

Isolation and identification of soycurd forming lactic acid bacteria which produce GABA from kimchi

Eun-Ah Kim¹, So-Yon Mann¹, Su-In Kim¹, Ga-Young Lee¹, Dae-Youn Hwang²,
Hong-Joo Son³, Chung-Yeol Lee⁴, Dong-Seob Kim^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

²Department of Biomaterial Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

³Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

⁴Miryang Wellbeing Industry Association, Miryang 627-881, Korea

김치로부터 GABA를 생산하는 커드 형성 젖산균의 분리 및 동정

김은아¹ · 맹소연¹ · 김수인¹ · 이가영¹ · 황대연² · 손홍주³ · 이충렬⁴ · 김동섭^{1*}

¹부산대학교 식품공학과, ²부산대학교 바이오소재학과

³부산대학교 생명환경화학과, ⁴밀양웰빙산업협회

Abstract

Gamma amino butyric acid (GABA), known as a non-protein amino acid and major inhibitory neurotransmitter in the brain, has several functional properties such as neurotransmission, induction of hypotension, tranquilizer, and diuretic effects. The purpose of this study was to isolate and identify lactic acid bacteria, producing high GABA in fermented soy curd. Thirty-two strains of tofu-forming lactic acid bacteria were isolated from kimchi which a traditional Korean food fermented with many kind of microorganism. Among 32 strains, four strains (strain No. 10, 104, 214, 249) formed firm soycurd. In order to select lactic acid bacteria having high GABA producing potential, the isolated strains were cultured in the soymilk and fermented for 48 hr at 37°C. A strain No. 383, which showed highest GABA contents in fermented soycurd, was identified as *L. sakei* by 16S rDNA sequencing and API analysis, and named as *L. sakei* 383. *L. sakei* 383 showed optimal growth up to 24 hr at 35°C in MRS broth. The optimal time and temperature for GABA production were 18 hr and 35°C in soymilk. In the optimal condition time and temperature, GABA content of fermented soycurd by *L. sakei* 383 was 8.65 mg/100 g.

Key words : gamma amino butyric acid (GABA), kimchi, lactic acid bacteria, soycurd

서 론

최근 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 영양과 기능성을 강조한 건강 보조식품들이 각광받고 있고 생리활성물질이 풍부한 식물성 재료에 관한 연구가 활발해지면서 대두가 건강 식품으로 주목 받고 있다(1,2). 대두는 육류자원이 부족한 우리 민족에게 곡류에서 부족되기 쉬운 필수 아미노산과 필수지방산의 주된 공급원이며 mineral, oligosaccharide, dietary fiber, isoflavone, phytate, saponin, lecithin, phenolic

acids 등의 다양한 생리 활성 물질들이 함유되어 있어 골다공증 예방, 혈중 콜레스테롤 저하, 혈압 강하, 항산화, 항암, 항비만, 고지혈증 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(3-5). 이렇듯 풍부한 영양학적인 가치를 지니는 대두도 콩비린내를 유발하는 lipoxxygenase, 위와 장에서 gas를 생산하는 flatulence 뿐만 아니라 trypsin inhibitor, phytic acid 등의 장애요인이 있어 이용에 제한을 받고 있으며 이를 해결하기 위한 일환으로 발효에 관한 연구가 진행되고 있다(6).

유산균은 당류를 발효해서 젖산을 생성하는 세균으로 발효유, 간장, 된장, 치즈 및 김치 등 전통적인 발효식품의

*Corresponding author. E-mail : kds@pusan.ac.kr
Phone : 82-55-350-5356 Fax : 82-55-350-5359

제조에 starter로서 이미 이용되고 있고 또한 유산균에 의한 유산발효, 단백질 및 지방분해 작용으로 발효식품의 저장성을 높이고 풍미를 향상시키고 있다(7,8). 오늘날에는 유산균이 건강에 좋다는 인식이 확산되면서 유산균을 이용한 산업이 다양해지고 이를 이용한 제품 개발이 활발해지고 있다(9).

