

멸치 젓갈로부터 γ -Aminobutyric Acid(GABA)를 생성하는 *Lactobacillus* 속의 분리·동정

전재호·김현대*·이흥수*·[†]류병호
경성대학교 식품공학과, *동부산대학 치위생과

Isolation and Identification of *Lactobacillus* sp. Produced γ -Aminobutyric Acid(GABA) from Traditional Salt Fermented Anchovy

Jae-Ho Jeun, Hyun-Dae Kim*, Hong-Su Lee* and [†]Beung-Ho Ryu

Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungsoong University

*Department of Dental Hygiene, Dongbusan College

Abstract

This study was conducted to investigate the identification of lactic acid bacteria produced γ -aminobutyric acid(GABA) from traditional salt fermented anchovy. There was no appreciable difference in the number of lactic acid bacteria from fermented anchovy. Among the types of lactic acid bacteria, three strains of lactic acid bacteria produced γ -aminobutyric acid from those sample were identified temporary as name of *Lactobacillus brevis* BH-21, *Lactobacillus rhamnosus* BH-32 and *Lactobacillus plantarum* BH-38 by using gram positive identification(GPI) card and API 50 kit, respectively.

3 strains of *Lactobacillus* sp. were found to produce GABA in the culture of filtrate. *Lactobacillus brevis* BH-21 produced GABA, some of which yielded 43.2 mg/L GABA in the medium of 0.1% glucose, 0.1% yeast extract, 0.05% polypeptone, 0.002% MgSO₄ · 4H₂O, 0.001% FeSO₄ · 7H₂O, 0.01% NaCl, 0.1% monosodium glutamate, pH 6.0.

This result suggests that *Lactobacillus brevis* BH-21 has the potential to be developed as a strain of GABA production.

Key words : *Lactobacillus brevis*, γ -aminobutyric acid(GABA).

서 론

유산균은 19세기 중반 Pasteur에 의해 그 존재가 밝혀진 이후 1908년에 불가리아의 생화학자인 메치니코프(Metchnikoff)가 유산균 발효유 섭취에 의한 불노장 수설을 주장한 이후¹⁾ 유산균 발효유의 효능이 과학적으로 입증되어 전세계적으로 관심이 집중되고 소비가

증가하는 인기상품이 되었다.

유산균은 인간이 이용할 수 있는 가장 유익한 미생물의 한 종류로서 옛날부터 발효 유제품을 중심으로 장류, 김치, 젓갈, 소세지, 의약품 등에 걸쳐 인류생활에 폭넓게 활용되어 내려오고 있다^{2,3)}. 유산균은 식품뿐만 아니라 포유동물의 구강과 소화관, 토양 등 자연계에 널리 분포하고 있으면서, 인간생활에 유익

[†] Corresponding author : Beung-Ho Ryu, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungsoong University, Busan 608-736, Korea.

Tel : 051-620-4712, E-mail : bhryu@star.ks.ac.kr

한 효능을 제공해 주는 균주이다^{4,5)}.

유산균은 숙주의 면역기능을 증강시키고, 장내에서 콜레스테롤의 흡수를 억제하여 생활습관병을 예방하는 작용이 있으며, 장내 발암 촉진물질을 불활성화시키고⁶⁾, 항암효과⁷⁾, 항균작용⁸⁾ 및 위궤양의 원인균인 *Helicobacter pylori*에 대한 억제효과⁹⁾등 건강을 지키는데 필수적인 균주이다.

유산균은 발효유, 간장, 된장, 치즈, 김치 및 육제품 등 전통적인 발효식품의 제조에 starter로서 이미 이용되었으며 유산균에 의한 유산발효, 단백질 및 지방분해 작용으로 발효식품의 보존성을 높이고 풍미를 향상시키고 있다^{10,11)}.

유산균이 건강에 좋다는 인식이 확산되면서 유산균 함유 식품을 통하여 건강을 유지하고, 질병을 예방하려는 노력과 더불어 유산균 관련제품에 대한 관심이 높아지고 있다.

특히 유산균 starter는 식품 부패성 세균이나 병원성 미생물에 대하여 생균제제(probiotic) 효과를 나타내는 것으로 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다^{12,13)}. 유산균이 들어있는 발효 식품을 섭취하면 동물의 소화관내에서 유해세균이나 부패세균의 증식을 억제한다는 연구 보고가 있어 유산균을 사람이나 가축의 정장제나 생균제제로 이용 가치가 매우 높아지고 있다^{14,15)}.

