

Research Article

GABA 함량이 증진된 발효된 유산균 쌀 발효액 제조

강경석¹ · Inonge Noni Siziya² · 서동호^{1,2*}

¹전북대학교 농축산식품융합학과

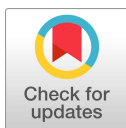
²전북대학교 식품공학과

Production of LAB-Fermented Rice Beverage with Enhanced GABA Content

Gyeong-Seok Kang¹, Inonge Noni Siziya² and Dong-Ho Seo^{1,2*}

¹Department of Agricultural Convergence Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea

²Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea



Received: 12월 3일, 2020
Revised: 12월 17일, 2020
Accepted: 12월 18일, 2020

*Corresponding author :
Dong-Ho Seo
Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea
Tel: +82-63-270-2571,
Fax: +82-63-270-2572
E-mail: dhseo@jbnu.ac.kr

ORCID

Gyeong-Seok Kang
https://orcid.org/0000-0001-9496-166X
Inonge Noni Siziya
https://orcid.org/0000-0002-0014-2557
Dong-Ho Seo
https://orcid.org/0000-0003-0423-5686

Abstract

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a functional component with physiological activity that helps to protect the liver from blood pressure reduction and alcohol damage, and is known to be widely distributed in various vegetables and fruits. In this study, a fermented rice syrup with enhanced GABA content was developed. The improved syrup was prepared by adding monosodium glutamate (MSG) to saccharified rice and using a complex of three types of lactic acid bacteria (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*) with excellent GABA production ability. The physicochemical changes of the fermented rice syrup were measured, and the final pH of the product was 4.7 with a total water-soluble solid content of 22.1 °Brix. Of the dissolved solids, glucose (39.6 mg/mL) and maltose (12.7 mg/mL) were the main components, and it was confirmed that all MSG was converted to GABA. From the experiment, it was established that the rice syrup obtained from secondary fermentation of saccharified rice is suitable as a beverage base. The fermented saccharified rice syrup was differentiated from conventional rice fermented products which typically use yeast and acetic acid bacteria in the production process. The enhanced fermented rice syrup produced in this study was made using lactic acid bacteria in the fermentation and saccharified rice.

Keywords

gamma-aminobutyric acid, lactic acid bacteria, rice syrup

서론

식품 발효는 몇 세기 동안 사용된 효율적인 식품 가공 보존 기술이다. 발효에 사용되는 미생물은 식품에



복합 화합물 분해, 유기산 생산, 비타민 농도 증가 등과 같은 이점을 준다. 발효 중 영양소의 흡수를 방해하는 화합물들을 저하시키며, 유익한 화합물의 생물학적 이용 가능성을 증가시킬 수 있다 (Das *et al.*, 2020; Di Cagno *et al.*, 2016). 발효식품에 대한 관심이 높아지면서 효능이 좋은 발효식품에 대한 연구 개발도 활발해졌다. 식품에서 가장 많이 사용되는 미생물은 유산균(lactic acid bacteria)에 있는 프로바이오틱스이다. 유산균은 다양한 제품을 생산하기 위해 유제품, 야채, 시리얼 등에 사용되었다(Bevilacqua *et al.*, 2016).

곡물은 생리 화학적 화합물로 알려져 있지 않지만, 다양한 종류의 식품에서 기능성을 가진 화합물 운반체로 사용된다 (Di Cagno *et al.*, 2016). 세계적으로 쌀은 주식으로 생산되고 소비한다. 또한 쌀을 프로바이오틱스와 함께 발효시 유산균을 자극하고 유기산 생산을 증가시키고(Hong and Ko, 1991), 발효 유기농 쌀 당화액과 유산균으로 만든 음료는 맛을 증가시키며, 대중적으로 소비자들에게 잘 맞을 것이다(Kim *et al.*, 2017).

