

GABA 함량이 증진된 발아현미의 효능 및 활용

Effects and Applications of Germinated Brown Rice with Enhanced Levels of GABA

오 석 흥
Suk-Heung Oh

우석대학교 식품생명공학과
Department of Food & Biotechnology, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

서 론

GABA (γ -Aminobutyric acid, 감마-아미 노부티르 산)는 자연계에 널리 분포하는 비단백태 아미노산의 일종으로 흥분 억제성 신경전달물질이다. 중추신경계 전체 신경전달물질 중 약 30%를 차지하며 다른 신경 전달물질에 비하여 약 200~1,000배의 고농도로 존재 한다. 동물의 경우 뇌 · 심장 · 심장 · 폐 등에서 발견되 며 식물의 경우 발아현미를 비롯한 발아곡류, 녹차, 배 추 뿌리 등에서 많이 검출되고 있다 (1). GABA는 혈 압상승억제, 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 증가 억제, 뇌의 혈류 개선, 비만 방지, 시력증진, 항불안, 항경련 등 인체의 많은 생리적인 메카니즘의 조절에 관여하 는 것으로 알려져 있고, 성장호르몬의 분비 조절에도 관여하며, 통증완화에도 효과가 있는 것으로 알려져 있어 약리적으로 매우 주목 받는 물질이다 (2, 3, 4). 이러한 GABA의 역할로 인해 최근에는 기능성 식품 소재로서의 GABA에 대한 관심이 고조되고 있다. GABA가 보강된 우유 (5), 콩 (6), 차 (7), 홍국 (8), 클로렐라 (9) 등은 본태성 고혈압 쥐의 혈압을 효과적 으로 낮추는 것으로 보고되었다.

식물체내 GABA의 합성은 여러 외부 환경적 요인 (기계적인 자극, 온도, 산소결핍, 수분, 스트레스)에 의

해 유도되는 것으로 알려져 있다 (10, 11). 이는 식물 이 환경적인 스트레스에 대항하기 위한 하나의 적응 체계로 GABA shunt를 작동시키는 것으로 판단된다 (Fig. 1). 식물에서 얻어진 GAD (glutamate decarboxylase, 글루탐산 탈탄산 효소)는 동물 (12, 13)이 나 미생물 (14, 15, 16)에서 얻어진 GAD와는 달리 카르복시말단에 칼모듈린과 결합할 수 있는 부위를 가 지고 있다. 식물 GAD는 칼슘과 결합한 칼모듈린이 이 결합 부위에 결합하면 활성화되는 칼슘/칼모듈린- 의존형 효소인 것으로 밝혀졌다 (Fig. 2; 17, 18, 19, 20). 식물이나 미생물의 경우 푸트리신 (putricine) 등 의 중간물질을 경유하여 GABA로 전환되는 또 다른 GABA 생성경로를 가지고 있는 것으로도 알려져 있 다. 일반적으로 GABA는 GAD의 탈탄산 반응의 결 과로 주로 생성되고, 이 반응에서 수소이온 (H^+) 한 분 자가 소모되며 GABA와 이산화탄소 한 분자가 각각 생성된다 (Fig. 1 & 2).

현미는 최적의 수분, 온도, 산소 조건에서 약 1~5 mm의 싹을 틔워 발아현미가 된다. 현미는 영양성이 우수하지만 단단한 껍질과 피틴산 등이 존재하여 소 화 흡수성이 떨어진다. 그러나 발아가 진행되면 피틴 산은 인과 이노시톨로 분해되어 소화성은 증진되고, GABA, 유용 아미노산, 각종 효소, 아라미노자일란,

Corresponding author: Suk-Heung Oh
Department of Food & Biotechnology, WooSuk University, Jeonju 565-701, Korea
Tel: 82-63-290-1433
Fax: 82-63-290-1429
E-mail: shoh@woosuk.ac.kr

