KOREAN J. FOOD COOKERY SCI.
Vol. 28, No. 1 February, 2012

팥 추출물의 구강세균에 대한 항균성 및 일부 기능성 성분에 대한 연구

강소진 · 한영숙†
성신여자대학교 식품영양학과

Studies on the Anti Oralmicrobial Activity and Selected Functional Component of Small Red Bean Extract

So-Jin Kang and Young-Sook Han†
Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University

Abstract

This purpose of this study was to develop a tea with small red bean which have been known to have effect regarding anti-obesity, fatigue recovery, edema recovery, blood circulation, etc. In order to provide baseline data for small red bean tea we investigated the general components, antioxidative effect and proanthocyanidin analysis in small red beans[*Phaseolus angularis* W.F. Wight.]. Physicochemical analysis(pH, sugar content, salinity, turbidity), color, anti oralmicrobial activity, content of saponin and sensory test of small red bean with different boiling time in 8 minutes(SR1), 16 minutes(SR2), 24 minutes(SR3), 32 minutes(SR4), 40 minutes(SR5) was also measured. It was shown that the crude fat, carbohydrate, moisture, crude protein, crude ash content of small red bean were 1.0%, 63.9%, 12.8%, 18.7%, 3.6%. DPPH free radical scavenging activity, the total phenolic compounds content and flavonoid content increased significantly ($p<0.001$). The results of analyzed proanthocyanidin was distinguished by characteristic UV-visible spectra with absorption maximum at 320 nm(t_R 7.589 min). As the boiling time(8 minutes:SR1, 16 minutes:SR2, 24 minutes:SR3, 32 minutes:SR4, 40 minutes:SR5) of small red beans increaseds, the pH significantly decreased($p<0.001$). The sugar content, salinity and turbidity significantly increased($p<0.001$). Moreover, Hunter L, a and b values, crude saponin also increased($p<0.001$). The results of analyzed activity against oral bacteria, *S. mutans, S. sobrinus, P. intermedia* and *P. gingivalis* showed a higher antibacterial activities than *E. coli* and *S. aureus*. MIC was measured that *S. mutans, S. sobrinus, P. intermedia* and *P. gingivalis* showed a lower MICs than *E. coli* and *S. aureus*. The results regarding sensory test measures, In case of color, refreshing taste and overall quality, SR3 had the highest preference overall among tested samples. In cases conceming odor and taste, SR5 had the highest preference and with regards to sweetness and saltyness, SR4 had the highest preference.

Key words : small red bean, antibacterial activity, proanthocyanidin, saponin

I. 서 론

최근 경제성장에 따른 국민소득 향상으로 소비자들의 생활 수준이 크게 향상되었고 고령화 사회로 인해 건강한 삶에 대한 중요성이 커지면서 건강 기능성 식품에 대한 선호도가 증가하고 있다. 특히 성인병의 예방과 치료에 효능이 있는 저칼로리 식품을 선호하고 life cycle에 맞는 다양한 형태의 기능성 음료가 상품화 되고 있다(Kim SH 2011). 이러한 음료 시장의 변화 속에서 많은 매체를 통해서 차의 효능이 알려지면서 그동안 외면당했던 차가 오늘날 우리의 건강을 위한 음료로 인식되고 있다(Oh NS 2007). 그러나 현재, 기업 간 경쟁에 의해 차음료 시장은 과포화 상태가 되었고 그 성장률은 매년 감소하고 있다(김광수 등 2009). 따라서 새로운 기능성 차음료를 개발하는 것이 과포화된 차음료 시장에서 살아남는

†Corresponding author : Young-Sook Han, Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University
Tel: +82-2-920-7210
Fax: +82-2-920-2076
E-mail: yshan@sungshin.ac.kr

길이라고 할 수 있을 것이다.

팥(小豆 · 赤豆; small red bean, azuki bean, *Phaseolus angularis* W.F. Wight.)은 한해살이풀로 쌍떡잎식물 장미목 콩과로 분류된다(Cho JS 1984). 팥은 우리나라에서 쌀과 콩 다음으로 치는 오곡으로 동지(冬至)에 팥죽을 먹었으며 대문이나 벽에 팥죽을 뿌려 액(厄)을 쫓는 데 이용하기도 했다(김정숙 2008). 현재는 보통 밥밑용으로 이용되며 팥죽이나 떡, 빵의 속 재료뿐만 아니라 앙금, 양갱, 빙과제조용 등으로 이용되고 있다(Kim CG 등 2003). 팥은 성질이 따뜻하고 맛은 달고 독이 없으며 동의보감 에서는 설사와 이질, 창만을 치료하고 젖을 나오게 하며 각기병과 수종을 치료하고 몸을 여위게 하므로 지나치게 살찐 사람이 먹으면 좋다고 기록하고 있다(Hwang CS 2003). 팥의 안토시아닌은 proanthocyanidin으로 그 중에서도 cyanidin의 함량이 많은 것으로 알려져 있으며(Ryszard A 등 2006) 이 색소는 항산화 및 항종양 효과를 나타내는 것으로 보고되었다(Hwang CS 등 2005). 또한 팥에 함유된 사포닌은 섬유질과 함께 변통을 돕고 독을 풀고 배변을 촉진하여 장을 깨끗하게 해주며 신장병, 각기병, 숙취 등에도 이용된다(Choi SY 2002).

한편, 구강질환의 예방을 위해서는 구강 내에 머무르는 시간이 유지 될 수 있는 물질을 통한 조기치료가 일상생활 속에서 자연스럽게 이루어지는 것이 바람직하다(Lee ES 2003). 따라서 꾸준한 차 음용을 통해 구강 질환을 예방하는 것이 바람직하며 팥의 경우에는 팥 추출물의 항균 활성(Hori Y 등 2006)에 대한 연구는 있으나 구강세균에 대한 연구는 이루어지지 않는 실정이다. 팥을 이용한 최근의 연구는 팥의 페놀화합물과 토코페롤 분석(Kim EH 2011), 팥 메탄올 추출물의 항산화 활성(Woo KS 등 2010), 팥을 이용한 전통 된장 제조(Yoon WJ 2010), 팥 침출액의 이화학적 특성에 대한 효소처리의 영향(Hwang CS 등 2005) 등이 있으며 주로 팥 차체의 기능성에 관한 연구가 주된 것이었고 팥을 주원료로 하여 음료를 만들기 위한 시도는 전무한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 팥을 차로 쉽게 이용할 수 있는 길을 모색하고자 팥의 안토시아닌과 사포닌 분석, 가열하는 시간에 따른 성분의 변화와 구강 위생균에 대한 항균 활성, 관능 평가를 통하여 팥차 개발을 위한 기초자료를 제시하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 사용한 팥(일반계 적두)은 경기도 파주시 조리읍에서 생산된 것으로 2010년 7월에 서울의 대형 마트에서 구입하였다.

