pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 36, No. 5, pp. 440~446 (2021)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.5.440

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

김치 유래 GABA 생성 *Lactobacillus plantarum*의 발효 및 항산화 특성

이영덕*
서원대학교 식품공학과

Fermented Property and Antioxidative Effect of GABA Producing *Lactobacillus plantarum* from Kimchi

Young-Duck Lee*
Department of Food Science and Engineering, Seowon University, Cheongju, Korea

(Received October 6, 2021/Revised October 26, 2021/Accepted October 26, 2021)

ABSTRACT - GABA (γ-aminobutyric acid) has various beneficial effects on human health such as anti-hypertension, diuretic, tranquilizer, sleep induction and anti-stress functions. In this study, the properties and the antioxidizing effects of a fermented solution was investigated by applying GABA producing lactic acid bacteria (LAB) from kimchi to corn silk extract. *Lactobacillus plantarum* LAB459 was identified by physiological properties, carbohydrate fermentation pattern and 16s rRNA sequence analysis. Also, the GABA production ability of the separated *L. plantarum* LAB459 was confirmed through TLC and HPLC analysis. Moreover, from the fermentation of corn silk extract with skim milk, it was revealed that approximately 1 μg/mg of GABA produced by lyophilized ferments was yielded. Lastly, the flavonoid content and DPPH radical scavenging activity were found to be high in the lyophilized ferments than in the aqueous extracts. Therefore, *L. plantarum* LAB459 is considered to be used as a starter culture for various fermented foods or in food and medicinal materials.

Keywords: GABA, *L. plantarum*, Antioxidant, Fermentation, Characterization

오랜 역사를 갖고 있는 발효 식품은 과거부터 현재까지 우리의 식생활과 밀접한 관계를 맺고 있으며, 이러한 식생활은 우리 나라의 경우도 점차 서구 선진국 형태로 변화 되면서 심혈관계 질환, 면역 질환, 정신 질환 등 다양한 질병 발생이 증가 추세에 있다[1-3]. 특히, 최근에는 소비자들이 건강에 대한 관심 증대로 인해 육류 소비, 단순 가공 식품이나 햄버거 등의 Fast foods의 섭취는 감소하고 있으며, 신선 식품이나 발효 식품 등의 소비가 증대되고 있는 추세이다[4-6]. 발효 식품의 경우 유산균, 효모, 곰팡이 등 다양한 미생물들이 거대분자들을 작은 크기의 단량체 등으로 분해하여 소화 흡수율을 높인다. 또한 발효 과정 동안에 젖산 등의 다양한 대사 산물들을 생성하게 된다[7,8]. 유산균의 경우 발효 동안 젖산을 비롯한 다수의 유기산들을 생성하고, 항균 효과를 갖는 bacteriocin 등의 항균물질, 항산화 물질, 면역활성물질, GABA 등의 신경전달물질 등을 생성한다. 식품의 풍미와 제품 수명에 영향을 주거나 인체 생리 활성과 건강 기능 조절에 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다[2,9]. 또한 probiotics로서 사람의 장내에 서식하면서 장내 균총 개선, 면역 조절 작용, 콜레스테롤 저하, 병원성 세균들의 생육 억제, 유당 불내증 개선 등의 다양한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다[10,11]. 또한 유산균이 생산하는 다양한 생리 활성능을 갖는 물질들에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 이를 활용하여 건강 기능 식품, 화장품, 제약 분야에서 다양한 소재로 이용되고 있다[12].

최근에는 γ-amino butyric acid (GABA)를 형성하는 유산균에 대한 연구가 진행되고 있으며, GABA를 생성하는 유산균을 식품 소재 등으로 활용하는 연구도 수행되고 있다. GABA는 현재 세계적인 식품 소재로 다양하게 이용되고 있는데, 보통 동물과 식물 등 자연계에 존재하는 것으로

*Correspondence to: Young-Duck Lee, Department of Food Science and Engineering, Seowon University, Cheongju 28674, Korea
Tel: +82-43-299-8472, Fax: +82-43-299-8470
E-mail: ydlee@seowon.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal 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.

알려져 있으며 미생물이 생육하면서 대사 산물로 만드는 것으로 알려져 있다[13,14]. 보통 glutamic acid가 glutamate decarboxylase에 의한 탈탄산 반응을 통해 GABA가 생성되는 것으로 보고되어 있다[15,16]. 이러한 GABA는 신경 억제 작용, 정신 안정 기능, 혈압 상승 억제, 뇌의 대사 촉진 작용 등의 여러 효과를 갖고 있어 기능성 식품 소재로 각광을 받고 있다[17,18]. 따라서, 본 연구에서는 김치로부터 신규 유산균을 분리 및 동정하고, GABA 형성능을 분석한 후 GABA 생성 유산균을 옥수수 수염 열수 추출물에 적용하여 폴리페놀, 플라보노이드, 항산화능에 대해 확인하였다.

