

감식초 청징화를 위한 Pectinase 처리조건의 모니터링

정용진[†] · 이기동 · 이명희 · 여명재* · 이경환* · 최신양**

경북과학대학 전통발효식품과

*롯데중앙연구소

**한국식품개발연구원

Monitoring on Pectinase Treatment Conditions for Clarification of Persimmon Vinegar

Yong-Jin Jeong[†], Gee-Dong Lee, Myung-Hee Lee, Myeong-Jai Yea*,
Gyeong-Hweon Lee* and Shin-Yang Choi**

Dept. of Traditional Fermented Food, Kyongbuk College of Science, Kyongbuk 718-850, Korea

*Lotte group R & D center, Seoul 150-104, Korea

**Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

Abstract

The pectinase treatment conditions for clarification of persimmon vinegar were optimized and monitored by response surface methodology. In clarification of persimmon vinegar by pectinase treatment with variations in temperature, time and concentration, coefficients of determinations(R^2) of the models were above 0.91($p<0.05$) in turbidity, browning color intensity and tannin content. The turbidity of persimmon vinegar was decreased along with an increase of pectinase treatment temperature. The minimum value of turbidity by pectinase treatment was 0.0021(absorbance at 660nm) in 49.38°C of pectinase treatment temperature, 73.08 min of pectinase treatment time and 55.57ppm of pectinase concentration. The minimum value of browning color intensity by pectinase treatment was 0.27(absorbance at 660nm) in 48.39°C, 71.74 min and 65.69 ppm. The minimum value of total tannin contents by pectinase treatment was 43.72mg/100 ml in 40.05°C, 66.02 min and 65.26ppm. The optimum conditions of pectinase treatment that satisfies the least common multiple of turbidity, browning color and tannin content were 40~50°C, 60~70 min and 55~70ppm.

Key words: persimmon vinegar, pectinase, clarification, turbidity, monitoring

서 론

감과실은 떫은감(*Diospyros kaki* T.)과 단감(*Diospyros kaki* L.)으로 대별되어 우리나라 전역에서 널리 생산되고 있으며, 다른 과실에 비하여 농약의 사용이 적고 기호성이 높아 생과, 흥시, 곶감 및 식초 등으로 이용되어 왔으며 특히, 감을 이용한 감식초의 제조는 옛부터 농가에서 재래적인 방법으로 다양하게 전해오고 있다. 최근 경제성장과 더불어 식생활 문화의 향상으로 일체의 첨가물을 사용하지 않고 100% 감과실을 원료로 제조된 감식초의 생산과 소비는 증가되어 식초시장 규모가 급격하게 증가되고 있다(2). Jeong 등(3)은 감과실에서 알콜발효성이 우수한 알콜발효 효모를 분리하여 동정하였으며, 반응표면

분석으로 단감과 떫은감 식초제조방법을 모니터링하여 최적화함으로써 2단계 발효에 의하여 10일 이내에 산도 5.5% 이상의 감식초를 일정한 품질로 대량생산할 수 있다고 보고하였다(4,5). 그리고 재래적인 병행복발효 방법으로 6~7개월 이상의 발효 기간을 거친 재래적인 감식초와의 이화학적 특성을 비교하여 2단계 발효로 단기간에 생산된 감식초의 품질이 우수하였다고 보고하였다(6). 최근 시판되고 있는 감식초는 유통기간 중에 페틴질 및 감고유의 부유물의 침전현상으로 상품성이 떨어지고, 식초 청징화를 위한 장시간의 여과는 빠른 갈변화를 유발하여 감식초 생산업체의 현장 애로과제로 대두되고 있다. 과실쥬스의 효소 청징화방법으로 널리 사용되고 있는 pectinase는 사과쥬스 등의 청징과정에서 여과 수율을 높이고 청징화에 효과적인 것으로 알려져 있다(7-9). Chun