최근 유산균을 기능성 식품에 사용하기 위하여 잠재력을 평가하기 위한 프로바이오틱 유산균의 선발기준에 대한 연구가 전세계적으로 광범위하게 진행되고 있다^{16,17)}. 현재 프로바이오틱 유산균은 발효유 및 유제품, 사료, 건강보조식품, 정장제 등에 사용되고 있어 앞으로 식품업계에 있어 유산균을 첨가하므로 신기능성을 가진 새로운 식품개발을 할 수 있을 것으로 기대된다^{16,17)}.

이러한 연구의 일환으로 유산균으로부터 뇌 기능성 전달물질로 알려진 γ -aminobutyric acid(GABA)을 생성하는 균주를 멸치 젓갈로부터 분리, 동정하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

부산시 소재 기장 시장에서 제조원이 서로 다른 10여종의 멸치 젓갈로부터 유산균을 분리하였다.

2. *Lactobacillus* 속의 분리 및 동정

유산균의 분리는 Miyao와 Ogawa의 방법¹⁸⁾에 따

라 *Lactobacilli*의 분리 동정을 위하여 MRS agar(Difco, Detroit, USA)에서 전형적인 colony로 유산균을 분리하여 동정하였다. 멸치젓의 발효숙성 중 생성된 유산균을 분리 동정하기 위하여 제조 직후, 맛이 좋아지는 시기인 발효 2개월 후에 각각 액즙 1 mL를 취하였다. 이를 단계별로 희석한 후 시료 0.1 mL를 MRS broth에 0.002% bromophenol blue를 첨가한 선택배지에서 *Lactobacillus* sp.는 암청색의 환이 나타나지 않는 집락으로 분리하였다. MRS broth 중에서 현탁된 시료를 멸균 생리적 식염수(0.9% NaCl 용액)로 적절히 희석하고, 가급적 50~100개의 집락(colony)이 형성되도록 도말한 후 30°C 배양기 내에서 48시간 배양하였다. 일단 배지 상에 형성된 집락에 대하여 외관의 모양이 유사하고 출현 빈도가 많은 것을 우선적으로 선별하고, 동일 배지에 2~3회 도말 배양하여 순수 분리한 후 MRS broth 중에서 30°C로 배양 후 5°C로 냉장 보관하면서 사용하였다.

유산균의 동정은 균을 멸균 swab를 사용하여 2 mL의 멸균증류수와 5 mL의 현탁배지에 현탁하여 API 50 CHL medium의 gallery에 각각 접종한 후 30°C에서 4시간 배양하여 각 균주의 배양액을 첨가하고 10분 후 결과를 판독하여 7자리의 숫자로 표시한 다음 API 50 CHL analytical profile index로 동정하였다. 또한 index에 없거나 혼동될 우려가 있을 때는 24시간 재배양하여 판독하였으며 그 결과를 Bergey's manual¹⁹⁾, Balows²⁰⁾, Gibbs와 Skinner²¹⁾의 방법에 따라 형태적, 배양적 및 생리적 특징과 비교, 확인하여 최종 동정하였다.

3. 총균수 및 유산균수 측정

총균수의 측정은 시료를 단계별로 희석하여 plate count agar 배지로 pour plate 방법에 의해 plate를 만든 후 35°C에서 48시간 배양하여 colony가 30~300개가 나타나는 평판을 선택하여 산출하였다. 유산균수의 측정은 CaCO₃를 함유한 MRS 배지를 적절히 희석시킨 시료와 pour plate 방법에 의해 plate를 만든 후 30°C에서 48시간 배양하여 주위가 투명한 colony를 산 생성균으로 판정하여 측정하였다.

4. GABA 함량의 측정

생성된 colony를 각각 MRS배지에서 배양한 후 배양액을 원심분리한 다음 진공 농축하여 분석에 사용하였다. GABA 및 아미노산의 형광 유도체화를 위해 3.9 × 150 mm AccQ·TagTM (Nova-pakTM C₁₈, Waters) column을 사용하였다. Column으로부터 유도체를 용출시키기 위해서는 AccQ·Tag Eluent A와 69% aceto-

nitrile을 98:2의 비율로 분당 1 mL의 유속으로 흘려 주었다. GABA 및 아미노산 함량은 표준 GABA 및 표준 아미노산의 분석결과와 비교하여 산출하였다²²⁾.

