

---

# ÁCIDO $\gamma$ -AMINO BUTÍRICO (GABA) PRODUCIDO POR BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN ALIMENTOS FERMENTADOS

ALEJANDRO SANTOS-ESPINOSA, CARMEN GUADALUPE MANZANAREZ-QUIN, RICARDO REYES-DÍAZ, ADRIÁN HERNÁNDEZ-MENDOZA, BELINDA VALLEJO-CORDOBA y AARÓN FERNANDO GONZÁLEZ-CÓRDOVA

---

## RESUMEN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo de microorganismos ampliamente utilizados para la elaboración de alimentos fermentados, ya que pueden conferir características de sabor, aroma y textura, principalmente. Además, numerosos estudios demuestran que durante el proceso de fermentación, las BAL también producen compuestos bioactivos benéficos a la salud. Un ejemplo de ello es el ácido gamma-aminobutírico ( $\gamma$ -aminobutírico, o GABA, por sus siglas en inglés) que ha mostrado poseer efectos antihipertensivos, antidepresivos, hipoglucémicos y relajantes, entre otros. En esta revisión se encontró que *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Streptococcus* son los géneros de BAL que más han sido reportados como productores de GABA. No obstante, cabe resaltar que no todas las BAL presentan alta

capacidad de producirlo, ya que depende de factores tales como la actividad de la enzima ácido glutámico descarboxilasa, la presencia del cofactor piridoxal 5'-fosfato y las condiciones óptimas de crecimiento de cada cepa, así como de la concentración del ácido glutámico en el alimento y el tiempo de fermentación. La leche, por su parte, es un alimento rico en ácido glutámico, por lo cual diversas investigaciones se han enfocado en evaluar la producción de GABA en lácteos fermentados como el yogur, queso y leches fermentadas. El efecto antihipertensivo del GABA en lácteos ha sido uno de los más estudiados; sin embargo, tomando en cuenta la gran diversidad de BAL, aún hace falta estudios que evidencien el potencial de estas bacterias para el desarrollo de alimentos funcionales con beneficios atribuibles al GABA.



El ácido gamma-aminobutírico ( $\gamma$ -aminobutírico, o GABA, por sus siglas

en inglés) es un aminoácido no proteico que se encuentra en altas concentraciones en el sistema nervioso central de los ma-

míferos; su función principal es actuar como un neurotransmisor inhibitor (Diana *et al.*, 2014). Se ha demostrado que el

---

**PALABRAS CLAVE / Alimentos Funcionales / BAL / GABA / Lácteos Fermentados /**

Recibido: 30/01/2017. Modificado: 04/03/2018. Aceptado: 06/03/2018.

**Alejandro Santos-Espinosa.** Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, México. Maestría en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), México. Doctorando, CIAD, México. e-mail: alejandro.santos@estudiantes.ciad.mx

**Carmen Guadalupe Manzanarez-Quin.** Licenciatura en Ingeniería en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Sonora, México. Maestría en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), México. Doctoranda, CIAD, México. e-mail: carmen.manzanarez@estudiantes.ciad.mx

**Ricardo Reyes-Díaz.** Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, México. Maestría en Ciencias, CIAD, México. Auxiliar Técnico, CIAD, México. e-mail: ricardo.reyes@ciad.mx

**Adrián Hernández-Mendoza.** Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana, México. Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica y Doctorado en Ciencias en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz (ITVer), México. Profesor Investigador, CIAD, México. e-mail: ahernandez@ciad.mx

**Belinda Vallejo-Cordoba.** Licenciatura en Química, Universidad Iberoamericana, México. Maestría y Doctorado en Ciencia de los Alimentos, University of British Columbia, Canadá. Profesor Investigador, CIAD, México. e-mail: vallejo@ciad.mx

**Aarón Fernando González-Córdova** (Autor de correspondencia). Doctorado en Ciencias en Alimentos (Instituto Tecnológico de Veracruz, México, 2011), Maestría en Ciencias (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), 1999), Licenciatura en Ingeniería Bioquímica en Alimentos, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, México. Profesor Investigador, CIAD, México. Dirección: Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal, CIAD. Carretera a La Victoria Km 0.6; Apartado 1735 Hermosillo Sonora, México. C.P. 83304. e-mail: aaronglz@ciad.mx

---

consumo de GABA presenta beneficios a la salud asociados a sus efectos antihiper-tensivo, tranquilizante y/o antidepresivo, entre otros (Pehrson y Sanchez, 2015). Así como diversos compuestos bioactivos, el GABA puede ser producido naturalmente por diversas bacterias ácido lácticas (BAL) durante la fermentación (Selhub *et al.*, 2014).

Las BAL han sido utilizadas ampliamente para la fabricación y conservación de alimentos, y debido a que algunas cepas han demostrado no representar riesgos para su consumo, tienen el reconocimiento de “generalmente reconocidos como seguros” (GRAS, por las siglas en inglés). Este reconocimiento, se otorga por cumplir con la normativa de seguridad para su consumo establecida por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) de los EEUU (Wessels *et al.*, 2004). Además, como forman parte de la microbiota natural de dichos alimentos, su uso permite la producción de lácteos fermentados, que han sido reconocidos como alimentos funcionales por antonomasia (Li y Cao, 2010).

Los alimentos funcionales, además de ser sensorialmente atractivos, naturales, sin aditivos y nutritivos, deben cumplir con la característica de prevenir o contrarrestar el desarrollo de ciertas enfermedades (Nguyen *et al.*, 2016). Actualmente, debido al aumento de la población en edad avanzada y a las complicaciones derivadas del estrés asociado al acelerado estilo de vida, el consumidor exige el desarrollo de nuevos productos, cuyo consumo represente algún beneficio adicional a la nutrición (Bleiel, 2010), como lo pueden ser los alimentos con GABA producido por BAL.

