

Taguchi 법 및 만족도 함수를 이용한 DIS 공정에 의한 알로에의 농축 최적화

권혜미 · 차지민¹ · 허 원 · 이신영*
강원대학교 생물공학과, ¹KJM 알로에 R&D 센터

Optimization of DIS (Dewatering and Impregnation Soaking) Process for Concentration of *Aloe vera* Gel by Using Taguchi Approach with Desirability Function Analysis

Hye Mi Kwon, Ji Min Cha¹, Won Hur, and Shin Young Lee*

Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University
¹KJM Aloe R&D Center

Abstract

The optimization of dewatering and impregnation soaking (DIS) process for a concentrated *Aloe vera* product was investigated using Taguchi method in combination with desirability function analysis. Polyethylene glycol (PEG) as osmotic agent was adopted, and soaking temperature (T), immersion time (t), PEG concentration (C), PEG molecular weight (MW), and thickness of *Aloe vera* leaf slice (x) were selected as affecting variables. $L_{16} (4^5)$ orthogonal array was designed by Taguchi method with four parameters such as water loss, solid gain, glucomannan, and anthraquinone contents as objective functions. An overall quality index was transformed from individual objective functions, and was optimized finally. The optimal setting for maximum overall desirability was obtained at 55°C (T), 2 hr (t), 40% w/v (C), 0.5 cm (x), and 4,000 Da. (MW). The obtained overall desirability was 0.7842. The order of affecting factors was $T > C > x > MW \approx x > t$ and the experimental results under optimum condition were similar to the prediction of an overall desirability of 0.8384. Also, it was found that the optimized DIS condition could be reproduced for a minimally processed *Aloe vera* product with high quality.

Key words: *Aloe vera*, DIS concentration, optimization, Taguchi, desirability function

서 론

알로에 베라(*Aloe vera* L.)는 식품, 제약 및 화장품산업에서 전세계적인 대표적 천연소재이며, 최다 이용소재이다. 이들 알로에의 광범위한 산업적 응용에서 가장 중요한 제한요인의 하나는 각종 가공 중 품질이 매우 현저하게 손실되며, 이에 의해 제품의 효능을 보증하기 어렵다는 점이다 (He et al., 2005; O'Brien, 2005; Bozzi et al., 2007).

따라서 알로에 산업화 응용을 위해서는 품질의 손실을 방지할 수 있는 새로운 효율적 공정개발이 매우 중요하지만 이의 연구는 매우 미미한 실정이다.

일반적으로 식물세포에서 원형질분리와 같은 삼투현상은

식물조직을 적정온도(<50°C)하에서 조직에 쉽게 침투할 수 있는 저분자 용질의 용액에 침지하였을 때 현저한 탈수효과를 준다(Saurel et al., 1994). DIS(dewatering & impregnation soaking) 혹은 삼투탈수(OD: osmotic dehydration) 공정은 이러한 삼투현상을 이용하여 고체식품 물질 등을 매우 농축된 높은 삼투압의 용액에 담구어 부분적으로 탈수시키는 방법이다(Rauolt-Wack et al., 1991; Lazarides et al, 1995).

이 DIS 공정은 식물조직으로부터 물이 상(phase)의 변화 없이 유리되며, 50°C이하에서 수행되므로 최소공정(minimal process)이다(Forni et al., 1987; Alzamora et al., 1997; Garcia-Martinez et al., 2002; Uddin et al., 2004). 따라서 실온에서도 효과적이며, 향, 조직 및 색택에의 열손상을 최소화하며, 시료의 integrity를 변화시키지 않고 영양, 관능 및 기능성을 향상시킨다(Rastogi & Raghavarao, 1997).

이러한 점에서 DIS 공정은 알로에와 같이 열에 민감한 물질의 농축에 적합하지만 그 동안 삼투건조의 기본원리에 대한 이해의 부족이나 결과 부산물인 osmotic syrup의 관리에 대한 난점으로 관심을 끌지 못하였다(Garcia-Martinez

*Corresponding author: Shin-Young Lee, Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Tel: +82-33-250-6273; Fax: +82-33-243-6350

E-mail: sylee@kangwon.ac.kr

Received September 28, 2012; revised November 23, 2012; accepted November 27, 2012

et al., 2002; Romero-Barranco et al., 2001).

그동안 알로에를 시료로 한 이의 관련 연구로는 국내의 경우 Kim et al.(2008)이 알로에 DIS 공정 및 이 제품의 특성에 대해 보고한 바 있고, 그 후 Yu et al.(2010)도 기능성 화장품 원료소재화를 위해 백년초를 포함한 알로에 절편의 탈수 및 건조에 대해 보고한 바 있다. 외국의 경우도 최근 García-Segovia et al., 2010)이 알로에의 삼투탈수에 대해 보고하였고, Pisalkar et al.(2011)도 알로에 겔 osmo-air drying에 대해 보고한 바 있다.

하지만 그동안의 이들 알로에 삼투탈수 연구는 주로 하나의 변수를 고정시켜 놓고, 다른 여러 변수들을 차례로 변화시키는 방법(one-factor-at-a-time method) (Montgomery, 2001)에 의해 이루어졌다. 이 방법은 힘들고 시간소비가 많을 뿐 아니라 만약 인자수준을 높이면, 실험횟수가 매우 많아지는 단점이 있어 주로 매우 제한된 인자수(2-3)와 인자수준(3)에서만 수행되었다. 따라서 DIS에 영향을 미치는 충분한 인자수 및 인자수준의 검토가 이루어지지 못하였고, 변수들의 상호작용 및 중요변수에 대한 해석도 불가능하였다. 또 주로 건조의 전처리 수단으로 연구되어 농축액으로서의 직접적 이용측면을 간과하였다.

이들 단점을 극복하기 위해 반응표면분석법, 혼합물분석법, Taguchi 법 등 통계적 실험법의 도입 필요성이 높으나 이에 대한 알로에 관련 연구는 보고된 바 없었다. 특히, 직교배열법의 원리를 이용한 Taguchi 법은 실험적 오차를 줄여주며, 적은 실험횟수로 인자의 기여도 및 상호관계를 알 수 있고, 최적조건을 확립할 수 있어(Taguchi, 1986; Houg et al., 2003; Prasad et al., 2005), DIS 공정과 같이 많은 인자수와 높은 인자수준을 요구하는 공정에서의 적용, 검토 필요성은 매우 높다. Taguchi 법은 그동안 각종 산업공정에서 강력히 응용되었고, 최근에는 생물공학 응용의 통계적 수단으로도 이용되고 있다(Bendell et al., 1989; Rao et al., 2008).

하지만, 이 경우도 목적변수가 많고, 각 변수의 최적조건이 서로 다른 경우 이들을 동시에 만족시킬 수 있는 총체적 최적 조건을 구하는 것은 쉽지 않다(Houg et al., 2003; Nandi et al., 2010). 이와 같이, 각 목적변수의 최적조건이 다른 다중 품질특성을 갖는 제품 및 공정의 경우는 동시적인 최적화가 필요하며, 이러한 경우 Derringer의 만족도 함수는 산업적으로 널리 이용되는 대표적인 유용도구이다(Derringer & Suichi, 1980). 이 방법에서는 각 반응측정값을 무차원의 만족도값으로 변환하는 것이 요구되는데, 변환방법이 간단하고 객관적이며 신속할 뿐 아니라 정성 및 정량반응 모두에 사용될 수 있는 장점을 갖는 것으로 알려져 있다. 또, 이상적으로 설정된 모든 공정반응을 충족하는 최적 실험조건을 알 수 있고, 서로 다른 크기로 결정된 성질로부터 얻어지는 결과들을 조합하는 것도 가능하다(Vieira et al., 2012).

