

‘눈큰흑찰’의 가바(GABA) 함량 증진을 위한 이화학적 처리 효과

한상익*[†] · 나지은* · 서경혜* · 박지영* · 서우덕* · 박동수* · 조준현* · 이종희** · 심은영* · 남민희*

*농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부, **농촌진흥청 연구정책국

Effects of physico-chemical treatment on ‘Nunkeunhukchal’ (black sticky rice with giant embryo) for the enhancement of GABA (γ -aminobutyric acid) contents

Sang-Ik Han*[†], Ji-Eun Ra*, Kyung-Hye Seo*, Ji-Young Park*, Woo Duck Seo*, Dong-Soo Park*, Jun-Hyun Cho*, Jong-Hee Lee**, Eun-Yeong Sim*, and Min-Hee Nam*

**Department of Functional Crop, NICS, RDA, Miryang 627-803, Korea*

***Rural Development Administration, Jeonju 560-500, Korea*

ABSTRACT We assessed the GABA accumulation and other components after the ‘Nunkeunhukchal (BGE)’, ‘Josanghukchal (BR)’, and ‘Ilmibyeo (IB)’ grain was soaked in water for 24, 36, 48, 60, 72 and 96 hr. The results showed a continuous accumulation of GABA in soaking treated brown rice of BGE and IB. Among the treated hours, 72 hours of soaking had the maximal accumulation of GABA (51.4 mg/100 g), amino acid, polyphenol and other components. The activities of glutamate decarboxylase (GAD) in brown rice and rice-bran were the same in BGE rice. However, the formation of GABA treated with L-glutamate as substrate showed dramatic increase of 354.6 (fourteen times higher than normal extraction) and 726.4 mg/100 g in BGE rice and rice-bran, respectively. These results suggested that the soaking and extraction with L-glutamate buffer could be better methods for the harvest of increased GABA.

Keywords : rice, ‘Nunkeunhukchal’, soaking, germination, GABA

쌀(*Oryza sativa* L.)은 현재 우리나라, 일본, 중국 등 동남아시아 국가에서 주식으로 이용되고 있는 주요 곡물중의 하나이며 우리는 대부분의 칼로리를 밥으로부터 얻고 있다(Stork *et al.*, 2005). 쌀은 에너지 공급원뿐만 아니라 우수한 단백질, 지방, 건강기능성분 등을 함유하여 비만방지, 콜레스테롤 저하 등 인체에 다양한 생체 조절기능을 가진 식품으로 알려져 있다(Choe *et al.*, 2002; Kyoum *et al.*, 2006).

최근 건강에 대한 관심 증가로 소비자들은 기존의 맛과 영양에서 쌀의 기능성에 많은 관심을 가지게 되었고, 이에 따라 쌀 고유의 건강기능성분에 대한 관심도 같이 증가하게 되었으며 역학조사를 통해 쌀을 주식으로 하는 국민들의 만성질환에 대한 발병율이 현저히 낮음을 조사한 보고도 쉽게 찾을 수 있다(Goufo & Trindale, 2014). 특히나 쌀의 주요 영양성분이 쌀눈에 많이 함유되어 있음을 확인하여 쌀눈이 큰 품종에 대한 개발과 주요 영양성분에 대한 보고와 현미를 발아시켰을 경우 항산화 성분의 함량 증가와 그 활성에 대한보고도 많이 있다(Kim *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2009; Seo *et al.*, 2011; Zhang *et al.* 2005).

‘눈큰흑찰’ 쌀은 국립식량과학원에서 2013년 개발한 신품종으로 약배양을 통해 개발된 거대배의 특성과 찰쌀의 특성을 같이 가지고 있는 변이체인 ‘YR23517Acp79’을 모본으로 하여 ‘조생흑찰’과 인공교배하여 개발된 품종으로 일반쌀에 비해 배(배아)의 크기가 3배 이상 크고 아미노산, 지방, 무기성분, 안토시아닌 등의 다양한 기능성 성분을 다량 함유한 신품종이다. 특히나 고혈압과 신경안정 효과가 우수한 수용성 기능성 아미노산인 GABA (γ -aminobutyric acid)를 다량 함유하고 있음을 확인하였다(Kim *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2009; Saikusa *et al.*, 1994; Seo *et al.*, 2011). 현미를 발아시켜 발아현미로 만들 경우 취반성과 조직감이 개선되고 기능성 성분이 증가하는 것으로 알려져 있으며 특히나 GABA 성분의 증가가 두드러지는 것으로 알려져 있다(Aurisano *et al.*, 1995; Saikusa *et al.*, 1994). 또한 발아과정 중에 글루탐산 처리에 의한 GABA 함량의 증가와 다

[†]Corresponding author: (Phone) +82-55-350-1217 (E-mail) han0si@korea.kr

<Received 20 June 2014; Revised 13 October 2014; Accepted 29 October 2014>

른 아미노산의 변화에 대한 연구도 보고되어 있다(Oh *et al.*, 2002).

