

ARTICLE

Levilactobacillus brevis의 γ -Aminobutyric Acid 생산 및 항산화 효능

이정은¹ · 조소연² · 국무창^{2*}

¹경기대학교 대체의학과, ²배화여자대학교 식품영양학과

Production of γ -Aminobutyric Acid and Antioxidative Effects by *Levilactobacillus brevis*

Jeong-Eun Lee¹, So-Yeon Jo², Moo-Chang Kook^{2*}

¹Department of Alternative Medicine, Kyonggi University, Seoul 03746, Korea

²Department of Food & Nutrition, Baewha Women's University, Seoul 03039, Korea

Received: May 1, 2021

Revised: May 16, 2021

Accepted: June 3, 2021

*Corresponding author :

Moo-Chang Kook
Department of Food & Nutrition,
Baewha Women's University,
Seoul 03039, Korea
Tel : +82-2-399-0765
E-mail : bmes153@gmail.com

Copyright © 2021 Resources Science
Research Institute, Kongju National University.
This is an Open Access article distributed
under the terms of the Creative Commons
Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)
which permits unrestricted non-commercial
use, distribution, and reproduction in any
medium, provided the original work is
properly cited.

ORCID

Jeong-Eun Lee
<https://orcid.org/0000-0002-7442-7045>
So-Yeon Jo
<https://orcid.org/0000-0001-9909-0453>
Moo-Chang Kook
<https://orcid.org/0000-0003-4098-8298>

Abstract

In this study, in order to isolate lactic acid bacteria with remarkable GABA-producing ability, twelve home-made Kimchi samples were collected in Korea. Among these Kimchi samples, only 4 Kimchi samples were showed the GABA spots on TLC plate. No. 9 (Chonggak-Kimchi), No. 11 (Yeolmu-Kimchi), No. 12 (Oi-So-Bagi), and No. 17 (Chonggak-Kimchi) Kimchi sample had GABA producer. From these selected Kimchi samples, 17 strains, lactic acid bacteria with GABA-producing ability, were isolated and identified. The results of 16s rRNA analysis showed more than 99% homologies with *Levilactobacillus brevis* ATCC 14869, respectively. According to the result of anti-oxidant activity, the DPPH radical scavenging ability was detected in the culture supernatant containing GABA by isolates, *L. brevis* BMSE-strains. Strain BMSE-G005 had the highest activity of 92.81%, Strain BMSE-G008, G010, G013, G016, G007, G004, G011, G012, G001 also showed more than 90% scavenging ability, respectively. Strain BMSE-G003, G017, G014, G002, G009, and G015 were confirmed to have an activity of 80% or more, respectively. Therefore, 17 strains isolated in this study were confirmed their potential as useful microbial resources with GABA-producing abilities and antioxidant effects.

Keywords

Kimchi, *Levilactobacillus brevis*, GABA, Antioxidant

1. 서론

치매에서 가장 흔한 Alzheimer's disease (AD)는 점진적으로 진행되는 인지기능 저하와 일상생활 기능 및 신경정신행동의 변화를 특징으로 하는 신경퇴행성 질환이며, 신경퇴행의 과정은 AD의 증상이 나타나기 전에 진행되기 때문에 이를 발견하기 위한 시도가 다양하게 이루어지고 있다 (Kang *et al.*, 2016). AD는 acetylcholine의 감소뿐만 아니라 γ -aminobutyric acid, glutamate 등 여러 신경전달물질의 불균형에 의한 복합적인 질환으로 밝혀졌다 (Kim and Kim, 2013). 또한 정상적인 신체 조건하에서 free radical이나 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)은 숙주 방어, 유전자 전사 등의 역할을 하지만, ROS가 세포의 항산화 활성을 압도하게 되면 산화적 스트레스가 발생하여 단백질 붕괴, 효소의 고장, 뉴런 파괴를 일으키는 등 산화적 스트레스가 AD 환자에게 신경 손상, 중앙신경시스템내 단백질, DNA 손상을 유발할 수 있다고 보고되었다 (Yoo *et al.*, 2020).

