

발간등록번호

11-1543000-001704-01

**다양한 효용(항균, 방충 및  
항산화)을 가진 식품 포장재 개발  
최종보고서**

2017. 03. 29.

주관연구기관 / 한국생산기술연구원

협동연구기관 / 고려대학교 산학협력단

(주)에찬

**High Value-added Food Technology  
Development Program  
R&D Report**

**농림축산식품부**

## 2. 제출문

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “다양한 효용(항균, 방충 및 항산화)을 가진 식품 포장재 개발”(개발기간 : 2013. 11. ~ 2016. 11.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 03. 29.

주관연구기관명 : 한국생산기술연구원

(대표자) 이 성 일



협동연구기관명 : 고려대학교 산학협력단

(대표자) 고 제 상 (인)



협동연구기관명 : 고려대학교 산학협력단

(대표자) 고 제 상 (인)



협동연구기관명 : (주)에찬

(대표자) 이 중 훈 (인)



주관연구책임자 : 박 노 형

협동연구책임자 : 박 현 진

협동연구책임자 : 한 재 준

협동연구책임자 : 이 중 훈

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

### 3. 보고서 요약서

#### 보고서 요약서

과제고유번호	313035-3	해당 단계 연구 기간	2013. 11. 20. ~2016.11.19.	단계 구분	기초연구 /총단계
연구 사업명	중 사업명	고부가가치식품기술개발사업			
	세부 사업명				
연구 과제명	대 과제명	다양한 효용(항균, 방충 및 항산화)을 가진 식품 포장재 개발			
	세부 과제명				
연구 책임자	박 노 형	해당단계 참여 연구원 수	총: 69 명 내부: 69 명 외부: 69 명	해당단계 연구 개발비	정부: 900,000 천원 민간: 300,000 천원 계: 1,200,000 천원
		총 연구기간 참여 연구원 수	총: 69 명 내부: 69 명 외부: 69 명	총 연구개발비	정부: 900,000 천원 민간: 300,000 천원 계: 1,200,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	한국생산기술연구원 휴먼문화융합그룹 고려대학교 산학협력단 (주)예찬			참여기업명 (주)예찬	
위탁 연구	-			-	
<b>요약</b> ○ 항균, 방충 및 항산화 효용을 가진 천연유래 정유 선정 및 정유의 성상별 조합에 따른 최적 시너지 조합 선정 ○ 천연유래 정유를 HNTs에 포집하는 캡슐화 제조 공정 개발 ○ 캡슐 내 정유의 장기간 방출 특성 조절 가능한 캡슐 처리 기법 개발 ○ 기능성 캡슐의 포장재 인쇄층에 도입하는 기능성 포장재 제조 공정 개발 ○ 기능성 포장재의 식품 적용에 따른 품질요인 평가 시스템 구축 ○ 항균 및 항산화 특화 식품 포장재, 방충 특화 식품 포장재 개발 및 제품화				보고서 면수 143 쪽	

#### 4. 국문 요약문

		코드번호	D-01			
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 천연 유래 기능성 정유(essential oil)를 투습시킨 halloysite nanotubes (HNTs) 복합 처리된 기능성 포장재 개발</li> <li>○ 천연 유래 정유(essential oil) 선정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유 종류 및 농도에 따른 항균, 항산화 및 방충 효과 확인</li> </ul> </li> <li>○ 선정된 정유를 이용한 미세캡슐 제작 기술 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 튜브형태의 halloysite에 정유를 포집하는 방법을 적용한 미세캡슐화 기술 개발 및 방출 거동 분석</li> </ul> </li> <li>○ 다기능성 식품 포장재 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유 미세캡슐을 적용한 다양한 사양의 코팅액 개발 및 공정 연구</li> <li>- 식품 포장재 제조 및 특성 분석/평가</li> </ul> </li> <li>○ 다기능성 식품 포장재 상용화 시스템 구축</li> </ul>					
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 항균, 방충 및 항산화 효용을 가진 천연유래 정유 선정 및 이의 조합에 따른 최적 조합 선정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 효용별 대표 정유 선정                   <ul style="list-style-type: none"> <li>: 항균 및 항산화(thyme oil), 방충(clove bud oil)</li> </ul> </li> <li>- 천연 유래 시너지 정유 조합 선정                   <ul style="list-style-type: none"> <li>: 2가지 정유 조합(5종), 3가지 정유 조합(3종) 선정</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>○ 천연유래 정유를 HNTs에 포집하는 캡슐화 제조 공정 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 상용화 시스템 구축을 위한 캡슐화 장비 설계 및 개발</li> </ul> </li> <li>○ 캡슐 내 정유의 장기간 방출 특성 조절이 가능한 캡슐 처리 기법 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- HNTs 적용 가능 layer-by-layer (LbL) 및 end-capping 공법 개발</li> </ul> </li> <li>○ 기능성 캡슐을 인쇄층에 도입하는 포장재 제조 공정 개발</li> <li>○ 기능성 포장재의 식품 적용에 따른 품질요인 평가 시스템 구축</li> <li>○ 항균 및 항산화 특화 식품 포장재, 방충 특화 식품 포장재 개발 및 제품화               <ul style="list-style-type: none"> <li>• HNTs 캡슐 제조 및 효과 관련 논문 3건 게재</li> <li>• 다양한 효용을 가진 캡슐 및 포장재 제조 공정 관련 특허 출원 5건</li> <li>• 방충 HNTs 캡슐 관련 사업화 성과 1건</li> </ul> </li> </ul>					
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 나노컨테이너인 halloysite의 기초 연구 자료 마련으로 상품화 기술 기대</li> <li>○ 항균포장재를 이용한 미생물 저감화 기술 적용으로 인한 부패미생물 저감효과는 식품 유통 기간 연장으로 경제적 측면으로 크게 기여할 것으로 예상</li> <li>○ 식품의 미생물학적 안전성 확보는 궁극적으로 국민 건강 증진에 기여</li> <li>○ 고순도 탄소나노튜브의 대량생산은 어려운 반면, 같은 형태지만 훨씬 경제성이 높은 halloysite은 천연소재로써 다양한 분야에서 응용 가능</li> <li>○ 국내에서 튜브형태의 halloysite 생산 및 이를 적용한 제품 연구 강화로 향후 국내 산업 뿐만 아니라 해외 수출에도 기여할 것으로 기대됨.</li> </ul>					
중심어 (5개 이내)	식품포장	항균성	방충	정유	할로이사이트	



5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02		
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ The development of functional food packaging materials with natural essential oil loaded halloysite nanotubes (HNTs)</li> <li>○ The selection of multi-functional natural essential oil                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- To confirm the effect of essential oil for antibiosis, mothproof, antioxidation</li> </ul> </li> <li>○ The R&amp;D of the encapsulation process of selected essential oil                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- To develop essential oil loaded HNTs and evaluate release properties</li> </ul> </li> <li>○ The R&amp;D of multi-functional food packaging materials                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Surface coating method of essential oil loaded HNTs for controlled release</li> <li>- Manufacturing process and the evaluation of packaging materials</li> </ul> </li> <li>○ The confirmation of commercialization system of functional food packaging materials</li> </ul>				
Results	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Development of representative single and synergistic combination essential oil for antibiosis, mothproof, anti-oxidation                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- The selection of essential oils for antibiosis, mothproof, anti-oxidation : Antibiosis and anti-oxidation (thyme oil), Mothproof (clove bud oil)</li> <li>- The development of synergistic combination for essential oils : 2 type of essential oils combination (5 type), 3 type (3 type)</li> </ul> </li> <li>○ The development of encapsulation process for essential oil loaded HNTs                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Encapsulation machine design for commercialization</li> </ul> </li> <li>○ The development of surface treatment process for longer release behavior of HNTs capsules                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Layer-by-layer (LbL) and end-capping process</li> </ul> </li> <li>○ The development of functional ink containing HNTs capsules</li> <li>○ The development of evaluation system for quality factor of food packaging</li> <li>○ The development of antibiosis, anti-oxidation and mothproof food packaging materials                             <ul style="list-style-type: none"> <li>• The publication of three paper</li> <li>• The application of six related patents</li> <li>• The sales of one developed products</li> </ul> </li> </ul>				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ The commercialization of HNTs by basic research for its properties and application</li> <li>○ The improvement of economic feasibility in allied industries by extension of shelf-life period using of functional food packaging materials in food</li> <li>○ The contribution for national health promotion by safety assurance for food-borne pathogenic microorganism in food</li> <li>○ The application in various industry fields and the contribution of market formation by HNTs properties such as natural substance and nanotubular structure, excellent mechanical and thermal properties.</li> </ul>				
Keywords	Food Package	Antibiosis	Mothproof	Essential Oil	Halloysite

## 6. 영문목차

Chapter 1. Introductions of research .....	7
Section 1. Overview and objectives of research .....	7
Section 2. Methods and scopes of research .....	8
Section 3. Importances of research .....	16
Chapter 2. R&D Satus in Domestic and Abroad .....	20
Section 1. Case investigation for antibiosis and anti-oxidant packaging .....	21
Section 2. Case investigation for mothproof packaging .....	21
Chapter 3. Research Contents and Results .....	24
Section 1. Methodology and progress direction of research .....	24
Section 2. Research methods for functional packaging materials ..	35
Section 3. Properties of essential oil loaded HNTs .....	67
Section 4. Properties of packaging materials with essential oil loaded HNTs .....	93
Section 5. Commercialization of functional packaging materials ..	120
Chapter 4. Goal achievements and contributions to related area .....	128
Section 1. Goal achievements and contributions .....	128
Section 2. Main evaluation points of research .....	131
Chapter 5. Plans for the Practical Use of Results .....	132
Chapter 6. International Science and Technology Information .....	134
Chapter 7. security level of research results .....	135
Chapter 8. Facilities and Equipments .....	136
Chapter 9. Safety Management of Lab .....	137
Chapter 10. Representative record of a research .....	138
Chapter 11. The others .....	139
Chapter 12. References .....	141

## 7. 본문목차

### < 목 차 >

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	7
제 1 절 연구개발의 개요 및 목표 .....	7
제 2 절 연구개발의 내용 및 범위 .....	8
제 3 절 연구개발의 필요성 .....	16
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	20
제 1 절 항균 및 항산화 포장재 사례 조사 .....	21
제 2 절 방충 포장재 사례 조사 .....	21
제 3 장 연구수행 내용 및 결과 .....	24
제 1 절 연구개발 방법론 및 진행 방향 .....	24
제 2 절 항균, 항산화 및 방충 포장소재의 연구 방법 .....	35
제 3 절 정유가 포집된 HNTs 캡슐 제조 및 특성 평가 .....	67
제 4 절 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재 제조 및 특성 분석 .....	93
제 5 절 기능성 식품 포장재의 산업화 .....	120
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	128
제 1 절 연구개발 목표달성도 및 관련분야 기여도 .....	128
제 2 절 평가의 착안점 .....	131
제 5 장 연구결과의 활용계획 등 .....	132
제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	134
제 7 장 연구개발성과의 보안등급 .....	135
제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황 .....	136
제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적 .....	137
제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적 .....	138
제 11 장 기타사항 .....	139
제 12 장 참고문헌 .....	141

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 개요 및 목표

### 1. 연구개발의 개요

본 연구는 식품의 제조, 유통 및 보관의 3단계 과정에서 발생하는 식품의 부패 및 변질, 충해 등의 문제를 해결하기 위한 방안으로서 항균, 방충 및 항산화 등의 효용을 가진 식품 포장재 개발을 목표로 하여 일부 포장소재에 도입 및 적용 후 포장재 개발을 추진하였다. 다양한 효용이 도입된 포장재가 적용된 식품의 안전성 및 안정성 확보를 위하여 기능성 물질 및 캡슐 물질의 원재료로서 친환경 소재를 적용하였으며, 다양한 효용이 확보된 캡슐 물질 및 포장재의 가공 및 제조 방법을 확립하여 포장재로서의 산업화가 가능한 기반을 구축하였다. 또한 포장재에 기능성 캡슐이 적용되어 발생할 수 있는 식품으로의 전이 및 이취 등의 문제 가능성 및 소비자의 선호도 저하 등의 문제점 발생을 최소화하기 위하여 각 개발 제품별 관능검사를 완료하여 제품에 대한 신뢰도를 확보하기 위한 연구가 진행되었다. 상기의 개발 공정을 적용하여 다양한 효용을 가진 식품 포장재를 산업화하여 제품을 개발하였다.



## 2. 연구개발의 최종목표

천연 유래 다기능성 물질인 정유(essential oil)을 투습시킨 halloysite nanotubes (HNTs) 및 이를 적용한 기능성 포장재 개발

연구개발의 최종 목표 달성을 위한 세부 목표는 아래 표와 같다.

[표 1] 연구개발의 세부목표

구분	연구개발의 세부목표
기능성 소재 선정	항균, 항산화 및 방충 특성을 가진 천연 유래 정유 선정
	친환경성이 확보된 미세캡슐 소재의 선정
산업화	정유가 포집된 미세캡슐화 제조 공정 확립
	미세캡슐을 적용한 기능성 식품 포장재로의 산업화
식품 포장재 개발	식품저해미생물의 항균 특성을 가진 식품 포장재 개발
	식품의 품질 저하 방지를 위한 항산화 특성을 가진 식품 포장재 개발
	충해 피해 방지를 위한 방충 특성을 가진 식품 포장재 개발

## 제 2 절 연구개발의 내용 및 범위

### 1. 연구개발 내용 및 범위

#### 가. 천연 유래 항균 정유의 효과 검증을 통한 선정 및 확보

- 천연 유래 항균 정유의 탐색 및 선정을 위한 기초 연구로 연구 수행에 필요한 실험인자 결정
  - 제어 대상 식품위해미생물 선정 및 확보
    - : 식중독세균: Salmonella enterica와 Listeria monocytogenes
    - : 식품부패균: Pseudomonas aeruginosa와 Erwinia spp.
  - 문헌조사를 통하여 항균력이 있다고 보고된 100종의 천연 유래 정유 선정 및 확보
- 기상 및 액상에서 천연 유래 정유(100종)의 식품위해미생물에 대한 최소저해농도(MIC)와 최소치사농도(MLC) 확인
  - 기화성을 지닌 천연 유래 정유의 항균특성 확인을 위한 방법은 미생물 생육판별배지를 이용한 기체의 최소저해농도 측정법 결정
    - : 미생물 생육판별배지의 색변화를 통해 천연 유래 정유의 식품위해미생물에 대한 MIC 확인

- : 확산도말법을 이용하여 최소치사 농도 확인
- : 1차 항균활성 테스트를 통해 식품위해미생물에 대해 항균성을 보인 정유 스크리닝
- : MIC와 최소치사농도 (MLC)를 측정하기 위한 방법은 96-well plate를 이용한 microdilution assay로 결정
- : 선별된 추출물들의 식품위해미생물에 대한 최소저해농도와 최소 치사농도 확인

#### 나. 천연 유래 항산화 정유의 효과 검증 및 확보

- 문헌 조사를 통해 항산화력이 우수한 정유 선정
- DPPH radical 소거능 확인을 통한 정유의 항산화 효과 확인

#### 다. 천연 유래 방충 정유의 효과 검증을 통한 선정 및 확보

- 방충 소재 개발을 위한 대상 해충 선정
- 식품 산업에서 생산, 유통 및 저장 중 빈번히 발생하는 해충의 피해를 저감화하기 위한 방충 실험 적용을 위한 대상 해충을 선정
- 화랑곡나방(*Plodia interpunctella*) 유충을 대상 해충으로 선정
- 방충 물질로서 천연 유래 정유 물질의 탐색 및 확보
  - 문헌조사를 통해 천연유래 정유 선정
  - 합리적인 비용으로 구할 수 있는 정유 중에서 방충효과가 우수한 정유 선정
  - 선정 정유 목록 : garlic, onion, oregano, sage, orange, pine, mint, tea tree, clove, rosemary
- 훈증살충력 테스트 트랩을 이용한 사멸 효과 검증
  - 동종포식과 아사에 의한 사멸의 변수를 제거하기 위하여 각각의 vial에 저장 해충 유충 1마리와 현미 3알 적재
  - 각각의 vial에 통기구를 설치하여 방충물질이 분주된 여과지로부터 나오는 휘발성 물질의 유충 사멸 효과 확인

- 기피 테스트 트랩을 이용한 유충 기피 효과 검증
  - 방충물질이 분주된 여과지를 트랩 안에 위치시킨 후 48시간 동안 29℃에서 유충 기피도 측정
  - 기피 효과 검증에 사용된 유충은 각 트랩당 20마리 적재
- 천연 유래 정유 물질 및 halloysite의 세포 생존에 미치는 영향 조사
  - 천연 정유 물질 및 포집에 사용되는 halloysite의 세포 생존에 미치는 영향을 조사하여 방충 포장 적용시 인체에 대한 안전성 평가
  - MTT assay

#### 라. 천연 항균 정유의 조합처리에 의한 식품위해미생물 살균시너지 확인

- 기체상 항균 정유 살균시너지를 확인하기 위한 실험방법 결정
  - 문헌조사를 통해 기체상 항균 정유 살균시너지 측정법 탐색
  - 액상 항균물질의 저해시너지를 확인하는 방법인 checkerboard assay를 기체상 항균 물질의 특성에 맞게 modification하여 실험방법을 결정
  - 결정된 실험방법을 확인하기 위하여 예비실험을 통한 실험방법 확립
- 식품위해미생물에 대한 항균시너지를 보이는 정유 기체의 조합 탐색
  - 1차년에 수행하였던 기체상 천연 정유의 식품위해미생물에 대한 MIC와 MLC 측정 결과에서 *L. monocytogenes*에 대해 우수한 항균력을 보인 천연 항균 정유들을 선정
  - 선정된 정유의 *L. monocytogenes* cocktail에 대한 MIC 재검증
  - 기체상 항균 정유 살균시너지 확인을 위해 확립한 실험방법을 이용하여 개별적으로 항균력이 우수한 항균기체들을 다양한 농도로 조합 처리하여 *L. monocytogenes*에 대해 항균시너지를 보이는 항균기체 조합 확인
- 기체 조합의 분석을 통한 조합 조건 최적화
  - 각 천연 항균 정유의 주요성분들의 분석조건을 확립
  - 천연 항균 정유의 주성분에 따른 시너지 효과 측정

#### 마. 정유 포집 halloysite 캡슐 제조 기초 연구 및 특성 분석법 확립

- 캡슐 내 정유 포집 및 halloysite 캡슐 제조 기술 연구
  - 문헌 조사를 통한 캡슐 내 정유 포집 방법 조사
  - Vacuum pulling methods를 이용한 정유의 halloysite 내 포집 방법 적용
  - 캡슐화 장비 도입 및 적용을 통한 캡슐 제조 방법 연구
- 이화학적 특성, 방출거동 특성, 형태학적 특성 분석
  - GC-FID 및 FT-IR을 통한 halloysite에 포집된 정유 확인 및 방출거동 분석
  - SEM과 TEM 분석을 통한 halloysite 내 정유 확인 및 캡슐 형상 분석
- 정유 포집 halloysite 캡슐 포장재 적용 방법 연구
  - halloysite 캡슐의 인쇄용 잉크 적용을 통한 그라비아 및 플렉소 인쇄 적용
  - 종이 및 필름 등의 포장재 형태별 인쇄방법 적용 및 연구

**바. HNT 내 정유 포집 방법 기술 개발을 통한 포집된 정유의 방출효과 확인 및 항산화 효과 검증**

- 생물고분자를 이용한 halloysite 캡슐 표면 처리 연구
  - 생물고분자의 halloysite 캡슐 표면 처리 유무 확인(zeta potential 측정, FT-IR 측정)
- 생물고분자를 이용해 표면 처리한 정유/halloysite 캡슐의 방출 거동 분석
  - Eudragit 고분자를 이용한 정유/halloysite 캡슐의 표면처리 GC/FID를 이용한 방출량 측정
- 정유 포집 halloysite 캡슐의 농도별 항산화 효과 확인
  - DPPH radical 소거능 확인을 통한 항산화 효과 확인
  - Reducing power assay를 이용한 항산화 효과 확인

**사. HNT 내 정유 포집 방법 기술 개발을 통한 포집된 정유의 방출효과 확인 및 방출 효과 검증**

- 방출력을 지닌 clove bud oil의 성분 분석
  - GC/MS를 이용한 clove bud oil의 스크리닝



- 단일 구성성분의 물질명 및 함량 확인

○ 정유의 기피 유발 물질 확인

- 스크리닝을 통한 결과를 바탕으로 정유 중 90%이상을 차지하는 3가지 단일 성분들의 기피력을 확인
- 가장 많은 비율을 차지하는 3가지 물질들 외의 기피 유발 물질들을 간접적으로 확인

○ 화랑곡 나방 유충에 대한 방충력을 갖는 최적의 정유-halloysite 캡슐화법 확인

- End-capping 및 LbL법으로 제조된 정유/halloysite 캡슐의 기피력 확인
- End-capping 및 LbL법으로 캡슐화된 정유가 함유된 방충 필름의 침투 저해력 비교 평가

○ 제작된 정유/halloysite 캡슐의 기피 지속력 확인

- 지속적인 방충력을 검증하기 위하여 코팅되지 않은 정유/halloysite 캡슐과 LbL법으로 코팅된 정유/halloysite 캡슐의 기피력 확인

○ 제작된 방충 필름의 지속적인 침투 억제력 확인

- 정유/halloysite 캡슐의 표면 코팅에 따른 방충력의 지속성을 확인하기 위해 그라비아 인쇄가 된 방충 필름을 이용하여 지속적인 침투 억제력 검증

**아. 정유 포집 캡슐 적용 기능성 포장재 시제품 개발**

○ 시제품 제조 관련 포장재 제조 공정 및 포장재 가공방법 개발

- 그라비아 및 플렉소 인쇄 적용을 통한 포장재 생산

○ 포장재 생산을 통한 정유 포집 캡슐의 식품으로의 전이/이취 분석

- 관능검사 분석을 통한 식품으로의 기능성 물질의 전이 및 이취 확인

**2. 연차별 연구개발의 목표 및 내용**

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도	2013년	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정유 종류 및 농도에 따른 항산화, 항균 및 방충 효과 확인               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 1 : 항산화 및 항균 part</li> <li>- 협동 2 : 방충 part</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유의 종류 및 농도별 항산화, 항균 방충 효과 확인</li> <li>- 정유의 세포 독성안전성 평가 시행 (협동 1)</li> <li>- 최적의 정유물질 종류 및 농도 선정</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정유-halloysite 캡슐 제조               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 1 : 항산화 및 항균 part</li> <li>- 협동 2 : 방충 part</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유 및 halloysite 종류 확정</li> <li>- Encapsulation 방법에 대한 연구(협동 1)</li> <li>- 정유-halloysite 캡슐제조 기술 모색 (협동 1)</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정유-halloysite 캡슐 특성 분석               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 2</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 분석방법 모색</li> <li>- 이화학적, 방출거동 특성, 저장안정성</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 포장재용 코팅재 조성 연구               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 주관기관</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유-halloysite 캡슐 분산성 연구</li> <li>- 기본 포장용 코팅재 조성 연구</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 방충, 항균 및 항산화 포장재 적용 사례조사 및 문제점 분석               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 방충, 항균 및 항산화 포장재 사례조사</li> <li>- 제품에 적용된 방충, 항균 및 항산화 포장재의 문제점 분석</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 포장재 시제품 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3(주관기관 기술 이전)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 그라비아 인쇄를 활용한 기능성 포장재 시제품 제작</li> </ul>

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
2차년도	2014년	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 선정된 정유를 halloysite에 포집하는 기술 개발 및 특성 분석               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 1 : 항산화 및 항균 part</li> <li>- 협동 2 : 방충 part</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유-halloysite 캡슐 제조 기초 연구 (협동 1)</li> <li>- 정유의 지속적 방출을 위한 정유 함유 halloysite에 표면처리 연구 (협동 1)</li> <li>- 제조된 halloysite의 일반적인 특성 및 방출거동특성 분석 (협동 2)</li> <li>- 살균시너지 확인 및 모델시스템 적용을 위한 식품 선정 (협동 2)</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 선정된 정유의 미세캡슐 제작 및 다기능성 식품 포장재 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 1 : 항산화 및 항균 part</li> <li>- 협동 2 : 방충 part</li> <li>- 주관기관 : Scale-up 코팅재 개발 및 공정 연구</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유-halloysite 캡슐 제조를 위한 공정 최적화 연구 (협동 1 &amp; 2)</li> <li>- 캡슐 제조 공정 scale-up 연구</li> <li>- 캡슐을 이용한 코팅재의 개발</li> <li>- 실험실적 코팅 공정 연구 및 샘플 제조</li> <li>- 효과의 지속성 예측 연구 (협동 1)</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 포장재의 가공 방법 개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3(주관기관 기술 이전)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 그라비아 인쇄 기반의 기능성 포장재 개발 공정</li> <li>- Lamination 공정 활용한 기능성 함유 포장재 개발</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 품질 평가 기술개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 이화학적 특성 평가</li> <li>- 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 미생물학적 특성 평가</li> <li>- 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 관능적 특성 평가</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 산업화를 위한 기능성 포장재 생산 가공 조건 확립               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3(주관기관 기술 이전)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 산업화 적용을 위한 최적의 생산가공 조건 확립</li> <li>- 확립된 가공 조건에 의한 생산성 확인</li> </ul>

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
3차년도	2015년	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정유-halloysite 포장재의 항산화, 항균 및 방충 효과 확인               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 1 : 항산화 및 항균 part</li> <li>- 협동 2 : 방충 part</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유-halloysite의 항산화, 항균 및 방충 효과 검증</li> <li>- 포장재 적용 최적화 연구</li> <li>- 최종적으로 제조된 다기능성 포장재에서의 항산화, 항균 및 방충 효과 확인</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 다기능성 식품 포장재 상용화시스템 구축               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 코팅재 제조 조성 최적화 및 scale-up 연구</li> <li>- 코팅 공정 최적화 및 시제품 제작</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 포장재의 제품 적용</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 제품 적용을 위한 품질기준 확보(제품 적용 적합성 검증) (협동 3)</li> <li>- 기능성 포장재 적용에 의한 개선효과 확인 (주관기관)</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 품질 평가 기술개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 3</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 적용 제품의 관능적 특성과 이화학적 품질 요인 통계 분석</li> <li>- 품질 요인/평가 기준 설정 및 평가시스템 구축</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 포장재를 통한 사업화 모색               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 협동 1 : 항산화 및 항균 part</li> <li>- 협동 2 : 방충 part</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 방충, 항균, 항산화 기능성 포장재 적용 분야 확대 검토 (협동 1 &amp; 2)</li> <li>- 타 식품군(음료, 주류 등) 및 타 분야 확대 적용을 통한 사업화 (협동 3)</li> </ul>

### 제 3 절 연구개발의 필요성

#### 1. 식품산업에서의 기능성 식품 포장재의 필요성

- 식품은 크게 제조, 유통, 보관의 3단계 과정을 거치며, 제조 단계보다 유통 및 보관 단계에서 다수의 문제가 발생함.
  - 생산 시 환경요건 및 노출 유통 환경조건(온·습도 등)에 따라 곰팡이 발생, 갈변, 충해 등의 문제가 발생함.
  - 가공식품의 벌레(나방류)에 의한 피해는 주로 밀가루 제품군에서 발생되며, 곰팡이 등 미생물에 의한 피해는 냉장유통 제품군에서 발생
  - 포장식품의 산화에 의한 색, 향미 등의 품질변화로 인한 식품 품질 저하현상 발생

[표 2] 가공식품에 발생하는 문제 발생 현황 및 시장규모

(단위: US\$ 1,000)

피해유형	제품 종류		국내(수출)	국외(수입)	포장형태
벌레에 의한 피해	면류	파스타	92	1,854	복합필름(파우치), 지합
		냉면	4,393	31	복합필름(파우치)
곰팡이 등 유해미생물에 의한 피해	육가공품	소시지	1,070	13,411	복합필름(진공포장) 복합필름
		고추장	11,216	109	복합필름(파우치)
산화작용에 의한 피해	장류	된장	3,266	2,447	
		반찬류	오이류	195	2,898

[표 3] 제품 피해 발생 현황

피해 유형	제품 피해 발생 현황
벌레에 의한 피해	- 이물 종류별 피해 현황은 벌레(2,343건, 49.5%)로 가장 많이 발생 - 소비·유통단계 혼입률(445건, 19.3%)이 제조단계 혼입률(73건, 3.2%)보다 월등히 높음. - 이는 식품 보관 및 취급 과정 중 부주의로 인해 발생한 것으로 분석됨1)
곰팡이 등 유해미생물에 의한 피해	- 곰팡이는 570건, 12.0%로 벌레에 의한 피해에 이어 잦은 빈도로 발생 - 소비·유통단계(85건, 15.2%)나 제조단계의 혼입률(84건, 15.0%)이 비슷한 수준으로 나타남. - 제조 과정 중에는 건조처리 미흡 또는 포장지 밀봉 불량 등으로 발생 - 유통 중에는 주로 용기·포장 파손 또는 뚜껑 등에 외부공기가 유입되어 나타나는 것으로 분석됨1)
산화작용에 의한 피해	- 이물질(10.6%) 다음으로 변질에 의한 소비자 불만 사례(5.5%)가 많은 것으로 나타남. - 유란류(18.8%), 빵/과자류(14.8%), 어패류(11.3%), 육류(10.1%), 곡류(9.5%)의 순으로 발생함. - 계절적인 영향에 의해 소비자 불만 건수가 7, 8월에 증가, 10, 11, 12월에 감소하는 추세를 보였음2)

1) 식품의약품안전처 보도자료, 2013. 03 (<http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=56&seq=19759&cmd=v>)

2) 소비자불만 분석 및 교육 프로그램 개발 연구, 문은숙, 식약처 결과보고서, 2010

○ 해충 감염 피해로 인한 경제적 피해 감소

- 식품 내 해충은 식품의 생산, 가공, 유통, 보관 등 전 과정에서 피해를 입히며 이는 제품의 품질 저하 및 손실량과 일치됨.
- 대체적으로 해충은 식품의 생산 및 가공에서보다 유통, 도·소매 저장 중에 제품에 침입하는 경향이 큼.
- 따라서 포장은 식품을 보호하는 최후의 방어선이므로 효과적인 포장재의 사용은 해충으로부터 식품을 보호하는데 있어서 매우 중요함.

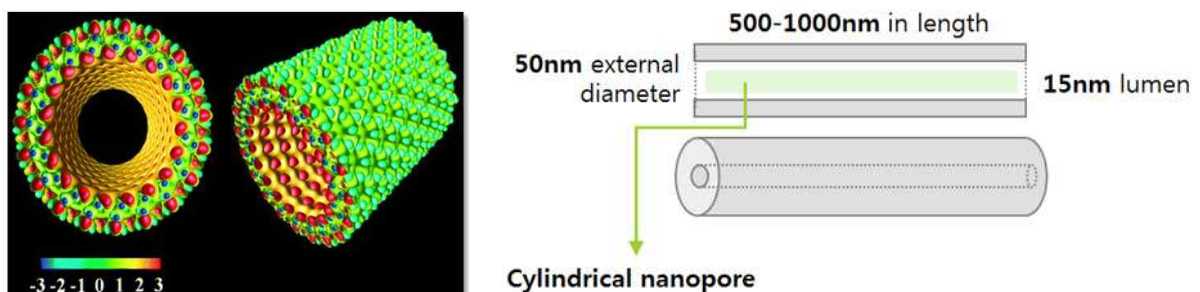
○ 소비자의 불안감 해소 및 부정적 인식 전환에 기여

- 지금까지 식품 내의 해충 및 이물질의 혼입은 큰 사회적 파장을 일으켰으나, 명확한 해결책이 제시되지 않고 있는 실정임.
- 해충의 식품 내 혼입은 소비자에게 해당 식품에 대한 부정적 인식을 심어줄 뿐 아니라 식품 전체에 대한 불신감을 줄 우려가 있음.
- 따라서 해충의 식품 내 침입을 방제하기 위해서 기피력을 지닌 포장재 개발이 필요

○ 많은 천연유래 정유들이 GRAS (generally recognized as safe)로 분류되어 있으며, 화학적 살균소독제 사용 시 발생할 수 있는 작업자 및 소비자의 안전에 기여할 수 있음.

○ 천연유래 정유는 식중독균 혹은 식품부패균에 대한 항균효과가 우수하지만, 기화성이 강해 이를 포집하여 지속적으로 방출시키는 것이 중요함. 이는 튜브형태의 나노클레이 물질인 halloysite를 이용하여 제어 가능할 것으로 기대됨.

- Halloysite는 Al : Si = 1 : 1인 알루미늄노규산염 점토광물로서  $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ 으로 표현되며 주성분은 Al(20.90%), Si(21.76%), H(1.56%)임.
- 자연 상태에서는 작은 원기둥 형태로 존재하고, 지름 평균 50nm, 길이 500~1000nm 임.<sup>1)</sup>



[그림 1] Halloysite nanotubes

- Halloysite는 무독성이고, 가격면에 있어서 4달러/kg으로 경제성이 높음.
- 내부 공간인 루멘은 빠른 방출효과를 보이고, 높은 포집효율의 특성을 가지므로 살생제, 제약 등 항생물학적 활성 분자의 캡슐화를 위한 나노컨테이너로 활용 가능성이 높음.
- 나노물질의 캐리어나 컨테이너로 활용하는 기술은 화장품, 약물, 농약 등 여러 산업에서 공통으로 활용할 수 있는 기술로 기초연구조차도 제대로 이루어지지 않은 실정임.
  - : 항생 작용을 하는 약물인 tetracycline hydrochloride가 포집된 HNT/poly(lactic-co-glycolic acid)에서 약물방출 제어 확인
  - : 스테로이드 항염증약물인 dexamethasone을 포집한 HNT에 키토산과 젤라틴을 LbL 방법으로 표면을 코팅하여 포집된 약물에 방출거동을 측정 한 결과, 코팅물질의 분자량에 따라서 약물의 방출속도가 조절 확인
  - : 항산화 효과를 가진 것으로 알려진 polyphenol 중 하나인 resveratrol을 HNT에 포집한 결과, 48시간 동안 방출시간이 확인되었고, 표면을 코팅함으로써 방출 특성의 제어 가능함을 확인

○ 항산화와 항균효과를 가진 정유의 효과적인 전달을 위해 halloysite의 나노컨테이너는 충분히 고려해볼 가치가 있고, 현재까지 halloysite을 식품 포장에 적용한 선행연구가 많이 미흡하므로 이번 연구를 통해 연구 결과를 획득하고 향후 식품포장 분야에 뿐만 아니라 더 나아가 다른 분야의 포장에도 나노컨테이너로써 역할을 할 수 있을 것으로 사료됨.

## 2. 정유의 항산화 기능

- 정유는 자연 항산화제로써 합성 항산화제를 대체할 수 있는데, 이 구성 성분은 여러 합성물질이 복잡하게 구성되어 있음.
  - 페놀 성분은 향미생물과 항산화 역할로 널리 알려짐. 또한 monoterpene hydrocarbons, non isoprenoid components comprising alcohols 등의 물질의 항산화 효과를 TBARS (the thiobarbituric acid reactive species)방법과 ABAP (2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride)방법으로 확인한 결과 효과를 확인하였음.

### 3. 정유를 이용한 미생물 제어기술

- 천연 유래 정유에 대한 연구는 많이 진행되고 있으나, 대부분의 연구는 추출된 정유의 향균특성을 파악하는데 집중되어 있고, 실제 식제품에 적용한 예는 드물며 저감화 효과 또한 미미한 수준임.
  - 분쇄 소고기 패티, 볼로냐 소세지, 황새치 휠렛, 시판 샐러드에 정유를 적용한 연구결과가 발표되었지만, 미생물 저감 효과는 약 1-2 log CFU/g에 불과하였고 여전히 높은 개체수의 미생물이 검출됨.
  - 대부분의 연구는 단일물질로서의 정유의 향균효과를 확인하는 연구이고, 두 개 이상의 정유들의 조합에 따른 식품위해미생물 제어연구는 거의 없음.
- 정유를 이용한 미생물 저감화 연구는 대부분 식품에 정유를 직접 도포하는 방법을 주로 사용하고 있으나, 이는 식품 고유의 맛을 변화시킬 수 있으므로 정유를 별도로 포집하는 기술의 개발이 절실함.

### 4. 정유를 이용한 방충 식품 포장재 연구

- 안전성이 입증된 방충 물질의 사용으로 인한 기존의 해충 방제법의 대안 및 실용화 가능성
  - 기존의 해충방제법 중 물리적 방법에는 저온저장, 방사선 처리 등이 있으나 구조건설 및 유지비용이 높은 편이기 때문에 보조적인 방편으로만 이용이 가능한 실정임.
  - 기존의 화학적 방법에는 주로 methyl bromide (CH<sub>3</sub>Br)가 사용되고 있으나 이 물질은 발암성, 오존 파괴 등 문제점이 있고, 식품에 잔류하여 체내 축적이 이루어질 경우 또 다른 문제를 야기시킬 수 있기 때문에 새로운 형태의 친환경적이고 안전한 저장 곡류 해충 방제 기술 개발이 요구됨.
  - 천연 식물 정유에서 방충 효과를 나타내는 물질을 탐색하여 나노클레이 물질인 halloysite 에 투습시키는 미세캡슐 기법을 접목하여 새로운 포장재를 개발할 것임.



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

		코드번호	D-04
<p>국내외 경제 성장 및 건강에 대한 인식 변화로 소비자들의 식품에 대한 선호도가 달라지고 있으며, 웰빙 시대에 맞는 인식 증대로 식생활이 개선되어지고 있다. 따라서 식품과 밀접한 관계가 있는 포장을 이용한 식품의 상품성의 유지 및 연장을 위한 연구가 진행되고 있으며 특히, 항균성 및 항산화성, 방충 등에 대한 기능성 부여는 선택이 아닌 필수가 되고 있다.</p> <p>기능성 포장이란 ‘포장재의 여러 성질 중 최소한 한 가지 이상의 특수한 성질을 활용할 수 있는 포장재료’를 의미하는데 포장된 식품의 상품성 향상 및 유통기한 연장과 같이 목적에 따라 포장에 기능성을 부여하는 것을 의미한다. 포장재의 특성에 따라서 그 기능을 분류할 수 있으며, 기능성을 가진 원료 물질이 가지는 본래 특성에 따라서 용도를 설정할 수 있다. 국내의 경우, 기능성 포장재에 대한 관심이 선진국에 비해 상대적으로 미비한 편이며 기술력 또한 뒤쳐지고 있다. 하지만 기능성 포장재는 식품 산업의 경쟁력을 향상시키고 궁극적으로 국민 건강에 직접적인 영향을 줄 수 있는 분야로서 지속적인 노력과 관심이 필요한 시점이다. 식품에 적용되는 기능성 포장재를 아래 표에 나타내었다.</p>			
<b>[표 4] 기능성 포장의 종류</b>			
구분	재료	원리	효과
항균 포장	항균물질, 항미생물성 포장표면재	항균물질의 이행 알코올증기의 방출	미생물 성장 억제
항산화 포장	BHA, BHT, tocopherol	산소 소비 항산화제 방출	산화반응 억제로 고분자 보호
방충 포장	정유	방충물질의 이행	해충 침투 방지, 해충 기피
가스배출 시스템	마개 구조	마개 구조 변형 가스분출 시스템	항미 보존, 저장기간 증가
CO <sub>2</sub> 흡수제	Ca(OH) <sub>2</sub> , Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , zeolite, silica gel	화학반응 물리적 흡착	CO <sub>2</sub> 로 인한 포장 팽창 방지
Ethylene 흡수제	KMnO <sub>4</sub> , SiO <sub>2</sub> , zeolite, 활성탄	산화반응 물리적 흡착	추숙 억제
CO <sub>2</sub> 발생제	FeCO <sub>3</sub> , NaHCO <sub>3</sub> , ascorbic acid	가수분해, 산화반응	미생물 성장 억제, 포장 수축 방지
산소흡수제	철, ascorbic acid, 아황산염, 산화 효소, 불포화 화합물	산화작용	호기성미생물 생육억제, 산화적 품질변화 억제
수분흡수제	Silica gel, polyacrylate, CaO, propylen glycol, 당류, 무기염	수분흡착 수화반응	저수분함량 유지, 신선육의 표면수 제거
방출 및 흡수제	흡착제	흡착 및 제어 방출	풍미 향상
온도조절제	흡열 및 발열 반응제	자발적 가열 및 냉각	편의성 향상

본 연구에서는 기능성 포장재 중 항균, 방충 및 항산화 포장에 대한 연구를 수행하였으며 이에 대한 기술개발현황에 대한 자료 및 문헌 조사를 통하여 연구개발방향을 선정하였다.

## 제 1 절 항균 및 항산화 포장재 사례 조사

기존의 항균 및 항산화를 목적으로 이용되는 포장 기법은 대부분 이산화탄소나 질소 등 세균 성장을 억제하는 기체를 포장재 속에 주입하여 밀봉하는 방법인 가스 치환 포장법이다. 그러나 이는 포장재가 외부요인에 의하여 파손되거나 최종 소비자에 의해 개봉이 되면 그 효과가 감소한다는 단점을 가지고 있다. 이러한 이유로 가스 치환 포장을 보완, 대체하는 방법으로서 항균 및 항산화 특성을 갖는 포장 필름류의 개발에 관심이 높아지고 있는 실정이다. 항균 및 항산화 포장 필름은 천연 또는 합성의 항균, 항산화제를 필름류에 코팅하거나 합성하여 제조하는 방법이 주를 이루고 있다. 주로 이용되는 항균 및 항산화제에는 생화학 효소, 락트산이나 소르빈산염과 같은 유기산, 에틸렌디아민 사초산(EDTA)과 킬레이트 화합물, 에탄올, 은, 아연 제올라이트 등이 있다. 식품군 중 육류 및 어류 제품과 같이 선도유지가 중요한 제품들은 주로 항균 및 항산화 필름을 이용하여 포장되는데 포장 후에 이용되어진 기능성 물질들이 포장재나 제품의 표면에서 발생하는 미생물의 성장 및 산화를 억제하는 역할을 하고 있다. 하지만 제품으로 기능성 물질이 전이되거나 외부로 증발되어 지속적인 이용이 어려워 방출특성의 제어가 가능한 기능성 포장재에 대한 연구의 중요성이 높아지고 있다. 또한 모든 종류의 식품에 공통으로 이용될 수 있는 항균 및 항산화제는 없으며 식품으로 전이에 따른 인체 내 축적 등의 위험이 있어 식용으로 공인된 기능성 물질의 선정을 통한 적용이 필요하다.

## 제 2 절 방충 포장재 사례 조사

곡류, 가공 식품 및 건조 식품 등은 저장·유통·소비 단계에서 다양한 해충으로 인한 피해가 발생되며, 이로 인하여 소비자에게 불쾌감을 주고 제조기업의 이미지에 타격을 주고 있는 실정이다. 이러한 해충 피해는 경제적 손실뿐만 아니라 호흡기 질환 및 알레르기성 질병 등을 유발하여 개인위생에도 심각한 문제를 유발할 수 있다. 하기의 표 5는 식품의약품안전처에서

2013년에 발표한 자료로 식품 종류별 이물질 발생 신고 현황을 조사한 내용이다. 식품 내에서 발견된 이물 중 벌레가 차지하는 비중이 가장 높으며, 면류 및 과자류와 같은 건조식품에서 주로 발생되어 피해가 가장 빈번히 발생되고 있음을 알 수 있다. 이러한 피해를 방지하기 위한 기법인 방충포장은 전 세계적으로 다양한 방법들이 연구되고 있다.

[표 5] 식품 종류별 이물질 발생 신고 현황

식품 종류	계	벌레	곰팡이	금속	플라스틱	유리	기타
계	6,435	2,276 (35.4%)	659 (10.2%)	528 (8.2%)	324 (5.0%)	91 (1.4%)	2,557 (39.7%)
면류	965	480 (49.7%)	55 (5.7%)	89 (9.2%)	39 (4.0%)	8 (0.8%)	294 (30.5%)
과자류	672	198 (29.5%)	45 (6.7%)	69 (10.3%)	33 (4.9%)	3 (0.3%)	324 (48.2%)
커피	627	331 (52.8%)	7 (1.1%)	33 (5.3%)	23 (3.7%)	7 (1.1%)	226 (36.0%)
음료류	499	87 (17.4%)	166 (33.3%)	7 (1.4%)	18 (3.6%)	30 (6.0%)	191 (38.3%)
빵, 떡	466	69 (14.8%)	105 (22.5%)	53 (11.4%)	32 (6.9%)	5 (1.1%)	202 (43.3%)
기타	3,206	1,111 (34.7%)	281 (8.8%)	277 (8.6%)	179 (5.6%)	38 (1.2%)	1,320 (41.2%)

(출처 : 식품종류별 이물질 발생신고 현황, 식품의약품안전처, 2013)

기존의 방충 포장재는 기계적 강도가 강한 포장재를 사용하여 벌레의 유입을 막는 방법을 주로 사용하였다. 방충성이 높은 필름 중 연포장재로는 연신 nylon, polyester, 연신 polypropylene 등을 주재료로 한 적층필름이 이용되었으며 강성포장재로는 polycarbonate, 경질 polystyrene 등도 이용되었다. 그러나 이런 기계적 강도가 강한 포장재로도 방지할 수 없는 해충의 종류가 많아 근본적인 해결책이 되지 않는 못하고 있는 실정이다.

유통과정에서의 혼입방지방법으로는 식품해충의 포장재 파괴성(천공능력)과 포장형태를 파악한 후 해충의 차단성 포장재를 사용하거나 밀봉가스 충전포장, 탈산소제 봉입포장 등을 실시하고 있다. 또한 포장 외의 수단에 의한 방제 방법으로는 저온저장, 마이크로파 조사, 방사선 조사, 밀봉저장, 불활성가스 송기저장 등의 방법을 사용하고 있다.

방충기법 중 포장에 적용이 가능한 방법들로는 천연물질을 기반으로 한 콩 단백질 추출물,

방향성 허브 추출물에 대한 연구 등이 포장에 적용될 수 있는 수준으로 연구가 진행되고 있으며, 그 외의 방법들은 설비 제조 및 유지비 등이 높아 지속적인 이용에 어려움을 가지고 있다. 천연물질 기반의 기피제 연구는 주로 포장에 침투할 수 있는 해충인 화랑곡나방, 쌀바구미, 좀벌레, 거저릿, 바구미 등의 방충을 위한 천연물질연구가 주를 이루고 있다. 해충 종류별 기피하는 물질의 종류가 상이하어 다양한 해충에 대한 방충에는 어려움을 겪고 있고, 이러한 문제를 해결할 수 있는 연구가 매우 절실한 실정이다.

다양한 식품의 저장·유통·소비 과정 중에 흔히 발생하는 포장재의 핀홀은 해충의 이동경로가 되어 식품 내에 손쉽게 침투되어 지속적인 문제가 발생되었지만, 핀홀 발생을 완전히 방지하는 것은 불가능에 가깝다고 할 수 있다. 이에 대한 차선택으로 해충방지를 위한 기피제, 그리고 식품의 변패를 방지하기 위한 방부제나 방습제 등의 첨가제 등이 이용되었지만 이를 통해서는 제품의 품질 보호에는 한계가 있었다. 게다가 최근 소비자들의 첨가물에 대한 부정적인 인식이 확산되어 첨가물 사용에도 제동이 걸린 실정이다. 현재 국내에서는 주로 대학연구기관 및 소수의 기업들이 대표적 해충인 화랑곡나방에 대한 방충연구를 지속적으로 진행하고 있으며 끊임없이 발생하는 해충 피해로 인한 소비자의 불만을 해소하기 위한 방안의 일환으로 정부에서도 지속적인 관심과 연구 지원을 하고 있는 상황이다.

