

발 간 등 록 번 호

11-1543000-002749-01

비용절감형 친환경 HMR 포장용기 개발 최종보고서

2019. 3. .

주관연구기관 / (주)한그린테크
협동연구기관 / 경희대학교
호서대학교
위탁연구기관 / 실드(주)

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “비용절감형 친환경 HMR 포장용기 개발”(개발기간 : 2017. 6. 15~ 2018 . 12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 2. .

주관연구기관명 : (주)한그린테크 (대표자) 김 대현 (인)

협동연구기관명 : 경희대학교 산학협력단 (대표자) 이 재열 (인)

호서대학교 산학협력단 (대표자) 박 송규 (인)

위탁연구기관명 : 설드 (대표자) 임 상택 (인)

주관연구책임자 : (주)한그린테크 박 성균

협동연구책임자 : 경희대학교 임 종환

호서대학교 임 석원

위탁기관책임자 : 설드 임 상택

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	317037-02	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.06.15. ~ 2018.12.31	단 계 구 분	(2단계)/ (총 2 단 계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	비용절감형 친환경 HMR 포장용기 개발			
연구책임자	박 성균	해당단계 참여연구원 수	총: 19명 내부: 16명 외부: 3명	해당단계 연구개발비	정부: 710,000천원 민간: 237,000천원 계: 947,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 19명 내부: 16명 외부: 3명	총 연구개발비	정부: 710,000천원 민간: 237,000천원 계: 947,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)한그린테크 기술연구소 경희대학교 식품공학과 호서대학교 식품공학과			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: 쉘드(주)			연구책임자: 임 상택	
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및					

사유	
----	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설· 장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

<p>HMR 식품인 커팅채소 및 과일, 김밥, 샌드위치용 포장용기를 개발하였음. 개발된 커팅채소 및 과일용기는 기존 제품에 비해 신선도가 오래 유지되었으며 이를 제품화하였음. 김밥 및 샌드위치용 포장용기를 개발하기 위해 천연항균물질 및 나노물질을 개발하였고 이를 적용한 지류, 필름류, PET용기류 등 다양한 포장용기를 개발하였음. 실제 적용시 항균효과를 높이기 위해 천연항균물질의 발현, 조절 메커니즘을 연구하여 이를 제어하였으며 이를 포장재에 적용해 기존 제품에 비해 높은 항균효과를 나타내는 제품을 개발하였음. 또한 경제성을 높이기 위해 항균 코팅액을 인쇄하는 방법을 개발하여 시제품화 하였음</p>	<p>보고서 면수 141</p>
--	-------------------

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>▶ 식품 저장 기능성 친환경 기능성 소재 생산 및 활용 기술 연구 HMR 포장용기에 최적화 할 수 있도록 항균 및 나노컴포지트 소재 개발, 생산 및 활용기술을 연구함</p> <p>▶ 기능성 소재의 발현 조절 기술 및 포장 응용 기술 연구 HMR용도에 적합하도록 항균성 및 기타 기능성 발현을 조절하고 포장재 적용이 가능하도록 응용 기술을 연구함</p> <p>▶ HMR 상품 특성을 고려한 포장재, 포장용기의 개발 HMR상품인 RTE 상품 2종(샌드위치, 김밥), RTP 상품 2종(샐러드, 컷팅과일)의 특성을 고려하여 비용절감형 소재 및 친환경 기능성 신소재를 적용한 포장용기를 개발함</p>				
<p>연구개발성과</p>	<p>1. 친환경 항균 소재 개발 (1) 양과와 마늘의 농업폐기물을 활용한 셀룰로오스 미세섬유 소재 개발 (2) 키틴-은 하이브리드 나노물질 개발</p> <p>2. 식품보관 기능이 향상된 종이류 시제품 개발 (1) 3종의 탄수화물 혼합물과 자몽씨 추출물로 코팅한 항균 포장지 개발 (2) LDPE를 코팅한 내수성/항균성 판지 개발</p> <p>3. 식품보관 기능이 향상된 필름 시제품 개발 (1) 멜라닌 나노입자를 함유하는 카라기난 나노복합필름의 시제품 개발 (2) 구리 산화물 나노 입자의 멜라닌 매개 합성 및 기능성 한천/CuONP 복합 필름 제조</p> <p>(3) HMR식품 포장용 기능성 필름제조용 마스터배치 제조 및 필름 제조</p> <p>4. 컷팅채소 및 과일용 기능성 포장용기 개발 - 컷팅채소 4종, 컷팅과일 1종 포장용기 개발 및 사업화</p> <p>5. 김밥용 기능성 포장용기 개발 - 항균물질 코팅 포장용지 개발</p> <p>6. 천연항균소재 포집 발현 기술 개발 (1) 복합 항균활성 측정 (2) 천연항균소재 포집능 측정 (3) 상대습도에 따른 항균물질의 방출 측정</p> <p>7. 천연항균소재 포집, 발현 기술을 활용한 포장재 개발 (1) 항균소재 포집, 발현 기술을 활용한 코팅액 제조 (2) 항균소재 포집, 발현 기술을 활용한 샌드위치용 용기 개발</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● HMR 포장용기용 원천소재기술 확보를 통한 타 응용제품 적용 ● 제품 개선 및 생산을 통한 사업화 추진 ● 가정식 대체식품 보존성 향상을 통한 시장 확대 ● 식품 보존성 향상을 통한 국민건강증진에 기여 ● 확보된 기술을 기반으로 개발된 HMR 포장재의 해외수출 추진 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>가정식 대체 식품</p>	<p>친환경</p>	<p>비용절감</p>	<p>포장용기</p>	<p>선도유지</p>

<Summary>

<p>Purpose and Scope of Project</p>	<p>▶ Study of the production technology of eco-friendly functional material for extending the shelf life of food and application of it development&production of anti-microbial&nanocomposite material for HMR packaging</p> <p>▶ Study of the technology to control the functional mechanism of freshness -keeping material and application of it control of the freshness-keeping mechanism such as anti-microbial characteristics of functional material for HMR packaging and application of it</p> <p>▶ Development of products for HMR packaging 4 kinds of products for RTE(sandwich, kimbab) and RTP(salads, sliced fruit) by application of newly developed technology</p>				
<p>Results of Project</p>	<p>1. Development of eco-friendly anti-microbial materials (1) extraction of cellulose microfibers from agricultural wates of onion and garlic (2) development of chitin-silver hybrid nanoparticles</p> <p>2. Development of prototype wrapping paper extending the shelf life of food (1) development of anti-microbial wrapping paper coated with a ternary blend of carbohydrates and grape seed extract (2) development of water resistant/anti-microbial kraft paper coated with LDPE</p> <p>3. Development of prototype film extending the shelf life of food (1) development of carrageenan-based antimicrobial bionanocomposite films incorporated with ZnO nanoparticles stabilized by melanin (2) melanin-mediated synthesis of copper oxide nanoparticles and development of functional agar/CuO nanoparticles nanocomposite films</p> <p>(3) development of master batch and film for making functional HMR packaging</p> <p>4. Development of functional food packaging for sliced fruit and vegetables - 4 packaging products for sliced vegetables, 1 packaging product for sliced fruit</p> <p>5. Development of functional food packaging for kimbab - development of wrapping paper coated with anti-microbial materials</p> <p>6. Development of the technology to control the encapsulation and the activation of anti-microbial materials (1) measurement of complex anti-microbial characteristics (2) measurement of encapsulation capacity of anti-microbial materials (3) measurement of emission of anti-microbial materials depending on relative humidity</p> <p>7. Development of HMR packaging using the technology to control the encapsulation and the activation of anti-microbial materials (1) preparation of coating agent using the technology (2) development of packaging for sandwich using the technology</p>				
<p>Application Plan</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Application to other products by developed basic materials technology ● Commercialization of products through improvement and mass production ● Enlargement of HMR market by extending the shelf-life of food ● National health promotion from the improvement of food preservation ● Export promotion of HMR packaging developed by the project 				
<p>Key Words</p>	<p>HMR</p>	<p>eco-friendly</p>	<p>cost effectiveness</p>	<p>packaging</p>	<p>freshness-keeping</p>

<Contents>

< Contents >

1. Overview of Project 9
 1-1. Purpose of Project 9
 1-2. Necessity of Project 9
 1-3. Scope of Project 17
2. Results of Project 19
 2-1. Strategy 19
 2-2. Organization 21
 2-3. Schedule 22
 2-4. Contents 23
 section 1. Development of eco-friendly anti-microbial materials 23
 section 2. Development of prototype wrapping paper 40
 section 3. Development of prototype film 57
 section 4. Development of HMR packaging for sliced fruit and
 vegetables 87
 section 5. Development of HMR packaging for kimbab 95
 section 6. Development of HMR packaging for sandwiches 98
 section 7. Development of encapsulation and emission of antimicrobials 104
 section 8. Development of HMR packaging using the technology
 of encapsulation and emission of antimicrobials 117
 section 9. Conclusion 125
3. Achievement and Contribution of Project 128
4. Application Plan 129
References 130

<본문목차>

< 목 차 >

- 1. 연구개발과제의 개요 9
 - 1-1. 연구개발 목적 9
 - 1-2. 연구개발의 필요성 9
 - 1-3. 연구개발 범위 17
- 2. 연구수행 내용 및 결과 19
 - 2-1. 연구개발의 추진 전략 및 방법 19
 - 2-2. 연구개발의 추진체계 21
 - 2-3. 추진일정 22
 - 2-4. 연구수행내용 23
 - 제1절. 친환경 향균 소재 개발 23
 - 제2절. 식품 보관 기능성이 향상된 종이류 시제품 개발 40
 - 제3절. 식품 보관 기능성이 향상된 필름 시제품 개발 57
 - 제4절. 커팅채소 및 과일용 기능성 포장용기 개발 87
 - 제5절. 김밥용 기능성 포장용기 개발 95
 - 제6절. 친환경 샌드위치용 기능성 포장용기 시제품 개발 98
 - 제7절. 천연향균소재 포집, 발현 기술 개발 104
 - 제8절. 천연향균소재 포집, 발현 기술을 활용한 포장재 개발 117
 - 제9절. 결론 125
- 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 128
- 4. 연구결과의 활용 계획 등 129
- 붙임. 참고 문헌 130

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

<HMR 시장에 적합한 비용절감형 친환경 저장성 향상 기능성 포장소재 및 포장용기의 개발>

▶ 식품 저장 기능성 친환경 기능성 소재 생산 및 활용 기술 연구

주관기관이 보유한 기존 비용절감형 선도유지 소재의 응용범위를 넓히고 HMR 포장용기에 최적화 할 수 있도록 항균 및 나노컴포지트 소재 개발, 생산 및 활용기술을 연구함

▶ 기능성 소재의 발현 조절 기술 및 포장 응용 기술 연구

HMR용도에 적합하도록 항균성 및 기타 기능성 발현을 조절하고 포장재 적용이 가능하도록 응용 기술을 연구함

▶ HMR 상품 특성을 고려한 포장재, 포장용기의 개발

HMR 시장에서 포장용기의 선도유지 기능성 여부가 품질에 중요한 영향을 미치는 상품인 RTE 상품 2종(샌드위치, 김밥), RTP 상품 2종(샐러드, 컷팅과일)의 특성을 고려하여 비용절감형 소재 및 친환경 기능성 신소재를 적용한 포장용기를 개발함

1-2. 연구개발의 필요성

▶ HMR의 개요 및 분류

○ 소득의 증가와 생활수준의 향상에 따라 식품 품질에 대한 국민적 관심이 높아지고 있으며 유기농 농산물 및 식품의 소비가 급증하고 있다, 더불어 핵가족, 소가족, 일인가족 등 가족구성의 변화로 인해 식상품의 중심이 원재료 위주에서 즉석식품류로, 최근에는 즉석식품류 보다 품질 면에서 우수하면서도 간편하게 준비 혹은 바로 소비할 수 있는 식상품류 (Home meal replacement)들이 시장 점유율을 높여가고 있다.

○ HMR이란 가정 식사를 대체할 수 있고, 가정 외에서 판매되며, 완전하게 조리가 끝난 식품 또는 가열이 필요한 식품 형태로 구매하여 간단히 조리할 수 있는 식품을 통칭하며, 그 종류를 다음과 같이 나눌 수 있음.

<p>요리용 간편식 Ready to Prepared (RTP)</p> <p>식재료를 요리하기 편리하게 씻고 작게 나눈 제품</p>	
<p>조리용 간편식 Ready to Cook (RTC)</p> <p>간단히 조리 후 먹을 수 있는 음식</p>	
<p>반조리용 간편식 Ready to Heat (RTH)</p> <p>가열하여 바로 먹을 수 있는 음식</p>	
<p>즉석 간편식 Ready to Eat (RTE)</p> <p>포장 제거 후 바로 먹을 수 있는 음식</p>	

○ RTC나, RTH의 경우 저장성을 향상시킬 수 있는 가공 단계가 가능하며, 가열 조리 단계가 있어 저장 시 품질 저하나 위생 안전성 위해요소들이 상대적으로 많지 않은 반면, 가공단계가 매우 제한된 RTP나 조리된 상태로 포장해야 하는 RTE의 경우 저장 환경이나 기간에 따른 품질 변화가 심하며, 위생안전상의 문제들로 인해 유통기한이 매우 짧음.

○ RTP 제품의 경우, 미생물 번식뿐만 아니라 화학적, 효소적 갈변으로 대표되는 화학적, 생물학적 변패 등 다양한 품질 저하 요인이 존재하며, 특히 고수분 함유 특성의 식품 특성상 수분분리로 인한 상품가치 저하가 발생함.

○ RTE의 경우, 조리가 완료된 상품을 유통 소비해야하는 특성상 위생 안전이 가장 문제가 되므로 미생물 번식억제가 저장성 증대에 있어 가장 중요한 요소이며, 이와 더불어 수분이동에 의한 변패 등이 기능성 포장 소재 및 포장재 개발에 있어 고려대상인 제품임.

▶ Home meal replacement (HMR) 시장의 급성장

Home meal replacement, Ready meal, Ready-to-eat food, Ready-to-cook meal 등으로 불리는 가정식 대용 식사품 시장은 cold chain 으로 대변되는 유통기술의 발전과 산업 규모의 성장, 가족 구조의 변화 등 사회 발전과 변화의 원인으로 그 시장이 급속히 증가하고 있으며, 최근 통조림, 냉동식품 시장 규모를 뛰어 넘고 있다.

1. 세계 HMR 시장의 성장

HMR 세계 시장은 2010 이후 매년 급속한 성장 중이다. 일부 유기농, 친환경 식문화가 급속히 퍼지고 있는 몇몇 유럽 국가에서는 오히려 감소하는 경향이 나타나기도 하지만, 영국, 미국과 일본에서 많은 상품들이 개발, 출시되고 있으며, 소비량 또한 급속히 증가 중이다.

HMR 식사품의 경우, 국가별 가정식의 특성이 다르며, 현재 개발된 식품 가공, 포장 기술 한계, 소비자의 인식, 소비패턴, 신뢰도, 안전성 확보 등의 문제들로 국가별 시장 규모나, 성장세가 다르게 나타난다. 하지만, HMR 상품의 특성이 보존제의 사용이나 식품의 품질을 담보로 한 저장성 향상 가공 기술들의 활용을 제한한 상품인 만큼, 유기농, 친환경이 대세인 선진 유럽 국가들이나, 식품 회전율이 매우 높은 동남아 국가의 식품 시장과 산업화의 중심이 될 것으로 기대되고 있다.

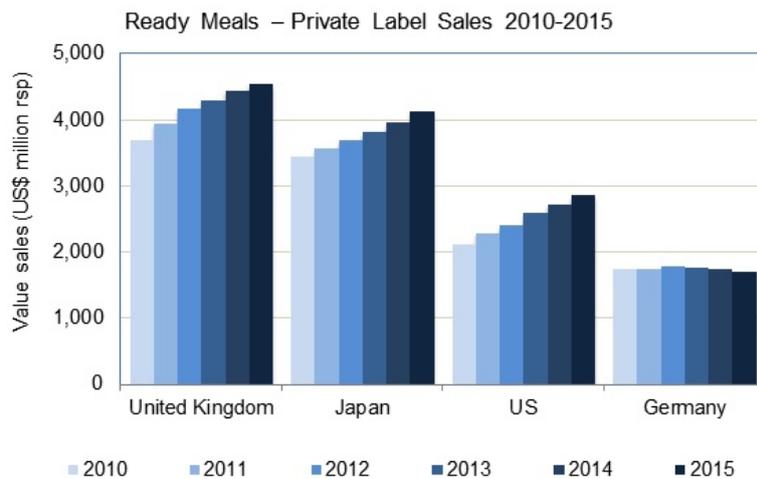


그림 1. 2010 이후 영국, 일본, 미국, 독일의 HMR 시장

2. 국내 HMR 시장 성장

국내 가정간편식 시장규모는 2010년부터 연평균 14.5%씩 성장해 지난해에는 2조3000억원 규모에 이른다. 2017년 올해도 성장세가 이어져 3조원대에 육박할 것이라는 게 업계 예상치다. '1인가구', '혼밥족'의 증가와 실속형 상품이 잘 팔리는 불황 세대가 맞물리면서 가정간편식의 가파른 성장이 이어지고 있다는 분석이다.

Retort 기술과 건조 생산 기술 기반의 즉석식품 시장이 대학가의 편의점 도시락류 제품의 유행과 더불어 HMR 시장이 급속히 커지고 있다. 더불어 최근 물가 상승에 따른 외식대용, 편의점의 보급을 기반으로 한 즉석식품 대용 등으로 많은 상품들이 출시되고 있으며, 고가격의 프리미엄 제품군부터 합리적인 가격의 제품군이 형성되는 등 제품군이 다양화되고 있는 상황이다.

그럼에도 불구하고, 국내 HMR 상품 개발, 가공, 포장, 검증 기술들은 태동단계에 있으며, 그 시장 또한 초기 진입단계에 있다.



그림 2. 국내 HMR 시장의 연도별 성장

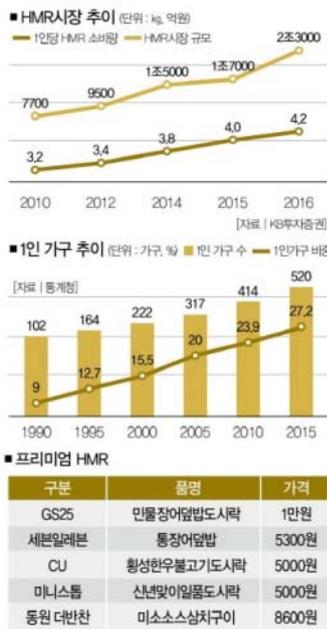


도표 128 일본, 미국, 영국의 HMR시장

	일본	미국	영국	한국
1인당 GDP(\$)	37,540	54,678	44,141	28,739
경제 성장률*	0.0%	2.4%	2.6%	3.4%
물가 상승률*	2.7%	1.6%	1.5%	1.3%
1인 가구 비중	31.2%(2011)	27.4%(2012)	29.0%(2010)	27.1%(2015E)
여성 경제참여율*	49.2%	57.0%	57.7%	51.3%
실업률*	3.6%	6.2%	6.3%	3.5%
HMR 시장 규모 (\$b)	3.2	15.5	3.4	0.8
1인당 연간 HMR 소비액(\$)	25.5	48.7	52.9	15.8
HMR 유통채널	- 편의점, 할인마트	- 대형할인마트, 편의점	- 대형할인마트, 편의점	- 대형할인마트, 편의점 - 쇼룸, 온라인
HMR 제품 모습들				
비고	- 도시락 문화가 발달한 일본에서 도시락은 편의점 매출의 30%를 넘을 정도로 인기	- 식품 매장에서 식사도 제공(Quick meal)하는 토털매장으로 진화 - ex) 월마트->월마트투고 타겟->시티 타겟 - 영토가 넓어 유통이 편리한 냉동식품이 발달되어 있음	- 살인물가로 위식보다는 HMR 제품이 선호됨 - 테스코에서 전세계 HMR 식품 취급	- HMR 시장 초입단계 - 제조업체, 유통업체를 중심으로 HMR NB, PB 브랜드들이 확대되고 있는 추세

자료: CBIC, Bloomberg, 유진투자증권, 주*은 모두 2014년 연간 기준

그림 3. 국내 HMR 시장 현황과 해외 시장과의 비교

▶ HMR용 포장용기, 포장재 현황

HMR 제품군의 특징이 소포장, 다품종 식재료의 혼합, 반조리 상태의 반제품 또는 조리 상태의 완제품이므로, 품질보장 유통기한이 상대적으로 짧고 위생 안전성이 떨어진다.

