Sau đó chọn ra nguồn khoáng có khả năng sinh GABA cao nhất và khảo sát tiếp nguồn khoáng đó để chọn ra nồng độ thích hợp.

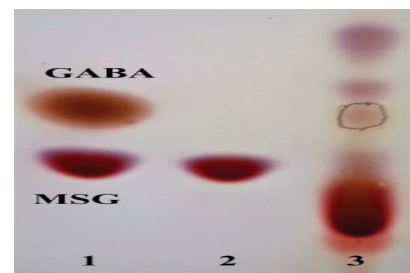
**Tỷ lệ bổ sung MSG thích hợp cho lên men:** dịch chiết từ cám gạo được bổ sung các thành phần môi trường đã được chọn. Lần lượt bổ sung 0,25%; 0,5%; 0,75%; 1%; 3%; 5%; 7%; và 10% MSG vào môi trường. Xác định nồng độ MSG thích hợp cho khả năng sinh tổng hợp GABA từ chủng vi khuẩn khảo sát.

**Các điều kiện lên men thích hợp trên môi trường dịch cám gạo:** với thành phần môi trường thích hợp đã được khảo sát, tiến hành thay đổi pH môi trường nuôi cấy (từ 5 đến 8) và thay đổi thời gian lên men (từ 24 đến 120 giờ) nhằm xác định pH thích hợp và thời gian lên men tối ưu cho quá trình sinh tổng hợp GABA từ chủng vi khuẩn khảo sát dựa trên hàm lượng GABA thu được sau lên men.

#### Kết quả và thảo luận

##### Kiểm tra khả năng sản xuất GABA của chủng vi khuẩn *Lactobacillus*

Chủng vi khuẩn *L. fermentum* được tăng sinh và nuôi trong môi trường MRS bổ sung 1% MSG. Kết quả chạy sắc ký (hình 1) cho thấy trên đường chạy của dịch lên men có một vết mờ ngang hàng với GABA chuẩn, điều này cho thấy vi khuẩn *L. fermentum* có khả năng sinh GABA phù hợp với nhiều nghiên cứu ghi nhận các chủng vi khuẩn acid lactic (LAB) có khả năng sản xuất GABA. Một số vi khuẩn LAB sản xuất GABA đã được ghi nhận, bao gồm *Lactobacillus buchneri* phân lập từ kimchi [15], *Lactobacillus brevis* từ phô mai [16] và cá lên men truyền thống của Nhật Bản [17].



**Hình 1.** Sắc ký độ dịch lên men chủng *L. fermentum* trong môi trường MRS. Đường 1: mẫu GABA và MSG chuẩn; đường 2: mẫu MSG chuẩn; đường 3: mẫu thu dịch lên men trong môi trường MRS bổ sung 1% MSG.

**Kết quả khảo sát nguồn hữu cơ bổ sung vào môi trường dịch cám gạo**

*Ảnh hưởng của nguồn carbon:*

Nguồn carbon là một yếu tố cần thiết phải bổ sung thêm vào môi trường cám gạo để đảm bảo cho vi khuẩn phát triển mạnh, từ đó sẽ có khả năng tổng hợp GABA đạt hiệu suất cao. Do vậy việc chọn nguồn carbon bổ sung thích hợp cho chủng vi khuẩn *Lactobacillus* rất quan trọng. Chúng tôi đã tiến hành khảo sát trên 6 nguồn carbon khác nhau. Kết quả ở hình 2A cho thấy vi khuẩn có thể sinh trưởng tốt ở nguồn glucose, lactose, maltose và đều có khả năng sinh GABA ở cả 6 nguồn carbon. Tuy nhiên ở nguồn đường lactose có nồng độ GABA cao nhất (434 mg/l), vì vậy nguồn carbon thích hợp nhất là lactose. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Hammes & Vogel [18], theo đó một trong những nguồn *L. fermentum* được phân lập là các sản phẩm từ sữa nên lactose có thể là nguồn carbon thích hợp cho sự tăng trưởng của chúng.