GABA(gamma-amino butyric acid)는 자연계에 분포하는 비단백질 아미노산의 일종이며, 포유동물에서 뇌와 척수에 존재하는 신경 전달 물질 중 하나이다. 또한 뇌의 혈류를 개선하여 뇌의 산소 공급이 증가되고, 뇌의 대사 향상과 의욕 저하의 치료제로 사용된다(Oh *et al.*, 2002; Xing *et al.*, 2007). 또한 혈압강화작용, 통증과 불안증세 완화, 당뇨병 예방, 불면, 우울증 완화 등 여러가지의 기능성을 나타내는 것으로 보고되었으며(Lim and Kim, 2009), GABA의 농도가 급격히 감소하거나 함량이 줄어들 때에는 발작이나 경련 등이 발생하고, 이러한 현상이 지속되면 간질, 치매 등 신경에 관련된 신경성 질환을 일으킬 수 있다(Shelp *et al.*, 1999). 그리고 항이노호르몬에서 바소프레신 분비를 억제하고, 혈관을 확장해서 혈관을 낮추는 고혈압 저하 효과 또는 이노 효과 등 여러가지 생리 작용을 한다. 그러나 식물에서의 GABA는 발아 현미, 녹차 등에 다소 함유되어 있지만, 약리작용을 하기에 턱없이 함량이 낮아서 일반적인 섭취로 GABA의 생리작용을 기대하기는 어렵다. GABA의 대량 생산에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔으나, 합성 GABA의 경우에는 식욕 부진, 설사 등 부작용이 있어 발효제법을 이용하여 GABA를 생산을 하는 연구 개발을 하고 있으나, 아직까지는 수율이 낮다(Lim and Kim, 2009).

본 연구는 쌀 당화액을 유산균을 이용한 쌀뜨물 발효액으로 발효하여 이화학적 특성을 확인하여 유산균 쌀 발효액의 음료 베이스의 가능성을 확인하였다. 또한, 이때 쌀 발효액 제조시 glutamic acid를 첨가하여 GABA 함량을 높였다.

재료 및 방법

균주 및 시약

실험을 위해 사용된 쌀뜨물 발효액, 발효제는 라이스텍(주)에서 제공하였다.

실험방법

발효 쌀 당화액 소재의 개발 설정

쌀당화액, 찹쌀당화액을 쌀발효액의 첨가량이 30%, 40%가 되게 하여 발효 시간(36 h, 72 h), 발효 온도(30℃, 40℃)를 다르게 하여 발효시켰고, 여과 후 25℃에서 72시간 숙성시켜 최종 발효액을 만들었다.

쌀 당화액 발효를 위해서 쌀뜨물 발효액 발효제 2종을 사용하였다. 발효제 A는 곰팡이 2종, 세균 10종, 젖산균 6종, 효모 10종을 배양한 것이며, 발효제 B는 젖산균 3종으로 배양한 것이다. 이때 발효제 B에 사용된 젖산균은 김치로부터 GABA 생산능력이 우수한 균주로 *Lactobacillus brevis* (KACC91548P), *Lactobacillus plantarum* (KACC91549P), *Lactobacillus mesenteroides* (KACC91547P)를 이용하였다. 쌀 당화액(50°Brix) 30 mL에 라이젠 21.6 mL를 배합하여 35℃에서 48시간 배양한 후, 배양액을 8,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 배양액 상정액을 filter paper (Advantec No.1, Advantec MFS, Japan)로 여과하였다.

GABA가 함유된 발효 쌀 당화액을 만들기 위해 쌀 당화액 (50°Brix) 30 mL에 유산균 쌀뜨물 발효액 30 mL, 1 g monosodium glutamate(MSG)를 배합하여 35℃에서 48시간 발효하였다. 발효액은 8,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 배양액 상정액을 filter paper (Advantec No.1, Advantec MFS, Japan)로 여과하였다. 여과 후, 쌀 당화액 1 L당 100 mL 발효액을 첨가하여 35℃에서 24시간 발효하였다. 최종 발효액은 70℃에서 1시간 동안 방치하여 살균 공정을 거친 후, 8,000 rpm에서 30분간 원심분리 및 여과를 하여 최종 유산균 쌀 발효액을 제조하였다.

GABA 함량 분석

쌀뜨물 발효액의 GABA 생성 여부를 확인하기 위하여 얇은막 크로마토그래피(TLC, thin-layer chromatography) 분석을 이용하였다. 알루미늄 TLC plate를 사용하였으며, Sample은 5 μ L씩 분주하여 전개용매를 통해 전개시켰다. 전개용매는 n-Butanol: acetic acid:D.W = 3:2:1이 되도록 준비하였으며, 발색용매는 0.4% ninhydrin-acetone 용액을 준비하였다. 전개시킨 TLC는 발색시킨 후 110℃ 오븐에서 10분간 말려 시각화하였다.

발효 쌀 당화액의 GABA 함량의 정량분석을 하기 위해서 발효 쌀 당화액을 *o*-phthaldialdehyde(OPA)를 이용하여 유도체화를 수행하였고, 이를 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC, Class-VP10, Shimadzu, Japan)을 사용하여 분석하였다. OPA 유도체화는 0.4 N borate buffer(pH 10.4) 25 μ L에 0.45 μ m syringe filter로 여과한 발효액 5 μ L와 OPA reagent(Agilent Technologies, Germany) 5 μ L를 넣은 후 상온에서 5분간 방치하였다. 그 후 멸균수 330 μ L를 첨가하여 HPLC로 분석하였다. 분석컬럼은 Zorbax Eclipse AAA 컬럼(4.6 \times 150 mm I.d., particle size 3.5 μ m, Agilent Technologies)을 사용하였다. Detection wavelength는 338 nm, 컬럼 온도는 40 $^{\circ}$ C로 설정하였다.

