

## 백합과 비수리의 추출 및 추출혼합물이 함유된 음료 제품의 품질 안정성

김승태 · 허창희 · 김성훈 · 이원종\*

(주)오투바이오

### Extraction and Quality Stability of Products Containing *Lilium* Bulb and *Lespedeza cuneata* G. Don Extracts

Seung Tae Kim, Chang Hoe Heo, Sung Hoon Kim, Won Jong Lee\*

Research Institute, O2 Bio Co., Ltd., Gangneung, Korea

(Received November 6, 2019/Revised November 25, 2019/Accepted December 6, 2019)

**ABSTRACT** - The purpose of this study was to establish optimized extraction conditions for *Lilium* bulb and *Lespedeza cuneata* G. Don and to investigate the storage stability of beverages containing extracts. The hot-water extract and the 60% ethanol extract had the highest DPPH radical scavenging activities as well as the highest total polyphenol content. The total polyphenol content, total flavonoid content and DPPH radical scavenging activity were the highest when the *Lilium* bulb extract was mixed with the *Lespedeza cuneata* G. Don extract at the ratio of 1:4. Storage stability of beverages was determined during storage at 10, 25, and 35°C for 6 months. The pH was decreased from 4.15 to 4.01-4.05, while the acidity was increased from 0.60% to 0.70-0.75% after storage for 6 months. The soluble solid contents were not changed during storage of 6 months. The DPPH radical scavenging activity was decreased after 4-6 months. The Hunter b (yellowness) values decreased at 35°C after storage for 6 months while the lightness (L) and redness (a) were not changed during storage for 6 months. The total saponin content was not remarkably changed during 2 months of storage, while it decreased after 4-6 months of storage. The flavonoid content was decreased 47% and 55% from an initial 21.7 mg/100 mL to 10.3 mg/100 mL and 12.0 mg/100 mL after 1 month of storage and then remained stable until 6 months. General bacteria and coliform group were not detected during storage for 6 months.

**Key words** : *Lilium* bulb, *Lespedeza cuneata* G. Don, Extraction, Storage, Quality characteristics

만성폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)은 만성 기관지염(chronic bronchitis) 또는 폐포 구조의 손상을 보이는 폐기종(emphysema), 또는 두 질환이 혼합되어 나타나고 기관지에서 폐포에 이르는 기도가 폐쇄되는 질환이다<sup>1)</sup>. 증상으로 장기간 객담을 동반하는 기침이 계속되고, 기도 폐쇄증상으로 기류의 속도가 감소하여 호흡이 곤란하며 감기와 같은 호흡기 감염이 빈발하는 이 질환은 세계 사망원인 6위, 미국의 사망원인 4위이며, 한국도 흡연, 대기오염 등으로 급격히 늘고 있는 추세이다<sup>2)</sup>. 또한 COPD는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)와 관련이 있는 것으로 알려져 있으며<sup>3)</sup>, 활성산소종에 의한 산화스트레스의 축적으로 세포손상이 시작되게

되며 이로 인해 COPD의 발병원인이 될 수 있다<sup>4)</sup>. 항산화 물질은 동·식물계에 널리 분포되어 있으며, 이들 중에 식물에 많이 분포 되어 있는 페놀화합물, 사포닌과 같은 물질은 활성산소종의 작용을 억제하여 COPD의 발병을 방지할 수 있다<sup>5)</sup>.

백합은 백합과(Liliaceae) 나리속(*Lilium*)에 속하는 다년 생초로 높이는 30-100 cm 정도이다. 백합은 크게 꽃, 잎, 줄기 및 구근 등으로 구분되며 관상용으로 많이 사용하고 있고, 주요 분포지는 온대, 열대 및 산지이다. 백합은 그 종류가 다양하며, 북반구의 온대지방에 130여종, 아시아에 70여종, 북아메리카에 30여종, 유럽에 10여종 및 유라시아 대륙에 10여종 이상의 품종이 분포되어 있는 것으로 보고 되고 있다<sup>6)</sup>. 백합 추출물은 폐세척액내(bronchoalveolar lavage fluid; BALF) 대식세포, 호산구, 호중구 및 림프구의 수를 감소시키고. 만성 폐쇄성 폐질환에 의해 급격히 증가한 interleukin 6 (IL-6) 및 tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 사이토카인 및 monocyte chemoattractant protein-

\*Correspondence to: Won Jong Lee, 216, 641-22, Saimdang Ro, Gangneung 25451, Korea  
Tel: +82-10-7393-8946, Fax: +82-33-647-9535  
E-mail: wonjlee6789@hanmail.net

1 (MCP-1) 및 matrix metalloproteinase 12 (MMP-12)의 양을 현저하게 낮추는 효과를 가지며, 조직상에서 폐포주위의 염증세포를 감소시키고 확장된 폐포 크기를 의미있게 감소시키므로 만성폐쇄성 폐질환 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다고 보고된 바 있다<sup>7)</sup>.

