KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 42, No. 5, pp. 632~636 (2010)

연구노트

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

©The Korean Society of Food Science and Technology

발아 유색미의 GABA(γ-aminobutyric acid) 함량 분석

안미경 · 안준배[1] · 이상화[2] · 이광근*
동국대학교 식품생명공학과, [1]서원대학교 외식산업학과, [2]서원대학교 식품영양학과

Anaylsis of γ-aminobutyric Acid (GABA) Content in Germinated Pigmented Rice

Mi-Kyoung An, Jun-Bae Ahn[1], Sang-Hwa Lee[2], and Kwang-Geun Lee*
Department of Food Science and Biotechnology, Dongguk University-Seoul
[1]Department of Food Service Industry, Seowon University-Chungju
[2]Department of Food and Nutrition, Seowon University-Chungju

Abstract The level of γ-aminobutyric acid (GABA) in pigmented rice was quantitatively and qualitatively determined by high pressure liquid chromatography/fluorescence detection (HPLC/FLD). In this study, the recovery rate and limit of detection (LOD) of GABA were 122.4±2.4% and 0.23 μg/g, respectively. The geminating pigmented rice samples, which were harvested in Paju, Korea, were soaked in water at 18°C for 20 hr. After soaking, the samples were germinated at 30°C for about 24 hr. GABA content was highest (293.0 μg/g) in the germinated red rice. Furthermore, GABA levels in the germinated rice increased significantly by up to 11.1 and 24.7-fold as compared to non-germinated rice and milled rice, respectively. The GABA concentrations of non-germinated rice, with the exception of red rice, were significantly higher than those of milled rice by 7.6-20.6-fold.

Keywords: γ-aminobutyric acid (GABA), pigmented rice, germinated rice, red rice, black rice

서 론

쌀(*Oryza sativa* L.)은 아시아 국가에서 가장 많이 소비되는 곡류 중의 하나로, 세계 인구의 거의 절반 이상이 주식으로 소비하고 있다(1). 우리가 주로 섭취하는 쌀은 백미의 형태로 현미의 도정 과정을 통해 얻어지는데, 이 과정을 통해 쌀에 포함된 여러 성분들 즉 당질, 지방질, 아미노산, 비타민, 무기질 등의 함량이 변화된다(2). 또한 중요 효소인 amylase와 peptidase의 효소활성도도 변화된다고 보고되고 있다(2). 현미는 벼의 왕겨만 제거한 것으로 배아와 겨 층에 대부분의 영양소가 존재하며, 백미보다 식이섬유, 아미노산, 피틴산, 비타민 B와 E 등의 영양 성분을 더 많이 함유하고 있다(3-5). 또한 현미는 적갈색에서 흑자색에 이르는 다양한 변이의 유색미가 재배되는데, 적갈색계의 현미는 탄닌계 색소가, 흑자색계에는 안토시아닌계 색소가 함유되어 있다(6). 그리고 등숙기에 과피층의 엽록소 소실이 늦어 녹색을 띠는 현미 즉 녹미도 생산된다(7). 이들 유색미에 포함된 탄닌계 색소는 유해성 중금속 제거 및 변이원 물질 생성을 억제시키는 등의 효능이 있으며, 안토시아닌계 색소는 항산화, 항암 기능 등의 효능을 보유하고 있는 것으로 보고되었다(8). 또한 엽록소는 조혈, 항암, 항염 등의 효능을 가지고 있다(8,9).

현미가 지닌 여러 생리활성으로 인해 소비자의 관심은 증대되었으나, 거친 식감으로 소비가 크게 증가하고 있지는 않다(10). 하지만 현미를 발아시킬 경우 전분, 다당류, 단백질 등이 분해되어 올리고당과 아미노산을 증가시킴으로써 기호성이 증진된다. 또한 세포벽 분해효소가 작용하여 현미 외피의 일부가 가수 분해되고 조직이 연화되어 거친 식감을 개선시켜 주는 것으로 보고되었다(5,10-12). 여러 영양소 즉 각종 비타민, 무기질, 효소, 아라비녹실란, 아미노산, γ-aminobutyric acid(GABA) 등의 함량이 발아 후 증가되는 것으로 보고 되고 있다(13). 이 중 GABA는 자연계에 분포하는 비단백질 아미노산의 일종으로 4개의 탄소로 구성되어 있으며, 물에 매우 잘 녹는 물질이다(14,15). GABA는 L-glutamic acid로부터 glutamate decarboxylase의 촉매작용에 의해 탈탄산 되어 생합성 되며, 주로 동물의 경우, 중추신경계의 억제성 신경전달물질로서 뇌와 척수에 주로 존재한다(16). 최근까지의 연구 결과에 따르면, GABA는 혈압강하작용, 통증과 불안증세 완화, 당뇨병 예방, 불면, 우울증 완화 등과 같은 기능성을 보유하고 있다고 보고되었다(17-21). 식물의 경우, 기계적인 자극, 키토산 처리, 혐기적 조건, 침지 등과 같은 스트레스 요인에 의해 GABA 생성이 증가된다고 보고되었다(18,22).

