한국식생활문화학회지 28(4): 392-400, 2013
KOREAN J. FOOD CULTURE 28(4): 392-400, 2013
본 논문의 저작권은 한국식생활문화학회에 있음.
Copyright © The Korean Society of Food Culture
ISSN 1225-7060
http://dx.doi.org/10.7318/KJFC/2013.28.4.392

로젤 첨가 저지방 요구르트의 제조 조건 최적화 및 품질특성

황서정 · 정은경 · 주나미*
숙명여자대학교 생활과학대학 식품영양학전공

Processing Optimization and Quality Characteristics of Low-Fat Yogurt Prepared with Roselle

Suhjung Hwang, Eunkyung Jung, Nami Joo*
Department of Food & Nutrition, Sookmyung Women's University

Abstract

The purpose of this study was to determine the optimal amounts and mixing condition of skim milk powder (A), and roselle (B) for the production of yogurt prepared with roselle. The experiment was designed according to the central composite design for estimating the response surface method, which yielded ten experimental points, including two replicates for the skim milk powder and roselle. The physicochemical and mechanical analysis of each sample, including pH ($P<0.001$), titratable acidity ($P<0.001$), color ($P<0.05$), viscosity ($P<0.001$), showed significant differences. Antioxidant properties (total phenolic content, DPPH free radical scavenging activity) and viable cell counts of lactic acid were significantly different ($P<0.05$). The sensory measurements were significantly different in color, flavor, sourness, texture, and overall quality ($P<0.05$). The optimal formulation, calculated by numerical and graphical methods, was 7.82 g of skim milk powder and 2.09 g of roselle. From findings of this study, the roselle may be used in yogurt and can be applied for other food industries.

Key Words: Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), yogurt, optimization, response surface design (RSM), skim milk

I. 서 론

우유 또는 탈지분유를 원료로 하여 유산균을 접종시켜 발효시킨 요구르트는 우유의 영양과 소화율이 향상된 유제품으로 독특한 풍미와 다양한 생리적인 기능으로 인하여 세계적으로 수요가 꾸준히 증가하고 있으며, 원료로 사용되는 우유성분 외에도 유산균에 의해 발효 과정에서 생성되어지는 유산, 펩톤, 펩티드, 올리고당 등의 유효성분이 있어서 식품영양학적으로도 매우 우수한 식품이다(Harte 등 2003). 유산균의 장내 증식에 의해 대장의 장내환경을 변화시켜 생균 활성제로서 정장작용, 혈중 콜레스테롤 저하 작용, 면역 증진 작용, 미네랄과 비타민 흡수 촉진 작용, 유당의 소화 흡수 촉진 및 항암작용 등의 기능성이 알려져 있다(Im 2003, Hood & Zottola 2006). 발효유는 오늘날 전 세계적으로 가장 기호성이 큰 식품의 하나로 발전하여 소비 신장도가 매우 높은 건강식품으로 부상하고 있으며, 우리나라에서는 제품의 외관과 무지유고형분 함량에 따라 발효유와 농후발효유로 대별되고, 제품의 형태에 따라 액상 및 호상으로 제조 가능한 특성을 가지며(Ko 등 2008), 다양한 부재료의 첨가가 가능하다. 최근에는 건강 지향적인 식품에 대한 관심이 높아지면서 발효유의 품질 개선을 위한 발효 기질 및 생리활성 기능에 관련된 연구로 알로에(Shin 등 1995), 쑥(Kim 등 1999), 매실(Lee 등 2002), 단감(Cho 등 2003), 오디(Kim 등 2003), 오미자(Hong 등 2004), 유자(Lee 등 2008) 등의 천연소재를 요구르트에 첨가하여 생리활성이 강화된 요구르트를 제조하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

로젤(*Hibiscus sabdariffa* L.)은 아욱과에 속하는 식물로서 열대와 아열대 지방에서 주로 자라며, 두껍고 붉은 컵 모양의 꽃받침은 냉 음료뿐 만 아니라 차로 음용되기도 하는데 고혈압, 발열, 간질환, 염증, 담석 및 비만에 효과가 있다(Haji 1999, Onyenekwe 1999). 로젤 추출물은 췌장의 amylase를 억제하고, albino rat 에서 총 지질과 콜레스테롤, 그리고 중성지방의 감소 효과가 보고되었으며(Hansawasdi 2000), 특히 로젤 추출물은 고지혈증 예방과 항산화 효과, 그리고 항암효과가 탁월한 것으로 보고되고 있다(Farombi 2005). 로젤의 붉은색 색소는 꽃받침 부분에 있는 안토시아닌 성분으로 식품 착색제로도 사용되며(Esselen & Sammy 1975), 안토시아닌 영역에 관한 광범위한 연구가 시행되고 있는데 색소의 특

*Corresponding author: Nami Joo, Sookmyung Women's University, 52-12 Chungpa-dong 2- ga, Yongsan-gu, Seoul, Korea
Tel: 82-2-710-9471 Fax: 82-2-710-9479 E-mail: joljol0308@daum.net

징 뿐 아니라 안토시아닌의 건강에 대한 이점과 항산화 작용에 대한 이유 때문이다(Tee 등 2002; Tsai 2002; Jung 등 2013). 그러나 로젤을 식품 분야에 접목시켜 개발한 제품의 품질특성을 살펴본 연구는 아직 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 저지방 우유와 탈지분유, 올리고당을 발효기질로 하여 로젤 농축액을 첨가한 요구르트를 만들었고, 이화학적, 기계적, 관능적 품질 특성을 살펴보았다. 반응표면분석법(RSM)을 이용하여 로젤 첨가 저지방 요구르트의 최적 제조 조건을 도출하고 기계적, 이화학적, 관능특성 및 항산화적 특성 분석을 통해 보다 차별화된 기능성 로젤 요구르트의 제품 개발 가능성을 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 로젤 꽃은 허브누리(NATEVA Sas, Drome, France)에서 구입하였고, 발효액 제조의 기질로 사용된 원료는 저지방우유(서울우유), 탈지분유(서울우유)와 프락토올리고당(백설)으로 시중에서 구입하여 사용하였고, 스타터 미생물로 사용된 균주는 *Lactobacilus bulgaricus*와 *Streptococus thermophilus*로 이루어진 혼합균주 Yomix^{TM} 883(Danisco, Denmark)로서 (주)메트로비엔에프에서 제공 받아 요구르트를 제조하였다.

