

# Evolutionary Operation-Factorial Design Technique를 이용한 곤약의 항균활성 최적화

이난희<sup>\*,\*\*</sup> · 최원석 · <sup>†</sup>최응규

한국교통대학교 식품공학과, <sup>\*</sup>대구한의대학교 한방식품조리영양학부 <sup>\*\*</sup>청도어린이급식관리지원센터

## Optimization for the Antibacterial Activity of *Konjak* Jelly using Evolutionary Operation-Factorial Design Technique

Nan-Hee Lee<sup>\*,\*\*</sup>, Won-Seok Choi and <sup>†</sup>Ung-Kyu Choi

Dept. of Food Science & Technology, Koera National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

<sup>\*</sup>Dept. of Food Science and Nutrition, Daegu Hanny University, Gyeongsan 38578, Korea

<sup>\*\*</sup>Cheongdo Center for Children's Foodservice Management, Cheongdo 38352, Kroea

### Abstract

This research was conducted to elucidate the optimum conditions for the antibacterial activity of *konjak* jelly using the evolutionary operation-factorial design technique. In the first set of experiments, concentration of a coagulation agent, soaking liquid, and temperature of water were set to 0.4%,  $0.6 \times 10^{-2}$  N, and 65°C as a central point, respectively. The highest antibacterial activity was acquired at E21, in which the number of bacteria was 1.25 log cfu/g. Because the code of changes in the main effect was (-), it could be decided that the central point of the first set was not the optimum point. Although antibacterial activity in the second set was improved, the values of the main effect were higher than that of changes in the mean effect. The central point of third set was concentration of coagulation agent 0.8%, concentration of soaking liquid  $1.0 \times 10^{-2}$  N, and temperature of water 65°C. It was found that the antibacterial activity of central point in the third set was highest among all the tested set. Further, all the necessary conditions were appropriate to reach the optimum condition. The antibacterial activity of the central point in third set was more than 1,000 times higher than that of E11, in first set.

Key words: *konjak* jelly, antibacterial activity, evolutionary operation-factorial design technique

### 서 론

곤약 가공의 주원료인 구약감자(*Amorphophallus konjac*)는 아시아 지역에서 주로 생산되는 천남생과의 식물로써 glucomannan이 주성분으로 되어 있는 근경을 식용으로 사용하고 있다(Kishida N 1979). 3 M의 glucose와 5 M의 mannose로 구성되어 있는 glucomannan은 G-G-M-M-M-M-G-M 또는 G-G-M-G-M-M-M-M의 구조가 반복되어 주사슬을 이루며, 최근 난소화성 다당류에 의한 다이어트 보조식품 중 한가지로 상당한 관심을 받고 있다(Kato & Matsuda 1969).

구약감자를 활용한 연구로 심 등은 곤약의 제조공정을 표준화하고, 침지액의 농도에 따른 식중독균에 대한 항균활성을 확인하였으며(Sim 등 2014a), 곤약의 응고를 위한 최적조건 및 항미생물 활성을 확인하여 보고한바 있다(Sim 등 2014b). 계육패티 제조 시 지방 대체제로 glucomannan을 첨가할 경우 품질과 저장성이 우수하며(Kim 등 2007), 어묵 등 가공식품의 제조(Choi 등 2012)에 구약감자 분말이 활용되는 등 상업적 활용을 위한 다양한 시도들이 이루어지고 있다. 또한, 곤약을 첨가한 국수가 고지방식이를 급여하여 유도된 비만 흰쥐의 체중감소에 미치는 영향(Park & Kang 2003)과

<sup>†</sup> Corresponding author: Ung-Kyu Choi, Dept. of Food Science & Technology, Koera National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea. Tel: +82-43-820-5242, Fax: +82-43-820-5240, E-mail: ukchoi@ut.ac.kr

혈청콜레스테롤 및 혈당에 미치는 영향에 관한 연구(Lee 등 2005; Kim 등 2007) 등 곤약의 기능성에 관한 연구도 활발하게 진행되고 있다.

곤약은 제조과정에서 응고제와 침지액으로 강 알칼리제인  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 을 사용하여 최종 제품의 pH를 11 이상으로 유지함으로써 살균공정을 거치지 않고 출시하여도 3개월 이상 상온에서 유통이 가능한 특징을 가지고 있다(Sim 등 2014b). 따라서 곤약의 안정적 유통을 위해서는 응고제와 침지제에 의한 항미생물 활성을 잘 활용하는 것이 필요하며, 이에 따라 항균 활성의 최적조건을 찾는 실험은 매우 중요하다고 할 수 있다.