비수리(*Lespedeza cuneata* G. Don)는 콩과의 여러 해살이 풀로 야관문, 삼엽초 등으로 불리며, 전국의 산야에 널리 분포하고 있다<sup>8)</sup>. 예로부터 민간에서는 간과 콩팥을 보호해주므로 유정, 유노 등을 치료하고<sup>9)</sup>, 폐를 강화시키므로 천식, 기관지염 등의 치료에 효능이 있는 약재로 사용되어 왔다<sup>10)</sup>. 비수리는 생리활성물질로 플라보노이드, 페놀 성분 등을 함유하며, 플라보노이드 중에서도 quercetin, kaempferol, vitexin, orientin 등을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다<sup>11)</sup>. 비수리 추출물은 항균, 항산화, 항노화, 피부미백, 피부 광노화 개선 효과 등 피부 미용 기능성 소재로서 많은 연구가 되어 있으며<sup>12-14)</sup>, 최근에는 비수리 추출물이 아질산염 소거활성이 높았으며, 열수추출물 및 에탄올 추출물 모두 인간 폐암 세포주에 대한 생육 저해활성을 보였다고 보고된 바 있다<sup>15)</sup>. 또한 비수리는 면역세포의 증식을 촉진시켜 면역능을 조절할 수 있는 약재로 생쥐의 흉선세포, 비장세포 및 복강대식세포의 세포생존율을 증가시켰다고 보고되었으며<sup>16)</sup>, *in vitro* 실험에서 LPS(lipopolysaccharide)로 염증증이 유발된 설치류 대식세포주에서 NO 생성량, IL-1 $\beta$ , IL-6 등이 억제되었으며, *in vivo* 실험에서 carrageenan으로 유도된 급성 부종성 염증을 억제하여 염증성 치료에 적극 활용할 수 있다고 보고된 바 있다<sup>17)</sup>.

본 연구에서는 백합과 비수리의 추출조건을 결정하고, 백합 및 비수리를 각각 열수 및 60% 주정으로 추출한 후 혼합한 추출물을 이용하여 파우치 형태의 음료를 제조하였다. 제조한 음료를 10, 25, 35°C에서 6개월 동안 저장하면서 총 사포닌 및 총 플라보노이드 등의 함량 변화 및 이화학적 특성을 조사하였다.

## Materials and Methods

### 실험재료

실험에 사용된 백합의 품종은 현재 한국에서 재배되고 있는 식용백합으로 알려진 신나팔나리종의 오거스타(*Lilium formolongo*, Augusta)로 2018년 강원도 강릉시 연곡면에서 재배된 구근을 구입하였으며, 비수리(*Lespedeza cuneata*)는 2018년 경기도 동두천시 신천로에서 수확한 것을 사용하였다. 백합구근과 비수리는 깨끗한 물로 행군 다음 열풍건조기(JW-500ED, Jinwoo Electronic Co., Hwaseong, Korea)를 이용하여 50°C에서 12시간 동안 건조시켜 사용하였다.

### 추출조건

건조한 백합구근과 비수리는 조분쇄기(Model SJC, Sung

Jin Precision Co., Daegu, Korea)를 사용하여 600  $\mu$ m (표준체 No. 30) 이하의 크기가 되도록 분쇄하여 부직포에 넣고 20배의 정제수를 가하여 90°C에서 8시간 열수 추출하여 열수 추출액을 제조하였으며, 주정 추출액은 시료를 부직포에 넣고 20배의 20-80% 발효주정(Daihan Ethanol Life Co., Hwaseong, Korea)과 함께 30°C에서 8시간 동안 추출하여 제조하였다. 열수 추출물과 주정 추출물을 혼합 후 감압농축기(Model SB-1000, EYELA Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 90°C에서 8.5 °Brix로 농축하여 음료 제조에 사용하였다.

### 백합·비수리 농축액 함유 음료의 제조와 저장

백합·비수리 농축액 함유 음료는 농축액 5%, 프락토올리고당(Samyang Corporation, Seoul, Korea) 13%, 홍삼농축액(FirstBio Co., Kumsan, Korea) 1%, 난소화성말토덱스트린(Matsutani Co., Itami, Japan) 10% 와 정제수 71%의 배합 비율로 혼합하여 100 mL씩 음료 파우치에 분주하여 95-105°C에서 30분 동안 살균하여 제조하였다. 저장온도(10, 25, 35°C)에서 저장하면서 0, 1, 2, 4, 6개월 후에 시료를 채취하여 조사포닌, 총 플라보노이드 함량 및 음료의 품질특성을 조사하였다.

### pH, 총산도, 당도 측정

각 시료의 pH는 시료를 3,000 rpm으로 10분간 원심분리기(Hanil Scientific Inc., Kimpo, Korea)를 이용하여 원심분리한 후 상등액을 취하여 3회 반복 측정하였다. 총 산도는 pH 측정에서 얻은 동일한 상등액 10 mL에 1% phenolphthalein (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA) 지시약을 2-3방울 가한 후 0.1 N NaOH 용액으로 시료가 미색에서 선분홍색으로 변할 때까지 적정하고 적정소비량에 0.006를 곱하여 시료 중의 산을 acetic acid로 계산하였다<sup>18)</sup>. 당 함량은 hand refractometer (Model SCM-1000, HM Digital, Seoul, Korea)를 사용하여 3회 반복하여 측정하였다.

### 색도 및 갈색도 측정

색도는 색차계(Chromameter Model CR-400, Minolta Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter's color L값(명도), a값(적색도), b값(황색도)을 3회 반복하여 측정하여 평균값으로 나타내었다<sup>19)</sup>. 이 때 사용된 표준 백판의 L값은 97.83, a값은 4.69, b값은 -2.37 이었다. 갈색도는 일정량의 시료를 취하여 각각 UV-spectrophotometer (UV-1601PC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다<sup>20)</sup>.

### 가용성 고형분 함량

가용성 고형분 함량은 Min<sup>21)</sup>의 방법에 준하여 분석하였으며, 음료 내용물 3 mL를 취하여 105°C에서 3시간 건조

시킨 후 약 30분간 식히고 질량을 측정하여 증발 잔사의 양으로 표시하였다.