2. 실험방법

1) 팥의 일반성분 분석

팥의 일반성분은 AOAC(1995) 법에 따라 분석하였다. 수분함량은 105℃에서 상압 건조하여 측정하였고, 조단백은 Kjeldahl 질소 정량법으로 측정하였다. 조지방 분석은 Soxhlet 추출법, 조회분 함량은 직접 회화법으로 분석하였다. 탄수화물 함량은 시료 100 g 중에서 수분, 단백질, 지질, 회분 함량을 뺀 값으로 하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 얻은 평균값으로 하였다.

2) 팥의 항산화 활성

팥의 항산화 활성을 알아보기 위해 총 페놀 화합물 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거능을 측정하였다. 총 페놀 화합물 함량은 Folin - Denis법(Gutfinger T 1981)에 따라 측정하였다. 팥을 분쇄기(HMF - 1000A, HANIL, KOREA)로 분쇄한 뒤 70% ethanol(DAEJUNG, Korea)로 80℃에서 3시간 추출하여 200 μg/mL, 400 μg/mL, 600 μg/mL, 800 μg/mL, 1,000 μg/mL의 농도로 총 양이 1 mL가 되도록 만들었다. 여기에 2% Na_2CO_2(SAMCHUN Chemicals, Korea) 1 mL를 가하여 3분간 방치한 후 50% Folin-Ciocalteu(SIGMA - ALDRICH, USA) 0.2 mL를 가하여 실온에서 30분 정치한 후 spectrophotmeter (UV - 9100, Human co., Korea)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하고 Tannic acid를 이용한 표준 검량식에 적용하여 총 페놀 화합물 함량을 산출하였다. 플라보노이드 함량은 위 실험에서 얻은 시료를 Whatman No.2로 여과한 후 여과액을 회전 증발 농축기(N-N Series CCCA-1110, EYELA, JAPAN)로 양이 1/3이 될 때까지 농축하여 사용하였다. 시료를 200 μg/mL, 400 μg/mL, 600 μg/mL, 800 μg/mL, 1,000 μg/mL의 농도로 1 mL가 되도록 만들고 여기에 10 mL의 diethylen glycol(SAMCHUN Chemicals, Korea)을 가하고 1 N NaOH(SAMCHUN Chemicals, Korea) 1 mL를 혼합하여 37℃ 수욕 상에서 1시간 동안 반응시켜 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. Rutin을 이용해 표준 검량식에 적용하여 총 플라보노이드 함량을 산출하였다. DPPH radical 소거능은 Blois MS(1958)의 방법을 이용하여 측정하였다. 팥을 분쇄기(HMF - 1000A, HANIL, KOREA)로 분쇄한 뒤 70% ethanol을 가하여 24시간 추출하였다. 이것을 3068 × g 에서 20분간 원심분리(1236MG, GYROZEN, KOREA)하여 얻은 상층액에 0.4 mM 2,2 - depheyl - 1 - picryl - hydrazyl(ALDRICH CHEMISTY, GERMANY) 용액을 첨가하여 30분간 암소에 두었다가 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical scavenging activity를 추출 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차를 백분율로 표시하여 나타내었다.

3) 팥의 proanthocyanidin 분석

(1) 팥의 proanthocyanidin 분석을 위한 시료 제조

Proanthocyanidin 성분 검색을 위한 시료 제조는 Ryszard A 와 Ronald BP(2006)의 선행연구를 바탕으로 하였다. 팥 80 g을 분쇄기(HMF - 1000A, HANIL, KOREA)로 분쇄한 뒤 팥의 유색 껍질부분만을 최대한 분리하여 80% acetone을 200 mL 첨가하여 40℃로 유지되는 shaking incubator(HB-201UT,

Hanbaek, Korea)에서 24시간 동안 추출하였다. 이 추출물을 Whatman No.2로 여과한 후 여과액을 40℃에서 회전 증발 농축기로 양이 1 mL가 될 때까지 농축하여 사용하였다.

(2) 고속액체크로마토그래피(HPLC)에 의한 proanthocyanidin 분석

팥의 proanthocyanidin 성분 검색은 Begona B 등(2010)의 선행연구를 바탕으로 하였다. Bond Elut - C18 카트리지(Agilent, 500 mg, 6 mL)에 메탄올 5 mL와 증류수 5 mL를 통과시킨 후 팥 시료를 적재시켜서 10% 메탄올 수용액으로 분석물질을 용리시켰다. 이렇게 얻은 시료를 회전 증발 농축기로 양이 1 mL가 될 때까지 농축한 뒤 syringe filters로 1회 filtering 하여 HPLC - MS(HP 1100 series, Agilent 6130 Single quadrupole LC/MS)로 분석하였고 그 분석 조건은 Table 1과 같으며 HPLC 분석에 사용된 methanol(MERCK, GERMANY), acetic acid(MERCK, GERMANY) 시약은 HPLC 분석용 등급을 사용하였다.

Table 1. Operating condition for proanthocyanidin analysis of small red bean

Item	Operating condition				
Column	Zorbax Eclipse XDB-C_{18} (3.0 × 100 mm, 3.5 μm)				
Mobile phase	A: 1% acetic acid B: methanol				
Gradient	Time (min)	0	5	10	15
	Solvent A (%)	97	97	95	90
	Solvent B (%)	3	3	5	10
Flow rate	0.3 mL/min				
Injection volume	5 μl				
Column temperature	25℃				
Detection wavelength	320 nm				
Ionization mode	Negative ion electrospray				
Capillary voltage	3500 V				
Gas temperature	325℃				
Gas flow	11 L/min(N_2)				
Nebulizer	45 psi				
Sim mode	865				

4) 팥 추출물의 제조 방법

팥 50 g을 증류수 1,000 mL와 함께 90℃에서 8분(SR1), 16분(SR2), 24분(SR3), 32분(SR4), 40분(SR5) 동안 가열하여 팥 추출물을 제조하였다. 그 후 Whatman No.2로 여과하여 실험에 사용하였다.

