

## 호박(*Cucurbita moschata* DUCH.)종실의 발아 성장 과정 중 성분 변화

이병진 · 장희순 · 이규희\* · 오만진\*\*

(주)해찬들, \*우송대학교 응용식품영양학부, \*\*충남대학교 식품공학과

### Changes in Chemical Compositions of Pumpkin(*Cucurbita moschata* DUCH.) Seed Sprouts

Byung-Jin Lee, Hee-Soon Jang, Gyu-Hee Lee\* and Man-Jin Oh\*\*

Haechandle Co.,Ltd, Nonsansi 320-830, Korea

\*Department of Food Science & Biotechnology, Woosong University, Daejeon 300-718, Korea

\*\*Department of Food Science & Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

#### Abstract

This study was performed for increasing the consumption and developing the function of pumpkin(*Cucurbita moschata* DUCH.) seed. The changes of the contents of general chemical compositions, fatty acids, amino acids, ascorbic acid and  $\beta$ -carotene during sprouting were analyzed. Also, the bitter taste, which was produced during sprouting, were purified by using thin layer chromatography and preparative high pressure liquid chromatography. The purified bitter compound was identified by mass spectrum and nuclear magnetic resonance( $^1\text{H}$  &  $^{13}\text{C}$ -NMR). Weight of pumpkin seed sprout was increased to 348.4% and the length of stem was dramatically increased at 8 days. In each head and stem parts of the pumpkin seed sprout, the contents of protein and lipid were decreased, however, the contents of fiber, ash and soluble inorganic nitrogen were increased. The fatty acids of the pumpkin seed sprout were mainly represented as linoleic acid, oleic acid, palmitic acid and stearic acid. During sprouting, palmitic acid was gradually increased, reversely, linoleic acid was gradually decreased. The general amino acids of head part in the pumpkin seed sprout grown at 23°C during 8 days were orderly more contained glycine, alanine, arginine, cysteine and proline. Those of free amino acids were orderly more contained arginine, threonine, alanine and glutamine. The contents of L-ascorbic acid and  $\beta$ -carotene of the pumpkin seed sprout were gradually increased with increasing sprouting days. The bitter taste material of head part of the pumpkin seed sprout was detected at Rf value 0.72 on silicagel TLC plate and separated as one peak by HPLC. The chemical structure of the purified bitter compound was identified as a cucurbitacin glycoside by MS and NMR. The content of bitter compound at 8 days was contained 42.2 mg per 1kg sprout head.

Key words : pumpkin seed, sprout, fatty acid, amino acid, cucurbitacin

## 서론

호박(*Cucurbita spp.*)은 박과에 속하는 일년생의 덩굴식물로써 동양계 호박(*C. moschata* Duch.), 서양계 호박(*C. maxima* Duch.) 및 페포 호박(*C. pepo* L.)등 3종류로 구분한다(1).

호박내부에는 호박 중량의 2-3%에 달하는 종실을 함유하고 있으며 종실에는 약 40%의 지방과 약 30%의 단백질 및 다량의  $\beta$ -carotene, phytosterol를 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 또한 지방질은 중성지방이 96%로 triglyceride 상태로 존재하며 linoleic acid 52-70%, palmitic acid 11-28%, oleic

acid 8-16%로 구성되어 있어서 영양적으로 매우 가치 있는 자원이라 할 수 있다(2-6). 호박종실 기름은 carotenoid, chlorophyll 및 pheophytin과 같은 색소를 다량 함유하고 있어 독특한 색을 나타내고 있으며(7), 단백질은 주로 염용성 단백질로서 arginine, tyrosine, tryptophan등의 함량이 높아 매우 우수한 단백질 자원이라 할 수 있다(8-9).

호박종실은 가정에서 종실 자체로서나 과자 소재로 이용되어 왔으나 민간에서는 전립선 비대(10)의 치료, 이노제, 구충제에 유효한 성분이 들어 있는 것으로 구전될 뿐 생리활성이 규명되거나 가공제품 개발을 하려는 시도는 없었다.

우리나라에서는 예로부터 콩, 녹두, 메밀 씨앗을 발아시켜 채소로서 이용하여 왔으므로 이에 대한 연구가 많이 수행되어 왔다(10-16). 본인 등은 호박종실을 발아시키면 채소로서 가치가 높을 것으로 생각되어 발아과정 중 성분변화를 측정 한바 영양은 매우 우수하나 발아과정 중에 고미 물질이 생

Corresponding author : Man-Jin Oh, Department of Food Science & Technology, Chungnam National University, Daejeon,305-764, Korea

E-mail : ohmj@cnu.ac.kr

성됨을 확인하게 되었다. 호박 과육 중에는 고미 물질인 cucurbitacin이 미량 존재하는 것으로 알려져 있으며 이는 tetracyclic triterpenes 그룹으로 15 종의 이성체가 존재하며 생호박, Zucchini에는 cucurbitacin E glycoside가 고미를 낸다고 보고하였다(17-18).