Materials and Methods

유산균 분리 및 당자화성 분석

유산균 분리를 위해 대형 마트에서 시판 중인 김치 시료 25 g을 225 mL의 0.1% peptone water (Difco Laboratory, Detroit, MI, US)에 혼합 하고, stomacher (Costa Brava 08030, IUL masticator, Barcelona, Spain)를 이용하여 균질화한 후 10진법으로 희석한 후 MRS agar (Difco Laboratory, Detroit, MI, US)에 도말 후 37°C에서 24~48 시간 동안 Anaerobic Jar에서 배양하였다. 배양된 집락들 중 형태학적으로 상이한 집락을 선택하여 MRS agar에 평판 획선도말하여 순수 분리하고, Gram test, catalase test, 현미경 확인을 통해 1차 선별하였다. 분리된 균주들을 대상으로 β-glucosidase 활성을 확인하기 위해 esculin agar (Difco Laboratory, Detroit, MI, US)에 각각 접종하고 esculin을 가수분해하여 배지를 흑갈색으로 변색시키는 세균을 β-glucosidase 생성 균주를 분리하였다. β-glucosidase 활성이 확인된 균주들을 대상으로 49종 당의 산화와 발효 특성을 확인하기 위해 API 50CHL kit (bioMerieux SA, France)를 사용하여 분석하였다. 실험 방법은 Biomerieux 사의 manual에 따라 실험하고 확인하였다.

유산균 동정을 위한 염기서열 분석

선발된 유산균의 최종 동정을 위해 16s rRNA 염기서열 분석을 수행하였다. 염기서열 분석을 위해 분리된 젖산균을 MRS broth에 배양한 후 배양액 1 mL을 취해 원심 분리한 후 0.8% 멸균생리식염수로 수세하였다. 그리고 genomic DNA kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 DNA를 추출하여 PCR을 위한 template DNA로 이용하였으며, 세균의 16s rRNA에 대한 universal primer인 785F (GGATTAGAT ACCCTGGTA)와 907R (CCGTCAATTCMTTTRAGTTT)을 사용하였다. PCR 수행 후 전기영동을 통해 증폭산물을 확인하고 QIAquick PCR purification kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 정제하였다. 염기서열은 Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Biosystems, Carlsbad, CA, USA)와 ABI 3700 sequencer (Biosystems, Carlsbad, CA, USA)에 의해 수행하였으며, primer는 위와 동일하게 사용하였다. 16S rRNA sequence의 homologous의 분석은 National Center for Biotechnology Information (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)의 BLAST search program을 이용하여 DNA database와 비교하였다. 계통학적 분석은 Clustal X, BioEdit, MEGA 4 (www.megasoftware.net/)를 이용하여 염기서열간의 유전적 거리와 phylogenetic tree를 확인하였다.

TLC 분석을 통한 GABA 생성능 확인

GABA 생성 특성을 확인하기 위한 방법으로 박층크로마토그래피(Thin Liquid Chromatography; TLC)를 수행하였다[19]. MSG 첨가에 따른 균주 성장 및 pH 변화를 조사하기 위하여 Monosodim glutamate (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)가 약 3% 첨가된 MRS 배지에 균주를 접종한 후 30°C에서 0, 12, 24, 36, 48 시간 배양하면서 흡광도를 측정하였다. 균주의 성장과 pH 변화를 확인하였으며, 배양 시간에 따라 유산균주 배양액을 TLC 판에 분주하여 아래의 조건에서 분석하였다. 각 시료를 TLC 판에 분주한 후 butanol:acetic acid:water (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)=4:1:1를 전개용매로 사용하여 전개하였다. 전개된 TLC 판을 0.2% ninhydrin (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)을 이용하여 발색하여 생성물 GABA spot과 기질 glutamic acid 생성을 확인하였다.

HPLC 분석

TLC 분석을 통해 확인된 GABA 생성 유산균에 대한 GABA 생성능을 추가적으로 확인하기 위해서, GABA (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)를 표준 물질로 하여 High Performance Liquid Chromatography (HPLC, YL9100, Younglin, Anyang, Korea)를 수행한 후 발효 시료에 대한 GABA 검출을 수행하였다. HPLC 수행을 위해 30 μL 시료, 5 μL 0.4 M borate buffer (pH 10.2)와 0.5 μL OPA 시약(Agilent Technologies, Germany)을 혼합한 후 Table 1의 조건으로 HPLC 수행하여 GABA 형성을 확인

Table 1. HPLC condition for GABA analysis

Column	Agilent HC-C18(2) (4.6 mm×150 mm, 5 μm)
Column temperature	40°C
Flow rate	1.0 mL/min
Wave length	358 nm
Injection volume	10 μL
Mobile phase	A : 40mM sodium phosphate + 0.1% phosphoric acid B : Acetonitrile : Methanol : Water = 45 : 45 : 10(v/v/v)

하였다. 그리고 GABA 표준 물질에 대해 0.01%의 GABA를 2진 희석한 후 HPLC를 수행한 후 각각의 농도에 따른 peak 면적과 농도에 따른 표준 곡선을 그려 표준 곡선을 작성하였으며, 이를 GABA 정량분석을 수행하였다.