유리당 함량 분석

발효 쌀 당화액의 유리당 함량은 high performance anion-exchange chromatography(HPAEC, ICS-5000, Dionex, USA)을 이용하였다. 발효 쌀 당화액을 0.45 μ m syringe filter를 이용하여 불순물을 제거한 후 HPAEC에 25 μ L를 주입하였다. 이동 용매로는 150 mM sodium hydroxide(NaOH)(A)와 500 mM sodium acetate(B)를 이용하였고, A 용매에서 B 용매로 선형농도 구배를 유속 1.0 mL/min으로 주었다. HPAEC는 Dionex model DX-600(Dionex, USA)을 사용하였고, Detector는 ED50 electrochemical detector(Dionex)를, 컬럼은 CarboPacTM PA-1 columne(250 \times 4 mm, Dionex)을 사용하였다.

이화학적 특성 측정

pH 측정은 pH meter(ORION, model 520A)를 사용하여 측정하였다.

산도측정은 시료 10 mL를 취하여 증류수로 3배 희석한 후 1%

phenolphthalein-ethanol 지시약을 2~3방울 가하고 0.1 N-NaOH용액으로 중화 적정하여 소비 mL 수에 대한 구연산 및 젖산량으로 계산하였다.

탁도는 시료를 Spectrophotometer(V-650, Jasco, Japan)을 이용하여 590 nm에서 abs값을 측정하였다.

결과 및 고찰

발효 쌀 당화액 소재의 개발 설정

멥쌀당화액 및 찹쌀당화액을 쌀발효액의 첨가량이 30%, 40%가 되게 하여 발효시간(36 hr, 72 hr), 발효온도(30 $^{\circ}$ C, 40 $^{\circ}$ C)를 다르게 하여 발효시켰고, 여과 후 25 $^{\circ}$ C에서 72시간 숙성시켜 발효액을 만든 후 품질 특성을 비교하였다. 36시간 발효한 쌀 당화액의 품질특성 결과는 Table 1에 나타내었다. pH의 경우, 여과 전보다 여과 후의 값이 증가함을 나타냈으며, 산도의 경우 여과 후의 값이 낮아지며, 탁도의 경우 여과 후의 값이 낮아짐을 나타나 여과 후의 변화 중 탁도의 값이 큰 폭으로 변화함을 나타내었다. 그리고 72시간 발효한 쌀 당화액의 품질 특성 결과는 Table 2에 나타내었다. 72시간의 경우 역시 pH는 여과 후의 값이 증가하였으며, 산도 값은 낮아지며, 탁도의 경우 여과 후의 값이 낮아짐을 나타나 여과 후의 변화 중 탁도의 값이 큰 폭으로 변화함을 나타내어 멥쌀에서는 36시간과 72시간 발효 시간에 따른 변화의 추이가 같은 경향을 나타내었다. 멥쌀 당화액과 더불어 찹쌀 당화액의 실험결과는 Table 3, 4에 나타내었다. 그 결과, 멥쌀 당화액의 변화추이와 같은 경향으로 여과 후의 결과 값 중 pH는 증가함을 나타내며, 산도의 값은 낮아짐을 나타내었다. *Leuconostoc mesenteroides*와 함께 접종한 현미 당화액의 pH는 배양 9시간 이후 pH 3.63으로 급격히 감소한 후에 배양 15시간에 pH 3.57로 감소하였으며, 적정산도는

Table 1. Characteristics of 36h fermented rice syrup

Sample ¹⁾	Before filtration			After filtration		
	pH	Acidity	Turbidity	pH	Acidity	Turbidity
A1	3.59 \pm 0.23 ^{a2)3)}	0.96 \pm 0.15 ^c	3.37 \pm 0.14 ^a	3.64 \pm 0.13 ^a	0.80 \pm 0.04 ^c	0.34 \pm 0.13 ^a
A3	3.26 \pm 0.11 ^c	1.69 \pm 0.21 ^a	2.86 \pm 0.02 ^b	3.37 \pm 0.05 ^c	1.32 \pm 0.12 ^a	0.10 \pm 0.06 ^c
A5	3.58 \pm 0.01 ^a	1.11 \pm 0.08 ^b	3.41 \pm 0.11 ^a	3.69 \pm 0.04 ^a	0.97 \pm 0.03 ^b	0.16 \pm 0.15 ^{bc}
A7	3.29 \pm 0.04 ^{bc}	1.76 \pm 0.06 ^a	2.82 \pm 0.24 ^{bc}	3.43 \pm 0.13 ^b	1.44 \pm 0.08 ^a	0.16 \pm 0.24 ^{bc}

