

# 반응표면분석법을 이용한 인후염에 도움을 주는 천연물 유래 기능성 로렌지 생산 조건 최적화

이강원\*, 지승우, 양주현, 전예림, 임지순  
 건양대학교 제약생명공학과  
 e-mail:imjst@konyang.ac.kr

## Optimization of natural product-derived functional Lozenge production conditions that help with sore throat Using Response Surface Methodology

Gang-Won Lee\*, Seung-Woo Ji, Ju-Hyun Yang, Ye-Lim Jeon, Ji-Soon Im  
 Dept. of Pharmaceutics & Biotechnology, Konyang University

### 요약

실내 공기질 오염으로 인해 실내에서 많은 시간을 보내는 현대인들 호흡기 질환을 발생시킨다. 이에 반응 표면 분석을 통해 인후염에 도움이 되는 가공적성이 높은 로렌지를 개발하고자 하였다. 평균 질량은 1.463-1.490g의 값이 나타났고, 중량 편차는 10% 이내에 들어 모두 적합으로 판단하였다. 봉해 속도는 5분에서 30분까지 5분마다 측정하였고, 0.80-2.81 brix 사이에서 변화하였다. Compression Force는 봉해 속도에 영향을 받지 않으나 *Aspalathus linearis*는 함량이 증가할수록 감소하였다. 마손도는 그 질량의 손실률이 1% 이내일 때 보관 및 운송에 적합으로 판단되는데 루이보스 15g 이상, 타정압력 18MPa 이상의 조건에서 적합으로 판단되었다. 루이보스가 증가함에 따라 L 값은 감소하지만, a 값, b 값,  $\Delta E$  값은 증가하는 경향을 나타내었다. L 값을 제외한 나머지는 타정압력에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 경도는 1935-4673g 사이에서 변화했고, 최대응력은 5.09-57.29N/cm<sup>2</sup> 사이의 값을 가졌으며, 부서짐성은 1935-4673g 사이에서 변화하였다. 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 각각 26.76-101.66 mgTE/10g과 34.39-119.68 mgRE/10g가 나왔으며 0.1% 수준에서 유의성이 인정되었다. DPPH 자유 라디칼 소거능은 31.58~62.62% 사이에서 변화했으며, 루이보스 첨가량에 따라 유의적 차이를 보였다. ABTS 자유 라디칼 소거능은 모든 조건에서 98% 이상의 강력한 자유 라디칼 소거능을 보여줘 어느 조건을 선택하여도 우수한 항산화능을 보여줄 것으로 판단되었다. 따라서 이화학적, 기능적 특성 모든 결과를 종합할 때 루이보스와 타정압력을 달리 설계된 구간 각각 15g, 18MPa 부근에서 루이보스 로렌지 생산 최적조건이 결정된다고 사료된다.

## 1. 서론

국내에서 진행된 연구에 따르면 현대인들이 실내에서 보내는 시간은 하루 24시간 중 평균 80%에 이르는 것으로 보고되었다. 삶의 질 향상 및 건강을 유지하는데 쾌적한 실내환경은 기본적인 요건이지만, 대다수 실외보다 더 오염되어 있는 실내에서 각종 유해물질을 흡입하며 하루 대부분을 거주하고 있다. 실내 공기 오염의 대표적인 원인은 화학적 원인과 생물학적 원인이 있다. 화학적 원인으로는 포름알데히드, 휘발성 유기화합물(VOCs) 등이 있다. 생물학적 원인으로는 진균류인 곰팡이가 있다. 이러한 실내의 입자상 오염물질은 호흡기를 통하여 체내에 흡입되어 여러 가지 질병을 일으킨다. 특히, 인후염은 흔히 목감기라고 부르는 상기도 감염증을 말하며 목 안쪽 편도선 주위의 인두와 후두가 바이러스나 세균 등에 감염되어 염증이 생긴 상태를 말한다.

루이보스(*Aspalathus linearis*)는 항산화 활성과 관련한 성분으로 알려진 주요 플라보노이드로는 isorientin, orientin, rutin, isovitexin 등이 보고되고 있다. 최근의 연구는 루이보스

또는 루이보스의 페놀 성분 섭취가 염증과 심혈관 건강에 긍정적인 영향을 미친다는 것을 보여주었다. 로렌지(lozenge)는 함당정제와 유사한 의미로 입에서 녹는 둥근 혹은 긴 타원의 알약으로 일반적으로 단순한 목캔디와 다르게 진통제, 진해거담제, 항염증제 등이 첨가된 약용 목캔디를 말한다.