GABA 형성 유산균을 이용한 옥수수 수염 추출물 발효

신규 GABA 형성 유산균을 활용하여 옥수수 수염 추출물의 GABA 형성 특성을 확인하고자 하였다. 옥수수 수염 열수 추출을 위한 옥수수 수염은 괴산영농조합법인을 통해 구입하였다. 옥수수 수염 2% (w/v)를 100°C의 열수에 첨가하고 1시간 동안 고압 멸균기를 활용하여 추출하여 옥수수 및 옥수수수염 열수 추출액을 제조하였다. 그리고 열수 추출액을 여과지에 통과시켜 1차 여과한 후 0.45 μm syringe filter (Merck, Darmstadt, Germany)로 2차 여과 및 제균하여 옥수수 수염 열수 추출물로 사용하였다. GABA 형성 유산균을 이용하여 2% 옥수수 수염 열수 추출물에 5% skim milk, MSG를 첨가한 후 GABA 형성 유산균인 *L. plantarum* LAB459를 접종한 후 배양하고, 옥수수 수염 열수 추출 발효물을 동결 건조한 후 GABA 생성을 TLC와 HPLC를 수행하여 확인하였다.

발효물의 생리 활성능 분석

GABA 형성 유산균을 이용한 옥수수 열수 추출 발효물의 폴리페놀, 총풀라보노이드 성분에 대해 확인하였다. 폴리페놀 화합물의 측정은 Swine 등의 방법에 준하여 측정하였다[20]. 추출시료 1 mL에 95% ethanol 1 mL 와 증류수 5 mL를 첨가하고 0.5 mL 1N folin-ciocalteu reagent (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)를 넣어 잘 섞어주고, 5분간 방치한 후, 2% Na_2CO_3 1 mL를 가한 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 tannic acid (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)를 적정 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 폴리페놀 함량을 측정하였다. 플라보노이드 분석은 시료를 희석한 후 25 μL를 취해 10 mM의 Tris HCl 1 mL와 5% $NaNO_3$ 75 μL를 첨가한 다음, 실온에서 6분간 방치한 후 10% $AlCl_3$ 150 μL를 첨가하고 재혼합한 후 5분 간 실온에 방치를 하였다. 이후 1 M NaOH 500 μL와 Ethanol 275 μL를 첨가하며 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 플라보노이드 측정을 위한 표준용액으로는 Quercetin (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다[21]. 항산화 효과는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical에 대한 라디칼 소거활성을 Blois법에 준하여 측정하였다[22]. 시료 0.5 mL에 60 μM DPPH 3 mL를 넣고 vortex한 후 15분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 표준 곡선을 위한 시료는 ascorbic acid (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하였고 표준곡선으로부터 DPPH 항산화능을 분석하였다.

Results and Discussion

유산균 분리와 특성

김치로부터 GABA 형성 유산균을 분리하기 위해 희석된 시료를 MRS agar에서 배양한 후 형태학적으로 차이를 나타내는 집락을 성별하여 Gram test, catalase test, 현미경 검경을 통해 유산균을 분리하였다. 순수 분리된 집락에 대해 β-glucosidase 활성능을 확인하기 위해 esculin agar에 tooth-picking 한 후 24시간 동안 37°C에서 배양한 후 집락 주변에 검은색 환을 확인하여 β-glucosidase 생성능이 있는 균주를 2차적으로 분리하였다. 선발된 유산균들은 대부분 β-glucosidase 생성능이 있는 것으로 나타났으며, 이 중 LAB459가 β-glucosidase 활성이 우수한 것으로 확인되었다. 유산균의 경우 식물체에 많이 존재하는 배당체를 분해할 수 있는 다양한 효소를 보유하고 있기 때문에, 발효 등을 통해 여러 대사 산물을 형성하면서 다양한 생리 활성능을 갖게 되어 식품, 화장품, 제약 산업 등에 활용되고 있다[23,24]. 따라서 본 연구에서는 β-glucosidase 활성이 우수한 LAB459를 연구에 적용하고자 하였다. 분리된 유산균인 LAB459을 대상으로 API 50 CHL kit를 이용하여 당 발효특성 등의 생화학적 특성을 확인하고, 그 결과를 동정 프로그램을 통해 확인하였다(결과 미제시). API 50CHL을 통해 확인한 결과 *L. plantarum*이 이용하는 탄수화물들의 종류와 유사한 것으로 나타났다.

16S rRNA 염기 서열 분석을 통한 동정

신규 분리된 유산균인 LAB459의 최종 동정을 위해 16s rRNA 염기서열을 NCBI에 BLAST한 결과 *L. plantarum*과 상동성이 가장 높은 것으로 나타났다. 유산균들과의 phylogenetic tree 분석을 수행한 결과 *L. plantarum*과 계통학적으로 가장 근접한 것으로 확인되었다(Fig. 1). 대부분의 유산균은 GRAS로써 야채, 유제품 등의 발효에서 우점종으로 작용하면서 발효 과정 동안 식품에 다양한 풍미와 기능성 물질들을 생산하여 식품 산업에서 중요한 역할을 하고 있다. 이 중 *L. plantarum*의 경우 가장 널리 알려진 유산균으로 식품 산업에서 매우 중요한 작용을 하고 있는 것으로 보고되고 있다[12]. 최근에는 생균제인 probiotics로도 활용 되면서 장관계 질환의 예방 및 치료에도 적용되고 있다[10,11]. 또한 GABA를 고농도로 생산하는 특징을 가지고 있는 것으로 알려져 있다[25]. 따라서 본 연구에서는 분리된 *L. plantarum* LAB459를 이용하여 GABA 생성능 분석과 발효 특성에 대해 확인하고자 하였다.