본 연구는 GABA 함량이 일반미에 비해 다량 함유되어 있는 눈큰흑찰을 이용하여 가바가 증진된 건강기능성 소재를 개발하기 위하여 기존에 종자의 가바 함량을 증대시키는 처리방법인 침종과 발아 조건에서의 가바 함량 및 다른 영양성분의 변화를 검정하였으며, 또한 가바의 전구체로 알려진 글루탐산 아미노산을 기질로 사용하여 눈큰흑찰 종자에 있는 효소의 비활성과 가바 최대 생산 조건을 구명하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 재료는 농촌진흥청 국립식량과학원 포장에서 2012년 생산된 ‘눈큰흑찰(BGE)’, ‘조생흑찰(BR)’ 그리고 일반미로 ‘일미(IB)’ 벼를 이용하였으며 원료곡인 정조를 제현기(Model SY88-TH, Ssangyong Ltd., Incheon, Korea)를 이용하여 왕겨를 분리한 현미를 시험재료로 사용하였다. 침종 시험은 30°C와 40°C 물을 이용하여 24시간 이후부터 72시간까지 12시간 간격으로 회수하여 특성을 검정하였고 마지막 처리는 96시간까지 처리를 진행하였다. 발아에 따른 특성 구명을 위해 페트리디쉬에 무작위로 현미 100립을 치상하고 용기내부의 현미가 잠길 정도의 30°C 정도의 미지근한 물을 첨가하고 30°C의 항온기에서 보온하면서 최장 9일까지 발아시켰다. 발아 초기의 특성을 검정하기 위해 2 cm까지 발아한 현미를 시기별로 채취하여 건조한 후 분말화하여 시료로 사용하였다. 또한 발아현미 대량생산에 의한 특성을 보기위해 현미 10 kg을 침종하여 30°C에서 24시간동안 발아시킨 후 40°C 열풍 건조과정을 거쳐 각각의 품종에 대한 발아현미를 제조하고 이들을 100메쉬 크기로 분쇄하여 시험재료로 사용하였다.

일반성분 분석

단백질 함량 분석은 Kim *et al.* (2006)의 방법에 따라 Kjeldahl 자동 분석기(Kjeltech Auto 8560, Foss Tecator AB, Hoeganaes, Sweden)를 이용하여 분석하였고, 지방분석은 Soxhlet 분석법(FOSS 2050 SOXTEC AVANTI Automatic Soxhlet Extraction system, Foss Tecator AB, Hoeganaes, Sweden)에 따라 분석을 수행하였다(Juliano *et al.*, 1985). 지방산 조성은 가스 크로마토그래피(GC)를 이용하여 분석을 수행하였다. 0.5 g의 분쇄시료에 10 mL의 헥산을 이용하여 50°C에서 2시간 동안 지용성분을 추출하고 농축하여 0.15 mL를 취하여 5 mL의 methylation solution [H₂SO₄ : methanol (MeOH) :

Toluene = 1 mL : 20 mL : 10 mL]을 첨가하여 100°C에서 1시간동안 메틸레이션화하였다. 냉각한 시료에 5 mL의 증류수를 첨가하여 층을 분리하고 상등액을 취하여 anhydrous Na₂SO₄를 이용하여 수분을 제거하였다. 1 mL을 취해서 GC (Agilent 7890A gas chromatograph equipped with a FID and HP-FFAT capillary column, Santa Clara, CA)로 분석하였다. 분석조건은 oven 온도는 150에서 230°C까지 2.5°C 간격으로 상승시켰고, injector 온도는 250°C이었으며 검출기 온도는 230°C 유지하였고, 질소를 이동상(1 mL/min)으로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 분석

침종과 발아에 따른 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu colorimetric method (Choi *et al.*, 2006)을 사용하여 분석하였다. 분말 시료를 70% 메탄올을 이용하여 37°C에서 12시간 동안 교반 추출하였고, 추출물 0.1 mL을 0.2 mL의 Folin-Ciocalteu's phenol 용액과 혼합한 후 3 mL의 5% Na₂CO₃ 용액과 혼합하였다. 혼합용액은 30°C에서 2시간 동안 반응시킨 후 spectrophotometer (Versa max, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA)를 이용하여 765 nm에서의 흡광도를 측정하였고, 폴리페놀 함량 계산은 chlorogenic acid (mg CGA/100 g extract)의 함량과 비교하여 계산하였다(Kweon *et al.*, 2001).

가바(GABA)와 아미노산 분석

가바(GABA)를 포함한 아미노산은 Lee *et al.* (2007)의 방법을 변형한 Kim *et al.* (2013)의 방법에 따라 분석을 수행하였다. 분쇄된 시료 1.0g에 초순수 4 mL을 첨가하고 초음파 추출(Wisclean bath (WUC-N47H), 36.7 kHz)기를 이용하여 5시간 동안 30°C에서 추출하였고, 4°C에서 20,000 × g로 10분 원심분리한 후 상등액을 회수하여 가바와 아미노산 함량을 측정하였다. 아미노산 분석은 UPLC (AccQ-tag UPLC detection system, Waters)를 이용하여 분석을 수행하였다. 0.2 μm로 필터(Woongki Ltd., Seoul, Korea)한 20 μL 시료에 60 μL의 AccQ-fluor borate buffer와 20 μL의 AccQ-fluor reagent를 혼합하여 55°C에서 5분간 반응시키고 AccQ-Tag Ultra column (2.1×100 mm, Waters)를 이용하여 30°C에서 AccQ-Tag 시약 A (AccQ-Tag Ultra Eluent A, Waters)와 AccQ-Tag 시약 B (AccQ-Tag Ultra Eluent B, Waters)의 혼합 용매 조건으로 PDA eλ detector (Waters)를 이용하여 표준품의 검량선과 대조하여 함량을 계산하였다. 크로마토그램은 Empower software (Waters)를 이용하여 분석하였다.