### 제 3 장 연구수행 내용 및 결과

코드번호

D-05

#### 제 1 절 연구개발 방법론 및 진행 방향

식품 포장은 식품이 제조되어 최종 소비자가 사용하기까지의 유통과정 중에 외부 환경 요인으로부터 제품을 보호하며, 맛, 향 등의 식품 본연의 상태를 유지시키는 역할을 하고 있다. 외부 환경 요인은 산소, 수분, 빛, 미생물, 해충 등이 포함되며 이러한 요인으로 인하여 식품의 품질을 저하시켜 부패 및 변패가 발생되어 제조사 및 소비자에게까지 피해가 발생되어 심각한 문제를 야기되고 있다. 이에 따라서 현재 포장은 소비자의 기호에 맞춰 향균, 항산화 및 방충 등의 다양한 기능이 부여된 플라스틱 필름 및 용기 형태로 연구, 개발되고 있으며 식품의 품질유지에 대한 중요성이 지속적으로 대두됨에 따라서 식품산업에서 가장 중요한 부분을 차지하고 있다.

현재 식품에 포장이라는 개념이 도입된 이래로 신선하고 안전한 식품의 개발 요구에 맞춰 지속적인 포장 기술이 선보이고 있지만 미생물 및 해충 등으로 인한 피해는 지속적으로 발생되어 소비자로부터의 불만족을 개선할 수 있는 포장 기술의 개발이 필요한 시점이다. 식품의 신선도 유지 및 보호 기능과 함께 유통기한 연장을 위한 노력의 일환으로 포장재 자체에 향균, 항산화 및 방충 등의 기능을 부여한 포장재에 대한 연구가 국내외에서 지속적으로 수행되고 있다. 향균 포장 분야에서는 정유를 식품에 직접적으로 도포하여 향균력을 극대화하려는 연구가 주로 이용되었지만 이는 정유가 식품에 직접적으로 전이되어 식품 고유의 맛을 변화시킬 수 있어 품질에 영향을 미칠 수 있는 문제점을 안고 있다. 방충 포장의 경우, 고온 방제 처리, 감마선 기법, 탄산가스 충전 기법 등의 다양한 물리적 방법들이 시도되었지만, 설비 및 비용 문제로 인하여 식품의 지속적인 적용에 한계를 가지고 있으며  $\text{CH}_3\text{Br}$  등을 이용한 화학적 방법은 우수한 효과를 보이지만 식품에 전이 및 축적되어 인체에 유해한 요소로 작용되는 것으로 알려져 있다. 이에 안정성 및 안전성이 확보된 친환경 기능성 포장재에 대한 개발이 절실한 시점이다.

미생물 및 해충에 의한 식품의 피해를 감소시키기 위한 연구는 다양하게 진행되고 있으며, 자연에서 유래된 천연물질을 이용한 향균제 및 기피제를 포장재에 접목하여 효과적으로 저장·유통·소비단계에서 식품의 부패 및 변형을 방지하는 방안이 최근에 주목을 받고 있다. 향균 및 방충 포장에 적용되고 있는 물질로는 자연에서 유래된 천연물질인 겨자(mustard), 페퍼민트(peppermint), 스피어민트(spearmint), 라벤다(lavenda), 패추올리(patchouli), 캐러웨이(caraway) 등의 정유가 대표적이며, 쑥(mugwort), 장뇌목(cinnamomum camphora), 고추냉

이(wasabia koreana) 등과 같이 천연추출물들을 활용한 항균 및 방충 기법들도 연구되고 있다.

지금까지 연구되어진 항균, 항산화 및 방충을 위한 포장 소재 및 적용 방법은 기능성 물질을 직접적으로 포장에 적용하여 적용 초기 시점에 효과를 극대화하여 포장재로서 응용이 가능한 장점을 가지고 있지만 기능성 물질로서 대부분 적용되는 정유 및 천연추출물의 경우, 물질 자체적으로 기화성을 가지고 있어 지속적인 효과를 유지하기에는 어려움을 가지고 있다.

이에 본 연구에서는 항균, 항산화 및 방충에 효과적인 정유 및 천연추출물을 선정하여 튜브 형태의 나노클레이 물질인 halloysite에 포집하여 캡슐화하는 방법을 적용하여 방출 특성을 제어하고, 이를 식품포장에 적용함으로써 지속적인 항균, 항산화 및 방충 특성을 가지는 포장 소재를 개발하고자 하였다.

본 연구 과제 최종 목표의 효율적인 달성을 위하여 식품 품질 저하 요인 및 포장 소재의 기능성 부여, 기능성 포장재 제조 기술 등과 관련한 자료 및 실태 조사 결과를 바탕으로 항균, 항산화 및 방충에 효과적인 정유 및 천연추출물을 선정하여 halloysite에 포집하여 캡슐화하는 방법을 적용하여 방출 특성을 제어하고, 이를 식품 포장에 적용함으로써 지속적인 항균, 항산화 및 방충 특성을 가지는 포장 소재를 개발하고자 기능성 포장소재의 선정 및 개발 방향 설정을 진행하였고 이의 연구 방법론 및 진행 방향을 도출하였다.

## 1. 연구개발 방법론

### 가. 기능성 포장재 개발을 위한 항균 및 항산화 연구

- 다양한 천연유래 정유를 확보한 후에 이론적 및 실험적 접근을 통하여 항균 및 항산화 효과가 있는 정유를 도출하며 실험적 접근 방법으로 아래와 같은 실험 방법 등이 적용
  - TBARS (the thiobarbituric acid reactive species) test
  - 라디칼 소거능
    - : ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical cation decolorization test
    - : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) test
  - $\beta$ -carotene bleaching (BCB) test
- 다양한 효용에 대한 기능성 평가 및 입증을 위하여 문헌을 통해 항세균/항진균 효과가 있다고 보고된 100종 이상의 천연유래 정유 확보를 확보하였고 이를 아래 표에 나타냄.

[표 6] 천연유래 정유 목록

No.	정유 종류	No.	정유 종류	No.	정유 종류
1	agarwood	35	costus root	69	marjoram
2	allspice	36	cranberry seed	70	melaleuca
3	almond	37	cubeb	71	melissa
4	angelicaroot	38	cumin	72	mustard
5	anise	39	curry leaf	73	myrrh
6	asafetida	40	cypress	74	nutmeg
7	balsam	41	cypriol	75	oregano
8	basil	42	davana	76	organge
9	bay leaf	43	elecampane	77	patchouli
10	benzoin	44	eucalyptus	78	peppermint
11	bergamot	45	fennel seed	79	perilla
12	birch	46	fenugreek	80	pine
13	blackpepper	47	frakincense	81	rose
14	Buchu	48	galangal	82	rosehip
15	Calamus root	49	galbanum	83	rosemary
16	camphor	50	geranium	84	rosewood
17	cannabis	51	ginger	85	sandalwood
18	caraway	52	grapefruit	86	sassafras
19	cardamom seed	53	guava	87	scented geranium
20	carrotseed	54	helichrysum	88	schisandra
21	cassia	55	henna	89	spearmint
22	cedar	56	hickory nut	90	tangerine
23	cedarwood	57	hops	91	tansy
24	celery	58	horseradish	92	tarragon
25	chamomile	59	hyssop	93	tea tree
26	cinnamon	60	jasmine	94	thyme
27	citronella	61	Juniper	95	tsuga
28	clary sage	62	lavender	96	turmeric
29	clove	63	lemon grass	97	velerian
30	coffee bean	64	lemon	98	vetiver
31	common sage	65	lime	99	wintergreen
32	copaiba	66	mandarin	100	yarrow
33	coriander	67	manuka	101	ylang-ylang
34	costmary	68	marjoram	102	zedoary

- 식품에 품질을 저하시키는 대상균 선정은 식중독균 및 식품부패균 등으로 나누어 대상균을 선정하였으며 이의 최종 제어 대상 식품위해미생물 선정하고 확보 방안을 마련
  - 식중독균 후보 : *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Cronobacter sakazakii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shigella* spp. 등 (각 종별 최소 3 strains 이상씩 확보)
  - 식품부패균 후보 : *Pseudomonas* spp., *Erwinia* spp., *Acinetobacter* spp., *Alicyclobacillus* spp., *Chromobacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Lactobacillus* spp., *Propionibacterium* spp. 등
- 이의 확보 방안으로 현재 연구진이 보유하고 있는 stock culture 활용 및 ATCC, KCTC 등에서의 균주 분양을 활용하여 진행하였고 구입하기 어려운 미생물 균주의 경우, Univ. of Georgia의 'Center for Food Safety' (식품안전센터)에서 분양 받는 방법 활용
- 1차적으로 문헌조사를 통해 선발된 천연유래 정유들을 2차적으로 항균활성 테스트를 통하여 식중독균 및 식품부패균에 대한 항균력 확인 과정이 진행되며 정유의 액체 및 기체의 상변화에 따른 측정 진행
  - 액체의 경우 : paper disk diffusion assay, MIC (minimum inhibitory concentration) 와 MLC (minimum lethal concentration) 등을 통해 측정
  - 기체의 경우 : vapor diffusion assay 등을 통해 항균력 측정
- 다양한 천연유래 정유 들의 살균시너지 확인
  - 정유 종류 및 농도에 따라 checkerboard assay, vapor diffusion assay 등을 해조합된 정유의 항균시너지 확인
- 또한 항균 및 항산화뿐만 아니라 방충과 같은 효용에도 효과적인 최적의 정유를 선정하기 위해 협동기관들 간의 연구결과 교환 및 기술교류, 데이터베이스 구축을 통해 연구결과를 항시 공유함으로써 긴밀하고 효율적인 연구 추진

#### 나. 기능성 포장재 개발을 위한 방충 연구

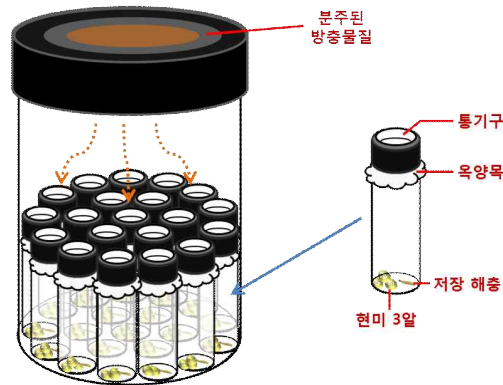
- 고려대학교 생명과학대학 내에 위치한 부설 “한국곤충연구소”를 통해 화랑곡나방 유충의 공급과 실험 결과에 대한 해충생태학적 자문 요청



○ 방충 효과 검증 실험법 선정

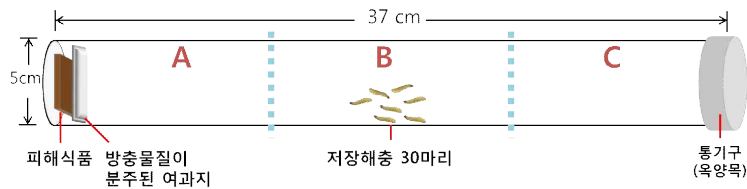
- 훈증살충력 테스트 트랩을 이용한 사멸 효과 검증

: 본 훈증살충력 테스트 트랩은 동종포식(同種捕食)과 아사(餓死)에 의한 사멸의 변수를 제거하기 위하여 개발되었고, 특허출원 완료(발명의 명칭: 훈증살충력 측정용 기구 / 출원번호:10-2013-0082428)



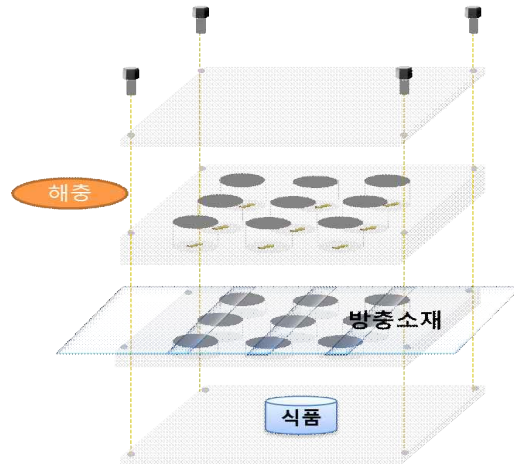
[그림 2] 훈증 테스트 트랩의 모식도

- 기피 테스트 트랩을 이용한 유충 기피 효과 검증



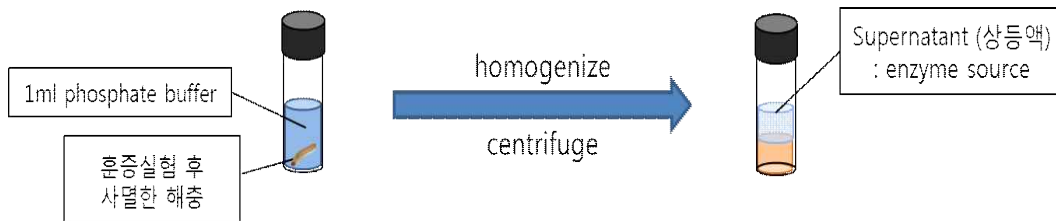
[그림 3] 기피 테스트 트랩의 모식도

- 침투 테스트 트랩을 이용한 침투 저해 효과 검증



[그림 4] 칩투 테스트 트랩의 모식도

- 곤충의 신경전달 물질인 acetylcholinesterase 억제 실험



[그림 5] Acetylcholinesterase activity 측정

○ Halloysite의 방충 물질 포집 형성 검사

- 적외선 분광 분석기(FT-IR)를 이용한 halloysite가 정유를 포집하면서 생기는 결합 확인

다. 정유의 세포 독성 평가

○ 세포독성 시험법 (MTT assay)

- 세포에 대한 정유의 농도별 독성평가 시행

: MTT (3-(4,5- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)를 이용하여 간접적으로 생존세포수를 확인

: 마우스에서 얻은 중간엽줄기세포(mesenchymal stemcell)인 C3H10T1/2 세포와 마우스의 지방전구세포인 3T3-L1 세포, 그리고 사람의 간암세포인 HepG2를 이용하여 동물세포에서의 독성을 확인하는 실험 진행

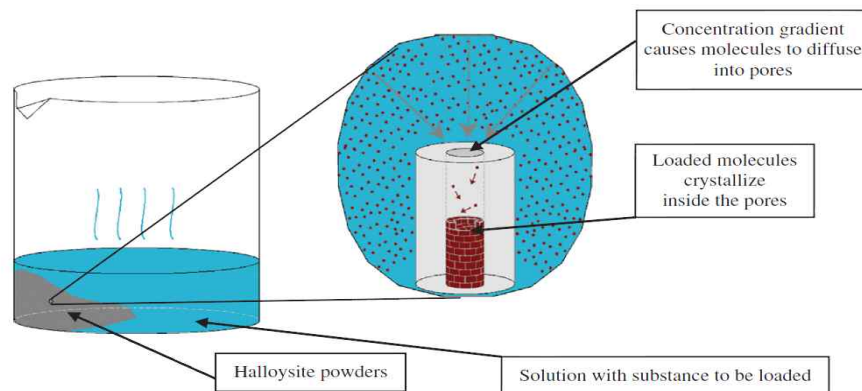


[그림 6] MTT assay

- 주요 정유물질은 식품첨가물로 알려진 GRAS 물질을 사용할 것이며, 이러한 정유물질 뿐만 아니라 그 외 높은 향균, 항산화 및 방충 활성을 지닌 정유의 농도별 세포독성 평가를 시행할 것임.
- 본 실험을 통해 연구에 사용될 향균, 항산화 및 방충 특성을 지닌 천연 정유물질의 세포 독성안전성을 확보할 것임.

#### 라. HNT를 이용한 미세캡슐화

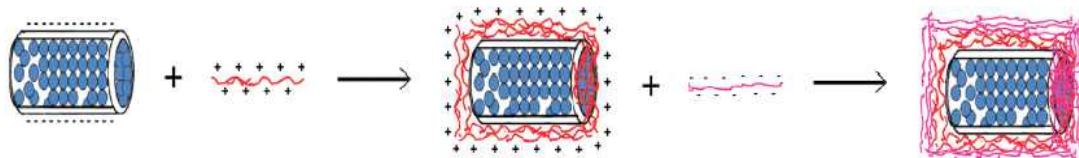
○ Halloysite에 정유를 포집하는 방법 모색 및 개발



[그림 7] HNTs 내의 정유 포집 방법

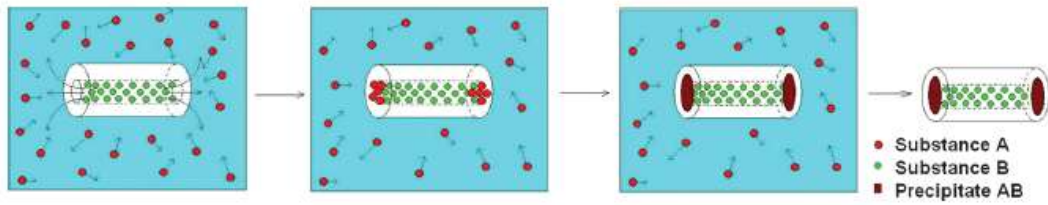
○ 정유의 지속적 방출을 위한 정유 함유 halloysite에 표면코팅 연구

- Layer-by-Layer (LbL) nanoassembly of the polyelectrolytes shells



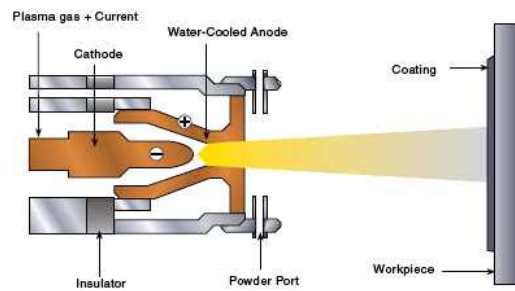
[그림 8] HNTs 표면처리 방법

- Synthesis of stoppers at tube endings



[그림 9] HNTs 끝단 막 처리 방법

- Spraying법



[그림 10] Spraying coating

- Solvent casting법 : bar coater로 기재 필름 위에 도포하는 방법

○ HNT 미세캡슐 분말화법

- 천연정유물질과 halloysite 나노튜브의 미세캡슐화 용액을 적정온도 및 속도를 조절하여 spray dryer를 이용하여 분말화

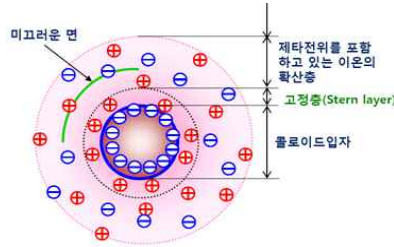


[그림 11] 분무건조기 (spray dryer)와 분말화

○ 제조된 halloysite의 일반 특성 및 방출거동 특성 분석

- 정유를 함유한 halloysite의 방출거동 및 포집률 분석

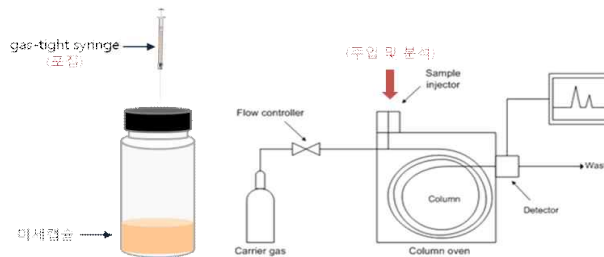
- : 포집률 확인 및 물질의 방출거동 확인 (UV-Vis Spectrophotometer, GC, LC)
- 지속적인 방출을 위한 정유를 함유한 halloysite 표면에 전하를 띤 물질의 코팅 확인
- 코팅된 정유 함유 halloysite의 표면 분석 (TEM, SEM)



[그림 12] HNTs 내부 표면 분석 방법

○ Halloysite 미세캡슐의 방출 경향

- GC를 이용하여 일정 시간마다 gas-tight syringe를 이용하여 head-space 내부의 공기를 포집한 후 GC를 이용해 포집된 공기의 성분 조성을 분석

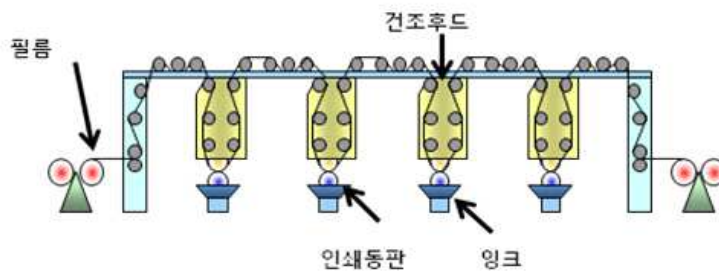


[그림 13] GC를 이용한 방출경향 분석과정의 모식도

마. 정유-halloysite 포장재 개발

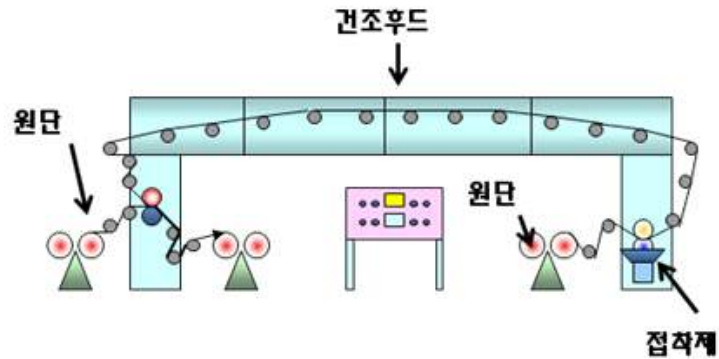
○ 기능성 포장재의 가공 방법 개발

- 그라비아 인쇄 기반의 기능성 포장재 개발 공정

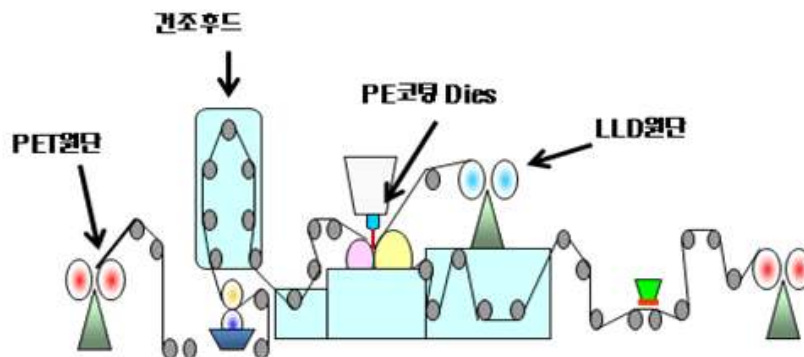


[그림 14] 그라비아 공정 모식도

- Lamination 공정 활용한 기능성 함유 포장재 개발



[그림 15] Dry lamination 공정 모식도



[그림 16] Extrusion lamination 공정 모식도

#### 바. 기능성 포장재의 식품 적용 연구

- 식품 포장 적용에 있어 후보선 선정을 위하여 제과류 및 면류 등의 우선적인 적용 방안 마련 및 이의 확대 적용을 위한 신선식품포장에 대한 적용을 진행
- 방충 포장의 경우에 있어서 화랑곡나방유충 및 쌀벌레에 의한 피해를 줄이기 위한 기능성 포장재 개발에 대한 연구를 진행

#### 사. 포장재 적용 식자재 및 식품 품질 평가 시스템 구축

- 포장재 적용 식품의 품질평가 시스템 구축
  - 포장재 적용 식품의 품질/관능/안전/기능 인자 구명

- 이화학적, 관능적 분석결과를 바탕으로 통계적 분석에 의한 품질 평가
- 품질 관리 지표설정 및 분석을 통한 품질 관리 시스템 개발

## 2. 연구 개발 진행 방향

본 연구 과제의 진행에 있어 연구 초반에 진행되었던 정유 포집 캡슐화의 코팅을 통한 포장재 적용은 포장재 제조 공정상에서의 코팅 공정 적용 및 바인더 추가 적용에 의한 경제성 확보 및 포장재 시장 진입이 어렵다는 판단에 따라 다양한 효용 발현이 가능한 정유의 선정 및 정유 포집 캡슐화 제조 공정 최적화 연구와 함께 기존 포장재 제조 공정에서의 직접적인 적용이 가능한 잉크와의 혼합을 통한 인쇄 공정에서의 적용을 통한 기능성 포장재의 개발이 이루어졌다.

각각의 효용에 적합한 정유의 선정을 위하여 약 100여종의 정유를 수집하고 이의 성분 분석 및 효과 검증을 위한 평가가 진행되었으며 우수한 효과 및 가격경쟁력 등의 주요 인자를 도출하여 최종적으로 향균, 향산화 및 방충 효용에 맞는 정유를 선정하는 연구를 우선적으로 수행하였다.

향균, 향산화 및 방충 효용을 가진 정유 포집 halloysite 나노캡슐 관련 연구에서는 정유의 포집율, 제조시 생산성 및 효율성, 원재료의 단가 등의 개선이 요구되어지는 중요 사항을 해결하기 위한 일환으로 포집율 향상 방법 및 대량 생산을 위한 제조 단계 연구, 정유의 조합 처리에 의한 시너지 효과 확보, 원재료의 가격 경쟁력 확보 등에 대한 연구를 집중하여 수행하였다. 또한 정유의 HNT 내 포집율 향상을 위한 전처리 및 공정 최적화를 위하여 HNT의 전처리 공정을 통하여 정유의 포집율 향상과 더 나아가 지속적인 방출 특성의 향상을 위한 연구가 지속되었다.

각각의 효용에 대한 효과적인 적용 및 시너지 효과의 발현을 위하여 천연 정유의 조합처리에 의한 시너지 효과 도출 연구를 통하여 개별 성분의 특성은 물론 각 정유별 효용의 상승 효과를 평가하는 연구가 수행되고 이와 더불어 연구 결과를 토대로 고가인 정유의 원가 절감을 위한 방안으로서 지속적인 연구가 진행되었다.

Halloysite나노캡슐 제조 공정의 scale-up과 관련하여 효율성 및 생산량 향상을 위한 방안으로 캡슐화 공정을 자동화 형식으로 전환하여 약 5배 이상의 효율적인 생산 공정이 가능한 장치를 설계 및 도입하였다. 상기의 방식으로 제조된 기능성 캡슐은 그라비아 및 플렉소 인쇄 공정을 통하여 포장재에 적용되며 캡슐 및 잉크와의 최적 혼합비 선정을 위한 연구 및 인쇄 공정 최적화 등이 동시에 수행되었다. 또한 식품용 포장재로서의 적용성 확보를 위하여

halloysite 나노캡슐 내에 포집되어진 정유의 식품으로의 이취 및 전이 발생 가능성을 관능 검사를 통하여 안정성 및 안전성 평가가 이루어졌다.

## 제 2 절 향균, 항산화 및 방충 포장소재의 연구 방법

### 1. 천연 유래 향균 정유의 탐색 및 선정

#### 가. 천연 유래 향균 정유의 탐색 및 선정을 위한 실험인자들의 결정

##### (1) 천연 유래 정유 선정 및 확보

천연 유래 향균 정유의 탐색을 통하여 최종적으로 포장재에 적용할 정유의 선정을 위한 기초 연구로서 100종 이상의 천연 유래 정유를 확보하고 평가 결과를 토대로 선정하기 위한 목적을 가지고 연구를 진행하였다. 문헌조사를 통해 식품위해미생물에 대하여 향균력이 우수한 천연 유래 정유 100종 이상을 선정하였다. 선정된 천연 유래 정유들은 Neumond社의 유기농 천연 유래 정유 81종, EuroAroma社의 천연 식물유래 정유 19종을 확보하였다. 아래 표에 정유 선정을 위하여 확보된 100종의 천연 정유 목록을 나타내었다.

[표 7] 100종의 천연 정유 목록

번호	천연 정유		제조사
	영 명 (일반명)	학 명	
1	Basil	<i>Ocimum basilicum</i>	노이 몬트
2	Cinnamon bark	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	
3	Citrus (Rock Rose)	<i>Citrus ladaniferus</i>	
4	Citronella	<i>Cymbopogon nardus</i>	
5	Clary sage	<i>Salvia sclarea</i>	
6	Cypress	<i>Cupressus sempervirens</i>	
7	Eucalyptus globulus	<i>Eucalyptus globulus</i>	
8	Fennel sweet	<i>Foeniculum vulgare</i>	
9	Grapefruit	<i>Citrus paradisi</i>	
10	Ginger	<i>Zingiber officinale</i>	
11	Hyssop	<i>Hyssopus officinalis</i>	
12	Lavender	<i>Lavandula angustifolia</i>	
13	Lemon	<i>Citrus medica limonum</i>	
14	Lemongrass	<i>Cymbopogon citrus</i>	
15	Lime	<i>Citrus aurantiifolia</i>	
16	Marjoram sweet	<i>Origanum majorana</i>	
17	Oregano	<i>Origanum vulgare</i>	



18	Pepper black	<i>Piper nigrum</i>
19	Peppermint	<i>Mentha piperita</i>
20	Spearmint	<i>Mentha spicata</i>
21	Sage Spanish	<i>Salvia lavandulifolia</i>
22	Thyme Linalol	<i>Thymus zygis</i>
23	Thyme Spanish	<i>Thymus mastichina</i>
24	Angelica root	<i>Angelica archangelica</i>
25	Aniseed	<i>Pimpinella anisum</i>
26	Benzoin	<i>Styrax tonkinensis</i>
27	Bergamot	<i>Citrus aurantium bergamia</i>
28	Cajeput	<i>Melaleuca cajuputi</i>
29	Camphor white	<i>Cinnamomum camphora</i> Nees
30	Caraway	<i>Carum carvi</i>
31	Cardamom	<i>Elettaria cardamomum</i>
32	Carrot seed	<i>Daucus carota</i>
33	Cedarwood Atlas	<i>Cedrus atlantica</i>
34	Chamomile Roman	<i>Chamaemelum nobile</i>
35	Chamomile blue	<i>Chamomilla recutita</i>
36	Coriander seed	<i>Coriandrum sativum</i>
37	Davana	<i>Artemisia pallens</i>
38	Dwarf Pine	<i>Pinus mugo</i>
39	Eucalyptus radiata	<i>Eucalyptus radiata</i>
40	Fir needle	<i>Abies sibirica</i>
41	Frankincense	<i>Boswellia carterii</i>
42	Geranium	<i>Pelargonium graveolens</i>
43	Geranium Bourbon	<i>Pelargonium graveolens</i>
44	Helichrysum	<i>Helichrysum italicum</i>
45	Iris root 1%	<i>Iris florentina</i> L.
46	Jasmine absolute	<i>Jasminum grandiflorum</i>
47	Juniper berry	<i>Juniperus communis</i>
48	Kanuka	<i>Kunzea ericoides</i>
49	Laurel leaf	<i>Laurus nobilis</i>
50	Lavandin super	<i>Lavandula hybrida</i>
51	Lemon Myrtle	<i>Backhousia citriodora</i>
52	Lotus Absolute 5%	<i>Nelumbo nucifera</i>
53	Mandarin green	<i>Citrus reticulata</i>
54	Manuka	<i>Leptospermum scoparium</i>
55	May Chang	<i>Litsea cubeba</i>
56	Melissa	<i>Melissa officinalis</i>
57	Myrtle	<i>Myrtus communis</i>
58	Neroli (Orange blossom)	<i>Citrus aurantium amara</i>
59	Niaouli	<i>Melaleuca quinquenervia</i>
60	Orange sweet	<i>Citrus sinensis</i>
61	Patchouli	<i>Pogostemon cablin</i>
62	Petitgarain	<i>Citrus aurantium amara</i>
63	Ravintsara	<i>Cinnamomum camphora</i> L.
64	Rose Bulgaria	<i>Rosa damascena</i>
65	Rose Morocco	<i>Rosa damascena</i>
66	Rosemary Verbenon	<i>Rosmarinus officinalis</i>
67	Rosewood	<i>Dalbergia sissoo</i>
68	Thyme thymol	<i>Thymus vulgare</i>
69	Sweet Marjoram	<i>Origanum majorana</i>
70	Clove	<i>Syzygium aromaticum</i>
71	Petitgrain	<i>Citrus aurantium</i>
72	Helichryseum	<i>Helichrysum splendidum</i>
73	Sage, common	<i>Salvia officinalis</i>
74	Sandalwood Australia	<i>Santalum spicatum</i>

75	Sandalwood white Mysore	<i>Santalum album</i>	
76	Silver Fir Needle	<i>Abies alba</i>	
77	Spike Lavender	<i>Lavandula spica</i>	
78	Spikenard	<i>Nardostachys jatamansi</i>	
79	Vetiver	<i>Ventiveria zizanooides</i>	
80	Yarrow blue	<i>Achillea millefolium</i>	
81	Ylang-Ylang	<i>Cananga odorata</i>	
82	Anise	<i>Illicium verum</i>	
83	Cedarwood	<i>Juniperus Virginia</i>	
84	Cinnamon (leaf)	<i>Cinnamomum ceylanicum</i>	
85	Clove (bud)	<i>Syzygium aromaticum</i>	유로 아로마
86	Cumin	<i>Cuminum cyminum</i>	
87	Dill	<i>Anethum graveolens</i>	
88	Elemi	<i>Canarium luzonicum</i>	
89	Garlic	<i>Allium sativum</i>	
90	Mandarin Red	<i>Citrus reticulata</i>	
91	Mastic	<i>Pistacia lentiscus</i>	
92	Myrrh	<i>Commiphora abyssinica</i>	
93	Nutmeg	<i>Nyristica fragrans</i>	
94	Palmarosa	<i>Cymbopogon martini</i>	
95	Pine extra	<i>Pinus sylvestris</i>	
96	Ravensara	<i>Ravensara aromatica sonnerat</i>	
97	Rosemary CT cineole	<i>Rosemarinus officinalis</i>	
98	Marjoram	<i>Origanum majorana</i>	
99	Tea tree extra	<i>Melaleuca alternifolia</i>	
100	Galbanum	<i>Ferula galbaniflua</i>	

## (2) 제어 대상 식품위해미생물 확보 및 선정

천연 유래 향균 정유의 탐색 및 선정을 위한 기초 연구인 선정 평가에 이용될 제어 대상 식품 위해 미생물을 확보하였고 이를 분류하기 위한 연구가 수행되었다. 연구에 이용될 제어 대상 식품위해미생물은 식중독균과 식품부패균으로 분류하여 선정하였다.

식중독균은 *Salmonella enteria*와 *Listeria monocytogenes*를 종별로 5 strains씩 선정하였다. 선정된 균주들은 Univ. of Georgia의 ‘Center for Food Safety’(식품안전센터)에서 분양 받은 균주로 실험실에서 stock으로 보관하고 있던 laboratory stock culture를 사용하였다. 식품부패균은 *Erwinia spp.*와 *Pseudomonas aeruginosa*를 선정하였다. 실험에 이용된 식품부패균은 미생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures) 및 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms) 분양받아 이용되었다.

[표 8] 제어 대상 식품위해미생물 분류

식중독균		식품부패균	
<i>Salmonella enteria</i>	<i>Salmonella</i> Montevideo <i>Salmonella</i> Michigan <i>Salmonella</i> Enteritidis <i>Salmonella</i> Newport <i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Erwinia</i> spp.	<i>Erwinia</i> sp. strain KCTC 12888 <i>Erwinia</i> sp. strain KCTC 12889 <i>E. carotovora</i> strain KCCM 11319
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> strain F8027 <i>L. monocytogenes</i> strain G1091 <i>L. monocytogenes</i> strain F8369 <i>L. monocytogenes</i> strain F8385 <i>L. monocytogenes</i> strain LDCD81861	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i> strain ATCC 27853 <i>P. aeruginosa</i> strain ATCC 9027 <i>P. aeruginosa</i> strain ATCC 15692

나. 천연 유래 정유의 식품위해미생물에 대한 항균력 확인

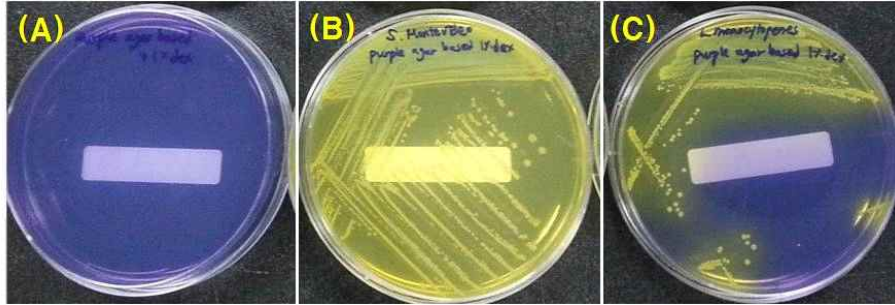
천연유래 정유는 액상의 정유로 구입하였고, 정유의 항균활성은 포장재 적용시 정유가 방출되는 형상인 기체상의 형태로 측정하여 천연 유래 정유의 항균활성 기준에 대한 결과를 도출하였다.

기체상태 천연유래 정유의 항균 평가는 대기로 휘발된 천연유래 정유를 대상으로 측정하였다. 즉, 항균활성을 측정하는 밀폐된 용기에 소량의 액상 정유를 넣은 후, 그 액상의 정유를 기화시킨 대기의 항균력을 측정하였다. 가스의 농도는 액상의 정유가 모두 기화되었다는 가정 하에, 밀폐용기의 부피를 기반으로 계산하였다.

(1) 천연 유래 정유의 식품위해미생물에 대한 항균력 평가 방법

천연 유래 정유 중 기화특성을 지닌 기체상 천연 정유들의 식품위해미생물(*S. enterica*, *L. monocytogenes*, *Erwinia* spp., *P. aeruginosa*)에 대한 MIC와 MLC를 확인하였다.

미생물의 생화학적 특성을 이용하여 배지의 색변화에 따라 미생물의 생육판별 배지를 제조하였다. 100종의 천연 정유들의 항균력을 측정하기 위해 airtight container에 배지를 부어 굳힌 후, *S. enterica*(5개 strains 혼합), *L. monocytogenes*(5개 strains 혼합), *Erwinia* spp.(3개 strains 혼합), *P. aeruginosa*(3개 strains 혼합) 배양액들을 각각 접종하였다. 4 종의 미생물이 각각 접종된 배지를 다양한 농도의 정유에 48시간 처리하여 항균특성을 관찰하였다.



[그림 17] 미생물의 생화학적 특성을 이용하여 미생물의 생육판별 배지

A : 균이 접종되지 않은 배지로 미생물 생육판별 배지

B : *Salmonella enterica*가 접종되어 배지의 색변화가 나타난 배지

C : *L. monocytogenes*가 접종되어 배지의 색변화가 나타난 배지

## (2) 천연 유래 정유의 식품위해미생물에 대한 항균력 평가 결과

### (가) *S. enterica*에 대한 천연 정유 기체의 MIC와 MLC 확인

*S. enterica*에 대한 최소저해농도와 최소치사농도를 측정 한 결과, 100종의 천연 정유 중 34종의 정유에서 MIC와 MLC를 확인하였다.

*S. enterica*에 대한 최소저해농도는 cinnamon leaf 정유가 0.0391  $\mu\text{l/ml}$ 로 가장 낮았다. 그 다음으로는 thyme thymol와 thyme linalool 정유(0.3125  $\mu\text{l/ml}$ ), cinnamon bark와 oregano 정유(0.6250  $\mu\text{l/ml}$ ), clove bud, lemon grass, palmarosa, tea tree, marjoram 정유(1.25  $\mu\text{l/ml}$ ), lavender spike, spearmint, cajuput, cumin seed, fennel, lavensara 정유(2.5  $\mu\text{l/ml}$ ), basil, bergamot, caraway, citronella, coriander, dill, elemi, fir needle, hyssop, juniper berry, lavender, netmag, orange sweet, peppermint, rose bulgaria, rose morocco, rosemary, rose wood 정유(5.0  $\mu\text{l/ml}$ ) 순서로 낮은 MIC를 보였다.

MLC는 cinnamon leaf(0.0391  $\mu\text{l/ml}$ ) < thyme thymol = thyme linalool (0.3125  $\mu\text{l/ml}$ ) < cinnamon bark = oregano(0.625  $\mu\text{l/ml}$ ) < clove bud = lemon grass = palmarosa = tea tree(1.25  $\mu\text{l/ml}$ ) < marjoram = lavender spike = spearmint(2.5  $\mu\text{l/ml}$ ) < cajuput = cumin seed = fennel = lavensara = basil = bergamot = caraway = citronella = coriander = dill = elemi = fir needle = hyssop = juniper berry = lavender = netmag = orange sweet = peppermint = rose bulgaria = rose morocco = rosemary = rose wood(5.0  $\mu\text{l/ml}$ ) 정유 순으로 낮게 관찰되었다.

[표 9] 기체상 천연 정유의 *S. enterica*에 대한 MIC와 MLC

천연 유래 정유	MIC (μl/ml)	MLC (μl/ml)
Cinnamon leaf	0.0391	0.0391
Thyme thymol	0.3125	0.3125
Thyme linolol	0.3125	0.3125
Cinnamon bark	0.6250	0.6250
Oregano	0.6250	0.6250
Clove bud	1.2500	1.2500
Lemon grass	1.2500	1.2500
Palmarosa	1.2500	1.2500
Tea tree	1.2500	1.2500
Marjoram	1.2500	2.5000
Lavender spike	2.5000	2.5000
Spearmint	2.5000	2.5000
Cajeput	2.5000	5.0000
Cumin seed	2.5000	5.0000
Funnel	2.5000	5.0000
Lavensara	2.5000	5.0000
Basil	5.0000	5.0000
Bergamot	5.0000	5.0000
Caraway	5.0000	5.0000
Citronella	5.0000	5.0000
Coriander	5.0000	5.0000
Dill	5.0000	5.0000
Elemi	5.0000	5.0000
Fir Needle	5.0000	5.0000
Hyssop	5.0000	5.0000
Juniper berry	5.0000	5.0000
Lavender	5.0000	5.0000
Netmag	5.0000	5.0000
Orange sweet	5.0000	5.0000
Peppermint	5.0000	5.0000
Rose Bulgaria	5.0000	5.0000
Rose Morocco	5.0000	5.0000
Rosemary	5.0000	5.0000
Rosewood	5.0000	5.0000

(나) *L. monocytogenes*에 대한 천연 정유 기체의 MIC와 MLC 확인

*L. monocytogenes*에 대한 MIC와 MLC를 측정된 결과, 100종의 천연 정유 중 43종의 정유

에서 최소저해농도와 최소치사농도를 확인하였다.

*L. monocytogenes*에 대한 MIC는 cinnamon bark, cinnamon leaf, clove bud, oregano, oregano Spanish, thyme thymol 정유가 0.078 µl/ml로 가장 낮았다. 그 다음으로는 thyme linalol 정유가 0.1563 µl/ml, benzoin, carrot seed, basil 정유가 0.625 µl/ml 순서로 낮은 MIC를 보였다.

MLC는 cinnamon bark, cinnamon leaf, clove bud, oregano, oregano Spanish, thyme thymol이 0.0781 µl/ml로 가장 낮은 MIC를 보였다.

[표 10] 기체상 천연 정유의 *L. monocytogenese*에 대한 MIC와 MLC

천연 유래 정유	MIC (µl/ml)	MLC (µl/ml)
Cinnamon bark	0.0781	0.0781
Cinnamon leaf	0.0781	0.0781
Clove bud	0.0781	0.0781
oregano	0.0781	0.0781
oregano Spanish	0.0781	0.0781
Thyme thymol	0.0781	0.0781
Thyme linalol	0.1563	0.1563
Benzoin	0.6250	0.6250
Carrot seed	0.6250	0.6250
Basil	0.6250	1.2500
Cypress	1.2500	1.2500
Fir Needle Siberian	1.2500	1.2500
Lemon grass	1.2500	1.2500
Myrtle	1.2500	1.2500
Orange sweet	1.2500	1.2500
Neroli	1.2500	1.2500
Palmarosa	1.2500	1.2500
Pacholi	1.2500	1.2400
Bergamot	2.5000	5.0000
Caraway	2.5000	2.5000
Chamomile Roman	2.5000	2.5000
Cumin	2.5000	2.5000
Elemi	2.5000	2.5000
Fir Needle Balsam	2.5000	5.0000
Hyssop	2.5000	5.0000
Jasmin	2.5000	5.0000

Juniper	2.5000	5.0000
Lime	2.5000	2.5000
Netmag	2.5000	2.5000
Sandalwood	2.5000	2.5000
Spearmint	2.5000	2.5000
Spikenard	2.5000	2.5000
Tee tree	2.5000	5.0000
Citronella	5.0000	5.0000
Coriander	5.0000	5.0000
Dill	5.0000	10.0000
Ginger	5.0000	5.0000
Herichrysum	5.0000	5.0000
Lavender	5.0000	5.0000
Lemon	5.0000	5.0000
Rose Bulgaria	5.0000	5.0000
Rose Morocco	5.0000	5.0000
Ylang-Ylang	5.0000	5.0000

(다) *Erwinia spp.*에 대한 천연 정유 기체의 최소저해농도와 최소치사농도 확인

*Erwinia spp.*에 대한 MIC와 MLC를 측정한 결과, 100종의 천연 정유 중 17종의 정유에서 MIC와 MLC를 확인하였다.

*Erwinia spp.*에 대한 MIC는 thyme thymol, thyme linalol, oregano, cinnamon leaf 정유가 0.625 µl/ml로 가장 낮았다. MLC는 thyme thymol, oregano, cinnamon leaf 정유 순으로 가장 낮은 MIC를 보였다.

[표 11] 기체상 천연 정유의 *Erwinia spp.*에 대한 MIC와 MLC

천연 유래 정유	MIC (µl/ml)	MLC (µl/ml)
Thyme thymol	0.6250	0.6250
Thyme linalol	0.6250	1.2500
Oregano	0.6250	0.6250
Cinnamon leaf	0.6250	0.6250
Clove bud	1.2500	1.2500
Sage	1.2500	1.2500
Cinnamon bark	1.2500	1.2500

Marjoram	1.2500	1.2500
Spikenard	1.2500	1.2500
Lemongrass	2.5000	2.5000
Garlic	2.5000	2.5000
Basil	2.5000	5.0000
Peppermint	5.0000	5.0000
Rosemary	5.0000	> 10.0
Spearment	5.0000	10.0000
Cypress	10.0000	> 10.0
Bergamot	10.0000	> 10.0

(라) *P. aeruginosa*에 대한 천연 정유 기체의 MIC와 MLC 확인

*P. aeruginosa*에 대한 MIC와 MLC를 측정한 결과, 100종의 천연 정유 중 13종의 정유에서 MIC와 MLC를 확인하였다.

*P. aeruginosa*에 대한 MIC는 garlic 정유가 0.625 µl/ml로 가장 낮았고, 그 다음으로 oregano와 cinnamon leaf 정유가 1.25 µl/ml로 낮았다. MLC는 garlic 정유가 0.625 µl/ml로 가장 낮았고, oregano 정유가 1.25 µl/ml로 그 다음으로 낮았다.

[표 12] 기체상 천연 정유의 *P. aeruginosa*에 대한 MIC와 MLC

천연 유래 정유	MIC (µl/ml)	MLC (µl/ml)
Garlic	0.6250	0.6250
Oregano	1.2500	1.2500
Cinnamon leaf	1.2500	2.5000
Thyme thymol	2.5000	2.5000
Hyssop	2.5000	2.5000
Sage Spanish	2.5000	2.5000
Clove bud	2.5000	5.0000
Lemon	5.0000	5.0000
Peppermint	5.0000	5.0000
Marjoram	5.0000	10.0000
Rosemary	5.0000	10.0000
Black pepper	10.0000	> 10.0



## 다. 천연 유래 향균 정유의 조합처리에 의한 식품위해미생물 살균시너지 평가

### (1) 기체상 향균 정유 살균시너지를 확인하기 위한 실험방법 결정

기체상 향균 정유를 조합하여 살균시너지를 확인할 수 있는 실험 방법을 탐색하고 결정하기 위한 연구를 수행하였다.