γ -Aminobutyric acid(GABA)는 혈류를 개선하며 뇌의 산소 공급을 증가시켜 뇌의 대사 촉진 및 뇌 기억을 증진시키며(10) 연수의 혈관 증추에 작용하여 항 이노호르몬인 바소프레신의 분비를 억제하고 혈관을 확장시켜 혈압을 낮추는 고혈압 저하 효과 및 신경 안정 효과 등의 생리 활성 기능이 있다(11). 그 밖에도 성장 호르몬의 분비 조절(12), 통증 완화(13), ACE 저해 활성(14) 등이 있어 생리학적으로 매우 유익한 물질이다. GABA는 혐기적으로 처리한 녹차, 발아시킨 쌀, 김치, 홍국, 치즈, 발효유 등 다양한 식품에 함유되어 있으나(15-17) 함량이 낮아 생리 작용을 나타내는 농도를 얻기 어렵다고 알려져 있다. 최근에는 발효 제법을 이용한 GABA의 생산이 연구되고 있으나 아직은 수율이 낮은 형편이며 합성 GABA의 경우 식욕 부진, 설사, 변비 등의 부작용이 보고되고 있다(18). 이러한 문제를 보완하기 위해 GABA 생산 능력이 있는 미생물을 탐색한 결과, 쌀, 콩, 김치의 발효 식품에서 분리한 유산균이 매우 높은 GABA 생산 능력을 가지는 것이 밝혀졌다. 특히 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* 등의 유산균이 고농도의 GABA를 생산한다고 알려져 있다(19,20).

최근에는 GABA를 건강 기능성 식품 소재로 이용할 목적으로 GABA를 첨가한 식품이나 음료가 개발되어 판매되고 있으나 미생물에 의해 생성된 GABA를 식품에 적용한 연구는 거의 없다. 본 연구에서는 김치유산균을 이용한 GABA 함유 soycurd 제조를 통해 전통 식품의 새로운 기능성 식품으로의 개발 가능성을 제시하고자 하였다. 따라서 전통 발효 식품인 김치로부터 유산균을 분리한 후 GABA 생산성이 우수한 균주를 선발하여 동정하고 고농도의 GABA 생산을 위한 최적 배양 조건을 확립하였다.

재료 및 방법

유산균의 분리

시중에 구입한 김치와 가정에서 섭취하고 있는 김치를 수집하여 시료로 사용하였다. 김치국물시료 1 mL를 시험관에 넣고, 멸균된 증류수를 가하여 $10^5 \sim 10^6$ 의 농도로 희석하여 2% CaCO₃가 첨가된 MRS(Difco, Sparks, MD, USA) 21152, USA) 한천평판배지에 도말한 후 37°C에서 24시간 동안 배양하여 균락 주위에 투명한 환을 형성하는 균을 1차 선별하였다.

두유에서 curd를 형성하는 균주 선발

대두 100 g을 6시간 동안 물에 침지하여 불린 다음 물을 제거하고 증류수 800 mL를 넣고 마쇄하여 비지를 제거한 콩즙을 autoclave에서 121°C에서 15분간 살균시켜 두유를 제조하였다. 두유는 상온에서 40~45°C로 냉각시키고 게르마늄 컵에 50 mL씩 넣어 1차 선별 균주를 2% 접종한 후 37°C에서 24시간 동안 발효시켜 curd를 형성하는 균을 2차 선별하였다.

Curd의 경도 측정

2차 선별 균주에 의해 형성된 curd의 경도는 texture analyzer(TA-XT2plus, Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK)를 이용하여 pre test speed 5 mm/sec, distance 15 mm, test speed 1 mm/sec, post test speed 10 mm/sec, return test dist. 1 mm, force 0.040 kg, time 0.09 sec, count 5 조건으로 하여 측정하였다.

GABA함량 분석

제조된 soycurd의 GABA 함량을 정량분석하기 위해 호소분석 방법을 이용하였다(21). 동결 건조 시료 0.1 g에 methanol 400 μ L를 가하여 잘 섞은 다음 70~80°C로 예열된 water bath에서 완전 건조 시켰다. 여기에 70 mM LaCl₃ 1 mL를 가하여 15분 동안 잘 섞어준 후 13,000g에서 5분간 원심분리 하였다. 상등액 400 μ L를 0.1 M KOH 160 μ L를 미리 넣어둔 centrifuge tube에 넣어 5분간 교반하였다. 다시 13,000g에서 5분간 원심 분리한 상등액(buffer로 1/5 희석하여 사용함) 550 μ L에 0.5 M K₄P₂O₇완충용액(pH 8.6) 200 μ L, 4 mM NADP 150 μ L를 첨가한 후, 2.0 unit/mL GABase 50 μ L를 혼합하여 340 nm에서 흡광도를 측정하였으며 (initial A), 20 mM α -ketoglutarate를 50 μ L 넣고 25°C에서 60분 동안 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도를 측정(final A)하였다. 표준곡선으로부터 측정된 흡광도(final A - initial A)를 대입하여 생성된 GABA량을 측정하였다.

