

재배지역, 수확시기 및 숙기에 따른 여주의 γ -Aminobutyric Acid 함량 변화 및 분석법 검증

이상훈 · 정윤숙 · 송 진 · 황경아 · 조수목 · [†]황인국
농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부

Changes in γ -Aminobutyric Acid of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) with Different Cultivation Regions, Harvest Time and Maturation Stages, with Method Validation

Sang Hoon Lee, Yun Sook Jeong, Jin Song, Kyung-A Hwang, Soo Muk Cho and [†]In Guk Hwang
Dept. of Agrofood Resources, National Academy of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

Abstract

This study aimed to investigate the changes in the γ -aminobutyric acid (GABA) content of bitter melon (*Momordica charantia* L.) cultivated from different regions, with different harvest times and at various maturation stages. Methods for observing the changes in GABA content were validated by determining the specificity, linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), and precision and accuracy using the HPLC-FLD system. Results showed high linearity in the calibration curve with a coefficient of correlation (R^2) of 0.9999. The LOD and LOQ values for GABA were 0.29 and 0.87 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The relative standard deviations for intra- and inter-day precision of GABA were less than 5%. The recovery rate of GABA was in the range of 98.77% to 100.50%. The average content of GABA was 0.93 mg/g and Cheongju showed highest GABA content of 1.88 mg/g. As the time of harvest increased from May to September, the GABA content decreased from 1.56 to 0.86 mg/g. Also, maturation of the bitter melon fruit was associated with a decreased in GABA content.

Key words: bitter melon, *Momordica charantia*, γ -aminobutyric acid, method validation

서 론

덩굴성 박과 채소에 속하는 여주(*Momordica charantia* L.)는 인도, 중국, 아프리카, 남미 등 아열대 지역에서 주로 재배되고 있으며, 쓴오이, nigauri, goya, bitter melon, bitter gourd, wild cucumber, karela 및 ampalaya 등 다양한 이름으로 불리고 있다(Beloin 등 2005; Lee 등 2015a). 2012년 우리나라에서는 재배면적은 21.79 ha에 75 농가가 여주를 재배하는 것으로 보고되었고, 그 중 경상남도 함양군이 최대재배지역으로 10 ha에 40 농가로 조사되었다(Lee 등 2015a). 이후 여주가 건강기능성 채소로 주목받으면서 재배면적이 크게 증가하여 전남 지역에서 2016년 기준 약 43 ha 정도가 재배되고 있으며, 주

된 재배작형은 노지재배와 비가림 시설재배로 지속적인 증가 추세에 있다(Son 등 2016).

여주의 주요 영양성분으로 glucoside, saponin, alkaloid, oil, terpenoid, protein, 비타민 C 및 β -carotene 등을 함유하고 있다. 여주의 쓴맛에는 혈당 강하 효과를 갖는 식물스테롤 배당체들과 많은 종류의 amino acid, galacturonic acid, citrulline, pectin 등의 성분이 있다. 특히 여주의 열매와 종자에는 당뇨에 효능이 있는 식물성 인슐린인 charantin이 함유되어 있다(Parkash 등 2002; Rathi 등 2002; Viridi 등 2003; Grover & Yadav 2004; Schmourlo 등 2005). 국외에서 여주의 다양한 생리활성으로 항암 작용, 항피사 작용, 항고혈당 작용, 당뇨합병증 예방과 항균 작용뿐 아니라, 항당뇨 효능에 관한 연구들

[†] Corresponding author: In Guk Hwang, Dept. of Agrofood Resources, National Academy of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea. Tel: +82-63-238-3672, Fax: +82-63-238-3672, E-mail: ighwang79@korea.kr

이 많이 보고되고 있다(Welihinda 등 1986; Ali 등 1993; Raman & Lau 1996; Sarkar 등 1996).