천연 정유 기체를 조합하여 향균시너지를 확인하기 위한 실험 방법은 표준화되어 있지 않으며, 현재까지 연구가 진행되어 있지 않은 상황이다. 본 연구팀은 액체상의 향균물질을 조합하여 향균시너지를 확인하는 방법인 checkerboard assay를 응용하여 기체상 향균 정유의 향균시너지 결과를 확인할 수 있는 실험방법을 확립하였다.

먼저 nutrient agar에 1% (w/v)의 D-glucose와 0.025% (w/v)의 bromocresol purple이 첨가된 NAGBA를 제조하여 autoclave한 후, 50°C의 항온수조에서 유지하여 반고형 상태를 유지하였다. Autoclave된 experimental apparatus (vial type)의 upper well에 반고형 상태의 NAGBA를 0.49 mL씩 부어 실온에서 30 분간 굳힌다. 굳은 NAGBA에 5개 strains이 혼합된 *Listeria monocytogenes* 배양액 (ca. 7.0 log CFU/mL)을 10 uL를 접종하고 laminar flow biosafety hood (22±2°C)에서 30 분간 유지시킨다.

Lower well에는 반으로 나뉘어진 8mm 지름의 paper disc (Advantec Toyo Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 넣어준다. Diethyl ether를 이용하여 천연 향균 정유의 MIC의 2배가 되도록 희석액을 제조한다. 제조한 희석액 각각을 diethyl ether를 이용하여 멸균된 microtube에 2배씩 단계별로 희석하여 준비한다. 1-8행에, MIC의 2배 농도부터 MIC의 1/64배 농도가 되도록 희석한 A 정유를 5 µl씩 넣고, 1-8열에는 MIC의 2배 농도부터 MIC의 1/64배 농도가 되도록 희석한 B 정유를 5µl씩 넣는다. 분주한 직후, lower well과 upper well을 빠르게 결합하고, 정유가 휘발되어 새어나가지 않도록 파라필름으로 이음새부분을 랩핑하고 vial 위에 septa를 올려놓고 조인트로 눌러주어 밀봉시킨다. 밀봉된 vial을 30°C 인큐베이터에서 24-48 시간 배양한 후 배지의 색 변화를 육안으로 관찰하여 균의 성장이 억제되는 최저농도에 대한 비율을 판별한다. 가장 효율적으로 나타난 배합 농도의 결과를 하기식에 대입 후 부분 억제 농도 (fractional inhibiting concentration, FIC)를 계산한다.

2종 및 3종 정유의 시너지 조합에 따른 FIC 계산식은 다음과 같다.

정유 A의 FIC = (조합에서 정유 A의 MIC)/(정유 A를 단독으로 사용하였을 때의 MIC)

정유 B의 FIC=(조합에서의 정유 B의 MIC)/(정유 B를 단독으로 사용하였을 때의 MIC)

FIC index = 정유 A의 FIC + 정유 B의 FIC

정유 A의 FIC=(조합에서 정유 A의 MIC)/(정유 A를 단독으로 사용하였을 때의 MIC)  
 정유 B의 FIC=(조합에서의 정유 B의 MIC)/(정유 B를 단독으로 사용하였을 때의 MIC)  
 정유 C의 FIC=(조합에서의 정유 C의 MIC)/(정유 C를 단독으로 사용하였을 때의 MIC)  

$$\text{FIC index} = \text{정유 A의 FIC} + \text{정유 B의 FIC} + \text{정유 C의 FIC}$$

FICI의 해석은 아래와 같다.

<p>FICI ≤ 0.5 : Synergism                  0.5 &lt; FICI ≤ 1.0 : Partial synergism                  1.0 &lt; FICI ≤ 4.0 : Indifference                  FICI &gt; 4 : Antagonism</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**(2) 식품위해미생물에 대한 항균시너지를 보이는 정유 기체의 조합 탐색**

**(가) 식품위해미생물에 대한 항균시너지를 보이는 정유 기체의 조합 탐색 방법**

*L. monocytogenes*에 대해 MIC값이 낮은 천연 항균 정유들을 선별하고, 선별된 천연 항균 정유들을 2종 또는 3종을 조합하여 *L. monocytogenes*에 대해 저해시너지를 보이는 정유 기체 조합을 확인하였다. 또한 *L. monocytogenes*에 대해 MIC값이 낮은 정유들을 선별하고, 선별된 정유들을 2종 또는 3종을 조합하여 조합에 따른 저해시너지를 확인하였다.

**(나) 식품위해미생물에 대한 항균시너지를 보이는 정유 2종의 기체의 조합 탐색 결과**

상기의 실험을 바탕으로 식품위해미생물인 *L. monocytogenes*에 우수한 항균력을 보유한 천연 항균 정유 5종(cinnamon bark, cinnamon leaf, clove bud, oregano, thyme thymol 정유)을 선별하였고, 5종의 정유들을 두 종류씩 조합하여 조합에 따른 상승효과 여부를 확인하였다.

*L. monocytogenes*에 저해시너지를 보인 조합은 cinnamon bark 정유와 oregano 정유 조합 (FICI 0.38), cinnamon bark 정유와 thyme thymol 정유 조합 (FICI 0.50), cinnamon leaf 정유와 thyme thymol 정유 조합 (FICI 0.5), clove bud 정유와 thyme thymol 정유 조합 (FICI 0.50), oregano 정유와 thyme thymol 정유 조합 (FICI 0.38) 이었다. 또한 Cinnamon bark 정유와 cinnamon leaf 정유 조합, cinnamon leaf 정유와 oregano 정유 조합은 각각 0.75와 0.52의 부분저해농도지수 (FICI)를 보여 부분시너지를 보였다.

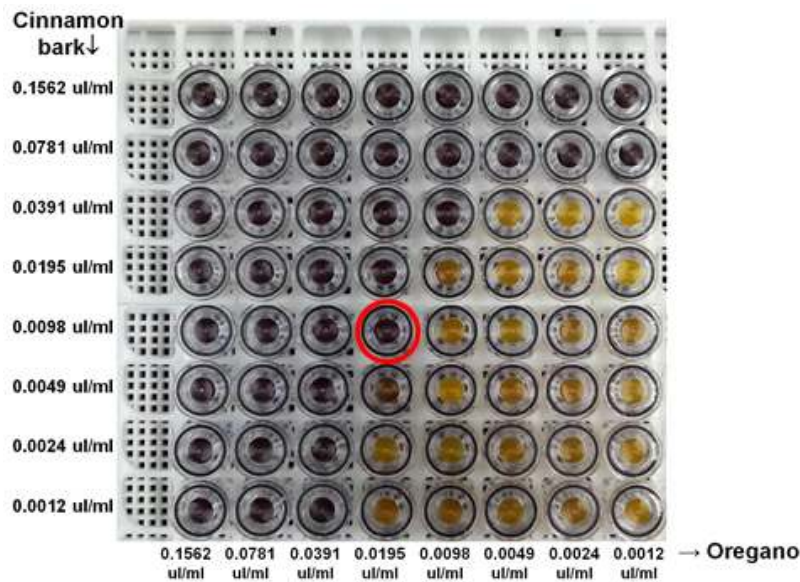
[표 13] *L. monocytogenes* cocktail에 대해 낮은 MIC를 보인 cinnamon bark정유와 oregano 정유를 조합한 조성물의 항균시너지 확인

천연 정유 (Essential oils)	MIC ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )				Outcome <sup>c</sup>
	Alone	In combination	FIC <sup>a</sup>	FICI <sup>b</sup>	
Cinnamon bark	0.0781	0.0098	0.125	0.375	Synergy
Oregano	0.0781	0.0195	0.25		

<sup>a</sup> A fractional inhibiting concentration (FIC): MIC in combination/MIC alone.

<sup>b</sup> Fractional inhibiting concentration index (FICI): Sum of FICs of two essential oils.

<sup>c</sup> The FICI was interpreted as described by Isenberg (1992): synergy (FICI  $\leq 0.5$ ), partial synergy (FICI  $> 0.5$  but  $< 1.0$ ), indifference (FICI  $\geq 1$  but  $\leq 4.0$ ), antagonism (FICI  $> 4.0$ ).



[그림 18] 기체 checkerboard assay를 이용하여 cinnamon bark 정유와 oregano 정유 조합 처리에 의한 *L. monocytogenes* cocktail 저해시너지 확인 결과

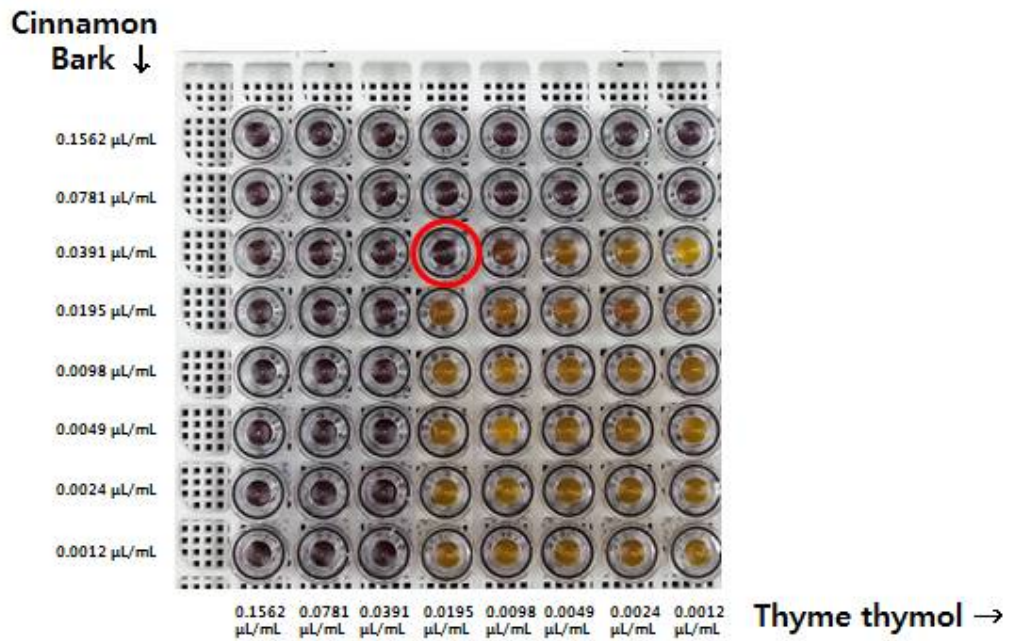
[표 14] *L. monocytogenes* cocktail에 대해 낮은 MIC를 보인 cinnamon bark정유와 thyme thymol정유를 조합한 조성물의 항균시너지 확인

천연 정유 (Essential oils)	MIC ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )				Outcome <sup>c</sup>
	Alone	In combination	FIC <sup>a</sup>	FICI <sup>b</sup>	
Cinnamon bark	0.0781	0.0195	0.25	0.5	Synergy
Thyme thymol	0.0781	0.0195	0.25		

<sup>a</sup> A fractional inhibiting concentration (FIC): MIC in combination/MIC alone.

<sup>b</sup> Fractional inhibiting concentration index (FICI): Sum of FICs of two essential oils.

<sup>c</sup> The FICI was interpreted as described by Isenberg (1992): synergy (FICI  $\leq 0.5$ ), partial synergy (FICI  $> 0.5$  but  $< 1.0$ ), indifference (FICI  $\geq 1$  but  $\leq 4.0$ ), antagonism (FICI  $> 4.0$ ).



[그림 19] 기체 checkerboard assay를 이용하여 cinnamon bark 정유와 thyme thymol 정유 조합 처리에 의한 *L. monocytogenes* cocktail 저해시너지 확인 결과

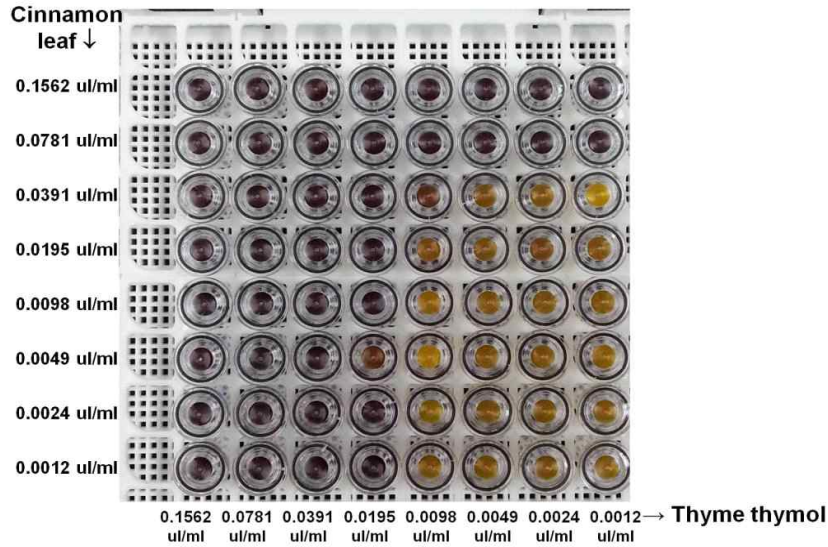
[표 15] *L. monocytogenes* cocktail에 대해 낮은 MIC를 보인 cinnamon leaf 정유와 thyme thymol 정유를 조합한 조성물의 항균시너지 확인

천연 정유 (Essential oils)	MIC ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )				
	Alone	In combination	FIC <sup>a</sup>	FICI <sup>b</sup>	Outcome <sup>c</sup>
Cinnamon leaf	0.0781	0.0195	0.25	0.27	Synergy
Thyme thymol	0.0781	0.0012	0.02		

<sup>a</sup> A fractional inhibiting concentration (FIC): MIC in combination/MIC alone.

<sup>b</sup> Fractional inhibiting concentration index (FICI): Sum of FICs of two essential oils.

<sup>c</sup> The FICI was interpreted as described by Isenberg (1992): synergy (FICI  $\leq 0.5$ ), partial synergy (FICI  $> 0.5$  but  $< 1.0$ ), indifference (FICI  $\geq 1$  but  $\leq 4.0$ ), antagonism (FICI  $> 4.0$ ).



[그림 20] 기체 checkerboard assay를 이용하여 cinnamon leaf 정유와 thyme thymol 정유 조합 처리에 의한 *L. monocytogenes* cocktail 저해시너지 확인 결과

[표 16] *L. monocytogenes* cocktail에 대해 낮은 MIC를 보인 clove bud 정유와 thyme thymol 정유를 조합한 조성물의 항균시너지 확인

천연 정유 (Essential oils)	MIC ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )				
	Alone	In combination	FIC <sup>a</sup>	FICI <sup>b</sup>	Outcome <sup>c</sup>
Clove bud	0.0781	0.0195	0.25	0.50	Synergy
Thyme thymol	0.0781	0.0195	0.25		

<sup>a</sup> A fractional inhibiting concentration (FIC): MIC in combination/MIC alone.

<sup>b</sup> Fractional inhibiting concentration index (FICI): Sum of FICs of two essential oils.

<sup>c</sup> The FICI was interpreted as described by Isenberg (1992): synergy (FICI  $\leq 0.5$ ), partial synergy (FICI  $> 0.5$  but  $< 1.0$ ), indifference (FICI  $\geq 1$  but  $\leq 4.0$ ), antagonism (FICI  $> 4.0$ ).

[표 17] *L. monocytogenes* cocktail에 대해 낮은 MIC (최소저해농도)를 보인 thyme thymol 정유와 oregano 정유를 조합한 조성물의 항균시너지 확인

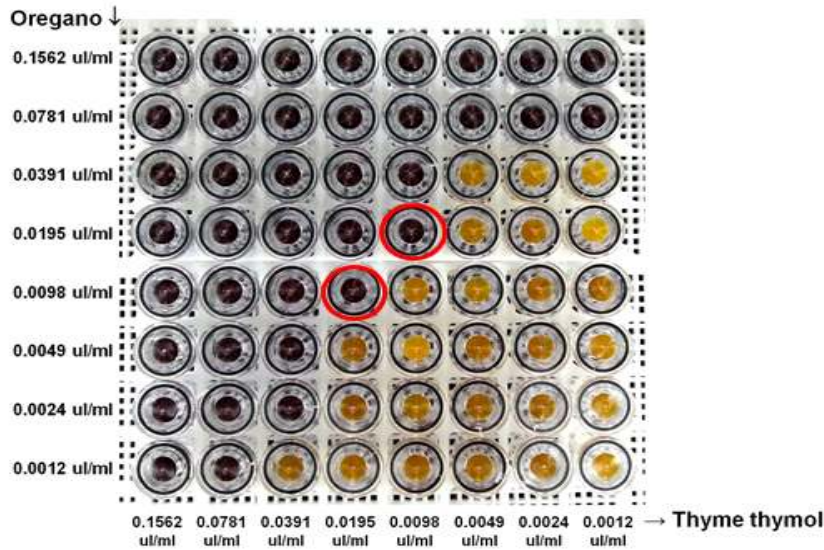
천연 정유 (Essential oils)	MIC ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )				Outcome <sup>c</sup>
	Alone	In combination	FIC <sup>a</sup>	FICI <sup>b</sup>	
Thyme thymol	0.0781	0.0098	0.125	0.375	Synergy
Oregano	0.0781	0.0195	0.25		
Thyme thymol	0.0781	0.0195	0.25	0.375	Synergy
Oregano	0.0781	0.098	0.125		

<sup>a</sup> A fractional inhibiting concentration (FIC): MIC in combination/MIC alone.

<sup>b</sup> Fractional inhibiting concentration index (FICI): Sum of FICs of two essential oils.

<sup>c</sup> The FICI was interpreted as described by Isenberg (1992): synergy (FICI  $\leq 0.5$ ), partial synergy (FICI  $> 0.5$  but  $< 1.0$ ), indifference (FICI  $\geq 1$  but  $\leq 4.0$ ), antagonism (FICI  $> 4.0$ ).





[그림 21] 기체 checkerboard assay를 이용하여 thyme thymol 정유와 oregano 정유 조합 처리에 의한 *L. monocytogenes* cocktail 저해시너지 확인 결과

(나) 식품위해미생물에 대한 항균시너지를 보이는 정유 3종의 기체 조합 탐색 결과

선행 연구 및 재검증을 통하여 *L. monocytogenes*에 우수한 항균력을 보인 천연 항균 정유 조합 3종류(cinnamon bark 정유와 oregano 정유 조합, cinnamon bark 정유와 thyme thymol 정유 조합, oregano 정유와 thyme thymol 정유 조합)를 선별하였고, 조합에서 사용된 3의 정유들(cinnamon bark, thyme thymol와 oregano 정유)을 모두 조합하여 조합에 따른 저해시너지효과 여부를 확인하였다. *L. monocytogenes*에 대하여 cinnamon bark 정유, oregano 정유와 thyme thymol 정유 조합은 저해시너지를 보였고 가장 효율적인 조합 농도는 아래의 표에 나타내었다.

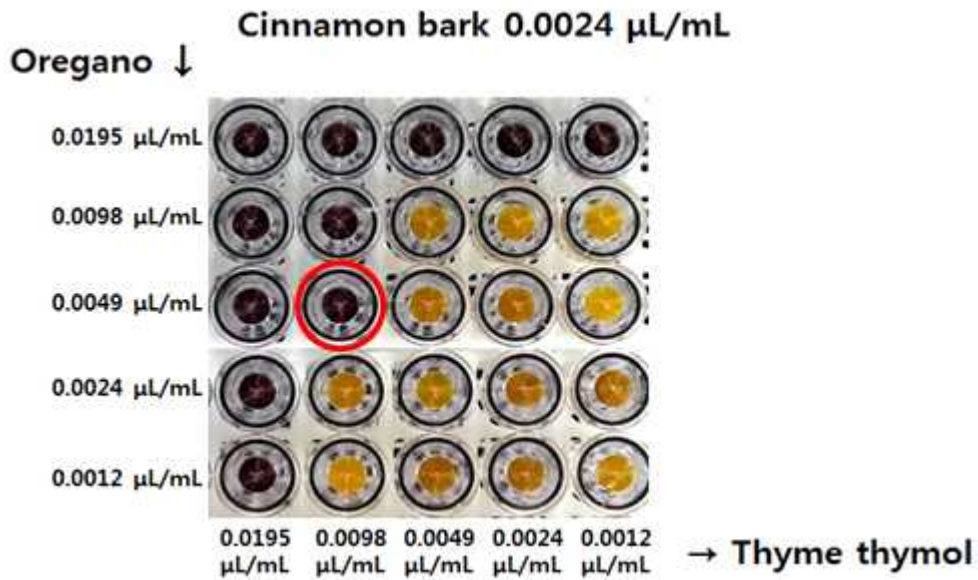
[표 18] *L. monocytogenes* cocktail에 대해 낮은 MIC를 보인 cinnamon bark정유, oregano 정유와 thyme thymol 정유를 조합한 조성물의 항균시너지 확인

천연 정유 (Essential oils)	MIC ( $\mu\text{L/mL}$ )				Outcome <sup>c</sup>
	Alone	In combination	FIC <sup>a</sup>	FICI <sup>b</sup>	
Cinnamon bark	0.0781	0.0024	0.031		
Oregano	0.0781	0.0049	0.063	0.219	Synergy
Thyme thymol	0.0781	0.0098	0.125		

<sup>a</sup> A fractional inhibiting concentration (FIC): MIC in combination/MIC alone.

<sup>b</sup> Fractional inhibiting concentration index (FICI): Sum of FICs of three essential oils.

<sup>c</sup> The FICI was interpreted as described by Isenberg (1992): synergy (FICI  $\leq 0.5$ ), partial synergy (FICI  $> 0.5$  but  $< 1.0$ ), indifference (FICI  $\geq 1$  but  $\leq 4.0$ ), antagonism (FICI  $> 4.0$ ).



[그림 22] 기체 checkerboard assay를 이용하여 cinnamon bark 정유, oregano 정유와 thyme thymol 정유 조합 처리에 의한 *L. monocytogenes* 저해시너지 확인 결과

- (3) 천연 항균 정유 기체의 실제 식품에 존재하는 식품위해미생물에 대한 항균력 확인  
 (가) 천연 항균 정유 기체의 실제 식품에 존재하는 식품위해미생물에 대한 항균력 평가 방법

배지에서 *L. monocytogenes*에 우수한 항균력을 나타낸 천연 항균 정유 기체들이 실제 식품 표면에 존재하는 *L. monocytogenes*에 대하여 항균력을 나타내는지 확인하였다. 상기 실험에서 얻어진 결과에서 시너지 효과를 나타낸 천연 항균 정유 기체 조합이 식품 표면에 존재하는 *L. monocytogenes*에 대하여 저해시너지효과를 나타내는지 확인한다.

실제 식품 (무순)에서 천연 항균 정유 기체(cinnamon bark 정유, thyme thymol 정유와 oregano 정유 기체)와 천연 항균 정유 기체 조합(cinnamon bark 정유와 thyme thymol 정유 (1:1) 기체 조합, cinnamon bark 정유와 oregano 정유 (1:2) 기체 조합과 oregano 정유와 thyme thymol 정유 기체(1:2, 2:1) 조합을 농도별로 처리하여 항균성을 확인하였다.

무순 100g 을 5개 strains이 혼합된 *L. monocytogenes* 배양액 (ca. 7.0 log CFU/mL) 1L에 1분간 담귀 무순 표면에 *L. monocytogenes*를 접종하고 laminar flow biosafety hood (22±2°C)에서 1시간 건조시킨다. *L. monocytogenes*가 접종된 무순 5g에 천연 항균 정유 기체를 농도별로 30°C, 상대습도 43% 환경에서 24시간 처리 한다. 천연 항균 정유 기체와 천연 항균 정유 기체 조합을 농도별로 30°C, 상대습도 43% 환경에서 24시간 처리한 무순 표면

에 존재하는 *L. monocytogenes*의 개체수를 oxford agar를 이용하여 확인하였다. *L. monocytogenes*의 개체수가 유의적으로 감소하는 천연 향균 정유 기체의 최소 농도를 확인하고, 같은 농도의 천연 향균 정유 기체를 단일 처리할 때와 조합 처리하였을 때의 *L. monocytogenes*의 개체수를 비교하여 천연 향균 정유 기체 조합이 저해시너지효과를 나타내는지 확인하였다.

(나) 천연 향균 정유 기체의 실제 식품에 존재하는 식품위해미생물에 대한 항균력 평가 결과

각각의 cinnamon bark 정유, oregano 정유와 thyme thymol 정유 기체를 무순 표면에 0.078 mL/L 이상의 농도로 단일 처리하였을 때, *L. monocytogenes*의 개체수가 유의적으로 감소하였다.

기존의 연구 결과에서 저해시너지를 확인한 cinnamon bark 정유와 thyme thymol 정유 (1:1) 기체 조합, cinnamon bark 정유와 oregano 정유 (1:2) 기체 조합과 oregano 정유와 thyme thymol 정유 기체 (1:2, 2:1) 조합을 무순 표면에 0.156 mL/L의 농도 이상으로 처리하였을 때, 무순 표면에 존재하는 *L. monocytogenes*의 개체수가 유의적으로 감소하였다.

무순 표면에 존재하는 *L. monocytogenes*에 저해시너지를 보인 천연 향균 정유 기체 조합은 thyme thymol 정유와 oregano 정유를 1:2와 2:1 비율로 혼합한 조합이었다. Thyme thymol 정유 기체와 oregano 정유기체를 0.156 mL/L 이상의 농도로 처리할 때는 단일 처리 보다 조합 처리 할 때, *L. monocytogenes*의 개체수가 유의적으로 더 감소하는 것을 확인하였다.

[표 19] *L. monocytogenes*를 접종한 무순에 cinnamon bark와 oregano 기체 조합을 상대습도 43%, 30°C에서 24시간 처리한 후, 무순 표면에 존재하는 *L. monocytogenes*의 개체수

EO combinations	Initial pop. (log CFU/g)	Populations ± SD (log CFU/g) <sup>a</sup>				
		Concentration of EO gas (mL/L)				
		0	0.078	0.156	0.313	0.625
Cinnamon bark	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	A 4.6±0.1 b	AB4.3±0.1bc	A 4.1±0.1 c	A 2.9±0.5 d
Oregano	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	A 4.7±0.1 b	A 4.2±0.1 c	B 3.7±0.2 d	A 2.8±0.2 e
Cinnamon bark + oregano (1:2)	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	A 4.7±0.1 ab	B 4.4±0.2 b	A 4.0±0.2 c	A 2.9±0.3 d

<sup>a</sup> Values in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ( $P \leq 0.05$ ). Within the same pathogen, values in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ( $P \leq 0.05$ ).



[표 20] *L. monocytogenes*를 접종한 무순에 cinnamon bark와 thyme thymol 기체 조합을 상대습도 43%, 30°C에서 24시간 처리한 후, 무순 표면에 존재하는 *L. monocytogenes*의 개체수

EO combinations	Initial pop. (log CFU/g)	Populations ± SD (log CFU/g) <sup>a</sup>				
		Concentration of EO gas (mL/L)				
		0	0.078	0.156	0.313	0.625
Cinnamon bark	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	A 4.6±0.1 b	A4.3±0.1bc	A 4.1±0.1 c	A 2.9±0.5 d
Thyme thymol	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	AB4.6±0.2b	A4.3±0.2bc	A 4.1±0.2 c	B 3.6±0.1 d
Cinnamon bark + thyme thymol (1:2)	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	B 4.8±0.1 a	A 4.2±0.2 b	A 4.1±0.1 b	B 3.6±0.1 c

<sup>a</sup> Values in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ( $P \leq 0.05$ ). Within the same pathogen, values in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ( $P \leq 0.05$ ).

[표 21] *L. monocytogenes*를 접종한 무순에 thyme thymol와 oregano 기체 조합을 상대습도 43%, 30°C에서 24시간 처리한 후, 무순 표면에 존재하는 *L. monocytogenes*의 개체수

EO combinations	Initial pop. (log CFU/g)	Populations ± SD (log CFU/g) <sup>a</sup>				
		Concentration of EO gas (mL/L)				
		0	0.078	0.156	0.313	0.625
Thyme thymol	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	A 4.5±0.2 b	A4.3±0.2bc	A 4.1±0.2 c	A 3.6±0.1 d
oregano	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	A 4.7±0.1 b	AB4.2±0.1c	B 3.7±0.2 d	B 2.8±0.2 e
Thyme thymol + oregano (2:1)	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	A 5.0±0.2 a	BC3.7±0.3b	D 2.5±0.4 c	C 1.5±0.4 d
Thyme thymol + oregano (1:2)	6.5±0.2	A 5.0±0.1 a	A 5.0±0.4 a	C3.5±0.4b	C 3.0±0.2 b	C 1.7±0.3 c

<sup>a</sup> Values in the same row that are not followed by the same lowercase letter are significantly different ( $P \leq 0.05$ ). Within the same pathogen, values in the same column that are not preceded by the same uppercase letter are significantly different ( $P \leq 0.05$ ).

## 2. 천연 유래 항산화 정유의 탐색 및 선정

항산화 효과가 우수한 천연 유래 정유를 선정하기 위하여 기존 문헌 연구를 바탕으로 선정

연구가 진행되었으며 선행문헌의 결과에 따라 본 연구 과제의 항산화 효용 발현을 위한 대표적인 항산화 정유를 선정하였다.

기존 문헌 연구 조사 결과, conjugated diene assay, aldehyde/carboxylic acid assay, MA/GC assay와 같은 다양한 항산화 실험에서 thyme oil은 기타 정유에 비해, 항산화 물질로 알려진  $\alpha$ -tocopherol에 준하는 결과를 보였다.

또한 thyme oil의 주성분인 thymol은 천연 monoterpene phenol로서 강한 항산화력을 보유하며, 식품 포장 관련 연구에 많이 사용되어 왔다. 그 예로, zein based film에 thymol을 첨가하여 방출효과를 확인한 논문(M. Mastromatteo et al., Innovative Food Science and Emerging Technologies, 10, (2009), 222-227)과 식품 포장용으로 polypropylene film에 carvacrol과 thymol을 첨가한 논문(Marina Ramos et al., Journal of Food Engineering, 109, (2012), 513-519)을 참고할 수 있다.

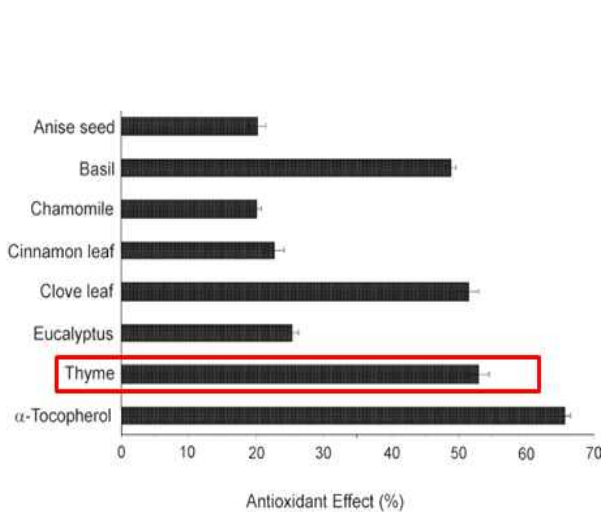


Figure 1. Results for the essential oils exhibiting appreciable effects at 200  $\mu$ g/mL after 24 h in the conjugated diene assay.

Alfreda Wei et al., J. Agric. Food Chem. 58, (2010), 7218-7225

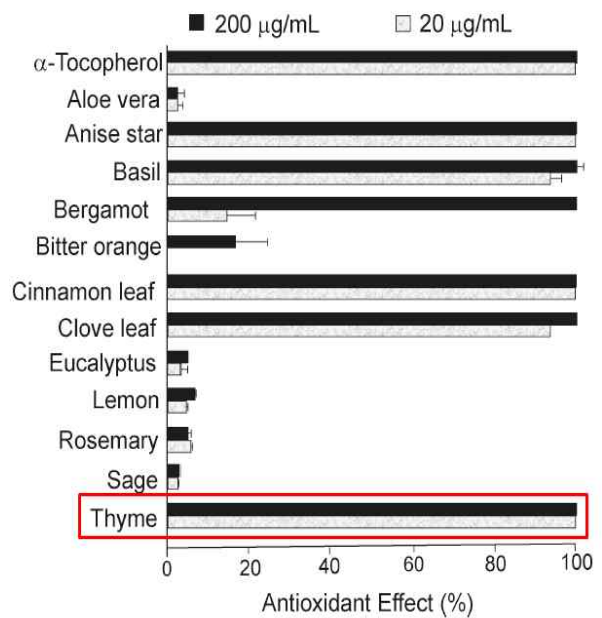
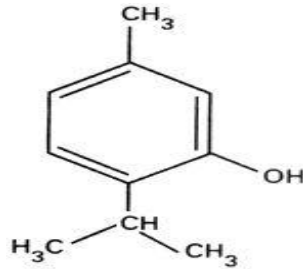


Figure 3. Antioxidant effects exhibited by essential oils at concentrations of 20 and 200  $\mu$ g/mL in the aldehyde/carboxylic acid assay.

### [그림 23] 항산화 효과 발현이 우수한 정유의 선행 연구 결과

Thyme 정유는 thymus vulgaris의 말린 잎을 수증기 증류하는 방식으로 추출하며 주성분은 thymol, p-cymene,  $\gamma$ -terpinene 등으로 구성되어 있다. 본 과제에서 실험에 사용된 thyme 정유는 thymol이 40% 가량 보유한 제품이다. Thyme 정유는 항산화 효과뿐만 아니라, 항균 효과, 방충효과를 보유하고 있다.



[그림 24] Thymol의 화학 구조

### 3. 천연 유래 방충 정유의 탐색 및 선정

#### 가. 천연 유래 방충 정유의 탐색 및 선정을 위한 실험인자들의 결정

##### (1) 천연 유래 정유 선정 및 확보

고휘발성의 다양한 천연유래 정유 물질들의 방충 능력 검증을 목적으로 하여 가장 효과가 좋은 물질을 선정하는 연구가 수행되었다. 기존의 선행연구들에서 방충 효과가 확인된 정유를 확보한 후 정유 물질을 이용하여 방충 실험 및 세포 생존에 미치는 영향을 조사하였다. 아래 표에 방충성을 검증하기 위해 이용된 정유 목록을 나타내었다.

[표 22] 방충 실험에 이용한 정유 목록

정유	학명	정유	학명
Garlic	<i>Allium sativum</i>	Pine	<i>Pinus rigida</i>
Onion	<i>Allium cepa</i>	Mint	<i>Mentha spp.</i>
Oregano	<i>Origanum vulgare</i>	Tea tree	<i>Melaleuca alternifolia</i>
Sage	<i>Salvia officinalis</i>	Clove	<i>Syzygium aromaticum</i>
Orange	<i>Citrus sinensis</i>	Rosemary	<i>Rosemarinus officinalis</i>

##### (2) 천연 유래 정유의 방충력 검증을 위한 대상 해충의 선정

식품 산업에서 생산, 유통 및 저장 중 빈번히 발생하는 해충의 피해를 저감화하기 위한 방충 실험의 적용을 위한 대상 해충을 선정하기 위하여 문헌조사를 통한 연구를 수행하였으며 각종 가공 식품 및 곡물 산업에 걸쳐 심각한 피해를 입히고 있는 ‘화랑곡나방(*Plodia interpunctella*) 유충을 대상 해충으로 선정하였다.



[그림 25] 화랑곡나방

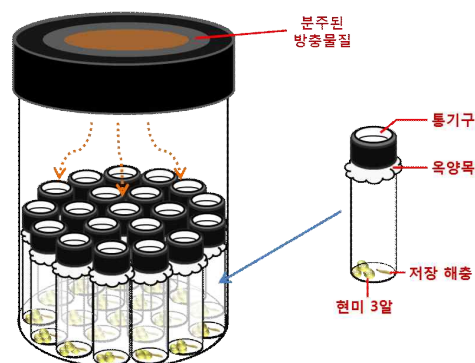
## 나. 천연 유래 정유 물질의 해충 제어 능력 평가

### (1) 훈증사멸실험을 통한 천연 유래 정유 물질의 해충 제어 능력 평가

#### (가) 훈증사멸실험을 통한 천연 유래 정유 물질의 해충 제어 능력 평가 방법

밀폐된 실험기구에 휘발성이 높은 정유 물질을 100%, 10%, 2%, 0.4% 의 농도별로 각각 방출시켜 포화된 기구 내에서의 방충 물질이 관능적 요소에 미치는 영향이 적으면서 동시에 화랑곡나방 유충에 대한 훈증사멸을 유도하는 최적의 농도를 탐색하였다. 본 연구팀에서 자체 개발한 훈증 사멸 실험 트랩을 이용하여 사멸 효과를 검증하기 위하여 휘발성 정유 물질을 100%, 10%, 2%, 0.4% 4가지 농도로 나누어 각각 사용하였다.

한 마리의 해충이 들어있는 500ml polyethylene 병에 유리 vial 10개를 적재하고 유리 vial의 윗부분은 해충의 탈출 방지와 방충 물질의 확산을 위하여 통기가 되는 옥양목으로 처리한 후 뚜껑은 제거하였다. 아사(餓死)로 인한 사멸 가능성을 제거하기 위하여 각 vial에는 해충과 함께 현미 3알을 적재하였으며 polyethylene 병의 뚜껑 안쪽 부분에는 방충 물질 2%를 분주한 필터페이퍼를 부착하였다. 120시간 후 사멸하는 해충의 수를 집계하여 사멸률을 나타내었다.



[그림 26] 훈증 사멸 테스트 트랩의 모식도

## (나) 훈증사멸실험을 통한 천연 유래 정유 물질의 해충 제어 능력 평가 결과

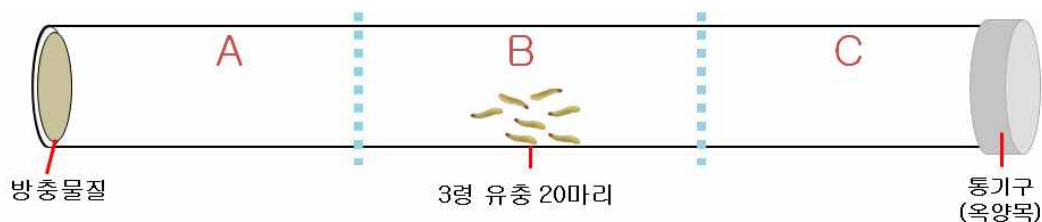
Garlic의 정유의 경우, garlic의 정유 물질을 2% 농도로 처리하여 120시간 동안 훈증사멸력을 측정된 결과, 약 55% 이상의 높은 훈증사멸력이 관찰되었다. Onion의 정유 물질에서는 약 40%의 훈증사멸력으로서 garlic 정유 물질 다음으로 뛰어난 효과를 보였다. Garlic과 onion의 정유 물질의 이외에 organo, sage, orange, pine, mint, tea tree, clove, rosemary는 낮거나 전혀 사멸력을 보이지 않았다. 이는 대조구와 비교해도 비슷하거나 낮은 수준으로서 garlic과 onion을 제외한 다른 정유 물질들은 2% 처리 농도에서 사멸력이 없다고 사료된다. Garlic과 onion 정유에서 화랑곡나방 유충에 대해 각각 55%, 40%의 이상의 높은 훈증 사멸력을 보였으며 그 외의 정유에서는 사멸한 유충의 수가 대조군과 비슷하거나 120시간 이내에 사멸이 일어나지 않아 훈증 사멸력이 없는 것으로 사료된다.

## (2) 기피 테스트를 통한 천연 유래 정유 물질의 해충 제어 능력 평가

### (가) 기피 테스트를 통한 천연 유래 정유 물질의 해충 제어 능력 평가 방법

휘발성이 높은 정유 물질의 특성과 통기구가 있는 기구에서의 농도차를 이용하여 화랑곡나방 유충의 기피를 유도하는 물질을 선정하였다. 농도별(100%, 10%, 2%, 0.4%) 훈증사멸 테스트에서 관능적 요소에 영향을 미치지 않으면서 화랑곡나방 유충이 사멸하지 않은 2% 농도를 선정하여 실시하였으며 기피 테스트 트랩을 이용한 기피력 측정 실험에서 선정된 방충 물질 처리 실험군에서 무처리군과 비교하여 약 50% 이상의 기피력을 기대하였다.

기피 테스트 트랩을 이용한 해충 기피 효과 검증 방법으로서 길이 37cm 및 지름 5cm의 한 쪽은 막히고 한 쪽은 뚫린 유리 실린더를 이용하였으며 막힌 쪽부터 가상으로 A, B, C 구역으로 지정 후 A구역에는 방충 물질을, B구역에는 저장 해충 20마리를, 마지막으로 뚫려 있는 C구역에는 방충 물질의 농도 차 유도와 해충의 탈출을 방지하기 위한 목적으로 통기구(옥양목)를 처리하는 방식으로 평가를 수행하였다. 최종적으로 시간에 따라 각 구역에 위치한 해충의 수를 집계하여 기피 효과를 나타내었다.



[그림 27] 기피 테스트 트랩의 모식도

### (나) 기피 테스트를 통한 천연 유래 정유 물질의 해충 제어 능력 평가 결과

Garlic의 정유 물질의 기피 테스트 결과, 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역에 위치한 것으로 보아 garlic의 정유 물질은 기피력을 지니지 않는 것으로 보인다. 하지만, 다른 실험군과는 달리 A구역으로 이동한 유충이 사멸한 경우가 많은 것으로 보아 훈증사멸력이 뛰어난 garlic의 특성상 농도구배에 따라 상대적으로 방충 물질의 농도가 높은 A구역으로 이동한 유충이 다른 곳으로 이동하지 못하고 사멸하였다고 사료된다.

Onion의 정유 물질에서는 garlic의 정유 물질과 비슷한 기피 경향을 보이는데, 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역에 위치한 것으로 보아 onion의 정유 물질은 기피력을 지니지 않는 것으로 보인다. Onion의 정유 물질 역시 앞서 제시한 훈증 실험의 결과에서 garlic과 함께 높은 훈증사멸률을 보였고, 농도구배의 원리를 이용하는 기피실험 기구의 특성상 상대적으로 방충 물질의 농도가 높은 A구역으로 이동한 유충이 다른 곳으로 이동하지 못하고 사멸하였다고 사료된다.

Oregano의 정유 물질은 시간이 지남(24시간 ~ 48시간)에도 A구역, B구역, C구역에서의 유충의 수 변화가 거의 없는 대조군과 비슷한 경향을 보여 기피력이 없는 것으로 사료된다.

Sage의 정유 물질은 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역으로 이동한 것으로 보아 sage의 정유 물질은 기피력을 지니지 않는 것으로 보인다.

Orange의 정유 물질은 24시간과 48시간이 경과하였을 때 대부분의 유충이 C구역으로 이동한 것으로 보아 orange의 정유 물질은 기피력을 지니는 것으로 보인다.

Pine 정유 물질에서는 24시간이 경과하였을 때 대부분의 유충이 A구역으로 이동한 것으로 보아 pine의 정유 물질은 기피력을 지니지 않는 것으로 보였으나 48 시간이 경과하였을 때 A구역에 있던 유충이 모두 B구역이나 C구역으로 이동하여 기피력을 보인다. 유충이 48시간 이후 기피력을 지니는 것으로 보아 다른 물질에 비해 방충물질이 서서히 방출되어 영향을 주는 것으로 사료된다.

Mint의 정유 물질은 24시간과 48시간에서 모두 유충이 A구역보다 C구역에 많은 수가 이동한 것으로 보아 mint의 정유 물질은 기피력을 지니는 것으로 보인다. 시간이 경과함에 따라 A구역의 유충 수는 감소하고, C구역의 유충 수는 증가하는 것으로 보아 방충 물질의 방출이 48시간 이상 유지하는 것으로 보인다.

Tea tree의 정유 물질에서는 Pine의 정유 물질과 마찬가지로 24시간이 경과하였을 때 대부분의 유충이 A구역으로 이동한 것으로 보아 pine의 정유 물질은 기피력을 지니지 않는 것으로 보였으나 48시간이 경과하였을 때 A구역에 있던 유충이 대부분 B구역이나 C구역으로 이

동하여 기피력을 보인다. 유충이 48시간 이 후 기피력을 지니는 것으로 보아 다른 물질에 비해 방충물질이 서서히 방출되어 영향을 주는 것으로 사료된다.

Clove의 정유 물질 결과에서는 방충 물질 중 가장 높은 기피도를 보였는데, 24시간이 경과하였을 때 A구역으로 이동한 유충의 수는 가장 적었으며, 거의 모든 유충이 C구역으로 이동하는 추이를 보였다. 또한 시간이 경과함에 따라 A구역의 유충 수는 감소하고, C구역의 유충 수는 증가하는 것으로 보아 방충 물질의 방출이 48시간 이상 유지하는 것으로 보인다.

Rosemary의 정유 물질에서는 24시간과 48시간에서 모두 유충이 A구역보다 C구역에 많은 수가 이동한 것으로 보아 rosemary의 정유 물질은 기피력을 지니는 것으로 보인다.

결론적으로 대조군은 시간에 지남(24시간 ~ 48시간)에도 A구역, B구역, C구역에서의 수의 변화가 거의 없어 기피력이 없는 것으로 사료된다. Clove, rosemary, orange의 정유 물질이 가장 높은 기피력을 보였으며 이어 mint가 높은 기피력을 보인다. 그 이외의 정유들은 control과 같이 기피력이 없거나 오히려 A구역으로 유충이 이동하는 경향을 보인다. 대부분의 정유들은 시간이 지남에 따라 A구역에서 C구역으로 이동하는 경향을 보였고, 이는 기피력이 없다고 생각되는 정유에서도 관찰되었다. Pine, tea tree의 정유 물질의 경우 24 시간에서 A구역으로 유인되는 것이 관찰되었으나, 48시간이 지난 후 A구역으로부터 B와 C구역으로 모두 이동하여 기피력이 나타났다.