5) 팥 추출물의 이화학적 분석

팥 추출물의 pH는 pH meter(Delta 350, Metter, England)를 사용하여 측정하였다. 당도는 측정 범위가 Brix 0-32%인 당도계(PR - 1, ATAGO, JAPAN)를 사용하였고 염도는 염도계(PAL - 035, ATAGO, JAPAN)를 이용하여 측정하였다. 탁도는 용출된 고형물의 정도를 나타내는 수치로서 Lee YS(2000)의 방법에 따라 spectrophotometer로 675 nm에서 측정하였다. 모든 값은 3회 반복 측정하였다.

6) 팥 추출물의 색도측정

팥 추출물의 색도는 색차계(JC - 601, Colormeter, Japan)를 사용하여 L값(Lighness), +a값(redness), +b값(yellowness)을 측정하였으며 실험 결과는 각각 3회 반복 측정하여 나타내었다.

7) 팥 추출물의 사포닌 함량 측정

팥 추출물의 사포닌 함량은 n-butanol 추출법(Shibata S 등 1965)에 따라 정량하였다. 각각의 팥 추출물 시료 10 g에 80% ethanol 5 mL를 넣고 70℃ 수욕상에서 1시간씩 2회 추출하여 Whatman No.2로 여과하였다. 그 후 60℃에서 회전 증발 농축기로 감압 농축 하여 증류수 3 mL에 용해하고 분액깔대기에 취하여 3 mL diethyl ether로 3회 반복 추출하여 지용성 성분을 제거하였다. 그 후 수층을 얻어서 n-butanol을 3 mL씩 3회 가하여 분리하고 n-butanol 층을 농축시켜 조사포닌을 얻은 후 105℃에서 항량이 될 때까지 건조시켜 시료에 대한 건물량(%, w/w)으로 나타내었다.

8) 팥 추출물의 항균 활성 검색

(1) 항균력 측정을 위한 시료 제조

팥 추출물 시료 100 mL를 채취하여 회전 증발 농축기로 45℃ 수욕 상에서 2 mL가 될 때까지 감압 농축 한 뒤 -70℃로 유지되는 deep freezer(CHAYON Laboratories Inc., KOREA)에 보관하며 항균성 실험에 사용 하였다.

(2) 사용 균주 및 배지

항균성 실험을 위한 균주는 한국 미생물 보존센터(KCCM)와 생물자원센터(KCTC)에서 분양받아 사용하였다. 충치 균주 *Streptococcus mutans* KCTC 3065, *Streptococcus sobrinus* KCTC 3308과 구취 균주 *Prevotella intermedia* KCTC 3692, *Porphyromonas gingivalis* KCTC 5352, *Fusobacterium nucleatum* KCCM 42180, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* KCCM 12227을 사용하였다. 대비 균주는 *Escherichia coli* KCCM 11234와 *Staphylococcus aureus* KCCM 41291을 사용하였다. Tryptic Soy Agar(Becton, U.S.A.), Tryptic Soy Broth(Becton, U.S.A.)의 배지를 사용하여 37℃ incubator(MIR-253, SANYO Electric co. Ltd, JAPAN)에서 24시간 배양하였고 Incubator의 습도는 항상 95%를 유지하였다.

Table 2. List of microorganism and media used for antibacterial activity test

	Microorganism		Gram
Cariogenic bacteria	*Streptococcus mutans*	KCTC[1)]3065	+
	Streptococcus sobrinus	KCTC3308	+
Periodonto pathic bacteria	*Prevotella intermedia*	KCTC3692	-
	Porphyromonas gingivalis	KCTC5352	-
	Fusobacterium nucleatum	KCCM[2)]42180	-
	Actinobacillus actinomycetemcomitans	KCCM12227	-
Comparison bacteria	*Escherichia coli*	KCCM11234	-
	Staphylococcus aureus	KCCM41291	+

[1)] Korean Collection for Type Culture
[2)] Korean Culture Center of Microorganism

(3) 항균력 측정

팥 추출물 시료의 항균력을 측정하기 위하여 Zaika IL(1988)의 방법에 따라 paper disc methods를 이용하였다. TSA 배지에 100 μL의 균을 도말하고 멸균한 6 mm paper disc(ADVANTEC, JAPAN)에 2.0 mg/disc의 농도로 각각의 팥 추출물 시료를 흡수시킨 후 배지의 표면에 놓았다. 이것을 37℃ incubator에서 24시간 배양하여 inhibition zone의 직경(mm)을 측정하였고 3번 반복하여 평균치를 사용 하였다.

(4) 최소저해농도(Minimum inhibitory concentration) 측정

팥 추출물의 최소저해농도(MIC)는 broth microdilution method를 이용하였다. 96-well plate(FALCON, USA)에 TSB 배지를 100 μL씩 분주하고 각각의 팥 추출물 시료를 100 μL씩 2배 희석 하여 농도를 조절한 후 균의 농도를 2×10^4- 10^5 CFU/mL가 되도록 희석시켜 100 μL씩 첨가하였다. 그 후 37℃에서 24시간 배양한 뒤, 650 nm에서 microplate reader(Biolog Inc., USA)로 흡광도를 측정하였다. 흡광도가 0.00을 나타내는 시료 농도를 MIC 값으로 정하였다.

9) 관능검사

팥 추출물의 관능검사는 훈련된 식품영양학과 대학원생 15명을 대상으로 문헌(Yun GY 등 2005)을 참고하여 설문지를 작성하여 실시하였다. 7점 척도법을 사용하였고 1점은 '아주 나쁘다', 4점은 '보통', 7점은 '아주 좋다'로 나타내었다. 평가 항목은 색깔(color), 팥의 향(odor), 팥의 맛(taste), 개운함(refreshing taste), 단맛(sweetness), 짠맛(saltness), 전체적인 선호도(overall quality)로 하였다.