2. 실험계획

로젤 첨가 저지방 요구르트의 최적 비율을 산출하기 위한 실험 디자인은 Design Expert 8(Stat-Ease Co., Minneapolis, MN, USA) 프로그램을 사용하여, 반응표면분석법의 중심합성계획법(central composite design)에 따라 실험을 설계하였다. 예비실험을 통해 로젤 첨가 저지방 요구르트의 품질 특성 중 맛과 조직감에 가장 큰 영향을 주는 요인인 탈지분유(A)와 로젤(B)의 함량을 독립변수로 설정하였고 설정된 범위를 입력하여 10개의 실험점이 설정되었으며, 반복 설정을 통해 2개의 반복점이 포함되었다. 종속변수로는 이화학적 측정 항목인 pH, 적정산도, 젖산균수, 기계적 측정 항목인 색도(L, a, b), 점도, 항산화성 측정 항목인 총 페놀 함량, DPPH 자유 라디칼 소거능, 그리고 관능검사(색, 풍미, 신맛, 단맛, 부드러움, 전반적인 기호도)로 설정하였다.

3. 로젤 첨가 저지방 요구르트의 제조

탈지분유와 로젤 농축액 2가지 요인의 한계범위를 설정하기 위하여 저지방 우유의 양은 100 g으로 고정하고 예비실험 및 관능평가를 통해 최소 및 최대범위를 탈지분유 1~15 g, 로젤 농축액 0.5~4 g으로 결정하였다. 로젤 농축액은 로젤 분말 20 g에 증류수 800 mL을 넣은 후(1:40), 96°C에서 20분 환류추출 후 여과하여 30°brix로 농축하였다. 시판되는 저지방 우유에 탈지분유와 프락토올리고당, 30°brix로 농축한 로젤을 섞어 85°C에서 10분간 살균한 후 약 40°C로 식히고 유산균 *Lactobacilus bulgaricus*와 *Streptococus thermophilus*의 혼합균주 Yomix^{TM} 883을 0.85% 생리식염수에 희석시켜 별도의 배양 없이 즉시 접종하여 42°C 인큐베이터에서 18시간 발효하여 제조하였다. 요구르트의 발효시간은 최적점으로 예측한 레시피에 따라 제조한 요구르트를 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24시간 동안 발효시키면서 관능검사를 실시하였고, 그 결과 관능 면에서 가장 우수하다고 생각되는 요구르트인 18시간 발효한 요구르트를 기준으로 하여 설정하였다<Table 1>.

<Table 1> Experimental design for low-fat yogurt with Roselle extract by response surface design

Sample No.	Factors		Low-fat milk (g)	Fructooligo-saccharide (g)	Yomix^{TM} 883[1] (g)
	Skim milk powder (g)	Roselle extract (g)			
1	1.00	0.50	100.00	12.00	0.375[2]
2	15.00	0.50			
3	1.00	4.00			
4	15.00	4.00			
5	1.00	2.25			
6	15.00	2.25			
7	8.00	0.50			
8	8.00	4.00			
9	8.00	2.25			
10	8.00	2.25			

[1]It is mixture of *Lactobacilus bulgaricus, Streptococus thermophilus.*
[2]0.375 g of Yomix^{TM} 883 diluted in 9 mL of saline solution is added to the subject yogurt of 1 mL/500 g.

4. 이화학적 특성

1) pH 및 적정산도

로젤 첨가 저지방 요구르트의 산 생성 정도를 알아보기 위해 pH와 적정산도(titratable acidity)를 측정하였다. 요구르트의 pH는 pH meter(Corning 340, Mettler Toledo, Wimbledon, UK)로 측정하였으며 적정산도는 기술 표준원 국가표준 종합정보센터에서 제시한 전위차에 의한 방법으로 측정하였다. 시료 10 g을 취하여 증류수 10 mL를 가한 후 0.1 N-NaOH (factor-1.002)로 적정하면서 pH가 8.3이 되었을 때의 소모량을 lactic acid 환산계수로 산출하여 표시하였다. 아래식에서 V는 적정에 사용된 NaOH 용액의 mL 수, m은 시료의 중량 gram 수를 의미하며, 0.9는 lactic acid에 대한 전환 계수를 의미한다.

적정산도=(0.9×V)/m

2) 유산균수

시료 5 g에 멸균된 Buffered Peptone Water(Difco, USA)

5 mL을 가하여 균질화 한 후 10진 희석법으로 희석하여 배지에 분주하여 유산균수를 평판 배양법으로 측정하였다. 배지는 BCP plate count agar(Eiken Co., Tokyo, Japan)를 만들어 사용하였으며, 37°C의 incubator에서 72시간 배양하여 형성된 황색의 유산균의 집락을 계수하여 CFU(Cology forming unit)(log CFU/mL) 으로 나타내었다. 측정은 3회 반복실험을 실시하여 데이타를 얻었다.

5. 기계적 특성

1) 색도

요구르트의 색은 색차계(Colormeter CR-300, Minolta Co., Ltd, Tokyo, Japan)를 사용하였다. L(lightness, 명도), a(redness, 적색도), b(yellowness, 황색도)의 색차값을 3회 반복 측정하였으며 평균값으로 나타내었다. 이때 사용한 표준 백색판(Standard Plate)의 L, a, b 값은 각각 97.26, –0.07, +1.86이었다.

2) 점도

요구르트의 점도는 발효가 완료된 시점에 시료를 100 mL 용기에 담아 Brookfield DV-viscometer(Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, MA, USA)의 4번 spindle을 이용하여 60 rpm에서 1분에서 3분까지 1분 간격으로 점도를 3회 반복 측정하여 평균값을 구하였다.

6. 항산화적 특성

1) 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Singleton et al.(1999)의 Folin-Ciocalteu 법을 변형한 Liu 등(2002)과 Cho 등(2008)의 방법으로 분석하여 측정하였다. 우선 시료 5 g을 에탄올로 10배 희석한 후 10분간 10,000 rpm에서 원심분리(Combi-514R, Hanil, Inchun, Korea)하여 얻은 상등액을 시료용액으로 사용하였다.