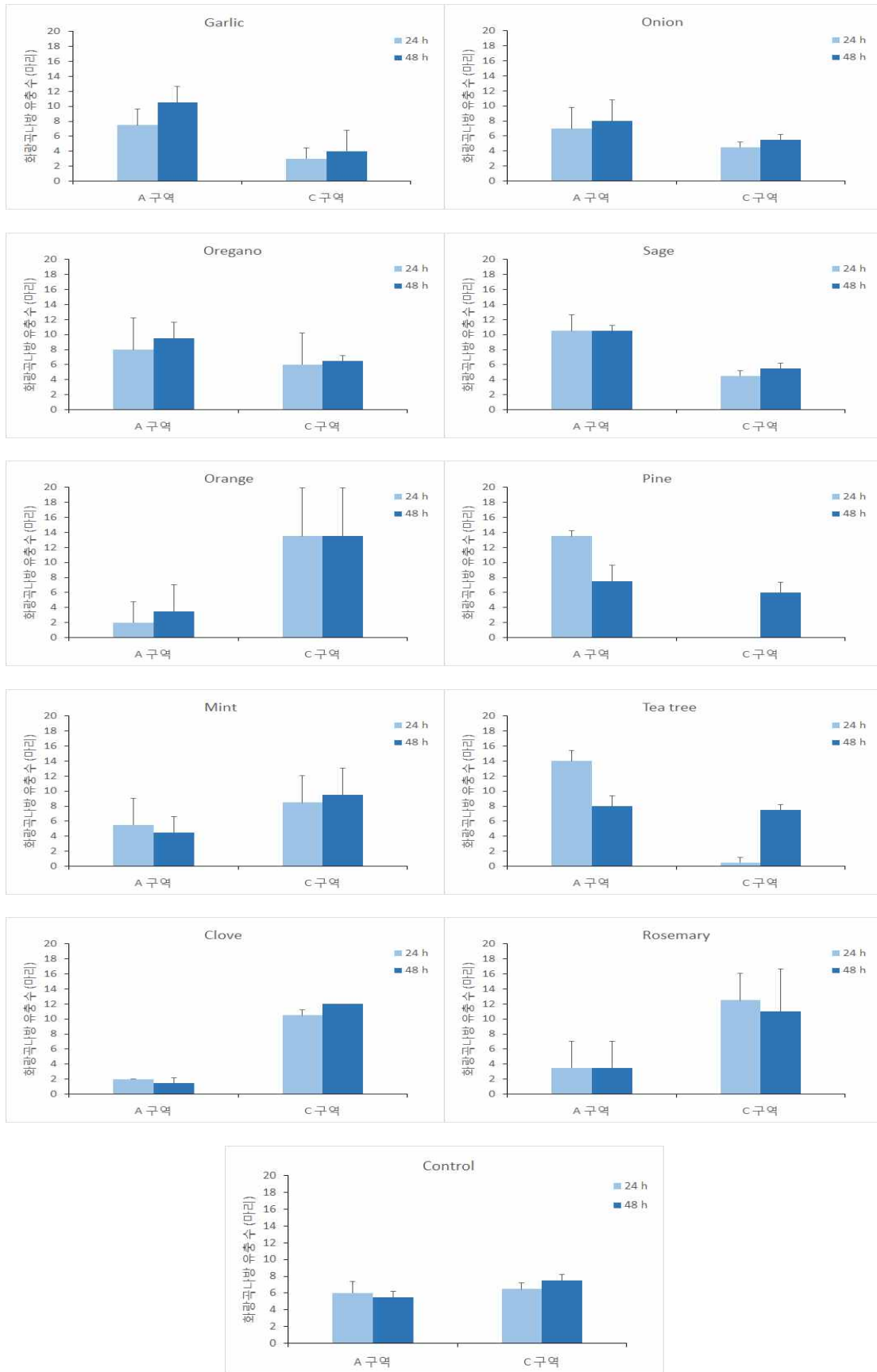
#### **다. 선정된 천연 유래 방충 정유의 성분 분석 및 기피 유발 물질의 확인**

##### **(1) 선정된 천연 유래 방충 정유의 성분 분석 및 기피 유발 물질 확인 방법**

상기에서 도출된 결과를 바탕으로 화랑곡 나방(*Plodia interpunctella*) 유충에 대해 방충력이 우수한 clove bud oil을 방충 식품 포장재에 적용되는 물질로 선정되었으며 이에 따라 clove bud oil의 정확한 성분 분석을 확인하기 위하여 GC/MS를 이용하여 clove bud oil의 정성 분석을 하였다.

##### **(2) 선정된 천연 유래 방충 정유의 성분 분석 및 기피 유발 물질 확인 결과**

정성 분석이 완료된 clove bud oil의 성분 목록을 가장 많은 비율을 차지하는 물질로서 Eugenol이 60.997%가 나왔으며  $\beta$ -Caryophyllene (17.899%), Eugenol acetate (11.73%)순으로 높은 비율을 차지하는 것으로 확인되었다.



[그림 28] 다양한 정유 물질의 기피력



[표 23] Clove bud oil의 구성 성분

Peak	Retention time	Name	Total %
1	17.028	Methyl salicylate	0.283
2	20.352	$\alpha$ -Cubebene	0.067
3	20.417	Chavicol	0.21
4	20.995	3a,7-Methano-3aH-cyclopentacyclooctene	0.032
5	21.181	Copaene	0.527
6	22.038	Eugenol	60.997
7	22.244	2-Methylene-4,8,8-trimethyl-4-vinyl-	0.195
8	22.609	1,3,4-Eugenol methyl ether	0.228
9	22.725	$\beta$ -Caryophyllene	17.899
10	23.618	$\alpha$ -Humulene	3.07
11	23.779	$\delta$ -Cadinene	0.105
12	23.86	$\gamma$ -Cadinene	0.054
13	23.995	N,N-Dimethyldodecylamine	0.158
14	24.203	Vanillin	0.046
15	24.385	$\alpha$ -Guaiene	0.158
16	24.543	$\alpha$ -Selinene	0.099
17	24.926	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-	0.38
18	25.101	1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene	0.041
19	25.257	(-)-Calamenene	0.234
20	26.262	Eugenol acetate	11.73
21	27.749	Caryophyllene oxide	0.851
22	38.568	Docosane	0.044
			97.408

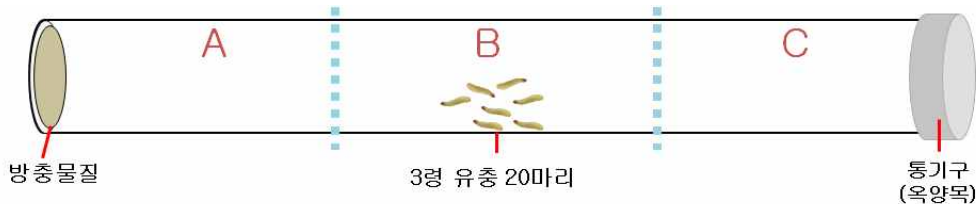
라. 선정된 천연 유래 방충 정유의 방충력 원인 물질의 확인

(1) 선정된 천연 유래 방충 정유의 방충력 원인 물질의 확인 방법

휘발성이 높은 정유 및 그 단일물질들의 특성과 통기구가 있는 기구에서의 농도차를 이용하여 화랑곡나방 유충의 기피를 유도하는 물질을 선정하는 실험을 진행하였으며 이를 위하여 화랑곡나방 유충이 사멸하지 않은 2% 농도를 선정하여 기피테스트를 실시하였다. 기피테스트 트랩을 이용한 기피력 측정 실험에서 선정된 방충 물질 처리 실험군에서 무처리군과 비교하여 50% 이상의 기피력을 기대하였다.

기피테스트 트랩을 이용한 해충 기피 효과 검증을 위하여 다음과 같은 방법으로 실험을 진행하였다. Clove bud oil의 정성 분석 결과를 토대로 가장 많은 비율을 차지하는 단일 성분 3가지(clove bud oil, eugenol,  $\beta$ -caryophyllene, eugenol acetate)를 선정하여 이 성분들의 화랑곡나방 유충에 대한 기피력을 확인하여 정확한 기피 유발 물질을 확인하고자 하였다. 길이 37cm, 지름 5cm의 한 쪽은 막히고 한 쪽은 뚫린 유리 실린더를 이용하여 막힌 쪽부터 가상으로 A, B, C 구역으로 지정 후 A구역에는 방충 물질을, B구역에는 저장 해충 20마리를, 마

지막으로 뚫려있는 C구역에는 방충 물질의 농도 차 유도와 해충의 탈출을 방지하기 위한 목적으로 통기구(옥양목)를 처리하였다. 방충력을 지닐 것으로 예상된 clove bud oil, eugenol,  $\beta$ -caryophyllene, eugenol acetate를 아세톤에 2% 희석하여 필터페이퍼에 분주하여 A구역 안쪽에 위치시켜 시간에 따라 각 구역에 위치한 해충의 수를 집계하여 기피 효과를 나타내었다.



[그림 29] 기피 테스트 트랩 모식도

## (2) 선정된 천연 유래 방충 정유의 방충력 원인 물질의 확인 결과

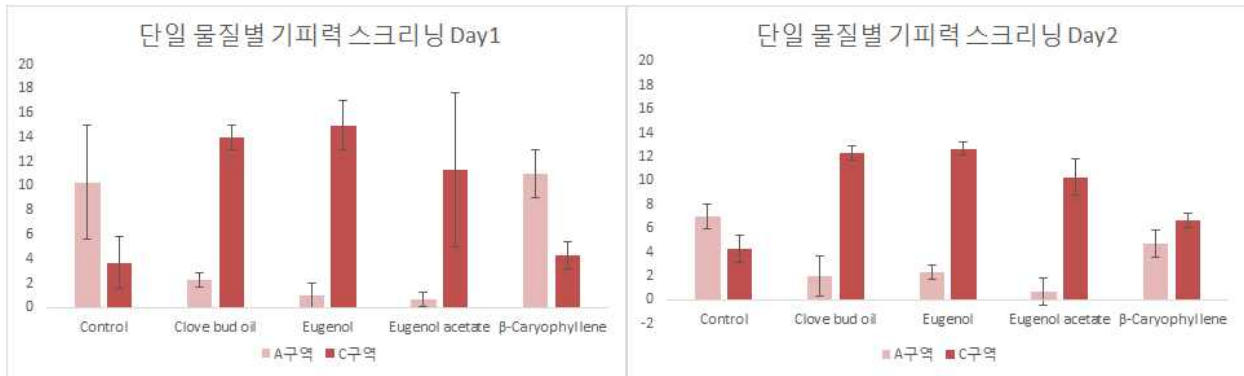
### (가) 천연 유래 방충 정유의 단일 물질별 방충력 확인

GC/MS를 통해 확보한 clove bud oil의 단일 구성 성분들의 목록을 토대로 가장 많은 비율을 차지하는 eugenol (60.997%),  $\beta$ -Caryophyllene (17.899%), eugenol acetate (11.73%)의 화랑곡나방 유충에 대한 기피력을 각각 확인하였다.

Clove bud oil에서는 기존의 결과와 마찬가지로 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 clove bud oil은 높은 기피력을 지닌 것으로 사료된다. Eugenol 물질의 경우, 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 clove bud oil의 단일 구성 성분인 eugenol은 기피력을 지닌 것으로 확인되며  $\beta$ -Caryophyllene에서는 24시간이 경과하였을 때 유충이 A구역에 C구역보다 유충이 더 많았으며, 48시간이 경과하였을 때 A구역과 C구역에 비슷한 수준으로 유충의 수가 관찰되어 clove bud oil의 단일 구성 성분인  $\beta$ -Caryophyllene은 기피효과가 없는 것으로 사료된다. 마지막으로 Eugenol acetate에서는 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 clove bud oil의 단일 구성 성분인 eugenol acetate는 기피력을 지닌 것으로 확인되었다.

결론적으로 대조군은 시간에 지남(24시간 ~ 48시간)에 따라 화랑곡 나방 유충의 수가 C구역 보다 A구역으로 더 많아 기피력이 없는 것으로 사료된다. Clove bud oil의 구성 성분 중에서 eugenol과 eugenol acetate만 화랑곡 나방 유충에 대한 기피력을 갖는 것으로 확인되었

고 Clove bud oil 중 두 번째로 높은 함량을 보인  $\beta$ -Caryophyllene은 대조군과 같이 기피력이 없음을 확인하였다.



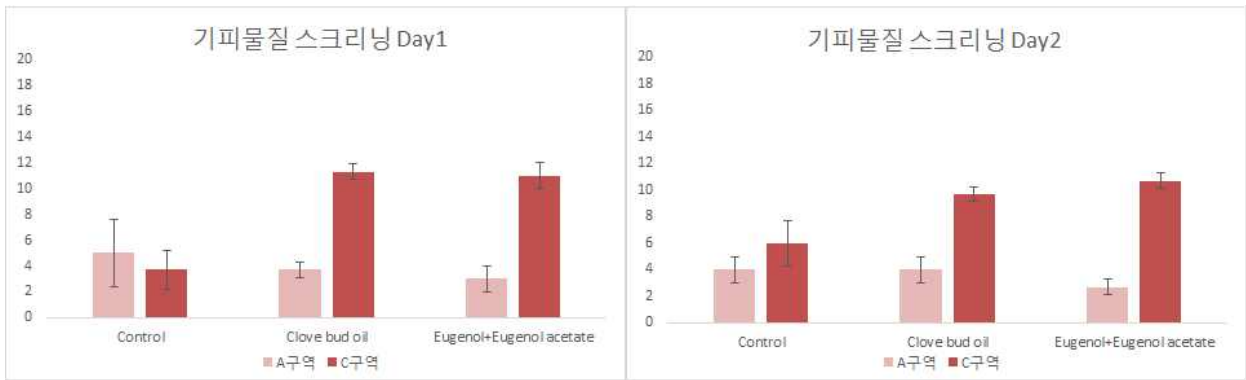
[그림 30] Clove bud oil의 단일 구성성분들의 기피력

#### (나) 천연 유래 방충 정유의 혼합물 조성에 따른 방충력 확인

Clove bud oil의 구성 성분 중에서 eugenol과 eugenol acetate 이외에 화랑곡나방 유충에 대한 또 다른 기피 유발 물질이 존재하는지를 간접적으로 확인해보고자 하였다. 위의 실험과 동일하게 기피테스트 트랩을 이용한 해충기피 효과 검증을 진행하였으며 eugenol과 eugenol acetate를 72.727% 함유한 혼합물을 2% 농도로 희석하여 기피테스트를 실시하였다.

Eugenol과 eugenol acetate이 72.727% 함유한 혼합물에서 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 eugenol과 eugenol acetate이 72.727% 함유한 혼합물은 기피력을 지닌 것으로 확인되었다. 대조군은 시간에 지남(24시간 ~ 48시간)에도 A구역, C구역에서의 수의 변화가 거의 없어 기피력이 없는 것으로 사료된다.

Eugenol과 eugenol acetate이 72.727% 함유한 혼합물의 경우 화랑곡 나방 유충에 대한 기피력을 갖는 것으로 확인되며 위의 단일 물질 평가 결과에서와 같이 clove bud oil의 기피력과 유사한 경향을 보여 clove bud oil의 구성 성분들 중에서 기피를 유발하는 단일 물질은 eugenol과 eugenol acetate로 사료된다.



[그림 31] Eugenol과 eugenol acetate 혼합물의 기피력

#### 4. 천연 유래 정유 물질의 세포 생존에 미치는 영향 평가

##### 가. 천연 유래 정유 물질의 세포 생존에 미치는 영향 평가 방법

천연 정유물질 및 포접에 사용되는 halloysite의 세포 생존에 미치는 영향을 조사하여 방충 포장 적용시 인체에 대한 안전성을 간접적으로 알아보고자 하였다.

MTT (3-(4,5- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)를 이용하여 간접적으로 생존 세포수를 확인하였으며 마우스에서 얻은 중간엽줄기세포(mesenchymal stemcell)인 C3H10T1/2 세포 및 마우스의 지방전구세포인 3T3-L1 세포, 사람의 간암세포인 HepG2를 포함하는 다양한 동물 세포의 생존에 미치는 영향을 평가하였다.

96-well plate에서 세포를 seeding한 후 정유물질을 농도별로 처리하고 24, 48, 72시간째에 각각 5 mg/mL MTT시약을 첨가한 후 4시간 동안 추가 배양한 후 배지를 제거하고 DMSO에 녹여서 540 nm에서 흡광도를 측정하는 방법을 적용하였다.



[그림 32] MTT assay

### (1) 3T3-L1 세포의 생존에 미치는 영향에 대한 실험결과

Garlic의 정유 물질의 결과에서는 정유 물질을 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 24시간 동안 처리한 결과 0.002%까지는 약 80% 이상의 생존율을 보인다.

Onion의 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 24시간 동안 처리한 결과 0.002%까지는 약 110 ~ 80% 정도의 생존율로 보이며 Oregano의 정유 물질 평가에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 처리한 결과 0.00002%부터 0.002%까지 약 91 ~ 94% 이상의 높은 생존율로 보인다.

Sage의 정유 물질은 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 처리한 결과 24시간 처리군에서는 다소 감소된 생존율을 보이나 48시간 처리군에서는 모든 농도에서 세포 생존율이 다소 높아졌으나 경향성은 없는 것으로 나타났다.

Pine의 정유 물질에 대한 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 처리한 결과 24시간, 48시간 처리군의 모든 농도에서 90 ~ 116%로 세포 생존율에 영향이 없는 것으로 나타났으며 농도 의존적인 경향이 없었다.

Mint 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 처리한 결과 24시간, 48시간 처리군의 모든 농도에서 세포 생존율에 영향이 없는 것으로 나타났다. 72시간 처리에서도 0.02%에서 약 71% 정도까지 감소시키나 농도 의존적인 경향이 없었다.

Tea tree의 정유 물질 결과에서는 Tea tree의 정유 물질을 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 처리한 결과 24시간, 48시간 처리군의 모든 농도에서 세포 생존율에 영향이 없는 것으로 나타났다.

Clove의 정유 물질 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 처리한 결과 24시간, 48시간 처리군의 모든 농도에서 세포 생존율에 큰 영향이 없는 것으로 나타났다.

Rosemary의 정유 물질 평가 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 처리한 결과 24시간, 48시간 처리군의 모든 농도에서 세포 생존율에 큰 영향이 없는 것으로 나타났다.

또한, 캡슐 물질로 적용되는 Halloysite 물질의 세포에 대한 영향을 살펴보면 0.00002 ~ 0.02% 농도로 3T3-L1에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 0.00002%부터 0.002%까지 세포 생존이나 독성에 농도 유의적인 경향을 보이지 않았다. 48시간 0.02% 처리군에서도 농도 의존적인 경향이 없었다.

결과적으로 실험이 진행된 농도에서 모든 샘플들은 인간 간암세포(HepG2 세포) 생존에 거의 영향을 미치지 않았다.

## (2) HepG2 세포의 생존에 미치는 영향에 대한 실험결과

Garlic 정유 물질 평가 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존이나 독성에 농도 의존적인 경향을 보이지 않았으며 세포 생존에도 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

Onion 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존에 농도 의존적인 감소를 보이지 않았으며 세포 생존에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

Oregano 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존에 농도 의존적인 감소를 보이지 않아 처리된 농도에서 세포 생존에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Sage의 정유 물질 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존에 농도 의존적인 감소를 보이지 않아 처리된 농도에서 세포 생존에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

Orange 정유 물질 결과를 살펴보면 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

Pine 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존의 농도 의존적인 변화를 나타내지 않았다.

Mint 정유 물질 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존의 농도 의존적인 변화를 유도하지 않았다.

Tea tree 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존의 농도 의존적인 변화를 유도하지 않았다.

Clove 정유 물질 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존을 변화시키지 않았다.

Rosemary 정유 물질 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존을 변화시키지 않았다.

정유를 포집하는 캡슐 물질인 halloysite 평가 결과를 살펴보면 0.00002 ~ 0.02% 농도로 인

간 간암세포인 HepG2 세포에 24시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존에 농도 의존적인 변화를 유도하지 않았다.

### (3) C3H10T1/2 세포의 생존에 미치는 영향 평가

Garlic 정유 물질 결과를 보면 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 처리한 결과 48시간과 72시간 동안 처리된 군에서 세포 생존에 농도 의존적인 감소 경향을 보였다.

Onion 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 24시간 동안 처리한 결과 세포 생존이나 독성에 농도에 따른 경향을 보이지 않았다.

Oregano 정유 물질 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 처리 결과 저농도에서는 농도 의존적인 감소 경향을 보이지 않았다.

Sage 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 24시간 동안 처리한 결과 세포 생존이나 독성에 변화를 보이지 않았다.

Orange 정유 물질을 보면 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 처리한 결과 저농도에서는 세포 생존이나 독성에 변화를 보이지 않았다.

Pine 정유 물질 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 처리한 결과 큰 변화가 관찰 되지 않았다.

Mint 정유 물질에서는 0.00002-0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 처리한 결과 세포 생존이나 독성에 농도 의존적인 경향을 보이지 않았다.

Tea tree 정유 물질 결과에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 처리하였을 때, 24시간에서는 약간의 세포 생존 증가가 관찰되었다. 하지만, 48시간과 72시간 처리군에서는 세포 생존이나 독성에 농도 의존적인 경향을 보이지 않았다.

Clove 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 처리하였을 때 세포 생존이나 독성에 농도 의존적인 경향을 보이지 않았다.

Rosemary 정유 물질에서는 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 24 ~ 72시간 동안 처리하였을 때 세포 생존이나 독성에 변화를 보이지 않았다.

Halloysite을 0.00002 ~ 0.02% 농도로 줄기세포인 C3H10T1/2 세포에 24 시간, 48시간, 72시간 동안 처리한 결과 모든 처리군에서 세포 생존에 농도 의존적인 감소를 보이지 않아 처리된 농도에서 세포 생존에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

### 제 3 절 정유가 포집된 HNTs 캡슐 제조 및 특성 평가

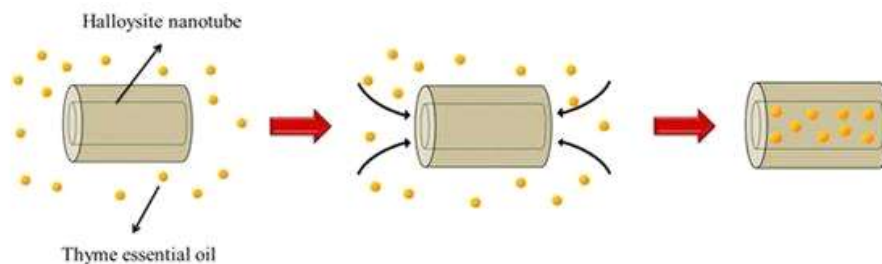
#### 1. 정유 포집 HNTs 캡슐의 제조 방법 및 포집을 향상 연구

##### 가. 정유 포집 HNTs 캡슐의 제조 방법 및 특성 평가

###### (1) 정유 포집 HNTs 캡슐의 제조 방법

천연유래 정유는 강한 휘발성을 가지고 있어 지속적인 효과를 위한 캡슐 제조가 필수적이다. 캡슐의 원료로는 친환경 물질인 HNTs를 이용하여, 정유를 포집하였다. HNT는 Sigma Aldrich에서 구매하였으며 크기는 약 50 ~ 100nm의 균일화된 제품을 이용하였다. 또한 thyme oil은 NewDia에서 구입하였다. Thyme oil은 기존의 연구 문헌을 바탕으로 항균·항산화·방충의 3가지 효능을 동시에 가지고 있는 대표 물질로 선정하여 각 효능에 대한 대표 물질 선정 시험과 분리되어 HNTs의 포집실험에 적용하였다.

기능성 식품 포장재에 적용될 thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 제조 방법을 확립하였으며 이의 제조 순서는 다음과 같다. Ethanol을 사용하여, thyme 정유 용액을 제조한 후 제조 용액에 HNTs를 혼합하고 이의 혼합물을 진공 펌프를 이용하여, 30분간 HNTs 내의 공기를 thyme 정유 용액으로 치환시켜준 후, 상압에 30분간 방치한다. 높은 loading efficiency를 위하여 진공조건 및 일반 공기 조건을 반복하는 과정 3회 실시한다. 혼합물을 원심분리기를 이용하여, thyme 정유를 포집한 HNTs와 용액을 분리시키고 분리한 HNTs의 외벽을 ethanol로 세척하여 Thyme 정유를 포집한 HNTs를 진공 오븐에서 건조한다. 이와 같은 제조 방법을 아래 그림과 같은 모식도로 나타내었다.



[그림 33] HNTs 내에 thyme oil의 포집 과정 모식도

###### (2) HNTs 내의 정유의 포집 확인

###### (가) 정유가 포집된 HNTs의 포집 효율 평가



### ① 정유가 포집된 HNTs의 포집 효율평가 방법

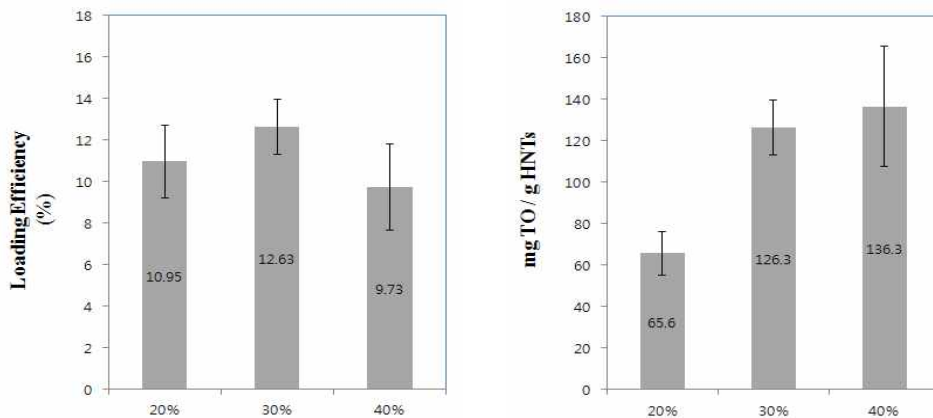
HNTs에 포집된 thyme 정유의 잔존량을 확인하기 위하여 GC/FID를 이용하였고 thyme 정유 용액의 농도별 포집 효율을 계산하여 결과를 도출하였으며 아래의 식을 이용하였다.

Encapsulation Efficiency (EE)

$$EE = \frac{\text{포집된 Thyme 정유의 양}}{\text{초기에 투입된 Thyme 정유의 양}} \times 100\%$$

### ② 정유가 포집된 HNTs의 포집 효율 평가 결과

HNTs에 직접 포집했을 경우, loading efficiency는 제조한 thyme 정유의 농도에 따라 각각 10.95%, 12.63%, 9.73%로 측정됐다. 1g의 HNTs 당 포집된 thyme 정유의 양은 각각 65.6mg/g, 126.3mg/g, 136.3mg/g으로 측정되었다..



[그림 34] 1g의 HNTs에 포집된 thyme oil의 포집율 및 포집량

### (나) 정유가 포집된 HNTs의 Zeta-potential 평가

#### ① 정유가 포집된 HNTs의 Zeta-potential 평가 방법

Zeta-sizer를 이용하여 제조된 캡슐의 표면전하 및 size를 측정하기 위하여 다음과 같은 방법으로 실험을 진행하였다. Thyme 정유를 포집한 HNTs의 표면 전하를 측정하여 비교 분석하였다.

## ② 정유가 포집된 HNTs의 zeta-potential 평가 결과

HNTs의 외벽의 표면 전하는  $-14.7\text{mV}$ 이며, thyme 정유를 포집한 이후에도  $-13.9\text{mV}$ 로 바깥쪽 전하에는 크게 영향을 주지 않으며 포집된 것을 알 수 있다. 또한 크기는 기존 문헌에 알려진 HNTs의 length인  $1\mu\text{m}$ 로 포집 전후 모두 유사한 값이 측정되었다.

[표 24] Thyme oil 포집 유무에 따른 HNTs의 zeta-potential (ZP)과 크기 비교

	ZP(mV)	Size(nm)
Raw HNTs	-14.7	958.8
HNTs loading	-13.9	1067.2

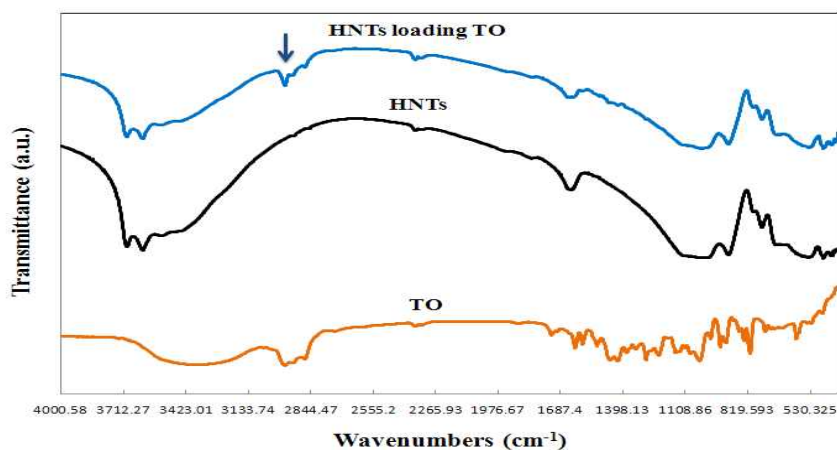
## (다) 정유가 포집된 HNTs의 FTIR 평가

### ① 정유가 포집된 HNTs의 FTIR 평가 방법

Thyme 정유와 HNTs, 정유 포집 HNTs 캡슐을 FT-IR로 측정하여 기존 HNTs의 피크의 변화를 통해, thyme 정유의 포집 여부를 확인한다.

### ② 정유가 포집된 HNTs의 FT-IR 평가 결과

Thyme 정유를 주로 구성하는 성분인 thymol이 정유 포집 HNTs 캡슐 시료에서  $2965\text{ cm}^{-1}$  피크에서 관찰되었으며 이는 thymol이 가진 C-H stretching vibration이 측정된 것으로 정유의 포집은 성공적으로 진행되고 있다고 판단된다.



[그림 35] Thyme 정유 포집 유무에 따른 HNTs의 FT-IR spectra 비교

(라) 정유가 포집된 HNTs의 정유 농도별 항산화 효과 평가

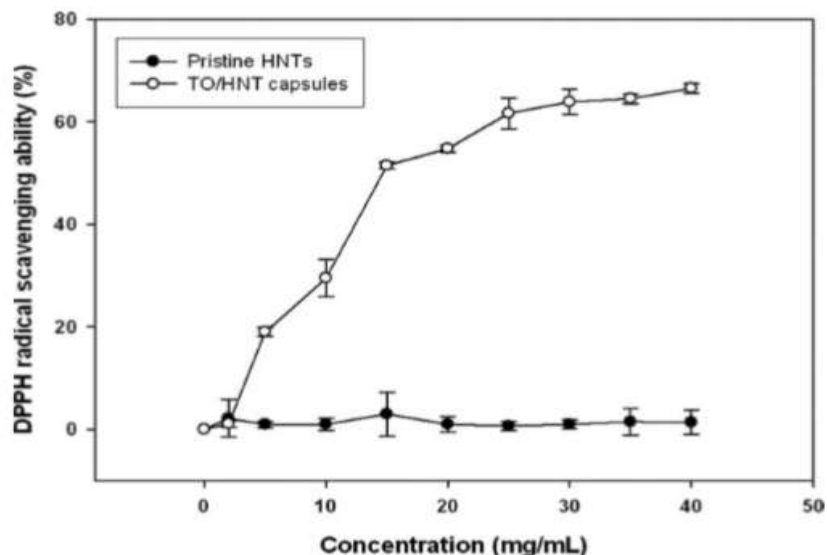
① 정유가 포집된 HNTs의 정유 농도별 항산화 효과 평가 방법

원물 상의 HNTs 및 정유 포집 HNTs 캡슐을 상기의 방법과 같이 제조한 샘플을 ethanol에 투입하여 최종적으로 DPPH radical scavenger activity를 통한 항산화 효과를 검증하였다. DPPH radical scavenger activity를 측정하기 위하여 아래의 식을 적용하여 결과를 도출하였다.

$$\text{Radical-scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{\text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{control}}}\right) \times 100$$

② 정유가 포집된 HNTs의 정유 농도별 항산화 효과 평가 결과

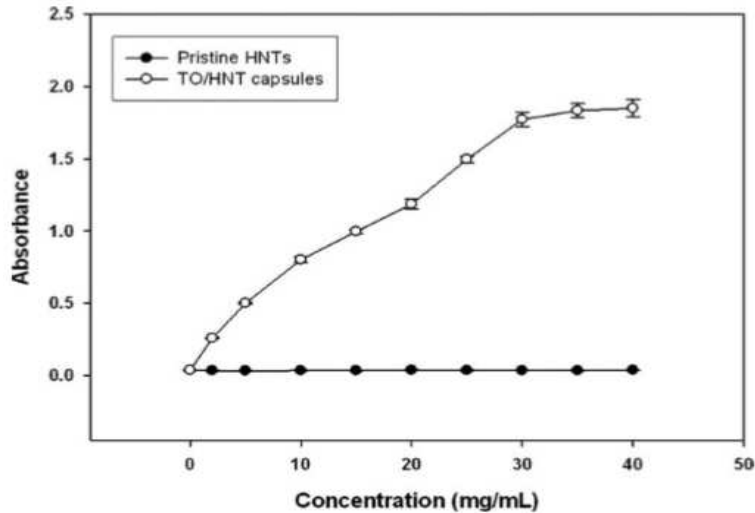
상기에 언급된 캡슐 제조 방법으로 제조된 정유 포집 HNTs 캡슐의 농도별 항산화능을 DPPH assay와 Reducing power assay를 측정하였다. DPPH assay 평가를 통하여 HNTs에 포집된 thyme oil의 free radical 소거능을 측정한 결과, 원물 상태의 HNTs에서는 항산화 효과를 보이지 않았지만, thyme oil을 포집한 HNTs에서는 시료의 농도가 증가할수록 항산화 효과가 증가하였으며 이를 아래 그림에 나타내었다.



[그림 36] HNTs와 thyme oil 포집 HNTs 캡슐의 농도별 free radical 소거능

Reducing power assay 평가에서는 DPPH assay 평가 결과와 유사한 경향이 관찰되었는데

원물 상태의 HNTs에서는 항산화 효과를 보이지 않았지만, thyme 정유를 포집한 HNTs 캡슐에서는 시료의 농도가 증가할수록 항산화 효과가 증가되는 결과가 관찰되었다.



[그림 37] HNTs와 thyme 정유 포집 HNTs 캡슐의 농도별 reducing power ability

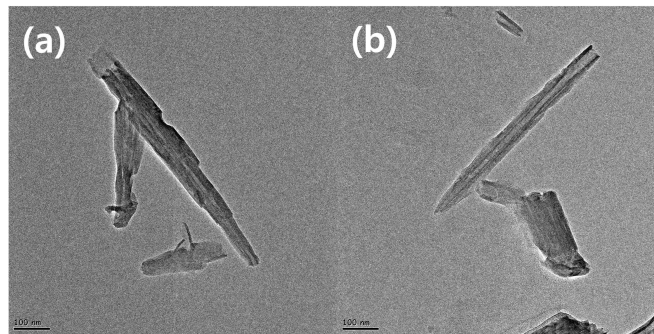
#### 나. 정유 포집 HNTs 캡슐에서의 정유 포집을 향상 연구

##### (1) 정유 포집 HNTs 캡슐에서의 정유 포집을 향상 연구 방법

정유의 방출특성 최적화를 위하여 포집을 향상을 위한 연구가 진행되었고 HNTs에 alkali 처리를 하는 실험이 진행되었다. HNTs를 5.0mol/L의 NaOH 용액에 넣은 후 High speed homogenizer를 이용하여, 8,000rpm에서 한 시간 동안 혼합하고 원심분리기를 이용하여 NaOH 처리된 HNTs를 분리하였다. NaOH 처리된 HNTs를 증류수를 이용하여 세척한 후, 원심분리기를 이용하여 다시 분리시키는데 이 과정을 3회 반복하고 최종적으로 분리된 HNTs를 건조시켜 시료를 제조하였다. 제조된 시료는 TEM (Transmission Electron Microscopy)을 이용하여 내부 구조를 관찰하였고 BET (Brunauer - Emmett - Teller) method를 이용하여 NaOH 처리된 HNTs의 내부 체적 및 표면적 증가를 확인하였다. 또한 정유의 포집 효율 및 payloads를 측정하여 정유의 실제 포집율에 미치는 영향을 분석하였다.

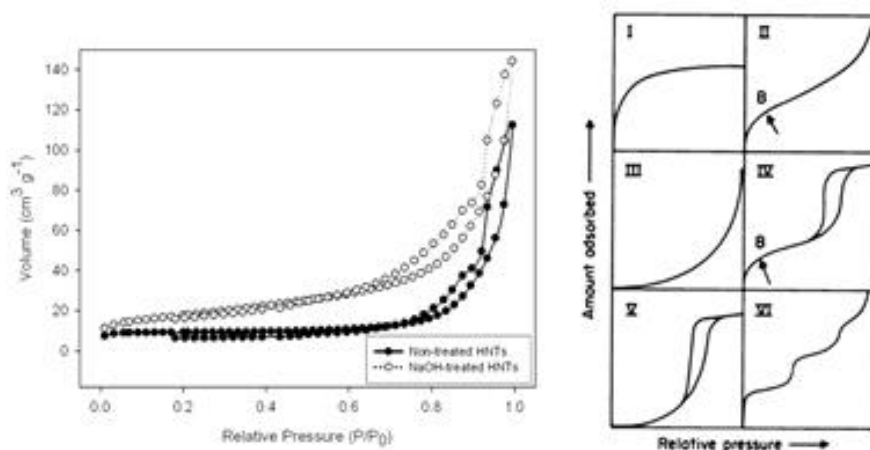
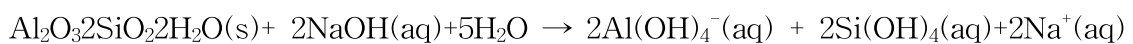
##### (2) 정유 포집 HNTs 캡슐에서의 정유 포집을 향상 연구 결과

무처리 HNTs와 처리 HNTs를 TEM으로 분석한 결과 NaOH 처리에 의해서 HNTs의 벽 두께가 얇아지고 내부 부피가 증가한 것을 확인하였다. ImageJ software를 이용하여 image를 분석한 결과, 내경이 약 5 ~ 15nm에서 약 15 ~ 25nm로 증가함을 확인할 수 있었다.



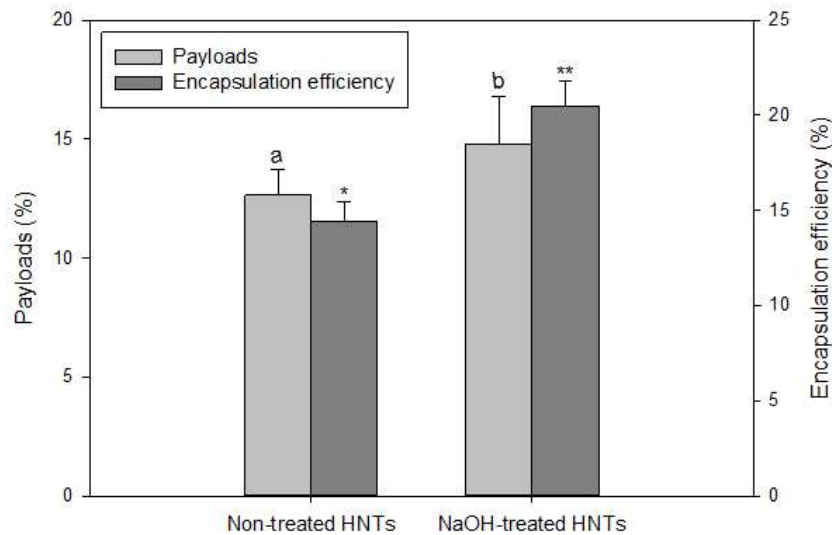
[그림 38] Raw HNTs (a)와 NaOH 처리된 HNTs (b)의 TEM 사진.

BET를 이용한 nitrogen adsorption-desorption 분석 결과, NaOH 처리로 인해서 내부 체적이 0.17cm<sup>3</sup>/g에서 0.22cm<sup>3</sup>/g으로 증가하였고, 표면적 또한 31.1m<sup>2</sup>/g에서 62.8m<sup>2</sup>/g으로 증가하였다. 무처리 HNTs와 NaOH 처리된 HNTs의 adsorption-desorption 분석 결과는 International Union of Pure and Applied Chemistry의 분류에 따르면 type IV에 해당하며, 이는 mesoporous한 구조를 의미한다. 광물 자원의 NaOH 처리는 알루미늄을 분리하기 위한 공정 중의 하나로 Bayer process라 불리며, 그 식은 다음과 같다.



[그림 39] Raw HNTs와 NaOH 처리된 HNTs의 nitrogen adsorption/desorption isotherms

포집효율 측정 결과, 일정 농도의 thyme 정유 용액에서 무처리 HNTs와 NaOH 처리된 HNTs를 이용하여 정유 포집 HNTs 캡슐을 제조했을 때, 포집효율(EE)는 14.46%에서 20.51%로 증가하였고, Payload (PL)는 12.62%에서 14.97%로 증가하였다. 포집된 정유의 양을 측정한 결과에도 기 HNTs 1g당 포집된 thyme 정유의 양이 약 178mg에서 248mg으로 약 40% 가량 증가한 것을 확인하였다.



[그림 40] Raw HNTs와 NaOH 처리 HNTs를 이용한 thyme 정유 포집 시, Payloads와 Encapsulation efficiency

### (3) HNTs 처리에 따른 정유 포집 HNTs 캡슐에서의 방출 거동 분석

#### (가) HNTs 처리에 따른 정유 포집 HNTs 캡슐에서의 방출 거동 분석 방법

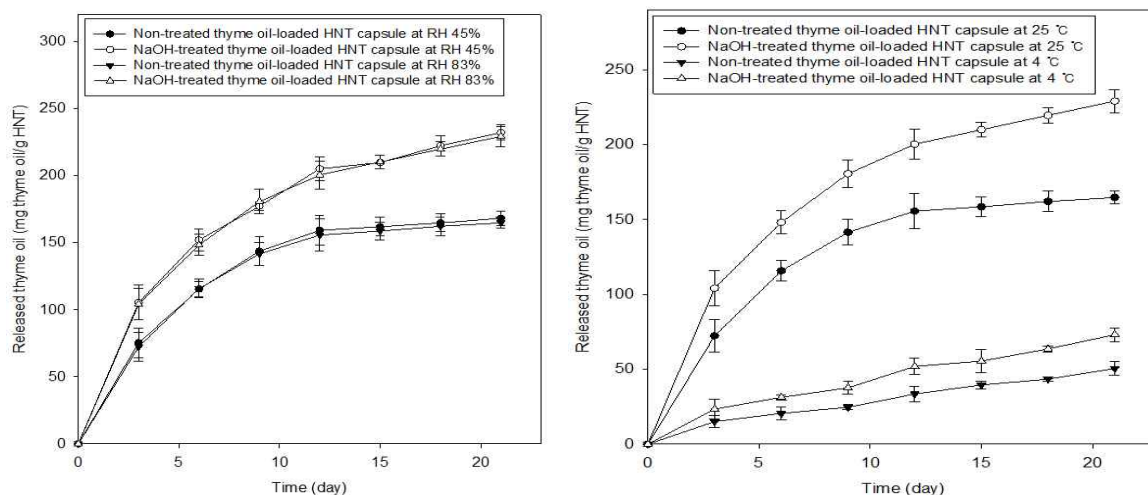
HNTs 처리 유무에 따른 정유 포집 HNTs 캡슐의 저장 조건별 thyme 정유의 방출 거동을 분석하였고 저장 조건은 온도 4°C, 25°C 그리고 습도 45%, 83%에서 수행되었다. 제조한 캡슐을 300mg 씩 나누어 식품용 polypropylene 용기에 담고 각각의 polypropylene용기를 저장 온도에 맞추어 incubator에 보관한 후(습도의 경우, 포화염용액을 제조하여 polypropylene 용기에 담아서 같이 보관) 정해진 시간별로 시료를 꺼내어 남아있는 정유의 양을 측정하였는데 시간 별로 방출량을 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{방출된 thyme 정유 (\%)} = \frac{(\text{포집된 thyme 정유의 양} - \text{시간별 측정된 thyme 정유의 양})}{\text{포집된 thyme 정유의 양}} \times 100\%$$

### (나) HNTs 처리에 따른 정유 포집 HNTs 캡슐에서의 방출 거동 분석 결과

GC/FID를 이용하여, 온도 25℃, 상대습도 45%, 83%에 보관된 각각의 캡슐로부터 정유 방출 거동을 분석한 결과, 무처리 HNTs와 NaOH 처리한 HNTs 두 시료 모두에서 15일 이상의 방출 효과를 보였다. 최종 방출량은 HNTs를 사용한 경우에는 HNTs 1g 당 168mg의 정유가 방출되었고, 상대적으로 포집량이 많은 NaOH 처리 HNTs를 사용한 경우에는 HNTs 1g 당 210mg의 thyme 정유가 방출되었다. 포집된 thyme 정유의 방출거동에 대한 저장 습도의 영향에는 유의적 차이가 없었다.

저장 온도 4℃와 25℃에 보관된 각각의 캡슐로부터 정유 방출 거동을 분석한 결과, 4℃ 저장 21일째, HNTs에서는 1g 당 50.6mg, NaOH 처리 HNTs에서는 1g 당 73.1mg의 정유가 방출되었다. 또한 25℃ 저장 21일째에는 각각 1g 당 168mg, 210mg의 정유가 방출되었다. 따라서 포집된 thyme 정유의 방출거동은 제조된 캡슐의 저장 온도가 높을수록 빠른 방출 경향을 보임을 알 수 있었다.



[그림 41] 저장 온도 및 습도에 따른 raw HNTs와 NaOH 처리 HNTs로 부터의 thyme 정유 방출 거동

### 2. 방출특성 조절을 위한 HNTs의 표면처리 및 특성 평가

정유의 고유 특성인 휘발성을 조절하기 위하여 HNTs의 양끝단 및 표면에 지속적인 방출 특성을 확보하기 위하여 화학적 처리를 진행하였으며 다양한 물질들의 화학적 처리에 따른 특성을 비교 분석하였다.

## 가. HNTs 내 정유 포집 및 표면처리 방법

### (1) HNTs 내 thyme oil 포집

Vacuum pulling법을 적용하여 HNTs에 thyme 정유를 포집하는 최적의 공정을 확보하여 실험을 진행하였다. 포집 방법은 아래의 순서에 따라서 진행되었다.

포집 초자류에 HNTs 10g 및 thyme 정유 20ml을 첨가하여 혼합물을 제조하고 혼합물을 초음파분쇄기를 이용하여 30분간 분산시킨다. 이후 혼합물을 진공펌프를 이용하여 진공상태 30분 및 일반 공기조성 30분씩 2차례 반복하고 제조된 조성물을 20분간 원심분리기를 이용하여 원심분리한 후 HNTs를 분리시키고 HNTs의 외부를 ethanol로 3회 수세하여 진공 오븐에서 건조 과정을 거친다.

### (2) 정유가 포집된 HNTs의 양 끝단 막 제조

Thyme 정유가 포집된 HNTs를 이용하여 양 끝단에 막을 제조하여 정유의 방출특성을 조절하기 위한 연구가 진행되었다. 양 끝단 막 제조 실험은 아래와 같이 진행되었다.

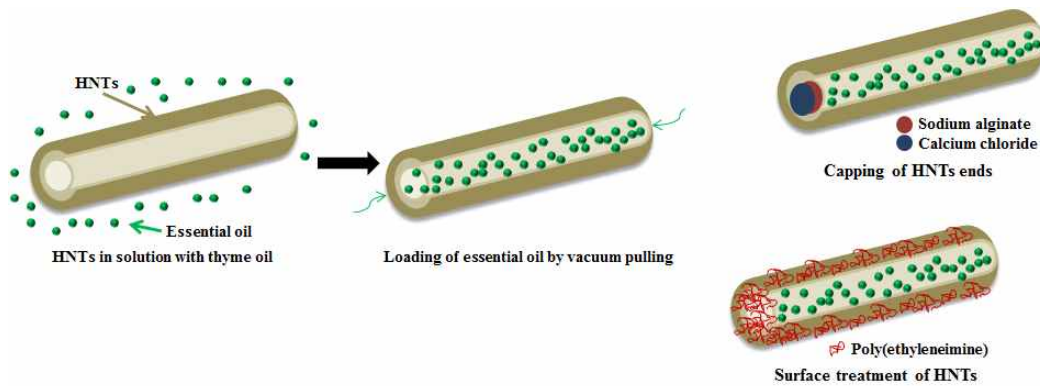
Thyme 정유가 포집된 HNTs를 증류수에 혼합하여 교반시켜 준 후에 증류수에 용해된 2% sodium alginate ((-)전하)를 HNTs 대비 약 5% 첨가하여 5분간 반응을 시키고 증류수에 용해된 2% calcium chloride((+)전하)를 HNTs 대비 약 5% 첨가하여 5분간 반응을 시켜준다. 반응된 HNTs를 ethanol을 이용하여 3번 수세 과정 진행하고 수세된 HNTs는 진공 오븐을 사용하여 40℃에서 12시간 동안 건조시켜 시료를 제조하였다.

### (3) 정유가 포집된 HNTs의 표면 코팅(Layer-by-Layer, LbL)

포집된 정유의 방출특성을 조절하는 또 다른 연구로서 thyme 정유가 포집된 HNTs를 증류수에 혼합하여 교반시켜준 후에 증류수에 용해된 10% polyethylenimine (PEI, (+)전하)을 HNTs 대비 약 20% 첨가하여 5분간 반응을 시키고 반응된 HNTs를 ethanol을 이용하여 3번 수세 과정을 거친다. 수세된 HNTs는 진공 오븐을 사용하여 40℃에서 12시간 동안 건조시켜 HNTs의 표면 코팅을 진행하였다.