### Síntesis de GABA en el Cerebro

El GABA, un aminoácido no proteico de cuatro carbonos, es el neurotransmisor más representativo del sistema nervioso central (SNC) de mamíferos, que participa en un 25 a 40% de las sinapsis presentes (Li y Xu, 2008). La acción de este neurotransmisor en el sistema nervioso garantiza un equilibrio entre la excitación e inhibición neuronal, que es fundamental para las adecuadas funciones del organismo (Cortes-Romero *et al.*, 2011).

La síntesis de GABA en el cerebro de mamíferos se lleva a cabo por la conversión de ácido glutámico a GABA, mediante la acción de la ácido glutámico descarboxilasa (GAD, por sus siglas en inglés), que es a su vez dependiente del cofactor piridoxal 5'-fosfato (vitamina B<sub>6</sub>). La enzima GAD se puede

presentarse en dos isoformas, GAD65 y GAD67, que pueden participar en diferentes procesos. GAD65 se concentra específicamente en las terminales nerviosas para la síntesis de GABA con el propósito de neurotransmisión (Buddhala *et al.*, 2009).

Cuando las neuronas gabaérgicas son activadas producen y/o secretan GABA (Figura 1). El GABA generado se almacena y transporta por proteínas vesiculares sinápticas conocidas como transportadores de aminoácido inhibitorio vesicular y es liberado desde la terminal nerviosa hacia hendiduras sinápticas por una serie de proteínas transportadoras (GAT-1, GAT-2, GAT-3, GAT-4) que utilizan gradientes de Cl<sup>-</sup> y Na<sup>+</sup>. El GABA liberado se une a receptores de GABA (GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub>) en la membrana de la neurona postsináptica, actuando así como neurotransmisor (Juge *et al.*, 2009). Finalmente, el GABA que no se une a los receptores es degradado por la acción de la glutamato transaminasa a semialdehído succínico, el cual puede ser regenerado a ácido glutámico y volver a ser utilizado por la neurona presináptica (Li y Xu, 2008).

### Función Fisiológica del GABA en el Organismo

El GABA es una molécula bioactiva muy importante debido a sus múltiples funciones fisiológicas, tanto en animales como en humanos. Este compuesto se encuentra en altas concentraciones en el cerebro y actúa como un potente neurotransmisor inhibitorio (Ito *et al.*, 2007). Al GABA se le han atribuido una amplia gama de actividades biológicas o efectos benéficos hacia el organismo; entre ellas, mejorar la respuesta del sistema inmunológico, fortalecer la memoria, ser un potente supresor tumoral; y entre los más estudiados y com-

probados científicamente en humanos está su efecto hipotensor, tranquilizante y diurético (Tabla 1). Todos estos beneficios dan lugar a una fuerte demanda de la producción de alimentos enriquecidos con GABA (Wu y Shah, 2017).

### Fuentes Endógenas de GABA

El GABA es producido por algunos microorganismos como hongos y levaduras; asimismo, se puede encontrar de forma natural en diversas frutas y hortalizas (papas, brócoli, espinacas, tomates, manzana, cítricos), cereales (arroz, trigo), leguminosas, hojas de té, entre otras (Coda *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2012; Takayama y Ezura, 2015). Además, también se puede encontrar en alimentos fermentados como salsas de soja (Yamakoshi *et al.*, 2007), leches fermentadas (Li *et al.*, 2008) y quesos (Franciosi *et al.*, 2015). Adicionalmente, existen alimentos enriquecidos con GABA, o en su defecto adicionados con ácido glutámico como sustrato para incrementar el contenido de GABA, como alternativas para mejorar las propiedades funcionales de los productos (Seo *et al.*, 2013). En particular, los alimentos fermentados representan una buena oportunidad debido a la utilización de microorganismos fermentadores, como son las BAL, capaces de producir GABA a partir de una matriz alimentaria.

### Producción de GABA por las BAL

Debido a los beneficios que tiene el consumo de GABA, es importante el desarrollo tecnológico de alimentos que permita incrementar los niveles de este compuesto, ya sea de forma natural o con el desarrollo de métodos que ayuden a incrementar su concentración en los alimentos (Eamarjarn *et al.*, 2016). Por ello, las estrategias para producir GABA o incrementar su concentración se enfocan en aplicar procesos que incluyan matrices alimentarias ricas en ácido glutámico y que tengan presente la vitamina B<sub>6</sub> en su composición (Diana *et al.*, 2014).

La adición de GABA como ingrediente en la elaboración de alimentos es una práctica que resulta más costosa en comparación con generarla biotecnológicamente con microorganismos como las BAL. Por ello, el empleo de estas bacterias ha cobrado importancia (Park y Oh, 2007), habiéndose reportado un amplio rango de concentraciones de GABA producidas por BAL a partir de diferentes matrices alimentarias (Dhakal *et al.*, 2012). Por ejemplo, Siragusa *et al.* (2007) reportaron que especies de

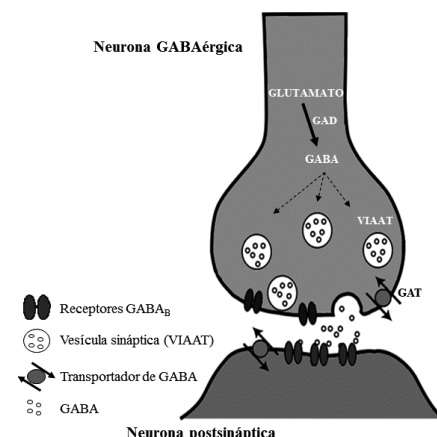


Figura 1. Síntesis de GABA neuronal (Adaptado de Jin *et al.*, 2013)