Cucurbitacin은 매우 쓴맛을 내며, 특이적인 세포과과성을 가지고 있어서 신장암, 뇌암세포 등에 대한 항암성(19)과 항균성(20)을 가지고 있으며, 작물의 흑사병이나 곤충으로부터의 피해를 제거하는 고 부가가치 물질로 사용되어지고 있으나(21) 이러한 고미성분은 식품소재로 이용하는 데에 있어 문제가 될 수 있다.

따라서 본 연구에서는 풍부한 지방과 단백질을 함유하고 있는 호박종실을 이용하여 영양이 우수한 호박씨 나물을 제조하기 위하여 호박종실을 발아시키면서 발아과정 중 영양성분 및 지방산, 아미노산, 비타민의 함량을 측정하여 채소로서의 가치를 평가하고 발아과정 중 생성되는 고미 물질을 확인하여 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 호박씨 나물의 재조 및 시료 조제

호박종실은 2000년 8월부터 10월에 걸쳐 충남 서산의 경산농원에서 재배한 완숙호박에서 채취하여 풍건한 후 보관하면서 물에 12시간 침지 후 23℃, 상대습도 90% 에서 5시간마다 5분간 물을 살포하면서 8일까지 재배하였다.

호박종실이 발아하기 시작한 지 4일, 6일, 8일 째 되는 시료를 채취하여 머리부분과 줄기부분으로 나누어 60℃에서 열풍건조한 후 분쇄하여 60mesh로 하였으며 분쇄한 시료는 갈색 screw cap병에 담아 저온저장하면서 사용하였고 신선시료는 채취 후 질소로 충전하여 5℃에서 냉장 보관하면서 실험재료로 사용하였다.

### 발아 중 중량 및 길이 변화

호박종실과 물에 12시간 침지한 후 5시간마다 물을 살포하여 발아시킨 호박씨나물 10개의 중량 변화와 줄기부분, 뿌리부분의 길이의 변화를 측정하였다.

### 일반화학적 성분 분석

일반화학적 성분은 AOAC법(22)에 준하여 수분은 105℃ 직접 건조법, 회분은 직접회화법, 조단백은 semimicro-Kjeldahl법, 조지방은 ethyl ether를 이용한 Soxhlet추출법, 조섬유는 산·알카리 분해법으로 각각 정량하였고 가용성 무질소물은 100에서 이상의 5가지 성분량을 뺀 값으로 나타내었다.

### 지방산 조성

시료 10~25g을 diethyl ether를 가하여 Soxhlet 추출법으로 약 10시간 정도 연속 추출하여 조지방을 얻은 다음 그 중 300mg을 취하여 Metcalfe 등(23)의 방법에 준하여 지방산을 분석하였다. 즉, 조지방에 0.5N methanolic NaOH 3ml를 넣은 후 90℃에서 10분간 가열하여 비누화하고 BF<sub>3</sub>-methanol 3.5 ml를 넣은 후 90℃에서 2분간 가열 후 n-heptane 2.5ml를 넣고 다시 90℃에서 1분간 더 가열하였다. 포화된 NaCl 용액 4ml를 넣은 후 heptane층만을 취하여 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 통과시켜 탈수한 후 GC에 주입하였다.

Gas chromatography(Young Lin 600D)는 FID detector가 장착되었으며, column은 DB-WAX를 사용하였다. Carrier gas는 N<sub>2</sub>(1ml/min), H<sub>2</sub>(30ml/min), Air(350ml/min)를 사용하였으며, column 온도는 140℃에서 3분간 머무른 후 분당 4℃ 상승시켜 220℃가 되게 한 후 20분간 머무르게 하였다. Injection port 온도는 220℃이었고, detector port 온도는 260℃이었다. 분리된 각 지방산 methyl ester의 peak 면적의 비율로 계산하여 각 지방산의 조성비를 구하였다.

### 아미노산 정량

분쇄한 건조 시료 41.58mg을 끓인 6N-HCl로 24시간동안 가수분해 한 후에 Pico-Tag 방법(Waters, Milford, USA)을 이용하여 분석하였다. Formic acid/hydrogen peroxide(19/1, v/v)혼합용액으로 시료에 들어있는 cysteine의 잔기를 cysteic acid로 산화시켰고<sup>(24)</sup> tryptophan 함량을 알기 위하여 시료를 4N methanesulfonic acid 20μl로 직접 분해시켰다. 가수분해된 시료는 건조한 후 Ethanol/DW/Triethylamine (2/2/1, v/v) 용액으로 다시 건조 시켰다. 가수분해된 시료와 유리아미노산 표준품은 Ethanol/DW/ Trimethylamine/Phenylisothiocyanate(7/1/1/1, v/v) 용액으로 15분 동안 유도화 한 후 유도화된 시료 1600 μl 중에서 100μl을 취하여 HPLC로 분석하였고 유리아미노산은 6N-HCl로 가수분해를 행하지 않고 구성아미노산과 같은 방법으로 행하였다. 본 아미노산 정량에 사용된 HPLC는 996 photodiode array detector, 510 pump, auto sampler가 장착된 Waters System이며 column은 Pico-Tag free amino acid 분석용 column(3.9×300mm)을 사용하였으며 254nm에서 분석하였다. 이동상은 A는 140mM sodium acetate(6% acetonitrile)와 B는 60% acetonitrile을 사용하여 B 이동상을 0, 14, 20, 46, 100%로 증가시켰으며, 유속은 1ml/min으로 설정하였다.