현재 시중에 팔리고 있는 HMR 제품군은 그 제품 성격의 관점에 따라 크게 RTP, RTC, RTH, RTE로 구분하는데, 이들을 유통, 저장의 관점에서 크게 냉장유통제품군과 선도유지제품군으로 나눌 수 있다.

냉장유통 HMR 제품군으로는 주로 조리, 반조리, 혼합제품류 들로 김밥류, 샌드위치류, 도시락류와 같

은 RTE 제품류와 전자레인지에 가볍게 데워서 소비하는 RTH 제품류들이 이에 해당한다. 바로 또는 데우는 정도의 열처리 후 소비하는 상품 특성상, 이들의 저장 특성은 미생물의 오염이나 증식에 따른 변패 및 위생안전성 감소가 유통기간, 저장안전성 감소의 주요 요인이다.



그림 4. 냉장유통이 필요한 RTE, RTH 형 HMR 제품군

본 연구에서는 냉장 유통 제품 중 많은 양이 생산되고, 소비되고 있으며, 상품별 저장 특성이 크게 다르지 않다고 생각되는 김밥류와 샌드위치류의 포장재와 포장용기의 특성을 조사하였다.

○ 김밥류

김밥류 저장에 있어서 가장 큰 문제는 역시 미생물의 번식이다. 김밥류의 상품 특성상 신선도가 중요하거나 갈변이 품질저하의 지표가 되는 식재료가 포함되지 않고, 유일하게 김의 식감변화나 지방의 산패취가 그 기준이 된다. 하지만, 김밥류에서의 변패 속도와 미생물 오염이나 번식 속도를 비교해볼 때, 김밥류 저장에 있어서 저장 기간 증대에 가장 큰 문제점은 역시 미생물의 제어이다.

미생물 번식이 발생하면 냄새와 더불어 식중독의 위험성이 증가하는데, 김밥의 특성상 미생물 번식을 쉽게 구별하지 못하고 섭취하여 식중독으로 고통받는 경우가 심심치 않게 보고되고 있다. 따라서 김밥류의 유통기한은 제조 후 1일을 채 넘기지 못하는 것이 현실이며, 포장재의 기능 또한 이물질 혼입을 막는 정도이다.

현재 유통중인 김밥류 포장의 종류는 크게 PP, PE 기반의 bag 형 포장과 tray와 cap으로 구성된 box 형, 그리고 코팅된 지류로 둘둘 만 형 3가지 종류로 나눌 수 있다. 현재 시장에 도입된 김밥류 포장재 중 기능성 포장재는 기술적, 경제적 이유 등으로 아직 적용하지 않고 있는 실정이다.



그림 5. 다양한 김밥류 포장

○ 샌드위치류

샌드위치류 또한 가장 큰 문제는 역시 미생물의 번식이다. 국내에서는 김밥류와 동일한 이유로 기능성 포장재 사용의 예를 찾아보기 힘들다, 일본과 미국, 유럽 등 일부 선진국에서는 몇몇 기능성 포장재의 상용화가 보고되고 있다.

샌드위치류의 포장재는 김밥류와 같은 4가지 포장 형태에 plastic tray에 plastic rap으로 밀봉한 형태로 포장되는 경우가 추가되어 총 5가지 형태로 포장되어 판매된다.



그림 6. 각종 샌드위치류 포장

선도유지 HMR 제품군으로는 RTE 제품 중 샐러드나 조각과일 등의 신선편이 식품류와 해물탕 손질 재료, 볶음밥용 한jum야채 등 반가공 식재료인 RTC 제품들이 이에 해당한다. 이들 제품의 경우, 선행된 신선식품류 저장 연구 및 실태조사에서 널리 알려져 있듯이, 미생물의 오염이나 번식보다 수분의 이탈, 효소의 작용, 지방 산화, 갈변 등 저장 환경에 따른 다양한 물리화학적 변화로 인한 품질저하가 유통기간 감소와 저장성 결정의 주요 요인이다. 따라서 이들의 저장기간 증대와 품질 유지를 위해서는 각 식재료들의 신선도를 유지시킬 수 있는 저장기술들이 필요하다.



그림 7. RTC형 냉장유통 HMR 제품군

본 연구에서는 냉장 유통 제품 중 많은 양이 생산되고, 소비되고 있으며, 기능성 포장재의 사용이 가장 활발히 진행되고 있는 샐러드류와 조각과일류를 대상으로 그 포장 상태와 활용도를 조사하였다.

○ 샐러드, 조각과일

현재 전세계적으로 기능성 식품포장재 활용이 가장 적극적인 분야가 야채나 과일 등 신선식품 포장이다. 기능성 포장에 의한 유통기한 증대효과가 매우 탁월하며, 미생물의 오염이나 증식보다 식재료나 상품의 변질 속도가 월등히 빨라 포장에 의한 저장 기능성 효과가 조금만 있어도 저장 기간이나 품질 향상에 큰 효과가 나타나기 때문이다.

세계적으로 포장 대상의 저장 특성 맞춤형 기능성 포장재가 개발되어 상업화된 사례도 있고, 그 시장 또한 점점 더 커지고 있다. 하지만, 닭고기, 햄 등 여러 가지 다양한 식재료가 혼합되어 있고, 일부 소스류와 함께 동봉 혹은 섞인 상태로 판매되는 샐러드 제품은 그 저장성 향상을 위해 또다른 기술을 요구하고 있으며, 여전히 낮은 경제성을 극복해야할 숙제를 안고 있다.



그림 8. 각종 샐러드류 및 조각과일 포장

▶ HMR 품질 유지 및 저장 기간 증대를 위한 기능성 포장재 개발의 필요성

HMR 상품의 특성상 품질 보증 기간이 매우 짧다. 이로 인해 저장 환경 변화에 따른 식중독 위험이나 상품 품질 저하로 인한 재고 폐기로 인한 환경 오염, 그로 인한 가격 상승 등 다양한 사회적 문제의 원인이다. 따라서 HMR 상품의 저장 기간을 증대시킬 수 있는 기술이나 방법은 기술적으로나 사회적으로 그 요구가 매우 큰 상황이다.

또한 HMR 제품은 보존제, 산화방지제 등 첨가물을 쓰지 않고, 품질 저하를 감내하고 저장성 향상을 위해 처리하는 가공 공정을 배제 등 고품질이 특징인 만큼, 차세대 식상품이므로써 향상된 식품 가공, 포장 기술들을 요구하고 있다.

여러 과학적 연구 결과들과 발전된 생산기술들을 기반으로 식품 저장성이 향상된 다양한 기능성 포장재들이 개발되어 보고되고 있으며, 일부 산업적으로 활용되고 있다. 이러한 기능성 포장재 시장은 즉석식품과 신선편이 식품이 고품질, 다품종화 되면서 산업적 필요성이 점점 더 커지고 있으며, 국내외 시장 또한 급속히 커지고 있다.

1. 기존 기능성 포장재의 한계

Active packaging, intelligent packaging, smart packaging 등의 이름들로 기능성 포장재에 대한 연구와 개발이 전세계적으로 진행되고 있다. 하지만, 지금까지 알려진 대부분의 방법들은 1. 유독성

기능성 물질의 migration이 발생하거나 2. 구현하는데 높은 비용이 소요되며, 3. 높은 비용에도 불구하고 그 기능성이 제한적이거나 한정적이며, 4. 기능의 발현이 조절 되지 않아 포장재 생산, 사용이 제한됨 등으로 효과적인 제품으로 산업적 널리 활용되고 있는 예를 찾아보기 쉽지 않다.

가정식 대체 식품 (Home meal replacement, HMR) 제품들의 상품 특징이 간단한 조리과정을 거치거나 포장을 제거한 후 직접 섭취하는 가공 공정을 줄인 제품이므로 기존의 식품 저장성 향상 기술 등이 효과적으로 작동하지 못하는 점이 많아 대상 식품의 저장성 향상에 도움이 되지 않는 경우가 종종 발생하는 것으로 알려져 있음.

따라서 몇몇 기능성 포장재는 대상 신선식품에 맞게 맞춤형 포장재로 개발되어 시장점유에 성공한 예도 있으나, 다품종에 다양한 저장특성을 나타내는 HMR 시장에 진입을 위해서는 새로운 기능성 포장 소재, 포장재의 개발 요구가 반드시 필요하다.

2. 저비용으로 구현 가능한 효과적인 친환경 기능성 포장재 개발의 필요성

저부가가치 대량 생산 특징을 갖고 있는 식품 산업 특성상, 높은 가격 상승의 요인이 될 수 있는 고품질, 고가격의 포장재 사용은 식품산업에서 쉽지 않은 결정이다. 따라서 충분한 경제적 효과가 담보되지 않는 기술은 시장 진입이 쉽지 않으며, 위생 안전상 모험이 되는 기술 시도 또한 매우 제한적일 수밖에 없다. 따라서 알려진 저장 기능성 효과를 저비용으로 구현할 수 있는 과학적 기술이나 제품화 기술, 산업적 생산 기술들에 대한 개발의 필요성이 세계적으로 높은 상태이다.

더욱이 최근 식품에 대한 사회적 품질 가치 기준이 변함에 따라 유해 가능 물질에 대한 거부와 건강기능성, 친환경 제품에 대한 요구가 늘어나면서, 친환경 소재의 식품 포장재와 기능성 물질 연구에 대한 필요성 또한 매우 커지고 있다.

▶ 친환경 포장 소재 및 포장재 개발의 필요성

- 석유화합물로부터 얻고 있는 플라스틱의 수요가 증가함에 따라 그 폐기물의 양도 증가하고 있으며, 이에 따라 천연자원의 고갈 문제와 이들 플라스틱의 난분해성에 의한 환경 문제가 심각하게 대두되고 있음. 이에 따라 합성 플라스틱 사용량의 일정 부분을 대체할 수 있는 생분해성 플라스틱의 개발이 산업적으로 시급하게 요청되고 있음.
- 미국, 일본, 독일, 이태리 등과 같은 나라에서는 쇼핑백, 플라스틱 용기 등의 제조에 분해성 소재의 사용을 의무화하고 있어 이들 나라에 수출을 할 경우 분해성 포장재를 사용하지 않으면 수출이 불가능하거나 처리 분담금을 지불해야 하기 때문에 새로운 소재의 개발과 생분해성 소재를 사용한 환경친화적인 포장재의 개발 및 실용화에 대한 연구가 시급한 형편임.
- 이러한 목적으로 동식물 유래의 탄수화물이나 단백질과 같은 생고분자나 PLA와 같은 반합성 생고분자가 이용되고 있으나, 일반적으로 생고분자를 이용하여 제조한 생고분자 플라스틱은 합성 플라스틱에 비해 물리적인 강도가 약하고 수증기 투과도가 높고 수분에 대한 저항성이 낮아 이들의 산업적인 이용을 위해서는 이러한 물성을 증진시키는 것이 필수적임 (Rhim and Ng, 2007; Yang et al., 2007; Pavlidou and Papaspyrides, 2008; Zhao et al, 2008).
- 최근에 고분자 수지에 나노입자의 강화제를 첨가하여 그 물성을 향상시키는 나노컴포지트 제조 방법이 개발되었는데, 나노복합재는 고분자 수지에 소량(5% 이내)의 나노충진제 (나노점토, 나노금속, 나노섬유소 등)를 분산시켜 제조한 복합체로서 내충격성, 유연성, 투명성 등의 저하가 없이

물리적인 강도와 강성도, 기체차단성, 수분저항성, 내마모성, 고온안정성 등이 대폭 향상된 신개념의 차세대 복합소재임 (Alexandre and Dubois, 2000; Pandey et al., 2005; Sinha Ray and Bousmina 2005; Rhim and Ng, 2007; Yang et al., 2007; Pavlidou and Papaspyrides, 2008; Zhao et al, 2008).

- 나노복합재를 제조하는 방법으로는 용융혼합법 (melt intercalation), 용제혼합법 (solvent intercalation), 중합혼합법 (in-situ polymerization) 등이 있는데, 가장 중요한 것은 서로 친화성이 있는 고분자와 나노충진제를 선택하는 것이고, 다음으로는 나노충진제를 고분자 내에 균일하게 분산시키는 것이 핵심 기술임.
- 이러한 나노컴포지트의 제조기술이 초기에는 합성플라스틱을 주로 사용하여 개발되었는데 (Alexandre and Dubois, 2000; Sinha Ray and Okamoto, 2003; Schmidt et al., 2002), 이러한 나노컴포지트는 생분해성을 갖지 못하는 단점이 있어 (Pandey et al., 2005; Sinha Ray and Bousmina 2005; Rhim and Ng, 2007), 생고분자를 사용하여 나노컴포지트를 개발하므로써 물성이 증진된 생분해성의 나노컴포지트 포장재(그린 나노복합포장재)를 개발할 필요가 있음.
- 그린 나노복합 포장재는 신개념의 포장소재로서 현재 전 세계적으로 환경보전에 대한 관심이 고조되어 있기 때문에 환경친화적인 신소재 개발에 대한 연구는 기술적으로나 경제적으로 막대한 부가가치를 창출할 것으로 기대됨.
- 다양한 기능성을 갖는 생고분자 나노컴포지트의 개발은 식품포장 분야에서는 새로운 연구분야로서 현재 확보하고 있는 기술을 발전시켜 원천기술을 개발하여 우선적으로 산업화가 시급한 형편이며, 이들 포장재의 효용성과 용도 개발을 위해 적절한 식품을 선발하여 적용실험 및 안전성 실험을 통해 식품의 품질 향상과 shelf-life 연장 및 나노컴포지트 포장재의 안전성을 확인하여 개발된 포장재의 산업적인 이용 기반을 마련할 필요가 있음.

1-3. 연구개발 범위

- ▶ **비용절감 선도유지 신소재(AR-34)를 적용한 HMR용 용기 시제품 제작 개발**
- 비용절감 선도유지 신소재를 적용한 용기 시제품을 개발하기 위해 대상 제품으로 RTE 용기 2종(샌드위치, 김밥), RTP 용기 2종(샐러드, 커팅과일)을 정밀 분석함. 현재 사용중인 용기의 종류, 재질, 물성(투과도, 두께, 밀폐도, 선도유지제 적용 여부 등), 디자인을 분석하여 시제품 제작 개발용 기초 자료로 사용함
- 주관기관이 보유한 비용절감 선도유지 신소재(AR-34)를 활용하여 경제성 있는 HMR 용기를 제작함. 경제성과 양산성이 확보된 시제품 제작을 위해 입도설계, 마스터배치 제조, 필름 및 sheet 제조, HMR용기 최종 시제품 제작을 위한 요소 기술들을 연구함
- 제작된 시제품의 특성 분석 결과를 종합하고 feedback으로 개선점 및 개선 방향을 수립함. 이는 2차년도 제품 개발 완성을 위한 근거 데이터 확보의 의미를 가짐
- ▶ **HMR용 선도유지 효과 강화를 위해 천연항균성분이 함유된 친환경 다기능성 복합 필름 제조 기술 개발**

- 다기능성 복합필름의 나노 충전제에 사용할 요소로 금속산화물과 셀룰로오스, 키틴 (또는 키토산)을 선택하고 이를 환경친화적인 Green Method를 이용하여 나노 충전제를 제작함
- 생고분자 수지, 나노클레이 및 첨가제의 compatibility를 최적화하는 나노컴포지트 필름 제조를 위해 제조방법별 최적 조건을 결정하고 prototype의 나노컴포지트 필름을 제조함
- 개발된 나노복합필름의 특성을 조사하고 물성을 평가하여 제품 개발 응용 여부를 판단함

▶ 항균소재 포집 및 발현 조절 기술 연구

- emulsion, suspension, hydrogel 형성을 통한 대상물질 포집과 이를 안정화 하는 기술에 대해 연구함
- 포집된 항균 물질의 기능성 발현 조절을 위한 system 파괴, 흡착된 항균 물질의 방출수준 및 환경조건과 항균 물질 방출량에 따른 기능성 발현 효과를 검증함
- 연구 개발된 encapsulation, controlled release 기능의 포집체를 filming화 하거나 embedded 하여 포장재에 구조적으로 안정화 시키는 기술에 대한 응용기술 연구를 진행함

▶ HMR 제품용 포장용기 최종 제품 개발 및 상용화

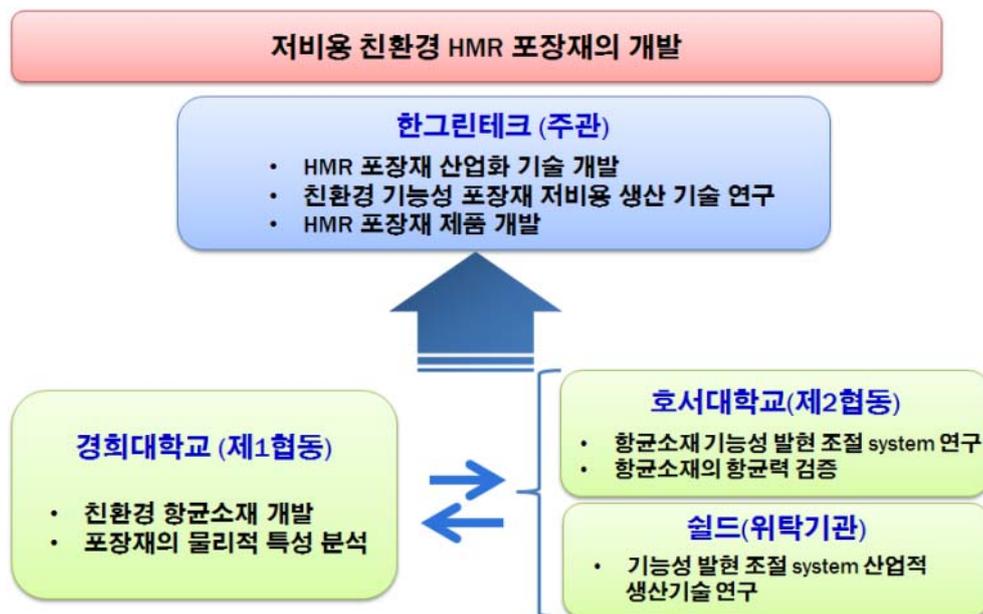
- 협동기관에서 연구된 기능성이 강화된 소재를 이용하여 HMR 제품용 포장용기 최종 제품을 개발함. 대상 제품의 특성에 따라 용기, 필름, 파우치, 카톤형 등 대상제품의 저장 특성 및 유통조건을 충족시키는 다양한 형태의 제품 개발을 목표로 함
- 경제성을 확보하기 위해 저비용 생산 기술을 연구하고 생산 공정에 따른 제품의 물성 평가를 통해 시장성 있는 제품을 개발하고 상용화함

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 연구개발의 추진 전략 및 방법

○ 연구 개발 추진전략

본 연구팀은 친환경 기능성 식품 포장재 생산 판매 업체인 (주)한그린테크를 주관기관으로 HMR 포장재 개발 및 산업화 연구를 진행하고, 제1협동 연구 기관인 경희대학교는 천연항균소재 개발과 저비용 생산기술, 그리고 포장재와의 결체기술, 포장재의 기계적 성능 평가등을 수행함. 제2협동 연구 기관인 호서대학교는 항균소재의 포집기술과 항균기능 발현조절 시스템을 연구하고 이의 산업화 기술을 위탁기관인 쉘드(주)와 함께 수행하였음. 또한 개발된 HMR 기능성 포장재의 대상 식품에 대한 기능성 평가를 수행함.