이상의 사실들을 토대로, 본 연구에서는 Taguchi 법을 이용하여 알로에 DIS의 성능 및 품질특성을 극대화할 수 있는 공정최적화를 실시함으로써 궁극적으로 최소화 공정 제품으로서의 알로에 소재화 자료를 마련하고자 하였다. 더 나아가 이 연구에서는 DIS의 다수 반응문제를 최적화하기 위해 만족도 함수를 사용하였고, 이와 같이 얻어진 DIS 제품의 품질특성을 조사하여 최소화공정으로서의 알로에 DIS 공정의 robust 반응조건을 결정하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용한 알로에는 (주) KJM 알로에의 제주농장으로부터 제공받은 알로에 베라(*Aloe vera* Linne)로 4°C의 저온실에 보존하면서 사용하였다.

완전히 성숙된 신선한 알로에를 사용하였으며, 부착 토양 및 기타 부스러기를 제거하기 위해 물로 철저히 세척하였고, 알로에의 latex 성분인 알로인(aloin)을 제거 후 껍질을 포함하여 또는 껍질을 제거한 후 두께 0.5-2 cm의 슬라이스로 절단하여 삼투탈수 시료로 하였다.

삼투탈수 전 시료의 평균 수분 함량은 습량기준으로 약 99%이었다.

한편, 삼투제는 clear viscous liquid 및 waxy 형태의 서로 다른 분자량(400-10000 Da)의 poly(ethylene) glycol(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)을 사용하였다.

실험설계

DIS 최적화를 위해 증류수를 사용하여 Table 1에서와 같이, 5 인자(용액온도, 침지시간, 용질농도, 용질분자량, 시료 두께), 4 수준(1, 2, 3, 4)의 Orthogonal matrix $L_{16}(4^5)$ 법에 따라 DIS를 실시하고, 각종 반응변수를 측정하였다. 이 때, DIS의 반응변수(Y_n)로서는 DIS 성능지표값으로서의 수분소실(WL) 및 고형분획득(SG), 품질지표값으로서의 glucomannan 함량 및 anthraquinone 함량이었다.

이 때, 직교배열, 자료분석 및 분산분석(ANOVA)은 Taguchi 법에 기초한 MINITAB 16 software(Minitab Inc.)를 사용하였다.

삼투탈수 실험

삼투탈수는 밀폐된 유리제 용기를 온도조절 항온수조 내에 넣어 수행하였다. 예비실험에 의해 aloe : osmotic agent (PEG)의 비는 삼투처리 중 현저한 희석을 피하기 위해 1:5(by weight)로 선정하였고, 칭량한 aloe 슬라이스를 30-60%(w/w)의 PEG 용액을 포함한 용기에 넣었다. 용기를 일정한 온도(25-55°C)의 순환수조에 넣어 삼투처리하면서 알로에 슬라이스를 전체적으로 삼투용액에 침적시켰다. 각 시료 채취시간(1-4 시간)에 알로에 슬라이스를 취하였고, 배수 후

가볍게 흡수종이로 표면수를 제거한 후 칭량하였다.

이 때, 시료의 평균 수분함량과 건조 고형분량은 70°C의 오븐에서 24 시간 건조하여 결정하였다. 삼투용액의 농도는 PEG 농도를 측정하여 결정하였고, 각 실험에서 신선한 시료가 사용되었다. 모든 실험은 3 회 수행되었고, 평균값이 계산에 사용되었다.

삼투탈수의 계산

수분 소실(WL: water loss)은 초기 시료 량에 기초한 삼투건조 후 신선한 시료로 부터의 물의 소실로서 나타내었고, 고형분 획득(SG: solid gain)은 초기 시료 량에 기초한 고형분의 순 흡수로 구하였다(Le Marguer, 1988). 즉, 주어진 시간 구간에서 시료를 각 용액으로부터 취하였고, 다음 식을 사용하여 무게감소(WR: weight reduction), 수분소실(WL) 및 고형분획득(SG)을 분석하였다(Lazarides et al., 1995; Sereno et al., 2001).

$$WR = (W - W_0) / W_0$$

$$SG = (S - S_0) / W_0$$

$$WL = WR + SG$$

여기서 W와 W₀는 각각 각 시간 및 초기의 시료 질량이고, S와 S₀는 각각 시료에서 각 시간 및 초기의 고형분 질량이다. 각 시료의 수분함량은 70°C의 오븐에서 24 시간 동안 측정되었다.

만족도 함수를 통한 공정 최적화

삼투탈수의 최적조건을 구하기 위해 만족도 함수를 사용하였다. 종합 만족도(overall desirability) 함수 D는 다음의 Derringer 식에 따라 서로 다른 각 반응의 만족도(individual desirability) 함수 d_i 값들의 기하평균에 의해 계산하였다(Derringer & Suichi, 1980).

$$D = (d_1 \times d_2 \times d_3 \times \dots \times d_n)^{1/n}$$

여기서 d_i는 각 반응의 만족도를 나타내며, n은 측정된 반응의 총수이다.

이 때, 각 반응의 만족도 d_i값은 각 반응측정값 y_i 값을 $0 \leq d_i \leq 1$ 이 되도록 무차원으로 변환하여 구하였다.

즉, 만약 반응 i가 최대라면 d_i는 다음과 같이 정의되며 그 값이 높을 수록 좋다.

$$\text{If } y \leq y_{\min}, d_i = 0$$

$$\text{If } y_{\min} \leq y \leq y_{\max}, d_i = \left(\frac{y - y_{\min}}{y_{\max} - y_{\min}} \right)^r$$

$$\text{If } y \geq y_{\max}, d_i = 1$$

만약 i가 최소라면 d_i는 다음과 같이 정의되며, 그 값이 낮을 수록 좋다.

$$\text{If } y \leq y_{\min}, d_i = 0$$

$$\text{If } y_{\min} \leq y \leq y_{\max}, d_i = \left(\frac{y - y_{\min}}{y_{\max} - y_{\min}} \right)^r$$

$$\text{If } y \geq y_{\max}, d_i = 1$$

여기서 r은 가중치이고, 최대 또는 최소 모두 r=1일 때는 선형이나 r≠1일 때는 바라는 값에 접근하면서 비선형적으로 변한다. 또, d_i=1이면 반응은 목표값(바라는 반응)인 반면, d_i=0이면 수용범위 밖(바라지 않는 반응)임을 의미한다.

분석

분석은 알로에의 유효 다당인 glucomannan 농도, anthraquinone 함량, ¹H NMR 분석, FT-IR 분석 등을 실시하였다.

Glucomannan의 농도: 알로에 glucomannan의 농도는 Eberendu et al.(2005)의 비색법에 따라 측정하였다. 즉, 400 μL의 시료를 1 회용 유리 배양관에 옮기고, 각 관에 4 mL의 Congo red(sodium 4,4'-diphenyl-2,2'-diazo-bis-1-naphthalamino-4-sulfonate) 시약을 첨가하여 온화하게 vortexing하여 혼합하였다. 이 혼합물을 실온에서 20분간 방치한 후, 이의 흡광도를 540 nm에서 측정하였다.