증류수 0.5 mL을 가한 시험관에 시료 125 μL을 넣고 Folin-Ciocateu Phenol Reagent(Sigma Chemical Co., St, Louis, MO, USA) 125 μL을 가해 1분간 교반하였다. 6분 후 7% Na_2CO_3 용액 1250 μL을 첨가하고 1분간 교반한 후, 90분 동안 암소에 정치한 다음 분광광도계(V-530 UV/VIS Spectrophotometer, JAS Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였다. 총 페놀함량은 gallic acid(Sigma Chemical Co.)를 분석하여 작성된 표준 검량선에 대입하여 산출하였다.

2) DPPH 자유 라디칼 소거능

시료 용액은 시료 5 g을 에탄올로 10배 희석한 후 10분간 10,000 rpm에서 원심분리(Combi-514R, Hanil, Inchun, Korea)하여 얻은 상등액으로 사용하였다. 시료용액 990 μL를 DPPH solution(1.5×10^{-4} mM) 330 μL와 혼합하여 암소, 실온에서 30분간 방치하여 반응시킨 후 517 nm에서 분광광도계(V-530 UV/VIS Spectrophotometer, JAS Co., Tokyo, Japan)로 흡광도를 3회 반복 측정하였으며 다음 식을 통해 DPPH 라디칼 소거능 값을 구하였다.

$$\text{DPPH 자유 라디칼 소거능 (\%)} = \left(1-\frac{A}{B}\right)\times 100$$

A: 실험구의 흡광도, B: 대조구의 흡광도

7. 관능검사

관능검사는 숙명여자대학교 식품영양학과 대학원생 20명을 패널로 선정하여 패널마다 10개의 시료를 평가하도록 하였다. 평가 항목은 색, 풍미, 신맛, 단맛, 부드러움, 전반적인 기호도에 대하여 7점 척도법으로 평가하여 기호도 및 선호도가 높을수록 7점에 가까운 점수를 주도록 하였다.

8. 통계분석

로젤 첨가 저지방 요구르트의 품질 특성 및 성분들 간의 상호작용과 경향을 알아보기 위하여 Design Expert 8 프로그램의 ANOVA test 및 회귀분석을 이용하였으며, model의 적합성 여부는 F-test로 유의성을 검증하였다. 로젤 첨가 저지방 요구르트의 최적화는 Canonical 모형의 수치 최적화(numerical optimization)와 모형적 최적화(graphical optimization)를 통해 탈지분유와 로젤의 양을 선정하였고, 지점 예측(point prediction)을 통해 최적점으로 선정하였다. 수치 최적화는 canonical model을 기준으로 하는 모델의 계수에 독립변수인 탈지분유와 로젤 범위 내에서, 반응변수인 관능평가의 항목 중 유의적인 결과를 나타낸 항목을 목표범위(goal area)의 최대(maximum)로 설정하였으며, 수치 최적화를 통해 제시된 최적점 중 아래의 식에 기준하여 적합도(desirability)를 구하고 가장 높은 적합도를 나타내는 최적점을 채택하였다. 또한 모형적 최적화는 각 반응변수에 대한 최소 혹은 최대 제한점을 결정하여 입력하였을 때 가능한 범위에서 그래프가 중첩되는 부분으로 채택하였다.

$$D = (d_1 \times d_2 \times \ldots \times d_n)^{\frac{1}{n}} = \left(\prod_{i=1}^{n} d_i\right)^{\frac{1}{n}}$$

D=overall desirability, d=desirability, n=response의 수

III. 결과 및 고찰

1. 이화학적 특성

1) pH 및 적정산도

로젤 첨가 저지방 요구르트의 pH는 4.10~4.36의 범위를 나타내었고<Table 2>, 탈지분유와 로젤 각각의 요인이 독립적으로 영향을 미치는 linear model이 선정되었다. p-value는 <0.0001로 유의성을 보였으며, R^2 값은 0.9384로 모델의 적

<Table 2> Physicochemical properties of yogurt with Roselle extract by response surface design Mean±SD

Sample No.	Skim milk powder (g)	Roselle extract (g)	Responses		
			pH	Titratable acidity	Lactic acid bacteria (log CFU/mL)
1	1.00	0.50	4.14±0.01	0.95±0.03	8.13±0.12
2	15.00	0.50	4.35±0.00	1.71±0.35	8.30±0.01
3	1.00	4.00	4.11±0.02	1.01±0.14	7.49±0.01
4	15.00	4.00	4.32±0.00	1.61±0.57	7.81±0.10
5	1.00	2.25	4.10±0.00	0.94±0.00	8.02±0.06
6	15.00	2.25	4.36±0.00	1.66±0.14	8.18±0.04
7	8.00	0.50	4.21±0.01	1.38±0.42	8.28±0.07
8	8.00	4.00	4.21±0.01	1.39±0.12	7.26±0.10
9	8.00	2.25	4.18±0.01	1.37±0.30	8.23±0.10
10	8.00	2.25	4.19±0.01	1.38±0.21	8.25±0.05

<Table 3> Analysis of predicted model equation for physicochemical properties of yogurt prepared with Roselle extract

Responses	Model	Mean±SD	R-sqaured[1)]	F-value	Prob>F[2)]	Polynomial equation[3)]
pH	Linear	4.22±0.028	0.9384	53.35	<0.0001***	+4.22+0.12A–3.333E–0.03B
Titratable acidity	Quadratic	1.34±0.017	0.9984	504.30	<0.0001***	+1.37+0.35A–4.350E–0.03B –0.040AB–0.069A^2+0.019B^2
Lactic acid bacteria	Linear	8.02±0.25	0.6816	7.49	0.0182*	+8.02+0.11A–0.38B

[1)] $0 \le R^2 \le 1$, close to 1 indicates regression line fits the model.
[2)] *p<0.05, ***p<0.001
[3)] A: skim milk powder, B: Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) E: Error

합성이 인정되었고, 이에 따른 회귀식은 <Table 3>에 제시하였다. 탈지분유 첨가량이 증가할수록 pH가 높아지고 로젤은 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. Kroger & Weaber(1973), Chamber(1979)는 요구르트의 바람직한 pH 범위가 3.27~4.53이라고 하였는데, 본 연구에서도 로젤 첨가 요구르트의 pH는 4.10~4.36로 나타났다.