한편, γ -aminobutyric acid (GABA)는 자연계에 분포하는 비단백 아미노산의 일종으로 뇌의 주된

억제성 신경전달물질로서 뇌의 혈류를 활발하게 하고, 산소공급량을 증가시켜 뇌세포의 대사기능을 촉진시키는 것으로 알려져 있다 (Jung *et al.*, 2012). GABA는 흥분성 신경전달물질인 glutamate로부터 탈탄산화작용 (decarboxylation)으로 만들어지는데, 이때 관여하는 효소는 glutamate decarboxylase (GAD)로 pyridoxine (vitamin B₆)이 조효소로 관여하며, 이 효소가 결핍되면 GABA 형성이 부족해져 발작이나 경련 등이 발생하고, 이러한 현상이 지속되면 간질, 치매 등 신경성 질환을 유발하는 것으로 보고된 바 있다 (Jung *et al.*, 2012; Oh, 1996). 또한 GABA는 뇌기능 촉진뿐만 아니라, 혈압강하, 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 억제, 뇌 혈류 개선, 항산화 효능, 이노자용, 불면, 우울, 불안 등에 대한 생리활성 기능이 있다 (Kang *et al.*, 2020; Lee and Kim, 2013). GABA는 각종 야채, 과일, 쌀, 콩뿐만 아니라, 미생물부터 고등생물까지 널리 발견되었으나, 식품에서는 그 함량이 낮아 일반적인 섭취로 우수한 GABA의 생리작용을 기대하기는 어렵다 (Cho *et al.*, 2012). 따라서 GABA의 대량생산 연구가 꾸준히 진행되어 왔으나, 합성 GABA는 식욕 부진, 설사 등의 부작용이 있어 발효제법을 이용한 GABA 생산에 대한 연구개발이 진행되고 있다 (Kang *et al.*, 2020).

최근 김치, 치즈, 요거트 등 발효식품으로부터 GABA를 생산하는 *Lactobacillus brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. sakei* 등 다양한 유산균주가 분리 및 이용되었다 (Cho *et al.*, 2007; Kook *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2017; Mancini *et al.*, 2019; Siragusa *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2009). 이는 *Lactobacillus* 속 등 여러 유산균이 glutamate decarboxylase 시스템을 가지고 있기 때문이며, 일반적으로 김치의 산성조건이 유산균의 GABA 생산에 유익한 것으로 보고되었다 (Cui *et al.*, 2020; Hwang *et al.*, 2020). 또한 최근 김치로부터 GABA 생성능이 우수한 *L. brevis*, *L. lactis*, *L. sakei* 등이 분리되었으며 (Hwang and Park, 2020; Kim *et al.*, 2013; Shin *et al.*, 2007; Yu and Oh, 2011), 천연물 발효, 김치, 전통주, 콩 등에서 유산균에 의한 GABA 생산 증대 및 항산화 효능이 연구된 바 있다 (Cho *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2018; Lee and Kim, 2013; Lee *et al.*, 2017).

따라서 본 연구에서는 우수한 GABA 생성능을 갖는 유산균을 분리하기 위해 국내 가정에서 직접 담근 12종의 김치시료로부터 GABA를 생산하는 유산균을 분리하고, 분리 균주의 GABA 생성능 및 항산화 효능을 측정하여 유용 미생물 자원으로써 그 가능성을 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

김치 시료의 GABA 생성능 확인

김치로부터 GABA 생성능이 있는 유산균을 확인하기 위해 monosodium glutamate (MSG) 1% (w/v)를 첨가한 MRS broth (Lactobacilli MRS broth, BD Difco, USA) 5 mL에 열무김치, 배추김치, 총각김치, 오이소박이 등 각각 10 g을 90 mL의 PBS buffer에 첨가 후 스토머커 (Bagmixer400, interscience, France)를 이용해 파쇄한 액체시료를 100 μ L 첨가하여 30°C에서 48시간 배양한 후, 배양액을 12,000 rpm, 5분간 원심분리하여 얻은 상등액을 시료로 사용하였다. GABA 생성 유무를 확인하기 위해 박층크로마토그래피 (thin layer chromatography; TLC)법을 수행하여 GABA 생성능이 확인된 김치시료를 1차 선별하였다.