발효 균주의 동정

최종 선별된 균주를 MRS 배지에서 2회 이상 계대 배양하여 활성을 높인 후 실험에 사용하였다. 순수 분리된 균주는 gram 염색과 catalase test를 실시하였으며 포자생성, gas 생성유무를 확인하였다. API CHL kit(API bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)를 이용하여 49개의 탄소원에 대하여 37°C에서 24시간 및 48시간 동안 배양하면서 미생물 증식에 의한 색의 변화 여부를 관찰하여 각 탄소원 이용 여부를 관찰하였고 동정 결과는 Apilab Plus Software를 이용하여 확인하였다. 최종적으로 16S rDNA sequence를 분석하여 BLASTN program을 이용하여 GeneBank의 ribosomal DNA sequence와 비교하였으며 sequence의 상동성을 ClustalW program을 이용하여 비교 분석하였다.

선발 균주의 최적 배양 조건

최적 배양 온도를 확립하기 위하여 선택 균주를 24시간 배양한 종 배양액을 최적 배지에 1% 접종한 후 25, 30, 35, 40°C에서 24시간 동안 계대 배양하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 최적 배양 시간을 확립하기 위하여 선택 균주를 24시간 배양한 종 배양액을 최적 배지에 1% 접종한 후 최적 온도에서 24시간 동안 배양하면서 3시간 간격으로 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

Screening 과정을 제외한 모든 실험결과 값은 mean±SD(standard deviation)로 나타내었다. 통계처리는 SPSS Ver. 21.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA 분석 후 p<0.05에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 유의성 검정을 하였다.

결과 및 고찰

발효 균주의 분리 및 선발

CaCO₃가 2% 첨가된 MRS 한천평판배지에서 균락 주변에 투명환을 형성하며 크기, 모양, 색이 다른 300개의 균락을 분리하였다. 1차 선별된 균주는 MRS 배지에 배양한 후, 2% CaCO₃가 첨가된 MRS 한천평판배지에 여러 번 희석도말하여 순수 분리한 후 실험에 사용하였다.

두유에서 curd를 형성하는 균주 선발

1차 선별된 균주에 의해 형성된 curd는 texture analyzer로 경도를 측정하여 단단한 정도를 비교하였다. 김치로부터 분리한 300개의 균주 중 37개의 균주는 curd를 형성하지 않거나 부패되었고 12개의 균주는 curd를 형성하였으나 너무 물러 경도 측정이 불가능하여 나머지 251개의 균주에 대해 경도를 측정하였다. 경도 측정 결과 비교적 단단한 curd를 형성한 32개의 균주를 2차 선별 균주로 정하였다 (Table 1). 경도수치가 0.5 N 이상 되면 형태를 유지할 정도로 단단한 curd를 형성함을 알 수 있었으며 특히 4개의 균주(Strain No. 10, 104, 214, 249)는 경도 수치가 0.6 N 이상으로 측정되어 가장 단단한 curd를 형성하는 것으로 나타났다. 경도 수치가 높은 curd는 대부분 표면이 매끄럽고 발효 용기를 뒤집어 부었을 때 형태를 유지하였으나 경도 수치가 낮은 curd는 표면이 갈라지거나 수분이 많았고 쉽게 부서지며 흘러지는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1).

GABA 생산능이 우수한 균주의 분리

32개의 2차 선별 균주로 만든 soycurd의 GABA 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 선별된 32개 균주에 따른 soycurd의 GABA 함량은 약간씩 차이가 있었지만 2.5 mg/100 g 이상으로 대부분이 높은 함량을 나타내었다. 그

중에서도 383균주는 3.0 mg/100 g 이상 되는 GABA를 생성함을 확인하였다. 383균주로 soycurd 제조 시 경도수치가 0.5 N 이상으로 측정되어 형태를 유지할 정도의 비교적 단단한 curd를 형성하였으며 선별 균주 중 GABA 생성 능력이 가장 우수하다고 판단되어 최종 선발 균주로 정하였다.

Table 1. Hardness of soycurd fermented by isolated strains from kimchi

Strains	Hardness (N)	Strains	Hardness (N)
2	0.534	224	0.516
10	0.635	226	0.417
29	0.561	238	0.475
32	0.580	246	0.575
38	0.541	249	0.606
41	0.571	250	0.59
75	0.455	256	0.541
103	0.547	269	0.563
104	0.607	270	0.542
138	0.561	271	0.455
154	0.388	275	0.569
158	0.254	278	0.569
190	0.485	284	0.575
193	0.421	317	0.568
214	0.611	381	0.586
222	0.591	383	0.547

^aSoycurds were fermented by isolated strains at 37°C for 24 hr.