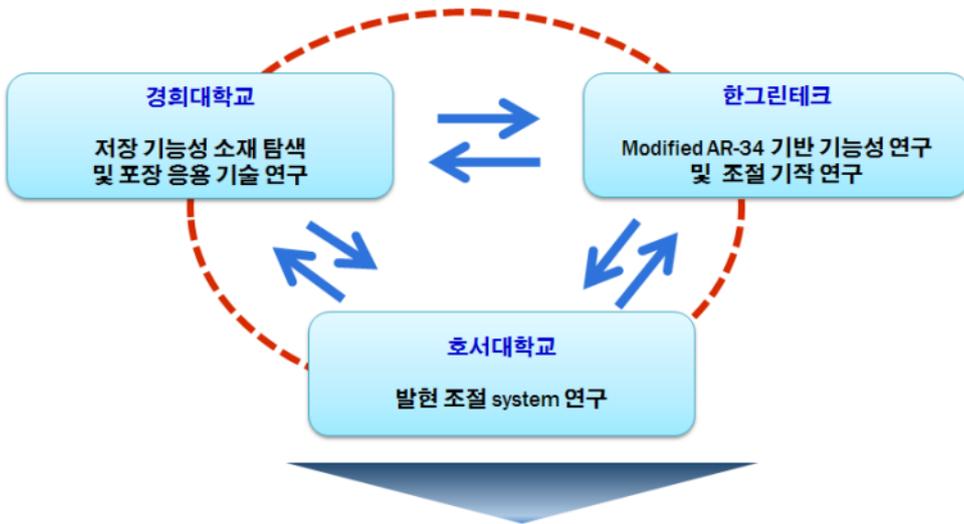


○ 연구 수행방법

본 연구과제는 크게 향미생물, 저장 기능성 포장 소재의 개발 및 발현 조절 system 연구와 저비용 친환경 HMR용 포장 용기의 개발 및 상용화로 나누어 추진함.

향미생물, 저장 기능성 포장 소재의 개발 및 발현 조절 system 연구는 저장 기능성 소재 물질로 AR-34 기반 물질의 기능성 연구와 조절 기작 연구 및 항균나노컴포지트의 탐색 및 응용기술 연구와 이를 이용한 발현 조절 system 연구로 추진함.

- 한그린테크 (산업체, 주관기관)는 AR-34 기반 기능성 및 조절 기작 연구를 담당함
- 경희대학교(대학, 협동1)는 저장 기능성 소재 탐색 및 포장 응용 기술 연구를 담당함
- 호서대학교(대학, 협동2)는 저장 기능성 소재의 발현 조절 system 연구를 담당함

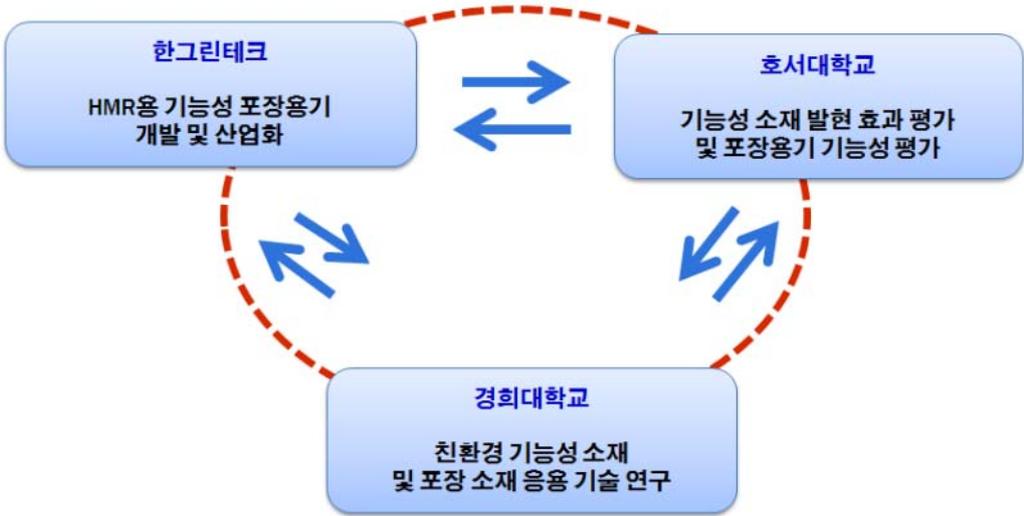


1차년도: 항미생물, 저장 기능성 포장 소재의 개발 및 발현 조절 system 연구

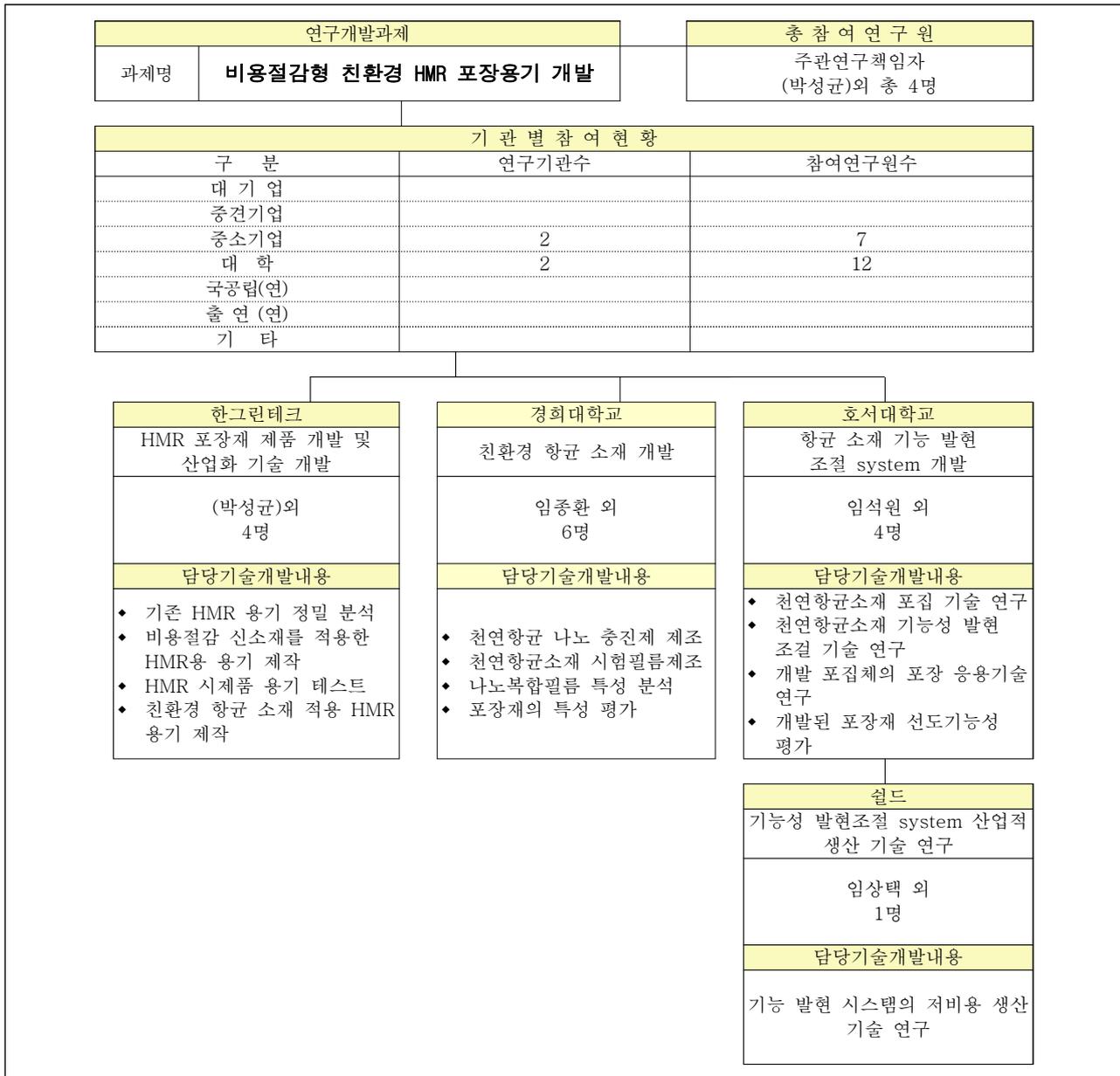
저비용 친환경 HMR용 포장 용기의 개발 및 상용화는 포장 용기용 친환경 기능성 소재 개발과 기능성 소재 발현 효과 평가 및 포장소재 활용기술 연구의 결과를 바탕으로 HMR용 기능성 포장용기 개발을 진행하고 개발된 포장용기에 대한 기능성 평가를 통해 상용화가 가능한 제품 개발에 대한 연구를 추진함.

- 한그린테크 (산업체, 주관기관)는 HMR용 기능성 포장용기 개발 및 상용화를 담당함
- 경희대학교(대학, 협동1)는 친환경 기능성 소재 및 포장소재 활용기술 연구를 담당함
- 호서대학교(대학, 협동2)는 기능성 소재 발현 효과 평가 및 포장용기 기능성 평가를 담당함

2차년도: 저비용 친환경 HMR 용 포장 용기의 개발



2-2. 연구개발의 추진체계



2-3. 추진일정

1차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	AR-34 기반 HMR 기능성 포장재, 포장용기 개발															박성균(한 그린테크)
2	천연항균소재 추출 기술 개발															임종환 (경희대)
3	천연항균소재 포집 및 발현 기술 개발															임석원 (호서대)
4	천연항균소재 포집, 발현 system 산업화 연구															임석원 (호서대)
5	천연항균소재의 포장재 적용 기술 연구															임종환 (경희대)
6	항균성 부여 포장재의 기능성 검증 및 평가															임종환 (경희대)
7	발현 system 저비용 생산기술 기반연구															임상택 (셀드)
2차년도																
1	개발 HMR 상품 대상별 기능성 향상 포장용기 개발															박성균(한 그린테크)
2	개발된 포장재, 포장용기의 물리적, 화학적, 생물학적 특성 분석															임종환 (경희대)
3	효과조절과 기능 조절을 위한 추가적인 조절 기법 연구															임종환 (경희대)
4	천연항균소재 포집, 발현 system 산업화 연구															임석원 (호서대)
5	개발된 HMR 포장 용기, 포장재의 대상 식품 저장성 향상도 평가															임석원 (호서대)
6	포장 디자인 연구와 저비용 생산 기술 연구															박성균(한 그린테크)

2-4. 연구수행내용

제1절 친환경 향균 소재 개발

1. 양파와 마늘의 농업 폐기물을 활용한 셀룰로오스 미세섬유 소재 개발

농산폐자원인 양파와 마늘의 줄기 및 껍질로부터 염소와 알칼리 추출법을 사용하여 셀룰로오스 미세섬유를 추출하였고 미세섬유의 화학적 조성 및 특성을 분석하여 친환경 소재로서의 활용 가능성을 검토하였다.

가. 재료 및 방법

(1) 재료

양파와 마늘을 수확 한 후 양파와 마늘 줄기는 현지 농부들로부터 얻었으며, 가공 폐기물로 버려진 양파와 마늘 껍질은 현지 식품가공회사에서 수집하여 사용하였다. Analytical 등급의 sodium chlorite, sodium bisulfate, ethanol, toluene 을Sigma-Aldrich Co. (St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

(2) 전처리

모든 시료는 수거 후 바로 물로 깨끗하게 수세한 후 80°C 에서 24 시간 건조하였다. 건조시료는 cutter blender를 사용 하여 미세 분쇄한 후 성분분석과 셀룰로오스화이버 추출에 사용하였다.

(3) 화학성분분석

각 시료의 α -cellulose, hemicelluloses 및 lignin 함량을 화학적 분석법을 사용하여 3회반복 측정하여 조사하였다.

(4) 미세섬유추출

양파와 마늘 줄기 및 양파와 마늘 껍질의 분말 시료에서 염소 처리 및 알칼리 추출법을 사용하여 셀룰로오스 미세 섬유를 추출 하였다.

(5) Characterization

각 섬유소와 미세섬유소 시료의 FTIR spectra를 Attenuated total reflectance-Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectrophotometer (TENSOR 37 spectrophotometer with OPUS 6.0 software, Billerica, MA, USA)를 사용하여 4000-500 cm^{-1} 의 범위에서 조사하였다.

각 섬유소 시료의 열안정성을 thermogravimetric analysis (TGA; Hi-Res TGA 2950 thermogravimetric analyzer, TA Instrument, New Castle, DE, U.S.A.) 방법으로 조사하였다.

각 섬유소와 미세섬유소 시료의 미세구조를 FE-SEM (S-4800, Hitachi Co., Ltd., Matsuda, Japan)을 이용하여 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 화학성분

양파와 마늘 줄기 및 양파와 마늘 껍질의 화학성분은 Table 1에 나타난 바와 같다.

Table 1. Chemical composition of ligno-cellulosic fibers¹⁾

Fibers	Extractives	α -cellulose	Hemicellulose	Lignin
Garlic stalk	2.5±0.1 ^a	49.8±1.8 ^c	17.5±0.9 ^d	28.6±0.7 ^b
Garlic skin	3.4±0.3 ^b	41.7±2.1 ^a	20.8±1.6 ^b	34.6±2.4 ^c
Onion stalk	2.8±0.4 ^a	45.5±0.9 ^b	25.5±0.3 ^c	26.2±1.7 ^a
Onion skin	3.8±0.0 ^b	41.1±1.1 ^a	16.2±0.6 ^a	38.9±1.3 ^d

1) Each value is the mean of five replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p>0.05$) different by Duncan's multiple range test.

마늘과 양파의 줄기 및 껍질은 41-50%의 α -cellulose, 16-26%의 hemicelluloses 및 26-39%의 lignin을 함유하고 있다. 이는 이들 농산폐자원이 cellulose, hemicelluloses, 및 lignin으로 구성되어 있으며, 이들 중 cellulose가 주성분을 이루고 있음을 알 수 있다. 이들 농산 폐자원의 비교적 높은 셀룰로오스 함량은 이들 농산폐자원이 바이오 폴리머 자원의 새로운 공급원으로서의 이용 가능성이 높다는 것을 시사한다.

(나) 미세구조

그림. 9은 양파와 마늘 껍질과 이들의 미세섬유의 모습을 보여준다.



그림. 9. Photos of (a) onion skin, (b) onion skin cellulose microfibers, (c) onion stalk, (d) onion stalk cellulose microfibers, (e) garlic skin, (f) garlic skin cellulose microfibers, (g) garlic stalk, (h) garlic stalk cellulose microfibers.

외관적으로 양파의 껍질은 양파의 천연 색소 때문에 갈색을 띠고 있으나, 이로부터 추출된 마이크로 파이버는 흰색을 띠고 있다. 이는 화학처리에 의해 색소와 리그닌이 제거되었기 때문이다. 마찬가지로 마늘줄기, 마늘껍질, 양파줄기로부터 추출된 마이크로 파이버의 표면색도 흰색을 띠고 있다.

양파 및 마늘 섬유 표면 형태에 대한 NaClO₂ 및 알칼리 처리의 효과를 SEM을 사용하여 조사 하였다. 그림. 10은 양파와 마늘의 껍질 및 줄기의 파이버와 마이크로파이버의 SEM 사진을 보이고

있다.

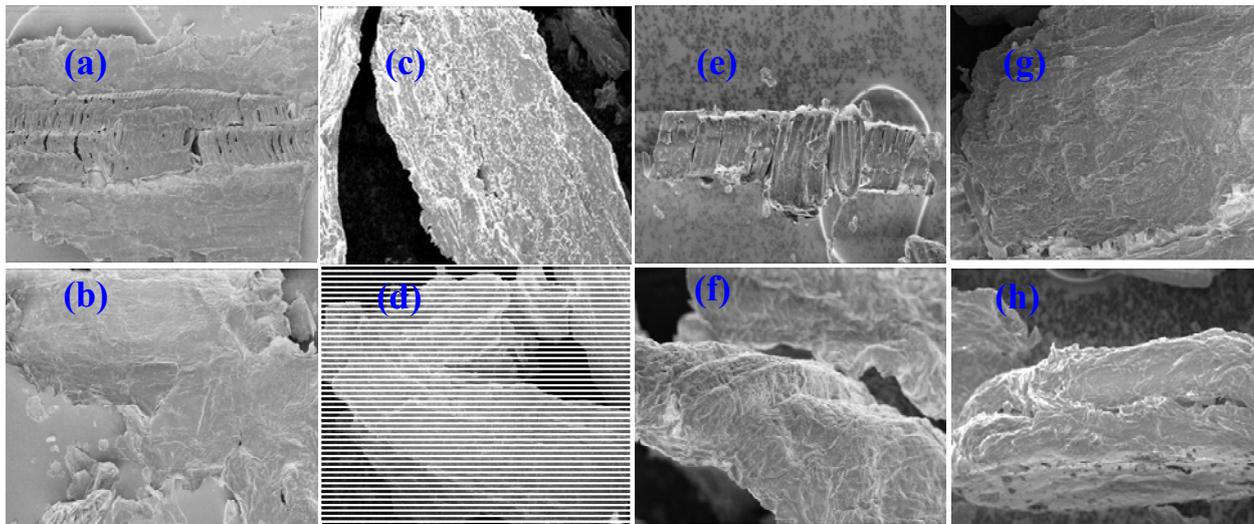


그림. 10. Microstructure of onion and garlic skin and stalk fibers onion skin, (b) onion skin cellulose microfibrils, (c) onion stalk, (d) onion stalk cellulose microfibrils, (e) garlic skin, (f) garlic skin cellulose microfibrils, (g) garlic stalk, (h) garlic stalk cellulose microfibrils.

SEM 현미경 사진은 섬유의 화학적 처리가 표면 형태를 변화 시켰음을 보여 주었다. 양파껍질의 경우 (Fig. 10a), 원료섬유소는 하나의 층으로 덮여있는 것을 관찰할 수 있는데, 이는 주로 펙틴이나 왁스 및 리그닌 성분에 기인하다. 이들 화이버의 표면은 화학처리 후에는 왁스층의 제거에 의해 표면이 거친 모습을 보이고 있다. 마늘껍질의 화이버와 마이크로화이버 (Fig. 10e, 10f) 는 양파껍질 보다 표면이 더 매끄러운 모습을 보였다. 화학 처리에 의해 제조된 된 셀룰로오스 미세 섬유는 증가된 표면 거칠기는 섬유 - 중합체 매트릭스 계면에서의 접착력을 증가시켜보다 우수한 생체 고분자 복합체 형성을 가져올 것으로 기대된다.