### Ascorbic acid 정량

Bassy와 King의 Iodine법(25)을 이용하여 생체시료의 ascorbic acid의 함량을 조사하였다.

### β-carotene 정량

김 등(26)의 방법을 응용하여 HPLC(Beckman 128 system)를 사용하여 분석하였다. 즉, 시료 10g을 취하여 pyrogallol을 넣고 chloroform으로 추출하였다. 추출액은 감압 하에 여과한 후 vacuum evaporator로 감압 농축 하였다. 추출물은 petroleum ether와 증류수를 이용하여 분별 깔대기에서 분획한 후 petroleum ether층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에 통과시켜 수분을 모두 제거한 다음 vacuum evaporator로 감압 농축하였으며, 농축물에 15% KOH methanol 용액을 20ml 주입하고 상온에서 검화시켰다. 분별 깔대기에서 petroleum ether를 용매로 carotenoids 추출 작업을 반복하였고, 검화시 사용한 alkali 물질은 증류수로 반복 세척하여 제거하였으며 petroleum ether층은 감압 건조하여 2ml의 chloroform에 용해한 후 다시 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에 통과시켜 수분을 제거한 다음 0.45 $\mu$ m membrane filter로 여과한 후 HPLC에 주입하였다.

### 고미성분의 정량 및 구조 동정

건조한 호박씨나물의 머리부분 500g을 chloroform용액 10배량을 가하여 24시간 환류 추출 후 다시 용매를 가하여 3회 반복 추출하였다. 추출물은 여과한 후 50 $^{\circ}$ C에서 vacuum evaporator로 감압 농축하여 용매를 완전히 제거하였다. 남은 추출물에 n-hexane 400ml와 물 400ml를 넣어 1시간 동안 funnel shaker로 shaking 한 후 10시간 정치 후 다시 3회 반복하여 색소와 지질을 완전히 분리하였다. 물층은 감압 농축한 후 동결 건조하여 물을 완전히 제거하였으며 methanol 20ml를 가한 후 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 다시 탈수하였다. 탈수된 시료는 silica-gel TLC plate (100 $\times$ 200 $\times$ 0.5mm, Merck)상에 점적한 후 chloroform/methanol(9/1, v/v)로 전개하였으며, UV 254nm에서 관찰하였다. TLC에서 고미가 확인된 band만을 모아서 methanol에 용해한 후 30분간 교반 한 후 원심분리(8,000rpm, 15min)를 행하여 silica-gel를 제거한 후에 감압농축 및 동결건조 하였다. 건조물은 10ml methanol에 용해하고 0.2 $\mu$ m membrane filter로 여과한 후 그 중 10 $\mu$ l를 취하여 HPLC에 주입하였다. HPLC(Beckman 128 system)는 UV 234nm에서 측정하였고, column은 C18(250 $\times$ 4.60mm)이었다. 이동상은 methanol/D.W(70/30, v/v)이었으며, 유속은 0.8ml/min으로 하였다. 단일물질임을 확인한 후 Prep-HPLC를 이용하여 고미성분을 최종 순수 분리하였으며, 그 중 1mg을 methanol에 녹인 후 tandem mass spectrometer(JMS-HX110/110A)에 주입하여 분석하였다. 고미성분은 동결 건조하여 수분을 제거한 후 60 $^{\circ}$ C에서 다시 건조시킨 후 CDCl<sub>3</sub>(<sup>13</sup>C-NMR)와 D<sub>2</sub>O(<sup>1</sup>H-NMR)에 용해한 다음 여과하면서 NMR용 tube에 넣고 DRX-300 (300MHz)을 이용하여 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR spectrum을 분석하였다.

### 결과 및 고찰

#### 호박씨나물의 중량 및 길이

발아하는 호박씨나물 10개의 중량 변화 및 줄기부분과 뿌리부분의 길이의 변화는 Table 1과 같았다. 호박씨나물의 중량은 8일 동안 3.1g에서 13.9g으로 348.4%의 증가율을 보였으며 뿌리와 줄기의 길이는 8일째에 각각 15.5cm, 12.5cm 이었다. 6일째에는 뿌리와 줄기 모두 각각 최고 증가율인 357%와 366%를 나타냈으며 6일에서 8일까지는 약간 완만한 증가를 보였다. 조(10)는 콩나물 제조에 있어 생체중량은 발아 6일째에 5.9배 증가하였고 콩나물의 길이는 13-27배 증가하여 본 실험의 결과와 비교하여 볼 때 호박종실은 생체 중량 증가 속도가 매우 빨랐다.