TLC와 HPLC 분석을 통한 GABA 분석

분리된 *L. plantarum* LAB459의 GABA 형성능을 확인하기 위해 TLC와 HPLC 분석을 수행하였다. MSG가 첨가된 MRS broth에 *L. plantarum* LAB459를 배양하면서

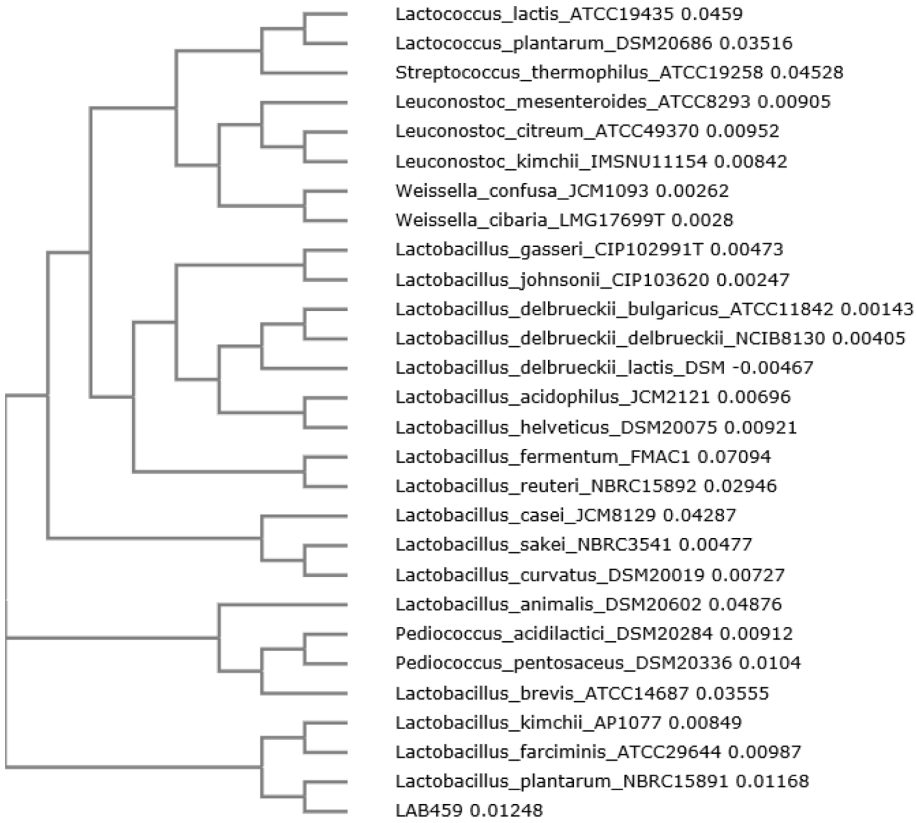

Fig. 1. Phylogenetic tree of *L. plantarum* LAB459 based on 16S rRNA sequences of lactic acid bacteria.

시간에 따른 GABA 생성능을 확인한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 배양 시간이 지나감에 따라 표준 물질인 GABA와 동일한 위치의 spot이 점차 커지는 것으로 나타나서 초기 배양에 첨가한 MSG가 GABA로 전환되는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 TLC를 통해 확인된 spot에 대해 HPLC 분석을 통해 GABA를 확인한 결과, *L. plantarum* LAB459의 GABA 생성능을 확인하였다(Fig. 3). 최근 다양한 연구자들이 GABA 생성 유산균에 대한 연구를 수행하여 젓갈로부터 유래한 *L. plantarum*의 GABA 형성을 확인하였다[25]. 또한 원유로부터 GABA 형성 *L. acidophilus*를 분리하였고[26], 김치로부터 *L. plantarum*을 분리하여 GABA 생성 특성을 보고하였다[27]. 이 외에도 막걸리, 치즈 등 다양한 발효 식품으로부터 GABA를 생성하는 *L. sakei, L. buchneri* 등이 보고되었다[28,29]. 따라서 본 연구에서 분리된 *L. plantarum* LAB459의 GABA 형성능을 활용하여 GABA 전환 조건 확립, 유전자 재조합을 통한 GABA 발현 최적화 등에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 이러한 GABA는 일반적으로 비단백태 아미노산으로 동물의 경우 주요 흥분 억제성 신경전달물질로 알려져 있다. 특히 GABA는 혈압상승억제, 시력증진, 항 불안, 항 경련 등 인체의 많은 생리적인 메카니즘 조절에 관여하는 것으로 보고되고 있다[12,16]. 본 연구에 활용된 *L. plantarum*

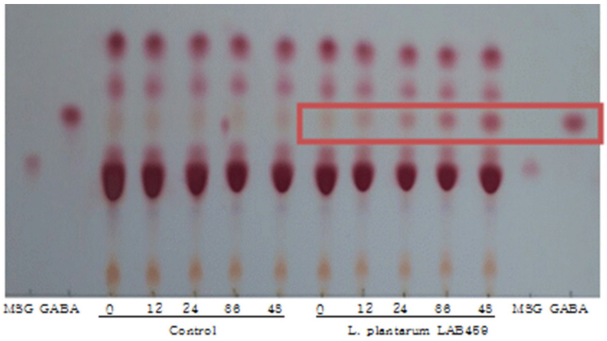

Fig. 2. TLC analysis of GABA obtained from *L. plantarum* LAB459 broth during incubation time. Lane 1: Monosodium glutamate, Lane 2: GABA.

