

발아에 따른 팔의 유리형 및 결합형 기능성분 변화

김민영¹ · 장귀영¹ · 오남석¹ · 백소윤¹ · 김길호¹ · 김경미² · 김홍식³ · 이준수¹ · 정현상¹

¹충북대학교 식품생명공학과

²농촌진흥청 국립농업과학원

³충북대학교 식물자원학과

Changes in Free and Bound Forms of Bioactive Compound Profiles of Adzuki Bean with Germination

Min Young Kim¹, Gwi Yeong Jang¹, Nam Seok Oh¹, So Yune Baek¹, Kil Ho Kim¹,
Kyung Mi Kim², Hongsik Kim³, Junsoo Lee¹, and Heon Sang Jeong¹

¹Department of Food Science and Biotechnology and ³Department of Crop Science,
Chungbuk National University

²National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration

ABSTRACT This study was performed to investigate the changes between free and bound forms of bioactive compounds in germinated adzuki bean. Adzuki bean was germinated at 25°C for 6 days, and then free and bound forms of bioactive compounds were extracted. Total free polyphenol and flavonoid contents in of raw adzuki bean increased from 0.91 mg/g and 0.60 mg/g in before germination to 2.37 mg/g and 3.03 mg/g in at 6 days after germination, respectively. Bound polyphenol, flavonoid, and phenolic acid contents also increased with increasing germination periods, whereas bound polyphenol and flavonoid contents slightly reduced in at 2 days after germination. The total phenolic acid contents, including ferulic acid, veratric acid, hesperidin, salicylic acid, naringenin, and hesperidin, increased during germination, and germination process can convert compounds to phenolic acid via anabolism and catabolism. Total anthocyanin and anthocyanidin contents of adzuki bean decreased during germination due to hydration by water during soaking or enzyme activation of anthocyanase during germination. These results suggest that the germination process increased utilization of functional compounds such as phenolic compound and isoflavones in black soybean.

Key words: adzuki bean, germination, bioactive compound, free form, bound form

서 론

팥(adzuki bean, *Vigna angularis* var. *nipponensis*)은 우리나라에서 콩 다음으로 중요한 두류작물로 콩에 비해 수량은 적으나 기후 및 토양에 적응성이 양호하여 작부체계에 유용하게 이용될 수 있다(1). 팥은 비타민 B1이 풍부하여 쌀에 혼반할 경우 쌀밥에 부족하기 쉬운 비타민을 공급해주며, 각기병뿐만 아니라 피로회복에도 효과가 있다(2). 팥에 함유된 사포닌은 섬유질과 함께 변통을 돕는 효과가 있고 독을 풀고 배변을 촉진하여 장을 깨끗이 해주며, 신장병, 각기병, 숙취 등에도 이용된다(3). 팥의 색소는 anthocyanin 계의 cyanidin으로 알려져 있으며(4), 이들 색소는 항산화(5) 및 항종양 효과(6)를 나타내는 것으로 보고되었다.

팥을 비롯한 콩자는 씨눈과 배젖에 있는 각종 효소 및 영양소 등이 외적 환경 여건이 좋아지면 활성화되어 발아되는데, 일반적으로 발아가 진행됨에 따라 다양한 성분들이 증가하고 그에 따라 생리활성이 증가하는 경향이 있는 것으로 알려져 있다(7). 따라서 조조, 기장(8), 메밀(9), 들깨(10), 대두(11) 등으로 다양한 종자의 발아에 따른 유용성분 및 생리활성의 변화 연구가 활발히 진행되고 있다.

팥에 함유되어 있는 페놀화합물, 플라보노이드 및 안토시아닌과 같은 기능성분은 일반적으로 수용성, 배당체 형태의 결합형, 불용성 형태로 존재한다(12). 불용성 형태의 기능성분은 생체이용률이 낮은 반면, 유리형 및 배당체 형태의 수용성 화합물은 위와 소장에서의 흡수율이 높아 LDL-콜레스테롤과 liposomes의 산화를 억제하는 등(13) 다양한 생리활성이 보고되었다. 이에 따라 기능성분의 섭취 전 결합형 기능성분의 유리화를 위해 발아, 발효 및 열처리 등의 식품 가공기술이 연구되었으며(14), 이전연구에서 발아 공정이 두류의 유리형 기능성분을 증대시키기 위한 효과적인 방법으로 제시되었지만 발아기간에 따라 팥의 유리형 및 결합형

Received 12 May 2017; Accepted 7 July 2017

Corresponding author: Heon Sang Jeong, Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 28644, Korea

E-mail: hsjeong@chungbuk.ac.kr, Phone: +82-43-261-2570

기능성분 간의 전환에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 발아기간에 따른 유리형 및 결합형의 폴리페놀, 플라보노이드, 페놀산 및 안토시아닌의 변화를 조사함으로써 발아에 의해 껍의 기능성분이 증대한 요인에 대해 구명하여 발아 껍으로부터 기능성 식품소재 개발을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 발아

본 실험에 사용된 검정팥은 검구슬(Geomguseul)로 2015년도에 생산된 팥을 농촌진흥청에서 분양받아 사용하였다. 발아는 Lopez 등(15)의 방법에 따라 팥을 20°C의 증류수로 수세하고 5배의 증류수를 가수하여 24시간 동안 침지시킨 다음 발아기(WGC 450, Dahan Inc., Seoul, Korea)로 발아시켰다. 발아온도는 25°C, 습도는 90%를 유지하면서 발아시켰고, 1일 3회씩 10분간 물주기를 하면서 발아시켰다. 발아기간은 1일에서 6일로 하였고, 발아시키지 않은 팥을 대조구로 하였다. 팥 및 발아 팥은 동결건조기(Freeze dryer, FD5508, Ilshin Lab Co., Ltd., Dongducheon, Korea)에서 건조시킨 다음 냉동 보관하면서 시료로 사용하였다.