5. 균체의 glutamic acid decarboxylase 활성의 측정

Lactobacillus brevis BH-21를 MRS 배지상에서 배양한 후 배양액 30 mL를 10분간 원심분리한 후 그 균체를 20mM 인산완충액(pH 7.0) 30 mL로 2회 세척한 다음 최종액량을 10 mL로 하여 초음파 파쇄기로 균체를 분쇄한 후 원심분리하였다. 그 상등액을 5,000 rpm에서 다시 10분간 원심분리하여 측정용 효소액으로 하였다. 기질 용액으로는 20 mM MSG 0.4 M NaCl, 0.2 M- pyridine HCl (pH 4.5)용액 1.3 mL와 4 M-황산암모니움 0.1 mL 및 효소액 0.1 mL를 혼합한 후 37°C에서 60분간 반응을 시켰다.

5분간 끓인 후 반응을 정지시킨 다음 생성된 GABA를 측정하였다. 상기 조건하에서 1분간에 1 μ mol의 GABA를 생성하는 효소량을 1단위(U)로 하였다²³⁾.

결과 및 고찰

1. GABA 생산균주의 분리 및 선정

수중의 멸치 젓갈의 시료를 각각 1 mL씩 취한 후 멸균 증류수를 10^2 , 10^4 및 10^6 까지 희석한 다음 MRS 한천배지에 도말하여 배양한 후 생육이 우수한 30여 균주를 2회 계대한 다음 다시 MRS 액체 배지에 접종한 다음 37°C에서 48시간 동안 배양한 다음 생육속도가 빠른 균주의 배양액을 silica gel TLC 상에 점적하여 표준품인 GABA와 R_f 치가 같은 균주를 선별하였다. 이때 분리된 균주는 9종이었다(Table 1). 이때 생육속도도 빠르고, TLC로 같은 조건으로 조작하여 모세관으로 같은 농도를 조절하고 점적하여 TLC 상에서 GABA와 R_f 가 같고 spot가 큰 것을 GABA 생성능이 우수한 3균주로 우선 선별하였다. 다시 GABA 생산능이 제일 좋은 3균주를 동일한 방법으로 조작하여 TLC plate에 점적하여 n-butanol : acetic acid : water(2:3:1)로 전개시킨 후 ninhydrin 용액으로 분무하여 BH-21, BH-32 및 BH-38를 GABA 표준품과 비교한 결과 GABA 표준품의 R_f 치와 동일하였고 spot이 가장 컸으므로 BH-21, BH-32 및 BH-38 등 3균주를 GABA 생산균주로 최종 선별하였다(Fig. 1).

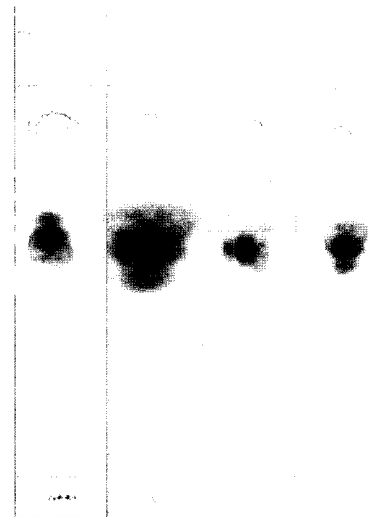
2. 젓산균 분리 동정

선별된 3균주들의 형태학적, 배양학적 특성을 검토한 결과는 Table 2와 같다. 젓갈에서 분리한 3 균주

Table 1. Comparison of γ -aminobutyric acid production among strains isolated from traditional salt fermented anchovy

Strains	Absorbance (660nm)	GABA production
BH-5	0.86	++
BH-8	0.76	+
BH-13	0.85	++
BH-15	0.84	+
Strain, BH-21	0.90	+++
BH-26	0.84	++
BH-28	0.90	+++
BH-32	0.90	+++
BH-38	0.88	+++

+, weak positive, ++, positive, +++; strong positive.