글루탐산을 기질로 사용할 경우의 GABA 함량 변화와 GAD (Glutamate decarboxylase)의 비활성(specific activity) 측정

눈큰흑찰 현미와 쌀겨의 GAD (Glutamate decarboxylase) 효소의 비활성 측정은 Liu *et al.* (2004)의 방법을 변형하여 사용하였다. 1 g의 분쇄 시료에 5 mL의 단백질 추출용액(50 mM Tris-HCl pH5.8, 20 uM pyridoxal-5-phosphate)을 첨가하여 교반 후 얼음물에서 30분간 반응시켰다. 원심분리(12,000 x g, 20분)를 통해 상등액을 회수하여 단백질 함량과 GABA를 포함한 아미노산 함량을 분석하였다. 단백질 정량은 Bradford (1976) 방법에 따라 bovine serum albumin을 대조로하여 측정하였다. 동일한 추출용액 구성에 글루탐산(30 mM L-glutamate)이 포함된 용액을 이용하여 1 g/5 mL의 시료로부터, 현미와 쌀겨에 포함된 GAD 효소에 의

한 가바(GABA) 생성을 위해 25°C에서 30분간 교반시키면서 효소반응을 시켰다. 반응이 종료된 후의 가바(GABA)를 포함한 아미노산의 함량은 상기 UPLC를 이용한 분석법으로 측정하였고, GAD 효소의 비활성 측정은 조추출물에 포함된 단백질의 단위 함량에 따른 단위시간당 가바(GABA)의 생성량(1 unit = GABA uM/hr/mg)을 기준으로 나타내었다.

통계처리

자료 분석은 SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) PC package를 이용하였다. 실험결과는 3번 반복 값을 구하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 각 변수에 대해 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, 사후검정으로는 Duncan's multiple range test를 적용하였으며, α=0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

싹의 성장 속도

무작위로 100립씩 치상한 페트리디쉬를 이용한 발아 시험에서 3일째(72시간) 눈큰흑찰의 싹 길이는 0.27 cm이었고 일미와 조생흑찰은 0.24와 0.17 cm이었고 5일째(120시간)에는 1.09, 1.11, 1.03 cm로서 3품종의 생육양상이 비슷함을 보였으나 7일 이후는 눈큰흑찰의 성장이 더 빨리 진행됨을 확인하였다.

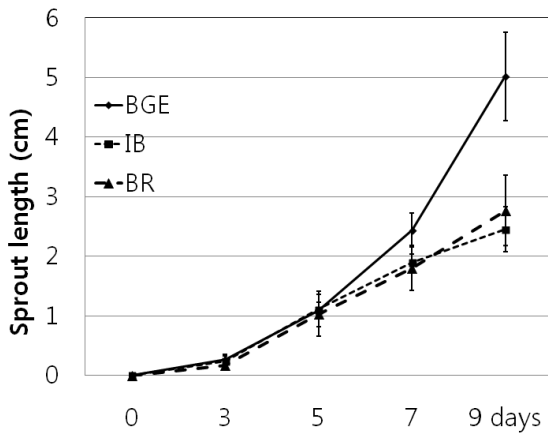


Fig. 1. Changes of rice sprout length through the days after planting on petridish. BGE : ‘Nunkeunhukchal’, BR : ‘Josanghukchal’, IB : ‘Ilmi’.

싹 길이에 따른 가바(GABA)와 총 아미노산 함량

발아에 따른 싹의 길이를 기준으로 수확한 시료를 이용한 가바와 아미노산 함량분석 결과는 Fig. 2에 나타낸 것과 같이 stage-1의 경우 길이가 0.5 mm까지로 발아한지 평균 3

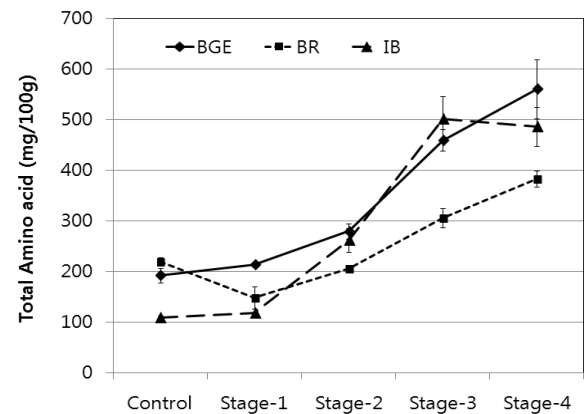
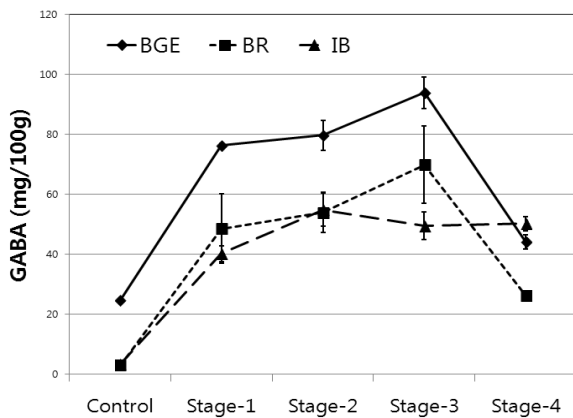


Fig. 2. Changes of GABA and total amino acid contents according to the growth stages. Left: GABA contents, right; total amino acid contents. Stage-1: sprout length 0~0.5 mm, stage-2: 0.5~5 mm, stage-3; 5~10 mm, stage-4: 10~20 mm.