GABA 생성균의 분리 및 동정

GABA 생성능이 확인된 김치시료로부터 GABA 생성능이 있는 유산균을 분리하기 위해 상기 배양액을 이용하여 BCP (Bromo cresol purple) 평판배지 (BCP plate count agar, EIKEN chemical, Japan)에 획선 도말한 후, 30°C에서 24시간 배양한 후 노란색 환을 형성한 단일 콜로니를 취해 이를 순수 분리하여 후보 균주로 선정하였다. 분리한 유산균은 각각 MSG를 1% (w/v) 첨가한 MRS broth (BD Difco) 5 mL에 1% (v/v) 접종하여 30°C에서 72시간 배양 후, 배양액을 12,000 rpm, 5분간 원심분리하여 얻은 상등액을 시료로 사용하였다. 균주의 GABA 생성능을 확인하기 위해 박층크로마토그래피법

을 수행하여 GABA 생성능이 확인된 유산균을 2차 선별하였다.

2차 선별된 분리균은 균주의 동정을 위해 MRS broth (BD Difco)에서 배양 후, 16s rRNA 염기서열 분석을 시행하였다. 분석은 분석기관 (BIOFACT Korea)에서 시행하였으며, 유전자의 증폭을 위해 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'), 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTACGACTT-3')등의 universal primer를 사용하였다. PRISM 3730XL analyser (Applied Biosystems)를 이용하여 염기서열을 분석하였으며, NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program을 통해 비교하였다.

박층크로마토그래피법 (TLC)에 의한 GABA 생성능 확인

선행된 GABA 생산 유산균의 1, 2차 선별을 위해 박층크로마토그래피법을 통해 GABA 생성능을 확인하였다. 이를 위해 유산균 분리주 배양액을 12,000 rpm, 5분간 원심분리하여 얻은 상등액을 0.2 µm membrane filter (syringe filter SM13P020SL, Hyundai micro, Korea)로 여과하여 시료로 사용하였다. 박층크로마토그래피는 TLC plate (TLC silica gel 60 F₂₅₄, Merck, Germany)를 사용하였고, 전개용매는 n-butanol, acetic acid, D.W를 3:1:1 (v/v/v) 비율로 혼합하여 사용하였으며, 40분간 전개 후 TLC plate를 열풍건조하였다. 이후 ethanol에 용해시킨 0.1% ninhydrin 용액을 분무하여 10분간 건조한 후 나타나는 GABA 표준물질과 시료의 Rf값을 비교하였다.

DPPH radical 소거능 측정

유산균주 배양액의 DPPH radical 소거능은 Takashi 등 (2000)의 방법에 의해 측정하였다. 대조군으로 0.5% (w/v) Vitamin C를 사용하였으며, ethanol에 용해시킨 0.2 mM DPPH solution 0.5 mL에 유산균주 배양액 60 µL를 혼합하여 30분간 암반응 후, ELISA (UV/VIS-spectrophotometer, BioTek, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

김치시료에서의 GABA 생성능 확인

열무김치, 배추김치, 총각김치, 오이소박이 등 총 12개의 김치시료로부터 GABA 생성능이 있는 유산균을 선별하기 위해 MSG가 1% 첨가된 MRS broth에서 48시간 배양하여 시료의 GABA 생성 유무를 확인하였다. 그 결과, GABA 표준물질과 동일한 Rf 값을 갖는 GABA가 생성된 시료는 9번 (총각김치), 11번 (열무김치), 12번 (오이소박이), 17번 (총각김치)으로 확인되었다 (Fig. 1).

Hwang과 Park (2020)은 총 21종의 김치에서 GABA를 생산하는 유산균인 *L. lactis*를 분리하였고, Kim 등 (2013)은 김치로부터 GABA 생성능이 우수한 *L. sakei*를 분리하였다.

한편, Lee와 Kim (2013)의 연구에 의하면 김치의 저장기간에 따라 GABA 함량이 다르고, 김치 발효과정 중 GABA 생성이 진행되는 것으로 보고된 바 있다. *L-glutamate*가 풍부한 발효식품은 GABA 생산 유산균의 중요한 공급원이 되고, 균주의 GABA를 생산하는 능력은 매우 다양하며, 대부

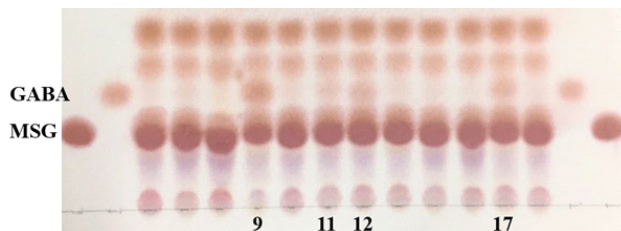


Fig. 1. The thin layer chromatography of Kimchi samples in MRS broth supplemented with 1% MSG.

