ẢNH HƯỞNG CỦA 3 AXIT AMIN HISTIDINE, CYSTEINE, METHIONINE LÊN HÀM LƯỢNG ERGOTHIONEINE SINH TỔNG HỢP BỞI NẤM MỐC *ASPERGILLUS ORYZAE* TRÊN MÔI TRƯỜNG PHỤ PHẨM TINH BỘT GẠO

Nguyễn Thị Hồng Thắm[1], Phan Thu Ba[2],
Nguyễn Thị Lệ Ngọc[2], Nguyễn Công Hà[2], Dương Ngọc Bích[3]

TÓM TẮT

Aspergillus oryzae là loài vi sinh vật khá quen thuộc với con người, đặc biệt, chúng tiết ra hợp chất ergothioneine (ESH), với khả năng chống oxy hóa, kháng viêm, chống lại tác động của tia UV, tia phóng xạ và có vai trò trong nhiều bệnh lí. Sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) để bố trí thí nghiệm nhằm xác định ảnh hưởng của nồng độ các chất cảm ứng bổ sung vào môi trường nuôi cấy sinh tổng hợp. Nghiên cứu được thực hiện trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo, nhằm nâng cao hàm lượng ergothioneine được sinh tổng hợp bởi *Aspergillus oryzae* yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp được khảo sát gồm: Tỷ lệ ba axit amin cảm ứng là histidine, cysteine, methionine với hàm lượng dao động từ 0 - 120 mg/20 g mẫu. Kết quả cho thấy, khi bổ sung 3 axit amin histidine, cysteine, methionine với tỷ lệ tương ứng là 120; 54,38 và 83,04 mg tạo hàm lượng ESH tối ưu 446,03 mg/100 g chất khô sau khi sinh tổng hợp bằng *A. oryzae*.

Từ khóa: *Ergothioneine, chống oxy hoá, sinh tổng hợp, Aspergillus oryzae.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ergothioneine (ESH) là một axit amin thio-histidine betaine bất thường có các hoạt động chống oxy hóa mạnh. Được tổng hợp bởi nhiều loại vi sinh vật, đặc biệt là nấm (bao gồm cả trong quả thể nấm) và vi khuẩn, nhưng không được tổng hợp bởi thực vật và động vật thu nhận thông qua đất và chế độ ăn uống của chúng [1]. Ergothioneine có đặc tính chống oxy hóa, bảo vệ tế bào mạnh mẽ trong ống nghiệm [2]. ESH chống lại các bệnh tim mạch, tình trạng viêm mãn tính, tổn thương bức xạ tia cực tím và tổn thương tế bào thần kinh [3]. Ergothioneine có nhiều ứng dụng trong khoa học thực phẩm như một chất chống oxy hóa mạnh. Ergothioneine có chứa lưu huỳnh tự nhiên, ngăn ngừa tổn thương oxy hóa phụ thuộc vào đồng đối với các đại phân tử sinh học bằng cách hình thành phức hợp ergothioneine-đồng oxy hóa khử [4]. Cho đến nay, không có sự tổng hợp ergothioneine nào được phát hiện ở động thực vật bậc cao, kể cả con người [5]. ESH đã được sinh tổng hợp bởi *Aspergillus oryzae (A. oryzae)*, *Saccharomyces cerevisiae. Aspergillus oryzae* được công nhận là an toàn để sản xuất dược phẩm, thực phẩm, được sử dụng cho việc sản xuất ESH sinh tổng hợp [6]. Có 2 phản ứng chính trong sinh tổng hợp ESH (là hình thành liên kết C-S oxy hóa và phản ứng phân cắt liên kết C-S tiếp theo, dẫn đến chuyển nguyên tử lưu huỳnh từ cysteine hoặc γ-glutamyl cysteine sang chuỗi bên imidazole của histidine) [7]. Sinh tổng hợp ESH ở *Escherichia coli (E. coli)* khi tăng cường histidine, glutamate, cysteine và methionine ở *E. coli* plasmid (chứa egtD, egtB, và egtE/egtC được thu nhận từ *Mycobacterium smegmatis*) kết quả thu được 24