일(72시간)이 지났을 때 수확한 시료에 해당하며 이때의 가바 함량은 눈큰흑찰의 경우 현미의 24.6 mg/100 g 보다 3배 증가한 76.3 mg을 보였고, 싹의 길이가 5~10 mm인 stage-3에 93.9 mg으로 최고를 보인 후 stage-4에서 44.1 mg/100 g으로 줄어들었다. 반면 일미의 경우는 stage-1에서 40.1 mg/100 g으로 현미에 비해 10배 이상 그 함량이 늘어났으며 stage-2, -3에서는 가바 함량에서 유의차를 보이지 않아 가바 함량을 기준으로 일반 현미의 발아조건은 72시간 (stage-1) 처리로도 가바 함량에서 우수한 발아현미의 제조가 가능함을 보여 눈큰흑찰의 경우와는 다른 결과를 보였다. 총 아미노산 함량에서는 눈큰흑찰과 조생흑찰, 일미 모두 stage-3 이후 급격하게 증가함을 보였다.

발아현미 대량제조에 의한 가바와 아미노산 함량변이

최적의 발아현미를 대량으로 제조하기 위해 Jang (1998)의 방법에 따라 10 kg의 현미를 이용하여 0.5~2.0 mm 정도 싹을 틔운 시료를 저온 건조하여 가바를 포함한 아미노산 조성과 총 아미노산 함량을 분석하였다. 그 결과는 Table 1에 나타난 것과 같이 가바 함량은 눈큰흑찰의 경우 126.9 mg/100 g까지 5배 증가하였고, 총 아미노산 함량도 695.5 mg/100 g까지 3배 이상 증가하였다. 반면 일반미인 일미의 경우 발아현미는 가바 함량이 현미에 비해 7배 증가하여 23.2 mg/100 g을 보였고, 총 아미노산도 약 2배 증가하여 226.3 mg/100 g을 나타내었다.

침중에 의한 단백질 함량 변이

침중에 의한 특성 분석에서 72시간 침중이 영양과 기능

성에서 우수한 것으로 보고되어(Ohtsubo *et al.*, 2005) 72시간을 기준으로 시료를 채취하여 단백질 함량을 분석한 결과 Table 2에 나타난 것과 같이 눈큰흑찰과 조생흑찰은 현미에 비해서는 단백질 함량이 증가하였으나 일미는 24시간 침중보다는 단백질 함량은 증가하는 경향이었지만 현미보다는 함량이 감소하였다. 일미는 일반미를 사용한 기존의 보고서와 같이 발아시킨 쌀의 단백질 함량은 감소하는 경향이었으나(Kim *et al.*, 2012) 조생흑찰과 눈큰흑찰의 경우는 침중에 의해 단백질 함량이 증가하는 경향이였다.

침중에 의한 폴리페놀과 플라보노이드 함량 변이

침중에 의한 폴리페놀 함량을 분석한 결과는 Fig. 3에 나타난 것과 같이 눈큰흑찰은 침중시간이 지남에 따라 폴리페

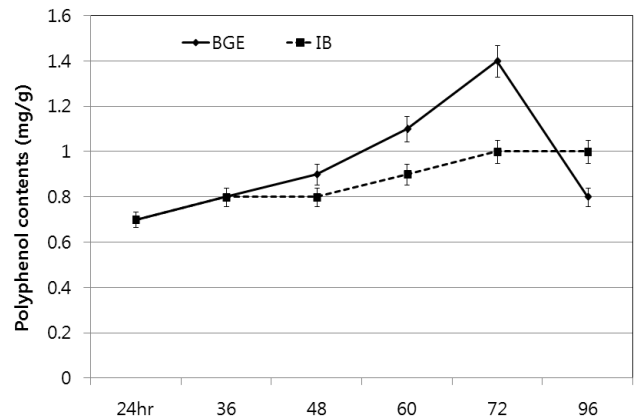


Fig. 3. Changes of polyphenol contents according to the soaking hours at 30°C.

Table 1. GABA and total amino acid contents by commercial large scale germination condition in Nunkeunhukchal.

	BGE		IB	
	Brown rice	Germinated rice	Brown rice	Germinated rice
GABA (mg/100 g)	24.6±0.5	126.9±7.4	3.3±0.2	23.2±1.6
Total amino acid (mg/100 g)	191.2±6.9	695.5±17.7	108.6±5.5	226.3±13.7

* All values are mean ±SD (n=3).

Table 2. Changes of protein contents according to the soaking hours at 30°C.

Treatment	Brown rice	Soaking hours (hrs)	
		24	72
BGE*	9.0±0.1	9.2±0.1	9.7±0.1
BR*	7.8±0.4	8.3±0.0	8.8±0.1
IB*	7.5±0.2	6.5±0.0	7.0±0.1

* BGE : ‘Nunkeunhukchal’, BR : ‘Josanghukchal’, IB : ‘Ilmi’, All values are mean ±SD (n=3).

Table 3. Lipid and fatty acids contents after 72 hours of soaking at 30°C in brown rice.