¹⁾ A1: mixed starter culture content 30%, 36h fermentation at 30 $^{\circ}$ C, A3: mixed starter culture content 30%, 36h fermentation at 40 $^{\circ}$ C, A5: mixed starter culture content 40%, 36h fermentation at 30 $^{\circ}$ C, A7: mixed starter culture content 40%, 36h fermentation at 40 $^{\circ}$ C.

²⁾ Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

³⁾ Values with different letters within the same column (a-c) differ significantly ($p < 0.05$).

Table 2. Characteristics of 72h fermented rice syrup

Sample ¹⁾	Before filtration			After filtration		
	pH	Acidity	Turbidity	pH	Acidity	Turbidity
A2	3.33±0.05 ^{a2)3)}	1.65±0.02 ^{bc}	3.39±0.13 ^a	3.41±0.01 ^a	1.42±0.05 ^c	0.12±0.13 ^c
A4	3.12±0.11 ^b	2.18±0.06 ^a	3.19±0.24 ^b	3.25±0.11 ^c	1.99±0.01 ^b	0.16±0.11 ^b
A6	3.35±0.06 ^a	1.78±0.08 ^b	3.20±0.05 ^b	3.45±0.04 ^a	1.59±0.06 ^c	0.18±0.03 ^b
A8	3.14±0.13 ^b	2.34±0.22 ^a	3.19±0.02 ^b	3.28±0.13 ^b	2.03±0.06 ^a	0.21±0.05 ^a

¹⁾ A2: mixed starter culture content 30%, 36h fermentation at 30℃, A4: mixed starter culture content 30%, 36h fermentation at 40℃, A6: mixed starter culture content 40%, 36h fermentation at 30℃, A8: mixed starter culture content 40%, 36h fermentation at 40℃.

²⁾ Values are expressed as mean ± SD (n=3).

³⁾ Values with different letters within the same column (a-c) differ significantly ($p<0.05$).

Table 3. Characteristics of 36h fermented glutinous rice syrup

Sample ¹⁾	Before filtration			After filtration		
	pH	Acidity	Turbidity	pH	Acidity	Turbidity
B1	3.58±0.21 ^{b2)3)}	1.05±0.08 ^c	3.65±0.01 ^c	3.71±0.11 ^b	0.86±0.02 ^c	0.28±0.04 ^b
B3	3.33±0.03 ^c	1.65±0.06 ^a	3.73±0.01 ^b	3.51±0.02 ^c	1.32±0.01 ^a	0.17±0.01 ^c
B5	3.62±0.11 ^a	1.24±0.05 ^b	3.90±0.04 ^c	3.77±0.06 ^a	1.01±0.01 ^b	0.30±0.05 ^a
B7	3.35±0.04 ^c	1.78±0.21 ^a	4.59±0.03 ^a	3.53±0.03 ^c	1.44±0.06 ^a	0.17±0.06 ^c

¹⁾ B1: mixed starter culture content 30%, 36h fermentation at 30℃, B3: mixed starter culture content 30%, 36h fermentation at 40℃, B5: mixed starter culture content 40%, 36h fermentation at 30℃, B7: mixed starter culture content 40%, 36h fermentation at 40℃.

²⁾ Values are expressed as mean ± SD (n=3).

³⁾ Values with different letters within the same column (a-c) differ significantly ($p<0.05$).

Table 4. Characteristics of 72h fermented glutinous rice syrup

Sample ¹⁾	Before filtration			After filtration		
	pH	Acidity	Turbidity	pH	Acidity	Turbidity
B2	3.34±0.01 ^{a2)3)}	1.88±0.01 ^b	3.75±0.08 ^b	3.49±0.06 ^b	1.53±0.18 ^c	0.19±0.04 ^{ab}
B4	3.21±0.04 ^b	2.13±0.01 ^{ab}	3.59±0.04 ^c	3.39±0.02 ^c	1.86±0.25 ^b	0.24±0.03 ^a
B6	3.40±0.03 ^a	1.92±0.02 ^b	3.85±0.03 ^{ab}	3.56±0.27 ^a	1.59±0.07 ^c	0.24±0.08 ^a
B8	3.24±0.01 ^b	2.34±0.21 ^a	3.91±0.19 ^a	3.40±0.04 ^c	2.03±0.03 ^a	0.22±0.19 ^{ab}

¹⁾ B2: mixed starter culture content 30%, 36h fermentation at 30℃, B4: mixed starter culture content 30%, 36h fermentation at 40℃, B6: mixed starter culture content 40%, 36h fermentation at 30℃, B8: mixed starter culture content 40%, 36h fermentation at 40℃.