유리형 및 결합형 페놀화합물 추출물 제조

발아 껍의 유리형 페놀화합물은 Seo 등(16)과 Jung 등(17)의 방법을 변형하여 추출하였다. 일정량의 시료에 80% 메탄올을 가한 후 1시간 동안 3회 초음파 추출하였으며, 추출물은 여과지로 여과하여 감압농축 하고, 10% 메탄올 50 mL로 녹인 후 diethyl ether : ethyl acetate(1:1) 혼합액을 이용하여 페놀화합물을 분리 용출하였다. 분리 용출하여 얻어진 페놀화합물은 HPLC용 메탄올에 용해한 다음 0.45 µm syringe filter(Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과하여 유리형 분석시료로 사용하였다. 또한, 발아 껍의 결합형 페놀화합물은 Zielinski 등(18)의 방법을 변형하여 추출하였다. 유리형 페놀화합물을 추출한 후 여과한 잔여물에 4 M 수산화나트륨을 가한 후 90분 동안 초음파 처리하여 알칼리 가수분해 하였으며, 알칼리 가수분해물은 4 M HCl을 이용하여 pH 2로 조정한 후 2,200×g에서 원심분리 한 상등액에 diethyl ether : ethyl acetate(1:1) 혼합액을 이용하여 페놀화합물을 분리 용출하였다. 분리 용출하여 얻어진 페놀화합물은 HPLC용 메탄올에 용해한 다음 0.45 µm syringe filter(Millipore)로 여과하여 결합형 분석시료로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Dewanto 등(19)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu's reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 정색으로 발색하는 것을 원리로 측정하였다. 즉 각 추출물 100 µL에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 후 3분 방치하여 50% Folin-Ciocalteu's re-

agent 100 µL를 가하였다. 실온에서 30분 방치 후 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 5, 10, 25 및 50배로 희석하여 사용하였으며, 검량선 작성 후 총 폴리페놀 함량은 시료 1 g 중의 mg gallic acid로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(20)의 방법을 변형하여 분석하였다. 폴리페놀 분석을 위한 추출물 250 µL에 증류수 1 mL와 5% 아질산나트륨 75 µL를 가한 다음 5분 후 10% 염화알루미늄 용수화물 150 µL를 가하여 6분간 방치하고 1 M 수산화나트륨 500 µL를 가하여 11분간 방치한 다음, 반응액의 흡광도를 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로 (+)-catechin hydrate(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하여 보정선을 작성하였다.

페놀산 분석

페놀산 함량은 Seo 등(16)과 Jung 등(17)의 방법을 변형하여 분석하였다. 분리 용출하여 얻어진 유리형 및 결합형 페놀화합물은 HPLC용 메탄올에 용해한 다음 0.45 µm syringe filter(Millipore)로 여과하여 HPLC(ACME 9000 system, Younglin, Anyang, Korea)로 분석하였다. 이동상은 0.1% acetic acid가 포함된 증류수(A)와 0.1% acetic acid가 포함된 아세트니트릴(B)을 gradient 조건으로 흘러주었고, gradient 조건은 A:B를 초기 92:8(% v/v)에서 2분에 90:10, 27분에 70:30, 50분에 10:90, 51분에 0:100, 60분에 0:100, 70분에 92:8로 설정하였으며, 유속은 1 mL/min으로 하였고 주입량은 20 µL로 설정하였다. 검출기는 UV 280 nm에서 검출하였으며, 칼럼은 ODS column(5 µm, 4.6×250 mm, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)을 사용하였다. 표준물질로는 gallic acid, homogentisic acid, gentisic acid, chlorogenic acid, (+)-catechin, caffeic acid, phloretic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, veratric acid, naringin, hesperidin, salicylic acid, protocatechuic acid, quercetin, naringenin, hesperitin, biochanin 등을 Sigma-Aldrich Co.에서 구입하여 사용하였다.

유리형 및 결합형 안토시아닌 추출물 제조

발아 껍의 유리형 안토시아닌은 Macz-Pop 등(21)의 방법을 변형하여 추출하였다. 일정량의 시료에 0.3% HCl을 포함한 80% 메탄올을 가한 후 25°C에서 1시간 동안 3회 초음파 추출하였으며, 추출물은 2,200×g에서 10분 동안 원심분리 하여 100 mL로 정용한 다음 0.45 µm syringe filter(Millipore)로 여과하여 유리형 분석 시료로 사용하였다. 또한, 발아 껍의 결합형 안토시아닌은 Macz-Pop 등(21) 및 Giusti와 Wrolstad(22)의 방법을 변형하여 추출하였다. 이 방법은 안토시아닌의 flavylium 이온 구조에 영향을 미치

지 않으면서 *o*-glycoside 결합을 가수분해하는 방법으로 안토시아닌의 aglycone 분자를 유리화한다. 즉 유리형 안토시아닌을 추출한 후 여과한 잔여물에 10 mL의 2 N HCl을 가한 다음 2시간 동안 100°C에서 가열하여 산 가수분해 하였으며, 산 가수분해물은 100 mL로 정용한 다음 0.45 μm syringe filter(Millipore)로 여과하여 결합형 분석시료로 사용하였다.