분의 유산균에 의한 GAD 활성은 pH 4.0-5.0에서 최고의 활성을 보였으며, 중성에 가까운 pH 7.0에서는 유의적으로 낮은 활성을 보였다고 하였다 (Cui *et al.*, 2020). 본 연구결과에서 김치종류에 따른 GABA 생성 유무는 각 시료의 균 종 및 발효기간에 의한 pH조건에 의한 것으로 생각된다.

GABA 생산 균주의 분리 및 동정

GABA 생성능이 확인된 김치시료 중 우수한 3종 (9번, 11번, 17번)을 선정하여 각 시료로부터 유산균을 분리하기 위해 BCP 평판배지에 도말하여 배양 후, 노란색 환을 형성한 콜로니를 채취해 2차 계대배양하여 각각의 균을 순수분리하였다. 이후, 순수 분리한 균주의 GABA 생성능을 확인한 결과를 Fig. 2에 제시하였다. 9번 시료로부터 GABA 생성능이 확인된 균주는 9-2, 9-6, 9-8, 9-10, 9-12, 9-15, 9-17로 7주, 11번 시료로부터 GABA 생성능이 확인된 균주는 11-3, 11-4, 11-5, 11-6, 11-7, 11-8, 11-9, 11-10으로 8주, 17번 시료로부터 GABA 생성능이 확인된 균주는 17-3, 17-9로 2주가 확인되어, 총 17주의 균주가 GABA를 생성하는 것으로 확인되었다. 따라서 GABA 생산 균주 17주의 16s rRNA 유전자 염기서열을 분석한 결과, 분리 균주는 *Levilactobacillus brevis* (구 *Lactobacillus brevis*) ATCC 14869와 99% 이상의 상동성을 보였다 (Table 1).

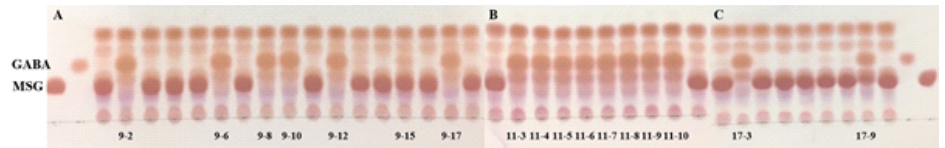


Fig. 2. The thin layer chromatography of isolated lactic acid bacteria from Kimchi in MRS broth supplemented with 1% MSG. A, number 9 sample from Kimchi; B, number 11 sample from Kimchi; C, number 17 sample from Kimchi.

Table 1. Identification of isolates by 16s rRNA gene sequence analysis

No.	Strain No.	Taxon.	Similarity (%)
9-2	BMSE-G001	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.80
9-6	BMSE-G002	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	100.00
9-8	BMSE-G003	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.93
9-10	BMSE-G004	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.93
9-12	BMSE-G005	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.93
9-15	BMSE-G006	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.93
9-17	BMSE-G007	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.93
11-3	BMSE-G008	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.93
11-4	BMSE-G009	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.86
11-5	BMSE-G010	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	100.00
11-6	BMSE-G011	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	100.00
11-7	BMSE-G012	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	100.00
11-8	BMSE-G013	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	100.00
11-9	BMSE-G014	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	100.00
11-10	BMSE-G015	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	100.00
17-3	BMSE-G016	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.93
17-9	BMSE-G017	<i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869	99.93

최근 김치로부터 GABA를 생산하는 균주인 *L. brevis*, *L. lactis*, *L. sakei* 등이 분리되었는데 (Kim et al., 2013; Hwang and Park, 2020; Shin et al., 2007; Yu and Oh, 2011), Cui 등 (2020)에 의하면 많은 연구에서 *L. brevis*가 높은 함량의 GABA를 생산한다고 하여 본 연구결과와 일치하였다.

