

Research Note

호박 과피로부터 추출한 펙틴의 물리화학적 특성

이영미 · 김승기 · 박지원 · 어중혁*
중앙대학교 식품공학과

Physicochemical Properties of Pectins Extracted from Pumpkin Peel

Young-Me Lee, Seung-Ki Kim, Jiwon Park, and Joong-Hyuck Auh*

Department of Food Science & Technology, Chung-Ang University

Abstract

Pectins were isolated from pumpkin peel with hot-acid extraction method and the physicochemical properties were determined including molecular weight distribution, galacturonic acid content, degree of methylation & acetylation and bile acid binding capacity *in vitro*. Pumpkin peel contained higher dietary fiber (16%) compared to the pumpkin flesh. Pectins prepared from pumpkin peel had 53% of galacturonic acid, whereas showed relatively higher degree of methylation (86.5%) with some degree of acetylation as well, which was distinct from commercial citrus peel pectin. In addition, bile acid binding capacity of pumpkin peel pectins was investigated *in vitro* and around 9% of taurocholic acid was bound in a model system, which indicated the possible health promoting effect of pumpkin dietary fiber.

Key words: physicochemical properties, pectin, pumpkin peel

서 론

호박(*Curcubita* sp.)은 박과에 속하는 일년생의 덩굴식물로 크게 동양계 호박(*C. moschata* Duch.)과 서양계 호박(*C. maxima* Duch.) 및 페루계 호박(*C. pepo* L.)으로 나누어지며, 특히 늙은 호박은 한국인들에게 친숙한 대표적인 식량자원으로 전통적으로 위장이 약한 사람, 회복기 환자, 산후부종 제거 등을 위한 건강식으로 이용되어왔다(Park et al., 1997). 또한, 늙은 호박은 항암효과가 있는 β -carotene의 함량이 높고, Ca, Na, P 등 무기질 및 섬유질을 다량함유하고 있어 기능성 소재로서 많은 관심을 받고 있다(Lee et al., 2010). 일반적으로 호박은 과육부위가 84%, 과피 부위 10%, 내부섬유상 물질이 3.5%이며 다양한 부위가 식품 소재로 이용되고 있고, 특히 수용성 식이섬유소인 펙틴이 다량 함유되어 있다(Park et al., 1997). 펙틴은 식물의 중엽층에 존재하는 복합 다당류로 주로 α -D-galacturonic acid가 α -1,4 결합을 통해 연결되어 있으며, 이밖에 arabinose, rhamnose, fucose 등 당류들이 polygalacturonic acid에 가

지처럼 연결된 구조를 가지고 있다. 펙틴을 이루고 있는 galacturonic acid의 일부 carboxyl기는 메탄올과 에스테르를 형성하며, 에스테르화 정도(degree of esterification, DE)로 표기한다(Joslyn, 1970). 특히 DE는 펙틴의 대표적 기능특성인 용해도, 겔형성 및 유변 특성에 큰 영향을 미치는 요인이며(Towle et al., 1973), 일반적으로 DE가 50% 이상이면 고메톡실 펙틴(high methoxyl pectin: HMP), 50% 이하면 저메톡실 펙틴(low methoxyl pectin: LMP)로서 분류된다(BeMiller, 2007). 펙틴은 실제 식품산업에서 유제품 제조 및 제과 산업에서 다양하게 사용되고 있으며, 최근에는 건강기능식품, 의약품 및 화장품 산업에서도 새로운 응용 분야가 소개되고 있다(Rolin, 2002).

호박에 관련된 생리활성 및 기능성에 대한 국내연구로는 효소제처리에 따른 호박추출특성(Yoon et al., 2003), 추출 조건에 따른 호박추출물의 생리활성(Lee et al., 2010), 늙은 호박 추출물의 아질산염 소거 및 전자공여 작용(Kang et al., 1997), 단 호박과 늙은 호박의 영양성분 및 항산화(Kim et al., 2005) 등이 있고, 국외 연구로는 호박의 다양한 carotenoid 성분 연구(Murkovic et al., 2002), 호박씨유로부터 추출한 폴리페놀 성분에 대한 연구(Andjelkovic et al., 2010), 호박과 호박씨의 단백질 조성에 관한 연구(Castro et al., 2006) 등이 있다. 그러나 대부분의 호박 관련 연구는 호박의 주요 가식 부위인 과육에 집중되어 있어, 식이섬유 함량이 상대적으로 높은 과피 부위에 대한 연구는