LAB459가 생성하는 GABA를 다양한 식품 소재 또는 의약 소재로도 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

GABA 형성 *L. plantarum* LAB459를 이용한 옥수수 수염 열수 추출 발효

GABA 형성 *L. plantarum* LAB459를 활용하여 옥수수 수염 열수 추출물의 발효에 적용하였다. 옥수수는 현재 다양한 산업 분야에 있어서 매우 중요한 작물로서 조미료, 시약, 화장품, 주류, 도료, 제지 등 산업 전반에 걸쳐 활용되

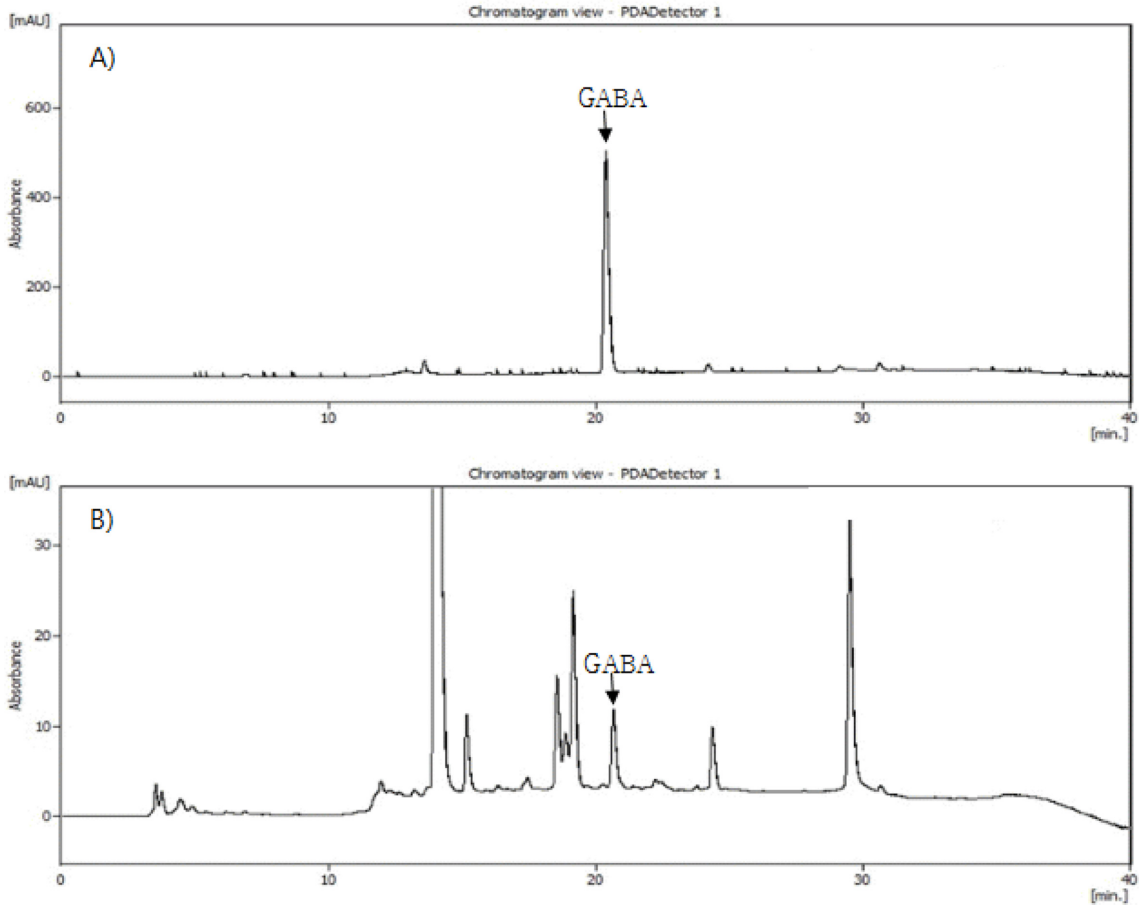

Fig. 3. HPLC analysis of (A) GABA and (B) culture supernatant of *L. plantarum* LAB459.