Table 1. Changes of outward shape of sprout during the growth of pumpkin seed

Outward shape	Sprouting periods(day)			
	0*	4	6	8
Root length(cm)	0	3.5	12.5	15.5
Stem length(cm)	0	1.5	5.5	12.5
Weight(g)	3.1 $\pm$ 0.12	4.6 $\pm$ 0.08	8.4 $\pm$ 0.17	13.9 $\pm$ 0.13
Weight increase rate(%)	0.0	48.4	170.9	348.4

\* seed

Table 2. Proximate chemical composition of pumpkin seed sprouts (unit :%)

Composition	Seed	Head			Stem		
		4day	6day	8day	4day	6day	8day
Moisture	5.79	65.07 (4.13)*	76.82 (5.53)	78.30 (6.11)	93.13 (6.71)	94.77 (8.01)	94.87 (9.47)
Crude Protein	21.84	5.95 (16.34)	2.70 (11.02)	1.32 (5.72)	0.04 (0.57)	N.D** (0.01)	N.D (N.D)
Crude Fat	50.54	12.66 (34.76)	6.96 (28.36)	5.63 (24.38)	0.29 (3.89)	0.11 (1.89)	0.09 (1.65)
Crude Fiber	2.13	1.29 (3.54)	1.97 (8.01)	2.03 (8.78)	0.63 (8.56)	0.54 (9.48)	0.53 (9.32)
Ash	5.93	2.51 (6.86)	1.91 (7.80)	1.86 (8.04)	0.47 (6.44)	0.38 (6.65)	0.39 (6.84)
Nitrogen free extract	13.77	12.52 (34.37)	9.64 (39.28)	10.86 (46.97)	5.44 (73.83)	4.20 (73.96)	4.12 (72.72)

\* Dry basis

\*\* Not detected

#### 일반화학적 성분 조성

생체시료와 건조시료 모두의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2와 같았다. 수분함량은 머리부분의 경우 4일, 6일, 8일째에 각각 65.1%, 76.8%, 78.3% 이었고 줄기부분은 각각 93.1%, 95.8%, 94.9% 이었다. 호박씨의 단백질, 지질, 섬유소, 회분, 가용성 무질소물은 각각 21.8%, 50.5%, 2.1%, 5.9%,

13.8% 이었으나 발아하면서 단백질과 지질의 함량은 감소하였고 섬유소, 회분, 가용성 무질소물의 함량은 증가하였다. 또한 줄기부분의 단백질과 지질은 감소하는데 반해, 섬유소, 회분, 가용성 무질소물은 증가하였다. 호박종실은 발아, 생장하는 과정에서 체내대사가 이루어짐으로서 영양성분이 변화되었으며 그 중 지질과 단백질은 에너지원으로 상당히 소모되었을 것이라 생각된다.

박 등(12)은 콩나물 재배 과정 중 단백질, 지방 및 가용성 무질소물은 감소하고 섬유소는 증가하였다고 보고한 바 본 실험 결과와는 약간의 차이가 인정되었다.

### 지방산의 조성

호박종실을 발아시켜 얻어진 호박씨나물의 지방산 조성을 조사한 결과는 Table 3과 같았다. 호박종실은 linoleic acid 47.0%, oleic acid 21.7%, palmitic acid 20.4%로서 linoleic acid가 가장 높았다. 호박종실은 발아하면서 머리부분의 palmitic acid는 발아 초기에 감소하였다가 점점 증가하였고 stearic acid와 oleic acid는 발아 초기에 증가하다가 8일째에는 감소하였다. Linoleic acid는 발아 과정 중 계속 감소하였으며 기타 지방산은 점점 증가하는 경향을 나타내었다. 발아 중 호박씨나물의 줄기부분은 palmitic acid, octanoic acid, lauric acid, myristic acid는 계속 증가하였으며 stearic acid는 발아 초기에 증가했으나 점점 감소하였고 oleic acid와 linoleic acid는 점점 감소하였다. 줄기부분에서는 pentadecanoic acid가 발아초기에 생성되었으나 점차 감소하였다.

콩나물의 지방산 조성(16)은 linoleic acid 54.6%, oleic acid 16.5%, palmitic acid 12.1%, linolenic acid 11.5% 이었으며 호박씨 나물에서는 linolenic acid가 검출되지 않았으며 종자에 따른 지방산 조성의 차이에 기인된 것이라 생각되었다.