Varieties	Treatment	Lipids (%)	SF* (%)	USF* (%)
BGE	Brown rice	3.8±0.1	19.3±0.1	80.7±0.1
	Soaking (72 hrs)	3.4±0.1	21.3±0.1	78.7±0.1
BR	Brown rice	3.1±0.5	21.1±0.1	79.8±0.1
	Soaking (72 hrs)	3.1±0.1	21.3±0.1	78.8±0.1
IB	Brown rice	3.1±0.0	18.2±0.1	81.8±0.1
	Soaking (72 hrs)	2.2±0.4	21.2±0.1	78.8±0.1

* SF : saturated fatty acid, USF : unsaturated fatty acid, All values are mean ±SD (n=3).

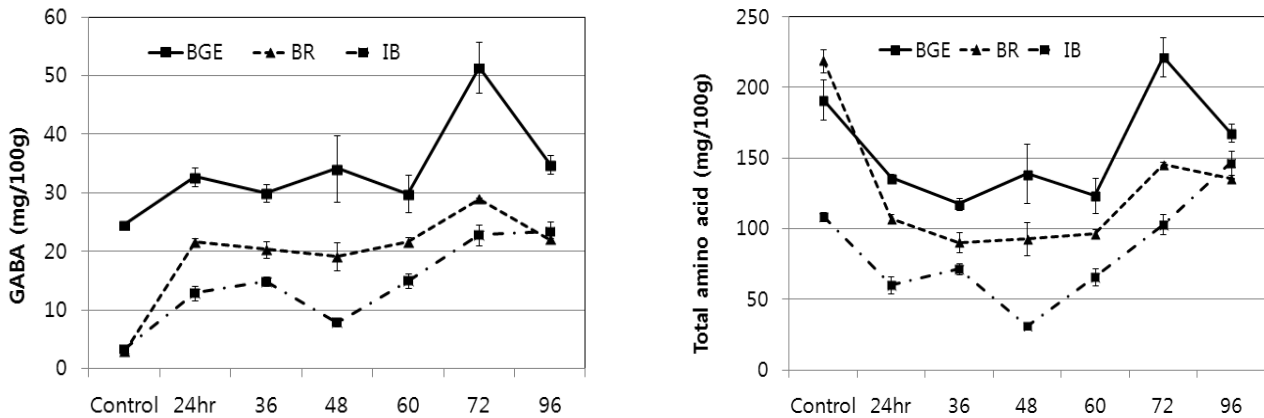


Fig. 4. Changes of GABA and total amino acid contents according to the soaking hours at 30°C. Left: GABA contents, right; total amino acid contents.

늘 함량이 증가하여 72시간 침종에서 1.4 mg/g으로 가장 높음을 보였고 대조로 사용된 일미도 72시간에서 최고 함량을 보였다. 반면 플라보노이드 함량은 일반미는 미량 함유하고 있는 것으로 분석되었고, 눈큰흑찰의 경우는 72시간 까지 침종시간에 따른 유의차 없이 2.32 mg/g 함유하고 있었으나 그 이후부터는 함량이 감소하였다. 이것은 Ohtsubo *et al.* (2005).

침종에 의한 지방과 지방산 함량 변이

침종에 의한 지방과 지방산 함량을 분석한 결과 지방 함량은 눈큰흑찰의 경우 현미의 3.8%에 비해 3.4%로 감소하였고, 지방산 조성도 불포화지방산 함량이 현미의 80.7%에서 78.7%로 약간 감소하였다. 일미의 경우도 비슷한 현상을 보여 지방함량은 3.1%에서 2.2%로 감소하였고, 불포화지방산 함량도 현미의 81.8%에서 78.8% 감소하였다.

침종에 의한 가바와 총아미노산 함량 변이

침종에 의한 현미의 가바와 아미노산 함량을 분석한 결과는 Fig. 4에 나타낸 것과 같이 가바 함량은 눈큰흑찰을 포함

한 모든 품종에서 침종 후 24시간이 지나면 가바 함량이 급격히 증가하다가 60시간까지는 유의차를 보이지 않았고 72시간 침종에서 함량이 증가하여 눈큰흑찰은 72시간 침종에서 가바 함량이 51.4 mg/100 g으로 가장 많은 것으로 조사되었다. 총 아미노산 함량은 가바 함량과는 다르게 36시간 침종까지에서 함량이 급격하게 줄어들다가 72시간 침종에서 최고로 높은 함량을 보였다. 72시간 침종에서 눈큰흑찰의 총 아미노산 함량은 221.6 mg/100 g이었다.

침종에 의한 당 함량과 조성 변화

침종에 의한 당 함량 변화는 3품종에서 침종 시간이 길어짐에 따라 전체적인 당 함량은 증가하는 경향이였다. 특히나 눈큰흑찰은 96시간에서 64.3 mg/g으로 최고함량을 보이고 있고, 당 조성에서는 sucrose, raffinose, fructose의 함량은 비슷하거나 줄어드는데 반해 glucose의 함량은 24시간 침종에서 12.5 mg/g인데 반해 120시간에서 49.6 mg/g으로 큰 폭으로 증가함을 보이고 있다. 침종시간이 지남에 따라 당 함량이 증가하고 특히 글루코즈 함량이 증가하는 것은 조생흑찰이나 일미에서도 관찰되는 결과이다.