10) 통계처리

본 연구 결과는 3번 반복하여 SPSS 18.0 통계 패키지 프로그램(Statistical package for the Social Sciences)을 사용해 분석하였다. 분산분석을 실시하여 처리물질의 농도변화에 따른 유의성을 검토하였고 유의성이 있는 경우 차이검증을 위해 $p<0.05$ 수준에서 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 이용하여 사후검증을 하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 일반성분

팥 시료의 일반성분을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 조지방이 1.0%로 가장 적었고 조회분 3.6%, 수분 12.8%, 조단백질 18.7%로 나타났으며 탄수화물이 63.9%로 가장 많이 포함되어 있었다. 한국 잡곡류에 대한 Lee HK 등(2010)의 연구결과 팥의 일반성분은 수분 13.74%, 조단백질 21.12%, 조지방 0.68%, 회분 3.22%로 나타나 본 연구의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

Table 3. Proximate composition of small red bean

Sample	Compositions(%)				
	Moisture	Crude ash	Crude fat	Crude protein	Carbohydrate
Small red bean	12.8	3.6	1.0	18.7	63.9

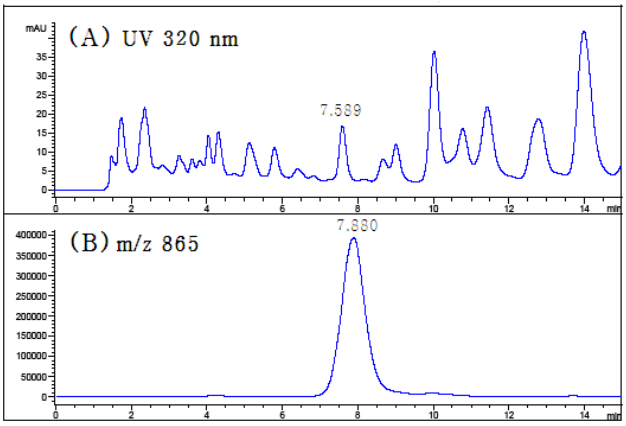
2. 팥의 항산화 활성

팥의 항산화활성 결과는 Table 4와 같다. 총 페놀 화합물은 팥 추출물 200 μg/mL농도에서 1.89 mg/70 g으로 가장 낮았고 팥 추출물의 농도가 높아질수록 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. Park MY(2003)의 콩 품종에 따른 항산화 효과 연구에 따르면 팥의 페놀성 화합물의 함량이 1.28 mg/mL로 다른 콩에 비해 높았다고 하였는데 이것은 팥이 유색 잡곡이기 때문인 것으로 판단된다. 총 플라보노이드 함량의 결과는 200 μg/mL의 농도에서 1.40 mg/70 g으로 가장 낮았고 팥의 농도가 높아질수록 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. Lee HK 등(2010)에 의하면 두류의 플라보노이드 함량은 유색품종일수록 높게 나타난다고 하였고 그중에서 플라보노이드 함량이 가장 높은 것이 팥으로 4.20 mg/g의 함량을 나타냈다고 하였다. 이는 본 실험의 결과와는 다소 차이를 보였는데 이것은 실험과정 중 희석 배율의 차이 때문인 것으로 보인다. DPPH-radical 소거 활성은 팥 추출물의 농도가 높아질수록 소거능이 유의적($p<0.001$)으로 높아졌으며 각각 41.19, 71.23, 81.00, 82.06와 86.41%로 나타났다. Lee HK 등(2010)의 연구에서도 두류 추출물 중 팥이 37.93%의 DPPH-radical 소거능을 보여 강낭콩에 이어 두 번째로 높았다고 하였다. 이처럼 팥은 높은 항산화 활성을 보였으며 Choi HC와 Oh SK(1996) 및 Oh HS 등(2003)의 연구에서는 색을 띠는 종자일수록 항산화 활성이 높고 이는 페놀화합물과 안토시아닌계 색소 때문이라고 하였다.

Table 4. Phenolic compound and flavonoid contents, and DPPH radical scavenging activity of small red bean

Sample (μg/mL)	Phenolic compound (mg/70 g)	Flavonoid (mg/70 g)	DPPH3) (%)
200	1.89±0.01[1)E2)]	1.40±0.10[E]	41.19±0.01[E]
400	9.24±0.01[D]	2.95±0.01[D]	71.23±0.01[D]
600	10.72±0.01[C]	4.62±0.03[C]	81.00±0.00[C]
800	11.98±0.01[B]	5.32±0.01[B]	82.06±0.01[B]
1,000	13.30±0.02[A]	7.35±0.03[A]	86.41±0.01[A]
F-value	391331.15***	6797.66***	12552996.36***

1) Mean±SD.
2) A, B, C, D, E means in a column followed by different superscripts are significantly different at p<0.001 by Duncan's multiple range test.
3) DPPH radical scavenging activity.



(A): HPLC chromatograms obtained at 320 nm
(B): Peak is (epi)catechin-(epi)catechin-(epi)catechin (m/z 865)

Figure 1. HPLC-DAD(A) and HPLC-MS(B) extracted ion chromatograms innegative ionization mode of proanthocyanidin from small red bean.

3. 팥의 proanthocyanidin

팥의 proanthocyanidin을 분석한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. (A)는 HPLC-DAD 분석 결과로 흡광파장 320 nm에서 retention time이 7.589분인 proanthocyanidin을 분석하였다. (B)는 HPLC-MS 분석 결과로 m/z를 865로 설정 하였을 때 retention time이 7.880분인 proanthocyanidin을 분석하였다. Buendia B 등(2010)의 딸기 proanthocyanidin의 HPLC-DAD 분석 결과에서는 흡광파장 280 nm, 320 nm, 360 nm에서 proanthocyanidin을 분석하였으나 본 연구에서는 320 nm에서 proanthocyanidin의 peak를 분석하였다. 또한 딸기 proanthocyanidin의 HPLC-MS 분석 결과에서는 m/z를 865로 설정하였을 때 (epi)catechin 삼량체 구조를 가진 proanthocyanidin을 4종류 분석하였으나 본 연구에서는 1개의 peak만 분석 하였다. 이런 결과가 나타난 것은 분석 대상인 딸기와 팥의 차이로 인한 것이라 생각된다. 이와 같이 팥에 대한 일반성분, 항산화, proanthocyanidin 분석을 한 결과 팥의 긍정적인 효과를 확인하였으며 다음으로 팥 추출물을 제조하여 실험을 진행하였다.