(다) FT-IR 분석

마늘과 양파의 줄기 및 껍질의 화이버와 미세화이버의 FT-IR 분석결과는 그림. 11의 결과와 같다.

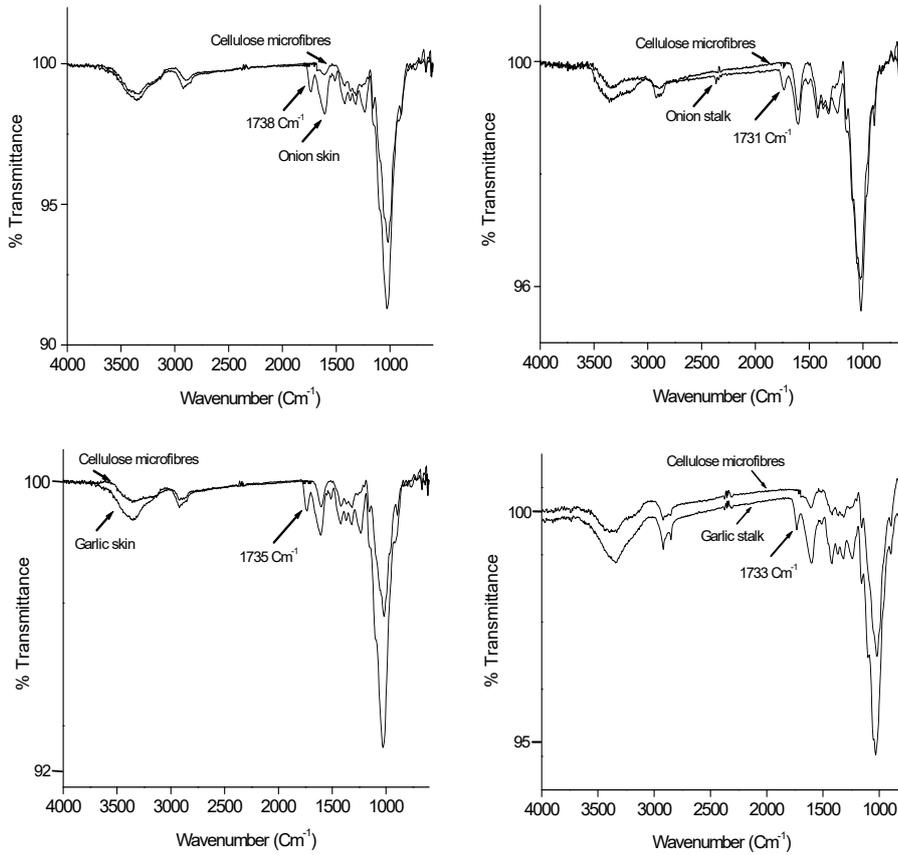


그림. 11. FT-IR spectra of onion and garlic skin and stalk fibers.

(라) 열안정성 (Thermogravimetric analysis)

마늘과 양파의 줄기 및 껍질의 화이버와 미세화이버의 TGA thermograms과 derivative forms of TGA (DTGA) curves 결과는 각각 그림. 12와 그림. 13에 보인 바와 같으며, 이들의 thermal degradation parameters를 Table 2에 표시하였다.

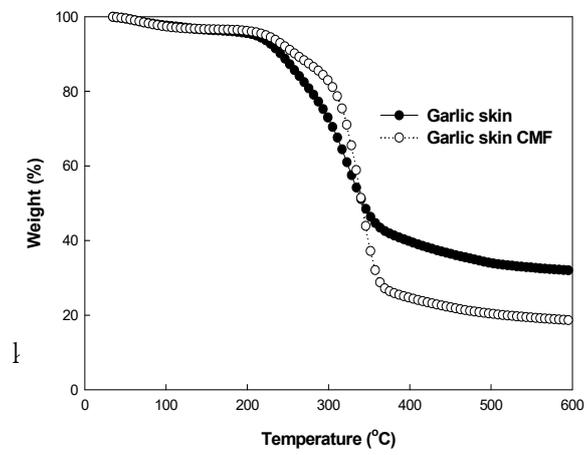
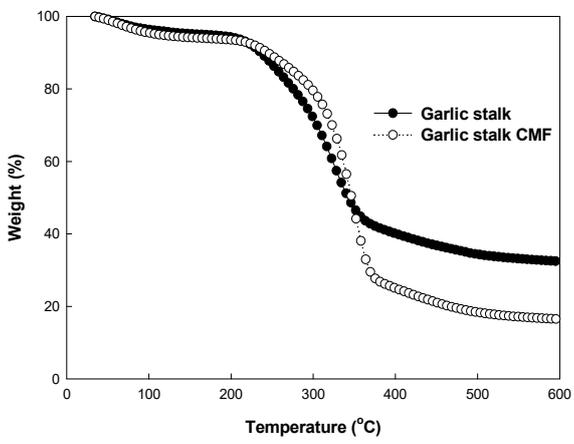
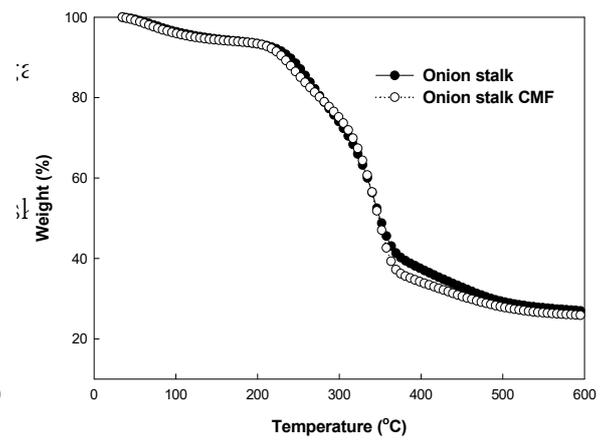
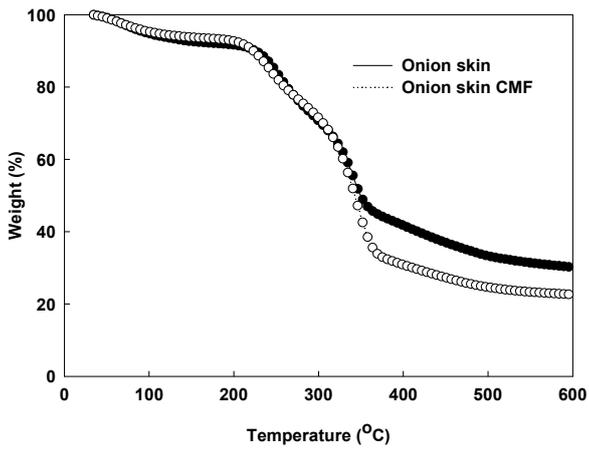


그림. 12. TGA curves of onion and garlic skin and stalk fibers.

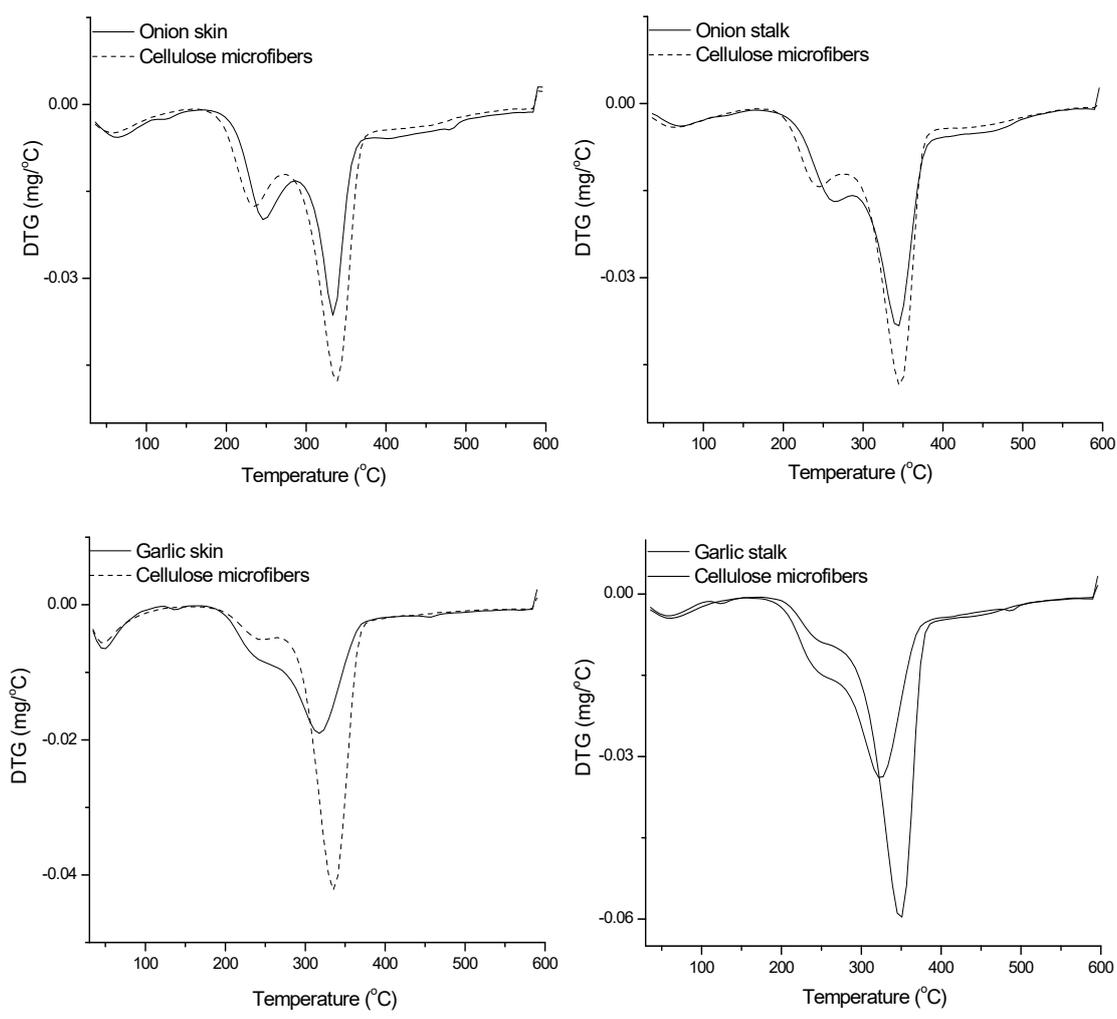


그림. 13. DTG curves of onion and garlic skin and stalk fibers.

Table 2. Thermal degradation temperatures and final residue content of garlic and onion skin and stalk fibers

Fibers	Onset temp. T _{onset} (°C)	Maximum temp. T _{max} (°C)	Final temp. T _{final} (°C)	Char at 600°C (%)
Onion skin	240	327	362	30
Onion skin CMF	228	333	374	26
Onion stalk	245	340	380	27
Onion stalk CMF	248	345	387	24
Garlic skin	235	323	375	35
Garlic skin CMF	247	341	381	17
Garlic stalk	257	315	368	32
Garlic stalk CMF	263	345	380	16

다. 소결

양파와 마늘의 줄기와 껍질의 농산물 가공 폐기물을 새로운 생체 고분자 자원으로 사용할 수 있음을 확인하였다. 이들 농산폐자원의 주성분인 셀룰로오스는 그 함량이 40-50% 로서 다른 일반적으로 사용되는 바이오 폴리머 자원과 유사하였다. FT-IR 결과로부터 이들 화이버의 NaOCl2 및 알칼리 처리에 의해 hemicelluloses, pectin, lignin 및 wax 성분이 제거 되었음을 확인하였으며, SEM 결과로부터 이를 입증하였다. 이들 섬유소의 열안전성은 마이크로 화이버가 미처리한 화이버에 비해 더 높았음을 알 수 있었다. 양파 및 마늘 폐자원은 생체 고분자 복합체 형성, 종이 및 펄프 제조, 식품 및 약제 포장 응용 분야와 같은 많은 응용 분야에서 적용하여 부가가치를 증진시킬 수 있는 높은 잠재성이 있음을 확인하였다.

2. 키틴-은 하이브리드 나노 물질 개발

황산가수분해(ChNC^{H2SO4}), TEMPO-oxidation (ChNC^{TEMPO}) 및 ammonium persulfate (ChNC^{APS}) 방법을 사용하여 키틴 나노 결정 (ChNC)을 분리하여 ChNC/은 나노 (AgNP)의 하이브리드 나노 입자 제조에 사용 하였다. ChNC^{APS}/AgNP은 Gram-음성(*E. coli*) 및 Gram-양성 (*L. monocytogenes*) 식중독 세균에 대해 강한 항균활성을 나타낼 수 있으므로 포장 식품의 저장 수명을 연장시키고 안전성을 확보할 수 있는 항균성포장재의 개발에 적용 가능성을 검토하였다.

가. 재료 및 방법

(1) 재료

계껍질로부터 얻은 키틴(α -chitin, viscosity: 800-940 cPs in 0.5% ascorbic acid at 20°C; degree of deacetylation: 6.4%; ash < 5%; particle size: 3 mm) 을 YB Bio Co., Ltd. (Youngduk, Kyungbuk, Korea) 로부터 구입하여 사용하였다. Silver nitrate (AgNO3) 는 Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd. (경기도 시흥)에서 TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl) 와 ammonium persulfate (APS, 98%+ A.C.S. Reagent) 는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. 황산과 brain heart infusion broth (BHI), tryptic soy broth (TSB) 및 아가분말은 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd (경기도 안산)에서 구입하였다. 식중독균주인 *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313) 와 *Escherichia coli* O157: H7 (ATCC 43895)는 한국중균협회 (KCTC, Seoul, Korea)로부터 구입하여 각각 BHI 및

TSB 아가 배지에 배양하여 4 °C 에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

(2) 키틴나노크리스탈의 분리

계껍질의 α-chitin 으로부터 세가지 방법 (산가수분해법 acid hydrolysis, TEMPO-oxidation (TEMPO), ammonium persulfate (APS) 방법)을 사용하여 키틴 나노크리스탈(ChNC)을 분리하였으며, 이들 세가지 방법에 따라 분리된 ChNC를 각각 ChNC^{H2SO4}, ChNC^{TEMPO}, ChNC^{APS} 로 표기하였다.

(3) ChNC/AgNP의 제조

위에서 제조한 3종의 ChNC를 템플레이트 및 안정화제로 사용하여 은나노입자 (AgNP)와 하이브리드 나노입자를 제조하였다.

(4) 키토산 나노크리스탈과 키토산 나노크리스탈/나노은 하이브리드의 특성

Morphology of ChNC^{H2SO4}, ChNC^{TEMPO}, ChNC^{APS} 의 미세구조를 전자주사현미경 (STEM) (FE-STEM, S-4800, Hitachi Co., Ltd., Matsuda, Japan)을 사용 하여 조사하였으며, 이들 입자의 분포도는 zeta potential analyzer (Zetasizer Nano ZS90, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)를 사용하여 조사하였다.

ChNC^{H2SO4}의 sulfate 함량과 ChNC^{TEMPO} 와 ChNC^{APS}의 carboxyl 함량은 electric conductivity titration 방법을 사용하여 측정하였다 (Lokanathan, Izawa, Morimoto, & Saimoto, 2014; Zhang et al., 2016). carboxylic acid 함량은 다음 식에 따라 계산하였다 (Zhang et al., 2016):

$$\text{COOH content} = \frac{c(v2-v1)}{w} \text{ (mmol/g ChNC)}$$

여기에서 C 는 NaOH의 농도 (mol/L), V2 와 V1 은 NaOH 의 부피이고, w 는 건조시료의 무게(g)이다. 또한 carboxylic acid 함량을 degree of oxidation (DO) 방법을 사용하여 다음 식에 따라 측정하였다 (Habibi, Chanzy, & Vignon, 2006):

$$\text{DO} = \frac{162(v2-v1)c}{w-36(v2-v1)c}$$

AgNP 와 ChNC/AgNP hybrid 나노입자의 광학특성을 UV-Vis spectrophotometer (Mecasys Optizen POP series UV/Vis, Seoul, Korea) 를 사용하여 300-600 nm 범위에서 측정하였다.

AgNP 와 ChNC/AgNP hybrid 나노입자의 미세구조를 transmission electron microscopy (TEM, JEM-F200, JEOL Ltd. Tokyo, Japan)를 사용하여 조사하였다. 입자의 크기는 ImageJ software를 사용하여 측정하였다. AgPN의 유무와 함량을 SEM에 부착된energy dispersive spectroscopy (SEM-EDS, S-4800, Hitachi Co., Ltd., Matsuda, Japan)를 사용하여 조사하였다.

AgNP 와 ChNC/AgNP hybrid 나노입자의 화학적인 구조를 Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy (TENSOR 37 spectrophotometer with OPUS 6.0 software, Billerica, MA, USA) 를 사용하여 4000-600 cm⁻¹ 에서 조사하였다.

시료의 결정구조를 XRD diffractometer (PANalytical Xpert pro MRD diffractometer, Amsterdam, Netherlands) 를 사용하여 (40 kV, 30 mA, Cu K α radiation at a wavelength of 1.54056 Å and a nickel monochromator filtering wave) 2 θ = 5-80° 범위에서 조사하였다. ChNC 시료의 crystallinity index (CI) 다음 식에 따라 계산하였다 (Park, Baker, Himmel, Parilla, & Johnson, 2010):

$$CI = \frac{I_{110} - I_{am}}{I_{110}} \times 100$$

Crystallite의 평균크기(D)는 다음과 같은 Scherrer 식(Theivasanthi & Alagar, 2012) 을 이용하여 계산하였다.

$$D = \frac{0.9\lambda}{\beta_{1/2} \cos\theta}$$

시료의 열안정성은 thermogravimetric analyzer (Hi-Res TGA 2950, TA Instrument, New Castle, DE, USA)를 사용하여 조사하였고, TGA 데이터로부터 DTG 값을 다음식에 따라 계산하였다 (Oun & Rhim, 2015b):

$$DTG = (w_{t+\Delta t} - w_{t-\Delta t})/2\Delta t$$

DTG 곡선으로부터 시료의 onset (T_{onset}), endset (T_{endset}), mid-point of the decomposition temperature (T_{0.5}) 를 결정하고, TGA곡선으로부터 각단계에서의 무게변화와 최종 char content (final residue at 600 °C) 를 결정하였다.

(5) ChNC/AgNP의 항균활성

ChNC/AgNP의 항균활성을 식중독균인 E. coli 와 L. monocytogenes 에 대해 생균콜로니계수법과 디스크 확산 방법을 사용하여 평가 하였다 (Shankar, Oun, & Rhim, 2018; Shankar & Rhim, 2017).

나. 결과 및 고찰

(1) 키틴나노크리스탈(ChNC)의 미세구조 및 입자분포

모든 키틴나노크리스탈 (ChNC^{H2SO4}, ChNC^{TEMPO}, ChNC^{APS}) 는 물에 잘 분산이 되었다. 이들 키틴나노크리스탈의 STEM 으로 조사한 미세구조와 입도분포도를 그림. 14에 나타냈다. 이들은 모두 침상의 구조를 보였으며 평균길이는 ChNC^{H2SO4}, ChNC^{TEMPO}, ChNC^{APS}이 각각 426 ± 10 nm, 676 ± 13 nm, 486 ± 52 nm 였다. 이들 입자의 미세구조와 크기 및 분산도는 키틴의 원료 뿐만 아니라 키틴의 분리방법 및 분리 조건 등에 따라 달라진다 (Fan, Fukuzumi, Saito, & Isogai, 2012).