Anthraquinone 함량: Anthraquinone 함량은 Pochapski et al.(2011)의 방법에 따라 전처리하였고, 전처리 잔류물에 0.5% 메탄올초산마그네슘(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 용액 10 mL를 가하여 용해한 다음, 이 용액의 흡광도를 분광광도계(Spectronic Genesys-5, Rochester, NY, USA)로 515 nm에서 메탄올을 대조액으로 하여 측정하였다. 이 때, 표준곡선은 1,8-dihydroxyanthraquinone(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)을 사용하여 구하였다.

¹H NMR 스펙트럼 분석: 시료의 ¹H NMR(600 MHz) 스펙트럼은 실온에서 Bruker Model Advance 600(Karlsruhe, Germany) spectrometer를 사용하여 얻었다. 이 때 시료는 내부표준 없이 10 mg을 0.7 mL D₂O로 용해하여 사용하였다.

FT-IR 스펙트럼 분석: FT-IR(Fourier transformed infra red) spectra는 동결건조하여 얻은 알로에의 다당 시료 2 mg을 함유한 KBr disc를 조제하고 4 cm⁻¹의 해상도로 Bio-Rad Model EXCALIBER(Cambridge, MA, USA) 기기를 사용하

여 얻었다.

결과 및 고찰

Taguchi 법에 의한 DIS 공정의 최적화

DIS의 공정에 영향을 주는 인자는 삼투제 종류 및 농도, 삼투용액의 온도, 삼투시간, 삼투용액과 식품의 질량비, 시료 두께, 물질의 기하학적 형태, 물리화학적 성질, 조작압력, 교반, 전처리 인자 등 매우 많다(Tortoe, 2010; Bekele & Ramaswamy, 2010; Phisut, 2012). 만약, 많은 이들 각 변수의 인자수준을 높이면 실험횟수는 현저하게 많아지게 되므로 실험오차를 줄이고 적은 실험횟수로 인자기여도 및 상호관계를 알 수 있으며, 또 최적조건을 구할 수 있는 방법이 요구된다.

따라서 본 실험에서는 알로에 DIS 농축의 최적화를 위해 Taguchi 법을 시도하였다. 즉, 삼투탈수제로 PEG(polyethylene glycol)를 사용하였고, PEG의 분자량(PEG MW), 농도(C), 삼투용액의 온도(T), 삼투시간(t) 및 시료두께(x)를 인자로 하여 이의 각 4 수준(1,2,3,4)을 적용한 Taguchi의 $L_{16}(4^5)$ 직교배열법을 사용하였다. 여기서 PEG는 각종 삼투제 실험결과 낮은 고형분 흡수와 높은 WL/SG가 목표인 경우, 우수한 삼투매체이므로 선정하였다(Kim et al., 2008).

이에 따라 Table 1과 같이, 16 개 처리조합에 따른 각각의

조건에서 목적변수로서의 수분소실 WL(water loss), 고형분 획득 SG(solid gain), anthraquinone 및 glucomannan의 함량을 각각 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 1과 같다.

먼저, DIS 성능지표값인 WL 및 SG 값을 보면, 수분소실은 각 조건의 처리조합에 따라 최소 $12.69 \pm 0.44\%$ 에서부터 최대 $83.63 \pm 3.04\%$ 까지 큰 변화를 보였고, 총 평균값은 $41.74 \pm 1.63\%$ 이었다. 대체로 PEG 분자량이 작은 처리구에서 수분소실이 더 높은 경향을 보였다. 이와 같이 분자량이 커지면 수분소실율이 낮아지는 것은 사과(Saurel et al., 1994; Lazarides et al., 1995)에서도 관찰되었는데, Saurel et al.(1994)은 PEG에 의한 사과의 삼투탈수에서 PEG의 분자량이 커질수록 시료 표면에 밀한 내부층을 만들기 쉬워지며, 이 층이 수분소실을 감소시키는 장벽으로 작용한다고 하였다.

반면, 고형분 획득값은 $-0.60 \pm 0.21 - 5.45 \pm 0.034\%$ 범위로, 역시 각 조건의 처리조합에서의 변화가 매우 컸다. 하지만 평균값은 $1.98 \pm 0.27\%$ 로 전반적으로 매우 낮은 값 범위이어서 고형분 획득이 매우 낮음을 보였는데, 이는 아마도 사용한 용질인 PEG의 분자량(400-10000 Da)이 시료의 세공 크기보다도 크기 때문에 용질침투현상이 방지되었기 때문이라 생각된다. 대체로 PEG 분자량이 큰 경우(PEG MW 10000 Da: No. 4, 6, 9)에 고형분 획득이 낮았으며, 특히, No. 15 처리구에서는 negative solid gain을 보였는데, Spiazzi

Table 1. Experimental factors and levels for $L_{16}(4^5)$ orthogonal array design of Taguchi's method.

Level	Temperature (°C)		Time (hr)		Concentration (%)		PEG MW		Thickness (cm)	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	25	1	30	100	0.5					
2	35	2	40	1000	1					
3	45	3	50	4000	1.5					
4	55	4	60	10000	2					

Trial No.	Coded value					Experimental value				
	A	B	C	D	E	Temperature (°C)	Time (h)	Concentration (%)	PEG MW	Thickness (cm)
1	1	1	1	1	1	25	1	30	400	0.5
2	1	2	2	2	2	25	2	40	1000	1
3	1	3	3	3	3	25	3	50	4000	1.5
4	1	4	4	4	4	25	4	60	10000	2
5	2	1	2	3	4	35	1	40	4000	2
6	2	2	1	4	3	35	2	30	10000	1.5
7	2	3	4	1	2	35	3	60	400	1
8	2	4	3	2	1	35	4	50	1000	0.5
9	3	1	3	4	2	45	1	50	10000	1
10	3	2	4	3	1	45	2	60	4000	0.5
11	3	3	1	2	4	45	3	30	1000	2
12	3	4	2	1	3	45	4	40	400	1.5
13	4	1	4	2	3	55	1	60	1000	1.5
14	4	2	3	1	4	55	2	50	400	2
15	4	3	2	4	1	55	3	40	10000	0.5
16	4	4	1	3	2	55	4	30	4000	1