아래 그림에 Thyme oil이 포집된 HNTs의 양 끝단 막 제조 및 표면처리 모식도를 나타내었다.





[그림 42] Thyme oil이 포집된 HNTs의 양 끝단 막 제조 및 표면처리 모식도

#### 나. 정유가 포집된 HNTs의 표면처리에 따른 특성 평가

##### (1) HNTs 내부의 정유의 형태학적 분석을 통한 포집확인

##### (가) HNTs 내부의 정유의 형태학적 분석을 통한 포집확인 방법

천연 HNTs의 내부 형상 및 내부에 포집된 thyme 및 clove bud 정유 형상, 표면 처리에 따른 표면 변화를 측정하기 위한 실험이 진행되었다. thyme 및 clove bud 정유는 항균, 항산화 및 방충 등 다양한 기능이 검증된 정유로서 특히, thyme 정유는 항균 및 항산화, clove bud 정유는 방충에서 가장 높은 효용이 확인되어 이를 통한 포집 및 캡슐화에 적용되었다.

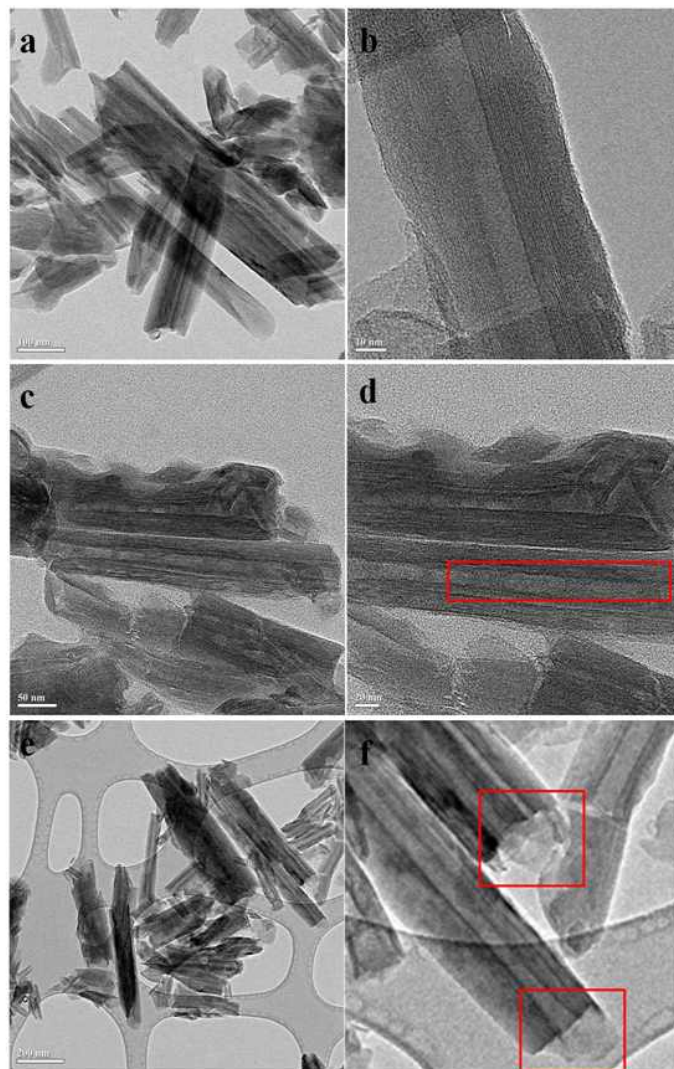
휘발성을 가진 정유의 특성상 이에 대한 방출 조절에 대한 연구가 진행되었고 이를 위하여 HNTs 양 끝단에 전하를 가진 sodium alginate ((-)전하) 및 calcium chloride ((+)전하)를 이용하여 2차에 걸친 합성을 진행하였으며(HNTs end-capping) 또한 HNTs의 표면 전체를 polyethylenimine(PEI, (+)전하)를 이용하여 LbL 방식으로 처리한 시료를 제조하였다. 제조된 시료는 SEM (SU8010, Hitachi) 및 TEM (JEM-2100F, JEOL Ltd., 200kV)을 이용하여 측정하였다. 외부 및 내부 형상 측정을 통해 HNTs 내부에 포집되어있는 정유의 존재 유무 및 HNTs의 양 끝단(end-capping)과 표면처리(LbL)를 통한 HNTs의 외부 형상을 확인하였다.

##### (나) HNTs 내부의 thyme oil의 형태학적 분석을 통한 포집확인 결과

HNTs는 자연 상태에서 존재할 때 내부에 관모양의 튜브 형태를 가지고 있어 사용 목적에

따라 이용되는 물질의 포집이 가능하여 높은 활용도를 가진 물질로서 그림 43의 a 및 b에서 그 형태가 관찰되었다. 이에 따라서 향균 및 항산화, 방충이 가능한 물질인 thyme 정유를 이용하여 HNTs 내부에 포집을 시켰으며 그림 43의 c 및 d에서와 같이 HNTs 내부에 정유가 포집된 형상이 관찰되어 vacuum pulling 방법에 의한 포집이 효과적이라는 것을 관찰하였다.

또한 휘발성을 가진 물질인 thyme 정유의 방출특성을 조절하기 위하여 HNTs 양 끝단에 전하를 가진 sodium alginate ((-)전하) 및 calcium chloride ((+)전하)를 이용하여 2차에 걸친 코팅을 진행하였고 그림 43의 e 및 f에서와 같이 막이 형성된 형상이 관찰되었다. 이에 따라서 thyme 정유의 방출특성 조절에 대한 가능성이 확보되었다고 사료된다.

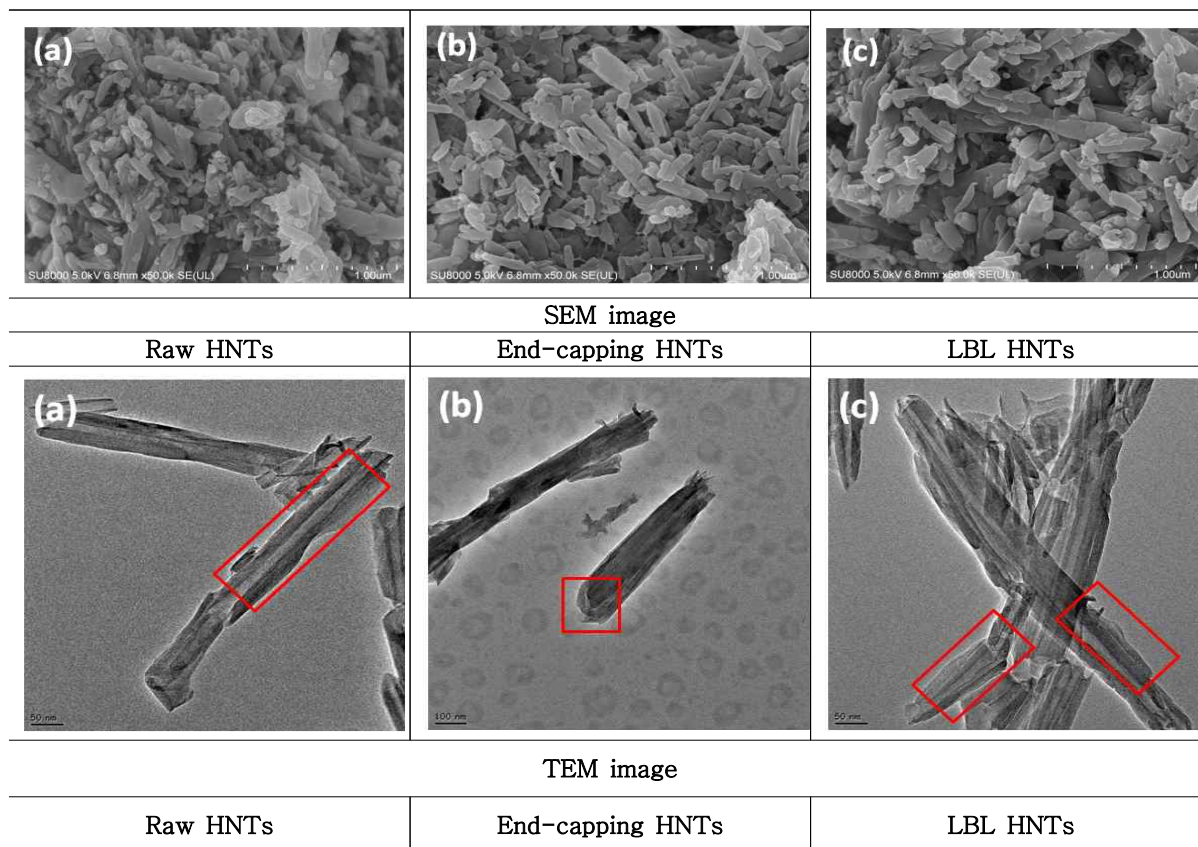


[그림 43] 천연 HNTs(a, b) 및 thyme 정유가 포집된 HNTs 내부(c, d) 그리고 HNTs의 양 끝단 막 형상(e, f)에 대한 TEM 이미지

(다) HNTs 내부의 clove bud oil의 특성 평가

① HNTs 내부의 clove bud oil의 형태학적 분석을 통한 포집확인 결과

그림 44의 TEM 이미지 중 (a)에서는 내부가 관 형태로 이루어진 천연 HNTs의 일반적인 형상이 관찰되었다. (b)에서는 내부가 clove bud 정유로 포집된 형상 및 양 끝단에서 이온성 고분자를 합성하여 end-capping 형태의 HNTs 나노캡슐이 제조된 것을 확인할 수 있다. 또한 (c)에서는 (b)와 유사하게 HNTs 내부에 포집된 정유의 존재를 확인하였고 이온성 고분자를 이용하여 전체 표면에 코팅이 된 형상(LbL)을 확인하였다.



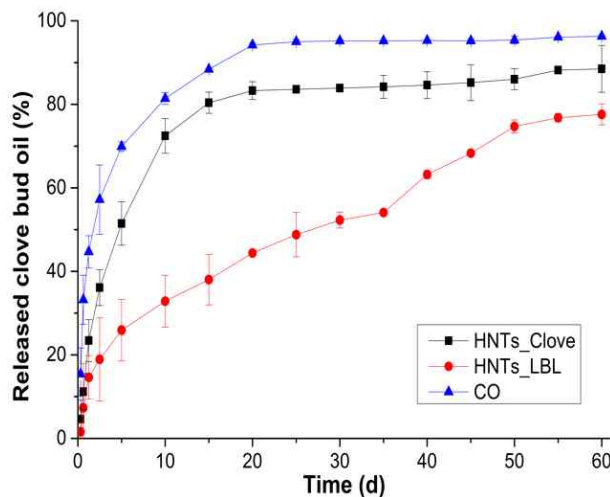
[그림 44] Raw HNTs 및 정유 포집 HNTs의 SEM 및 TEM 형상

② HNTs 내부의 clove bud oil의 방출 특성 확인 결과

앞선 연구에서 확인된 가장 우수한 기피 지속력 및 침투 저해력을 보인 LbL법으로 표면이 코팅된 정유 포집 HNTs 캡슐의 장기간(2달) 지속력을 확인하기 위해 clove bud 정유와 LbL법으로 코팅되지 않은 정유 포집 HNTs 캡슐과 비교하였다.

단일 clove bud 정유의 경우 5일 만에 약 70%가 휘발 되었으며, 20일 만에 대부분의 clove bud 정유이 휘발된 것으로 확인되었고, LbL법으로 코팅이 되지 않은 정유 포집 HNTs 캡슐의 경우 5일 만에 50%이상이 방출되었으며, 10일 후 약 70% 이상의 정유가 휘발되었으며, 20일 후 약 85%의 clove bud 정유가 휘발된 것을 확인하였다. 반면 LbL법으로 코팅된 정유 포집 HNTs 캡슐의 경우 5일 후에는 정유가 약 25%만 방출되었으며, 서서히 정유가 방출되고 있음을 확인할 수 있었고 30일 이후에도 50% 이상의 정유가 잔존해 있는 것을 확인하였다.

단일 clove bud 정유의 방출 특성에 비해 HNTs 캡슐에 포집되고 코팅되지 않은 정유의 경우 방출 특성이 상대적으로 낮았으며 20일 후에도 20%의 정유가 잔류하는 것으로 확인되었다. 이를 통해 HNTs를 이용한 캡슐화법은 clove bud 정유의 방출 지속성 향상에 도움이 되는 것으로 사료된다. 하지만 20일 만에 80%의 정유가 휘발되는 것을 통해 휘발을 낮추고 지속성을 높이기 위해 표면코팅의 필요성을 확인하였으며 LbL법으로 정유포집 HNTs 캡슐을 코팅한 후, 정유는 5일 후 75% 잔류, 20일 후에도 약 60%의 정유가 잔류하였으며, 60일 동안 서서히 정유가 방출되는 경향을 확인하였다. 따라서 LbL법으로 코팅한 정유 포집 HNTs 캡슐이 60일 뒤에도 약 20% 이상의 높은 잔존량을 통해 지속성 향상이 필요한 정유 코팅에 적합한 것으로 사료된다.



[그림 45] 천연 Clove bud oil 및 HNTs 캡슐의 표면처리 유무에 따른 정유의 방출 경향

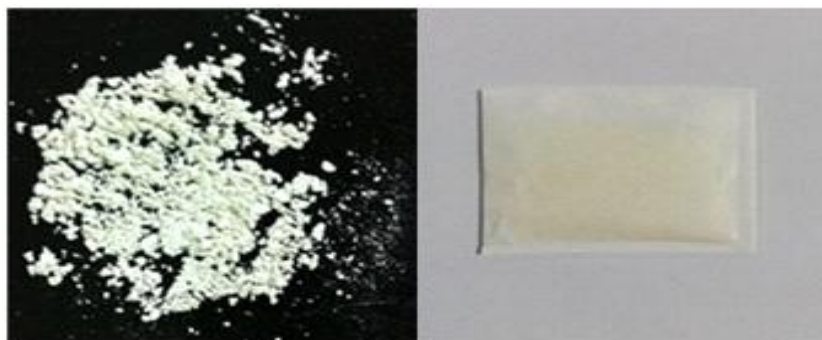
- ③ HNTs 내부의 clove bud oil의 방출력 확인
- ④ 방출력 확인 방법



Clove bud 정유가 포집된 HNTs를 sodium alginate와 calcium chloride로 캡슐화한 end-capping법과 HNTs를 (+) 전하를 띄는 PEI로 표면 코팅을 한 LbL법 두 가지 시료들의 화랑곡나방 유충에 대한 기피력을 확인하여 최적의 표면처리 공정을 확인하고자 하였다.

기피 테스트 트랩을 이용한 기피력 측정 실험에서 선정된 방충 물질 처리 실험군에서 무처리군과 비교하여 50% 이상의 기피력을 기대하였다. 기피 테스트 트랩을 이용한 기피력 측정 실험에서 선정된 HNTs의 캡슐화에 사용된 물질의 실험군에서 무처리군과 마찬가지로 기피력이 없음을 기대하였다.

기피테스트 트랩을 이용하여 해충 기피 효과를 검증하기 위하여 길이 37cm, 지름 5cm의 한 쪽은 막히고 한 쪽은 뚫린 유리 실린더를 이용하였으며 막힌 쪽부터 가상으로 A, B, C 구역으로 지정 후 A구역에는 방충 물질을, B구역에는 저장 해충 20마리를, 마지막으로 뚫려 있는 C구역에는 방충 물질의 농도차 유도와 해충의 탈출을 방지하기 위한 목적으로 통기구(옥양목)를 처리하였다. 방충력을 갖는 end-capping법과 LbL법으로 코팅된 HNTs를 3.5g 씩 향낭에 담아 A구역 안쪽에 위치 시켰고 end-capping과 LbL 코팅법에 사용된 물질들은 고체의 경우 3.5g 씩 향낭에 담아 A구역 안쪽에 위치 시켰고, 잉크와 PEI는 2% 희석하여 필터 페이퍼에 분주 후 A구역 안쪽에 위치시켰다. 위와 같이 실험 조건을 맞춘 후에 시간에 따라 각 구역에 위치한 해충의 수를 집계하여 기피 효과를 나타내었다. 그리고 상기에 언급된 그림 29와 동일한 기피테스트 기구를 사용하였다.



[그림 46] Clove bud oil이 포집된 HNTs 파우더 및 향낭

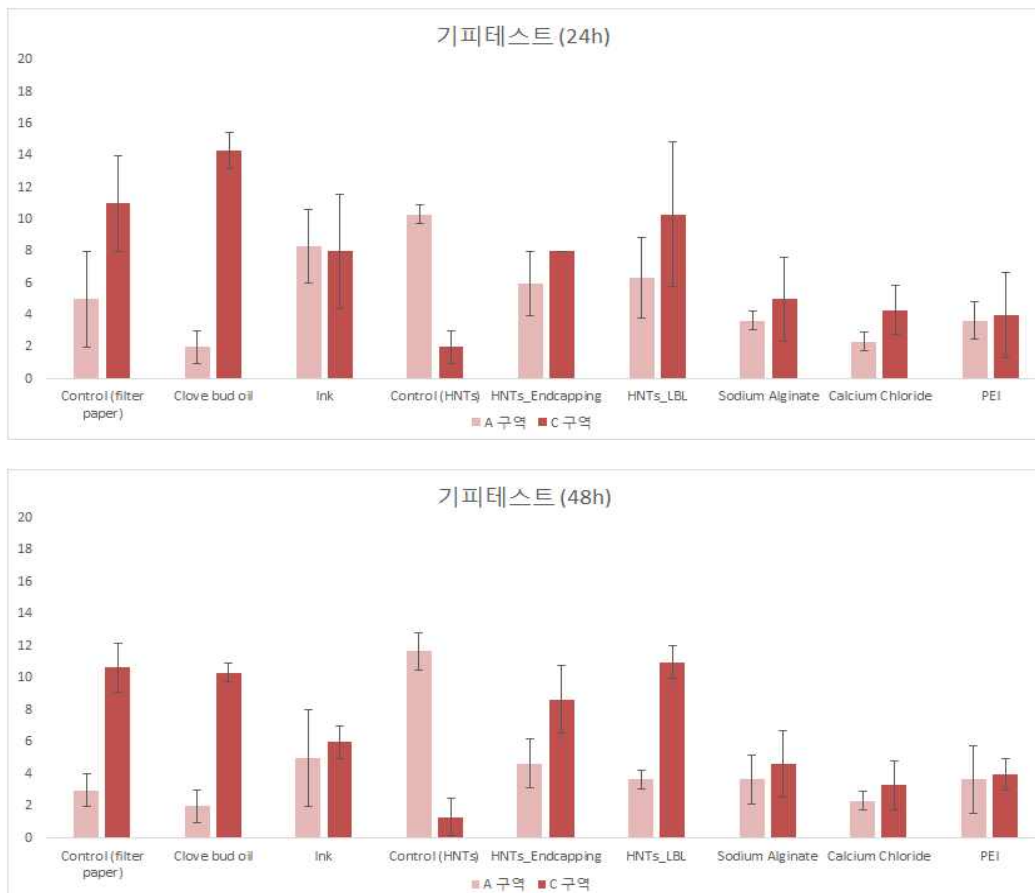
#### ㉔ 캡슐 제조 물질 및 표면처리에 따른 방충력 확인 결과

Clove bud 정유는 기존의 결과와 마찬가지로 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A 구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 clove bud 정유는 기피력을 지닌 것으로 확인되었다. 잉크에서는 시간이 지남(24시간 ~ 48시간)에도 A구역, C구역에서의 유충의 수 변

화가 거의 없는 것으로 확인되어 방충 포장지 제조에 사용된 그라비아 잉크의 기피력이 없는 것으로 사료된다. 또한 end-capping된 HNTs 캡슐 시료에서는 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 clove bud 정유가 포집되어 end-capping법으로 코팅된 HNTs는 화랑곡나방 유충에 대한 기피력을 갖는 것으로 확인되었다. LbL로 처리된 HNTs 캡슐에서는 24시간과 48시간이 경과하였을 때 유충이 A구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 clove bud 정유가 포집되어 LbL법으로 코팅된 HNTs는 화랑곡나방 유충에 대한 기피력을 갖는 것으로 확인되었다. end-capping된 HNTs 캡슐군과 마찬가지로 24시간과 48시간이 경과하였을 때의 기피력이 비슷하게 유지되었다. 이는 HNTs 표면을 감싸고 있는 PEI가 clove bud 정유의 급격한 방출을 방지하였기 때문으로 사료된다.

캡슐의 표면 처리 물질로 적용된 물질들의 결과를 살펴보면 sodium alginate에서는 시간이 지남(24 ~ 48시간)에도 A구역, C구역에서의 유충의 수 변화가 거의 없는 것으로 확인되어 HNTs의 표면코팅재로 사용된 sodium alginate는 기피력이 없는 것으로 확인되었다. Calcium chloride에서는 24시간과 48시간이 경과한 후에도 A구역, C구역에서의 유충의 수 변화가 거의 없는 것으로 확인되어 HNTs의 표면코팅재로 사용된 calcium chloride는 화랑곡나방 유충에 대한 기피력이 존재하지 않는 것으로 사료된다. PEI 결과에서는 시간이 지남(24시간 ~ 48시간)에도 A구역, C구역에서의 유충의 수 변화가 거의 없는 것으로 확인되어 HNTs의 표면코팅재로 사용된 PEI도 기피력이 없는 것으로 사료된다.

종합적으로 대조군(HNTs)은 시간에 지남(24시간 ~ 48시간)에 따라 A구역에 유충의 수가 월등히 많았고, C구역에서의 유충의 수는 적어 기피력이 없는 것으로 사료된다. end-capping처리가 된 HNTs는 24시간과 48시간이 경과하였을 때의 기피력이 비슷하게 유지된 것은 HNTs가 end-capping법으로 코팅되어 clove bud 정유의 급격한 방출을 방지하였기 때문으로 사료된다. 24시간과 48시간이 경과하였을 때 C구역에 위치한 유충의 수가 end-capping된 HNTs 캡슐군보다 더 많은 것으로 보아 end-capping 코팅 공정 중에 clove bud 정유가 다량 손실되어 발생한 결과 발생한 기피력의 차이로 사료된다. 그 외에 정유가 포집된 HNTs의 표면 코팅재로 사용된 sodium alginate, calcium chloride, PEI와 방충필름의 제조에 사용된 그라비아 잉크의 경우 화랑곡나방 유충에 대한 기피력을 보이지 않았다.



[그림 47] Clove bud oil 포집 HNTs 및 표면코팅 물질, 잉크의 기피력

#### ㉔ 기간 경과에 따른 표면처리 HNTs 캡슐별 방출력 확인 결과

A, C 구역에 위치한 유충의 수를 1주 간격으로 2일 동안 총 4주간 관찰하였으며, 2일이 지난 후 유충은 채집하여 투입하였다.

HNTs에 clove bud 정유가 단순 포집된 시료에서는 1일이 경과하였을 때 유충이 A구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 포집된 clove bud 정유가 방출되어 화랑곡나방 유충에 대한 기피력을 갖는 것으로 확인되었으나, 2일이 경과하였을 때는 A구역과 C구역에 비슷한 유충이 발견되어 기피력이 상실되었음을 확인하였다. 1주일 후, 7일과 8일이 경과하였을 때 화랑곡나방 유충이 A구역 보다 C구역에 많이 위치한 것으로 보아 약간의 기피력이 존재함을 확인하였으며, 2주일 후에는 14일과 15일이 경과하였을 때 A구역과 C구역에 비슷한 유충이 발견되어 기피력이 존재하지 않음을 확인하였다. 또한 3주일 후, 21일과 경과하였을 때 A구역과 C구역에 비슷한 유충이 발견되어 기피력이 존재하지 않음을 확인하였으나, 22일이 경과하였을 때 A구역 보다 C구역에 많이 위치한 것으로 보아 기피력이 존재함을 확

인하였으며 4주일 후, 28일과 29일이 경과하였을 때 A구역과 C구역에 비슷한 유충이 발견되어 기피력이 존재하지 않음을 확인하였다.

HNTs 캡슐을 LbL 처리한 HNTs 캡슐 시료에서는 1일과 2일이 경과하였을 때 유충이 A구역 보다 C구역에 더 많이 위치한 것으로 보아 포집된 clove bud 정유가 방출되어 화랑곡나방 유충에 대한 기피력을 갖는 것으로 확인되었다. 1주일 후, 7일과 8일이 경과하였을 때 화랑곡나방 유충이 A구역 보다 C구역에 많이 위치한 것으로 보아 기피력이 존재함을 확인되었으며, 2주일 후, 14일과 15일이 경과하였을 때 화랑곡나방 유충이 A구역 보다 C구역에 많이 위치한 것으로 보아 기피력이 존재함을 확인하였다. 그리고 3주일 후, 21일과 22일이 경과하였을 때 화랑곡나방 유충이 A구역 보다 C구역에 많이 위치한 것으로 보아 기피력이 존재함을 확인하였고 4주일 후에는 28일과 29일이 경과하였을 때 A구역과 C구역에 비슷한 유충이 발견되어 기피력이 존재하지 않음을 확인하였다. HNTs 단독(control)의 경우 총 실험기간 동안 유충이 C구역 보다 A구역에 더 많이 위치하였거나 A, C구역 모두에 비슷하게 발견되는 경향을 보여 기피력이 존재하지 않는다고 사료된다. Clove bud 정유가 포집되고 코팅되지 않은 HNTs 캡슐의 경우, 기피력이 1주일 정도만 지속되었으며, 1주일 동안의 기피력 또한 LbL 처리된 HNTs 캡슐 보다 낮은 것으로 확인되었다. 이는 표면코팅이 되지 않은 HNTs에서 clove bud 정유가 급격히 방출되어 표면코팅이 없는 HNTs는 지속적인 방출력을 갖지 못하는 것으로 사료된다. Clove bud 정유가 포집되고 PEI로 코팅된 HNTs의 경우 3주 이상 지속적인 기피력을 보였다. 이는 표면코팅이 없는 HNTs 보다 2주 더 지속되는 방출력이다. 3주간의 지속적인 기피력의 유지는 HNTs 표면코팅된 PEI가 clove bud 정유의 방출을 조절하여 나타난 결과로 사료된다. 위의 연구에서 LbL법을 이용하여 코팅한 정유 포집 HNTs 캡슐의 3주간 기피 지속력을 확인하였으나 이후 31 ~ 60일, 61 ~ 90일간의 기피 지속력을 확인하기 위해 동일한 방법으로 기피 지속력 실험을 진행하였다.

단일 정유(control)에서는 31 ~ 60일 사이에 A 구역에 위치한 유충의 수가 C 구역에 위치한 유충의 수보다 많은 것을 확인하였다. 또한 61 ~ 90일의 연구 결과에서는 A 구역과 C 구역의 유충 수가 유의적 차이를 보이지 않았기에 단일 정유(control)은 기피력을 가지고 있지 않음을 확인하였다. LbL법으로 코팅되지 않은 정유 포집 HNTs 캡슐은 31 ~ 60일, 61 ~ 90일 사이의 연구결과 모두 A 구역, C 구역 사이의 유의적 차이를 확인할 수 없었으며, 반면 LbL법으로 코팅된 정유 포집 HNTs 캡슐은 31 ~ 60일의 기피력 연구 결과에서는 A 구역보다 C 구역에 더 많은 유충의 수가 존재하였지만, 61 ~ 90일의 연구 결과에서는 3개 실험군 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다.

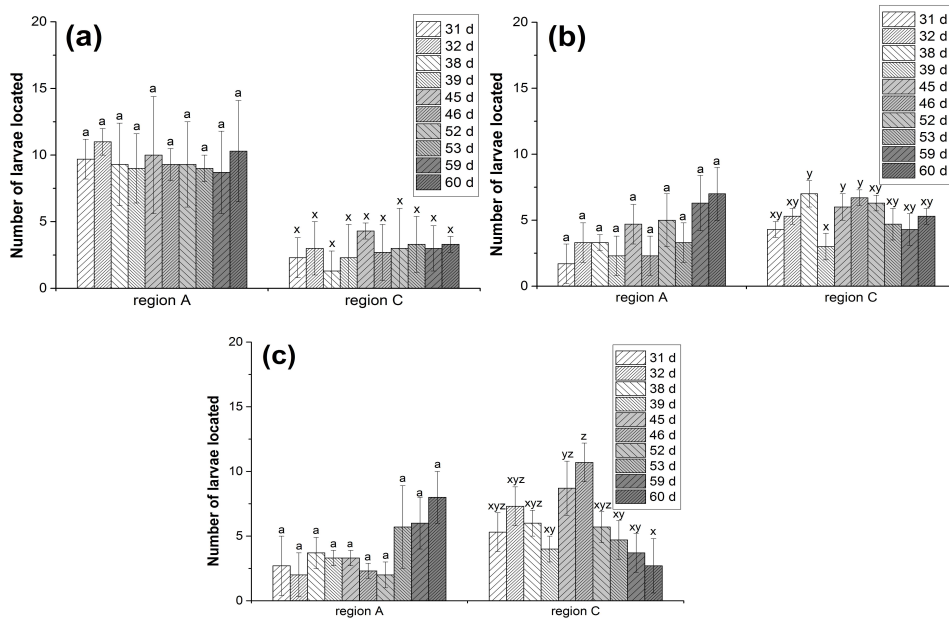




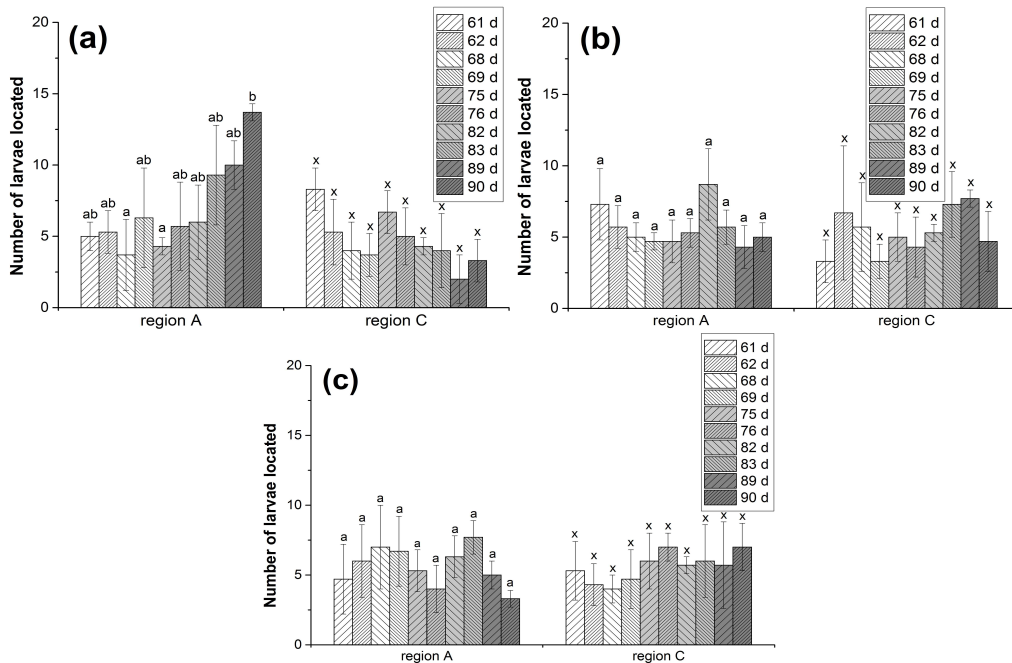
[그림 48] 표면 코팅여부에 따른 clove bud oil이 포집된 HNTs의 기피력

단일 정유(control)에 비해 31 ~ 60일 사이의 연구 결과를 통해 LbL법으로 코팅되지 않은 정유 포집 HNTs 캡슐은 기피력을 상실한 것으로 확인되었으나 코팅된 정유 포집 HNTs 캡슐의 경우 방출 속도가 코팅된 층에 의해 제한되기 때문에 약간의 기피력을 지니고 있는 것

으로 확인되었다. 이를 통해, 선행 연구에서 개발된 LbL법의 코팅은 HNTs 캡슐의 지속력을 높여주었다고 확인할 수 있다. 하지만 60일 이후 연구 결과를 통해 LbL법으로 코팅된 정유 HNTs 캡슐 역시 다른 실험군(control, 코팅되지 않은 정유 포집 HNTs 캡슐)들과의 유의적 차이를 보이지 않았기에 기피력을 상실한 것으로 확인하였다.



[그림 49] 60일 경과 후 control (a), LBL 처리되지 않은 정유 포집 HNTs (b), LBL 처리 정유 포집 HNTs (c)의 기피경향



[그림 50] 60일 경과 후 control (a), LBL 처리되지 않은 정유 포집 HNTs (b), LBL 처리 정유 포집 HNTs (c)의 기피경향

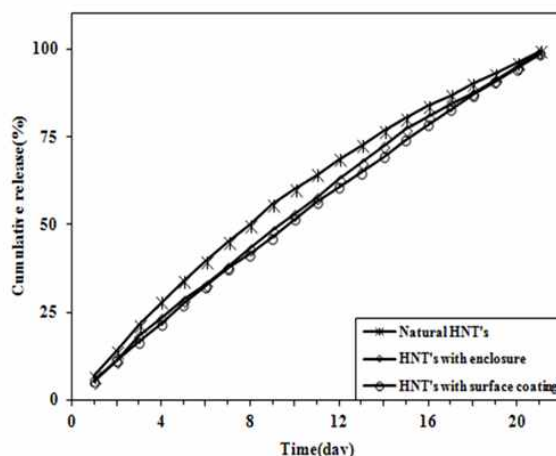
## (2) HNTs 내부에 포집된 정유의 방출거동 분석

### (가) HNTs 내부에 포집된 thyme 정유의 방출거동 분석 방법

GC를 이용하여 thyme 정유가 포집된 HNTs의 표면 처리에 따른 방출거동을 약 20일 동안 분석하였다.

### (나) HNTs 내부에 포집된 thyme oil의 방출거동 분석 결과

아래의 그림 51에서와 같이 thyme 정유가 HNTs에 포집된 후에 처리 방법에 따른 방출거동으로서 HNTs의 양 끝단 처리 시료와 표면 코팅 시료가 처리되지 않은 시료에 비해 약 5 ~ 10%의 낮은 방출 특성이 관찰되었다. 이에 따라서 HNTs에 처리되는 물질의 농도 및 종류에 따라서 방출특성의 조절이 가능할 것으로 사료된다. 아래의 결과들에 나타난 시료들은 외부에 노출되지 않은 조건에서 측정되어 큰 유의적 차이는 발견되지 않았지만 외부 환경에 노출된 환경에 따라 방출 특성 차이를 보일 것으로 사료된다.



[그림 51] 표면 처리에 따른 HNTs 내부의 thyme 정유의 방출거동 비교

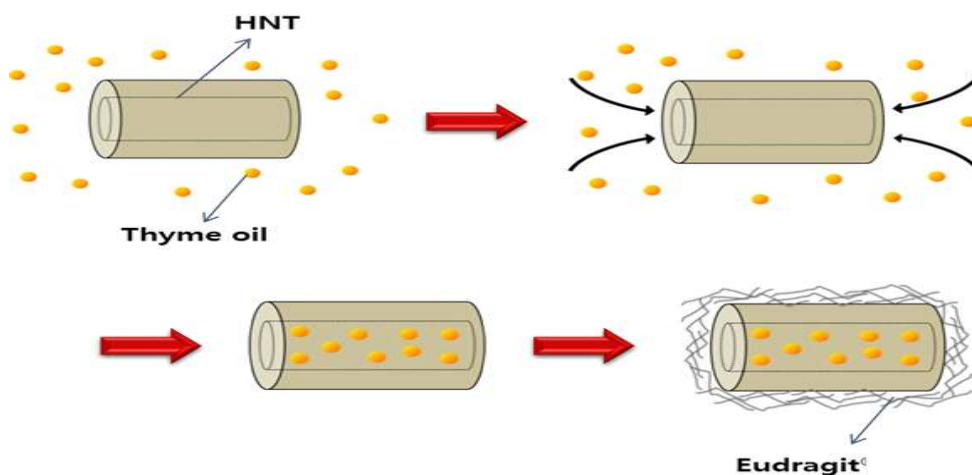
## 3. 방출특성 조절을 위한 HNTs의 생물고분자 표면처리 및 특성 평가

### 가. HNTs 내 정유 포집방법 및 표면처리 방법

Thyme 정유는 액체 상태로 다루기가 어렵고 휘발성을 보유하기 때문에 지속적인 방출 효

과를 위해서는 캡슐 제조가 필요하다. 또한 정유가 포집된 HNTs 캡슐의 경우 튜브 형태를 띄고 있어 초기 방출 속도가 빠르기 때문에 초기 방출속도를 조절하기 위한 HNTs 캡슐의 표면처리 연구가 필요하다. 또한 식품에 적용되어 인체에 흡수 및 전이에 따른 안전성을 확보하기 위하여 인체에 무해한 고분자 물질인 eudragit (Sigma aldrich)을 표면처리 물질로 선정하여 실험을 진행하였다.

HNTs 캡슐 제조 및 캡슐의 표면 코팅은 다음과 같이 진행되었다. 먼저, ethanol을 사용하여, thyme 정유 용액을 농도별로 제조한다. (13.3, 20.0, 26.7, 33.3, 40.0w/v%) 제조한 thyme 정유 용액에 HNTs를 혼합하고 균일한 HNTs 혼합물 제조를 위해 homogenizer를 이용해 혼합하고 제조된 혼합물을 진공 펌프를 이용하여 30분간 감압시킨 후, 다시 30분간 상압에 방치시킨다. 포집 효율을 높이기 위해 이 과정을 3회 반복하는데 이 과정을 통해 HNTs 안쪽의 공기가 정유 용액으로 치환된다. 이후에 5wt% eudragit polymer 용액을 ethanol과 혼합하여 제조하고 HNTs 캡슐 혼합물에 eudragit 고분자 용액을 더해준 후 2분간 교반시켜 준다. 원심분리기를 이용하여 정유 포집 HNTs 캡슐을 혼합액으로부터 분리시키고 분리한 정유 포집 HNTs 캡슐을 진공 오븐에서 건조시켜 용매를 제거한다.



[그림 52] Thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 제조 및 eudragit 코팅 모식도

#### 나. HNTs 내 정유 포집 및 생물고분자 표면 처리에 따른 특성 평가

##### (1) HNTs 내 정유 포집에 따른 포집 효율 평가

##### (가) HNTs 내 정유 포집에 따른 포집 효율 평가 방법

HNTs에 포집된 thyme 정유의 잔존량을 확인하기 위하여 GC/FID를 이용하였으며 thyme

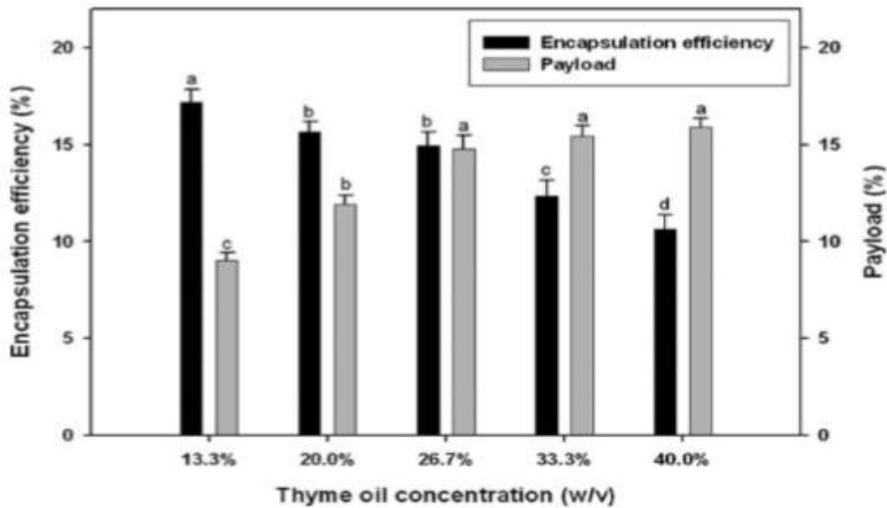
정유 용액의 농도별 포집 효율을 계산하여 결과를 도출하였고 아래의 식을 이용하였다.

$$\text{Encapsulation Efficiency (EE)} \\ EE = \frac{\text{포집된 Thyme 정유의 양}}{\text{초기에 투입된 Thyme 정유의 양}} \times 100\%$$

$$\text{Payload (PL)} \\ PL = \frac{\text{포집된 Thyme 정유의 양}}{\text{제조된 capsule의 양}} \times 100\%$$

(나) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 포집 효율 평가 결과

정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 사용된 thyme 정유 용액의 농도가 증가할수록 encapsulation efficiency (EE)는 감소하나, payload (PL)은 증가하는 경향을 보였다. 하지만 26.7w/v% 이상의 농도에서는 PL의 증가가 유의적 차이를 보이지 않았다. 따라서 본 연구에서의 최적 thyme 정유 용액의 농도는 26.7%로 하였다.



[그림 53] Thyme 정유 용액의 농도별 Encapsulation Efficiency와 Payload

(2) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 Zeta potential 평가

(가) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 Zeta potential 평가 방법

제조된 캡슐의 표면 전하 및 사이즈 변화에 대한 평가를 진행하기 위하여 무처리 HNTs 및 thyme 정유를 포집한 HNTs 캡슐을 zeta-sizer를 이용하여 표면 전하를 측정하였고 이를 비교 분석하였다.

**(나) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 zeta potential 평가 결과**

표면 전하 측정 결과, 기존 HNTs와 thyme 정유가 포집된 HNTs 캡슐의 표면 전하는 음전하를 띠었지만, eudragit 고분자 표면 코팅으로 인해 캡슐의 전하가 양전하로 전환되었다. 따라서 양전하를 띠는 eudragit 고분자가 음전하를 띠는 HNTs의 표면에 코팅되었음을 확인하였다.

**[표 25] HNTs, thyme 정유 포집 HNTs 캡슐과 eudragit 고분자 코팅한 thyme 정유 포집 HNTs 캡슐의 zeta potential 결과**

Samples	표면전하 (mV)
HNTs	-17.8
Thyme 정유 포집 HNTs 캡슐	-17.5
Eudragit 고분자 코팅한 thyme 정유 포집 HNTs 캡슐	19.4

**(3) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 FT-IR 평가**

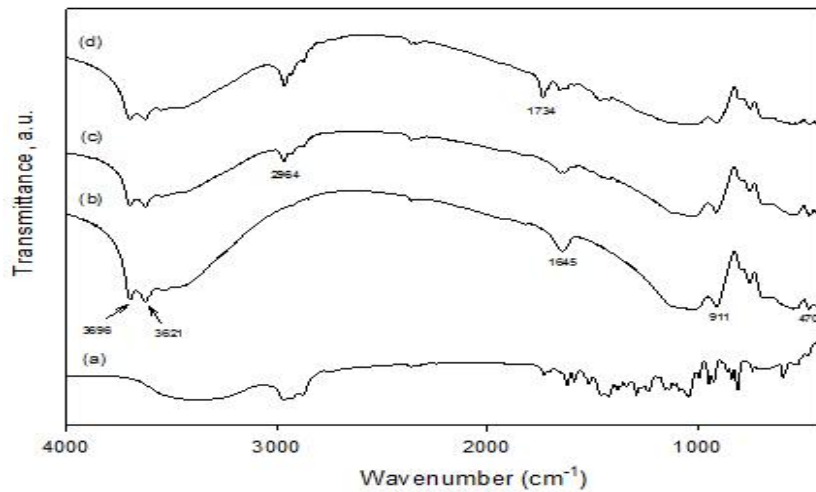
**(가) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 FT-IR 평가 방법**

Thyme oil과 HNTs, 정유 포집 HNTs 캡슐을 FT-IR로 측정하여 기존 HNTs의 피크의 변화를 통해, thyme 정유의 포집 여부 및 표면처리에 대한 결과를 확인한다.

**(나) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 FT-IR 평가 결과**

FT-IR 측정 결과, 기존 HNTs와는 다르게 thyme 정유가 포집된 HNTs 캡슐에서 새로운 피크( $2964\text{ cm}^{-1}$  : C-H stretching band)가 관찰되었으며, 또한 eudragit 고분자 표면 코팅

후에도 새로운 피크( $1734\text{ cm}^{-1}$  : C=O stretching band)가 관찰되었다.



[그림 54] Thyme 정유 (a), HNTs (b), 정유 포집 HNTs 캡슐 (c)과 eudragit 고분자 코팅 정유 포집 HNTs 캡슐 (d)의 FT-IR

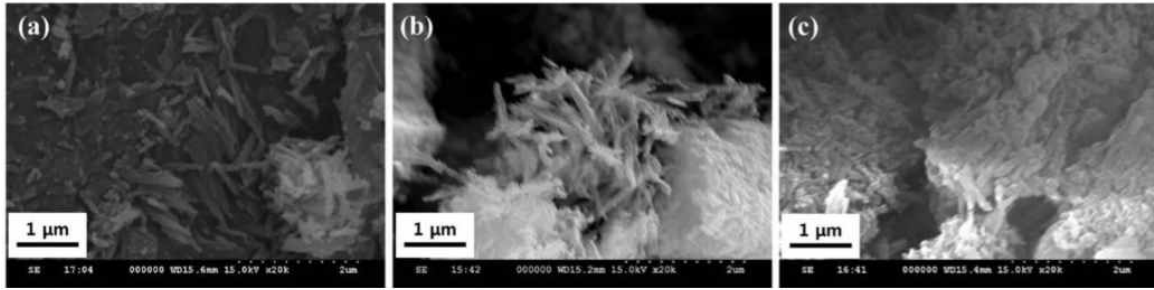
#### (4) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 형태학적 분석

##### (가) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 형태학적 분석 방법

정유가 포집된 HNTs의 포집여부를 위한 형상을 분석하고 정유의 방출 조절의 목적으로 이용되는 HNTs의 표면 처리 후 형상을 비교 분석하기 위한 분석을 진행하였다. SEM을 이용하여 제조된 캡슐의 표면 형태를 관찰하였고 TEM을 이용하여 제조된 캡슐 내부 구조를 관찰하였다.

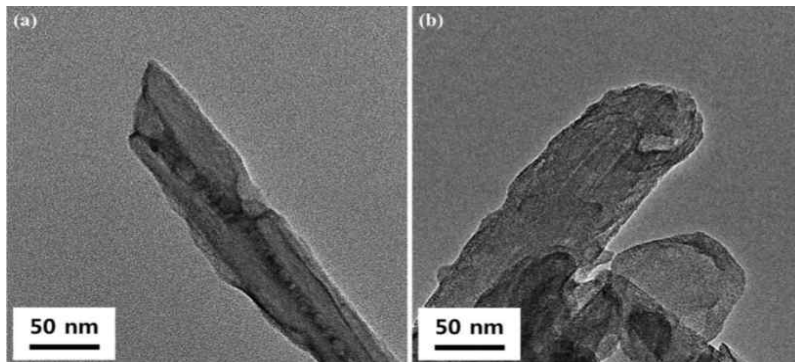
##### (나) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 형태학적 분석 결과

SEM 분석 결과, 표면 처리 전의 정유 포집 HNTs 캡슐 표면은 기존 HNTs의 표면과 같이 매끄러운 형태의 모양을 보임으로서, thyme 정유의 포집과정이 HNTs의 외형에 영향을 끼치지 않는다는 점을 알 수 있었다. 반면, eudragit 고분자로 정유 포집 HNTs 캡슐을 코팅한 후 SEM 분석 결과, 기존 코팅 전의 캡슐과는 달리 거친 표면구조를 보였다.