다양한 반응의 최적조건을 확인하기 위한 실험계획법 중 하나인 evolutionary operation(EVOP) design의 가장 중요한 이점은 다양한 변수들을 최고점 또는 최저점으로 명확하게 결정시켜주는데 있으며, 최종산물의 수준이 저하되지 않으면서 현장적용에 매우 적합한 방법이라는 것이다(Banerjee & Bhattacharyya 1993). 반면, 독립변수가 3가지 이상일 경우, 실험의 양이 너무 많아져서 실험수행이 어렵다는 단점이 있다(Choi UK 2008). 이러한 단점을 극복하기 위해서 factorial technique을 접목시킨 evolutionary operation-factorial design technique가 고안되었다(Mukherjee & Banerjee 2004).

본 연구에서는 곤약제조 시 곤약의 응고와 항균활성 확보를 위한 중요한 변수인 응고제의 농도, 침지액의 농도, 혼합액의 온도를 달리하여 EVOP-factorial design에 적용시켜 곤약의 항균활성을 위한 최적조건을 찾고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시 재료

본 실험에 사용된 구약감자 분말은 삼진식품(주)로부터 제공 받아 사용하였다. 그 외 실험에 사용된 시약은 모두 특급시약을 사용하였으며, 미생물의 생육측정을 위한 배지는 Difco (USA)사 제품을 구입하여 사용하였다.

### 2. 곤약의 제조

곤약 제조를 위한 주원료인 구약감자 분말을 제조하기 위하여 구약감자를 깨끗이 세척한 후 건조시킨 다음, 외피를 완전히 제거하고 분쇄하였다. 분쇄된 분말은 80 mesh 체에 통과시켜 본 실험에 사용하였다. 곤약의 제조를 위해서는 구약감자 분말에 55~85°C 물을 실험계획법에 따라 3%(w/v)가 되게 첨가하여 실온에서 천천히 섞어준 후 1시간 동안 방치시켜서 얻어진 gel type의 곤약에 0.2% 농도가 되게 천천히 첨가하면서 섞어주었다. 완전히 섞여진 곤약을 200×200×50 mm의 틀에서 굳힌 후  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  응고용액에 4시간 이상 응고시켜 곤약을 완성하였다. 곤약의 항균활성에 응고제 농도가

미치는 영향을 확인하기 위하여 gel type의 곤약에  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 각각 0.2, 0.4, 0.8, 1.0%가 되게 실험계획법에 따라 첨가하였다. 침지액 농도에 따른 미생물 변화를 확인하기 위하여 곤약 침지액인  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 의 농도를 0.002~0.01 N으로 달리한 후 곤약과 함께 포장하여 사용하였다.

### 3. 미생물 수 측정

곤약의 저장기간에 따른 미생물수를 측정하기 위하여 농도를 달리한  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  용액에 침지된 곤약을 충분히 분쇄한 후 1 g을 멸균생리식염수로 단계희석한 후 aerobic count petri film plate(3M, St. Paul, MN, USA)에 접종하여 30°C에서 48시간 동안 배양한 후 붉은색으로 염색된 것을 colony로 하여 측정하였다(Ha 1996).

### 4. Evolutionary operation-factorial design technique

곤약의 항균활성을 위한 가장 중요한 반응변수인 응고제의 농도, 침지액의 농도 및 첨가되는 물의 온도 등 3개의 조건을 독립변수로 선택하여 EVOP-factorial system(Mukherjee & Banerjee 2004)에 적용시켰다. n개의 변수를 가진 실험계획에서 한 번에 발생하는 실험의 개수는  $2^n$  ( $n = 2$ 개일 경우는 제외)개가 된다. 각각의 변수들은 search level(0), higher level (1), lower level(-1)로 구성되며, 예비실험 등을 통하여 각각의 변수들을 결정하였다.

EVOP-factorial system은 두 개의 block(block 1과 block 2)으로 나뉘어지고, 각각의 block 1은 만약 n이 홀수라면 한 개의 search level과 홀수 개(1, 3, 5, ... n)의 lower level 변수로 구성되고, 만약 n이 짝수라면 (n-1)개의 lower level로 구성된다. Block 2는 만약 n이 짝수라면 짝수 개(2, 4, 6 ... n)의 lower level을 구성하고, 만약 n이 홀수라면 (n-1)/2개로 구성된다. 즉, block 1은 lower level을 나타내는 반면, block 2는 higher level을 나타내는 것이다.