적정산도 측정 결과는 <Table 2>와 같이 0.94~1.71의 범위를 보였다. Davis(1970)는 정상적인 제품의 적정 산도는 0.7~1.2에서 나타난다고 하였는데, 본 연구에서도 0.94~1.71의 범위로 바람직한 적정산도 범위와 일치하였다. 탈지분유와 로젤이 적정산도에 서로 교호작용하는 quadratic model이 선정되었고 p-value는 <0.0001로 유의성을 보였으며 탈지분유가 증가할수록 적정산도가 증가하였다. 이는 탈지유와 두유를 이용하여 요구르트 제조 조건의 최적화를 실험한 연구(Park 1994)에서 탈지분유의 첨가비율이 증가할수록 산도가 높게 나타나는 것과 일치하였는데 탈지분유의 첨가로 젖산균이 이용할 수 있는 무지유고형분 함량이 증가하였기 때문이라고 하였다.

2) 유산균수

로젤 첨가 저지방 요구르트의 유산균수 측정 결과는 <Table 2>와 같으며 7.26~8.30의 범위를 나타냈다. 유산균수는 각각의 요인이 독립적으로 영향을 미치는 linear model이 선정되었으며 p-value는 0.0182로 5% 범위에서 유의적으로 나타났다<Table 3>. 회귀식을 살펴보면 로젤이 탈지분유보다 유산균수 생성에 더 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 또한, 탈지분유의 첨가량이 증가할수록 유산균수의 수치는 증가하였고, 로젤의 첨가량이 증가할수록 젖산균수의 수치가 감소하는 모습을 나타내었다. 탈지분유의 유당이 유산균의 증식에 이용되기 때문에 탈지분유의 양이 가장 많은 실험군에서 유산균 증식효과가 증가되었던 Cho(2003)의 연구 결과와 일치하는 경향을 보였다. 식품공전에 의하면 신선한 액상 및 호상 요구르트의 유산균수를 10^6 CFU/mL 이상으로 규정하고 있는데, 본 결과도 7.26~8.30 log CFU/mL를 나타내어 안정한 것으로 나타났다.

2. 기계적 특성

1) 색도

로젤 첨가 저지방 요구르트의 색도(L, a, b)를 측정한 결과는 <Table 4>와 같으며 L값은 41.42~68.59, a값은 1.81~9.40, b값은 0.12~3.01의 범위를 나타내었다. 명도(L)와 황색도(b)는 탈지분유와 로젤이 독립적인 영향을 미치는 linear model이, 적색도(a)는 서로 교호작용하는 quadratic model이 선정되었다. 명도는 p-value가 0.0035로 1% 이내에서 유의성이 인정되었고, 로젤이 탈지분유보다 명도에 많은 영향을 미치는 것으로 나타났으며 탈지분유의 첨가량이 증가할수록 명도 값은 증가하였고, 로젤의 첨가량이 증가할수록 명도 값이 감소하는 결과를 보였다. 이는 로젤 첨가 돈육 패티의 품질

<Table 4> Mechanical properties of yogurt prepared with Roselle extract by response surface design Mean±SD

Sample No.	Skim milk powder (g)	Roselle extract (g)	Responses[1)]			
			Lightness	Redness	Yellowness	Viscosity (cPs)
1	1.00	0.50	57.92±2.66	1.94±0.08	2.24±0.28	383±2.66
2	15.00	0.50	60.05±0.42	1.81±0.06	2.68±0.27	2705±0.34
3	1.00	4.00	41.42±1.36	8.37±0.25	1.18±0.33	601±1.36
4	15.00	4.00	51.13±1.11	8.05±0.29	0.12±0.04	2940±1.11
5	1.00	2.25	50.90±0.82	9.40±0.21	1.35±0.08	521±0.06
6	15.00	2.25	56.55±2.26	6.86±0.37	0.84±0.06	2680±2.24
7	8.00	0.50	68.59±0.47	3.37±0.17	3.01±0.16	1158±0.14
8	8.00	4.00	48.69±0.41	9.19±0.30	0.41±0.13	1618±0.41
9	8.00	2.25	53.66±0.81	8.25±0.62	1.08±0.30	1288±0.81
10	8.00	2.25	57.05±0.06	7.27±0.28	1.61±0.04	1548±0.63

[1)]L (white +100 0 black), a (red +60 -60 green), b (yellow +60 -60 blue).

<Table 5> Analysis of predicted model equation for mechanical properties of yogurt prepared with Roselle extract

Response	Model	Mean±SD	R-sqaured[1)]	F-value	Prob>F[2)]	Polynomial equation[3)]
Lightness	Linear	54.70±3.81	0.8005	14.04	0.0035**	+54.70+2.91A–7.72B
Redness	Quadratic	6.45±0.98	0.9508	15.46	0.0101*	+8.22-0.50A+3.08B–0.048AB–0.55A^2–2.40B^2
Yellowness	Linear	1.45±0.44	0.8286	16.92	0.0021**	+1.45–0.19A–1.04B
Viscosity	Linear	1544.35±168.86	0.9753	138.36	< 0.0001***	+1544.35+1136.58A+152.08B

[1)]$0 \le R^2 \le 1$, close to 1 indicates regression line fits the model.
[2)]*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001
[3)]A: skim milk powder, B: Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)

특성 및 저장안정성의 연구결과(Jung 2012)와 유사한 경향을 보였다. 적색도는 p-value가 0.0101로 5% 이내에서 유의성이 인정되었고, R^2 값은 0.9508로 모델의 적합성이 인정되었으며, 로젤의 안토시안 성분이 적색도에 가장 큰 영향을 주는 인자로 생각된다. 황색도는 p-value 값이 0.0021로 1% 범위에서 유의성이 인정되었고 R^2 값은 0.8286으로 모델의 적합성이 인정되었다. 회귀식 결과 로젤이 탈지분유보다 황색도에 많은 영향을 미치는 것으로 나타났으며 탈지분유와 로젤의 첨가량이 증가할수록 황색도가 낮아지는 결과가 나타났다. 이는 오디 초콜릿의 품질 특성 및 제조 조건 최적화(Park 2010) 연구에서 오디분말의 첨가량이 증가할수록 황색도가 낮아지는 연구 결과와 유사한 결과를 보였다고 할 수 있다.