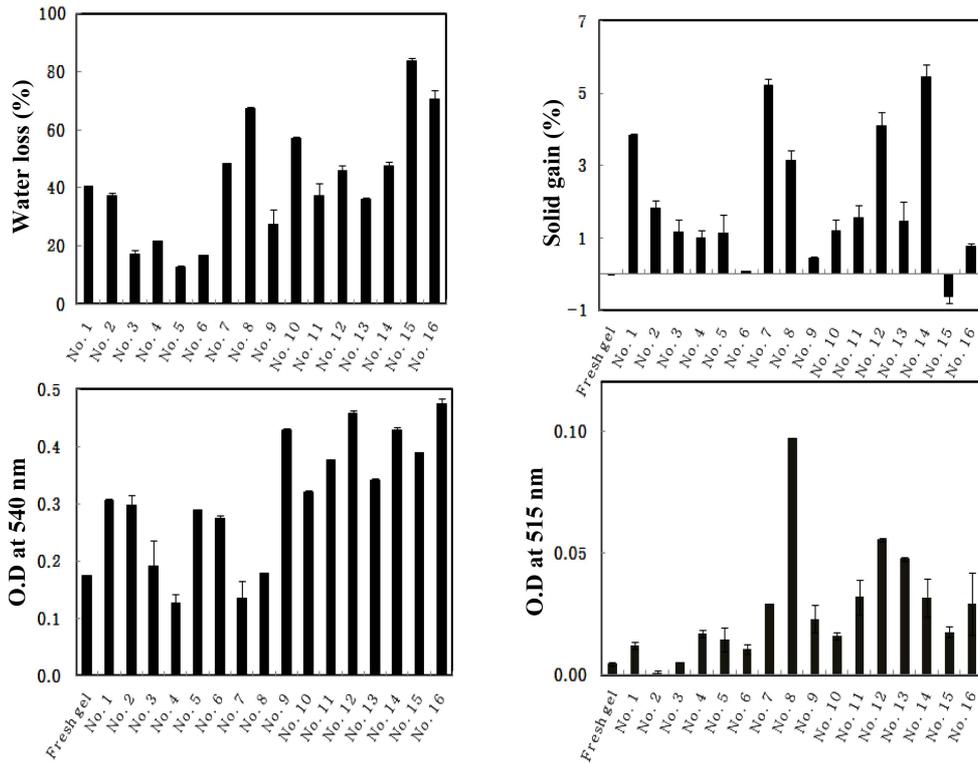


Fig. 1. Comparison of water loss (%), solid gain (%) glucomannan (540 nm) and anthraquinone content (515 nm) from *Aloe vera* after DIS process with different factors and levels.

& Mascheroni(1997)도 과일 및 야채의 삼투처리에서 PEG 10000 및 20000 Da에서 이러한 음의 고형분 획득을 보고한 바 있다.

대부분의 응용에서 수분소실(WL)을 최대로 하고, 고형분 함량의 증가(SG)는 최소로 하는 것이 크게 바람직하므로 (Lazarides et al., 1995), 본 실험의 높은 탈수율과 낮은 고형분 획득은 알로에에 DIS의 적용이 긍정적임을 보여주는 결과라 생각된다.

마찬가지로, 알로에 품질지표값인 anthraquinone과 glucomannan 함량도 각각 0.005-0.097(OD at 515 nm) 및 0.13-0.47(OD at 540 nm)로, 처리조합에 따른 현저한 차이를 보였다.

Anthraquinone은 No. 8, 12 및 13의 3 개 처리구에서 규격 기준값 5 ppm 이상을 나타내었으나, 나머지 처리구에서는 거의 검지되지 않았다. 반면, 알로에 겔의 유효지표값인 glucomannan은 No. 4 처리구에서 최소함량(0.13±0.01%)을

Table 2. Analysis effect factor on water loss from DIS treated aloe by orthogonal array design.

	A	B	C	D	E
K ₁	116.94±3.59	116.89±3.68	165.73±5.91	182.42±4.12	248.51±13.93
K ₂	145.28±6.59	158.63±7.88	179.72±60.2	178.23±10.45	183.97±5.33
K ₃	167.81±8.16	186.56±5.96	159.42±8.11	157.44±7.91	116.09±3.18
K ₄	237.82±8.73	205.77±9.55	162.98±7.03	149.76±4.59	119.28±4.63
k ₁	29.24±0.90	29.22±0.92	41.43±1.48	45.61±1.03	62.13±3.48
k ₂	36.32±1.65	39.66±1.97	44.93±1.51	44.56±2.61	45.99±1.33
k ₃	14.95±2.04	46.64±1.49	39.86±2.03	39.36±1.98	29.03±0.80
k ₄	59.46±2.18	51.44±2.39	40.75±1.76	37.44±1.15	29.82±1.16
R	30.22±1.28	22.22±1.47	5.07±0.55	8.17±1.58	33.11±2.68
Optimal level	4	4	4	1	1

k_i^A = ∑ water loss at A_i
 k_i^A = K_i^A/4
 R_i^A = max{k_i^A} - min{k_i^A}

보인 반면, No. 16 처리구에서 최대함량(0.47±0.01%)을 보여 역시 처리조합에 따른 큰 차이를 보였다.

이들 값은 anthraquinone의 규격기준(5 ppm) 또는 다당의 권장량(650 mg/L) 범위이내이었으나 인자 및 인자수준의 의존성이 높아서 바라는 DIS 성능 및 품질수준을 얻기 위해서는 각 인자/수준의 적정 처리조합 영향을 고려해야 함을 보였다.

따라서 orthogonal matrix 법에 의거하여 각 인자들의 효과를 계산하였으며, 이 중 대표적 예로서 WL의 결과를 Table 2에 나타내었다.

수분소실에 대한 각 인자수준(A_i)에서의 수분소실(K_i^A) 및 단위수준 당 k_i^A 값(=K_i^A/4)으로부터 최대 k_i^A와 최소 k_i^A의 차이값(R값)을 구하여 인자효과 크기를 검정하였다. 그 결과, WL은 시료두께, x(33.11±2.68) > temperature, T(30.22±1.28) > time, t(22.22±1.47) > PEG 분자량, PEG MW(8.17±1.58) > PEG 농도, C(5.07±0.55)의 순서로 영향을 받았다.

또, 각 인자의 최적수준을 k_i^A 값에 의해 검정한 결과를 보면, 역시 Table 2에서 보는 바와 같이, WL의 최적수준은 온도 수준(55°C), 시간 4 수준(4 hr), PEG 농도 4 수준(60%), PEG 분자량 1 수준(400 Da), 두께 1 수준(0.5 cm)이었다(T4, t4, C4, PEG MW1, x1).

반면, 별도로 자료화하지는 않았으나 수분소실과 마찬가지로 방법으로 인자효과를 조사한 결과(data not shown) SG는 PEG MW(4.29±0.23) > C(0.99±0.19) > T(0.61±0.09) > x(0.59±0.22) > t(0.54±0.70)의 순서로 WL과는 큰 차이를 보였다. 또, SG 각 인자의 최적수준은 온도 3 수준(45°C), 시간 1 수준(1 hr), PEG 농도 1 수준(30%), PEG 분자량 4 수준(10000 Da), 두께 3 수준(1.5 cm) (T3, t1, C1, PEG MW4, x3)로, WL의 최적수준과는 현저한 차이를 보였다.

마찬가지로, 알로에 품질지표값인 anthraquinone과 glucomannan 함량에 대해서도 자료로 나타내지는 않았으

나 각각 T1, t2, C1, PEG MW3, x2 및 T4, t1, C2, PEG MW3, x3에서 최적수준을 나타내어 각 최적조건은 서로 현저한 차이를 보였다.

이들을 보다 상세하게 살펴보기 위해 각 반응변수에 대한 각 인자별 기여도와 최적수준 값의 분포를 조사한 결과, Fig. 2에서 보는 바와 같이, 각 인자의 기여도는 WL, SG, glucomannan 및 anthraquinone 함량의 4 개 반응에서 서로 달랐다. 이는 단일 조건으로 4 개의 반응변수값을 동시에 만족시킬 수 없음을 의미하며, 특히 4 개 반응에 미치는 인자들의 최적수준을 정량적 묘사분석(QDA)의 분포도로 나타내었을 때, WL의 분포는 나머지 3 개 반응과는 현저한 차이를 보였다. 이는 본 실험의 알로에 DIS 공정이 서로 다른 다중반응의 특성을 나타냄을 보여주는 결과이며, 이러한 다중반응의 특성을 동시에 최적화하는 인자/수준의 조합을 전통적 Taguchi 법으로 구하는 것은 매우 어렵다(Houng et al., 2003; Nandi et al., 2010).

