

전처리 조건이 현미 및 발아현미의 γ -aminobutyric acid 함량에 미치는 영향

최희돈* · 박용곤 · 김윤숙 · 정창화 · 박영도¹
한국식품개발연구원, ¹(주)미농바이오

Effect of Pretreatment Conditions on γ -Aminobutyric Acid Content of Brown Rice and Germinated Brown Rice

Hee-Don Choi*, Yong-Kon Park, Yun-Sook Kim,
Chang-Hwa Chung, and Young-Do Park¹
Korea Food Research Institute
¹MinongBio

Effects of pretreatment conditions on γ -aminobutyric acid (GABA) contents of brown rice and germinated brown rice were investigated. As steeping time increased, GABA contents of brown rices increased gradually. The highest GABA content, 3.33 mg/100 g, was found in brown rice steeped at 40°C for 8 hr. GABA content of brown rice decreased significantly at pH 8 ($p < 0.05$), but changed slightly at pH of steeping solution ranging 4-7. Steeping of brown rices in glutamate solution increased GABA contents. Brown rice steeped in glutamate solution at 200-300 ppm showed GABA content between 4.09 ± 0.48 - 4.11 ± 0.47 mg/100 g, which was much higher than that of untreated brown rice. Anaerobic treatment of brown rices using N₂ gas increased GABA contents, ranging from 4.70 ± 0.49 to 4.92 ± 0.83 mg/100 g. Germinated brown rice steeped in glutamate solution under anaerobic condition had GABA content of 5.92 ± 0.72 mg/100 g, two-fold higher than that of untreated brown rice, 3.05 ± 0.67 mg/100 g. Optimum pretreatment condition established in this study could significantly increase GABA content in germinated brown rice.

Key words: germinated brown rice, γ -aminobutyric acid, pretreatment

서 론

곡립은 발아됨에 따라 효소가 다량 생성되고 단백질의 질적 변화(1), 미량 영양소의 증가(2), 탄수화물의 소화율 증가 및 antinutritional factor의 감소나 제거(3,4)가 이루어지는 등 다양한 변화가 일어나기 때문에 발아에 의한 식품의 영양적 가치를 증대시키고자 하는 연구가 많이 이루어지고 있다. 특히 현미를 발아시킬 경우 발아시 생성된 세포벽 분해효소의 작용에 의해 현미 외피의 일부가 가수분해되어 구조가 영성해지고 또 짝이 생성된 부위를 통한 수분 흡수가 용이하여져 수침시간이 크게 단축됨으로써 취반성이 개선될 뿐만 아니라 혈압강하, 뇌 기능 개선, 면역력 증강 등 여러 가지 기능성이 입증된 γ -aminobutyric acid(이하 GABA), inositol, ferulic acid, arabinoxylan 등의 기능성 성분이 증진되거나 새로이 생성되는 것으로

알려져 발아현미는 새로운 건강기능식품의 하나로 주목받고 있다.

동, 식물 등 자연계에 널리 분포하는 비단백질 구성 아미노산인 GABA는 포유동물의 뇌나 척수에 존재하는 억제계의 신경전달물질로서 신경억제작용과 정신안정기능을 가지며 혈압상승억제작용, 뇌의 대사촉진작용 등의 효과를 갖는 기능성 식품 소재로서 주목받고 있다(5). 식물체 내에서의 GABA는 glutamate에서 succinate에 이르는 GABA-shunt를 통해 탄소골격의 제공 또는 아미노산 대사산물로서 작용(6)하며, 해충의 공격 및 종자의 발아시 함량이 급격히 증진되는 등 식물세포의 활성화를 통한 성장과 자기보호기능에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다. 또한 식물에서 GABA의 합성은 여러 외부 환경적 요인에 의해 영향을 받는 것으로 보고되고 있어 식물체가 여러 환경적 스트레스에 대항하기 위한 수단인 하나로 GABA 생성체계를 가동시키는 것으로 추정된다(7). 이와 같은 식물체에서의 GABA 생성기작을 이용하여 녹차잎을 혐기처리 함으로써 GABA 함량이 크게 증진된 GABARON tea가 산업적으로 개발되었으며, 일본 Oryza 油化(株)에서는 GABA를 고농도로 증진시키고 풍미를 개량한 쌀배아를 제조하여 이를 기능성 식품 소재로 이용하고, 大洋香料에서는 유산균 발효에 의해 제조한 GABA 고농도 추출물을 혈압강하와 정신안정 효과를 나타

