

## 호박분말 효소가수분해물의 항산화활성

오창경<sup>1\*</sup> · 김명철<sup>2</sup> · 오명철<sup>1</sup> · 양태석<sup>1</sup> · 현재석<sup>3</sup> · 김수현<sup>4</sup>

<sup>1</sup>제주산업정보대학 관광호텔조리과, <sup>2</sup>대산영농조합법인  
<sup>3</sup>제주산업정보대학 식품영양과, <sup>4</sup>제주대학교 식품생명공학과

### Antioxidant Activities in Enzymatic Hydrolysates of Pumpkin Powder (*Cucurbita* spp.)

Chang-Kyung Oh<sup>1\*</sup>, Myeong-Cheol Kim<sup>2</sup>, Myung-Cheol Oh<sup>1</sup>,  
Tai-suk Yang<sup>1</sup>, Jae-Suk Hyun<sup>3</sup>, and Soo-Hyun Kim<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Tourism Hotel Culinary Art, Jeju College of Technology, Jeju 690-140, Korea

<sup>2</sup>Daesan Agricultural Cooperative, Inc. (Great Mountain), Jeju 695-908, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Food Nutrition, Jeju College of Technology, Jeju 690-140, Korea

<sup>4</sup>Dept. of Food Science & Biotechnology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

#### Abstract

This study was conducted to investigate total polyphenol contents and antioxidative effects of the enzymatic hydrolysates digested by several kinds of carbohydrases from the powder of ripened pumpkin (*Cucurbita moschata*), sweet pumpkin (*C. maxima*) and green pumpkin (*C. moschata*). The total polyphenol contents of all enzymatic hydrolysates from green pumpkin powder were higher than those of ripened and sweet pumpkins. DPPH radical scavenging activities of the enzymatic hydrolysates digested by AMG and Termamyl from green pumpkin were also very strong compared to ripened and sweet pumpkins. However, the most enzymatic hydrolysates of ripened and sweet pumpkin powders, except Viscozyme digestion, were higher superoxide anion scavenging activities than green pumpkin powder. Hydrogen peroxide scavenging activities in the enzymatic digests (not Ultroflo) of green pumpkin were potent compared to other pumpkin powders whereas hydroxyl radical scavenging activities were low at less than 14% in hydrolysates of all pumpkin species. Nitric oxide scavenging activities were very effective in Viscozyme digests of sweet and green pumpkin, and other enzymatic hydrolysates also showed higher activity than  $\alpha$ -tocopherol control (not BHT).

**Key words:** pumpkin, enzymatic hydrolysates, total polyphenol, DPPH radical, superoxide anion, hydrogen peroxide, nitric oxide, antioxidative activities

#### 서 론

호박(*Cucurbita* spp.)은 박과에 속하는 일년생 덩굴성 초본으로 열대 아메리카가 원산지이며 고온다습한 지대에 적응해온 동양계 호박(*C. moschata* Duch)과 남아메리카 고랭지를 원산지로 하여 고냉, 건조지대에 적응해 온 서양계 호박(*C. maxima* Duch) 및 멕시코 북부와 북아메리카 서부를 원산지로 하는 페포계 호박(*C. pepo* L.)으로 나누어지고 있다(1).

우리나라의 호박은 다른 박과 과채류에 비하여 기후조건에 대한 적응범위가 넓고, 한국의 기후풍토에서 잠재 생산가능성이 대단히 높으며, 내건성이 강하여 적당히 시비하면 척박한 토양에서도 생육이 왕성하여 유희지에서 재배가 가능하고, 다른 과의 채소류에 비하여 병해충이 심하지 않아 재배기간 중에 농약을 거의 살포하지 않는 무공해식품으로

도 그 가치가 높은 것으로 평가되고 있다(2).

호박은 성숙함에 따라 당질과 비타민 A 함량이 증가하여 영양적 가치가 높을 뿐만 아니라, 황색을 나타내는 천연색소인 carotene, lycopene 및 lutein 등이 존재하기 때문에 이들 천연색소들이 여러 가지 가공식품의 첨가물로 이용되고 있다. 우리나라 재래종 호박의 완숙과(늙은호박)에는  $\beta$ -carotene을 비롯한 여러 가지 유효 성분이 함유되어 있어서, 당뇨병, 비만증 등의 성인병 예방과 치료에 유효하다는 것이 알려지면서 수요가 크게 증가하고 있다(3,4). 특히 호박에 다량 함유되어 있는  $\beta$ -carotene은 항암효과(5,6)와 면역기능 항진력(7,8), 심장질환에 대한 영향(9), 유해 활성산소를 소거하는 기능(10) 등이 알려져 있어서 단순한 색소로서의 의미를 벗어나 기능성 성분으로서 주목받고 있다. 또한 호박에는 칼슘, 칼륨, 인 등의 무기질과 비타민 A가 다량 함유되어 있으며, 호박의 당분은 소화흡수가 좋아서 위장이 약한 사람

\*Corresponding author. E-mail: ohcky59@jeju.ac.kr  
Phone: 82-64-754-0351, Fax: 82-64-754-0360

이나 회복기 환자, 당뇨병 환자, 비만인, 산후 부기를 감소시키는 데 효과가 좋은 식품으로 알려져 있다(11).