* To whom all correspondence should be addressed

등(10)은 감 puree에 효소를 처리하여 감쥬스의 추출수율, 젤도, 색, 당에 미치는 이화학적 특성에 관한 연구에서 효소처리가 수율과 관능적 특성 향상에 효과적이라고 보고하였다. 그러나 감식초의 청징화 방법으로 효소처리 특히, pectinase 처리는 실용화되지 못하고 있는 실정으로 pectinase의 처리 온도, 온도 및 시간에 따른 감식초의 청징화 효과와 주요 품질에 미치는 영향에 관한 연구가 절실히 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 pectinase를 이용한 감식초 청징화 조건을 설정하고자 반응표면분석으로 pectinase의 처리 온도, 시간 및 농도에 따른 감식초의 탁도, 갈색도 및 탄닌의 함량에 대한 변화를 모니터링하여 감식초 청징화 최적조건을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 감식초는 Jeong 등(5)의 방법으로 경북과학대학 식품공장에서 초산발효 후 여과되지 않은 제품을 시료로 사용하였으며, pectinase는 Novo Nordisk사(pectinex 100L, unit 5,000 FDU 65°C/ml)을 사용하였다.

실험계획 및 방법

Pectinase에 의한 감식초의 청징화 실험계획은 중심합성실험계획(11,12)에 따라 pectinase의 처리조건을 온도(30, 35, 40, 45, 50°C), 시간(20, 40, 60, 80, 100 min) 및 농도(20, 40, 60, 80, 100 ppm)를 -2, -1, 0, 1, 2 다섯 단계로 부호화 하였다. 회귀분석에 의한 모델식의 예측에는 SAS (statistical analysis system) program(13)이 사용되었으며, 회귀분석 결과에서 임계점이 최대점이거나 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 구하였다. 또한 감식초 청징화에 따른 탁도, 갈색도 및 총 탄닌의 변화에 대한 모니터링은 예측된 모델식을 바탕으로 Mathematica program을 이용하여 4차원 반응표면분석(14)으로 실시하였다. 방법은 설정된 조건에 따라 구간별로 250ml Δ flask에 감식초 100ml씩을 분주하고 ppm 단위의 pectinase을 첨가 후 설정된 온도와 시간 동안 pectin을 분해하여 원심분리 후 시료로 사용하였다. 이때 같은 조건으로 3회 반복하여 평균값을 사용하였다.

탁도

감식초의 탁도는 일정량의 시료를 spectrophotometer (Shimadzu UV-1601 PC, Japan)를 사용하여 660nm에서 흡광도로써 측정하였다(5).

갈색도

감식초의 청징화에 따른 갈색도의 변화는 spectropho-

tometer(Shimadzu UV-1601 PC, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도로써 측정하였다(6).

총 탄닌 함량

총 탄닌 함량은 시료용액 1ml에 Folin-Denis시약 5ml를 가하여 혼합한 후 포화 Na_2CO_3 용액 5ml를 넣어 진탕한 다음 30분간 실온에서 방치하고 760nm에서 흡광도를 측정한 것을 미리 작성한 표준곡선의 흡광도 값과 비교하여 함량을 산출하였다(6).

결과 및 고찰

탁도의 변화

감식초의 여과 공정에서 장기간의 반복여과에 따른 색상변화와 유통과정 중 발생되는 침전물은 감식초의 품질 저하의 가장 큰 문제점으로 대두되고 있다. 현재 생산되고 있는 감식초는 탁도가 높고 부유물이 많아 여과가 잘 되지 않는 문제점을 안고 있다. 이러한 감식초의 여과공정 개선을 위하여 pectinase 처리에 의한 청징화를 중심 합성실험계획에 따라 조건별 탁도, 갈색도 및 탄닌의 함량을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 중심합성계획에 의해 설계된 실험조건으로 pectinase를 처리하면서 탁도의 변화에 대한 반응표면은 Fig. 1에 나타내었다. Pectinase 처리에 있어서 세 가지 조건변수인 온도(20~50°C), 시간(20~100 min) 및 pectinase 농도(20~100 ppm)에 따른 탁도의 변화에 대한 반응표면회귀식은 Table 2와 같으