*Corresponding author: Joong-Hyuck Auh, Department of Food Science & Technology, Chung-Ang University, Anseong, 456-756, Korea
Tel: +82-31-670-3079; Fax: +82-31-675-4853

E-mail: jhauh@cau.ac.kr

Received October 8, 2012; revised October 11, 2012; accepted October 12, 2012

매우 부족한 상태이다. 특히 요즈음 서구화된 식습관과 고열량의 가공 식품 섭취는 고혈압, 고지혈증, 고콜레스테롤 등 성인병 증가의 원인이 되고 있고, 이의 방지를 위한 식생활 개선에서 식이섬유의 중요성이 증대되고 있어 호박 과피에 함유된 식이섬유의 특성 규명은 새로운 식품 소재의 개발에 매우 유용할 것으로 기대된다. 늙은 호박의 생산량은 연가 약 34 만 톤으로 전년대비 6% 가량 꾸준히 증가하고 있는 추세이나(MIFFAF, 2010), 부산물로 나오는 호박 과피 부위는 활용이 되지 않고 폐기되어지고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 이러한 폐기 자원을 활용하기 위해 호박 과피에 함유되어 있는 유용 식이 섬유소인 펙틴을 추출하고 이들의 이화학적 특성을 규명하여 새로운 기능성 소재 개발의 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용된 늙은 호박 과피는 2010년 8월 전남 해남에서 생산된 것을 시중에서 구입 후 동결건조하여 사용하였다. 실험의 대조군은 상업용으로 널리 사용되고 있는 citrus peel pectin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 구입하여 사용하였다.

식이섬유 함량 측정

식이섬유 함량은 TDF kit(K-TDFR, Megazyme International Ireland, Wicklow, Ireland)를 이용한 AOAC법을 변형하여 측정하였다. 시료(1 g)을 50 mM MES/Tris buffer(40 mL, pH 8.2)에 분산시키고, 내열성 α -amylase 용액 50 μ L를 가하고 100°C 항온수조에서 150 rpm으로 40분간 교반 후 5분간 상온에서 방냉하였다. 이후 protease 용액 100 μ L를 가하고, 60°C 항온수조에서 30분간 반응시켰다. pH를 4.6으로 조절 후, amyloglucosidase 용액(100 μ L)을 가하고 60°C 항온수조에서 30분간 추가 반응 후, 4 배의 95% ethanol을 가하여 반응을 중지시켰다. 규조토와 유리 여과기를 이용하여 침전물을 분리하고, 105°C에서 overnight 건조 후 증량을 측정하여 식이섬유의 함량을 결정하였다.

호박 과피로부터 펙틴의 추출

동결 건조한 호박 과피 시료 5 g에 0.1 N HCl 용액 125 mL을 가하여 균질화시킨 후 65°C 항온수조에서 2 시간 동안 추출하였다. 추출된 용액을 4000 rpm에서 10분간 원심분리하고, 상등액을 취하여 증류수 30 mL을 가하고 다시 4000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 그 후 상등액에 3 배의 95% isopropanol을 가하고 30 분 동안 상온에서 방치한 후, 다시 4000 rpm에서 10분간 원심분리하여 펙틴질을 침전물로부터 분리하였다. 이후 소당류를 제거하기 위해 침전된 펙틴질에 다시 증류수 50 mL을 가하고 4°C에서

8 시간 동안 투석을 수행하여 부분 정제된 펙틴을 분리하고, 동결건조하고 -70°C에 보관하고 실험에 사용하였다.