호박에 관한 연구로는 미숙호박과 완숙호박의 영양성분(12), 늙은호박의 부위별 화학성분(13), 호박의 지방산조성(14), 호박 분말이 위암과 유선암에 미치는 영향(15) 등이 있다. 최근에는 건강에 대한 관심이 증가하면서 호박을 압축해 레토르트파우치 형태로 섭취하는 경우가 많아지고 있고, 호박을 이용한 음료나 죽, 차 등이 개발되고 있으며(16), 저장 중 호박의 카로티노이드 색소 변화와 부재료 첨가, 가열 및 저장조건에 따른 저장 중의 이화학적 변화 및 여러 가지 호박 제품에 대한 연구가 진행되었다(17,18). 그러나 호박의 항산화성에 대한 연구로는 호박즙의 유지에 대한 항산화 효과(19)와 녹차 및 늙은호박 분말 첨가에 따른 갖김치의 항산화 효과(20) 이외에는 거의 연구가 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에는 제주산 토종 호박, 단호박 및 애호박을 건조분말로 한 후, 이들을 여러 종류의 탄수화물 분해효소로 분해·추출하여 이들 추출물에 의한 항산화 활성을 측정함으로써 호박의 기능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

실험에 사용된 늙은호박(ripened pumpkin, *C. moschata*)은 수확 후 1~2개월 보관한 것을, 애호박(green pumpkin, *C. moschata*)은 수확 후 5일 경과한 것을 그리고 단호박(sweet pumpkin, *C. maxima*)은 수확 후 10~15일 보관한 것을 제주특별자치도 제주시 한림읍에 소재한 농가에서 구입하여 사용하였다. 구입한 호박은 4등분으로 분리하여 씨를 제거하고, 이를 껍질이 있는 채로 동결건조한 후 분쇄기를 사용하여 200 mesh 정도로 분쇄하여 실험재료로 하였다.

### 탄수화물 분해효소(carbohydrases)

호박의 일반성분을 분석한 결과 주성분이 탄수화물과 식이섬유이므로 전분분해효소인 AMG(exo 1,4- $\alpha$ -D-amylglucosidase), 섬유소 분해효소인 Celluclast, amylose와 amylopectin 분해효소인 Termamyl과 Viscozyme 및 점질

물질(gums)을 분해하는 Ultraflo를 사용하였다(Novozyme Nordisk, Bagsvaed, Denmark). 모든 효소는 최적의 반응 온도와 pH를 조절하여 사용하였다. 실험에 사용된 탄수화물 분해효소의 반응 조건은 Table 1과 같다.

### 시약

Nitro blue tetrazolium salt(NBT), xanthine, xantine oxidase, thiobarbituric acid(TBA), trichloroacetic acid(TCA), Folin-Ciocalteu reagent, sodium nitroprusside, sulfanilic acid는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서, 그리고 *N*-1-naphthylethylene diamine dihydrochloride는 Hayashi Pure Chemical Industries Ltd.(Osaka, Japan), ethylenediamine tetra-acetic acid(EDTA), peroxidase, 2,3-azino-bis(3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonic acid(ABTS), deoxyribose는 Fluka사(Buchs, Switzerland)에서 구입한 제품을 사용하였다.

### 일반성분

일반성분은 AOAC 방법(21)에 따라 수분은 105°C 상압가열건조법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법으로 분석하였고, 회분은 550°C에서 직접회화법으로 평량하였다. 탄수화물 함량은 총 일반성분 함량 100에서 측정된 수분, 조단백질, 조지방 및 회분 함량을 뺀 수치로 나타내었다.

### 효소 분해

1,000 mL 플라스크에 호박의 동결건조 분말 각 5 g과 증류수 500 mL를 가하여 pH(1 M HCl/NaOH)를 고정시킨 다음 enzyme 0.5 mL를 첨가하여 혼합한 후 incubator에서 12 시간 진탕하면서 반응시켰다. 그 후 80°C에서 10분간 효소를 불활성화 시킨 후 pH를 7로 조정하여 Whatman No. 5 여과지로 여과하고, 급속냉각 후 동결건조 하였다(22). 이들 분해물은 농도를 2 mg/mL로 맞추어 효소 분해물 시료로 사용하였다. 각 효소 가수분해물의 수율은 사용된 효소의 종류에 따라 호박 분말양에 대한 가수분해물의 최종 획득된 양을 %로 계산하였다.

### 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denisml 방법(23)을 변형하여 측정하였다. 즉 시험관에 각 효소별 가수분해물 1 mL, 95% ethanol 1 mL, 증류수 5 mL, 50% Folin-Ciocalteu re-

Table 1. Characteristics and reaction conditions of various carbohydrases used in digestion of pumpkin powder

Enzyme	Source	Characteristics	Optimal	
			pH	Temp (°C)
AMG	<i>Aspergillus niger</i>	Hydrolyzes 1,4- and 1,6- $\alpha$ -linkages in liquefied starch	4.5	60
Celluclast	<i>Trichoderma reesei</i>	Catalyzes the breakdown of cellulose into glucose, cellobiose and higher glucose polymer	4.5	50
Termamyl	<i>Bacillus licheniformis</i>	Hydrolyzes 1,4- $\alpha$ -glucosidic linkages in amylose and amylopectin	6.0	60
Ultraflo	<i>Humicola insolens</i>	Catalyzes the breakdown of $\alpha$ -glucans, pentosans and other gums	7.0	60
Viscozyme	<i>Aspergillus aculeatus</i>	A multi-enzyme complex containing wide range of carbohydrase Ability to liberate bound materials and to degrade non-starch polysaccharides	4.5	50

agent 0.5 mL를 가하여 실온에 5분간 방치하여 반응시킨 후, 5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 mL를 가하고 어두운 곳(실온)에서 1시간 반응시킨 다음 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 (+)catechin 표준액에 의하여 작성한 검량선에 따라 계산하였다.