안토시아닌 및 안토시아닌 분석

안토시아닌 및 안토시아닌 함량은 Choung(23)의 방법에 따라 HPLC(ACME9000 system, Younglin)로 분석하였다. 이동상은 5% formic acid가 포함된 아세트오니트릴(A)과 5% formic acid가 포함된 증류수(B)를 gradient 조건으로 흘려주었고, gradient 조건은 A : B를 초기 10:90(% , v/v)에서 24분에 40:60, 25분에 100:0, 28분에 100:0, 29분에 10:90, 40분에 10:90으로 설정하였으며, 유속은 1 mL/min으로 하였고 주입량은 20 μL로 설정하였다. 검출기는 UV 520 nm에서, 칼럼은 C-18 column(Mightysil RP-18 GP column, 4.6×250 mm, Kanto Chemical, Tokyo, Japan)을 사용하였고 칼럼 온도는 30°C로 설정하였다. 표준물질로는 cyanidin-3-glucose, delphinidin-3-glucose, petunidin-3-glucose, cyanidin 및 delphinidin을 사용하였다.

통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리조건 간의 차이 유무를 one-way ANOVA(analysis of variance)로 분석한 뒤 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량

발아기간에 따른 검정팥의 유리형 및 결합형 폴리페놀 함량 변화는 Fig. 1과 같이 유의적인 차이를 나타내었다. 유리형 폴리페놀 함량은 발아기간이 증가함에 따라 지속해서 증가하여 원료곡의 0.91 mg/g에서 발아 6일 후 2.37 mg/g으로 약 2.6배 이상 증가하였다. 이는 팥의 발아가 진행됨에 따라 총 폴리페놀 함량이 발아 144시간까지 증가한다는 Woo 등(24)의 연구와 유사하였으며, 발아 초기에 유리형의 폴리페놀 함량이 증가한 원인은 결합형 폴리페놀 함량이 감소함에 따라 나타난 결과라고 생각된다. 즉 발아기간에 따른 검정팥의 결합형 폴리페놀 함량은 발아 전 4.99 mg/g이었지만 발아 2일 이후 4.10 mg/g으로 감소하였다. 세포벽의 결합형 폴리페놀 및 플라보노이드는 일반적으로 셀룰로스, 펙틴, 다당류 등의 세포벽 성분과 공유결합을 하고 있으며, 발아 초기 결합형 폴리페놀의 일부가 추출이 가능한 유리형

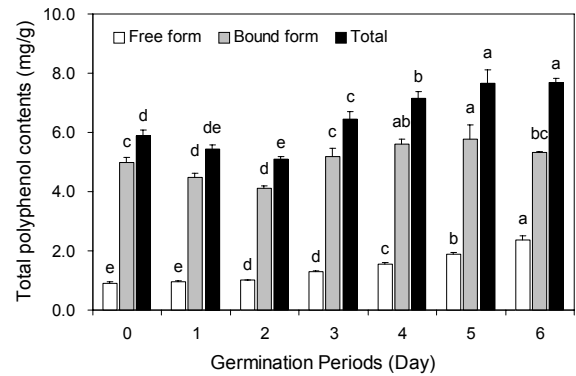


Fig. 1. Change in total polyphenol contents of adzuki bean with germination period (day 0~day 6). Values are mean±SD of 3 replicates. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($P<0.05$) among different germination periods.

폴리페놀 형태로 전환됨에 따라 유리형 폴리페놀의 증가와 함께 결합형 폴리페놀 함량이 감소한 것으로 판단된다. 하지만 발아 2일 이후 유리형 폴리페놀과 마찬가지로 결합형 폴리페놀 함량이 증가하여 발아 2일차의 4.10 mg/g에서 발아 6일 후 5.31 mg/g으로 증가하였다. 이러한 결과는 발아에 따른 검정콩의 유리형 및 결합형 기능성분 변화에 대한 Kim 등(25)의 연구에서 발아 후기에 검정콩의 폴리페놀 함량이 증가한 결과와 유사하였는데, 이러한 결과는 유리형 및 결합형 페놀화합물의 생합성에 관여하는 효소가 발아에 의해 활성화됨에 따라 페놀화합물의 중합 및 산화를 촉진하여 유리형 및 결합형을 포함하는 총 폴리페놀의 함량을 증가시킨 것으로 판단된다(26).

총 플라보노이드 함량

발아기간에 따른 검정팥의 플라보노이드 함량 변화는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 발아일수가 증가함에 따라 유리형, 결합형 및 총 플라보노이드 함량이 유의적으로 증가하였다. 유리형 플라보노이드 함량은 발아 초기보다는 발아 후기

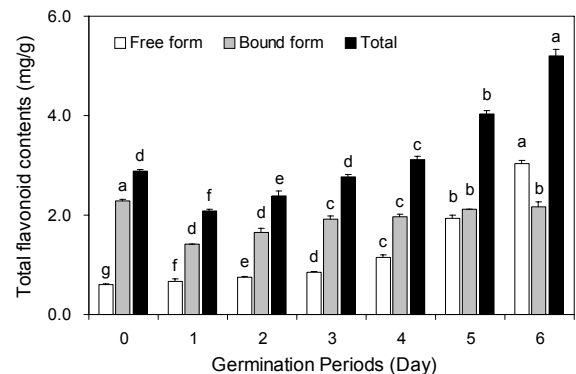


Fig. 2. Change in total flavonoid contents of adzuki bean with germination period (day 0~day 6). Values are mean±SD of 3 replicates. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($P<0.05$) among different germination periods.