Table 3. Contents of fatty acids in pumpkin seed sprouts

Fatty acid	Seed	Head			Stem		
		4day	6day	8day	4day	6day	8day
Octanoic(8:0)	0.58	1.49	1.61	1.32	2.12	2.77	3.99
Lauric(12:0)	3.34	4.57	4.71	5.78	6.02	9.01	10.51
Myristic(14:0)	1.03	2.72	2.53	7.43	1.93	1.82	3.39
Pentadecanoic(15:0)	N.D*	N.D	N.D	0.53	2.14	1.81	1.31
Palmitic(16:0)	20.38	14.29	14.94	14.98	32.71	41.01	42.36
Stearic(18:0)	5.95	8.29	9.02	8.43	6.36	3.61	3.13
Oleic(18:1)	21.71	34.43	34.71	31.32	11.83	10.98	8.22
Linoleic(18:2)	47.01	34.21	32.48	30.21	36.89	28.99	27.09

\* Not detected

### 구성 아미노산의 함량

Table 4에서 보는 바와 같이 호박종실의 구성아미노산은 glycine, proline, arginine, aspartic acid 순으로 다량 함유되어

있었으며, 8일째 머리부분은 glycine, alanine, arginine, cysteine, proline 등이 다량 함유되어 있었다. 호박종실은 발아하면서 머리부분의 구성아미노산 중 methionine의 함량만 점점 줄어드는 반면 대부분의 아미노산 함량은 많아지는 경향을 보였다. Glycine의 함량은 줄어들었다가 많아지는 경향을 보였으며 proline의 함량은 발아초기에 함량이 매우 줄었다가 다시 크게 증가하는 경향을 보였다.

줄기부분은 cysteine, aspartic acid, histidine, arginine, cystine, threonine의 함량은 줄어드는 경향을 보였으며 alanine, isoleucine 등의 함량은 크게 증가하였다. Glutamic acid의 함량은 발아 초기에 크게 증가하였다가 점점 감소하였으며 serine, glycine, tyrosine, valine, isoleucine, phenylalanine 등은 4일째에는 감소하였다가 점점 증가하는 경향을 보였다. 호박씨나물에는 함황아미노산인 cysteine은 비교적 많이 함유되어 있으나 방향족 아미노산인 tyrosine, phenylalanine의 함량은 비교적 적었다.

숙주나물 단백질의 구성 아미노산(16)은 aspartic acid, arginine, valine, glutamic acid 순으로 함량이 많았으며 콩나물은 aspartic acid, glutamic acid, arginine, leucine 순으로 많아서 원료에 따른 차이가 인정되었다.

### 유리 아미노산의 함량

유리아미노산 함량은 Table 5에서와 같이 호박종실에는 glutamic acid, glycine, threonine, aspartic acid의 함량이 높았으며 발아 8일째 머리부분에는 arginine, threonine, alanine, glutamine의 순이었다. 호박종실은 발아하면서, 머리부분은 tryptophan의 함량이 줄어드는 경향을 보인 반면 대부분의 유리아미노산 함량은 증가하는 경향을 보였다. 줄기부분은 대부분의 유리아미노산의 함량이 증가하였으며 구성아미노산의 조성과는 달리 glutamine의 함량이 높았다. 줄기부분의 유리아미노산의 조성을 살펴보면 4일째에는 glutamine, alanine, threonine, cysteine의 순이었으며, 8일째에는 glutamine, alanine, cysteine, serine의 순으로 나타났으며 유리 아미노산 함량이 있어 숙주나물 보다는 높았고 콩나물보다는 낮았다.

### 비타민의 함량

호박씨 나물의 ascorbic acid와  $\beta$ -carotene의 함량은 Table 6과 같았다. 호박씨에는 ascorbic acid가 거의 없었으나 호박씨나물은 머리부분과 줄기부분 모두 6일째에 각각 34.9mg%, 11.9mg%로 가장 많은 함유량을 보였으며, 8일째에는 각각 27.0mg%, 10.6mg%로 감소하였다. 호박씨의  $\beta$ -carotene함량은 34.0 $\mu$ g/100g이었으며, 호박씨나물의 머리부분은 발아기간이 길수록  $\beta$ -carotene함량이 급격히 증가하였으며 줄기부분은 약간 증가하였다.

각종 나물의 vitamin C의 함량을 보면(16) 콩나물 13mg%, 고추씨 나물 8mg%, 메밀 순 6mg%, 숙주나물 10mg% 으로

서 호박씨 나물보다 낮았으며 β-caotene은 숙주나물이 24μg, 메밀 순 326μg, 콩나물에서는 불검출 되었으며 호박씨 나물에서는 비교적 높은 편이었다.

호박씨 나물의 영양성분을 다른 나물과 비교하여 볼 때 우수한 채소자원이라 할 수 있겠으나 발아과정 중 고미 물질이 생성되어 식용할 경우 다소 문제점이라 할 수 있겠다.