[그림 55] HNTs (a), thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 (b)과 eudragit 고분자 코팅한 thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 (c)의 SEM 사진

TEM 분석 결과, 표면 처리 전의 정유 포집 HNTs 캡슐은 세로방향으로 표면이 매끄럽고 튜브형태의 구조가 관찰된 반면, eudragit 고분자로 정유 포집 HNTs 캡슐을 코팅한 후에는 캡슐의 두께가 증가하고 말단의 모양이 둥그렇게 변한 모양을 보였다.



[그림 56] Thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 (a)과 eudragit 고분자 코팅한 thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 (b)의 TEM 사진

(5) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 정유 방출 거동 평가

(가) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 형태학적 분석 방법

Thyme 정유는 액체 상태로 다루기가 어렵고 휘발성을 보유하기 때문에 지속적인 방출 효과를 위해서 캡슐 제조 후 thyme 정유의 방출 경향을 확인하고자 하였다. 또한 eudragit 고분자를 이용한 캡슐의 표면 처리 후 초기의 빠른 방출 속도를 억제하고자 하였다. 캡슐에 포집된 정유의 방출 거동을 분석하기 GC/FID를 이용하였고 상온 조건에서의 방출 거동을 분석하였다. 우선 제조된 제조한 캡슐을 300mg 씩 나누어 25℃ 오븐에 보관하고 정해진 시간에 맞춰 시료를 꺼내어 캡슐 내에 잔존하는 정유의 양을 측정하였으며 시간 별로 방출량을

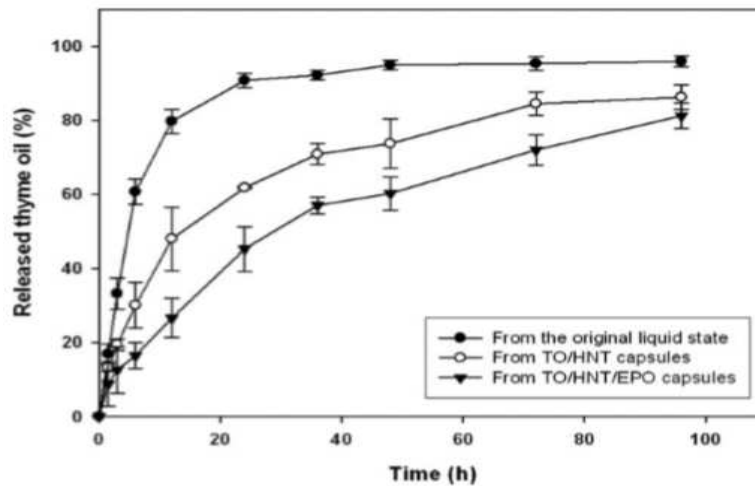


아래의 식으로 계산하여 결과를 도출하였다.

$$\text{방출된 thyme 정유 (\%)} = \frac{(\text{포집된 thyme 정유의 양} - \text{시간별 측정된 thyme 정유의 양})}{\text{포집된 thyme 정유의 양}} \times 100\%$$

(나) 정유 포집 HNTs 캡슐 제조에 따른 형태학적 분석 결과

GC/FID를 이용하여, 액체 상태의 thyme 정유 및 정유 포집 HNTs 캡슐, 표면 처리된 HNTs 캡슐의 방출 거동을 분석한 결과, 액체 상태의 thyme 정유는 상온에서 24시간 만에 90% 이상이 휘발되었다. 반면 HNTs로 포집한 thyme 정유에서는 상온에서 96시간까지 지속적인 방출 효과를 보였다. 그리고 eudragit 고분자를 이용하여 HNTs 캡슐을 표면 코팅한 경우에는 정유 대비 약 20%, 무처리 캡슐 대비 약 10%의 방출 속도를 억제시켜주는 효과를 보였다.



[그림 57] 25℃ 오븐에서 액체상태의 thyme 정유, thyme 정유 포집 HNTs 캡슐, eudragit 고분자 코팅 thyme 정유 포집 HNTs 캡슐로부터의 방출량 측정

## 제 4 절 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재 제조 및 특성 분석

### 1. 정유 포집 HNTs 캡슐 제조 공정 자동화 및 표면처리 공정 최적화

정유의 향균, 항산화 및 방출 특성의 최적화를 위하여 효율적 포집 및 생산성 향상을 위한 방법 연구와 함께 정유의 고유 특성인 휘발성을 캡슐 내에서 조절하기 위하여 HNTs의 양 끝단 및 전체 표면에 화학적 처리를 하여 캡슐 내에서 정유의 지속적인 방출특성을 연구하였으며 제조 공정의 자동화를 위한 연구가 진행되었다.

Vacuum pulling법을 적용하여 HNTs에 정유를 포집하는 최적의 공정을 확보하기 위한 연구를 진행하였으며 생산성 향상을 위하여 포집 공정 scale-up 및 자동화를 위하여 캡슐화 기기를 설계 및 개발하였으며 이를 이용한 정유 포집 방법을 아래와 같이 진행하였다.

먼저 포집 초자류에 HNTs 500g을 투입하고 포집초자가 위치된 캡슐화 기기의 내부를 진공 상태로 조정하고 이후 정유 700ml을 기기의 정유 투입 노즐을 통하여 첨가하여 혼합물을 제조하고 정유 투입시 진공 상태인 기기의 내부를 일반 공기 조성으로 변경하며 정유를 투입하는 방식을 적용하였으며 제조된 조성물을 20분간 원심분리기를 이용하여 원심분리한 후 정유가 포집된 HNTs를 분리시키고 캡슐 외부에 ethanol로 3회 수세하여 진공 오븐에서 건조 과정을 거친다. 아래 그림에 캡슐화 기기의 사진을 나타내었다.

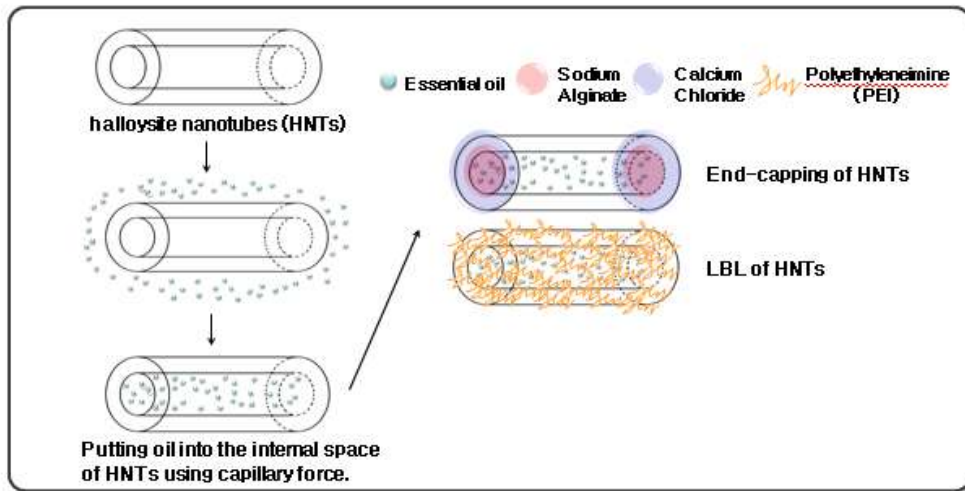


[그림 58] Enapsulation equipment의 전체 및 내부 사진

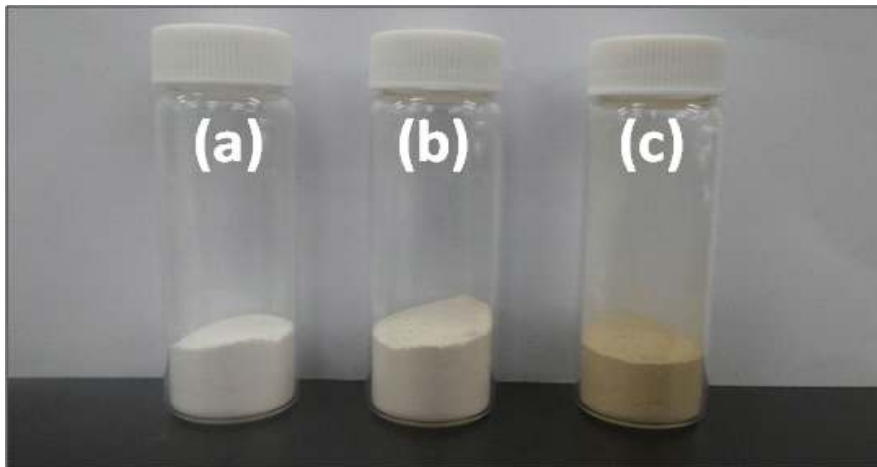
정유가 포집된 HNTs 캡슐은 상기에서 언급된 양 끝단 막 제조(end-capping) 및 표면 코팅(LbL) 공법을 이용하여 정유의 방출을 조절하는 연구를 지속적으로 수행하였다.

2가지의 HNTs 처리 공법에 대한 모식도 및 이의 처리 공법을 적용하여 제조된 정유 포집

HNTs 캡슐의 사진을 아래 그림에 나타내었다.



[그림 59] 정유가 포집된 HNTs의 양 끝단 막 제조 및 표면처리 모식도



[그림 60] 정유가 포집된 HNTs 나노캡슐

(a : natural HNTs, b : end-capping HNTs, c : LbL HNTs)

## 2. 정유 포집 HNTs 캡슐의 포장재 적용에 따른 특성 평가

정유가 포집된 HNTs 나노캡슐의 포장재 적용을 목적으로 두 가지의 적용 방법이 진행되었는데 포장 소재의 표면 코팅을 통하여 캡슐을 적용하는 기능성 코팅제 제조 및 포장 소재의 인쇄층 적용을 위한 기능성 잉크 제조 방식이 적용되어 식품 포장재 제조 공정 도입에

관한 가능성을 분석하였다.

## 가. 정유 포집 HNTs 캡슐이 혼합된 코팅제(코팅액) 제조

### (1) 정유 포집 HNTs 캡슐이 혼합된 코팅제(코팅액) 제조 방법

정유가 포집된 HNTs의 포장재 적용 가능성을 확인하기 위하여 코팅제 조성을 설정하였고 포장재 표면에서의 분산성 확보가 가능한 코팅제 제조를 진행하다.

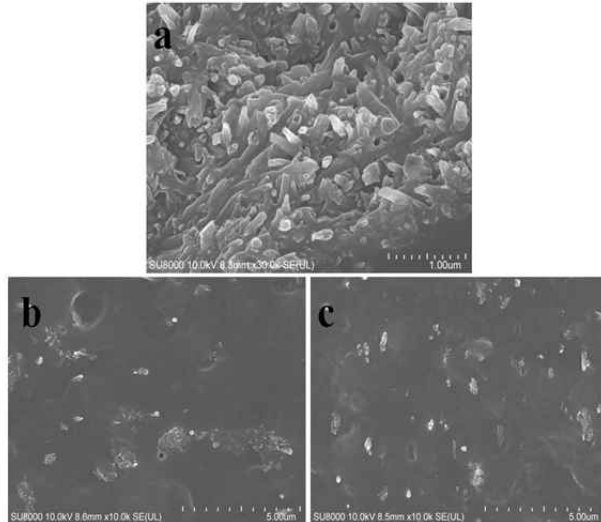
코팅제의 주 매트릭스로는 thermoplastic polyurethane (TPU)를 적용하였으며 용매로는 ethyl acetate (EAc) 및 methyl ethyl ketone (MEK)를 이용하여 코팅제를 제조하였다. 용매로 EAc와 MEK를 50 : 50으로 혼합하여 이용하였으며 TPU는 용매 대비 5wt%를 첨가하여 코팅제를 제조하였다. 제조된 코팅제에 thyme 정유가 포집된 HNTs를 10 ~ 30w%를 첨가하여 homogenizing mixer를 이용하여 20분간 4,000rpm에서 교반하여 제조하였다.

### (2) 정유 포집 HNTs 캡슐이 혼합된 코팅제 제조를 특성 평가

코팅제에 적용된 HNTs 캡슐의 분산도 평가를 위하여 제조된 코팅제는 LDPE 포장재의 표면에 도포한 후 진공 오븐에서 40℃에서 약 12시간 건조하여 건조된 시료를 SEM을 통하여 분산도 평가를 진행하였다.

아래 그림 61의 a는 TPU 내에 혼합되어있는 HNTs의 형상으로 TPU와의 높은 계면접착력을 보이고 있어 포장필름 및 용기류에 코팅 시에 HNTs의 계면 간의 물리적인 분리 및 이탈 등의 문제 발생 가능성이 높지 않아 적용성이 높을 것으로 판단된다.

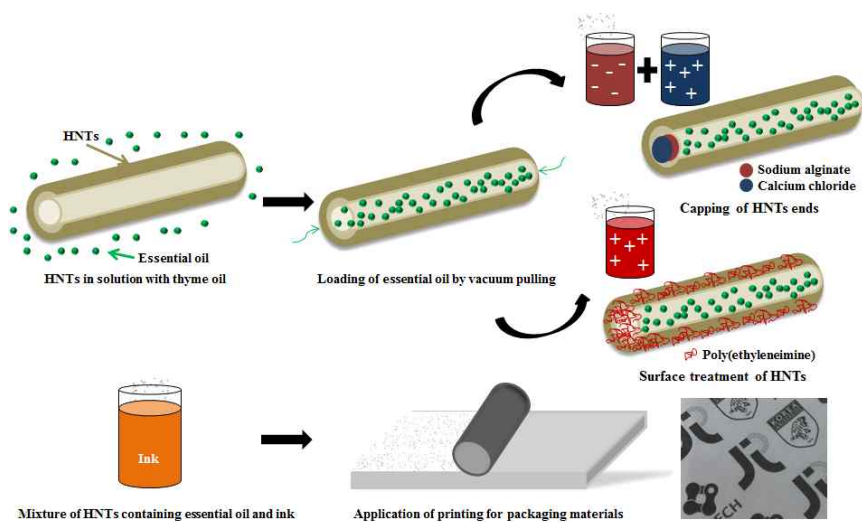
그림 61의 b와 c는 HNTs의 첨가 농도에 따른 TPU 표면으로서 HNTs의 높은 분산성이 관찰되었으며 본 연구진에서 진행 예정인 컴파운드 공정 및 그라비아 인쇄 공정 적용에 용이할 것으로 판단된다. 하지만 이와 같은 적용 방법을 포장재 제조 공정에 적용시 추가 공정으로 인한 제조 시간 증가 및 시설 증대 등의 문제점이 발생할 것으로 사료되며 이는 최종적으로 생산성의 하락을 가져올 것으로 예상된다. 이에 따라 상대적으로 좀 산업시설에의 적용이 수월하고 간편한 적용 공정이 필요할 것으로 사료된다.



[그림 61] TPU 코팅제 내에서의 HNTs 함유량에 표면 형상 비교  
(a : HNT 형상, b : 20w% HNTs , c : 30w% HNTs)

#### 나. 정유 포집 HNTs 캡슐의 인쇄 공정 적용을 통한 식품 포장재 적용

정유가 포집된 HNTs 나노캡슐의 포장재 적용을 목적으로 기능성 나노캡슐을 잉크와 혼합하는 방식으로 물질별 조성 선정 및 기능성 잉크를 제조하고 이를 식품 포장재의 인쇄 공정에 투입하여 기능성 식품 포장재 제조 공정 도입에 관한 가능성을 분석하였다. 정유의 포집과 캡슐 제조 그리고 인쇄 공정이 포함된 제조 공정 모식도를 아래 그림과 같이 나타내었다.



[그림 62] 기능성 식품 포장재 제조 공정 모식도

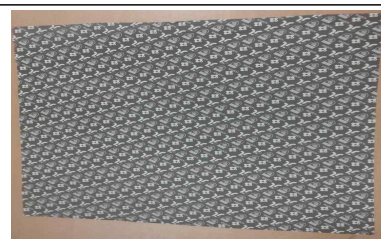
(1) 정유 포집 HNTs 캡슐의 플렉소 인쇄 공정 적용을 통한 종이 식품 포장재 제조  
 (가) 플렉소 인쇄 공정 적용을 통한 종이 식품 포장재 제조 방법

정유가 포집된 HNTs 캡슐을 잉크에 혼합하여 플렉소 인쇄 공정에 적용하여 기능성 식품 포장재를 제조하는 연구를 수행하였다. 정유가 포집된 HNTs를 수성타입의 그라비아 잉크에 혼합하는데 이때 수성타입의 잉크는 잉크 85% 및 물 15%로 구성되어있다. HNTs 캡슐은 전체 잉크 대비 약 3wt.%를 첨가하여 잉크 조성을 선정하였다.

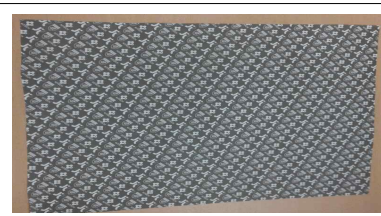
상기에 언급된 HNTs 첨가 잉크를 이용하여 플렉소 인쇄 공정에 적용하였으며 평량 50 g/m<sup>2</sup>의 종이 포장재에 인쇄하여 제조하였으며 또한 종이 포장재의 후처리 공정에 따른 정유 포집 HNTs 캡슐의 변화를 분석하기 위하여 인쇄 공정 후 종이 포장재에 PE 라미네이션 공정을 추가적으로 진행하였다.



[그림 63] HNTs의 잉크 혼합을 통한 플렉소 인쇄공정



Flexo printing



Flexo printing + PE lamination

[그림 64] 정유 포집 HNTs 캡슐 첨가 잉크로 플렉소 인쇄한 종이 포장재



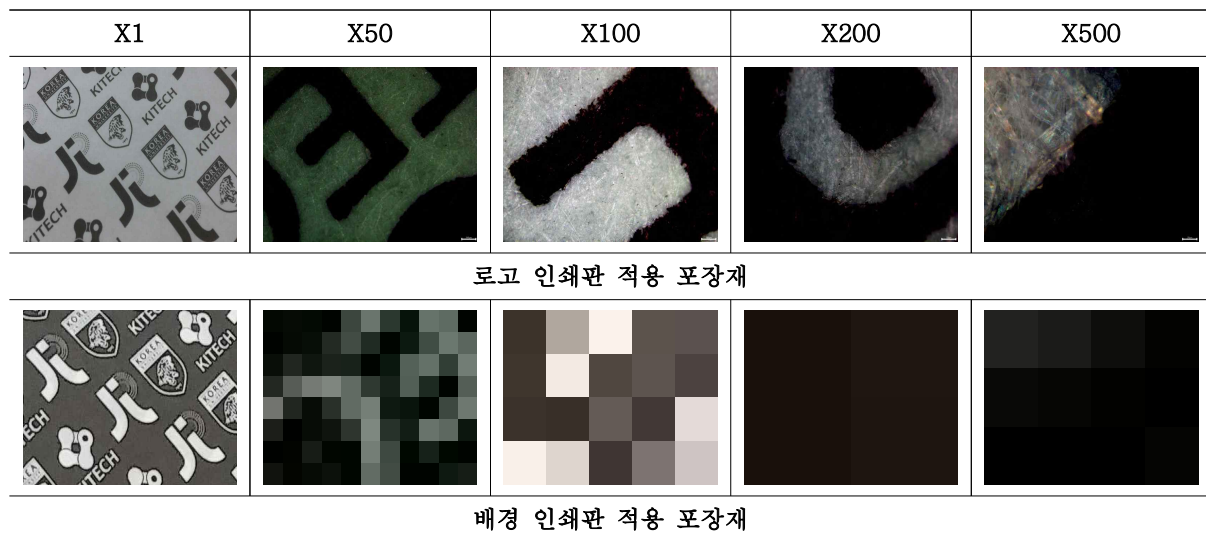
(나) 플렉소 인쇄 공정 적용을 통한 종이 식품 포장재의 표면특성 평가

잉크와 혼합되어 이용된 정유 포집 HNTs로 인한 포장재 인쇄부의 영향 및 형상을 분석하기 위한 평가가 진행되었다. HNTs가 적용된 잉크의 포장재와의 인쇄적성 평가를 위하여 종이 포장재에 인쇄를 한 후 광학현미경을 이용하여 포장재의 인쇄면을 분석하였다. 또한 종이 포장재 인쇄 공정 중 잉크 처리량에 따른 인쇄적성을 분석하기 위하여 2가지의 인쇄판(로고 인쇄판 및 배경 인쇄판)을 제조 및 적용하여 인쇄공정을 통해 시료를 제작하였다.

정유가 포집된 HNTs 나노캡슐이 적용된 잉크가 인쇄된 종이 포장재를 5 ~ 500배로 확대하여 인쇄적성을 확인하였다. 그림 65과 같이 로고 인쇄판이 적용된 시료에서는 로고 부분에서 캡슐이 응집 및 공극 부분 없이 균일하게 인쇄되어있는 표면 형상을 확인되었다.

그리고 배경 인쇄판이 적용된 시료에서도 잉크에 함유된 캡슐이 응집 및 공극 부분 없이 균일하게 인쇄된 인쇄 표면을 확인하였다. 결과적으로 캡슐이 함유된 잉크의 사용에 의한 인쇄적성의 저하는 발견되지 않았으며 기존의 인쇄 공정에 호환성이 우수한 것으로 사료된다.

로고 인쇄판 및 배경 인쇄판이 적용되어 인쇄된 포장재 모두에서 잉크의 응집 및 공극 등의 문제점이 발견되지 않았으며 육안으로 확인시에도 선명한 인쇄면이 관찰되어 HNTs 캡슐 적용시에도 우수한 인쇄적성이 확인되었다.



[그림 65] 종이포장재 인쇄부의 배율에 따른 형상(HNTs 나노캡슐 잉크 적용)

(2) 정유 포집 HNTs 캡슐의 그라비아 인쇄 공정 적용을 통한 필름 식품 포장재 제조  
(가) 그라비아 인쇄 공정 적용을 통한 필름 식품 포장재 제조 방법

정유가 포집된 HNTs 캡슐을 잉크에 혼합하여 그라비아 인쇄 공정에 적용하여 기능성 식품 포장재를 제조하는 연구를 수행하였다. 정유가 포집된 HNTs를 용제타입의 그라비아 잉크에 혼합하여 제조하는 이때 용제타입의 잉크는 무색의 그라비아 잉크로서 전체 잉크 중 용제의 함량은 약 20%로서 EAc 및 IPA (isopropyl alcohol), toluene을 5 : 3 : 2의 비율로 적용하였으며 HNTs 캡슐은 전체 잉크 대비 약 3wt%를 첨가하여 잉크 조성을 선정하였다.

상기에 언급된 HNTs 나노캡슐 첨가 잉크를 이용하여 그라비아 인쇄 공정에 적용하였으며 두께 60 $\mu$ m의 LLDPE 필름에 인쇄하여 제조하였고 제조된 시료는 LLDPE 외면에 단층으로 인쇄되는 형식이 적용되었다.



[그림 66] HNTs의 잉크 혼합을 통한 그라비아 인쇄공정

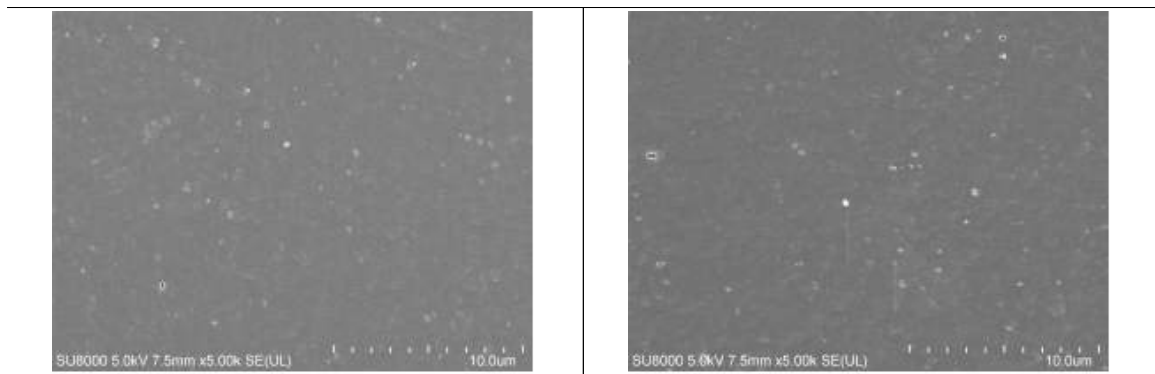


[그림 67] 정유 포집 HNTs 첨가 잉크로 그라비아 인쇄한 LLDPE 포장재



### (나) 그라비아 인쇄 공정 적용을 통한 필름 식품 포장재의 표면특성 평가

그라비아 인쇄 공정이 적용된 시료는 잉크에 첨가된 HNTs의 분산도 평가를 위하여 SEM 평가를 진행하였으며 아래 그림 68은 LLDPE에 HNTs를 첨가한 잉크를 이용하여 인쇄한 표면을 나타내었다. 표면 분석 결과, 잉크 대비 약 2wt%를 첨가한 정유 포집 HNTs는 TPU 코팅제에서 나타났던 결과와 유사하게 분산도는 균일한 상태를 보인 것으로 확인되었으며 이를 통한 식품 포장재 개발이 가능할 것으로 사료된다.



[그림 68] HNTs 첨가 잉크를 이용한 인쇄 표면의 SEM 이미지

### 3. 정유 포집 HNTs 캡슐이 적용된 식품 포장재에서의 특성 분석

#### 가. 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재의 방출 특성

Clove bud 정유가 포집된 HNTs 캡슐의 표면처리 시료 및 포장재 적용을 통한 포장재 내에서의 약 30일 동안의 방출거동을 분석하였으며 분석 방법은 상기에 언급된 방출 특성 분석 방법에 따라 진행되었다.

방출 특성을 평가한 시료는 총 5종으로 캡슐 실험군 3종(미처리 HNTs, end capping 처리된 HNTs, LbL 처리된 HNTs)과 인쇄공정을 통해 제조된 종이 포장재 실험군 2종(HNTs capsule-paper printing type1, HNTs-paper printing and PE lamination type2)을 이용하여 실험이 진행되었다. 종이 포장재 2종에서 이용된 캡슐은 LbL 처리된 HNTs이었다.

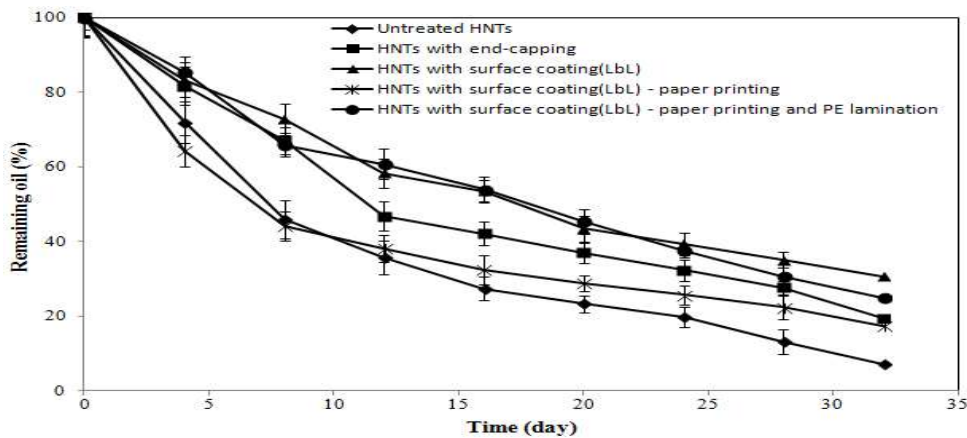
초기 방출량을 기준으로 약 30일 동안의 포집된 정유의 방출량을 측정하였으며 캡슐 실험군에서는 LbL 처리 시료에서 방출 특성이 가장 우수한 것으로 측정되었다. 16일째를 기준으로 무처리 시료 대비 약 100% 및 end-capping 방식이 적용된 시료 대비 약 20% 정도 높은

정유의 잔존율이 확인되었다. 무처리 시료는 8일까지 급속한 방출량이 측정되었고 32일 이후에는 초기 대비 잔존량이 약 5%로 저하되어 지속적인 방출특성을 나타나지 않는 것으로 측정되었다. 표면처리가 이루어진 2종의 시료에서는 약 32일 이후에도 초기량 대비 약 20% 이상의 잔존량이 확인되어 지속적인 방출특성을 나타내고 있다고 사료된다.

위의 결과를 토대로 가장 우수한 방출특성을 가진 LbL 처리 시료를 잉크에 혼합 후 인쇄공정을 통하여 포장재에 적용하는 실험을 진행하였다. 포장재 실험군은 포장재에 인쇄공정이 진행되어 제조된 시료(type 1) 및 이후 추가적으로 포장재 내면에 PE lamination을 진행한 시료(type 2)로 제조되어 연구를 수행하였다.

2종의 포장재 시료에서는 PE lamination 공정을 추가로 진행된 type 2 시료에서 type 1 대비 우수한 방출특성이 관찰되었다. 16일째에서는 type 2에서 40% 정도 높은 정유의 잔존량이 확인되었고 32일째에서도 약 30% 정도 높은 잔존량이 확인되었다. 이는 종이 포장재 내부에 PE lamination 공정으로 PE층이 생겨 정유의 방출을 억제하는 피막으로 작용한 결과로 사료된다.

이러한 결과를 통하여 HNTs 캡슐이 인쇄층으로 인쇄된 후 후가공으로 진행된 PE lamination을 거친 후에도 HNTs 캡슐은 안정적으로 인쇄층에 도착되어 방출 특성에서도 타 시료 대비 우수한 효과를 나타내고 있음을 확인하였다.



[그림 69] HNTs 캡슐화 및 이를 적용한 포장재의 방출 특성

#### 나. 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 항균 식품 포장재의 특성 분석

##### (1) 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재의 항균 및 항산화 특성 분석

##### (가) 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재의 항균 특성 분석

### ① 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재의 항균 특성 분석 방법

실험에 이용된 포장재의 재질은 종이를 이용하였으며 일반 종이포장재에 thyme 정유가 포집된 HNTs 캡슐을 적용하여 제조된 항균 포장재의 항균성을 분석하였다. 항균성 측정은 2가지의 방법으로 진행되었는데 포장재에 직접적인 균액 접종을 통한 방법과 실제 식품을 이용하여 보관 조건(4°C와 25°C)에 따른 포장재의 항균성을 측정하였다. 항균성 측정에 이용된 균은 직접적인 실험에서는 *E. coli* KCTC 2617를 이용하여 약 30일간 측정하였고 보관 실험에서는 *E. coli* O157:H7을 적용하여 약 5일간의 항균성을 측정하였다.

무처리 포장재와 항균포장재를 멸균된 밀폐용기에서 25°C로 보관하고 *E. coli* KCTC 2617을 10ml의 TSBN에 24 시간 간격으로 37°C에서 3번 계대 배양을 하고 멸균된 증류수를 이용하여 *E. coli* KCTC 2617 배양액을 6log(CFU/ml)로 희석시켜준다. 측정시간마다 종이 포장재와 항균 종이 포장재를 멸균된 핀셋과 화염 멸균한 가위를 이용하여 각각 1cm × 1cm 크기의 정사각형으로 자른다. 균의 접종 및 배양을 위하여 종이 포장재 1cm<sup>2</sup>을 각각 3개의 멸균된 50ml conical tube에 핀셋을 이용하여 담고 항균 종이 포장재 1cm<sup>2</sup>을 각각 3개의 멸균된 50ml conical tube에 핀셋을 이용하여 담는다. *E. coli* KCTC 2617 배양액 10ml을 피펫을 이용하여 멸균된 conical tube로 옮기고 원심분리를 사용하여 *E. coli* KCTC 2617 배양액을 2002 rcf로 15분간 원심분리한다. 원심분리 후 상등액을 피펫을 이용하여 버리고, 멸균된 증류수 10ml을 피펫을 이용하여 넣고 vortexing하여 균을 세척한다. 세척한 *E. coli* KCTC 2617을 원심분리를 사용하여 *E. coli* KCTC 2617 현탁액을 2002 rcf로 15분간 원심분리한다. 원심분리 후 상등액을 피펫을 이용하여 버리고, 피펫을 이용하여 멸균된 증류수 10ml을 넣고 vortexing하여 균을 분산시킨다. 현탁액을 멸균된 증류수를 이용하여 106배 희석하여 멸균된 50ml conical tube 안의 각각 포장재에 6log(CFU/ml) 농도의 *E. coli* KCTC 2617 현탁액 100ml을 마이크로피펫을 이용하여 접종한다(접종농도: ca. 5 log CFU/ml). 접종 후 수분 증발 방지를 위하여 conical tube의 뚜껑을 닫고 접종 후 포장재들을 incubator에서 37°C, 24시간 배양한다. 배양된 미생물의 개체수 확인을 위하여 배양 후 24시간이 지난 샘플들을 핀셋을 이용하여 멸균된 TSB 10ml이든 test tube로 옮기고 포장재가 들어있는 test tube를 1분간 vortexing하여 균액을 추출하며 추출한 균액을 마이크로피펫과 9ml 증류수를 이용하여 100, 101, 102, 103배 희석하여 TSAN, SMA와 SMAN에 각각 plating하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후, 개체수를 확인하였다.

② 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재의 직접적 항균 특성 결과

0일차 결과를 통해 HNTs 캡슐을 적용한 포장재는 무처리 포장재와 비교하였을 때 *E. coli* KCTC2617에 대하여 항균성을 나타내고 있는 것으로 관찰되었다. HNTs 캡슐을 적용한 포장재는 상온에서 3일까지 보관하여도 *E. coli* KCTC 2617에 대하여 멸균을 시키는 것을 확인하였으며 포장재를 상온 보관하는 3일차에서 6일차 사이에서 *E. coli* KCTC 2617이 HNTs 캡슐이 적용된 포장재 표면에서 생육하는 것이 관찰되었다. 포장재를 상온 보관하는 15일차부터 HNTs 캡슐이 적용된 포장재와 무처리 포장재 표면에서 *E. coli* KCTC 2617 개체수의 큰 차이를 보이지 않아 15부터 항균력이 떨어지는 것을 확인하였다.

[표 26] 상온 보관 종이포장재 및 HNTs 캡슐 적용 종이포장재 표면에 *E. coli* KCTC 2617 희석액(ca. 5log(CFU/ml)) 접종 24시간 후 TSAN에서의 개체수

	구분	Rep.	Populations (log CFU/cm <sup>2</sup> )						
			Time after production of packaging material (day)						
			0	3	6	10	15	20	25
TSAN	Control	1	5.0	5.1	5.0	5.0	5.6	5.4	5.1
		2	5.0	5.0	5.1	5.1	5.5	5.2	5.1
		3	5.0	5.1	5.0	5.0	5.7	5.1	5.1
		Average	5.0	5.1	5.0	5.0	5.6	5.2	5.1
		S.D.	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0
	Test	1	0.0	0.0	1.5	2.4	4.6	5.3	5.2
2		0.0	0.0	1.3	2.3	4.5	5.3	5.2	
3		0.0	0.0	1.5	2.4	4.4	5.2	5.1	
		Average	0.0	0.0	1.4	2.4	4.5	5.3	5.2
		S.D.	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

[표 27] 상온 보관 종이포장재 및 HNTs 캡슐 적용 종이포장재 표면에 *E. coli* KCTC 2617 희석액(ca. 5log(CFU/ml)) 접종 24시간 후 SMA에서의 개체수

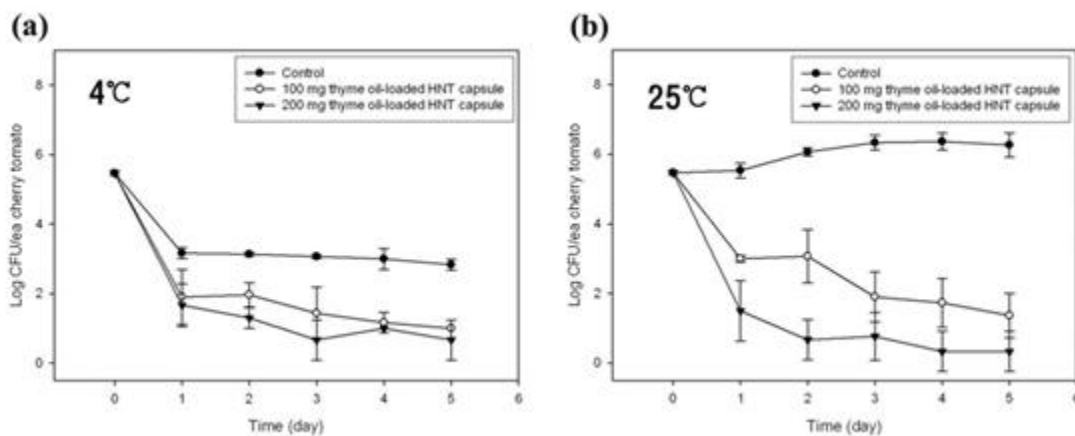
	구분	Rep.	Populations (log CFU/cm <sup>2</sup> )						
			Time after production of HNTs material (day)						
			0	3	6	10	15	20	25
SMA	Control	1	5.3	5.3	5.3	5.3	5.3	5.4	5.2
		2	5.3	5.3	5.3	5.1	5.2	5.2	5.2
		3	5.3	5.3	5.3	5.3	5.2	5.3	5.2
		Average	5.3	5.3	5.3	5.2	5.2	5.3	5.2
		S.D.	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.0
	Test	1	0.0	0.0	1.7	2.5	4.4	5.3	5.1
2		0.0	0.0	1.8	2.4	4.5	5.2	5.2	
3		0.0	0.0	1.5	2.4	4.1	5.2	5.2	
		Average	0.0	0.0	1.7	2.4	4.3	5.2	5.2
		S.D.	0.0	0.0	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1

[표 28] 상온 보관 종이포장재 및 HNTs 캡슐 적용 종이포장재 표면에 *E. coli* KCTC 2617 희석액(ca. 5log(CFU/ml)) 접종 24시간 후 SMAN에서의 개체수

구분	Rep.	Populations (log CFU/cm <sup>2</sup> )							
		Time after production of HNTs material (day)							
		0	3	6	10	15	20	25	
SMAN	Control	1	5.0	5.0	5.0	5.0	5.6	5.3	5.1
	2	5.0	5.0	5.0	5.0	5.3	5.2	5.1	
	3	5.0	5.0	5.0	5.0	5.5	5.3	5.1	
	Average	5.0	5.0	5.0	5.0	5.5	5.3	5.1	
	S.D.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	
Test	1	0.0	0.0	1.6	2.2	4.7	5.5	5.1	
	2	0.0	0.0	1.7	2.4	4.8	5.4	5.1	
	3	0.0	0.0	1.5	2.3	4.7	5.4	5.1	
	Average	0.0	0.0	1.6	2.3	4.7	5.4	5.1	
	S.D.	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	

③ 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재의 보관 조건에 따른 항균 특성 결과

방울토마토에 접종된 *E. coli* O157:H7에 대한 정유 포집 HNTs 캡슐의 균 저감화 효과 확인 결과, 4°C 저장온도에서는 control은 2log(cycle)의 저감화 효과를 보인 반면, 실험군에서는 4log(cycle)의 저감화 효과를 보였다. 25°C 저장 온도에서는 대조구의 경우 초기 접종량에 비해 다소 증가하는 경향을 보인 반면, 100mg의 캡슐을 적용한 경우 3.5log(cycle), 200mg의 캡슐을 적용한 경우 4.5log(cycle)의 저감화 효과가 관찰되었다.



[그림 70] Thyme 정유 포집 HNTs 캡슐의 저장 온도에 따른 항균효과

## (2) 시너지를 가진 천연 향균 정유 기체 조합물 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재의 항균력 평가

### (가) 식품 포장재의 항균력 평가 방법

시너지를 보였던 천연 정유 기체 조합물을 HNTs에 포집하여 포장재에 적용하고 제조된 포장재의 식품위해미생물인 *L. monocytogenes*에 대한 항균성을 확인하였다.

Cinnamon bark 정유와 thyme thymol 정유 (1:1) 조합물, cinnamon bark 정유와 oregano 정유 (1:2) 조합물, oregano 정유와 thyme thymol 정유 (1:2, 2:1) 조합물, cinnamon bark 정유, oregano 정유와 thyme thymol 정유 (1:2:4) 조합물들이 함유된 포장재들의 항균성을 확인하였다.

일반 포장재와 시너지를 보인 천연 정유 기체 조합물이 함유된 포장재 (1cm<sup>2</sup>)에 5개 strains이 혼합된 *L. monocytogenes* 배양액 (ca. 6.0log(CFU/mL))을 10uL를 접종 (ca. 5.0log(CFU/mL))하고 30°C 인큐베이터에서 24시간 배양하였다. 24시간 후, *L. monocytogenes*가 접종된 포장재를 10mL tryptic soy broth (TSB)에 옮겨 담고 vortexing하여 균액을 추출한다. 일반 포장재에서 추출된 균액과 천연 정유 기체 조합물이 함유된 포장재에서 추출된 균액의 *L. monocytogenes*의 개체수를 확인 비교하여 천연 정유 기체 조합물이 함유된 포장재의 *L. monocytogenes*에 대한 항균성을 판단하였다..

### (나) 식품 포장재의 항균력 평가 결과

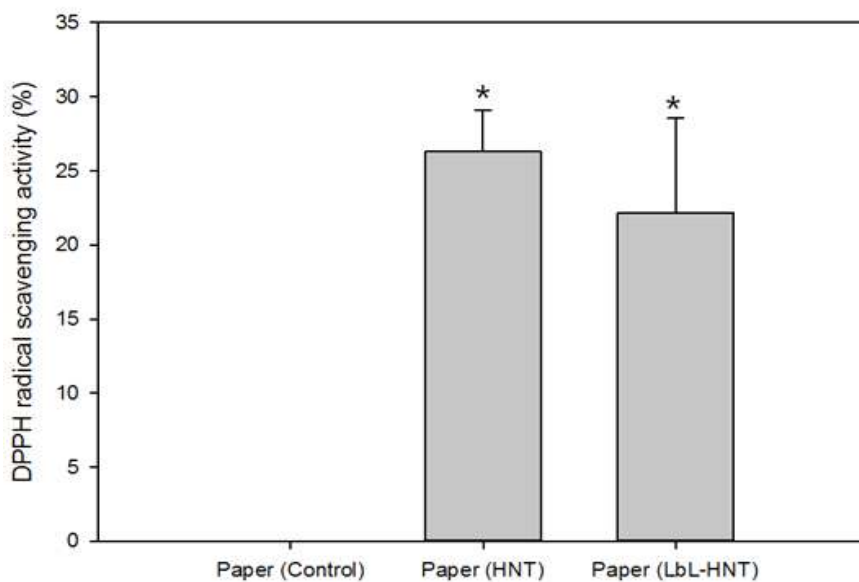
일반 종이 포장재와 천연 향균 정유 기체 조합물이 함유된 종이 포장재 표면의 *L. monocytogenes* 개체수를 확인한 결과, 일반 종이 포장재에서는 4.0log(CFU/cm<sup>2</sup>), cinnamon bark 정유와 oregano 정유 조합물이 함유된 포장재에서는 3.2log(CFU/cm<sup>2</sup>), cinnamon bark 정유와 thyme thymol 정유 조합물이 함유된 포장재에서는 3.3log(CFU/cm<sup>2</sup>), thyme thymol 정유와 oregano 정유 조합물이 2:1 비율로 함유된 포장재에서 는 3.0log(CFU/cm<sup>2</sup>), thyme thymol 정유와 oregano 정유 조합물이 1:2 비율로 함유된 포장재에서는 3.3log(CFU/cm<sup>2</sup>), cinnamon bark 정유, thyme thymol 정유와 oregano 정유 조합물이 함유된 포장재에서는 3.0log(CFU/cm<sup>2</sup>)의 *L. monocytogenes*가 존재함을 확인하였다.

[표 29] 포장재 함유 천연 항균 정유 조합별 *L. monocytogenes* cocktail 개체수 확인

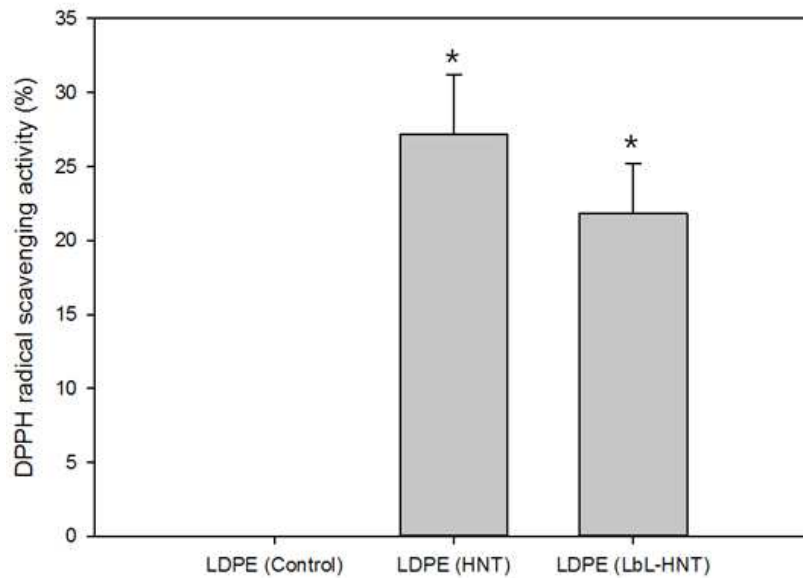
포장재에 함유된 천연 항균 정유 조합	Control populations (log CFU/cm <sup>2</sup> )	Populations (log CFU/cm <sup>2</sup> )
Cinnamon bark + oregano	4.0 ± 0.1	3.2 ± 0.1
Cinnamon bark + thyme	4.0 ± 0.1	3.3 ± 0.2
Thyme thymol + oregano (2:1)	4.0 ± 0.1	3.0 ± 0.2
Thyme thymol + oregano (1:2)	4.0 ± 0.1	3.3 ± 0.2
Cinnamon bark + oregano + thyme	4.0 ± 0.1	3.0 ± 0.3

(나) 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 식품 포장재의 항산화 특성 분석

식품 포장재의 항산화 특성 분석을 위하여 상기에서 진행되었던 DPPH assay를 적용하였다. DPPH assay를 통한 정유 포집 HNTs가 적용된 포장재의 항산화 효과 검증 결과, 캡슐의 LbL 코팅 유무에 관계없이 DPPH radical 소거능을 보인 반면, control 포장재에서는 항산화 효과를 보이지 않은 결과가 나타났으며 이의 결과 아래 그림에 나타내었다.



[그림 71] Thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 종이포장재의 free radical 소거능



[그림 72] Thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 LDPE 포장재의 free radical 소거능

#### 다. 방충 식품 포장재에서의 방충 특성 평가

##### (1) 방충 식품 포장재의 침투 저해력 평가

##### (가) 침투 저해력 평가 방법

선행 연구에서 기피력을 보인 end-capping법으로 코팅된 HNTs와 LbL법으로 표면코팅된 HNTs를 식품 포장용 필름에 적용하였다. 기피력을 보인 end-capping법과 LbL법으로 코팅된 HNTs 중에서 식품 포장용 필름의 인쇄에 적용하였을 때 선행 연구와 동일하게 화랑곡나방 유충의 침투를 억제력을 보일 것으로 판단되었으며 침투 테스트 트랩을 이용한 그라비아 인쇄가 된 방충 필름의 침투력 측정 실험에서 선정된 방충 물질 처리 실험군에서 무처리군과 비교하여 50% 이상의 침투 억제력을 기대하였다.