### Nitric oxide(NO) 소거능 측정

식물 추출물의 NO 소거능을 확인하기 위해 NO donor 인 S-Nitroso-N-Acetyl-D,L-Penicillamine (SNAP)을 이용하여 NO scavenging assay를 수행하였다<sup>22)</sup>. 모든 sample에 100 µm SNAP 1 mL를 넣었으며, control에는 증류수, positive control에는 vitamin C를 넣어 2시간 동안 37°C에서 반응시켰으며, 이후 Griess reagent (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 100 µL를 첨가하여 15분간 반응시킨 후 UV-spectrophotometer (Model V-560, Jasco Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 조사포닌 분석

조사포닌 함량은 Cho 등<sup>23)</sup>의 방법을 응용하여 측정하였다. 각 시료에 에테르로 지용성 물질을 제거하고 남겨진 증류수층에 수포화 부탄올 용액(Merck, Darmstadt, Germany)을 첨가하여 분액한 후 부탄올층을 둥근 플라스크에 담아 감압 농축하여 무게를 측정하였다. 건조는 105°C에서 3시간 건조시킨 후 약 30분간 식히고 질량을 측정하여 증발 잔사의 양으로 표시하였다.

### DPPH radical 소거능 측정

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)은 화학적으로 안정화된 수용성 free radical로서 517 nm에서 특징적인 광흡수를 나타내는 보라색 화합물이다. 항산화활성이 있는 물질과 보라색 화합물이 만나면 free radical이 소멸되면서 노란색으로 변하게 되는데 이 방법은 육안으로도 쉽게 관찰할 수 있는 대표적인 항산화 실험이다. 각 시료 일정량을 에탄올에 녹인 후 0.3 mM DPPH (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액 1 mL를 가하고 이것을 1분간 방치한 뒤 UV-spectrophotometer (Model V-560, Jasco Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 실험물질 간 라디칼 소거능을 비교분석하였다<sup>24)</sup>.

### 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 Lee 등<sup>25)</sup>의 방법을 이용하여 측정하였다. 각각의 시료 0.5 mL에 ethanol (Merck, Darmstadt, Germany) 1.5 mL, 10% 질산알루미늄(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 0.1 mL, 1 M 초산칼슘 0.1 mL, 증류수 2.8 mL을 순서대로 가하고 vortex mixer로 혼합하여 암소에서 40분간 반응시키고 UV-spectrophotometer (Model V-560, Jasco Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하여 실험물질 간 플라보노이드 함량을 비교분석하였다. 이때 quercetin

(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

### 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Dewanto 등<sup>26)</sup>의 방법을 응용하여 측정하였다. 즉 각각의 시료 1 mL에 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Daejung, Siheung, Korea) 6 mL를 가한 후 3분간 반응 후 Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 0.6 mL를 가해 실온에서 30분 동안 반응시킨 후 UV-spectrophotometer (Model V-560, Jasco Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하여 실험물질 간 폴리페놀 함량을 비교분석하였다. 이때 tannic acid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

### 미생물학적 안전성 시험

백합·비수리 추출물로 제조한 음료 파우치를 10, 25, 35°C에서 각각 6개월 동안 보관하면서 1, 2, 4, 6개월 후에 꺼내어 일반세균, 대장균군 등 미생물학적 안전성을 관찰하였다. 즉 시료 1 mL를 무균적으로 채취하여 페트리필름 (3M Petrifilm, 3M Corporation, St. Paul, MN, USA)에 분주한 후 일반세균 및 대장균군은 35°C에서 24-48시간 배양한 후 미생물학적 안전성을 확인하였다.

### 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하여 SPSS (version 25.0 for Window)를 이용하여 평균±표준편차를 구하였으며, 분산분석(ANOVA)과 Duncan's multiple range test로 시료간의 유의차를  $P < 0.05$ 에서 검정하였다.

## Results and Discussion

### 백합 추출물과 비수리 추출물의 혼합비율 결정

백합과 비수리를 각각 열수와 20%, 40% 60%, 80% 주정을 이용하여 추출한 후 폴리페놀, 플라보노이드, DPPH 소거능 및 NO 소거능을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량은 백합과 비수리 모두 60% 주정 추출물에서 가장 높은 함량을 보였다. DPPH 소거능 또한 백합 추출물과 비수리 추출물 모두 열수와 60% 주정 추출물에서 가장 높았다. NO 소거능은 열수와 20-60% 주정 추출물에서 높은 수준의 소거능을 보여주었다. 이와 같은 결과를 고려하여 백합과 비수리의 추출조건을 열수와 60% 주정으로 추출하여 혼합하는 것으로 결정하였다.