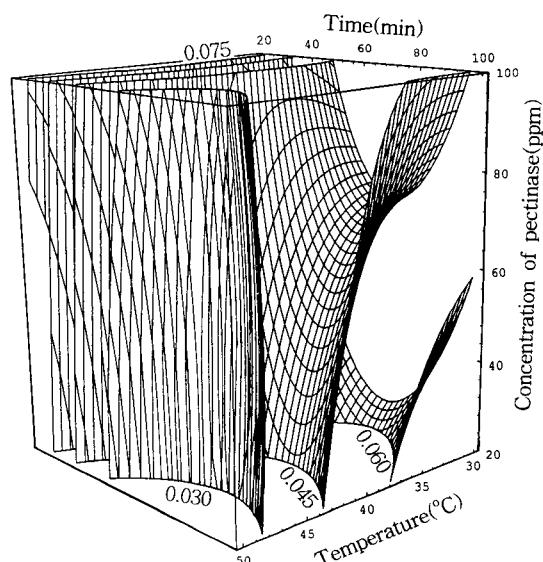


Fig. 1. Response surface on turbidity in clarification of persimmon vinegar by pectinase at constant values (O.D at 660nm: 0.030~0.045~0.060~0.075) as a function of temperature, time and concentration of pectinase.

Table 1. Experimental data on pectinase treatment for clarification of persimmon vinegar under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Pectinase treatment conditions ¹⁾			Physicochemical properties		
Temperature (°C)	Time (min)	Conc. of pectinase (ppm)	Turbidity (O.D)	Browning color intensity (O.D)	Content of tannin (mg/100 ml)
35	40	40	0.061	0.385	46.27
35	40	80	0.058	0.367	45.94
35	80	40	0.053	0.340	45.66
35	80	80	0.042	0.293	45.18
45	40	40	0.048	0.345	46.97
45	40	80	0.047	0.329	45.84
45	80	40	0.029	0.275	45.91
45	80	80	0.032	0.279	44.73
40	60	60	0.048	0.298	44.00
40	60	60	0.041	0.297	44.31
50	60	60	0.029	0.301	46.90
30	60	60	0.050	0.318	46.55
40	100	60	0.044	0.341	46.68
40	20	60	0.090	0.460	48.00
40	60	100	0.041	0.293	47.02
40	60	20	0.050	0.387	48.66

¹⁾The number of experimental conditions by central composite design

Table 2. Polynomial equations calculated by RSM program for pectinase treatment conditions for clarification of persimmon vinegar

Response	Polynomial equation ¹⁾	R ²	Significance
Turbidity (O.D)	$Y_1 = 0.113187 + 0.00230X_1 - 0.001581250X_2 - 0.0008937500X_3 - 0.00005000X_1^2 - 0.000012500X_1X_2 + 0.000014063X_2^2 + 0.00002000X_1X_3 - 0.0000012500X_2X_3 + 0.0000006250X_3^2$	0.9480	0.0033
Browning color intensity (O.D)	$Y_2 = 1.183312 - 0.0154620X_1 - 0.0089970X_2 - 0.006497X_3 + 0.000115X_1^2 - 0.00000125X_1X_2 + 0.000064375X_2^2 + 0.000066250X_1X_3 - 0.000002813X_2X_3 + 0.000026562X_3^2$	0.9325	0.0069
Content of tannin (mg/100ml)	$Y_3 = 95.0650 - 1.869750X_1 - 0.2144380X_2 - 0.217625X_3 + 0.025700X_1^2 - 0.001000X_1X_2 + 0.001991X_2^2 - 0.001875X_1X_3 - 0.0000625X_2X_3 + 0.002303X_3^2$	0.9117	0.0145