GABA BH-21 BH-32 BH-38 standard

Fig. 1. Thin layer chromatogram of GABA in the MRS medium. Cultivation was incubated stationary culture of 48hr at 35°C. 1 mL of broth culture were centrifuged at 8,000 \times g for 15min. 20 μ L were then spotted onto the TLC plate. TLC using n-butanol-acetic acid-water (2:3:1) (ascending technique) was carried out, and plate were then sprayed with ninhydrin reagent.

들은 gram 양성이고, 운동성이 없으며 포자를 형성하지 않는 통성혐기성의 간균으로 나타났다. 분리된 시료 균주를 MRS medium에 0.02% bromophenol blue를 첨가한 MRS 배지에 도말하여 37°C에서 3일간 배양한

결과 전체적으로 흰색의 집락을 형성하였고, 모양은 환을 형성하였으며, 표면은 매끈하였다.

멸치 젓갈에서 분리, 동정된 *Lactobacillus* 속을 현미경 사진으로 관찰한 결과 Fig. 2와 같이 이 균은 길이가 1.5 µm 정도로 간균의 형태를 나타내었다.

선별된 균주의 생화학적 특성을 보면 Table 3에 나타낸 바와 같이 일반적인 특성은 BH-21, BH-32 및 BH-38 균주 모두 15°C 및 37°C에서 생육이 좋았다. BH-21은 알기닌으로부터 암모니아를 생성하였으나, BH-32 및 BH-38은 알기닌으로부터 암모니아를 생성하지 못하였다.

BH-21, BH-32에서 glucose로부터 CO₂ 가스의 생성을 확인하였고, BH-38 균주에서는 CO₂ 가스의 생성

Table 2. Morphological and cultural characteristics of lactic acid bacteria isolated from traditional salt fermented anchovy

	BH-21	BH-32	BH-38
Morphological characteristics			
Gram stain	+	+	+
Shape	Rods	Rod	Rods & chain
Cell size	0.9 µm	0.3 µm	1.2 µm
Motility	-	-	-
Colony characteristics			
Shape	Circular	Circular	Circular
Elevation	Convex	Convex	Convex
Surface	Smooth	Smooth	Smooth
Pigment	White	Grayish white	White
Liquid culture characteristics			
Broth	Sediment	Sediment	Sediment

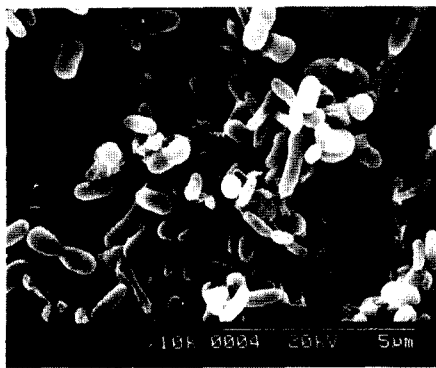


Fig. 2. Photograph of electron microscope of *Lactobacillus brevis* BH-21.

Table 3. Physiological characteristics of lactic acid bacteria isolated from traditional salt fermented anchovy

	BH-21	BH-32	BH-38
General characteristics			
Growth at 15°C	+ ¹⁾	+	+
Growth at 37°C	+	±	+
Aesculin hydrolysis	± ³⁾	±	+
NH ₃ from arginine	+	- ²⁾	-
CO ₂ from glucose	+	+	-
Lactose	+	+	±
Xylose	+	±	+
Maltose	+	+	+
Fermentation of			
Galactose	+	+	+
Fructose	+	+	+
Mannitol	-	+	+
Sucrose	+	+	-
Salicin	+	+	-
Nutritional requirements			
Riboflavin	-	-	-
Pyridoxal	-	-	-
Folic acid	+	-	+
Thiamine	+	-	-

¹⁾ Positive reaction, ²⁾ negative reaction, ³⁾ strong positive reaction.

이 되지 않았다. 그러나 lactose, maltose를 모두 자화하였고 당 발효에 있어서는 galactose, fructose는 모두 잘 이용되었다. 또한 riboflavin, pyridoxal 등의 비타민의 요구성이 없었다.