현미에 포함된 GABA 함량 분석과 농도를 증가시키기 위한 연구는 상당부분 진행 되었다. Komatsuzaki 등(23)과 Choi 등(12)은 수침 조건과 혐기적인 처리를 통해 현미 및 발아현미에서 GABA의 함량을 증진시키는 조건을 확립하였다. 또한 Oh와 Choi(13), Oh 등(14)은 글루탐산, 키토산 처리 시 발아 현미의 GABA 함량이 증가함을 확인하였다. 그러나 아직까지 녹미, 홍미, 흑미와 같은 유색미의 GABA 함량을 분석하거나 발아 전후의 함량을 비

*Corresponding author: Kwang-Geun Lee, Department of Food Science and Technology, Dongguk University-Seoul, Seoul 100-715, Korea
Tel: 82-2-2260-3370
Fax: 82-2-2285-3370
E-mail: kwglee@dongguk.edu
Received June 14, 2010; revised August 10, 2010;
accepted August 11, 2010

교한 연구는 미흡한 실정이다. 유색미와 관련된 연구는 GABA와 관련된 연구보다는 유색미의 화학적 조성과 함량 및 항산화 활성에 관한 연구가 주를 이루고 있다. Nam 등(24)은 유색미 겨에 함유되어 있는 색소에 의한 항산화 활성을 측정하였고, Shen 등(25)은 유색미의 크기와 질량에 따른 총 페놀성 함량, 플라보노이드 함량, 항산화 활성을 측정하였다.

따라서 본 연구에서는 현미와 유색미에 존재하는 GABA 함량 분석을 위해 기존의 분석법을 개선하고 회수율과 검출한계, 정량한계를 설정하였다. 아울러 현미, 녹미, 홍미, 흑미 등 유색미4종의 발아 전후의 GABA 함량을 분석하고, 이를 백미와 함께 비교하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 현미, 녹미, 홍미, 흑미(*Oryza sativa* L.)는 경기도 파주의 생산업체인 (주)하동에서 구매하여 실험에 사용하였으며 백미도 함께 구매하여 실험에 사용하였다. 발아실험의 경우 (주)하동의 실험실(Cheongju, Korea)에서 실시하였다.

표준품 및 시약

표준품인 GABA는 Sigma-Aldrich Korea(St, Louis, MO, USA)에서 구매하였다. 증류수, 클로로포름, 메탄올, Acetonitrile은 J. T. Baker Co.(Phillipsburg, NJ, USA)의 제품을 사용하였으며, Waters사(Milford, MA, USA)의 1차, 2차 아미노산 모두를 안정한 형광 유도체화 물질로 바꿔주는데 필요한 AccQ-Fluor™ Reagent Kit (AccQ-Fluor borate buffer, AccQ-Fluor reagent powder, AccQ-Fluor diluent로 조합됨)와 Accq-Tag Eluent A를 구매하여 사용하였다.

시료의 발아

증류수를 사용하여 시료를 18°C에서 20시간 동안 침지시켰다. 침지를 시작한지 16시간이 지난 후에 전분 등의 불순물을 제거하기 위해 물을 교환해 주었다. 20시간 침지가 끝나면 마지막으로 물을 교환 후에 30°C의 암실에서 싹의 길이가 3 mm가 되도록 현미와 녹미는 24시간, 홍미와 흑미는 20시간 동안 발아시켰다. 그 후에 55°C의 오븐(Jeotech, Seoul, Korea)에서 6시간 동안 건조하여 건조 후 수분 함량이 13%가 되도록 하였다.