호박 과피 펙틴의 평균 분자량 측정

펙틴의 평균 분자량을 측정하기 위하여, 펙틴을 증류수에 녹인 후(0.5 mg/mL) 0.45 μ m로 membrane으로 여과하여 size exclusion 고속액체크로마토그래피(HPLC-RI, Dionex Ultimate 3000, Sunnyvale, CA, USA; Shodex RI-101, Tokyo, Japan)로 분자량의 분포를 분석하였다. 컬럼은 SB-G, SB-806HQ, SB-804HQ(Shodex, Tokyo, Japan)를 일렬로 연결하여 사용하였고, 표준물질로는 pullulan을 사용하여 표준정량곡선을 작성하고 분자량을 계산하였다.

호박 과피 펙틴의 구조 특성 측정

펙틴의 구조 특성을 분석하기 위하여, 갈락투론산(galacturonic acid) 함량, 메틸화도(degree of methylation, DM) 그리고 아세틸화도(degree of acetylation, DAc)를 측정하였다. 갈락투론산 함량은 Taylor & Buchanan-Smith (1992)의 방법에 따라 측정하였다. 시료 200 mL(0.5 mg/mL)에 발색 시약인 carbazole 용액 100 mL와 진한 H₂SO₄ 1200 mL를 가하고 85°C에서 5 분 동안 반응시킨 후 525 nm에서의 흡광도를 측정하여 정량하였다. 메틸화도(degree of methylation, DM)와 아세틸화도(degree of acetylation, DAc)는 펙틴의 갈락투론산에 에스터 결합되어 있는 메틸기와 아세틸기의 양을 측정하는 것으로서, 비누화를 통해 분리된 메탄올과 acetic acid를 HPLC를 이용하여 정량하였다(Levigne, 2002). HPLC 분석은 Dionex ultimately 3000 (Dionex, USA), RI detector(Shodex, Japan), C18 column (4.6 × 250 mm, 5 μ m, Agilent, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였고, 용매는 4 mM sulfuric acid를 0.7 mL/min으로 설정하여 분석하였다.

호박 과피 펙틴의 *in vitro* 담즙산 결합 특성

펙틴의 *in vitro* 담즙산 결합능은 Park et al(2009)의 방법을 수정하여 측정하였다. 5 mM 농도의 taurocholic acid (in 10 mM sodium phosphate buffer, pH6.8) 용액과 5 mg/mL의 펙틴을 가하여 37°C에서 2 시간 동안 반응시킨 후, 원심분리하여 상등액에 존재하는 taurocholic acid의 양을 측정하여 담즙산의 상대적인 결합능을 정량하였다. Taurocholic acid의 정량을 위해 Gilson 305 system HPLC(Gilson, France)을 사용하였고 C18 reversed-phase Column(3.5 μ m, 4.6 × 150 mm, Waters XBridge, USA), column 온도는 23°C, UV는 200 nm에서 관찰하였으며 flow rate은 0.4 mL/min으로 조정하였다. Mobile phase는 MeOH : 0.05M sodium phosphate buffer(pH 6.5) = 80:20 (V/V)으로 사용하였다. Bile acid 결합능은 반응 전후 담즙산의 변화 비율 %로 계산하였고 동일한 방법으로 측정된 taurocholic acid를 공시

료로 하여 최종 농도를 계산하였다.

통계처리

본 실험의 통계처리는 SAS(statistical analysis system; The SAS system Release 8.2, 2002)의 General Liner Model 를 이용하여 분석하였고, Duncan 다중비교방법을 사용하여 유의수준 5%에서 비교하였다.

결과 및 고찰

호박 과피의 식이 섬유 함량

식이섬유는 사람의 효소로는 분해되지 않는 식품중의 난 소화성분의 총체로 지금까지 식품분석에서 분류되는 조섬유 중에 포함되어 있다. 또한 인체에는 식물성 섬유소를 분해하는 효소가 없어 식품 중의 섬유소는 거의 소화되지 않고 체외로 배설된다(BeMiller, 2007). 본 연구에서 측정된 호박 과피의 총 식이섬유의 함량은 16%고 나타났다. 이 수치는 기존에 보고된 호박 과육의 식이섬유 함량인 6.9%에 비해 매우 높은 값으로 호박 과피의 식이섬유 공급원으로서의 우수성을 확인할 수 있었다(Cho, 1997). 유사한 연구 결과로, 유자의 경우 과육에는 2.3%의 식이 섬유가 함유되어 있으나, 과피에 18.2%의 식이 섬유가 함유된 것으로 보고된 바 있어, 본 연구에서 사용된 호박과 유사한 결과를 나타내었다(Kang et al., 2003). 그러나 감의 경우는 과육에 3.5% 과피에 8.3%의 식이섬유를 함유하고 있어 상대적으로 낮은 식이섬유를 함유하고 있는 것으로 보고되고 있다(Kang et al., 2003). 이러한 결과는 호박의 과피에 수용성 식이섬유소인 펙틴 함량이 높은 것을 나타내어, 호박 과피로부터 펙틴을 분리하여 특성을 규명하였다.

