

바이오센서 계측 결과를 이용한 식혜제조의 최적화

김희경 · 노봉수*

서울여자대학교 식품 · 미생물공학과

Optimization of *Sikhe* Processing using the Obtained Data by Biosensor

Hee-Kyung Kim and Bong-Soo Noh*

Department of Food and Microbial Technology, Seoul Women's University

This study was to determine the optimum conditions of malt extracting temperature, extracting time of malt in water, ratio of malt to water, and rice volume of malt extract water on saccharification in producing *sikhe* (sweet rice drink) using central composite design of response surface methodology. Glucose and maltose were analyzed by a biosensor having dual cathode system. The optimum temperatures of malt extracting for glucose and maltose were 60 and 55°C. The saccharification power for the two sugars was highest when malt powder soaked for 6.5 and 5.75 hour, respectively. And ratios of malt to water for optimum saccharification were 1 : 6.3 to 1 : 8.8, respectively. The optimum volumes of malt extracting to rice for the two sugars were 0.48% and 0.6%, respectively. The application of response surface methodology to *sikhe* processing showed a good correlation with high significance.

Key words: optimaztion, *sikhe*, response surface methodology, biosensor

서 론

식품산업이나 발효공정에서 포도당과 맥아당의 분석은 매우 중요하다. 이들의 분석에는 HPLC나 효소반응 kit 등이 사용될 수 있으나 시간이 소요되고 전처리 과정이 요구되는 단점을 안고 있다. 식혜의 경우 맥아당과 포도당이 공존하는데 맥아당이 가수분해되어 포도당으로 전환되기 때문에 포도당이 맥아당의 분석에 방해가 되기도 한다. 식혜 제조 공정에서 매우 중요한 공정관리 요소중에 하나는 이를 성분을 동시에 분석하는 것을 들을 수 있다. 이를 위하여 전처리 과정이 필요 없이 연속적으로 측정할 수 있는 바이오센서 시스템이 Qu 등⁽¹⁾에 의해 제안되었고 박 등⁽²⁾이 이를 발전시켜 제안한 dual cathod system을 이용하여 식혜중의 두 성분을 측정한 바 있다.

식혜 제조에는 다양한 변수들이 작용하며 이를 변수를 이용한 제조 공정의 최적조건을 설정하고자 하는 연구들이 이루어져 왔다. 이와 전⁽³⁾은 식혜에 대한 조리 과학적 검토를 하여 쌀, 물 그리고 맥아의 사용비율 및 당화 온도에 따른 식혜의 특성을 비교하였는데 식혜의 제조에 필요한 밥은 쌀

: 물 = 1 : 1.2로 제조하는 것이 좋으며 이에 20%의 맥아 침지액을 사용하여 55~60°C에서 3시간 당화시키는 것이 최적이었다. 일인분의 량으로 식혜물 240 mL에 식혜밥 100 g이 적당했으며 설탕 25 g을 넣어서 당도가 22% 이상일 때 식혜 밥알이 위로 떠다고 보고하였다. 이들은 봄에 기른 옛기름과 가을에 기른 옛기름 사이에 효소의 반응속도는 다소 차이가 있으며 봄 옛기름은 55~60°C에서, 가을 옛기름은 40~50°C에서 반응하는 것이 바람직하다고 보고하였다.

남과 김⁽⁴⁾은 고두밥과 옛기름의 양을 달리한 식혜의 관능적 특성을 조사하였는데, 옛기름 가루의 양이 증가함에 따라 식혜의 색깔 및 옛기름 냄새의 강도가 증가하는 것으로 나타났으며, 밥의 양이 증가하는 경우, 식혜의 탁도, 단맛 및 점도의 강도는 큰 반면, 쓴맛은 오히려 적다고 보고하였다.

이들 연구 결과는 몇 개의 변수에 대한 부분적인 연구로그 의미는 있으나 통괄적인 최적조건을 확립하였다고 보기 어렵다. 이 문제를 해결하고자 도입된 반응표면분석법은 선정된 식품제조의 최적조건을 설정하는데 영향을 주는 인자를 독립변수 X로 설정하고 실험조건의 변수에 따라 얻어진 code와 변수를 이용하여 실험의 최적조건을 결정하는 방법이다⁽⁵⁾. Mudahar 등⁽⁶⁾이 당근의 탈수율, 밀도, 카로틴 손실도 등을 종속변수로 하여 모델 식으로부터 최적 탈수공정 과정을 추정하였고, Floros 와 Chinman⁽⁷⁾은 pimiento 후추의 표피, 질감, peeling loss와 수율 등의 부분요인 실험법에 의하여 최적 탈피공정 조건의 예측치를 추정하였다. 반응표면분석법은 제품개발시 제품의 최적화를 위하여 2개 이상의 변수들의 효

*Corresponding author : Bong-Soo Noh, Department of Food and Microbial Technology, Seoul Women's University, 126 Kongleung 2-dong, Nowon-ku, Seoul 139-774, Korea

Tel: 82-2-970-5636

Fax: 82-2-970-5639

E-mail bsnoh@swu.ac.kr

과 이들의 상호작용을 파악하여 제품의 최적 제조 조건 및 최적 재료 수준을 결정하는 데에도 유용하게 사용되고 있다⁽⁸⁻¹⁰⁾.

국내에서는 이 등⁽¹¹⁾의 반응표면분석에 의한 Maillard 반응 기질의 동적 변화 모니터링, 서 등⁽¹⁰⁾의 효모 자가분해물을 사용한 된장찌개 믹스 조성비의 최적화, 정 등⁽¹²⁾의 반응표면 분석에 의한 키토산 제조조건의 최적화가 보고되고 있다.