GABA의 추출

GABA의 추출은 Oh와 Choi(13)의 방법을 수정하여 실험하였다. 시료는 분쇄기(HR1351, Philips, Eindhoven, Netherlands)를 이용하여 잘게 분쇄한 다음, Conical centrifuge tube(SPL Life Sciences, Pocheon, Korea)에 1.0 g씩 칭량하였다. 시료 중 GABA의 1차 추출을 위해 메탄올 12 mL, 클로로포름 5 mL, 물 3 mL를 가한 후, 교반기(RS-1, JEIO TECH, Daejeon, Korea)를 290 rpm으로 조정하여 30분간 흔들어 주었다. 원심분리기(Combi-514R, Hanil Science Industrial, Incheon, Korea)는 상대원심력(Relative centrifugal force, RCF) 12,000×g, 4°C로 설정하여 15분간 원심 분리를 실시하였다. 원심 분리 후에 GABA를 포함한 수용액 층을 각각 새로운 Conical centrifuge tube에 취하고, GABA의 2차 추출을 위해 침전물에 클로로포름 3 mL와 물 5 mL을 가하였다. 1차 원심분리와 동일한 조건에서 다시 한 번 원심 분리를 실시한 후, 상징액을 취하여 1차 추출에서 얻어진 용액과 합하였다. 1차, 2차에서 얻어진 용액을 동일 조건에서 다시 한 번 원심 분리를 실시하여 상징액만 얻었다. 얻어진 동일한 종류의 상징액을 증류플라스크에 합하여 넣고, 30°C 항온수조에서 감압 증류를 실시하여 유기용매를 증류한 후에 이를 동결건조기(FD8508, Ilshin Lab, Yangju, Korea)로 건조하였다. 건조한 시료를 10 mL의 물을 가하여 용해한 후, 0.45 μm의 PVDF(Millipore Corporation, Bedford, MA, USA) 필터를 통과시켜 여과한 것을 Waters사의 AccQ-Tag Amino Acid Analysis 방법에 따라 유도체화하였다. 여과한 GABA 추출액 10 μL에 AccQ-Fluor Borate Buffer 70 μL를 넣고 잘 혼합한 후, AccQ-Fluor Reagent 20 μL를 가하여 혼합한 다음에 상온에서 3분간 방치하였다. 이를 Heating Block(MG-2200, EYELA, Tokyo, Japan)을 이용하여 55°C에서 10분간 가열한 후에 HPLC에 주입하였다.

Table 1. The gradient profile for HPLC separation of the derivatives of GABA

Time (min)	A[1)] (%)	B[2)] (%)
Initial	100	0
0.5	98	2
15	93	7
19	90	10
22	80	20
32	67	33
33	67	33
34	0	100
37	0	100
43	100	0

[1)]Eluent A: Waters AccQ-Tag Eluent A 100 mL-water 1 L
[2)]Eluent B: Acetonitrile-water (60:40, v/v)

HPLC 분석 조건

HPLC 기기는 1525 펌프(Binary HPLC Pump)와 474 형광검출기(Scanning Fluorescence Detector)로 구성된 Waters사 제품을 사용하였다. 또한 컬럼은 AccQ-Tag C18 컬럼(3.9×150 mm I.D., 4 μm)을 Waters사에서 구매하여 사용하였으며, 형광 검출기의 여기 파장은 250 nm, 측정 파장은 390 nm로 설정하였다. 유속은 분당 1 mL로 설정하였고 10 μL를 주입 하였다. 이동상 A는 AccQ-Tag Eluent A 100 mL를 물 1 L로 희석하여 사용하였으며, 이동상 B는 60%의 Acetonitrile (물:Acetonitrile, 40:60, v/v)을 사용하여 gradient mode로 분석하였다. 이동상의 조성은 Waters사의 AccQ-Tag amino acid analysis 방법을 약간 수정하여 분석하였으며, Table 1에 나타내었으며, 피크의 면적은 Waters Empower 2 소프트웨어(Waters)를 사용하여 구하였다.