호박 과피 추출 펙틴의 분자량 분포 및 구조 특성

추출한 펙틴의 분자량을 측정한 결과는 Fig. 1과 같았다. 호박 과피 펙틴의 분자량은 480,000-1,410,000 Da의 범위에 넓게 분포하고 있었고, 1,400 kDa 부근에서 가장 많은 높은 분포를 나타내었다. Shkodina et. al(1998)에 따르면, 산처리에 의해 분리된 호박 과육의 평균 분자량은 약 70 kDa이었고, cellulase 등의 효소를 처리한 경우는 18-24 kDa인 것으로 나타나, 과육의 펙틴에 비해 매우 큰 분자량 분포를 가짐을 확인할 수 있었다. 펙틴의 기본 골격은 galacturonic acid(GA)가 $\alpha(1\rightarrow4)$ 결합으로 연결되어 있고, L-Rhamnose가 galacturonic acid의 사슬에 결합되어 있는 구조를 가지고 있다. 호박 과피 펙틴의 구조 특성을 규명하기 위해 펙틴의 galacturonic acid 함량, methoxyl 함량, 그리고 acetyl 함량을 측정하였고(Table 1), 대조군으로 상업용 감귤과피펙틴을 사용하여 비교하였다. 호박과피펙틴의 galacturonic acid 함량은 53.6%로 대조군의 82.3%보다 낮았고($p < 0.05$), 이는 호박과육펙틴의 galacturonic acid 함

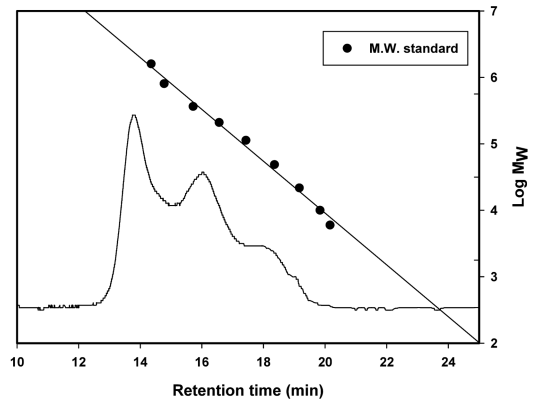


Fig. 1. High performance size exclusion chromatogram of the pectins from pumpkin peel.

Table 1. Degree of methylation, degree of acetylation and galacturonic acid contents of pectins from pumpkin peel.

	GalA ³⁾	D. Mc ⁴⁾	D. Ac ⁵⁾
Control ¹⁾	82.3±2.20 ^a	77.3±1.36 ^a	0.00±0.00 ^a
Pumpkin ²⁾	53.6±4.00 ^b	86.5±0.46 ^b	0.34±0.00 ^b

¹⁾Citrus peel pectin; ²⁾Pumpkin peel pectin; ³⁾Galacturonic acid content(%); ⁴⁾Degree of methylation(%); ⁵⁾Degree of acetylation(%); Different letters in the same column indicate significant difference($p < 0.05$)