¹⁾X₁: temperature(°C), X₂: time(min), X₃: concentration of pectinase(ppm)

며, R²는 0.9480으로 유의성이 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 감식초의 탁도에 대한 pectinase 처리조건의 영향(Table 3)은 처리시간의 영향을 주로 받았으며, 다음으로 처리온도의 영향을 받았다. 그러나 설정된 조건에서 pectinase 농도의 영향이 가장 낮았으며, 탁도는 시간이 경과할수록 급격히 감소되어 73 min 정도에서 가장 낮은 수치를 나타내면서 시간이 경과에 따른 더 이상의 큰 변화는 없었다. 반응시간 73 min에서 온도가 증가할수록 탁도는 점차 감소하는 경향을 나타내었다. Pectinase 농도는 낮은 온도에서 영향을 받아 다소 탁도가 감소하였으나, 40°C 이상에서는 거의 영향을 주지 않았다.

Pectinase를 이용하여 감식초의 청정화에 따른 탁도의 최저수치를 구하고자 능선분석을 행하여 본 결과, Table 4와 같이 탁도의 최소치는 온도 49.38°C, 시간 73.08 min 및 pectinase 농도 55.57ppm으로 나타났으며, 이 때 탁도

는 O.D로서 0.021로 나타났다.

갈색도의 변화

감식초의 청정화를 위한 pectinase 처리에 따른 갈색도의 변화에 대한 반응표면은 Fig. 2에 나타내었다. Pectinase 처리에 있어서 세 가지 조건변수인 온도, 시간 및 pectinase 농도에 따른 갈색도의 변화에 대한 반응표면 회귀식은 Table 2와 같으며, R²는 0.9325으로 유의성이 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 감식초의 갈색도에 대한 pectinase 처리조건의 영향(Table 3)은 처리시간의 영향을 주로 받고 있었으며, 다음으로 pectinase 농도의 영향을 다소 받았으나 처리온도의 영향은 거의 받지 않았다. 4차원 반응표면을 통한 감식초의 청정화에 따른 갈색도의 변화는 시간이 경과함에 따라 줄어들어 72분 정도에서 가장 낮아졌다가 그 이상에서는 다시 증가하였다.

Table 3. Regression analysis for regression model of pectinase treatment in clarification of persimmon vinegar

Pectinase treatment conditions	F-Ratio		
	Turbidity	Browning color intensity	Contents of tannin
Temperature(°C)	6.27**	1.66	5.08*
Time(min)	17.41***	15.16**	9.09**
Concentration of pectinase(ppm)	0.82	4.00*	11.84***

*Significant at 10 % level; **significant at 5 % level; ***significant at 1 % level

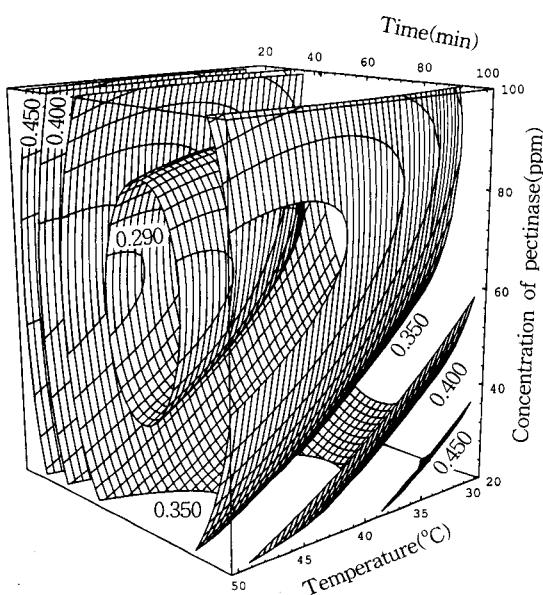


Fig. 2. Response surface on browning color intensity in clarification of persimmon vinegar by pectinase at constant values(O.D at 420nm: 0.290–0.350–0.400–0.450) as a function of temperature, time and concentration of pectinase.