4. 팥 추출물의 이화학적 특성

팥 추출물 시료의 이화학적 특성 결과는 Table 5와 같다. pH는 대조구가 6.81로 가장 높았고 가열 시간에 따라 유의적으로(p<0.001) 감소하였으며 SR3, SR4, SR5는 비슷한 경향을 보였다. 당도는 대조구, SR1, SR2 까지는 값이 나타나지 않다가 SR3부터 유의적으로(p<0.001) 증가하여 SR5가 0.83 °Brix로 가장 높게 나타났다. 팥은 100 g당 1 mg의 나트륨을 함유하

Table 5. pH, sugar content, salinity and turbidity of small red bean

Sample[1)]	pH	Sugar content(°Bx)	Salinity(%)	Turbidity
Cont.	6.81±0.07[2)A3)]	0.00±0.00[D]	0.00±0.00[D]	0.00±0.00[C]
SR1	6.54±0.02[B]	0.00±0.00[D]	0.13±0.06[C]	0.00±0.00[C]
SR2	6.11±0.02[C]	0.00±0.00[D]	0.13±0.06[C]	0.02±0.00[C]
SR3	6.06±0.02[CD]	0.23±0.06[C]	0.20±0.10[C]	0.04±0.01[C]
SR4	6.04±0.01[D]	0.67±0.06[B]	0.53±0.06[B]	0.12±0.01[B]
SR5	6.03±0.01[D]	0.83±0.06[A]	0.70±0.00[A]	0.97±0.09[A]
F-value	285.40***	249.33***	66.30***	302.80***

1) Cont.: boiling time 0 min, SR1: boiling time 8 min, SR2: boiling time 16 min, SR3: boiling time 24 min, SR4: boiling time 32 min, SR5: boiling time 40 min.
2) Mean±SD.
3) A, B, C, D means in a column followed by different superscripts are extract significantly different at p<0.001 by Duncan's multiple range test.

고 있으며(현화진 등 2007) 이로 인하여 팥 추출물도 가열하는 시간이 길어짐에 따라 염도가 증가하여 SR5가 0.7%로 유의적으로($p<0.001$) 가장 높게 나타났다. 탁도는 SR4부터 유의적으로($p<0.001$) 증가하였는데 이것은 가열하는 시간이 길수록 팥의 성분이 더 많이 용출되기 때문인 것으로 보인다. Choi SY(2010)의 오디를 이용한 음료개발에 관한 연구 결과 오디음료의 탁도는 오디의 농도가 높아질수록 0.100, 0.196, 0.295, 0.388로 높아 졌다고 하여 팥의 농도가 진해질수록 탁도가 증가한 위의 결과와 비슷한 양상을 나타내었다.

5. 팥 추출물의 색도

팥 추출물의 색도는 Table 6과 같이 L값은 SR2부터 SR5까지 유의적으로($p<0.001$) 상승하였고 SR5는 급격하게 상승하여 23.89를 나타내었다. a값은 대조구에서 SR5까지 유의적으로($p<0.001$) 상승하였다. 대조구에서 SR2 까지는 -값을 나타내어 녹색에 가까웠으나 SR3 부터는 0.23, 0.79, 1.85로 적색에 가까워지는 결과를 보였다. b값은 대조구에서 SR2 까지는 유의성을 보이지 않았지만 SR3 부터는 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. 즉, L, a, b값은 가열시간이 길어짐에 따라 상승하였으며 이것은 가열에 의해 팥의 여러 성분이 용출되었기 때문인 것으로 보인다. Noh MJ 등(2001)의 팥의 수침에 따른 용출 특성에 관한 연구에서는 20℃에서 16시간 동안 수침한 팥의 색도는 L값이 84.32, a값이 2.99, b값이 47.26 이라고 하여 위의 결과보다 높은 값을 나타내었으며 이것은 추출 온도와 시간 등 추출조건의 차이로 인한 것이라고 생각된다.

Table 6. Hunter's color value of small red bean extract according to boilling time

Sample[1)]	Hunter's value		
	L	a	b
Cont.	11.29±0.10[2)D3)]	-1.16±0.04^{E}	2.36±0.17^{C}
SR1	11.04±0.00^{D}	-0.77±0.02^{D}	2.40±0.00^{C}
SR2	11.04±0.00^{D}	-0.62±0.06^{D}	2.81±0.14^{C}
SR3	11.07±0.05^{C}	0.23±0.49^{C}	2.97±0.14^{B}
SR4	12.67±0.00^{B}	0.79±0.12^{B}	2.27±0.00^{B}
SR5	23.89±0.04^{A}	1.85±0.21^{A}	8.64±0.14^{A}
F-value	34066.15***	450.38***	1300.83***

1) See the legend in Table 5
2) Mean±SD.
3) A, B, C, D, E means in a column followed by different superscripts are significantly different at $p<0.001$ by Duncan's multiple range test.

6. 팥 추출물의 사포닌 함량

팥 추출물의 사포닌 함량은 Table 7과 같이 가열시간이 길어질수록 유의적으로($p<0.001$) 상승하였다. SR1은 0.86 mg/g, SR2는 1.24 mg/g, SR3은 1.37 mg/g, SR4는 1.93 mg/g이었으며 SR5는 사포닌 함량이 급격하게 증가하여 3.82 mg/g을 나타내었다. Choi SY 등(2003)에 따르면 팥에는 0.3% 정도의 사포닌이 존재하며 팥 내부에 있던 이 성분이 가열에 의해 용출된 것으로 보인다. Hwang CS 등(2005)의 팥 침출액의 이화학적 특성에 관한 연구에 따르면 팥 1차 침출액의 조사포닌은 0.82 mg/g, 2차 침출액은 1.44 mg/g, 3차 침출액은 1.52 mg/g으로 침출이 진행됨에 따라 사포닌이 더 많이 용출된다고 하였으며 본 연구 결과와 유사함을 보여주었다.