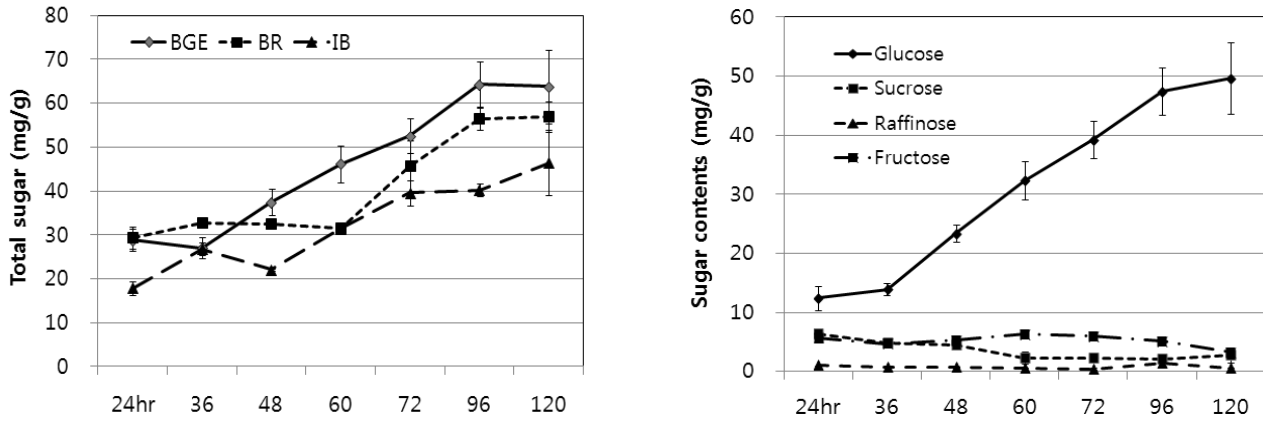


Fig. 5. Changes of total sugar contents and sugar composition in Nunkeunhukchal (BGE) according to the soaking hours at 30°C. Left: total sugar contents, right; sugar composition in BGE.

글루탐산을 기질로 사용하였을 경우의 가바 함량 변화

중자를 포함한 식물체에서 가바 생합성은 glutamate decarboxylase (GAD, EC 4.1.1.15) 효소의 작용에 의해서 글루탐산(L-glutamic acid)으로부터 생성되며 GAD 효소는 가역적으로 가바의 생성에 관여하는 것으로 보고되고 있다(Liu *et al.* 2004). 또한 글루탐산 처리에 의해 가바 함량이 증가된 제품을 생산하기 위하여 종종 기능성 발아현미 생산을 위해 글루탐산을 같이 처리한 보고도 있다(Oh *et al.* 2002a, 2002b,). 따라서 눈큰흑찰에 포함된 GAD효소의 작용에 의한 가바 최대 생산을 위해 추출용매에 기질로 글루탐산을 포함시켰을 경우 가바의 생성량을 비교하였다. 눈큰흑찰과 일미벼 시료 1 g을 30 mM의 글루탐산이 포함된 5 mL의 용매로 가바를 추출한 결과는 Table 4에 나타난 것과 같이 눈큰흑찰 현미 분말의 경우 354.6 mg/100 g의 가바가 추출되어 일반 추출에 비해 14배 가바 생성량이 증가하였고, 쌀겨에서도 글루탐산이 포함된 용액의 경우 726.4 mg/100 g으로 약 3배가 증가하였다. 대조로 사용된 일미의 경우도 현미와 쌀겨 각각 189.6 mg/100 g과 265.5 mg/100 g으로 가바 생성량이 증가하였다. 이 결과에서 일반미의 가바함량은 Oh *et al.* (2002a)이 보고한 글루탐산 처리에 의한 가바 생성량과 유사한 함량을 보이고 있고, 반면 눈큰흑찰은 이것보다 1.4배 이상 가바 함량이 증가하였음을 보여주고 있다.

GAD 효소의 활성 검정

눈큰흑찰의 가바 생성에 관여하는 GAD (글루탐산탈탄산) 효소의 비활성(specific activity)을 측정하기 위해 현미와 쌀겨의 단백질 함량을 측정된 결과는 Table 5에 나타난 것과 같이 눈큰흑찰의 쌀겨의 단백질 함량이 가장 많아 93.5 mg/g이 함유되어 있었고, 다음이 일미의 쌀겨, 눈큰흑

Table 4. Comparison of GABA contents using L-glutamate as a substrate in extraction buffer in BGE rice and rice bran.

GABA (mg/100 g)	BGE		IB	
	Brown rice	Rice bran	Brown rice	Rice bran
Control	24.6±0.5	265.6±48.2	3.3±0.2	91.0±13.1
GA*	354.6±32.6	726.4±42.8	189.6±37.9	265.5±22.8

*Glutamic acid (30 mM) used as a substrate in extraction buffer.

Table 5. GAD specific activity in brown rice and rice bran using glutamic acid containing extraction buffer.

Varieties	Type	Protein (mg/g)	GABA (uM)	GAD activity (Unit*)
BGE	Brown rice	63.3±4.6	63.5±6.4	1.0±0.1
	Rice bran	93.5±9.7	96.9±8.4	1.0±0.1
IB	Brown rice	16.9±0.6	18.3±7.4	1.1±0.1
	Rice bran	71.6±3.9	49.9±4.5	0.7±0.1

*GAD activity (Unit) : GABA uM/hr/mg of protein

찰 현미 순이었다. 기질로 글루탐산을 사용하였을 경우의 가바 생성량과 이에 따른 GAD 효소의 비활성은 일미의 경우는 쌀겨를 반응시켰을 경우 GAD효소 활성이 현미의 1.1에 비해 0.7 unit으로 줄어 일미 현미의 단백질 함량에 비해 쌀겨의 단백질 함량이 높고 가바 생성량은 많지만 단백질 단위 g 당 가바의 생성량은 줄어들어 일미 쌀겨의 비활성은 높지 않았다. 반면 눈큰흑찰 현미와 쌀겨의 비활성은 모두 1.0 unit임을 보여 단백질 함량이 증가함에 따라 GAD 효소의 함량도 같이 증가하고 이에 따라 가바의 생성량도 같이 증가함을 확인할 수 있었다.