선별된 균주 BH-21, BH-32 및 BH-38 균주의 당 자화능을 젓산균 동정용 kit인 API system으로 확인한 결과는 Table 4와 같다. 이들 균주는 모두 glycerol, erythritol를 모두 쉽게 자화하지 못하였고, L-xylose를 BH-21와 BH-32는 자화하지 못하였으나, BH-38은 자화하였고, adonitol과 β-methylxylose는 모든 균주가 자화하지 못하였다. 세 균주가 galactose, glucose, fructose, mannose, sucrose 등의 반응이 양성으로 나타났으며, BH-21 균주는 manniol과 gentibiose, gluconate을, BH-32 균주는 sorbitol, cellobiose 및 raffinose에 대하여 양성반응으로 각각 나타나 BH-21은 *Lactobacillus brevis* BH-21로, BH-28은 *Lactobacillus rhamnosus* BH-28로 동정하고 잠정적으로 명명하였다.

Table 4. Carbohydrate utilization of strains identified from traditional salt fermented anchovy as affected by API kit

Fermentation	API 50 CHL Medium ¹⁾			Fermentation	API 50 CHL Medium ¹⁾		
	BH-21	BH-32	BH-38		BH-21	BH-32	BH-38
Control	- ²⁾	-	-	Esculin	±	+	-
Glycerol	-	-	-	Salicin	-	+	-
Erythritol	-	-	-	Cellobiose	-	+	±
D-arabinose	-	-	+	Maltose	+	+	-
L-arabinose	w ³⁾	-	+	Lactose	-	+	+
Ribose	+	+	-	Melibiose	-	-	+
D-xylose	w	-	-	Trehalose	-	-	+
L-xylose	-	-	±	Melezitose	-	-	-
Adonitol	-	-	-	Raffinose	-	+	±
β-methyl xyloside	-	-	-	Starch	-	-	-
Galactose	+	+	+	Glycogen	-	-	-
Glucose	+	+	+	Xylitol	-	-	-
Fructose	+	+	+	Gentiobiose	+	-	-
Mannose	+	+	+	D-turanose	-	-	-
Sucrose	+	+	+	D-lyxose	-	-	±
Sorbose	-	+	-	D-tagatose	-	±	-
Rhamnose	+	+	-	D-fucose	-	-	-
Dulcitol	-	+	-	L-fucose	-	-	-
Inositol	-	-	-	D-arabitol	-	-	-
Mannitol	+	+	±	L-arbitol	-	-	-
Sorbitol	-	+	-	Gluconate	+	-	-
α-Methyl mannoside	-	-	-	2-Keto gluconate	-	-	-
α-Methyl glucoside	-	+	-	5-Keto gluconate	-	-	-
η-acetyl glucosamine	+	+	+	Temporary			
Arbutin	+	+	-	Identification,	<i>L. brevis</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. plantarum</i>		

¹⁾ Incubated at 37°C for 48hr., ²⁾ negative reaction, ³⁾ weak reaction, ⁴⁾ positive reaction.

BH-38 균주는 MRS agar에 0.002% bromophenol blue 배지상에서 흰색의 집락을 형성하였고, Voges-proskauer에서 양성반응을 나타내었고, galactose, glucose, fructose, mannose, sucrose, n-acetyl glucosamine, cellobiose, melibiose, trehalose, raffinose 및 D-xylose 등의 당을 분해하여 *Lactobacillus plantarum* BH-38로 잠정 동정하였다.

Tanasupawat와 Daengsubha²⁴⁾는 태국에서 생산되고 있는 어장유 및 젓갈류에서 염농도 6 ~ 8%, pH 8.2와 42°C에서 잘 생육하며 당으로부터 산을 생성하는 *Pediococcus pentosaceus*와 염농도 18%, pH 8.6 ~ 9.2에서 생육이 양호하며 당을 분해하여 산을 생성하는 호염성의 *Pediococcus halophilus*를 분리하였다. Morishita 등²⁵⁾은 시판 중인 저염 오징어 젓갈에서 젓산균인 *Lactobacillus*를 분리하였으며 어떤 제품에서

는 이 균속이 83%를 접하는 경우도 있었다고 보고하였다. 조 등²⁶⁾은 수분활성을 조절한 오징어육으로 제조한 저염 오징어 젓갈의 균주의 젓산균으로 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp. 및 *Streptococcus* sp.를 분리 동정한 바 있다.

3. Glutamic acid 첨가에 의한 GABA의 생산

GABA는 glutamic acid가 glutamic acid decarboxylase에 의하여 탈탄산에 의하여 생성된다.