에 많은 증가를 보였는데 발아 전 0.60 mg/g에서 발아 6일 후 3.03 mg/g으로 증가하였다. 일반적으로 종자를 발아시키면 가수분해효소의 활성화에 따라 6'-O-feruloyl sucrose, 6'-O-sinapoyl sucrose, ferulic acid 및 sinapinic acid와 같은 플라보노이드 계열의 화합물의 용출이 용이해져 함량이 증가하는 것으로 알려져 있으며(27), 폴리페놀 결과와 마찬가지로 발아 초기 결합형 플라보노이드의 일부가 추출이 가능한 유리형 플라보노이드 형태로 전환됨에 따라 발아 초기 결합형 플라보노이드 함량의 감소와 함께 유리형 플라보노이드 함량이 증가한 것으로 판단된다. 또한, 발아기간에 따른 결합형 플라보노이드 함량은 발아 초기에 감소하였다가 발아 2일부터 지속해서 증가하는 경향을 보여 발아 전 2.29 mg/g에서 발아 1일 후 1.41 mg/g으로 감소하였다가 발아 2일에서 6일 사이에 1.65에서 2.17 mg/g으로 증가하였으며, 이러한 결과는 폴리페놀 함량 결과와 유사한 경향이었다(Fig. 1). 하지만 플라보노이드의 경우 유리형 플라보노이드 증가율보다 결합형 플라보노이드의 감소율이 높아 총 플라보노이드 함량이 발아 전 2.89 mg/g에 비해 발아 1일 이후 2.09 mg/g으로 감소하였다. 이처럼 발아 초반 함량이 일시적으로 감소하는 것은 살수과정에서 수용성 항산화 성분이 씻겨 내려가 감소하는 것으로 생각되며(24) 추후 정확한 감소 원인 규명과 감소 최소화 제조조건의 구명이 필요할 것으로 생각된다.

페놀산 함량

발아기간에 따른 검정팥의 유리형 및 결합형 페놀산 조성 변화는 Table 1과 같이 발아기간에 따라 유의적인 차이를 나타내었다. 총 유리형 페놀산 함량은 발아기간이 증가함에 따라 지속해서 증가하여 원곡의 함량은 16.04 µg/g이었지만 발아 2일, 발아 4일 및 발아 6일 이후 35.06, 52.37 및 91.37 µg/g으로 증가하였다. 총 결합형 페놀산 함량 또한 발아기간이 증가함에 따라 20.06~115 µg/g 범위로 증가하여 유리형 페놀산 함량과 유사한 경향을 나타내었다. 발아기간에 따른 유리형 및 결합형 구성 페놀산 조성 변화는 Table 1과 같이 ferulic acid, veratric acid, hesperidin, salicylic acid, naringenin 및 hesperitin은 총 페놀산 함량 경향과 유사하게 유리형 및 결합형 페놀산 함량이 모두 증가하였으며, 유리형 및 결합형을 포함하는 총 함량이 발아 전 0.70, ND, 0.91, 0.82, 0.02 µg/g 및 ND로 검출되지 않거나 미량이었지만 발아 6일 이후 6.07, 9.37, 3.51, 26.41, 34.66, 18.09 µg/g으로 많이 증가하였다. 또한, homogentisic acid, chlorogenic acid, (+)-catechin, phloretic acid 및 *p*-coumaric acid 등 5종의 페놀산은 유리형 함량이 원곡에서 각각 3.40, 0.50, 6.44, 1.47 및 0.45 µg/g에서 발아 초기 9.48, 1.83, 6.44, 1.96 및 1.48 µg/g으로 증가하였지만, 발아 6일 이후 ND, ND, 6.00, 2.54 및 0.59 µg/g으로 검출되지 않거나 급격히 감소했지만 결합형 함량은 원곡에서 5.34, 0.35, 9.97, 1.55 및 1.30 µg/g에서 발아기간이 증가

함에 따라 지속해서 증가하여 발아 6일 이후 16.70, 12.08, 25.84, 13.14 및 9.06 µg/g으로 높게 나타났다. 그밖에 gallic acid, naringin, protocatechuic acid, quercetin 및 biochanin 등 5종의 페놀산은 유리형 함량이 각각 0.69~1.07, 2.59~18.05, 0.35~8.61, 2.48~4.20 및 0.04~5.04 µg/g의 범위에서 발아에 의해 증가하였지만 결합형 함량은 검출되지 않았다. 페놀산은 식물계에 널리 분포된 물질로 다양한 구조와 분자량을 가지며 페놀산의 hydroxyl기가 단백질과 같은 거대분자와의 결합을 통해 항산화, 항암, 항당뇨 및 항균 등의 생리기능을 가지는 것으로 알려져 있으며(28), 종자의 세포벽에 유리형태 또는 세포벽 다당체에 ester 결합상태로 존재하고 있는 ferulic acid, *p*-coumaric acid 및 benzoic acid 등의 페놀산은 우수한 항산화력을 가지는 것으로 알려져 있다(29). 발아 팥의 유리형 및 결합형 페놀산 함량이 증가한 결과는 Yang 등(30)의 연구에서 보고한 것처럼 발아과정 동안 세포벽에 결합되어 있는 폴리페놀 화합물이 효소적 가수분해에 의해 유리되거나 2차 대사산물로서 생합성에 의해 페놀산으로 전환됨에 따라 함량이 증가한 것으로 판단된다. 발아 후기 유리형 페놀산은 감소하였지만 결합형 페놀산이 증가한 homogentisic acid, chlorogenic acid, (+)-catechin, phloretic acid 및 *p*-coumaric acid 등 5종의 페놀산은 발아 초기 결합형 페놀산의 일부가 추출이 용이한 유리형으로 전환되었지만, 일정 발아기간 이후에는 식물이 성장하면서 구조적인 세포벽을 지지하기 위하여 폴리페놀, 탄닌 및 리그닌 등의 고분자 화합물을 생합성하는데 유리형 페놀산이 이용된 것으로 판단된다(31). Chlorogenic acid, caffeic acid 및 *p*-coumaric acid는 리그닌 생합성의 중간생성물로 이용될 수 있으며, catechin은 탄닌 및 탄닌 중합체의 생합성 경로와 관련이 있다고 알려져 있다(32).