두 개의 cycle에서 모든 실험은 표준편차와 실험오차를 최소화하기 위해 2반복으로 이루어졌다. 2반복으로 진행되는 각각의 cycle에서 얻어진 결과는 각각 독립된 형태로 기록되며, 각 변수의 효과와 교호작용은 실험의 평균값과 평균값들의 차이에 의해 결정된다. 이러한 방법으로 평균효과의 변화치(changes in mean effect)와 오차한계를 계산하고 나서, 중심점(search level)을 변화시킴으로써 최적화에 가까워질 수 있을 것이라고 예상될 경우, 중심점을 최적화에 가까운 방향으로 변화시키게 된다(Banerjee & Bhattacharyya 1993, Box & Hunter 1959, Pierson & Hartly 1954). 이러한 목적에서 각 효과들의 값의 크기와 오차한계 값의 크기를 비교하고, 만약 1개 이상의 효과의 값이 오차한계보다 크다면 좀 더 좋은 결과를 얻을 수 있는 실험조건으로 변화시켜야 하며, 결과값이 오차

한계보다 작고 평균효과의 변화치가 크면 최대값 또는 최소값에 도착한 것으로 간주할 수 있다.

## 결과 및 고찰

첫 번째 실험에 사용된 실험조건에서 각 조건에서 미생물 수에 대한 2반복의 결과와 평균 및 반복값의 차이를 Table 1에 나타내었다. 응고제의 농도(%), 침지액의 농도(N) 및 첨가되는 물의 온도(°C) 등 3개의 조건을 독립변수로 정하고, 첫 번째 실험의 중심점( $E_{10}$ ,  $E_{20}$ )은 응고제의 농도 0.4%, 침지액의 농도  $0.6 \times 10^{-2}$  N 및 첨가되는 물의 온도 65°C로 정하였다. 중심점에서의 미생물수는 3.07 log cfu/g으로 확인되었으며, 가장 항균활성이 높은 실험조건은 1.25 log cfu/g으로 나타난

$E_{21}$  조건이었다. 첫 번째 실험의 오차한계(error limits), 각 실험변수들과 평균효과의 변화치를 계산한 결과는 Table 2에 나타내었다.

최적점을 찾기 위하여, 평균효과의 변화치와 오차한계를 계산한 후에, 중심점의 실험조건을 변화시키는 것이 더욱 좋은 결과를 얻을 수 있을 것이라고 기대될 경우, 중심점을 변화시키게 된다. 실험의 최적조건은 평균효과의 변화치가 크고 각 효과의 결과값이 오차한계보다 적을 때 도달될 수 있다. 또한, 종속변수는 미생물의 수이며, 이는 결과값이 낮을수록 최적점에 도달한 것으로 판단할 수 있다. 즉, 평균효과의 변화치의 부호가 (+)일 때 최적점에 도달하게 되는 것이다. 첫 번째 실험에서 평균효과의 변화치의 부호가 (-)이고, 오차한계에 비해서 크게 나타났으며, 응고제의 농도의 결과

Table 1. 3-Inducer experimental design for antibacterial activity of konjak jelly and results of Set I

Effects	$E_{10}^{1)}$	$E_{11}$	$E_{12}$	$E_{13}$	$E_{14}$	$E_{20}^{2)}$	$E_{21}$	$E_{22}$	$E_{23}$	$E_{24}$
CCA (%)	0.4(0)	0.2(-)	0.2(-)	0.6(+)	0.6(+)	0.4(0)	0.6(+)	0.2(-)	0.6(+)	0.2(-)
CSL ( $\times 0.01$ N)	0.6(0)	0.4(-)	0.8(+)	0.4(-)	0.8(+)	0.6(0)	0.8(+)	0.4(-)	0.4(-)	0.8(+)
TOW (°C)	65(0)	55(-)	75(+)	75(+)	55(-)	65(0)	75(+)	75(+)	55(-)	55(-)
Cell number (cycle I)	3.23	4.47	2.80	3.83	1.87	3.03	1.07	3.50	3.47	2.53
Cell number (cycle II)	2.90	4.00	2.43	4.10	1.53	3.10	1.43	3.10	3.23	2.47
Difference (cycle I - cycle II)	0.33	0.47	0.37	-0.27	0.34	-0.07	-0.36	0.40	0.24	0.06
Average (log cfu/g)	3.07	4.24	2.62	3.97	1.70	3.07	1.25	3.30	3.35	2.50
	( $a_{10}$ )	( $a_{11}$ )	( $a_{12}$ )	( $a_{13}$ )	( $a_{14}$ )	( $a_{20}$ )	( $a_{21}$ )	( $a_{22}$ )	( $a_{23}$ )	( $a_{24}$ )