현재까지 식혜의 당화조건에 대한 최적화에 관한 연구도 아직 보고된 바 없다. 본 연구에서는 효소를 고정화한 바이오센서를 이용하여 식혜의 주성분을 측정하고 얻어진 결과를 반응표면분석법에 의해 식혜제조시 최적조건을 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

최적화 공정을 위한 실험 조건 설정

식혜제조시 중요한 영향을 미치는 요인 4가지를 선정하여 실험을 실시하였는데 옛기름 추출온도와 옛기름추출시간, 옛기름과 물의 비율, 추출한 옛기름 액에 첨가하는 고두밥의 양 4가지를 최적화 공정을 수행하기 위한 실험조건으로 설정하였다.

예비실험을 통해 옛기름 추출물의 온도(0~80°C)와 추출시간(0~16시간), 옛기름과 물의 비율(1:4, 1:6, 1:8, 1:10)의 영향을 알아보는 과정에서 β -amylase의 활성이 더 이상 증가하지 않는 것을 종결점으로 하였고 31개 시료 모두 같은 당화조건인 60°C의 배양기에서 당화시키며 실험을 실시하였다.

반응표면 분석에 의한 실험 설계

식혜제조의 최적화 실험은 중심합성 계획법(Central Composite Design)⁽¹³⁾에 따라 설계하였고, 반응표면 회귀분석은 SAS 프로그램(SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)⁽¹⁴⁾을 이용하였다. 식혜에 영향을 미치는 변수인 옛기름 추출온도, 옛기름 추출시간, 물과 옛기름의 비율과 그리고 옛기름 추출액에 대한 밥의 양을 각각의 독립변수로 설정하고, 각 변수들은 -2, -1, 0, 1, 2 다섯 단계로 부호화하여 실험 값을 Table 1에 나타내었다. 각각의 독립변수에 대한 실험 설계는 예비 실험 결과를 이용하여 설정하였다.

이러한 code와 변수를 이용하여 중심합성계획의 2차 모형으로 작성하였으며, fractional 24 factorial points(16점), star points(8점) 및 central points(7점)로서 총 31개의 실험구를 무작위로 수행하였다(Table 2).

Table 1. Coded levels for independent variables used in developing experimental data optimization of sikhe processing

Variables	Coded Xi	Coded level					$\Delta X^{1)}$
		-2	-1	0	1	2	
Extracting temperature (°C)	X ₁	0	20	40	60	80	20
Extracting time(hour) ²⁾	X ₂	0	2	4	6	8	2
Ratio of malt to water	X ₃	1:4	1:6	1:8	1:10	1:12	2
Rice volume ³⁾	X ₄	0.05	0.2	0.35	0.5	0.65	0.15

¹⁾The increment of the experimental factor values corresponding to one unit of the coded variable

²⁾Extracting time of malt in water

³⁾Volume fraction of rice to malt extract water²⁾

식혜 제조방법

본 실험에 사용한 옛기름은 중앙종합식품에서 나온 옛기름을 사용하였고 쌀은 농협공판장에서 구입한 평택쌀(1998년산)을 이용하였다. 옛기름은 온도별(0, 20, 40, 60, 80°C)로 배양기를 이용하여 각 시간별(0, 2, 4, 6, 8시간)로 추출하였고 물은 중류수를 이용하였다. 시간별로 추출하여 얻은 옛기름 추출액은 2시간동안 가라앉혀서 앙금은 남기고 상등액만 사용하였고 밥은 1.2배의 물을 가해 1시간 동안 침지한 후 맵쌀로 고두밥을 지어 실험에 사용하였다.

엿기름 추출액에 대한 고두밥의 중량을 비율별(0.05, 0.2, 0.35, 0.5, 0.65%)로 계산해서 2 L 비이커에 각각 넣은 후 60°C 배양기에서 5시간 당화시켰다. 당화가 끝난 식혜는 꺼내어 5분간 끓이면서 효소를 불활성화 시켰다.

포도당 및 맥아당 분석

바이오센서의 제작은 박 등^(2,15)의 방법에 따라 수행하였으며 포도당과 맥아당은 dual cathode system에 의해 동시에 측정되었고 보정, 계산하였다.

포도당과 맥아당 측정 실험에 사용한 효소 전극은 순환 수욕조(Jeio Tech. Co. Korea)를 이용하여 수욕조의 온도를 최적온도인 $35 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 에서 일정하게 유지하였다. 이때, cell내의 완충용액의 pH는 고정화한 효소의 활성 발현을 동시에 만족하는 최적 pH인 5.5였다. 완충용액의 부피는 30 mL로 일정하게 유지시켰으며, air bubbling kit를 이용하여 용존산소를 포화시킨 후 실험에 사용하였다. 중심합성계획에 따라 설계하여 제조한 31개의 식혜 시료를 각각 0.2 mL씩 주입하여 효소를 고정화한 전극에서 소비되는 용존산소의 소비변화량을 측정하였다. 이것을 포도당과 맥아당의 농도(%)로 환산하여 시료 중에 함유된 양을 계산하였다.