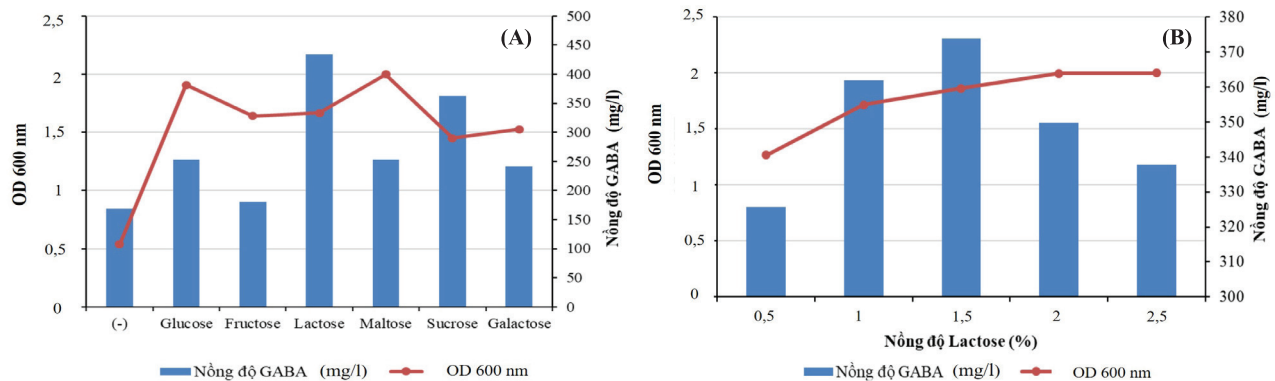
Sau khi chọn lactose làm nguồn carbon, chúng tôi tiếp tục thực hiện khảo sát chọn nồng độ lactose phù hợp. Hình

2B cho thấy ở nồng độ 1,5% cho hàm lượng GABA cao nhất.

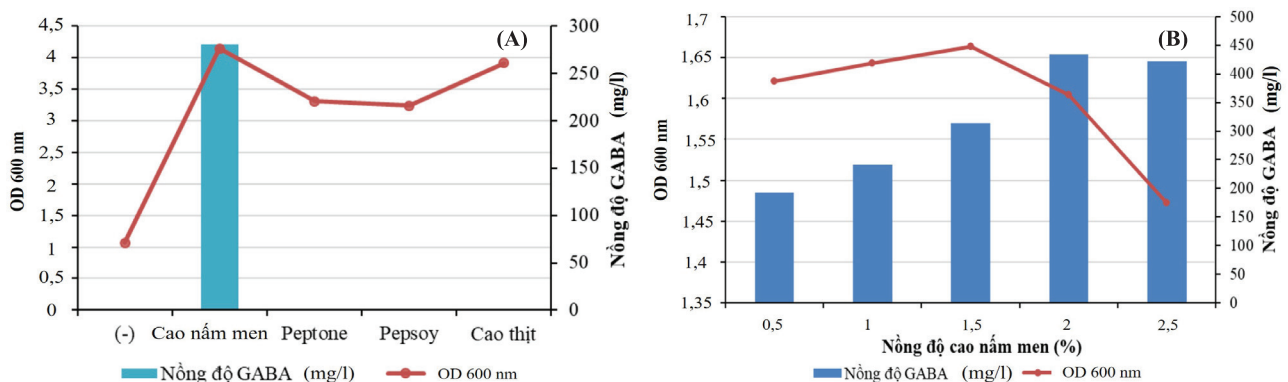
*Ảnh hưởng của nguồn nitơ:*

Chúng tôi đã tiến hành khảo sát trên 4 nguồn nitơ. Kết quả ở hình 3A cho thấy mặc dù vi khuẩn có thể sinh trưởng tốt ở cả 4 nguồn cao nấm men, peptone, pepsoy và cao thịt, nhưng chỉ có khả năng sinh GABA ở nguồn cao nấm men. Điều này cho thấy vi khuẩn *L. fermentum* có khả năng sinh GABA với nguồn đạm là cao nấm men.