TABLA I  
FUNCIONES FISIOLÓGICAS DEL GABA

| Función fisiológica                        | Acción específica  | Referencia  |
|--|--|---|
| Sistema inmune                             | Mejora respuestas del sistema inmunológico   | (Crowley <i>et al.</i> , 2016)                                |
| Protección de órganos vitales              | Protege al riñón de enfermedades crónicas<br>Activa funciones hepáticas<br>Aumenta la función visual                                   | (Tujioka <i>et al.</i> , 2009)                                |
| Protector contra el cáncer                 | Potente supresor tumoral<br>Retrasa y/o inhibe la proliferación de células cancerosas<br>Estimula la apoptosis de células cancerígenas | (Al-Wadei <i>et al.</i> , 2012)                               |
| Regulador celular                          | Aumenta la tasa de fibroblastos dermales<br>Mantiene la homeostasis del volumen celular  | (Ito <i>et al.</i> , 2007)<br>(Di Cagno <i>et al.</i> , 2010) |
| Regulador hormonal                         | Incrementa la hormona de crecimiento<br>Regulación de la secreción hormonal  | (Parkash y Kaur, 2007)  |
| Enfermedades psiquiátricas                 | Efecto relajante<br>Acción contra el insomnio<br>Antidepresivo<br>Prevención y tratamiento del alcoholismo                             | (Streeter <i>et al.</i> , 2012)                               |
| Protector de enfermedades cardiovasculares | Reduce la inflamación de artritis reumatoide<br>Atenúa la respuesta metabólica a las incidencias isquémicas                            | (Kelly y Saravanan, 2008)                                     |

*Lactobacillus* (*Lb. brevis* PM17, *Lb. plantarum* C48, *Lb. paracasei* PF6, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* PR1) y *Lactococcus* (*Lc. lactis* PU1), aisladas de diferentes tipos de quesos, produjeron concentraciones de entre 15 y 63mg·kg<sup>-1</sup> en diversos medios de cultivo, lo cual evidencia que los quesos pueden ser una fuente de aislamiento importante de BAL productoras de GABA.

Por otro lado, son escasos los reportes de la producción de GABA por BAL en la literatura consultada (Tabla II). Hasta el momento se ha encontrado que *Lactobacillus* es el género mayormente reportado por su capacidad de producir GABA en diferentes matrices alimentarias, y en varios de los casos, con una alta concentración. Por ejemplo, Park y Oh (2005) realizaron un estudio en el que encontraron que una cepa de *Lb. brevis* OPY-1, aislada de

kimchi (vegetales fermentados), produjo 0,825g·l<sup>-1</sup> en yogur. A su vez, el grupo de Li *et al.* (2010a) reportó que la especie *Lb. brevis* NCL912, aislada de Pao cai (calabazas encurtidas), produjo 35,66g·l<sup>-1</sup> en medio de cultivo con ácido glutámico añadido.

Estudios recientes reportaron la producción de un 1g·l<sup>-1</sup> de GABA en masa madre por la especie *Lb. brevis* CECT 8183, aislada de un queso curado artesanal español (Diana *et al.*, 2014b). *Lb. brevis* CGMCC1306, aislada de leche fresca, produjo 76,36g·l<sup>-1</sup> de GABA en leche adicionada con ácido glutámico, la cual representa una de las concentraciones más elevadas encontradas (Huang *et al.*, 2007). No obstante, también se sabe que no todas las cepas de BAL son capaces de producir este compuesto, tal y como lo reporta Nomura *et al.* (2000), donde una cepa de *Lc. lactis* subsp.

*cremoris*, fue analizada para verificar si es capaz de producir GABA y llegaron a la conclusión de que la actividad enzimática de dicha cepa no es la adecuada para la producción del compuesto.

#### Mecanismo de Producción de GABA por las BAL

La biosíntesis de GABA por parte de las BAL se da estrictamente para protegerlas contra el estrés inducido por un descenso del pH (Komatsuzaki *et al.*, 2008). El GABA es liberado como producto de reacción desde el interior de la célula a través de un transportador glutamato-GABA, lo que genera un aumento del pH del citoplasma debido a la eliminación de iones hidrógeno (Le Vo *et al.*, 2012) (Figura 2). Por otro lado, se sabe que las BAL son ácido tolerantes, por lo que pueden crecer tanto a valores de pH

TABLA II  
CEPAS DE BAL PRODUCTORAS DE GABA EN ALIMENTOS

| Cepa de BAL   | GABA (mg·kg <sup>-1</sup> ) | Matriz alimentaria      | Referencia                             |
|---|-----------------------------|-------------------------|--|
| <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>              | 1000                        | Queso                   | (Gardner-Fortier <i>et al.</i> , 2013) |
| <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>                | 3000                        |                         |  |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> DSM19463                       | 498*                        | Mosto de uva fermentado | (Di Cagno <i>et al.</i> , 2010)        |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> PF6                            | 20                          |                         |  |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> PR1 | 9                           | Quesos Italianos        | (Siragusa <i>et al.</i> , 2007)        |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> C48                            | 6                           |                         |  |
| <i>Lactococcus lactis</i> DIBCA2                              | 144,5                       | Leche fermentada        | (Nejati <i>et al.</i> , 2013)          |
| <i>Streptococcus thermophilus</i>                             | 80                          | Quesos                  | (Franciosi <i>et al.</i> , 2015)       |

\* Valores originales fueron convertidos a mg·kg<sup>-1</sup>.

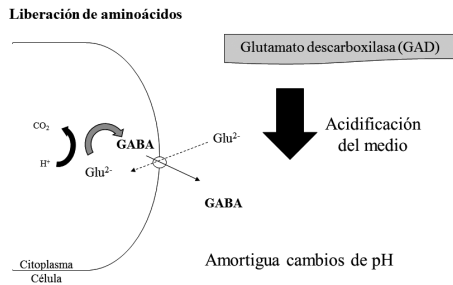


Figura 2. Mecanismo de síntesis de GABA por las BAL (Adaptado de Cotter y Hill, 2003).

bajos como altos, pero la mayoría crece en un rango de 4 a 4,5 que les permite desarrollarse naturalmente en medios ácidos donde otras bacterias no lograrían sobrevivir (Karahán *et al.*, 2010).