<sup>1),2)</sup> Central point of the first set, CCA: concentration of coagulation agent, CSL: concentration of soaking liquid, TOW: temperature of water, Numbers in parentheses are the coded symbols of levels of the each condition.

Table 2. Calculation worksheet of effects of 3-variable system, magnitude of effects, and error limits of Set I

Effects	Calculation of effects	
CCA (%)	$1/4(a_{13}+a_{14}+a_{21}+a_{23} - a_{11} - a_{12} - a_{22} - a_{24})$	-0.5963
CSL ( $\times 0.01$ N)	$1/4(a_{12}+a_{14}+a_{21}+a_{24} - a_{11} - a_{13} - a_{22} - a_{23})$	-1.6963
TOW (°C)	$1/4(a_{12}+a_{13}+a_{21}+a_{22} - a_{11} - a_{14} - a_{23} - a_{24})$	-0.1638
CCA $\times$ CSL	$1/4(a_{11}+a_{14}+a_{21}+a_{22} - a_{12} - a_{13} - a_{23} - a_{24})$	-0.4863
CCA $\times$ TOW	$1/4(a_{11}+a_{13}+a_{21}+a_{24} - a_{12} - a_{14} - a_{22} - a_{23})$	0.2463
CSL $\times$ TOW	$1/4(a_{11}+a_{12}+a_{21}+a_{23} - a_{13} - a_{14} - a_{22} - a_{24})$	0.0038
CCA $\times$ CSL $\times$ TOW	$1/4(a_{21}+a_{22}+a_{23}+a_{24} - a_{11} - a_{12} - a_{13} - a_{14})$	-0.5288
Changes in mean effect	$1/10(a_{11}+a_{12}+a_{13}+a_{14}+a_{21}+a_{22}+a_{23}+a_{24} - 4a_{10} - 4a_{20})$	-0.1605
Standard deviation ( $\sigma$ )	$1/2(\sigma_1 + \sigma_2) = 1/2(R_1 \times f_{k,n} + R_2 \times f_{k,n})^{1)}$	0.2250
For average	$\pm 1.414 \sigma (\pm 2 \sigma/n)$	0.3182
Error limits: For effects	$\pm 1.004 \sigma (\pm 0.71 \times 2 \sigma/n)$	0.2259
For change in mean	$\pm 0.891 \sigma (\pm 0.63 \times 2 \sigma/n)$	0.2005

<sup>1)</sup>  $R_1$ : (largest difference - smallest difference) in Block 1,  $R_2$ : (largest difference - smallest difference) in Block 2,  $f_{k,n}$  constant depending on number of replication (n) and number of experiments (k) per cycle = 0.3 for n = 2 and k = 5, CCA: concentration of coagulation agent, CSL: concentration of soaking liquid, TOW: temperature of water.

값(-0.5963)을 비롯해 6개 효과의 결과값이 평균효과의 변화치보다 크게 나타나, 첫 번째 실험의 중심점(search level: E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>)이 실제 최적조건이 아니라는 것을 확인하였으며, 이에 따라 두 번째 set의 실험을 실시하였다.

두 번째 실험의 결과는 Table 3에 나타낸 바와 같이, 중심점(E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>)은 첫 번째 set에서 미생물 수가 1.25 log cfu/g으로 가장 낮게 나온 최적점인 E<sub>21</sub>(응고제의 농도 0.6%, 침지액의 농도 0.8×10<sup>-2</sup> N 및 첨가되는 물의 온도 75℃)로 고정하였다. 중심점에서의 미생물수는 각각 1.19와 1.28 log cfu/g으로 확인되었으며, 이는 첫 번째 실험의 중심점에서의 미생물 수인 3.07 log cfu/g보다 100배 가까이 감소하였음을 의미한다. 두 번째 실험에서 가장 항균활성이 높은 실험조건은 0.37 log cfu/g으로 나타난 E<sub>14</sub> 조건으로 응고제의 농도 0.8%, 침지액의 농도 1.0×10<sup>-2</sup> N 및 첨가되는 물의 온도 65℃였다. 두 번째 실험의 오차한계(error limits), 각 실험변수들과 평균효과의 변화치를 계산한 결과, 및 오차한계는 Table 4에 나타내었다. 두 번째 실험에서 평균효과의 변화치의 부호는 (+)로 확인되었으며, 오차한계보다 큰 값을 나타내었나, 응고제의 농도와 침지액 농도의 결과값이 평균효과의 변화치보다 큰 것으로 확인되어 두 번째 실험도 완벽한 최적조건은 아닌 것으로 판단하고, 두 번째 실험에서 가장 낮은 미생물 수를 나타낸 E<sub>14</sub> 조건을 세 번째 실험의 중심점으로 설정하고 실험을 진행하였다.