그러므로 이하에서는 이러한 다중반응의 최적화에 최근 널리 이용되는 만족도 함수를 적용하여 분석하였다.

DIS 공정의 만족도 함수에 의한 최적화

이미 언급한 바와 같이, Taguchi 실험결과에서 서로 다른 목적변수값을 얻기 위한 각 인자 및 인자수준은 매우 달랐으므로 이들을 동시에 만족시킬 수 있는 종합적 관점에서의 다중반응 최적화의 필요성이 있었다.

따라서 각 목적변수의 최적조건이 다를 경우 널리 이용되는 Derringer의 만족도함수 분석을 시도하였다(Houng et al., 2003; Corzo & Gomez, 2004; Nandi et al., 2010; Vieira et al., 2012).

즉, 4 개 반응(WL, SG, glucomannan 및 anthraquinone 함량)의 individual desirability를 구하고, 이의 동시적 최적화를 Derringer & Suich(1980)의 절차에 따라 수행하였으며,

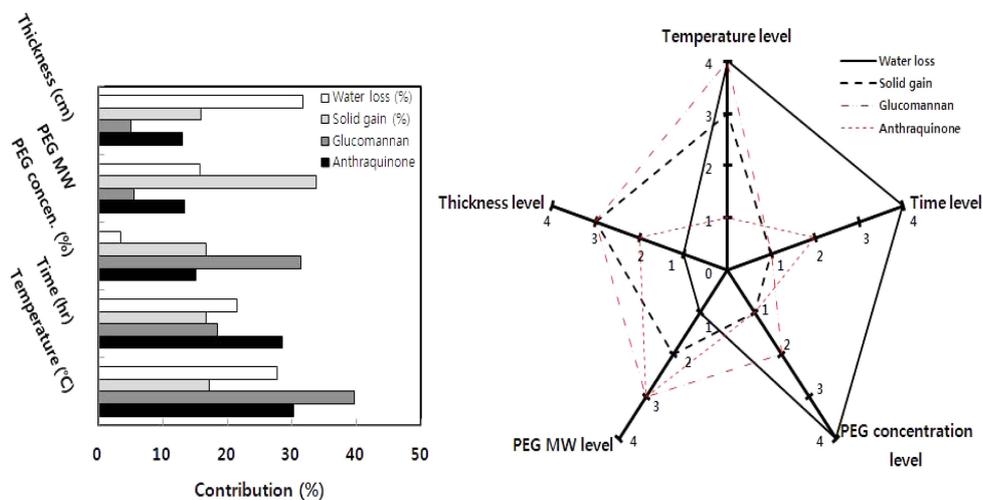


Fig. 2. Contribution and QDA (Quantitive descriptive analysis) of five factors on water loss, solid gain, glucomannan and anthraquinone contents of DIS process. Axis numbers on radar chart show the level of each factor, and refer to Table 1 for the details of factor levels.

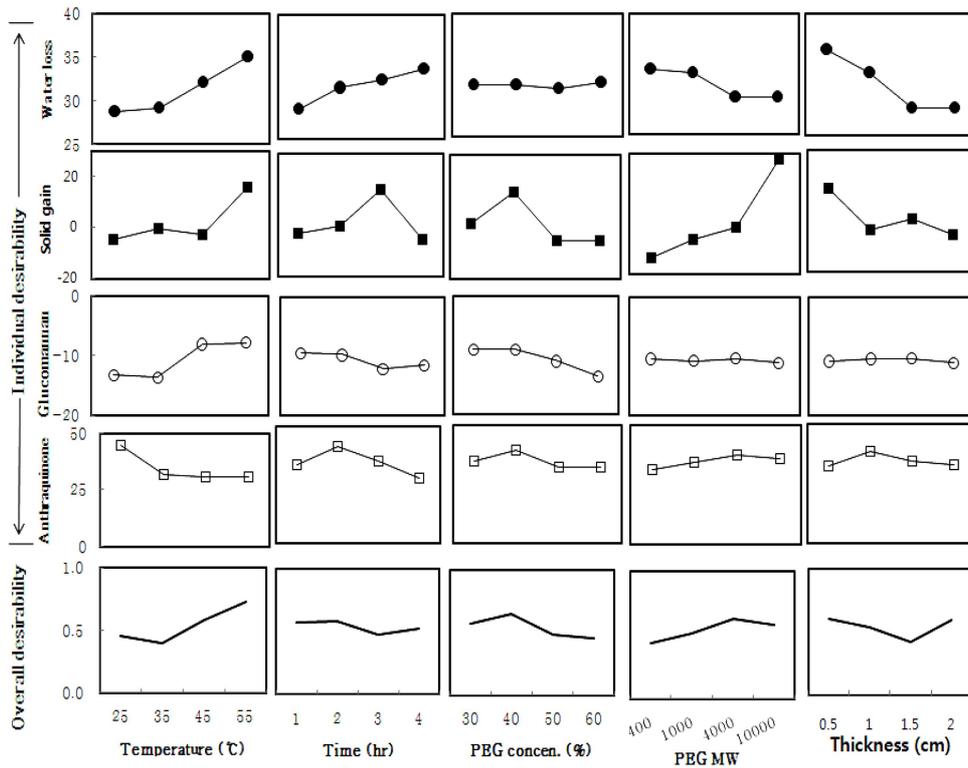


Fig. 3. Individual and overall desirability of water loss, solid gain, glucumannan and anthraquinone contents at five factors.

그 결과는 Fig. 3과 같다.

WL 및 glucumannan 함량은 최대값을 지표로, 그리고 SG 및 anthraquinone 함량은 최소값을 지표로 하여 얻은 각각의 만족도는 각 반응인자의 수준에 따라 일정한 경향 없이 서로 달랐다. 따라서 이를 취합하여 종합 만족도값을 얻었는데, 이 때, 총괄 만족도가 0이 될 경우는 총괄 만족도값의 평균값을 사용하였으며, 가중치 r 값은 각 인자의 시간적 변화율이 직선적 보다는 비선형의 hyperbolic 또는 지수적 관계를 고려하여 r=0.5를 도입하였다.

종합 만족도값에 근거하여 구한 최적수준은 T4(55°C), t2(2 hr), C2(40%), PEG MW3(4000 Da) 및 x1(0.5 cm)에서 얻어졌으며, 이 때의 각 목적변수값은 WL 68.32%, SG

1.18%, glucumannan 0.40(OD at 540 nm) 및 anthraquinone 0.022(OD at 515 nm)이었고, 종합 만족도값은 0.7842로 양호하였다.

얻어진 종합 만족도에 대한 통계검증을 위해 분산분석을 실시하였으며, 그 결과는 Table 3과 같다.

표에서 보는 바와 같이, 오차항에 pooling 된 침지시간 t를 제외한 나머지 인자 모두 유의성을 보였으며($p < 0.01$), 각 인자들의 기여순서는 $T > C > MW \approx x > t$ 이었다. 특히, 침지온도 T는 총괄 만족도에 약 50% 기여도를 보이는 가장 큰 영향인자였다. Beristain et al.(1990)도 삼투속도는 온도에 의해 현저하게 영향 받으므로 물소실과 용질증가의 동력학에 영향을 주는 가장 중요한 매개변수로, 물의 소실

Table 3. Analysis of variance (ANOVA) of overall desirability.