²⁾ Values are expressed as mean ± SD (n=3).

³⁾ Values with different letters within the same column (a-c) differ significantly ($p<0.05$).

지속적으로 증가하여 0.40%에 도달하였다. 이로 인하여 배양 시간에 따라서 적정산도는 시간이 지날수록 더 높아지고, 그에 비하여 pH는 점차 줄어드는 것을 볼 수 있었다(Kim DC, 2011).

GABA 함량 분석

GABA 함량이 증진된 프리미엄 발효 쌀 당화액을 제조하기 위해 곰팡이 2종, 세균 10종, 젖산균 6종, 효모 10종을 쌀뜨물에 발효한

젓(쌀뜨물 발효액A)과 김치로 분리한 젓산균 3종을 쌀뜨물에 발효한 젓(쌀뜨물 발효액B) 2종류로 확인하였다. 쌀뜨물 발효액 A와 쌀뜨물 발효액 B의 GABA생성 능력을 확인하기 위해 1% MSG를 기질로 하여 발효제 A와 발효제 B를 35℃에서 24시간 반응한 후, thin-layer chromatography(TLC) 분석을 수행하였다(Figure 1). TLC 분석 결과, 두 쌀뜨물 발효액 중에서 발효액 B만 MSG를 이용하여 GABA로 전환시킬수 있음을 확인하였다. 발효액 B에 접종된 젓산균은 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*로 모두 GABA 생산 능력이 뛰어난 균주로 알려져 있다. TLC 분석에서 GABA의 생산량이 적은 이유는 GABA 생산은 발효 과정에 의해서 크게 일어나지만, 본 실험 조건에서는 발효액 B의 미생물들이 성장할 수 있는 탄소원이 없기 때문에 GABA 생산 발효가 충분히 일어나지 않았다. 이와 같이 미생물에 의하여 GABA가 생성이 될 때 GAD 효소에 의하여 glutamate가 decarboxylation이 되는 동시에 proton이 소비가 됨으로써 GABA 생성과 함께 pH를 높이므로, 이에 따라 2차 젓산균 발효가 진행이 되며, pH가 증가하는 현상은 기질인 MSG가 GABA로 전환이 되었음을 보여준다(Lim and Lee, 2014).

유리당 함량 분석

쌀뜨물 발효액 B을 이용하여 쌀 당화액을 35℃에서 48시간 발효를 수행하였다. 발효된 쌀 당화액의 GABA는 HPLC를 이용하여 분석하였다. 발효액에서 GABA의 함량은 3.89 mg/100g으로 미량이 검출되었다. GABA의 함량을 증진하기 위해 MSG를 첨가하여 발효하였다. 발효액에서는 기질로 사용된 MSG가 극히 미량 검출이 되었으며, GABA가 크게 검출되었다(Figure 2). 이 때의 GABA 함

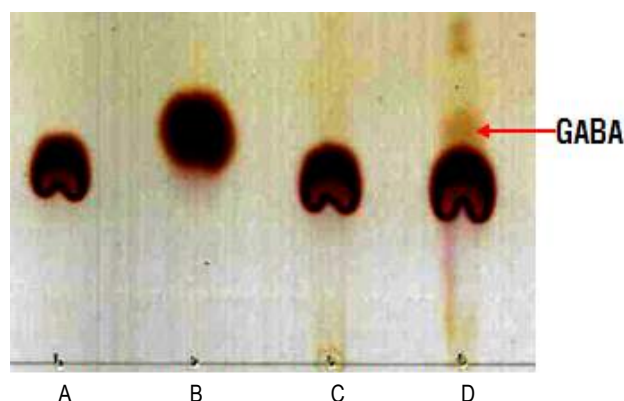


Fig. 1. Thin layer chromatogram of MSG-treated mixed starter culture showing GABA production. A, MSG; B, GABA standard; C, Mixed starter culture A; D, Mixed starter culture B.