세 번째 set의 실험에서 중심점(E<sub>10</sub>, E<sub>20</sub>)은 두 번째 set에서 미생물수가 0.37 log cfu/g으로 가장 낮게 나온 최적점인 E<sub>14</sub>(응고제의 농도 0.8%, 침지액의 농도 1.0×10<sup>-2</sup> N 및 첨가되는 물의 온도 65℃)로 고정하였으며, 실험조건과 결과는 Table 5에 나타내었다. 중심점의 미생물수는 각각 0.37과 0.42 log cfu/g으로 나타났으며, higher level과 lower level에서의 미생물 수는 중심점보다 모두 많은 것으로 나타났다. 즉, 세 번째 실험의 중심점이 곤약의 항균활성의 최적조건임을 의미하는

**Table 4. Calculation worksheet of effects of 3-variable system, magnitude of effects, and error limits of Set II**

Effects	Calculation of effects
CCA (%)	-1.2238
CSL (×0.01 N)	-1.4038
TOW (°C)	0.1213
CCA × CSL	-0.1713
CCA × TOW	0.0038
CSL × TOW	0.0887
CCA × CSL × TOW	-0.1138
Changes in mean effect	0.4655
Standard deviation (σ)	0.2415
For average	0.3415
Error limits: For effects	0.2425
For change in mean	0.2152

것이다. 이에 세 번째 실험이 유의미한지를 확인하기 위하여 각 효과들의 결과값과 평균효과의 변화치 및 오차한계를 Table 6에 나타내었다. EVOP-factorial design에서 만약 주효과들의 값이 오차한계보다 적고, 평균효과의 변화치가 주효과들의 결과값보다 크며, 그 부호가 (+)일 경우 최대값에 도달하였다고 판단한다. 세 번째의 실험에서는 평균효과의 변화치의 값이 0.2795로 (+)부호이며, 오차한계(0.1510)보다 큰 것으로 확인되었다. 또한, 측정된 모든 효과의 결과값이 평균효과의 변화치 값보다 적은 것으로 나타나, 최적조건에 도달한 것으로 결론내릴 수 있었다. 즉, 곤약의 항균활성을 위한 최적조건은 응고제의 농도 0.8%, 침지액의 농도 1.0×10<sup>-2</sup> N 및 첨가되는 물의 온도 65℃에서 획득될 수 있었다.

본 실험을 통하여 최초의 중심점의 결과값과 세 번의 실험을 거쳐 확인한 최적조건에서의 결과값이 미생물 수를 비교하여 Fig. 1에 나타내었다. 첫 번째 실험의 E<sub>11</sub>에서의 미생물

**Table 3. 3-Inducer experimental design for antibacterial activity of konjak jelly and results of Set II**

Effects	E <sub>10</sub> <sup>1)</sup>	E <sub>11</sub>	E <sub>12</sub>	E <sub>13</sub>	E <sub>14</sub>	E <sub>20</sub> <sup>2)</sup>	E <sub>21</sub>	E <sub>22</sub>	E <sub>23</sub>	E <sub>24</sub>
CCA (%)	0.6(0)	0.4(-)	0.4(-)	0.8(+)	0.8(+)	0.6(0)	0.8(+)	0.4(-)	0.8(+)	0.4(-)
CSL (× 0.01 N)	0.8(0)	0.6(-)	1.0(+)	0.6(-)	1.0(+)	0.8(0)	1.0(+)	0.6(-)	0.6(-)	1.0(+)
TOW (°C)	75(0)	65(-)	85(+)	85(+)	65(-)	75(0)	85(+)	85(+)	65(-)	65(-)
Cell number (cycle I)	1.43	2.90	1.77	2.30	0.50	1.07	0.30	2.80	2.10	1.70
Cell number (cycle II)	1.13	3.27	2.17	1.83	0.23	1.30	0.63	3.20	1.73	1.60
Difference (cycle I - cycle II)	0.30	-0.37	-0.40	0.47	0.27	-0.23	-0.33	-0.40	0.37	0.10
Average (log cfu/g)	1.28	3.09	1.97	2.07	0.37	1.19	0.47	3.00	1.92	1.65
	(a <sub>10</sub> )	(a <sub>11</sub> )	(a <sub>12</sub> )	(a <sub>13</sub> )	(a <sub>14</sub> )	(a <sub>20</sub> )	(a <sub>21</sub> )	(a <sub>22</sub> )	(a <sub>23</sub> )	(a <sub>24</sub> )