백합 추출물 분말과 비수리 추출물 분말의 최적 혼합비

**Table 1.** Phytochemical and antioxidant activity of *Lilium* bulb and *Lespedeza cuneata* extracts

	Solvent	Polyphenol (mg/g) <sup>1)</sup>	Flavonoid (mg/g)	DPPH (%)	NO (%)
<i>Lilium</i> bulb	Ascorbic acid	-	-	86.65 <sup>f</sup> ±0.22	95.76 <sup>f</sup> ±0.00
	Water	2.10 <sup>2)c</sup> ±0.01	0.32 <sup>abc</sup> ±0.04	61.66 <sup>e</sup> ±0.06	92.20 <sup>d</sup> ±0.01
	20% Ethanol	1.91 <sup>b</sup> ±0.07	0.26 <sup>ab</sup> ±0.03	41.06 <sup>a</sup> ±0.16	90.69 <sup>b</sup> ±0.01
	40% Ethanol	2.30 <sup>d</sup> ±0.01	0.34 <sup>bc</sup> ±0.04	45.49 <sup>b</sup> ±0.01	92.24 <sup>e</sup> ±0.01
	60% Ethanol	2.57 <sup>e</sup> ±0.02	0.39 <sup>c</sup> ±0.06	54.96 <sup>d</sup> ±0.11	91.43 <sup>c</sup> ±0.02
	80% Ethanol	1.53 <sup>a</sup> ±0.00	0.25 <sup>a</sup> ±0.05	49.42 <sup>c</sup> ±0.05	89.31 <sup>a</sup> ±0.01
<i>Lespedeza cuneata</i>	Ascorbic acid	-	-	86.98 <sup>f</sup> ±0.05	95.76 <sup>f</sup> ±0.00
	Water	8.37 <sup>c</sup> ±0.01	5.6 <sup>d</sup> ±0.60	68.30 <sup>a</sup> ±0.14	91.19 <sup>e</sup> ±0.01
	20% Ethanol	8.05 <sup>b</sup> ±0.01	6.8 <sup>bc</sup> ±0.79	75.60 <sup>b</sup> ±0.06	88.71 <sup>d</sup> ±0.01
	40% Ethanol	10.31 <sup>d</sup> ±0.01	7.9 <sup>cd</sup> ±0.41	79.50 <sup>c</sup> ±0.06	87.71 <sup>c</sup> ±0.01
	60% Ethanol	11.30 <sup>e</sup> ±0.01	8.6 <sup>d</sup> ±0.47	80.43 <sup>c</sup> ±0.05	84.28 <sup>b</sup> ±0.01
	80% Ethanol	6.75 <sup>a</sup> ±0.00	6.2 <sup>ab</sup> ±0.36	78.39 <sup>c</sup> ±0.04	74.68 <sup>a</sup> ±0.01

Each value represents mean±SD.

<sup>1)</sup>Milligram/gram of dry plant material.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different from each other at  $P<0.05$ .

**Table 2.** Phytochemical and antioxidant activity in the mixture of *Lilium* bulb and *Lespedeza cuneata* extracts

	Ratio	Polyphenol (mg/g) <sup>1)</sup>	Flavonoid (mg/g)	DPPH (%)	NO (%)
<i>Lilium</i> bulb : <i>Lespedeza cuneata</i>	Ascorbic acid	-	-	85.47 <sup>2)d</sup> ±0.05	94.12 <sup>d</sup> ±0.04
	1:4	117.0 <sup>2)d</sup> ±0.21	21.54 <sup>d</sup> ±0.03	73.83 <sup>e</sup> ±0.11	90.51 <sup>b</sup> ±0.01
	2:3	89.15 <sup>c</sup> ±0.02	18.30 <sup>c</sup> ±0.18	73.53 <sup>c</sup> ±0.11	93.24 <sup>d</sup> ±0.02
	3:2	73.17 <sup>b</sup> ±0.25	13.19 <sup>b</sup> ±0.00	71.61 <sup>b</sup> ±0.02	91.39 <sup>e</sup> ±0.01
	4:1	49.45 <sup>a</sup> ±0.07	6.53 <sup>a</sup> ±0.00	56.32 <sup>a</sup> ±0.55	90.20 <sup>a</sup> ±0.06

Each value represents mean±SD.

<sup>1)</sup>Milligram/gram of extract powder.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different from each other at  $P<0.05$ .

을 확립을 위해서 백합 추출물과 비수리 추출물을 각각 동결건조한 후 분말을 1:4, 2:3, 3:2, 4:1로 혼합한 후 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 항산화 소거능을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 백합 추출물 분말:비수리 추출물 분말 (1:4)의 경우 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량, DPPH 소거능이 가장 높게 나타났으며, NO 소거능은 2:3 혼합물에서 가장 우수하게 나타났다. 이와 같은 결과를 종합하여 백합 추출물 분말과 비수리 추출물 분말의 혼합비율을 1:4로 선정하였다.

### 저장 중 이화학적 특성변화

백합:비수리(1:4) 추출물을 함유하는 음료 파우치를 10, 25, 35°C에서 6개월 동안 저장하면서 측정된 pH와 산도, 당도, 고형분, DPPH 라디칼 소거능의 변화는 Table 3과 같다. 저장 초기의 pH는 4.15이었으며, 6개월 후에는 10, 25, 35°C에서 모두 4.01-4.05로 감소하였다. 총 산도는 산

패현상을 판단하는 자료로서 음료의 맛이나 냄새 및 향기 성분과 관련이 있으며, 보존성에도 영향을 주며 특히 산도가 높으면 신맛이 강한 것으로 알려져 있다. 본 실험 결과 음료의 초기의 총 산도는 0.60% 수준이었으나, 6개월 후에는 10, 25, 35°C에서 모두 0.70-0.75%로 증가하였다. 당도는 저장 초기의 당도는 26.2 °Brix이었으며, 10, 25, 35°C에서 6개월 저장한 후의 당도는 26.2-26.3 °Brix로 큰 차이를 나타내지 않았다. 고형분의 함량 또한 저장 초기의 26.6%이었으며, 10, 25, 35°C에서 6개월 저장한 후의 함량은 26.6-26.9%로 큰 차이를 나타내지 않았다. 이와 같은 결과를 종합해 볼 때, 10, 25, 35°C에서 6개월 동안 저장하는 경우에 pH와 산도에서는 약간의 변화가 있었으나, 당도 및 고형분의 함량에는 큰 변화가 없었다.