γ -Aminobutyric acid(GABA)는 자연계에 분포하는 비단백질 아미노산의 일종으로 4개의 탄소로 구성되어 있으며, 물에 대한 용해성이 매우 높은 물질이다(Oh 등 2002; Xing 등 2007; Ahn 등 2010). GABA는 L-glutamic acid로부터 glutamate decarboxylase(GAD, EC 4.1.1.15)에 의해 촉매되는 탈탄산 반응에서 생합성되며, 주로 동물의 경우 중추신경계의 억제성 신경전달물질로서 뇌와 척수에 주로 존재한다(Chung 등 2009). 이러한 GABA는 혈압강화작용, 통증과 불안증세 완화, 불면, 우울증 완화 등과 같은 생리활성이 보고되었다(Bjork 등 2001; Wang 등 2006; Zhang 등 2006; Bai 등 2009; Imure 등 2009). 식물 내에서 GABA는 기계적인 자극, 키토산 처리, 혐기적 조건, 침지, 발아 등과 같은 스트레스 요인에 의해 생성이 증가된다고 보고되고 있다(Oh SH 2003; Bai 등 2009). GABA 함량이 높은 식품으로 발아현미를 들 수 있는데, Oh 등(2003)의 연구에서 현미를 발아시킬 경우, GABA 함량이 0.013 mg/g에서 0.047 mg/g으로 3.6배 증가하였으며, 또한 콩(0.026 mg/g)보다 콩나물(0.031 mg/g)의 GABA 함량이 높았다고 보고하였다. Ahn 등(2010)의 연구에서도 현미를 발아시켜 GABA 함량이 0.091 mg/g에서 0.258 mg/g으로 2.8배 증가하였다. 품종별 여주의 GABA 함량을 분석한 연구에서는 국내산 여주가 0.43 mg/g으로 필리핀(Galaxy 품종)과 중국산 여주의 1.99 mg/g과 1.44 mg/g보다 적은 함량을 보였다(Kim 등 2009). 여주를 오랜 시간 동안 약제로 사용해온 중국과 인도, 기능성 채소로 식용해온 인도네시아 및 동남아시아와 달리 우리나라는 주로 관상용으로 재배되어 왔기 때문에 우리나라에서 재배되고 있는 여주에 대한 연구 자료가 미미한 실정이다. 국내에서는 미숙과만을 식용대상으로 생과 및 가공품이 판매되고 있는데, 과실의 열수 및 에탄올 추출물에 대해 미백 또는 주름개선 효과를 검토하여 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 모색하였다(Kim 등 2015). 또한 동물실험 모델에서 생쥐의 지구력 운동수행능력을 향상시키는 효과도 보고되었다(Kim 등 2016). 식품의약품안전처에서는 여주의 열매, 잎, 생장점은 식품원료로 사용 가능하지만, 씨, 덩이줄기, 뿌리는 식용 불가능으로 분류하여 유통에 어려움이 있다(Lee 등 2016). 또한 여주에 대한 관심 증가로 생과, 건과, 환, 차 및 즙의 형태로 판매되고 있지만, 특유의 쓴맛으로 인해 소비가 제한적이기 때문에 쓴맛을 저감시키기 위해 옥수수수염 추출물로 피클을 제조하여 관능특성을 향상시키고자 하는 연구가 진행되었다(Lee 등 2015b). 여주의 주요 혈당강화 성분인 charantin 함량은 품종 및 유전자원에 따라 차이를 보이는 것으로 나타났는데(Kim 등 2013; Kim 등 2014), Lee 등(2016)은 여주의 잎, 암꽃, 수꽃 및 줄기의 함량이 과실보다 charantin

함량이 많아 새로운 가공품 개발 가능성을 보고하였다.

그러나 GABA의 경우, 구체적인 재배지역별, 숙기별, 재배 시기에 따른 GABA 함량변화에 대한 연구가 부족하다. 따라서 본 연구에서는 GABA 분석법 검증 과정을 통해 분석결과 신뢰도를 확보하고, 국내산 여주의 재배 지역별, 시기별, 숙기별에 따른 여주의 GABA 함량을 비교 분석하여 식생활에서 영양정보로 활용될 뿐만 아니라, 여주의 기능성 성분으로 활용한 식품개발의 기초자료로 이용하고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 연구에서는 재배지역별, 수확시기별 및 숙기별 여주의 γ -aminobutyric acid(GABA) 함량을 분석하기 위해 재배지역별 여주는 경기, 강원, 충북, 충남, 전북, 전남 및 경남의 생산지 16곳에서 2015년 8월에 수확한 여주를 공급받아 시료로 사용하였다. 수확시기별 여주는 생산량이 많아 예비실험결과, GABA 함량이 평균 수준을 보인 경북 함양의 생산지에서 5-9월에 수확한 여주를 시료로 사용하였으며, 숙기별 여주는 같은 생산지에서 수확 후 5~35일차에 수확한 여주를 제공받아 시료로 사용하였다. 여주는 공급받은 즉시 세척한 후 동결 건조 및 분쇄하여 -70°C 에서 보관하면서 분석용 시료로 사용하였다. GABA는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, AccQ Fluor™ reagent kit(WAT052880), AccQ-Tag Eluent A(WAT052890) 및 AccQ-Tag Eluent B(WAT097953)는 Waters(Milford, MA, USA)에서 구입하였고, 그 밖의 시약은 analytical 및 HPLC 등급을 사용하였다.

2. 여주 추출물 제조

여주 동결건조분말 0.5 g에 증류수 50 mL를 가하고, homogenizer(Polytron RT 2500 E, Kinematica AG, Luzern, Switzerland)를 이용하여 16,000 rpm에서 2분간 균질화하였다. 추출물을 4°C 에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 분리하고, 침전물에 다시 증류수 50 mL를 가하여 2분간 추가 추출을 실시하였다. 원심분리하여 얻은 상등액을 증류수로 정용(100 mL)하였으며, 0.2 μm nylon syringe filter(Whatman, Clifton, NJ, USA)로 여과하여 유도체화 시료로 사용하였다.