**Table 4. Composition of general amino acids in pumpkin seed sprouts** (unit :μmol)

Amino acid	Seed	Head			Stem		
		4day	6day	8day	4day	6day	8day
Cystein	583.8	2033.7	2630.1	3857.6	8682.1	3531.6	3234.1
Aspartic acid	1389.7	2437.3	2836.2	3584.7	1729.9	1163.4	1162.7
Glutamic acid	955.5	1351.7	2058.8	2295.3	1917.2	1517.6	1769.1
Serine	727.4	1026.8	1099.6	1323.4	677.2	786.2	828.4
Glycine	4320.1	4354.5	4204.1	4626.0	1146.4	2178.9	2159.8
Histidine	197.6	378.9	509.7	769.1	321.8	319.8	289.0
Arginine	1631.1	2689.1	3432.4	3926.6	687.6	538.2	590.8
Threonine	675.8	1249.4	1448.0	2453.8	969.6	1047.3	800.8
Alanine	1237.8	2216.2	2788.7	4215.1	825.0	1846.7	2136.3
Proline	2002.9	831.2	3450.3	3786.5	1436.6	1367.1	1124.0
Tyrosine	332.1	454.9	623.8	832.9	145.3	224.4	235.8
Valine	631.8	918.2	1169.4	1543.8	477.1	799.8	1065.6
Methionine	748.3	1085.6	1072.4	800.8	156.9	191.0	177.1
Cystine	47.1	59.9	67.9	92.6	67.7	43.6	29.7
Isoleucine	447.7	624.9	833.5	975.6	220.3	432.1	527.4
Leucine	659.3	920.8	1324.6	1481.8	207.8	448.2	523.5
Phenylalanine	369.2	458.3	649.2	672.4	54.1	163.2	207.1
Tryptophane	30.2	37.6	38.6	53.2	9.8	21.5	15.6
Lysine	186.7	308.8	447.9	326.1	3.7	35.8	28.5

**Table 5. Composition of free amino acids in pumpkin seed sprouts** (unit :μmol)

Amino acid	Seed	Head			Stem		
		4day	6day	8day	4day	6day	8day
Cystein	441.2	82.5	76.6	1852.8	3408.3	3656.9	4339.3
Aspartic acid	3258.4	230.4	461.1	2785.5	1966.7	2116.6	2208.9
Glutamic acid	9453.4	1038.6	1011.4	5465.1	2703.2	2419.1	1342.0
Asparagine	401.7	580.8	935.1	3190.1	1145.4	1502.1	1907.2
Serine	1637.5	569.5	825.3	3604.0	2944.0	3522.4	4092.0
Glutamine	504.6	2677.0	3628.9	7290.5	9498.9	10334.1	9375.3
Glycine	4475.9	733.4	745.1	3222.5	2617.3	4534.9	3694.6
Histidine	1499.1	448.6	780.9	2397.3	713.8	934.6	987.7
Arginine	3255.8	2604.3	5668.9	13576.9	1310.9	1389.2	1673.0
Threonine	3859.2	1085.8	2131.8	10591.2	3575.0	4650.9	2948.6
Alanine	1040.4	1391.4	1800.7	9105.9	6950.1	6978.9	5785.5
Proline	624.9	957.7	1656.5	4335.8	1008.3	1686.9	1205.7
Tyrosine	493.8	465.7	1189.8	4308.4	585.6	811.7	1217.5
Valine	649.9	673.5	1135.3	4148.0	1247.5	2142.8	2616.5
Methionine	228.1	206.8	368.3	1212.3	382.9	317.2	553.0
Cystine	128.7	12.4	12.6	114.9	53.6	40.7	63.3
Isoleucine	286.0	410.9	726.1	2477.3	822.7	1366.4	1489.5
Leucine	312.1	770.7	1547.9	4972.5	946.2	1513.3	1741.6
Phenylalanine	1167.3	423.8	873.6	2877.9	349.4	682.2	1147.3
Tryptophane	932.5	529.9	898.5	109.8	1020.8	949.1	626.9
Lysine	94.0	91.6	188.5	426.5	74.2	94.3	64.8

**Table 6. Changes in L-ascorbic acid and β-carotene contents of pumpkin seed sprouts**

Pumpkin seed sprout	Sprouting Period(day)	L-ascorbic acid (mg/100g)	β-carotene (μg/100g)
Seed	0	1.93	34.02
Head	4	29.70	57.23
	6	34.94	94.41
	8	27.01	105.09
Stem	4	8.49	2.38
	6	11.88	1.61
	8	10.61	1.73

고미성분의 분리 동정 및 함량

호박씨나물 중의 고미성분은 주로 머리부분에 존재하였으며 chloroform, hexane의 순차 분획물의 TLC한 결과, 흡광도 256nm에서 8개의 band를 확인할 수 있었으며 각 band를 추출하여 맛을 확인 한 결과 R<sub>f</sub> 0.72에서 고미를 느낄 수 있었다. 이 부분을 methanol에 용해한 후 HPLC로 분석한 결과 흡광도 232nm에서 UV-Visible spectrum의 absorbance가 가장 높았으며 retention time 13.77분에서 고미성분의 peak가 검출되었다. 순수 분리된 고미 물질은 Tandem Mass Spectrometer로 분자량을 알아본 결과 m/z 678, 499, 282, 154에서 peak를 보였다. 또한 Fig. 1에서 보는 바와 같이, <sup>1</sup>H-NMR spectrum은 다수의 oxygenated-methine 또는 oxygenated-methylene signal(4.46 ~ 4.37ppm)이 관측되어 한 분자의 당이 존재함을 추측할 수 있었으며 1.58 ~ 0.99 ppm에서 관찰된 여러 개의 methyl signal과 7.05 ~ 5.79 ppm 사이에서 관찰된 olefine signal의 존재로부터 tetracyclic triterpenes구조임을 추측할 수 있었다. 또한 2.68 ~ 2.36 ppm 사이에서 다수의 ketone기가 도입됨을 알 수 있었다. 그리고 Fig. 2에서 보는 바와 같이, <sup>13</sup>C-NMR spectrum은 2개의 olefine signal(145.57, 125.62 ppm)로부터 한 쌍의 이중결합이 있는 것이 관찰되었고 여러 개의