만성폐쇄성폐질환(COPD)의 발병기전에서 활성산소(reactive oxygen species, ROS)와 항산화능간의 불균형으로 정의되는 산화스트레스가 중요한 역할<sup>3)</sup>을 하며, 식물

**Table 3.** Experimental data on physicochemical properties during storage of *Lilium* bulb and *Lespedeza cuneata* beverage at different temperatures

Temp.	Month	pH	Acidity(%)	°Brix	Soluble solid(%)	DPPH(%)
10°C	0	4.15 <sup>1)ef</sup> ±0.03	0.60 <sup>a</sup> ±0.03	26.2 <sup>b</sup> ±0.0	26.6 <sup>a</sup> ±2.8	45.46 <sup>c</sup> ±1.83
	1	4.19 <sup>g</sup> ±0.01	0.59 <sup>a</sup> ±0.03	26.1 <sup>b</sup> ±0.1	31.4 <sup>ab</sup> ±2.6	35.20 <sup>abc</sup> ±4.49
	2	4.15 <sup>f</sup> ±0.01	0.74 <sup>d</sup> ±0.01	27.9 <sup>d</sup> ±0.1	33.1 <sup>b</sup> ±4.4	39.76 <sup>bc</sup> ±5.01
	4	4.09 <sup>c</sup> ±0.01	0.68 <sup>bcd</sup> ±0.02	26.0 <sup>a</sup> ±0.1	31.5 <sup>ab</sup> ±0.6	34.44 <sup>abc</sup> ±5.18
	6	4.05 <sup>b</sup> ±0.01	0.74 <sup>d</sup> ±0.03	26.3 <sup>c</sup> ±0.0	26.6 <sup>a</sup> ±0.2	28.20 <sup>a</sup> ±8.50
25°C	1	4.13 <sup>de</sup> ±0.03	0.70 <sup>bcd</sup> ±0.00	26.1 <sup>b</sup> ±0.0	31.6 <sup>ab</sup> ±4.9	44.39 <sup>c</sup> ±5.28
	2	4.12 <sup>d</sup> ±0.02	0.73 <sup>c</sup> ±0.02	26.3 <sup>c</sup> ±0.1	26.7 <sup>a</sup> ±1.7	44.39 <sup>c</sup> ±5.35
	4	4.13 <sup>d</sup> ±0.00	0.70 <sup>bcd</sup> ±0.00	26.1 <sup>b</sup> ±0.0	30.3 <sup>ab</sup> ±0.1	31.86 <sup>ab</sup> ±4.23
	6	4.01 <sup>a</sup> ±0.00	0.70 <sup>bc</sup> ±0.04	26.2 <sup>b</sup> ±0.1	26.5 <sup>a</sup> ±0.0	36.30 <sup>abc</sup> ±3.77
35°C	1	4.13 <sup>d</sup> ±0.00	0.65 <sup>bc</sup> ±0.01	26.0 <sup>a</sup> ±0.0	30.5 <sup>ab</sup> ±4.9	36.17 <sup>abc</sup> ±8.60
	2	4.15 <sup>e</sup> ±0.01	0.65 <sup>abc</sup> ±0.01	26.3 <sup>c</sup> ±0.0	30.6 <sup>ab</sup> ±1.1	35.49 <sup>abc</sup> ±4.55
	4	4.09 <sup>c</sup> ±0.01	0.63 <sup>ab</sup> ±0.00	25.9 <sup>a</sup> ±0.1	30.7 <sup>ab</sup> ±0.6	40.16 <sup>bc</sup> ±3.69
	6	4.02 <sup>a</sup> ±0.02	0.75 <sup>d</sup> ±0.04	26.2 <sup>b</sup> ±0.1	26.9 <sup>a</sup> ±0.1	31.99 <sup>ab</sup> ±3.79

Each value represents mean±SD.

<sup>1)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different from each other at  $P<0.05$ .

**Table 4.** Experimental data on Hunter color value and brown color intensity during storage of *Lilium* bulb and *Lespedeza cuneata* beverage during storage at different temperatures

Temp.	Months	Hunter's color			Brown color intensity (O.D. at 420 nm)
		L	a	b	
10°C	0	27.84 <sup>1)bcd</sup> ±0.19	6.84 <sup>bc</sup> ±0.12	9.21 <sup>bc</sup> ±0.09	3.61 <sup>h</sup> ±0.00
	1	28.29 <sup>bcd</sup> ±0.38	6.61 <sup>b</sup> ±0.10	9.51 <sup>c</sup> ±0.14	3.61 <sup>i</sup> ±0.00
	2	28.43 <sup>cde</sup> ±0.40	6.93 <sup>bc</sup> ±0.20	9.10 <sup>bc</sup> ±0.21	2.76 <sup>fg</sup> ±0.00
	4	30.4 <sup>f</sup> ±0.66	6.65 <sup>b</sup> ±0.05	10.30 <sup>d</sup> ±0.26	2.42 <sup>e</sup> ±0.00
	6	30.03 <sup>f</sup> ±0.36	6.31 <sup>a</sup> ±0.29	8.56 <sup>b</sup> ±1.08	2.40 <sup>b</sup> ±0.00
25°C	1	27.86 <sup>bc</sup> ±0.50	7.05 <sup>c</sup> ±0.15	9.37 <sup>bc</sup> ±0.02	3.60 <sup>i</sup> ±0.00
	2	28.75 <sup>de</sup> ±0.17	6.79 <sup>bc</sup> ±0.19	8.98 <sup>bc</sup> ±0.12	2.78 <sup>g</sup> ±0.01
	4	29.85 <sup>f</sup> ±0.68	6.91 <sup>bc</sup> ±0.19	8.90 <sup>bc</sup> ±0.43	2.48 <sup>e</sup> ±0.00
	6	27.52 <sup>b</sup> ±0.32	7.10 <sup>c</sup> ±0.06	9.50 <sup>c</sup> ±0.03	2.38 <sup>a</sup> ±0.02
35°C	1	28.78 <sup>e</sup> ±0.45	6.71 <sup>b</sup> ±0.14	9.38 <sup>bc</sup> ±0.25	3.61 <sup>i</sup> ±0.01
	2	28.76 <sup>de</sup> ±0.09	6.64 <sup>b</sup> ±0.06	8.95 <sup>bc</sup> ±0.08	2.76 <sup>f</sup> ±0.00
	4	26.15 <sup>a</sup> ±0.38	7.78 <sup>d</sup> ±0.08	8.60 <sup>b</sup> ±0.11	2.38 <sup>ab</sup> ±0.00
	6	27.94 <sup>bcd</sup> ±0.63	6.83 <sup>bc</sup> ±0.18	6.77 <sup>a</sup> ±0.95	2.45 <sup>d</sup> ±0.00

Each value represents mean±SD.