Además, el hecho que algunas especies de bacterias cuenten con la presencia de la enzima GAD en sus células, las hace presentar un alto potencial para la producción de GABA (Li y Cao, 2010). Es importante considerar que la enzima GAD puede o no manifestarse, por lo que la actividad dependerá en gran medida del género, especie o cepa con la que se cuente. Por lo tanto, la capacidad para producir GABA es cepa-dependiente y proporcional al contenido de ácido glutámico presente en la matriz alimentaria.

### Las BAL y su Papel en la Producción de GABA

De forma general, el procedimiento fundamental para mejorar la producción de GABA se centra en la optimización de los requerimientos básicos de los microorganismos fermentativos (Villegas *et al.*, 2016). Las BAL pueden verse influenciadas por diversos factores que afectan los niveles de producción de GABA y algunos de ellos están estrechamente relacionados a sus condiciones óptimas de crecimiento, así como de la concentración de sustrato y cofactor necesarios para su producción (Gardner-Fortier *et al.*, 2013).

Es importante considerar que las condiciones óptimas varían entre los diferentes microorganismos, inclusive las propiedades y actividad de la enzima GAD. Aunado a ello, es necesario mencionar que la producción de GABA, durante la fermentación, se puede ver afectada por la presencia de enzimas degradadoras del compuesto, como la GABA transaminasa que cataliza la conversión reversible de GABA a semialdehído succínico (Dhakal *et al.*, 2012).

**Efecto del pH.** La producción de GABA por medio de las BAL se ve influenciada por el pH del alimento, el cual cambia

durante la fermentación como sucede en diferentes productos lácteos, siendo esta característica cepa-dependiente (Yang *et al.*, 2008). Li *et al.* (2010), evaluaron el efecto de diferentes niveles de pH en la producción de biomasa y GABA utilizando la cepa de *Lb. brevis* NCL912 y observaron que a un valor de pH menor a 3,0 la cepa no mostraba crecimiento. El rendimiento mayor de GABA lo obtuvieron a pH 5,0 siendo este valor el óptimo para la cepa de estudio.

El control del pH durante la fermentación para la producción de GABA, está en función del pH óptimo de la enzima GAD; cuando ésta se encuentra activa al 100% se da una mayor producción de GABA, sin afectar el crecimiento de la cepa productora. Komatsuzaki *et al.* (2005) emplearon la cepa de *Lb. paracasei* NFRI 7415 y evaluaron la actividad de esta enzima a diferentes valores de pH para la producción de GABA; reportaron que el pH óptimo de la enzima fue de 5,0 (100% de su actividad enzimática), disminuyendo un 48% de la actividad enzimática a pH 4,0 y 85% cuando analizaron a pH de 6,0.

Gardner-Fortier *et al.* (2013) estimaron la producción de GABA en leche inoculada con cepas de *Lc. lactis* subsp. *cremoris* y *Lc. lactis* subsp. *lactis*, con dos concentraciones de ácido glutámico (1,0 y 3,0mg·g<sup>-1</sup>) y tres niveles de pH (4,8; 5,1 y 5,4). Posteriormente, la leche fue empleada para la elaboración de queso. La concentración de GABA en los quesos fue significativamente diferente entre los valores de pH y contenido de ácido glutámico. A pH 4,8 se reportaron valores de GABA de 0,4mg·g<sup>-1</sup> para la cepa ajustada a 1,0mg·g<sup>-1</sup> de ácido glutámico, y 0,8mg·g<sup>-1</sup> de GABA para la cepa ajustada a 3,0mg·g<sup>-1</sup> de ácido glutámico. Los valores de GABA no fueron superiores a 0,1mg·g<sup>-1</sup> para los valores de pH 5,1 y 5,4 a las mismas concentraciones de ácido glutámico.

**Efecto de las condiciones de crecimiento de la cepa.** La temperatura, el tiempo de incubación y la ausencia o presencia de oxígeno para tener una mayor producción de GABA, se encuentran relacionadas directamente con las condiciones óptimas de crecimiento de la cepa de estudio, así como de las propiedades de la enzima GAD (Kim *et al.*, 2009).

Cada una de las cepas presenta una temperatura óptima de crecimiento, pudiendo haber una mayor producción de GABA cuando esté en su máximo desarrollo. En un estudio (Tajabadi *et al.*, 2015) se evaluó la capacidad de la cepa *Lb. plantarum* Taj-Apis362 para producir GABA en un rango de 30 a 45°C y se observó un aumento de la

concentración de este compuesto de los 30 a 37°C. Posteriormente, se dio una disminución cuando se elevó la temperatura sobre 37°C; cuando se alcanzaron los 45°C la cepa, aunque aún presentó crecimiento, resultó con muy baja producción de GABA.

En otra investigación (Komatsuzaki *et al.*, 2005) se evaluó la producción de GABA por *Lb. paracasei* NFRI 7415 a diferentes temperaturas y a 37°C se dio la óptima producción, reduciéndose drásticamente cuando se elevó la temperatura. Por otro lado, en un experimento donde fermentaron jugo de zarzamora negra con *Lb. brevis* GABA100 se reportó la mayor concentración de GABA a 30°C, en comparación con 25 y 37°C (Kim *et al.*, 2009). Asimismo, Yang *et al.* (2008) analizaron la temperatura óptima de producción de GABA empleando la cepa *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* Y2, basándose en el porcentaje de actividad de la enzima GAD a un amplio rango de temperatura y encontraron que la temperatura óptima fue de 40°C; sin embargo, emplearon 37°C puesto que permitía el mayor crecimiento de la cepa utilizada.