본 연구는 GYP액체배지 (0.1% glucose, 0.1% yeast extracts, 0.05% polypeptone, 0.002% MgSO₄ · 4H₂O, 0.001% FeSO₄ · 7H₂O, 0.01% NaCl, pH 6.0)에 0.1% monosodium glutamate을 첨가한 액체배지에 배양하여 GABA의 생성량을 조사하였다.

Fig. 3~5에서 보는 바와 같이 GABA의 생성량은 *Lactobacillus brevis* BH-21이 43.2 mg/mL이었고, *Lactobacillus rhamnosus* BH-28은 40.0 mg/mL이었으며 *Lactobacillus plantarum* BH-32는 40.1mg/mL이었다. 이와

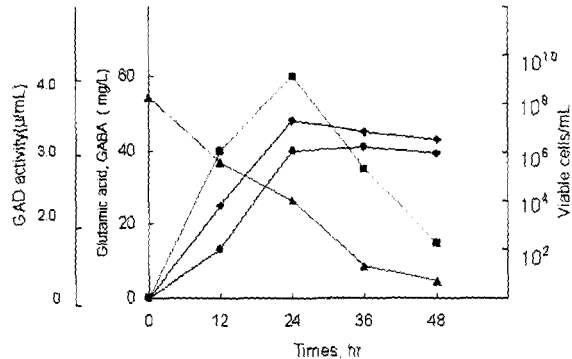


Fig. 3. Times courses of γ -aminobutyric acid GABA and glutamic acid contents, glutamic acid decarboxylase (GAD) activity and viable cells during cultivation of *Lactobacillus brevis* BH-21. *Lactobacillus brevis* BH-21 was cultivated for 2 days at 35°C in GYP medium supplemented with 0.1% glutamic acid.

GABA ; -●-, glutamic acid; -▲-, viable cells; -◆-, glutamic acid decarboxylase(GAD) activity of cells in the broth; -■-.

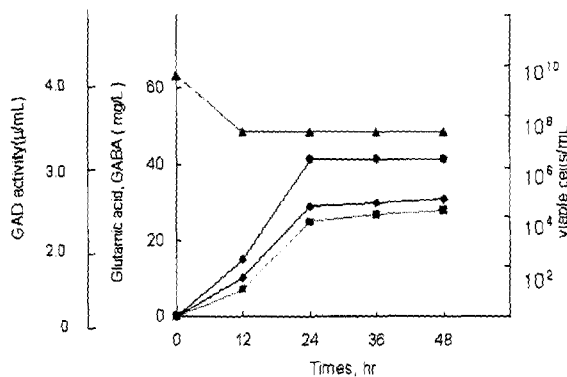


Fig. 4. Times courses of γ -aminobutyric acid GABA and glutamic acid contents, glutamic acid decarboxylase (GAD) activity and viable cells during cultivation of *Lactobacillus rhamnosus* BH-32. *Lactobacillus rhamnosus* BH-32 was cultivated for 2 days at 35°C in GYP medium supplemented with 0.1% glutamic acid.

GABA ; -●-, glutamic acid -▲-, viable cells; -◆-, glutamic acid decarboxylase(GAD) activity of cells in the broth; -■-.

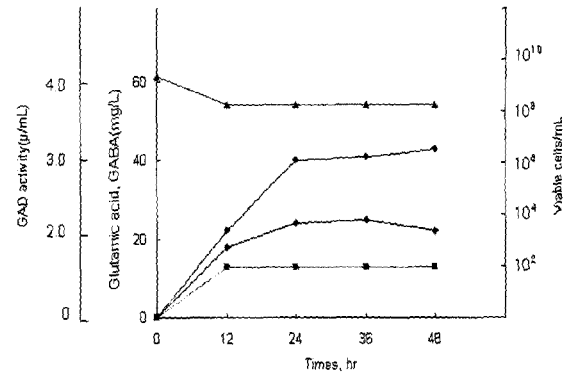


Fig. 5. Times courses of γ -aminobutyric acid GABA and glutamic acid contents, glutamic acid decarboxylase (GAD) activity and viable cells during cultivation of *Lactobacillus plantarum* BH-38. *Lactobacillus plantarum* BH-38 was cultivated for 2 days at 35°C in GYP medium supplemented with 0.1% glutamic acid.