<sup>1),2)</sup> Central point of the second set, CCA: concentration of coagulation agent, CSL: concentration of soaking liquid, TOW: temperature of water, Numbers in parentheses are the coded symbols of levels of the each condition.

**Table 5. 3-Inducer experimental design for antibacterial activity of konjak jelly and results of Set III**

Effects	E <sub>10</sub> <sup>1)</sup>	E <sub>11</sub>	E <sub>12</sub>	E <sub>13</sub>	E <sub>14</sub>	E <sub>20</sub> <sup>2)</sup>	E <sub>21</sub>	E <sub>22</sub>	E <sub>23</sub>	E <sub>24</sub>
CCA (%)	0.8(0)	0.6(-)	0.6(-)	1.0(+)	1.0(+)	0.8(0)	1.0(+)	0.6(-)	1.0(+)	0.6(-)
CSL ( $\times 0.01$ N)	1.0(0)	0.8(-)	1.2(+)	0.8(-)	1.2(+)	1.0(0)	1.2(+)	0.8(-)	0.8(-)	1.2(+)
TOW ( $^{\circ}$ C)	65(0)	55(-)	75(+)	75(+)	55(-)	6.5(0)	75(+)	75(+)	55(-)	55(-)
Cell number (cycle I)	0.23	1.00	0.70	0.70	0.43	0.50	0.80	0.90	0.83	0.63
Cell number (cycle II)	0.50	0.67	0.83	0.57	0.63	0.33	0.67	1.00	0.57	0.90
Difference (cycle I - cycle II)	-0.27	0.33	-0.13	0.13	-0.20	0.17	0.13	-0.10	0.26	-0.27
Average (log cfu/g)	0.37	0.84	0.77	0.64	0.53	0.42	0.74	0.95	0.70	0.77
	(a <sub>10</sub> )	(a <sub>11</sub> )	(a <sub>12</sub> )	(a <sub>13</sub> )	(a <sub>14</sub> )	(a <sub>20</sub> )	(a <sub>21</sub> )	(a <sub>22</sub> )	(a <sub>23</sub> )	(a <sub>24</sub> )

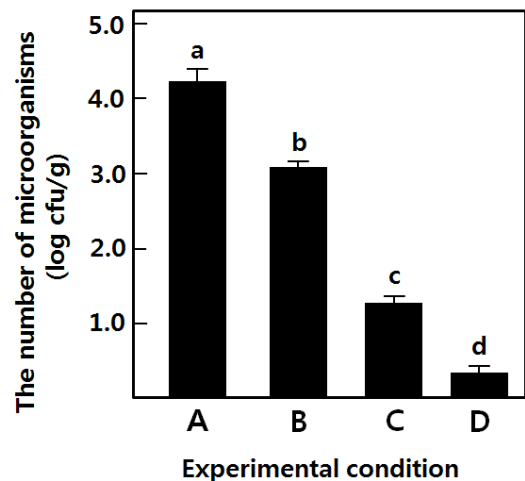
<sup>1),2)</sup> Central point of the third set, CCA: concentration of coagulation agent, CSL: concentration of soaking liquid, TOW: temperature of water, Numbers in parentheses are the coded symbols of levels of the each condition.