Table 7. Crude saponin of small red bean extract according to boilling time

	Sample[1)]						
	Cont.	SR1	SR2	SR3	SR4	SR5	F-value
Saponin (mg/g)	0.00± 0.00[2)F]	0.86± 0.02[3)E]	1.24± 0.03^{D}	1.37± 0.02^{C}	1.93± 0.01^{B}	3.82± 0.03^{A}	8864.38***

1) See the legend in Table 5
2) Mean±SD
3) A, B, C, D, E, F means in a row followed by different superscripts are significantly different at $p<0.001$ by Duncan's multiple range test.

7. 팥 추출물의 항균활성

1) 항균력

팥 추출물의 구강세균에 대한 항균 활성을 측정하기 위해 paper disc methods를 실행하였으며 그 결과는 Table 8과 같이 *F. nucleatum*과 *A. actinomycetemcomitans*의 2종을 제외한 6종의 균주에서 항균 활성을 나타내었다. *S. mutans, S. sobrinus*는 SR4가 12.87 mm, 13.83 mm로 가장 큰 저해환을 나타내었다. *P. intermedia*는 SR3이 13.8 mm로 모든 시료 중에서 가장 큰 저해환을 나타내었고 *P. gingivalis*는 SR4가 13.52 mm로 가장 컸다. *E. coli*는 SR3이 10.89 mm로 가장 큰 저해환을 나타내었고 *S. aureus*는 SR4가 10.51 mm로 가장 컸다. 대비 균주인 *E. coli, S. aureus*는 *S. mutans, S. sobrinus, P. intermedia, P. gingivalis*와 비교했을 때 전체적으로 낮은 항균 활성을 보여주었다. 즉, 팥 추출물이 충치균주와 구취균주에 비교적 뛰어난 항균 활성을 갖고 있다고 보였다. 강력한 항균 활성을 갖는다고 알려진 녹차 추출물의 구강위생균에 대한 항균 활성을 알아본 Jae MH(2007)의 연구 결과 *S. mutans* 4종은 평균 12.68 mm, *S. sobrinus* 3종은 평균 13.17 mm의 저해환을 나타내어 SR4와 유사한 활성을 보였다. 또한 *P. intermedia*는 8.2 mm, *P. gingivalis*는 저해환을 나타내지 않아 팥 추출물에 비하여 녹차가 낮은 항균 활성을 보였다. *F. nucleatum*와 *A. actinomycetemcomitans*에 대한 inhibition zone은 나타나지 않아서 팥 추출물과 같은 결과를 나타냈는데 이것은 균주의 특성에 따른 것으로 보이며 추후 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

Table 8. Antimicrobial activity of small red bean extract against the several microorganism (mm)

Sample[1]	Bacterial strain							
	S. mutans	*S. sobrinus*	*P. intermedia*	*P. gingivalis*	*F. nucleatum*	*A. actinomycetemcomitans*	*E. coli*	*S. aureus*
SR1	-[2]	-	-	-	-	-	-	-
SR2	8.99	10.19	9.66	9.73	-	-	9.22	8.78
SR3	11.62	12.19	11.47	12.36	-	-	10.37	9.98
SR4	12.87	13.38	13.8	13.52	-	-	10.89	10.51
SR5	11.1	11.69	10.02	11.39	-	-	10.69	10.47

[1] See the legend in Table 5
[2] Not active.

Table 9. Minimum inhibitory concentration(MIC) of small red bean extract against the several microorganism (μg/mL)

Sample[1]	Bacterial strain							
	S. mutans	*S. sobrinus*	*P. intermedia*	*P. gingivalis*	*F. nucleatum*	*A. actinomycetemcomitans*	*E. coli*	*S. aureus*
SR1	-[2]	-	-	-	-	-	-	-
SR2	2,000[3]	1,000	1,000	1,000	-	-	2,000	2,000
SR3	500	250	125	250	-	-	1,000	1,000
SR4	500	125	125	125	-	-	500	1,000
SR5	500	500	250	500	-	-	1,000	1,000

[1] See the legend in Table 5
[2] Not active.
[3] Values represent an average of three determinations.

2) 최소저해농도

팥 추출물의 MIC(Minimum inhibitory concentration) 측정 결과는 Table 9와 같이 F. nucleatum과 A. actinomycetemcomitans의 2종을 제외한 6종의 균주에서 MIC 값을 나타내었다. S. mutans는 SR3, SR4, SR5가 500 μg/mL의 MIC 값을 보여 항균 활성이 좋았고 S. sobrinus는 SR4가 125 μg/mL로 적은 양으로도 균의 성장을 억제하는 강한 항균 활성을 보여주었다. P. intermedia는 SR3, SR4가 125 μg/mL로 높은 항균 활성을 보였고 P. gingivalis도 SR4가 125 μg/mL로 높은 항균 활성을 나타내었다. E. coli는 SR4가 500 μg/mL로 높은 항균 활성을 보여주었고 S. aureus는 SR3, SR4, SR5가 1,000 μg/mL로 비교적 항균 활성이 낮게 나타났다. 따라서 S. mutans, S. sobrinus, P. intermedia, P. gingivalis와 비교해 보았을 때 E. coli, S. aureus는 높은 MIC 값을 보였기 때문에 충치, 구취 균주의 항균 활성이 더 좋은 것으로 판단된다.