Al igual que la temperatura, el tiempo de fermentación para una óptima producción de GABA puede ser variado y dependerá de la cepa de estudio y de sus necesidades fisiológicas. Así mismo, también depende del tipo de matriz alimentaria, pudiendo haber una reducción del crecimiento de las cepas por la acción de metabolitos liberados durante la fermentación. Por ejemplo, el grupo de Di Cagno *et al.* (2010) analizó mosto de uva utilizando la cepa *Lb. plantarum* DSM19463, mostrando una producción de 4,83mM de GABA a las 72h de fermentación, siendo éste el tiempo óptimo para la producción del compuesto. Sin embargo, los tiempos de fermentación pueden ser menores, como lo indican Siragusa *et al.* (2007), quienes evaluaron la producción de GABA durante 24h utilizando las cepas de *Lb. paracasei* PF6, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* PR1 y *Lb. plantarum* C48, presentando 20, 9 y 6mg·Kg<sup>-1</sup> de GABA, respectivamente.

Lo anterior evidencia que la producción de GABA depende del tiempo de crecimiento de las cepas en el medio de cultivo o matriz alimentaria. Otro aspecto importante para la inducción de la actividad de la enzima GAD y producción de GABA es que algunas cepas necesitan un rango de concentración de oxígeno durante la fermentación, encontrando una mayor producción de GABA en condiciones anaerobias para cepas de crecimiento preferente en medio anaeróbico (Lacroix *et al.*, 2013).



*Efecto de la concentración de sustrato.* El ácido glutámico es un precursor de GABA; por lo tanto, el aumentar el contenido de ácido glutámico conduce a una elevación de la producción de GABA. No obstante, puede haber un límite máximo de sustrato necesario para una mayor producción (Zareian *et al.*, 2013). Se ha reportado que la concentración de GABA producido por *Lb. paracasei* NFRI 7415 aumentó en relación al contenido de ácido glutámico; sin embargo, al llegar a una concentración superior a 500mM de ácido glutámico, el crecimiento celular de la cepa se redujo y consecutivamente disminuyó la producción de GABA, siendo 500mM, la concentración de ácido glutámico que resultó en una mayor producción (Komatsuzaki *et al.*, 2005).

Una desventaja de la adición de ácido glutámico como sustrato es el alto costo implicado para la producción de GABA, por lo que se buscan alternativas al utilizar sustratos ricos en ácido glutámico y que puedan ser aprovechados por las BAL, como son los productos lácteos. Franciosi *et al.* (2015) evaluaron el potencial de diversas cepas de BAL para producir GABA en quesos artesanales madurados de los Alpes Italianos. En dicho trabajo, reportaron que la mayoría de las cepas productoras de GABA eran *Lb. paracasei*, *Lc. lactis*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus*, *Pediococcus pentosaceus* y *Streptococcus thermophilus*, siendo este último el que presentó mayor producción de GABA (80mg·kg<sup>-1</sup>), reafirmando la importancia que tienen las BAL en la utilización diferentes sustratos lácteos para la producción de GABA (Tabla II).

### GABA y Lácteos Fermentados Utilizando BAL

Diversas investigaciones demuestran la producción de GABA por BAL, principalmente *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*, en lácteos fermentados como el yogur y leche fermentada (Hagi *et al.*, 2011; Nejati *et al.*, 2013; Quílez y Diana, 2017). Sin embargo, la tendencia en los estudios se ha enfocado a la estandarización y optimización de los procesos fermentativos, con el objetivo de incrementar la concentración de GABA en los productos derivados. Como resultado, se ha sugerido incrementar la producción de dicho compuesto mediante la aplicación de cultivos mixtos que mejoren la eficiencia de las BAL para la bio-conversión de ácido glutámico a GABA (Wu *et al.*, 2015). En ese particular, Seo *et al.* (2013) encontraron que el cultivo mixto de *Lactobacillus brevis* 877G y *Lacto-*

*bacillus sakei* 795, presentó una producción significativamente mayor de GABA en leche fermentada que la que se encontró cuando las cepas fueron empleadas individualmente. En otra vertiente, hay reportes que muestran que la inmovilización de células de BAL mediante la utilización de hidrogeles maximiza la producción de GABA, logrando la bioconversión del ácido glutámico hasta en un 98% (Hsueh *et al.*, 2017).

Cabe destacar que los estudios en donde se evalúa el efecto del consumo de lácteos fermentados con GABA (estudios *in vivo*) son escasos. La mayoría de los trabajos publicados están enfocados principalmente en el efecto antihipertensivo de leches fermentadas en estudios *in vivo* con animales y estudios clínicos con humanos (Liu *et al.*, 2011). Como ejemplo de ello, Hayakawa *et al.* (2004) administraron GABA y leches fermentadas enriquecidas con GABA a ratas espontáneamente hipertensas, encontrando que dosis bajas de este metabolito tuvieron un efecto hipotensor. Por otro lado, Inoue *et al.* (2003) evaluaron el consumo de leche fermentada enriquecida con GABA durante 12 semanas en humanos con hipertensión moderada, observándose una disminución de 17,4 y 7,2mm Hg de presión arterial sistólica y diastólica, respectivamente.

Se ha reportado que las cepas de BAL productoras de GABA presentes en algunos productos fermentados pueden tener un efecto sobre la reducción del estrés, depresión y ansiedad en estudios con ratas. Este efecto pudiera ser de forma indirecta, al interactuar el GABA con los receptores del sistema nervioso entérico que se encuentran en el tracto gastrointestinal (Bravo *et al.*, 2011). Por otro lado, en un estudio con ratas diabéticas se encontró que el consumo de yogur con alto contenido de GABA, elaborado con la cepa *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* fmb5, es eficaz para coadyuvar contra la diabetes tipo I e incluso retrasar su progresión (Chen *et al.*, 2016).