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P	%
T	3	0.1766	0.1766	0.0589	106.97	0.002	49.21962
C	3	0.0692	0.0692	0.0231	41.94	0.006	19.28651
MW	3	0.0561	0.0561	0.0187	33.99	0.008	15.63545
x	3	0.0553	0.0553	0.0184	33.48	0.008	15.41249
Error (t)	3	0.0017	0.0017	0.0006			
Total	15	0.3588					

R2 = 99.54%, Adj R2 = 97.70%.

DF=Degree of freedom, SS=Sum of squared deviation; MS=Mean squared deviation, F=Fisher's F ratio, P=Probability of significance, %=Percent of contribution.

Table 4. Results of confirmatory experiment.

Level of factors	Optimal setting	
	Prediction	Experiment
	T4t2C2MW3x1	T4t2C2MW3x1
Water loss (%)	68.318	79.32
Solid gain (%)	1.177	2.2
Glucomanan (O.D at 540 nm)	0.4	0.3425
Anthraquinone (O.D at 515 nm)	0.022	0.022
Overall desirability	0.7842	0.8384

은 온도증가에 따라 증가하는 반면, 용질증가는 온도에 덜 영향을 받는다고 하였다.

반면, C, MW, x는 서로 비슷한 정도의 기여도를 나타내는 2 차적으로 중요한 영향인이었고, t는 효과크기가 가장 작아서 오차항에 포함되었다(pooling).

일반적으로 온도증가에 따른 수분소실의 증가는 막투과성이 증가하여 세포막의 팽윤 및 가소화를 촉진함으로써 물질전달을 향상시키고, 동시에 온도증가로 용액의 점도가 감소하여 물질전달에 대한 외부저항을 낮추어 물 이동을 쉽게 하기 때문이라고 보고되었다(Lazarides et al., 1995).

한편, 상기에서 얻은 최적조건하의 확정시험을 실시하였으며, 그 결과는 Table 4와 같다.

실험값은 직교실험결과와 비교하여 glucomanan 함량이 다소 낮았으나 나머지 목적변수에서는 비교적 잘 일치하거나 더 높은 값 범위였다.

실험으로 얻은 품질지표값으로서의 glucomanan 함량이 예측값보다 낮은 것은 아마도 최적조건인 높은 온도수준(T4)에서 DIS 성능지표로서의 수분소실은 높지만 세포의 파괴로 glucomanan이 삼투용액으로 유출되기 때문이라 생각되었다.

따라서 glucomanan의 함량을 향상시키기 위해 차후 가장 중요한 영향인이자이며, 또 세포의 파괴와 밀접한 관련을 갖는 온도의 영향을 미세구조의 변화 측면에서 검토할 필요가 있다고 생각되었다.

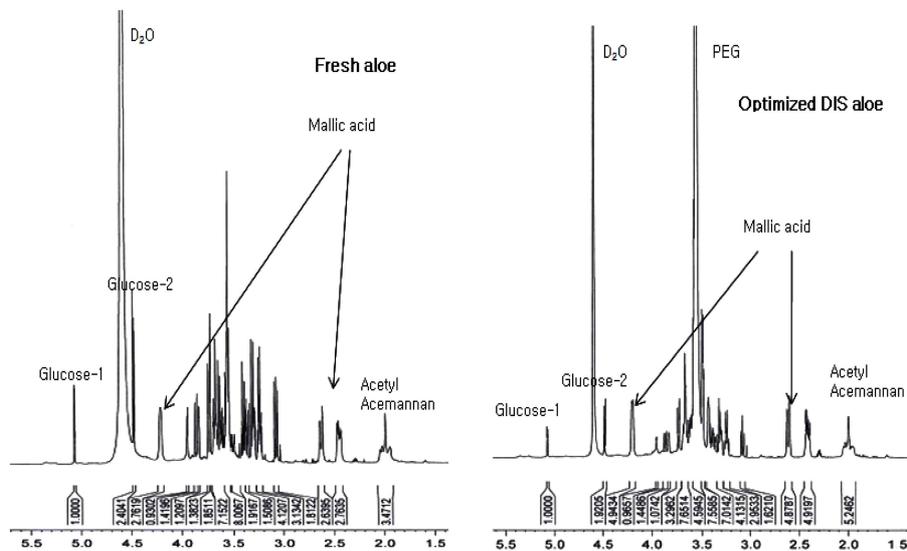
하지만 본 확정실험에서 얻은 총괄 만족도값은 예측자료의 0.7842에서 0.8384로 다소 향상된 결과를 보였으므로 본 결과가 알로에 DIS의 최적조건으로서 적용될 수 있다고 판단되었다. 따라서 T4, t2, C2, MW3 및 x1의 조건을 알로에 최소가공법으로서의 DIS 최적 조건으로 확정하였다.

DIS 공정 최적화 시료의 품질특성

상기 최적조건하에서 얻은 DIS 시료와 신선한 알로에 생잎 겔과 품질비교를 위해 알로에 품질지표가 되는 ¹H NMR 및 FT-IR 특성을 비교하였으며, 그 결과는 각각 Fig. 4 및 Fig. 5와 같다.

¹H NMR 스펙트럼을 분석한 결과(Fig. 4), 신선한 생잎 겔은 젖산 발효산물인 젖산(1.33 ppm, d)이나 아세트산(1.92 ppm, s)의 peak 없이 3 개의 주요 천연 성분 즉, glucose(5.2 ppm, d; 4.6 ppm, d)와 신선한 생잎 알로에 겔에 함유된 유일의 유기산인 malic acid(4.35 ppm, m; 2.4-2.8 ppm, m), 그리고 알로에의 유효 다당인 acemannan(2.0-2.2 ppm)의 3 개 peak가 관찰되어 그 특성을 잘 유지하였다. 특히, Diehl & Teichmuller(1998)가 보고한 finger print의 특징적 signal(2.00-2.26 ppm)인 2.1 ppm에서의 acemannan signal이 검지되었다.

DIS 시료도 신선한 생잎 알로에의 특징적 signal인 2.1 ppm에서의 acemannan signal이 검지되었다. 또, peak intensity가 커서 그 함량이 향상되었음을 보였는데, 이는 DIS 농축액의 glucomanan 함량이 신선한 알로에 생잎 겔보다 약 1.8 배 더 높았던 결과와 잘 일치한다. 아울러,

**Fig. 4. ¹H-NMR spectra of fresh aloe and optimized DIS aloe.**

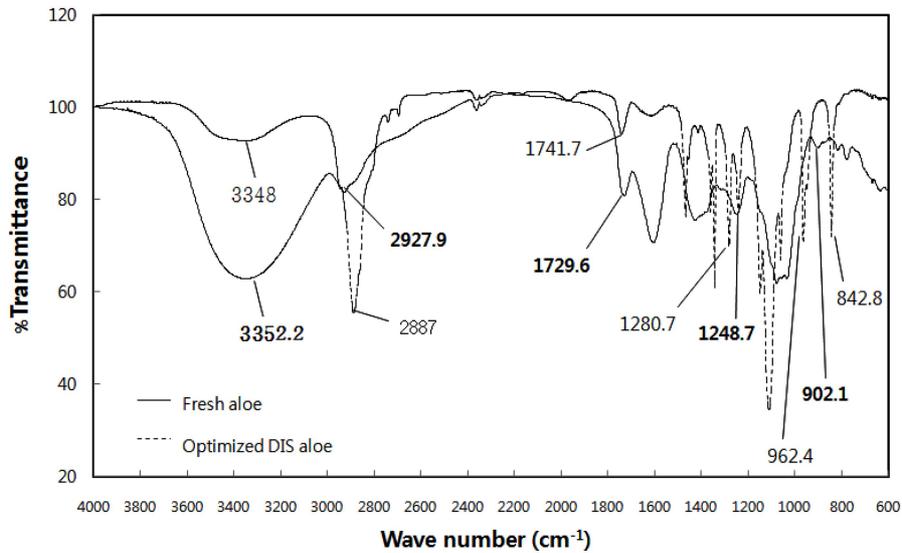


Fig. 5. FT-IR spectra of fresh aloe and optimized DIS aloe.