[2] Trung tâm Công nghệ Sau thu hoạch - Khoa Nông nghiệp Thủy sản – Trường Đại học Trà Vinh
[2] Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm- Trường Đại học Cần Thơ
[3] Trung tâm học liệu – Phát triển dạy và học - Trường Đại học Trà Vinh
Email: thamnguyentvu@gmail.com

mg/L môi trường nuôi cấy. Con đường sinh tổng hợp ESH ban đầu phát hiện trong *Mycobacteria*, con đường tạo ESH của nấm thì cysteine làm cơ chất cho lưu huỳnh. Có sự bất ngờ là, ESH cũng được tổng hợp theo phương pháp yếm khí [8]. ESH quét các gốc hydroxyl để ngăn chặn sự phá hủy ADN và sự hình thành peroxyde lipit [9]. ESH giúp thải các ion kim loại hóa trị II [10], với các cation kim loại hóa trị hai bao gồm Cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+}, Fe^{2+} và Ni^{2+}, ESH được chứng minh làm giảm thiệt hại oxy hóa ở nhiều loại động vật có vú [11; 12]. Khả năng chống oxy hóa của ESH thông qua nhiều cơ chế, bao gồm: Loại bỏ các gốc tự do, kìm hãm các ion kim loại hóa trị II, gây trở ngại cho việc hình thành các cytokine tiền viêm (cytokine là một nhóm các protein và peptide, được các cơ quan tổ chức cơ thể sử dụng như những hỗn hợp các tín hiệu), ảnh hưởng đến quá trình oxy hóa của hemoprotein như hemoglobin và myoglobin. ESH có thể đại diện cho một loại vitamin mới có vai trò sinh lý bao gồm bảo vệ tế bào chống oxy hóa [13]. Do đó, để sinh tổng hợp ESH có hiệu quả cần xác định các yếu tố ảnh hưởng lên quá trình sinh tổng hợp ergothioneine bởi nấm mốc *Aspergillus Oryzae* nhằm tạo điều kiện tốt nhất cho quá trình sinh tổng hợp tạo sản phẩm, trong đó 3 axit amin histidine, cysteine, methionine đóng một vai trò rất quan trọng. Quá trình sinh tổng hợp được nghiên cứu trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo nhằm tận dụng nguồn cơ chất rẻ tiền giàu dinh dưỡng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu thí nghiệm (nước gạo)

Phụ phẩm (cặn bột gạo) từ quy trình sản xuất tinh bột gạo được thu nhận cơ sở sản xuất bột Tư Nương (số 91, khóm 2, phường 2, thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp).

Thành phần hóa học phụ phẩm tinh bột gạo (tính theo căn bản ướt)

Thành phần	Hàm lượng (%)
Đạm tổng	11,89 ± 0,11
Gluxit	33,01 ± 0,03
Chất béo	0,51 ± 0,09
Tro	0,23 ± 0,06
Xơ	0,18
Muối khoáng	0,54

Vỏ trấu của lúa IR 50404 được mua từ Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long.

Bào tử *Asperillus oryzae* (Koji spores -15 g/gói) được mua từ Nhật Bản có mật số 5 x 106 CFU/g.

2.1.2. Hóa chất

Histidine (Ấn Độ), Methionine (Đức), Cysteine, $Pb(CH_3COO)_2$ 30%, Na_2SO_4, KH_2PO_4, H_3PO_4, HNO_3 (Công ty Xilong Scientific Co., Ltd; Guangdong, Trung Quốc), Fehling A ($CuSO_4$ tinh thể 69,28 g định mức đến 1.000 mL), Fehling B (Kali natri tartrate 346 g định và NaOH mức đến 1.000 mL), Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic axit), DTT (Dithiothreitol), Serine, Ethanol, Acetic axit (CH_3COOH), Natrihydroxide (NaOH), Axit chlohydride (HCl), Chuẩn H_2SO_4 (Merck, Đức) (Merck, Đức), Acetonitrile (CH_3CN) (Fisher, Mỹ), Methanol (Công ty TNHH Giải pháp Hóa học Vi Na, thành phố Hồ Chí Minh).

