



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2022년 2월

교육학석사(영양교육)학위논문

단호박, 늙은호박 및 땅콩호박의 영양 성분 및 항산화 효과 비교

조선대학교 교육대학원

영양교육전공

이 가 람

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 영양 성분 및 항산화 효과 비교

Comparison of Nutrient Components and
Antioxidant Activity of Kobacha squash,
Pumpkin and Butternut squash

2022년 2월

조선대학교 교육대학원

영양교육전공

이 가 람

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 영양 성분 및 항산화 효과 비교

지도교수 이 재 준

이 논문을 교육학석사(영양교육)학위 청구논문으로
신청함.

2021년 10월

조선대학교 교육대학원

영양교육전공

이 가 람

이가람의 교육학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 조선대학교 교수 김복희 인

심사위원 조선대학교 교수 이주민 인

심사위원 조선대학교 교수 이재준 인

2021년 12월

조선대학교 교육대학원

목 차

LIST OF TABLES	IV
LIST OF FIGURES	VI
ABSTRACT	VII
제 1장 서론	1
제 2장 실험 재료 및 방법	4
제 1절 실험준비	4
제 2절 이화학적 성분분석	5
1. 일반성분 분석	5
2. 유리 아미노산 분석	6
3. 지방산 분석	7
4. 유기산 분석	8
5. 비타민 분석	9
6. 무기질 분석	11
7. 색도 측정	12
8. pH 측정	12
9. 당도 측정	12
제 3절 항산화 효과 측정	13
1. 단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 에탄올 추출	13

2. 총 polyphenol 함량 측정	13
3. 총 flavonoid 함량 측정	14
4. DPPH radical 소거능 측정	14
5. ABTS radical 소거능 측정	15
6. 통계처리	15
제 3장 실험 결과 및 고찰	16
제 1절 이화학적 성분 분석	16
1. 일반성분	16
2. 유리 아미노산	18
3. 지방산	20
4. 유기산	22
5. 비타민	23
6. 무기질	24
7. 색도	25
8. pH 및 당도	27
제 2절 항산화 효과 측정	28
1. 추출수율	28
2. 총 polyphenol 함량	29
3. 총 flavonoid 함량	30
4. DPPH radical 소거능	31
5. ABTS radical 소거능	34

제 4장 요약 및 결론	37
제 5장 참고문헌	39

LIST OF TABLES

Table 1. Operating conditions of amino acid auto-analyzer for free amino acids.....	6
Table 2. Operating conditions of gas chromatography for fatty acids.....	7
Table 3. Operating conditions of ion chromatography for organic acids.....	8
Table 4. Operating conditions of HPLC for vitamin A, E.....	10
Table 5. Operating conditions of HPLC for vitamin C.....	10
Table 6. Operating conditions of inductively coupled plasma optical emission spectrometry for minerals.....	11
Table 7. Proximate compositions of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	17
Table 8. Free amino acids contents of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	19
Table 9. Compositions of fatty acids in Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	21
Table 10. Contents of organic acids in Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	22
Table 11. Contents of Vitamin A, C and E in Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	23

Table 12. Contents of minerals in Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	24
Table 13. Colorimetric characteristic of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	26
Table 14. pH and °Brix of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash.....	27
Table 15. Extraction yield of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash ethanol extracts.....	28
Table 16. Total polyphenol contents of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash ethanol extracts.....	29
Table 17. Total flavonoid contents of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash ethanol extracts.....	30
Table 18. DPPH radical scavenging activity of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash ethanol extracts.....	32
Table 19. ABIS radical scavenging activity of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash ethanol extracts.....	35

LIST OF FIGURES

Figure 1. Photographs of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash.....	4
Figure 2. Photographs of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	26
Figure 3. DPPH radical-scavenging activity of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	33
Figure 4. ABTS radical-scavenging activity of Kobacha squash, pumpkin, and butternut squash power.....	36

ABSTRACT

Comparison of Nutrient Components and Antioxidant Activity of Kobacha squash, Pumpkin and Butternut squash

Lee Ka-Ram

Advisor : Prof. Jae-Joon Lee Ph. D.

Major in Nutrition Education

Graduate School of Education, Chosun University

Recently, various health problems have emerged in Korea due to the development of the restaurant industry and the westernization of diet. Especially, cardiovascular diseases are more important because they are likely to lead to chronic diseases if no clear symptoms appear. Kobacha squash is rich in various vitamins and minerals, which lowers cholesterol levels in the body to prevent vascular and adult diseases. It also acts as an antioxidant to prevent skin aging and helps to prevent cancer. Pumpkins, like Kobacha squashes, work to reduce cholesterol. It is also rich in potassium, which helps blood circulation. In particular, pumpkins have excellent diuretic and detoxifying effects, which are often used to remove edema. Finally, Butternut squashes are known to have been first developed and cultivated in the United States and are known in Korea as 'Butternut squash' because they resemble peanuts. Butternut squash contains four times more beta-carotene than Kobacha squash and also contains a lot of vitamin A, which helps prevent aging and protect eyesight. As Butternut squashes are cultivated in Korea, studies are being conducted on them, but no comparison of pumpkins has been conducted yet.

Therefore, in this study, Antioxidant effects and the Physicochemical component analysis of Kobacha squash, Pumpkin, and Butternut squash were compared. In the physicochemical component analysis, free amino acids, fatty acids, organic acids, general components, minerals, vitamins, color, pH, and sugar content were measured. In addition, the analysis of antioxidant activity also investigated total polyphenols, total flavonoids, DPPH and ABTs. Moisture, crude protein, and crude fat were the highest in Pumpkin, and crude ash was the highest in Butternut squash, and carbohydrate was the highest in Koacha squash. Total free amino acid contents were significantly higher in Pumpkins. aspartic acid, threonine, asparagine, serine, glutamic acid, proline, glycine, valine, alanine, methionene, leucine, isoleucine, γ -amino-n-butyric acid, histidine contents were highest in Pumpkin, while tyrosine and araginine in Kobacah squash, but Phenylalanine and Lysine were the highest in Butternut squash. The contents of saturated fatty acid was also high in Pumpkin, Monounsaturated fatty acid content was highest in Kobacha squash, and Polyunsaturated fatty acid content was highest in Butternut squash. However, if you look at the total content of unsaturated fatty acids, Kobacha squash was the highest. The major organic acids were Citric acid, Malic acid and Succinic acid. Succinic acid was only detected in Pumpkin. It was thought that all kinds of Pumpkin would contain the most vitamin A, but only Kobacha squash had the highest vitamin A content, and Pumpkin and Butternut squash had the highest vitamin C content. The mineral contents in Kobacha squash, K was the highest followed by Ca, Mg, Fe, Na, Zn, Cu, Mn. K in Pumpkin was also the highest followed by Mg, Ca, Fe, Zn, Na, Cu, Mn. Finally, K in Butternut squash was also highest followed by Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn, Na. Values of L and a were the highest in Pumpkins, and values of b was the highest in Butternut squash. pH values and °Brix of raw and

powder were highest in Kobacha squash. There was no significant difference in the total polyphenol content. However, the total flavonoid content was followed by Pumpkins, Kobacha squash, and Butternut squash, with noticeable differences. Butternut squash showed the lowest DPPH radical scavenging activity at all concentrations, and there was a difference between Kobacha squash and Pumpkins based on the concentration. The ABTS radical scavenging ability was highest in the order of old pumpkin, peanut pumpkin, and sweet pumpkin. These results can provide basic data for various studies using Pumpkins in the future.

제 1장 서론

최근 우리나라는 외신산업의 발달, 식생활의 서구화 등으로 인해 다양한 건강문제가 대두되고 있다. 특히 심혈관계 질환은 뚜렷한 증상이 나타나지 않는 경우 만성질환으로 이어질 가능성이 있기 때문에 더욱 중요하다.

심혈관계 질환은 심장질환과 혈관질환을 총칭하는 말이다. 심장질환으로는 고혈압성 심장질환, 심부전, 선천성 심장질환, 부정맥, 심근증 등이 있으며 혈관질환에는 말초혈관질환, 뇌졸중 등이 있다. 심혈관질환은 환경적인 요인과 유전적인 요인들에 의해 복합적으로 영향을 받는다. 질병 발생의 가능성을 높이는 요인을 위험요인이라고 하며 위험요인은 고정요인과 변동요인이 있다. 고정요인으로는 유전, 연령, 성별 등이 있으며 변동요인으로는 흡연, 운동, 식생활, 비만 등이 있다(1). 심혈관질환의 치료와 예방을 위해서는 생활습관 조절 (the rapautic life style change)이 필수적이다. 특히 식사요법은 생활습관 조절은 심혈관질환 예방과 치료의 중요한 부분이다(2). 채소, 과일에 풍부한 파이토케미컬(phytochemical)은 심혈관 질환 예방에 좋은 역할을 한다(1). 파이토케미컬(phytochemical)은 건강에 유용한 생리활성을 가지고 있는 식물성 화학물질로 카로티노이드, 플라보노이드, 이소플라본 등이 있다. 특히 카로티노이드는 면역력강화, 눈의 보호, 항산화, 항암 등의 다양한 기능을 가지고 있다(3, 4).

