

## 홍국균 발효가 콩의 GABA와 유리아미노산 함량에 미치는 영향

표 영 희

성신여자대학교 식품영양학과

### Effect of *Monascus*-fermentation on the Content of GABA and Free Amino Acids in Soybean

Young-Hee Pyo

Dept. of Food and Nutrition, Sungshin Women's University, Seoul 136-742, Korea

#### Abstract

The changes in the contents of GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) and free amino acids (FAA) were analysed by HPLC in soybean fermented with *Monascus pilosus* IFO 480, which showed the highest GABA-producing ability among the five different strains. The significant increase ( $p < 0.05$ ) of GABA was observed in *Monascus*-fermented soybean (MFS) with an average 4.5-fold increase of FAA. The contents of GABA (78.5 mg /100 g dry weight, dw) and FAA (5458.5 mg /100 g dw) were enhanced in MFS compared with unfermented soybean (31.5 mg /100 g dw, 1634.0 mg/100 g dw, respectively) during 30 days fermentation at 30°C. Acidic amino acids (i.e., glutamic acid and aspartic acid) in FAA files were found in large quantities (837.0 mg /100 g dw, 580.5 mg /100 g dw, respectively). Moreover, the sum of essential amino acids of MFS (1681.5 mg /100 g dw) at 20 days fermentation increased by 3.6 times compared with that of the control (469.0 mg /100 g dw). The results indicate that *Monascus*-fermentation have great potential for the enrichment of GABA and free amino acids in soybean.

**Key words:** *Monascus*-fermented soybean, GABA, free amino acids

#### 서 론

콩 단백질에 풍부하게 함유되어 있는 glutamic acid는 glutamate decarboxylase(GAD, 글루탐산 탈탄산효소)에 의해 GABA( $\gamma$ -aminobutyric acid,  $C_4H_9NO_2$ )를 생성하고 succinic acid로 대사된다(1,2). 이 때 외부의 스트레스(기계적인 자극, 온도, 산소결핍, 수분, 스트레스)는 GAD의 활성을 유도하는 한편, GABA가 succinic acid로 대사되는 것을 차단하여 GABA의 농도를 증가시키는 것으로 알려져 왔다(2-5). GABA는 식물과 미생물에서 생합성되는 비단백테 아미노산으로(1), 사람의 신경계와 혈액에 주로 함유되어 있으며 뇌의 골수에 대부분 존재하여 아세틸콜린이라 불리는 신경전달 물질을 증가시켜 뇌기능을 촉진하는 주요한 물질이다(6,7). 특히 연골의 혈관 중추에 작용하여 우수한 혈압강하 작용을 하는 것으로 알려졌다(8-10). GABA의 혈압강하작용에 대해서는 Stanton(8)이 개, 토끼, 돼지, 등에 투여하여 그 효과를 확인하였으며, Yamakoshi 등(10)은 GABA가 다량 함유된 저염간장에 우수한 혈압강하효과가 있음을 보고하였다. 이러한 GABA의 역할로 인해 기능성 식품소재로서의 GABA에 대한 관심도 꾸준히 고조되고 있다.

*Monascus*속의 홍국균은 홍국균속(Monascaceae)에 속하며 균종에 따라 각기 다른 생물활성을 나타낸다. 중국 및 동아시아의 여러 지역에서 오랫동안 사용해온 홍국(red yeast rice, red koji)은 천연의 식품 착색제나 가공품 및 소화 촉진과 혈류개선의 소재로 활용되어 왔다(11,12). 특히 홍국균이 생산하는 콜레스테롤 생합성효소(HMG-CoA reductase) 억제물질인 천연 스타틴(natural statin; monacolin K, mevinolin, lovastatin)의 생산 및 유효성 검증에 관한 최근의 많은 연구결과(11,13,14)는 홍국의 경제적 효용가치를 시사하는 중요한 단서가 된다. 최근 저자는 mevinolin과 이소플라본 등 특정의 유효 활성성분을 증강시킨 고부가가치의 홍국 발효콩을 개발하여(15) 특허 등록하였으며(16), 홍국발효콩 추출물의 항산화능과 ACE(angiotensin I-converting enzyme) 저해능을 탐색하여 홍국발효콩에 잠재된 복합기능성을 평가하여 보고하였다(17,18). 홍국의 혈압강하 성분에 대해서는 아직 명확히 밝혀져 있지 않으나, 전보에(18) 따르면 홍국발효콩의 물 추출물에서 ACE 저해활성이 확인된 분획은 분자량 1~3 kDa 정도의 수용성 물질로 검출되었다. 현재 GABA는 사람에 대한 혈압강하작용이 알려져(9) 주요 성분으로 추정되고 있으나, Rhyu와 Kim(19)은 홍국에 함유