고 있다. 특히 옥수수에 함유된 다양한 항산화 물질인 saponin, tocopherol, β-carotene, chlorogenic acid, quercetin 등이 보고되고 있다[30]. 또한 옥수수 수염의 경우 항산화 효과와 더불어 항균활성 등과 이뇨작용, 혈압 강하 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다[31]. 따라서 본 연구에서는 옥수수 수염 열수 추출물에 *L. plantarum* LAB459를 접종하여 GABA 생성등 발효물의 기능성을 강화하고자 하였다. 옥수수 수염 열수 추출물과 skim milk를 혼합 후 *L. plantarum* LAB459를 접종한 발효물에 GABA 형성 확인을 위해 TLC 분석을 수행하였다(Fig. 4). 배양 시간이 지나감에 따라 MSG가 포함된 MRS 배지에서 GABA 생성양이 증가하는 것과 마찬가지로, 발효 시간이 경과함에 따라 GABA 형성양이 증가하는 것으로 확인되었다. 그리고 옥수수 수염 열수 추출 발효물을 동결 건조한 후 GABA의 형성 정도를 HPLC로 분석한 결과, 동결 건조물 1 mg에 포함된 GABA는 약 1 μg 수준으로 확인되었다. GABA의 생성 정도는 MSG로부터 GABA가 생성되는 정도를 분석했을 때 MSG의 농도, 스타터용 유산균의 수, 영양원의 구성 등에 따라서 차이가 나는 것으로 보고되고 있다. 또한 유산균을 이용하여 다양한 식물 또는 식품 발효를 통해 생성되는 GABA의 함량들은 식

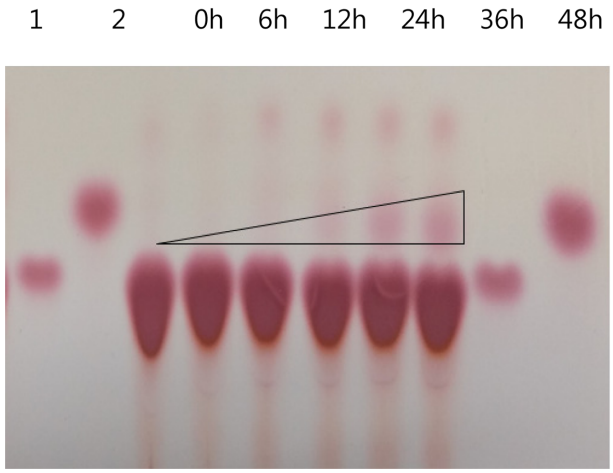

Fig. 4. TLC patterns of GABA in lyophilized ferments. Lane 1: Monosodium glutamate, Lane 2: GABA.

품의 종류, GABA 형성 유산균의 종류, 산도, GABA 전환 능력 등 다양한 조건에 따라 형성되는 것으로 알려져 있다[32,33]. 따라서 추후 해당 연구에서 확인된 옥수수 열수 추출

발효물 생산을 위해 탄소원 및 질소원의 종류, MSG의 농도, 신규 GABA 형성 유산균 활용 등을 통해 최적화된 GABA 생성이 이루어질 수 있도록 할 필요가 있을 것으로 사료된다.

옥수수 수염 열수 추출 발효물의 폴리페놀, 플라보노이드, 항산화 효과

옥수수 수염 열수 추출 발효물의 생리활성능을 평가하기 위해 폴리페놀, 플라보노이드 함량에 대해 분석하였다. 일반적으로 폴리페놀과 플라보노이드의 경우 식물체에 존재하는 생리활성물질로 항산화 및 항암 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 특히 폴리페놀 화합물의 경우 라디칼 소거능을 통한 우수한 항산화 작용이 있는 것으로 알려져 있다[34]. 옥수수 열수 추출물과 옥수수 열수 추출 발효물에 대해 폴리페놀 함량을 확인한 결과, 옥수수 열수 추출물은 9.19±0.05 μg/mL로 나타났으며, 옥수수 열수 추출 발효물의 경우는 8.07±0.24 μg/mL로 확인되었다. 또한 플라보노이드의 경우 옥수수 열수 추출물은 9.94±24.42 μg/mL, 옥수수 열수 추출 발효물은 10.64±1.27 μg/mL 수준으로 확인되었다. 기존 연구에서는 녹각 및 목이버섯의 GABA 생성 유산균을 이용해 발효 후에 폴리페놀이 약간 증가함을 확인하였으나, 플라보노이드의 경우는 다소 감소하는 것으로 나타났다[35]. 이러한 결과는 발효를 위해 사용되는 스타터용 유산균에 따라 나타나는 다양한 생리 특성에 기인하는 것으로 판단된다. 그리고 옥수수 열수 추출물과 옥수수 열수 추출 발효물의(10 mg/mL) DPPH 라디칼 소거능을 확인한 결과, 옥수수 수염 열수 추출물은 ascorbic acid 대비 약 30% 라디칼 소거능을 나타냈으며, 옥수수 열수 추출 발효물의 경우는 약 90% 라디칼 소거능을 확인하였다. 일반적으로 발효를 통해 다양한 종류의 거대 분자를 단량체 등 보다 작은 물질로 분해하거나, 유산균이 살아가면서 생산해내는 다양한 대사 산물 생성과 함께 새로운 물질을 만들 수 있게 된다[9]. 또한 다양한 천연물에 대해 유산균 발효를 수행할 경우 발효 전에 비해 항산화능이 증가하는 것으로 보고되고 있기 때문에 본 연구 결과에서도 유사한 결과를 나타난 것으로 보여진다[36]. 본 연구를 통해 GABA를 생성하는 신규 *L. plantarum* LAB450를 분리 및 동정하였으며, 옥수수 수염 열수 추출물에서 발효를 통해 GABA 형성 특성과 함께 발효물의 폴리페놀, 플라보노이드, DPPH 라디칼 소거능을 확인하였다. 이를 통해 *L. plantarum* LAB459가 생산하는 GABA의 식품 및 화장품의 소재화와 함께 *L. plantarum* LAB459을 다양한 식품 발효에 적용하여 항산화능의 강화가 가능할 것으로 사료된다.