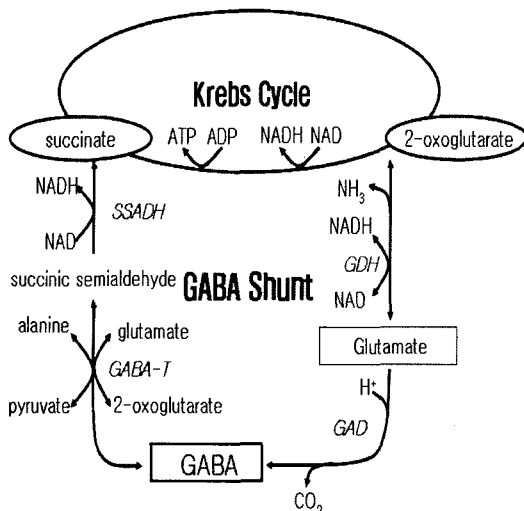


Fig. 1. Production of GABA through GABA shunt.

감마-오리자놀 등이 증가하여 기능성이 향상된다(3, 21, 22, 23). 본 보고에서는 GABA가 많이 들어 있는 발아현미를 제조하기 위한 방법과, GABA 함량이 증진된 발아현미의 효능, 그리고 GABA 함유 발아현미를 이용한 음료 및 유제품 생산에 대하여 그동안 보고된 결과를 중심으로 기술하고자 한다.

GABA 함량이 증진된 발아현미의 생산

식물 GABA 생성 시스템에 대한 연구를 통해서 키토산이 식물세포를 자극하는 일리시터 역할을 할 수 있기 때문에 이를 발아현미 제조에 활용하였다 (Fig. 2). 키토산 용액을 발아현미 제조시 이용하면 키토산의 항균력으로 인해 곰팡이 등의 잡균 번식을 억제할 수 있으며, 키토산의 일리시터 작용으로 인해 현미 발아시 내재의 GAD 효소를 활성화 시키는 것으로 조사되었다 (21). 이는 결과적으로 GABA 함량이 증진된 발아현미를 생산할 수 있는 방법으로 활용될 수 있었다 (21). GABA 함량을 더욱 증진시키기 위해서는 키토산 용액에 글루탐산을 적정량 첨가해 주면 현저하게 GABA 함량이 증진되는 것으로 조사되었다 (Fig. 3; 22, 23). 이는 글루탐산이 GABA의 전구물질이기 때문이며 GAD 효소가 글루탐산을 GABA로 효율적으로 전환하기 때문인 것으로 판단된다.

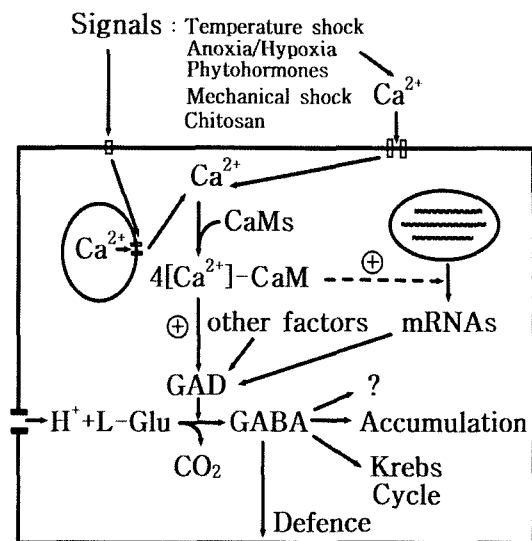


Fig. 2. Model of GABA production in plants. Plant cells produce GABA following environmental stimuli. Calcium fluxes can aid in the production of GABA through the stimulation of Ca²⁺/calmodulin-dependent GAD. This model is modified from the model of Snedden *et al.* (1995).