8. 관능검사

팥 추출물을 대상으로 관능검사를 실시한 결과는 Table 10에 나타내었다. 색(color)은 SR3, SR4, SR5가 유의적으로 ($p<0.001$) 가장 높은 점수를 나타내었고 이 중에서도 SR3이 6.07로 가장 높았다. 향(odor)은 가열하는 시간이 길어짐에 따라 유의적으로($p<0.001$) 높아지는 경향을 보여 SR5가 5.93으로 높은 점수를 나타내었다. 맛(taste)도 향과 마찬가지로 가열하는 시간이 길어짐에 따라 유의적으로($p<0.001$) 높아지는 경향을 보여 R5가 6.4로 높은 점수를 나타내었다. 맛과 향은 가열에 따라 팥의 성분이 용출되어서 맛이 진해지기 때문에 관능 점수가 높아지는 결과를 보인 것으로 사료된다. 개운함(refreshing taste)은 SR2와 SR3이 유의적으로($p<0.001$) 높은 점수를 얻었고 SR5가 2.60으로 기호도가 가장 낮았다. 이것은 본 연구 결과 SR5의 탁도가 가장 높았던 것과 관련이 있는 것으로 보여 진다. 즉, 팥 내부의 전분이 많이 용출되어서 개운함 보다는 텁텁한 맛이 강했기 때문인 것으로 판단된다. 단맛(sweetness)은 SR3, SR4가 유의적으로($p<0.001$) 높은 점수를 받았으며 이 중에서도 SR4가 4.87로 가장 높았다. 본 연구 결과 SR5의 당도가 가장 높았으나 관능검사에서는 3.33의 비교적 낮은 점수를 받았다. Choi KS 등(1997)의 대추차에 관한 연구에서는 11°Brix에서 가장 기호도가 좋았으며 30대 이상에서는 연령이 많을수록 감미도가 높은 차를 선호하고 남성보다 여성이 감미도가 낮은 차를 선호한다고 하였다. 따라서 팥차 제조 시 과당 같은 감미료를 이용하여 당도를 조절해야 할 것으로 사료된다. 짠맛(saltness)은 단맛과 유사한 결과를 보여주었는데 SR3, SR4가 유의적으로($p<0.001$) 높았고 그 중에서도 SR4가 4.73으로 가장 기호도가 좋았다. 전체적인 선호도(overall quality)는 SR3, SR4가 유의적으로($p<0.001$) 높

Table 10. Score of sensory evaluation for small red bean extract according to boilling time

	Sample[1]						F-value
	Cont.	SR1	SR2	SR3	SR4	SR5	
Color	1.67±0.82[2)C]	3.47±0.92[B]	5.33±1.11[A]	6.07±0.96[A]	5.67±1.23[A]	3.00±1.51[B]	36.87***
Odor	1.00±0.00[3)E]	1.87±1.06[D]	3.20±1.08[C]	3.73±1.39[C]	4.93±1.53[B]	5.93±1.39[A]	36.06***
Taste	1.00±0.00[F]	1.80±0.68[E]	3.33±0.72[D]	3.93±0.80[C]	5.07±0.80[B]	6.4±0.74[A]	129.68***
Refreshing taste	2.20±0.77[D]	3.53±0.92[C]	4.33±1.05[AB]	5.00±1.31[A]	3.93±1.03[BC]	2.60±0.91[D]	16.33***
Sweetness	1.53±0.52[D]	2.53±0.64[C]	3.47±1.06[B]	4.33±1.18[A]	4.87±1.06[A]	3.33±1.68[B]	18.34***
Saltness	1.73±0.59[D]	2.60±0.63[C]	3.47±0.83[B]	4.20±0.86[AB]	4.73±1.03[A]	3.87±1.88[B]	16.00***
Overall quality	1.93±1.03[D]	3.20±0.77[C]	4.27±1.10[B]	5.80±1.21[A]	5.53±0.92[A]	3.80±1.01[BC]	30.68***

[1] See the legend in Table 5

[2] Mean±SD

[3] A, B, C, D, E, F means in a row followed by different superscripts are significantly different at $p<0.001$ by Duncan's multiple range test.

았으며 그중에서도 SR3이 5.80으로 가장 높았다. Park GS 등(2000)의 음료의 관능적 특성에 관한 연구에서는 단맛은 모든 기호도와 정의 상관관계를 보여 음료에서 단맛을 선호한다고 하였으며 팥 추출물의 관능검사 결과에서도 단맛이 강하다고 느꼈던 SR3, SR4가 전체적인 선호도에서 가장 높은 점수를 얻었다.

Ⅳ. 요약 및 결론

본 연구는 항비만, 피로회복, 부종, 혈액순환 등의 효과를 가진 팥을 차로 쉽게 이용할 수 있는 길을 모색하기 위하여 팥에 대한 일반성분, 항산화 활성, proanthocyanidin 성분 분석을 하였다. 또한 팥을 물과 함께 가열하면서 8분(SR1), 16분(SR2), 24분(SR3), 32분(SR4), 40분(SR5)에 일정량을 채취하여 이화학적 분석, 색도 측정, 구강 위생균에 대한 항균 활성, 사포닌 함량 측정, 관능 평가를 통하여 팥차 개발을 위한 기초자료를 제시하고자 하였다. 팥의 일반성분은 조지방 1.0%, 조회분 3.6%, 수분 12.8%, 조단백질 18.7%, 탄수화물 63.9%로 나타났다. 팥의 총 폐놀 화합물, 총 플라보노이드 함량은 팥의 농도가 높아질수록 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. DPPH-radical 소거능은 팥 추출물의 농도가 높아질수록 유의적($p<0.001$)으로 높아졌다. 팥의 proanthocyanidin을 분석한 결과는 흡광파장 320 nm에서 retention time이 7.589분인 proanthocyanidin을 분석 하였고 m/z를 865로 설정 하였을 때 retention time이 7.880분인 proanthocyanidin을 분석하였다. 팥 추출물의 pH는 가열하는 시간이 길어질수록 유의적($p<0.001$)으로 저하되었고 당도, 염도, 탁도는 유의적으로($p<0.001$) 증가하였다. 색도 L, a, b값과 사포닌은 가열하는 시간이 길어질수록 유의적으로($p<0.001$) 상승하였다. 팥 추출물의 항균활성은 *S. mutans, S. sobrinus, P. intermedia, P. gingivalis*가 대비 균주인 *E. coli*와 *S. aureus*와 비교했을 때 전체적으로 높은 항균 활성을 보여 주어 팥 추출물이 충치균주와 구취균주에 비교적 뛰어난 항균 활성을 갖는 것으로 나타났다. MIC는 *S. mutans, S. sobrinus, P. intermedia, P. gingivalis*가 *E. coli, S. aureus*에 비해 낮은 값을 보였기 때문에 충치, 구취 균주에 대한 항균 활성이 더 좋은 것으로 판단된다. 관능검사 결과는 SR3이 6.07로 가장 높게 평가 되었고 향과 맛은 SR5가 각각 5.93, 6.4점으로 가장 높은 점수를 나타내었다. 개운함은 SR3이 5.00으로 가장 높았고 단맛과 짠맛은 SR4가 각각 4.87, 4.73점으로 가장 기호도가 좋았다. 전체적인 선호도는 SR3이 5.80으로 가장 높았다. 이상과 같이 본 연구는 기능성 차음료를 개발하고자 팥을 분석하여 팥 추출물을 음용했을 때의 유익함을 살펴보고자 하였다. 그 결과 팥은 항산화 활성이 뛰어나고 유용한 색소성분인 proanthocyanidin이 존재하며 가열에 의해 사포닌 함량이 증가하기 때문에 기능성 차음료의 원료로 적합함을 확인하였다. 또한 팥 추출물의 항균활성 검색 결과 충치균주와 구취균주를 효과적으로 억제함을 확인하여 팥차를 꾸준히 음용한다면 치주질환 예방에 긍정적인 효과가 있을 것으로 기대된다. 따라서 향후 팥의 다양한 기능성 성분에 관한 연구와 함께 관능에 대한 심화적인 연구를 통하여 소비자들의 욕구를 충족시킬 수 있는 기능성 차음료인 팥차의 개발이 가능할 것으로 보인다.