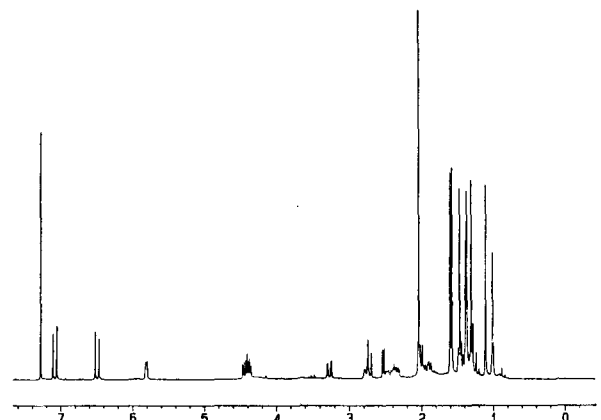


Fig. 1. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of bitter component

의 oxygenated-methine나 oxigenated- methylene signal (84.4 ~ 63.4ppm)이 관찰되었다. 그 결과 호박씨나물의 머리부분의 고미성분은 cucurbitacin 배당체로 판명되었다.

호박씨와 4일, 6일 8일째의 머리부분에 함유되어 있는 고미성분의 함량은 Table 7과 같다. 호박씨는 고미성분이 검출되지 않았으나 발아 초기인 4일에는 약간의 고미성분이 생겨났으며 6일째에는 상당량의 고미성분이 생성되었다. Cucurbitacin은 항암성, 항균성을 가지고 있는 것으로 알려져 있어 호박씨를 발아하여 유용성이 높은 생리활성 물질의 생산이 가능할 것으로 기대되어 더욱 깊은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

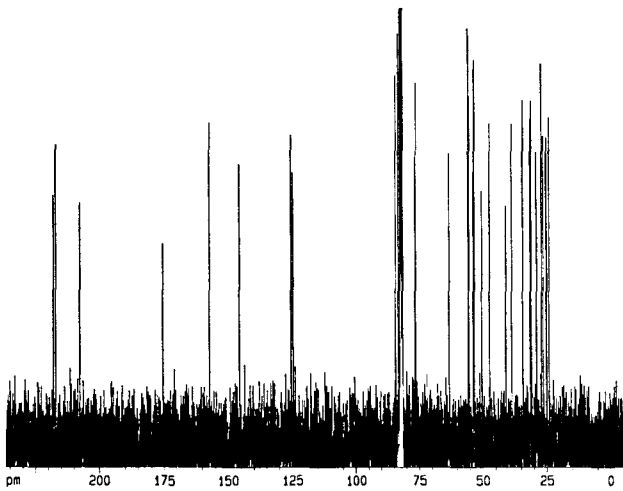


Fig. 2.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of bitter component

Table 7. Changes in bitter component of pumpkin seed sprout

Sprouting period(day)	0	4	6	8
bitter component(mg/kg)	0	9.2	39.4	42.2

## 요 약

호박씨는 단백질과 지방의 함량이 높고 영양가치가 높아 식품가공 재료로서 널리 이용될 수 있으나 그 동안 과자, 스낵 제품 등의 단순가공 소재로서 이용되어 왔다. 그러므로 호박씨의 소비를 증진시키고 새로운 기능성 식품을 개발하기 위하여 호박씨를 발아 성장시키면서 각 부위의 일반영양성분, 지방산, 아미노산, L-ascorbic acid,  $\beta$ -carotene의 함량 변화를 측정하여 영양학적 가치를 평가하였으며, 발아 성장과정 중 생성되는 고미성분의 구조를 동정하기 위하여 각종 용매 순차 분획, thin layer chromatography, HPLC의 분리 과정을 거쳐서 정제한 고미물질을 mass spectrum,  $^1\text{H}$ -NMR

spectrum,  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum을 이용하여 동정하였다. 호박씨나물의 중량은 발아 8일에 348.4% 증가하였으며 뿌리와 줄기의 길이는 8일째까지 급격히 증가하였다. 일반영양성분은 머리부분과 줄기부분 모두 단백질과 지질의 함량은 감소하였고 섬유소, 회분, 가용성 무질소물의 함량은 증가하였으며, linoleic acid, oleic acid, palmitic acid, stearic acid가 주요 지방산으로 나타났고, palmitic acid는 증가하는 반면 linoleic acid는 점점 감소하는 경향을 보였다. 호박씨나물의 머리부분의 구성아미노산 glycine, alanine, arginine, cystein, proline의 순으로 많았으며, 유리아미노산은 arginine, threonine, alanine, glutamine의 순으로 많았다. L-ascorbic acid와  $\beta$ -carotene은 발아 성장하면서 점점 증가하는 경향을 보였으며, 머리부분에 생성되는 고미성분은 cucurbitacin glycoside로 판명되었으며, 호박씨에서는 고미성분이 검출되지 않았으나 발아 8일째 머리부분의 고미성분은 42.2mg/kg이 함유되어 있다.