#### DPPH radical 소거활성

호박 분해물의 DPPH 유리기 소거 활성은 Brand-Williams 등(24)에 의해 수정된 방법으로 측정하였다. 즉 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)를 이용하여 시료구에는 시료 2 mL와 DPPH 용액( $3 \times 10^{-5}$  M in DMSO) 2 mL, 공시험구는 시료 2 mL와 MeOH 2 mL, 대조구는 DMSO 2 mL와 DPPH 용액 2 mL를 넣어 완전 혼합하고 실온에서 1시간 반응시킨 후 UV-VIS spectrophotometer(Opron 3000 Hanson Tech. Co. Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### Superoxide anion( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) 소거활성

Superoxide anion 소거활성은 Nagai 등(25)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 시험관에 0.05 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  완충용액(pH 10.5) 480  $\mu\text{L}$ , 3 mM xanthine 20  $\mu\text{L}$ , 3 mM EDTA 20  $\mu\text{L}$ , 0.15% bovine serum albumin 20  $\mu\text{L}$ , 0.75 mM nitro blue tetrazolium(NBT) 20  $\mu\text{L}$ 의 혼합용액과 시료 0.02  $\mu\text{L}$ 를 넣어 25°C의 incubator에서 10분간 반응시키고, 6 mU/mL xanthine oxidase (XOD) 100  $\mu\text{L}$ 를 가하여 25°C의 incubator에서 20분 반응한 후, 6 mM의  $\text{CuCl}_2$  20 mL를 첨가하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### Hydrogen peroxide( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 소거활성

Hydrogen peroxide 소거활성은 Muller의 방법(26)인 2,2-azinobis(3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonic acid(ABTS)-peroxidase system으로 측정하였다. 즉 96 microwell plate에 시료구와 공시험구, 대조구를 구분하여 각 효소별 시료 80  $\mu\text{L}$ 에 인산완충용액(0.1 M, pH 5.0)과 10 mM의  $\text{H}_2\text{O}_2$  20  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 37°C의 incubator에서 5분간 반응시켰으며, 시료구에는 1.25 mM ABTS 30  $\mu\text{L}$ , 공시험구에는 증류수 30  $\mu\text{L}$ 를 첨가한 후 peroxidase(1  $\mu\text{U}/\text{mL}$ ) 30  $\mu\text{L}$ 를 시료구와 공시험구에 첨가하여 37°C의 incubator에서 10분 반응시킨 다음 ELISA reader(Sunrise, Tecan Co. Ltd., Grödig, Austria)로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### Hydroxyl radical( $\text{HO}^{\cdot}$ ) 소거활성

Hydroxyl radical의 소거활성은 Chung과 Kim(27)의 방법에 따라 ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt(EDTA)가 포함된 Fenton 반응계( $\text{Fe}_2^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{H} + \text{OH}^-$ )에서 분석하였다. 즉, 시험관에 10 mM  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 10 mM EDTA 및 10 mM 2-deoxyribose를 각각 0.2 mL 혼합한 Fenton 반응 혼합물에 시료용액 0.2 mL와 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4) 1.0 mL를 넣어 총 1.8 mL로 조제하였다. 여

기에 10 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  2.0 mL를 가하고 37°C의 incubator에서 4시간 반응시킨 다음 2.8% trichloroacetic acid(TCA) 용액 1.0 mL와 1.0% TBA(thiobarbituric acid) 용액 1 mL를 가하여 100°C에서 10분간 반응시킨 후 급속히 냉각하고 395  $\times$  g에서 5분간 원심분리시킨 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### Nitric oxide radical(NO) 소거활성

Nitric oxide radical(NO)의 소거활성은 Griess Illosvoy 반응(28)에 의하여 측정하였다. Griess Illosvoy 용액은 5% 1-naphthylamine 대신에 naphthylethylenediamine dihydrochloride(0.1% w/v)를 사용하였다. 즉 시료 0.5 mL에 10 mM sodium nitroprusside 2 mL와 0.01 M 인산완충용액(pH 7.4) 0.5 mL를 첨가하여 25°C의 incubator에서 150분 반응시킨 후, 반응물 중 0.5 mL를 취하여 1.0 mL의 sulfanilic acid(0.03% in 20% glacial acetic acid)와 혼합한 후 5분간 반응시키고, 여기에 0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride 1.0 mL를 첨가하여 실온에서 30분 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 통계처리

본 연구의 실험 결과는 3회 반복 측정된 후 평균과 표준편차를 나타내었으며, SPSS 11.1을 이용하여 실험군간의 유의차를 검증한 후  $p < 0.05$  수준에서 상호 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반성분

호박 종류별 일반성분 함량은 Table 2에 나타내었다. 조회분, 조단백질 및 조섬유는 애호박, 늙은호박, 단호박 순서로 높았으며, 탄수화물은 단호박, 늙은호박, 애호박 순서로 높았고, 조지방은 호박 종류들 간에 거의 함량 차이를 보이지 않았다.

### 효소가수분해물 수율

호박분말에 각 탄수화물 분해효소를 소화한 후 조제된 효소가수분해물의 수율은 Table 3과 같다. 효소가수분해물은

Table 2. Proximate composition of pumpkin powders

Component	Content (%)		
	Ripened pumpkin ( <i>C. moschata</i> )	Sweet pumpkin ( <i>C. maxima</i> )	Green pumpkin ( <i>C. moschata</i> )
Moisture	6.5 (0.0)	3.9 (0.0)	10.3 (0.0)
Crude protein	8.5 (9.1)	6.4 (6.6)	13.0 (14.5)
Carbohydrate	75.9 (81.2)	82.7 (86.1)	66.6 (74.2)
Crude fat	1.8 (1.9)	1.9 (2.0)	1.9 (2.1)
Crude ash	7.3 (7.8)	5.1 (5.3)	8.2 (9.2)
Crude fiber	5.8 (6.2)	5.2 (5.4)	6.3 (7.0)

( ) : dry weight basis.