된 GABA 함량만으로는 홍국의 혈압강하효과가 설명되지 않는다 하여 GABA 이외의 다른 수용성 특정성분의 관련성을 제안하였다. 한편 콩에 함유된 이소플라본, 사포닌, 피틴산, 아미노산 등의 생리활성 물질은 미생물과의 발효공정에 따라 다양한 이화학적 변화를 초래하는 것으로 알려져 왔다(20-22). 특히 우리나라의 전통발효 콩 제품인 청국장과 된장의 경우, 발효조건에 따라 일부 성분이 생물전환되거나 증감되는 것으로 보고되어 건강기능성의 대표적인 웰빙식품으로 많은 연구가 이루어져 왔다(20,21). 그러나 홍국균의 콩 기질에 대한 발효는 까다로운 발효조건으로 인해 그 정보가 한정되어 있으며 특히 발효과정 중의 GABA와 유리아미노산 함량에 대한 정보는 거의 알려지지 않았다. 따라서 본 연구는 선행 연구에서(23) 선별된 5종의 *Monascus* sp.의 균주를 대상으로 콩 기질에 대한 GABA의 생성량을 평가하여 가장 적합한 우량균주를 선발하였고, 선정된 균주로 발효시킨 홍국균 발효콩의 발효과정 중 변화되는 GABA와 유리아미노산의 함량을 측정하여 그 결과를 비발효콩과 비교 평가하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배양조건

선별된 5종(*M. pilosus* IFO 480, *M. anka* IFO 873, *M. kaoliang* ATCC 592, *M. purpurea* IFO 482, *M. kaling* ATCC 598)의 균주를 포자형성 배지인 PDA(potato dextrose agar, Difco, MI, USA) plate에 접종하여 30°C에서 7일간 배양한 후, 영양배지인 성장배지(rice powder 34 g/L, peptone 11 g/L, glycine 26 g/L, glucose 129 g/L)의 제조에 사용하였다. 이를 진탕배양기(30°C, 150 rpm)로 다시 4일간 배양하여 본발효인 홍국균 발효콩의 생산배지에 활용하였다.

홍국균 발효콩 제조

콩(백태, 강원도 평창, 2006년 생산)을 12시간 이상 침지한 다음, 물빼기를 한 시료 100 g(수분함량 55~60%)을 500 mL의 삼각플라스크에 넣고 지진으로 밀봉한 뒤, 121°C에서 20분간 멸균하여 본 실험의 기질로 사용하였다. 액체배지를 시료 중량의 10%(v/w; 10<sup>6</sup> cfu/mL)를 취하여 멸균한 콩시료에 무균적으로 접종한 다음 30°C의 배양기에서 30일간 발효하면서 경시적으로 일정량을 채취하여 동결 건조하였다(홍국균 발효콩, *Monascus*-fermented soybean; MS). 이 때 홍국균을 접종하지 않은 멸균한 시료 역시 동일 조건에서 배양한 다음 동결 건조하여 실험의 대조군으로 사용하였다(비발효콩, Unfermented soybean; US).

GABA 및 아미노산 측정

홍국균 발효콩 에 함유된 GABA 및 유리아미노산의 추출 및 분석은 Mengerink 등(24)과 Rozan 등(25)의 방법을 일부 수정하여 적용하였다. 액체질소로 마쇄한 시료 파우더에 메

탄올 : 클로로포름 : 물(13:5:2)의 혼합액을 가하여 추출한 시료를 동결건조한 뒤 PITC(Phenylisothiocyanate 99%, Aldrich, WI, USA)로 유도체화 하여 건조시켰다. 건조 시료를 200 µL의 혼합용매(1.4 mM NaHAc+0.1% Triethylamine +6% CH<sub>3</sub>CN; pH 6.1)에 녹인 후, 0.45 µm PVDF 필터(Millipore Co, Bedford, Mass, USA)로 여과한 다음 HPLC(2690 Waters, MA, USA)의 자동주입기(autosampler)에 안치하였다. Column(Waters Nova-Pak C<sub>18</sub>, 3.9×300 mm, 4 µm)으로부터 유도체를 용출하기 위해 용매(60% CH<sub>3</sub>CN)는 직선 구배식(linear gradient, 0~100%)으로 분당 1 mL의 유속으로 흘러주었다. 홍국 발효콩 시료에 함유된 GABA 및 아미노산의 함량은 표준 GABA 및 표준 아미노산의 분석결과와 비교하여 산출하였다.