호박(*Cucurbita spp.*)은 박과에 속해있는 일년생 덩굴성 초본으로, 크게 동양계 호박(*Cucurbita moschata Dutch*), 서양계 호박(*Cucurbita maxima Dutch*), 페루계 호박(*Cucurbita pepo L.*) 세 종류가 있다(5). 호박은 항암효과와 연관된 성분인 β -carotene의 함량이 높으며 비타민 A 및 카로티노이드류, 무기질 등 다양한 영양소를 다량 함유하고 있다. 또한 섬유질이 풍부하여 호박이 가지고 있는 영양적 의의는 다른 과채류에 뒤지지 않는다(6).

밤호박이라고 불리는 단호박은 1.5kg 내외의 중량으로 크기가 작으

며 진한 녹색의 과피와 과육은 진황색으로 당도가 더 높은 특징이 있다. 또한 진황색 색소는 β -carotene 함량이 높아 항암 작용에 효과적이라고 알려져 있다(7). β -carotene뿐만 아니라 비타민 A, E 및 Ca, P, Na 등의 영양소 또한 풍부하여 기능적 소재로 각광받고 있다(7, 8). 단호박 관련 연구들로는 성분 및 저장 중의 변화(7, 9), 설기떡(10), 막걸리(11), 식혜의 제조방법과 품질평가(12), 단호박과 늙은 호박의 영양 성분 및 항산화 활성 비교(13) 등 단호박에 대한 연구는 꾸준히 이루어 왔고 단호박을 이용한 다양한 제품이 개발되었다.

늙은호박(*Cucurbita moschata Dutch*)은 동양계호박(*Cucurbita spp.*)으로 아미노산 함량이 높아 회복기 환자들에게 유용한 식품으로 알려져 있다(14). 또한 단호박과 마찬가지로 β -carotene의 함량이 높아서 항암효과가 있으며 다량의 영양성분이 함유되어 있다. 더불어 늙은호박은 성숙함에 따라 영양성분의 함량이 증가하여 기능성 식품으로 가치가 높아지고 있다(15, 16). 늙은호박 관련 연구들로는 호박의 이화학적 특성(17), 한국 호박의 지방산 조성(18) 등 성분분석에 관한 연구와 늙은호박을 활용한 다양한 가공식품에 대한 연구가 보고되었다.

마지막으로 땅콩호박은 중앙아메리카, 멕시코 남부의 동양계호박(*Cucurbita spp.*)으로 고온 습윤한 환경에서 잘 자라는 재배종으로 알려져 있다(19). 약 40 kcal의 낮은 열량의 땅콩호박은 다이어트 원재료 및 환자들에게 좋은 식품으로 알려져 있다(20). 땅콩호박 또한 다른 호박들과 마찬가지로 β -carotene의 함량이 높아 비타민 A로 합성되어 안구성 질환에 도움을 준다(21, 22). 땅콩호박은 수분함량이 높아 저장성이 낮기 때문에 가공법에 대한 연구의 필요성이 대두된다. 땅콩호박과 관련된 연구로는 현재 건조방법을 달리한 땅콩호박의 영양성분 분석 및 생리활성 평가(23)에 관한 연구만이 진행되어있다. 땅콩호박이 우리에게 생소할 수 있지만 2013년부터 전라남도 무안을 시작으로 국내에서 재배해 왔으며 현재는 무안 뿐만 아니라 남해 등 각지에서도 재배 중이다. 호박의 모양이 땅콩과 비슷하여 ‘땅콩호박’이라 불리며 방송에 노출된 적이 있고 가을철에 대형마트에서도 구매를 할 수 있지만 잘 알려지지 않아 아직 선행 연구 또한 존재하지 않는다. 따라서 본 연

구에서는 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 총 3가지 호박간의 생리활성 차이를 알아보기 위해 영양성분과 항산화효과를 비교 분석해보았다.

제 2장 실험 재료 및 방법

제 1절 실험준비

본 실험에서 사용한 호박은 단호박, 늙은호박, 땅콩호박으로 단호박은 광주광역시 서구에 위치한 양동시장에서 늙은호박은 광주광역시 북구에 위치한 말바우시장에서 마지막으로 땅콩호박은 온라인 판매처(다우리농장)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 각 종류의 호박은 절단 후 속의 씨앗을 제거하여 껍질을 벗긴 후 약 1cm 정도로 최대한 얇게 썰어 물기를 제거하여 급속냉동 시켰다. -70°C 에서 급속냉동 후 동결건조기(ED 8512, Ilshin, Yangju, Korea)를 통해 72시간 동결건조 시켰다. 동결건조된 단호박, 늙은호박, 땅콩호박은 분쇄기(girnder)(HR2904, Philips Co. Amsterdam, Netherland)를 통해 마쇄한 후 분말로 제조하여 -70°C 에서 냉동보관하여 시료로 사용하였다.

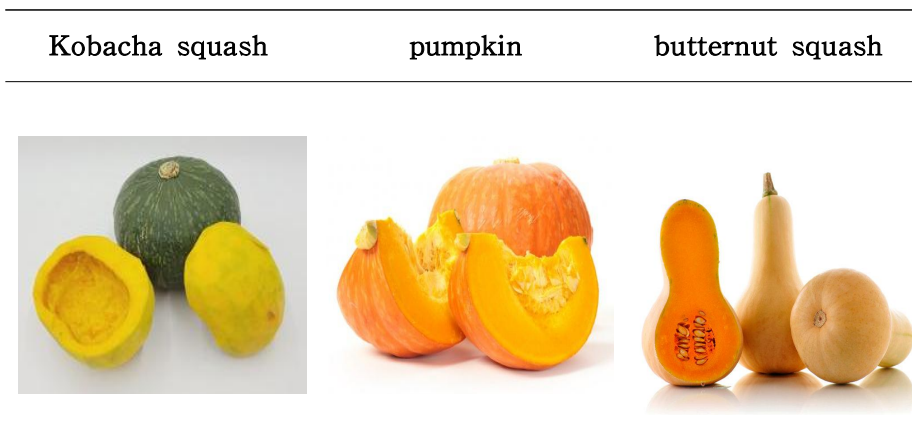


Figure 1. Photograph of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash.

제 2절 이화학적 성분분석

1. 일반성분 분석

단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 일반성분에 대한 분석은 Association of Official Analytical Chemists 방법(A.O.A.C)(24)에 준하여 실시하였다. 즉, 수분은 상압가열건조법으로 105℃에 2시간 이상 건조하였고, 조단백질은 micro-kjeldahl법을 통해, 조지방은 Soxhlet 추출법, 마지막으로 조회분은 회화법으로 분석하였다. 탄수화물은 각각의 시료별 100g 중 조지방, 수분, 조회분, 조단백질 함량을 제외한 값으로 나타내었다.

2. 유리 아미노산 분석

유리 아미노산 분석은 0.5 g의 건조된 시료와 6 N HCl을 3 mL 계량 후 탈기 하였다. 그 후 121℃에서 24시간 가수분해를 한 다음 남은 여액을 회전감압농축기(EYELA VACCUM NVC-1100, Tokyo, Japan)를 통해 감압·농축하였고, Na₃PO₄완충액(pH 7.0) 10 mL로 정용하였다(25). 용액 1 mL를 취해 membrane filter(0.2 μm)를 사용하여 여과한 후 아미노산자동분석기 (Biochrom 20, Pharmacia, Cambridge, England)로 분석하였다. 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating conditions of amino acid auto-analyzer for free amino acids

Item	Condition
Instrument	S433-H(SYKAM)
Column	Cation separation column(LCA K07/Li)
Column size	4.6 × 150 nm
Column temperature	57 - 74 °C
Flow rate	Buffer 0.45 mL/min, reagent 0.25 mL/min
Buffer pH range	3.45 - 10.85
Wavelength	440 nm, 570 nm

3. 지방산 분석

지방산 분석은 Wungaarden(26)의 방법에 준하여 실시하였다. 2 g의 시료를 ether로 추출한 다음 여과하여 감압·농축시킨 약 100 mg 지방질을 플라스크에 취하여 4 mL의 1 N KOH-ethanol 용액과 혼합하였다. 다음 유지 방울이 없어질 때까지 교반 후 5 mL의 14% BF₃-Methanol를 첨가하였다. 냉각기를 장착하여 80℃에 5분간 가열한 후 metylester화 시켰다. 이 용액에 3 mL의 NaCl 포화용액과 1 mL의 hexane을 더하고 교반하여 섞은 후, 시험관에 옮겨 배치하였다. 또한 상층액을 취하여 Na₂SO₄를 넣고 수분을 제거한 후 gas chromatography(GC-17A, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 활용하여 분석하였다. 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Operating conditions of gas chromatography for patty acids

Item	Condition
Instrument	GC-17A(Shimadzu Co., Kyoto, Japan)
Column	SP TM -2560 capillary column (100m length x 0.25mm I.d. x 0.25 μ m film thickness)
Oven temp.	140℃(10 min) → 4℃/min → 240℃(30min)
Injection temp.	260℃
Detector temp.	260℃
Split ratio	1 : 100
Detector	Flame ionization detector
Injection volume	2 μ l

4. 유기산 분석

유기산 분석은 Kim 등(27)의 방법에 준하여 실시하였다. 1 g의 시료에 50 mL의 증류수를 첨가하여 80°C 수조에 4시간 가열한 후 와트만 거름종이(No. 2)를 사용하여 여과하였다. 여액을 회전농축기(EYELA VACCUUM NVC-1100, Tokyo, Japan)로 감압·농축 후 증류수로 10 mL로 정용하여 이온 크로마토그래피(Prominence HPLC, Shimadzu Co. JAPAN)를 이용하여 분석하였다. 분석조건은 Table 3과 같다.