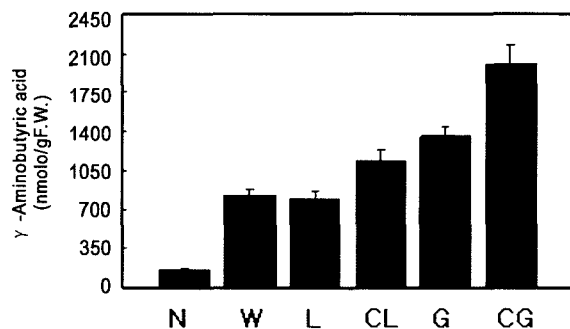


Fig. 3. Increased concentrations of GABA in chitosan/glutamic acid germinated brown rice. Brown rice was germinated in distilled water (W), in lactic acid (L), in chitosan/lactic acid (CL), in glutamic acid (G) and in chitosan/glutamic acid (CG) solutions. N, non-germinated brown rice. Adapted from Oh (2003).

GABA 함량이 증진된 발아현미 추출액의 면역능 증진 및 암세포 사멸 효과

면역세포는 면역시스템 조절을 위해 수용체 단백질

을 발현한다. GABA가 GABA 수용체 단백질들을 통해 면역반응을 조절할 수 있음이 보고된 바 있다 (24, 25). 또한 GABA가 많이 들어 있는 발아현미는 대조군 현미 (발아하지 않은 현미)에 비하여 만성적인 알코올 섭취 흰쥐의 혈중 콜레스테롤을 개선하는 것으로 조사되었다 (23). 면역능 증진 및 일부 암세포 증식억제, 암세포 사멸 효과가 있는 지를 조사하기 위하여 면역세포 활성화 및 암세포 증식억제, 사멸에 미치는 발아현미 추출액의 효능을 조사하였다. 조사결과 GABA 함량이 높은 발아현미의 경우 대조 구에 비하여 면역능 증진 효과가 있는 것으로 조사되었다. GABA 함량이 많은 발아현미 추출액을 투여한 구에서 얻은 비장세포와 흉선세포에서 B cells 및 T_H cells이 증가하는 것으로 조사되었다 (Table 1). 또한 감마-인터페론과 인터루킨-4의 농도에 있어서도 GABA 발아현미 추출액 투여 구에 있어 현저한 증가를 보였다 (Fig. 4). 이들 발아현미 추출액은 백혈병 세포의 증식을 억제하고 이들 세포에 대해 사멸 효과가 있는 것으로 나타

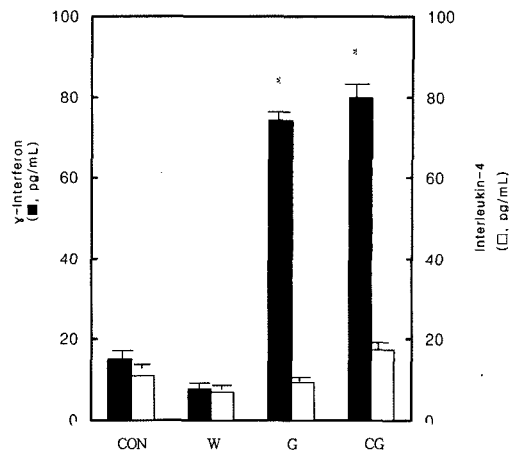


Fig. 4. Effect of the brown rice extract on the production of γ -interferon and interleukin-4 in mice serum. Sample (200 μ L/mice) was administered *p.o.* once a day for 7 days, serum was collected by heart puncture, the levels of γ -interferon and interleukin-4 were quantitatively measured by sandwich ELISA. The data represent the mean of three determinations with standard error of the mean. Significantly different from the control group (* p <0.05). Reprinted from Oh and Oh (2003).