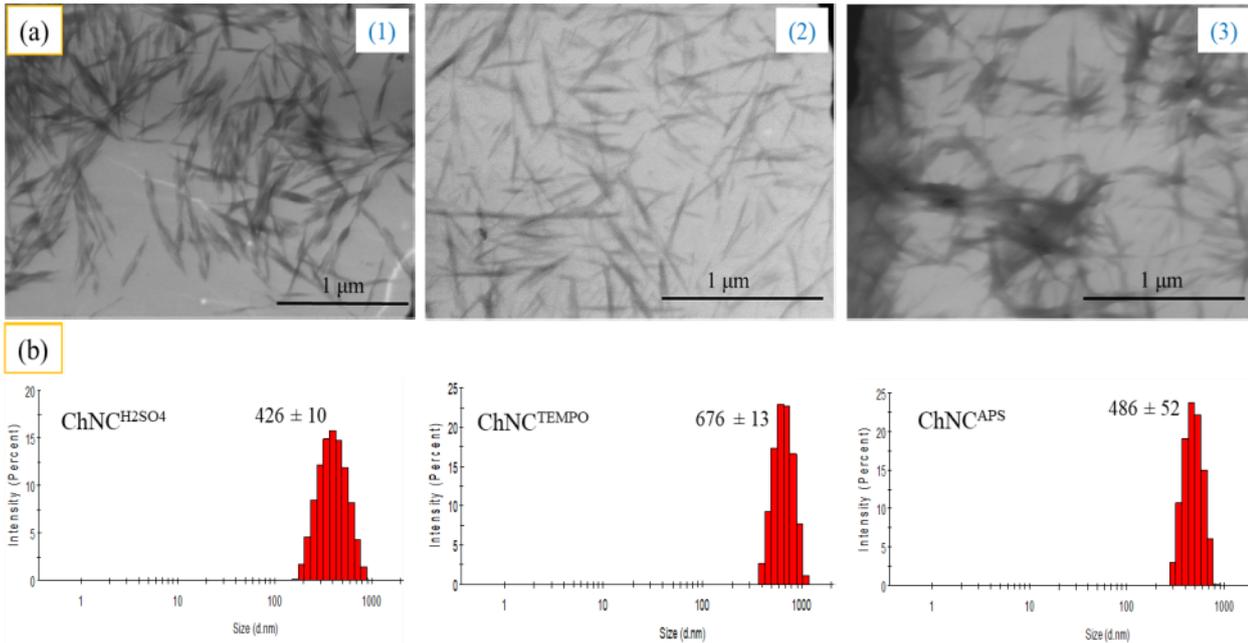


그림. 14. (a) STEM images and (b) particle size distribution of chitin nanocrystals isolated using different methods. (1: ChNC^{H2SO4}, 2: ChNC^{TEMPO}, 3: ChNC^{APS})

(2) 키틴나노크리스탈의 Carboxyl 함량

분리된 키틴나노크리스탈의 sulfate 함량, carboxyl 함량 및 degree of oxidation (DO) 값은 Table 3에 보인 바와 같다.

Table 3. Sulfate content, carboxyl content and degree of oxidation (DO) of chitin nanocrystals

Samples	Sulfate content (μ mol/g)	Carboxyl content (mmol/g)	DO
ChNC ^{H2SO4}	135	-	-
ChNC ^{TEMPO}	-	0.708	0.117
ChNC ^{APS}	-	1.42	0.24

DO: Degree of oxidation

(3) ChNC/AgNP의 광학특성

AgNP와 3종의 ChNC/AgNP 나노입자의 외관과 UV-Vis light absorption spectra 결과를 그림. 15에 나타냈다. 순수한 AgNP (그림. 15a) 는 broad absorption peak를 보이고 있는데 이는 AgNP의 aggregation 때문이다. 그러나 키틴나노크리스탈과 하이브리드를 형성한 후에는 모든 ChNC/AgNP 가 415 nm 에서 AgNP 의 특징적인 분명한 피크를 나타냈다 (Nabeela et al., 2016; Oun & Rhim, 2017a). ChNC는 하이브리드 나노입자의 분산성을 증진시킬 뿐 아니라 AgNP의 aggregation을 방지하였다. AgNP의 plasmonic peak 의 강도는 키틴의 활성그룹(sulfate groups

or carboxyl groups)에 따라 확연하게 달라졌다. 순수한 AgNP에 비해 $\text{ChNC}^{\text{H}_2\text{SO}_4}$ 와 결합한 AgNP의 피크가 증가하였으며 (Lokanathan et al., 2014), 산화형의 ChNC ($\text{ChNC}^{\text{TEMPO}}$, ChNC^{APS})와 결합한 AgNP는 415 nm에서 좁고 강한 피크를 나타냈는데, 이는 작은 입자의 AgNP에 기인하는 것으로 판단된다. 이 결과로부터 산화법에 의해 생성된 carboxyl groups이 산가수분해법에 의해 생성된 sulfate ester groups에 비해 보다 강한 안정제로 작용함을 알 수 있다

안정성 테스트 결과 oxidized-ChNC (ChNCAPs , ChNCTEMPO)를 함유하는 용액은 가열 시 흰색에서 갈색으로 변하였으며, 산가수분해법으로 제조된 ChNC 용액은 색의 변화가 없었다 (그림. 15b). 이 결과는 carboxyl groups이 ChNC의 표면에서 AgNP의 nucleation과 안정화에 중요한 역할을 하며, sulfate groups은 단지 AgNP의 안정화 기능만을 가짐을 나타낸다.

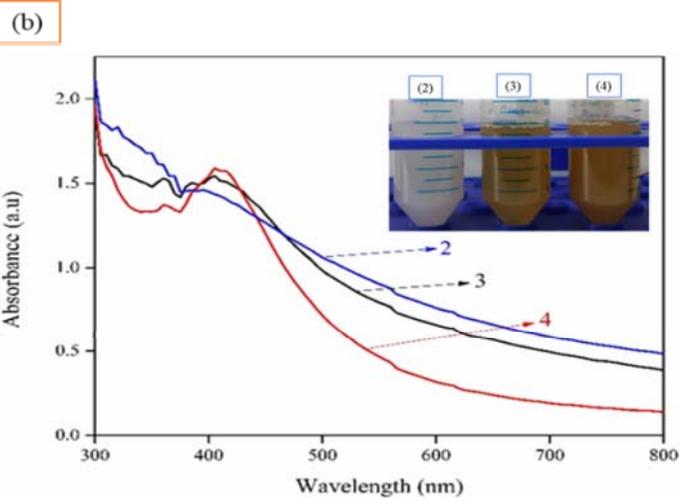
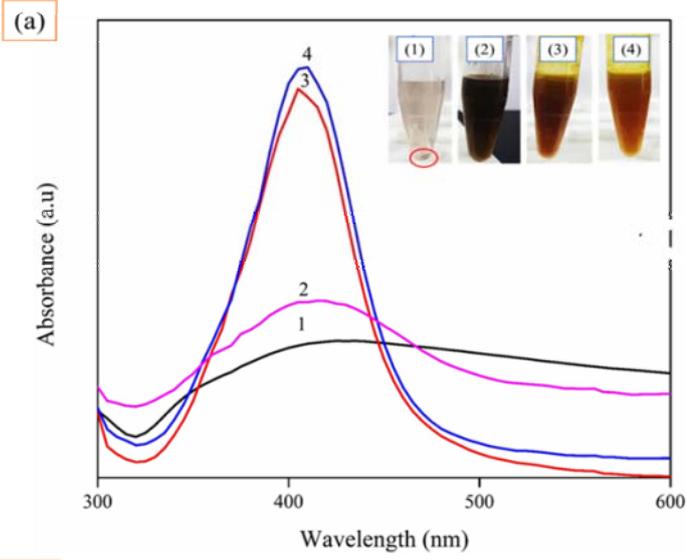


그림. 15. UV-vis absorption spectra and appearance (inset photos) of ChNC/AgNP suspensions (0.05 wt%) with NaOH (a) and without NaOH (b). (1: AgNP, 2: $\text{ChNCH}_2\text{SO}_4/\text{AgNP}$, 3: $\text{ChNCTEMPO}/\text{AgNP}$, 4: $\text{ChNCAPS}/\text{AgNP}$).

(4) ChNC/AgNP의 미세구조 및 EDS

ChNC/AgNP 하이브리드의 AgNP의 크기와 함량에 대한 ChNC 분리 방법, 황산 가수 분해 방법, TEMPO 산화 방법 및 APS (ammonium persulfate method)의 효과를 조사하였다. AgNP와

ChNC/AgNP의 TEM 이미지와 입자분포 및 EDS 분석결과를 그림. 16.에 나타냈다. 순수한AgNP는 평균직경이 23.9 ± 6 nm인 구형의 입자였다. ChNC와 결합하지 않았을 때에는 Fig. 2a 에서 보는 바와 같이 aggregation을 형성하여 침전되었다. AgNP의 입자의 크기는 산가수분해법과 TEMPO-oxidation 및APS 방법으로 제조된 키틴나노크리스탈과 하이브리드를 형성한 경우 각각 16.6 ± 5.5 nm, 12.9 ± 4.4 nm, 6.3 ± 3.7 nm 로 감소하였다. 이는 이들 키틴나노크리스탈이 은 나노입자의 aggregation 방지와 capping agent로 작용하였기 때문이다.

본 연구결과에서는 특히 APS 방법으로 제조한 ChNC 가 은나입자의 안정성을 증진시키는데 탁월한 효과가 있음을 알 수 있었다.

ChNC/AgNP하이브리드의 EDS 결과는 ChNC 의 표면에 은나노입자가 형성되었음을 보이고 있다 (그림. 16c). 은의 피크는 ChNC 의 종류에 따라 달랐는데, ChNCAPS가 가장 큰 피크를 보였으며 (25.5 wt%) 다음으로 ChNCTEMPO (15.6 wt%) 와 ChNCH₂SO₄ (10.4 wt%)의 순으로 나타나 ChNC 의 표면에 은나노입자의 형성과 분포에 carboxyl groups 의 역할이 큼을 알 수 있다.

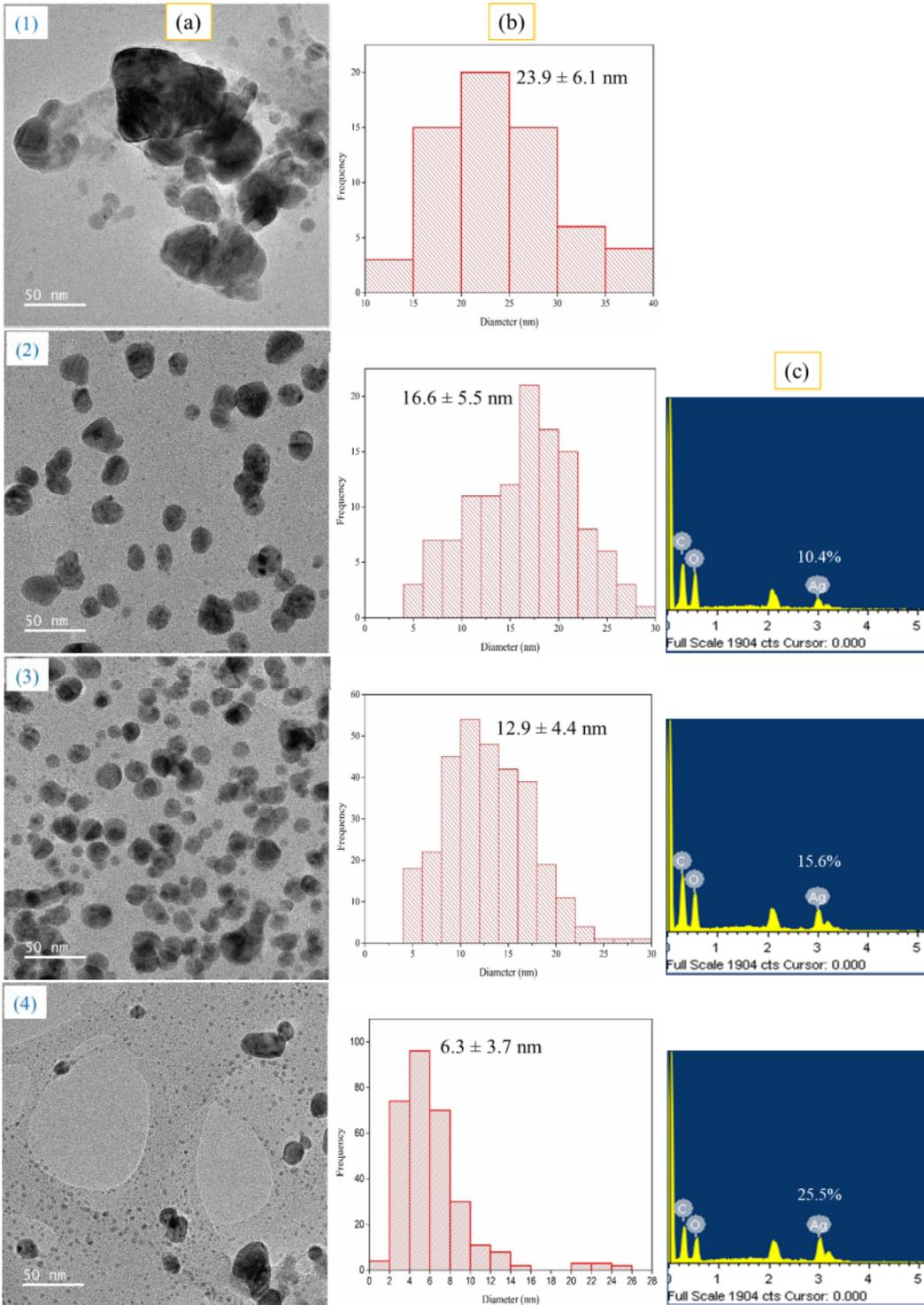


그림. 16. (a) TEM images, (b) size distributions, and (c) EDS images of (1) AgNP, (2) ChNCH₂SO₄/AgNP, (3) ChNCTEMPO/AgNP, and (4) ChNCAPS/AgNP.

(5) FTIR 분석

각 키틴나노크리스탈과 ChNC/AgNP의 화학구조의 변화 유무를 FTIR 을 이용하여 조사하였으며 그 결과를 그림. 17에 나타냈다. 분리된 ChNC는 특징적인 키틴의 피크를 보였다 (Oun & Rhim, 2017b; Wijesena et al., 2017). ChNC/AgNP 하이브리드에 대한 FTIR 테스트 결과는 뚜렷한 변화가 없어 이들 하이브리드 입자가 van der Waal's force에 의해 결합되어 있음을 확인하였다

(Madhumathi et al., 2010; Solairaj & Rameshthangam, 2017).

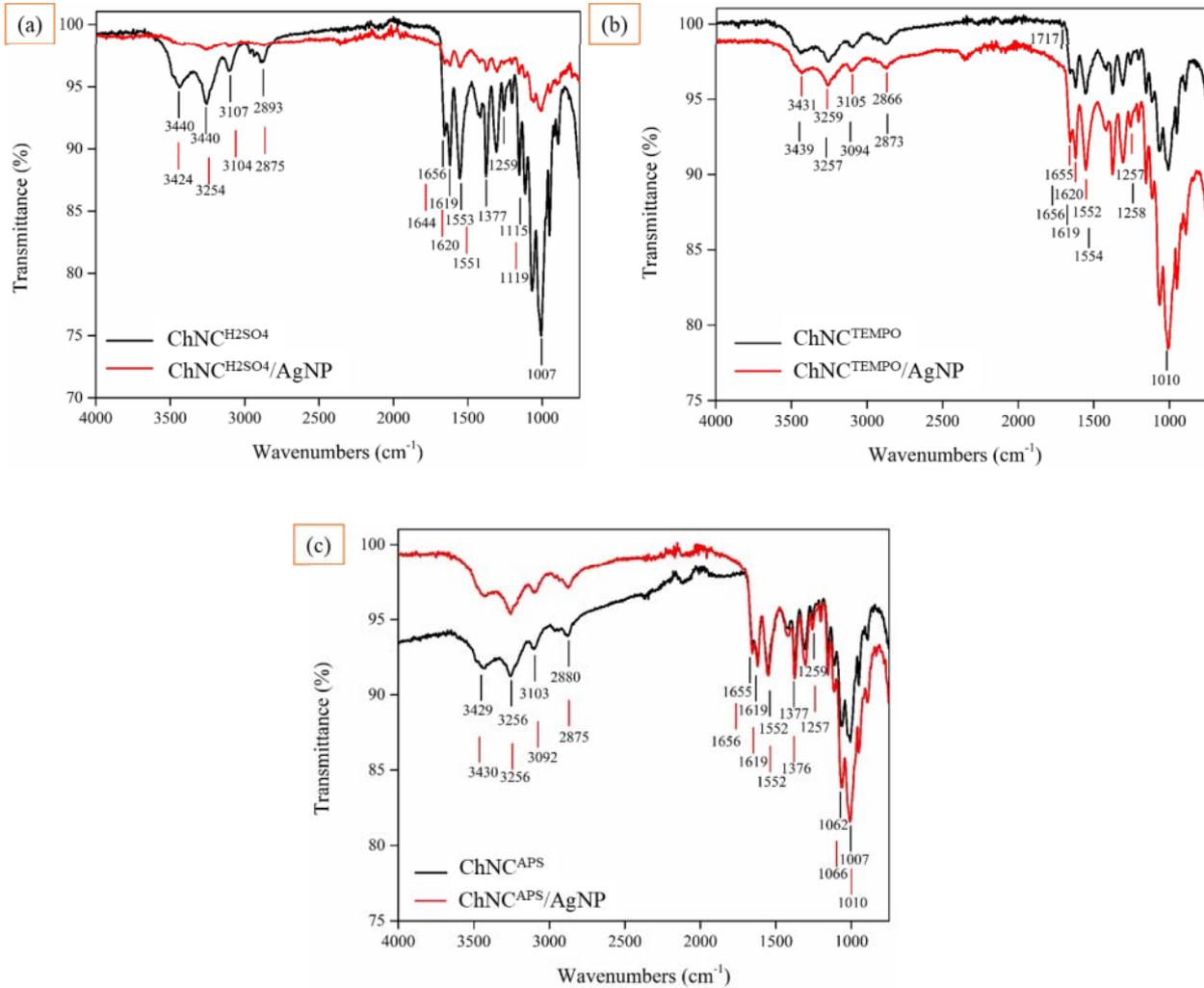


그림. 17. FTIR spectra of (a) ChNCH₂SO₄/AgNP, (b) ChNC^{TEMPO}/AgNP, and (c) ChNC^{APS}/AgNP.

(6) X-ray diffraction analysis

AgNP와 ChNC/AgNP 하이브리드나노입자의 X-ray diffraction 테스트 결과를 그림. 18에 보였으며, 이들의 결정구조와 crystallinity index (CI) 및 crystallite size (D) 결과를 Table 4에 나타냈다. ChNC는 of $2\theta = 5-30^\circ$ 에서 diffraction profile 을 보였는데, 이는 α -chitin의 crystal pattern 과 일치한다(Fan et al., 2008). ChNCAPS/AgNP가 가장 낮은 CI값을 나타냈다 (Table 4). AgNP 크리스탈의 크기는 34.7 nm였는데, ChNCH₂SO₄, ChNC^{TEMPO}, ChNCAPS과 하이브리드를 형성한 후에는 각각 18 nm, 9.1 nm, 8.3 nm로 감소하였다.