Table 3. Operating conditions of ion chromatography for organic acids

Item	Condition
Instrument	Prominence HPLC(Shimadzu Co., Kyoto, JAPAN)
Column	Two Shim-pack SCR-102H(300×8.0 mm)
Guard	Shim-pack Guard Column SCR-102H(50×6.0 mm)
Mobile phase	4 mM <i>p</i> -toluenesulfonic acid
Inj. Volume	20 μ l
Flow rate	0.8 mL/min
Reaction reagent	16 mM Bis-Tris aqueous solution containing 4 mM <i>p</i> -toluenesulfonic acid and 100 μ M EDTA
Detection	Electroconductivity

5. 비타민 분석

비타민 A 및 비타민 E 분석은 식품공전법(28)의 방법에 준하여 실시하였다. 0.5 g의 시료와 0.1 g의 ascorbic acid 그리고 30 mL의 ethanol을 첨가하여 80℃에서 20분간 가열을 하였다. 그리고 0.25 mL의 50% KOH용액을 첨가하고 5 mL의 hexane과 3 mL의 증류수를 더하여 20분간 3,000 rpm에서 원심분리 하였다. 잔여물에 5 mL의 hexane을 더하여 등질화한 후 80℃에서 20분간 추출하여 20분간 3,000 rpm에서 원심분리 하였다. 상층액과 합하여 Na₂SO₄을 가해 탈수한 후 50℃에서 감압·농축하고 ethanol로 용해한 후 막여과지(0.45 μm)로 여과하여 분석하였다. 분석조건은 Table 4와 같다.

비타민 C 분석은 Rizzolo 등(29)의 방법에 준하여 실시하였다. 5 g의 시료를 10% 메타인산(HPO₃) 용액 20 mL를 더하여 추출한 후 20분간 3,000 rpm에서 원심 분리하여 0.45 μm 막여과지로 여과하여 퍼킨엘머 HPLC(Perkin Elmer InC. ME, USA)를 활용하여 분석하였다. 분석 조건은 Table 5와 같다.

Table 4. Operating conditions of HPLC for vitamin A and E

Item	Condition
Instrument	LC-10AVP (Shimadzu Co., JAPAN)
Column	Phenomenex Luna 5 um C18(250×4.6 mm)
Mobile phase	methanol : water (95 : 5)
Flow rate	1.0 mL/min
Inj.Volume	20 μ l
Detection	UV-VIS Detector(254nm) Spectrofluorometric Detector(EX:290nm, EM:330nm)

Table 5. Operating conditions of HPLC for vitamin C

Item	Condition
Instrument	PerkinElmer HPLC system (PerkinElmer Inc., USA)
Column	Phenomenex Bondclone C18 (3.9×300 mm, 10 um)
Mobile phase	50 mM KH ₂ PO ₄ : Acetonitrile(60:40)
Oven temperature	30 °C
Flow rate	1.0 mL/min
Inj.Volume	20 μ l
Detection	UV-VIS Detector(254nm)

6. 무기질 분석

무기질 분석은 Association of Official Analytical Chemists(A.O.A.C.)방법(30)에 준하여 실시하였다. 0.5 g의 시료에 20% HNO₃ 10 mL 와 60% HClO₄ 3 mL을 더하여 투명해질 때까지 가열을 한 후 50 mL를 0.5 M HNO₃으로 정용하였다. 표준용액을 분석항목 별로 혼합한 후 여분의 시험관에 8 mL씩 취해 표준용액으로 사용하였다. 0.5 M HNO₃를 대조군으로 하였으며 Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer(ICP-OES, PerkinElmer, ME, USA)를 통해 분석하였다. 분석조건은 Table 6과 같다.

Table 6. Operating conditions of inductively coupled plasma optical emission spectrometry for mineral

Item	Condition		
Instrument	ICP-OES/PerkinElmer/USA		
Plasma Unit	RF Power	1.4(Kw)	
	Gas Flow Rate (L/min)	15	
Wavelength	Ca	317.933	Radial
	K	766.490	Radial
	Mg	285.213	Radial
	Fe	238.204	Axial
	Na	589.592	Radial
	Mn	257.610	Axial
	Cu	327.393	Axial
	Zn	206.200	Axial

7. 색도 측정

단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 색도는 색차계(Spectro Colormeter JX-777, Color Techono. System Co, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 색도는 명도(L값, lightness), 황색도(b값, +yellowness/-blueness) 적색도(a값, +redness/-greenness) 및 를 측정하였다. 사용한 표준백판 L값은 89.39, a값은 0.13, b값은 -0.51로 보정하여 사용하였다.

8. pH 측정

pH는 먼저 5 g의 분말 시료에 45 mL의 증류수를 첨가하여 희석한 후 균질화 하여 40°C에서 30분간 sonication (Powersonic 420, Hwashin Technology, Gwangju, Korea)으로 교반하였다. 20분간 3,000 rpm으로 원심분리(Combi-514R, Hanil, Hwaseong, Korea)한 후 얻은 상층액을 pH 미터(420 Benchtop, Orion Research, Beverly, MA, USA)를 통해 측정하였다.

9. 당도 측정

단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 당도는 시료 1 g을 각각 일정하게 취한 후 10 mL의 증류수를 더하여 vortexing 하였다. 다음 각 시료를 sonicator로 4시간 동안 추출한 다음 Whatman No. 2 여과지를 사용하여 여과한 후 당도계를 이용하여 3회 반복 측정하였다.

제 3절 항산화 효과 측정

1. 단호박, 늪은호박과 땅콩호박의 에탄올 추출

80% 에탄올 1,500 mL에 동결건조한 각각의 단호박, 늪은호박과 땅콩호박 분말 100 g을 첨가하였다. 다음 환류냉각관을 부착한 65 °C의 히팅 맨틀(heating mantle)(Mtops ms-265, Seoul, Korea)을 이용하여 3시간 간격으로 3회 추출한 후 와트만 거름종이(No.2)를 사용하여 여과하였다. 여액을 40°C 수욕 상에서 회전 진공 농축기(EYELA VACCUM NVC 1100, Tokyo, Japan)를 사용하여 용매를 제거한 후 감압-농축하여 시료의 수율을 구하였다. 시료의 산화 방지를 위해 -70°C에서 냉동 보관을 하면서 실험을 진행하였다. Lee와 Kim(31)의 연구에 따르면 80% ethanol 추출물이 열수 추출물에 비하여 높은 항산화 활성과 radical 소거활성을 보였다고 한다. 따라서 본 실험에서도 이와 같은 방법으로 에탄올 추출을 실시하였다.

2. 총 polyphenol 함량 측정

단호박, 늪은호박과 땅콩호박 에탄올 추출물은 Folin-Demis법(32)에 따라 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. Test tube에 각각 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 분말의 에탄올 추출물 0.2 mL와 함께 폴린시액 0.2 mL를 혼합하여 3분간 정치한 다음, 0.4 mL의 10% Na₂CO₃ 용액을 첨가하여 40분간 정치하여 반응시켰다. ELISA microplate reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 통해 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선은 gallic acid(갈산)를 이용하여 작성하였으며, 시료의 총 폴리페놀 함량은 mL 중의 µg GAE(gallic acid equivalent)로 나타내었다.

3. 총 Flavonoid 함량 측정

단호박, 늪은호박, 땅콩호박은 Davis 법을 변환한 방법(33)을 사용하여 총 flavonoid 함량을 측정하였다. Test tube에 각각 0.5 mL의 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 에탄올 추출물과 0.5 mL의 diethylene glycol을 첨가한 다음 1N NaOH 10 μ L를 넣고 37 $^{\circ}$ C 워터배스에서 1시간 동안 반응시켰다. ELISA microplate reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc. Hercules, CA, USA)를 이용하여 760nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선은 quercetin(퀘르세틴)을 이용하여 작성하였고, 시료의 총 플라보노이드 함량은 mL 중의 μ g QE(quercetin equivalents)로 나타내었다.