온도와 pectinase 농도의 변화에 따른 갈색도의 변화는 거의 없었다. Pectinase 처리에 따른 갈색도의 최저수치를 구하고자 능선분석을 행하여 본 결과, Table 4와 같이 갈색도의 최소치는 온도 48.39°C, 시간 71.74 min 및 pectinase 농도 65.69 ppm에서 0.27(O.D)로 나타났다. 이러한 색상은 규조토에 의한 장시간 여과의 경우보다 연한 색상으로 pectinase 처리방법이 색상의 개선에 효과적이었다.

총 탄닌의 함량

감식초의 pectinase에 의한 청정화에 따른 총 탄닌 함량의 변화에 대한 반응표면은 Fig. 3에 나타내었다. Pectinase 처리에 있어서 세 가지 조건변수인 온도, 시간 및 pectinase 농도에 따른 총 탄닌의 변화에 대한 반응표면 회귀식은 Table 2와 같으며, R^2 는 0.9117로 유의성이 5% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 감식초의 총 탄닌 함량

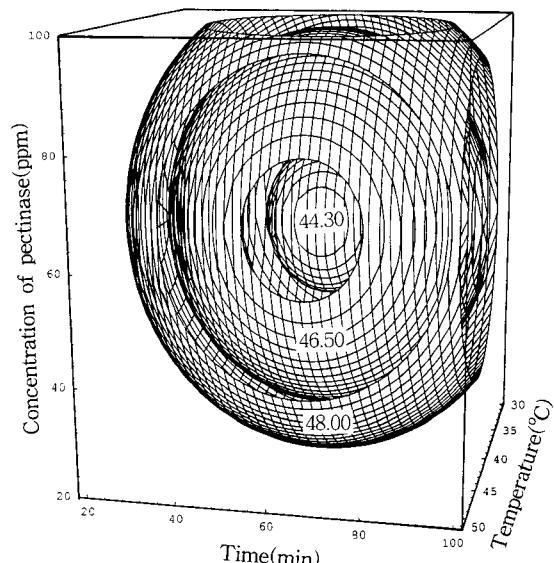


Fig. 3. Response surface on content of tannin in clarification of persimmon vinegar by pectinase at constant values(mg/100ml: 44.30–46.50–48.00) as a function of temperature, time and concentration of pectinase.

Table 4. Predicted levels of the optimum pectinase treatment conditions for clarification of persimmon vinegar by the ridge analysis

Pectinase treatment conditions	Physicochemical properties					
	Turbidity (O.D)		Browning color intensity (O.D)		Content of tannin (mg/100ml)	
	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.
Temperature(°C)	49.38	38.92	48.39	38.86	40.05	42.84
Time(min)	73.08	20.27	71.74	20.89	66.02	44.85
Concentration of pectinase(ppm)	55.57	58.29	65.69	52.99	65.26	24.77
Estimated response	0.021	0.085	0.270	0.460	43.72	48.56
Morphology	Saddle point		Minimum		Minimum	

에 대한 pectinase 처리조건의 영향(Table 3)은 pectinase 농도의 영향을 주로 받고 있었으며, 다음으로 처리시간, 처리온도의 순으로 영향을 받았다. 감식초의 총 탄닌 함