GABA의 정성 및 정량 분석

GABA의 정성 분석은 두 가지 단계의 실험을 통해 실시하였다. 첫 번째는 표준 용액의 피크와 시료 피크의 머무름 시간을 비교하여 정성 분석을 실시하였으며, 두 번째는 시료에 일정 농도의 표준 용액을 첨가하여 피크의 면적이 증가하는 경향을 보고 정성 분석을 실시하였다. 정량 분석은 크로마토그램의 농도-면적비에 대해 1, 2, 4, 8, 100 μg/mL의 농도에서 검량선을 작성하고 이를 통해 시료 중의 GABA 함량을 구하였다. 각각의 시료는 3회 반복하여 실험을 실시하였으며, 확립된 분석 조건에 따라 각각의 시료를 전처리 한 후에, HPLC에 주입하여 각 시료가 함유하고 있는 GABA의 양을 정량 분석하였다.

Table 2. Validation data for the analysis of GABA using HPLC

Validation factors	Data
Correlation coefficient (r^2)	0.998
Limit of detection (LOD)[1)]	0.23 μg/g
Limit of quantification (LOQ)[2)]	0.76 μg/g
Recovery (%)[3)]	122.4%
Relative standard deviation (RSD) (%)	2.0%

[1)]LOD=3SD/Slope (μg/g)
[2)]LOQ=3SD/Slope (μg/g)
[3)]Recovery (%)=(GABA weight in spiked sample GABA weight in sample) 100/Spiking GABA weight

회수율, 검출한계 및 정량한계 설정

회수율은 GABA의 함량이 낮고 대표할 수 있는 시료인 현미를 선택하여 측정하였다. 분쇄한 현미에 표준 용액 1,000 μg/mL을 1 mL 첨가하여 시료와 동일한 방법으로 전처리를 실시한 후에 회수율을 구하였다. 실험은 3회 반복하였다. 또한 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 Harris(26)의 방법에 따라 구하였으며 표준용액과 동일한 방법으로 1 μL/mL을 제조하여 7회 반복하여 실험하였다.

통계처리

각 시료의 GABA 함량에 대한 결과는 통계 분석 SAS 9.1을 이용하여 분산분석을 실시하였으며 유의성 검정(p<0.05)은 Duncan의 다중검정법(multiple range test)을 이용하였다.

결과 및 고찰

GABA 분석법 확립

본 연구에서 확립한 GABA 분석법의 유효성 검증을 위해, 검량선의 직선성(R^2), 검출한계 및 정량한계, 회수율을 실시하였으며 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 검량선은 GABA 표준품을 물로 희석하여 표준용액을 만든 후, 유도체화 과정을 거쳐 HPLC로 분석하여 작성하였으며, 검량선의 R^2값은 0.998로 우수한 직선성을 나타내었다. 회수율은 GABA의 함량이 낮은 현미에 일정 농도의 표준 용액을 첨가(1000 μL/mL을 1 mL 첨가)하여 GABA 분석과 동일한 시료전처리를 실시하였다. 이후 HPLC로 분석하여 얻은 피크의 면적을 검량선을 통해 농도를 구하여 측정하였다. 회수율을 측정한 결과, 122.4±2.4%의 회수율을 보였으며 RSD는 2.0%이었다. 그리고 Harris 방법(26)으로 실험한 LOD는 0.23 μg/g, LOQ는 0.76 μg/g이었다. 이러한 검출한계 및 정량한계는 HPLC를 사용한 기존 분석법의 결과와 유사하였다(27). 최근 tandem mass spectrometry를 이용한 GABA 분석에서는 이보다 낮은 검출한계가 일반적인데 LC/MS/MS electrospray를 사용한 검출한계치는 7.8 ng/mL이었다(27). 또한 본 논문에서는 GABA의 추출을 위해 참고로 한 Oh와 Choi(13)의 분석 방법과 달리, 동결건조 전에 GABA 추출 용액에서 유기 용매를 감압증류 시킴으로써 동결 건조 시간을 단축하였다. 또한, Waters사의 AccQ-Tag amino acid analysis 방법의 HPLC 분석을 위한 이동상의 조성을 수정하여 분석함으로써 GABA의 elution 시간을 단축시켰다.

GABA의 정성 및 정량

GABA 표준용액 및 총 9개의 시료에 대한 대표적인 GABA의 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. 표준용액 및 각 시료에서 GABA의 피크는 25분대에 검출되었고, 분석을 저해하는 방해피크는 관찰되지 않았다. 각 시료의 GABA 함량은 Table 3에 나타내었다. 시료 중 발아 홍미의 GABA 함량이 293.6 μg/g으로 유의적으로 가장 많은 양을 함유하고 있었다. 또한, 발아 현미, 발아 녹미, 녹미, 발아 흑미는 각각 257.5, 226.5, 244.9, 253.0 μg/g의 GABA를 함유하고 있었으며 유의적(p<0.05)인 차이를 보이지는 않았다. 현미와는 달리 도정 과정을 거친 백미는 GABA 함량이 11.9로 가장 적은 양을 함유하고 있었다. 하지만 현미 시료 중 가장 함량이 낮은 미발아 홍미와는 유의적(p<0.05)인 차이를 보이지 않았다.