4. DPPH radical 소거능 측정

단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 DPPH radical(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)소거활성능 측정은 Blois 방법(34)을 이용하여 측정하였다. Test tube에 0.1 mL의 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 에탄올 추출물과 0.2 mM의 DPPH 0.9 mL를 혼합하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 반응시켰다. 무첨가군은 시료 대신 에탄올을 넣어 반응시켰다. ELISA Microplate Reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 합성 항산화제인 BHT(butylated hydroxytoluene), BHA(butylated hydroxyanisole) 및 천연 항산화제 Ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [1 - (\text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{blank}})] \times 100$$

5. ABTS radical 소거능 측정

단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 ABTS radical 소거활성능 측정은 Re 등의 법을 변형한 방법(35)을 사용하여 측정하였다. 2.6 mM potassium persulfate 용액과 7.4 mM ABTS 용액을 제조한 다음 동일한 비율로 혼합하였다. 혼합용액을 ABTS⁺(ABTS radical 양이온)의 생성을 위해 24시간 동안 반응시킨 후 ABTS⁺ 용액을 이용하여 734 nm에서 0.7~1.0±0.02의 흡광도가 보일 때까지 에탄올로 희석하였다. 0.1 mL의 빨간 배추 분말 ethanol 추출과 0.9 mL의 ABTS⁺ 용액을 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시켰다. 무첨가군은 시료 대신 에탄올을 넣어 반응시켰다. ELISA Microplate Reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 합성 항산화제인 BHT(butylated hydroxytoluene), BHA(butylated hydroxyanisole) 및 천연 항산화제인 Ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = [1 - (\text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{blank}})] \times 100$$

6. 통계처리

본 실험에서 도출된 결과는 Statistical Package for Social Science(SPSS)를 사용하여 통계 분석하였다. 실험군당 평균±표준오차로 나타내었고, 통계적 유의성 검정은 one-way analysis for variance(일원 배치 분산분석)를 실시 한 다음 p<0.05 수준에서 Duncan의 multiple range test을 활용하여 상호 검정하였다.

제 3장 실험 결과 및 고찰

제 1절 이화학적 성분 분석

1. 일반성분

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 일반성분 분석 결과는 Table 7과 같다. 단호박의 일반성분은 수분 8.0%, 조단백 7.35%, 조지방 0.87%, 조회분 4.5%, 탄수화물 79.28%로 나타났다. 늪은호박의 일반성분은 수분 9.97%, 조단백 10.75%, 조지방 1.17%, 조회분 10.32%, 탄수화물 67.79%로 나타났다. 마지막으로 땅콩호박의 일반성분은 수분 7.44%, 조단백 7.68%, 조지방 0.56%, 조회분 10.34%, 탄수화물 73.98%로 나타났다. 각 호박의 일반성분을 비교해 보았을 때, 수분과 조지방은 늪은호박, 단호박, 땅콩호박 순으로 높았으며 조단백은 늪은호박, 땅콩호박, 단호박 순으로 높았다. 조회분은 땅콩호박, 늪은호박, 단호박 순으로 높은 것을 확인할 수 있으며 마지막으로 탄수화물은 단호박, 땅콩호박, 늪은호박 순으로 높다.

단호박과 늪은호박의 영양성분을 분석한 Kim 등(2005)(13)의 선행논문과 본 실험의 결과를 비교한 결과 조지방을 제외한 요소들에서 많은 차이가 나타났다. 하지만 이는 건식기준인 본 실험과 습식기준은 선행논문의 차이 때문이라고 사료된다.

Dari & Yaro(2016)(36)가 연구한 가나 유래 땅콩호박의 일반성분 분석 결과는 다음과 같았다. 건물 중량으로 환산하였을 때 조회분 함량은 55.46%, 조지방 함량은 약 0.72%, 조단백질 함량은 약 4.81%로 측정되었다. Jacobo & Valenzuela 등(2011)(37)이 연구한 멕시코 유래 땅콩호박의 일반성분 분석 결과는 다음과 같았다. 조단백질 함량은 약 16.69%, 조회분 함량은 약 10.54% 측정되어, 본 실험의 일반성분 결과와는 다소 차이를 보였다. 이는 땅콩호박의 재배시기 및 원산지에 따른 차이에 기인한 결과라고 생각된다.(Hwang 등 2011)(38)

Table 7. Proximate compositions of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash power

(% , dry basis)

Composition	Kobacha squash ³⁾	Pumpkin	Butternut squash
Moisture	8.00±0.44 ^{2)b}	9.97±0.54 ^a	7.44±0.20 ^b
Crude protein	7.35±0.28 ^b	10.75±0.53 ^a	7.68±0.31 ^b
Crude Fat	0.87±0.07 ^b	1.17±0.14 ^a	0.56±0.03 ^c
Crude Ash	4.50±0.26 ^b	10.32±0.76 ^a	10.34±0.69 ^a
Carbohydrate ¹⁾	79.28±0.17 ^a	67.79±1.97 ^c	73.98±1.23 ^b

¹⁾Carbohydrate = 100 - (moisture + crude protein + crude fat + crude ash).

²⁾All values are expressed as mean ± SE of triplicate determinations.

^{3)a-c}Means in row with different letters are significantly different Significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

2. 유리 아미노산

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 유리 아미노산 분석 결과는 제시된 Table 8과 같다. 분석 결과 총 23종의 아미노산 중에서 단호박 22종, 늪은호박 15종, 땅콩호박에서는 19종의 아미노산이 검출되었다. 먼저 세 종류의 호박 모두에서 검출된 아미노산 함량의 순서를 비교해보았다. Aspartic acid, Threonine, Asparagine, Glutamic acid, Proline, Glycine, Valine, Methionine, Histidine은 늪은호박, 땅콩호박, 단호박 순이었으며 Serine, Alanine, Isoleucine, Leucine, γ -amino-n-butyric acid은 늪은호박, 단호박, 땅콩호박 순이었으며 Arginine은 단호박, 땅콩호박, 늪은호박 순으로 높은 걸 확인할 수 있다. 다음으로 두 종류의 호박에서 검출된 아미노산 함량의 순서를 살펴보면 Tyrosine은 단호박, 땅콩호박 순이며 Phenylalanine, Lysine은 땅콩호박, 단호박 순임을 확인할 수 있다. 마지막으로 Cystine, β -aminoisobutyric acid, Carnosine, Tryptophan은 단호박에서만 검출되었으며 Ornithine은 땅콩호박에서만 검출되었다. 단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 필수 아미노산 함량은 각각 8종, 5종, 7종의 필수 아미노산이 검출되었다. 단호박에서는 모든 종류의 필수아미노산이 검출되었으며 Threonine, Valine, Methionine, Isoleucine, Leucine은 모든 종류의 호박에서 공통으로 검출되었다. Phenylalanine, Lysine은 늪은호박을 제외한 단호박과 땅콩호박에서 검출되었으며 Tryptophan은 단호박에서만 검출되었다. 총 아미노산의 함량은 단호박은 3429.91 ± 86.86 mg%, 늪은호박은 14726.23 ± 219.96 mg%, 땅콩호박은 3716.20 ± 103.71 mg%로 나타나 늪은호박, 땅콩호박, 단호박 순으로 총 아미노산 함량이 높은 것을 확인할 수 있다.

Table 8. Free amino acids contents of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash power

(mg%, dry basis)

Amino acid	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
Aspartic acid	179.90±2.771)c2)	6540.70±42.47a	985.75±17.57b
Threonine	68.17±0.85b	710.82±12.65a	71.34±0.61b
Serine	146.68±2.37b	636.73±14.23a	105.88±2.38c
Asparagine	400.72±16.60c	724.42±6.34a	599.95±11.09b
Glutamic acid	54.34±0.68b	409.75±10.31a	62.08±0.81b
Proline	41.50±0.51c	62.60±1.53a	52.65±0.39b
Glycine	26.52±0.73c	88.12±3.16a	33.66±1.96b
Alanine	189.47±5.05b	523.47±8.29a	118.88±4.44c
Valine	116.00±3.63c	798.92±19.71a	184.93±2.53b
Cystine	3.30±0.11	-	-
Methionine	32.52±1.56b	190.77±7.70a	37.46±2.22b
Isoleucine	130.55±2.73b	517.66±8.98a	37.08±2.19c
Leucine	120.73±3.25b	229.73±11.35a	55.80±3.33c
Tyrosine	145.99±4.05a	-	99.66±7.96b
Phenylalanine	80.01±4.48b	-	111.55±11.27a
β-aminoisobutyric acid	186.11±5.26	-	-
γ-amino-n-butyric acid	517.47±.16b	2493.88±53.17a	352.59±7.12c
Histidine	62.73±2.98b	248.05±12.28a	79.45±4.21b
Carnosine	22.11±1.40	-	-
Tryptophan	32.10±1.98	-	-
Ornithine	-	-	11.16±1.07
Lysine	29.35±3.56b	-	128.18±9.64a
Arginine	843.65±18.69a	550.61±7.79c	588.15±12.92b
Total	3429.91±86.86b	14726.23±219.96a	3716.20±103.71b

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determination

²⁾a-c Means in row with different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