2) 점도

로젤 첨가 저지방 요구르트의 점도 측정 결과는 <Table 4>와 같으며 383~2940의 범위를 나타내었다. 점도는 유동식품의 흐름에 대한 저항성을 나타내는 것으로 점도가 높을수록 유동식품의 흐름성이 낮음을 의미하며, 점도가 낮을수록 흐름성이 높음을 의미한다(Joo & Cho 1998). <Table 5>에서 나타낸 것과 같이 점도는 각각의 요인이 독립적으로 작용하는 linear model이 선정되었고, p-value는 <0.0001로 유의적인 결과가 나왔으며 R^2 값은 0.9753으로 높은 설명력을 보이며 모델의 적합성이 인정되었다. 회귀식 분석 결과 탈지분유가 로젤보다 점도에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며 탈지분유의 첨가량이 증가할수록 점도가 급격하게 높아지는 경향을 보이고, 로젤의 첨가량이 증가할수록 완만하게 증가하는 경향을 보였다. Rasic & Kumann(1978)은 요구르트의 점도와 같은 물리적 성질에 영향을 미치는 주요 요인으로는 요구르트 믹스의 총고형분, 단백질, 염 함량과 산도, 균질 및 사용균주의 단백분해 능력 등을 들고 있다. 삼백초(Lee 등 2002), 알로에(Shin 등 1995) 등을 첨가한 경우 요구르트의 점도는 산 생성량에 비례하여 증가하는 것으로 보고되어 있다. 따라서 본 연구에서는 탈지분유와 산성을 띠는 로젤에 의한 결과로서 탈지분유와 로젤의 첨가 수준에 따른 점도 상승이 일어난 것으로 사료된다.

3. 항산화적 특성

1) 총 페놀 함량

로젤 첨가 저지방 요구르트의 총 페놀 함량 측정 결과는 <Table 2>와 같으며 0.50~0.71의 범위를 나타냈다. 총 페놀 함량은 각각의 요인이 독립적으로 영향을 미치는 linear model이 선정되었으며 p<0.0003으로 0.1%의 범위에서 유의적으로 나타났고 R^2 값은 0.9031로 모델의 적합성이 인정되었다<Table 3>. 또한, 로젤이 증가할수록 총 페놀 함량은 급격하게 증가하는 경향을 보였고, 탈지분유가 증가할수록 총 페놀 함량이 완만히 증가하는 것을 볼 수 있었다. 로젤의 총 페놀 함량을 항산화능이 높다고 알려진 녹차와 자두와 비교

<Table 6> Antioxidative activity of yogurt with Roselle extract by response surface design Mean±SD

Sample No.	Skim milk powder (g)	Roselle extract (g)	Responses	
			Total phenolic content (mg/g)	DPPH free radical scavenging activity (%)
1	1.00	0.50	0.50±4.03	62.95±0.03
2	15.00	0.50	0.55±0.53	71.64±2.64
3	1.00	4.00	0.70±1.57	97.18±0.03
4	15.00	4.00	0.71±3.64	95.69±0.26
5	1.00	2.25	0.61±0.16	92.77±2.65
6	15.00	2.25	0.62±3.80	94.87±0.34
7	8.00	0.50	0.50±5.14	68.19±1.35
8	8.00	4.00	0.65±6.36	97.91±0.92
9	8.00	2.25	0.60±3.59	95.02±0.03
10	8.00	2.25	0.63±2.12	95.56±0.29

<Table 7> Analysis of predicted model equation for antioxdative activity of yogurt prepared with Roselle extract

Responses	Model	Mean±SD	R-sqaured[1)]	F-value	Prob>F[2)]	Polynomial equation[3)]
Total phenolic content	Linear	0.61±0.025	0.9031	32.63	0.0003***	+0.61+1.000E-002A+0.083B
DPPH free radical scavenging activity	Quadratic	87.18±0.51	0.9994	1284.34	<0.0001***	+95.21+1.55A+14.67B–2.25AB –1.31A^2–12.08B^2

[1)] $0 \le R^2 \le 1$, close to 1 indicates regression line fits the model.
[2)] ***$p<0.001$
[3)] A: skim milk powder, B: Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)

<Table 8> Sensory properties of yogurt prepared with Roselle extract by response surface design Mean±SD

Sample No.	Skim milk powder (g)	Roselle extract (g)	Responses					
			Color	Flavor	Sourness	Sweetness	Texture	Overall quality
1	1.00	0.50	3.20±1.22	4.20±1.65	2.93±1.53	3.13±1.83	3.20±1.46	3.13±1.66
2	15.00	0.50	3.13±1.40	3.73±1.70	3.53±1.51	3.27±1.15	1.80±1.39	3.33±1.23
3	1.00	4.00	2.60±1.23	3.33±1.53	2.33±1.30	2.67±1.33	3.53±1.98	2.67±1.14
4	15.00	4.00	1.87±1.21	3.40±1.08	3.00±1.27	2.93±1.00	2.33±1.22	1.93±1.08
5	1.00	2.25	4.00±1.45	4.87±1.22	3.53±1.24	2.87±1.23	3.53±1.50	4.20±1.50
6	15.00	2.25	4.27±0.60	4.13±0.73	4.27±0.89	3.40±1.30	3.73±1.08	4.07±1.29
7	8.00	0.50	3.40±1.38	5.53±1.58	3.73±1.44	2.93±1.10	5.07±1.06	4.27±1.50
8	8.00	4.00	2.47±1.29	3.60±0.95	3.80±1.08	3.20±0.91	5.13±1.19	3,47±0.80
9	8.00	2.25	6.20±1.31	6.33±1.21	5.67±1.40	5.47±0.71	6.20±1.28	5.87±1.10
10	8.00	2.25	6.40±1.10	6.40±1.32	6.20±1.54	5.73±1.60	6.13±0.33	6.40±1.12

해 보았을 때 15배 이상 우수한 항산화 기능성을 나타낸다는 결과와 비슷한 결과를 나타내었다.

2) DPPH 자유 라디칼 소거능

로젤 첨가 저지방 요구르트의 DPPH 자유 라디칼 소거능 측정 결과는 <Table 2>와 같으며 62.95~97.91의 범위를 나타냈다. DPPH 자유 라디칼 소거능은 각각의 요인이 독립적으로 영향을 미치는 linear model이 선정되었으며 $p<0.0001$로 유의적으로 나타났고 R^2 값은 0.9994로 회귀변동에 대한 신뢰도가 매우 높음을 알 수 있었다<Table 3>. <Table 3>에 나타낸 회귀식을 살펴보면 로젤이 탈지분유보다 DPPH 자유 라디칼 소거능에 더 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 또한, 로젤의 첨가량이 많은 시료의 DPPH 자유 라디칼 소거능이 100%에 근사한 값을 보여 높은 항산화활성을 나타낸 것으로 사료된다.