3. GABA의 유도체화 및 HPLC 분석

분석을 위한 유도체화는 Water사의 AccQ Fluor™ reagent kit를 이용한 Tomita 등(2014)의 방법으로 진행하였다. 즉, 6-aminoquinolyl-*n*-hydroxysuccinimidyl carbamate(Vial 2A)에 acetonitrile(Vial 2B) 1 mL를 가하여 잘 용해시켜 반응시약을 준비하였다. 표준용액 및 여주 추출물 10 μL 에 70 μL 의 borate

buffer(Vial 1)를 넣고 vortex한 후 1분간 상온에서 방치하였다. 20 μ L의 반응시약을 넣고 vortex 한 후 55°C의 water bath에서 10분간 반응시켰다. 반응 종료 후 실온으로 냉각하고, HPLC (Waters 2690 system)를 이용하여 분석하였다. Column으로 Mightysil RP-18 GP column(4.6×250 mm, 5 μ m, Kanto Chemical, Tokyo, Japan)을 사용하였고, 이동상은 A는 AccQ-Tag Eluent A concentrate 200 mL를 HPLC water 2 L에 희석하였고, 이동상 B는 AccQ-Tag Eluent B를 이용하였다. 용매조성은 기울기 용리로 초기 A:B를 90:10으로 유지시켰으며, 30분까지 70:30(0.6 mL/min), 31분까지 0:100(0.8 mL/min), 38분까지 0:100(0.8 mL/min), 39분까지 90:10(0.6 mL/min), 50분까지 90:10(0.6 mL/min)으로 분석하였다. 시료 주입량은 10 μ L, 검출기는 fluorescence detector(474, Waters)를 사용하여 Ex. 250 nm, Em. 395 nm로 분석하였다.

4. 분석법 검증(Method validation)

GABA에 대한 분석법은 의약품 등 분석법의 밸리데이션(validation)에 대한 가이드라인(KFDA 2004)을 근거로 특이성(specificity), 직선성(linearity), 검출한계(Limit of Detection: LOD), 정량한계(Limit of Quantitation: LOQ), 정밀성(precision) 및 정확성(accuracy) 평가를 통해 검증하였다. 특이성은 GABA 표준용액과 여주추출물을 유도체화 시킨 후 HPLC로 분석하여 크로마토그램상의 머무름 시간(retention time)을 비교하여 확인하였다. 직선성은 GABA 표준용액을 1.25, 2.5, 5, 10, 20 및 40 μ g/mL의 농도로 제조한 후 유도체화 시켜 HPLC로 7회(1회/1일) 반복 분석하여 표준용액의 피크 면적과 농도를 변수로 작성한 검량선의 상관관계수(R^2) 값을 이용하여 직선성을 확인하였다. 또한 분석물의 GABA에 대한 검출 및 정량이 가능한 최저 농도를 확인하기 위한 검출한계는 $3.3 \times \sigma/s$ (σ : 반응의 표준편차, s : 표준검량선의 기울기), 정량한계는 $10 \times \sigma/s$ 식을 이용하여 계산하였다. 정밀성은 일내시험(intra-day test)과 일간시험(inter-day test)으로 나누어 실험하였다. 일내시험은 하루 동안 6회의 추출 및 분석을 반복 측정된 결과이며, 일간시험은 6일 동안 하루에 3회의 추출 및 분석을 반복하여 얻은 결과의 상대표준편차(Relative Standard Deviation: RSD)를 측정하여 평가하였다. 정확성은 회수율(recovery) 시험을 통하여 확인하였고, GABA 표준용액은 1.0, 2.0 및 3.0 mg/mL의 농도로 준비하여 사용하였다. 각각의 GABA 표준용액 1 mL를 추출 전 시료에 첨가하고, GABA 추출 과정에 따라 추출한 뒤 유도체화 및 HPLC 분석을 통하여 얻은 각각의 농도의 비를 이용하여 아래의 공식에 의해서 회수율을 계산하였다.

$$\text{Recovery}(\%) = \frac{C_{\text{founded}}}{C_{\text{added}}} \times 100$$

여기에서 C_{founded} 는 GABA 표준용액을 첨가한 시료의 GABA 농도와 시료의 GABA 농도 차이이며, C_{added} 는 표준용액의 GABA 농도이다.

5. 통계처리

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0 SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고, 처리 간의 유의적인 차이 유무를 One-way ANOVA로 분석한 후 유의수준 5%에서 Duncan's multiple range test로 측정군 간의 차이를 분석하였다($p=0.05$).