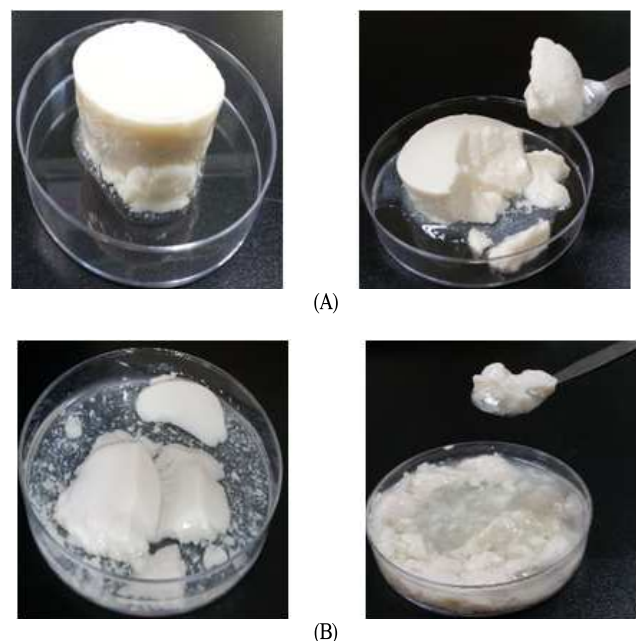


Fig. 1. Soycurd fermented by strains isolated from kimchi.

Soycurds were fermented by strain No. 10 (A) and strain No. 154 (B) at 37°C for 24 hr.

Table 2. GABA content of soycurd fermented by strains isolated from kimchi

Strains	GABA content (mg/100 g)	Strains	GABA content (mg/100 g)
2	3.018	224	2.917
10	2.527	226	2.735
29	2.771	238	2.669
32	2.739	246	2.616
38	2.465	249	2.939
41	2.533	250	2.735
75	2.794	256	2.943
103	2.729	269	2.793
104	2.786	270	2.796
138	2.737	271	2.842
154	2.727	275	2.735
158	2.572	278	2.493
190	2.691	284	2.602
193	2.533	371	2.614
214	3.006	381	2.733
222	2.612	383	3.041

*Soycurds were fermented by isolated strains at 37°C for 24 hr.

발효 균주의 동정

최종 선발 균주인 383균주를 동정하기 위하여 형태학적, 생화학적 특성을 검토한 결과 383균주는 Gram 양성, catalase 음성 그리고 포자를 형성하지 않는 간균 형태로 관찰되었다. API 50 CHL kit를 이용하여 49개 탄소원에 대한 이용성(Table 3)을 통한 균 동정을 시도한 결과, *L. brevis*와 유사한 것으로 판정되었다. 균의 상태에 따라 탄소원을 기질로 발효가 일어나는 조건이 조금씩 다를 수 있으므로 보다 정확한 결과를 확인하기 위해 16S rDNA sequence를 결정하고 이를 GeneBank에 등록된 여러 유산균들과 상동성을 비교하였다. 그 결과 383균주의 16S rDNA sequence는 *Lactobacillus sakei*와 99% 상동성을 보였다. 이는 API 50 CHL kit 결과와 차이가 있는 것으로 탄소원 이용성을 통한 동정과 16S rDNA sequence를 이용한 분자유전학적 동정 결과가 일치하지 않은 결과였다. 균을 동정하기 위해 API 50 CHL kit가 널리 사용되고 있으나 김치 젖산균의 경우 API 50 CHL kit로 동정되지 않는 젖산균이 상당수 존재하며 이는 최근 연구에서도 밝혀지고 있다(22). 일반적으로 탄소원 이용성을 통한 결과보다 16S rDNA sequence를 통한 결과가 보다 신빙성이 크기 때문에 최종적으로 *L. sakei* 383으로 명명하였으며 16S rDNA database를 토대로 phylogenetic tree를 작성하였다(Fig. 2).

*L. sakei*는 당발효를 통해 젖산 이외에 초산이나 그 이외의 다른 부산물을 많이 생산하는 유산균으로 김치 숙성 과정의 중반기에 세포수가 급격하게 증가하여 김치의 맛에

많은 영향을 주는 것으로 알려져 있다(23).