량인 60%보다 약간 낮고, 사과껍질펙틴과는 유사한 수준이었다(Kravtchenko et al., 1992; Shkodina et al., 1998). 펙틴은 galacturonic acid에 결합된 methyl기의 함량에 따라 high methoxyl pectin(HMP)과 low methoxyl pectin(LMP)로 구분된다. HMP는 메틸기 함량이 50% 이상일 경우이고, LMP는 메틸기 함량이 50% 이하인 경우로 구분한다. 호박과피펙틴의 메틸기 함량은 86.5%로 대조군의 77.3%에 비해 유의적으로 높았고, 이는 기존에 보고된 호박과육펙틴의 메틸기 함량인 53%보다 월등히 높은 수준이었다(Ptichkina, 2007). 기존의 대부분 메틸기 함량이 50-60% 수준이 것에 비교할 때 호박과피펙틴은 메틸기 함량이 매우 높은 HMP로 분류될 수 있을 것으로 확인되어, 이의 식품에의 이용에 대한 연구가 필요함을 확인할 수 있었다. 호박과피펙틴의 아세틸화 정도는 0.34%로 매우 낮았고, Shkodina et. al(1998)의 호박과육펙틴의 2.46%에 비해 낮은 수준으로 나타났다. 펙틴의 구조에서 아세틸화는 사탕무우 펙틴에서 매우 높게(약 30%) 나타나고, 그 외에 당근에서 약 15% 정도 확인되고 있으나, 상업용으로 널리 사용되고 있는 감귤류와 사과에 함유된 펙틴에는 아세틸기가 없는 것으로 알려져 있다(Rolin, 2002; Bonnin et al., 2003). 일반적으로 아세틸기 함량은 펙틴의 겔형성능을 저해하는 것으로 알려져 있어(Hwang, 1993), 과육에 비해 낮은 호박과피펙틴의 아세틸기 함량은 분리된 펙틴의 식품소재로서의 이용성에서 차별성이 부여할 것으로 생각된다.

호박 과피 펙틴의 *in vitro* 담즙산 결합 특성

펙틴은 장내에서 콜레스테롤 및 담즙산을 흡착하여 대변으로 배설시키고 지단백질대사에 변화를 주어 혈청 콜레스테롤과 중성지방의 수준을 저하시키는 역할을 하는 것으로 알려지고 있다(Willats et al., 2006). 이러한 펙틴의 콜레스테롤 저하 효과는 *in vitro* 상에서 담즙산과의 결합능으로 확인할 수 있으며, 호박과피펙틴의 담즙산 결합 특성을 대조구와 비교, 측정하였다. 호박과피펙틴의 담즙산 결합능은 9.03%(±0.09)로, 대조구인 감귤과피펙틴의 14.5%(±0.37)에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다. 그러나, Kahlon & Smith(2007)에 의하면 사과, 체리, 크린베리, 딸기의 담즙산 결합능은 각각 5%, 5%, 7% 그리고 15%이며 계속 섭취시 콜레스테롤 저하의 효과를 나타낼 수 있는 것으로 보고되고 있어, 9%의 담즙산 결합능을 나타내는 호박과피펙틴을 실제 식품으로 섭취할 경우 충분한 콜레스테롤 저하 효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