Table 3. Concentrations of GABA in various rice

Samples	Level (μg/g)
Brown rice	
Germinated	257.5±6.8[b 1)]
Non-germinated	91.0±24.8[c]
Green rice	
Germinated	226.5±16.9[b]
Non-germinated	244.9±2.0[b]
Red rice	
Germinated	293.6±39.6[a]
Non-germinated	26.4±14.3[d]
Black rice	
Germinated	253.0±20.7[b]
Non-germinated	101.6±2.3[c]
Milled rice	11.9±2.6[d]

[a-d]The different letters are significantly different (p<0.05).
[1)]Values are means±SD from 3 independent assays.

시료 중에서 녹미를 제외한 발아미는 미발아미 보다 GABA의 함량이 높음을 확인할 수 있었다. Komatsuzaki 등(23)의 연구에 의하면, 각각 미발아 현미와 발아 현미의 GABA 함량이 73±20.5, 101±13.6 μg/g임을 나타내었으며 본 연구의 미발아 및 발아 현미의 GABA 함량보다 낮은 수치였다. 이는 현미의 품종과 재배환경이 다르고, 발아 현미의 경우 발아 조건이 다른 점으로부터 기인하는 것으로 보여진다. 발아미와 미발아미의 GABA 함량을 비교한 결과, 녹미를 제외한 현미, 홍미, 흑미는 미발아미에 비해 발아미가 2.5-11.1배 정도로 더 높은 양을 함유하고 있었다. 발아 현미는 257.5 μg/g으로 현미에 비해 2.8배, 발아 홍미는 293.6 μg/g으로 홍미에 비해 11.1배, 발아 흑미는 253.0 μg/g으로 흑미에 비해 2.5배 많은 양을 함유하고 있었다. 발아시켰을 때, 현미보다 발아 현미의 GABA 함량이 증가하는 결과는 Choi 등(28)의 연구와도 일치하는데, 현미를 각각 24, 48 hr 발아시켰을 때 미발아 현미보다 GABA의 함량이 증가하는 결과를 보여 주고 있으며, Kum 등(29)은 현미의 발아 후에 GABA 함량이 60% 증가하였다고 보고하였다. 또한 Choi 등(10)의 연구 결과에서도 현미의 상태인 일반 특수미를 37°C에서 48시간 발아시켰을 때, GABA의 함량이 유의적(p<0.05)으로 10배 이상 증가됨을 보고 하였다. 현미 이외에도 발아 조건이 GABA의 함량을 증진시킴을 보여 주고 있는데, Matsuyama 등(30)은 대두를 발아시킨 후 GABA의 함량이 증가함을 보고 하였다. 따라서 본 결과를 통해 발아 후 GABA의 함량이 증진됨을 알 수 있었다.

백미와 미발아미의 GABA 함량을 비교한 결과, 백미와 홍미 사이에 유의적(p<0.05) 차이를 보이지는 않았으며, 현미, 녹미와 흑미는 각각 91.0, 244.9, 101.6 μg/g을 함유하고 있었으며 이는 백미에 대해 각각 7.6, 20.6, 8.5배 높은 함량이었다. 백미와 발아미의 GABA 함량을 비교한 결과, 발아미는 모두 백미와 유의적