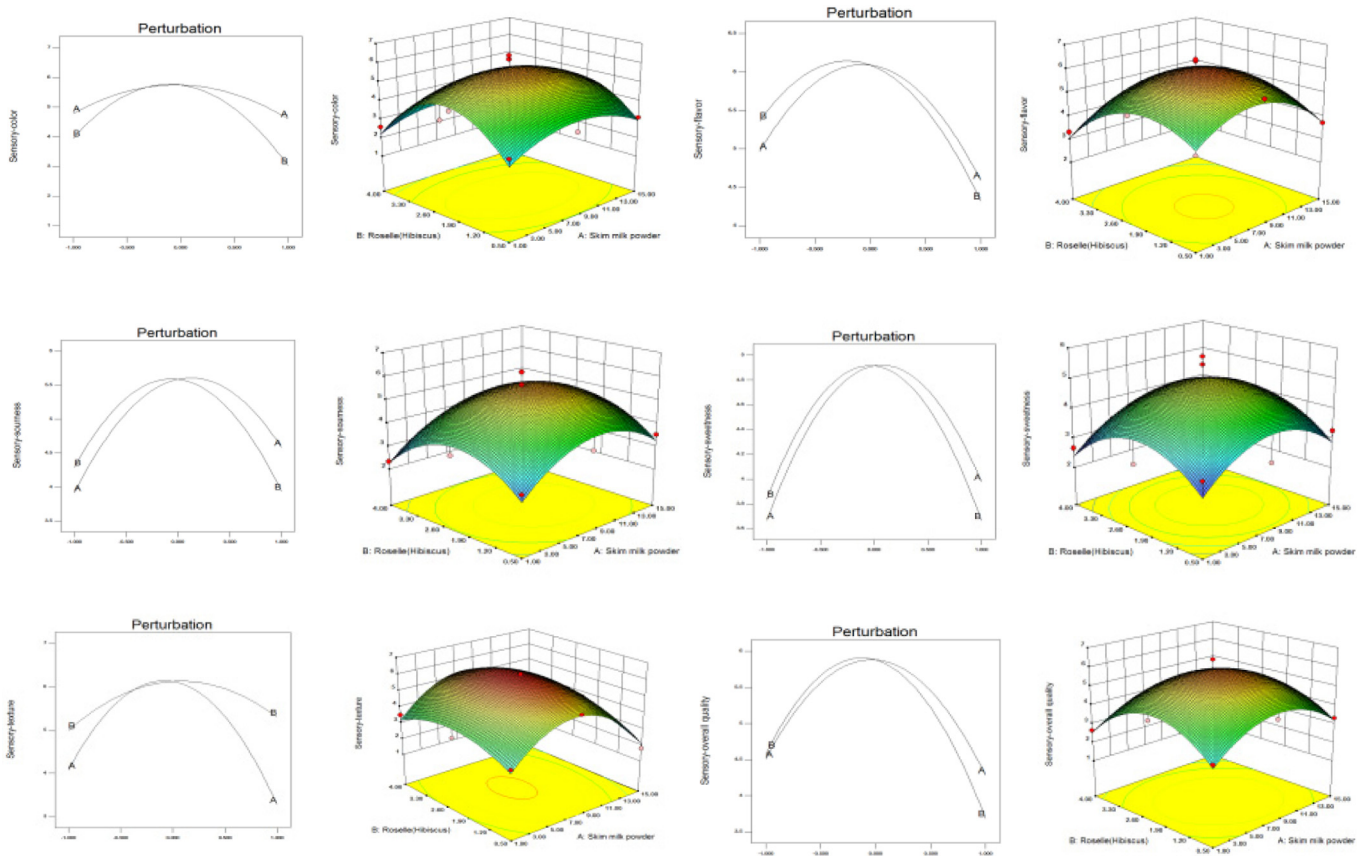
4. 로젤 첨가 저지방 요구르트의 관능검사

로젤 첨가 저지방 요구르트의 관능적 특성에 대한 기호도 검사 결과 색은 1.87~6.40, 풍미는 3.33~6.40, 신맛은 2.33~6.20, 단맛은 2.67~5.73, 부드러움은 1.80~6.20, 전반적인 기호도는 1.93~6.40의 범위를 나타내었다<Table 6>. 색, 풍미, 신맛, 단맛, 부드러움, 전반적인 기호도에 대한 관능 특성은 모두 시료 간 교호작용을 하는 quadratic model이 선정되었으며, 단맛을 제외한 모든 항목에서 유의적인 결과를 보였다

<Table 9> Analysis of predicted model equation for sensory test of yogurt prepared with Roselle extract

Responses	Model	Mean±SD	R-sqaured[1)]	F-value	Prob>F[2)]	Polynomial equation[3)]
Color	Quadratic	3.75±0.76	0.8888	6.39*	0.0482	$+5.75-0.088A-0.46B-0.17AB-1.06A^2-2.26B^2$
Flavor	Quadratic	4.55±0.55	0.9010	7.28*	0.0387	$+6.09-0.19A-0.52B+0.14AB-1.31A^2-1.25B^2$
Sourness	Quadratic	3.90±0.53	0.9140	8.50*	0.0296	$+5.59+0.33A-0.18B+0.018AB-1.34A^2-1.47B^2$
Sweetness	Quadratic	3.56±0.94	0.6762	1.67	0.3196	$+4.91+0.15A-0.088B+0.03AB-1.09A^2-1.16B^2$
Texture	Quadratic	4.06±0.45	0.9605	19.46**	0.0066	$+6.12-0.40A+0.15B+0.05AB-2.45A^2-0.98B^2$
Overall quality	Quadratic	3.93±0.39	0.9638	21.31**	0.0055	$+5.88-0.11A-0.44B-0.23AB-1.49A^2-1.75B^2$

[1)] $0 \le R^2 \le 1$, close to 1 indicates regression line fits the model.
[2)] *p<0.05, **p<0.01
[3)] A: skim milk powder, B: Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)