눈큰흑찰의 경우 일반 쌀에 비해 종자의 배(배아, 쌀눈)가 3배 이상 큰 쌀로서 아미노산과 가바 함량이 일반 쌀에 비해 월등히 많음을 보이고 있다. 이것은 Liu *et al.* (2004)의 보고와 같이 가바의 축적과 GAD 효소의 활성화, 그리고 GAD 효소 생성에 관여하는 유전자 발현이 주로 쌀눈에서 이루어지고 있으며, 침종 등의 처리에 의한 가바 함량의 증가는 GAD 효소의 활성화 증가에 따른다는 보고와 부합하는 결과이다. 결론적으로 거대 배를 보유한 눈큰흑찰이 아미노산과 가바 함량이 일반 쌀에 비해 많고, 글루탐산을 기질로서 사용한 반응에서 추출용액의 가바 함량을 획기적으로 높이는 결과에서 알 수 있듯이 글루탐산을 가바로 합성하는 GAD 효소의 함량과 활성화도 눈큰흑찰이 일반 쌀에 비해 우수함을 확인할 수 있었다. 눈큰흑찰은 혼반의 형태로 복용도 가능하지만 기존의 가바의 효능에 의한 혈압강하(Elliott and Hobbiger, 1959), 이외에 체중조절(Zhang *et al.*, 2002), 알코올 관련 질환(Oh *et al.*, 2003) 등에도 효과가 있음이 보고되고 있어 향후 건강기능식품 등의 소재로도 활용이 기대된다.

적 요

거대쌀눈의 특성과 검정쌀 그리고 찹쌀의 특성을 보유한 눈큰흑찰의 침종과 발아 그리고 기질로 글루탐산을 처리하였을 경우의 가바를 포함한 주요 성분의 분석 결과는 다음과 같다.

1. 싹 발아 길이를 기준으로 눈큰흑찰의 가바 함량은 싹 길이가 5~10 mm인 stage-3에 93.9 mg/100 g으로 최고를 보였고, 대량 제조 조건에서는 최고 126.9 mg의 가바를 함유하고 있음을 확인하였다.
2. 침종에 의한 성분 분석에서는 72시간 침종에서 폴리페놀, 플라보노이드, 아미노산 그리고 가바 함량이 가장 많이 축적됨을 확인하였다.
3. 글루탐산 탈탄산효소의 작용에 의한 가바 함량 증가는 현미와 쌀겨 모두에서 급격한 증가가 관찰되었고, 눈큰흑찰 현미와 쌀겨의 경우 가바 함량이 각각 354.6 mg/100 g과 726.4 mg으로 현미와 쌀겨에 비해 각각 14배와 3배 함량이 증가하였다.

따라서 본 연구에서 눈큰흑찰의 발아와 침종에 따른 품질 특성을 분석한 결과, 뇌의 대사전달 물질의 조정 작용과 고혈압 그리고 스트레스 조정 기능이 있는 가바의 함량이 침종과 발아에 의해 일반 쌀에 비해 급격히 증가함을 확인하

였다. 특히나 글루탐산탈탄산 효소의 작용에 의한 눈큰흑찰의 현미와 쌀겨의 가바 생성은 현재까지 보고된 그 어떤 쌀 품종에서 분석된 가바 함량보다도 가장 우수함을 확인할 수 있어 향후 기능성 발아현미 가공을 위한 원료로 활용이 가능하며, 침종 조건은 가바 함량이 증진된 밥의 제조에 활용이 가능하고, 일본에서 시판되는 가바 건강식품의 용량과 맛먹는 함량을 지닌 눈큰흑찰을 이용한 가바쌀 생산과 가바의 효능에 의한 혈압강하, 체중조절, 알코올 관련 질환 등에 효능이 있는 건강기능성 식품 원료로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 특수미 지용성 활성성분의 식생활 습관병 예방 및 개선 소재 개발, 세부과제번호: PJ00875501)의 지원에 의해 이루어진 것임

인용문헌(REFERENCES)

- Aurisano, N., T. Horino, and Y. Mor. 1995. Accumulation of γ -aminobutyric acid (GABA) in the rice germ during water soaking. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58 : 2291-2292.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72 : 248-254.
- Choe, J. S., H. H. Ahn, and H. J. Nam. 2002. Comparison of nutritional composition in Korean rices. *Korean Soc Food Sci Nutr*, 31 : 885-892.
- Choi, Y. M., S. M. Lee, J. Chun, H. B. Lee, and J. S. Lee. 2006. Influence of heat treatment of the antioxidant activities and polyphenolic compound of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99 : 381-397.
- Elliott, K., and F. Hobbiger. 1959. Gamma-aminobutyric acid: Circulatory and respiratory effects in different species; re-investigation of the anti-strychnine action in mice. *J. Physiol.* 146 : 70-84.
- Goufo, P., and H. Trindade. 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, gamma-oryzanol, and phytic acid. *Food Science & Nutrition*, 2(2) : 75-104.
- Jang, S. S. 1998. Method of germinating with brown rice. *Korea Patent* : 1998-0247686.
- Juliano, B. O. 1985. Biochemical properties of rice. In *Rice : Chemistry and Technology*. pp. 175-205. American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN.
- Kim, D. J., S. K. Oh, J. H. Lee, M. R. Yoon, I. S. Choi, D. H. Lee, and Y. G. Kim. 2012. Changes in Quality Properties