DIS 시료에서는 $d=3.65$ ppm에서 강한 peak density를 보였는데, 이는 PEG4000의 특징적 signal이므로 삼투용제로 사용된 PEG4000의 impregnation으로 overlapping된 것에 기인하는 것으로 생각되었다.

한편, 알로에 다당(Carrisyn™)의 품질을 조사하는 유용 기술의 하나(McAnalley & Prairie, 1988)인 FT-IR 스펙트럼 ($4000-400$ cm^{-1})을 조사한 결과(Fig. 5)에서는 두 시료 모두 수소결합의 O-H stretching frequency에 기인한 $3600-3200$ cm^{-1} (3350 ± 2) 및 관련 bending vibration의 $1100-1050$ cm^{-1} (1091 ± 18.4), $2950-2800$ cm^{-1} (2875 ± 29)에서의 stretching vibration 및 대응하는 bending frequency $1470-1420$ cm^{-1} (1447 ± 28.3) 등 C-H기의 기능기가 발견되어 전형적인 다당의 특성을 나타내었다. 특히, acetyl 기의 C=O 및 C-O-C stretching에 대응하는 $1750-1730$ cm^{-1} (1736 ± 8.6) 및 $1270-1230$ cm^{-1} (1265 ± 22.6)에서 band가 관찰되어 아세틸화되었음을 보여주었다(Blafkova et al., 2004).

그러나 DIS 시료는 PEG4000에서 나타나는 $\text{CH}_2\text{-O}$ 대칭 신장의 2889 cm^{-1} 및 $800-1500$ cm^{-1} (1467 , 1359 , 1342 , 1281 , 1242 , 1109 , 962 , 842 cm^{-1})에서의 overlapping에 의한 강한 흡수강도를 나타내어 PEG4000의 impregnation이 암시되었다. 따라서 PEG의 주입으로 fresh aloe의 C-H에 해당하는 약한 2908 cm^{-1} 은 2889 cm^{-1} 의 강한 흡수로 변화하였고, C-O에 해당하는 1091 cm^{-1} 은 1109 cm^{-1} 로 변화하였다. 특히, 신선한 알로에에 비하여 DIS 시료는 3350 및 1612 cm^{-1} 부근에서의 현저한 broadening이 관찰되었는데, 이는 알로에 다당과 PEG4000의 분자간 수소결합에 기인하는 것으로 생각되었다(Rakkappan & Anbalagan, 2009).

PEG는 분자량 10^2-10^7 Da의 수용성고분자로, 양호한 생체적합성과 낮은 면역원성으로 FDA의 GRAS로 등재되어

있으며, 국내에서는 식품에의 사용이 제한되어 있으나 외국의 경우, 다양한 식품, 화장품, 의약 및 약제전달계에서 내복 및 주사제로서 FDA에 의해 승인되어 널리 사용된다(Cavalla, 2001). 특히, 용해도, 점도성질 및 낮은 독성으로 매우 다양한 화장품응용에서 사용되는데, 보습제, 결합제, 용매제, 유화안정제, 점도조절제 등으로 배합되어 3%-90%까지 사용된다(Claudia, 2005).

이상을 종합할 때, PEG에 의한 알로에의 DIS 처리는 PEG impregnation의 특징을 보이며, 신선한 생일 겔과 마찬가지로 아세틸화된 다당의 특성을 잘 유지하고, bioactive 다당의 함량을 향상시킬 수 있음을 보여주어, DIS 알로에 시료가 각종 생리적 성질에 중요한 영향을 미칠 수 있는 품질특성을 갖는 것으로 판단되었다.

결론

고품질의 알로에 제품을 얻기 위한 신규 공정개발 연구의 일환으로 DIS(dewatering & impregnation soaking) 공정을 도입하고, Taguchi 법 및 만족도함수를 이용한 다중반응 최적화를 실시하였다.

5 인자(침지용액온도, 침지시간, polyethylene glycol (PEG) 농도, PEG 분자량, 시료 두께), 4 수준(1, 2, 3, 4)의 Orthogonal matrix $L_{16}(4^5)$ 법에 따라 DIS를 실시하고, DIS 성능지표값으로서의 수분소실(WL) 및 고휘분획득(SG), 품질지표값으로서의 glucomannan 및 anthraquinone 함량을 측정하여 분석한 결과, 알로에 DIS 공정의 반응은 다중반응(multiresponses)의 특성을 나타내었다. 따라서 Derringer의 만족도 함수를 도입하여 알로에 DIS의 성능 및 품질지표값을 최대화 할 수 있는 종합만족도함수값 0.7842를 갖

는 최적공정조건을 구할 수 있었으며, 얻어진 최적조건은 온도 55°C, 침지 2시간, PEG 농도 40%, PEG 분자량 4000 Da 및 시료두께 0.5 cm이었다.