국문요약

GABA는 식물, 동물 및 미생물 등 자연계에 다양하게 존재하고 있으며, 항고혈압, 이뇨, 진정, 수면유도 및 항스트레스 등 다양한 효과가 있는 것으로 알려져 있어서 식품, 의약품 소재로 활용되고 있다. 본 연구에서는 김치로부터 분리한 GABA 형성 유산균을 옥수수 수염 추출물에 적용하여 발효 특성과 발효물의 항산화 효과에 대해 분석하였다. 신규 *L. plantarum* LAB459의 분리와 동정은 생화학적 특성, 당자화성 및 16s rRNA 염기 서열 분석을 통해 확인되었다. 그리고 TLC와 HPLC 분석을 통해 분리된 *L. plantarum* LAB459가 GABA 생성능이 있는 것으로 나타났다. 그리고 탈지유가 포함된 옥수수 수염 열수 추출물에 대해 발효를 수행한 결과, 동결 건조된 발효물에 약 1 μg/mg 수준의 GABA가 형성된 것을 확인하였다. 또한 발효물에 대한 플라보노이드와 항산화 분석은 옥수수 수염 열수 추출물에 비해 더 높은 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서 분리된 *L. plantarum* LAB459는 다양한 식품 발효의 스타터 또는 식품 소재와 의약품 소재로 적용이 가능할 것으로 판단된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Young-Duck Lee https://orcid.org/0000-0003-1171-2153

References

1. Breier, A., Albu, M., Picker, D., Zahn, T.P., Wolkowitz, O.M., Paul, S.M., Controllable and Uncontrollable Stress in Humans: Alterations in Mood and Neuroendocrine and Psycho physiological Function. *Am. J. Psychiatry.*, **144**, 1419-1425 (1987).
2. Wallace, T.C., Guarner, F., Madsen, K., Cabana, M.D., Gibson, G., Hentges, E., Sanders, M.E., Human gut microbiota and its relationship to health and disease. *Nutr. Rev.*, **69**, 392-403 (2011).
3. Lee, Y.D., Properties of Aqueous Extract of *Protaetia Brevitarsis* Larva and Mountain Ginseng Fermented by *Lactobacillus brevis*. *J. Food Hyg. Saf.*, **33**, 369-374 (2018).
4. Soriano, J.M., Rico, H., Molto, J.C., Manes, J., Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in university restaurants. *Int. J. Food Microbiol.*, **58**, 123-128 (2000).
5. Bae, H.J., Lee, J.H., Oh, S.I., Effect of applying pretreatment methods before cooking for decreasing the microbiological hazard of cooked dried fish in foodservice establishments. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.*, **19**, 555-561 (2003).
6. Kang, T.M., Cho, S.K., Park, J.H., Antibiotic resistances of *Enterococcus* isolated from salad and sprout. *Microbiology*