- of Brown Rice after Germination. Korean J. SCI. Technol. 44(4) : 300-305.
- Kim, J. Y., W. D. Seo, D. S. Park, K. C. Jang, K. J. Choi, S. Y. Kim, S. H. Oh, J. E. Ra, G. H. Yi, S. K. Park, U. H. Hwang, Y. C. Song, B. R. Park, M. J. Park, H. W. Kang, and S. I. Han. 2013. Comparative Studies on Major Nutritional Components of Black Waxy Rice with Giant Embryos and Its Rice Bran. Food Sci. Biotechnol. 22(S) : 1-8.
- Kim, S. L., M. A. Berhow, J. T. Kim, H. Y. Chio, S. J. Lee, and I. M. Chung. 2006. Evaluation of soyasaponin, isoflavone, protein, lipid, and sugar accumulation in developing soybean seed. J Agric Food Chem 54 : 10003-10010.
- Kweon, M. H., H. J. Hwang, and H. C. Sung. 2001. Identification and Antioxidant Activity of Novel Chlorogenic Acid Derivatives from Bamboo (*Phyllostachys edulis*). J Agric Food Chem 49 : 4646-4655.
- Kyoun, O. Y., S. H. Oh, H. J. Kim, Y. K. Yoon, H. M. Kim, and M. R. Kim. 2006. Analyses of nutrients and antinutrients of rice cultivars. Korean J Food Cookery Sci, 22 : 949-956.
- Lee, Y. R., C. E. Kim, M. Y. Kang, and S. H. Nam. 2007. Cholesterol-lowering and antioxidant status-improving efficacy of germinated giant embryonic rice (*Oryza sativa* L.) in high cholesterol-fed rats. Ann. Nutr. Metab. 51 : 519-526.
- Liu, L. L., H. Q. Zhai, and J. M. Wan. 2004. Accumulation of γ -Aminobutyric Acid in Giant-Embryo Rice Grain in Relation to Glutamate Decarboxylase Activity and Its Gene Expression During Water Soaking. Cereal Chem. 82(2) : 191-196.
- Oh, S. H., S. H. Kim, Y. J. Moon, and W. G. Choi. 2002. Changes in the levels of γ -aminobutyric acid and some amino acids by application of glutamic acid solution for the germination of brown rice. Korean J Biotechnol Bioeng 17(6) : 49-53.
- Oh, S. H., S. H. Kim, Y. J. Moon, and W. G. Choi. 2002b. 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(6) : 515-519.
- Oh, S. H., J. R. Soh, and Y. S. Cha. 2003. Germinated brown rice extract shows a nutraceutical effect in the recovery of chronic alcohol-related symptoms. J. Med. Food. 6 : 115-121.
- Ohtsubo, K., K. Suzuki, Y. Yasui, and T. Kasumi. 2005. Bio-functional components in the processed pre-germinated brown rice by a twin screw extruder. Journal of Food Composition and Analysis. 18 : 303-316.
- Park, D. S., S. K. Park, B. C. Lee, S. Y. Song, N. S. Jun, N. L. Manigbas, J. H. Cho, M. H. Nam, J. S. Jeon, C. D. Han, K. J. Choi, D. H. Kim, Y. M. Woo, H. J. Koh, H. W. Kang, and G. H. Yi. 2009. Molecular characterization and physicochemical analysis of a new giant embryo mutant gene (*ge^b*) in rice (*Oryza sativa* L.). Genes Genom. 31 : 277-283.
- Saikusa, T., T. Horino, and Y. Mori. 1994. Accumulation of γ -amino butyric acid (GABA) in rice germ during water soaking. Biosci. Biotech. Bioch. 58 : 2291-2292.
- Seo, W. D., J. Y. Kim, D. S. Park, S. I. Han, K. C. Jang, K. J. Choi, S. Y. Kim, S. H. Oh, J. E. Ra, G. H. Yi, S. K. Park, U. H. Hwang, Y. C. Song, B. R. Park, and H. W. Kang. 2011. Comparative analysis of physicochemicals and antioxidative properties in new giant embryo mutant, ‘YR23517Acp79’, in rice (*Oryza sativa* L.). J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 54 : 700-709.
- Stork, C. R., L. P. Silva, and C. A. Fagundes. 2005. Categorizing rice cultivars based on differences in chemical composition. J Food com Anal, 18 : 333-341.
- Zhang, H., H. Y. Yao, and Y. R. Jiang. 2002. Development of the health food enriched with gamma-aminobutyric acid (GABA). Food Ferment. Ind. 28 : 69-72.
- Zhang, L, P. Hu, S. Tang, H. Zhao, and D. Wu. 2005. Comparative studies on major nutritional components of rice with a giant embryo and a normal embryo. J. Food Biochem. 29 : 653-661.