2.1.3. Thiết bị và dụng cụ thí nghiệm

Bộ phân tích HPLC (shimadzu, Nhật), tủ ủ (Ehret), máy khuấy từ (Heidolph, Germany), máy đo pH (inoLab), bếp điện, cân phân tích, buồng cấy vi sinh vật, máy lắc ủ (Heidolph, Germany), thiết bị khử trùng...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bảng 1. Kế hoạch thực hiện thí nghiệm theo RSM

Mẫu	HL histidine (mg/20 g)	HL cysteine (mg/20 mg)	HL methionine (mg/20 mg)
1	60	60	60
2	60	120	0
3	120	120	60
4	120	0	60
5	60	0	0
6	120	60	0
7	60	60	60
8	60	120	120
9	60	60	60
10	0	60	120
11	60	0	120
12	120	60	120
13	0	60	0
14	0	120	60
15	0	0	60
16	60	60	60

2.3. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Nguyên liệu sau khi thu nhận về phòng thí nghiệm được trữ đông ở nhiệt độ -18°C ± 2, xác định độ ẩm nguyên liệu bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi. Được bổ sung nước để điều chỉnh độ ẩm đến 56% và thay đổi pH bằng NaOH 1M. Tiếp theo, bột được gia nhiệt bằng bể điều nhiệt ở nhiệt độ 85°C khoảng 60 phút đến khi hồ hóa tinh bột (bột chín) cho thêm 20 - 25% trấu vào môi trường để tạo độ xốp và tạo nên những khoảng trống để không khí lưu thông bên trong môi trường một cách dễ dàng [14], thử nghiệm thăm dò đã thực hiện với kết quả 25% trấu trộn bột tạo thành cơ chất nuôi cấy. Sau đó, cân mẫu với khối lượng 20 g/mẫu (sử dụng keo thủy tinh dung tích 250 ml) tiến hành tiệt trùng ở nhiệt độ 121°C/15 phút, tiếp tục để nguội đến khoảng 35°C cấy chủng nấm mốc và bổ sung 3 chất cảm ứng tiến hành nuôi cấy trong môi trường tĩnh, ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 48 giờ (Đồng Thị Thanh Thu (2003) [15] thời gian nuôi mốc từ 40 – 48 giờ thì mốc có màu vàng xanh) hay quá trình ủ Koji bằng chủng nấm mốc *A.oryzae* với thời gian 2 ngày khuẩn ty phát triển tốt nhất, thực hiện thu hồi mẫu làm mẫu thử để phân tích các chỉ tiêu.

2.4. Phương pháp phân tích

ESH được định lượng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Hàm lượng Ergothioneine được xác định theo phương pháp của Wi Young Lee, (2009) [16] và Yeongseon Jang và cs. (2016) [17] với những sửa đổi nhỏ. Đầu tiên, 3 gam mẫu được chiết xuất với 27 ml etanol lạnh 70% (chứa 0,1 mM DTT). Và 1 mL 1.000 ppm MMI đã được thêm vào làm chất chuẩn nội. Hỗn hợp được đồng nhất với tốc độ 400 vòng/phút trong 3 phút (giữ ở nhiệt độ thấp). Sau đó, huyền phù được làm lạnh trong 30 phút và ly tâm ở 20.000 xg, 4°C trong 20 phút. Tiếp theo, phần nổi phía trên được làm bay hơi ở 50°C đến khô. Sau đó, phần cặn được hòa tan với 1 mL nước khử ion và 1 mL chì axetat 15% cơ bản, thêm vào 1 mL hexan. Tiếp theo, hỗn hợp tiếp tục được giữ lạnh trong 30 phút và ly tâm ở 20.000 x g, 4°C trong 20 phút. Cuối cùng, phần nổi phía trên được phân tích trên hệ thống HPLC Shimadzu được trang bị đầu dò UV-Vis trên hai cột (cột 1: Supelco C18, 250 mm x 4,6 mm x 5 µm và cột 2: Lichrospher RP-C18 250 mm x 4 mm x 5 µm), được phát hiện ở bước sóng 254 nm, 40°C. Rửa giải đẳng dòng, tốc độ dòng 0,7 mL/phút, pha động được sử dụng gồm có (A) là axit axetic (2,5% thể tích) và (B) nước khử ion (theo tỉ lệ 50:50) các

dung môi được trộn ở áp suất thấp, thời gian rửa giải cho mỗi mẫu là 40 phút. Ergothioneine tinh khiết được sử dụng làm chất chuẩn để hiệu chuẩn.

Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết được xác định theo phương pháp của Fu and Shieh (2002) [18] với một vài hiệu chỉnh nhỏ, 3 g mẫu được trích ly qua đêm ở -18°C với 27 mL methanol. Sau đó thêm vào 1 ml dung dịch DPPH 0,1 mM (pha trong methanol 99,5%), lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Mẫu luôn được giữ tránh ánh sáng trực tiếp trong suốt quá trình phân tích bằng cách học kín các dụng cụ bằng giấy bạc và không mở đèn khi thao tác trong phòng thí nghiệm. Độ hấp thu quang học được đo ở bước sóng 517 nm. Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau:

$$DPPH\ (\%) = 100 \times (ACT - ASP)/ACT$$

Trong đó: ACT là độ hấp thu quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết; ASP là độ hấp thu quang học của mẫu có chứa dịch chiết [19]. Kết quả thu được bởi giá trị IC50 là nồng độ dịch chiết cho khả năng khử gốc tự do DPPH là 50%.

Từ tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, phương trình tương quan tuyến tính được xây dựng, từ đó xác định giá trị IC50 để làm cơ sở so sánh khả năng kháng oxy hóa giữa các mẫu. Mẫu mà có giá trị IC50 càng thấp thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao.

2.5. Phân tích dữ liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XVI.

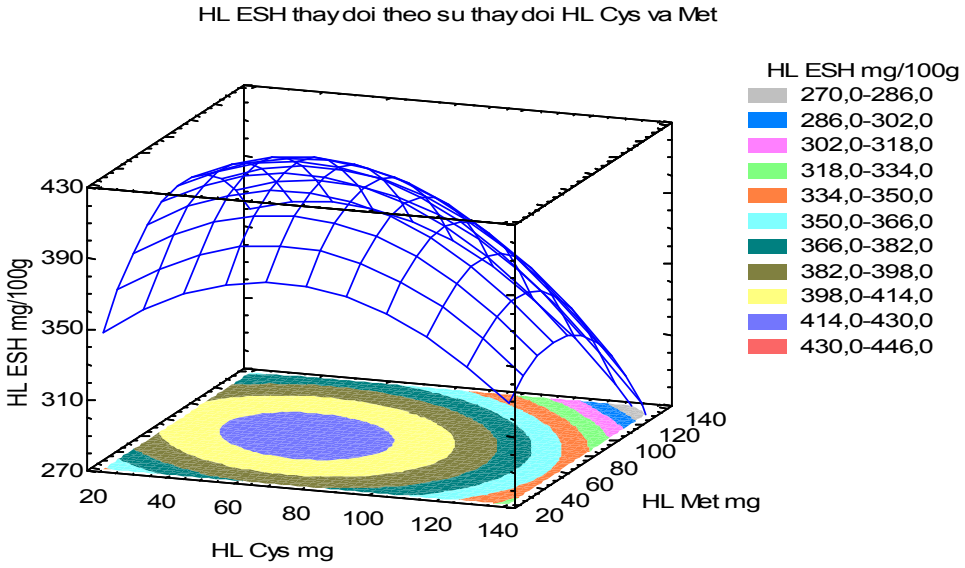
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của nồng độ ba axit amin (histidine, cysteine, methionine) lên khả năng sinh tổng hợp ESH của *A. oryzae*