*Levilactobacillus brevis*의 GABA 생산

우리나라 전통식품인 다양한 김치시료로부터 분리한 17주의 *Levilactobacillus brevis*의 GABA 생성능을 확인하였다 (Fig. 3). *L. brevis*는 GABA 생성능이 우수한 것으로 알려져 균주의 GABA 생산 최적화, 발효에 의한 GABA 함량 및 항산화 효능, GABA 생산조건 등 많은 연구가 진행된 바 있다 (Mancini et al., 2019; Hwang et al., 2018; Jeong et al., 2016; Lee et al., 2010; Qinglong et al., 2018; Shin et al., 2007). 본 연구에서도 김치에서 분리한 *L. brevis* BMSE-G001 등 17주의 우수한 GABA 생성능을 확인할 수 있었으며, 균주의 배양조건과 GABA 함량의 상관관계에 대한 후속연구가 필요할 것으로 생각된다.

*Levilactobacillus brevis*의 DPPH radical 소거능

치매에서 가장 흔한 AD는 점진적으로 진행되는 인지기능 저하와 일상생활 기능 및 신경정신행동의 변화를 특징으로 하는 신경퇴행성 질환으로 (Kang et al., 2016), AD 환자군에서 항산화제 수치가 낮다는 보고가 있으며, AD 발현의 초기에 산화적 손상이 두드러지게 동반된다고 하였다 (Kim et al., 2011). 따라서 본 연구에서는 분리한 GABA 생성 균주의 항산화 효능을 확인하고자 하였다.

본 연구에서 사용한 DPPH radical 소거능은 free radical 소거능을 확인하는 방법으로 널리 이용되며, 수소전자 공여능에 의한 항산화 효능을 확인할 수 있다 (Lee et al., 2010). Fig. 4에 제시한 바와 같이, 대조군 0.5% vitamin C의 DPPH radical 소거능은 94.21%, 분리 균주 *L. brevis* BMSE-G001 등 17주의 GABA 생성 균주 발효액의 DPPH radical 소거능은 G005가 92.81%로 가장 높았고, G008,

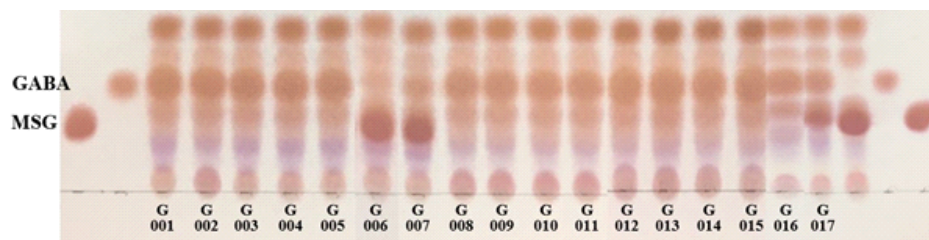


Fig. 3. The thin layer chromatography of *Levilactobacillus brevis* BMSE-G001 to G017 in MRS broth supplemented with 1% MSG.

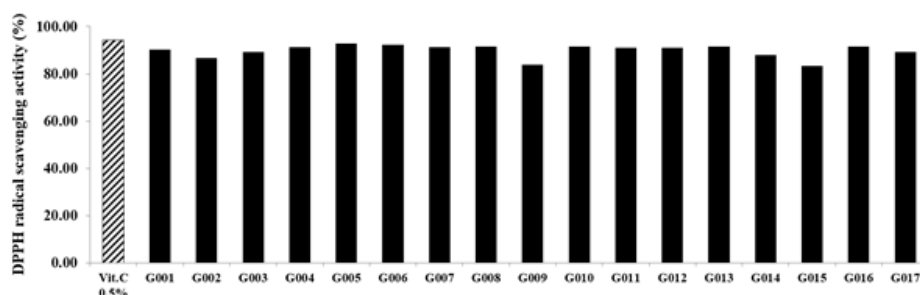


Fig. 4. DPPH radical scavenging activity by supernatant of *Levilactobacillus brevis* BMSE-G001 to G017.

G010, G013, G016은 91.55%, G007은 91.36%, G004는 91.26%, G011과 G012는 90.97%, G001은 90.39%로 나타나 매우 우수한 결과를 보였다. G003과 G017은 89.12%, G014는 88.05%, G002는 86.79%, G009는 83.98%, G015는 83.30%로 나타났다. Jang 등 (2019)은 *L. brevis* KU15153의 소거능 값을 44.14%, Yang 등 (2020)은 *L. brevis* KU15151의 소거능 값을 31.14%, Noureen 등 (2018)은 *L. brevis* MG000874의 소거능 값을 69.40%로 확인한 바, 본 연구에서 분리한 *L. brevis* BMSE-G001 등 17주의 GABA 생성 균주 발효액의 DPPH radical 소거능이 매우 우수한 것으로 보인다.