Table 3. Yields of enzymatic hydrolysates digested by various carbohydrases from pumpkin powders

Pumpkin	Ultraflo	Celluclast	Termamyl	AMG	Viscozyme
Ripened	50.6±1.0 <sup>a</sup>	62.1±1.3 <sup>b</sup>	72.2±1.6 <sup>c</sup>	70.1±0.9 <sup>c</sup>	76.1±1.3 <sup>d</sup>
Sweet	36.5±0.9 <sup>a</sup>	66.1±1.5 <sup>b</sup>	83.0±1.4 <sup>c</sup>	66.1±1.2 <sup>b</sup>	86.1±1.6 <sup>d</sup>
Green	70.1±1.3 <sup>b</sup>	78.1±1.0 <sup>c</sup>	79.5±1.2 <sup>cd</sup>	64.0±0.9 <sup>a</sup>	81.1±1.1 <sup>d</sup>

All values are the mean±SD of triplicate determinations. Values with different superscripts within the same row (a-d) are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range tests.

단호박의 Ultraflo 처리군을 제외한 모든 호박분말 가수분해물에서 50% 이상의 높은 수율을 나타내었다. Viscozyme과 Termamyl 분해물들이 비교적 높게 나타났다.

#### 총 폴리페놀 화합물 함량

호박분말의 효소 분해물의 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과는 Table 4에 나타내었다. 총 폴리페놀 함량은 애호박의 모든 효소 분해물에서  $629.4\pm 45.0$  mg/100 g 이상의 높은 함량을 나타내었으나, 늙은호박과 단호박은 애호박에 비하여 함량이 낮아  $446.9\pm 32.0\sim 520.7\pm 37.3$  mg/100 g의 범위를 보였다. 효소별로 보면 늙은호박은 Viscozyme, Celluclast, Ultraflo, AMG, Termamyl의 순서로, 단호박은 Celluclast, Viscozyme, AMG, Ultraflo, Termamyl의 순서로, 그리고 애호박은 AMG, Viscozyme, Celluclast, Termamyl, Ultraflo의 순서로 높았다. 이상의 결과로부터 애호박에는 늙은호박과 단호박에 비하여 항산화 작용을 하는 폴리페놀 화합물이 좀 더 많이 함유되어 있었으며, 늙은호박과 단호박 간의 함량 차이는 거의 없었다. 한편, 늙은호박의 부위별 성분을 비교한 연구(29)에 의하면 총 폴리페놀 함량은 내부 섬유상 부위에  $379.8\pm 9.76$  mg/100 g으로 총 폴리페놀 성분의 47% 이상 함유하였으며, 과육 부위에  $243.3\pm 12.52$  mg/100 g, 껍질 부위에  $185\pm 10.72$  mg/100 g이 함유되어 있다고 하였는데, 이들 함량을 가식 부위 전체(섬유상 부위+과육 부위)로 계산해 보면,  $623.1$  mg/100 g로서 본 연구의 애호박의 효소분해물의 결과와 거의 일치하였다. 그러나 본 연구에서의 늙은호박과 단호박에 대한 결과는 이들의 연구 결과보

다 약 100 mg/100 g 정도 낮은 함량을 나타내었다. 본 연구와 이들의 결과가 다르게 나타나는 것은 수확시기, 토질, 영양분 등의 재배조건 및 품종에 따른 영향에 기인하는 것으로 보인다.

#### DPPH radical 소거활성

호박분말의 효소 분해물의 농도가 2 mg/mL가 함유되도록 반응용액을 제조하여 분해물에 의한 DPPH 유리기의 소거활성을 측정된 결과는 Table 5에 나타내었다. 호박의 효소 분해물들의 DPPH 유리기 소거활성은 호박 품종별 및 분해 효소별로 많은 차이를 나타내었다. 호박 품종별로 비교해보면 애호박이 다른 호박들에 비하여 활성이 높았으며, 특히 Ultraflo 분해물을 제외하고는 50% 이상의 활성을 나타내었다. 그러나 시험된 모든 품종의 호박분해물들은 BHT와  $\alpha$ -tocopherol에 비하여 낮은 활성을 보였다. 늙은호박과 단호박을 비교해 보면 Ultraflo, Termamyl 및 AMG 처리에서는 단호박 분해물이 비교적 높은 DPPH 유리기 소거활성을 보였으나, Celluclast와 Viscozyme 처리에서는 늙은호박 분해물이 좀 더 높은 활성을 보였다. 효소별로 보면 늙은호박은  $22.4\pm 1.4\sim 44.1\pm 2.8\%$  범위로서 Viscozyme 분해물에서 가장 높은 활성을 보였다. 단호박은  $25.8\pm 1.6\sim 47.6\pm 3.0$  범위로서 AMG 분해물에서 가장 높은 활성을 보였다. 애호박은  $45.1\pm 2.8\sim 74.6\pm 4.7\%$  범위로서 AMG 분해물에서 가장 높은 활성을 보였다. 이상의 결과로 볼 때 호박 분말의 효소 분해물은 산화 유리기의 활성산소의 소거(10,30)에서 어느 정도 유용성을 인정할 수 있었으며, 특히 애호박의 효소 분