3. 지방산

단호박, 늙은호박 및 땅콩호박의 지방산을 분석한 결과는 제시된 Table 9와 같다. 단호박에서는 포화지방산 6종과 불포화지방산 5종이 검출되었고 늙은호박에서는 포화지방산 4종과 불포화지방산 3종이 검출되었다. 마지막으로 땅콩호박에서는 포화지방산 9종과 불포화지방산 4종이 검출되었다. 공통적으로는 포화지방산인 Myristic acid, Palmitic acid, Stearic acid과 단일 불포화지방산인 Oleic acid, 다가 불포화지방산인 리놀레산, 리놀렌산이 검출되었다. 먼저 포화지방산을 살펴보면 공통적으로 검출된 포화지방산 함량의 순서로는 Myristic acid, Palmitic acid은 땅콩호박, 늙은호박, 단호박 순이었으며 Stearic acid은 늙은호박, 땅콩호박, 단호박 순이었다. Heptadecanoic acid, Behenic acid, Lignoceric acid은 단호박보다 땅콩호박에서 함량이 높았으며 Arachidic acid은 땅콩호박보다 늙은호박이 함량이 높았다. Luric acid, Pentadecanoic acid은 땅콩호박에서만 검출되었다. 다음으로 불포화지방산을 살펴보면 단일 불포화지방산인 Oleic acid은 단호박, 늙은호박, 땅콩호박 순으로 나타났으며 cis-11-Eicosenoic acid은 단호박에서만 검출되었다. 다가 불포화지방산 겸 필수지방산인 Linoleic acid은 단호박, 땅콩호박, 늙은호박 순이었으며 Linolenic acid은 땅콩호박, 단호박, 늙은호박 순이었다. Arachidonic acid은 늙은호박에서는 검출되지 않았으며 땅콩호박보다 단호박이 함량이 높았다. 총 포화지방산은 단호박 32.63 ± 2.88 g%, 늙은호박 51.11 ± 4.97 g%, 땅콩호박 50.57 ± 3.67 g%로 포화지방산의 조성이 가장 적게 검출된 늙은호박이 가장 많이 검출된 땅콩호박보다 총 함량이 높은 걸 확인할 수 있다. 총 불포화지방산은 단호박 41.76 ± 4.833 g%, 늙은호박 24.98 ± 3.70 g%, 땅콩호박 42.26 ± 4.63 g%로 땅콩호박에서 가장 높게 검출되었다. 하지만 단일 불포화지방산의 함량을 포함하면 단호박에서 불포화지방산이 가장 많이 검출되었다. 즉, 단호박이 포화지방 함량이 가장 낮고 불포화지방 함량은 가장 높다는 걸 알 수 있다.

Table 9. Compositions of fatty acids in Kobacha squash, pumpkin and butternut squash

(mg%, dry basis)

Fatty acid	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
Luric acid (C12:0)	-	-	2.00±0.08
Myristic acid (C14:0)	0.37±0.02 ^{1)c2)}	1.34±0.08 ^b	2.06±0.07 ^a
Pentadecanoic acid (C15:0)	-	-	0.52±0.06
Palmitic acid (C16:0)	26.72±2.61 ^{NS3)}	31.30±2.78	32.87±3.06
Heptadecanoic acid (C17:0)	0.26±0.02 ^b	-	0.72±0.03 ^a
Stearic acid (C18:0)	3.86±0.15 ^c	17.94±2.07 ^a	9.39±0.23 ^b
Arachidic acid (C20:0)	-	0.53±0.04	0.49±0.04 ^{NS}
Behenic acid (C22:0)	0.73±.04 ^b	-	1.45±0.06 ^a
Lignoceric acid (C24:0)	0.69±0.04 ^b	-	1.07±0.04 ^a
Saturated	32.63±2.88^b	51.11±4.97^a	50.57±3.67^a
Oleic acid (C18:1n9c)	25.36±2.45 ^a	23.90±2.91 ^a	7.16±0.82 ^b
cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	0.26±0.02	-	-
Monounsaturated	25.62±2.47^a	23.90±2.91^a	7.16±0.82^b
Linoleic acid (C18:2n6c)	22.73±2.33 ^a	12.30±2.05 ^b	18.96±.06 ^a
Linolenic acid (C18:3n3)	18.76±2.48 ^a	12.68±1.65 ^b	23.05±2.56 ^a
Arachidonic acid (C20:4n6)	0.27±0.02 ^{NS}	-	0.25±0.01
Polyunsaturated	41.76±4.83^a	24.98±3.70^b	42.26±4.63^a

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

^{2)a-c}Means in row with different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

³⁾NS: not significant.

4. 유기산

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 유기산을 분석한 결과는 제시된 Table 10과 같다. 단호박에서는 Citric acid, Malic acid 2종의 유기산이 검출되었고 늪은호박에서는 Citric acid, Malic acid, Succinic acid 3종의 유기산이, 땅콩호박에서는 Citric acid, Malic acid 2종의 유기산이 검출되었다. 모든 호박에서 검출된 Citric acid는 늪은호박, 땅콩호박, 단호박 순이었으며 Malic acid는 땅콩호박, 단호박, 늪은호박 순으로 함량이 높았다. Succinic acid는 늪은 호박에서만 검출되었다. 총 유기산 함량은 단호박 17370.85 ppm, 늪은호박 31713.75 ppm, 땅콩호박 53449.99 ppm이 검출되어 땅콩호박, 늪은호박, 단호박 순으로 유기산을 함유하고 있다는 것을 알 수 있다.

Table 10. Contents of organic acids in Kobacha squash, pumpkin and butternut squash powder

(mg%, dry basis)

Organic acid	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
Citric acid	5314.94±93.73 ^{1)(c2)}	25153.63±188.46 ^a	13558.00±80.71 ^b
Malic acid	12055.91±207.13 ^b	6400.76±97.41 ^c	39891.99±189.53 ^a
Succinic acid	-	159.35±6.47	-
Total	17370.85	31713.74	53449.99

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

²⁾^{a-c}Means in row with different letters are significantly different($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test

5. 비타민

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 비타민 A, C 및 E의 분석 결과는 제시된 Table 11과 같다. 비타민 A는 단호박 692.42 ± 12.11 mg%, 늪은호박 97.23 ± 8.98 mg%, 땅콩호박 105.63 ± 9.67 mg%으로 단호박, 땅콩호박, 늪은호박 순이었으며 비타민 E 또한 단호박 47.11 ± 4.54 mg%, 늪은호박 22.50 ± 1.79 mg%, 땅콩호박 27.26 ± 2.82 mg%으로 비타민A와 같은 순서의 함량을 가지고 있음을 알 수 있었다. 비타민 C는 단호박 480.18 ± 12.55 mg%, 늪은호박 692.34 ± 25.24 mg%, 땅콩호박 1804.32 ± 32.77 mg%으로 땅콩호박, 늪은호박, 단호박 순으로 함량이 높았다.

Table 11. Contents of Vitamin A, C and E in Kobacha squash, pumpkin and butternut squash powder

(mg%, dry basis)

Vitamin	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
Vitamin A(RE)	$692.42 \pm 12.11^{1)a2)}$	97.23 ± 8.98^b	105.63 ± 9.67^b
Vitamin C	480.18 ± 12.55^c	692.34 ± 25.24^b	1804.32 ± 32.77^a
Vitamin E	47.11 ± 4.54^a	22.50 ± 1.79^b	27.26 ± 2.82^b

¹⁾RE: Retinol Equivalent

²⁾All values are expressed as mean \pm SE of triplicate determinations.

³⁾a-c Means in row with different letters are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

6. 무기질

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 무기질 분석 결과는 제시된 Table 12와 같다. 다양한 종류의 무기질 중 K가 세 종류의 호박에서 가장 많이 함유되어 있다. 단호박의 경우 K, Ca, Mg, Fe, Na, Zn, Cu, Mn 순으로 높은 함량을 보였고 늪은호박의 경우 K, Mg, Ca, Fe, Zn, Na, Cu, Mn 순이었으며 마지막으로 땅콩호박은 K, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn, Na 순으로 높은 함량을 보였다. 무기질 중 Na은 단호박에서 가장 높았으며 K, Fe는 늪은호박에서 높게 검출되었다. 반면 Ca, Mg, Mn, Cu, Zn의 함량은 땅콩호박에서 높게 검출되었다.

Table 12. Contents of minerals in Kobacha squash, pumpkin and butternut squash powder

(mg%, dry basis)

Mineral	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
Ca	84.34±0.85 ^{1)c2)}	124.80±3.56 ^b	293.31±8.48 ^a
K	1602.31±22.68 ^c	3776.05±45.88 ^a	3476.02±35.25 ^b
Mg	68.54±1.48 ^c	128.22±3.49 ^b	140.03±4.55 ^a
Fe	1.78±0.14 ^b	2.33±0.05 ^a	2.10±0.11 ^a
Na	1.38±0.05 ^a	1.32±0.07 ^a	0.51±0.03 ^b
Mn	0.15±0.02 ^c	0.35±0.02 ^b	0.52±0.04 ^a
Cu	0.39±0.03 ^c	0.49±0.04 ^b	0.72±0.04 ^a
Zn	0.98±0.08 ^c	1.84±0.07 ^b	2.20±0.11 ^a

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

^{2)a-c}Means in row with different letters are significantly different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

7. 색도

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 색도 측정 결과는 제시된 Table 14와 같고 분말은 Fig. 2와 같다. 단호박의 명도 L값은 50.36 ± 0.05 , 적색도 a값은 1.91 ± 0.03 , 황색도 b값은 33.55 ± 0.16 으로 나타났다. 늪은호박의 명도 L값은 54.32 ± 0.17 , 적색도 a값은 12.79 ± 0.042 , 황색도 b값은 38.56 ± 0.14 으로 나타났다. 마지막으로 땅콩호박의 명도 L값은 52.60 ± 0.29 , 적색도 a값은 10.68 ± 0.05 , 황색도 b값은 39.47 ± 0.05 으로 나타났다. 명도와 적색도는 늪은호박, 땅콩호박, 단호박 순인 반면에 황색도는 땅콩호박, 늪은호박, 단호박 순으로 나타났다. Figure 2을 통해서 시각적으로 색도의 차이를 확인할 수 있다.