안토시아닌 및 안토시아닌 함량

발아기간에 따른 유리형 및 결합형 안토시아닌 함량 변화는 Table 2와 같다. Cyanidin-3-glucose, delphinidin-3-glucoside, petunidin-3-glucose, cyanidin 및 delphinidin이 검출되었고 발아기간이 증가함에 따라 총 안토시아닌 및 안토시아닌 함량은 감소하였다. 유리형 안토시아닌 및 안토시아닌 함량은 발아 전 각각 29.51 및 28.72 mg/100 g에서 발아 6일 이후 4.51 및 13.12 mg/100 g으로 발아기간이 증가함에 따라 감소하였으며, 안토시아닌보다 안토시아닌의 감소폭이 크게 나타났다. 이러한 결과는 살수과정에서 수용성 색소인 안토시아닌 및 안토시아닌이 손실되는 것과 함께 anthocyanin-β-glucosidase와 같은 안토시아닌 가수분해 효소의 활성화에 따라 안토시아닌이 안토시아닌으로 전환됨에 따른 결과로 판단된다(25). 또한, cyanidin의 경우 catechin과 함께 cyanidin-catechin, proanthocyanidin 및 탄닌의 구성성분으로서 발아가 진행됨에 따라 식물이 성장하면서 구조적인 세포벽을 지지하기 위한 타

Table 1. Change in phenolic acid profiles of adzuki bean with germination period (day 0~day 6)