이에 본 연구에서는 인후염에 대한 식품소재로써 로렌지 가공적성에 맞는 다양한 기능성 소재들을 스크리닝하여 선정된 루이보스 첨가량과 타정압력을 독립변수로 중심합성 계획법에 따라 반응표면분석을 통해 기능성이 뛰어난 로렌지를 개발하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 실험재료

실험에 사용된 Starch. corn((주) SAMCHUN), Xylitol((주) 씨제이제일제당), D-Maltitol((주)로케뜨코리아), Magnesium stearate(Mg 3.5%)(주)SAMCHUN), 금은화 분말((주)모어앤업), 루이보스 분말((주)티젠 농업회사법인)은 시판되는 제

품을 구입하여 사용하였다.

### 2.2 실험설계

본 실험에서는 루이보스 로렌지 최적 제조조건을 모니터링 하기 위해 중심합성계획법(Central Composite Design)을 이용하여 설계하였다. 회귀분석(Response Surface Method)을 위해서는 SAS package(Statistical Analysis System)를 사용하였다.

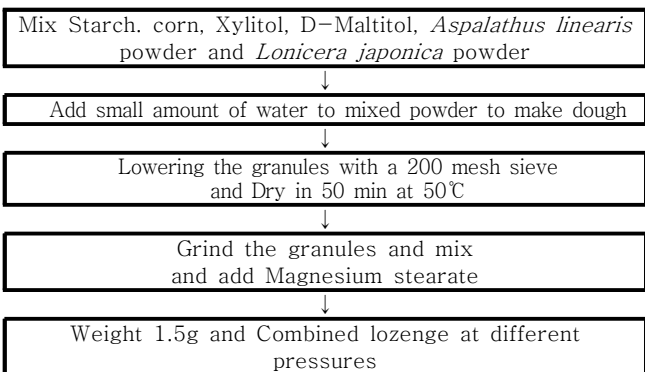
중심합성계획에서 독립변수 ( $X_n$ )은 Amount of *Aspalathus linearis*( $X_1$ ) 및 Compression force( $X_2$ )이며, 실험계획은 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 그에 따른 10개의 실험구를 표 1에 나타내었다.

Experiment Number	<i>Aspalathus linearis</i> (g)	Compression force (MPa)
1	20 (1)	18 (1)
2	20 (1)	14 (-1)
3	10 (-1)	18 (1)
4	10 (-1)	14 (-1)
5	15 (0)	16 (0)
6	15 (0)	16 (0)
7	25 (2)	16 (0)
8	5 (-2)	16 (0)
9	15 (0)	20 (2)
10	15 (0)	12 (-2)

[표 1] Central composite design for the manufacturing of *Aspalathus linearis* lozenge

### 2.3 로렌지의 제조

루이보스 로렌지의 개발을 위해 먼저 예비실험을 통해 제조 조건을 찾았다. 부형제로 Corm Starch을, 감미료로 Xylitol을, 붕해제로 D-Maltitol을, 활택제로 Magnesium stearate를 사용하였다. 루이보스의 첨가량을 증가시키기에 따라 D-Maltitol을 통해 총량을 맞춰주었다. 제조방법과 배합비는 표 1과 표 2와 같다.



[표 2] Procedure for preparation of *Aspalathus linearis* lozenge

### 2.4 평균 질량 및 중량 편차

제조된 로렌지 25개 중 20개를 무작위로 선택하여 전자저울(AVG4101, OHAUS, China)을 사용하여 무게를 측정하였다. 이때 표준편차가 10% 이내의 값이 나오면 중량 균일성이 적합으로 판단한다.

### 2.5 붕해속도

제조한 로렌지 1정에 비커 100mL에 증류수 50mL를 가해 표준온도(20°C±0.5°C)에서 200rpm으로 교반하여 5분마다 150μl를 취하여 굴절당도계(N-1E Brix 0~32%, Atago, Japan)로 붕해 속도를 측정하였다. 2회 반복 시험하여 최대 30분까지 측정하였다.