Figure 2. Photograph of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash.

Table 13. Colorimetric characteristic of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash

Color	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
L	50.36±0.05 ^{1)c}	54.32±0.17 ^a	52.60±0.29 ^b
a	1.91±0.03 ^c	12.79±0.042 ^a	10.68±0.05 ^b
b	33.55±0.16 ^c	38.56±0.14 ^b	39.47±0.05 ^a

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

²⁾^{a-c}Means in row with different letters are significantly different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

8. pH 및 당도

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 pH 및 당도 측정 결과는 제시된 Table 13과 같다. 단호박의 pH는 6.89 ± 0.02 , 늪은호박의 pH는 6.24 ± 0.09 , 땅콩호박의 pH는 5.95 ± 0.04 로 측정되었다. 당도는 각 호박의 원물형태와 분말형태의 시료를 가지고 측정하였다. 먼저 원물형태의 당도는 각각 12.02 ± 0.02 °Brix, 7.61 ± 0.01 °Brix, 4.70 ± 0.01 °Brix가 측정되었다. 분말형태의 당도는 각각 7.87 ± 0.06 °Brix, 7.50 ± 0.00 °Brix, 5.33 ± 0.06 °Brix가 측정되었다. 원물과 분말 모두 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 순으로 당도가 가장 높음을 알 수 있다.

Table 14. pH and °Brix of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash powder

Item		Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
pH		6.89 ± 0.02^a	6.24 ± 0.09^b	5.95 ± 0.04^c
°Brix (Sugar content)	Raw	12.02 ± 0.02^a	7.61 ± 0.01^b	4.70 ± 0.01^c
	Powder	7.87 ± 0.06^a	7.50 ± 0.00^b	5.33 ± 0.06^c

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

²⁾^{a-c}Means in row with different letters are significantly different($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

제 2절 항산화 효과 측정

1. 추출 수율

단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 항산화 효과를 측정하기 위해 동결 건조 후 마쇄한 시료를 80% ethanol로 추출하였다. 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 추출물의 추출 수율은 Table 15와 같다. 각각 23.97 ± 0.43 %, 25.64 ± 0.29 %, 24.31 ± 0.31 % 였다.

Table 15. Extraction yield of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash ethanol extracts

Item	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
Extraction yield (%, dry basis)	$23.97 \pm 0.43^{1)NS2)}$	25.64 ± 0.29	24.31 ± 0.31

¹⁾All values are expressed as mean \pm SE of triplicate determinations.

²⁾NS; Not significant.

2. 총 polyphenol 함량

식물계에 분포하는 2차 대사산물인 페놀성 화합물은 수산기로 치환된 방향족 화합물로 식물의 대표적인 2차 대사산물이다. 거대분자 및 단백질 효소와 쉽게 결합할 수 있는 성질을 가지고 있어 항산화, 항산화, 항당뇨, 항암, 항염증 및 항노화 등의 다양한 생리 활성 능력을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(39, 40).

본 실험에서 진행한 단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 총 polyphenol 함량 분석 결과는 제시된 Table 16과 같다. 단호박은 143.38 ± 1.19 mg GAE/g 검출되었고, 늪은호박은 155.16 ± 3.53 mg GAE/g 이 검출되었으며 마지막으로 땅콩호박은 147.16 ± 0.16 mg 검출되어 총 polyphenol 함량은 늪은호박, 땅콩호박, 단호박 순으로 함유되어 있음을 알 수 있다.

Table 16. Total polyphenol content of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash ethanol extracts

Item	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
Total polyphenol (mg GAE ¹⁾ /g)	$143.38 \pm 1.19^{2)3)}$	155.16 ± 3.53^a	147.16 ± 0.16^b

¹⁾ Galic acid equivalent.

²⁾ All values are expressed as mean \pm SE of triplicate determinations

³⁾ ^{a-b}Means in row with different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

3. 총 flavonoid 함량

Flavonoid는 벤젠 고리 2개가 3개의 탄소에 의해 연결이 된 구조를 가지고 있는 물질군이다. 플라보노이드에는 플라본(Flavones), 플라바논(flavanones), 이소플라본(isoflavones), 플라보놀(flavonols), 및 플라보놀(flavanonols) 등으로 구성되어 있다(41). Flavonoid는 채소 및 과일과 같은 식물성 식품에 다량 함유되어 있으며 항알레르기, 항염, 항균, 항산화 작용, 심장질환 예방 등에 효과가 있다고 알려져 있다(42, 43).

본 실험에서 진행한 단호박, 늪은호박 및 땅콩호박의 총 flavonoid 함량 분석 결과는 제시된 Table 17과 같다. 단호박은 10.91 ± 0.17 mg QE/g 검출되었고 늪은호박은 19.00 ± 0.17 mg QE/g 검출되었으며 땅콩호박은 3.91 ± 0.09 mg QE/g 검출되었다. 총 flavonoid 함량은 늪은호박, 단호박, 땅콩호박 순으로 많이 함유하고 있음을 알 수 있다.

Table 17. Total flavonoid content of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash ethanol extracts

Item	Kobacha squash	Pumpkin	Butternut squash
Total flavonoid (mg QE ¹⁾ /g)	$10.91 \pm 0.17^{2)b3)}$	19.00 ± 0.17^a	3.91 ± 0.09^c

¹⁾ Quercetin equivalent.

²⁾ All values are expressed as mean \pm SE of triplicate determinations

³⁾ ^{a-b}Means in row with different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

4. DPPH radical 소거능

항산화 물질의 가장 큰 특징은 유리기와 반응을 하는 것이다. 유리기 소거작용은 활성 radical에 전자를 공여하여 노화를 억제하는 용도로 이용된다(44). DPPH radical 소거능 측정은 항산화활성 측정방법 중의 하나로 비교적 안정한 radical인 짙은 자색의 DPPH를 소거할 수 있는 항산화 물질의 활성을 측정하는 방법이다. DPPH 농도의 감소정도를 나타내거나 대조군의 DPPH 농도를 절반정도 감소하는데 필요한 실험군의 농도로 표현하는 것이다(45). 색상의 변화정도를 사용하여 항산화 활성을 측정하기 때문에 상대적으로 실험이 용이하고 간단하여 널리 사용되고 있다(46, 47).

본 실험에서 진행한 단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 DPPH radical 소거능 분석 결과는 제시된 Table 18과 같다. 단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 DPPH 라디칼 소거능 1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 각각 13.21%, 10.33% 및 7.29%였다. 추출물의 농도가 증가하면서 DPPH 라디칼 소거능도 함께 증가하는 경향을 보여 20000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 각각 27.29%, 39.84% 및 22.44%를 나타냈다. 1000 $\mu\text{g/mL}$ 및 2500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 측정한 DPPH radical 소거능은 늪은호박, 단호박, 땅콩호박 순으로 DPPH radical 소거능이 더 높았지만, 5000 $\mu\text{g/mL}$ 이상에서는 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 순으로 DPPH radical 소거능이 더 높음을 알 수 있다. 양성대조군인 BHA와 BHT 및 Vt.C(Ascorbic acid)와 비교해보면 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 모두 모두 낮은 것으로 나타났다.

Table 18. DPPH radical scavenging activity of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash ethanol extracts

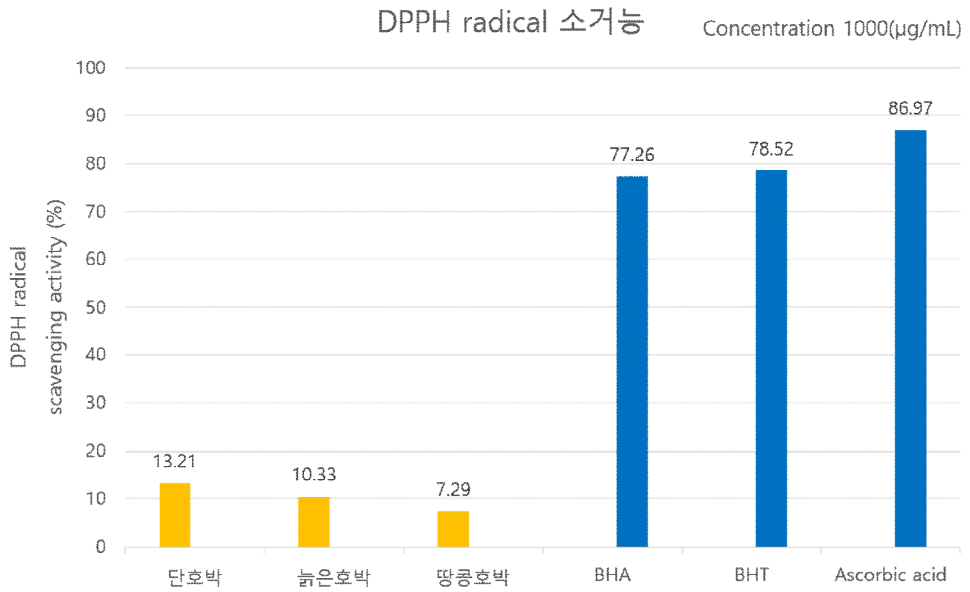
Item	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH radical scavenging activity (%)
Kobacha squash	20000	27.29 ± 1.19^{2b}
	10000	20.42 ± 1.20^b
	5000	18.02 ± 0.84^a
	2500	15.90 ± 1.32^a
	1000	13.21 ± 0.11^c
Pumpkin	20000	39.84 ± 2.28^a
	10000	26.30 ± 0.21^a
	5000	19.80 ± 0.48^a
	2500	15.05 ± 0.81^a
	1000	10.33 ± 0.09^d
Butternut squash	20000	22.44 ± 0.62^c
	10000	16.89 ± 0.10^c
	5000	13.71 ± 0.37^b
	2500	10.27 ± 0.33^b
	1000	7.29 ± 0.08^e
BHA ¹⁾	1000	77.26 ± 0.31^b
BHT ¹⁾	1000	78.52 ± 0.24^b
Ascorbic acid	1000	86.97 ± 0.00^a