Germination periods (day)	Contents of phenolic compound (µg/g)																		
	Gallic acid	Homogentisic acid	Gentisic acid	Chlorogenic acid	(+)-Catechin	Caffeic acid	Phloretic acid	p-Coumaric acid	Ferulic acid	Veratric acid	Naringin	Hesperidin	Salicylic acid	Protocatechuic acid	Quercetin	Naringenin	Hesperitin	Biochanin	Total
0	Free	0.69 ^b	3.40 ^b	ND	0.50 ^b	6.44 ^a	0.10 ^a	1.47 ^d	0.45 ^c	0.70 ^f	ND	2.59 ^e	0.20 ^d	0.35 ^e	2.48 ^b	0.02 ^e	ND	0.04 ^e	16.04 ^b
	Bound	ND	5.34 ^e	ND	0.35 ^e	9.97 ^e	ND	1.55 ^e	1.30 ^e	ND	ND	ND	0.72 ^d	ND	ND	ND	ND	ND	20.06 ^f
	Total (Free+Bound)	0.69 ^b	8.74 ^d	ND	0.85 ^f	16.41 ^e	0.10 ^a	3.02 ^e	1.75 ^e	0.70 ^f	ND	2.59 ^e	0.91 ^e	0.35 ^e	2.48 ^b	0.02 ^e	ND	0.04 ^e	36.10 ^f
1	Free	0.84 ^{ab}	9.48 ^a	ND	1.83 ^a	6.44 ^a	0.07 ^a	1.96 ^c	1.48 ^a	1.62 ^c	0.59 ^d	5.07 ^d	1.29 ^{bc}	3.34 ^d	4.20 ^a	0.74 ^e	0.19 ^f	5.04 ^a	38.70 ^e
	Bound	ND	6.45 ^d	ND	4.51 ^c	14.33 ^d	ND	1.69 ^{de}	2.95 ^d	ND	ND	ND	0.35 ^e	ND	ND	ND	ND	ND	31.23 ^e
	Total (Free+Bound)	0.84 ^{ab}	16.43 ^a	ND	6.33 ^d	20.77 ^d	0.07 ^a	3.65 ^e	4.43 ^c	1.62 ^c	0.59 ^d	5.07 ^d	1.64 ^d	3.34 ^d	4.20 ^a	0.74 ^e	0.19 ^f	5.04 ^a	69.92 ^e
2	Free	0.34 ^c	ND	ND	ND	2.94 ^e	ND	1.26 ^d	0.06 ^f	1.72 ^c	0.78 ^c	3.30 ^e	0.99 ^c	3.23 ^d	2.35 ^b	13.28 ^d	1.70 ^e	4.82 ^b	35.06 ^f
	Bound	ND	14.77 ^b	ND	4.78 ^c	21.40 ^b	ND	1.60 ^{de}	2.84 ^d	ND	ND	ND	0.23 ^e	ND	ND	ND	ND	ND	47.46 ^d
	Total (Free+Bound)	0.34 ^c	14.77 ^b	ND	4.78 ^c	24.34 ^c	ND	2.86 ^e	2.89 ^d	1.72 ^c	0.78 ^d	3.30 ^e	1.22 ^{de}	3.23 ^d	2.35 ^b	13.28 ^d	1.70 ^e	4.82 ^b	82.52 ^d
3	Free	0.32 ^c	ND	ND	ND	3.87 ^d	ND	3.11 ^a	0.23 ^d	0.90 ^e	0.81 ^c	8.20 ^c	1.59 ^a	8.61 ^a	1.81 ^c	21.76 ^c	3.84 ^d	4.29 ^c	56.85 ^c
	Bound	ND	6.62 ^d	ND	2.65 ^d	21.07 ^b	ND	3.06 ^d	3.04 ^d	ND	ND	ND	2.70 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	49.46 ^d
	Total (Free+Bound)	0.32 ^c	6.62 ^e	ND	2.65 ^e	24.94 ^c	ND	6.17 ^d	3.27 ^d	0.90 ^e	0.81 ^d	8.20 ^c	4.29 ^a	8.61 ^a	1.81 ^c	21.76 ^c	3.84 ^d	4.29 ^c	106.31 ^c
4	Free	1.07 ^a	ND	ND	ND	3.09 ^e	ND	1.43 ^d	0.09 ^f	1.21 ^d	1.49 ^b	9.26 ^c	1.27 ^{bc}	5.02 ^c	0.84 ^d	23.51 ^b	7.08 ^c	0.50 ^d	52.37 ^d
	Bound	ND	10.70 ^c	ND	10.39 ^b	18.62 ^c	ND	6.62 ^c	5.19 ^c	ND	1.25 ^a	ND	0.67 ^d	ND	ND	0.07 ^c	ND	ND	59.94 ^c
	Total (Free+Bound)	1.07 ^a	10.70 ^c	ND	10.39 ^b	21.71 ^d	ND	8.05 ^c	5.28 ^b	1.21 ^d	2.74 ^b	9.26 ^c	1.94 ^{cd}	5.02 ^c	0.84 ^d	23.58 ^b	7.08 ^c	0.50 ^d	112.31 ^c
5	Free	0.29 ^c	ND	ND	ND	4.88 ^c	ND	1.37 ^d	0.14 ^e	2.14 ^b	1.50 ^b	12.37 ^b	1.40 ^{ab}	4.95 ^c	0.57 ^e	23.11 ^b	10.58 ^b	0.67 ^d	60.83 ^b
	Bound	ND	10.30 ^c	8.73 ^b	8.78 ^b	24.75 ^a	ND	10.62 ^b	9.68 ^a	3.20 ^b	1.06 ^b	ND	1.26 ^c	ND	0.26 ^b	ND	ND	ND	88.96 ^b
	Total (Free+Bound)	0.29 ^c	10.30 ^c	8.73 ^b	8.78 ^c	29.62 ^b	ND	12.00 ^b	9.82 ^a	5.34 ^b	2.56 ^c	12.37 ^b	2.65 ^c	4.95 ^c	0.57 ^e	23.38 ^b	10.58 ^b	0.67 ^d	149.79 ^b
6	Free	0.31 ^c	ND	ND	ND	6.00 ^b	0.08 ^a	2.54 ^b	0.59 ^b	2.55 ^a	8.25 ^a	18.05 ^a	1.09 ^c	6.19 ^b	0.49 ^e	34.09 ^a	18.09 ^a	0.09 ^e	91.37 ^a
	Bound	ND	16.70 ^a	15.98 ^a	12.08 ^a	25.84 ^a	ND	13.14 ^a	9.06 ^b	3.52 ^a	1.12 ^b	ND	2.42 ^b	ND	0.57 ^a	ND	ND	ND	115.44 ^a
	Total (Free+Bound)	0.31 ^c	16.70 ^a	15.98 ^a	12.08 ^a	31.84 ^a	0.08 ^a	15.68 ^a	9.66 ^a	6.07 ^a	9.37 ^a	18.05 ^a	3.51 ^b	6.19 ^b	0.49 ^e	34.66 ^a	18.09 ^a	0.09 ^e	206.81 ^a

Values are mean±SD of 3 replicates. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($P<0.05$) among different germination periods.

Table 2. Change in anthocyanin and anthocyanidin of adzuki bean with germination period (day 0~day 6)

