Journal of Mushrooms 한국버섯학회지 Research Article

팽이 및 수경인삼 분말 및 요구르트 발효에 의한 γ-Aminobutyric acid (GABA)의 전환효율 증진

신평균* · 김희정 · 유영복 · 공원식 · 오연이

국립원예특작과학원 인삼특작부 버섯과

Effect of Conversion Rate of γ-Aminobutyric Acid (GABA) by Yogurt Fermentation with Addition of Nanoparticle Winter Mushroom and Hydroponic Ginseng

Pyung-Gyun Shin*, Hee-Cheong Kim, Young-Bok Yoo, Won-Sik Kong and Youn-Lee Oh

Mushroom Science Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong 369-873, Korea

ABSTRACT: γ-Aminobutyric acid (GABA) is basically neurotrasmitter produced by the decarboxylation of L-glutamic acid catalyzed by glutamic acid decarboxylase (GAD), which was known to convert monosodium glutamate (MSG) to GABA. To investigate enhancement of reversion rate of GABA, the yogurt fermentation with addition of nanoparticle winter mushroom and hydroponic ginseng was used. The conversion rate was revealed to nanoparticle winter mushroom and hydroponic ginseng fermenter (88%) > winter mushroom fermenter (52%) > nanoparticle winter mushroom fermenter (44%). The results showed that nanoparticle winter mushroom and hydroponic ginseng supplemented substrates for enhancement of GABA may be used more effectively as one of potential sources of functional foods.

KEYWORDS: γ-Aminobutyric acid (GABA), Conversion Rate, *Flammulina velutipes,* Hydroponic ginseng, Yogurt fermentation,

서 론

γ-Amionobutyric acid (GABA)는 glutamic acid decarboxylase (GAD)에 의해 glutamate가 비가역적으로 탈탄산화 되어 생성되는 비단백질 구성 아미노산의 일종으로서(Bao *et al*., 1995; Schwart, 2000), 가슴이나 척수(추)에 존재하는 억제계의 신경전달물질로서 중추신경에 있어서 중요한 역할을 하는 것 외에도 혈압상승 억제작용이나 정신안정작용이 있는 것으로 알려져 있다(Mody *et al*., 1994; Abe *et al*., 1995). 이 외에도 이뇨작용, 항우울증작용, 항산화작용 등의 효과와 더불어 성장호르몬의 분비조절에도 관여하며, 통증 완화 및 뇌졸중 치료의 의약품으로 등록되어 있다(Krogsgaard-Larsen, 1989; Leventhal *et al*., 2003).

GABA는 각종 야채, 과일, 쌀, 콩 등에 널리 분포되어 있으나 자연상태로는 그 함량이 낮아 생리작용을 나타내는 농도를 얻기 힘들다(Mody *et al*., 1994). 이러한 이유로 최근 GABA의 함량을 높인 식품소재의 개발이 활발히 이루어지고 있다. 최근에는 유색미에 키토산 처리하여 GABA의 함량을 높인 식품(Oh and Choi, 2000)이나 차잎을 혐기 처리하여 GABA의 함량을 높인 가바론차, 미생물을 이용하여 GABA를 강화한 식품 제조법으로서 유산균, 국균 및 효모 등을 이용한 식품개발이 이루어지고 있다(Komatsuzaki *et al*., 2005; Yang *et al*., 2008; Yokoyama *et al*., 2002). 담자균으로서는 *Agaricus*의 균사체나 자실체에 의한 것이 보고되어 있는데 pH 조정이나 40°C

J. Mushrooms 2015 December, 13(4):334-337
http://dx.doi.org/10.14480/JM.2015.13.4.334
Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
© The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author
E-mail : pgshin@korea.kr
Tel : +82-43-871-5706, Fax : +82-43-871-5702

Received December 8, 2015
Revised December 22, 2015
Accepted December 24, 2015

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이상의 중고온에 의한 처리를 하면 고온에서 얻어지는 GABA에는 착색이나 잡균냄새가 남는다. 또한 GABA로 변환효율이 낮다.