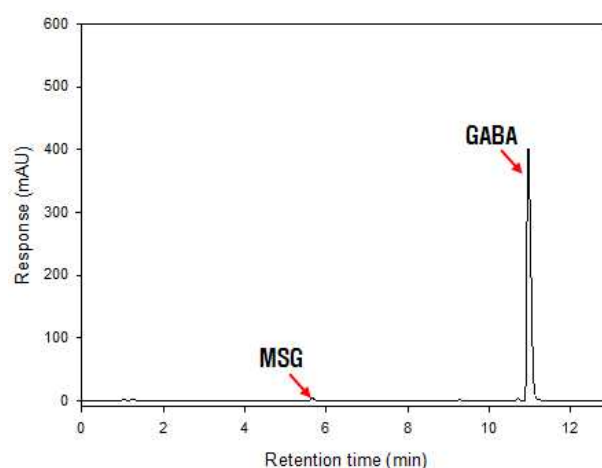


Fig. 2. High performance liquid chromatogram of MSG-treated fermented rice syrup beverage showing GABA conversion.

량은 700 mg/100g으로 약 180배 증가하였다. 이는 발효제 B의 젓산균들이 쌀 당화액을 탄소원으로 발효를 하면서 MSG를 GABA 생산을 위한 전구물질로 모두 소모했다는 것을 의미한다. 발효 과정 중 발효당을 확인해 보기 위해서 발효 쌀 당화액의 당 성분을 HPAEC 분석을 통하여 확인하였다(Figure 3). HPAEC 분석 결과, 쌀 당화액에는 포도당과 엿당이 주성분으로 존재하였고 미량의 maltooligosaccharides(G3~G5)가 존재함을 확인할 수 있었다. 발효제 발효 후, 엿당과 maltooligosaccharides의 변화가 미미한 반면에 포도당의 함량이 크게 감소함을 확인할 수 있었다. 이는 MSG가 첨가된 쌀 당화액을 유산균 발효액으로 발효시, 거의 대부

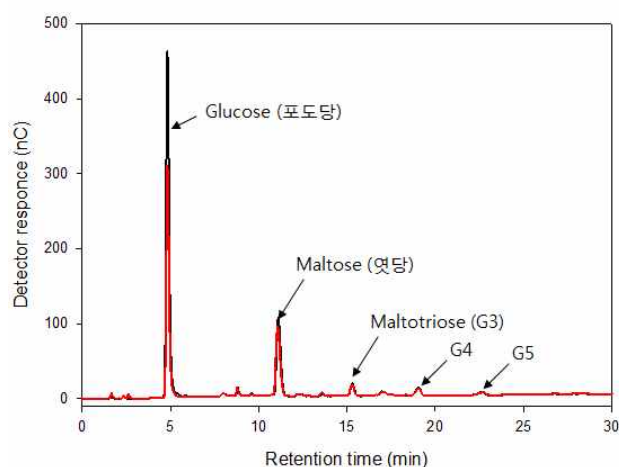


Fig. 3. High performance anion-exchange chromatogram showing isomaltoligosaccharides concentrations after primary fermentation (black line) and secondary fermentation (red line).

분의 MSG가 GABA로 전환이 되었음을 확인된다. 그리고 쌀 당화액은 포도당과 엿당이 주성분을 이루며, 쌀뜨물 발효액으로 발효 후, 포도당만 발효로 사용되고, 그 외 엿당 및 maltooligosaccharide(G3~G5)는 사용하지 않음을 확인했다.

녹각 추출물을 이용하여 GABA의 생산 최적화를 위하여 추출액 농도, 질소원인 Yeast extract(YE), 탄소원 포도당, GABA 생성 전구물질인 MSG 농도에 따른 최적 조건을 YE 0.5%, 포도당 1.5%, MSG 3.5%를 첨가해 30°C에서 7일간 젖산 발효를 한 결과, MSG가 GABA로 전환이 되어 GABA를 1.43% 생성하는 것으로 나타났다고 보고하였으며, MSG가 GABA로 전환이 되는 것이 연구결과 일치하였다(Kwon and Lee, 2018).

이화학적 특성 측정

본 GABA 함량이 증가된 발효 쌀 당화액을 쌀 복합소재 음료에 직접 사용하기에는 발효에 의한 이취 및 관능적 특성이 적합하지 않아 GABA 함량이 증가된 발효 쌀 당화액을 쌀 당화액과 다시 발효하여 음료베이스를 제조하였다. 발효 쌀 당화액과 발효 쌀 음료베이스의 품질 특성은 Table 5에 나타났다.