참고문헌

김광수, 오주섭, 서현진. 2009. 음료의 소비문화:물에서 술까지. 한나래. 서울. pp 29-30

김정숙. 2008. 식탁 위의 보약 건강음식 200가지. 아카데미북. 서울. p 182

현화진, 송경희, 최미경, 손숙미. 2007. 쉽게보는 식품 칼로리와 영양성분표. 교문사. 경기도. pp 52-53

AOAC. 1995. Official methods of analysis. 16th ed. Association of official analytical chemists. Washington DC.

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181:1199-1200

Buendia B, Gil M, Tudela JA, Gady AL, Medina JJ, Soria C, Lopez JM, Tomas-Barbran FA. 2010. HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. J Agric Food Chem 58:3916-3926

Cho JS. 1984. Food Materials. Munundang. Seoul, Korea. pp 92-93

Choi HC, Oh SK. 1996. Diversity and function of pigments in colored rice in korea. Korean T Crop Sci 41(1):1-9

Choi KS, Im MH, Choi JD. 1997. Effects of formulation variables and drinking temperature on acceptability of jujube tea products. J Korea Soc Food Sci Nutr 26(5):827-830

Choi SY, Jeong YJ, Lee SJ, Chi OH, Chegal SA. 2002. Food and health for modern people. Dongmyungsa. Seoul, Korea. pp 244-246

Choi SY. 2010. Studies on biological activity and beverage development of extracts from mulberry. Doctor's thesis. Daegu Haany University.

Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in olive oils. JAOCS 58:966-967

Hori Y, Sato S, Hatai A. 2006. Antibacterial activity of plant extracts from azuki beans (Vigna angularis) In Vitro. Phytother Res 20:162-164

Hwang CS, Jeong DY, Kim YS, Na JM, Shin DH. 2005. Effects of enzyme treatment on physicochemical characteristics of small red bean percolate. Korean J food Sci Technol 37(2):189-193

Hwang CS. 2003. Study on the characteristics of spoilage bacteria and the syneresis in red bean paste. Master's thesis. Chonbuk National University.

Jae MH. 2007. Effect of origanum oil, red ginseng extract, and green tea extract on oral microorganism and volatile sulfur compound. Doctor's thesis. Kangnung National University.

Kim CG, Oh BH, Na JM, Sin DH. 2003. Comparison of physicochemical properties of korean and chinese red bean starches. Korean J Food Sci Technol 35:551-555

Kim EH. 2011. Studies of functional compounds in soybean[Glycine max (L.) Merill] germplasm. Doctor's thesis. Kunkuk University.

Kim SH. 2011. Studies on production of health beverage using whey protein and whey. Master's thesis. Kunkuk university.

Lee ES. 2003. Effect of leaf-extract from camellia sinensis and seed-extract from casia tora on viability of period onto pathogens. Doctor's thesis. Dankook University.

Lee HK, Hwang IG, Kim HY, Woo KS, Lee SH, Woo SH, Lee JS, Jeong HS. 2010. Physicochemical characteristic and antioxidant activites of cereals andLegumes in Korea. J Korean Soc Food Sci Nutr 39(9):1399-1404

Lee YS, Lim NY, Lee KH. 2000. A study on the preparation and evaluation of dried noodle products made from composite flours utilizing arrowroot starch. J Korean Soc Food Sci 16(6): 681-688

Noh MJ, Kwon JH, Byun MW. 2001. Water-soluble components of small red bean and mung bean exposed to gamma Irradiation and methyl bromide fumigation. Korean J Food Sci Technol 33(2):184-189

Oh HS, Kim JH, Lee MH. 2003. Isoflavone contents, antioxidative and fibrinolytic activities of red bean and mung bean. Korean J Soc Food Cookery Sci 19(3):263-270

Oh NS. 2007. A study on tea industry development direction along a beverage maket change. Master's thesis. Wonkwang University.

Park GS, An SH, Choi KH, Jeong JS, Park CS, Choi MA. 2000. Preparation of the functional beverages by fermentation and It's sensory characteristics. Korean J Soc Food Sci 16(6):663-669

Park MY. 2003. The content of isoflavone in soybean It's antioxidant activity. Master's thesis. Kongju National University.

Ryszard A, Ronald BP. 2006. Content of proanthocyanidins in selected plant extracts as determined via n-butanol/hcl hydrolysis and a colorimetric assay or by HPLC. Pol J Food Nutr Sci 56(15):319-322

Shibata S, Ando T, Tanaka O, Meguuro Y, Soma K, Ida Y. 1965. Saponins and sapogenins or panax ginseng c.a. meyer and some panax sp. J. Yakugaku 85(8):753-755

Woo KS, Song SB, Ko JY, Seo MC, Lee JS, Kang JR, Oh BG, Nam MH, Jeong HS, Lee JS. 2010. Antioxidant components and antioxidant activities of methanolic extract from adzuki beans (Vigna angularis var. nipponensis). Korean J Food Sci Technol 42(6):693-698

Yoon WJ. 2010. Quality characteristics of traditional soybean paste(doenjang) manufacture with various soybeans. Master's thesis. Kyungpook National University.

Yun GY, Kim MA, Hyun JS. 2005. The effect of green tea powder on quality of dasik. Korean J Food Culture 20(5):632-537

Zaika IL. 1988. Spices and herbs: Their antimicrobial activity and it's determination. J Food Safety 9:97-102