호박과피는 과육에 비해 매우 높은 16%의 식이섬유를 함유하고 있었고, 이로부터 분리된 호박과피펙틴은 53%의 galactonic acid를 함량을 나타내었으나, 타 펙틴에 비해 매우 높은 메틸기를 함유한 high methoxyl pectin(HMP)로 확인되었다. 또한 0.34%의 낮은 수준이나, 일부 아세틸기를 함유하고 있어, 기존의 펙틴질과 차별화될 수 있는 구조적 특징을 보유하고 있었다. 담즙산과의 결합능에 있어서는 다른 펙틴질에 비해 비교적 높은 9%의 결합능을 보여, 식품 소재로서의 우수한 특성을 보유하고 있어 향후 식품 소재로서의 개발이 가능할 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 중앙대학교 교내 학술지원사업에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Andjelkovic M, Van Camp J, Trawka A, Verhe R. 2010. Phenolic compounds and some quality parameters of pumpkin seed oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 112: 208-217.
- BeMiller JN. 2007. *Carbohydrate chemistry for food scientists*. AACC International Inc., St. Paul, MN, USA, pp. 303-311.
- Bonnin E, Le Goff A., van Alebeek JWM, Voragen AGJ, Thibault JF. 2003. Mode of action of *Fusarium moniliforme* endopolygalacturonase towards acetylated pectin. *Carbohydrate Polym.* 52: 331-338.
- Castro H, Galvez M, Gonzalez S, Villamil C. 2006. Protein composition of *Cucurbita maxima* and *C. moschata* seeds. *Biol. Plantarum*, 50: 252-256.
- Cho JS. 1997. Chemical compositions of the green and ripened pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 657-662.
- Hwang JK. 1993. Purification and analysis of pectins. *J. Korean Sci. Food Nutr.* 22: 500-509.
- Joslyn MA. 1970. *Method in food analysis*. Academic Press, New York, USA, p. 143.
- Kahlon TS, Smith GE. 2007. In vitro binding of bile acids by blueberries (*Vaccinium* spp.), plums (*Prunus* spp.), prunes (*Prunus* spp.), strawberries (*Fragaria X ananassa*), cherries (*Malpighia punicifolia*), cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) and apples (*Malus sylvestris*). *Food Chem.* 100: 1182-1187.
- Kang MY, Jeong YH, Eun JB. 2003. Identification and determination of dietary fibers in citron, jujube and persimmon. *Korean J. Food Preserv.* 10: 60-64.
- Kang YH, Cha HS, Kim HM, Park YG. 1997. The nitrite scavenging and electron donating ability of pumpkin extracts. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 10: 31-36.
- Kim SR, Ha TY, Song HN, Kim YS, Park YG. 2005. Comparison of nutritional composition and antioxidative activity of kabocha squash and pumpkin. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 171-177.
- Kravtchenko TP, Voragen AGJ, Pilnik W. 1992. Analytical comparison of three industrial pectin preparations. *Carbohydrate Polym.* 18: 17-25.
- Lee HJ, Do JR, Kwon JH, Kim HK. 2010. Optimization of extraction conditions for extracts from *Cucurbita moschata* Duch. by response surface methodology. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 449-454.
- Lee HJ, Do JR, Kwon JH, Kim HK. 2010. Physiological activities of *Cucurbita moschata* Duch. extracts with different extraction conditions. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 165-171.
- Levigne S, Thomas M, Ralet MC, Quemener B, Thibault JF. 2002. Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards. *Food Hydrocolloid.* 16: 547-550.
- MIFFAF (Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries), Food, Agriculture, Forestry and Fisheries Statistical Yearbook, 2010, Korea.
- Murkovic M, Mulleder U, Neunteufl H. 2002. Carotenoid content in different varieties of pumpkins. *J. Food Compos. Anal.* 15: 633-638.
- Shkodina OG, Zeltser OA, Selivanov NY, Ignatov VV. 1998. Enzymic extraction of pectin preparations from pumpkin. *Food Hydrocolloid.* 12: 313-316.
- Park SY, Bae IY, Lee S, Lee HG. 2009. Physicochemical and hypocholesterolemic characterization of oxidized oat β -glucan. *J. Agr. Food Chem.* 57: 439-443.
- Park YK, Cha HS, Park MW, Han YH, Seog HM. 1997. Chemical components in different parts of pumpkin. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 639-646.
- Ptichkina NM, Markina OA, Rummyantseva GN. 2007. Pectin extraction from pumpkin with the aid microbial enzymes. *Food Hydrocolloid.* 22: 192-195.
- Rolin C. 2002. Commercial pectin preparations. In: *Pectins and their manipulations*. Seymour GB, Paul Knox J (eds). Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, pp. 222-241.
- Taylor KA, Buchanan-Smith JG. 1992. A colorimetric method for the quantitation of uronic acids and specific assay for galactur-

- onic acid. *Anal. Biochem.* 201: 190-196.
- Towle GA, Christensen O. 1973. Pectin. In: *Industrial gums and their derivatives*. Whistler RL, BeMiller JN. (eds). Academic Press, New York, NY, USA, pp. 429-461.
- Willats WGT, Knox PJ, Mikkelsen JD. 2006. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends Food Sci. Technol.* 17: 97-104.
- Yoon SJ, Kim G, Jeong YJ. 2003. Extract characteristics of old pumpkin on enzyme treatment. *Korean J. Food Preserv.* 10: 302-307.