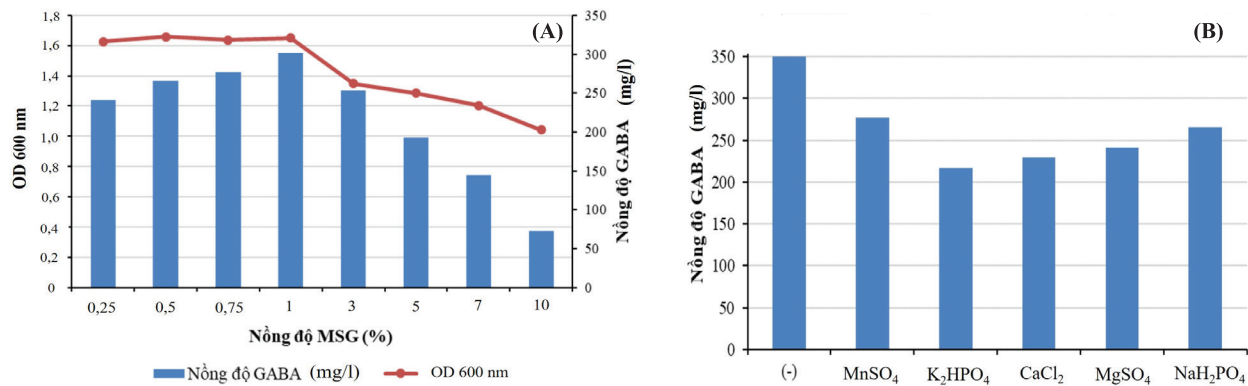
Chúng tôi tiếp tục thực hiện khảo sát chọn nồng độ cao nấm men phù hợp. Kết quả hình 3B cho thấy khả năng sinh tổng hợp GABA của vi khuẩn *L. fermentum* phụ thuộc vào nồng độ cao nấm men. Khi môi trường có lượng cao nấm men thấp (0,5%) thì hàm lượng GABA sinh ra thấp nhất (193 mg/l). Khi nồng độ cao nấm men tăng dần từ 1-2% thì hàm lượng GABA tăng dần và giảm nhẹ ở nồng độ 2,5% cao nấm men. Mật độ tế bào phát triển tăng dần từ nồng độ 0,5-1,5% cao nấm men và giảm mạnh ở nồng độ 2% nhưng lượng GABA sinh ra lại cao nhất (434 mg/l). Từ kết quả trên cho thấy nồng độ cao nấm men thích hợp nhất để bổ sung vào môi trường dịch chiết cám gạo là 2% cao nấm men.



Hình 2. Biểu đồ biểu hiện ảnh hưởng của nguồn carbon (A) và nồng độ lactose (B) đến hàm lượng GABA của *Lactobacillus*.



Hình 3. Biểu đồ biểu hiện ảnh hưởng của nguồn nitơ (A) và cao nấm men (B) đến hàm lượng GABA của *Lactobacillus*.



Hình 4. Biểu đồ biểu hiện ảnh hưởng của nồng độ cơ chất MSG (A) và các nguồn khoáng (B) đến hàm lượng GABA của *Lactobacillus*.

*Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất MSG:*

Trong thí nghiệm này, MSG được sử dụng làm nguồn cơ chất chính để enzyme GAD chuyển hóa thành GABA. Việc xác định tỷ lệ MSG đưa vào dịch cám gạo sẽ giúp xác định hiệu suất quá trình lên men. Với các yếu tố đã khảo sát được ở môi trường dịch chiết cám gạo gồm 1,5% lactose, 2% cao nấm men, chúng tôi tiến hành khảo sát với các nồng độ MSG khác nhau (từ 1-10%) và nhận thấy MSG ở nồng độ 1% cho hàm lượng GABA cao nhất. Sau đó, chúng tôi tiếp tục khảo sát MSG ở các nồng độ thấp hơn 1% thì nồng độ GABA giảm. Từ các kết quả trên cho thấy lượng MSG thích hợp để bổ sung môi trường dịch cám gạo là 1% (hình 4A).

Theo kết quả khảo sát của Kook và cộng sự [19] về khả năng sản xuất GABA trong dịch chiết cám gạo của chủng *Lactobacillus sakei* B2-16 tăng dần theo nồng độ cơ chất MSG từ 3-12% được thêm vào môi trường. So với kết quả khảo sát của chúng tôi thì nồng độ GABA giảm dần khi tăng từ 3-10% nồng độ MSG. Nguyên nhân có thể do nồng độ GAD tiết ra còn ít, chưa đủ để chuyển hóa hết cơ chất MSG, thể tích môi trường lên men nhỏ (50 ml), hơn nữa mật độ tế bào vi khuẩn giảm dần khi nồng độ MSG tăng cao, gây ảnh hưởng đến sự phát triển của chủng vi khuẩn *L. fermentum*.