GABA ; -●-, glutamic acid -▲-, viable cells; -◆-, glutamic acid decarboxylase(GAD) activity of cells in the broth; -■-.

같이 이들 3균주 중에서 *Lactobacillus brevis* BH-21이 glutamic acid에서 GABA로 전환하는 생성력이 제일 좋았고, 그 다음이 *Lactobacillus plantarum* BH-32가 높았으며, *Lactobacillus rhamnosus* BH-28이 제일 낮았다.

Lactobacillus brevis BH-21의 배양기간 동안 GABA의 생산은 glutamic acid의 탈탄산에 의하여 이루어지므로 glutamic acid의 감소가 뚜렷이 나타나고 있다. 이들 3균주 중 *Lactobacillus brevis* BH-21은 24시간 배양시에 GABA의 생성량이 증가하면서 glutamic acid가 감소하였고, glutamic acid decarboxylase(GAD)활성은 24시간 이후에 증가하다가 약간 감소하는 경향을 나타내고 있다.

이러한 현상은 glutamic acid가 탈탄산에 의하여 GAD의 활성이 제일 높게 나타나는 시간대에 GABA의 생산량이 높아지기 때문이다.

GABA는 녹차 등 식품 중에 많이 함유되어 있으나^{27,28)} 양조식품 중에 GABA의 함량이나 양조 미생물에 의한 GABA의 생성에 대한 보고는 거의 없다.

GABA는 치즈나 김치 등의 유산균에서 생성되는 것으로 알려져 있으므로 양조식품의 발효시 유산균이 존재하면 GABA는 생성되는 것으로 판단된다. 시판식품 중 요구르트나 김치 및 술 등 양조식품에 GABA가 생성된다고 보고가 있다²⁹⁾.

유산균중 GABA를 생산하는 균주로는 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus lactis* 및

*Streptococcus thermophilus*가 GABA를 축적하는 등 유산균이 배양환경이 조성되면 거의 GABA를 생산할 수 있는 가능성이 높다³⁰⁾고 하였다.

본 실험에서 보는 바와 같이 유산균 중에서도 *Lactobacillus brevis* BH-21과 같이 glutamic acid를 탈탄산하는 glutamic acid decarboxylase(GAD)활성이 높으면 GABA의 생성이 가능하지만 *Lactobacillus plantarum* BH-38과 같이 glutamic acid decarboxylase(GAD)활성이 낮으면 GABA의 생성이 미미한 것으로 나타났다.

요 약

멸치젓갈로부터 γ -aminobutyric acid(GABA)을 생성하는 유산균주를 분리 동정하였다.

멸치젓갈로부터 분리한 9종의 유산균 중 GABA 생산능이 우수한 균주를 순수분리하여 형태학적 특성과 gram positive identification(GPI) card 와 API 50kit로 동정한 결과 *Lactobacillus brevis* BH-21, *Lactobacillus rhamnosus* BH-28 및 *Lactobacillus plantarum* BH-38로 동정하였다. 이들 *Lactobacillus* 속 균주중 *Lactobacillus brevis* BH-21이 GABA 생성능력이 제일 우수하였고, GABA 생성함량은 배지(0.1% glucose, 0.1% yeast extracts, 0.05% polypeptone, 0.002% $MgSO_4 \cdot 4H_2O$, 0.001% $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.01% NaCl, 0.1% monosodium glutamate, pH 6.0)에서 *Lactobacillus brevis* BH-21을 배양하였을 때, 배양 24시간에 43.2mg/mL의 GABA를 생성하였다.