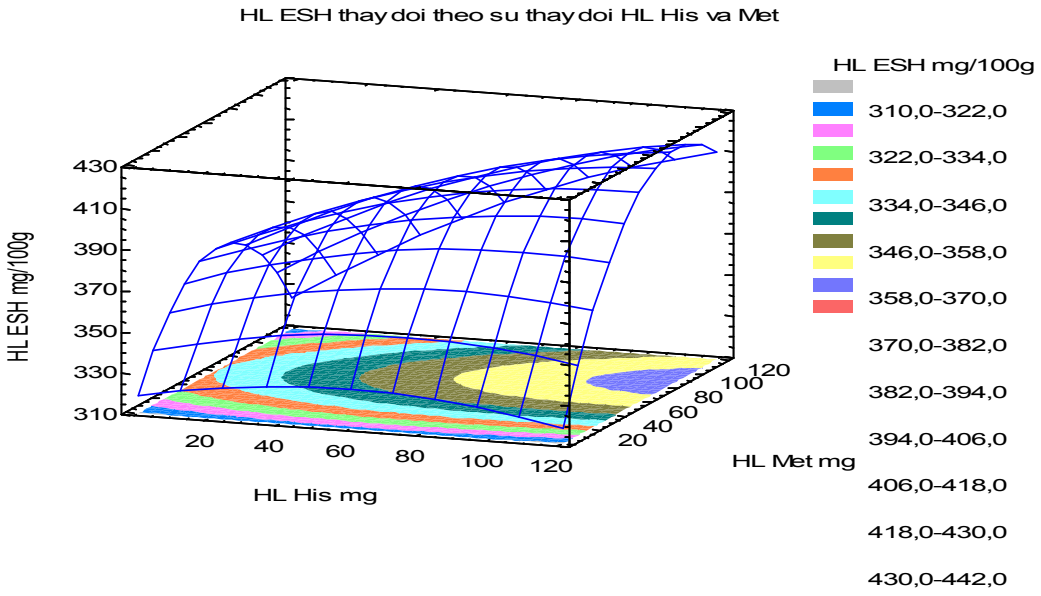
a b

Hình 1. Sự phát triển nấm mốc *A. oryzae* trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo

(a: môi trường trước nuôi cấy; b: môi trường sau nuôi cấy)



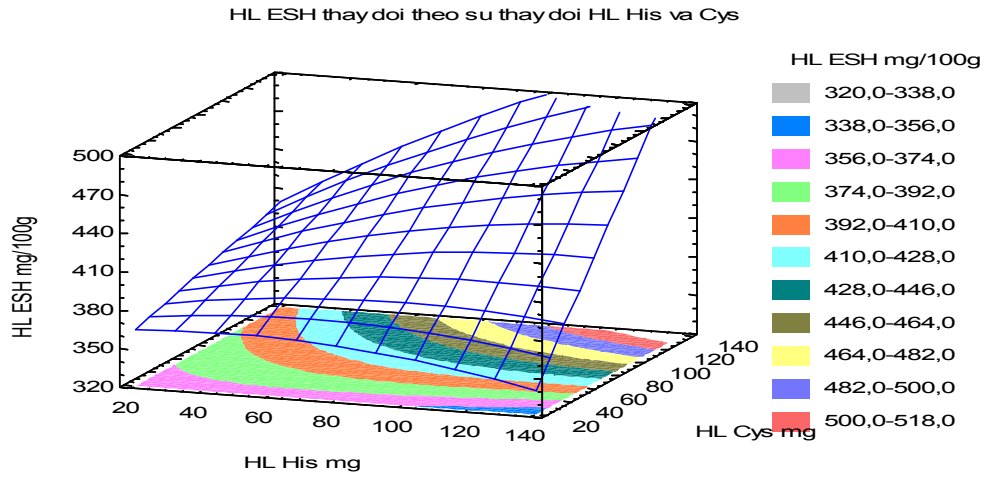
Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ hai axit amin (Cys và Met) lên sự thay đổi hàm lượng ESH (mg/100 g)



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ hai axit amin (His và Met) lên sự thay đổi hàm lượng ESH (mg/100 g)