*Ảnh hưởng của nguồn khoáng:*

Bên cạnh các nhu cầu về carbon, nitơ, vi khuẩn lactic còn cần nguồn muối khoáng để duy trì sự phát triển của chúng. Theo nghiên cứu của Li và cộng sự [20] về việc tối ưu hóa môi trường sản xuất GABA bởi *Lactobacillus brevis* NCL912 cho thấy rằng, yếu tố MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O có ảnh hưởng đến quá trình sản xuất GABA trong môi trường MRS. Trên cơ sở đó, chúng tôi khảo sát trên năm nguồn khoáng trong môi trường dịch cám gạo bổ sung 1% MSG, 2% cao nấm men, 1,5% lactose, pH 6,0 ở 37°C. Kết quả hình 4B cho thấy

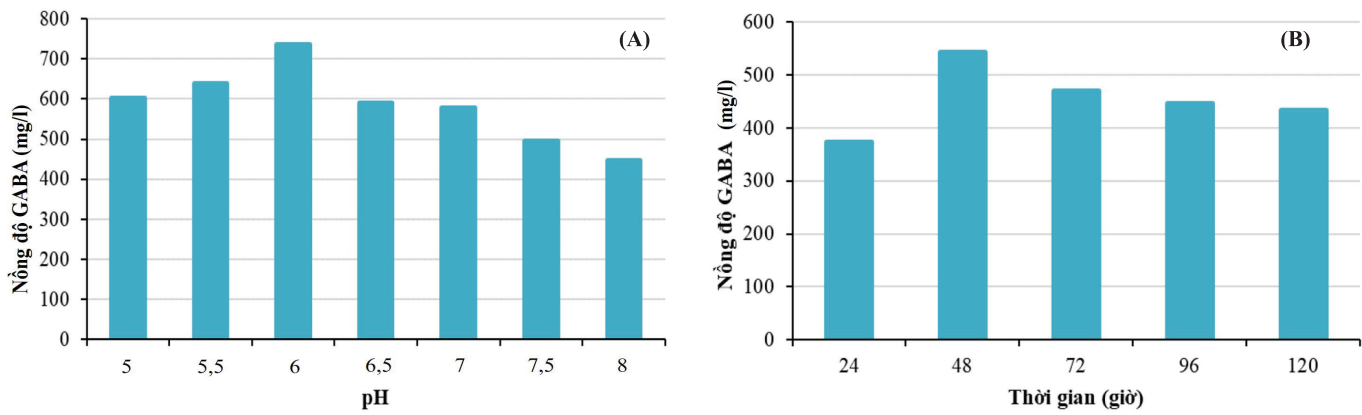
nồng độ GABA ở môi trường không có muối khoáng là cao nhất (350 mg/l), vì vậy có thể trong dịch chiết cám gạo đã đủ lượng khoáng cho quá trình sản xuất GABA của chủng vi khuẩn *L. fermentum* nên không cần bổ sung khoáng.

*Ảnh hưởng của các điều kiện (pH và thời gian) đến quá trình lên men dịch cám gạo*

Độ pH ảnh hưởng lớn đến quá trình phát triển của vi sinh vật, pH phù hợp sẽ giúp vi sinh vật phát triển tốt nhất, do vậy việc xác định pH tối ưu trong môi trường dịch cám gạo để sinh GABA cũng rất cần thiết. Kết quả khảo sát cho thấy lượng GABA sinh ra thay đổi theo pH (hình 5A). Theo đó, nồng độ GABA ở vùng pH acid từ 5,0-6,0 tăng dần và nhiều hơn so với vùng kiềm, trong đó pH 6,0 cho kết quả nồng độ GABA cao nhất (736 mg/l).

Thời gian lên men quyết định một phần hàm lượng GABA được sinh ra, với thời gian thích hợp, hàm lượng GABA sinh tổng hợp sẽ cao, nhưng nếu thời gian lên men kéo dài cũng ảnh hưởng đến chất lượng của GABA. Theo kết quả khảo sát (hình 5B) có thể thấy hàm lượng GABA tăng dần từ khoảng 24-48 giờ và bắt đầu giảm dần sau đó, vì vậy thời gian lên men thích hợp nhất là khoảng 48 giờ.