Table 1. Effect of the brown rice extract on the subpopulation of murine splenocytes and thymocytes *in vivo*

Cell Type Treatment	Splenocytes(%)			Thymocytes(%)	
	B cell	T cell		T _H	T _c /T _s
		T _H	T _c /T _s		
Control	43.8±1.7	22.1 ±2.3		11.4±0.6	3.1±0.3
N ex	45.2±2.9	13.7±1.1	5.8±0.2	12.7±1.1	3.3±0.5
		23.5±2.4			
W ex	44.1±1.9	14.8±1.4	6.3±0.4	12.9±0.6	3.5±0.4
		23.2±2.2			
C ex	47.6±2.3	13.9±1.1	5.8±0.3	12.9±0.3	2.9±0.2
		23.4±1.3			
G ex	57.8±2.8*	17.5±1.5*	7.1±0.8	14.5±0.6*	4.3±0.4
		28.5±1.6*			
CG ex	51.2±2.1*	16.7±1.0*	6.2±0.5	14.1±0.2*	3.1±0.2
		26.7±1.8			

Sample (200 μ L/mice) was administered *p.o.* once a day for 7 days, thereafter the suspensions of cells were prepared at 1×10^6 cells/well and subpopulations were measured by a laser flow cytometer staining with PE/FITC conjugated anti-B220/Thy1 or anti-CD4/CD8 antibody. The data represents the mean \pm standard error of 5 mice. *: Significantly different from the control group (p <0.05). N ex, nongerminated brown rice extract; W ex, water germinated extract; C ex, chitosan germinated extract; G ex, glutamic acid germinated extract; CG ex, chitosan/glutamic acid germinated extract. Reprinted from Oh and Oh (2003).

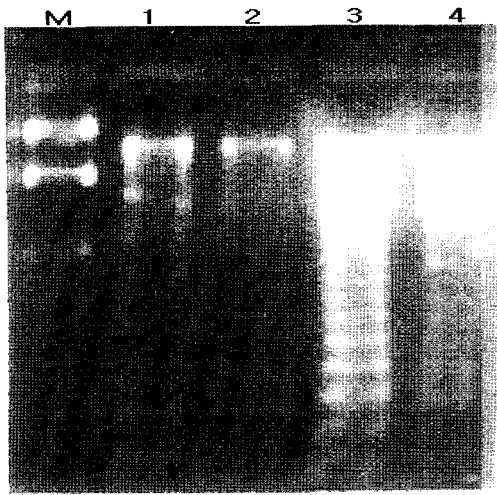


Fig. 5. Effect of the brown rice extracts on the DNA fragmentation of L1210 leukemia cells.

The suspension of cells was prepared at 1×10^6 cells/well. The extracts of brown rice were added into the cultures at $20 \mu\text{l}$ /well and cultured for 24 hours at 37°C and then cells were collected. Genomic DNA was purified from the cells and subjected to 1.2% agarose electrophoresis. The gel was stained with ethidium bromide and photographed by UV illumination. M size marker, lane 1 non-germinated extract, lane 2 water germinated extract, lane 3 chitosan/glutamic acid germinated extract, lane 4 glutamic acid germinated extract. Reprinted from Oh and Oh (2004).

났다 (Fig. 5; 23, 26).

GABA 함유 발아현미를 추출액을 이용한 기능성 음료 및 유제품 생산

항불안, 항스트레스 효과를 갖는 기능성 음료를 개발하기 위하여 GABA 함유 발아현미 추출액과 용안육, 대조, 백복신 등 수종 한약재 추출액을 혼합한 음료 (WS-01)를 제조하여 수험생을 대상으로 임상적 연구를 수행하였다 (27). 연구결과 WS-01 복용이 학생들의 스트레스를 감소시켜주고, 불안을 없애주는 효과가 있음을 보여주었다. 또한 4주간의 복용 전 후의 일 반혈액검사, 간기능 검사, 소변검사 등을 통하여 WS-01의 복용이 안전함을 제시하였다 (27). 이와 같은 결과는 발아현미 추출액과 백복신, 용안육 등 수종 한약재의 조합이 항스트레스 및 항불안 효과를 가져다 준

것으로 판단되며 향후 개별적 및 새로운 조합을 통한 보다 심도 있는 연구가 필요한 것으로 사료된다.