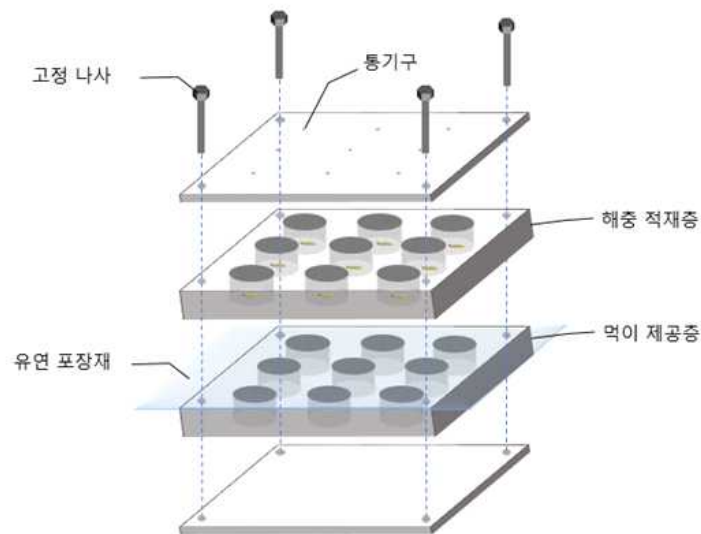
침투테스트 트랩을 이용한 해충의 침투 억제 효과 검증 방법을 적용하였으며 제작된 방충 필름에 대한 화랑곡나방 유충의 침투력 저해 효과를 측정하기 위하여 본 연구진에서 고안한 해충 침투력 측정용 기구를 사용하였다.

해충 침투력 측정용 기구는 25cm × 25cm 크기의 4개의 아크릴판으로 구성되어 있다. 각각의 판은 2개의 0.5cm 높이로 구성된 위판과 아래판, 1개의 1.0cm 높이로 구성된 해충 적재층, 1개의 1.5cm 높이로 구성된 먹이 제공층로 이루어져 있다. 해충 적재층 및 먹이 제공층은 각각 지름 3cm의 9개의 적재부로 구성되며 위판과 아래판은 유충의 탈출을 효과적으로 막고,



기구의 모양을 유지하는 역할을 하며, 위판의 경우 적재부와 맞닿는 부분에 9개의 미세한 구멍을 뚫어 통기구를 마련하였다. 제작된 방충 필름은 방충물질이 인쇄된 면이 해충 쪽으로 향하게 위치시켰으며, 방충필름 밑의 각각의 먹이 제공층에 2.5g의 현미를 두어 유인재로 사용하였다. 단순 저해력 평가에서는 24, 48, 72시간 경과에 따른 실험 기간을 선정하였으며 침투 저해력의 지속력을 확인하기 위한 실험에서는 24시간 간격으로 총 30일 동안 실험 기간을 선정하여 각각 지난 후에 현미가 있는 먹이 적재부로 침입한 해충의 수를 확인하여 다음과 같이 침투력을 나타내었다. 침투 저해력의 지속력 확인을 위한 실험에서는 침투하지 못한 화랑곡나방 유충을 72시간이 경과하면 새 유충으로 교체 및 투입하는 방법을 적용하였다.

$$\text{침투력 (penetration rate, \%)} = \frac{\text{각시간 후 먹이 적재부로 침입한 해충의 수}}{\text{초기 유충수}} \times 100$$



[그림 73] 침투테스트 트랩의 모식도

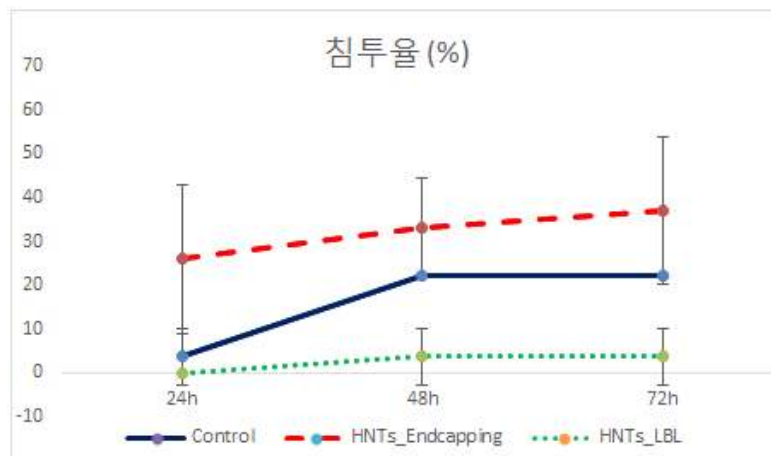
#### (나) 침투 저해력 평가 결과

End-capping 방법으로 제작된 HNTs 캡슐로 코팅한 시료를 첨가하여 제작한 방충필름의 경우 24, 48, 72시간이 경과하였을 때 모두 가장 높은 침투율을 보여 end-capping 방법으로 코팅한 HNTs는 화랑곡나방 유충의 침투를 효과적으로 막지 못하는 것으로 사료된다. LbL 처리된 HNTs 캡슐이 적용된 포장재의 경우 24, 48, 72시간이 경과하였을 때 모두 가장 우수한 침

투 억제력을 확인하였다.

그라비아 잉크만 이용해 인쇄된 대조군(control)은 24, 48시간이 지남에 따라 필름을 뚫고 먹이 적재부로 침투한 유층의 수가 증가 하였고, 72시간이 지난 후에는 48시간이 지났을 때와 같은 침투율을 보여, 대조군에서의 침투 억제력은 확인되지 않았다.

End-capping처리가 된 HNTs를 이용한 군의 경우 시간이 지날수록 (24 ~ 72시간) 침투율이 지속적으로 상승하였으며, 오히려 대조군 보다 높은 해층의 침투율을 보여 end-capping 처리가 된 HNTs는 침투 억제력이 존재하지 않음을 확인하였다. LbL법으로 코팅된 HNTs를 이용하여 인쇄된 군의 경우 48시간이 지난 후에 침투율이 소폭 상승하였으며, 72시간까지 가장 낮은 침투율을 보여 LbL법으로 코팅된 HNTs를 사용하여 제작된 방충필름이 가장 적합한 실험군으로 사료된다.



[그림 74] 시간별 저장 해층의 침투율

#### (다) 침투 저해력의 지속성 평가 결과

Clove bud 정유가 단순 포집된 시료가 인쇄된 방충필름은 1일차부터 30일차까지 대조군 대비 뚜렷한 침투 억제력이 관찰되지 않았으며, 누적 침투율이 100%가 될 때까지 소요된 시간도 대조군과 비슷하였다. Clove bud 정유가 포집되고 PEI로 LbL 코팅된 HNTs 시료가 인쇄된 시료에서는 1일차부터 18일차 까지 대조군 대비 약 50%의 침투 억제력이 확인되었으며, 30일까지 누적 침투율이 100%가 되지 않아 가장 우수한 침투 억제력을 가지는 것으로 확인되었다. 대조군의 경우 누적 침투율이 지속적으로 상승하는 경향을 보였으며, 15일 이후 모든 유층이 먹이 적재층으로 침투하여 침투 억제력이 존재하지 않는다고 사료된다. Clove

bud 정유가 포집되고 코팅되지 않은 HNTs를 이용하여 인쇄된 방충필름은 대조군과 차이가 없는 누적 침투율을 보여 방충력이 거의 없는 것으로 사료된다. 이는 코팅되지 않은 HNTs가 잉크 용액에 혼합될 때 clove bud 정유가 유실되었거나 또는 코팅되지 않은 HNTs로 인해 clove bud 정유가 급격히 방출하였기 때문으로 사료된다.

Clove bud 정유가 포집되고 PEI로 코팅된 HNTs를 이용하여 인쇄된 방충필름은 가장 우수한 침투 억제력을 보였다. 이는 clove bud 정유가 포집된 HNTs가 표면 코팅에 의해 서서히 방출되어 나타난 결과로 사료된다.



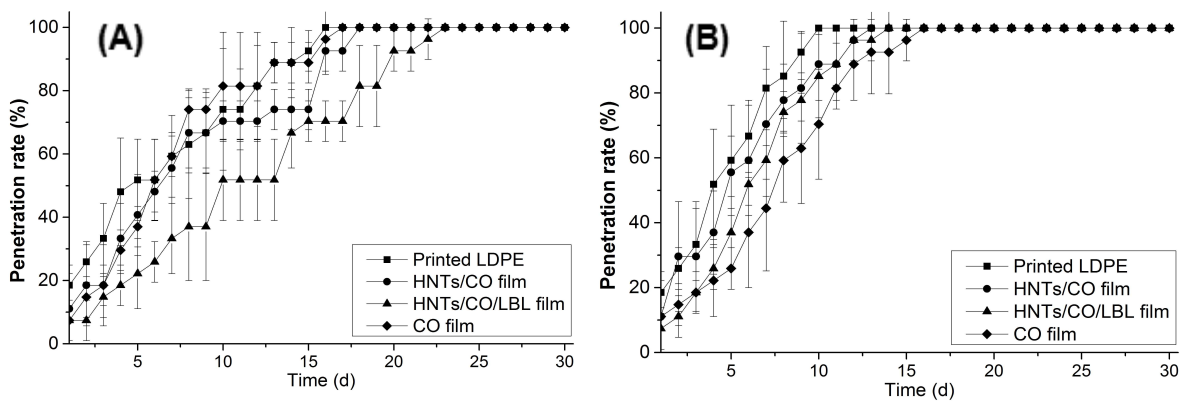
[그림 75] 표면 코팅여부에 따른 방충 필름의 누적 침투율

앞선 연구에서 LbL법을 이용하여 코팅한 정유 포집 HNTs 캡슐의 연구결과, 우수한 침투 억제력을 보였으며 30일 간의 지속적 침투 억제율을 보였으나 이를 장기간 (31 ~ 60일, 61 ~ 90일) 유충의 침투 억제율을 확인하기 위해 다음과 같은 연구를 진행하였다.

제작된 방충 필름을 30일 간 보관 후 침투테스트 트랩에 적용하였을 때 (60일 이후 침투력 측정, A) 정유 무처리군 (printed LDPE)은 16일 이후 100%의 침투율을 보였다. 단일 clove bud 정유의 경우 17일 이후 100% 침투율을 보이고 있으며 LbL법으로 코팅되지 않았으며 HNTs로 캡슐화한 clove bud 정유는 18일 이후 100% 침투율을 확인할 수 있었고 또한, LbL법으로 코팅된 HNTs로 캡슐화한 정유 포집 HNTs의 경우 다른 실험군보다 향상된 정유 지속성을 보였으며 23일 이후 100% 침투율을 확인할 수 있었다.

제작된 방충 필름을 60일 간 인큐베이터에 보관 후 이를 침투테스트 트랩에 적용하여 30일 동안의 침투력 측정(B)에서 정유 무처리군인 LDPE 필름은 10일 이후 100% 침투력을 확인할 수 있었으며 단일 clove bud 정유를 이용하여 방충 포장 필름을 만든 실험군과 정유를 캡슐화한 정유 포집 HNTs 캡슐, LbL법으로 코팅한 정유 포집 HNTs 캡슐을 이용하여 만든 필름을 60일 간 저장 후 침투력 테스트를 한 경우에는 유의적인 침투 저해 효과를 확인할

수 없었다. 정유 무처리 필름의 경우 16일 만에 화랑곡나방 유충이 모두 침투하였으며 이와 비교하여 코팅 처리가 되지 않은 방충 필름은 17일 만에 100% 침투되었기 때문에 60일 이후 두 실험군 모두 방충력을 상실한 것으로 사료된다. 반면 LbL법으로 코팅된 정유 포집 HNTs 캡슐로 코팅된 방충 필름의 경우 16일 경과 후에도 70% 미만의 침투율을 보였으며 실험 시작 23일 만에 모두 침투된 것을 확인할 수 있었으며 코팅처리를 통해 정유 지속성은 향상되었으나 60일 이후에는 결국 방충력을 상실하였다. 90일이 경과 후, 침투 테스트 결과에서는 무처리군과 코팅 또는 코팅되지 않은 HNTs 처리 필름 모두 방충력을 상실한 것으로 사료된다.



[그림 76] 60일 (A), 90일 (B) 경과 후 침투율

## 라. 그라비아 인쇄 공정 적용 방충 식품 포장재에서의 방충력 평가

### (1) 그라비아 인쇄 공정 적용 방충 식품 포장재의 방충력 평가 방법

상기에 기술된 산업설비인 그라비아 인쇄 공정을 이용하여 제작된 방충 식품포장 필름의 실제 식품에 대한 방충 효과를 검증하기 위해 시리얼을 이용하여 효과 검증 실험을 진행하였다. 실제 식품에 적용하여 방충력을 평가하기 위해 산업설비를 이용하여 제작한 방충 포장 필름을 11cm × 22cm 크기로 자른 후, 열 접착기를 사용하여 11cm × 11cm 크기의 파우치를 제작하였다. 방충 포장 필름으로 제작된 파우치에 약 30g의 시리얼을 포장하여, 이를 통기구가 적용된 고무 뚜껑의 플라스틱 통 (35cm × 25cm × 25cm)에 일정 개수 (10개)를 넣은 후 각각의 플라스틱 통에 화랑곡 나방 유충 50마리를 넣은 후, 7일 후 육안 상 파우치 표면에 붙어 번데기를 형성하거나 침투한 화랑곡 나방 유충의 수를 확인하였다. 식품 적용 실험은 아래 표와 같이 실험군을 나누어 진행하였다.

[표 30] 방충 포장 필름의 식품 적용 평가에 사용된 실험군 분류

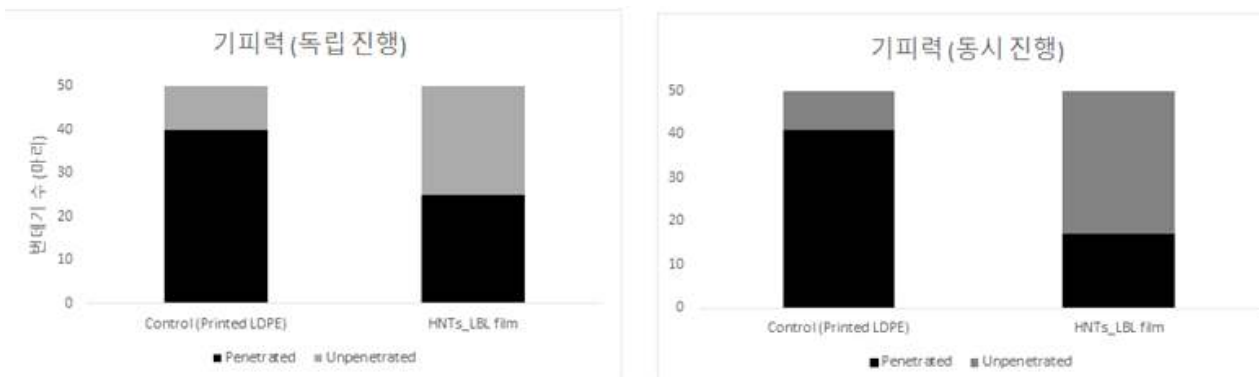
실험군	구성
실험군 1	그라비아 잉크(흰색) 적용된 LDPE 필름(60 $\mu\text{m}$ )으로 제작된 파우치 10개
실험군 2	그라비아 잉크(흰색) 적용된 LDPE 필름(60 $\mu\text{m}$ )으로 제작된 파우치 5개 + 그라비아 잉크(흰색) + 방충물질을 적용한 LDPE 필름(60 $\mu\text{m}$ )의 파우치 5개
실험군 3	그라비아 잉크(흰색) + 방충물질을 적용한 LDPE 필름(60 $\mu\text{m}$ )의 파우치 10개

(2) 그라비아 인쇄 공정 적용 방충 식품 포장재의 방충력 평가 결과

정유가 처리되지 않은 무처리군 필름 (control)과 정유가 처리된 방충 필름을 이용하여 시리얼을 포장한 후, 유충의 침투테스트를 한 결과 각각의 시리얼 포장의 유충 침투력의 경우 (독립 진행) 무처리군은 약 40마리의 유충이 포장 필름을 침투했으며 LbL법으로 코팅된 정유를 함유한 포장 필름의 경우 절반 정도의 유충 침투력을 확인하였다.

무처리군 방충 필름을 이용하여 포장된 시리얼을 동시다발적으로 진행한 결과 (동시 진행) 무처리군 필름은 독립 진행과 마찬가지로 약 40마리의 유충이 포장 필름을 뚫고 침투했으며 LbL법으로 코팅된 정유를 함유한 포장 필름의 경우 침투한 번데기 유충의 수는 절반 이하로 확인되었다.

독립 진행 및 동시 진행 여부와 상관없이 일주일 후 방충 포장 필름을 뚫고 관찰된 번데기 유충의 수는 절반 이하로 관찰되었으며, 이는 산업 설비로 제작된 방충 필름이 방충력을 지니고 있음을 보여주었다. 개발된 방충 필름의 연구·개발 결과를 통해 LbL로 코팅된 정유 포장 HNTs 캡슐의 방충 지속성과 방충력을 통해 상업화 가능성을 확인할 수 있었다.



[그림 77] 방충 포장 필름의 시리얼 적용을 통한 기피력

#### 4. 정유 포집 HNTs 캡슐이 적용된 식품 포장재의 관능검사

##### 가. 관능검사 평가 방법

본 검사는 정유가 포집된 기능성 HNTs을 적용한 잉크로 인쇄한 종이 포장재가 식품(빵류-식빵)과 접하였을 때 식품에 전이 또는 이미·이취를 발생시키는지 알아보기 위한 관능검사를 실시하였다. HNTs 캡슐은 상기의 실험에 표면처리 방법으로 가장 효과적인 PEI 이용 LbL 공법으로 제조된 캡슐을 이용하였다. 그리고 단일 정유 및 2종의 정유 조합에 따른 차이를 분석하기 위하여 2종의 포장지에 대한 관능검사를 진행하였다.

관능검사는 검사의 객관성 및 정확성을 유지하기 위하여 전문기관인 (주)한국식품정보원 내 식품안전연구소와 공동으로 진행하였으며 관능검사 진행을 위하여 모집된 패널은 총 30명으로서 패널로서 관능평가 이전에 평가 방법에 대하여 교육 후 10명씩 관능검사 부스에서 평가를 실시하였다. 패널 30명은 30 ~ 40대 주부들로 모집하였다.

관능검사에 사용된 기호도 검사 방법은 7점 척도법으로, 1점 '대단히 싫다', 2점 '싫다', 3점 '조금 싫다', 4점 '보통이다', 5점 '조금 좋다', 6점 '좋다', 7점 '대단히 좋다'의 평가 항목으로 진행하였다. 기호도의 평가 속성은 제품의 '포장지의 향', '식빵의 향', '식빵의 맛', '전체적인 기호도'로 검사하였다. 정도는 1점 '대단히 약하다', 2점 '약하다', 3점 '조금 약하다', 4점 '보통이다', 5점 '조금 강하다', 6점 '강하다', 7점 '대단히 강하다'의 평가 항목으로 진행하였다. 정도의 평가 속성은 '포장지의 이취', '식빵의 이취', '식빵의 이미', '포장지의 향', '식빵의 향', '식빵의 맛'에 대하여 검사하였다.

관능검사에 사용된 포장지는 아래의 그림 78과 같다.



[그림 78] 관능검사에 사용된 시료





[그림 79] 관능검사용 시료 제공

각 시료는 난수표를 이용하여 표시하였으며 위의 그림 79과 같이 패널에게 제공하였다. 검사 중 패널 간의 소통을 금하게 하여 객관적인 평가를 할 수 있도록 하였으며, 충분한 시간 동안 시료를 평가 할 수 있게 하였다. 관능검사 결과는 PASWStatistics18 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 구하고, 각 샘플간의 유의성은 일원배치 분산분석 후 Duncan의 사후검정을 실시하여 유의성을 검증하였다 ( $p < 0.05$ ).

#### 나. Clove bud 정유 포집 HNTs 캡슐이 적용된 종이 포장재의 관능검사 결과

패널 30명이 7점 척도법으로 총 3 제품의 각 속성별 기호도를 검사한 결과는 그림 80에 나타내었고 각 속성별 정도를 검사한 결과는 그림 81에 나타내었다. 그리고 표 31은 포장지 3종의 유의차 검증을 나타낸 것이다.

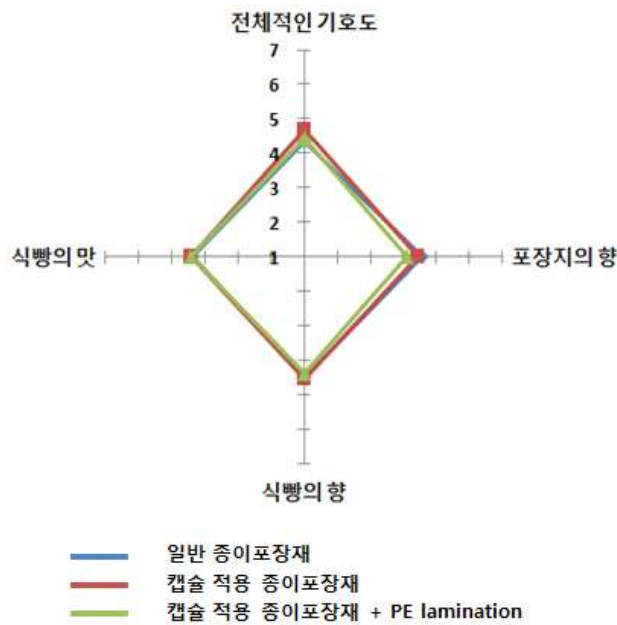
‘포장지의 이취’의 정도는 일반 종이 포장재 제품이 2.97점, 캡슐 적용 종이 포장재 제품이 2.80점, PE lamination을 추가한 제품이 3.13점으로 세 제품이 각각 ‘약하다’와 ‘조금 약하다’로 평가되었으며, 유의적 차이가 없는 것으로 나타났으며 ‘식빵의 이취’의 정도는 일반 종이 포장재에서 3.40점, 캡슐 적용 종이 포장재에서 2.77점, PE lamination이 추가된 시료에서 3.50점으로 나타나 세 제품이 각각 ‘약하다’와 ‘조금 약하다’로 평가되었으며, 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다.

‘식빵의 이미’의 정도는 일반 종이 포장재가 2.83점, 캡슐 적용 종이 포장재 2.87점, PE lamination이 추가된 시료에서 3.00점으로 나타나 세 제품이 각각 ‘약하다’와 ‘조금 약하다’로 평가되었으며, 유의적 차이가 없는 것으로 나타났고 ‘포장지의 향’의 정도는 일반 종이 포장재에서 3.00점, 캡슐 적용 종이포장재에서 2.77점, PE lamination이 추가된 시료에서 제품이 2.87점으로 나타나 세 제품이 각각 ‘약하다’와 ‘조금 약하다’로 평가 되었으며, 유의적 차이가

없는 것으로 나타났다. 기호도의 경우는 세 제품 모두 4.00점 이상으로 ‘보통이다’로 평가되었으며, 유의적 차이 또한 없는 것으로 나타났다.

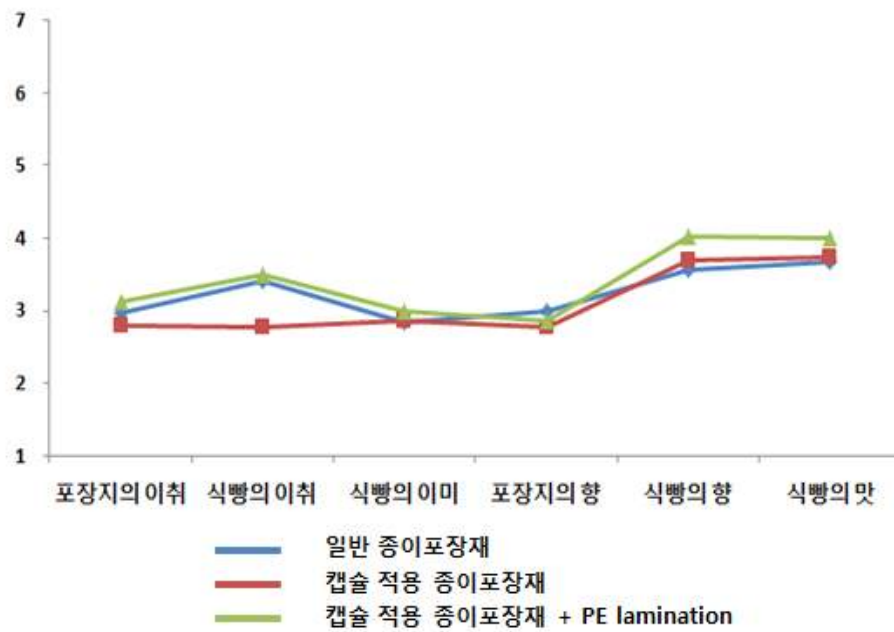
‘식빵의 향’의 정도는 일반 종이 포장재와 캡슐 적용 종이 포장재에서 3.57점과 3.70점으로 ‘약간 약하다’로 평가되었으며, PE lamination이 추가된 시료에서는 4.03점으로 ‘보통이다’로 평가되었다. 세 제품간 유의적 차이는 없는 것으로 나타났다. 기호도의 경우 세 제품 모두 4.00점 이상으로 ‘보통이다’로 평가되었으며, 유의적 차이 또한 없는 것으로 나타났다. ‘식빵의 맛’의 정도는 일반 종이포장재와 캡슐 적용 종이포장재에서 3.67점과 3.73점으로 ‘약간 약하다’로 평가되었으며, PE lamination이 추가된 시료에서는 4.00점으로 ‘보통이다’로 평가되었다. 세 제품간 유의적 차이는 없는 것으로 나타났다. 기호도의 경우 세 제품 모두 4.00점 이상으로 ‘보통이다’로 평가되었으며, 유의적 차이 또한 없는 것으로 나타났다.

‘전체적인 기호도’는 일반 종이 포장재가 4.37점, 캡슐 적용 종이 포장재가 4.67점, PE lamination이 추가된 시료에서는 4.43점으로 ‘보통이다’로 평가되었으며, 세 제품 간 유의적 차이는 없는 것으로 나타났다.



[그림 80] 종이포장지의 속성별 기호도 검사 결과





[그림 81] 종이포장지의 속성별 정도 결과

[표 31] Clove bud 정유 포집 캡슐이 적용된 종이포장재의 관능검사 결과

속 성		Sample		
		일반 종이 포장재	캡슐 적용 종이포장재	캡슐 적용 종이 포장재 + PE lamination
정도	포장지의 이취	2.97 <sup>a</sup> ±1.59	2.80 <sup>a</sup> ±1.35	3.13 <sup>a</sup> ±1.57
	식빵의 이취	3.40 <sup>a</sup> ±1.38	2.77 <sup>a</sup> ±1.36	3.50 <sup>a</sup> ±1.46
	식빵의 이미	2.83 <sup>a</sup> ±1.42	2.87 <sup>a</sup> ±1.33	3.00 <sup>a</sup> ±1.55
	포장지의 향	3.00 <sup>a</sup> ±1.89	2.77 <sup>a</sup> ±1.22	2.87 <sup>a</sup> ±1.48
	식빵의 향	3.57 <sup>a</sup> ±1.28	3.70 <sup>a</sup> ±1.02	4.03 <sup>a</sup> ±1.22
	식빵의 맛	3.67 <sup>a</sup> ±1.09	3.73 <sup>a</sup> ±1.14	4.00 <sup>a</sup> ±1.17
기호도	포장지의 향	4.57 <sup>a</sup> ±1.50	4.43 <sup>a</sup> ±1.22	4.10 <sup>a</sup> ±1.47
	식빵의 향	4.50 <sup>a</sup> ±0.94	4.53 <sup>a</sup> ±0.97	4.37 <sup>a</sup> ±0.93
	식빵의 맛	4.37 <sup>a</sup> ±0.96	4.40 <sup>a</sup> ±1.00	4.40 <sup>a</sup> ±1.25
전체적인 기호도		4.37 <sup>a</sup> ±1.25	4.67 <sup>a</sup> ±0.96	4.43 <sup>a</sup> ±1.25

\* 값 : 평균±표준편차, n=30

- 유의적 확률 : 확률값 p가 0.05보다 작을 때 유의적 차이가 있음.
- PASWStatistics18 프로그램을 이용하여 일원배치 분산분석 후 Duncan의 사후 검정을 실시하였으며, 신뢰수준 95%로 나타냄. (p<0.05)

각 항목의 정도 검사 결과 ‘포장지의 이취’, ‘식빵이 이취’, ‘식빵의 이미’, ‘포장지의 향’, ‘식빵의 향’, ‘식빵의 맛’에서 시료 간의 유의적 차이가 없는 것으로 나타났으며 그 정도도 ‘약하다’, ‘조금 약하다’로 평가되었다. ‘포장지의 향’, ‘식빵의 향’, ‘식빵의 맛’의 정도는 일반 종이

포장재와 캡슐 적용 종이포장재가 ‘약간 약하다’로 평가되었으며, 캡슐 적용 종이 포장재에 PE lamination 추가한 시료에서 ‘보통이다’로 평가되었다. 기호도에서는 세 제품 모두 4.00점 이상으로 ‘보통이다’로 평가되어 유의적 차이가 없는 정도에서의 정도는 기호도에 영향을 주지 않는 것으로 판단된다. ‘전체적인 기호도’의 경우도 세 제품 모두 4.00점 이상으로 ‘보통이다’로 평가되었으며, 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 미루어 보아 이번에 개발된 2종의 시료로 식품을 포장하였을 때, 대조군과 차이가 없는 것으로 판단된다.

포장재에서의 이취 문제를 보다 명확하게 판단하기 위하여 이취의 흡수 및 전이가 빠른 식품으로서 제과류(빵류)를 선택되어 실험되었으며 관능검사 결과와 같이 포장재에서의 이취 문제가 발생되지 않았음을 확인하였다.

#### 다. 2종 조합 정유(cinnamon bark-thyme) 포장 HNTs 캡슐이 적용된 종이 포장재의 관능검사 결과

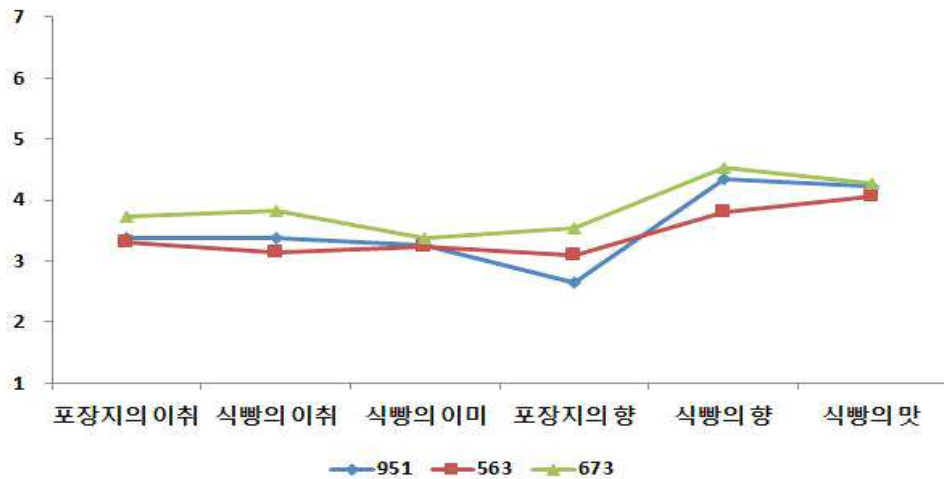
포장지의 이취 정도는 일반 종이 포장재(951)가 3.38점, Cinn-Thym 포장 HNTs 캡슐 적용 포장재(563)이 3.30점, cinnamon bark-thyme 포장 HNTs 캡슐 적용 포장재-PE lamination (673)이 3.73점으로 ‘조금 약하다’로 평가되었으며, 유의적 확률은 세 제품 간 차이가 없는 것으로 나타났다. 식빵의 이취 정도는 세 제품 모두 3.38점, 3.13점, 3.83점으로 ‘조금 약하다’로 평가되었으며, 유의적 확률은 세 제품간 차이가 없는 것으로 나타났다. 식빵의 이미 정도는 세 제품 모두 3.27점, 3.23점, 3.37점으로 ‘조금 약하다’로 평가되었으며, 유의적 확률은 세 제품간 차이가 없는 것으로 나타났다. 포장지의 향 정도는 951번이 2.65점으로 ‘약하다’로 평가되었으며, 563번, 673번이 3.10점, 3.53점으로 ‘조금 약하다’로 평가되었다. 유의적 확률은 673번 제품이 951번과 차이가 있는 것으로 나타났다. 포장지의 향 기호도는 951번, 563번이 4.58점, 4.17점으로 ‘좋지도 싫지도 않다’로 평가되었으며, 673번이 3.73점으로 ‘조금 싫다’로 평가되었다. 유의적 확률은 951번이 673번과 차이가 있는 것으로 나타났다.

식빵의 향 정도는 951번, 673번이 4.35점, 4.53점으로 ‘좋지도 싫지도 않다’로 평가되었으며, 563번이 3.80점으로 ‘조금 싫다’로 평가되었다. 유의적 확률은 673번이 563번과 차이가 있는 것으로 나타났다. 식빵의 향 기호도는 세 제품 모두 4.54점, 4.10점, 4.27점으로 ‘좋지도 싫지도 않다’로 평가되었으며, 유의적 확률은 세 제품간 차이가 없는 것으로 나타났다.

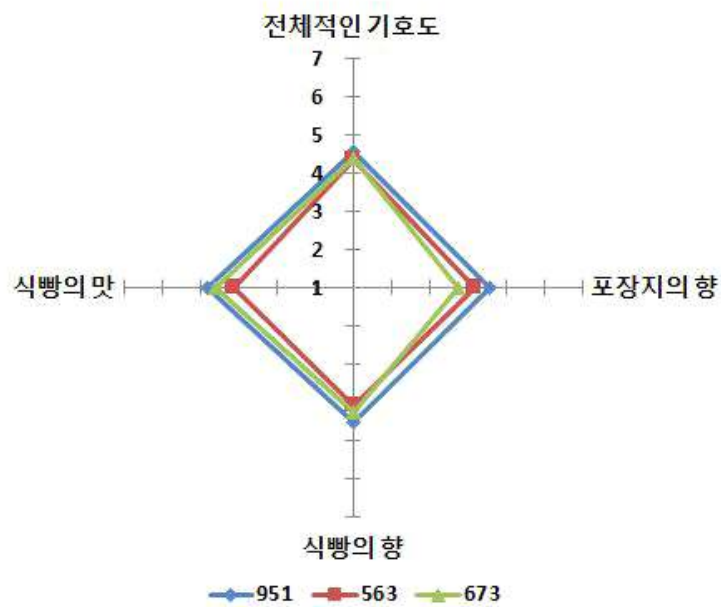
식빵의 맛 정도는 세 제품 모두 4.23점, 4.07점, 4.27점으로 ‘약하지도 강하지도 않다’로 평가되었으며, 유의적 확률은 세 제품간 차이가 없는 것으로 나타났다. 식빵의 맛 기호도는 세

제품 모두 4.81점, 4.13점, 4.60점으로 ‘좋지도 싫지도 않다’로 평가되었으나 유의적 확률은 951번과 563번간 차이가 있는 것으로 나타났다.

전체적인 기호도는 세 제품 모두 4.58점, 4.33점, 4.40점으로 ‘좋지도 싫지도 않다’로 평가되었으며, 유의적 확률은 세 제품 간 차이가 없는 것으로 나타났다.



[그림 82] 종이포장지의 속성별 기호도 검사 결과



[그림 83] 종이포장지의 속성별 정도 결과

[표 32] 조합 정유 포집 캡슐이 적용된 종이포장재의 관능검사 결과

속 성		Sample		
		일반 종이 포장재 (951)	캡슐 적용 종이포장재 (563)	캡슐 적용 종이 포장재 + PE lamination (673)
정도	포장지의 이취	3.38 <sup>a</sup> ±1.20	3.30 <sup>a</sup> ±1.34	3.73 <sup>a</sup> ±1.41
	식빵의 이취	3.38 <sup>a</sup> ±1.50	3.13 <sup>a</sup> ±1.25	3.83 <sup>a</sup> ±1.51
	식빵의 이미	3.27 <sup>a</sup> ±1.40	3.23 <sup>a</sup> ±1.38	3.37 <sup>a</sup> ±1.30
	포장지의 향	2.65 <sup>b</sup> ±1.29	3.10 <sup>ab</sup> ±1.47	3.53 <sup>a</sup> ±1.57
	식빵의 향	4.35 <sup>ab</sup> ±0.80	3.80 <sup>b</sup> ±1.06	4.53 <sup>a</sup> ±1.07
	식빵의 맛	4.23 <sup>a</sup> ±0.71	4.07 <sup>a</sup> ±0.78	4.27 <sup>a</sup> ±0.83
기호도	포장지의 향	4.58 <sup>a</sup> ±0.90	4.17 <sup>ab</sup> ±1.12	3.73 <sup>b</sup> ±1.23
	식빵의 향	4.54 <sup>a</sup> ±0.81	4.10 <sup>a</sup> ±0.76	4.27 <sup>a</sup> ±1.05
	식빵의 맛	4.81 <sup>a</sup> ±0.80	4.13 <sup>b</sup> ±1.11	4.60 <sup>ab</sup> ±1.04
전체적인 기호도		4.58 <sup>a</sup> ±0.76	4.33 <sup>a</sup> ±1.09	4.40 <sup>a</sup> ±1.22

\* 값 : 평균±표준편차, n=30

- 유의적 확률 : 확률값 p가 0.05보다 작을 때 유의적 차이가 있음.

- PASWStatistics18 프로그램을 이용하여 일원배치 분산분석 후 Duncan의 사후 검정을 실시하였으며, 신뢰수준 95%로 나타냄. (p<0.05)

각 항목의 정도 검사 결과 ‘포장지의 이취’, ‘식빵의 이취’, ‘식빵의 이미’에서는 제품간 유의적 차이가 없는 것으로 나타났으며, ‘조금 약하다’로 평가되었다. ‘포장지의 향’은 정도와 기호도에서 제품간 유의적 차이가 있는 것으로 나타났으며, 정도가 약할수록 기호도에 긍정적인 것으로 나타났다. ‘식빵의 향’은 정도에서 유의적 차이가 있는 것으로 나타났으나, 기호도에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났으며, ‘식빵의 맛’은 정도에서는 유의적 차이가 없는 것으로 나타났으나, 기호도에서는 차이가 있는 것으로 나타났다.

‘전체적인 기호도’의 경우 세 제품 모두 4.58점, 4.33점, 4.40점으로 ‘좋지도 싫지도 않다’로 평가되었으며, 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 미루어보아 이번에 개발된 일반 종이포장재(951), cinnamon bark-thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 포장재, cinnamon bark-thyme 정유 포집 HNTs 캡슐 적용 포장재-PE lamination에서는 차이가 없는 것으로 판단된다.

## 제 5 절 기능성 식품 포장재의 산업화

### 1. 기능성 식품 포장재의 상용화 시스템 구축 및 품질기준 확보

식품 포장재의 산업화 성공 여부는 가격적 측면과 높은 연관성을 가지고 있어 제품의 사용성을 높이기 위해서는 제품 자체가 갖는 산업적 경쟁력이 중요하다고 할 수 있다. 따라서 본 과제에서 개발된 기능성 식품 포장재의 상용화 시스템 구축 방안 및 품질기준 확보를 통하여 산업화의 토대를 마련하였다.

#### 가. 다기능성 포장재의 상용화 시스템 구축

##### (1) 상용화 시스템 구축을 위한 캡슐화 기기(encapsulation machine)의 도입

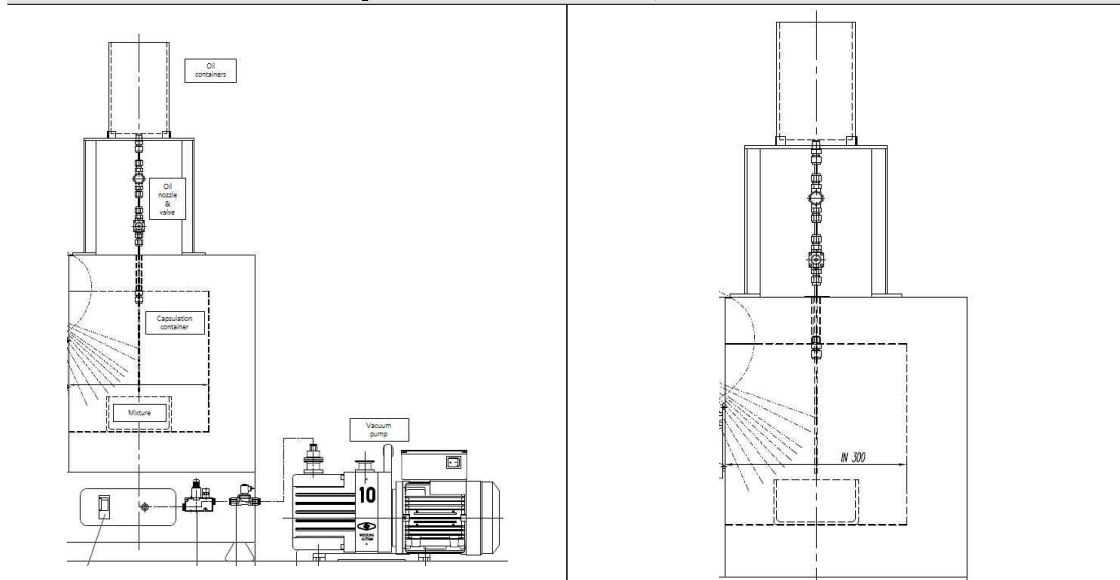
##### (가) 캡슐화 기기(encapsulation machine)의 사양

###### ○ HNTs에 각종 정유를 포집 기기

- 생산 속도 : 500g/hr. (1일 4,000g 생산 가능)
- 4,000g/일 생산으로 136,000g/일의 잉크에 혼합 가능
- 136,000g/일의 기능성 잉크로 1m × 1m 크기의 인쇄지 16,800m/일 인쇄 가능
- 1일 생산으로 1m × 1m 크기의 인쇄지 16,800m/일 인쇄 가능

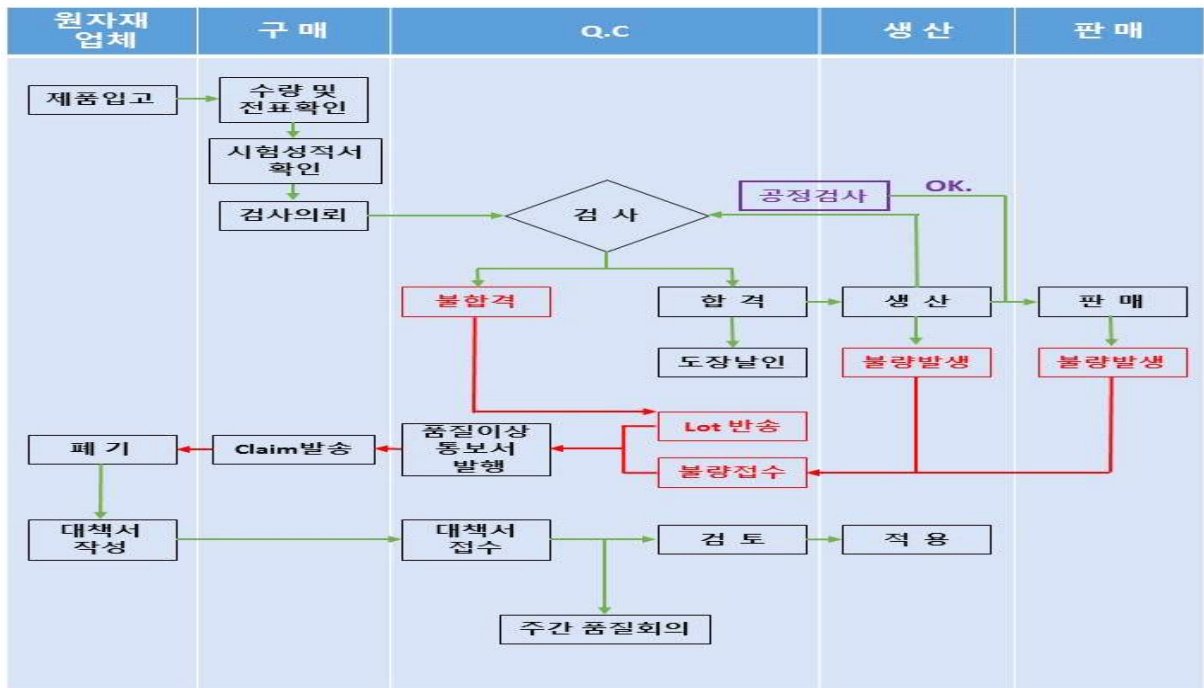
##### (나) 캡슐화 기기(encapsulation machine)의 도면 및 사진

Encapsulation machine 전체 및 상부 도면





나. 품질 요인 / 평가 기준 설정 및 평가 시스템 구축



다. 품질기준 확보 (공정검사)

항 목	시험조건	합격기준
내열시험	60℃ 48시간 시험 후 상온 1시간 방치 후 육안 확인	도막, 크랙, 박리, 변형, 변색, 부풀음이 없을 것
내습시험	60℃, 습도 90~95% 조건 48시간 시험 후 상온 1시간 방치 후 육안 확인	잉크 인쇄면 벗겨짐 없을 것
내한시험	영하 30℃ 48시간 시험 후 상온 1시간 방치 후 육안 확인	도막, 크랙, 박리, 변형, 변색, 부풀음이 없을 것
열충격시험	영하30℃/30분 <-> 영상 60℃/30분 1사이클로 연속 12사이클 실시 후 육안 확인	도막, 크랙, 박리, 변형, 변색, 부풀음이 없을 것
내마모시험	접촉봉(지름 7~10mm 플라스틱)에 면포 2겹으로 씌. 50mm Stroke로 하중 500g, 분당 50~60회 속도로 왕복 3,000회 실시 면포 : 100% Cotton, Mesh Grade 28 by 40	잉크 인쇄면 벗겨짐 없을 것
에탄올러빙	접촉봉(지름 7~10mm 플라스틱)에 면포 2겹으로 씌. 에탄올(순도 99.5%이상)을 흠뻑 적셔서 마르지 않도록 수시로 보충. 50mm Stroke로 하중 500g, 분당 50~60회 속도로 왕복 100회 실시 면포 : 100% Cotton, Mesh Grade 28 by 40	잉크 인쇄면 벗겨짐 없을 것
Cross Cutting	1mm 간격으로 11×11줄(바둑판) 굵고 OPP Tape를 5회 이상 문질러 완전히 부착 후 90/180도로 빠르게 떼어냄 KSA-1514에 준하는 700~800gf/inch의 Tape로 실시	잉크 인쇄면 떨어짐이 전체면적의 10% 이내일 것
내열탕시험	60℃ 항온 항습조에 시편 30분 침식 후 상온 2시간 방치 후 Cross Cutting 후 OPP Tape 5회 이상 문질러 완전히 부착 후 90/180도 각도로 급격히 떼어냄	잉크 인쇄면 부풀음, 벗겨짐 없을 것

## 2. 기능성 포장재를 통한 사업화 진행

### 가. 경제성 분석

#### (1) 제품화를 위한 최적 생산 가공 조건 확립

- 정유 포집 HNTs 캡슐의 생산 공정 1차 scale-up 완료
  - 100g/회 CAPA ⇒ 500g/회 CAPA
  - HNTs 캡슐 500g 생산시 약 17,000g의 기능성 잉크 제조 가능 (약 3% 혼합)
  - 17,000g의 기능성 잉크로 1m × 1m 크기의 인쇄지 2,100m 인쇄 가능

#### (2) 가공 조건에 의한 생산성 확인 및 관련 산업 검토

- 1차 scale-up 완료된 정유 포집 HNTs 캡슐 생산량인 500g/회의 4배인 2,000g/회으로 생산성 향상 가능
- 제품 적용시 2차 scale-up을 통해 2,000g/회 생산이 가능한 설비로 증설 예정

#### (3) 예상되는 생산 원가 산출 (1,000g 기준)

- 정유 포집 캡슐용 HNTs의 가격
  - 현재 에이전트를 통한 국내 구매가격 : 194,000원/kg
  - HNTs 주 생산지로부터의 직수입 가격
    - A. Applied minerals, Inc.(美) ⇒ \$9,100 / 1MT (10,920원/kg) : 선정
    - B. Natural Nano, Inc.(美) ⇒ \$71,876 / 1MT (86,000원/kg)