<sup>1)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different from each other at  $P<0.05$ .

내 사포닌과 폴리페놀 화합물 등이 활성산소종의 작용을 억제<sup>7)</sup>하는 것으로 알려져 있다. 사포닌은 인삼<sup>27)</sup>, 흑삼<sup>28)</sup>, 수삼<sup>29)</sup> 뿐 아니라 도라지<sup>30)</sup>, 더덕<sup>31)</sup>, 그리고 백합구근<sup>32)</sup>에도 분포하고 있으며, 백합 구근, 비수리 모두 폴리페놀 화합물<sup>7)</sup>이 다량 함유되어 있다. 본 연구에서 백합-비수리 추출물 함유 음료 제품의 저장기간에 따른 DPPH 라디칼 소

거정도를 비교해 볼 때, 모든 온도군에서 2개월간 저장기간 중에는 35.20-44.39%의 DPPH 라디칼 소거능을 유지하면서 초기의 활성과 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 온도에 따라 4개월 후와 6개월 후에는 다소 감소하였다. DPPH 라디칼 소거능은 DPPH 분자 구조에서 라디칼 전자를 제공하는 N분자와 수소를 제공하는 항산화물질 간

의 반응 현상으로 저장기간 중 DPPH 소거능 감소하는 이유는 항산화물질의 감소 탓으로 보이지만 정확한 원인은 알 수 없다<sup>33)</sup>.

### 저장 중 색도 변화

액상식품의 상품화에 중요한 요소는 출고 후에 제품의 품질 안정성을 들 수 있다. 이를 위하여 저장조건에 따른 음료 파우치 제품을 1, 2, 4, 6개월 저장하면서 색도를 측정한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다. 6개월 동안 저장하는 동안에 명도(L값)와 적색도(a값)는 큰 변화가 없었다. 황색도(b값) 10°C와 25°C에서는 6개월 동안 저장하는 동안에 큰 변화가 없었으나 35°C에서 6개월 저장한 후에 약간 감소하였다.

갈색도는 10, 25, 35°C에서 저장하는 동안 1개월 후에는 큰 변화가 없었으나 2개월 후부터는 약간 감소하는 경향을 나타냈다. 음료를 파우치 상태로 저장하는 동안에 색도의 변화에는 큰 차이가 없었으며, 저장기간이 길어짐에 따라 갈색도가 약간 감소하였으나 6개월 이상 저장할 수 있는 것으로 판단되었다.

### 조사포닌과 총 플라보노이드 함량 변화

Mimaki 등<sup>34)</sup>은 백합구근 및 비수리에는 알칼로이드, 스테로이드, 사포닌, 플라보노이드, 폴리페놀 등이 함유되어 있다고 보고한 바 있다. Table 5에서 보는 바와 같이 백합·비수리 추출물 함유 음료 파우치 100 mL에 함유된 조사포닌 함량은 461 mg이었으며, 10, 25, 35°C에서 저장 2

**Table 5.** Total saponin and flavonoid content of *Lilium* bulb and *Lespedeza cuneata* beverage during storage at different temperatures (mg/100 mL)

Temp.	Months	Total saponin	Total flavonoid	
10°C	0	461 <sup>1f</sup> ±6.7	21.7 <sup>±</sup> 0.00	
	1	407 <sup>d</sup> ±5.8	12.0 <sup>h</sup> ±0.00	
	2	478 <sup>g</sup> ±6.6	9.4 <sup>c</sup> ±0.00	
	4	397 <sup>d</sup> ±6.3	6.9 <sup>a</sup> ±0.00	
	6	299 <sup>a</sup> ±10.8	10.8 <sup>e</sup> ±0.00	
	25°C	1	444 <sup>g</sup> ±6.2	10.5 <sup>d</sup> ±0.00
2		489 <sup>gh</sup> ±5.4	9.5 <sup>c</sup> ±0.00	
4		404 <sup>d</sup> ±6.5	7.2 <sup>a</sup> ±0.00	
6		339 <sup>b</sup> ±3.5	11.5 <sup>f</sup> ±0.00	
35°C		1	480 <sup>g</sup> ±6.6	10.3 <sup>d</sup> ±0.00
		2	499 <sup>h</sup> ±5.6	11.2 <sup>f</sup> ±0.00
	4	369 <sup>e</sup> ±6.3	8.1 <sup>b</sup> ±0.00	
	6	375 <sup>e</sup> ±6.5	10.3 <sup>d</sup> ±0.00	

Each value represents mean±SD.

<sup>1)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different from each other at  $P<0.05$ .

**Table 6.** Microbial counts of *Lilium* bulb and *Lespedeza cuneata* beverage during storage at different temperatures

Temp.	Microbes	Months				
		0	1	2	4	6
10°C	Total viable counts	ND <sup>1)</sup>	ND	ND	ND	ND
	coilforms	ND	ND	ND	ND	ND
25°C	Total viable counts	ND	ND	ND	ND	ND
	Coliforms	ND	ND	ND	ND	ND
35°C	Total viable counts	ND	ND	ND	ND	ND
	Coliforms	ND	ND	ND	ND	ND

<sup>1)</sup>ND means “not detected”.