GABA 함량 및 유리아미노산 함량이 증진된 요구르트를 김치유래 유산균과 발아현미를 이용하여 제조하였다. 김치에서 분리한 유산균주인 락토바실러스 속 OPY-1은 MSG가 1% 첨가된 MRS 배지 상에서 48 시간 동안 배양시키면 리터당 약 5.0 g의 GABA를 생산하는 것으로 확인되었다. 이 균주와 락토바실러스 아시도필러스 (*acidophilus*), 락토바실러스 플라타룸 (*plantarum*)등을 혼합한 후 락토바실러스 MRS 배지에 접종하여 요구르트 스타터로 활용하였다. 스타터 균주는 전지분유, 탈지분유, 발아현미 추출액 등으로 구성된 기질 혼합액에 접종하여 발효시켰다. 이렇게 생산된 요구르트의 GABA 함량은 약 $137 \mu\text{g/g}$ 이었다. 이는 통상적인 방법으로 실험실에서 제조한 요구르트의 GABA 함량 (약 $1.5 \mu\text{g/g}$)에 비하여 월등히 높은 값이다 (Fig. 6; 28).

GABA 발아현미 요구르트는 대조구 요구르트에 비하여 유리아미노산 함량도 높은 것으로 조사되었으며 이는 주로 발아현미와 이들의 발효 산물인 것으로 생각된다 (Fig. 7; 28).

이들 결과는 요구르트 제조시 김치유래 GABA 고 생산 유산균주와 GABA 함량이 증진된 발아현미 추출액을 사용하면 제품의 GABA 함량과 유리 아미노산 함유량을 증진시켜 관능성과 기능성을 모두 개선시킬 수 있음을 제안해 주고 있다. 또한 이러한 기법은 다른 발효식품 및 기능성 식품의 제조에도 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

GABA 함량이 증진된 발아현미를 얻기 위하여 키토산과 글루탐산을 함유한 용액을 사용하였다. 키토산은 항균성을 가지고 있을 뿐 아니라 식물세포에 일리시터로 작용하여 식물 GAD의 활성을 증진시키는 것으로 알려져 있어 선택하였고 글루탐산은 GABA의 전구물질로 GAD에 의해서 GABA로 전환되는 아미노산이다. 이와 같은 기법을 이용하여 제조한 발아현미 추출액은 GABA 함량이 현저하게 높았으며, 동물

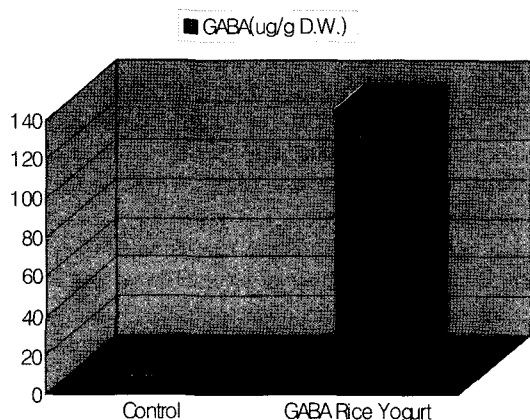


Fig. 6. Comparison of GABA levels between GABA rice yogurt and yogurt prepared by conventional laboratory methods (control). Adapted from Park and Oh (2005).