¹⁾BHT: butylated hydroxytoluene, BHA: butylated hydroxyanisole.

²⁾All values are expressed as mean \pm SE of triplicate determinations.

³⁾Values with different letters in the same concentration are significantly different at $p < 0.05$.

Figure 3. DPPH radical-scavenging activity of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash power



5. ABTS radical 소거능

ABTS radical을 이용한 항산화 측정은 단시간에 측정을 할 수 있고 소수성 및 친수성 물질의 항산화 활성 정도측정에 모두 적용할 수 있어서 항산화 측정을 검증하는데 많이 사용되고 있다. potassium persulfate(과망간산칼륨)와의 반응하여 활성 양이온인 ABTS+ 이 생성된다. ABTS+ 가 추출물의 항산화 물질에 의해 소거되면 radical 특유의 색인 청록색이 탈색이 되는데, 이때 탈색되는 정도를 라디칼 소거능으로 나타나게 되는 것을 이용한 방법이다(48, 49).

본 실험에서 진행한 단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 ABTS radical 소거능 분석결과는 제시된 Table 19과 같다. 단호박, 늪은호박, 땅콩호박의 ABTS 라디칼 소거능 1000 µg/mL에서 각각 15.99%, 24.92% 및 16.16%였고, 추출물 농도가 감소함에 따라 ABTS radical 소거능도 함께 감소하는 경향을 보여 125 µg/mL에서 각각 4.51%, 5.48% 및 5.02%를 나타냈다. ABTS radical 소거활성도는 모든 농도에서 늪은호박, 땅콩호박, 단호박 순으로 소거능이 높음을 알 수 있다. 양성대조군인 BHA와 BHT 및 Vt.C(Ascorbic acid)와 비교해보면 단호박, 늪은호박, 땅콩호박 모두 모두 낮은 것으로 나타났다.

Table 19. ABTS radical scavenging activity of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash ethanol extracts

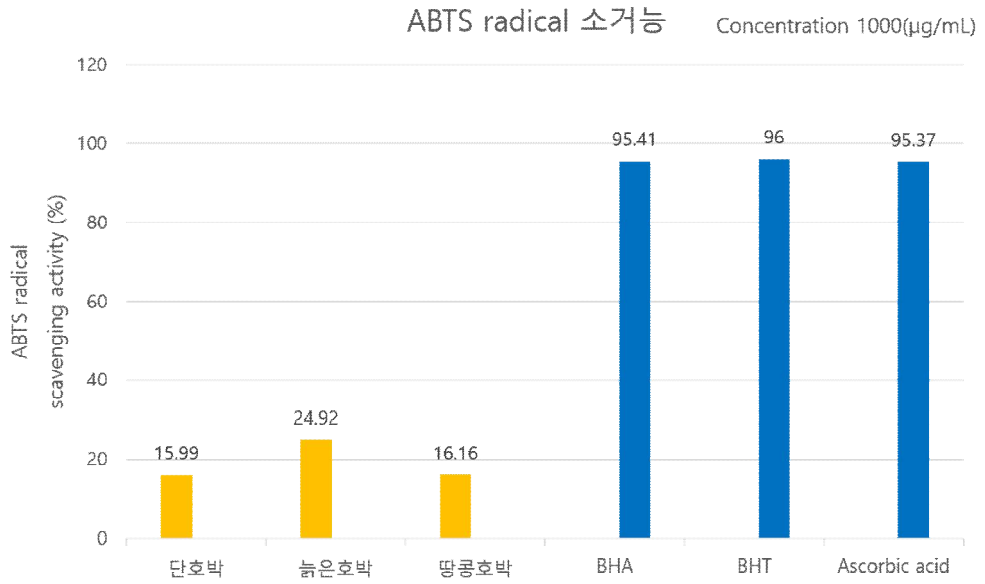
Item	Concentration	ABTS radical scavenging activity (%)
Kobacha squash	1000	15.99±0.53 ^{2)c}
	500	9.44±1.28 ^b
	250	7.06±0.15 ^b
	125	4.51±1.06
Pumpkin	1000	24.92±0.71 ^b
	500	13.48±0.52 ^a
	250	8.29±0.58 ^a
	125	5.48±2.21
Butternut squash	1000	16.16±0.37 ^c
	500	10.37±1.19 ^a
	250	7.19±0.75 ^b
	125	5.02±0.97
BHA ¹⁾	1000	95.41±0.13 ^a
BHT ¹⁾	1000	96.00±0.07 ^a
Ascorbic acid	1000	95.37±0.07 ^a

¹⁾BHT: butylated hydroxytoluene, BHA: butylated hydroxyanisole.

²⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

³⁾Values with different letters in the same concentration are significantly different at $p < 0.05$.

Figure 4. ABTS radical-scavenging activity of Kobacha squash, pumpkin and butternut squash power



제 4장 요약 및 결론

본 연구는 단호박, 늙은호박, 땅콩호박의 영양 성분 및 항산화 활성을 분석하였다. 단호박, 늙은호박, 땅콩호박의 일반성분을 비교하였을 때, 단호박에서는 탄수화물의 함량이 높게 나왔고 늙은호박은 수분, 조단백과 조지방의 함량이 높았으며 땅콩호박에서는 조회분의 함량이 높게 나타났다. 유리 아미노산을 분석한 결과, 필수아미노산이 단호박, 늙은호박, 땅콩호박에서 각각 8종, 5종, 7종이 검출되었다. 공통적으로 asparatic acid, asparagine, threonine, serine, glutamic acid, glycine, proline, alanine, methionine, valine, isoleucine, leucine, γ -amino-n-butyric, histidine, arginine이 검출되었고, cystine, β -aminoisobutyric acid, carnosine, tryptophan은 단호박에서만 검출되었으며 orinitine은 땅콩호박에서만 검출되었다. 단호박에서 가장 많은 종류의 유리아미노산이 검출되었음을 알 수 있다. 지방산을 분석한 결과, 포화지방산 함량은 늙은호박에서 높게 검출되고 단일 불포화지방산 함량은 단호박에서, 다가 불포화지방산은 땅콩호박에서 높게 검출되었다. 하지만 총 불포화지방산 함량은 단호박이 가장 높음을 알 수 있다. 또한 단호박과 땅콩호박는 필수지방산에 속하는 Linoleic acid, Linolenic acid, Aracidonic acid가 모두 검출되었으나 늙은호박에서는 Linoleic acid와 Linolenic acid만 검출되었다. 유기산을 분석한 결과 Succinic acid는 늙은호박에서만 검출되었다. 단호박과 늙은호박에서는 Citric acid가 높게 나타났고, 땅콩호박에서는 Malic acid가 높게 나타났다. 비타민을 분석한 결과, 단호박에서 비타민 A와 E가 높게 나타났으며 비타민 C는 땅콩호박에서 높게 나타났다. 무기질을 분석한 결과 모든 호박에서 총 8종의 무기질이 검출되었다. 모든 호박에서 K(칼륨)의 성분이 가장 높게 검출이 되었으며, 총 무기질 함량은 늙은호박이 가장 높게 나타났다. 색도를 비교한 결과 명도와 적색도는 늙은호박에서 높게 나타났고, 황색도는 땅콩호박에서 높게 나타났다. 이는 분말로 관찰해보면 셋의 차이를 쉽게 확인할 수 있었다. pH와 원물 및 분말

형태의 당도는 모두 단호박에서 높게 나타났다. 총 polyphenol 함량은 늙은호박, 땅콩호박, 단호박 순으로 나타났지만 유의적인 차이는 없었다. 하지만 총 flavonoid 함량은 늙은호박, 단호박, 땅콩호박 순으로 나타났으며 polyphenol 함량과 다르게 유의적으로 차이가 있었다. DPPH radical 소거능은 모든 농도에서 땅콩호박의 소거능이 가장 낮았으며 1000 µg/mL 및 2500 µg/mL 에서는 단호박의 소거능이 가장 높았지만 이외의 농도에서는 늙은호박의 소거능이 높게 나타났다. ABTS radical 소거능 분석결과 모든 농도에서 늙은호박, 땅콩호박, 단호박 순으로 나타났다.