ANOVA에 의한 유의성 검증결과, 1%이내에서 유의성을 나타내었으며, 확정실험결과 직교배열실험의 예측값과 최적조건하의 실험값은 비교적 잘 일치하였다. 또, 최적조건하에서 얻어진 알로에 DIS 시료의 품질특성을 ¹H NMR 및 FT-IR 스펙트럼으로 분석한 결과, PEG impregnation을 암시하면서 신선한 알로에 생잎 겔의 아세틸화 다당의 특성을 잘 유지하였고, bioactive 다당의 함량도 약 1.8 배나 향상되어 본 DIS 공정이 알로에의 최소화 공정으로서의 적용 가능성을 보였다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부의 광역연계협력사업비(과제번호: R000451) 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Alzamora SM, Gerschenson LN, Vidales S, Nieto A. 1997. Structural changes in the minimal processing of fruits: Some effects of blanching and sugar impregnation. In: Food Engineering 2000. Fito P, Ortega-Rodriguez E, Barbosa-Canovas GV (eds), Chapman & Hall, New York, USA, pp. 117-140.
- Bekele Y, Ramaswamy H. 2010. Going beyond conventional osmotic dehydration for quality advantage and energy savings. EJUST 1: 1-15.
- Bendell JD, Disney J, Pridmore WA. 1989. Taguchi Methods: Applications in World Industry. IFS Publications Ltd., Bedford, England.
- Beristain CI, Azuara E, Cortes R, Garcia HS. 1990. Mass transfer during osmotic dehydration of pineapple rings. Int. J. Food Sci. Technol. 25: 576-582.
- Blafkova P, Synytsya A, Copikova J. 2004. Chitin-glucan complex from *Agaricus blazei*, a potential raw material for production of food additives. Czech J. Food Sci. 22 (special issue): 231-234.
- Bozzi A, Perrin C, Austin S, Arce F. 2007. Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. Food Chem. 103: 22-30.
- Cavalla D. 2001. Adaptations and innovations in drug delivery. Drug News Perspecti. 14: 495-499.
- Claudia FP. 2005. Safety assessment on polyethylene glycol(PEGs) and their derivatives as used in cosmetic products. Toxicology 214: 1-38.
- Derringer GC, Suichi R. 1980. Simultaneous optimization of several response variables. J. Quality Technol. 12: 214-219.
- Corzo O, Gomez ER. 2004. Optimization of osmotic dehydration of cantaloupe using desired function methodol. J. Food Eng. 64: 213-219.
- Diehl B, Teichmuller EE. 1998. Aloe vera, quality inspection and identification, Agro. Food Industry Hi-Tech 9: 14-16.
- Eberendu AR, Luta G, Edwards JA, McAnalley BH, Davis B. 2005. Quantitative colorimetric analysis of aloe polysaccharides as a measure of *Aloe vera* quality in commercial products. J. AOAC Int. 88: 684-691.
- Forni E, Torreggiani D, Crevelli G, Mastrelli A, Bertolo G, Santelli F. 1987. Influence of osmosis time on the quality of dehydrofrozen kiwifruit. Acta Horti. 282: 425-433.
- Garcia-Martinez E, Martinez-Monzo J, Chamacho MM, Martinez-Navarrete N. 2002. Characterization of reused osmotic solution as ingredient in new product formulation. Food Res. Int. 35: 307-313.
- García-Segovia P, Mognetti C, Andrés-Bello A, Martínez-Monzo J. 2010. Osmotic dehydration of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller). J. Food Eng. 97: 154-160.
- He Q, Changhong L, Kojo E, Tian Z. 2005. Quality and safety assurance in the processing of Aloe vera gel juice. Food Control 16: 95-104.
- Houng JY, Hsu HF, Liu YH, Wu JY. 2003. Applying the Taguchi robust design to the optimization of the asymmetric reduction of ethyl 4-chloro acetoacetate by baker's yeast. J. Biotechnol. 100: 239-250.
- Kim SA, Baek JH, Lee SY. 2008. Concentration of Aloe vera gel by DIS (Dewatering & Impregnation Soaking) process and process kinetics of DIS concentration. Food Eng. Prog. 12: 198-208.
- Kim SA, Baek JH, Lee CW, Lee SY. 2008. Effects of osmotic agents, operating pressure and agitation processings on osmotic dehydration process of Aloe vera gel. Food Eng. Prog. 12: 275-283.
- Kim SA, Baek JH, Lee SY. 2009. Structural and physicochemical properties of dried Aloe vera gel using DIS (Dewatering & Impregnation Soaking) process. Food Eng. Prog. 13: 24-31.
- Kim SA, Baek JH, Lee SY. 2009. Effect of DIS process on in vitro physiological functionality of Aloe vera gel. Food Eng. Prog. 13: 251-261.
- Lazarides HN, Katsanidis E, Nockolaidis A. 1995. Mass transfer kinetics during osmotic preconcentration aiming at minimal solid uptake. J. Food Eng. 25: 151-166.
- Le Maguer M. 1988. Osmotic dehydration: Review and future. In: Proceedings of the International Symposium on Progress in Food Preservation Processes, Vol. 1. CERIA, Brussels, Belgium, pp. 283-309.
- McAnalley BH. 1993. Process for preparation of aloe products. European Patent WO89/06539.
- Montgomery DC. 2001. Design and Analysis of Experiments (5th ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.
- Nandi G, Datta S, Bandyopadhyay A, Pal PK. 2010. Analysis of hybrid Taguchi methods for optimization of submerged arc weld. Jointing Process: Challenges for Quality, Design and Development, National Institute for Technology, Agartala, Tripura, India. March 5-6.
- O'Brien C. 2005. Physical and chemical characteristics of Aloe gels. PhD thesis, University of Johannesburg. Republic of South Africa.
- Phisut N. 2012. Factors affecting mass transfer during osmotic dehydration of fruits. IFRJ. 19: 7-18.
- Pisalkar PS, Jain NK, Jain SK. 2011. Osmo-air drying of aloe vera gel cubes. J. Food Sci. Technol. 48: 183-189.
- Pochapski MT, Fosquiera EC, Esmerino LA, dos Santos EB,

- Farago PV, Santos FA, Groppo FC. 2011. Phytochemical screening, antioxidant, and antimicrobial activities of the crude leaves' extract from *Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Pharmakon. Mag.* 7: 165-170.
- Prasad KK, Mohan SV, Rao RS, Pati BR, Sarma PN. 2005. Laccase production by *Pleurotus ostreatus* 1804: Optimization of submerged culture conditions by Taguchi DOE methodology. *Biochem. Eng. J.* 24: 17-26.
- Rao RS, Kumar CG, Prakasham S, Hobbs PJ. 2008. The Taguchi methodology as a statistical tool biotechnological applications: A critical appraisal. *Biotechnol. J.* 3: 510-523.
- Rakkappan C, Anbalagan S. 2009. Ultrasonic and FTIR studies on aqueous biodegradable polymer blend solutions. *Am-Euras. J. Sci. Res.* 4: 281-284.
- Rastogi NK, Raghavarao KS. 1997. Water and solute diffusion coefficients of carrot as a function of temperature and concentration during osmotic dehydration. *J. Food Eng.* 34: 429-440.
- Rastogi NK, Raghavarao KS, Miranjan K. 1997. Mass transfer during osmotic dehydration of banana; Fickian diffusion in cylindrical configuration. *J. Food Eng.* 31: 423-432.
- Rauolt-Wack AL, Guilbert S, Le Maguer M, Rios G. 1991. Simultaneous water and solute transport in shrinking media-Part I: application to dewatering and impregnation soaking process analysis(osmotic dehydration). *Dry. Technol.* 9: 589-612.
- Rauolt-Wack AL. 1994. Recent advances in the osmotic dehydration of foods. *Trends Food Sci. Technol.* 5: 255-260.
- Romero-Barranco C, Brenes-Balbuena M, Garcia-Garcia P, Garrido-Fernandez A. 2001. Management of spent brines or osmotic solutions. *J. Food Eng.* 49: 237-246.
- Saurel R, Raoult-Wack AL, Rios G, Guilbert S. 1994. Mass transfer phenomena during osmotic dehydration of apple I. Fresh plant tissue. *Int. J. Food Sci. Technol.* 29: 531-542.
- Sereno AM, Moreira R, Martinez E. 2001. Mass transfer coefficients during osmotic dehydration of apple in single and combined aqueous solutions of sugar and salt. *J. Food Eng.* 47: 43-49.
- Spiazzi E, Mascheroni R. 1997. Mass transfer model for osmotic dehydration of fruits and vegetables-I. Development of the simulation model. *J. Food Eng.* 34: 387-410.
- Taguchi G. 1986. *Introduction to Quality Engineering: Designing Quality into Product and Processes.* Asian Productivity organization, Tokyo, Japan.
- Tortoe C. 2010. A review of osmodehydration for food industry. *African J. Food Sci.* 4: 303-324.
- Uddin, M.B. Ainsworth, P., and Ibanoglu, S. 2004. Evaluation of mass exchange during osmotic dehydration of carrots using response surface methodology. *J. Food Eng.* 65: 473-477.
- Vieira GS, Pereira LM, Hubinger MD. 2012. Optimisation of osmotic dehydration process of guavas by response surface methodology and desirability function. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47: 132-140.
- Yu DJ, Wang SM, Song KB. 2010. Dehydration of *Opuntia ficus-indica* and *Aloe vera* slices using polyethylene glycol and comparison with other drying methods. *J. Korean Food Sci. Nutr.* 39: 1024-1029.