결과 및 고찰

1. GABA 분석법 검증

GABA에 대한 분석법의 유효성은 특이성, 직선성, 검출한계, 정량한계, 정밀성 및 정확성을 통해 검증하였다. 특이성은 불순물, 분해물, 배합성분 등 여러 가지 다른 성분들이 혼합되어 있는 추출물 중 목표성분만을 선택적으로 정성 및 정량 분석할 수 있는지를 확인하기 위한 것으로, GABA 표준용액과 여주추출물 중 GABA의 머무름 시간을 비교하여 평가하였다(KFDA 2004). 표준용액과 여주추출물에서 GABA의 머무름 시간은 각각 29.095분(Fig. 1(a))과 29.162분(Fig. 1(b))으로 동일한 물질이며, 단일 피크로 분리되는 것을 확인하였다. 추출물 중 일정 농도 범위에 있는 GABA 함량에 대하여 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는지를 평가하기 위하여 농도별(1.25, 2.5, 5, 10, 20 및 40 μ g/mL) GABA 표준용액의 직선성을 평가한 결과, 상관관계수(correlation coefficient, R^2)가 0.9999로 높은 직선성을 보였다(Fig. 2). 또한 반응의 표준편차와 표준검량선의 기울기로 나타낸 검출한계와 정량한계는 각각 0.29 μ g/mL와 0.87 μ g/mL로 나타났다(Table 1). 균일한 시료로부터 여러 번 채취하여 얻은 시료를 정해진 조건에 따라 반복 분석하였을 때 분석물질에 대한 각각 측정치 간의 근접성을 확인하였다. 일내시험은 하루 동안 6회의 추출 및 분석을 반복 측정된 결과이며, 일간시험은 6일 동안 하루에 3회의 추출 및 분석을 반복하여 얻은 결과의 RSD 측정하여 Table 1에 나타내었다. GABA 표준물질에 대한 일내와 일간 분석 모두 RSD가 각각 3.53%와 2.56%로 5% 이하의 우수한 정밀성을 확인하였다. 정확성은 일정량(1.0, 2.0 및 3.0 mg)의 표준물질을 시료에 첨가한 후 추출 및 분석과정에서 회수되는 양을 확인하여 회수율이 90~110% 범위, RSD가 5% 이하를 만족하는지를 평가하였다(KFDA 2004). GABA의 회수율은 98.77~100.50% 범위였으며, RSD는 0.70~1.65%로 나타났다(Table 1). 발아 유색미의 GABA 함량을 정량하기 위하여

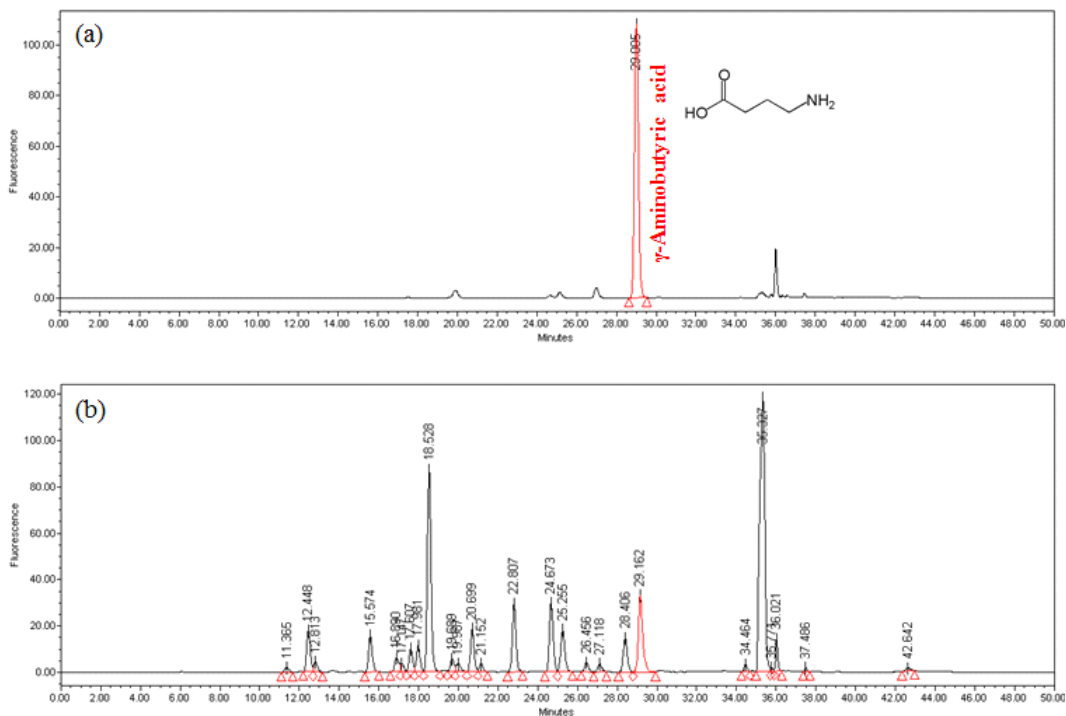


Fig. 1. HPLC chromatogram of γ -aminobutyric acid (GABA) standard solution (a) and bitter melon (*Momordica charantia* L.) extract (b). The retention times of GABA in standard solution and bitter melon extract were 29.095 and 29.162 min, respectively.

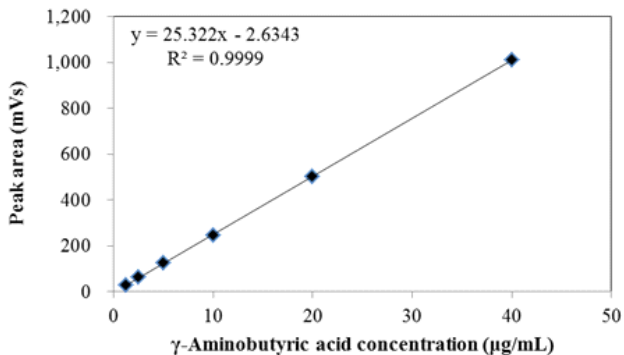


Fig. 2. Calibration curve of γ -aminobutyric acid (GABA) standard solution.