Table 3. Fermentation characteristics of different carbohydrate source in strain No. 383 isolated from kimchi by API 50 CHL

Carbohydrates		API CHL 383	Carbohydrates		API CHL 383
0	Control	-	25	Esculine	+
1	Glycerol	-	26	Salicine	+
2	Erythritol	-	27	Cellobiose	+
3	D-Arabinose	-	28	Maltose	-
4	L-Arabinose	+	29	Lactose	+
5	Ribose	+	30	Melibiose	+
6	D-Xylose	-	31	Sucrose	+
7	L-Xylose	-	32	Trehalose	+
8	Adonitol	-	33	Inuline	-
9	β Methyl-xyloside	-	34	Melezitose	-
10	Galactose	+	35	D-Raffinose	-
11	D-Glucose	+	36	Amidon	-
12	D-Fructose	+	37	Glycogene	-
13	D-Mannose	+	38	Xylitol	-
14	L-Sorbose	-	39	β Gentiobiose	+
15	Rhamnose	+W	40	D-Turanose	-
16	Dulcitol	-	41	D-Lyxose	-
17	Inositol	-	42	D-Tagatose	-
18	Mannitol	-	43	D-Fucose	-
19	Sorbitol	-	44	L-Fucose	-
20	α Methyl-D-mannoside	-	45	D-Arabitol	-
21	α Methyl-D-glucoside	+	46	L-Arabitol	-
22	N Acetyl glucosamine	+	47	Gluconate	+
23	Amygdaline	+W	48	2 ceto-gluconate	-
24	Atbutine	-	49	5 ceto-gluconate	-

* +; positive, +W; weak positive, -; negative

선발 균주의 최적 배양 조건

L. sakei 383의 최적 생장 온도를 알기 위하여 MRS 배지에서 온도 별로 배양한 후 생육을 확인하였다(Fig. 3). *L. sakei* 383의 생육은 25~40°C의 온도범위에서 커다란 차이를 보이지 않고 비슷한 생육을 보였으나 균체의 최대 생육도를 비교해 보았을 때 *L. sakei* 383의 최적 배양온도는 35°C인 것을 확인할 수 있었다.

L. sakei 383의 배양 시간에 의한 변화를 확인하기 위하여 MRS 배지에 접종하여 35°C에서 24시간 배양하여 균체 생육을 확인한 결과(Fig. 4), 배양 3시간까지 유도기를 보이다가 3시간 이후부터 대수기가 시작되어 6시간 사이에 급격히 증가하였으며 6시간 이후에는 생장이 점차 감소하여 24시간에서 가장 높은 생육을 나타내었다.

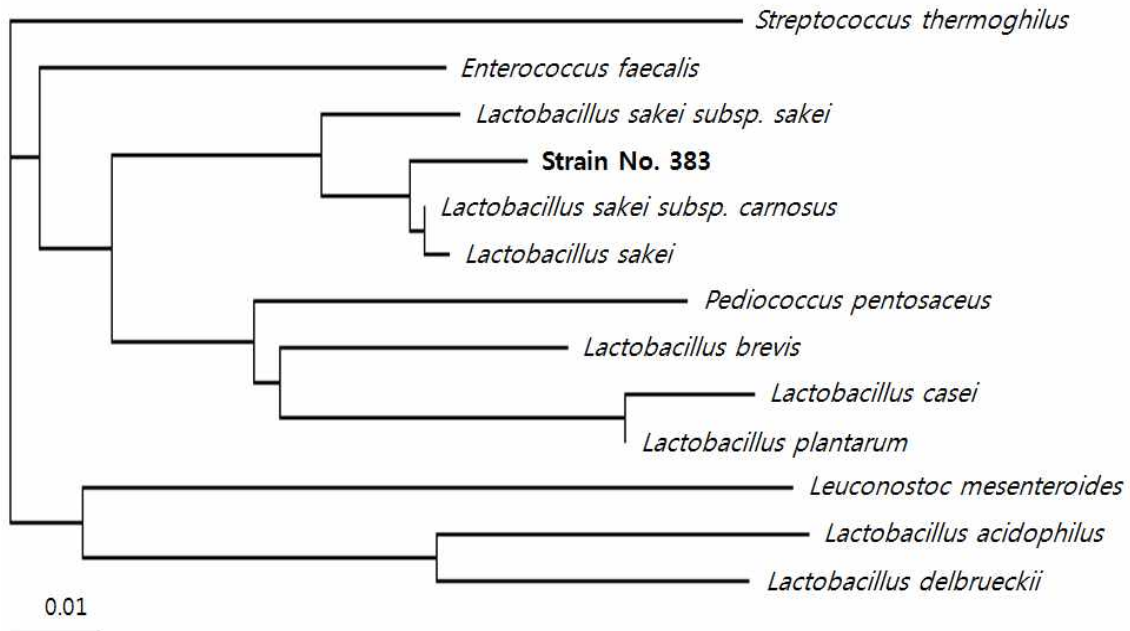


Fig. 2. Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequence of strain No. 383 isolated from kimchi.

The branching pattern was generated by neighbor-joining method. Bar, 0.01 nucleotide substitution per position.