### 2.6 마손도

제조된 로렌지를 무작위로 9g 이내로 선택하여 처음 로렌지의 총 무게를 측정 후 마손도 측정기(FRV 1000, COPLEY Y, United Kingdom)에서 드럼을 100회 회전시킨 후 떨어진 가루를 털어내고 무게 변화를 측정하였다. 2회 반복 시험하였다. 2회 시험의 평균 질량감소가 1% 이내인 것을 적합하다고 판정한다.

### 2.7 색도

원물 그대로 사용해 색차계(SP-80, Tokyo Denshoku Co Ltd, Japan)를 사용하여 L값(Lightness), a값(Redness), b값(Yellowness), ΔE값(Color difference)을 2회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. 이때 사용한 표준 백판(standard plate)의 X값은 82.04, Y값은 83.84, Z값은 96.59이었다.

### 2.8 조직경도

Texture Analyzer(CT3 10K, Brookfield International Inc., USA)로 측정하여 First cycle에서 경도(Hardness), 최대 응력(Peak Stress), 점착성(Adhesiveness), Second cycle에서 응집성(Cohesiveness), 탄력성(Springiness), 검성(Gumminess)을 나타내었다. Probe는 TA41 Cylinder(6mm D, 35mm L)을 사용하였고 자세한 설정값은 표 3과 같으며 10회 반복 측정하여 평균과 표준편차를 구하였다.

[표 4] The Operating Condition of Texture Analyzer

Sample size	40 x 40 x 4mm
Test type	Compression Cycle
Target value	3mm
Trigger load	4g
Test speed	2mm/s
Probe	TA7 Knife Edge (60mm W)

[표 3] RSM Formula prepared by varying the addition amount of *Aspalathus linearis* and the addition amount of D-Maltitol of the *Aspalathus linearis* lozenge.

Ingredients (g)	Sample number									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Strach. corn	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Xylitol	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
D-Maltitol	45	45	55	55	50	50	40	60	50	50
Magnesiumstearate	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Lonicera japonica</i> powder	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
<i>Aspalathus linearis</i> powder	20	20	10	10	15	15	25	5	15	15

Total(g) 100

### 2.9 항산화 및 항산화력 측정

로렌지 10g을 간 뒤 70% ethanol 95mL를 가하여 4,000 RPM에서 20분간 원심분리한 뒤 감압 여과(Whatman No.2)시킨 뒤 시료로 사용하였다.

총 페놀성 화합물의 함량은 Folin-Denis's method(2)에 따라 측정하였다. 시료액 각각 0, 200, 400 $\mu$ L에 증류수 각각 2550, 2350, 2150 $\mu$ L, 2N Folin Ciocalteu 150 $\mu$ L를 가하여 3분간 방치하고, 1N Sodium Carbonate 300 $\mu$ L를 가하여 3분간 방치시킨 후 암소에서 2시간 동안 반응시켜 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 Tannin acid(Sigma Chemical Co., USA)를 사용하여 표준 검량선을 작성한 후 총 페놀성 화합물 함량을 시료 10g 중 mg Tannin acid (mg TE/10g)으로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Davis 변법을 이용하였다. 총 페놀 함량 측정에 사용한 것과 동일한 방법으로 추출액을 준비하였고, 시료액 0, 200, 400 $\mu$ L에 90% diethylene glycol 2800, 2600, 2400 $\mu$ L를 넣고 1N NaOH 200 $\mu$ L를 가하여 잘 혼합한 후, 실온에서 1시간 반응시켜 420nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 Rutin(Sigma Chemical Co., USA)를 사용하여 표준 검량선을 작성한 후 총 플라보노이드 화합물 함량을 시료 10g 중 mg Rutin Equivalent(mgRE/10g)으로 나타내었다.

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 라디칼 소거능 Blois의 방법(3)을 이용하였다. DPPH 39.0mg을 70% ethanol 500mL에 녹여 0.2 mM로 조제하여 사용하였다. 시약 blank 흡광도 값이 1.0 $\pm$ 0.1이 되도록 조정하여 사용하였으며, 측정방법은 시료액 2mL에 0.2mM DPPH용액 2mL를 가하여 암소에서 30분 동안 반응시킨 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료액 대신 70% ethanol을 가한 Control의 흡광도를 함께 측정하여 DPPH free radical 소거능을 백분율로 나타내었다.