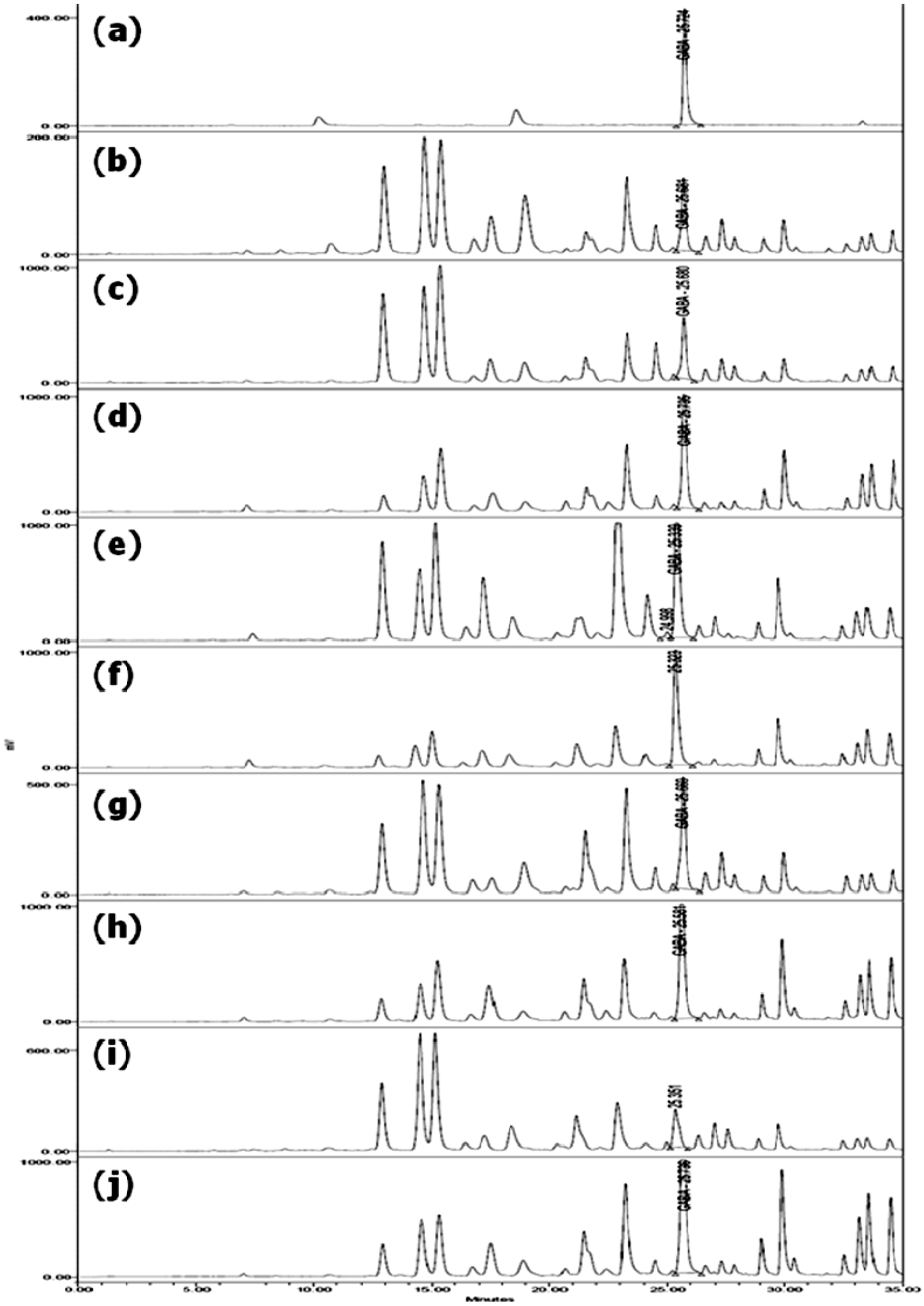

Fig. 1. Typical HPLC chromatogram of GABA in various pigmented rice. (a) GABA standard (8 μg/g), (b) Milled rice, (c) Black rice, (d) Germinated black rice, (e) Green rice, (f) Germinated green rice, (g) Brown rice, (h) Germinated brown rice, (i) Red rice, (j) Germinated red rice

(p<0.05)인 차이를 보였다. 발아 현미, 발아 녹미, 발아 홍미, 발아 흑미는 각각 257.5, 226.5, 293.6, 253.0 μg/g 함유하고 있었으며, 이는 백미에 비해 각각 21.6, 19.0, 24.7, 21.3배 높은 함량이었다.