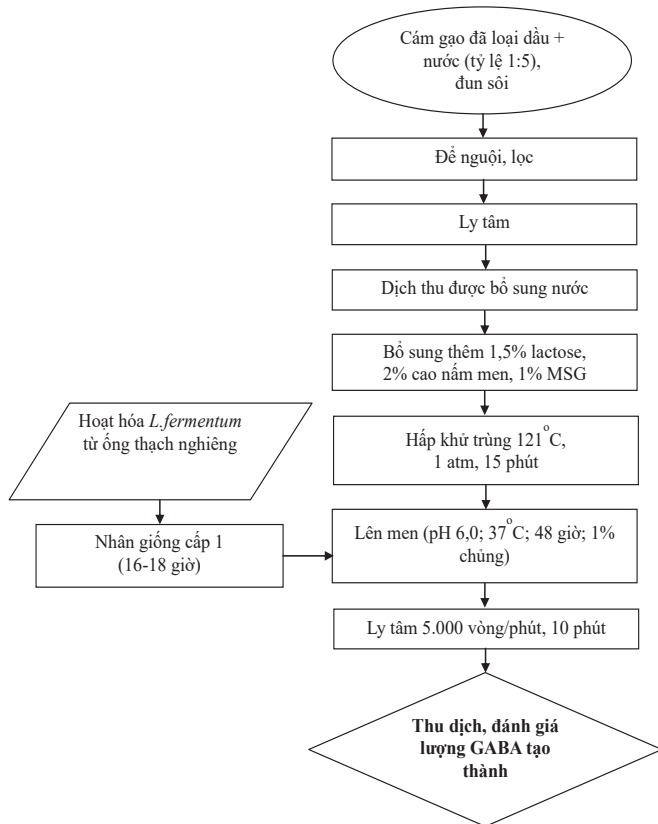
Kết quả hàm lượng GABA thu được từ các yếu tố đã khảo sát được là 736 mg/l. So với kết quả khảo sát của Tung và cộng sự [21] nghiên cứu về khả năng sinh GABA của chủng *L. plantarum* NTU 102 trên môi trường sữa thì cho kết quả nồng độ GABA là 629 mg/l, thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Hay so với nhóm tác giả Di Cagno và cộng sự [22] nghiên cứu về chủng *L. plantarum* DSM19463 sinh tổng hợp GABA trên nước nho đạt 498,1 mg/l. Điều này chứng tỏ môi trường dịch chiết cám gạo có thể ứng dụng trong việc sản xuất GABA đạt hiệu suất cao bởi vi khuẩn *Lactobacillus*.



Hình 5. Biểu đồ biểu hiện ảnh hưởng của pH (A) và thời gian (B) lên sự tăng trưởng và hàm lượng GABA của *L. fermentum*.

**Kết luận**

Từ các kết quả đã khảo sát được có thể xây dựng một quy trình lên men thu nhận GABA từ dịch chiết cám gạo với các thành phần và điều kiện sau: dịch chiết cám gạo (1 cám gạo: 5 nước); bổ sung thêm 1,5% lactose; 2% cao nấm men; 1% MSG làm cơ chất; pH ban đầu của môi trường là 6,0 và lên men trong thời gian 48 giờ. Kết quả nồng độ GABA đạt được là 736 mg/l. Từ các điều kiện thích hợp đã tìm được ở trên cho phép đưa ra sơ đồ quy trình lên men dịch cám gạo thích hợp (hình 6).



Hình 6. Sơ đồ quy trình lên men dịch cám gạo thích hợp.

**LỜI CẢM ƠN**

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 106.02-2018.304. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

[1] M.D. Humphries, T.J. Prescott (2010), “The ventral basal ganglia, a selection mechanism at the crossroads of space, strategy, and reward”, *Prog. Neurobiol.*, **90(4)**, pp.385-417.

[2] R. Dhakal, et al. (2012), “Production of gaba ( $\gamma$ -Aminobutyric acid) by microorganisms: a review”, *Braz. J. Microbiol.*, **43(4)**, pp.1230-1241.

[3] D.H. Ngo, T.S. Vo (2019), “An updated review on pharmaceutical properties of gamma-aminobutyric acid”, *Molecules*, **24(15)**, pp.1-23.