결과 및 고찰

바이오센서에 의한 분석

효소를 고정화한 바이오센서로 포도당과 맥아당 함량을 분석한 결과 포도당($r^2 = 0.97$)과 맥아당($r^2 = 0.94$)의 결정계수는 높은 값을 나타내었으며⁽²⁾ Table 3은 식혜를 31개의 다른 조건에 따라 제조한 후 바이오센서로 측정한 결과이다. 식혜제조 공정에서 맥아당의 함량이 가장 높게 나타나는 것이 바람직한데 포도당은 맥아당이 가수 분해되어 생성되는 것으로 이 두 성분이 함께 높게 나타날 수는 없다. 측정된 함량

범위가 0.71~2.24%의 결과를 보인 포도당에서 가장 적은 값 을 가진 실험구는 19번으로 추출시간이 0시간(엿기름에 물을 넣은 후 담가두지 않고 바로 짜냄)이었음을 감안할 때 엿기름을 추출하는 시간이 식혜제조 과정중 중요한 요인으로 작용하는 것으로 나타났다. 4번 실험구에서 포도당 함량이 2.24%로 가장 높았는데 이는 엿기름 추출온도가 55~60°C에서 당화력이 좋았다는 조⁽¹⁶⁾의 보고와 그리고 최적 당화 온도는 60°C라고 밝힌 문과 조⁽¹⁷⁾의 연구와 비슷한 경향을 나타내었고 또한 60°C에서 amylase 역가를 측정하였을 때 최대치를 얻었다는 서 등⁽¹⁸⁾의 연구 결과와 유사하였다.

맥아당 양을 측정한 결과 7.99~16.97%의 값으로 비교적 넓은 범위에 분포를 보여 주었다. 맥아당 수치가 가장 낮았던 실험구는 23번 실험구, 최대치는 실험구 24번으로 16.97%이었는데 이 결과 역시 엿기름 추출액에 대한 고두밥의 양이 0.05%일 때 최소의 값을, 최고 값은 0.65%를 첨가했을 때 나타남으로써 밥의 양이 식혜의 주성분이라 할 수 있는 맥아당 함량의 결정에 중요하게 작용함을 알 수 있었다.

SAS에 의한 통계처리

중심합성계획에 의한 실험계획(Table 2)에 따라 얻은 결과(Table 3)를 SAS를 이용하여 통계처리 하였고, 3차원 분석을 통하여 식혜공정의 최적화를 실시하였다.

식혜 최적조건에 관련된 독립변수인 엿기름 추출온도(X_1), 엿기름 추출시간(X_2), 물과 엿기름의 비율(X_3) 그리고 엿기름 추출액과 고두밥의 양(X_4)과 종속변수인 포도당, 맥아당의 양(%)에 대한 표본 회귀모형식은 다음과 같다.

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^4 b_i X_i + \sum_{i=1}^4 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 b_{ij} X_i X_j$$

여기서 Y 는 반응(종속)변수, X_i , X_j 는 독립변수, b_0 은 절편, b_i , b_{ii} , b_{ij} 는 회귀계수이다. 표면반응분석법의 중심합성계획을 이용하여 식혜의 최적조건을 설정하였고 그 실험결과는 Table 3과 같다. Table 3에서 나온 결과를 바탕으로 SAS 처리하여 Table 4의 값을 얻었는데 식혜공정 최적화에서의

Table 2. Response surface methodology for optimization of sikhe processing

Run no.	Coded variables ¹⁾				Process variables ²⁾				Experimental point
	X_1	X_2	X_3	X_4	X_1	X_2	X_3	X_4	
1	-1	-1	-1	-1	20	2	1 : 6	0.2	
2	1	-1	-1	-1	60	2	1 : 6	0.2	
3	-1	1	-1	-1	20	6	1 : 6	0.2	
4	1	1	-1	-1	60	6	1 : 6	0.2	
5	-1	-1	1	-1	20	2	1 : 10	0.2	
6	1	-1	1	-1	60	2	1 : 10	0.2	
7	-1	1	1	-1	20	6	1 : 10	0.2	
8	1	1	1	-1	60	6	1 : 10	0.2	Fractional 2 ⁴ factorial points
9	-1	-1	-1	1	20	2	1 : 6	0.5	
10	1	-1	-1	1	60	2	1 : 6	0.5	
11	-1	1	-1	1	20	6	1 : 6	0.5	
12	1	1	-1	1	60	6	1 : 6	0.5	
13	-1	-1	1	1	20	2	1 : 10	0.5	
14	1	-1	1	1	60	2	1 : 10	0.5	
15	-1	1	1	1	20	6	1 : 10	0.5	
16	1	1	1	1	60	6	1 : 10	0.5	
17	-2	0	0	0	0	4	1 : 8	0.35	
18	2	0	0	0	80	4	1 : 8	0.35	
19	0	-2	0	0	40	0	1 : 8	0.35	
20	0	2	0	0	40	8	1 : 8	0.35	Star points
21	0	0	-2	0	40	4	1 : 4	0.35	
22	0	0	2	0	40	4	1 : 12	0.35	
23	0	0	0	-2	40	4	1 : 8	0.05	
24	0	0	0	2	40	4	1 : 8	0.65	
25	0	0	0	0	40	4	1 : 8	0.35	
26	0	0	0	0	40	4	1 : 8	0.35	
27	0	0	0	0	40	4	1 : 8	0.35	
28	0	0	0	0	40	4	1 : 8	0.35	Central points
29	0	0	0	0	40	4	1 : 8	0.35	
30	0	0	0	0	40	4	1 : 8	0.35	
31	0	0	0	0	40	4	1 : 8	0.35	