위의 결과를 종합해 볼 때, *L. sakei* 383은 MRS배지에 접종하여 35°C에서 24시간 배양하였을 때 최적의 생장률을 보인 것을 확인할 수 있었다. Park(24)은 김치에서 분리한 *L. sakei* J4를 MRS배지에서 30°C로 하여 12시간 이상 배양하였을 때 최적의 생장을 보였다고 하였으며 Park 등(25)은 누룩으로부터 분리한 *L. sakei* L-10을 MRS 배지에서 30°C로 하여 24시간 배양한 경우 가장 높은 생육을 나타내었다고 보고하였다.

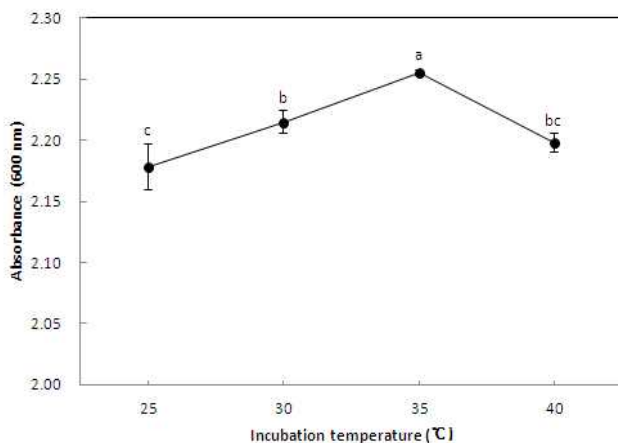


Fig. 3. Effect of different incubation temperatures on growth of *Lactobacillus sakei* 383.

Cultivation was carried out at each temperature for 24 hr in MRS broth. Means with the different letters are significantly different at $p < 0.05$ as Duncan's multiple range test.

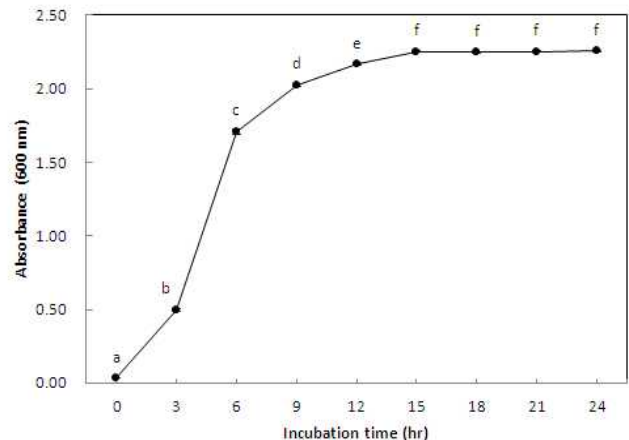


Fig. 4. Effect of incubation time on growth of *Lactobacillus sakei* 383.

Cultivation was carried out at 35°C for 24 hr in MRS broth. Means with the different letters are significantly different at $p < 0.05$ as Duncan's multiple range test.

GABA 최적 배양 조건

두유에서 *L. sakei* 383의 배양을 통한 GABA 생산의 최적 조건을 검토하기 위해 발효 온도 및 시간에 따른 GABA 함량을 조사하였다. 최대 GABA 함량을 100%로 하여 조건 별로 생성된 GABA의 상대적인 함량을 백분율로 나타내었다. *L. sakei* 383을 두유에 접종하여 24시간 발효한 후 온도에 따른 GABA 함량을 측정된 결과 25, 30, 40°C에 따른 GABA 함량은 큰 차이가 없이 비슷한 수치를 나타내었으며 35°C에서 가장 높은 GABA 함량을 나타내었다(Fig. 5). 이는

L. sakei 383의 최적 배양 온도와 일치하는 결과로서 균체의 성장과 GABA의 생산이 관련 있는 것으로 사료된다. 따라서 GABA 함량이 높은 soycurd 생산을 위한 최적 발효 온도는 35°C로 정하였다.

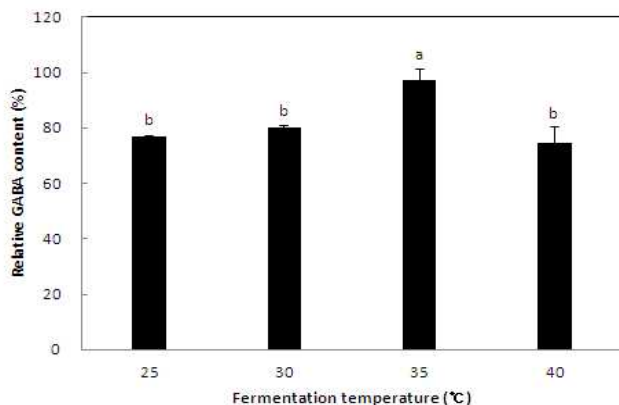


Fig. 5. Effect of different fermentation temperature on GABA content in soycurd fermented by *Lactobacillus sakei* 383.