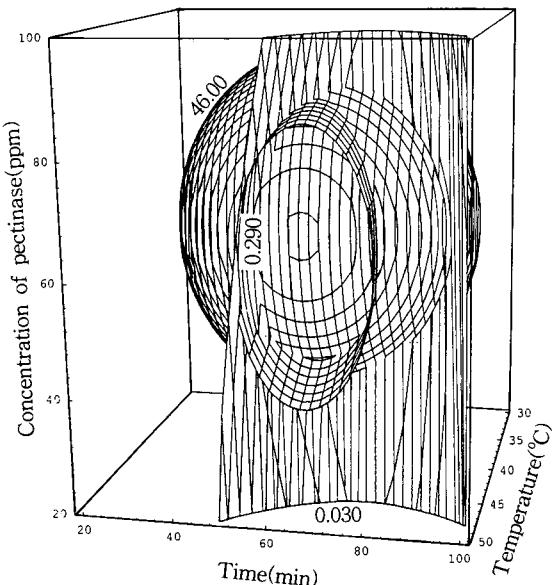


Fig. 4. Superimposed response surface(120° left rotation) for optimization of turbidity(0.030, O.D at 660nm), browning color intensity(0.290, O.D at 420nm) and content of tannin(46.00mg/100ml) in clarification of persimmon vinegar by pectinase as a function of temperature, time and concentration of pectinase.

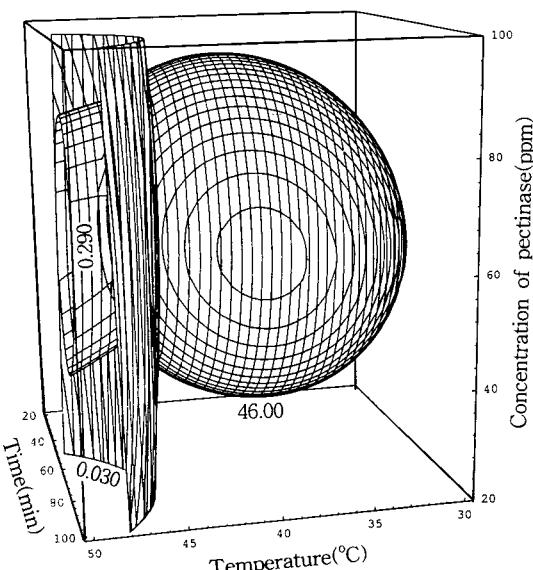


Fig. 5. Superimposed response surface(180° left rotation) for optimization of turbidity(0.030, O.D at 660nm), browning color intensity(0.290, O.D at 420nm) and content of tannin(46.00mg/100ml) in clarification of persimmon vinegar by pectinase as a function of temperature, time and concentration of pectinase.

량에 대한 반응표면은 총 탄닌 함량이 온도 40.05°C, 시간 66.02 min 및 pectinase 농도 65.26ppm에서 가장 낮은 수치를 나타내었으며, 이러한 최소수치를 나타내는 조건에서 벗어날수록 총 탄닌 함량은 증가하는 경향을 나타내었다. 이것은 탄닌이 pectinase에 의해 영향을 받는 것으로 생각되며, 탄닌이 pectinase에 의해 어떠한 영향을 받는지는 차후에 조사할 필요가 있는 것으로 생각된다.

감식초 청정화를 위한 pectinase 처리조건의 최적화

Pectinase 처리로 감식초를 청청화하기 위하여 탁도, 갈색도 및 총 탄닌 함량이 모두 낮은 최소점을 구하고자 4차원 반응표면을 모두 겹쳐서 그려 본 결과 Fig. 4, 5와 같다. 탁도가 낮으면서 갈색도와 총 탄닌의 함량이 낮은 조건을 만족시켜 최소공배수를 나타내는 조건범위는 온도 40~50°C, 시간 60~70 min 및 pectinase 농도 55~70 ppm였으며, 이 범위내의 임의의 조건(온도 50°C, 시간 70 min 및 pectinase 농도 55ppm)에서 탁도는 0.025(O.D)이었고 규조토로 장시간 여과할 필요가 없으므로 지나친 갈색화를 방지할 수 있는 것으로 여겨진다.