IV. 요약

본 연구에서는 우수한 GABA 생성능을 갖는 유산균을 분리하기 위해 국내 가정에서 직접 담근 김치시료로부터 우수한 GABA 생성능을 갖는 유산균 17주를 분리하였으며, 유용 미생물 자원으로서 그 가능성을 확인하였다. 총 12개의 김치시료에서 GABA 표준물질과 동일한 Rf 값을 갖는 시료는 9번 (총각김치), 11번 (열무김치), 12번 (오이소박이), 17번 (총각김치)으로 확인되었다. 각 시료로부터 분리한 균주의 16s rRNA 분석 결과, *Levilactobacillus brevis* ATCC 14869와 99% 이상의 상동성을 보였다. 또한 분리 균주 *L. brevis* BMSE-G001 등 총 17주의 우수한 GABA 생성능을 확인할 수 있었으며, 균주의 배양조건과 GABA 함량의 상관관계에 대한 후속연구가 필요할 것으로 생각된다. 분리 균주의 항산화 효능을 알아보기 위해 *L. brevis* BMSE-G001 등 총 17주의 DPPH radical 소거능을 측정된 결과, G005가 92.81%로 가장 높았고, G008, G010, G013, G016, G007, G004, G011, G012, G001 또한 90% 이상의 소거능을 보였다. G003, G017, G014, G002, G009, G015는 80% 이상의 활성이 확인되어 17주의 DPPH radical 소거능은 매우 우수한 것으로 확인되었다. 따라서 본 연구에서 분리한 *L. brevis* BMSE-G001 등 17주의 우수한 GABA 생성능 및 항산화 효능을 확인하여 유용 미생물 자원으로서 그 가능성을 확인할 수 있었다.

V. 참고문헌

1. Cho SC, Kim DH, Park CS, Koh JH, Pyun YR, Kook MC. 2012. Production of GABA-rich tomato paste by *Lactobacillus* sp. fermentation. Korean J Food Nutr 25:26-31.
2. Cho YR, Chang JY, Chang HC. 2007. Production of γ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from Kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells. J Microbiol Biotechnol 17:104-109.
3. Cui Y, Miao K, Niyaphorn S, Qu X. 2020. Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: A systematic review. Int J Mol Sci 21:995.
4. Hwang CE, Md. Azizul Haque, Lee JH, Joo OS, Kim SC, Lee HY, Um BS, Park KS, Cho KM. 2018. Comparison of γ -aminobutyric acid and isoflavone aglycone contents, to radical scavenging activities of high-protein soybean sprouting by lactic acid fermentation with *Lactobacillus brevis*. Korean J Food Preserv 25:7-18.
5. Hwang EY, Park JY. 2020. Isolation and characterization of gamma-aminobutyric acid (GABA)-producing lactic acid bacteria from Kimchi. Curr Top Lact Acid Bact Probiotics 6:64-69.
6. Jang HJ, Lee NK, Paik HD. 2019. Probiotic characterization of *Lactobacillus brevis* KU15153 showing antimicrobial and antioxidant effect isolated from Kimchi. Food Sci Biotechnol 28:1521-1528.
7. Jeong MK, Jeong JH, Kim KY. 2016. Optimization of γ -aminobutyric acid production