*Corresponding author: Hee-Don Choi, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9068
Fax: 82-31-780-9234
E-mail: chdon@kfri.re.kr

내는 기능성 식품 소재로 활용하고 있다. 또한 최근에는 우리나라에서도 GABA 함량이 증진된 발아현미를 제조하기 위한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(8,9).

본 연구에서는 현미의 전처리 조건 변화에 따른 현미 및 발아현미의 GABA 함량을 조사함으로써 GABA 함량이 증진된 발아현미를 제조하기 위한 적정 전처리 조건을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

2001년에 수확하여 도정처리된 현미를 이천 미곡종합처리장에서 구입하여 10°C로 유지되는 저온저장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

현미의 전처리 및 발아

현미를 먼저 수돗물로 수침온도(10, 25, 40, 50°C)와 수침시간(1, 2, 3, 4, 5, 8시간) 별로 처리 후 동결건조하여 GABA를 정량하였고 그 결과 결정된 처리조건에서 수침용액의 pH를 4-8로 변화시킨 후 GABA를 정량하였다. 또 수침용액에 함유된 glutamic acid의 농도(50, 100, 200, 300 ppm) 변화에 따른 현미의 GABA 함량을 측정하여 적정 glutamic acid 농도를 결정하였으며, 이상의 조건에서 수침한 현미를 가스투과가 일어나지 않는 봉지에 담고 질소가스로 충전한 후 밀봉하여 1-2시간 처리하고 동결건조한 후 GABA를 정량하여 혐기적 처리 효과를 조사하였다. 전처리한 현미를 28°C, RH 95%로 조정된 항온항습기에서 발아하였으며, 1일 2회 물을 분무하여 현미의 표면이 마르지 않도록 하였다. 이때 수침온도 25°C에서 수돗물로 8시간 수침후 발아시킨 발아현미를 대조구로 하였다.

GABA 정량

현미 및 발아현미의 GABA 정량은 Zhang 등의 방법(10)을 사용하였다. Eppendorf tube에 시료 0.1 g을 취한 후 MeOH 400 μ L를 가하고 70-80°C로 조정된 항온조에서 완전 건조시켰다. 여기에 70 mM LaCl₃ 용액 1 mL를 가하여 10분간 흔들여 주고 13,600 g에서 5분간 원심분리 후 상정액 800 μ L를 0.1 M KOH 용액 160 μ L를 미리 넣어둔 eppendorf tube에 가하여 3-5분간 흔들여 주었다. 그리고 이를 13,600×g에서 5분간 원심분리한 후 상정액 550 μ L를 cuvette에 넣었다. 여기에 0.5 M K₄P₂O₇ 용액 200 μ L, 4 mM NADP 용액 150 μ L, 2.0 units Gabase/mL 용액 50 μ L를 각각 혼합하고 340 nm에서 흡광도를 측정하고 여기에 20 mM α -ketoglutarate 용액 50 μ L를 가하여 실온에서 1시간 방치후 340 nm에서 흡광도를 측정하여 측정된 흡광도 값을 표준곡선에 대입하여 GABA량을 구하였으며, 다음 식으로 실제의 GABA 함량을 구하였다.

$$\text{실제 GABA량} = \text{측정된 GABA} \times (100/55.0)$$

통계처리

SAS(Statistical Analysis System)를 사용하여 분산분석을 행한 후 Duncan's multiple range test로 각 시료간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