발효 쌀 당화액의 총수용성 성분 함량은 28.7 °Brix이며, pH는 4.01, 산도는 0.882%로 나타났다. 포도당과 엿당의 함량은 각각 6.2%, 12.1%였으며, 맛은 단맛이 거의 느껴지지 않았고, 짠맛 및 발효에 의한 이취(泥醉)가 나타났다. 이 때의 유산균 수는 9.3×10^8 CFU/mL로 발효가 활발히 이루어졌지만 음료에 바로 적용할 수 없는 특성이 나타났다. 이에 발효 쌀 당화액을 발효액으로 이용

하여 쌀 당화액과 2차 발효를 수행하였으며, 이것은 발효 쌀 당화액보다 총수용성 성분 함량, pH 및 당류의 함량이 높았으며 산도는 낮게 나타났다. 이때의 GABA 함량은 0.068%로 2차 발효시에 희석에 의해서 함량이 낮게 나왔지만, 이는 원래의 쌀 당화액 음료베이스보다 17배 이상 많은 함량이다. 발효 쌀 당화액 음료베이스의 맛은 달며 발효에 의한 이취(泥醉)가 거의 느껴지지 않았다. 또한, 열처리 통하여 유산균을 모두 제거하여 후 발효에 의한 음료의 변패를 막았으며, 발효 쌀 당화액보다 구연산의 함량이 많았으며, 아세트산의 함량은 감소하였다. 산돌배 추출액을 이용하여 젖산균 혼합발효를 통한 고농도의 GABA 생산을 수행한 실험에서 산돌배의 수용성 고형분함량은 5.25 °Brix였으며, 1차 젖산균의 발효물은 pH 4.19와 1.03%의 산도를 가졌다. 그 이후에 3%의 MSG를 첨가하여 2차발효를 한 결과, pH 4.50, 1.44%의 산도를 가짐으로써 최종적인 산돌배 혼합 발효물은 환원당과 MSG가 모두 소진되면서 1.78%의 GABA를 생산하는 것을 알 수 있었다(Choe and Lee, 2019).

요약

GABA 물질은 혈압저하 및 알코올성 손상으로부터 간을 보호하는데 도움을 주는 생리활성기능 2등급의 기능(지표)성분이며, 각종 채소와 과일에 널리 분포되어 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 GABA 함량이 증진된 쌀 발효액을 제조하였다. GABA함량이 증진된 쌀 발효액은 쌀 당화액에 monosodium glutamate(MSG)를

Table 5. Characterization of fermented rice beverage base and fermented rice syrup

Fermented rice syrup (primary fermentation)				Fermented rice beverage base (secondary fermentation)		
Total soluble solids (°Brix)	28.7			53.0		
pH	4.01			4.79		
Acidity (%)	0.882			0.297		
Glucose (%)	6.158			14.929		
Maltose (%)	12.107			19.881		
GABA (%)	0.7			0.068		
CIE L*a*b color difference	L	a	b	L	a	b
	27.74	-0.06	4.97	30.21	-0.01	8.52
Organic acid (mg/L)	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid
	9,287	2,670	2,443	8,375	1,943	3,294
Lactic acid bacteria (CFU/mL)	9.3×10^8			Not detected		

첨가한 후, γ -aminobutyric acid(GABA)생성 능력이 뛰어난 3종 유산균 (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*) 복합물을 이용하여 만들었다. 쌀 발효액의 최종 이화학적 변화를 측정하였고, 발효액의 pH는 4.7, 총 수용성고형분은 22.1 °Brix로 나타났다. 이중 당 성분은 포도당(39.6 mg/mL)과 엿당(12.7 mg/mL)이 주성분으로 분석되었으며, MSG를 모두 GABA로 변환함을 확인하였다. 본 실험 결과, 발효 쌀 당화액을 이용하여 2차 발효를 한 발효 쌀 당화액이 음료베이스에 적합하다고 할 수 있다. 본 발효 쌀 당화액은 기존의 쌀 발효물(증자된 쌀에 맥아를 이용한 식혜와 누룩을 이용한 당화 공정과 효모를 이용한 알코올 발효 공정이 복합적으로 일어나는 막걸리 이후 초산균이 발효하는 식초가 대표적)과는 차별적으로 쌀 당화액에 유산균을 이용하여 발효한 유산균 쌀 발효액이다.