AQC로 유도체화 시킨 GABA의 분석법을 HPLC-FLD 시스템으로 확립한 Ahn 등(2010)의 연구에서 직선성의 상관계수 0.998, 검출한계 0.23 $\mu\text{g/g}$, 정량한계 0.76 $\mu\text{g/g}$ 및 회수율 122.4%(상대표준편차 2.0%)로 나타나, 본 연구결과와 유사하였다. 발아 및 발효 현미로부터 GABA 정량을 위해 2-hydroxynaphthaldehyde로 유도체화시킨 후 HPLC-UVD 시스템으로 분석한 Hayat 등(2015)의 연구에서는 직선성의 상관계수 0.9983, 검출한계 0.05 $\mu\text{g/mL}$, 정량한계 0.48 $\mu\text{g/mL}$ 및 회수율 97.99%로 나타났다. 이와 같이 유도체화 방법 및 분석조건에 따라

Table 1. Sensitivity, precision and accuracy of γ -aminobutyric acid (GABA) for analytical methods

Parameters		Mean	SD	RSD (%) ¹⁾
Sensitivity	Limit of detection ($\mu\text{g/mL}$)	0.29		
	Limit of quantitation ($\mu\text{g/mL}$)	0.87		
Precision	Intra-day test (mg/100 g, w.b.)	10.47	0.37	3.53
	Inter-day test (mg/100 g, w.b.)	10.47	0.27	2.56
Accuracy	Recovery (%)	1 mg	98.77	0.70
		2 mg	99.42	1.13
		3 mg	100.50	1.66

¹⁾ RSD (%), relative standard deviation.

검출 및 정량한계의 차이를 보였지만, 직선성과 회수율에서는 유사한 결과를 보였다.

2. 재배지역별 GABA 함량

강원, 경기, 경남, 경북, 전남, 전북, 충남 및 충북의 생산

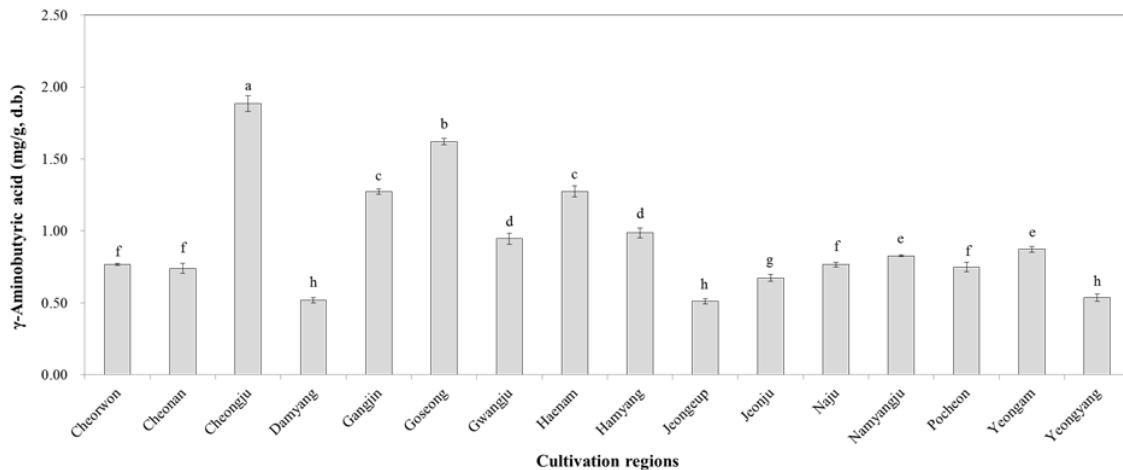


Fig. 3. γ -Aminobutyric acid content of bitter melon (*Momordica charantia* L.) depending on the cultivation regions. d.b.: Dry basis. Vertical bars represents standard deviation (n=3). Small letters on the error bars indicate a significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

지 16곳에서 2015년 8월에 수확한 여주의 GABA 함량을 분석한 결과는 Fig. 3과 같이 나타났다. 지역별 GABA 함량은 0.51~1.88 mg/g 범위로 함량 차이가 많이 나타났으며, 평균값은 0.93 ± 0.39 mg/g이었다. 충북 청주산 여주가 1.88 mg/g으로 가장 높은 GABA 함량을 보였으며, 고성, 해남, 강진 및 함양산 여주가 1.00 mg/g 이상의 함량을 보였다($p < 0.05$). 품종별 여주의 GABA 함량을 분석한 Kim 등(2009)의 연구에서 국내 품종 여주의 경우 0.43 mg/g으로 나타났으며, 일본의 Nikko와 Peacock은 각각 0.54 mg/g과 0.36 mg/g으로 유사하였지만, 필리핀(Galaxy)과 중국 여주는 1.99 mg/g과 1.44 mg/g으로 높은 GABA 함량을 보였다고 보고하였다. 일조량, 기온, 접목, 재배장식, 작형 등의 지상부 재배조건과 토양의 온도, 수분조건 등과 같은 지하부 재배 조건이 과채류의 품질에 영향을 미친다고 보고되어 있으며(Kim & Lee 2001; Jeong 등 2016), 이로 미뤄볼 때 재배지역별 GABA 함량의 차이는 품종, 재배방법, 기후조건 등과 같은 환경의 차이에 기인된 것으로 판단된다.