^{1,2)} X_1 : extracting temperature(°C), X_2 : extracting time of malt in water(hr), X_3 : ratio of malt to water, X_4 : rice volume(%) - volume fraction of rice to malt extract water

Table 3. Determination of free sugars in sikhe using biosensor

Run no.	Process variables				Dependent variables	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Glucose (%)	Maltose (%)
1	20	2	1 : 6	0.2	0.89	9.53
2	60	2	1 : 6	0.2	1.82	9.41
3	20	6	1 : 6	0.2	0.92	8.25
4	60	6	1 : 6	0.2	2.24	9.84
5	20	2	1 : 10	0.2	0.78	9.97
6	60	2	1 : 10	0.2	1.75	10.47
7	20	6	1 : 10	0.2	0.90	9.07
8	60	6	1 : 10	0.2	1.91	11.30
9	20	2	1 : 6	0.5	0.93	12.79
10	60	2	1 : 6	0.5	1.65	12.02
11	20	6	1 : 6	0.5	1.12	12.98
12	60	6	1 : 6	0.5	1.97	14.16
13	20	2	1 : 10	0.5	1.06	14.73
14	60	2	1 : 10	0.5	1.49	11.84
15	20	6	1 : 10	0.5	1.21	13.69
16	60	6	1 : 10	0.5	1.48	16.01
17	0	4	1 : 8	0.35	0.93	8.36
18	80	4	1 : 8	0.35	1.96	16.74
19	40	0	1 : 8	0.35	0.71	11.87
20	40	8	1 : 8	0.35	1.83	11.56
21	40	4	1 : 4	0.35	1.44	13.02
22	40	4	1 : 12	0.35	1.53	13.24
23	40	4	1 : 8	0.05	0.95	7.99
24	40	4	1 : 8	0.65	1.14	16.97
25	40	4	1 : 8	0.35	1.91	14.63
26	40	4	1 : 8	0.35	1.89	14.82
27	40	4	1 : 8	0.35	1.87	14.97
28	40	4	1 : 8	0.35	1.88	14.98
29	40	4	1 : 8	0.35	1.92	14.65
30	40	4	1 : 8	0.35	1.90	14.88
31	40	4	1 : 8	0.35	1.85	14.33

Significance at p<0.01 (glucose), p<0.01 (maltose)

종속변수는 Y₁ 포도당, Y₂ 맥아당이었고 포도당($r^2=0.9211$) 맥아당($r^2=0.8515$) 모두 높은 상관관계를 보였다.

먼저 종속변수 Y₁의 다중회귀분석을 수행한 결과(Table 4)를 근거로 t-value의 절대값이 2.5이상인 항은 다중회귀분석 모델식에서 채택하고 t-value의 절대값이 2.5미만인 항은 기각하였다. 일차식(linear regression, p<0.000)과 이차식(quadratic regression, p<0.0001)에서는 유의성이 높았고 변수상호간(crossproduct regression)의 영향에서도 p<0.1397의 유의성을 나타내었다. 식혜 최적화에 관한 4가지 독립변수중 X₁인 물의 비율과 X₄인 밥의 양은 항이 기각되어 다음 모델식에서 제외시킨 조건하에 식혜공정의 최적화에 대한 모델식을 얻었는데 그 결과는 아래와 같다.

$$Y_1 = 1.888571 + 0.354167X_1 + 0.150833X_2 - 0.122500X_1X_4 - 0.102143X_1^2 - 0.142143X_2^2 - 0.088393X_3^2 - 0.198393X_4^2$$

결정계수는 0.9211, 유의성은 0.0000으로 99.9%수준에서 유의성이 인정되었다. 종속변수 Y₂ 맥아당의 다중회귀분석을 수행한 결과는 Table 4와 같다. 일차식(p<0.000)과 이차식(p<

0.0039)에서는 유의성이 높았고 변수상호간(p<0.4704)의 영향은 없는 것으로 나타났다. 포도당의 회귀분석에서와 마찬가지로 t-value의 절대값이 2.0 이상인 항은 다중회귀분석 모델식에서 채택하고 t-value의 절대값이 2.0 미만인 항은 기각하였다. 식혜 최적화에 관한 4가지 독립변수중 X₂인 엿기름 추출시간과 X₃인 엿기름과 물의 비율의 항은 기각되어 다음 모델식에서 제외시킨 조건에 따라 식혜공정의 최적화에 대한 맥아당의 모델식은 아래와 같은 결과를 얻었다.

$$Y_2 = 14.751429 + 0.783333X_1 + 0.246667X_2 + 2.092500X_4 - 0.787500X_1X_2 - 0.709940X_1^2 - 0.918690X_2^2 - 0.564940X_3^2 - 0.734940X_4^2$$

결정계수는 0.8515, 유의성은 0.0003으로 99.9% 수준에서 그 유의성이 인정되었다. 다중 회귀 분석에 의하여 각 변수가 선별되어 설정된 모델식을 분석할 때 독립변수에 대하여 미분하여 해당 독립변수의 최적값을 알아내는 방법과 3차원 분석상에서 나타난 종속변수 값이 모든 독립변수의 최소·최대 값에서 나타날 때 3차원 분석의 독립변수 좌표를 직접

Table 4. Values of regression coefficients and analysis variance of calculated for the free sugars of sikhe