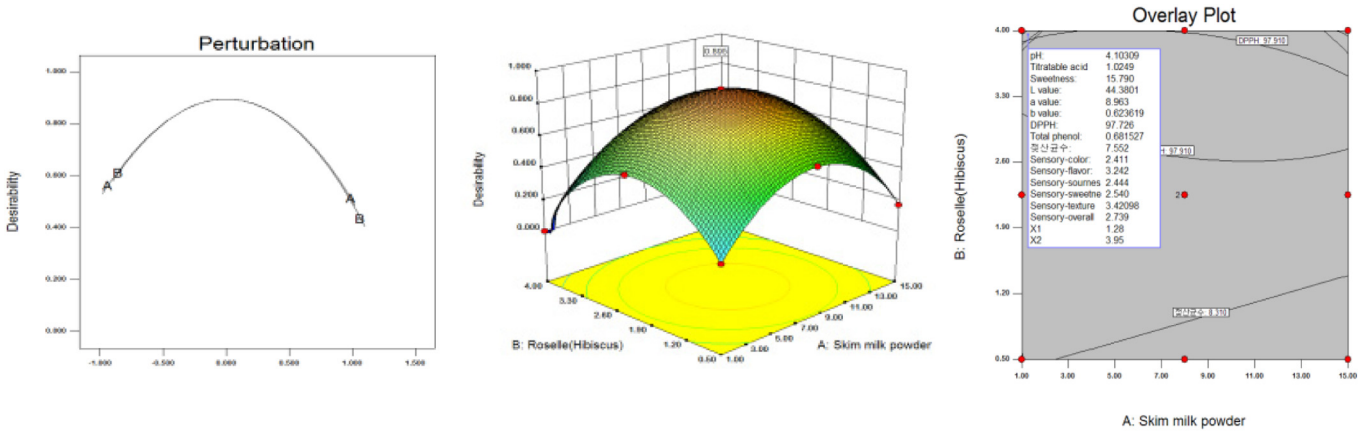


<Figure 1> Perturbation plot and response surface plot on sensory preference of yogurt prepared with Roselle extract

<Table 7>. 각각의 실험 항목에 대한 perturbation plot과 반응표면의 그래프는 <Figure 1>과 같다. 관능검사의 항목들은 대부분 로젤과 탈지분유의 양이 증가할수록 증가하다가 일정 시점 이후에는 다시 감소하는 경향을 보였다. 특히 탈지분유의 양이 증가함에 따라 부드러움에 대한 기호도는 급격하게 증가하다 감소하는 경향을 보였다. 요구르트의 형상과 조직은 다른 음료와는 달리 견고하고 높은 점도를 가져야 하며 입안에서 부드러운 감촉과 유청의 누출이 없어야 하는데 (Kroger 1973), 탈지분유의 첨가량이 증가하면 요구르트의 견고성이 증가하게 되고, 이것이 기호도를 떨어뜨린 것으로 사료된다.

5. 품질 최적화

로젤 첨가 요구르트의 제조조건 최적화는 독립변수인 탈지분유와 로젤의 배합 범위 내에서 유의적인 결과를 나타낸 관능검사 항목인 색, 풍미, 신맛, 부드러움, 전반적인 기호도를 최대로 설정하여 canonical 모형의 수치 최적화(numerical optimization)를 예측하였으며, 지점예측(point prediction)을 통해 최고의 desirability를 나타낸 최적점을 선택하여 도출하였다. 선택된 최적점과 최적화된 로젤 첨가 저지방 요구르트의 표준 레시피는 탈지분유 7.82 g, 로젤 2.09 g, 저지방 우유 100 g, 올리고당 12 g으로 예측되었다. 이 때 사용된 반응 모형을 이용한 모형적 최적화(Graphical optimization)와



<Figure 2> Perturbation plot and response surface plot for effect of skim milk powder and roselle on desirability of optimized yogurt prepared with Roselle extract

perturbation plot은 <Figure 2>에 제시하였으며 도출된 최적점에서의 종속변인들의 특성은 <Figure 2>의 overlay plot에 제시하였다.

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 천연 색소 및 다양한 생리활성 기능을 갖고 있는 로젤을 요구르트에 접목시켜, 로젤첨가 저지방 요구르트를 제조하였으며 반응표면분석법을 통해 관능적 최적점을 갖는 레시피를 확립하였다. 로젤 첨가 저지방 요구르트의 최적 배합 비율을 산출하기 위한 실험 디자인은 Design Expert 8 프로그램을 사용하였으며, 반응표면분석법 중 중심합성계획법에 따라 설계하였다. 탈지분유와 로젤 추출물의 함량을 독립변수로 설정하였고 독립변수의 최대 최소 범위는 예비실험을 거쳐 탈지분유 1~15 g, 로젤 0.5~4.0 g으로 하여 로젤 첨가 저지방 요구르트를 제조하고 이화학적 검사, 기계적 검사, 관능검사를 실시하였다.

1. 이화학적 실험 결과, pH($p<0.001$), 적정산도($p<0.001$)는 탈지분유의 양이 증가함에 따라 높아졌고, 로젤보다 탈지분유가 더 큰 영향을 미쳤다. 유산균($p<0.05$)은 탈지분유보다 로젤의 양이 유산균수 생성에 더 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

2. 기계적 검사 항목에서 명도($p<0.01$), 황색도($p<0.01$), 점도($p<0.001$)는 탈지분유와 로젤이 독립적인 영향을 미치는 linear model이, 적색도($p<0.05$)는 탈지분유와 로젤이 서로 교호작용하는 quardratic model이 선정되었다. 탈지분유 첨가량이 증가할수록 명도와 점도는 증가하였고, 황색도와 적색도는 감소하였다. 반면, 로젤의 첨가량이 증가할수록 명도, 황색도는 감소, 적색도, 점도는 증가하였다.

3. 총 페놀 함량($p<0.001$), DPPH 자유 라디칼 소거능($p<0.001$) 모두 로젤의 함량이 증가할수록 급격하게 증가하였으며, 탈지분유보다 로젤이 더 큰 영향을 미치는 것으로 보여졌다.

4. 관능검사 결과 색($p<0.05$), 풍미($p<0.05$), 신맛($p<0.05$), 부드러움($p<0.01$), 전반적인 기호도($p<0.01$)의 모든 항목에서 탈지분유와 로젤이 서로 교호작용하는 quardratic model의 적합성이 인정되었다.