3. 수확시기별 및 숙기별 GABA 함량

국내 여주의 주요 재배지역은 경남 함양지역이며, 4~5월에 정식하여 9~10월까지 수확하는 작형이다(Kim 등 2016). 따라서 함양의 생산지에서 5~9월에 수확한 숙기 15일차 여주의 GABA 함량을 분석한 결과는 Fig. 4와 같다. 5월에 수확한 여주의 GABA 함량이 1.56 mg/g으로 가장 높았으며, 정식 및 수확시기가 늦어질수록 GABA 함량은 감소하여 9월에 수확한 여주의 GABA 함량은 0.86 mg/g으로 나타났다($p < 0.05$). 또한 경남 함양의 생산지에서 수정 후 5~35일차에 수확한 여주의 GABA 함량은 Fig. 5와 같이 수정 후 5일에 1.69 mg/g에서 숙기가 증가함에 따라 감소하여 30일과 35일에는 각각 0.36

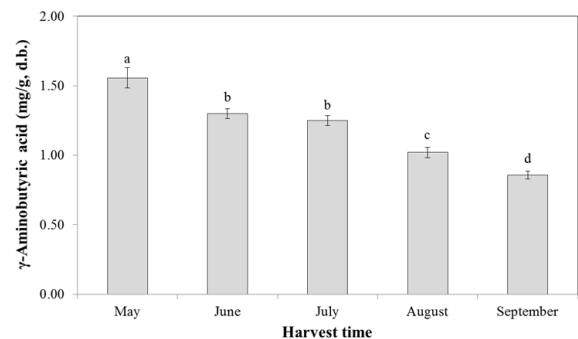


Fig. 4. γ -Aminobutyric acid content of bitter melon (*Momordica charantia* L.) depending on the harvest time. d.b.: dry basis. Vertical bars represents standard deviation (n=3). Small letters on the error bars indicate a significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

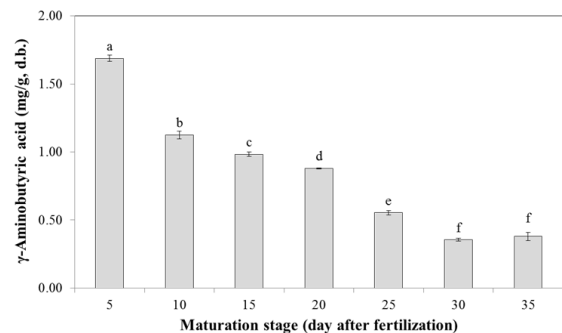


Fig. 5. γ -Aminobutyric acid content of bitter melon (*Momordica charantia* L.) depending on the maturation stage. d.b.: dry basis. Vertical bars represents standard deviation (n=3). Small letters on the error bars indicate a significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

mg/g과 0.38 mg/g으로 나타났다. 식물체 내에서 GABA 함량은 외부 스트레스 요인에 의해 변화하며, 이를 증명하기 위한 연구가 많이 진행되었다. Komatsuzaki 등(2007)과 Choi 등(2004)은 수침조건과 혐기적인 처리를 통해 현미와 발아현미에서 GABA 함량이 증가하는 것을 확인하였으며, Oh와 Choi(2000), Oh 등(2002)은 글루탐산, 키토산 처리에 따라 발아현미의 GABA 함량을 증가시켰다. 여주의 주요 기능성분인 charantin 함량을 수확시기(6~9월)별로 조사한 결과, 수확시기가 증가함에 따라 charantin 함량은 감소하는 경향을 보였으며(Lee 등 2016), 우리나라 여주의 과실 중량과 charantin 함량을 비교한 결과, 과실의 크기가 커짐에 따라 감소한다고 보고되었다(Lee 등 2015b). 또한 Pyo YH(2008)는 콩에 홍국균(*Monascus* 속)을 배양하여 발효시킨 결과, 비발효 콩에 비해 GABA 함량이 최대 5.6배 증가하였음을 보고하였다. 이처럼 GABA는 기계적인 자극, 온도, 산소결핍, 수분, 발아 등의 요인에 의해 생성 및 분해가 조절되는데, 일반적으로 GAD에 의해 L-glutamate로부터 합성되며, GABA transaminase에 의해 succinic semialdehyde를 거쳐 최종적으로 succinic semialdehyde dehydrogenase에 의해 succinate로 분해되는 과정을 거치는 것으로 보고되었다(Shimajiri 등 2013). 그러나 식물체 특히 여주의 경우, 생육과정에서 GABA의 합성 및 분해에 관여하는 효소들에 대한 활성 평가 및 그 대사체들에 대한 변화 연구가 미흡하기 때문에 추가적인 연구가 필요하다고 판단된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 여주의 GABA 분석법을 검증하고, 국내산 여주의 재배지역, 수확시기 및 숙기에 따른 GABA 함량 변화를 분석하였다. GABA 분석법을 검증하기 위해 직선성, 검출한계, 정량한계, 정밀성 및 정확성을 확인하였고, 그 결과 직선성의 상관관계수 값은 0.9999, 검출한계는 0.29 µg/mL, 정량한계는 0.87 µg/mL, 정밀성의 상대표준편차는 일내시험에서는 3.53%, 일간시험에서는 2.56%이었고, 정확성은 98.77~100.50%로 95% 이상의 높은 회수율과 2% 이하의 상대표준편차를 보였다. 여주의 GABA 최적추출조건으로 추출용매는 물, 추출횟수는 2회, 추출방법은 균질추출로 선정하였다. 재배지역별로 GABA를 분석한 결과, 0.51~1.88 mg/g으로 함량 차이가 높았으며, 평균 함량은 0.93±0.39 mg/g으로 나타났다. 수확시기별 여주의 GABA의 함량은 수확 초기 5월의 1.56 mg/g에서 9월의 0.86 mg/g까지 점차 감소하는 경향을 보였다. 또한 숙기별 GABA의 함량은 성장 초기의 1.69 mg/g에서 숙기 35일차의 0.36~0.38 mg/g까지 감소하였다. 이처럼 여주의 GABA 함량은 지역별 생육환경에 따라 재배 시기별, 숙기별에 따라 함량 차이가 나타났으며, 기능성 식품원료의 개발과