통계처리

실험결과는 평균과 편차로 표시하였고, Duncan의 다중검정을 사용하여 평균값 간의 유의성을 0.05% 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

균주(*Monascus* sp.)의 영향

선행 연구(23)에서 20여종의 *Monascus* 균주를 콩에 접종시켜 발효한 시료 중, 유효 활성성분인 mevinolin(natural statin)의 산출량이 0.01% 이상이면서 동시에 유해산물인 citrinin의 생산량이 미검출된 5가지 균주를 선별하여 홍국균 발효콩의 GABA 함량을 측정한 실험결과는 Table 1과 같다. Table 1에서와 같이 균주에 따른 GABA의 생성량에는 0.05% 유의수준에서 균주간에 차이가 없는 것으로 나타났으나, *M. pilosus* IFO 480의 경우, 다른 균주에 비해 동일 발효조건에서 mevinolin의 생산량이 0.15% 이상이면서 GABA의 함량 역시 건조발효콩 100 g당 66.4 mg으로 나타나 가장 양호한 균주로 평가되었다. GABA의 생산량은 발효콩 건조시료 100 g당 63.1~66.4 mg으로 나타났으며 비발효콩(31.4 mg)에 비해 모두 2배 이상 높은 것으로 비교되었다. 이와 같은 결과는 일부 lactic acid bacteria(7,26,27)와 *Monascus*(28) 및 *Rhizopus*(29) 속의 곰팡이가 배양 조건에서 GABA의 함량을 증가시켰다는 보고와 일치하였다. 즉 Cho

Table 1. The production of GABA from soybean fermented with *Monascus* sp. at 30°C for 20 days

| Strains                     | GABA (mg /100 g dry fermented soy) |
|-----------------------------|------------------------------------|
| <i>M. pilosus</i> IFO 480   | 66.4±5.4 <sup>a</sup>              |
| <i>M. anka</i> IFO 873      | 63.1±4.6 <sup>a</sup>              |
| <i>M. kaoliang</i> ATCC 592 | 64.2±6.2 <sup>a</sup>              |
| <i>M. purpurea</i> IFO 482  | 65.8±5.7 <sup>a</sup>              |
| <i>M. kaling</i> ATCC 598   | 64.3±4.1 <sup>a</sup>              |

All data are expressed as mean±SD. Different letters indicate significantly different values (p<0.05) (vertical comparison on each time).

등(7)은 김치에서 분리한 *Lactobacillus buchneri*와 글루탐산을 보강한 배양물에서 상당량의 GABA 함유 추출물을 생산하여 보고하였으며, Kono와 Himeno(28)는 *Monascus pilosus* IFO 4520을 쌀에 접종하여 *beni-koji*를 제조할 때 발효 5일째에 GABA의 함량이 최대가 되었다고 하였다. 특히 Aoki 등(29)은 *Rhizopus* 속의 곰팡이를 콩에 접종하여 혐기적 조건에서 배양하면 GABA의 함량이 호기적 조건에서보다 5~6배 이상 증가되었음을 보고하였다. 이상의 결과는 콩 단백질을 분해하는 단백질 분해효소 및 GAD가 해당 미생물에서 유도되었음을 시사하며, 특정의 발효조건은 GAD의 활성을 유도하여 GABA의 함량을 매우 효율적으로 강화하는 것을 알 수 있다. 일반적으로 GABA는 미토콘드리아에서  $\gamma$ -aminobutyric acid aminotransferase와 succinate semialdehyde dehydrogenase에 의해 succinic acid로 전환되어 궁극적으로 TCA cycle에서 대사되는데(1,3), 이때 GAD의 활성에 영향을 주는 중요한 인자는 pH,  $Ca^{+2}$ , calmodulin 등으로, 여러 환경적 스트레스 요인은 식물 세포내 칼슘농도의 증가와 수소이온 농도를 증가시켜 GABA 농도를 증가시키는 것으로 보고되었다(1,2). 본 실험 결과, 홍국 발효 역시 콩에 다량 함유된 글루탐산을 GABA로 전환할 수 있는 유효한 발효기법의 하나로 나타났다. 따라서 이후의 실험은 mevinolin의 생산량이 가장 높으면서 동시에 GABA의 함량을 증가시킬 목적으로 *M. pilosus* IFO 480을 홍국균 발효콩 제조에 사용한 후 그 결과를 비교 평가하였다.