현미의 침지온도(10-50°C) 및 침지시간(0-8시간)에 따른 GABA

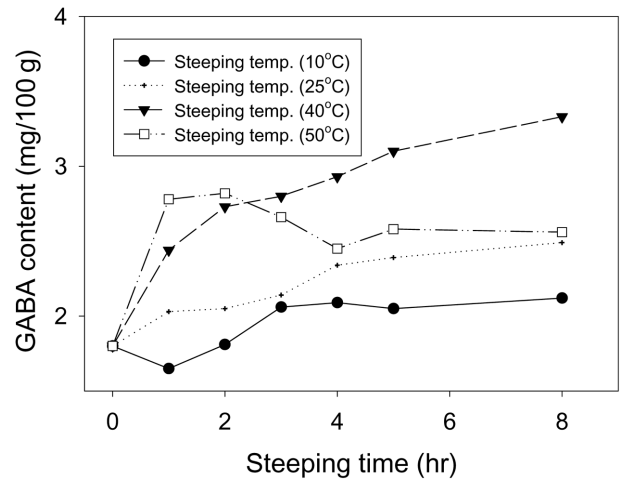


Fig. 1. Changes in GABA contents of brown rices at different steeping temperatures and times.

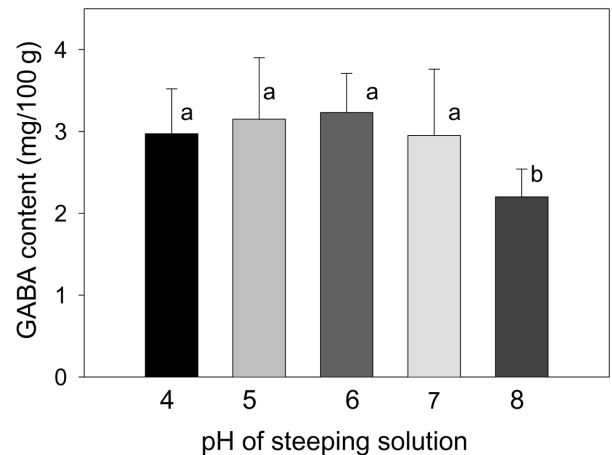


Fig. 2. Changes in GABA contents of brown rices at different pH of steeping solution.

Different letters mean significant difference ($p < 0.05$).

함량 변화는 Fig. 1과 같다. 침지온도 40°C의 경우 침지전 현미의 GABA 함량이 1.80 mg/100 g에서 침지시간이 경과함에 따라 계속 증가하여 8시간 후 GABA 함량이 3.33 mg/100 g으로 가장 크게 증가하였으며, 50°C 침지시에는 약 2시간 까지는 급격히 증가하였으나 그 후 약간 감소하여 평형을 이루는 경향을 나타내었다. 그리고 10°C와 25°C 침지시에는 8시간 경과 후에도 각각 2.12 mg/100 g, 2.49 mg/100 g으로 별다른 증가를 나타내지 않아 온도에 의해 glutamate decarboxylase의 활성이 크게 영향받음을 알 수 있었다.

침지용액의 pH를 4-8로 조정하면서 40°C로 8시간 침지하였을 때의 GABA 양의 변화를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. pH 6에서 3.23 ± 0.48 mg/100 g으로 가장 높게 나타났지만 pH 4-7의 범위에서 GABA 양이 2.95 ± 0.81-3.23 ± 0.48 mg/100 g으로 유의적인 차이를 나타내지는 않았다. 하지만 pH 8에서는 2.20 ± 0.34 mg/100 g으로 크게 감소하는 것으로 나타나 pH 4-7 이외의 범위에서는 GABA 생성량이 영향을 받을 것으로 판단된다. Saikusa 등은 10종의 쌀 품종으로부터 배아를 분리하여 40°C에서 4시간 침지처리하였을 때 대부분의 품종이 침지시간이 증가함에 따라 GABA 함량도 함께 증가하였고 특히 거대 배아미의 일