and Biotechnology Letters, **36**, 142-148 (2008).
7. Hubert, J., Berger, M., Nepveu, F., Paul, F., Dayde, J., Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. *Food Chem*., **109**, 709-721 (2008).
8. Katina, K., Liukkonen, K.H., Kaukovirta-Norja, A., Adlercreutz, H., Heinonen, S.M., Lampi, A.M., Pihlava, J.M., Poutanen, K., Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. *J. Cereal Sci*., **46**, 348-355 (2007).
9. Leroy, F., De Vuyst, L., Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol*., **15**, 67-78 (2004).
10. Jeppsson, B., Mangell, P., Thorlacius, H., Use of probiotics as prophylaxis for postoperative infections. *Nutrients*, **3**, 604-612 (2011).
11. Vyas, U., Ranganathan, N., Probiotics, prebiotics, and synbiotics: gut and beyond. *Gastroenterol. Res. Pract*., **2012**, 1-16 (2012).
12. Kang, K.H., Health Benefits of Lactic Acid Bacteria. *Curr. Top. Lact. Acid. Bact. Probiotics*, **1**, 1-8 (2013)
13. Sarasa, S.B., Mahendran, R., Muthusamy, G., Thankappan, B., Selta, D.R.F., Angayarkanni, A., Brief review on the non-protein amino acid, gamma-amino butyric acid (GABA): Its production and role in microbes. *Curr. Microbiol*., **77**, 534-544 (2020).
14. Podlešáková, K., Ugena, L., Spíchal, L., Doležal, K., De Diego, N., Phytohormones and polyamines regulate plant stress responses by altering GABA pathway. *N. Biotechnol*., **25**, 53-65 (2019).
15. Hao, R., Schmit, J.C., Purification and Characterization of glutamate decarboxylase from *Neurospora crassa* conidia. *J. Biol. Chem*., **266**, 5135-5139 (1991).
16. Satya Narayan, V., Nair, P.M., Metabolism, enzymology and possible roles of 4-amninobutyrate in higher plants. *Phytochemistry*, **29**, 367-375 (1990).
17. Mody, I., De Koninck, Y., Otis, T.S., Soltesz, I., Bringing the cleft at GABA synapses in the brain. *Trends Neurosci*., **17**, 517-525 (1994).
18. Oh, C.H., Oh, S.H., Effects of germinated brown rice extracts with enhanced levels of GABA on cancer cell proliferation and apoptosis. *J. Med. Food*, **7**, 19-23 (2004).
19. Gokani, V.N., Thakker M.U, Patel, J.G., Ghosh, S.K., Chatterjee, S.K., Thin-layer chromatographic method for estimation of gamma-aminobutyric acid from brain. *Indian J. Physiol. Pharmacol*., **23**, 101-104 (1979).
20. Swain, T., Hillis, W.E., The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric*., **10**, 63-68 (1959).
21. Davis, W.B., Determination of flavanones in citrus fruits. *Anal. Chem.,* **19**, 476-478 (1947).
22. Blois, M.S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199–1200 (1958).
23. Kim, H.S., Kim, J.Y., Park, M.S., Zheng, H., Ji, G.E., Cloning and expression of β-glucuronidase from *Lactobacillus brevis* in *E. coli* and application in bioconversion of baicalin and wogonoside. *J. Microbiol. Biotechnol*., **19**, 1650-1655 (2009).
24. Rekha, C.R., Vijayalakshmi, G., Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. *J. Appl. Microbiol*., **109**, 1198-1208 (2010).
25. Jeun, J.H., Kim, H.D., Lee, H.S., Ryu, B.H., Isolation and identification of *Lactobacillus* sp. produced γ-aminobutyric acid (GABA) form traditional slat fermented anchovy. *Korean J. Food & Nutr*., **1**, 72-79 (2004).
26. Lim, S.D., Yoo, S.H., Yang, H.D., Kim, S.K., Park, S.Y., GABA productivity in yoghurt fermented by freeze dried culture preparations of *Lactobacillus acidophilus* RMK567. *Food Sci. Anim. Resour*., **29**, 437-444 (2009).
27. Park, S.Y., Shim, H.Y., Kim, K.S., Lim, S.D., Physiological characteristics and GABA production of *Lactobacillus plantarum* K74 isolated from Kimchi. *J. Dairy Sci. Biotechnol*., **31**, 143-152 (2013).
28. Park, K.B., Oh, S.H., Isolation and characterization of *Lactobacillus buchnri* strains with high γ-aminobutyric acid producing capacity from naturally aged cheese. *Food Sci. Biotechnol*., **15,** 86-90 (2006).
29. Lee, H.J., Son, J.Y., Lee, S.J., Lee, H.S., Lee, B.J., Choi, I.S., Sohn, J.H., Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus plantarum* subsp. plantarum B-134 isolated from makgeolli, traditional Korean rice wine. *J. Life Sci*., **27**, 567-574 (2017).
30. Kim, S.L., Choi, B.H., Park, S.U., Moon, H.G., Functional ingredients of maize and their variation. *Korean J. Crop Sci*., **41**, 46–68 (1996).
31. Ku, K.M., Kim, S.K., Kang, Y.H., Antioxidant activity and functional components of corn silk (Zea mays L). *Korean J. Plant Res*., **22**, 323-329 (2009).
32. Cho, S.C., Kim, D.H., Park, C.S., Koh, J.H., Pyun, Y.R., Kook, MC., Production of GABA-rich tomato paste by *Lactobacillus* sp. fermentation. *Korean J. Food & Nutr*., **25**, 26-31 (2012).
33. Lee, H.S., Kwon, S.Y., Lee, S.O., Lee, S.P., Production of fermented omija (*Schizandra chinensis*) beverage fortified with high content of gamma-amino butyric acid using *Lactobacillus plantarum*. *Korean J. Food Preserv*., **23**, 326-334 (2016).
34. Kim T.K., Shin H.D., Lee Y.H., Stabilization of polyphenolic antioxidants using inclusion complexation with cyclodextrin and their utilization as the fresh-food preservative. *Korean J. Food Sci. Technol*., **35**, 266-271 (2003).
35. Kwon, S.Y., Whang, K., Lee, S.P., Anti-inflammatory effects and GABA production of old antler and Auricularia auricula-judae extract fermented by *Lactobacillus plantarum*. *Korean J. Food Preserv*., **24**, 274-281 (2017).
36. Yoo, S.J., Chin, J.E., Oh, S.H., Ryu, M.J., Hwang, K.T., Antioxidant activity in GABA lactic acid bacteria fermentation. *J. Chitin and Chitosan*, **24**, 199-204 (2019).