#### GABA 함량의 변화

홍국균 발효콩의 발효과정 중 GABA 함량의 변화는 Fig. 1과 같이 나타났다. 홍국균을 접종하지 않은 대조군의 시료에 비해 홍국 발효콩의 시료는 발효 10일 경부터 GABA 함량이 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 가장 두드러진 증가 현상은 발효 20일경에 관찰되었으며 건조물 100 g당 대조군의 31.5 mg에 비해 78.5 mg으로 2.5배의 증가를 보였고 그 이후는 그다지 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 이 같은

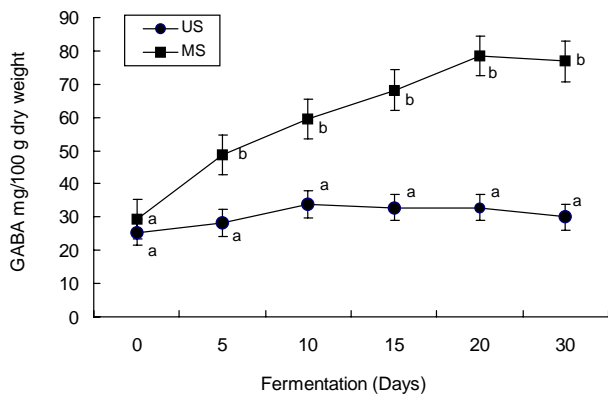
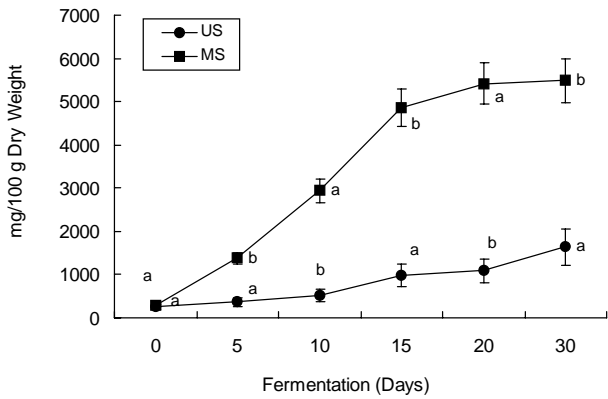


Fig. 1. Effect of fermentation with *Monascus pilosus* IFO 480 in soybean on  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) content. All data are expressed as mean  $\pm$  SD. Different letters between two samples represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

결과는 홍국균 발효콩을 통성 혐기적 조건에서 여러 시간 발효하는 동안 *Monascus* 균주 생장단계의 대수기 중간인 15~20일 정도에서 가장 GABA의 축적이 높았으나, 정지기의 20일 이후에는 소량의 GABA가 축적되었기 때문으로 해석할 수 있다. Aoki 등(29)에 따르면 *Rhizopus*로 콩을 발효시켜 제조한 템페의 경우, *Rhizopus*의 생육단계의 대수기 중간에 가장 GABA의 축적이 높았다고 하여 미생물의 높은 대사활성이 GABA의 효율적인 축적을 야기하는 것을 알 수 있다. 특히 발효콩의 GABA 함량은 초기 산소농도가 감소할수록, 혐기적 배양시간이 늘어날수록 증가되었으며 엄격한 혐기적 조건일수록 발효콩의 GABA 함량은 강화되었다고 한다(29,30). 일반적으로 곰팡이나 세균과 같은 미생물의 생장은 호기적에서 혐기적으로 생육조건이 갑자기 바뀔 때 세포내 대부분의 단백질과 핵산의 자가분해(autolysis)를 촉진하므로 발효물 제조 시 더욱 엄격한 혐기적 조건은 GABA의 축적에 유리한 것으로 보고되었다(31,32). 가령, 콩을 호기적 조건에서 발효하면 발효콩의 pH는 알칼리로 전환되는데 이는 아미노산의 탈아미노 반응에 따라 암모니아가 생성되기 때문일 것이다. 그러나 혐기적 배양후의 발효콩의 pH는 약 5~6 정도로 나타나 GAD의 최적 pH조건과 일치하므로 발효콩 제조 시 혐기적 조건에 의한 기질의 산성화는 발효콩의 GABA 축적을 유도할 수 있는 중요한 변수가 된다(29-32). 비슷한 여러 형태의 *R. microsporus* var. *oligosporus*로 혐기적 발효시킨 콩의 GABA 함량은 건조 발효콩 100 g당 700~1700 mg으로 나타나(29), 실제로 본 실험에 비해 10배 이상의 훨씬 높은 함량으로 비교되었다. 차후에 홍국균 발효콩도 GABA의 수율만을 목적으로 실험할 경우, 배양실의 가스 조건을 변화시킨다면 본 실험의 결과보다 더 높은 수준으로 생산할 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 Kono와 Himeno가 보고(28)한 홍국 쌀의 50 mg에 비하면 홍국 발효콩에 함유된 GABA의 함량은 78.5 mg으로 1.6배 더 높은 수준으로 나타나 GABA의 수율 측면에서 콩은 쌀에 비해 효율적인 기질로 평가할 수 있다.