Table 4. Total polyphenol contents of the pumpkin hydrolysates

(mg/100 g)

Pumpkin	Ultraflo	Celluclast	Termamyl	AMG	Viscozyme
Ripened	495.0±35.4 <sup>b</sup>	517.9±37.0 <sup>c</sup>	446.9±32.0 <sup>a</sup>	495.0±35.4 <sup>bc</sup>	520.7±37.3 <sup>c</sup>
Sweet	486.4±34.8 <sup>b</sup>	517.9±37.0 <sup>c</sup>	466.4±33.4 <sup>a</sup>	506.4±31.7 <sup>bc</sup>	515.0±36.9 <sup>c</sup>
Green	629.4±45.0 <sup>a</sup>	723.9±51.8 <sup>b</sup>	669.5±47.9 <sup>a</sup>	786.8±56.3 <sup>c</sup>	735.3±52.6 <sup>b</sup>

All values are the mean±SD of triplicate determinations. Values with different superscripts within the same row (a-c) are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range tests.

Table 5. DPPH radical scavenging activities of the pumpkin hydrolysates

(% )

Pumpkin	Ultraflo	Celluclast	Termamyl	AMG	Viscozyme	BHT	Tocopherol
Ripened	25.6±1.6 <sup>a</sup>	43.9±2.8 <sup>c</sup>	22.4±1.4 <sup>a</sup>	40.0±2.5 <sup>b</sup>	44.1±2.8 <sup>c</sup>		
Sweet	43.9±2.8 <sup>d</sup>	25.8±1.6 <sup>a</sup>	33.1±2.1 <sup>b</sup>	47.6±3.0 <sup>e</sup>	37.6±2.4 <sup>c</sup>	91.3±0.3	90.0±1.4
Green	45.1±2.8 <sup>a</sup>	57.1±3.6 <sup>c</sup>	51.4±3.2 <sup>b</sup>	74.6±4.7 <sup>c</sup>	59.3±3.7 <sup>d</sup>		

The tested amount of the enzymatic hydrolysates, BHT and  $\alpha$ -tocopherol were 2 mg/mL.

All values are the mean±SD of triplicate determinations. Values with different superscripts within the same row (a-e) are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range tests.

해물은 늙은호박과 단호박에 비하여 모든 효소 분해물에서 매우 효과적인 DPPH 유리기 소거활성제임을 알 수 있었다.

#### Superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 소거활성

호박분말의 효소 분해물의 농도가 2 mg/mL가 함유되도록 반응용액을 제조하여 분해물에 의한 superoxide 유리기의 소거활성을 측정된 결과는 Table 6에 나타내었다. 호박 품종별로 보면 전반적으로 늙은호박과 단호박의 효소분해물 및 애호박의 Viscozyme 분해물은 superoxide 유리기 소거활성이 매우 높아 BHT나  $\alpha$ -tocopherol과 비슷하거나 오히려 더 높게 나타났다. 그러나 늙은호박과 단호박간의 차이는 거의 없는 것으로 나타났다. 그러나 애호박은 Viscozyme 분해물을 제외하고는 40% 미만의 낮은 활성을 보였다. 효소별로 보면 늙은호박은 56.9±2.4~70.4±2.8% 범위로써 모든 효소 분해물에서 50% 이상의 비교적 높은 활성을 보였으며, 특히 Celluclast 분해물은 70.4%로 매우 높은 소거활성을 보였다. 단호박은 46.1±1.9~71.7±2.8% 범위로써 Ultraflo 분해물을 제외한 모든 효소 분해물에서 63% 이상의 높은 활성을 보였으며, 특히 Celluclast, Termamyl 및 Viscozyme 분해물은 70% 이상의 매우 높은 활성을 보였다. 애호박은 17.1±1.9~63.8±1.8% 범위로써 Viscozyme 분해물에서 가장 높은 소거활성을 보였다. 이상의 결과로 볼 때 늙은호박 및 단호박 분말의 모든 효소 분해물과 애호박의 Viscozyme 분해물은 superoxide anion을 활성적으로 소거하는 항산화제로서의 가능성이 매우 높다는 것을 알 수 있었다. 한편, 82개의 재료에 대하여 extraction buffer를 사용하여 superoxide anion radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)의 소거활성을 측정된 결과 오가피 13.5%, 결명자 17.1%, 복분자 13.2%, 감초 35.6%, 생강 9.0%, 무 20.9%의 소거효과를 보였다는 보고(31)와 비교할 때, 본 연구에서 모든 호박의 효소 분해물들이 이들과 비슷하거나 아주 높은 소거활성을 보이는 것으로 보아 이들에 비하여 그 효과가 높다고 평가할 수 있다.

#### Hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 소거활성

호박분말의 효소 분해물의 농도가 2 mg/mL가 함유되도록 반응용액을 제조하여 분해물에 의한 hydrogen peroxide 소거활성을 측정된 결과는 Table 7에 나타내었다. 품종별로 보면 Ultraflo 처리군을 제외하고는 전반적으로 애호박의 효소 분해물이 다른 호박 품종들에 비하여 약간 높은 활성을 보이고 있으나 큰 차이는 없었으며, 모든 효소 분해물들이 BHT나  $\alpha$ -tocopherol에 비하여 낮은 활성을 보였다. 또한 애호박의 Celluclast 분해물을 제외하고는 모든 호박의 효소 분해물들이 50% 미만의 활성을 보였다. 효소별로 보면 늙은호박은 34.4±1.5~39.1±1.6% 범위로써 모든 효소 분해물에서 낮은 활성을 보였다. 단호박은 37.9±0.9~46.6±1.5% 범위로써 모든 효소 분해물에서 낮은 활성을 보였다. 애호박은 43.5±1.1~53.4±0.8% 범위로써 Celluclast 분해물에서 가장 높은 활성을 보였다. 이상의 결과로 볼 때 이들 호박의 효소 분해물들은 어느 정도 hydrogen peroxide 소거활성이 있음을 알 수 있었다.