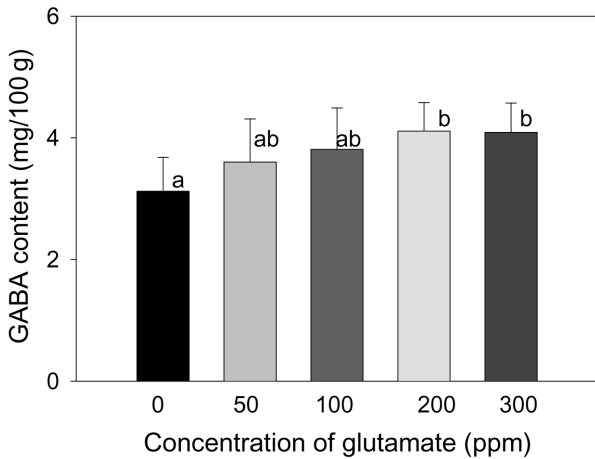


Fig. 3. Changes in GABA contents of brown rices at various concentrations of glutamate in steeping solution. Different letters mean significant difference ($p < 0.05$).

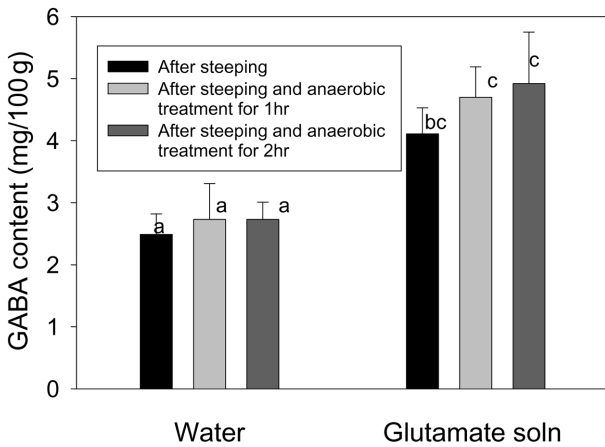


Fig. 4. Changes in GABA contents of brown rices after anaerobic treatment at different steeping solutions. Different letters mean significant difference ($p < 0.05$).

종인 Hokai-269의 경우 처리전 70 mg/100 g에서 처리 후 550 mg/100 g으로 크게 증가하였으며 이는 GABARON tea의 170 mg/100 g의 3배 이상의 값이라고 보고하였다(11). 또한 이들은 쌀 곡립을 침지할 때 침지조건의 변화에 따른 GABA 등의 유리 아미노산의 분포를 조사하여 GABA 생성을 위한 최적 침지조건을 온도 40°C, pH 5.5라고 하였다(12). 또한 Wallace 등(13)과 Streeter 등(14)은 콩잎과 무잎을 이용하여 glutamate decarboxylase의 활성이 GABA-pyruvate transaminase에 비해 높아야 GABA 생성이 일어난다고 하였으며, glutamate decarboxylase의 최적 pH는 5.9, GABA-pyruvate transaminase의 최적 pH는 8.9이기 때문에 약산성의 조건에서 GABA 생성이 쉬운 반면 알칼리성의 조건에서는 GABA 생성이 잘 일어나지 않는다고 하였다.

앞서 확립된 침지조건(40°C, 8시간)으로 현미를 침지할 때 침지용액에 glutamate를 0-300 ppm으로 첨가하였을 때의 GABA 생성량을 비교한 결과는 Fig. 3과 같다. Glutamate를 200 ppm 첨가하였을 때 4.11±0.47 mg/100 g의 GABA 함량을 나타내어 무첨가구의 3.25±0.56 mg/100 g에 비해 유의적으로 증가하였고 200 ppm 이상 첨가구에서는 처리구간 차이가 없는 것으로 나