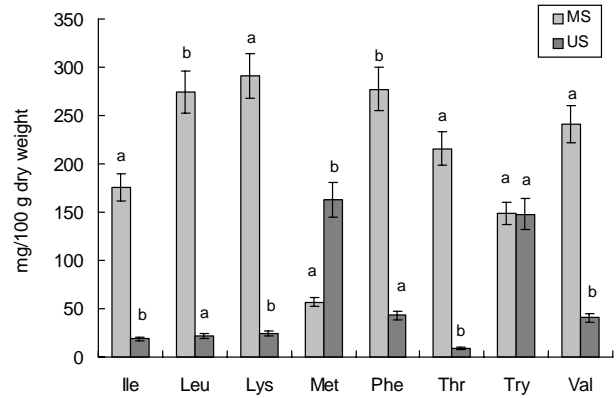
#### 총 유리아미노산 함량의 변화

*M. pilosus* IFO 480으로 원료 콩을 발효(30°C, 30일)시킬 때, 발효기간 중 총 유리아미노산 함량의 변화를 나타낸 결과는 Fig. 2와 같다. 그림에서와 같이 홍국 발효콩 시료에 함유된 유리아미노산의 총량은 비발효콩에 비해 모든 구간에서 3.3~5.6배 정도 높게 나타나( $p < 0.05$ ) 홍국균에 의한 콩단백질의 분해는 매우 빠르게 진행되었음을 알 수 있다. 특히 발효 10일 경에 홍국 발효콩의 유리아미노산의 함량은 2936.2 mg으로 비발효콩의 521.9 mg에 비해 5.6배로 증가되어 20일까지 약 5배 정도로 높은 수준을 유지하였다. 이 같은 결과는 Baumann 등(30)의 결과와 일치하는 것으로, *Rhizopus* spp.로 발효시킨 인도네시아의 전통 콩발효 식품인 템페 역시 발효하지 않은 콩에 비해 상당량의 펩티드와 유리아미노

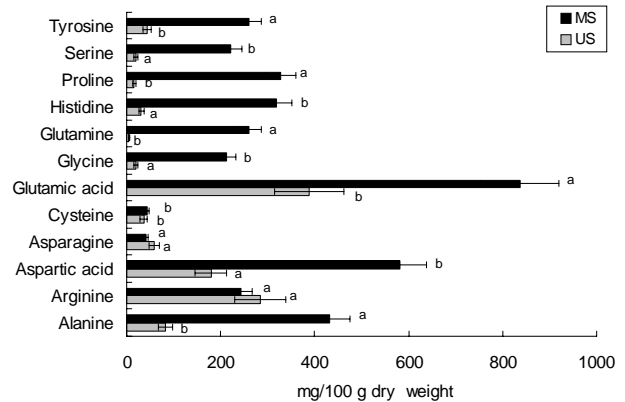


**Fig. 2.** The changes of total free amino acids content during the soybean fermentation with *Monascus pilosus* IFO 480. All data are expressed as mean  $\pm$  SD. Different letters between two samples represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