#### Hydroxyl radical(HO·) 소거활성

호박분말의 효소 분해물의 농도가 2 mg/mL가 함유되도록 반응용액을 제조하여 분해물에 의한 hydroxyl radical의 소거활성을 측정된 결과는 Table 8에 나타내었다. 품종별로 보면 실험에 사용된 모든 호박 품종에서 14% 미만의 낮은 활성을 보이는 것으로 보아 늙은 호박, 단호박 및 애호박의 효소 분해물들은 hydroxyl radical의 효과적인 소거활성이 거의 없는 것으로 판단된다. 효소별로 보면 늙은호박은 -3.4±0.1~5.7±0.5% 범위로써 실험에 사용된 모든 효소 분해물에서 매우 낮은 활성을 보였다. 단호박은 -3.8±0.6~6.0±0.6% 범위로써 모든 효소 분해물에서 매우 낮은 활성을 보였다. 애호박은 2.1±0.4~13.7±0.3 범위로써 전반적으로 활성이 매우 낮은 편이었다. 이상의 결과로부터 이들 호박의 효소 분해물들은 hydroxyl radical 소거활성을 크게 기

Table 6. Superoxide anion scavenging activities of the pumpkin hydrolysates (%)

Pumpkin	Ultraflo	Celluclast	Termamyl	AMG	Viscozyme	BHT	Tocopherol
Ripened	56.9±2.4 <sup>a</sup>	70.4±2.8 <sup>d</sup>	61.2±0.9 <sup>b</sup>	67.1±0.1 <sup>c</sup>	63.2±1.9 <sup>b</sup>		
Sweet	46.1±1.9 <sup>a</sup>	71.7±0.9 <sup>c</sup>	71.7±2.8 <sup>c</sup>	64.5±0.9 <sup>b</sup>	70.4±0.9 <sup>c</sup>	63.2±0.1	61.5±0.6
Green	17.1±1.9 <sup>a</sup>	40.8±1.9 <sup>c</sup>	25.7±0.9 <sup>b</sup>	25.7±2.5 <sup>b</sup>	63.8±1.8 <sup>d</sup>		

The tested amount of the enzymatic hydrolysates, BHT and  $\alpha$ -tocopherol were 2 mg/mL.

All values are the mean±SD of triplicate determinations. Values with different superscripts within the same row (a-d) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

Table 7. Hydrogen peroxide scavenging activities of the pumpkin hydrolysates (%)

Pumpkin	Ultraflo	Celluclast	Termamyl	AMG	Viscozyme	BHT	Tocopherol
Ripened	39.0±0.7 <sup>b</sup>	34.4±1.5 <sup>a</sup>	39.1±1.6 <sup>b</sup>	36.2±0.7 <sup>a</sup>	37.1±1.3 <sup>b</sup>		
Sweet	46.6±1.5 <sup>b</sup>	40.0±1.2 <sup>a</sup>	39.4±1.6 <sup>a</sup>	38.7±1.1 <sup>a</sup>	37.9±0.9 <sup>a</sup>	60.1±0.3	62.5±1.7
Green	44.3±0.7 <sup>a</sup>	53.4±0.8 <sup>d</sup>	43.5±1.1 <sup>a</sup>	49.5±0.8 <sup>c</sup>	46.3±0.7 <sup>b</sup>		

The tested amount of the enzymatic hydrolysates, BHT and  $\alpha$ -tocopherol were 2 mg/mL.

All values are the mean±SD of triplicate determinations. Values with different superscripts within the same row (a-d) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

Table 8. Hydroxy radical scavenging activities of the pumpkin hydrolysates (%)

Pumpkin	Ultraflo	Celluclast	Termamyl	AMG	Viscozyme	BHT	Tocopherol
Ripened	5.6±0.4 <sup>c</sup>	-3.4±0.1 <sup>a</sup>	5.3±0.3 <sup>c</sup>	5.7±0.5 <sup>c</sup>	4.4±0.2 <sup>b</sup>		
Sweet	5.1±0.9 <sup>c</sup>	-3.5±0.5 <sup>a</sup>	-3.8±0.6 <sup>a</sup>	-1.8±0.4 <sup>b</sup>	6.0±0.6 <sup>c</sup>	76.6±0.2	79.5±1.7
Green	13.7±0.3 <sup>d</sup>	5.6±0.4 <sup>c</sup>	2.5±0.4 <sup>a</sup>	4.8±0.4 <sup>b</sup>	2.1±0.4 <sup>a</sup>		

The tested amount of the enzymatic hydrolysates, BHT and α-tocopherol were 2 mg/mL.