- 정유 포집 캡슐용 정유의 가격

[표 33] 정유별 구입 가격

Types of essential oil	Price (Won/L)	Price (Won/ml)
Thyme essential oil	1,050,000	1,050
Clove bud essential oil	250,000	250
Cinamon essential oil(bark)	520,000	520
Cinamon essential oil(leaf)	340,000	340



- 기능성 HNTs 캡슐 1,000g 제조시 약 340.8g의 정유 포집
- 캡슐 제조 후 캡슐에 포집되지 않고 표면에 잔존하거나 세척공정으로 소요된 정유는 약 50 ~ 60g 정도로 예상됨.
- 최종제품 1,000g 제조시 400g 정유 소요
- 캡슐 1,000g 제조시 초기 정유의 투입량은 약 1,200g이지만 포집공정 후에 포집되지 않은 정유의 수집 공정으로 나머지 정유는 재활용 가능 (약 800g 정유 재활용 가능)
- 향균, 항산화 및 방충의 각 효용에 맞는 정유의 단독 및 혼합사용 가능
- 혼합 사용시 각 효용의 복합적인 효과 및 시너지 효과 발현 가능
- 향균(항산화) 주 정유 : Thyme 정유  
 향균(항산화) 보조 정유 : Cinnamon 정유
- 방충 주 정유 : Clove bud 정유  
 방충 보조 정유 : Cinnamon 정유 (bark or leaf), Thyme 정유

<혼합사용 예시>

▶ Cinnamon essential oil(leaf) : Thyme essential oil = 16 : 1

-> 정유 가격 ↓, 향균성 ↑

※ 현재는 정유를 아로마 오일 형태의 소용량 수입업체를 통해 구매하기 때문에 가격이 높지만 향후 아로마 오일 생산 업체를 통해 직수입함으로써 가격 경쟁력 확보 예정

[표 34] 기능별 제조 원가 산출 (기능성 HNTs 캡슐 1,000g 생산시)

구분		캡슐 제조 원가	
		향균 및 항산화 HNTs 캡슐	방충 HNTs 캡슐
원료	Halloysite	10,920원	10,920원
	정유	153,750원	102,250원
생산가공비		50,000원/1,000g	50,000원/1,000g
관리 이윤		21,500원 (제조원가의 10%)	16,300원 (제조원가의 10%)
최종 제조 원가		약 236,170원/1,000g	약 179,470원/1,000g

\* 향균 및 항산화 : Cinnamon 정유(leaf)와 Thyme 정유를 16 : 1 비율 혼합

\* 방충 : Clove bud 정유와 Cinnamon 정유를 16 : 1 비율로 혼합

○ 종이 포장재에 적용시의 원가 상승분

- HNTs 캡슐 1,000g 생산시 약 34,000g의 기능성 잉크 제조 가능 (약 3% 혼합)
- 34,000g의 기능성 잉크로 1m × 1m 크기의 인쇄지 4,200m 인쇄 가능
- HNTs 캡슐 1,000g으로 햄버거 포장지 67,200장 제조 가능
- 방충 HNTs 캡슐 사용시 햄버거 포장지 1장당 2.7원 상승 (179,470원 ÷ 67,200장)

○ 상기에서 언급된 연구결과를 통하여 정유의 혼합 사용시 정유의 효용을 유지하면서 시너지 효과가 나타나는 결과가 도출되었을 뿐만 아니라 이로 인하여 제조 원가를 절감할 수 있는 효과도 동반되었다. thyme oil이 단독으로 적용된 캡슐 대비 cinnamon 정유(leaf)와의 혼합사용을 통하여 약 60% 이상이 원가 절감 효과가 예상

**나. 향균, 항산화 및 방충 HNTs 캡슐의 적용 분야 확대 검토**

**(1) 방충, 향균, 항산화 기능성 포장재 적용 분야 확대 검토**

○ 식품 포장재 적용

- 제과 제품 : 각종 초콜릿류, 과자류에 방충 기능 부여  
: 롯데제과 중앙연구소에 방충 기능성 포장재로 적용 가능하도록 제안
- 제빵 제품 (뚜레주르, 파리파게트 등)에 방충 기능 부여  
: 뚜레주르와 파리파게트 포장개발팀에 향균 기능성 포장재로 적용 가능하도록 제안
- 패스트푸드 제품 : 햄버거류 및 샌드위치류의 종이 포장재에 방충 기능 부여  
: 롯데리아 포장연구팀에 햄버거 포장재에 향균 기능성 포장재를 사용하도록 제안
- 면류 제품 : 라면류 및 국수류에 방충 기능 부여  
: 농심에 라면 포장재를 납품하는 울촌화학에 방충 기능성 포장재로 적용 제안  
: CJ제일제당 포장개발팀에 각종 면류 제품에 적용 가능한 방충 기능성 포장재 제안
- 티백 제품 : 각종 티백 제품(녹차,옥수수차 등)에 방충 및 항산화 기능성 포장재를 적용

○ 리필용 스프레이 제품

- 방충, 향균, 항산화 기능 캡슐을 스프레이 제품에 혼합하여 원하는 곳에 손쉽게 뿌려 방충과 향균, 항산화 기능을 즉시 발휘할 수 있도록 할 예정 (가정용, 산업용)
- 벽지, 방충망, 블라인드 제품 : 해충(벌레)의 유입을 사전에 차단하기 위해 벽지, 방충망,

블라인드에 방충 기능성 포장재를 적용하여 상품 개발

○ 티백 제품

- 각종 티백 제품(녹차,옥수수차 등)에 방충 및 항산화 기능성 포장재를 적용  
: 동서식품에 티백 종이포장재를 납품하고 있는 SD테크에 방충 및 항산화 기능성 포장재를 적용한 제품 제안

○ 과수 포장지

- 해충(벌레)로부터 취약한 배, 사과, 포도 등의 과수포장지에 방충 기능성 포장재 적용

○ 친환경 모기 기피제

- 모기가 싫어하는 Cinnamon과 Rosemary를 캡슐화 하여 가정에서 방향제처럼 비치하여 모기를 쫓아내는 상품 개발  
: 자체 상품 개발 방안으로 모기 기피 캡슐을 용기에 담아 일반 가정에서 개봉 후 모기 기피 효과가 발생할 수 있는 제품을 개발 예정

○ 화장품 분야 : 마스크 팩에 사용되는 시트에 항균 기능을 부여하여 변질 방지

- : 마스크 팩에 사용되는 시트에 곰팡이가 생기는 문제를 보완하기 위해 국내 최대 마스크 팩 생산업체인 진코스텍에 항균 기능을 부여한 포장재를 제안

**다. 관련 제품의 사업화성과 및 매출실적 그리고 사업화 계획**

○ 2016년(개발종료 해당년) : 국내에 매출 1백만원 발생

○ 2019년(개발종료 후 3년)

- 국내 롯데제과, 오리온, 뚜레주르, 파리바게트, 롯데리아, SD테크, 율촌화학, CJ제일제당 등에 500백만원 매출 목표
- 해외 (중남미)에 모기 기피제 캡슐을 100백만원 매출 목표

○ 2021년(개발종료 후 5년)

- 국내 롯데제과, 오리온, 뚜레주르, 파리바게트, 롯데리아, SD테크, 율촌화학, CJ제일제당 등에 1,000백만원 매출 목표
- 해외 (중남미)에 모기 기피제 캡슐을 200백만원 매출 목표

[표 35] 사업화 성과

항 목	세부 항목	성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년		
	소요예산(백만원)	500		
	양산설비 투자계획(백만원)	3년후	5년후	
		400	600	
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후
			5	10
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후
국내		0	50	75
국외		0	10	20
	향후 관련기술, 제품을 응용한 다 모델, 제품 개발계획	▶그라비아 인쇄 기반의 다기능성 제품 ▶플렉소 인쇄 기반의 다기능성 제품 ▶천연 모기 기피제(국외 수출)		
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후
	수입대체(내수)	0	5	10
	수 출	0	2	4

[표 36] 사업화 계획 및 매출 실적

항목	세부항목		성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	1백만원*
			향후 3년간 매출	5억원
		관련제품	개발후 현재까지	0억원
			향후 3년간 매출	2억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0% 국외 : 0%
			향후 3년간 매출	국내 : 50% 국외 : 10%
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0% 국외 : 0%
			향후 3년간 매출	국내 : 50% 국외 : 10%
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		5위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		3위

\* 기능성 필름 전문 생산업체인 ㈜네고백에 매출 1백만원 발생

- ㈜네고백에서 생산하고 있는 향균필름(NIF-AB)에 본 과제에서 개발된 방충 캡슐을 적용하는 제품 테스트용으로 샘플 구매.
- 향후 추가 매출이 발생될 수 있도록 진행 예정

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

코드번호

D-06

### 제 1 절 연구개발 목표달성도 및 관련분야 기여도

다양한 효용(항균, 방충 및 항산화)을 가진 식품 포장재 개발이라는 최종목표를 가지고 3차년에 걸쳐 수행된 본 연구과제는 연도별 연구목표 및 연구내용을 기반으로 연구가 이루어졌으며 이를 통하여 관련 분야에서의 기여도 평가를 진행하였고 이를 아래 표에 나타내었다.

구분	연구개발 목표 달성도		관련분야 기여도
	연구개발목표	달성도 (%)	
1차 년도 (2014)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 방충, 항균 및 항산화 포장재 적용 사례 조사 및 문제점 분석                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 방충, 항균 및 항산화 포장재 사례조사</li> <li>- 제품에 적용된 방충, 항균 및 항산화 포장재의 문제점 분석</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기능성 포장재에 대한 국내외 기술 수준 분석 및 식품 포장 산업에서의 발전 방향을 제시</li> <li>- 식품포장에서 발생하는 미생물 및 해충 등에 의한 피해 자료를 제시하여 추후 연구에 대한 자료로 활용</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정유 종류 및 농도에 따른 항산화, 항균 및 방충 효과 확인                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유의 종류 및 농도별 항산화, 항균 방충 효과 확인</li> <li>- 정유의 세포 독성안전성 평가 시행</li> <li>- 최적의 정유물질 종류 및 농도 선정</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 각각의 정유에 대한 효용 분석 및 효용 정도 제시를 통하여 기능성 포장재에 대한 개발 트렌드 방향 제시</li> <li>- 정유의 효용 및 안전성 등에 대한 전반적인 특성 분석으로 식품 포장재 적용에 대한 기준 마련</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정유-halloysite 캡슐 제조                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유 및 halloysite 종류 확정</li> <li>- 캡슐화 방법에 대한 연구</li> <li>- 정유-halloysite 캡슐 제조 기술 모색</li> </ul> </li> <li>○ 정유-halloysite 캡슐 특성 분석                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 분석방법 모색</li> <li>- 이화학적, 방출거동 특성, 저장안정성</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- HNTs 물질에 대한 정보 제공 및 이의 캡슐화 방법 제시 등으로 사용 확대 가능</li> <li>- 정유가 포집된 HNTs의 특성 및 효과 분석을 통하여 관련 연구의 국내 도입 가능</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 포장재용 코팅재 조성 연구                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유-halloysite 캡슐 분산성 연구</li> <li>- 기본 포장용 코팅재 조성 연구</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유 포집 HNTs 캡슐의 포장재 적용 방법들의 연구를 통하여 사업화 타당성 등에 대한 정보 제공</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 포장재 시제품 개발                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 그라비아 인쇄를 활용한 기능성 포장재 시제품 제작</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 코팅 공정 및 인쇄 공정 등을 이용하여 실제 식품 포장재의 적용을 통하여 포장재 도입 방안 제시</li> </ul>

구분	연구개발 목표 달성도		관련분야 기여도
	연구개발목표	달성도 (%)	
2차 년도 (2015)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 선정된 정유를 halloysite에 포집하는 기술 개발 및 특성 분석</li> <li>- 정유-halloysite 캡슐 제조 기초 연구</li> <li>- 정유의 지속적 방출을 위한 정유 함유 halloysite에 표면처리 연구</li> <li>- 제조된 halloysite의 일반적인 특성 및 방출거동특성 분석</li> <li>- 살균시너지 확인 및 모델시스템 적용을 위한 식품 선정</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기능성 캡슐 제조 물질에 대한 기초적 특성 파악을 통하여 적정 소재 및 제조 공법에 대한 방향 제시</li> <li>- 살균시너지를 보이는 정유 조합을 선정함으로써 제조 모델시스템의 방법 제시</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 선정된 정유의 미세캡슐 제작 및 다기능성 식품 포장재 개발</li> <li>- 정유-halloysite 캡슐 제조를 위한 공정 최적화 연구</li> <li>- 캡슐 제조 공정 scale-up 연구</li> <li>- 캡슐을 이용한 코팅재의 개발</li> <li>- 실험실적 코팅 공정 연구 및 샘플 제조</li> <li>- 효과의 지속성 예측 연구</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기능성 캡슐 및 포장재의 각 효용에 대한 연구 프로세스 제시</li> <li>- 기능성 캡슐 및 포장재 제조 공정에 대한 최적화 방안을 제시하고 이를 통한 사업화 방향 제공</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 포장재의 가공 방법 개발</li> <li>- 그라비아 인쇄 기반의 기능성 포장재 개발 공정</li> <li>- Lamination 공정 활용한 기능성 함유 포장재 개발</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 실제 포장재 생산 공정 기반에서의 기능성 캡슐 적용을 통하여 기존 식품 포장재 제조업체와의 협업 가능성 제시</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 품질 평가 기술개발</li> <li>- 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 이화학적, 미생물학적, 관능적 특성 평가</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 일반 식품 적용을 통하여 개발 제품의 실제 적용 가능성을 확인을 통하여 시장 형성을 통한 제품 보급 촉진</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 산업화를 위한 기능성 포장재 생산 가공 조건 확립</li> <li>- 산업화 적용을 위한 최적의 생산가공 조건 확립</li> <li>- 확립된 가공 조건에 의한 생산성 확인</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기능성 캡슐의 적용에 따른 포장재 제조 라인에서의 설비 투자 및 공정 추가 등이 필요치 않아 사업화 가능성 확인</li> <li>- 식품 포장재 제조업체와의 협업을 통하여 식품 포장재 시장 진입에 대한 활로 개척</li> </ul>

구분	연구개발 목표 달성도		관련분야 기여도
	연구개발목표	달성도 (%)	
3차 년도 (2016)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정유-halloysite 포장재의 항산화, 항균 및 방충 효과 확인               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 정유-halloysite의 항산화, 항균 및 방충 효과 검증</li> <li>- 포장재 적용 최적화 연구</li> <li>- 최종적으로 제조된 다기능성 포장재에서의 항산화, 항균 및 방충 효과 확인</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기능성 포장재 적용에 따른 품질 유지에 대한 분석법을 제시함으로 관련 연구의 지표로 활용</li> <li>- 분석 방법의 최적화 및 시스템화를 통하여 각 기능성에 대한 분석 자료로의 활용</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 다기능성 식품 포장재 상용화시스템 구축               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 코팅재 제조 조성 최적화 및 scale-up 연구</li> <li>- 코팅 공정 최적화 및 시제품 제작</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존 포장재와의 적용성 평가를 통하여 가공 조건 및 최적 배합 제시</li> <li>- 기능성 연장 방법 및 물성 개량 방법 제공 등을 통한 사업화 가능성 제시</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 포장재의 제품 적용               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제품 적용을 위한 품질기준 확보(제품 적용 적합성 검증)</li> <li>- 기능성 포장재 적용에 의한 개선효과 확인</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발된 기능성 소재의 적용 및 분석을 통한 기존 제품의 문제점을 제시하고 개발 트렌드 방향 제시</li> <li>- 품질 기준 확보에 대한 기준 마련으로 관련 업체의 정보 자료로 활용</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 품질 평가 기술개발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 적용 제품의 관능적 특성과 이화학적 품질 요인 통계 분석</li> <li>- 품질 요인/평가 기준 설정 및 평가시스템 구축</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 각 기능별 실제 식품에서의 효과검증을 통하여 관련 사업에서의 소비자 기호도에 대한 분석 프로세스로 활용</li> <li>- 제품 제조 후의 평가 시스템 구축으로 제품의 완성도를 평가하는 지표 자료로 활용</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 포장재를 통한 사업화 모색               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 방충, 항균, 항산화 기능성 포장재 적용 분야 확대 검토</li> <li>- 타 식품군(음료, 주류 등) 및 타 분야 확대 적용을 통한 상업화</li> </ul> </li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 식품에서 발생하는 부패 요인의 원천적 저지 기술을 통한 해결책 제시</li> <li>- 기능성 캡슐의 효과 검증을 통한 타 분야에서의 활용 가능성 제시</li> </ul>

## 제 2 절 평가의 착안점

구분	연도	연구개발 목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차 년도	2014	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 방충, 향균 및 항산화 포장재 적용 사례조사 및 문제점 분석</li> <li>○ 정유 종류 및 농도에 따른 항산화, 향균 및 방충 효과 확인</li> <li>○ 정유-halloysite 캡슐 제조 및 특성 분석</li> <li>○ 포장재용 코팅재 조성 연구</li> <li>○ 기능성 포장재 시제품 개발</li> </ul>	10% 20% 30% 10% 30%	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 물질 특성 (향균, 방충 및 항산화)</li> <li>○ 제조 및 가공 조건 평가</li> <li>○ 시제품 제작에 따른 식품 포장재 적용 가능성 평가</li> </ul>
2차 년도	2015	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 선정된 정유를 halloysite에 포집하는 기술 개발 및 특성 분석</li> <li>○ 선정된 정유의 미세캡슐 제작 및 다기능성 식품 포장재 개발</li> <li>○ 기능성 포장재의 가공 방법 개발</li> <li>○ 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 품질 평가 기술개발</li> <li>○ 산업화를 위한 기능성 포장재 생산 가공 조건 확립</li> </ul>	15% 15% 20% 25% 25%	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 기능성 물질의 특성 (방출 효과 및 기능성)</li> <li>○ 기존 범용 식품 포장재와의 호환성 평가</li> <li>○ 개발소재의 개발 공정 최적화</li> </ul>
3차 년도	2016	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 정유-halloysite 포장재의 항산화, 향균 및 방충 효과 확인</li> <li>○ 다기능성 식품 포장재 상용화시스템 구축</li> <li>○ 기능성 포장재의 제품 적용</li> <li>○ 다기능 식품 포장재 적용 식자재 및 식품의 품질 평가 기술개발</li> <li>○ 기능성 포장재를 통한 사업화 모색</li> </ul>	20% 15% 15% 20% 30%	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 개발 제품의 식품과의 호환성</li> <li>○ 사업화 가능성</li> <li>○ 개발 제품의 상품성</li> </ul>
최종평가		다양한 효용을 가진 식품 포장재 개발 및 이의 산업화	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 최종 상용화 제품의 상품성 및 시장성</li> <li>○ 식품에서의 효용 특성</li> <li>○ 연구개발 목표의 달성</li> </ul>



## 제 5 장 연구결과의 활용계획

코드번호

D-07

본 연구를 통하여 도출된 연구 결과를 통하여 나노컨테이너인 HNTs의 기초 연구의 자료를 마련함으로써 국내를 비롯한 국외에서의 상품화 기술에 대한 연구 수요 증대가 기대되고 있다. 고순도의 탄소나노튜브의 대량생산은 어려운 반면, 유사한 형태지만 가격 측면에서 경제성이 높은 HNTs를 통한 대체품 개발 등 다양한 분야에서 응용이 가능하여 산업화를 통한 시장 창출이 기대된다. 또한 연구가 진행되었던 항균 포장재를 이용한 미생물 저감화 기술은 부패미생물의 저감효과로 인해 식품의 유통기간을 연장시켜 식품업계뿐만 아니라 국가 경쟁력을 향상시킬 것으로 예상되며 미생물학적 안전성 확보는 소비자의 신뢰성을 높여 새로운 시장 창출 및 수요 확대에 이어질 것이며 궁극적으로 국민 건강 증진에 기여될 것으로 사료된다. 중저가의 항균, 방충 및 항산화 기능의 소재 개발을 통해 이에 대한 원천기술을 확보하고, 식품 포장 산업 분야에 경쟁력을 높여 국가 및 기업의 경쟁력 향상을 기대하고 있다.

기후의 변화로 해충이 많이 발생할 수 있는 상황에서 제품의 특성상 오랜 시간 저장해야 하는 수곡식품(쌀, 밀가루, 보리 등)에 항균, 방충 및 항산화의 기능성 포장재를 접목함으로써 해충 발생, 선도 저하 등으로 인한 경제적 손실을 방지할 수 있어 대기업뿐만 아니라 중소형유통기업에서의 적용 가능성도 높을 것으로 예상된다.

이와 같이 식품의 제조 및 유통, 저장 중에 적용이 가능한 기술 개발을 국가 경쟁력 및 국민 건강 증진에 기여할 수 있을 것으로 예상되며 더 나아가 관련 분야에서의 활용계획을 통한 다양한 적용 가능 분야의 확대를 추진하고 있다. 이의 활용계획을 아래와 같이 모색하였다.

### ○ 다기능의 정유 적용 가능

- 정유는 항균, 항산화, 방충에 효과적일 뿐만 아니라 항염증, 항암의 효과를 보여 의약 산업에 대한 적용 확대
  - : 의약산업에서의 상처 및 염증 치료를 위한 정유 선정을 통한 밴드 및 운드드레싱 적용
  - : 정유 및 시너지 정유 조합의 효능 검증을 통한 아로마테라피 분야에서의 적용
- 작물산업, 위생산업, 화장품 및 향수 산업에서 정유 및 캡슐 관련 기술의 적용이 점차 증대되고 있어 본 연구를 통해 도출된 정유 포집 캡슐 소재를 통한 다양한 산업에의 적용 확대

### ○ 나노컨테이너로써 halloysite의 응용 확대

- 본 연구를 통해 기능성을 갖춘 친환경 포장에 이용된 halloysite 나노컨테이너로써 응

용될 수 있는 화장품, 약물, 농약 등 다른 분야에도 적용 기대

: 인체에 무해한 HNTs 캡슐의 적용을 통한 기능성 물질의 방출을 이용한 화장품용 제품으로의 확대 적용

: 캡슐화 제조 및 가공 방법의 적용을 통한 drug delivery로서의 적용

: 농약 대체품으로 천연 유래 정유 포집 HNTs 캡슐의 과수봉지 및 과일상자의 적용을 통한 해충 피해 방지 제품으로 확대

○ 튜브형태의 halloysite 분리, 정제 기술 강화

- 국내의 경남 하동 지역에서는 질 좋은 고령토가 생산되는데, 이 중 판상형, 구형, 튜브형태 등의 다양한 결정형을 가진 halloysite이 포함되어 있음

- 본 과제의 연구 결과 및 성과를 통하여 국내에서의 고순도 halloysite 튜브 정제 기술을 확보하여 관련 산업의 성장 및 응용 분야 확대에 기여

## 제 6 장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

코드번호	D-08
<p>○ Beijing University의 Hao Liang 연구팀의 발표에 의하면 식품위해미생물 및 효모 등에 가능성을 가지고 있는 정유 간의 조합을 통하여 정유 간 시너지 효과가 발생된다는 것을 발견하였는데 항균성이 있는 oregano-basil, oregano-bergamot 등의 조합을 통하여 <i>E. coli</i>에 대한 항균성 측정시 시너지효과가 관찰되었고 또한 oregano-perilla 조합에서는 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>와 같은 효모에서 시너지 효과가 나타난다고 발표됨.</p> <p>○ NNL-Istituto Nanoscienze의 Stefano Leporatti 연구팀의 발표에 의하면 HNT에 항산화 기능과 항암성을 가진 물질인 포집하여 투약시 암 세포의 성장을 저지한다는 결과를 발표하였는데 항암물질인 resveratrol을 HNTs에 포집하고 polyelectrolytes에 의해 캡슐을 코팅하여 이의 물질을 MTT 측정법을 사용하여 암세포에 대한 영향을 관찰하여 96시간 내에 암세포의 성장 저지 효과를 보인다는 것을 관찰함.</p> <p>○ Louisiana Tech University의 Yuri Lvov 연구팀에서 부식방지제를 HNTs에 포집하여 페인트에 적용시 페인트에 포함된 HNTs의 방출효과에 의하여 부식이 억제된다는 연구 결과를 발표하였는데 benzotriazole, mercaptobenzothiazole, mercaptobenzimidazole와 같은 부식방지제를 HNTs에 포집하여 copper ion treatment를 통하여 HNTs 캡슐에 end-stopper를 형성하고 이를 페인트에 혼합 이용하여 철관의 부식 방지를 결과를 발표함.</p> <p>○ Shanghai Normal University의 Neng-Qin Jia 연구팀의 발표에 의하면 survivin과 병에 효과적인 치료상 유전자인 Antisense oligodeoxynucleotides (ASODNs)를 HNTs에 포집하여 drug delivery 시스템으로 활용하려는 연구를 진행하였으며 이를 통하여 효과적인 전달 체계 확보 및 survivin에 대한 항암효과를 발표함.</p> <p>○ University de Zaragoza의 Angel Fernández 연구팀의 발표에 의하여 HNTs 포함된 복합 재료에서 효과적인 물성 강화를 가져온다는 것을 발표하였는데 PA6에 HNTs를 혼합하여 사출성형으로 복합재료를 제조하게 되면 HNTs의 첨가로 인한 약 10% 이상의 기계적 물성의 증가를 가져오는 결과를 얻을 수 있었다고 발표됨.</p>	

## 제 7 장 연구개발성과의 보안등급

코드번호	D-09
<input type="radio"/> 해당사항 없음.	

## 제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설· 장비 현황

구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	코드번호		D-10	
					구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호
○ 해당사항 없음.								

# 제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

코드번호	D-11
------	------

각 기관별 「연구실 안전환경 조성에 관한 법률」 및 「산업안전보건법」 등 관련 법령에 의거 연구기간 동안 아래와 같은 안전조치를 이행함.

- 「연구실 안전환경 조성에 관한 법률」 및 「산업안전보건법」 등 관련 법령에 의거 다음과 같은 안전조치를 이행하고 있음.
  - 안전 체계 : 연구주체장, 안전보건관리책임자, 안전관리자, 안전관리담당자를 각각 지정하고 각호에 맞는 업무를 수행함.
- 연구실 안전관리규정 비치
  - 법령, 안전관리규정, MSDS, 비상연락망, 연구실 안전수칙 비치 및 게시
  - 대상 : 실험실 사용자
- 연구실 안전교육 실시
  - 대상 : 실험실 사용자
  - 교육횟수 : 연 2회 (보안 2시간/안전 3시간) 총 10시간
  - 교육기관 : 안전/대한산업안전협회
  - 수료인정기간 : 1년에 10시간 이상 교육 이수 필수
  - 교육내용 : 연구실 안전 환경 조성에 관한 법률 연구실 유해, 위험요인 등
- 연구실 안전점검 실시
  - 점검지역 : 과제 관련 실험실
  - 점검횟수 : 정기안전점검 (2회 1년)
  - 자체 안전점검실시 (자체점검표 기준)
  - 대상 : 실험실 사용자
  - 자체 안전점검 실시 후 연구실 위험 요소, 전기시설 등 보완설치
- 연구실 정밀안전진단 실시
  - 과제 참여자 대상으로 1년에 2회 이상 의무적으로 반드시 실시
  - 정밀안전진단 진단 결과에 의거 전기 및 안전시설 등 보완설치 진행
- 연구활동중사자 보험 가입
  - 연구실 안전환경 조성에 관한 법률 제 14조 제 1항 및 시행령 제 15조 제 1항에 의거 의무적 가입
  - 가입기관 : 산재보험관리공단
- 연구실 안전시설 보안 계획
  - 실험실 유해물질 측정 및 환기 시스템 관리
  - 위험물 관리 감독 강화
  - 연구실 안전용품 구매 및 비치
  - 연구실 상시 안전순찰 점검 시행

## 제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	Preparation of halloysite nanotubes coated with Eudragit for a controlled release of thyme essential oil	고려 대학교	교신 저자	Journal of Applied Polymer Science	1.768	2015.12.10	단독사사	SCI
2	논문	Development of Natural Insect-Repellent Loaded Halloysite Nanotubes and their Application to Food Packaging to Prevent Plodia interpunctella Infestation	고려 대학교 / 한국생산 기술 연구원	교신 저자	Journal of Food Science	1.649	2016.08.09	단독사사	SCI
3	논문	Sanitizing radish seeds by simultaneous treatments with gaseous chlorine dioxide, high relative humidity, and mild heat	고려 대학교	교신 저자	International Journal of Food Micro-biology	3.445	2016.11.21	단독사사	SCI
4	특허	정유/할로이사이트 복합물질을 포함하는 식품 포장 필름 인쇄용 잉크 조성물, 이를 이용한 인쇄방법 및 인쇄물	한국생산 기술 연구원		대한민국		2014.11.06		등록예정
5	특허	정유/할로이사이트 복합물질의 제조장치 및 제조방법	한국생산 기술 연구원		대한민국		2015.11.11		등록 예정

# 제 11 장 기타사항

코드번호 D-13

## ○ 항균 포장재에 대한 공인시험성적 발행

<div data-bbox="225 432 347 495"> <p><b>KSTR</b> 한국표준시험연구원 Korea Standard Test Researcher</p> </div> <div data-bbox="371 443 574 495"> <p>서울시 서대문구 연희로 261-28, 2층(홍은동) T : 1600-6687 F : 02-6004-5978 homepage : http://www.kstr.re.kr</p> </div> <div data-bbox="376 504 544 535"> <p><b>시험 성적서</b></p> </div> <div data-bbox="225 560 590 598"> <p>접수번호 : AATR20160927-001      접수일자 : 2016. 9. 27 성적서번호 : KSAA20160930-001      발급일자 : 2016. 9. 30</p> </div> <div data-bbox="225 607 584 696"> <p>신청회사 : 한국생산기술연구원      품    도 : 품질관리 주    소 : 경기도 안산시 상록구 일가울리 143 용복합동 413호 담당자 : 장시훈 재    출    처 : ㈜ 세진 시    료    명 : 항균포장재 2</p> </div> <table border="1" data-bbox="225 712 699 902"> <thead> <tr> <th>시험항목</th> <th>시험결과</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>KS K 0693.2011</td> <td>시험결과</td> </tr> <tr> <td><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538</td> <td>정균감소율(%) 99.9</td> </tr> <tr> <td>정균공역의 농도</td> <td><math>1.2 \times 10^5</math> CFU/mL</td> </tr> <tr> <td><i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352</td> <td>정균감소율(%) 99.9</td> </tr> <tr> <td>정균공역의 농도</td> <td><math>1.4 \times 10^5</math> CFU/mL</td> </tr> </tbody> </table> <p data-bbox="220 913 314 934">※ 대조편 : 표준편포</p> <div data-bbox="312 1016 531 1050"> <p>한국표준시험연구원</p> </div> <div data-bbox="528 999 603 1068"> </div> <p data-bbox="217 1106 687 1137">             비고 1. 이 성적서는 신청인이 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 전체 제품에 대한 품질을 보증하지 않습니다.              2. 이 성적서는 KSTR의 동의 없이 홍보, 선전, 광고 및 소송용으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.         </p>	시험항목	시험결과	KS K 0693.2011	시험결과	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	정균감소율(%) 99.9	정균공역의 농도	$1.2 \times 10^5$ CFU/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	정균감소율(%) 99.9	정균공역의 농도	$1.4 \times 10^5$ CFU/mL	<div data-bbox="1018 425 1102 445"> <p>- 결과 사진 -</p> </div> <div data-bbox="1024 459 1098 479"> <p>ATCC 6538</p> </div> <div data-bbox="927 499 1197 754"> </div> <div data-bbox="1024 754 1098 775"> <p>&lt; Control &gt;</p> </div> <div data-bbox="927 792 1197 1048"> </div> <div data-bbox="1031 1050 1088 1070"> <p>&lt; 시료 &gt;</p> </div> <p data-bbox="817 1106 1287 1137">             비고 1. 이 성적서는 신청인이 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 전체 제품에 대한 품질을 보증하지 않습니다.              2. 이 성적서는 KSTR의 동의 없이 홍보, 선전, 광고 및 소송용으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.         </p>
시험항목	시험결과												
KS K 0693.2011	시험결과												
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	정균감소율(%) 99.9												
정균공역의 농도	$1.2 \times 10^5$ CFU/mL												
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	정균감소율(%) 99.9												
정균공역의 농도	$1.4 \times 10^5$ CFU/mL												
<div data-bbox="435 1176 520 1196"> <p>- 결과 사진 -</p> </div> <div data-bbox="438 1211 515 1232"> <p>ATCC 4352</p> </div> <div data-bbox="331 1252 627 1527"> </div> <div data-bbox="438 1527 515 1547"> <p>&lt; Control &gt;</p> </div> <div data-bbox="331 1565 627 1841"> </div> <div data-bbox="448 1841 505 1861"> <p>&lt; 시료 &gt;</p> </div> <p data-bbox="213 1899 729 1930">             비고 1. 이 성적서는 신청인이 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 전체 제품에 대한 품질을 보증하지 않습니다.              2. 이 성적서는 KSTR의 동의 없이 홍보, 선전, 광고 및 소송용으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.         </p>	<div data-bbox="1024 1176 1109 1196"> <p>- 시료 사진 -</p> </div> <div data-bbox="930 1220 1209 1496"> </div> <div data-bbox="1037 1503 1094 1523"> <p>&lt; 시료 &gt;</p> </div> <p data-bbox="817 1906 1303 1937">             비고 1. 이 성적서는 신청인이 제시한 시료 및 시료명으로 시험한 결과로서 전체 제품에 대한 품질을 보증하지 않습니다.              2. 이 성적서는 KSTR의 동의 없이 홍보, 선전, 광고 및 소송용으로 사용될 수 없으며, 용도 이외의 사용을 금합니다.         </p>												



○ 항공 및 방충 포장재 관련 관능검사를 통한 안정성 및 안전성 확보

필름 포장재의 관능검사 결과 요약



관능검사 결과 요약

제목	HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 필름포장재의 관능검사				
실험구분	의뢰실험				
실험기간	2016년 10월 04일 ~ 2016년 10월 20일				
실험인	업소명	주식회사 예한	대표자	이 중 훈	
	주소	경기도 의왕시 이미로 40, B동 905, 906호	연락처	031-458-0055	
실험 수행기관	기관명	한국식품정보원 식품안전연구소	대표자	이 상 호	
	주소	대전광역시 유성구 반석로 14, 8-10층	연락처	042-822-6850	
실험 결과	● HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 필름포장재의 관능검사 결과				
	특 성	샘플번호 <sup>1)</sup>		유의적확률	
		810	749		
	정 도	포장지의 이취	4.07±1.55	3.97±1.59	0.655
		식방의 이취	3.87±1.33	3.83±1.37	0.869
		식방의 이미	3.90±0.99	4.00±1.26	0.599
		포장지의 향	4.40±1.52	4.33±1.81	0.818
		식방의 향	4.10±0.76	4.33±0.88	0.243
		식방의 맛	3.87±0.73	4.23±0.86	0.025
	기 호 도	포장지의 향	3.57±1.22	3.67±1.47	0.703
식방의 향		4.43±0.94	4.57±1.17	0.526	
식방의 맛		4.50±0.97	4.47±1.17	0.856	
전체적인 기호도	4.10±1.27	4.27±1.11	0.455		

<sup>1)</sup> 샘플번호  
810 : 일반 필름포장재, 749 : HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 필름포장재  
\* 값 : 평균±표준편차, n=30  
● 유의적 확률 : 확률값 p가 0.05보다 작을 때 유의적 차이가 있음.  
● PASWStatistics 18 program을 이용하여 독립표본 T-test를 실시하였으며, 신뢰수준 95%로 나타났다. (p<0.05)



<결과분석>

- 1) '포장지의 이취', '식방의 이취', '식방의 이미'는 두 제품간 차이가 없는 것으로 나타났다.
- 2) '포장지의 향'은 정도에서 '약하지도 강하지도 않다'로 평가되었으나, 기호도에서는 '조금 싫다'로 평가되었다.
- 3) '식방의 맛'의 정도는 제품간 유의적 차이가 있는 것으로 나타났으나 기호도에서는 차이가 없는 것으로 나타났다.
- 4) 전체적인 기호도는 810번(일반 필름포장재)이 4.10점, 749번(HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 필름포장재)이 4.27점으로 '좋지도 싫지도 않다'로 평가되었으며, 유의적 확률은 두 제품간 차이가 없는 것으로 나타났다.

종이 포장재의 관능검사 결과 요약



관능검사 결과 요약

제목	HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 종이포장재의 관능검사				
실험구분	의뢰실험				
실험기간	2016년 09월 01일 ~ 2016년 09월 23일				
실험인	업소명	주식회사 예한	대표자	이 중 훈	
	주소	경기도 의왕시 이미로 40, B동 905, 906호	연락처	031-458-0055	
실험 수행기관	기관명	한국식품정보원 식품안전연구소	대표자	이 상 호	
	주소	대전광역시 유성구 반석로 14, 8-10층	연락처	042-822-6850	
실험 결과	● HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 종이포장재의 관능검사 결과				
	특 성	샘플번호 <sup>1)</sup>			
		951	563	673	
	정 도	포장지의 이취	3.38±1.20 <sup>a</sup>	3.30±1.34 <sup>a</sup>	3.73±1.41 <sup>a</sup>
		식방의 이취	3.38±1.50 <sup>a</sup>	3.13±1.25 <sup>a</sup>	3.83±1.51 <sup>a</sup>
		식방의 이미	3.27±1.40 <sup>a</sup>	3.23±1.38 <sup>a</sup>	3.37±1.30 <sup>a</sup>
		포장지의 향	2.65±1.29 <sup>b</sup>	3.10±1.47 <sup>ab</sup>	3.53±1.57 <sup>a</sup>
		식방의 향	4.35±0.80 <sup>ab</sup>	3.80±1.06 <sup>b</sup>	4.53±1.07 <sup>a</sup>
		식방의 맛	4.23±0.71 <sup>a</sup>	4.07±0.78 <sup>a</sup>	4.27±0.83 <sup>a</sup>
	기 호 도	포장지의 향	4.58±0.90 <sup>a</sup>	4.17±1.12 <sup>ab</sup>	3.73±1.23 <sup>b</sup>
식방의 향		4.54±0.81 <sup>a</sup>	4.10±0.76 <sup>a</sup>	4.27±1.05 <sup>a</sup>	
식방의 맛		4.81±0.80 <sup>a</sup>	4.13±1.11 <sup>b</sup>	4.60±1.04 <sup>ab</sup>	
전체적인 기호도	4.58±0.76 <sup>a</sup>	4.33±1.09 <sup>a</sup>	4.40±1.22 <sup>a</sup>		

<sup>1)</sup> 샘플번호  
951 : 일반 종이포장재, 563 : HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 종이포장재, 673 : HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 종이포장재(PE lamination)  
\* 값 : 평균±표준편차, n=30  
● 유의적 확률 : 확률값 p가 0.05보다 작을 때 유의적 차이가 있음.  
● PASWStatistics 18 program을 이용하여 일원배치 분산분석 후 Duncan의 사후검정을 실시하였으며, 신뢰수준 95%로 나타났다. (p<0.05)



<결과분석>

- 1) '포장지의 이취', '식방의 이취', '식방의 이미'는 세 제품 모두 '조금 약하다'로 평가되었으며, 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다.
- 2) '포장지의 향'은 정도와 기호도 모두 세 제품간 유의적 차이가 있는 것으로 나타났다. '포장지의 향'은 정도가 약할수록 기호도에 긍정적인 것으로 판단된다.
- 3) '식방의 향'의 정도는 제품간 유의적 차이가 있는 것으로 나타났으나 기호도에서는 차이가 없는 것으로 나타났다. '식방의 맛'의 정도는 세 제품간 차이가 없는 것으로 나타났으나 기호도에서는 차이가 있는 것으로 나타났다.
- 4) 전체적인 기호도는 951번(일반 종이포장재)이 4.58점, 563번(HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 종이포장재)이 4.33점, 673번(HNT-Cinn-Thym 캡슐 적용 종이포장재(PE lamination))이 4.40점으로 '좋지도 싫지도 않다'로 평가되었으며, 유의적 확률은 세 제품간 차이가 없는 것으로 나타났다.

## 제 12 장 참고문헌

코드번호	D-14
1)	식품의약품안전처 보도자료, 2013. 03 ( <a href="http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=56&amp;seq=19759&amp;cmd=v">http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=56&amp;seq=19759&amp;cmd=v</a> )
2)	소비자불만 분석 및 교육 프로그램 개발 연구, 문은숙, 식약처 결과보고서, 2010
3)	식품종류별 이물질 발생신고 현황, 식품의약품안전처, 2013
4)	Yuri M. Lvov, Dmitry G. Shchukin, Helmuth Mohwald, and Ronald R. Price. 2008. Halloysite Clay Nanotubes for Controlled Release of Protective Agents. <i>AcsNano</i> , 2, 814-820.
5)	Nalinkanth G. Veerabadran, Dmitriy Mongayt, Vladimir orchilin, Ronald R. Price, Yuri M. Lvov. 2009. Organized Shells on Clay Nanotubes for Controlled Release of Macromolecules. <i>Macromolecular rapid communications</i> , 30, 99-103
6)	Viviana Vergaro, Yuri M. Lvov, Stefano Leporatti, 2012, Halloysite Clay Nanotubes for Resveratrol Delivery to Cancer Cells. <i>Macromolecular Bioscience</i> , 12, 1265-1271
7)	Giuseppe Ruberto*, Maria T. Baratta. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. <i>Food Chemistry</i> , 69, 167-174
8)	서용재 외 4. 2008. 장래 기능성화장품 원료로서의 할로이사이트 활용에 관한 연구동향. <i>한국광물학회지</i> , 21, 443-450
9)	Elshad Abdullayev and Yuri Lvov. 2011. Halloysite Clay Nanotubes for Controlled Release of Protective Agents. <i>Journal of Nanoscience and Nanotechnology</i> , 11, 10007 - 10026
10)	차원섭 외 5. 2006. 상황머섯 추출물의 생리활성. <i>J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.</i> ,49, 298-303
11)	이기영 외 2. 2005. 천년초 선인장 추출물의 항산화 효과. <i>한국식품과학회지</i> , 37, 474-478
12)	서권일 외 5. 2012. 복분자를 이용한 식초의 제조 및 그의 항산화 효과. <i>한국식품저장유통학회</i> , 19(4), 594-603
13)	Emiroğlu, Z. K., G. P. Yemiş, B. K. Coşkun, and K. Candoğan. 2010. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oil on fresh ground beef patties. <i>Meat Science</i> , 86, 283-288.
14)	Kykkidou, S., V. Gitrakou, A. Papavergou, M. G. Kontominas, and I. N. Savvaidis. 2009. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. <i>Food Chemistry</i> , 115, 169-175.
15)	Mahboubi, M., and F. Ghazian Bidgoli. 2010. In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with <i>Myrtus communis</i> essential oil against clinical isolates of <i>Candida albicans</i> . <i>Phytomedicin</i> , 17, 771-774.
16)	Muriel-Galet, V., J. P. Cerisuelo, G. López-Carballo, S. Aucejo, R. Gavara, and P. Hernández-Muñoz. 2013. Evaluation of EVOH-coated PP films with oregano essential oil and citral to improve the shelf-life of packaged salad. <i>Food Control</i> , 30, 137-143.

- 17) Razavi Rohani, S. M., M. Moradi, T. Mehdizadeh, S. S. Saei-Dehkordi, and M. W. Griffiths. 2011. The effect of nisin and garlic (*Allium sativum* L.) essential oil separately and in combination on the growth of *Listeria monocytogenes*. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 2260-2265.
- 18) Rodrigues, F. F. G., J. G. M. Costa, and H. D. M. Coutinho. 2009. Synergy effects of the antibiotics gentamicin and the essential oil of *Croton zehntneri*. *Phytomedicine*, 16, 1052-1055.
- 19) Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-López, and J. A. Pérez-Álvarez. 2010. Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. *Food Control*, 21, 436-443
- 20) Abdullayev, E., Price, R., Shchukin, D. and Lvov, Y. 2009. Halloysite tubes as nanocontainers for anticorrosion coating with benzotriazole. *ASC Applied materials & interfaces*, 1(7), 1437-1443
- 21) Alfreda Wei and Takayuki Shibamoto. 2010. Antioxidant/Lipoxygenase Inhibitory Activities and Chemical Compositions of Selected Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7218-7225
- 22) Barrientos-Ramirez, S., Ramos-Fernandez, E. V., Silvestre-Albero, J., epulveda-Escribano, A., Pastor-Blas, M. M. and Gonzalez-Montiel A. 2009. Use of nanotubes of natural halloysite as catalyst support in the atom transfer radical polymerization of methyl methacrylate. *Microporous and Mesoporous Materials*, 120, 132-140
- 23) Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253
- 24) Choi, M. J., Ruktanonchai, U., Min, S. G., Chun, J. Y. and Soottitantawat, A. 2010. Physical characteristics of fish oil encapsulated by  $\beta$ -cyclodextrin using an aggregation method or polycaprolactone using an emulsion - diffusion method. *Food Chemistry*, 119, 1694 - 1703
- 25) Del Toro-Sanchez, C. L., Ayala-Zavala, J. F., Machi, L., Santacruz, H., Villegas-Ochoa, M. A., Alvarez-Parrilla, E and Gonzalez-Aguilar, G. A. 2010. Controlled release of antifungal volatiles of thyme essential oil from  $\beta$ -cyclodextrin capsules. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 67, 431-441.
- 26) Lvov, Y. M., Shchukin, D. G., Mohwald, H. and Price, R. R. 2008. Halloysite clay nanotubes for controlled release of protective agents. *ACS NANO*, 2(5), 814 - 820
- 27) Martínez-Abad, A., Sánchez, G., Fuster, V., Lagaron, J.M. and Ocio, M.J. 2013. Antibacterial performance of solvent cast polycaprolactone (PCL) films containing essential oils. *Food Control*, 34, 214-220
- 28) Moretti, M. D. L., Sanna-Passino, G., Demontis, S. and Bazzoni, E. 2002. Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. *AAPS PharmSciTech*, 3, 64 - 74

- 29) Park, S. J., Shin, Y. S. and Lee, J. R. 2001. Preparation and Characterization of Microcapsules Containing Lemon Oil. *Journal of Colloid and Interface Science*, 241, 502 - 508
- 30) Souguir, H., Salaun, F., Douillet, P., Vroman, I. and Chatterjee, S. 2013. Nanoencapsulation of curcumin in polyurethane and polyurea shells by an emulsion diffusion method. *Chemical Engineering Journal*, 221, 133 - 145.
- 31) Fei Lv, Hao Liang, Qipeng Yuan and Chunfang Li. 2011. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*, 44, 3057 - 3064
- 32) Viviana Vergaro, Yuri M. Lvov and Stefano Leporatti. 2012. Halloysite Clay Nanotubes for Resveratrol Delivery to Cancer Cells. *Macromolecular bioscience*, 12, 1265 - 1271
- 33) Anupam Joshi, Elshad Abdullayev, Alexandre Vasiliev, Olga Volkova and Yuri Lvov. 2013. Interfacial Modification of Clay Nanotubes for the Sustained Release of Corrosion Inhibitors. *Langmuir*, 29(24), 7439 - 7448
- 34) Yin-Feng Shi, Zhong Tian, Yang Zhang, He-Bai Shen and Neng-Qin Jia. 2011. Functionalized halloysite nanotube-based carrier for intracellular delivery of antisense oligonucleotides. *Nanoscale Research Letters*, 6, 608-614
- 35) Angel Fernández, Manuel Muniesa and Jaime González 2013. Characterisation and Processing of Reinforced PA 6 with Halloysite Nanotubes (HNT) for Injection Molding. *Journal of Mechanical Engineering*, 59, (3), 183-192

### 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.