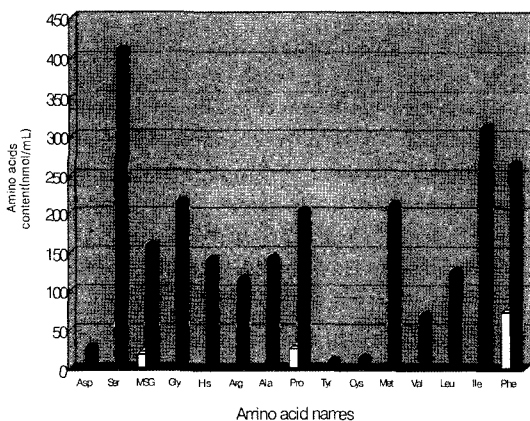


Fig. 7. Comparison of free amino acid levels between GABA rice yogurt and yogurt prepared by conventional laboratory methods. The closed bar (■) and the open bar (□) show the amino acid levels of GABA rice yogurt and conventional yogurt, respectively. Reprinted from Park and Oh (2005).

및 세포 실험을 통한 효능 평가 결과 GABA 함유량이 높은 발아현미 추출액은 면역능 증진 효과, 암세포 증식억제 효과 및 암세포 사멸효과가 뚜렷하게 나타났고, GABA 함량이 낮은 대조구의 발아현미 및 일반 현미는 그 효과가 미미하거나 나타나지 않았다. GABA 함량이 증진된 발아현미 추출액을 이용한 기

능성 식품을 개발하기 위하여 발아현미 추출액을 이용한 음료 및 요구르트를 제조하였다. 발아현미와 백복령, 용안육 등 한약재를 이용하여 제조한 음료는 항불안 및 항스트레스 효과가 있는 것으로 보고되었으며, 개별적인 추출액의 효과에 대하여는 향후 추가로 조사되어야 할 것으로 여겨진다. 요구르트 제조에 발아현미 추출액의 이용이 GABA 뿐 아니라 유용아미노산의 함량을 현저하게 증진시키는 것으로 조사되었다. 이상의 결과를 종합하면 GABA 함량이 증진된 발아현미 소재가 기능성을 갖는 식품으로 개발되어 활용될 수 있음을 보여주고 있고, 향후 GABA 함량을 더욱 증진시킬 수 있는 새로운 식품가공 기술 등에 대한 연구 및 새로운 효능에 대한 다양한 연구를 통해 GABA 함유 발아현미 및 그 추출액을 새로운 식품의 약 소재로 활용도를 높일 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 오석홍 (2006) 김치 유산균을 이용한 가바 대량 생산 및 기능성 식품 개발. 월간식품산업, 24, 74-80.
2. Krogsgaard-Larsen P (1989) GABA receptors. In Receptor Pharmacology Funtion. Williams M, Glennon RA, Timmermans PMWM, eds. Dekker, Inc., New York, pp, 349-383.
3. 석호문 (2002) GABA의 기능해명과 신소재 개발의 가능성. 식품기술 15, 81-85
4. Leventhal AG, Wang YC, Pu ML, Zhou YF, and Ma Y (2003) GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys. Science, 300, 812-815.
5. 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 Wista r-Kyoto rats. Br J Nutr, 92, 411-417.
6. Aoki H, Furuya Y, Endo Y, Fujimoto K. (2003) Effect of γ -aminobutyric temp eh-like fermented soybean (GABA- tempeh) on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats. Biosci Biotechnol Biochem, 67, 1806-1808.
7. Abe Y, Umemura S, Sugimoto K, Hirawa N, Kato Y, Yokoyama T, Iwai J, Ishii M. (1995) Effect of green tea rich in γ -aminobutyric on blood pressure on dahl salt-sensitive rats. Am J Hypertens, 8, 74-79.
8. Tsuji K, Ichikawa T, Tanabe N, Abe S, Tarui S, Nakagawa Y. (1992) Antihypertensive activities of beni-koji extracts and γ -aminobutyric acid in spontaneously hypertensive rats. Eiyogaku Zasshi in Japanese, 50, 285-291.