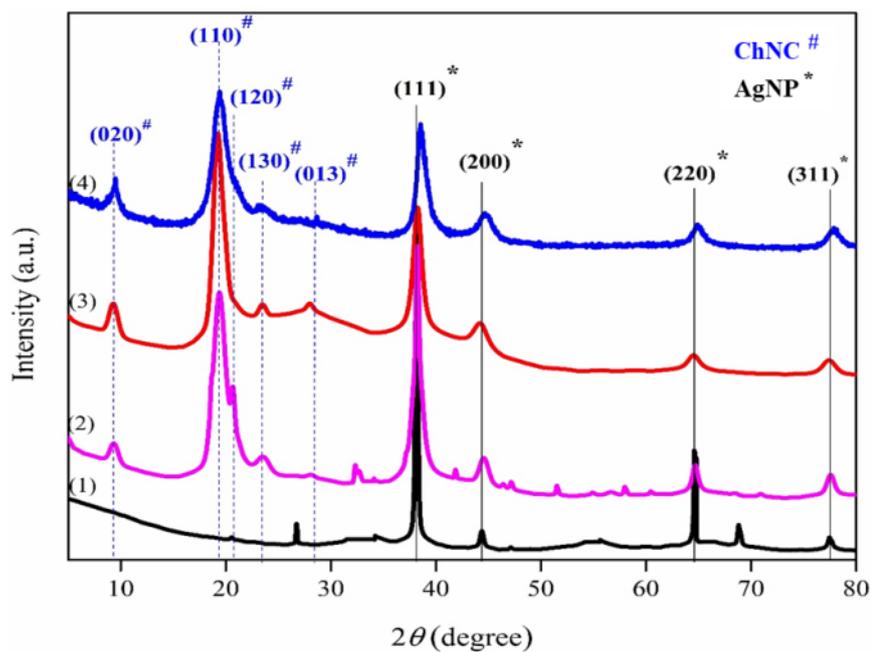


그림. 18. XRD patterns of (1) AgNP, (2) ChNCH₂SO₄/AgNP, (3) ChNCTEMPO/AgNP, and (4) ChNCAPS/AgNP.

Table 4. Crystalline characteristics of AgNP and ChNC/AgNP hybrid nanomaterials.

	ChNC Peak (index)		AgNP Peak (index)		Cl (%)	D (nm)
AgNP	-		38.13 (111)	44.34 (200)	-	34.7
			64.51 (220)	77.44 (311)		
ChNC ^{H2SO4} /AgNP	09.37 (020)		38.21 (111)	44.54 (200)	84.2	18.0
	19.37 (110)		64.63 (220)	77.50 (311)		
	20.66 (120)					
	23.56 (130)					
	28.11 (013)					
ChNC ^{TEMPO} /AgNP	09.31 (020)		38.22 (111)	44.21 (200)	83.0	9.1
	19.23 (110)		64.49 (220)	77.35 (311)		
	23.47 (130)					
	27.99 (013)					
ChNC ^{APS} /AgNP	09.47 (020)		38.62 (111)	44.66 (200)	79.1	8.3
	19.35 (110)		64.85 (220)	77.86 (311)		
	20.66 (120)					
	23.56 (130)					
	28.65 (013)					

AgNP: silver nanoparticles; ChNC: chitin nanocrystals; Cl: crystallinity index of ChNC; D: crystallite size of AgNP

(7) Thermogravimetric analysis

AgNP 와 ChNC/AgNP 하이브리드의 열안정성을 TGA를 사용하여 조사하였으며 그 결과를 그림. 19에 나타냈으며, 그 결과를 Table 5에 나타냈다. AgNP 와 ChNC/AgNP 하이브리드는 가열에 의해 두 단계의 무게감소모습을 보이고 있는데, 첫번째는 80-120 °C에서 나타났으며, 이는 ChNC 내의 수분의 증발에 의한 것이다 (Oun & Rhim, 2017b). 주된 무게감소는 300-400°C에서 관찰되었는데 이는 키틴의 열분해에 기인한다 (Table 5).

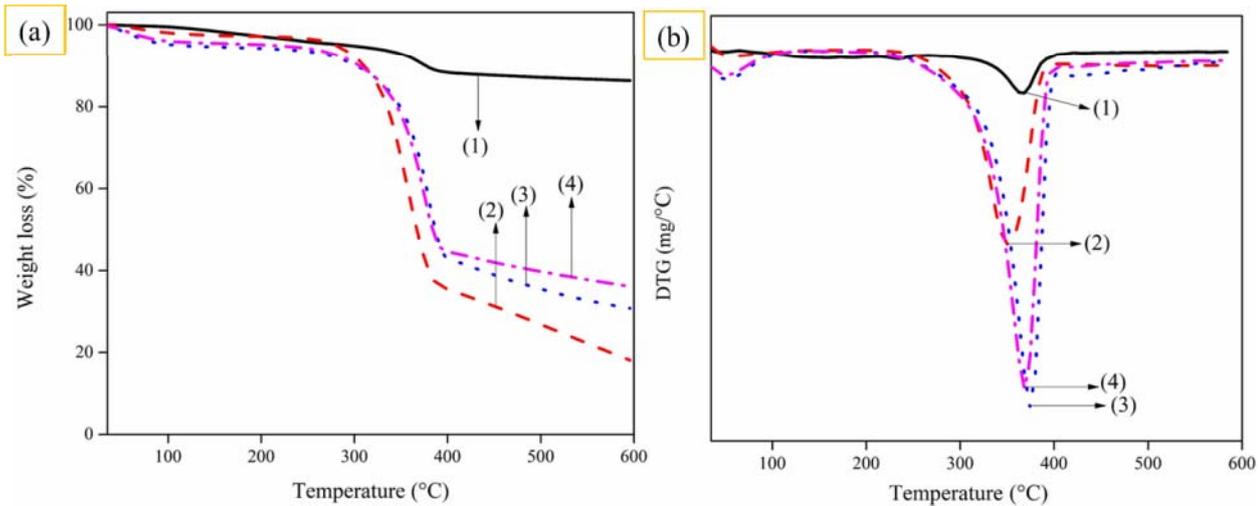


그림. 19. (a) Thermogravimetric (TGA) and (b) differential thermogravimetric (DTG) thermograms of (1) AgNP (2) ChNCH₂SO₄/AgNP (3) ChNCTEMPO/AgNP, and (4) ChNCAPS/AgNP.

Table 5. Thermal parameters of AgNP and ChNC/AgNP hybrids.

Samples	Decomposition Temp. (°C)		Char at 600 °C (%)
	(T _{onset} /T _{end})	T _{0.5}	
AgNP	321/403	365	86.3
ChNC ^{H₂SO₄} /AgNP	251/391	350	18.0
ChNC ^{TEMPO} /AgNP	245/403	374	30.8
ChNC ^{APS} /AgNP	245/397	368	36.1

Tonset: starting decomposition temperature; Tend: End of decomposition temperature; T0.5: mid-point of the decomposition temperature; char at 600°C: the final residue left after thermal degradation at 600°C.

(8) 항균활성

그람 음성균 (*E. coli*) 및 그람 양성균 (*L. monocytogenes*)에 대한 ChNC / AgNP 하이브리드의 항균 활성을 growth inhibition zone method 및 viable colony count 방법을 사용하여 조사한 결과를 그림. 20에 나타냈다. 모든 ChNC/AgNP 하이브리드는 분명한 항균활성을 보였으며, *E. coli*에 대한 ChNCH₂SO₄/AgNP, ChNCTEMPO/AgNP, ChNCAPS/AgNP의 inhibition zone이 각각 18.5 mm, 14.5 mm, 14 mm 를 나타냈다. 그러나 *L. monocytogenes* 에 대해서는 단지 ChNCAPS/AgNP 만이 10 mm 크기의 inhibition zone을 보여 이들 ChNC/AgNP 나노입자는 그람 양성균보다는 그람 음성균에 더 강한 항균성을 갖음을 알 수 있다. Colony count test 결과 역시 ChNC/AgNP 하이브리드 나노입자가 *E. coli*에 대해 강한 항균성을 나타내며, *L. monocytogenes*에 대해서는 단지 ChNCAPS/AgNP 만이 강한 항균활성을 나타냈음을 알 수 있다. 본 연구결과에서는 ChNCAPS/AgNP가 그람-음성균 및 그람-양성균 모두에게 강한 항균성을 갖음을 보이고 있다.

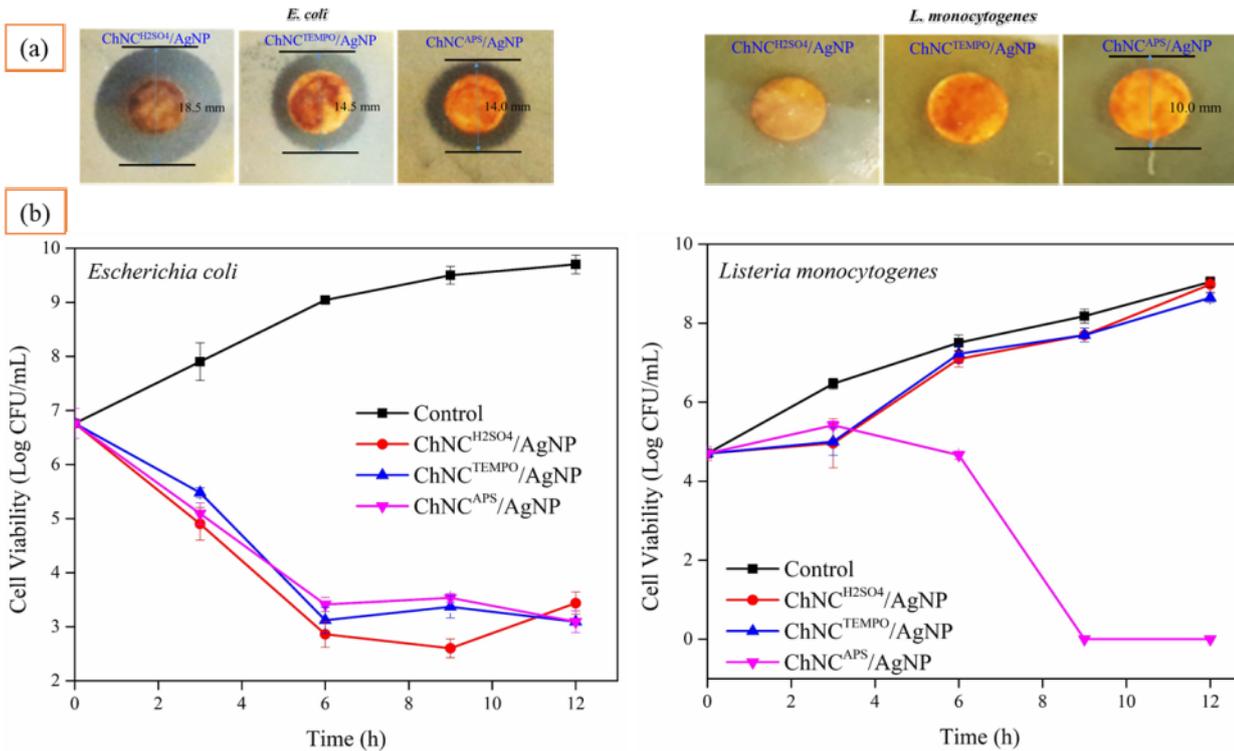


그림. 20. Antibacterial activity of ChNC/AgNP hybrids against *E. coli* and *L. monocytogenes* determined by (a) inhibition zone method and (b) colony count method.

다. 소결

세가지 다른 방법(acid hydrolysis, TEMPO-oxidation, ammonium persulfate method)을 사용하여 키틴나노크리스탈 (ChNC)을 제조하고, 이들을 나노은 제조의 환원제 및 안정화제로 사용하여 ChNC/AgNP 하이브리드 나노입자를 제조하였다. ChNC는 AgNP의 aggregation을 방지하여 작은 입자와 좁은 입자분포를 갖도록 하였다. ChNC의 Carboxyl 함량이 나노은의 크기 결정에 중요한 역할을 하였다. 또한 ChNC/AgNP 하이브리드 나노입자, 특히 ChNCAPS/AgNP는 식중독 세균인 *E. coli* 와 *L. monocytogenes*에 강한 항균성을 나타냈다.

제2절 식품 보관 기능성이 향상된 종이류 시제품 개발

1. 3종의 탄수화물 (알긴산 염, 카르복시 메틸 셀룰로오스, 카라기난) 혼합물과 자몽 씨 추출물로 코팅한 항균 포장지 개발

합성 고분자 코팅지의 대체 용도로 알긴산, 카복시 메틸 셀룰로오스 및 카라기난의 3 원 블렌드에 자몽 종자 추출물 (GSE)을 첨가한 기능성 고분자를 코팅하여 기능성 코팅지를 제조하였다. 전자주사 현미경 (FE-SEM)을 사용하여 분석한 코팅지의 표면 및 단면의 미세 구조는 바이오 폴리머가 기본 종이와 상용성이 있고 다공성 섬유 구조를 촉진시켜 매끄러운 표면 코팅을 형성 함을 나타냈다. 수분저항성 및 내유성, 수증기 장벽, 표면 소수성 및 기계적 특성과 같은 생체 고분자 코팅 용지의 특성은 베이스 용지뿐만 아니라 상업적으로 사용되는 PE 코팅 용지와 비교하여 상당히 증가했다. 혼합생체 고분자 코팅제는 식중독세균인 *Listeria monocytogenes* 및 *Escherichia coli*에 대해

여 강한 항균 활성을 나타냈으며, 이들 미생물을 각각 3 시간 및 9 시간 이내에 완전히 사멸시켰다. 생고분자 코팅지로 포장한 생선 케이크 포장시험에서 6-9 일 만에 표면 접종 박테리아가 완전히 파괴된 것으로 나타났다.

가. 재료 및 방법

(1) 재료

Food grade carrageenan (HGE-A, pure κ -carrageenan, viscosity: 60 cps, 1.5% aq. solution at 75 °C) 은 MSC Co. Ltd. (Sungnam city, Kyunggi-do, Korea)에서 구입하였으며, Sodium carboxymethyl cellulose (CMC) 는 Junsei Chemical Co., Ltd. (Tokyo, Japan)에서, Sodium-alginate (MW: 75-150 kDa; guluronate/mannuronate ratio ≥ 1.5) 는 Kanto Chemical Co. (Tokyo, Japan) 구입하였다. Glycerol은 Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd. (Siheung, Gyeonggi-do, Korea)에서 구입하고 Grapefruit seed extract (GSE, DF-100, 50% glycerol, 0.48% naringin, and other compounds) 은 Komipharm International Co., Ltd. (Seoul, Korea)에서 구입하였다. Tryptic soy broth (TSB), brain heart infusion (BHI) 와 agar 분말은 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd (Ansan, Gyeonggi-do, Korea)에서 구입하였다. Wrapping food paper (basis weight: 40 g/m²; thickness: 50 μ m) for biopolymer coating and PE-coated paper (basis weight: 45 g/m²; thickness: 55 μ m) 는 Kukil Paper MFG Co., Ltd. (Seoul, Korea)로부터 제공받았으며, 냉동 갈치페이스트는 OurHome Co., Ltd. (Yongin, Gyeonggi-do, Korea)에서 제공하였다. 식중독균주인 *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313) 와 *Escherichia coli* O157: H7 (ATCC 43895) 는 한국중균협회 (KCTC, Seoul, Korea)로부터 구입하여 각각 BHI 및 TSB 아가 배지에 배양하여 4 °C 에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

(2) 코팅용액의 제조 및 코팅지

For the preparation of coating solutions, 3.6 g of glycerol as a plasticizer was dissolved in 200 mL of distilled water and stirred for 20 min using a magnetic stirrer, followed by the addition of 0.6 g of grape seed extract (GSE) and continued stirring for 10 min. 코팅 용액의 제조를 위해 가소제인 글리세롤 3.6g을 증류수 200mL에 녹인 후 교반기를 이용하여 20 분간 교반한 후 자몽씨 추출물 (GSE) 0.6g을 가하여 10 분 교반 한후 각 3 g 의 alginate, carrageenan, CMC를 상기 용액에 분산시킨 후 90 °C 에서 60 분간 가열용해 시킨 후 65-70 °C 로 냉각시켜 코팅에 사용하였다. 종이코팅은 wire bar coater (SA-203 Wire Bar Coaters, Donghak Machine Co., Ltd., Korea)를 사용하였으며, 이때 두께가 다른 3종의 코팅바 (No. 20, 40, and 60) 를 사용하여 각기 다른 두께의 코팅지를 제조하였다 (Rhim, Lee, & Hong, 2006).

(3) 코팅지의 미세구조

코팅지의 표면과 절단면의 미세구조를 field emission scanning electron microscope (FE-SEM) (FE-SEM, S-4800, Hitachi Co., Ltd., Matsuda, Japan) 를 사용하여 조사하였다.

(4) 평량 및 두께

베이스용지와 코팅지 및 PE-코팅지의 평량 (Basis weight: BW, g/m²)를 일정 크기 (5 cm x 5 cm)로 절단한 용지의 무게를 측정하여 결정하였다. 종이 시료의 두께는 digital hand-held digimatic

micrometer (Mitutoyo, Model QuantuMike IP 65, Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japan) 를 사용하여 측정하였다.

(5) Mechanical properties

포장지 시료(uncoated, biopolymer-coated, PE-coated papers)의 tensile strength (TS), elongation at break (EB), elastic modulus (EM) 등의 mechanical properties 를 ASTM Method D 882-88 방법에 따라 Instron Universal Testing Machine (Model 5565, Instron Engineering Corporation, Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다.

(6) 열안정성

시료의 열안정성은 thermogravimetric analyzer (Hi-Res TGA 2950, TA Instrument, New Castle, DE, USA)를 사용하여 조사하였고, TGA 데이터로부터 DTG 값을 다음식에 따라 계산하였다 (Oun & Rhim, 2015b):

$$DTG = (wt+\Delta t - wt-\Delta t)/2\Delta t$$

종이시료의 최대분해온도 (Tmax) 는 DTG 곡선으로부터 구하고, 최종 char content 와 무게감소는 (%)TGA곡선으로부터 구하였다 (Shankar & Rhim, 2017).

(7) 수분 및 유지 흡착율

종이시료의 수분흡착율 (water absorptiveness; WA, g water/m²)은 ASTM D 3258-93 방법에 따라 Cobb test 를 사용하여 측정하였다 (Rhim & Kim, 2009).

유지흡착율(Oil absorptiveness; OA, g oil/m²)은 Cobb test 장치를 사용하여 물대신 콩기름을 사용하여 측정하였다.

(8) 투습도 및 수분접촉각

시료의 투습도(water vapor permeability; WVP, g.m/m².Pa.s)는 ASTM E96-95 표준방법을 사용하여 측정하였다 (Gennadios, Weller, & Gooding, 1994). 투습컵법을 사용하여 먼저 시료의 투습률 (water vapor transmission rate; WVTR, g/m².s)을 결정한 후 다음 식에 따라 투습도를 계산하였다:

$$WVP = WVTR \times L/\Delta p$$

여기에서 L 은 종이 시료의 두께 (m), Δp 는 투습도 측정 시의 종이시료 양면의 분압차 (Pa) 이다. 시료의 수분접촉각 (water contact angle; WCA) 을 contact angle analyzer (model Phoenix 150, Surface Electro Optics Co., Ltd., Kunpo, Korea)를 사용하여 측정하였다.