개월까지는 큰 함량의 변화를 나타내지 않았으나, 저장 4개월과 6개월 후에는 감소하는 것으로 나타났다. 백합·비수리 추출물을 함유하는 음료의 플라보노이드 함량은 21.7 mg/100 mL이었다. 저장 1개월이 지났을 때 저장온도에 상관없이 약 1/2로 감소하였으며, 그 후 6개월까지 유지되었다. Liu 등<sup>35)</sup>은 플라보노이드 함량의 감소는 주로 플라보노이드 화합물의 산화 및 단백질과의 중합 등에 의해서 일어날 수 있다고 보고하였다.

### 미생물학적 안전성 검증

저장조건에 따른 백합·비수리 추출물 함유 음료 시료를 무균적으로 채취하여 일반세균 및 대장균군을 시험한 결과는 Table 6과 같다. 10, 25, 35°C에서 6개월 동안 저장하면서 저장기간에 따른 시료를 채취하여 배양한 결과 일반세균과 대장균군은 모든 시료에서 검출되지 않아 미생물학적으로 저장 중 안전한 것으로 나타났다. 본 연구에서는 백합과 비수리를 열수와 60% 주정으로 추출하여 추출물을 1:4의 비율로 혼합하여 음료를 제조하였으며, 10, 25, 35°C에서 6개월 동안 주기적으로 측정한 결과 DPPH 라디칼 소거능, 조사포닌, 플라보노이드 함량 등은 다소 감소하는 경향을 보였으나 미생물학적으로 안전한 것으로 사료된다.

### Acknowledgement

본 연구는 중소벤처기업부에서 시행한 2018년도 중소기업기술개발지원사업 (S2687646) 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

## 국문요약

백합은 항산화, 항균효능 및 만성폐쇄성폐질환에도 효능이 있고, 비수리는 항균, 항산화, 항노화, 피부 미백, 피부 광노화 개선 효과 등의 다양한 약리적 효능이 있다고 보고되고 있다. 본 연구에서는 백합 및 비수리를 열수와 20-80% 주정으로 추출한 추출물을 대상으로 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 항산화 소거능을 조사하여 백합 추출물과 비수리 추출물의 혼합 비율을 선정하였으며, 혼합한 추출물을 이용하여 음료를 제조한 후 10, 25, 35°C에서 6개월 동안 저장하면서 조사포닌 및 총 플라보노이드 함량 변화 및 이화학적 특성을 조사하였다. 백합·비수리를 함유하는 음료를 각 온도별로 6개월 동안 저장한 후에 pH는 약간 감소하였으며, 산도는 약간 증가하였다. 저장 기간 중 당도와 고형분 함량은 크게 변화하지 않았다. DPPH 라디칼 소거능은 2개월 동안 저장하는 동안에는 초기의 활성과 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 온도에 따라 4개월 후와 6개월 후에는 다소 감소하였다. 6개월 동안 저장하는 동안에 명도(L값)와 적색도(a값)는 큰 변화가 없었으나, 황색도(b값) 35°C에서 6개월 저장한 후에 약간 감소하였다. 조사포닌 함량은 저장 2개월까지는 큰 함량의 변화를 나타내지 않았으나, 저장 4개월과 6개월 후에는 감소하는 것으로 나타났다. 총 플라보노이드 함량은 저장 1개월이 지났을 때 저장온도에 상관없이 약 1/2로 감소하였으며, 그 후 6개월까지 일정하게 유지되었다. 백합구근 추출물과 비수리 추출물을 함유한 음료는 6개월 동안 저장하는 동안에 일반세균과 대장균은 검출되지 않았다.