Independent variable	Coefficient		Standard error		t-value		Significance level (p)	
	Glucose	Maltose	Glucose	Maltose	Glucose	Maltose	Glucose	Maltose
Constant	1.888571	14.751429	0.065986	0.538683	28.621	27.384		
X ₁	0.354167	0.783333	0.035636	0.290922	9.938	2.693	<0.01	<0.01
X ₂	0.150833	0.246667	0.035636	0.290922	4.233	0.848	<0.01	
X ₃	-0.032500	0.439167	0.035636	0.290922	-0.912	1.510		
X ₄	0.003333	2.092500	0.035636	0.290922	0.0935	7.193		<0.01
X ₁ X ₂	0.025000	0.787500	0.043645	0.356305	0.573	2.210		<0.01
X ₁ X ₃	-0.071250	-0.142500	0.043645	0.356305	-1.632	0.400		
X ₁ X ₄	-0.122500	-0.147500	0.043645	0.356305	-2.807	-0.414	<0.01	
X ₂ X ₃	-0.033750	-0.026250	0.043645	0.356305	-0.773	-0.0737		
X ₂ X ₄	-0.005000	0.273750	0.043645	0.356305	-0.115	0.768		
X ₃ X ₄	0.006250	-0.091250	0.043645	0.356305	0.143	-0.256		
X ₁₂	-0.102143	-0.709940	0.032647	0.266521	-3.129	-2.664	<0.01	<0.01
X ₂₂	-0.142143	-0.918690	0.032647	0.266521	-4.354	-3.447	<0.01	<0.01
X ₃₂	-0.088393	-0.564940	0.032647	0.266521	-2.708	-2.120	<0.01	<0.01
X ₄₂	-0.198393	-0.734940	0.032647	0.266521	-6.077	-2.758	<0.01	<0.01
r ²							0.9211	0.8515
F							13.346	6.553
Probability of F							0.0000	0.0003

읽어 최적값을 찾는 방법으로 반응표면분석법을 수행하여⁽¹⁹⁾ Fig. 1과 Fig. 2와 같은 결과를 얻었고 정준 분석(canonical analysis)을 나타낸 Table 5의 uncoded value를 이용하여 각각의 독립변수에 대한 최적값을 구하였다.

반응표면분석법을 이용한 식혜공정의 최적화

식혜의 당화시간(4~8시간)에서는 당화시간을 증가시켜도 유리당 함량이 더 이상 증가하지 않는 시점인 5시간으로 당화시간을 고정한 상태에서 실험을 실시하였으며 당화온도(55~60°C) 역시 다른 조건을 동일하게 놓은 상태에서 실험하였을 때 온도차이가 최종 당함량에 미치는 결과가 미비하다 생각되어 최적화 공정의 실험조건에서 제외시켰다.

Table 5. Critical values from the canonical analysis of response surface based on the coded data of sikhe

Variables	Glucose		Maltose	
	Coded	Uncoded	Coded	Uncoded
X ₁	1.495373	2.990747	0.412308	0.824615
X ₂	0.500984	1.001969	0.349183	0.698366
X ₃	-0.807088	-1.614176	0.179735	0.359471
X ₄	-0.476493	-0.952987	0.724292	1.448584

식혜 제조시 최적조건을 결정하는 과정에서 맥아당을 정량한 이유는 전통식혜의 주성분이 맥아당이기 때문에 맥아당함량을 증가시키는 방법을 찾고자 하였다. 한편, 시판식혜의 경우 주성분이 맥아당이 아닌 설탕으로 설탕이 맥아당의 10배나 첨가되어 있다는 연구결과^(2,15) 등이 보고되어 있다.

시판 식혜는 고두밥을 3%만 사용하고 대부분 설탕을 사용하여 설탕을 맥아당의 10배나 첨가하고 있다. 그래서 지금 까지 존재하여 오던 민간의 설탕 첨가 식혜와도 성분이 전혀 다르다. 엿기름으로 당화시켜 식혜를 만들어도 단맛을 충분히 낼 수 있다는 것은 구체적 연구결과⁽¹⁷⁾를 통해 보고된 바 있다.

본 실험에서는 앞에서 제시한 표면반응분석법에 의한 실험계획에 맞추어 각각의 조건을 달리한 31종의 식혜를 담그고 그 식혜에 대한 분석으로 바이오센서를 이용하였으며 분석시 성분으로는 포도당과 맥아당을 분석하였고 이 때 얻어진 값을 가지고 SAS를 이용하여 통계 처리한 후 3차원 그래프를 얻을 수 있었다. 이때 얻어진 3차원 그래프를 가지고 각각의 독립변수의 좌표를 직접 읽어 최적값을 찾는 방법으로 분석을 수행하였다.

먼저 포도당은 엿기름 추출온도와 엿기름 추출시간과의 관계에서는 정상점(stationary point)으로서 각각 60°C와 5시간

Table 6. Determination of free sugars in sikhe by SAS

Regression	R square		F-ratio		Probability>F	
	Glucose	Maltose	Glucose	Maltose	Glucose	Maltose
Linear regression	0.5794	0.5753	29.381	15.495	0.0000	0.0000
Quadratic regression	0.2850	0.2216	14.454	6.969	0.0001	0.0039
Cross product regression	0.0567	0.0546	1.917	0.980	0.1397	0.4704
Total regression	0.9211	0.8515	13.346	6.553	0.0000	0.0003