참고문헌

1. Metchnikoff, E. : The prolongation of life, Arno press, New York (1908)
2. Gilliland, S.E. : 5th. International symposium for lactic acid bacteria and health, Korea. 3~17 (1987)
3. Aguirre, M. and Collins, M. D. : Lactic acid Bacteria and human clinical infection, *J. Appl. Bacteriol.*, **75**, 95~107 (1993)
4. Gilliland, S.E. : Acidophilus milk products: A review of potential benefits to consumers, *J. Dairy Sci.*, **72**, 2483~2494 (1989)
5. Speck, M.L. : Interactions among *Lactobacilli* and Man, *J. Dairy Sci.*, **59**, 336~343 (1976)
6. Salminen, S. and Tanaka, M. : Annual review on cultured milks and probiotics, *IDF Nutr. Newsletter*, **4**, 47~50 (1995)
7. Goldin, B.R. : Health benefits of probiotics, *Br. J. Nurt.*, **80** (Suppl. 2), S203~S207 (1998)
8. Daeschel, M.A. : Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives, *Food Technol.*, **43**, 164~167 (1989)
9. Gilliland, S.E. : Beneficial interrelationships between certain microorganisms and humans: Candidate microorganisms for use as dietary adjuncts, *J. Food protect*, **42**, 164~167 (1979)
10. Havenaar, R. and Huis In't Veld, J. H. J. : Probiotics, A general view. In: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, pp. 151-170. Ed. Wood, B. J. B. Elsevier Applied Science, London and New York (1992)
11. Huit In't Veld, J. H. J. and Havenaar, R. : Probiotics and health in man and animal, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **51**, 562~567 (1991)
12. Kirjavainen, P.V., Ouwehand, A.C., Isolauri, E. and Salminen, S.J. : The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus, *FEMS Microbiol. Lett.*, **167**, 185~189 (1998)
13. Lankaputhra, W.E.V. and Shah, N.P. : Adherence of probiotic bacteria to human colonic cells, *Biosci. Microflora*, **17**, 105~113 (1998)
14. Fuller, R. : Probiotics in human medicine, *Gut.*, **32**, 439~442 (1991)
15. Fuller, R.A. : Review : Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, **66**, 365~378 (1989)
16. Gasser, F. : Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infection, *Bull. Inst. Pasteur.*, **92**, 45~67 (1994)
17. Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. : In Yoghurt ; science and technology, 2nd Ed. pp. 358~360. CRC Press, N.Y. (1999)
18. Miyao, S. and Ogawa, T. : Selective media for enumerating lactic acid and bacteria groups from fermented pickles, *Nippon Shokuhihin Gakkaish*, **35**, 610~617 (1998)
19. Kandler, O. and Weiss, N. : In Regular, nonsporing gram positive, rods. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Shairpe, M.E. and Holt, J.G. (eds.) Vol. I, Williams and Wilkins, Baltimore. p. 1208 (1986)
20. Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. and Schelifer, K.H. : In *The Prokaryotes*, 2nd ed.

- Vol. II, Springer-Verlag, New York. p.1564 (1992)
21. Gibbs, B.M. and Skinner, F.A. : In Identification methods for microbiology, London, A. P. New York. p. 180~186 (1966)
 22. Kitaka, A., Dosya, T. and Dakenori, O. : Development of a super GABA by lactic acid fermentation, *Food & Develop.*, **36(6)**, 12~14 (2000)
 23. Bown, A.W. and Shelp, B.J. : The metabolism and function of γ -aminobutyric acid, *Plant Physiol.*, **115**, 1~5 (1997)
 24. Tanasupawat, S. and Daeugsubha, W. : *Pediococcus* specie and related bacteria found in fermented foods and related materials in Thailand, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **29**, 487~491 (1983)
 25. Morishita, K., Otakasaka, W., Yamazaki, K., Kawai, Y. and Inoue, N. : Chemical "Shiokara", *Rep. Fac. Fish Hokkido Univ.* **45**, 100~105 (1994)
 26. Toshinobu, M. and Tojiro, T. : Conversion of glutamic acid to γ -aminobutyric acid in tea leaves under anaerobic conditions, *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2865 (1972)
 27. Satya Narayan, V. and Nair, P.M. : Metabolism enzymology and possible roles of 4-aminobutyrate in higher plants, *Phytochemistry*, **29**, 367~375 (1990)
 28. Nomura, M., Kimofu, H., Someya, Y., Furukawa, S., and Suzaki, I. : Production of γ -aminobutric acid by cheese starters during cheese ripening, *J. Dairy Sci.*, **81**, 1486~1491 (1998)
 29. Yokoyama, S., Hiramatsu, J.I., and Hayakawa, K. : Production of γ -aminobutric acid from alcohol distillery lees by *Lactobacillus brevis* IFO-12005, *J. Biosci. Biotech.*, **93(1)**, 95~97 (2002)
 30. Pelletier, C., Bouley, C., Cayuela, C., Bouttier, S., Bourlious, P. and Bellom-Fontaine, M.N. : Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus* strains, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 1725~1731 (1997)
-
- (2003년 12월 29일 접수)