5. 로젤 첨가 저지방 요구르트의 최적화는 독립변수인 탈지분유와 로젤의 범위 내에서 관능검사 항목 중 유의적인 결과의 범위만을 최대로 설정하고, 모델화에 의해 결정된 반응식을 이용해 만족하는 수치점(numerical point)을 예측한 결과 탈지분유 7.82 g, 로젤 2.09 g이 로젤 첨가 저지방 요구르트의 최적배합비율로 산출되었다. 이상의 연구결과에서 전유를 저지방 우유로 대체한 로젤 첨가 저지방 요구르트가 영양학적, 기능적, 품질 및 기호도 측면에서 연구 개발의 가치가 있다고 판단되며, 더 나아가 다양한 식품 분야에서 로젤을 이용한 상품개발의 가능성을 확인할 수 있었다.

References

Chamber JV. 1979. Culture and processing techniques important to the manufacture of quality yogurt. J. Cult. Dairy Prod. 14(1):28-34

Cho MH, No HK, Prinyawiwatkul W. 2008. Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. J. Food Sci. 73(1):70-77

Cho YS, Cha JY, Kwon OC, Ok M, Shin SR. 2003. Preparation of yogurt supplemented with sweet persimmon powder and quality characteristics. Korean J. Food Preservation. 10(2):175-181

Davis JG. 1970. Laboratory control of yogurt. Dairy Ind. 36:139

Esselen WB, Sammy GM. 1975. Applications for roselle as a red food colorant. Food Prod. Dev. 9(8):37-40

Farombi EO, Fakoya A. 2005. Fee radical scavenging and antigenotoxic activities of natural phenolic compounds in dried flowers. Mol Nutr Food Res. 49(12):1120-1128

Haji FM, Haji Tarkhani AH. 1999. The effect of sour tea

(Hibiscus sabdariffa L) on essential hypertension in patients with type II diabets. J Ethnopharmacology. 65(3):231-236

Hansawasdi C, Kawabata J, Kasai T. 2000. Alpha-amylase inhibitors from roselle (Hibiscus sabdariffa Linn.) tea. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 64(5): 1041-1043

Harte F, Luedecke L, Swanson B and Barbosa-Canovas GV. 2003. Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. J. Dairy Sci. 86(4):1074-1082

Hong KH, Nam ES, Park SI. 2004. Preparation and characteristics of drinkable yogurt added water extract of Omija (Schzandra chinensis Baillon). Korean J Food & Nutr. 17(2):111-119

Hood SK, Zottola EA. 2006. Effect of low pH on the ability of Lactobacillus acidophilus to survive and adhere to human intestinal cells. J Food Sci. 53(5):1514-1416

Im KS. 2003. Effect of fermented milk on human health. Kor J. Food Nutr. 16(1):93-103

Joo DS, Cho SY. 1998. Quality changes in seamustard *Yankeng* during al-foli wrapping storage and its food component analysis. J. East Coastal Res. 9(1):33-42

Jung EK. 2012. Quality Characteristics and Storage Stability of Pork Patty with the Addition of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Doctors degree thesis. Sookmyung Women's University

Jung EK, Kim YJ, Joo NM. 2013. Physicochemical properties and antimicrobial activity of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Journal of the Science Food and Agriculture. DOI 10.1002/jsfa.6256

Kim HK, Bae HC, Nam MS. 2003. Fermentation properties of Mulberry yogurt. Jour Agri Sci. 30(1):66-75

Kim JI, Park SI. 1999. The effect of mugwort extract on the characteristics of curd yogurt. J. Food Hygiene and Safety. 14(4):352-357

Ko SH, Kim SI, Han YS. 2008. The quality characteristics of yogurt add supplemented with low grade dried-persimmon extracts. Korean J Food Cookery Sci 24(6):735-741

Kroger M, Weaver JC. 1973. Confusion about yogurt compositional and otherwise. J Milk Food Technol. 36(4):388-394

Lee EH, Nam ES, Park SI. 2002. Characteristics of curd yogurt from milk added with Maesil (Prunus mume). Korean J Food Sci. Technol. 34(3):419-425

Lee JH, Hwang HJ. 2006. Quality characteristics of curd yogurt with Rubus coreanum Miquel Juice. Korean J Culinary Res. 12(2):195-205

Lee SW, Kim HS and Lee IS. 2002. Preparation and quality characteristics of yogurt added with saururus chinensis (lour.) bail. Korean J. Soc. Food Sci. Nutr. 31(3):411-416

Lee YJ, Kim SI, Han YS. 2008. Antioxidant activity and quality characteristics of yogurt added yuza (Citrus junos Sieb ex Tanaka) extract. Korean J Food & Nutr. 21(2):135-142

Liu RH, Dewanto V, Wu X, and Adom K.K. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J. Agri. Food Chem. 50(10):3010-3014

Onyenekwe PC, Ajani EO, Ameh DA, Gamaniel KS. 1999. Antihypertensive effects of roselle (Hibsicus sabdariffa) calyx infusion in spontaneously hypertensive rats and a comparison of its toxicity with that in Wistar rats. Cell Biochemistry and Function. 17(3):199-206

Park DJ. 1994. Optimization of manufacturing conditions of yoghurt using skimmilk and soymilk. Doctors degree thesis. Korean University

Park SH. 2010. Quality characteristics and processing opimization of chocolate with addition of mulberry fruit. Masters degree thesis. Sookmyung Women's University

Rasic JL, Kurmann JA. 1978. Yogurt. Scientific grounds, technology, manufacture and preparations. Technical Dairy Publishing House. p17

Shin YS, Lee KS, Lee JS and Lee CH. 1995. Preparation added with aloe vera and its quality characteristics. Korean J. Food Sci & Nutrition. 24(2):254-261

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Oxidant and antioxidant part A, Methods Enzymol. 299(1):152-178

Tee, P.L., Yusof, S., and Mohamed, S. 2002. Antioxidantive properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in linoleic acid model system. Nutrition & Food Science. 32(1):17-20

Tsai PJ, McIntosh J, Pearce P, Camden B, Jordan BR. 2002. Antocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. Food Res Int. 35(4):351-356

2013년 4월 8일 신규논문접수, 8월 1일 수정논문접수, 8월 5일 채택