ABTS 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 ABTS+cation de colorization assay 방법에 의하여 시행하였다. 7mM 2,2-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)와 2.6mM potassium persulfate를 최종 농도로 혼합하여 암소 및 냉장에서 16시간 동안 방치하여 ABTS를 형성시킨 후 734nm에서 흡광도 값이 1.0 $\pm$ 0.2가 되도록 70% 에탄올로 희석하였다. 희석된 용액 3mL에 시료 용액 0.1mL를 가하여 10분 동안 실온에서 방치한 후 734nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 라디

칼 소거 활성은 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 함께 측정하여 ABTS 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

### 2.10 통계처리

모든 데이터는 반복측정 후 평균값으로 나타내었으며, 평균 간의 유의성 검정은 SAS 프로그램을 사용하였다. 또한, 모든 반응 변수는 다중회귀분석(multiple regression analysis)과 분산분석(ANOVA)을 수행하였고, 이로부터 루이보스 첨가량과 타정 압력을 달리하여 제조한 루이보스 로렌지 제조방법에 따른 품질특성을 검증하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 일반성분

평균 질량은 1.463~1.490g의 값을 보였고 중량 편차는 0.34 ~ 1.36% 범위의 값으로 모두 적합으로 판단하였다.붕해 속도는 5분에서 30분까지 5분마다 측정하였고, 0.80~2.81 brix 사이에서 변화하였다. 타정 압력은 붕해 속도에 영향을 받지 않으며 루이보스는 함량이 증가할수록 감소하였다. 마손도는 루이보스 15g 이상, 타정압력 18MPa 이상의 조건에서 1% 이내에 들어오는 것을 확인할 수 있었다. 결과는 표 4와 같다.

### 3.2 색도

루이보스가 증가함에 따라 L 값은 감소하지만 a 값, b 값,  $\Delta E$  값은 증가하는 경향을 나타내었다. 타정압력에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 루이보스의 첨가량이 증가할수록 밝기가 더 낮고, 적황색에 가까운 값을 나타낸다고 사료되었다. 측정 결과는 표 5와 같다.

[표 5] Hunter' s color values of lozenge prepared by different ratio of *Aspalathus linearis* powder

Exp.	L	a	b	$\Delta E$
1	54.20 $\pm$ 1.26	7.53 $\pm$ 0.74	14.45 $\pm$ 1.44	41.99 $\pm$ 0.84
2	59.47 $\pm$ 0.22	7.28 $\pm$ 0.11	15.72 $\pm$ 0.43	37.50 $\pm$ 0.63
3	63.31 $\pm$ 0.59	6.61 $\pm$ 0.06	14.83 $\pm$ 0.30	33.56 $\pm$ 0.63
4	62.97 $\pm$ 1.94	6.43 $\pm$ 0.19	14.24 $\pm$ 0.91	33.64 $\pm$ 1.46
5	59.99 $\pm$ 0.81	6.99 $\pm$ 0.19	14.06 $\pm$ 0.28	36.37 $\pm$ 0.69
6	60.92 $\pm$ 0.57	6.97 $\pm$ 0.26	14.75 $\pm$ 0.13	35.75 $\pm$ 0.52
7	55.27 $\pm$ 1.23	8.86 $\pm$ 0.58	17.39 $\pm$ 1.38	42.28 $\pm$ 0.53
8	67.04 $\pm$ 1.17	5.84 $\pm$ 0.12	14.71 $\pm$ 0.26	30.05 $\pm$ 1.03
9	58.67 $\pm$ 0.99	6.61 $\pm$ 0.15	13.29 $\pm$ 0.38	37.27 $\pm$ 0.87
10	61.65 $\pm$ 0.57	6.47 $\pm$ 0.07	13.71 $\pm$ 0.39	34.62 $\pm$ 0.48

### 3.3 조직경도

경도(hardness)는 1935~4673g 사이에서 변화했고, 최대응

력(Peak Stress)은 5.09~57.29N/cm<sup>2</sup> 사이의 값을 가졌으며, 부서짐성(Fracturability)은 1935~4673g 사이에서 변화하였다. 경도, 최대 응력, 부서짐성은 *Aspalathus linearis* 함량이 증가함에 따라 저압에서는 감소하고 고압에서는 증가하는 경향을 보였으나 Compression Force 14MPa 이하에서는 제형으로 완성도가 떨어져 최소 14MPa 이상에서 타정을 해야 할 것으로 판단된다.