결 론

HPLC/FLD를 이용하여 발아 전후의 현미, 녹미, 홍미, 흑미 4종의 유색미의 GABA 함량을 측정하였다. 시료 중 발아 홍미의 GABA 함량이 293.6 μg/g으로 가장 많은 양을 함유하고 있었다. 녹미를 제외한 현미, 홍미, 흑미는 미발아미에 비해 발아미의 GABA 함량이 유의적(p<0.05)으로 2.5-11.1배 정도로 더 높은 양을 함유하고 있었으며, 백미는 11.9 μg/g으로 유의적으로 가장 낮은 양을 함유하고 있었다. 본 결과를 통해 발아 후 GABA의 함량이 증진 됨을 확인할 수 있었다. 회수율과 LOD 및 LOQ를 측정한 결과, 회수율은 122.4±2.4%, RSD는 2.0%이었으며, 검출한계는 0.23 μg/g, 정량한계는 0.76 μg/g이었다.

요 약

본 연구는 현미, 녹미, 홍미, 흑미 4종의 유색미의 발아에 따른 GABA 함량을 분석하고 백미와 함께 비교하였다. HPLC/FLD를 이용하여 GABA의 정성 및 정량 분석을 실시하였으며, 회수율과 검출한계를 설정하였다. 회수율을 측정한 결과 122.4±2.4%,

RSD는 2.0%이었으며, 검출한계는 0.23 μg/g, 정량한계는 0.76 μg/g이었다. 시료는 18°C에서 20시간 침지시킨 후, 30에서 20-24시간 동안 발아시켰다. 발아미, 미발아미 및 백미의 GABA 함량을 분석한 결과, 발아 홍미가 293.6 μg/g으로 유의적으로 가장 많은 양을 함유하고 있었으며 홍미와 백미가 각각 26.4, 11.9 μg/g으로 가장 적은 양을 함유하고 있었다. 발아미와 미발아미의 GABA 함량을 비교한 결과, 녹미를 제외한 현미, 홍미, 흑미는 미발아미에 비해 GABA의 함량이 유의적으로 2.5-11.1배 증가 하였다. 백미와 미발아미를 비교해 본 결과, 백미와 홍미 사이에 유의적 차이를 보이지는 않았으며, 현미, 녹미와 흑미는 백미의 GABA 함량인 11.9 μg/g에 비해 7.6-20.6배 높은 함량이었다. 백미와 발아미 사이에는 발아미는 모두 백미와 유의적인 차이를 보였으며 백미에 비해 발아미의 GABA 함량은 19.0-24.7배 높았다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부의 지역혁신센터(RIC) 사업의 일환으로 서원대학교 친환경 바이오 소재 및 식품 센터(BioRIC)의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다. 아울러 발아미를 제공해주신 (주) 하동의 최종묵 사장님께 감사드립니다.