요약

감식초의 청정화를 위한 pectinase 처리조건을 반응표면분석에 의해 최적화하고 처리조건에 따른 탁도, 갈색도 및 총 탄닌 함량의 변화를 모니터링하였다. 감식초 청정화에 따른 탁도, 갈색도 및 총 탄닌 함량의 변화에 대한 반응표면 회귀식의 R^2 는 모두 0.91 이상으로 유의성이 5% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 감식초의 탁도에 대한 pectinase 처리조건의 영향은 처리온도가 증가함에 따라 감소하였으며, 탁도의 최소치는 온도 49.38°C, 시간 73.08 min 및 pectinase 농도 55.57ppm에서 0.021O.D로 나타났다. 감식초의 갈색도에 대한 최소치는 온도 48.39°C, 시간 71.74 min 및 pectinase 농도 65.69ppm에서 나타났다. 감식초의 총 탄닌 함량은 온도 40.05°C, 시간 66.02 min 및 pectinase 농도 65.26ppm에서 가장 낮은 수치를 나타내었다. 탁도가 낮으면서 갈색도와 총 탄닌의 함량이 낮은 조건을 만족시켜 최소공배수를 나타내는 조건범위는 온도 40~50°C, 시간 60~70 min 및 pectinase 농도 55~70ppm의 범위였다.

문헌

- Jeong, Y. J., Shin, S. R., Kang, M. J., Seo, C. H., Won, C. Y. and Kim, K. S.: Preparation and quality evaluation of the quick fermented persimmon vinegar using deteriorated sweet persimmon. *J. East Asian Dietary Life*, 6, 221-227(1996)
- 농협년감, 농업협동조합(1997)
- Jeong, Y. J., Seo, K. I., Shin, S. R., Seo, C. H., Kang, M.

- J. and Kim, K. S. : Yeast isolate for alcohol fermentation of persimmon fruits. *J. East Asian Dietary Life*, **7**, 538-544(1997)
4. Jeong, Y. J., Seo, K. I., Lee, G. D., Youn, K. S., Kang, M. J. and Kim, K. S. : Monitoring for the fermentation conditions of sweet persimmon vinegar using surface methodology. *J. East Asian Dietary Life*, **8**, 57-65(1998)
5. Jeong, Y. J., Lee, G. D. and Kim, K. S. : Optimization for the fermentation condition of persimmon vinegar using response surface methodology. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1203-1208(1998)
6. Jeong, Y. J., Seo, K. I. and Kim, K. S. : Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J. East Asian Dietary Life*, **6**, 355-363(1996)
7. Kim, S. D., Park, N. S. and Kang, M. S. : Softening related changes in cell wall polysaccharides of persimmon. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **18**, 158-167(1996)
8. Ishii, S. and Yokotsuka, T. : Clarification of fruit juice by pectin trans-eliminase. *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 787-791(1972)
9. Nelson, P. E. and Tressler, D. K. : *Fruit and vegetable juice processing technology*. AVI Publishing Company, Westport, CT(1980)
10. Chun, Y. K., Choi, H. S., Cha, B. S., Oh, H. I. and Kim, W. J. : Effect of enzymatic hydrolysis on the physico-chemical properties of persimmon juice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 198-203(1997)
11. Lee, G. D., Kim, H. G., Kim, J. G. and Kwon, J. H. : Optimization for the preparation conditions of instant rice gruel using oyster mushroom and brown rice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 737-744(1997)
12. 박성현 : 현대실험 계획법. 민영사, 서울, pp.547-561(1991)
13. SAS : SAS/STAT : User's Guide Version 6. 4th ed., Vol. 2, Ch.37, SAS Institute Inc., Cary, NC, pp.1457-1478(1988)
14. Martha, L. A. and James, P. B. : The Mathematica Handbook, compatible with Mathematica Version 2.0. An Inprint of a Division of Academic Press, Inc. Harcourt Brace & Co., Massachusetts, pp.15-511(1992)

(1999년 3월 8일 접수)