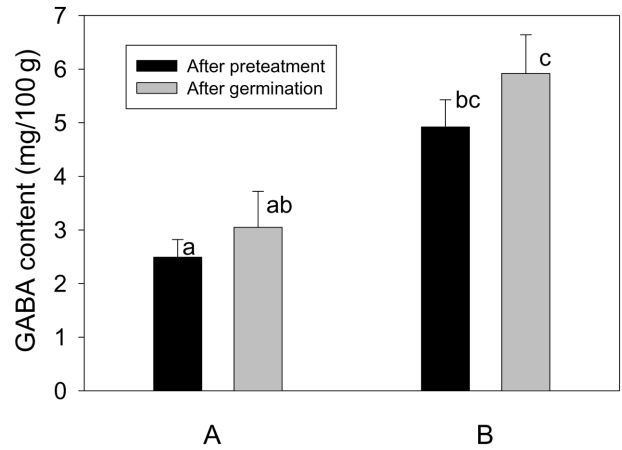


Fig. 5. Changes in GABA contents of brown rices before and after germination at different pretreatment conditions.

A: Brown rices before and after germination for 1 day at 28°C after being steeped for 8 hr at 25°C in tap water. B: Brown rices before and after germination for 1 day at 28°C after being steeped for 8 hr at 40°C in glutamate (200 ppm) solution and treated in anaerobic condition for 2 hr.

Different letters mean significant difference ($p < 0.05$).

타나 GABA 성분 증진을 위한 적정 glutamate 첨가조건을 200 ppm으로 설정하였다. Ohisa 등(15)은 배아미를 glutamate의 함량이 높은 chicken soup로 1시간 처리 후 취반하였을 때 처리 전 4.5 mg/100 g에서 처리후 16.9 mg/100 g으로 GABA의 함량이 증가하였다고 보고하였으며, Oh 등(16,8)도 glutamate의 처리에 의해 발아현미의 GABA 함량이 크게 증가함을 보고하여 첨가된 glutamate가 glutamate decarboxylase의 기질로 이용되어 GABA 함량 증진에 기여하는 것으로 판단되었다.

침지 후의 혐기처리가 현미의 GABA 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 앞의 결과 확립된 침지온도(40°C, 8시간)와 glutamate 첨가조건(200 ppm)으로 현미를 처리한 후 질소가스를 충전하여 밀봉하였다. 밀봉한 상태에서 0-2시간 보관한 현미의 GABA 함량을 측정하고 또한 25°C에서 수돗물에 8시간 침지한 후 위와 동일한 조건으로 혐기처리후 GABA 함량을 측정하여 이들을 비교하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 25°C의 물에 8시간 침지 후 현미의 GABA 함량이 2.49±0.33 mg/100 g, 혐기처리 1시간 후 2.73±0.58 mg/100 g, 혐기처리 2시간 후 2.73±0.28 mg/100 g으로 혐기처리에 의해 GABA 함량이 약간 증가하나 유의적인 차이를 나타내지는 않았다. 반면 확립된 침지온도와 glutamate 첨가조건으로 현미를 처리한 후 혐기처리한 경우에는 침지 직후 4.11±0.42 mg/100 g에서 혐기처리 1시간 후 4.70±0.49 mg/100 g, 혐기처리 2시간 후 4.92±0.83 mg/100 g으로 혐기처리에 의해 GABA 함량이 상당히 증가하였으며 처리시간이 증가할수록 생성량도 증가하는 것으로 나타났다. 또한 수돗물에 침지한 처리구들에 비해 GABA 생성량이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. Sawai 등은 차나무의 줄기와 잎을 혐기처리한 후 아미노산의 변화를 분석한 결과 혐기처리에 의해 GABA의 함량이 크게 증진되었고 특히 줄기에서 많은 증가가 있었다고 보고하였으며(17), 혐기처리와 호기처리를 반복함으로써 차잎의 GABA 함량을 더욱 크게 증진시킬 수 있다고 보고(18)하였다. 또한 Yun 등(19,20)은 보리와 맥아를 혐기처리한 후 유리 아미노산 함량과 탄수화물 가수분해 효소의 활성을 분석한 결과 혐기처리에 의해 GABA 함량이 대

조구에 비해 약 1.4-1.9배 증가하였다고 보고하였다. 식물체에 서의 유리 아미노산 함량은 생합성 경로의 특성 때문에 혐기 상태에서 크게 변화되는데 혐기상태에서 glutamate decarboxylase의 활성이 증가하기 때문에 GABA가 다량 생성되는 것으로 알려져 있다(21).