[표 6] Texture properties of lozenge prepared by different ratio of *Aspalathus linearis* powder

Exp.	Hardness (g)	Peak stress (N/cm <sup>2</sup> )	Fracturability (g)
1	4673±549	57.29±6.73	4673±549
2	415.6±418	5.094±5.12	350.5±433
3	3165±1225	38.80±15.0	3165±1225
4	2497±1959	30.60±24.0	2456±2003
5	2889±746.4	35.42±9.15	2889±746.4
6	2775±800	34.02±9.80	2775±800
7	1935±1064	23.72±13.1	1935±1064
8	2457±1083	30.12±13.3	2142±1130
9	3475±1122	42.60±13.8	3344±1265
10	2324±1007	28.48±12.3	2324±1007

### 3.4 항산화 및 항산화력 측정

총 페놀성 및 총 플라보노이드 화합물의 함량은 각각 각각 26.76~101.66 mgTE/10g과 34.39~119.68 mgRE/10g가 나왔으며, 타정압력에 따른 유의적으로 차이가 없었으며 소재의 증가량에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 보였다.

DPPH 및 ABTS 자유라디칼 소거능 값의 범위는 각각 31.58~62.62%, 98.28~98.75%의 범위로 DPPH는 루이보스 첨가량에 따라 유의적인 차이가 보였으며, ABTS는 전체적으로 98%이상 높은 항산화력을 보였다.

## 4. 결론

실내에서 거주하는 시간이 증가하면서 실내 공기질 오염이 되는데 이러한 실내환경 오염은 실내에서 많은 시간을 보내는 현대인들 건강에 악영향을 미치고, 호흡기 질환을 발생시킨다. 이에 반응 표면 분석을 통해 인후염에 도움이 되는 가공적성이 높은 로젠지를 개발하고자 하였다. 평균 질량은 1.463 ~ 1.490g의 값이 나타났고, 중량 편차는 10% 이내에 들어 모두 적합으로 판단하였다. 봉해 속도는 5분에서 30분까지 5분마다 측정하였고, 0.80~2.81 brix 사이에서 변화하였다. Compression Force는 봉해 속도에 영향을 받지 않으나 *Aspalathus linearis*는 함량이 증가할수록 감소하였다. 마손도는 그 질량의 손실률이 1% 이내일 때 보관 및 운송에 적합으로 판단되는데 루이보스 15g 이상, 타정압력 18MPa 이상의 조건에서 적합으로 판단되었다. 루이보스가 증가함에 따라 L 값은 감소하지만, a 값, b 값, L E 값은 증가하는 경향을 나타내었다. L 값을 제외한 나머지는 타정압력에 따른 유의적인

차이는 나타나지 않았다. 경도(hardness)는 1935~4673g 사이에서 변화했고, 최대응력(Peak Stress)은 5.09~57.29N/cm<sup>2</sup> 사이의 값을 가졌으며, 부서짐성(Fracturability)은 1935~4673g 사이에서 변화하였다. 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 각각 26.76~101.66 mgTE/10g과 34.39~119.68 mgRE/10g가 나왔으며 0.1% 수준에서 유의성이 인정되었다. DPPH 자유라디칼 소거능은 31.58~62.62% 사이에서 변화했으며, 루이보스 첨가량에 따라 유의적 차이를 보였다. ABTS 자유라디칼 소거능은 98.28~98.75% 사이에서 변화했으며, 모든 조건에서 98% 이상의 강력한 자유 라디칼 소거능을 보여줘 어느 조건을 선택하여도 우수한 항산화능을 보여줄 것으로 판단되었다. 따라서 이화학적, 기능적 특성 모든 결과를 종합할 때 루이보스와 타정압력을 달리 설계된 구간 각각 15g, 18MPa 부근에서 루이보스 로젠지 생산 최적조건이 결정된다고 사료된다.

## 참고문헌

- [1] J.H Nam, Implement of Analysis system with Indoor Environment Monitoring Based on IoT, *Journal of the Korea Institute of Information and Communication Engineering*, vol.23, no.12, pp.1687-1692, 2019
- [2] Folin O and Denis W. A colorimetric method for determination of phenols(phenol derivatives) in urine. *Journal of Biological chemistry*, 305-308, 1915
- [3] MS · Blois Antioxidant determinations by the use of astable free radical. *Nature* 181: 1199-1200, 1958