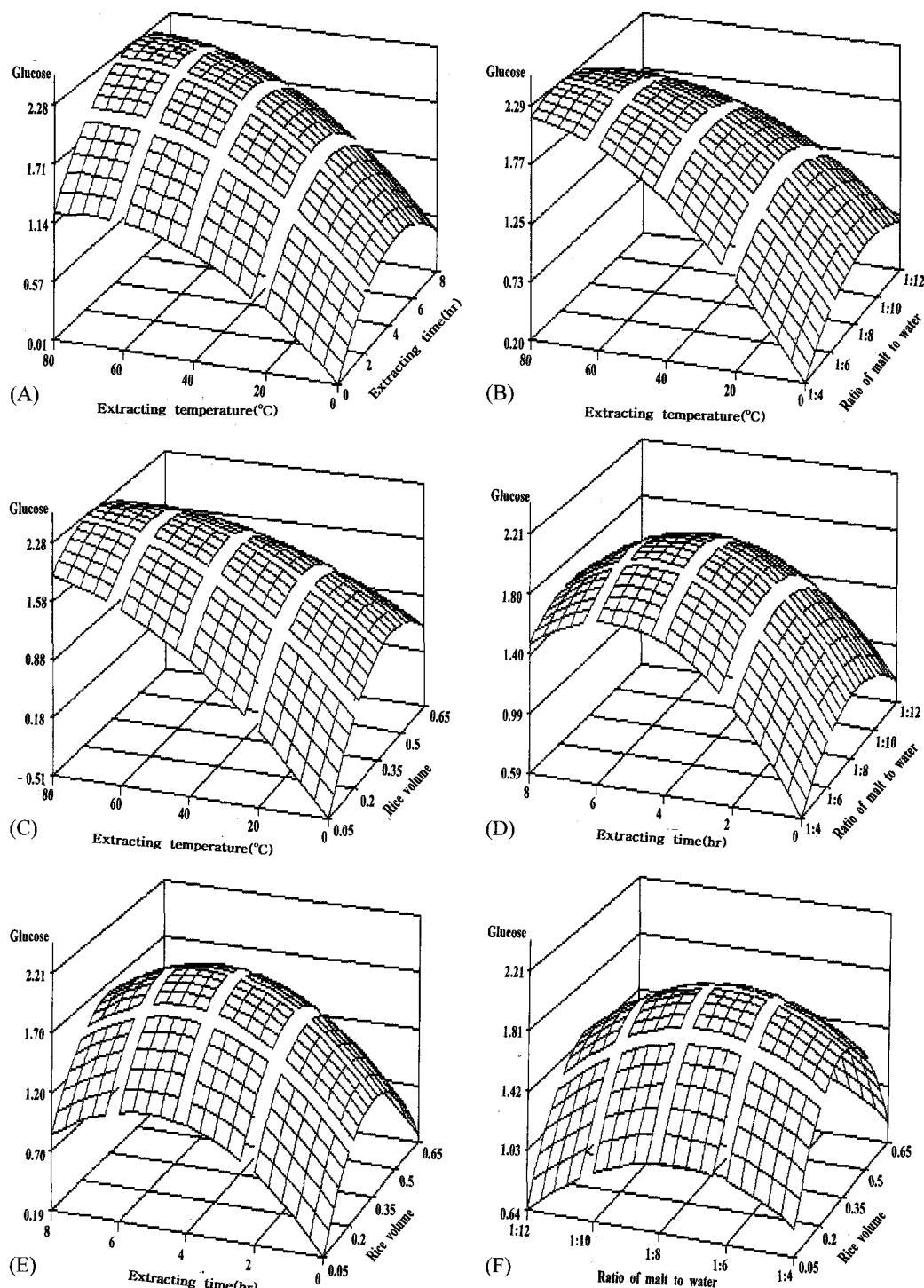


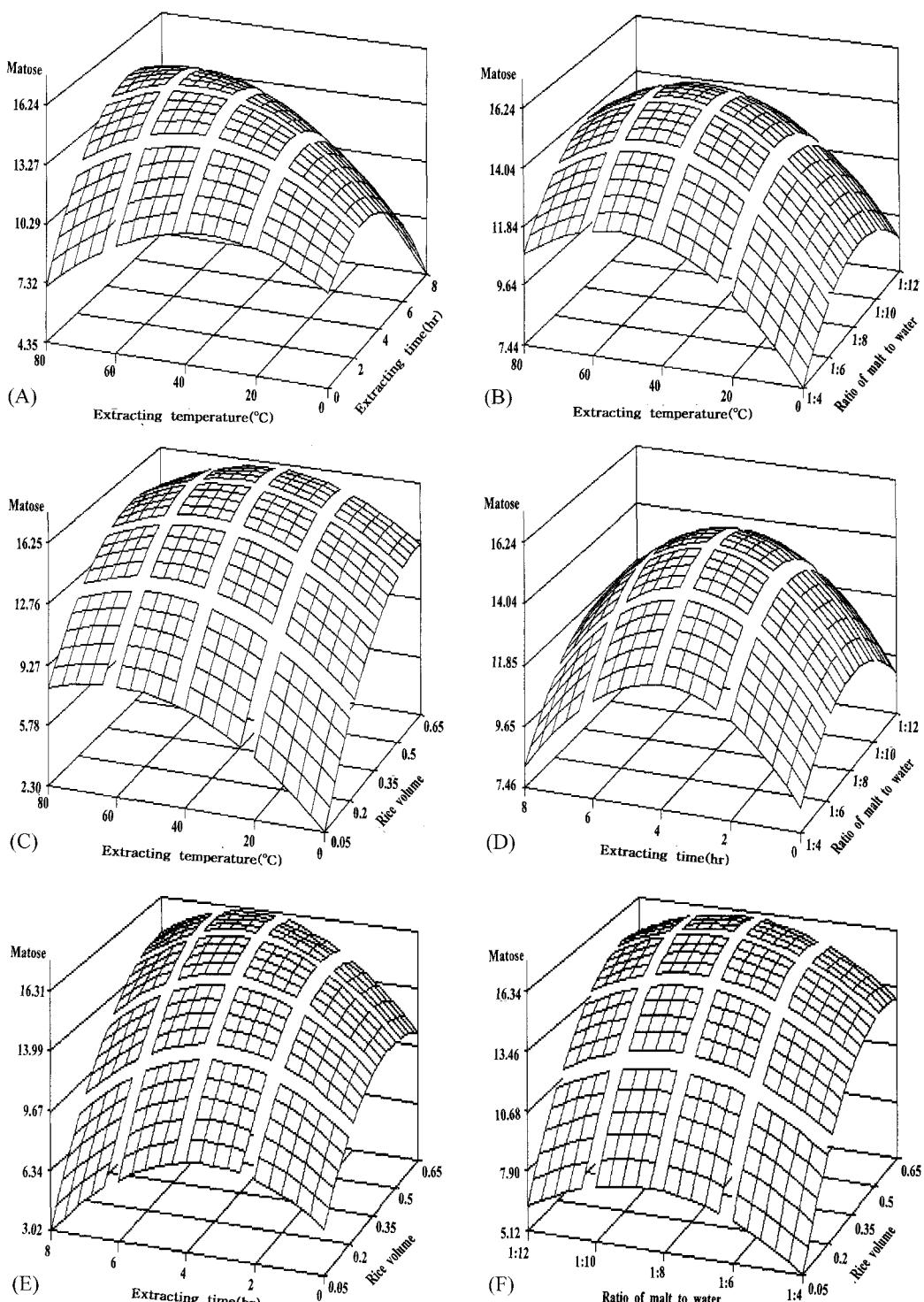
Fig. 1. Response surface on the glucose of sikhe