이상의 결과를 토대로 발아현미의 GABA 함량 증진을 위한 적정 전처리 조건은 침지온도 40°C, 침지시간 8시간, 침지용액 pH 6, glutamate 200 ppm 첨가, 혐기처리 2시간으로 확립하였으며, 이와 같은 전처리에 의해 현미의 GABA 함량이 일반 물침지의 2.49 ± 0.33 mg/100 g에서 4.92 ± 0.83 mg/100 g으로 증가되었다. 이들 전처리 현미를 28°C로 조정된 발아조에서 24시간 동안 발아시켰을 때 일반 물침지한 현미를 발아시킨 대조구의 경우 3.05 ± 0.67 mg/100 g의 GABA 함량을 나타낸 반면 확립된 전처리 방법으로 처리한 현미를 발아시킨 발아현미의 경우 5.92 ± 0.72 mg/100 g의 GABA 함량을 나타내어 대조구에 비해 약 2배의 GABA 함량을 나타내었으며, 이상의 결과를 통해 현미를 적절한 방법으로 전처리함으로써 발아현미의 GABA 함량을 증진시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

요 약

발아현미의 대표적 기능성 성분인 GABA의 함량을 증진시키기 위한 적정 전처리 조건을 확립하기 위하여 여러 가지 침지조건을 검토하였다. 현미를 40°C에서 침지하였을 때 침지시간이 경과함에 따라 GABA 함량이 계속 증가하여 8시간 후 GABA 함량이 3.33 mg/100 g으로 가장 크게 증가하였으며, 침지용액의 pH를 변화하였을 때 pH 4-7 범위에서는 GABA 함량이 큰 차이를 나타내지 않은 반면 pH 8에서는 GABA 함량이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 또한 glutamate 용액을 침지용액으로 사용하였을 때 200-300 ppm의 농도에서 GABA 함량이 4.09 ± 0.48 - 4.11 ± 0.47 mg/100 g으로 glutamate 무첨가구에 비해 크게 증가한 값을 나타내었다. 현미를 침지후 질소가스로서 충전하여 GABA 생성에 대한 혐기처리의 효과를 조사한 결과 4.70 ± 0.49 - 4.92 ± 0.83 mg/100 g의 GABA 함량을 나타내어 혐기처리의 효과가 상당히 큰 것으로 나타났다. 이를 발아시켰을 때 5.92 ± 0.72 mg/100 g의 GABA 함량을 나타내어 실온에서 물 침지하여 발아시킨 경우의 3.05 mg/100 g에 비해 약 2배의 높은 GABA 함량을 나타내어 확립된 전처리 조건이 발아현미의 GABA 함량 증진에 상당히 기여함을 확인할 수 있었다.