Germination periods (day)	Contents of anthocyanins and anthocyanidins (mg/100 g)							
	Cyanidin-3-glucose	Delphinidin-3-glucose	Petunidin-3-glucose	Cyanidin	Delphinidin	Total anthocyanin	Total anthocyanidin	
0	Free	0.33±0.16 ^a	29.19±1.12 ^a	ND	22.27±0.18 ^a	6.44±0.44 ^a	29.51±1.12 ^a	28.72±0.61 ^a
	Bound	ND	ND	ND	37.97±0.56 ^a	31.88±0.35 ^a	ND	69.85±0.91 ^a
	Total (Free+Bound)	0.33±0.16 ^a	29.19±1.12 ^a	ND	60.14±0.55 ^a	38.08±0.47 ^a	29.51±1.12 ^a	98.22±0.08 ^a
1	Free	ND	12.8±0.16 ^b	ND	19.95±0.19 ^b	5.49±0.20 ^b	12.8±0.16 ^b	25.44±0.39 ^b
	Bound	ND	ND	ND	20.47±0.77 ^b	9.67±0.50 ^b	ND	30.15±1.27 ^b
	Total (Free+Bound)	ND	12.8±0.16 ^b	ND	40.32±0.86 ^b	15.05±0.47 ^b	12.8±0.16 ^b	55.37±1.32 ^b
2	Free	ND	6.97±0.02 ^c	5.30±0.38 ^a	14.99±0.12 ^c	3.12±0.06 ^c	12.27±0.40 ^b	18.12±0.19 ^c
	Bound	ND	ND	ND	12.23±0.07 ^c	5.31±0.05 ^c	ND	17.54±0.12 ^c
	Total (Free+Bound)	ND	6.97±0.02 ^c	5.30±0.38 ^a	27.29±0.09 ^c	8.40±0.03 ^c	12.27±0.40 ^b	35.69±0.06 ^c
3	Free	ND	5.57±0.15 ^d	2.32±0.03 ^c	13.87±0.15 ^d	2.58±0.04 ^d	7.89±0.18 ^c	16.45±0.19 ^d
	Bound	ND	ND	ND	12.00±0.28 ^{cd}	3.55±0.00 ^d	ND	15.55±0.28 ^d
	Total (Free+Bound)	ND	5.57±0.15 ^d	2.32±0.03 ^c	25.89±0.48 ^d	6.14±0.05 ^d	7.89±0.18 ^c	32.03±0.53 ^d
4	Free	ND	4.38±0.24 ^e	3.19±0.16 ^b	12.26±0.06 ^e	1.95±0.10 ^c	7.57±0.39 ^c	14.21±0.16 ^e
	Bound	ND	ND	ND	11.82±0.33 ^{cd}	3.20±0.09 ^e	ND	15.02±0.42 ^{de}
	Total (Free+Bound)	ND	4.38±0.24 ^e	3.19±0.16 ^b	24.05±0.30 ^e	5.10±0.18 ^e	7.57±0.39 ^c	29.15±0.48 ^e
5	Free	ND	5.23±0.28 ^{de}	ND	11.93±0.21 ^f	1.90±0.15 ^c	5.23±0.28 ^d	13.82±0.36 ^e
	Bound	ND	ND	ND	11.58±0.09 ^{de}	3.23±0.10 ^{de}	ND	14.81±0.19 ^e
	Total (Free+Bound)	ND	5.23±0.28 ^{de}	ND	23.50±0.38 ^e	5.04±0.15 ^e	5.23±0.28 ^d	28.54±0.53 ^e
6	Free	ND	4.51±0.19 ^e	ND	11.36±0.27 ^e	1.76±0.09 ^c	4.51±0.19 ^d	13.12±0.36 ^f
	Bound	ND	ND	ND	11.24±0.07 ^e	2.61±0.01 ^f	ND	13.85±0.08 ^f
	Total (Free+Bound)	ND	4.51±0.19 ^e	ND	22.75±0.11 ^f	4.32±0.05 ^f	4.51±0.19 ^d	27.07±0.16 ^f

Values are mean±SD of 3 replicates.

Different small letters in the same items indicate a significant difference ($P<0.05$) among different germination periods.

닌 및 타닌 중합체와 같은 고분자 화합물을 생합성하는 데 일부 이용된 것으로 판단된다(32). 결합형의 경우 산 가수분해에 의해 안토시아닌은 검출되지 않았으며, 안토시아니딘은 발아 기간이 증가함에 따라 원곡의 69.85 mg/100 g에서 발아 2일, 4일 및 6일 이후 17.54, 15.02 및 13.85 mg/100 g으로 발아 초기 급격하게 감소하여 대부분의 결합형 안토시아니딘이 침지 및 발아 초기과정에서 손실되는 것을 확인하였다. 안토시아닌은 극성의 수용성 색소로서 살수과정에서 카로테노이드와 같은 지용성 색소보다 불안정하고, anthocyanin-β-glucosidase와 polyphenol oxidase와 같은 식물조직에 존재하는 효소가 안토시아닌 가수분해에 중요한 역할을 한다(33). 따라서 발아과정에서 안토시아닌 함량이 감소한 것은 침지 및 발아 과정에서 수용성 분자인 안토시아니딘이 씻겨 내려가 손실된 것과 함께 안토시아닌 가수분해 및 고분자 플라보노이드 생합성 효소의 활성화에 따른 결과로 판단되며, 추후 발아과정 중의 안토시아닌 감소 최소화 조건의 구명이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 발아에 의한 팔의 기능성분 변화를 살펴보기 위하여 6일 동안 발아시키면서 유리형 및 결합형 폴리페놀, 플라보노이드, 페놀산 및 안토시아닌의 변화를 분석하였다.

유리형 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 발아기간이 증가함에 따라 각각 약 2.6배 및 5배 정도 증가하였으며, 결합형 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 발아 초기 감소하였다가 발아 3일 및 2일 이후 각각 증가하였다. 발아기간에 따른 구성 페놀산의 변화의 경우 ferulic acid, veratric acid, hesperidin, salicylic acid, naringenin 및 hesperidin과 총 페놀산은 유리형 및 결합형 페놀산 함량이 모두 증가하였지만, 안토시아닌 및 안토시아니딘은 침지 및 발아과정에서 손실되어 감소하였다. 본 연구 결과 팔을 발아시킬 경우 폴리페놀, 플라보노이드 및 페놀산 함량이 증가함에 따라 팔에 함유된 기능성분의 이용성을 증대시키기 위해서는 발아공정의 적용이 효과적이라고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구비지원(과제번호: PJ010913)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Rho CW, Son SY, Hong ST, Lee KH, Ryu IM. 2003. Agromomic characters of Korean adzuki beans (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi). *Korean J Plant Res* 16: 147-154.
2. Chang KY, Han KS, Park JC. 1968. Studies on the selection