Tomando en cuenta lo hasta aquí reportado y fundamentado en base a la literatura disponible, al respecto de los beneficios atribuibles al GABA y la gran diversidad de BAL potencialmente productoras de este compuesto, se puede afirmar que aún hace falta mucha investigación por realizar, tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*, que ponga en evidencia el potencial de las BAL para el desarrollo de alimentos funcionales. En este contexto, los productos lácteos como los quesos y leches fermentadas, podrían perfilarse como los alimentos funcionales con mayor

potencial benéfico atribuible al GABA, como compuesto bioactivo producido por las BAL.

### REFERENCIAS

- Al-Wadei HAN, Plummer HK, Ullah MF, Unger B, Brody JR, Schuller HM (2012) Social stress promotes and  $\gamma$ -aminobutyric acid inhibits tumor growth in mouse models of non small cell lung cancer. *Cancer Prev. Res.* 5: 189-196.
- Bleiel J (2010) Functional foods from the perspective of the consumer: How to make it a success? *Int. Dairy J.* 20: 303-306.
- Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J, Cryan JF (2011) Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 108: 16050-16055.
- Buddhala C, Hsu CC, Wu JY (2009) A novel mechanism for GABA synthesis and packaging into synaptic vesicles. *Neurochem. Int.* 55: 9-12.
- Coda R, Rizzello CG, Gobbetti M (2010) Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA). *Int. J. Food Microbiol.* 137: 236-245.
- Cortes-Romero C, Galindo F, Galicia-Isasmendi S, Flores A (2011) GABA: ¿dualidad funcional? Transición durante el neurodesarrollo. *Rev. Neurol.* 52: 665-675.
- Cotter PD, Hill C (2003) Surviving the acid test: responses of Gram-positive bacteria to low pH. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* 67: 429-453.
- Chen L, Zhao H, Zhang C, Lu Y, Zhu X, Lu Z (2016)  $\gamma$ -Aminobutyric acid-rich yogurt fermented by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* fmb5 appears to have anti-diabetic effect on streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Funct. Foods* 20: 267-275.
- Crowley T, Cryan JF, Downer EJ, O'Leary OF (2016) Inhibition of neuroinflammation: The role and therapeutic potential of GABA in neuro-immune interactions. *Brain Behav. Immun.* 54: 260-277.
- Dhakal R, Bajpai VK, Baek KH (2012) Production of gaba (gamma-aminobutyric acid) by microorganisms: a review. *Braz. J. Microbiol.* 43: 1230-1241.
- Di Cagno R, Mazzacane F, Rizzello CG, De Angelis M, Giuliani G, Meloni M, De Servi B, Gobbetti M (2010) Synthesis of gamma-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus plantarum* DSM19463: functional grape must beverage and dermatological applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86: 731-741.
- Diana M, Quílez J, Rafecas M (2014) Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. *J. Funct. Foods* 10: 407-420.
- Diana M, Tres A, Quílez J, Llombart M, Rafecas M (2014) Spanish cheese screening and selection of lactic acid bacteria with high gamma-aminobutyric acid production. *LWT - Food Sci. Technol.* 56: 351-355.
- Eamarjarn A, Theerakulkait C, Thanachasai S (2016) Effect of incubation time, buffer type and concentration on gamma-aminobutyric acid (GABA) production using Khao Dawk Mali 105 rice bran. *Agric. Nat. Resour.* 50: 80-84.