추후 연구의 기초자료로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

감사의 글

본 성과물은 농촌진흥청 공동연구사업(세부과제명: 여주의 원료 표준화 및 대사체 분석, 세부과제번호: PJ01000304)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

- Ahn MK, Ahn JB, Lee SH, Lee KG. 2010. Analysis of γ -aminobutyric acid (GABA) content in germinated pigmented rice. *Korean J Food Sci Technol* 42:632-636
- Ali L, Khan AKA, Mamun MIR, Mosihuzzaman M, Nahar N, Nur-e-Alam M, Rokeya B. 1993. Studies on hypoglycemic effects of fruit pulp, seed, and whole plant of *Momordica charantia* on normal and diabetic model rats. *Planta Med* 59:408-412
- Bai Q, Chai M, Gu Z, Cao X, Li Y, Liu K. 2009. Effects of components in culture medium on glutamate decarboxylase activity and γ -amino butyric acid accumulation in foxtail millet (*Setaria italic* L.) during germination. *Food Chem* 116:152-157
- Beloin N, Gbeassor M, Akpagana K, Hudson J, de Soussa K, Koumaglo K, Arnason JT. 2005. Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. *J Ethnopharmacol* 96:49-55
- Bjork JM, Moeller FG, Kramer GL, Kram M, Suris A, Rush AJ, Petty F. 2001. Plasma GABA levels correlate with aggressiveness in relatives of patients with unipolar depressive disorder. *Psychiatry Res* 101:131-136
- Choi HD, Park YK, Kim YS, Chung CH, Park YD. 2004. Effect of pretreatment conditions on γ -aminobutyric acid content of brown rice and germinated brown rice. *Korean J Food Sci Technol* 36:761-764
- Chung HJ, Jang SH, Cho HY, Lim ST. 2009. Effects of steeping and anaerobic treatment on GABA (γ -aminobutyric acid) content in germination waxy hull-less barley. *LWT-Food Sci Technol* 42:1712-1716
- Grover JK, Yadav SP. 2004. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review. *J Ethnopharmacol* 93:123-132
- Hayat A, Jahangir TM, Khuhawar MY, Alamgir M, Hussain Z,