한편, 인삼은 전통의학의 임상기록을 근거로 하여 그 효능에 대한 인식과 신뢰가 매우 높은 약재이다. 인삼 내 사포닌(saponin)의 함량은 4-10% 수준으로 알려져 있고, 사포닌의 3번, 6번 탄소에 결합한 배당체의 종류, 위치, 수에 따라 항암, 당뇨개선, 노화방지 등 다양한 생리조절기능이 나타나는 것으로 알려져 있다.

팽이 버섯은 저온성 담자균으로서 우마미 성분인 글루타민산이 풍부하며 팽이 균사체를 이용한 발효대두에서 전립선암 및 자궁암 성장억제 효과가 있다고 보고되며(최 등, 2004), 다른 식용 및 약용버섯에 비해 GABA의 함량이 72.17 mg/100 g DW(Dry weight)로 대체로 높은 함량을 나타내고 있다는 보고가 있다(Kim *et al*., 2001). 또한 팽이버섯 내에 내재하는 GAD의 GABA 합성의 최적화를 위한 pH조건 및 온도조건에 관한 연구가 보고되었다(Shirasaka *et al*., 2011).

따라서 본 연구에서는 산업적 생산을 위하여 팽이버섯에 내재하고 있는 GAD를 활성화시켜 GABA 함유량을 향상시키기 위해 팽이버섯의 나노분말과 수경재배된 인삼분말을 기질로 하여 유산균 발효법으로 GABA의 증가뿐만 아니라 전환 효율도 높여 식품소재로서의 가치를 평가하고자 한다.

재료 및 방법

GABA의 제조

본 실험에 사용된 GABA 발효 요구르트를 제조하기 위해 시중에 판매하는 N사의 요구르트 15개를 50 mL conical tube에 각각 50 ml씩 담아 원심분리(4°C, 1 hr, 4,000 rpm)하여 가라앉은 pellet을 한 tube에 모아 유산균 농축액을 만든 다음 이 농축액에 우유 1200 ml를 넣어 골고루 섞어 우유 유산균액을 제조하였다.

고농도의 GABA를 함유한 발효요구르트를 제조하기 위해 팽이분말의 입자크기 및 인삼분말 처리에 따른 GABA 생성의 차이를 확인하고자 하였다. 처리구로는 우유 유산균액 100 ml에 팽이분말 10 g, MSG 1 g, pyridoxal 0.5 g을 넣고 잘 혼합하여 만든 팽이분말 처리구, 우유 유산균 100 ml에 팽이나노분말[팽이분말을 제트밀 (FluidizedBed Jet Mill, CGS10, NETZSCH/ Germany)를 이용하여 나노분말로 분쇄하여 평균 직경 10 μm의 분말로 분쇄] 10 g, MSG 1 g, pyridoxal 0.5 g을 넣고 잘 혼합하여 만든 팽이나노분말 처리구, 우유 유산균 100 ml에 팽이나노분말 5 g, 인삼분말 5 g, MSG 1 g, pyridoxal 0.5 g을 넣고 잘 혼합하여 만든 팽이나노인삼분말 처리구를 제조한 다음 16시간동안 시중판매 발효기((주)앤유씨전자)로 발효하였다. 실험 대조군으로서 우유 유산균액 100 ml를 넣은 처리구를 16시간 발효하여 사용하였다.

발효 된 3개의 처리구와 대조군 발효 요구르트를 1 g씩 정밀하게 달아 각 각 증류수 10 ml에 넣어 추출한 다음 원심분리(4°C, 10 min, 13,500 rpm)하여 상등액을 취해 syringe filter (0.45 μm, 25 mm, PVDF membrane)로 여과하였다. 재료 자체 내의 GABA의 함량을 확인하기 위한 대조군으로서 팽이분말과 인삼분말을 증류수에 넣어 녹여 1%가 되게 조제한 후 syringe filter (0.45 μm, 25 mm, PVDF membrane)로 여과하였다. 이 여액을 분석시료로 사용하였다. 실험은 3반복으로 수행되었다.

TLC 정성분석

GABA의 생성을 확인하기 위해 분석시료와 대조군, GABA 및 MSG 1% 표준액을 Merck TLC silica gel 60 F_{254}에 3 μl씩 점적한 후 용매로 분리하여 확인하였다. 이때 사용한 용매의 조성은 n-butanol : acetic acid : water = 5 : 2 : 2로 혼합하여 사용하였다(Yoon, 2011). 1% ninhydrin을 스프레이 한 후, 열을 가하여 발색하였다.