## References

- Rabe, K.F., Hurd, S., Anzueto, A., Barnes, P.J., Buist, S.A., Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, **176**(6), 532-555 (2007).
- Strassmann, R., Bausch, B., Spaar, A., Klijnen, J., Braendli, O., Smoking cessation intervention in COPD: a network meta-analysis of randomised trials. *Eur. Respir. J.*, **34**(3), 634-640 (2009).
- Repine, J.E., BAST, A., Lankhorst, I., The oxidative stress study group. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, **156**(2 Pt 1), 341-357 (1997).
- Lee, J.S., Shin, J.H., Baek, J.E., Jeong, J.Y., Choi, B.S., Inflammation and oxidative stress as related to airflow limitation severity in retired miners chronic obstructive pulmonary disease. *J. Korean Soc. Occup. Environ. Hyg.*, **29**, 251-258 (2019).
- Kim, E.J., Choi, J.Y., Yu, M.R., Kim, M.Y., Lee, S.H., Lee, B.H., Total polyphenols, total flavonoid contents, and anti-oxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**, 337-342 (2012).
- Kwang, S.K., Kim, Y.K., Yoo, H.S., Lily bulb of organic ingredients extraction method. *Korea Patent*, No. 10-1458544 (2014).
- Kim, J.J., Health food composition for prevention and treatment of chronic obstructive pulmonary disease comprising of *Lilium* extract. *Korea Patent*, No. 10-0107531 (2013).
- Ding, J.L., Lim, I.J., Lee, H.D., Cha, W.S., Analysis of minerals, amino acids and vitamin of *Lespedeza cuneata*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 414-417 (2006).
- Kim, Y.H., Ryu, S.N., Antioxidant activity of methanol extract from aerial parts in *Lespedeza cuneata* G. Don. *Korean J. Crop Sci.*, **53**, 121-123 (2008).
- Choi, R.H., Choi, Y.J., Kim, S.H., Kang, K.H., Jeong, K.S., Comparison of biological activities of chinese bush-clover extracts. *Proc. Korean Environ. Sci. Soc. Conf.*, **24**(1), 256-256 (2015).
- Matsuura, S.M., Iinuma, E., Ito, H., Takami, K., Studies on the constituents of the useful plants. VIII. The constituents of *Lespedeza cuneata* G. Don. *Yakugaku Zasshi*, **98**, 1542-1544 (1978).
- Cho, E.J., Ju, H.M., Jeong, C.H., Eom, S.H., Heo, H.J., Kim, D.O., Effect of phenolic extract of dry leaves of *Lespedeza cuneata* G. Don on antioxidant capacity and tyrosinase inhibition. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, **29**, 358-365 (2011).
- Lee, H.J., Lim, G.N., Park, M.A., Park, S.N., Antibacterial and antioxidative activity of *Lespedeza cuneata* G. Don extracts. *Korean J. Microbial. Biotechnol.*, **39**, 63-69 (2011).
- Jung, H.K., Choi, M.O., Kim, B.J., Jo, S.K., Jeong, Y.S., Improving the efficacy of *Lespedeza cuneata* ethanol extract on ultraviolet-induced photoaging. *Korean J. Food Preserv.*, **21**, 264-275 (2014).
- Park, H.M., Hong, J.H., Physiological activities of *Lespedeza cuneata* extracts. *Korean J. Food Preserv.*, **21**, 844-850 (2014).
- Eun, J.S., Effect of *Lespedeza Cuneata* G. Don on the activity of murine immune cells. *Korean J. Ori. Physiol. Pathol.*, **25**, 837-842 (2011).
- Lee, H.I., Jung, J.Y., Hwangbo, M., Ku, S.K., Kim, Y.W., Jee, S.Y., Anti-inflammatory effects of *Lespedeza cuneata* in vivo and in vitro. *Korean J. Herbol.*, **28**, 83-92 (2013).
- AOAC, *Official Method of Analysis*. 17<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 942 (2000).
- Lee, G.D., Jeong, Y.J., Park, N.Y., Kwon, J.H., Monitoring for the color formation of Doraji tea by soaking of threonine and sucrose solution and roasting. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 938-944 (1999).
- Jeong, Y.J., Lee, G.D., Lee, M.H., Yea, M.J., Lee, G.H., Choi, S.Y., Monitoring on pectinase treatment conditions for clarification of persimmon vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 810-815 (1999).
- Min, S.H., Quality characteristics of Omija (*Schisandra chinense* Baillon) extracts under various conditions for beverage

- production. *Korean J. Food Culture*, **28(3)**, 320-327 (2013).
22. Daniel, P., Nikolina, V., Ivan, C., Zeljko, B., Effect of nitric oxide donors S-nitro-N-actyl-DL-penicillamine, spermine and PAPA NONOate on intracellular pH in cardiomyocytes. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **39(9)**, 772-778 (2012).
  23. Cho, C.W., Kim, S.W., Rho, J.H., Rhee, Y.K., Kim, K.T., Extraction characteristics of saponin and acidic polysaccharide based on the red ginseng particle size. *J. Ginseng Res.*, **32(3)**, 179-186 (2008).
  24. Kim, S.T., Kim, H.J., Jang, S.K., Lee, D.I., Joo, S.S., Establishment of optimal fermentation condition for steam-dried ginseng berry via friendly bacteria and its antioxidant activities. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 77-78 (2013).
  25. Lee, Y.C., Hwang, K.H., Han, D.H., Kim, S.D., Compositions of *Opuntia ficus-indica*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 847-853 (1997).
  26. Dewanto, V., Wu, X., Liu, R.H., Processed sweet corn has higher anti-oxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 4959-4964 (2002).
  27. Ahn, S.D., Choi, K.T., Saponin contents of root and aerial parts in panax ginseng and panax quinquefolium. *Korean J. Crop Sci.*, **29(4)**, 342-349 (1984).
  28. Nam, K.Y., Kim, Y.S., Shon, M.Y., Park, J.D., Recent advances in studies on chemical constituents and biological activities of Korean black ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Korean J. Pharmacogn.*, **46(3)**, 173-188 (2015).
  29. Kum, J.S., Park, K.J., Lee, C.H., Kim, Y.H., Changes in saponin composition and microstructure of ginseng by microwave vacuum drying. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31(2)**, 427-432 (1999).
  30. Lee, B.J., Jeon, S.H., No, I.R., Kim, Y.G., Cho, Y.S., Effect of saponin content and antioxidant activities of *Platycodon grandiflorum* Radix by cutting length. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **23(5)**, 363-369 (2015).
  31. Kim, Y.H., Antioxidant activity of saponin from Dodok (*Codonopsis lanceolata*). *Eng. Technol. Res., Sangmyung University*, **(0)**, 1-18 (2007).
  32. Park, M.H., Kim, M.R., Antioxidant activity and cytotoxicity for human cancer cells of extracts from *Lilium davidii* Root. *J. East Asian Soc. Diet Life*, **28(6)**, 444-452 (2018).
  33. Kim, J.W., Moon, J.S., Choe, T.B., Comparison of antioxidant activity of kenaf extract and its flavonoids. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **12(2)**, 203-210 (2014).
  34. Mimaki, Y., Sashida, Y., Steroidal saponins and alkaloids from the bulbs of *Lilium brownii* var. colchesteri. *Chem. Pharm. Bull.*, **38(11)**, 3055-3059 (1991).
  35. Liu, F., Wang, Y., Li, R., Bi, X., Liao, X., Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango nectars. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **21**, 35-43 (2014).