단호박, 늙은호박, 땅콩호박 간의 영양성분 분석 결과 우리가 흔히 구할 수 있는 단호박에서 필수 아미노산, 필수지방산, 비타민 A, 당도의 함량이 높게 나타났다. 늙은호박 또한 다량의 유리아미노산, 유기산, 무기질이 검출되었다. 땅콩호박은 단맛이 강하고 비타민 A가 풍부하다고 알려져 있지만 두 성분 모두 단호박이 가장 높음을 알 수 있다. 이는 우리가 흔히 구할 수 있는 호박이 영양적으로는 가치가 더 높을 수도 있음을 시사한다. 아직 땅콩호박에 관한 연구가 많이 진행되지 않아 여러 가지 표준물질을 활용한 다양한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 더불어 땅콩호박을 고부가가치 식품소재로 활용하기 위해서는 다양한 생리활성 연구와 더불어 지표물질 성분분석이 뒷받침되어야 한다고 생각한다.

제 5장 참고문헌

1. Korea Association of Health promotion. 2002. "심혈관질환의 예방 및 영양관리." 건강소식 26.12: 6-13.
2. Gang Eun-Hui. 2012. "건강과 식생활 - 심혈관질환과 영양." 한맛한열 5.1: 48-53.
3. Cazzonelli CI. 2011. Carotenoids in nature: insights from plants and beyond. *Funct Plant Biol.* 38: 833-847.
4. Eldahshan OA, Singab ANB. 2013. Carotenoids. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 2: 225-234.
5. Azevedo-Meleiro, CH, Rodriguez-Amaya DB. 2007. Qualitative and quantitative differences in carotenoid composition among *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, and *Cucurbita pepo*. *Journal of agricultural and food chemistry.* 55: 4027-4033.
6. Rural Nutrition Research Institute, Rural Development Administration. Food Analysis Table. 3rd revised edition. 1986. p74.
7. Heo SJ, Lim. JH, Kim JK, Moon KD. 1988. The comparison of food constituents in pumpkin and sweet pumpkin. *Journal of the Korean Society of Food Culture.* 13: 91-96.
8. Kim SR, Ha TY, Song HN, Kim YS, Park YK. 2005. Comparison of nutritional composition and antioxidative activity for kobacha squash and pumpkin. *Korean Journal Food*

Science Technology. 37: 171-177.

9. Cumarasamy R, Corrigan V, Hurst P, Bendall M. 2002. Cultivar differences in New Zealand Kobacha (buttercup squash, *Cucurbita maxima*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 30:3 197-208.
10. Jeong KY, Kim MY, Chun SS. 2008. Quality characteristics of Sulgidduk with concentrated sweet pumpkin powder. *Korean Journal Society of Food & Cook Science*. 24: 849-855.
11. Kim SY. 2017. Quality Characteristics of Makgeolli Added with Various Amounts of Pumpkin Powder. Domestic Master's Thesis, Graduate School of Industry, Myongji University, Seoul.
12. Kim CK. 2005. Optimum Processing and quality evaluation of pumpkin-added Sikhe. Master's Thesis, Graduate School of Industry, Pukyong National University.
13. Kim SR, Ha TY, Song HN, Kim YS, Park YG. 2005. Comparison of Nutritional Composition and Antioxidative Activity for Kobacha Squash and Pumpkin. *Korean Journal Food Science Technology*. 37(2), 171-177.
14. Lee HJ, Do JR, Kwon JH, Kim HK. 2010. Physiological activities of *Cucurbita moschata* Duch. extracts with different extraction conditions. *Journal Korean Society of Food Science Nutrition*. 39: 165-171.
15. Whang HJ, Park YK, Seog HM. 1999. Carotenoid pigment of

- pumpkin cultivated in Korea. *Korean Journal of Food and Nutrition*. 12: 508-512.
16. Do GP, Lee HJ, Do JR, Kim HK. 2012. Antiobesity effect of the Cucubita moschata Duch extracts in 3T3-L1 adipocyets. *Korean Journal of Food Preserve*. 19: 138-143.
 17. Park YG. 1991. Food Technology, Korea Food Research Institute. 4(4): 17.
 18. Nam HG, Ko DH. 1994. Korean pumpkin fatty acids. *Korean Journal of Food and Nutrition*. 7(2): 95-99.
 19. Olson SM, Simonne EH, Stall WM, Robers PD, Webb SE, Taylor TG, Smith SA, Freeman JH. 2006. Cucurbit Production in Florida. pp.77-106. Vegetable Production Handbook for Florida.
 20. Slaska-Grzywna B, Blicharz-Kania A, Sagan A, Nadulski R, Hanusz Z, Andrejko D, Szmigielski M. 2016. Changes in the texture of butternut squash following thermal treatment. *Italian Journal of Food Science*. 28: 1-8.
 21. Itle RA, Kabelka EA. 2009. Correlation between L*a*b* color space values and carotenoid content in pumpkins and squash (Cucurbita spp.). *HortScience*. 44: 633-637.
 22. Zaccari F, Galietta G. 2015. α -Carotene and β -carotene content in raw and cooked pulp of three mature stage winter squash“type butternut”. *Foods*. 4: 477-486.

23. Shim WS, Lee OH, Kim HJ, Koo SB, Chae SH, Choi YW, Moon-hyo, and Park SM. 2020. Analysis of nutrients and physiological activity evaluation of peanut pumpkins with different drying methods. *Korea Food Products Association*. 33.1: 91-97.
24. AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA, 788.
25. Waters Associates. 1990. Analysis of amino acid in waters. PICO. TAG system. Young-in Scientific Co. Seoul, Korea, 41-46.
26. Van Wunngaarden D. 1967. Modified rapid preparation fatty acid esters from liquid for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*. 39: 848-850.
27. Kim DH, Lim DW, Bai S, Chun SB. 1997. Fermentation characteristics of whole soybean meju model system inoculated with 4 *Bacillus* strains. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 29: 1006-1015.
28. Korea Food and Drug Association. Food standards codex. 2005. Korean Foods Industry Association. Seoul, Korea, 367-385.
29. Rizzolo A, Formi E, Polesello A. 1984. HPLC assay of ascorbic acid in fresh and processed fruit and vegetables. *Food Chemistry*. 14: 189-199.

30. AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA, 878.
31. Lee KI, Kim SM. 2009. Antioxidative and antimicrobial activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. leaf extracts. *Journal Korean Society of Food Science Nutrition*. 38: 267-273.
32. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *Journal of Biological Chemistry*. 12: 239-243.
33. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW, Oh SH. 2002. Standard food analysis. Jigu-Moonwhasa. pp.381~382.
34. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 29: 1199-1200.
35. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231-1237.
36. Dari, L., & Yaro, N.S. 2016. Nutritional composition and storage of butternut squash. *Ghana Journal of Horticulture*, 12(1), 25-31.
37. Jacobo-Valenzuela, N., de Jesus Zazueta-Morales, J., GALLEGOS-INFANTE, J. A., Aguilar-Gutierrez, F., CAMACHO-HERNANDEZ, I. L., ROCHA-GUZMAN, N. E., &

- GONZALEZ-LAREDO, R. F. 2011. Chemical and physicochemical characterization of winter squash (*Cucurbita moschata* D.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 34-40.
38. Hwang, I. G., Kim, H. Y., Lee, J. S., Kim, H. R., Cho, M. C., Ko, I. B., & Yoo, S. M. 2011. Quality characteristics of Cheongyang pepper (*Capsicum annuum* L.) according to cultivation region. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 40(9), 1340-1346.
39. Kim JY, Lee JA, Park SY. 2007. Antivacterial activities of *Oenothera laciniata* extracts. *Journal Korean Society of Food Science Nutrition*. 36: 255-261.
40. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal Korean Society of Food Science Nutrition*. 29: 1127-1132.
41. Pietta Pier-Giorgio. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products* 63: 1035-1042.
42. Liu RH. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*. 134: 3479-3485.
43. Harborne JB, Williams CA. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55: 481-504.

44. Jang HJ, Bu HJ, Lee SJ. 2015. Screening for Antioxidative Activity of Jeju Native Plants. *Korean Journal of Plant Resources*. 28.2: 158-167.
45. Sharma OP, Bhat TK .2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113, 1201-1205.
46. Choi JS, Oh JI, Hwang IT, Kim SE, Chun JC, Lee BH, Kim JS, Kim TJ and Cho KY. 2003. "Application and High Throughput Screening of DPPH Free Radical Scavenging Activity by Using 96-Well Plate." *The Korean Journal of Pesticide Science*. 7.2: 92-99.
47. Musialik M, Litwinienko G. 2005. Scavenging of DPPH radicals by vitamin E is accelerated by its partial ionization: the role of sequential proton loss electron transfer. *Org Lett*, 7, 4951-4954.
48. van den Berg, R. Haenen, G. R. M. M., van den Berg, H. & Bast, A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, 66(4), 511-517.
49. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 26 p. 1231-1237.