## 참고문헌

1. 동아출판사 (1983) 동아원색백과사전. 동아출판사, 263
2. 김준평, 이영자, 남궁석 (1978) 호박씨의 지방산 및 단백질의 조성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 10, 83-87
3. 권영주, 이태규 (1985) 호박씨의 지방성분에 관한 연구, 전북대학교 농대논문집, 16, 107-114
4. Y.M.H. Younis, Seniat Ghirmay, S.S. Al-Ahihry (2000) African *Cucurbita pepo* L. properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil, Phytochemistry. 54, 71-75
5. 윤형식, 최청, 오만진 (1983) 호박 및 참외 종실의 화학적 조성, 한국농화학회지, 23, 163-167
6. A.Mendl, Gregor Reich, Wolfgang Lindner (1999) Detection of adulteration of pumpkin seed oil by analysis of content and composition of specific 7-phytosterol, Eur. Food Res. Technol. 209, 404-406
7. G.Appendino, J.Jakupovic, E.Belloro, A.Marchisini (2000) Triterpenoid *p*-amino benzoates from the seeds of zucchini, *Fitoterapia*, 71, 258-2637
8. Vogal, P. (1978) Studies on pumpkin seed oil, *Fette Seifen Anstrichem.*, 80, 315-319
9. Joshi, S.S., R.K. Shrivastva, S.S. Nignam (1977) Calorie and amino acid composition of *Cucurbita pepo* and *Cucumis melo* seeds, *J. Indian Chem. Soc.*, 54, 747-710
10. 조백현 (1932) 두아 제조 중에 일어나는 제성분의 변화에 관하여, 수원고등농림학교, 창립 25주년 기념논문집
11. 박일현, 김찬조 (1956) 두채이에 관한 식품화학적 연구, *과연회보* 1, 32-38

12. 신호선 (1974) 대두발아중 지질 대사에 관한 연구, 한국농화학회지, 17, 240-246
13. 정재기, 정태영, 나상무 (1976) 콩나물의 sterol 성분에 관한 연구, 한국영양학회지, 9, 26-31
14. 이춘녕, 조인호, 김인수 (1972) 녹두 발아 중에 생성되는 indole 화합물에 대하여, 한국농화학회지, 15, 1-7
15. 양차범 (1981) 콩나물 제조 중 질소 화합물의 변화와 그 영양학적 연구, 한국농화학회, 23, 7-13
16. 농촌생활연구소 (1996) 식품성분표, 100,110,112,126,454, 458,546
17. Terrence, F.H., Mark E.H. (1985) The determination of bitter 20 principles in zucchinis. J. Sci. Food Agric., 36, 1107-1112
18. D. Lavie, E. Glotter. (1971) The cucurbitacins, a group of tetracyclic tri-terpenes, Fortschr, Chem. Org. Naturst., 29, 307-356
19. J.H. Cardellina II, K.R. Gustafson, J.A. Beutler, C. Mc-Kee, Y.F. Hallock, R.W. Fuller, M.R. Boyd, in A.D. Kinghorn, M.F. Balandrin(Eds.) (1990) Human Medicinal Agents from Plants, American chemical Society, Washington, DC, 218-227
20. N. Bar-Nun, A.M. Mayer (1989) Cucurbitacins-repressor of induction of laccase formation, Phytochemistry, 28, 1369-1371
21. M.Miro (1995) Cucurbitacin and their pharmacological effects, Phytother. Res. 9, 159-168
22. A.O.A.C. (1985) Official Methods of Analysis 11th, Association of Official Analytical Chemist., Washington D.C. U.S.A.
23. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A., Pelka, J.R. (1966) The rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis, Anal. Chem., 38, 514-518
24. Tarr, G.E. (1986) Methods of protein microcharacterization (Humana Press Clifton, NJ). J. E. Shively, ed., 155-194
25. Brubacher, G., Muller-Mulot, W., Southgate, D.A.T. (1985) Methods for the determination of vitamins in food. El-sevier Applied Sci. Publishers, 23-32
26. 김영남, 김나경 (1992) HPLC 를 이용한 고추 및 고추 가공품의 비타민 A 함량 측정. 한국영양학회지, 25, 389-396

---

(접수 2003년 9월 21일, 채택 2003년 11월 21일)