- using *Lactobacillus brevis* spp. in Darae Sap. Korean J Food Sci Technol 48:214-222.
8. Jung YS, Park SJ, Kim JE, Yang SA, Park JH, Kim JH, Jhee KH, Lee SP, Lee IS. 2012. A comparative study of GABA, glutamate contents, acetylcholinesterase inhibition and antiradical activity of the methanolic extracts from 10 edible plants. Korean J Food Sci Technol 44:447-451.
 9. Kang DW, Joo SH, Lee CU. 2016. Clinical implications of transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's dementia. J Korean Neuropsychiatr Assoc 55:1-11.
 10. Kang GS, Inonge Noni S, Seo DH. 2020. Production of LAB-fermented rice beverage with enhanced GABA content. Curr Top Lact Acid Bact Probiotics 6:56-63.
 11. Kim EA, Mann SY, Kim SI, Lee GY, Hwang DY, Son HJ, Lee CY, Kim DS. 2013. Isolation and identification of soycurd forming lactic acid bacteria which produce GABA from Kimchi. Korean J Food Preserv 20:705-711.
 12. Kim HS, Kim YW. 2013. Pharmacotherapy for dementia. Geriatric Rehabilitation 3:42-50.
 13. Kim SD, Yang JW, Youn BB, Park KH. 2011. Uric acid as a compensator for oxidative stress in Alzheimer's disease. Dement Neurocogn Disord 10:41-46.
 14. Kook MC, Seo MJ, Cheigh CI, Pyun YR, Cho SC, Park H. 2010. Enhanced production of gamma-aminobutyric acid using rice bran extracts by *Lactobacillus sakei* B2-16. J Microbiol Biotechnol 20:763-766.
 15. Lee BJ, Kim JS, Kang YM, Lim JH, Kim YM, Lee MS, Jeong MH, Ahn CB, Je JY. 2010. Antioxidant activity and γ -aminobutyric acid (GABA) content in sea tangle fermented by *Lactobacillus brevis* BJ20 isolated from traditional fermented foods. Food Chem 122:271-276.
 16. Lee HH, Kim GH. 2013. Changes in the levels of γ -aminobutyric acid and free amino acids during Kimchi fermentation. Korean J Food Cookery Sci 29:671-677.
 17. Lee HJ, Son JY, Lee SJ, Lee HS, Lee BJ, Choi IS, Sohn JH. 2017. 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.
 18. Lin Q, Li D, Qin H. 2017. Molecular cloning, expression, and immobilization of glutamate decarboxylase from *Lactobacillus fermentum* YS2. Electron J Biotechnol 27:8-13.
 19. Mancini A, Carafa I, Franciosi E, Nardin T, Bottari B, Larcher R, M. Tuohy K. 2019. *In vitro* probiotic characterization of high GABA producing strain *Lactobacillus brevis* DSM 32386 isolated from traditional "wild" Alpine cheese. Ann Microbiol 69:1435-1443.
 20. Noureen S, Riaz A, Arshad M, Arshad N. 2018. *In vitro* selection and *in vivo* confirmation of the antioxidant ability of *Lactobacillus brevis* MG000874. Appl Microbiol 126: 1221-1232.
 21. Oh KS. 1996. GABA receptor functions in the central nervous system. Korean J Pediatr 33:12-18.
 22. Qinglong Wu, Nagendra P Shah. 2018. Restoration of GABA production machinery in *Lactobacillus brevis* by accessible carbohydrates, anaerobiosis and early acidification. Food Microbiol 69:151-158.
 23. Shin JW, Kim DG, Lee YW, Lee HS, Shin KS, Choi CS, Kwon GS. 2007. Isolation and characterization of *Lactobacillus brevis* AML15 producing γ -aminobutyric acid. J Life Sci 17:970-975.
 24. Siragusa S, De Angelis M, Di Cagno R, Rizzello CG, Coda R, Gobbetti M. 2007.

- Synthesis of γ -aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses. *Appl Environ Microbiol* 73:7283-7290.
25. Sun TS, Zhao SP, Wang HK, Cai CK, Chen YF, Zhang HP. 2009. ACE-inhibitory activity and gamma-aminobutyric acid content of fermented skim milk by *Lactobacillus helveticus* isolated from Xinjiang koumiss in China. *Eur Food Res Technol* 228:607-612.
 26. Takashi H, Mikiya T, Masaki O, Teppei T, Morihiko S. 2000. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Farmaco* 56:497-500.
 27. Yang SJ, Kim KT, Kim TY, Paik HD. 2020. Probiotic properties and antioxidant activities of *Pediococcus pentosaceus* SC28 and *Levilactobacillus brevis* KU15151 in fermented black Gamju. *Foods* 9:1154.
 28. Yoo JY, Yun JH, Seol KH, Oh MH, Ham JS. 2020. Oxidative stress and Alzheimer's disease. *J Dairy Sci Biotechnol* 38:134-141.
 29. Yu JJ, Oh SH. 2011. γ -Aminobutyric acid production and glutamate decarboxylase activity of *Lactobacillus sakei* OPK2-59 isolated from Kimchi. *Korean J Microbiol* 47:316-322.