HPLC 정량분석

발효요구르트의 GABA를 정량 분석하기 위하여 분석시료를 AccqTag Reagent를 사용하여 형광 유도체화 시킨 후 HPLC를 이용하여 측정하였다. 사용한 HPLC는 Waters사의 Waters 515 HPLC pump, Waters 717Plus Auto-sampler, Waters Pump Control Module, Waters 2475 Fluorescent detector를 이용하였다. Column은 AccqTag column(3.9 × 150 mm, Waters)을 사용하였으며, 이동상은 A용매로 10% AccqTag Eluent A 용액, B용매로 60% acetonitrile 용액을 gradient mode로 1 ml/min으로 흘려주었다. Injection volumn은 10 μl를 주입하고 UV detector (λ=249 nm, 36°C)를 사용하여 검출하였다(Jhune *et al*., 2012).

결과 및 고찰

GABA 생성 확인

피리독살은 세레토닌, 히스티딘, 노르에피네프린, GABA와 같은 신경전달 물질의 합성에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 따라서 GABA의 생성을 돕기 위해 발효 요구르트에 첨가해 주었다. 또한 팽이 버섯 내 GAD의 활성을 확인하기 위해 음식조리에 많이 이용되는 합성 첨가물인 Momosodium glutamate (MSG)를 인위적으로 처리하여 MSG의 GABA로의 전환을 확인하였다. 팽이버섯 내에 존재하는 GABA 및 발효 요구르트의 GABA 생성을 확인하기 위해 TLC분석을 실시한 결과 Fig. 1과 같이 모든 처리구에서 GABA의 생성을 확인할 수 있었다. 실험재료로 사용된 팽이 자체 내에서도 약간의 MSG와 GABA가 확인되었다(Fig 1.(B)). 이는 Kim *et al*. (2001) 팽이

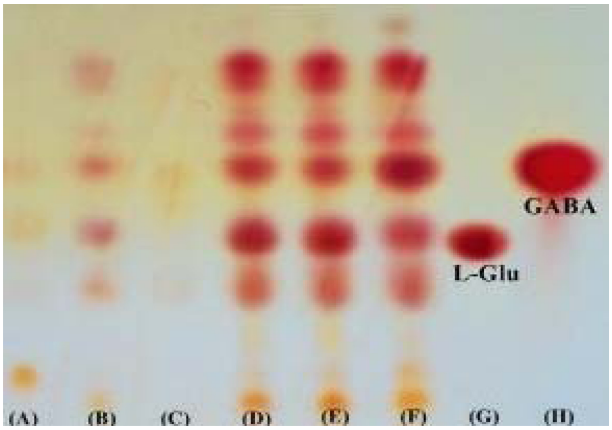

Fig. 1. Production of GABA by TLC analysis. (A) Hydroponic ginseng, (B) Winter mushroom, (C) Yakurt, (D) Particle winter mushroom fermenter, (E) Nanoparticle winter mushroom fermenter, (F) Nanoparticle winter mushroom and hydroponic ginseng fermenter, (G) L-glutamic acid, (H) γ-aminobutyric acid.

버섯 내 GABA가 존재한다는 보고와 일치했다(Kim *et al*., 2001). 대조군으로서 우유 유산균의 경우는 소량의 MSG와 GABA가 있다는 것으로 나타났다(Fig 1.(C)). 특히, GABA의 생성을 촉진시키기 위해 따로 인삼을 처리한 처리구에서는 다른 처리구에 비해 현저한 MSG의 GABA로의 전환이 확인되었다(Fig 1.(H)).

팽이버섯을 이용한 GABA 생산

팽이분말의 입자크기 및 인삼분말 처리에 따른 GABA의 생성을 확인을 위해 HPLC분석을 수행하였다. HPLC 분석 결과 Fig. 2에서와 같은 크로마토그램을 얻을 수 있었다. MSG의 GABA로의 전환율은 Fig. 3에 나타냈다. 1%의 MSG처리량에 따른 GABA 생산량을 토대로 전환율을 계산해 본 결과 각 각 팽이분말 발효군이 52.04%, 팽이나노분말 발효군이 44.04% 그리고 팽이나노인삼분말 발효군이 87.46%였다. 이는 TLC분석결과와 동일한게 팽이나노인삼분말 발효군에서의 GABA전환율이 가장 높은 것으로 나타났다. 따라서 GABA 전환율은 팽이나노인삼분말 발효군 > 팽이분말 발효군 > 팽이나노분말 발효군 순으로 나타났다. 이러한 결과는 팽이버섯내의 GAD의 활성 뿐만아니라 인삼이 가지고 있는 GAD도 관여한다고 추정할 수 있다.