문 헌

1. Chung HS, Shin JC. Characterization of antioxidant alkaloids and phenolic acids from anthocyanin-pigmented rice (*Oryza sativa* cv. *Heugjinjubyeo*). Food Chem. 104: 1670-1677 (2007)
2. Tran TU, Suzuki K, Okadome H, Homma S, Ohtsubo K. Analysis of the tastes of brown rice and milled rice with different milling yields using a taste sensing system. Food Chem. 88: 557-566 (2004)
3. Woo SM, Kim TY, Yeo SH, Kim SB, Kim JS, Kim MH, Jeong YJ. Quality characteristics of alcohol fermentation broth and by-product of brown rice varieties. 14: 557-563 (2007)
4. Kunlun L, Xiaohong C, Qingyun B, Huanbin W, Zhenxin G. Relationships between physical properties of brown rice and degree of milling and loss of selenium. J. Food Eng. 94: 69-74 (2009)
5. Kenichi O, Keitaro S, Yuji Y, Takafumi K. Bio-functional components in the processed pre-germinated brown rice by a twin-screw extruder. J. Food Compos. Anal. 18: 303-316 (2005)
6. Ha TY, Park SH, Lee CH, Lee SH. Chemical composition of pigmented rice varieties. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 336-341 (1999)
7. Kang SY, Shin IC, Kim DS, Lee GJ, Kim JB, Lee DY, Lee SY, Lee DJ. A new green-kerneled glutinous rice mutant variety, 'Nogwonchalbyeo' developed by γ-ray irradiation. Korean J. Breed Sci. 40: 303-307 (2008)
8. Lee YS, Cho JM, Rhee CO. Physicochemical properties of pigmented rice (Suwon-415). Korean J. Food Sci. Technol. 34: 842-845 (2002)
9. Jeon HY, Kim JK, Seo DB, Lee SJ. Effects of chlorophyll *a* on UVB-induced cellular resposes and type pN collagen synthesis *in vitro*. Korean J. Food Sci. Technol. 41: 700-705 (2009)
10. Choi YM, Jeon GU, Kong SH, Lee JS. Changes in GABA content of selected specialty rice after germination. Food Eng. Progr. 13: 154-158 (2009)
11. Choi HD, Kim YS, Choi IW, Seog HM, Park YD. Anti-obesity and cholesterol-lowering effects of germinated brown rice in rats fed with high fat and cholesterol diets. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 674-678 (2006)
12. Choi HD, Park YK, Kim YS, Chung CH, Park YD. Effect of pretreatment conditions on γ-aminobutyric acid content of brown rice and germinated brown rice. Korean J. Food Technol. 36: 761-764 (2004)
13. Oh SH, Choi WG. Production of the quality germinated brown rices containg high γ-aminobutyric acid by chitosan application. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 15: 615-620 (2000)
14. Oh SH, Kim SH, Moon YJ, Choi WG. 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 (2002)
15. Xing SG, Jun YB, Hau ZW, Liang LY. 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. Bioch. 45: 560-566 (2007)
16. Chung HJ, Jang SH, Cho HY, Lim ST. Effects of steeping and anaerobic treatment on GABA (γ-aminobutyric acid) content in germination waxy hull-less barely. LWT-Food Sci. Technol. 42: 1712-1716 (2009)
17. Wang HF, Tsai YS, Lin ML, Ou AS. Comparison of bioactive components in GABA tea and green tea produced in Taiwan. Food Chem. 96: 648-653 (2006)
18. Qingyun B, Meiqing, Zhenxin G, Xiaohong C, Yan L, Kunlun L. Effects of components in culuture medium on glutamate decarboxylase activity and γ-amino butyric acid accumulation in foxtail millet (*Setaria italic* L.) during germination. Food Chem. 116: 152-157 (2009)
19. Zhang H, Yao HY, Chen F. Accumulation of γ-amino butyric acid in rice germ using protease. Biosci. Biotech. Bioch. 70: 1160-1165 (2006)
20. Bjork JM, Moeller FG, Kramer GL, Kram M, Suris A, Rush AJ, Petty F. Plasma GABA levels correlate with aggressiveness in relatives of patients with unipolar depressive disorder. Psychiat. Res. 101: 131-136 (2001)
21. Iimure T, Kihara M, Hirota N, Zhou T, Hayashi K, Ito K. A method for production of c-amino butyric acid (GABA) using barley bran supplemented with glutamate. Food Res. Int. 42: 319-323 (2009)
22. Oh SH. Stimulation of γ-aminobutyric acid synthesis activity in brown rice by a chotosan/glutamic acid germination solution and calcium/calmodulin. J. Biochem. Mol. Biol. 36: 319-325 (2003)
23. Komatsuzaki N, Tsukahara K, Toyoshima H, Suzuki T, Shimizu N, Kimura T. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. J. Food Eng. 78: 556-560 (2007)
24. Nam SH, Choi SP, Kang MY, Koh HJ, Kozukue N, Friedman M. Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars. Food Chem. 94: 613-620 (2006)
25. Shen Y, Jin L, Xiao P, Lu Y, Bao J. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size, and weight. J. Cereal Sci. 49: 106-111 (2009)
26. Harris DC. Exploring chemical analysis. 3rd edition. W. H. Freeman, New York, NY, USA pp. 91-98 (2001)
27. Eckstein JA, Ammerman GM, Reveles JM, Ackermann BL. Analysis of glutamine, glutamate, pyroglutamate, and GABA in cerebrospinal fluid using ion pairing HPLC with positive electrospray LC/MS/MS. J. Neurosci. Meth. 171:190-196 (2008)
28. Choi ID, Kim DS, Son JG, Yang CG, Chun JY, Kim KJ. Physicochemical properties of giant embryo brown rice (Keunnunbyeo). Agric. Chem. Biotechnol. 49: 95-100 (2006)
29. Kum JS, Choi BK, Lee HY, Park JD. Physicochemical properties of germinated brown rice. Korean J. Food Preserv. 11: 182-188 (2004)
30. Matsuyama A, Yoshimura K, Shimizu C, Murano Y, Takeuchi H, Ishimoto M. Characterization of glutamate decarboxylase mediating γ-amino butyric acid increase in the early germination stage of soybean (*Glycine max* [L.] Merr). J. Biosci. Bioeng. 107: 538-543 (2009)