All values are the mean±SD of triplicate determinations. Values with different superscripts within the same row (a-c) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

Table 9. Nitric oxide scavenging activities of the pumpkin hydrolysates (%)

Pumpkin	Ultraflo	Celluclast	Termamyl	AMG	Viscozyme	BHT	Tocopherol
Ripened	32.5±3.5 <sup>b</sup>	42.0±3.2 <sup>c</sup>	41.5±0.2 <sup>c</sup>	39.7±1.0 <sup>c</sup>	28.0±1.0 <sup>a</sup>		
Sweet	38.8±2.0 <sup>a</sup>	44.9±3.3 <sup>b</sup>	40.5±0.5 <sup>a</sup>	40.8±1.2 <sup>ab</sup>	85.8±1.3 <sup>c</sup>	50.7±0.2	25.9±1.2
Green	45.3±0.8 <sup>b</sup>	46.0±0.5 <sup>b</sup>	42.1±0.3 <sup>a</sup>	44.4±1.7 <sup>b</sup>	79.9±2.8 <sup>c</sup>		

The tested amount of the enzymatic hydrolysates, BHT and α-tocopherol were 2 mg/mL.

All values are the mean±SD of triplicate determinations. Values with different superscripts within the same row (a-c) are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

대할 수 없는 것으로 판단된다.

#### Nitric oxide 소거활성

호박분말의 효소 분해물의 농도가 2 mg/mL가 함유되도록 반응용액을 제조하여 분해물에 의한 nitric oxide의 소거활성을 측정할 결과는 Table 9에 나타내었다. 늙은호박, 단호박 및 애호박 분말의 효소분해물에 의한 nitric oxide 소거활성은 40% 전후로써 모든 효소 분해물들이 BHT보다는 낮고 α-tocopherol보다는 높은 활성을 보였다. 또한, 다른 효소의 처리군에서는 호박의 품종에 따른 큰 차이를 보이지 않았으나, 특히하게 단호박과 애호박의 Viscozyme 분해물은 80% 전후의 매우 높은 nitric oxide 소거활성을 나타내었다. 호박 품종별로 보면 늙은호박은 28.0±1.0~42.0±3.2% 범위로써 Celluclast, Termamyl 및 AMG 분해물에서 40% 이상의 활성을 보였으나, Ultraflo와 Viscozyme 분해물에서는 33% 미만의 활성을 보였다. 단호박은 38.8±2.0~85.8±1.3% 범위로써 Viscozyme 분해물에서 85% 이상의 매우 높은 활성을 보인 반면, 나머지 효소 분해물에서는 38.2~44.9% 범위의 활성을 보였다. 애호박은 42.1±0.3~79.9±2.8% 범위로써 Viscozyme 분해물에서 가장 높은 소거활성을 보였으며, 나머지 효소 분해물들은 42.1~46.0% 범위의 활성을 보였다. 이러한 결과는 늙은호박의 가식부위를 온수, 70% acetone 및 70% methanol로 분해한 경우 분해물의 농도가 증가함에 따라 nitric oxide의 소거작용이 높게 나타나서 온수 분해물에서 7.5~36.4%의 소거효과, 70% acetone 분해물에서 6.6~28.2%의 소거효과 및 70% methanol에서 14.6~56.7%의 소거효과를 나타낸다는 연구결과(32)와 비슷한 결과를 나타내었다. 특히하게 본 연구의 경우 늙은호박과 단호박 분말의 Viscozyme 분해물은 이들의 연구 결과보다 매우 높은 소거활성을 보였다. 이는 니트로사민 생성을 억제하는 것으로 알려져 있는 폴리페놀 화합물, 플라보노이드 화합물, 페놀산 등의 페놀성 화합물이라는 것이라는

보고(33,34)와 폴리페놀, 페놀산, 플라보노이드 등 페놀성 화합물의 전자공여능이 크고(35), 특히 식물의 플라보노이드가 항산화활성이 강한 편으로 free radical terminator 또는 금속속의 chelator로 작용한다는 보고(36,37)들에 비추어 볼 때 호박에 다량 함유되어 있는 페놀성 화합물에 의한 효과라고 할 수 있다. 이상의 결과로부터 단호박과 애호박의 Viscozyme 분해물에 의하여 nitrosamine 생성의 전구물질인 nitric oxide를 매우 효과적으로 소거할 수 있을 뿐만 아니라, 나머지 효소 분해물들에 의해서도 어느 정도 소거활성이 인정되므로, 호박의 효소 분해물에 의하여 발암물질 생성을 사전에 차단하는데도 일조할 것으로 기대된다.

#### 요 약

본 연구는 늙은호박, 단호박 및 애호박을 다양한 탄수화물 분해효소로 소화하여 조제한 효소가수분해물의 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성을 측정하였다. 조희분, 조단백질 및 조지방은 애호박이 높았으며, 탄수화물은 단호박이 높았고, 조지방은 서로 비슷하였다. 애호박 분말의 모든 효소처리군의 총 폴리페놀 함량은 늙은호박과 단호박의 가수분해물에 비하여 좀 더 높았다. 애호박 분말의 AMG와 Termamyl 소화로 조제한 효소가수분해물의 DPPH 유리기 소거활성 또한 늙은호박 및 단호박에 비하여 매우 높게 나타났다. 한편, Viscozyme 처리 가수분해물을 제외한 늙은호박과 단호박의 대부분 가수분해물은 애호박보다 더 높은 superoxide anion 소거활성을 나타내었다. 애호박 가수분해물(Ultraflo 예외)의 hydrogen peroxide 소거활성은 다른 호박의 효소 분해물보다 약간 높았으나, hydroxyl radical 소거활성은 모든 호박 품종에서 14% 미만으로 낮았다. Nitric oxide 소거활성은 단호박 및 애호박의 Viscozyme 분해물에서 매우 효과적이었으며, 다른 효소가수분해물의 경우에도 BHT보다는 낮았으

나  $\alpha$ -tocopherol보다 높은 활성을 나타내었다.