Soycurd was fermented for 24 hr. Means with the different letters are significantly different at $p < 0.05$ as Duncan's multiple range test.

발효 시간에 따른 GABA 함량을 알아보기 위해 최적 발효 온도인 35°C에서 24시간 동안 발효하며 GABA 함량을 측정하였다(Fig. 6). 발효 시간이 증가함에 따라 점차 GABA 함량이 증가하여 18시간 발효 시 최대 함량을 나타내었다가 18시간 이후에는 다소 감소하는 것으로 나타났다. 발효가 진행됨에 따라 GABA 함량이 증가하였다가 다시 감소하는 것은 GABA를 합성하는 glutamate decarboxylase(GAD)의 활성이 감소하였거나 생합성된 GABA가 GABA-transaminase(GABA-T)에 의하여 전환되었기 때문인 것으로 사료된다.

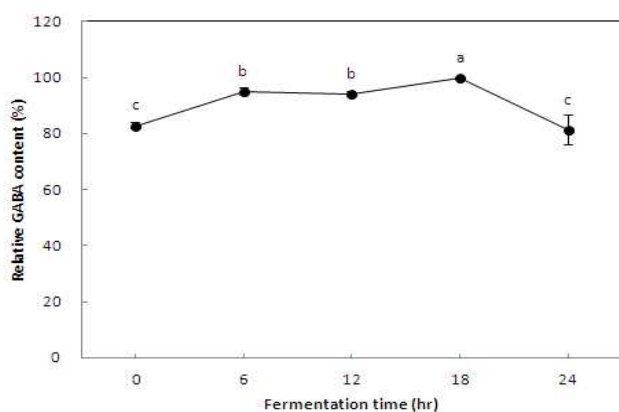


Fig. 6. Changes of GABA content in soycurd fermented by *Lactobacillus sakei* 383.

Soycurd was fermented at 35°C. Means with the different letters are significantly different at $p < 0.05$ as Duncan's multiple range test.

최대 GABA 함량을 나타내는 soycurd 발효 조건을 탐색한 결과 최적 배양 조건으로 35°C에서 18시간 발효하는 것이 가장 적절하였고 최대 GABA 함량을 아미노산 분석기로 측정된 결과 8.65 mg/100 g으로 나타났다. GABA 함량은 다양한 미생물의 발효에 의해 증가한다고 알려져 있는데 (26), Shin(27)의 보고에 따르면 *L. brevis* 1062/1085를 이용한 대두발효유의 경우 6.4 μ g의 GABA 함량을 나타낸다고 하였으며 Jo 등(28)은 된장의 숙성기간에 따른 GABA 함량을 연구한 결과 숙성기간이 1년 숙성된 된장의 경우 43.8 mg/kg의 GABA 함량을 나타낸다고 하였다. *L. sakei* 383에 의해 발효된 soycurd의 GABA 함량은 앞서 보고한 대두발효유와 1년 숙성된 된장에 비해 높은 수준으로 나타나 *L. sakei* 383이 GABA 함량이 높은 soycurd 제조를 위한 우수한 starter임을 확인하였다. 따라서 *L. sakei* 383으로 발효한 soycurd는 GABA 함량이 높은 기능성 식품으로 개발이 가능할 것으로 사료된다.

요 약

비단백질 구성 아미노산인 gamma amino butyric acid(GABA)는 뇌에서 억제성 신경전달물질로 작용하며 혈압 저하, 신경 안정, 이노 작용 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 김치로부터 두유에서 커드를 형성하는 40개 균주를 분리하였다. GABA 생산력이 높은 균주를 선별하기 위하여 분리된 균주들을 두유에 접종하여 37°C에서 48시간 동안 발효하였다. 분리된 균주들 가운데 발효두부에서 가장 높은 GABA를 생산하는 383 균주는 API 분석과 16S rDNA sequence를 통하여 *L. sakei*로 동정되었으며 *L. sakei* 383으로 명명하였다. *L. sakei* 383은 MRS 배지에서 35°C, 24시간 배양할 때 가장 높은 생육을 나타내었으며 두유에 균을 접종하여 35°C에서 18시간 발효 했을 때를 GABA 생산을 위한 최적 배양 조건으로 정하였으며 최대 GABA 함량은 8.65 mg/100 g이었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산물기술기획평가원(관리번호 111030-3)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Cho YS (2002) A study on the preferred characteristics of Korean and Japanese commercial kimchi. Ph D Thesis, Yeungnam University, Gyeongsan, Korea