- Franciosi E, Carafa I, Nardin T, Schiavon S, Poznanski E, Cavazza A, Larcher R, Tuohy KM (2015) Biodiversity and gamma-aminobutyric acid production by lactic acid bacteria isolated from traditional alpine raw cow's milk cheeses. *BioMed Res. Int.* 2015: 625740.
- Gardner-Fortier C, St-Gelais D, Champagne CP, Vuilleumard JC (2013) Determination of optimal conditions for  $\gamma$ -aminobutyric acid production by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*. *Int. Dairy J.* 32: 136-143.
- Hagi T, Kobayashi M, Nomura M (2016) Metabolome analysis of milk fermented by  $\gamma$ -aminobutyric acid-producing *Lactococcus lactis*. *J. Dairy Sci.* 99: 994-1001.
- Hayakawa K, Kimura M, Kasaha K, Matsumoto K, Sansawa H, Yamori Y (2004) Effect of a gamma-aminobutyric acid-enriched dairy product on the blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. *Br. J. Nutr.* 92: 411-417.
- Hsueh YH, Liaw WC, Kuo JM, Deng CS, Wu CH (2017) Hydrogel Film-Immobilized *Lactobacillus brevis* RK03 for  $\gamma$ -Aminobutyric Acid Production. *Int. J. Molec. Sci.* 18: 2324.
- Huang J, Mei L, Sheng Q, Yao S, Lin D (2007) Purification and characterization of glutamate decarboxylase of *Lactobacillus brevis* CGMCC 1306 isolated from fresh milk. *Chin. J. Chem. Eng.* 15: 157-161.
- Inoue K, Shirai T, Ochiai H, Kasao M, Hayakawa K, Kimura M, Sansawa H (2003) Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing gamma-aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. *Eur. J. Clin. Nutr.* 57: 490-495.
- Ito K, Tanaka K, Nishibe Y, Hasegawa J, Ueno H (2007) GABA-synthesizing enzyme, GAD67, from dermal fibroblasts: evidence for a new skin function. *Biochim. Biophys. Acta* 1770: 291-296.
- Jin Z, Mendu SK, Birnir B (2013) GABA is an effective immunomodulatory molecule. *Amino Acids* 45: 87-94.
- Juge N, Muroyama A, Hiasa M, Omote H, Moriyama Y (2009) Vesicular inhibitory amino acid transporter is a Cl<sup>-</sup>/gamma-aminobutyrate co-transporter. *J. Biol. Chem.* 284: 35073-35078.
- Karahan AG, Basyigit Kilic G, Kart A, Sanlidere Aoglu H, Oner Z, Aydemir S, Erkus O, Harsa S (2010) Genotypic identification of some lactic acid bacteria by amplified fragment length polymorphism analysis and investigation of their potential usage as starter culture combinations in Beyaz cheese manufacture. *J. Dairy Sci.* 93: 1-11.
- Kelly C, Saravanan V (2008) Treatment strategies for a rheumatoid arthritis patient with interstitial lung disease. *Expert Opin. Pharmacother.* 9: 3221-3230.
- Kim JY, Lee MY, Ji GE, Lee YS, Hwang KT (2009) Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid in black raspberry juice during fermentation by *Lactobacillus brevis* GABA100. *Int. J. Food Microbiol.* 130: 12-16.
- Komatsuzaki N, Nakamura T, Kimura T, Shima J (2008) Characterization of glutamate decarboxylase from a high gamma-aminobutyric acid (GABA)-producer, *Lactobacillus paracasei*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72: 278-285.
- 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: 497-504.
- Lacroix N, St-Gelais D, Champagne CP, Vuilleumard JC (2013) Gamma-aminobutyric acid-producing abilities of lactococcal strains isolated from old-style cheese starters. *Dairy Sci. Technol.* 93: 315-327.
- Le Vo TD, Kim TW, Hong SH (2012) Effects of glutamate decarboxylase and gamma-aminobutyric acid (GABA) transporter on the bio-conversion of GABA in engineered *Escherichia coli*. *Bioproc. Biosyst. Eng.* 35: 645-650.
- Li H, Cao Y (2010) Lactic acid bacterial cell factories for gamma-aminobutyric acid. *Amino Acids* 39: 1107-1116.
- Li H, Gao D, Cao Y, Xu H (2008) A high  $\gamma$ -aminobutyric acid-producing *Lactobacillus brevis* isolated from Chinese traditional paocai. *Ann. Microbiol.* 58: 649-653.
- Li H, Qiu T, Gao D, Cao Y (2010) Medium optimization for production of gamma-aminobutyric acid by *Lactobacillus brevis* NCL912. *Amino Acids* 38: 1439-1445.
- 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.
- Li K, Xu E (2008) The role and the mechanism of gamma-aminobutyric acid during central nervous system development. *Neurosci. Bull.* 24: 195-200.
- Lin SD, Mau JL, Hsu CA (2012) Bioactive components and antioxidant properties of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) tea leaves. *LWT - Food Sci. Technol.* 46: 64-70.
- Liu CF, Tung YT, Wu CL, Lee BH, Hsu WH, Pan TM (2011) Antihypertensive effects of *Lactobacillus*-fermented milk orally administered to spontaneously hypertensive rats. *J. Agric. Food Chem.* 59: 4537-4543.
- Nejati F, Rizzello CG, Di Cagno R, Sheikh-Zeinoddin M, Diviccaro A, Minervini F, Gobetti M (2013) Manufacture of a functional fermented milk enriched of Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE)-inhibitory peptides and  $\gamma$ -amino butyric acid (GABA). *LWT - Food Sci. Technol.* 51: 183-189.
- Nguyen QD, Kun S, Bujna E, Havas P, Hoschke A, Rezessy-Szabó JM (2016) Power of *Bifidobacteria*. *Food Applic. Health Promot.* 15: 228-258.
- Nomura M, Kobayashi M, Ohmomo S, Okamoto T (2000) Inactivation of the Glutamate Decarboxylase Gene in *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2235-2237.
- Park KB, Oh SH (2005) Production and characterization of GABA rice yogurt. *Food Sci. Biotechnol.* 14: 518-522.
- Park KB, Oh SH (2007) Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. *Bioresource Technol.* 98: 1675-1679.
- Parkash J, Kaur G (2007) Potential of PSA-NCAM in neuron-glia plasticity in the adult hypothalamus: role of noradrenergic and GABAergic neurotransmitters. *Brain Res. Bull.* 74: 317-328.
- Pehrson AL, Sanchez C (2015) Altered gamma-aminobutyric acid neurotransmission in major depressive disorder: a critical review of the supporting evidence and the influence of serotonergic antidepressants. *Drug Design Deliv. Ther.* 9: 603-624.
- Quilez J, Diana M (2017) Gamma-aminobutyric acid-enriched fermented foods. In Frías J, Martínez-Villaluenga C, Peñas EBT (Eds.) *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. Academic Press. Boston, MA, EEUU. pp. 85-103.
- Selhub EM, Logan AC, Bested AC (2014) Fermented foods, microbiota, and mental health: ancient practice meets nutritional psychiatry. *J. Physiol. Anthropol.* 33: 2.
- Seo MJ, Nam YD, Park SL, Lee SY, Yi SH, Lim SI (2013)  $\gamma$ -aminobutyric acid production in skim milk co-fermented with *Lactobacillus brevis* 877G and *Lactobacillus sakei* 795. *Food Sci. Biotechnol.* 22: 751-755.
- Siragusa S, De Angelis M, Di Cagno R, Rizzello CG, Coda R, Gobetti M (2007) Synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 7283-7290.
- Streeter CC, Gerbarg PL, Saper RB, Ciraulo DA, Brown RP (2012) Effects of yoga on the autonomic nervous system, gamma-aminobutyric-acid, and allostasis in epilepsy, depression, and post-traumatic stress disorder. *Med. Hypoth.* 78: 571-579.
- Tajabadi N, Ebrahimpour A, Baradaran A, Rahim RA, Mahyudin NA, Manap MYA, Bakar FA, Saari N (2015) Optimization of gamma-aminobutyric acid production by *Lactobacillus plantarum* Taj-Apis362 from honeybees. *Molecules* 20: 6654-6669.
- Takayama M, Ezura H (2015) How and why does tomato accumulate a large amount of GABA in the fruit? *Front. Plant Sci.* 6: 612.
- Tujioka K, Ohsumi M, Horie K, Kim M, Hayase K, Yokogoshi H (2009) Dietary gamma-aminobutyric acid affects the brain protein synthesis rate in ovariectomized female rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 55: 75-80.
- Villegas JM, Brown L, Savoy de Giori G, Hebert EM (2016) Optimization of batch culture conditions for GABA production by *Lactobacillus brevis* CRL 1942, isolated from quinoa sourdough. *LWT - Food Sci. Technol.* 67: 22-26.
- Wessels S, Axelsson L, Bech Hansen E, De Vuyst L, Laulund S, Lähteenmäki L, Lindgren S, Mollet B, Salminen S, von Wright A (2004) The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. *Trends Food Sci. Technol.* 15: 498-505.
- Wu Q, Law YS, Shah NP (2015) Dairy *Streptococcus thermophilus* improves cell viability of *Lactobacillus brevis* NPS-QW-145 and its  $\gamma$ -aminobutyric acid biosynthesis ability in milk. *Scient. Rep.* 5: 12885.
- Wu Q, Shah NP (2017) 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.
- Yamakoshi J, Fukuda S, Satoh T, Tsuji R, Saito M, Obata A, Matsuyama A, Kikuchi M, Kawasaki T (2007) Antihypertensive and natriuretic effects of less-sodium soy sauce containing  $\gamma$ -aminobutyric acid in spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71: 165-173.
- Yang SY, Lu FX, Lu ZX, 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.
- Zareian M, Ebrahimpour A, Mohammed AKS, Saari N (2013) Modeling of glutamic acid production by *Lactobacillus plantarum* MNZ. *Electr. J. Biotechnol.* 16.