References

1. Bevilacqua A, Casanova FP, Petrucci L, Sinigaglia M, and Corbo MR (2016) Using physical approaches for the attenuation of lactic acid bacteria in an organic rice beverage. *Food Microbiol.* **53**, 1-8.
2. Cho SY, Park MJ, Kim KM, Ryu JH, and Park HJ (2011) Production of high γ -aminobutyric acid (GABA) sour kimchi using lactic acid bacteria isolated from *muk-eunjee* kimchi. *Food Sci. Biotechnol.* **20**, 403-408.
3. Choe J-Y and Lee S-P (2019) High production of GABA in *Pyrus ussuriensis* Maximowicz fruit extract by mixed fermentation of lactic acid bacteria. *Korean J. Food Preserv.* **26**, 642-649.
4. Das G, Paramithiotis S, Sivamaruthi BS, Wijaya CH, Suharta S, Sanlier N, Shin H-S, and Patra JK (2020) Traditional fermented foods with anti-aging effect: A concentric review. *Food Res. Int.* **109269**.
5. Di Cagno R, Filannino P, and Gobbetti M (2016) Fermented Foods: Fermented Vegetables and Other Products. *Encyclopedia of Food and Health*. pp. 664-674.
6. Hansson A, Andersson J, and Leufven A (2001) The effect of sugars and pectin on flavour release from a soft drink-related model system. *Food Chem.* **72**(3), 363-368.
7. Hong O-S and Ko Y-T (1991) Study on preparation of yogurt from milk and rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **23**, 587-592.
8. Kim DC, Choi JW, and In MJ (2011) Utilization of *Leuconostoc mesenteroides* 310-12 strain in the fermentation of a traditional Korean rice-based beverage. *J. Appl. Biol. Chem.* **54**(1), 21-25.
9. Kim H-H, Lee W-P, Oh C-H, and Yoon S-S (2017) Production of a fermented organic rice syrup with higher isomalto-oligosaccharide using *Lactobacillus plantarum*. *Food Sci. Biotechnol.* **26**, 1343-1347.
10. Kim MJ and Kim KS (2012) Isolation and identification of γ -aminobutyric acid (GABA)-producing lactic acid bacteria from Kimchi. *J. Korean Soc. Appl. Bi.* **55**, 777-785.
11. Kwon SY and Lee SP (2018) Enrichment of gamma-aminobutyric acid (GABA) in old antler extract fermented by *Lactobacillus plantarum*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **50**, 37-43.
12. Lee JS, Kang YH, Kim KK, Lim JG, Kim TW, Kim DJ, Bae MH, and Choe M (2014) Production of saccharogenic mixed grain beverages with various strains and comparison of common ingredients. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **24**(1), 53-61.
13. Lee NY, Kim YS, and Shin DH (2003) Characterization of microbes for high temperature fermentation and the effect of high temperature fermentation of soy. *Food Sci. Biotechnol.* **12**(4), 390-398.
14. Lim J-S and Lee S-P (2014) Production of set-type yogurt fortified with peptides and γ -aminobutyric acid by mixed fermentation using *Bacillus subtilis* and *Lactococcus lactis*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **46**, 165-172.
15. Lim S-D and Kim K-S (2009) Effects and utilization of GABA. *Journal of Milk Science and Biotechnology.* **27**, 45-51.
16. Morales V, Corzo N, and Sanz ML (2008) HPAEC-PAD oligosaccharide analysis to detect adulterations of honey with sugar syrups. *Food Chem.* **107**(2), 922-928.
17. Oh S, Kim S, Moon Y, and Choi W (2002) Changes in the levels of γ -aminobutyric acid and some amino acids by application of a glutamic acid solution for



- the germination of brown rices. *Korean J Biotechnol Bioeng.* **17**, 49-53.
18. Shelp BJ, Bown AW, and McLean MD (1999) Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in Plant Sci.* **4**, 446-452.
 19. Thwe SM, Kobayashi T, Luan T, Shirai T, Onodera M, Hamada-Sato N, and Imada C (2011) Isolation, characterization, and utilization of γ -aminobutyric acid (GABA)-producing lactic acid bacteria from Myanmar fishery products fermented with boiled rice. *Fisheries Sci.* **77**(2), 279-288.
 20. Xing SG, Jun YB, Hau ZW, and Liang LY (2007) Higher accumulation of γ -aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant Physiol. Biochem.* **45**, 560-566.
 21. 윤광섭 이준호, 최종희 (1996) 사과와 삼투건조시 유리당과 유기산의 변화. *한국식품과학회지.* **28**(6), 1095-1103.
 22. 조상균, 박종진 (2013) 유산균 발효에 의한 쌀 발효물. *국내특허출원* 10-2013-0086024.
 23. 최한석, 여수환, 정석태, 최지호, 한귀정, 조영목, 이승화, 김주연, 이영혜, 전진아 (2013) 쌀 발효제를 이용한 잠곡발효음료의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 곡물발효음료. *국내특허등록* 10-1322356-0000.