[4] Trương Nhật Trung, Đồng Thị Anh Đào (2016), “Làm giàu hàm lượng gamma-aminobutyric acid (GABA) trên hạt đậu xanh dưới điều kiện nảy mầm hypoxia-anaerobic và đánh giá sự hao tổn này sau quá trình luộc”, *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, **19(K7)**, tr.88-96.

[5] Y.C. Seo, et al. (2012), “Enhancement of the cognitive effects of  $\gamma$ -Aminobutyric acid from monosodium glutamate fermentation by *Lactobacillus sakei* B2-16”, *Food Biotechnol.*, **26(1)**, pp.29-44.

[6] K.B. Park, S.H. Oh, (2007), “Cloning, sequencing and expression of a novel glutamate decarboxylase gene from a newly isolated lactic acid bacterium, *Lactobacillus brevis* OPK-3”, *Biores. Technol.*, **98(2)**, pp.312-319.

[7] Y. Cui, et al. (2020), “Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: a systematic review”, *Int. J. Mol. Sci.*, **21(3)**, p.995.

[8] H. Aoki, et al. (2003), “The production of a new tempeh-like fermented soybean containing a high level of  $\gamma$ -aminobutyric acid by anaerobic incubation with *Rhizopus*”, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67(5)**, pp.1018-1023.

[9] J. Huang, et al. (2007), “Biosynthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) using immobilized whole cells of *Lactobacillus brevis*”,

*World J. Microbiol. Biotechnol.*, **23(6)**, pp.865-871.

[10] L.A. Nguyen (2015), "Health-promoting microbes in traditional Vietnamese fermented foods: a review", *Food Sci. Hum. Well.*, **4(4)**, pp.147-161.

[11] A. Ratanaburee, et al. (2011), "Enhancement of  $\gamma$ -aminobutyric acid in a fermented red seaweed beverage by starter culture *Lactobacillus plantarum* DW12", *Electron J. Biotechnol.*, **14(3)**, pp.1-10.

[12] N. Komatsuzaki, et al. (2016), "*Lactobacillus paracasei* NFRI 7415 reduces liver lipid contents in C57BL/6J mice fed a high-fat diet", *Int. J. Clin. Nutr. Diet*, **2**, pp.1-5.

[13] Lý Thị Kim Tuyền (2014), *Nghiên cứu quy trình sản xuất  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) từ dịch cám gạo bằng *Lactobacillus**, Luận văn thạc sĩ khoa học, Đại học Quốc gia Hà Nội.

[14] T. Qiu, et al. (2010), "Pre-staining thin layer chromatography method for amino acid detection", *Afr. J. Biotechnol.*, **9(50)**, pp.8679-8681.

[15] Y.R. Cho, et al. (2007), "Production of  $\gamma$ -amino-butyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells", *J. Microbiol. Biotechnol.*, **17(1)**, pp.104-109.

[16] S. Siragusa, et al. (2007), "Synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses", *Appl. Environ. Microb.*, **73(22)**, pp.7283-7290.

[17] N. Komatsuzaki, et al. (2005), "Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus paracasei* isolated from traditional fermented foods", *Food Microbiol.*, **22(6)**, pp.497-504.

[18] W.P. Hammes, R.F. Vogel (1995), "The genus *Lactobacillus*", *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, **2**, pp.19-54.

[19] M.C. Kook, et al. (2010), "Enhanced production of gamma-aminobutyric acid using rice bran extracts by *Lactobacillus sakei* B2-16", *J. Microbiol. Biotechnol.*, **20(4)**, pp.763-766.

[20] H. Li, et al. (2008), "A high  $\gamma$ -aminobutyric acid-producing *Lactobacillus brevis* isolated from Chinese traditional paocai", *Ann. Microbiol.*, **58(4)**, pp.649-653.

[21] Y.T. Tung, et al. (2011), "Optimization of culture condition for ACEI and GABA production by lactic acid bacteria", *J. Food Sci.*, **76(9)**, pp.585-591.

[22] R. Di Cagno, et al. (2010), "Synthesis of gamma-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus plantarum* DSM19463: functional grape must beverage and dermatological applications", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **86(2)**, pp.731-741.