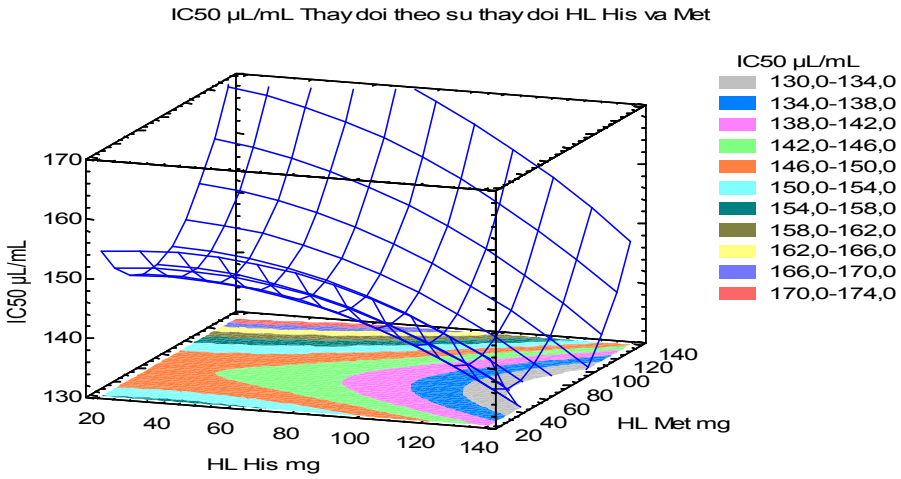
Hàm lượng axit amin histidine, cystein và hàm lượng methionine có giá trị từ 0 - 120 mg có tác động đến khả năng sinh tổng hợp hàm lượng ESH khi nuôi cấy nấm mốc *A. oryzae* trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% và ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp ESH từ nấm mốc *A. oryzae,* cùng với việc tăng hàm lượng Histidin thì việc tăng hàm lượng methionine cũng làm tăng hàm lượng ESH, tương tự với kết quả nghiên cứu của Wi Young Lee và cs (2009) [16] ESH đạt giá trị cao nhất với các tỉ lệ 3 axit amin histidine: cysteine: methionine tương ứng là 120 mg: 52,51 mg: 90,80 mg tạo ra hàm lượng ESH 446,79 mg/100g (hình 2 và 3).

Hình 3 cho thấy, khi hàm lượng histidine càng tăng thì hàm lượng ESH được sinh ra tăng dần từ 314,08 mg/100 g lên 395,62 mg/100 g (1,26 lần ở mức histidine 0 mg), tăng từ 300,74 mg/100 g lên 429,79 mg/100 g (1,43 lần ở mức histidine 60 mg), tăng từ 351,44 mg/100 g lên 460,96 mg/100 g (1,31 lần ở mức histidine 120 mg).



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ hai axit amin (His và Cys) lên sự thay đổi hàm lượng ESH (mg/100 g)

Hình 4 cho thấy, dù tăng hàm lượng Histidin nhưng nếu hàm lượng Cystein thấp thì hàm lượng ESH cũng thấp, do đó để tăng hàm lượng ESH cần tăng axit amin Cystein. Tuy nhiên, nếu tăng hàm lượng Cystein quá cao cùng với sự thay đổi hàm lượng Methionin thì hàm lượng ESH đạt cực đại ở hàm lượng cysteine: methionine tương ứng là 52,51 mg: 90,80 mg, sau đó sẽ giảm (hình 2).



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ hai axit amin (His và Met) lên sự thay đổi giá trị IC_{50} µL/mL

Hình 5 cho thấy, khi hàm lượng histidine càng tăng thì khả năng kháng oxy hóa tăng dần thể hiện ở giá trị IC50 giảm dần (khả năng kháng oxy hóa càng cao thì lượng IC50 càng thấp) từ 171,13 µL/mL đến 153,69 µL/mL (1,11 lần ở mức histidine 0 mg) giảm từ 213,69 µL/mL đến 129,36 µL/mL (1,65 lần ở mức histidine 60 mg), giảm từ 156,99 µL/mL đến 131,64 µL/mL (1,19 lần ở mức histidine 120 mg). Khả năng kháng oxy hóa thể hiện qua giá trị IC50 từ nấm mốc *A. oryzae* có hàm lượng tối ưu ở nồng độ histidine: cysteine: methionine tương ứng là 120; 49,35 và 72,65 mg với giá trị IC50 là 120,22 µL/mL với sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Nhiều nghiên cứu cho thấy, con đường sinh tổng hợp ESH cần thiết có sự tham gia của 3 loại axit amin vào quá trình sinh tổng hợp. Theo Nguyễn Đức Lượng (2004) [14] cơ chất cảm ứng được xem như yếu tố rất quan trọng dùng để điều khiển quá trình sinh tổng hợp enzyme từ vi sinh vật. Khi cho cơ chất vào môi trường nuôi cấy với liều lượng tăng dần thì khả năng tổng hợp enzyme cảm ứng sẽ tăng dần, đến một lúc nào đó quá trình này sẽ chững lại và thậm chí sẽ giảm do hiện tượng tăng áp suất thẩm thấu bởi cơ chất gây nên, cho nên chất cảm ứng chỉ cần thiết ở một nồng độ nhất định.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ 3 axit amin (histidine, cysteine và methionine) bổ sung vào môi trường nuôi cấy sinh tổng hợp ESH từ nấm mốc *A. oryzae* đạt tối ưu ở nồng độ histidine: cysteine: methionine tương ứng là 120, 54,38 và 83,04 mg, nồng độ tối ưu của 3 axit amin này được sử dụng làm chất cảm ứng để tạo ra hàm lượng ESH là 446,03 mg/100 g chất khô.