- Haq FU, Musharraf SG. 2015. HPLC determination of gamma amino butyric acid (GABA) and some biogenic amines (BAs) in controlled, germinated, and fermented brown rice by pre-column derivatization. *J Cereal Sci* 64:56-62
- Imure T, Kihara M, Hirota N, Zhou T, Hayashi K, Ito K. 2009. A method for production of γ -amino butyric acid (GABA) using barley bran supplemented with glutamate. *Food Res Int* 42:319-323
- Jeong YS, Lee SH, Song J, Hwang KA, Noh GM, Hwang IG. 2016. Vitamin C quantification of Korean *Momordica charantia* by cultivar, harvest time, and maturity. *Korean J Food Nutr* 29:474-479
- KFDA 2004. The Handbook for the Method Validation Guidelines about Drug Product. Korea Food and Drug Administration. pp.1-18
- Kim AK, Lee HJ, Oh MM, Lee WM, Lee SG, Chae WB, Choi HS, Yang EY, Huh YC, Park DK, Kim S. 2013. Selection of bitter melon (*Momordica charantia* L.) germplasm for improvement anti-diabetic compound contents. *Kor J Breed Sci* 45:332-338
- Kim HW, Shin HJ, Hwang DB, Lee JE, Jeong HG, Kim DG. 2015. Functional cosmetic characteristics of *Momordica charantia* fruit extract. *Kor Chem Eng Res* 53:289-294
- Kim I, Park CH, Jung HY, Jeong J, Hong HU, Kim JB. 2016. Bitter melon (*Momordica charantia*) extract enhances exercise capacity in mouse model. *Korean J Food Nutr* 29:506-512
- Kim KY, Lee JW. 2001. Quality factors and effect of cultivation environment on the quality of fruit vegetables. *Kor J Hort Sci Technol* 19:196-203
- Kim YK, Park WT, Uddin MR, Kim YB, Bae H, Kim HH, Park KW, Park SU. 2014. Variation of charantin content in different bitter melon cultivars. *Asian J Chem* 26:309-310
- Kim YK, Xu H, Park NI, Boo HO, Lee SY, Park SU. 2009. Amino acid and GABA content in different cultivars of *Momordica charantia* L. *J Med Plant Res* 3:897-900
- Komatsuzaki N, Tsukahara K, Toyoshima H, Suzuki T, Shimizu N, Kimura T. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. *J Food Eng* 78:556-560
- Lee HJ, Lee SG, Kim SK, Choi CS. 2016. Variation on charantin contents of various organs and harvest seasons in bitter melon. *Korean J Hort Sci Technol* 34:701-707
- Lee HY, Park KS, Joo OS, Hwang CE, Ahn MJ, Jeong YS, Hong SY, Kwon OK, Kang SS, Yuk HJ, Kim HR, Park DS, Cho KM. 2015a. Changes in quality characteristics and antioxidant activity of bitter melon (*Momordica charantia* L.) pickle during ageing. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44:401-411
- Lee JW, Lee HS, Na YW, Kang MJ, Jeon YA, Sung JS, Ma KH, Lee SY. 2015b. Investigation of physicochemical properties according to different parts and maturity of *Momordica charantia* L. *Kor J Plant Res* 28:382-390
- Oh SH, Choi WG. 2000. Production of the quality germinated brown rices containing high γ -aminobutyric acid by chitosan application. *Korean J Biotechnol Bioeng J* 15:615-620
- Oh SH, Kim SH, Moon YJ, Choi WG. 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
- Oh SH, Moon YJ, Oh CH. 2003. γ -Aminobutyric acid (GABA) content of selected uncooked foods. *Nutraceuticals Food* 8:75-78
- Oh SH. 2003. Stimulation of γ -aminobutyric acid synthesis activity in brown rice by a chitosan/glutamic acid germination solution and calcium/calmodulin. *BMB Reports* 36:319-325
- Parkash A, Ng TB, Tso WW. 2002. Purification and characterization of charantin, a napin-like ribosome-inactivating peptide from bitter melon (*Momordica charantia*) seeds. *J Pept Res* 59:197-202
- Pyo YH. 2008. Effect of *Monascus*-fermentation on the content of GABA and free amino acids in soybean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:1208-1213
- Raman A, Lau C. 1996. Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (*Cucurbitaceae*). *Phytomedicine* 2:349-362
- Rathi SS, Grover JK, Vats V. 2002. The effect of *Momordica charantia* and *Mucuna pruriens* in experimental diabetes and their effect on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *Phytother Res* 16:236-243
- Sarkar S, Pranava M, Marita R. 1996. Demonstration of the hypoglycemic action of *Momordica charantia* in a validated animal model of diabetes. *Pharmacol Res* 33:1-4
- Schmourlo G, Mendonça-Filho RR, Alviano CS, Costa SS. 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *J Ethnopharmacol* 96:563-568
- Shimajiri Y, Oonishi T, Ozaki K, Kainou K, Akama K. 2013.

- Genetic manipulation of the γ -aminobutyric acid (GABA) shunt in rice: Overexpression of truncated glutamate decarboxylase (*GAD2*) and knockdown of the γ -aminobutyric acid transaminase (*GABA-T*) lead to sustained and high levels of GABA accumulation in rice kernels. *Plant Biotechnol J* 11:594-604
- Son DM, Kim SJ, Kim HJ, Kim HG, Yun BK, Jung JM, Lee JH. 2016. Effects of cultivation method and planting date in growth and yield of *Momordica charantia* L. in spring season. *Protected Hort Plant Fac* 25:200-205
- Tomita R, Todoroki H, Mchida K, Nishida S, Maruoka H, Yoshida H, Fujioka T, Nakashima M, Yamaguchi M, Nohta H. 2014. Assessment of the efficacy of anticancer drugs by amino acid metabolomics using fluorescence derivatization-HPLC. *Anal Sci* 30:751-758
- Virdi J, Sivakami S, Shahani S, Suthar AC, Banavalikar MM, Biyani MK. 2003. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. *J Ethnopharmacol* 88: 107-111.
- Wang HF, Tsai YS, Lin ML, Ou AS. 2006. Comparison of bioactive components in GABA tea and green tea produced in Taiwan. *Food Chem* 96:648-653
- Welihinda J, Karunanayake EH, Sheriff MHH, Jayasinghe KSA. 1986. Effect of *Momordica charantia* on the glucose tolerance in maturity onset diabetes. *J Ethnopharmacol* 17:277-282
- Xing SG, Jun YB, Hau ZW, 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
- Zhang H, Yao HY, Chen F. 2006. Accumulation of γ -aminobutyric acid in rice germ using protease. *Biosci Biotechnol Biochem* 70:1160-1165

Received 07 July, 2017
Revised 28 May, 2018
Accepted 05 June, 2018