(9) 항균활성

(Shankar & Rhim, 2017). 시험균을 무균적으로 TSB 및 BHI 배지에 접종하고 37 °C에서 16 시간 동안 항온배양 하였다. 희석한 접종액 (108-109CFU/mL)200μL를 50, 100 및 200 mg의 건조 된

생고분자 코팅 시료를 첨가한 20 mL TSB 및 BHI broth에 무균 적으로 옮기고 37 °C에서 15 시간 동안 항온에서 진탕배양하였다. 한천 플레이트에 샘플을 희석도포한 후 생존 세포 수를 측정하여 생육억제효과를 주기적으로 측정 하였다.

(10) 포장시험

코팅종이의 항균효과를 조사하기 위하여 모델식품으로서 다진 생선 페이스트를 쉬트형태로 제조하여 포장시험에 사용하였다. 시험용 시료는 120 °C 에서 15 분간 처리한 후 실온으로 냉각시킨 후 약 10⁴CFU/mL의 *L. monocytogenes* 와 *E. coli* 액으로 1 분 처리한 후 10 분간 건조시킨 것을 사용하였다. 포장지는 코팅처리하지 않은 종이, No. 40 코팅바로 코팅한 생고분자 코팅 종이 및 PE-coated paper pouches (size of 7 cm x 7 cm)를 사용하였다. 상기 생선시료를 포장지로 포장하여 냉장고 (5 ± 1 °C) 에 9 일 동안 보관하면서 시료를 0, 3, 6, 9일 간격으로 채취해 미생물의 생육정도를 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 코팅종이의 외관 및 미세구조

모든 코팅 종이는 생고분자가 종이에 잘 흡착되어 PE-코팅지와 같이 표면이 매끄럽고 유연한 코팅지가 제조되었다.

생고분자 코팅효과는 FE-SEM images (그림. 21)를 통해서도 확실히 알 수 있는데, 코팅을 하지 않은 종이는 표면이 거칠고 세룰로오스 섬유 사이의 공극이 많이 있는데, 코팅후에는 공극이 메워져 매끄러운 표면을 갖고 있는 모습을 관찰할 수 있다. 또한 코팅종이의 절단면을 관찰한 결과는 생고분자와 종이 사이에 접착이 잘 이루어졌음을 알 수 있다.

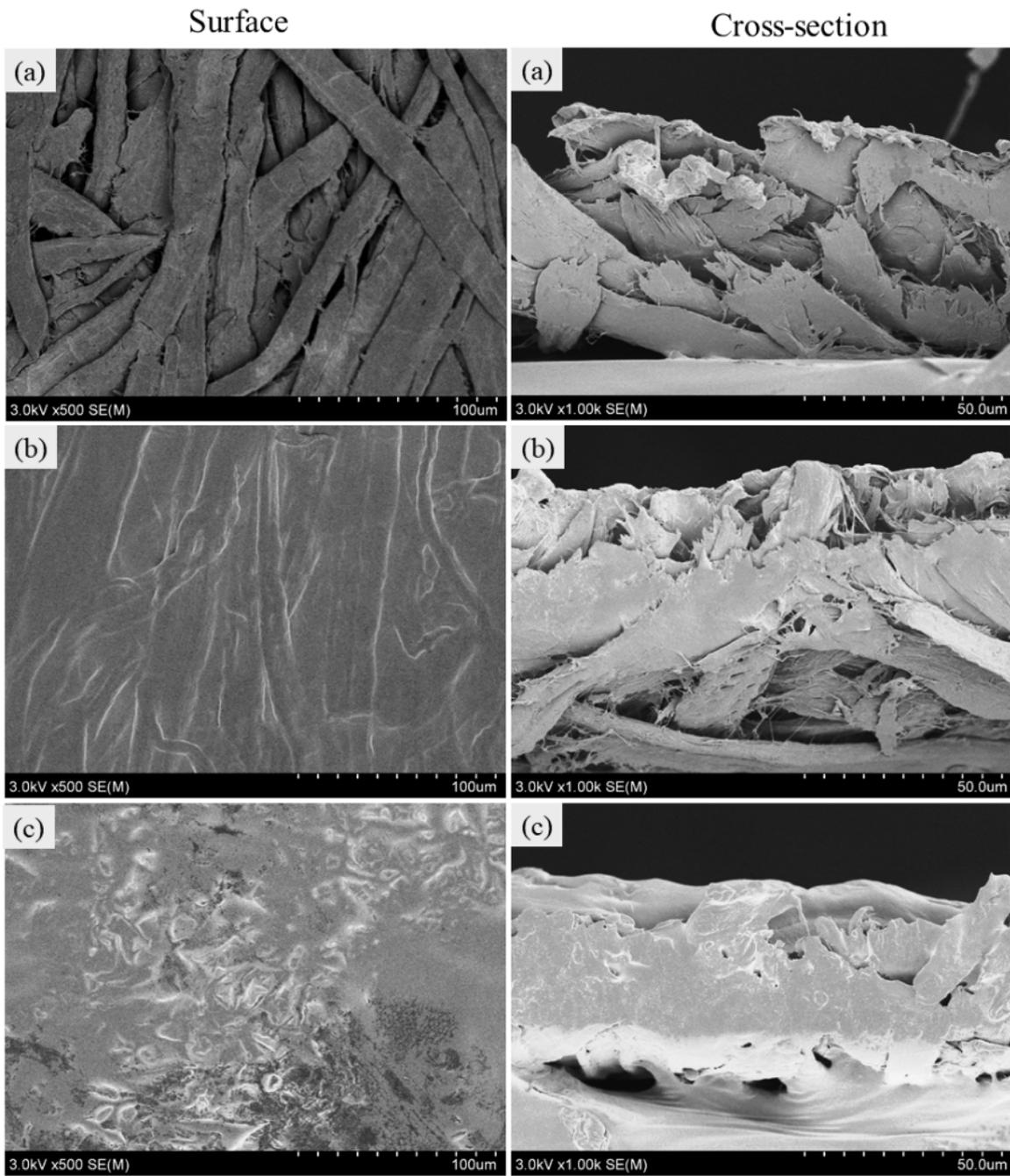


그림. 21. SEM micrographs of surface and cross-section of (a) uncoated, (b) biopolymer-coated, and (c) PE-coated papers.

(2) 코팅지의 평량 및 두께

종이시료의 평량, 코팅무게, 종이두께, 및 코팅두께의 결과를 Table 6에 나타냈다.

Table 6. Basis weight, thickness, coating weight, and coating thickness of coated papers. 1)

Paper	Basis weight (g/m ²)	Thickness (μm)	Coating weight (g/m ²)	Coating thickness (μm)
Uncoated	40.4±0.6 ^a	50.4±1.7 ^a	ND	ND
BP-Coated (No. 20)	44.9±0.4 ^b	60.5±2.9 ^c	4.5±0.4 ^a	10.1±2.9 ^a
BP-Coated (No. 40)	48.0±1.0 ^d	61.4±1.3 ^{cd}	7.6±1.0 ^b	11.0±1.3 ^{ab}
BP-Coated (No. 60)	49.2±1.1 ^e	62.8±1.4 ^d	8.8±1.1 ^c	12.4±1.4 ^b
PE-coated	45.5±0.7 ^c	55.5±1.9 ^b	ND	ND

1)The values are presented as mean±standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p > 0.05$) different from Duncan's multiple range tests. ND: not determined.

(3) 코팅종이의 기계적 특성

코팅처리하지 않은 종이, 생고분자 코팅종이 및 PE-코팅종이의 tensile test 결과를 그림. 22에 나타냈다. 생고분자로 코팅한 종이의 인장강도(TS), 연신율 (EB) 및 탄성률 (EM) 은 코팅에 의해 유의적인 ($p < 0.05$) 변화를 보였다. 코팅처리하지 않은 종이의 인장강도는 32.1±10.2 MPa이었으나 코팅처리후에 코팅두께에 따라 43.4 ± 4.1, 49.0 ± 4.9, and 47.1 ± 7.2 MPa으로 증가하였는데, 이는 PE-coated paper (36.9 ± 6.3 MPa)보다도 높은 강도를 보이고 있다. 코팅종이의 유연성과 rigidity도 생고분자 코팅에 의해 증가했음을 알 수 있었다.

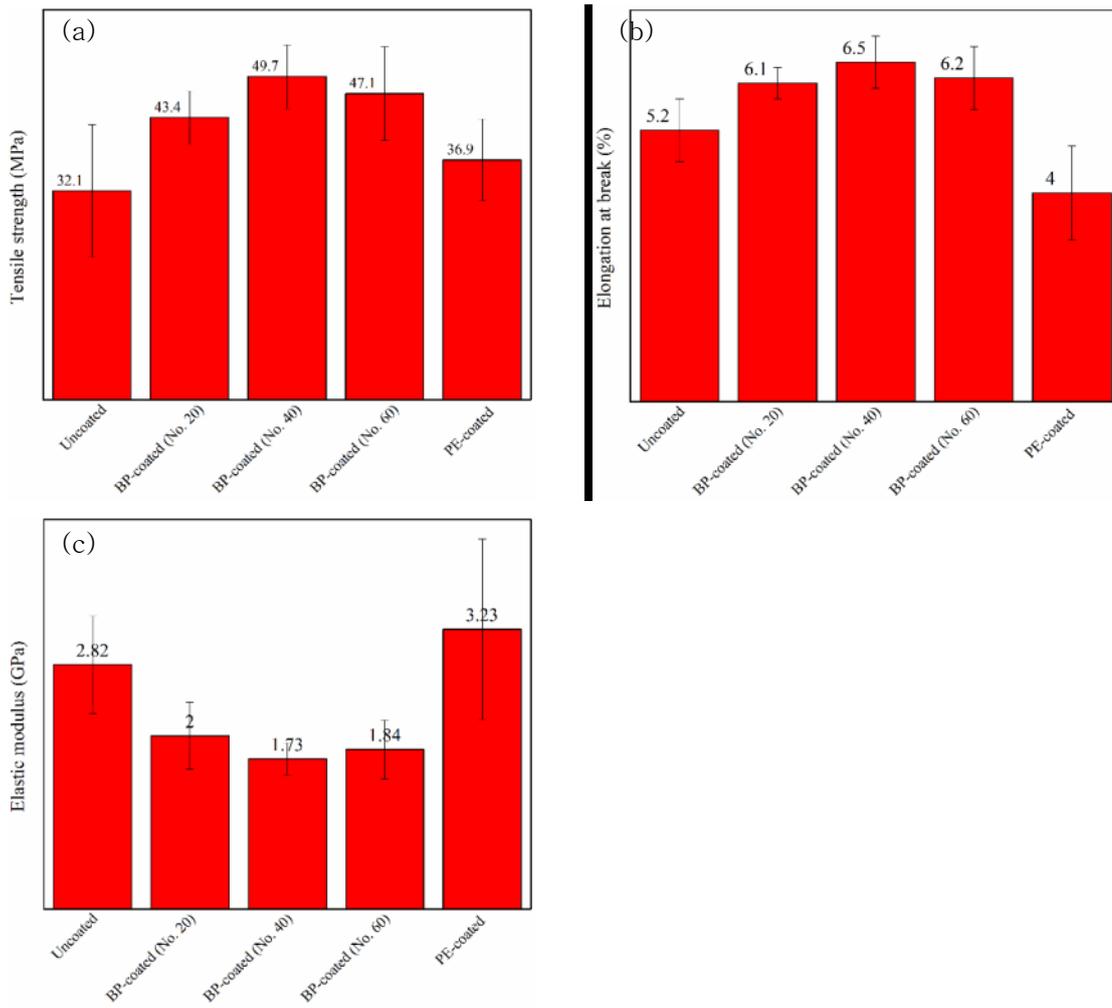


그림 22. Tensile strength (a), elongation at break (b), and elastic modulus (c) of biopolymer coated paper.

(4) 열안정성

코팅처리하지 않은 종이, 생고분자 코팅종이 및 PE-코팅종이의 열안정성에 대한 TGA 분석 결과를 그림 23에 나타냈다. 모든 종이 시료는 2단계의 열분해 과정을 보이고 있는데, 첫번째 무게 변화는 90 °C 부근에서 나타나기 시작했는데, 이는 수분의 증발에 기인하는 것으로 약 5-10%의 무게 감소가 있었다 (Sun et al., 2017). 두번째 무게 변화는 280 °C - 400 °C 사이에서 나타났는데, 이는 종이 섬유소의 열분해에 기인한다 (Shankar & Rhim, 2017). 열분해가 600 °C 에서 최종 무게는 uncoated, BP-coated (No. 20), BP-coated (No. 40), BP-coated (No. 60), PE-coated 종이 각각 0.05%, 0.08%, 0.12%, 0.29%, 0.08% 였다.

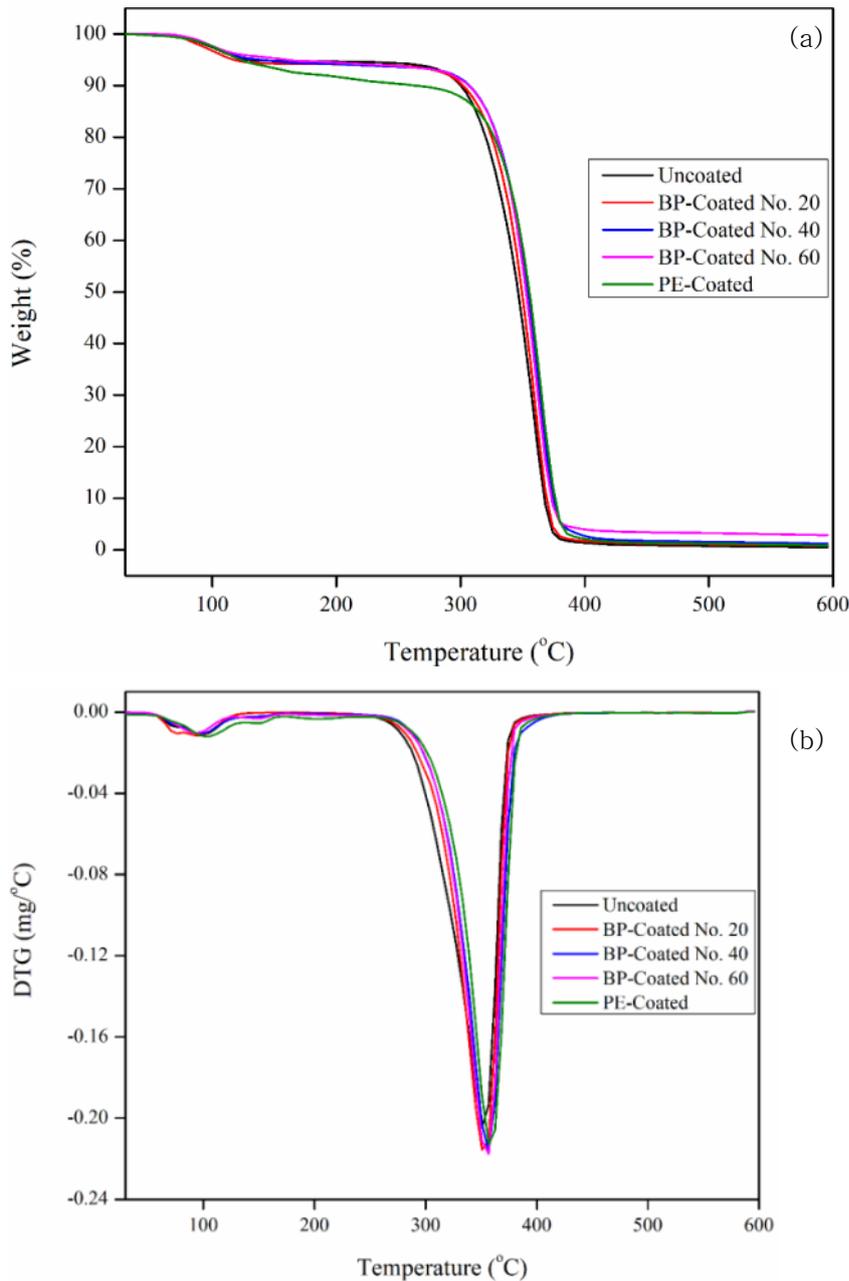


그림 23. (a) TGA and (b) DTG curves of uncoated, biopolymer-coated, and PE-coated papers.

(5) 수분흡착율 및 기름흡착율

종이시료의 수분 및 오일 저항성을 조사하기 위하여 이들 종이 시료의 수분흡착성 과 오일 흡착성 (water absorptiveness: WA, oil absorptiveness: OA)를 측정하여 그결과를 Table 7에 나타냈다. 코팅을 하지 않은 종지와 PE-coated 종지의 WA는 각각 41.4 ± 1.1 g H₂O/m² 과 22.1 ± 1.5 g H₂O/m²였다. 생고분자 코팅후에는 종지의 WA가 유의적으로 ($p < 0.05$) 감소하였다. 이는 코팅종지의 표면의 공극이 생고분자로 코팅되어 표면의 소수성이 증가하였기 때문인 것으로 판단된다. 코팅을 하지 않은 종지와 PE-coated 종지의 OA 는 각각 22.7 ± 1.9 과 3.5 ± 1.3 g oil/m² 였다. 코팅을 하지 않은 종지의 OA는 너무 높아 유지함유식품의 포장에는 적합하지 않음을 알 수 있으나 생고분자로 코팅한 후에는 OA가 크게 감소하여 유지함유식품의 포장에 적합함을 알 수 있었다.

Table 7. Water absorptiveness, oil absorptiveness, water vapor permeability, and water contact angle of coated papers.1)

Paper	WA (g H ₂ O/m ²)	OA (g oil/m ²)	WVP ($\times 10^{-11}$ g.m/m ² .Pa.s)	WCA (°)
Uncoated	41.4 ± 1.1^d	22.7 ± 1.9^d	231.7 ± 29.4^c	69.1 ± 6.1^a
BP-Coated (No. 20)	35.2 ± 2.5^c	5.8 ± 2.2^c	186.3 ± 17.2^b	92.0 ± 4.1^c
BP-Coated (No. 40)	25.4 ± 3.1^b	4.0 ± 1.6^{bc}	166.1 ± 23.7^b	94.1 ± 9.3^{cd}
BP-Coated (No. 60)	21.4 ± 1.3^a	2.1 ± 0.6^a	171.5 ± 11.7^b	100.1 ± 5.4^d
PE-coated	22.1 ± 1.5^a	3.5 ± 1.3^b	0.91 ± 0.1^a	85.7 ± 1.7^b

1)The values are presented as mean±standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p > 0.05$) different from Duncan's multiple range tests.

(6) 투습도 및 수분접촉각

종이시료의 수증기차단특성을 조사하기 위하여 투습도를 측정하였으며 그 결과를 Table 7에 나타냈다. 코팅을 하지 않은 종지의 WVP는 $231.7 \pm 29.4 \times 10^{-11}$ g.m/m².Pa.s로서 수증기 투과도가 높은 값을 나타냈다. 이는 앞서 SEM images (Fig. 1)에서 본 바와 같이 종지가 셀룰로오스 섬유인 porous한 구조를 갖기 때문이다. 반면에 생고분자를 코팅한 종지는 그 투습도가 $166.1 \pm 23.7 \times 10^{-11}$ g.m/m².Pa.s으로 현저하게 감소하였으나 PE-coated paper ($0.91 \pm 0.1 \times 10^{-11}$ g.m/m².Pa.s)에 비해서는 여전히 높은 값을 보였다. 비록 생고분자 코팅종지의 WVP가 PE-코팅종지에 비해 높기는 하나 햄버거나 프렌치프라이 포장용과 같은 일회용 포장재로는 사용이 적합한 것으로 판단된다 (Aloui & Khwaldia, 2017).