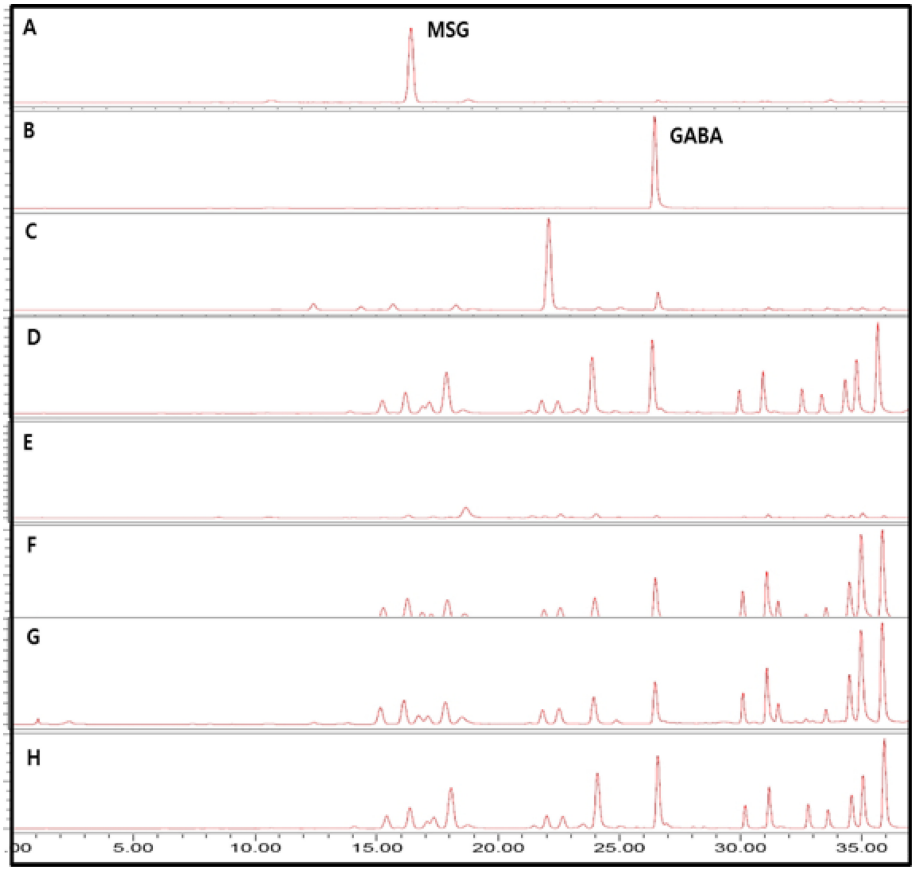

Fig. 2. Production of GABA by liquid chromatogram. (a) L-Glutamic acid(MSG), (b) γ-Aminobutyric acid(GABA), (c) Hydroponic ginseng, (d) Winter mushroom, (e) Yakurt, (f) Particle winter mushroom fermenter, (g) Nanoparticle winter mushroom fermenter, (h) Nanoparticle winter mushroom and hydroponic ginseng fermenter.

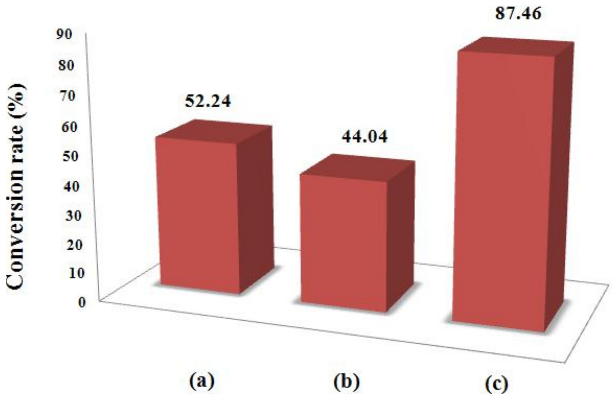

Fig. 3. Effect of conversion into GABA with treatment of Nanoparticle winter mushroom and hydroponic ginseng. (a) Particle winter mushroom fermenter, (b) Nanoparticle winter mushroom fermenter, (c) Nanoparticle winter mushroom and hydroponic ginseng fermenter.