---

## **$\gamma$ -AMINO BUTYRIC ACID (GABA) PRODUCED BY LACTIC ACID BACTERIA IN FERMENTED FOODS**

Alejandro Santos-Espinosa, Carmen Guadalupe Manzanarez-Quin, Ricardo Reyes-Díaz, Adrián Hernández-Mendoza, Belinda Vallejo-Cordoba and Aarón Fernando González-Córdova

### **SUMMARY**

*Lactic acid bacteria (LAB) are a group of microorganisms widely used for the production of fermented foods since they may confer flavor, aroma and texture to the products. In addition, numerous studies show that LAB produce bioactive compounds beneficial to health during the fermentation process, such as gamma-aminobutyric acid ( $\gamma$ -aminobutyric acid, or GABA), which has demonstrated to have antihypertensive, antidepressant, hypoglycemic and relaxing effects, among others. In this review, it was found that Lactobacillus, Lactococcus and Streptococcus are the groups of bacteria that have exhibited the most GABA production, as compared to other LAB genera. On the other hand, it is worth mentioning that not all LAB strains display a high capacity to produce this compound, because it depends of several factors,*

*such as glutamic-acid decarboxylase enzyme activity, presence of pyridoxal 5'-phosphate as cofactor, and optimum bacteria growth conditions, as well as the concentration of glutamic acid in the food matrix, as well as fermentation time. On the other hand, cow milk contains a high concentration of glutamic acid; for this reason, various investigations have focused on assessing the GABA production in fermented dairy products such as yogurt, cheese and fermented milk. The antihypertensive effect has been one of the bioactivities most studied in dairy products containing GABA; nevertheless, considering the wide diversity of LAB species, more studies are necessary to put in evidence the potential of these bacteria to produce functional foods with benefits attributable to their GABA content.*

## **ÁCIDO $\Gamma$ -AMINO BUTÍRICO (GABA) PRODUZIDO POR BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS EM ALIMENTOS FERMENTADOS**

Alejandro Santos-Espinosa, Carmen Guadalupe Manzanarez-Quin, Ricardo Reyes-Díaz, Adrián Hernández-Mendoza, Belinda Vallejo-Cordoba e Aarón Fernando González-Córdova

### **RESUMO**

*As bactérias ácido lácticas (BAL) são um grupo de microrganismos amplamente utilizados para a elaboração de alimentos fermentados, já que podem conferir características de sabor, aroma e textura, principalmente. Além disso, numerosos estudos demonstram que durante o processo de fermentação, as BAL também produzem compostos bioativos benéficos para a saúde. Um exemplo disto é o ácido gamma-aminobutírico ( $\gamma$ -aminobutírico, ou GABA, por suas siglas em inglês) que tem mostrado possuir efeitos anti-hipertensivos, antidepressivos, hipoglicêmicos e relaxantes, entre outros. Nesta revisão se encontrou que os gêneros de BAL apontados como principais produtores de GABA são: Lactobacillus, Lactococcus e Streptococcus. No entanto, cabe destacar que nem todas as BAL apresentam alta*

*capacidade de produzi-lo, já que depende de fatores como a atividade da enzima ácido glutâmico descarboxilase, a presença do cofator piridoxal 5'-fosfato e as condições ótimas de crescimento de cada cepa, assim como da concentração do ácido glutâmico no alimento e o tempo de fermentação. O leite, por sua parte, é um alimento rico em ácido glutâmico, pelo que diversas investigações têm sido orientadas a avaliar a produção de GABA em lácteos fermentados como o iogurte, queijo e leites fermentados. O efeito anti-hipertensivo do GABA em lácteos tem sido um dos mais estudados; no entanto, considerando a grande diversidade de BAL, ainda são necessários estudos que evidenciem o potencial destas bactérias para o desenvolvimento de alimentos funcionais com benefícios atribuíveis ao GABA.*