9. Nakamura T, Matsubaysahi T, Kamachi K, Hasegawa T, Ando Y, Omori M. (2000) γ -Aminobutyric(GABA)-rich chlorella depresses the elevation of blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Nippon Nogeikagaku Kaishi in Japanese*, **74**, 907-909.
10. Shelp BJ, Bown AW, McLean MD. (1999) Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in Plant Sci*, **4**, 446-452.
11. Bouche N, Fromm H. (2004) GABA in plants: just a metabolite *Trends Plant Sci*, **9**, 110-115.
12. Erlander MJ, Tobin AJ. (1991) The structural and functional heterogeneity of glutamic acid decarboxylase: a review. *Neurochem Res*, **16**, 215-226.
13. Ueno H. (2000) Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase. *J Molecular Catalysis*, **10**, 67-79.
14. Ueno Y, Hayakawa K, Takahashi S, Oda K. (1997) Purification and characterization of glutamate decarboxylase from *Lactobacillus brevis* IFO 12005. *Biosci Biotechnol Biochem*, **61**, 1168-1171.
15. Nomura M, Nakajima I, Fujita Y, Kpbayashi M, Kimoto H, Suzuki I, Aso H. (1999) *Lactococcus lactis* contains only one glutamate decarboxylase gene. *Microbiology*, **145**, 1375-1380.
16. Park KB, Oh SH. (2004) Cloning and expression of a full-length glutamate decarboxylase gene from *Lactobacillus plantarum*. *J Food Sci Nutri*, **9**, 324-329.
17. Staya Narayan V, Nair PM. (1990) Metabolism, enzymology and possible roles of 4-aminobutyrate in higher plants. *Phytochemistry*, **29**, 367-375.
18. Snedden WA, Koutsia N, Baum G, Fromm H. (1996) Activation of a recombinant petunia glutamate decarboxylase by calcium/calmodulin or by a monoclonal antibody which recognizes the calmodulin binding domain. *J Biol Chem*, **271**, 4148-4153.
19. Yun SJ, Oh SH. (1998) Cloning and characterization of a tobacco cDNA calcium/calmodulin-dependent glutamate decarboxylase. *Mol. Cells*, **8**, 125-129.
20. Oh SH, Choi WG, Lee IT, Yun SJ. (2005) Cloning and characterization of a rice cDNA encoding glutamate decarboxylase. *J Biochem Mol Biol*, **38**, 595-601.
21. Oh SH, Choi YG. (2000) Production of the quality germinated brown rices containing high γ -aminobutyric acid by chitosan application, *Kor. J. Bitotechnol. Bioeng.*, **15**, 615-620
22. Oh SH. (2002) Stimulation of γ -aminobutyric acid synthesis activity in brown rice by a chitosan/glutamic acid germination solution and calcium/calmodulin. *J Biochem Mol Biol*, **36**, 319-325.
23. Oh SH, Oh CH. (2003). Brown rice extracts with enhanced levels of GABA stimulate immune cells. *Food Sci Biotechnol* **12**: 248-252.
24. Bergeret M, Khrestchatsky M, Tremblay E, Bernard A, Gregoire A, Chany C. (1998) GABA modulates cytotoxicity of immunocompetent cells expressing GABA receptor subunits. *Biomed Pharmacother*, **52**, 214-219.
25. Poddar MK, Bandyopadhyay BC, Chakrabarti L. (2000). Dietary protein alters age-induced change in hypothalamic GABA and immune response. *Neuroscience* **97**: 405-409.
26. Oh CH, Oh SH. (2004) Effect of germinated brown rice extract with enhanced levels of GABA on cancer cell proliferation and apoptosis. *J Medi*, **7**, 19-23.
27. Kim LH, Jang IS, Kim JY, Song JM. (2003) A clinical trial about anti-anxiety and anti-stress effect of a modified formula consisted with several herbs. *Oriental physiology & pathology*, **17(6)**, 1535-1539
28. Park KB, Oh SH. (2005) Production and characterization of GABA rice yogurt. *Food Sci Biotechnol*, **14**, 518-522.