- in adzuki bean breeding. III. Phenotypic and genotypic correlations among some characters in the population of adzuki bean varieties. *Res Bul Chinju Agric Col* 7: 39-44.
3. Choi SY, Jeong YJ, Lee SJ, Chi OH, Chegal SA. 2002. *Food and health for modern people*. Dongmyungsa, Seoul, Korea. p 244-246.
 4. Yoshida K, Sato Y, Okuno R, Kameda K, Isobe M, Kondo T. 1996. Structural analysis and measurement of anthocyanins from colored seed coats of *Vigna*, *Phaseolus*, and *Glycine* legumes. *Biosci Biotechnol Biochem* 60: 589-593.
 5. Ariga T, Koshiyama I, Fukushima D. 1988. Antioxidative properties of procyanidins B-1 and B-3 from azuki beans in aqueous systems. *Agric Biol Chem* 52: 2717-2722.
 6. Koide T, Hashimoto Y, Kamei H, Kojima T, Hasegawa M, Terabe K. 1997. Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Biother Radiopharm* 12: 277-280.
 7. Lee YR, Kim JY, Woo KS, Hwang IG, Kim KH, Kim KJ, Kim JH, Jeong HS. 2007. Changes in the chemical and functional components of Korean rough rice before and after germination. *Food Sci Biotechnol* 16: 1006-1010.
 8. Ko JY, Song SB, Lee JS, Kang JR, Seo MC, Oh BG, Kwak DY, Nam MH, Jeong HS, Woo KS. 2011. Changes in chemical components of foxtail millet, proso millet, and sorghum with germination. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1128-1135.
 9. Lee EH, Kim CJ. 2008. Nutritional changes of buckwheat during germination. *Korean J Food Cult* 23: 121-129.
 10. Chung DS, Kim HK. 1998. Changes of protein and lipid composition during germination of *Perilla frutescens* seeds. *Korean J Life Sci* 8: 318-325.
 11. Kim JS, Kim JG, Kim WJ. 2004. Changes in isoflavone and oligosaccharides of soybeans during germination. *Korean J Food Sci Technol* 36: 294-298.
 12. Nardini M, Ghiselli A. 2004. Determination of free and bound phenolic acids in beer. *Food Chem* 84: 137-143.
 13. Chandrasekara A, Shahidi F. 2011. Bioactivities and anti-radical properties of millet grains and hulls. *J Agric Food Chem* 59: 9563-9571.
 14. Acosta-Estrada BA, Gutiérrez-Urbe JA, Sema-Saldívar SO. 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem* 152: 46-55.
 15. Lopez A, El-Naggar T, Duenas M, Ortega T, Estrella I, Hernandez T, Gomez-Serranillos MP, Palomino OM, Carretero ME. 2013. Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem* 138: 547-555.
 16. Seo MC, Ko JY, Song SB, Lee JS, Kang JR, Kwak DY, Oh BG, Yoon YN, Nam MH, Jeong HS, Woo KS. 2011. Antioxidant compounds and activities of foxtail millet, proso millet and sorghum with different pulverizing methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 790-797.
 17. Jung KH, Hong HD, Cho CW, Lee MY, Choi UK, Kim YC. 2012. Phenolic acid composition and antioxidative activity of red ginseng prepared by high temperature and high pressure process. *Korean J Food Nutr* 25: 827-832.
 18. Zielinski H, Kozłowska H, Lewczuk B. 2001. Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innovaive Food Sci Emerging Technol* 2: 159-169.
 19. Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
 20. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
 21. Macz-Pop GA, Rivas-Gonzalo JC, Pérez-Alonso JJ, González-Parmás AM. 2006. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem* 94: 448-456.
 22. Giusti MM, Wrolstad RE. 1996. Characterization of red radish anthocyanins. *J Food Sci* 61: 322-326.
 23. Choung MG. 2008. Optimal HPLC condition for simultaneous determination of anthocyanins in black soybean seed coats. *Korean J Crop Sci* 54: 359-368.
 24. Woo KS, Song SB, Ko JY, Lee JS, Jung TW, Jeong HS. 2015. Changes in antioxidant contents and activities of adzuki beans according to germination time. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 687-694.
 25. Kim MY, Jang GY, Lee Y, Li M, Ji YM, Yoon N, Lee SH, Kim KM, Lee J, Jeong HS. 2016. Free and bound form bioactive compound profiles in germinated black soybean (*Glycine max* L.). *Food Sci Biotechnol* 25: 1551-1559.
 26. Ti H, Zhang R, Zhang M, Li Q, Wei Z, Zhang Y, Tang X, Deng Y, Liu L, Ma Y. 2014. Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. *Food Chem* 161: 337-344.
 27. Tian S, Nakamura K, Cui T, Kayahara H. 2005. High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in rice. *J Chromatogr A* 1063: 121-128.
 28. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 2: 152-159.
 29. Middleton E, Kandaswami C. 1994. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol* 48: 115-119.
 30. Yang F, Basu TK, Oraikul B. 2001. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. *Int J Food Sci Nutr* 52: 319-330.
 31. Mattila P, Pihlava JM, Hellström J. 2005. Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. *J Agric Food Chem* 53: 8290-8295.
 32. Temple NJ. 2000. Antioxidants and disease: More questions than answers. *Nutr Res* 20: 449-459.
 33. Lin LZ, Hamly JM, Pastor-Corrales MS, Luthria DL. 2008. The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem* 107: 399-410.