## 감사의 글

이 논문은 2009 산학연 공동기술개발 지원 사업으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

## 문헌

1. 동아출판사. 1983. 동아원색백과사전, 동아출판사, 서울. p 263-264.
2. Sharma BR, Saimbhi NS, Bawa AS, Shuki FC. 1979. Varietal variation in the chemical composition of summer squash. *Indian J Sci* 49: 30-34.
3. Burton GW, Ingold GW. 1984. An unusual type of lipid antioxidant. *Science* 224: 56-63.
4. 정동효. 1998. 식품의 생리활성. 선진문화사, 서울. p 94-95.
5. Rouseff RL, Kaihauri GN. 1983. Health and nutritional benefits of pumpkin varieties. *Kartofel'i Oveoschchi* 1: 37-44.
6. Krinsky NL, Deneke SM. 1982. Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids. *J Natl Cancer Inst* 69: 205-210.
7. Coditz GA, Branch LG. 1985. Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 41: 32-36.
8. Mathews-Roth MM. 1985. Carotenoids and cancer prevention-Experimental and epidemiological studies. *Pure Appl Chem* 57: 717-722.
9. Gerster H. 1991. Potential role of  $\beta$ -carotene in the preventions of cardiovascular disease. *Int J Vit Nutr Res* 16: 277-283.
10. Nishihito H. 1998. Cancer prevention by carotenoid. *Mutat Res* 402: 159-165.
11. Ann YG, Lee SK. 1995. A study of Sikhye. *Korean J Food Nutr* 8: 165-171.
12. Cho GS. 1997. Chemical compositions of the green and ripened pumpkin (*Cucurbita monschata* Duch). *Korean J Food Sci Technol* 29: 657-662.
13. Park YK, Cha HS, Park MW, Kang YH, Seog HM. 1977. Chemical components in different parts of pumpkin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 639-646.
14. Nam HK, Koh DH. 1994. Fatty acid composition of Korean pumpkins. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 7: 95-99.
15. Choi CB, Park YK, Kang YH, Park MW. 1998. Effects of pumpkin powder on chemically induced stomach and mammary cancers in Sprague-Dawley rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 973-979.
16. Heo SJ, Kim JH, Kim JK, Moon KD. 1998. Processing of purees from pumpkin and sweet-pumpkin. *Korean J Post-harvest Sci Technol* 5: 172-178.
17. Oh BY, Park BH. 1998. Changes in physicochemical components of pumpkin juice with ingredients (ginger, onion, jujube, boxthron) during storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1027-1033.
18. Park BH, Jim HA, Park YH, Oh BY. 1998. Changes in physicochemical components of stewed pumpkin juice heated and stored under different conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1-9.
19. Oh BY, Park BH. 1998. A study on some antioxidative effects of stewed pumpkin juice on lipid. *Korean J Human Ecol* 1: 89-99.
20. Park MJ, Jeon YS, Han JS. 2001. Antioxidative activity of mustard leaf Kimchi added green tea and pumpkin powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1053-1059.
21. AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 72.
22. Heo SD, Park DS, Go KM, Kim MK, Son WG, Lee DS, Shin TK. 2003. Antibacterial effect of *Opuntia ficus-indica* fermentation in cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Vet Publ Hlth* 27: 143-147.
23. AOAC. 1980. *Official methods of analysis*. 13th ed. Association of Official Analysis Chemists, Washington, DC, USA. Method 914-915.
24. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Barnes G. 1985. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol* 28: 25-30.
25. Nagai T, Inoue H, Suzuki N. 2002. Scavenging capacities of pollen extracts from *Cidtus iodaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radical, and DPPH radicals. *Nutr Res* 22: 519-526.
26. Muller HE. 1985. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganisms on an ABTS-peroxidase medium. *Zbl Bakt Hyg* 59: 151-155.
27. Chung MS, Kim KH. 1996. Stability of betanine extracted from *Opuntia ficus-indica* var. Sabolen. *Korean J Soc Food Sci* 12: 506-510.
28. Garrat DC. 1964. *The quantitative analysis of drugs*. Chapman and Hall Ltd., Tokyo, Japan. Vol 3, p 456-458.
29. Jang SM, Park NY, Lee JB, Ann H. 2001. The comparison of food constituent in different parts of pumpkin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1038-1040.
30. 김혜경, 최홍식. 1992. 식품 및 생체 carotenoid의 co-oxidation. *Life Sci* 2: 91-96.
31. Lim BG, Ryu BH. 2004. Screening of antioxidative compounds toward human low density lipoprotein (LDL) from useful plants. *Korean J Food Nutr* 17: 138-146.
32. Kang YH, Cha HS, Kim HM, Park YK. 1997. The nitrite scavenging and electron donating ability of pumpkin extracts. *Korean J Food Nutr* 10: 31-36.
33. Takashi Y, Yamamoto M, Tamura A. 1978. Studies on the formation of nitrosamines: The effects of some polyphenols on nitrosation of diethylamine. *J Food Hyg Soc* 19: 224-229.
34. Kuenzig W, Chau J, Norkus E, Conney AH. 1984. Caffeic and ferulic acid as blocks of nitrosamine formation. *Carcinogenesis* 5: 309-313.
35. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1994. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
36. Shahidi F, Wanasundra PD. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32: 67-103.
37. Shahidi F. 1992. *Phenolic compounds in food and their effects on health*. Ho CT, ed. American Chemical Society, Washington, DC, USA. Vol 1, p 130-142.

(2009년 9월 24일 접수; 2010년 1월 19일 채택)