**Table 6. Calculation worksheet of effects of 3-variable system, magnitude of effects, and error limits of Set III**

Effects	Calculation of effects
CCA (%)	-0.1788
CSL ( $\times 0.01$ N)	-0.0812
TOW ( $^{\circ}$ C)	0.0638
CCA $\times$ CSL	0.0463
CCA $\times$ TOW	0.0063
CSL $\times$ TOW	0.0388
CCA $\times$ CSL $\times$ TOW	0.0963
Changes in mean effect	0.2795
Standard deviation ( $\sigma$ )	0.1695
For average	0.2397
Error limits: For effects	0.1702
For change in mean	0.1510

수는 4.24 $\pm$ 0.33 log cfu/g으로 나타났으며, 중심점에서의 미생물 수는 3.07 $\pm$ 0.23 log cfu/g으로 확인되었다. 두 번째와 세 번째 실험의 중심점에서의 미생물 수는 각각 1.28 $\pm$ 0.21과 0.37 $\pm$ 0.19 log cfu/g으로 나타나, 실험이 진행될수록 미생물 수는 급격히 감소하였으며, 최종적으로 세 번째 실험의 중심점이 곤약의 항균활성을 위한 최적조건으로 결정할 수 있었다. 첫 번째 실험의 E<sub>11</sub>대비 세 번째 실험의 중심점에서는 1,000배 이상의 항균효과를 얻을 수 있는 것으로 확인되었다.

EVOP-factorial design은 반응표면분석, 혼합물 분석 등과 함께 최적조건을 찾기 위한 효율적인 실험계획법으로 EVOP technique의 단점을 극복함으로써 생물학적 실험에 적용하기에 매우 편리한 방법이다. EVOP-factorial design이 적용된 예로는 정향의 *Streptococcus mutans*에 대한 항균활성 최적조건 확인(Choi 등 2008), 매실식초의 발효조건 최적화를 위한 조건정립(Choi UK 2008) 등이 있으며, 본 실험에서도 두 번의



**Fig. 1. Comparison of antibacterial activity of konjak jelly at the central point of each set.** A: E<sub>11</sub> of Set I (CCA 0.2%, CSL 0.4 $\times 10^{-2}$  N, and TOW 55 $^{\circ}$ C), B: central point of Set I (CCA 0.4%, CSL 0.6 $\times 10^{-2}$  N, and TOW 65 $^{\circ}$ C), C: central point of Set II (CCA 0.6%, CSL 0.8 $\times 10^{-2}$  N, and TOW 75 $^{\circ}$ C), D: central point of Set III (CCA 0.8%, CSL 1.0 $\times 10^{-2}$  N, and TOW 65 $^{\circ}$ C).

중심점 이동에 의한 효과적 방법 곤약의 항균활성을 위한 최적조건을 찾을 수 있었다.

곤약은 제조과정 중에 응고제로 강알칼리제인 Ca(OH)<sub>2</sub>를 사용하여 자연히 pH를 상승시킴으로써 멸균과정을 거치지 않고도 실온에서 장기간 유통할 수 있는 특징을 가지고 있는 식품이다. Sim 등(2014a)은 곤약을 제조한 후 침지액의 농도를 달리하여 포장한 후 실온에서 저장하면서 미생물 수의 변화를 확인한 결과, 침지액의 농도가 높아질수록 세균, 효모 및 곰팡이의 성장이 억제됨을 확인한 바 있다. 또한 곤약 제조시 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 및 *Salmonella typhimurium*을 각각 1.0 $\times 10^3$  cfu/g 수준으로 오염시켜 Ca(OH)<sub>2</sub>