4.2. Kiến nghị

Nên khảo sát khả năng sinh tổng hợp ESH trên các nguồn nguyên liệu khác và nhiều loài vi sinh vật khác nhau.

Ứng dụng bổ sung ergothioneine vào các sản phẩm thực phẩm để hạn chế oxy hóa của nhiều loại sản phẩm thực phẩm khác nhau.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến lãnh đạo, các đồng nghiệp và các bạn sinh viên Trường Đại học Trà Vinh và Trường Đại học Cần Thơ. Nghiên cứu này được tài trợ một phần bởi Dự

án Cải tạo Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6, được hỗ trợ từ nguồn vốn vay ODA của Nhật Bản. Chương trình A15.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. I. Borodina *et al.*, (2020). The biology of ergothioneine, an antioxidant nutraceutical, *Nutr. Res. Rev.*, vol. 33, no. 2, pp. 190–217, doi: 10.1017/S0954422419000301.

2. B. Halliwell, I. K. Cheah, and R. M. Y. Tang (2018). Ergothioneine – a diet-derived antioxidant with therapeutic potential, *FEBS Lett.*, vol. 592, no. 20, pp. 3357–3366, doi: 10.1002/1873-3468.13123.

3. L. Servillo, N. D'Onofrio, and M. L. Balestrieri (2017). Ergothioneine Antioxidant Function: From Chemistry to Cardiovascular Therapeutic Potential, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, vol. 69, no. 4, pp. 183–191, doi: 10.1097/FJC.0000000000000464.

4. B.-Z. Zhu *et al.*, (2010). Ergothioneine Prevents Copper-Induced Oxidative Damage to DNA and Protein by Forming a Redox-Inactive Ergothioneine-Copper Complex, *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 24, pp. 30–34, doi: 10.1021/tx100214t.

5. P. Kalač, Chapter 4 - Health-Stimulating Compounds and Effects (2016). P. B. T.-E. M. Kalač, Ed. Academic Press, pp. 137–153.

6. S. A. Van Der Hoek, B. Darbani, K. E. Zugaj, B. K. Prabhala, and I. Borodina (2019). Engineering the Yeast Saccharomyces cerevisiae for the Production of L- (+) -Ergothioneine, vol. 7, no. October, pp. 1–14, doi: 10.3389/fbioe.2019.00262.

7. L. Qin, X. Chen, and P. Liu (2014). Bioinformatic and Biochemical Characterizations of C − S Bond Formation and Cleavage Enzymes in the Fungus Neurospora crassa Ergothioneine Biosynthetic Pathway, pp. 10–13.

8. J. B. Hedges and K. S. Ryan (2020). Biosynthetic Pathways to Nonproteinogenic α-Amino Acids, *Chem. Rev.*, vol. 120, no. 6, pp. 3161–3209, doi: 10.1021/acs.chemrev.9b00408.

9. D. Akanmu, R. Cecchini, O. I. Aruoma, and B. Halliwell (1991). The antioxidant action of ergothioneine, *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 288, no. 1, pp. 10–16, doi: https://doi.org/10.1016/0003-9861(91)90158-F.

10. D. P. Hanlon (1971). Interaction of ergothioneine with metal ions and metalloenzymes, *J. Med. Chem.*, vol. 14, no. 11, pp. 1084–1087, doi: 10.1021/jm00293a017.