문 헌

- Elkhalil EAI, Tinay AH, Mohamed BE, Elsheikh EAE. Effect of malt pretreatment on phytic acid and *in vitro* protein digestibility of sorghum flour. *Food Chem.* 72: 29-32 (2001)
- Sierra I, Vidal-Valverde C. Kinetics of free and glycosylated B6 vitamers, thiamin and riboflavin during germination of pea seeds. *J. Sci. Food Agric.* 73: 307-310 (1999)
- Mwikya SM, Camp JV, Yiru Y, Huyghebaert A. Nutrient and antinutrient changes in finger millet (*Eleusine coracana*) during sprouting. *Lebensm. Wiss. Technol.* 33: 9-14 (2000)
- Bergman EL, Autio K, Sandberg AS. Optimal conditions for phytate degradation, estimation of phytase activity and localization of phytate in barley(cv. Balenheim). *J. Agric. Food Chem.* 48: 4647-4655 (2000)
- Okada T, Sugishita T, Murakami T, Murai H, Saikusa T, Horino T, Onoda A, Kajimoto O, Takahashi R, Takahashi T. Effect of the defatted rice germ enriched with GABA for sleeplessness, depression, autonomic disorder by oral administration. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 47: 596-603 (2000)
- Kumar S, Puneekar NS, SatyaNarayan V, Venkatesh KV. Metabolic fate of glutamate and evaluation of flux through the 4-aminobutyrate (GABA) shunt in *Aspergillus niger*. *Biotechnol. Bioeng.* 67: 575-584 (2000)
- Boun AW, Shelp BJ. The metabolism and function of γ -aminobutyric acid. *Plant Physiol.* 115: 1-5 (1997)
- Oh SH, Lee IT, Park KB, Kim BJ. Changes in the levels of water soluble protein and free amino acids in brown rice germinated in a chitosan/glutamic acid solution. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 17: 515-519 (2002)
- Oh SH, Choi WG. Production of the quality germinated brown rices containing high γ -aminobutyric acid by chitosan application. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 15: 615-620 (2000)
- Zhang G, Bown AW. The rapid determination of γ -aminobutyric acid. *Phytochemistry* 44: 1007-1009 (1997)
- Saikusa T, Horino T, Mori Y. Accumulation of γ -aminobutyric acid (GABA) in the rice germ during water soaking. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 2291-2292 (1994)
- Saikusa T, Horino T, Mori Y. Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1122-1125 (1994)
- Wallace W, Secor J, Schrader LE. Rapid accumulation of γ -aminobutyric acid and alanine in soybean leaves in response to an abrupt transfer to lower temperature, darkness or mechanical manipulation. *Plant Physiol.* 75: 170-175 (1984)
- Streeter LG, Thompson JF. Anaerobic accumulation of γ -aminobutyric acid and alanine in radish leaves (*Raphanus sativus* L.). *Plant Physiol.* 49: 572-578 (1972)
- Ohisa N, Sugawara M, Abe Y, Kumagai M, Takahashi S. Accumulation of γ -aminobutyric acid by rice with germs and chicken soup. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 47: 452-454 (2000)
- Oh SH, Kim SH, Moon YJ, Choi WG. Changes in the levels of γ -aminobutyric acid and some amino acids by application of a glutamic acid solution for the germination of brown rices. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 17: 49-53 (2002)
- Sawai Y, Konomi K, Odaka Y, Yoshitomi H, Yamaguchi Y, Miyama D. Contents of γ -aminobutyric acid in stem of anaerobic incubated tea shoot. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 46: 274-277 (1999)
- Sawai Y, Konomi K, Odaka Y, Yoshitomi H, Yamaguchi Y, Miyama D, Takeuchi A. Repeating treatment of anaerobic and aerobic incubation increases the amount of γ -aminobutyric acid in tea shoots. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 46: 462-466 (1999)
- Yun SJ, Yoo NH. Changes of free amino acid and free sugar contents in barley seedlings in response to anaerobic or cold treatment. *Korean J. Crop Sci.* 41: 139-144 (1996)
- Yun SJ, Choi KG, Kim JK. Effect of anaerobic treatment on carbohydrate-hydrolytic enzyme activities and free amino acid contents in barley malt. *Korean J. Crop Sci.* 43: 19-22 (1998)
- Knight MR, Campbell AK, Smith SM, Trewavas HJ. Transgenic plant aequorin reports the effects of touch and cold shock and elicitors on cytoplasmic calcium. *Nature* 352: 524-526 (1991)

(2004년 7월 16일 접수; 2004년 9월 14일 채택)