에 침지하여 실온저장하면서 생균수를 확인한 결과,  $1.0 \times 10^{-2}$  N Ca(OH)<sub>2</sub>의 농도에서 배양 12시간째에는 대부분 식중독균이 사멸되는 결과를 보여, 곤약제품의 유통 시 초기 미생물 관리를 철저히 한다면 별도의 살균공정이 없더라도 안정적인 상온유통이 가능하다고 보고된 바 있다(Sim 등 2014b). 하지만 이 결과들은 단순히 침지액의 농도만 변화시켜서 미생물의 수를 감소시킬 수 있다는 결과를 얻은 것이며, 본 연구결과는 항균활성의 최적점(응고제의 농도 0.8%, 침지액의 농도  $1.0 \times 10^{-2}$  N 및 첨가되는 물의 온도 65°C)을 찾아내었다는 점에서 의미가 있다. 본 연구에서는 세균수에 대한 실험을 진행하였으며, 향후 효모와 곰팡이에 대한 항균활성 최적조건에 관한 연구가 더 진행되어야 할 것이다. 또한, 본 실험결과를 곤약의 물성과 연계하여 최적조건을 찾는 연구가 진행된다면 곤약의 보다 안정적인 실온유통에 도움이 될 것으로 사료된다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 EVOP-factorial design technique를 활용하여 곤약의 항균활성 최적화를 위한 가공조건을 찾고자 하였다. 첫 번째 실험은 응고제의 농도 0.4%, 침지액의 농도  $0.6 \times 10^{-2}$  N 및 물의 온도 65°C로 중심점으로 정하였다. 가장 높은 항균활성은 실험조건 E<sub>21</sub>이었으며, 미생물수는  $1.25 \log \text{cfu/g}$ 이었다. 첫 번째 실험에서 평균효과의 변화치의 부호가 (-)이고, 오차한계에 비해서 크게 나타났으며, 주효과의 결과값이 평균효과의 변화치보다 크게 나타나, 첫 번째 실험의 중심점이 최적조건이 아니라는 것을 확인할 수 있었다. 두 번째 실험에서 중심점을 응고제의 농도 0.8%, 침지액의 농도  $1.0 \times 10^{-2}$  N 및 물의 온도 65°C로 정하였다. 두 번째 실험에서 응고제와 침지액의 농도의 결과값이 평균효과의 변화치보다 큰 것으로 확인되어 완벽한 최적조건은 아닌 것으로 판단하였다. 세 번째 set의 실험에서 중심점은 응고제의 농도 0.8%, 침지액의 농도  $1.0 \times 10^{-2}$  N 및 물의 온도 65°C였으며, 가장 항균활성이 높은 최적조건임을 확인하였다. 또한 이번 실험에서 최적조건 도달을 위한 모든 필요조건을 만족시켰다. 즉, 곤약의 항균활성을 위한 최적조건은 응고제의 농도 0.8%, 침지액의 농도 1.0 N 및 물의 온도 65°C에서 획득될 수 있었으며, 첫 번째 실험의 E<sub>11</sub> 대비 세 번째 실험의 중심점에서는 1,000배 이상의 항균효과를 얻을 수 있었다.

## References

Banerjee R, Bhattacharyya BC. 1993. Evolutionary operation

(EVOP) to optimize three-dimensional biological experiments. *Biotechnol Bioeng* 41:47-71

Choi SH, Kim SM. 2012. Quality properties of giant squid (*Dosidicus gigas*) surimi-based product manufactured with *Amorphophallus konjac* flour. *Korean J Food Sci Technol* 44:422-427

Choi UK, Kim MH, Kwon DJ, Kwon OJ, Lee NH. 2008. Optimization of extraction conditions for the antibacterial activity by clove against *Streptococcus mutans* using evolutionary operation-factorial design technique. *Food Sci Biotechnol* 17:899-903

Choi UK. 2008. Optimization of maesil vinegar fermentation conditions using evolutionary operation-factorial design technique. *J Life Sci* 18:1284-1289

Kato K, Matsuda K. 1969. Studies on the chemical structure of *konjac* mannan. *Agric Biol Chem* 33:1446-1453

Kim SJ, Choi WS, You SG, Min YS. 2007. Effect of glucomannan on quality and shelf-life of low-fat chicken patty. *Korean J Food Sci Technol* 39:55-60

Kishida N. 1979. Relationship between the quality of *konjac* flour and the molecular matter nature of *konjac*-mannan. *Agr Biol Chem Tokyo* 43:2391-2397

Lee SK, Sin GL, Kim YH. 2005. Effect of mixed glucomannan and whey calcium on the serum cholesterol and blood glucose in rats. *J Fd Hyg Safety* 20:69-72

Mukherjee G, Banerjee R. 2004. Evolutionary operation-factorial design technique for optimization of conversion of mixed agroproducts into gallic acid. *Appl Biochem Biotechnol* 118:33-46

Park SJ, Kang MH. 2003. The effect of dietary noodle with glucomannan on the weight loss in high fat diet-induced obese rats. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 32:893-898

Sim JI, Choi SJ, Jeong JH, Choi UK. 2014a. Establishment of optimum condition for the coagulation and antimicrobial activity of *konjac* jelly. *Korean J Food Culture* 29:415-420

Sim JI, Choi SJ, Jeong JH, Choi UK. 2014b. Selection of the coagulant for processing and identification of antibacterial activity on foodborn pathogens of *konjac* jelly. *Korean J Food Nutr* 27:699-705

Received 22 February, 2018

Revised 19 March, 2018

Accepted 27 March, 2018