11. M. Deiana, A. Rosa, V. Casu, R. Piga, M. Assunta Dessì, and O. I. Aruoma (2004). Ergothioneine modulates oxidative damage in the kidney and liver of rats in vivo: studies upon the profile of polyunsaturated fatty acids, *Clin. Nutr.*, vol. 23, no. 2, pp. 183–193, doi: 10.1016/S0261-5614(03)00108-0.

12. I. K. Cheah and B. Halliwell (2012). Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.*, vol. 1822, no. 5, pp. 784–793, doi: 10.1016/j.bbadis.2011.09.017.

13. B. D. Paul and S. H. Snyder (2010). The unusual amino acid L -ergothioneine is a physiologic cytoprotectant, *Cell Death Differ.*, pp. 1134–1140, doi: 10.1038/cdd.2009.163.

14. Nguyễn Đức lượng (2004). *Công nghệ enzyme*. Nxb Đại học Quốc gia, thành phố Hồ Chí Minh.

15. Đồng Thị Thanh Thu (2003). *Sinh hóa ứng dụng*. Nxb Đại học Quốc gia, thành phố Hồ Chí Minh.

16. W. Y. Lee, E.-J. Park, J. K. Ahn, and K.-H. Ka (2009). Ergothioneine Contents in Fruiting Bodies and Their Enhancement in Mycelial Cultures by the Addition of Methionine. *Mycobiology*, vol. 37, no. 1, p. 43, doi: 10.4489/myco.2009.37.1.043.

17. Y. Jang, J. Park, R. Ryoo, Y. Park, and K. Ka (2016). Ergothioneine Contents of Shiitake (Lentinula edodes) Fruiting Bodies on Sawdust Media with Different Nitrogen Sources, *Korean J. Mycol.*, vol. 44, no. 2, pp. 100–102, doi: 10.4489/kjm.2016.44.2.100.

18. H.-Y. Fu, D.-E. Shieh, And C.-T. Ho (2002). Antioxidant And Free Radical Scavenging Activities Of Edible Mushrooms, *J. Food Lipids*,

vol. 9, no. 1, pp. 35–43, doi: 10.1111/j.1745-4522.2002.tb00206.x.

19. S. Boonsong and W. Klaypradit (2016). Antioxidant activities of extracts from fi ve edible mushrooms using different extractants, *Agric. Nat. Resour.*, vol. 50, no. 2, pp. 89–97, doi: 10.1016/j.anres.2015.07.002.

DETERMINATION AFFECTING OF 3 ACID AMIN HISTIDINE, CYSTEINE, METHIONINE ON THE BIOSYNTHESIS OF ERGOTHIONEINE BY THE *Aspergillus oryzae* ON RICE FLOUR BY-PRODUCTS

Nguyen Thi Hong Tham[1], Phan Thu Ba[2],

Nguyen Thi Le Ngoc[2], Nguyen Cong Ha[2], Duong Bich Ngoc[3]

[1] *Post Harvest Technology Center – School of Agriculture-Aquaculture – Tra Vinh University*

[2] *Institute Of Food and Biotechnology*

[3] *Center of Excellence in Learning Resources and Innovation*

Summary

Aspergillus oryzae is a microorganism that is quite familiar to humans, especially it secretes ergothioneine (ESH) within the ability to Antioxidant, anti-inflammatory, anti-UV, anti-radiation and has a role in many diseases. Using response surface method (RSM) to set up the experiment to determine the effect of the concentration of additional inducers on the biosynthetic culture medium. The study was carried out on rice starch by-product medium, to improve the content of ergothioneine biosynthesized by *Aspergillus oryzae*, the factor affecting biosynthesis were investigated including the ratio of three inducer amino acids were histidine, cysteine, and methionine with concentrations ranging from 0 to 120 mg/20 g of sample. The results showed that when adding 03 amino acids histidine: cysteine: methionine with the corresponding ratio of 120 mg: 54.38 mg: 83.04 mg, the optimal ESH content was 446.03 mg/100 g dry matter after biosynthesis by *A.oryzae*.

Keywords: *Ergothioneine, antioxidant, Aspergillus oryzae, biosynthesize.*

Người phản biện: TS. Hoàng Thái Hà

Ngày nhận bài: 24/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 24/4/2023

Ngày duyệt đăng: 4/5/2023