적 요

팽이버섯 내에 존재하는 GAD 효소를 발효를 통해 활성화 시켜 MSG를 GABA로의 전환율을 높이고자 하였다. 효과적인 고농도 GABA를 생산하기 위해 나노분말 팽이버섯에다가 수경재배한 인삼을 첨가하여 야쿠르트발효기에서 발효한 결과 GABA 전환율은 팽이나노인삼분말 발효군(88%) > 팽이분말 발효군(52%) > 팽이나노분말 발효군(44%) 순으로 나타났다. 이러한 결과는 MSG를 기질로 첨가하는 식품에서 활용할 가치가 있으리라 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 농림축산식품부해양수산부농촌진흥청산림청 Golden Seed 프로젝트 사업(원예종자사업단, 과제번호 : 213003-04-1-CGI00)에 의해 이루어진 일부 연구결과입니다.

References

Abe Y, Umemura S, Sugimotto K, Hirawa N, Kato Y, Yokoyama T, Iwai J, Lshill M. 1995. Effect of green tea rich in γ-aminobutyric acid on blood pressure on Dahl salt-sensitive rats. *Am J Hypertens.* 8:74-79.

Bao J, Cheung WY, Wu JY. 1995. Brain L-glutamate decarvoxylase. *J Biol Chem*. 270:6464-6467.

Jhune CS, Yun HS, Lim HT, Sung GH, Cho JH, Yoo KH, Park KM. 2012. The change of amino acid content in fruit-body of winter mushroom according to the storage period and strains. *J Mushroom Sci Product.* 10(4):224-235.

Kim HJ, Kim HJ, Jun BS, Cha JY, Kim HK, Cho YS. 2001. Analysis of γ-aminobutyric acid concentrations in Korean plants and mushrooms. *Korean J Life Sci.* 11(6):537-542.

Komatsuzaki N, Shima J, Kawamoto S, Momose H, Timura T. 2005. Production of γ-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus paracasei* isolated rfom traditional femented foods. *Food Microbiol.* 22:497-504

Krogsgaard-Larsen P. 1989. GABA receptors. In Receptor phamacolog function. Ed. Williams M, Glennon R. A., Timmermans PMWM. Dekker. Inc. New York. USA.

Leventhal AG, Wang YC, Pu ML, Zhou YF, Ma Y. 2003. GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys. *Science.* 300:812-815.

Mody I, Dekoninck Y, Otis TS, Soltesz I. 1994. Bringing the cleft at GABA synapses in the brain. *Trends Neurosci.* 17:517-525

Oh SH. Choi WG. 2000. Production of the quality germinated browm rices containing high γ-aminobutyric acid by chitosan application. *Korean J Bio technol Bioeng.* 15:615-620

Schwartz JH. 2000. Neurotransmitters. Principles of Neural Science. pp. 280-297. Ed. Kandel ER., Schwartz JH. and Jessell TM. McGraw-Hill Companies. USA.

Shirasaka N, Yoshida T, Iwamoto K, Terashita T. 2011. Properties of Glutamate decarboxylase(GAD) from Edible mushroom. In Mushroom biology and mushroom products. Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Arcachon, France, 4-7 October, 2011. Volume 1. Oral presentations. pp. 274-278. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).

Yang SY, Lu FX, Lu ZX, Bie XM, Jiao Y, Sun LJ, Yu B. 2008. Production of γ-aminobutyric acid by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* Y2 under submerged fermentation. *Amino Acids.* 34:473-478.

Yokoyama S, Hiramatsu J, Hayakawa K. 2002. Production of γ-aminobutyric acid from alcohol distillery lees by *Lactobacillus brevis* IFO 12005. *J Biosci Bioeng*. 93:95-97.

Yoon SA. 2011. Development of a value-added Silage through Fermentation of Citrus by-product. M. D. Thesis. Inha University. pp. 19. Incheon. Korea