산을 함유하는 것으로 보고하였다. 본 실험결과, 특히 필수 아미노산 함량의 변화가 두드러져 Fig. 3과 같이 methionine을 제외한 7종의 모든 필수아미노산의 함량이 비발효콩에 비해 최대 24배까지 증가되었다( $p < 0.05$ ). Threonine의 경우, 비발효콩에 비해 그 함량이 24배 증가되었고, leucine과 lysine은 모두 12배 이상 증가한 것으로 나타났다. 일반적으로 유헴함유 아미노산인 methionine과 cysteine은 콩의 대표적인 제한아미노산으로 조리에 의해 쉽게 파괴되는 것으로 알려져 있으나(20,30), 홍국균 발효콩은 methionine의 함량만 비발효콩에 비해 65.3% 감소되었고 cysteine은 오히려 20.8% 증가된 것으로 나타났다. 메주 숙성 동안 함유된 아미노산의 변화에 따르면 arginine과 histidine은 숙성 1개월부터 급속히 파괴되는 것으로 보고되었고(20), histidine, arginine, methionine 역시 가장 심하게 파괴되는 것으로 나타났다(30). 그러나 홍국균에 의한 콩발효는 대부분의 필수아미노산의 함량을 증가시킬 뿐 아니라 총 유리아미노산에 대한 필수아미노산의 함량도 30.8%로 비발효콩의 28.7%에 비해 7.3% 늘어난 것으로 평가되었다. 한편 glutamic acid와 aspartic acid의 산성 아미노산 함량의 변화는 Fig. 4에서와 같이 비발효콩에 비해 발효 후 aspartic acid는 224.3%, glutamic acid는 115.7% 증가된 것으로 나타나, 발효공정이 두 산성아미노산의 전체적인 함량의 증가에 긍정적인 영향을 미친 것으로 비교되었다. 전체 유리아미노산의 함량에서 염기성 아미노산(lysine, histidine, arginine)이 차지하는 비율은 비발효의 20.8%와 홍국발효콩의 15.6%로 나타나 총 유리아미노산 함량에 대한 증감율은 홍국발효콩이 오히려 감소한 것으로 나타났다. 그러나 각 아미노산별로 발효전후의 함량변화를 살펴보면, 홍국균 발효는 histidine과 lysine이 각각 1112.5%와 838.7% 증가하였으며 arginine의 함량은 발효후 14.7% 감소한 것으로 비교되었다. 그 밖에 asparagine과 arginine을 제외한 나머지 10종류의 비필수아미노산의 함량 역시 Fig. 4에서와 같이 홍국균 발효에 의해 1.2~20.4



**Fig. 3.** Effect of fermentation with *Monascus pilosus* IFO 480 in soybean on essential amino acids contents. All data are expressed as mean  $\pm$  SD. Different letters between two samples represent significant differences ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 4.** Effect of fermentation with *Monascus pilosus* IFO 480 in soybean on non-essential amino acids contents. All data are expressed as mean  $\pm$  SD. Different letters between two samples represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

배까지 증가되었다. 특히  $\alpha$ -aminoglutaric acid인 glutamine의 함량은 건조물 100 g당 비발효콩 5.0 mg에 비해 홍국균 발효콩은 259.5 mg로 나타나, 무려 52배나 증가하였다. 그러나 asparagine과 arginine의 함량은 비발효콩에 비해 각각 28.8%와 14.7% 감소된 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 Park 등의 보고(20)와 일치하는 것으로, 메주 숙성 동안 콩에 함유된 arginine과 유헴아미노산은 숙성이 진행될수록 희소율이 감소되었다고 한 것과 비슷한 경향으로 해석할 수 있다. 그러나 혐기적 조건에서 발효한 콩시료의 경우, 호기적 조건에 비해 총 유리아미노산의 함량은 물론 alanine의 함량도 현저하게 증가하여 GABA에서처럼 혐기적 배양조건이 중요한 영향 인자로 보고되었다(29-32). 즉 Aoki 등(29)에 따르면 혐기적 조건은 미생물 세포 균사체(mycelia)의 자가분해를 촉진하고 단백질분해효소인 proteases의 누출을 야기하므로 발효콩에서 GABA와 유리아미노산의 함량 증대에 중대한 영향을 미친다 하였다. 홍국균 발효콩에 함유된 유리아미노산의 함량은 건조물 100 g당 glutamic acid가

837.0 mg으로 가장 많이 함유되었으며 aspartic acid(580.5 mg), alanine(432.0 mg), proline(327.0 mg), histidine(319.5 mg)의 순으로 나타났다(Fig. 4). 필수아미노산 중에서 lysine의 함량은 291.1 mg으로 가장 높았고 phenylalanine(277.5 mg), leucine(274.5 mg)의 순으로 그 함량이 비교되었다(Fig. 3). 따라서 홍국균 발효콩은 발효 동안 원료콩에 함유된 단백질을 효율적으로 분해하여 총 유리아미노산의 함량을 최대 5.6배까지 증가시키는 것으로 나타났다. 최근의 식이성 유리아미노산과 펩티드에 대한 영양적 가치에 대한 연구보고(33,34)에 따르면, 식품내의 유리아미노산과 올리고펩티드의 강화는 맛난 맛의 증진뿐 아니라 빠른 흡수(34) 및 근육단백질의 강화(25,33), 그리고 항산화작용(35)과 같은 몇 가지 영양적 장점이 부각되어 왔다. 따라서 새롭게 개발된 홍국 발효콩은 선행 보고(15,23)에서와 같이 천연 항콜레스테롤 약재 성분인 mevinolin 이외에 GABA 및 여러 가지 유리아미노산의 함량이 풍부하여 이미 알려진 항고혈압(8-10,18) 및 항산화능(17,18) 이외의 다른 약리학적 기능도 잠재되어 있을 것으로 기대된다. 특히 threonine, leucine, lysine 등의 특정 필수아미노산의 함량은 비발효콩에 비해 12~24배까지 높게 함유되어 성장기 어린이나 회복기 환자와 같은 필수 아미노산의 필요량이 강화될 필요가 있는 사람의 병원식이 및 영양보충 소재로서의 잠재적 가치도 매우 높을 것으로 기대할 수 있다.