A: versus extracting temperature(X_1) and extracting time of malt in water (X_2), B: versus extracting temperature(X_1) and ratio of malt to water(X_3), C: versus extracting temperature(X_1) and rice volume(X_4), D: versus extracting time of malt in water(X_2) and ratio of malt to water(X_3), E: versus extracting time of malt in water(X_2) and rice volume(X_4), F: versus ratio of malt to water(X_3) and rice volume(X_4), Rice volume means fraction of rice to malt extract water

부근에서 함량이 최고 수준이었고(Fig. 1A), 엿기름 추출온도와 물의 비율과의 관계는 각각 70°C와 1:8.5 부근에서(Fig. 1B), 엿기름 추출물의 온도와 밥의 양은 70°C와 0.35%에서(Fig. 1C), 추출시간과 물의 비율은 6시간 30분~7시간 30분과 1:8.5~1:9(Fig. 1D)에서, 추출시간과 밥의 양은 6시간 30

분과 0.39%에서(Fig. 1E) 물의 비율과 밥의 양은 1:10과 0.39%(Fig. 1F)에서 가장 높은 포도당 함량을 보였다.

그리고 포도당에서의 정준 분석을 나타낸 Table 5에서 uncoded value로 계산된 각 변수의 최적값은 엿기름 추출온도(X_1)는 60°C, 엿기름 추출시간(X_2)은 6시간 30분, 물과 엿

**Fig. 2. Response surface on the maltose of sikhe**

A: versus extracting temperature(X_1) and extracting time of malt in water (X_2), B: versus extracting temperature(X_1) and ratio of malt to water(X_3), C: versus extracting temperature(X_1) and rice volume(X_4), D: versus extracting time of malt in water(X_2) and ratio of malt to water(X_3), E: versus extracting time of malt in water(X_2) and rice volume(X_4), F: versus ratio of malt to water(X_3) and rice volume(X_4), Rice volume means fraction of rice to malt extract water

기름의 비율(X_3)은 1 : 6.3, 밥의 양(X_4)은 0.48%이었다.

두 번째 종속변수인 맥아당은 엿기름 추출온도와 엿기름 추출시간과의 관계 역시 포도당과 마찬가지로 정상점이었고 각각 60~65°C와 5시간 부근에서 함량이 최고 수준이었으며

(Fig. 2A), 엿기름 추출온도와 물의 비율과의 관계는 각각 65~70°C와 1 : 10에서(Fig. 2B), 엿기름 추출물의 온도와 밥의 양은 60~65°C와 0.5%에서(Fig. 2C), 추출시간과 물의 비율은 7시간, 1 : 9~1 : 10 부근(Fig. 2D)에서, 추출시간과 밥의 양은

6시간과 0.6%에서(Fig. 2E), 물의 비율과 밥의 양의 관계에서는 1 : 10.5와 0.6%(Fig. 2F)에서 가장 높은 맥아당 함량을 나타내었다. 그리고 옛기름 역시 정준 분석을 나타낸 Table 5의 uncoded value를 이용하여 계산된 각 변수의 최적값을 찾았는데 옛기름 추출온도(X_1)는 55°C, 옛기름 추출시간(X_2)은 5시간 45분, 물과 옛기름의 비율(X_3)은 1 : 8.8, 옛기름 추출액에 대한 고두밥의 양(X_4)은 0.6%이었다.

3차원 분석 그래프에서 얻은 식혜 제조시의 최적조건은 위에서 나온 결과와 같이 포도당과 맥아당에 따라 각각 조금씩 다른 조건을 나타내었다.