2. Park HG, Lee MH, Yoon SH (2006) Effects of *Cheonggukjang* on lipid contents in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Hyg Sci*, 12, 1-6
3. Kim JS (1996) Current research trends on bioactive function of soybean. *Korea Soybean Digest*, 13, 17-24
4. Myung JE, Hwang IK (2008) Functional components and antioxidative activities of soybean extracts. *Korea Soybean Digest*, 25, 23-29
5. Stanton HC (1963) Mode of action of gamma aminobutyric acid on the cardiovascular system. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 143, 195-204
6. Yoo JC, Lim SJ, Ko YT (1984) Manufacture of yogurt from soy protein concentrate. *Food Sci Biotechnol*, 16, 143-148
7. Gilliland SE (1979) Beneficial interrelationships between certain microorganisms and humans: candidate microorganisms for use as dietary adjuncts. *J Food Protection*, 42, 164-167
8. Goldin BR (1998) Health benefits of probiotics. *Br J Nutr*, 80, 203-207
9. Fuller R (1989) Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*, 66, 365-378
10. Ryu BH, Jeon JH (2004) Continuous production of γ -aminobutyric acid by immobilization of *Lactobacillus brevis*. *J life Sci*, 14, 167-173
11. Difiglia M, Aronin N (1990) Synaptic interactions between GABAergic neurons and trigemiothalamic cells in the rat trigeminal nucleus caudalis. *Synapse*, 6, 358-363
12. Horitsu M, Maseda Y, Kawai K (1990) A new process for soy sauce fermentation by immobilized yeasts. *Agric Biol Chem*, 54, 295-300
13. Melzack R, Wall PD (1965) Pain mechanisms : a new theory. *Science*, 50, 971-979
14. Youn KC, Kim DH, Kim JO, Park BJ, Yook HS, Cho JM, Byun MW (2002) Quality characteristics of the *Chungkookjang* fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *B. licheniformis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 31, 204-210
15. Chang JS, Lee BS, Kim YG (1992) Changes in γ -aminobutyric acid (GABA) and the main constituents by a treated condictions and of anaerobically treated green tea leaves. *Korean J Food Sci Technol*, 24, 351-31
16. Nomura M, Kimoto H, Someya Y, Furukawa S, Suzuki I (1998) Production of γ -aminobutyric acid by cheese starters during cheese ripening. *J Dairy Sci*, 81, 1486-1491
17. Park KB, Oh SH (2005) Production and characterization of GABA rice yogurt. *Food Sci Biotechnol*, 14, 518-522
18. Saikusa T, Okada T, Murai H, Mori Y, Horino T, Omori M, Ito M, Onoda A (2001) The effect of defatting with organic solvent on accumulation of 4-aminobutyric acid (GABA) in the rice germ. *J Japanese Soc Food Sci Technol*, 48, 196-201
19. Oh SH, Moon YJ, Oh CH (2003) γ -Aminobutyric acid (GABA) content of selected uncooked foods. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 8, 75-78
20. Park KB, Oh SH (2007) Cloning, sequencing and expression of a novel glutamate decarboxylase gene from a newly isolated lactic acid bacterium, *Lactobacillus brevis* OPK-3. *Bioresource Technol*, 98, 312-319
21. Zhang G, Bown AW (1997) The rapid determination of γ -aminobutyric acid. *Phytochem*, 44, 1007-1009
22. Kim HT, Park JY, Kim JH, Lee GG (2004) Isolation of a bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* strain from Kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 33, 560-565
23. Roh HJ, Kim GE (2009) Fermentation of *Cucurbita maxima* extracts with microorganisms from kimchi. *Korean J Biotechnol Bioeng*, 24, 149-155
24. Park JH (2011) A study on the antimicrobial activity of the culture broth of lactic acid bacteria from *Dongchimi* on some pathogens. Ph D Thesis, Hankyong National University, Anseoung, Korea
25. Park CD, Jung HK, Park HH, Hong JH (2007) Identification and fermentation characteristics of lactic acid bacteria isolated from *Hahyangju Nuruk*. *Korean J Food Preserv*, 14, 188-193
26. Hao R, Schmit JC (1993) Cloning of the gene for glutamate decarboxylase and its expression during conidiation in *Neurospora crassa*. *Biochem J*, 293, 735-738
27. Shin MK (2010) Development of functional fermented soy products by mixed culture of *Bacillus* sp. and lactic acid bacteria. Ph D Thesis, Andong National University, Andong, Korea
28. Jo SJ, Hong CO, Yang SY, Choi KK, Kim HK, Yang H, Lee KW (2011) Changes in contents of γ -aminobutyric acid (GABA) and isoflavones in traditional Korean *Doenjang* by ripening periods. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 40, 557-564