## 요 약

콩 기질에 대한 홍국균의 접종 발효는 원료 콩에 함유된 GABA와 유리아미노산의 함량을 강화시키는 유효한 발효 기법으로 나타났다. 선별된 5가지 균주(*M. pilosus* IFO 480, *M. anka* IFO 873, *M. kaoliang* ATCC 592, *M. purpurea* IFO 482, *M. kaling* ATCC 598)로 발효시킨 홍국 발효콩은 비발효콩에 비해 GABA의 함량이 2배 이상 증가되는 것으로 나타났으며, 가장 활성이 강한 균은 *Monascus pilosus* IFO 480으로 나타났다. *Monascus pilosus* IFO 480으로 30°C에서 30일간 발효시킨 홍국 발효콩의 발효기간 중 GABA(발효 20일)와 유리아미노산(발효 10일) 함량의 최대 변화는 비발효콩에 비해 각각 2.5배와 5.6배 증가되었다. 특히 발효 20일 경에 GABA의 생성량은 건조 발효콩 100 g당 78.5 mg으로 나타나 비발효콩의 31.5 mg에 비해 149% 증가된 것으로 비교되었다. 또한 홍국 발효콩에 함유된 필수아미노산의 함유율은 비발효콩에 비해 3.6배 증가되었으며 특히 threonine, leucine, lysine 등의 증가율은 비발효콩에 비해 12~24배까지 두드러져 홍국 발효콩은 이들 아미노산의 강화에 매우 유효한 발효기법으로 나타났다. 따라서 GABA와 필수아미노산의 함량이 강화된 홍국 발효콩은 다양한 약리학적 소재뿐 아니라 영양학적 소재류에서도 매우 활용가능성이 높은 복합기능성의 신소재로 평가할 수 있다.

## 감사의 글

본 연구는 성신여자대학교 학술논문 연구비 지원으로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Shelp BJ, Bown AW, McLean MD. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in Plant Science* 4: 446-452.
- Wallace W, Secor J, Schrader LE. 1984. Rapid accumulation of  $\gamma$ -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.
- Erlander MJ, Tobin AJ. 1991. The structural and functional heterogeneity of glutamic acid decarboxylase: a review. *Neurochem Res* 16: 215-226.
- Ueno H. 2000. Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase. *J Mol Catal* 10: 67-79.
- Crawford LA, Bown AW, Breitkreuz KE, Guinel FC. 1994. The synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid in response to treatments reducing cytosolic pH. *Plant Physiol* 104: 865-871.
- Guin TWC, Bottiglieri T, Carter SO. 2003. GABA,  $\gamma$ -aminobutyric acid, and neurological disease. *Ann Neurol* 6: 3-12.
- Cho YU, Chang JY, Chang HC. 2007. Production of GABA by *Lactobacillus buchneri* isolated from *Kimchi* and its neuroprotective effect on neuronal cells. *J Microbiol Biotechnol* 17: 104-109.
- Stanton HC. 1963. Mode of action of  $\gamma$ -aminobutyric acids on the cardiovascular system. *Arch Int Pharmacodyn* 143: 195-204.
- Inoue K, Shirai T, Ochiai H, Kasao M, Hayakawa K, Kimura M. 2003. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing  $\gamma$ -aminobutyric acid in mild hypertensives. *Eur J Clin Nutr* 57: 490-495.
- 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.
- Endo A. 1979. Monacolin-K, a new hypocholesterolemic agent produced by *Monascus* species. *J Antibiot* 32: 852-854.
- Ma J, Li Y, Ye Q, Li J, Hua Y, Ju D, Zhang D, Cooper R, Chang M. 2000. Constituents of red yeast rice, a traditional chinese food and medicine. *J Agric Food Chem* 48: 5220-5225.
- Manzoni M, Rollini M. 2002. Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol-lowering drugs. *App Microbiol Biotechnol* 58: 555-564.
- Wang IK, Lin-Shiau SY, Chen PC, Lin JK. 2000. Hypotriglyceridemic effect of Ankak (fermented rice product of *Monascus* sp.) in rat. *J Agric Food Chem* 48: 3183-3189.
- Pyo YH. 2007. Production of a high value-added soybean containing bioactive mevinolin and isoflavones. *J Food Sci Nutr* 12: 29-34.
- Pyo YH, Lee YC. 2007. Production method of *Monascus*-fermented soybean. *Korea Patent* 10-0734612.