당 분석용 바이오센서를 이용하여 식혜의 포도당과 맥아당을 분석한 결과는 분석과정이 기존의 HPLC에 비해 훨씬 간단했을 뿐만 아니라 HPLC로 측정한 값과의 상관관계가 0.94로 나타났다. 또한, 바이오센서는 이제까지의 연구에서 흔히 사용된 분석기기처럼 복잡한 전처리 과정이 필요 없어 간단하고 반응시간이 짧아 발효공정을 보다 신속하게 조절할 수 있으며, 감응도가 뛰어나 정확한 측정을 할 수 있었다. 그리고 이 방법은 장시간의 분석시간이나 용리액의 복잡한 조성으로 인한 특별한 주의가 요구되지 않고 기계장비나 부품이 비싸지 않아 경제적인 부담이 없으며 기계를 다루는 숙련된 기술이 필요하지 않기 때문에 다양한 식품산업에 응용하면 이점이 클 것으로 생각되었다.

요 약

식혜 제조시 당화에 영향을 미치는 인자인 옛기름 추출온도와 시간, 옛기름과 물의 비율, 밥의 양을 반응표면분석법의 중심합성계획에 따라 설계하여 각각 조건들의 영향을 dual cathod system으로 구성된 바이오센서로 행하였을 때 포도당과 맥아당의 측정은 옛기름 추출온도 및 각각의 조건들은 포도당과 맥아당의 최적조건이 약간은 다른 결과를 보였는데 포도당에서는 60°C, 맥아당은 55°C에서 최적의 온도를 나타내었고 옛기름 추출시간은 포도당이 6시간 30분, 맥아당은 5시간 45분이었으며 물과 옛기름의 비율은 포도당과 맥아당 각각 1 : 6.3, 1 : 8.8이었고 옛기름 추출액과 고두밥의 양에서는 0.48%는 포도당, 0.6%는 맥아당이 최적조건이었다. 반응 표면분석법에 의하여 유의차를 검증한 결과 그 상관관계를 비교했을 때 유의성이 높게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 서울여자대학교 자연과학연구소학술 연구비의 지원을 받아 수행되었음을 감사드립니다. RSM작업을 도와주신 서울산업대 장판식교수님께 감사 드립니다.

문 헌

- Qu, H-B., Zhang, X-E. and Zhang, S-Z. Simultaneous determination of maltose and glucose using a dual-electrode flow injection system. *Food Chem.* 52: 187-193 (1995)
- Park, I.S., Kim, J.H. and Noh, B.S. Simultaneous determination of glucose and maltose in *sikhe* using oxygen electrode with dual cathode system. *Foods Biotechnol.* 6: 209-213 (1997)
- Lee, H.J. and Jun, H.J. A study on the making of *sikhe* (in Korean). *Korean J. Home Eco. Assoc.* 14: 195-203 (1978)
- Nam, S.J. and Kim, K.O. Characteristics of *sikhe* made with different amount of cooked rice and malt with different sweeteners (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 21: 197-202 (1989)
- Cochran, W.G. and Cox, G.M. *Experimental Design*. John Wiley and Sons, New York (1957)
- Mudahar, G.S., Toledo, R.T., Floros, J.D. and Jen, J.J. Optimization of carrot dehydration process using response surface methodology. *J. Food Sci.* 54: 714-721 (1989)
- Floros, J.D. and Chinnan, M.S. Seven factor response surface optimization of a double stage lye(NaOH) peeling process for pimiento peppers. *J. Food Sci.* 53(2): 631-638 (1988)
- Giovanni, M. Response surface method and product optimization. *Food Technol.* 11: 41-50 (1983)
- Shelke, K., Dick, J.W., Holm, Y.F. and Loo, K.S. Chinese wet noodle formulation: a response surface methodology study, *Cereal Chem.* 67: 338-342 (1990)
- Suh, D.S., Kim, K.O., Kim, Y.S. and Lee, Y.C. Formular optimization of soy paste stew mix with yeast autolyzate (in Korean). *Korean J. Food. Sci. Technol.* 25: 411-416 (1993)
- Lee, G.D., Kim, J.S. and Kwon, J.H. Monitoring of dynamic changes in Maillard reaction substrates by response surface methodology (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 212-219 (1996)
- Jeong, Y.J., Lee, M.H. and Lee, G.D. Monitoring for the process conditions of chitosan using response surface methodology (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 558-563 (1996)
- Park, D.G. *Experimental design* (in Korean). Jayu Academy, Seoul, p. 354 (1995)
- SAS Institute, Inc. *SAS User's Guide*. SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA (1990)
- Park, I.S., Kim, J.H., Kim, T.J. and Noh, B.S. Simultaneous determination of glucose and ethanol of *takju* by biosensor using dual cathode system (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 974-980 (1996)
- Cho, S.O. The effects of degree of germination of barley, soaking time of malt powder, variety of rice and cooking methods on the quality of *sikhe* (in Korean). *Korean J. Home Eco. Assoc.* 21: 79-85 (1983)
- Moon, S.J. and Cho, H.J. A scientific study on *sikhe* (in Korean). *Korean J. Home Eco. Assoc.* 16: 43-49 (1978)
- Suh, H.J., Chung, S.H. and Whang, J.H. Characteristics of *sikhe* produced with malt of naked barley, covered barley and wheat (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 716-721 (1998)
- Oh, H.I., Oh, S.J. and Kim, J.M. Optimization of crude papain extraction from papaya latex using response surface methodology (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 505-515 (1997)

(2001년 12월 30일 접수)