17. Pyo YH. 2007. Comparison of antioxidant potentials in methanolic extracts from soybean and rice fermented with *Monascus* sp. *Food Sci Biotechnol* 16: 451-456.
18. Pyo YH, Lee TC. 2007. The potential antioxidant capacity and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of *Monascus*-fermented soybean extracts: Evaluation of *Monascus*-fermented soybean extracts as multifunctional food additives. *J Food Sci* 72: S218-S223.
19. Rhyu MR, Kim EY. 2002. The relations between anti-hypertensive effect and  $\gamma$ -aminobutyric acid, mycelial weight and pigment of *Monascus*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 737-740.
20. Park JS, Lee MR, Kim JS, Lee TS. 1994. Compositions of nitrogen compound and amino acid in soybean paste (*Doenjang*) prepared with different microbial sources. *Korean J Food Sci Technol* 26: 609-615.
21. Kim MH, Kang WW, Lee NH, Kwon DJ, Kwon OJ, Chung YS, Hwang YH, Choi UK. 2007. Changes in quality characteristics of *cheonggukjang* made with germinated soybean. *Korean J Food Sci Technol* 39: 676-680.
22. Kim TJ, Sung CH, Kim YJ, Jung BM, Kim ER, Choi WS, Jung HK, Chun HN, Kim WJ, Yoo SH. 2007. Effects of soaking-fermentation drying process on the isoflavone and  $\gamma$ -aminobutyric acid contents of soybean. *Food Sci Biotechnol* 16: 83-89.
23. Pyo YH. 2006. Optimum conditions for production of mevinolin from the soybean fermented with *Monascus* sp. *Korean J Food Sci Technol* 38: 256-261.
24. Mengerink Y, Kutlan D, Toth F, csampai A, Molnar-Perl I. 2002. Advances in the evaluation of the stability and characteristics of the amino acid and amine derivatives obtained with the *o*-phthalaldehyde/3-mercaptpropionic acid and *o*-phthalaldehyde/*N*-acetyl-L-cysteine reagents. HPLC-mass spectrometry study. *J Chromatogr A* 949: 99-124.
25. Rozan P, Kuo YH, Lambein F. 2000. Free amino acids present in commercially available seedlings sold for human consumption. A potential hazard for consumers. *J Agric Food Chem* 48: 716-723.
26. 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.
27. Choi SI, Lee JW, Park SM, Lee MY, Ji GE, Park MS, Heo TR. 2006. Improvement of GABA production using cell entrapment of *Lactobacillus brevis* GABA 057. *J Microbiol Biotechnol* 16: 562-568.
28. Kono I, Himeno K. 2000. Changes in  $\gamma$ -aminobutyric acid content during *beni-koji* making. *Biosci Biotechnol Biochem* 64: 617-619.
29. Aoki H, Uda I, Tagami K, Furuya Y, Endo Y, Fujimoto K. 2003. The production of a new *Tempeh*-like fermented soybean containing a high level of  $\gamma$ -aminobutyric acid by anaerobic incubation with *Rhizopus*. *Biosci Biotechnol Biochem* 67: 1018-1023.
30. Baumann U, Bisping B, Rehm HJ. 1991. Content and release of amino acids during the fermentation of tempe by several strains of *Rhizopus* sp. Dechema Biotechnology Conference. Behrens D, Wiley Europe, Weinheim. Vol 4, p 205-208.
31. Kono I, Himeno K. 2002. Accumulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in *beni-koji* after anaerobic incubation. *J Brew Soc Japan* 97: 785-790.
32. Streeter JG, Thompson JF. 1972. Anaerobic accumulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid and alanine in radish leaves (*Raphanus sativus* L.). *Plant Physiol* 49: 572-578.
33. Kamiya T. 2002. Biological functions and health benefits of amino acids. *Food Ingredients J Jpn* 206: 33-44.
34. Aoyama N, Fukui K, Yamamoto T. 1996. Effect of various forms of force-fed nitrogen sources on gastric transit times in rat. *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi* 49: 46-51.
35. Hoppe MB, Jha HC, Egge H. 1997. Structure of antioxidant from fermented soybeans (*tempeh*). *J Am Oil Chem Soc* 74: 477-479.

(2008년 7월 28일 접수; 2008년 9월 9일 채택)