종이시료의 소수성 및 습윤성을 수분접촉각 (WCA)을 측정하여 평가하였으며, 그 결과를 Table 2에 표기하였다. 코팅을 하지 않은 종지의 WCA 는 $69.1 \pm 6.1^\circ$ 였으나 생고분자로 코팅한 후에는 현저하게 증가하였다. 또한 생고분자코팅 종지의 수분접촉각은 생고분자의 코팅두께에 비례하여 증가하였다. 특기할만한 사실은 생고분자로 코팅한 종지의 WCA 가 PE-코팅종지($85.7 \pm 1.7^\circ$)보다 높았다는 사실이다.

(7) 항균활성

6.7 wt% 의 GSE를 함유하는 생고분자로 코팅한 종이포장재의 항균테스트 결과를 그림. 24에 나타냈다. 예상대로 GSE를 함유하지 않은 대조군은 아무런 항균활성을 보이지 않았으나, 생고분자를 코팅한 종이는 두 종의 식중독 세균에 대해 강한 항균성을 나타냈으며, 코팅량이 증가할수록 항균성도 증가하였다. 미생물의 종류에 따라서는 *E. coli* 보다 *L. monocytogenes* 에 대해 더 큰 항균활성을 나타냈다. 4 mg/mL 의 생고분자 코팅을 사용했을 때 두 미생물의 생육은 각각 3 시간과 9 시간 만에 완전히 생육이 정지되었다.

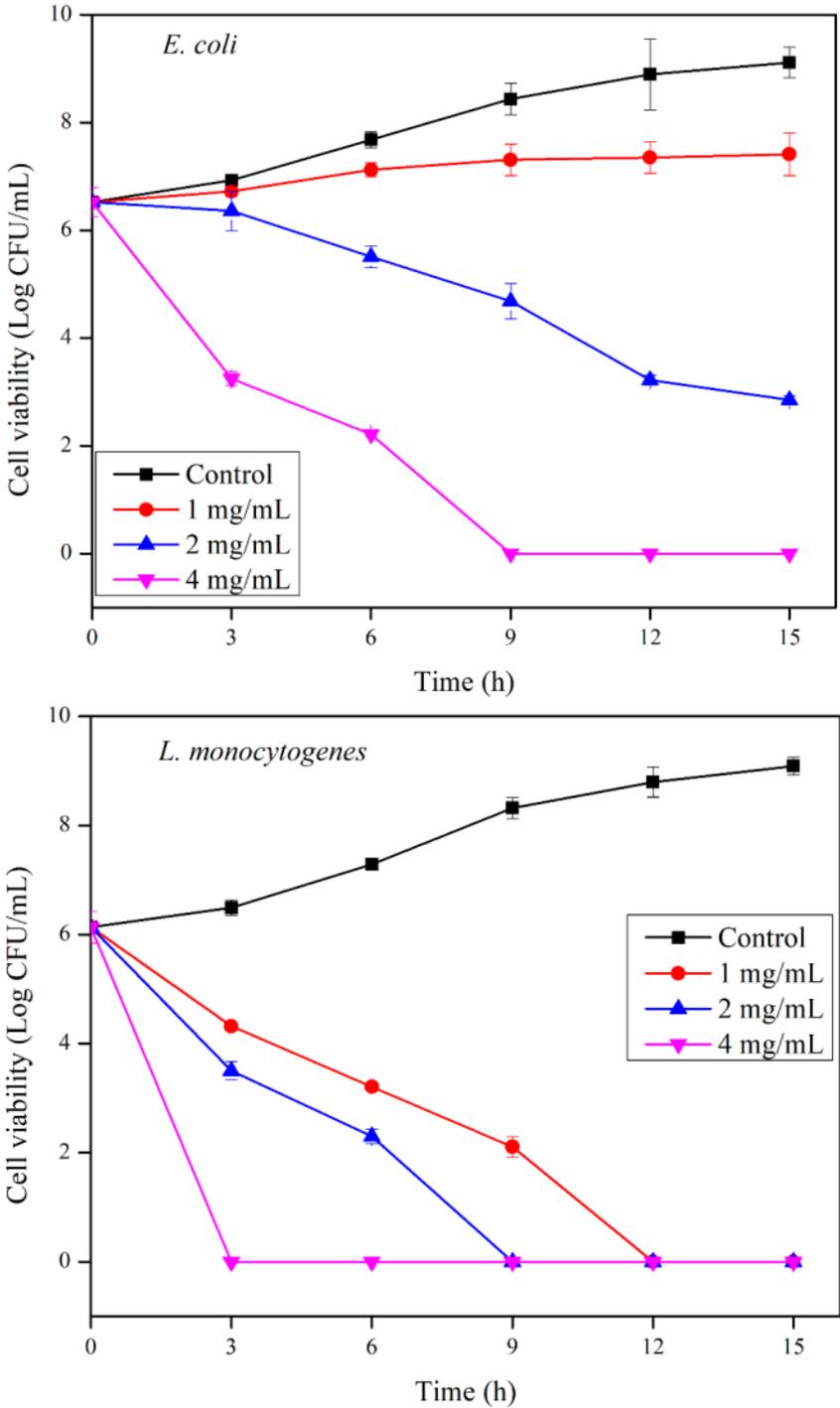


그림. 24. Antibacterial activity of blended biopolymer coating material.

(8) 포장시험

생고분자 코팅 종이의 적용 가능성을 조사하기 위해, 비 코팅, 생고분자코팅 (No. 40 코팅 바를 사용하여) 및 PE 코팅된 종이로 포장한 생선 페이스트를 냉장고 ($5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$)에서 9 일간 저장하면서 미생물 성장을 모니터링한 결과를 그림. 25에 나타내었다. 비코팅종이와 PE-코팅 종이로 포장한 생선육에서는 저장기간 중에 총균수가 계속 증가하였는데, 초기에는 4.0-4.5 log CFU/mL 로부터 9 일 후에는 8 log CFU/mL 이상으로 증가하였다. 그러나 생고분자코팅 종이로 포장한 생선육의 *L. monocytogenes*은 9일 저장 후에 0 log CFU/mL 로 감소하였으며, *E. coli* 는 2 log CFU/mL로 감소하였다. 이 결과는 생고분자로 코팅한 종이가 미생물의 성장을 막음으로써 식품의 포장 수명을 연장시켜 활성식품 포장 용도로 사용할 수 있는 가능성이 높음을 시사한다.

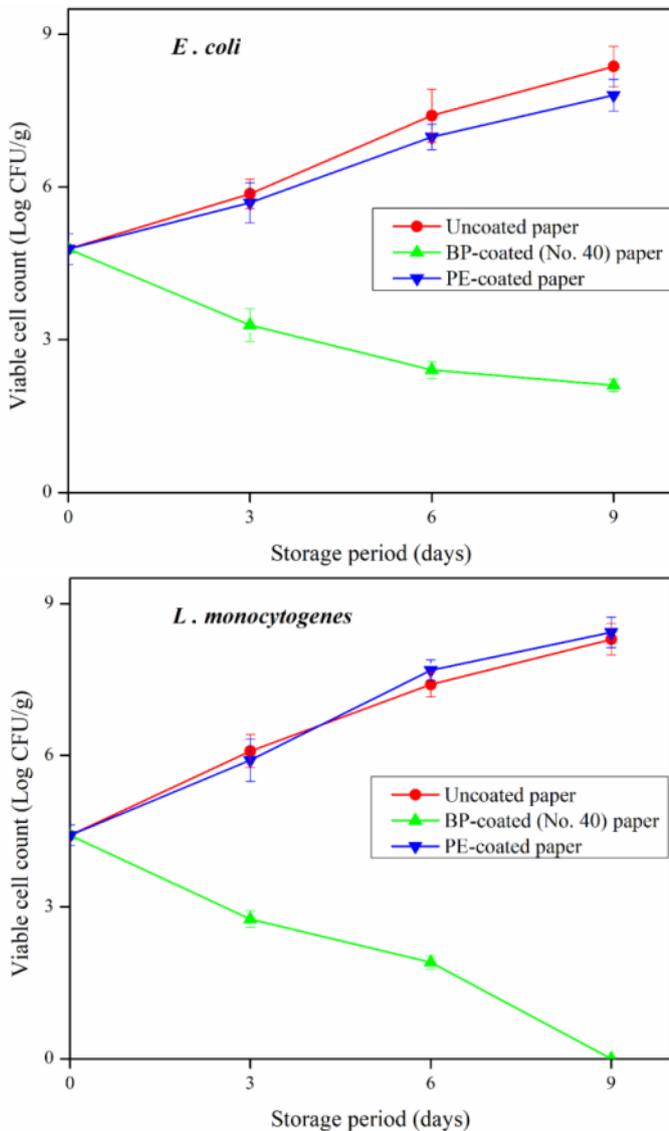


그림. 25. Storage test of minced fish pastes packaged with uncoated, biopolymer-coated, and PE-coated papers.

다. 소결

3종의 탄수화물 (알긴산, 카르복시 메틸 셀룰로오스, 카라기난)에 자몽씨 추출물 (GSE)을 혼합한 생고분자 코팅제를 종이에 코팅한 항균성 일회용 종이포장재를 제조하였다. 생고분자 코팅에 의해 종이포장재의 수분저항성, 유지저항성, 표면소수성 및 인장강도 등이 유의적으로 증가하였으며, PE-코팅종이와 비교할 정도로 그 물성이 증가하였다. 또한 생고분자 코팅 종이포장재는 식중독 세균인 *L. monocytogenes* 와 *E. coli* 에 대해 강한 항균활성을 나타냈다. 개발된 생고분자 코팅 종이는 PE-코팅 포장지를 대체하여 생분해성 및 친환경 식품 포장재로 사용될 수 있는 가능성이 높다.

2. LDPE를 코팅한 내수성/항균성 판지 개발

가. 개발내용

항균성과 내수성을 갖는 HMR 식품포장용 카톤이나 컵형의 판지포장재를 제조하기 위하여 항균성과 항산화성을 갖는 LDPE를 기초로 하는 기능성 필름 (LDPE/Mel/ZnONP/GSE)을 extrusion blowing 방법으로 제조한 후 이를 판지에 thermocompression 방법으로 열접착하여 실험용 시료로 사용하였다. thermocompression 방법에 의해 LDPE와 LDPE/Mel/ZnONP/GSE를 판지에 열접착하여 제조한 코팅판지는 표면이 매끄럽고 LDPE층이 판지에 견고하게 코팅되었다.

Table 8의 결과에서 보는 바와 같이 LDPE로 코팅한 후 판지의 인장강도 (TS)와 스티프니스 (EM)가 크게 증가하였다. LDPE/Mel/ZnONP/GSE로 코팅한 경우 역시 기계적 강도가 증가하였으며, 연신율도 다소 증가하였다.

Table 8. Thickness, and tensile properties of LDPE and LDPE/Mel/GSE/ZnO- coated paperboards.

Papers	Thickness (μ m)	TS (MPa)	EB (%)	EM (MPa)
Uncoated	322.4 \pm 7.1 ^{ab}	7.1 \pm 2.2 ^a	5.2 \pm 0.4 ^a	630.1 \pm 59.9 ^a
LDPE coated	316.3 \pm 13.1 ^a	10.7 \pm 3.2 ^b	5.2 \pm 0.9 ^a	920.5 \pm 297.1 ^b
LDPE/Mel/ZnONP/GSE	327.9 \pm 14.5 ^c	11.3 \pm 1.6 ^b	6.8 \pm 0.6 ^b	828.4 \pm 89.5 ^b

Table 9의 결과에서 보는 바와 같이 LDPE와 LDPE/Mel/ZnONP/GSE로 코팅한 판지의 수분흡습성 (WA)와 유지흡습성 (OA)는 코팅에 의해 각각 99-61배, 35-45배 이 감소하여 판지의 수분저항성과 유지저항성이 크게 증가하였음을 알 수 있었다. 또한 판지 표면의 친수성/소수성 정도를 나타내는 수분접촉각은 코팅에 의해 유의적으로 증가하여 판지의 소수성이 증가하였음을 알 수 있다.

Table 9. Water absorptiveness (WA), oil absorptiveness(OA), water vapor permeability (WVP), and water contact angle (WCA) of LDPE, and LDPE/Mel/ZnONP/GSE coated paperboards.

Papers	WA (g H ₂ O /m ²)	OA (g Oil /m ²)	WVP ($\times 10^{-9}$ g.m/m ² .Pa.s)	WCA ($^{\circ}$)
Uncoated	315.9 \pm 44.2 ^b	185.1 \pm 7.3 ^b	94.0 \pm 0.4 ^c	76.4 \pm 2.7 ^a
LDPE coated	3.2 \pm 0.4 ^a	5.3 \pm 1.4 ^a	1.8 \pm 0.1 ^b	89.9 \pm 2.5 ^c
LDPE/Mel/ZnONP/GSE	5.2 \pm 2.6 ^a	4.1 \pm 0.8 ^a	0.4 \pm 0.1 ^a	78.2 \pm 2.7 ^b

코팅판지의 표면색은 Table 10의 결과에서 보는 바와 같이 LDPE코팅판지는 큰 변화가 없었으나 LDPE/Mel/GSE/ZnONP를 코팅한 판지는 밝기 (L-value)가 크게 감소하고 홍색도 (a-value)와 황색도 (b-value)가 크게 증가하였다. 이와 같은 코팅판지색깔의 변화는 주로 멜라닌에 기인하며 ZnO 나노입자 역시 부분적으로 기여 했을 것으로 판단된다.

Table 10. Surface color of LDPE and LDPE/Mel/GSE/ZnO-coated paperboards.

Papers	L	a	b	ΔE
Uncoated	92.43±0.1 ^c	-0.4±0.1 ^a	4.68±0.1 ^a	-
LDPE coated	91.8±0.1 ^b	-0.4±0.1 ^a	5.2±0.1 ^b	0.8±0.1 ^a
LDPE/Mel/GSE/ ZnONP	77.4±0.2 ^a	0.6±0.1 ^b	12.2±0.2 ^c	16.9±0.1 ^b

나. 소결

기능성 물질을 첨가한 LDPE를 실험실내에서 열접착법을 사용하여 코팅판지를 제조하였다. 코팅판지는 수분저항성과 유지저항성이 크게 증가하여 수분함량이 높고 유지함량이 높은 HMR 식품의 판지포장재로 사용이 적합한 것으로 판단된다. LDPE/Mel/GSE/ZnONP를 코팅한 기능성 판지의 산업적인 생산은 현재 코팅종이의 생산에 널리 사용되고 있는 extrusion coating 방법에 의해 생산하여 손쉽게 산업화가 가능한 방법으로 응용이 가능한 것으로 판단된다.

3. LDPE를 코팅한 내수성/항균성 랩핑종이포장재 개발

가. 개발내용

김밥이나 샌드위치, 햄버거, 감자튀김, 닭튀김 등과 같은 유지함유식품의 일회용 랩핑포장지로 널리 사용되고 있는 LDPE 코팅 랩핑페이퍼에 항균성/항산화성이 부가된 랩핑페이퍼를 제조하기 위하여 LDPE/Mel/ZnONP/GSE를 코팅한 랩핑페이퍼를 열접착법을 사용하여 제조하고 그 특성을 조사하였다. 열접착법으로 코팅한 랩핑페이퍼는 외관상 표면이 매끄럽고 LDPE층이 종이 층에 견고하게 부착된 코팅지가 제조되었다.

LDPE/Mel/ZnONP/GSE를 코팅한 랩핑페이퍼는 Table 11의 결과에서 보는 바와 같이 인장강도 (TS)와 연신율 (EB) 및 스티프니스 (EM)가 크게 증가하였다.

Table 11. Thickness and tensile properties of LDPE and LDPE/Mel/ZnONP/GSE coated wrapping papers.

Papers	Thickness(μm)	TS(MPa)	EB(%)	EM(MPa)
Uncoated	48.7±1.1 ^a	11.0±4.6 ^a	5.1±0.6 ^a	1214.2±250 ^b
LDPE coated	88.3±4.6 ^b	10.4±1.8 ^a	6.0±1.0 ^b	873.9±140.0 ^a
LDPE/Mel/ZnONP/GSE	108.4±3.6 ^c	14.8±10.7 ^a	7.3±0.1 ^c	1065.5±423.2 ^{ab}

LDPE 또는 LDPE/Mel/ZnONP/GSE를 코팅한 랩핑페이퍼의 수분흡수율 (WA)과 유지흡수율 (OA)는 각각 42배, 6-9배 감소하여 랩페이퍼의 수분저항성과 유지저항성이 크게 증가하였음을 알 수 있다. 또한 수증기 투과도 (WVP)는 660배 이상 감소하여 수증기 차단성이 크게 증진되었음을 알 수 있다. LDPE 또는LDPE/Mel/ZnONP/GSE를 코팅한 랩핑페이퍼의 수분접촉각 (WCA)은 각각 88.7, 79.2° 로서 표면의 소수성이 큰 것으로 판단된다.

Table 12. Water absorptiveness (WA), oil absorptiveness (OA), water vapor permeability (WVP), and water contact angle (WCA) of LDPE and LDPE/Mel/ZnONP/GSE coated wrapping papers.

Papers	WA (g H ₂ O /m ²)	OA (g Oil /m ²)	WVP (×10 ⁻¹⁰ g.m/m ² .Pa.s)	WCA (°)
Uncoated	20.8±1.6 ^b	17.1±2.5 ^b	138.7±0.03 ^b	76.1±2.4 ^a
LDPE coated	0.5±0.2 ^a	2.9±0.3 ^a	0.21±0.01 ^a	88.7±2.7 ^c
LDPE/Mel/ZnONP/GSE	0.5±0.4 ^a	1.9±0.1 ^a	0.20±0.01 ^a	79.2±2.8 ^b

LDPE 를 코팅한 랩페이퍼의 색도는 큰 변화가 없으나 LDPE/Mel/ZnONP/GSE를 코팅한 랩페이퍼의 색도는 큰 변화를 나타냈다. 즉, LDPE/Mel/GSE/ZnONP를 코팅한 랩페이퍼는 밝기 (L-value)가 크게 감소하고 홍색도 (a-value)와 황색도 (b-value)가 크게 증가하였다. 이와 같은 코팅판지색깔의 변화는 주로 멜라닌에 기인하며 ZnO 나노입자 역시 부분적으로 기여 했을 것으로 판단된다.

Table 13. Surface color of LDPE and LDPE/Mel/GSE/ZnO-coated paperboards.

Papers	L	a	b	ΔE
Uncoated	93.0±0.1 ^c	-0.4±0.1 ^b	4.5±0.1 ^a	-
LDPE coated	92.6±0.1 ^b	-0.5±0.1 ^a	4.9±0.1 ^b	0.5±0.1 ^a
LDPE/Mel/GSE/ ZnONP	79.5±0.3 ^a	0.5±0.1 ^c	11.5±0.1 ^c	15.2±0.4 ^b

비코팅 판지와 LDPE 및 LDPE/Mel/GSE/ ZnONP를 코팅한 판지의 표면 및 다층면의 미세구조를 SEM을 사용하여 살펴본 결과를 그림. 26에 나타냈다. 비코팅 판지의 표면의 미세구조는 셀룰로오스 화이버와 이들 사이의 공극 (pore)가 분명하게 보였으나 LDPE 및 LDPE/Mel/GSE/ ZnONP를 코팅한 경우 이들 공극이 메워져서 부드러운 표면을 보여주고 있다. 이들 코팅 판지의 단면의 미세구조는 LDPE층이 판지에 견고하게 접착되어 있음을 보이고 있다.

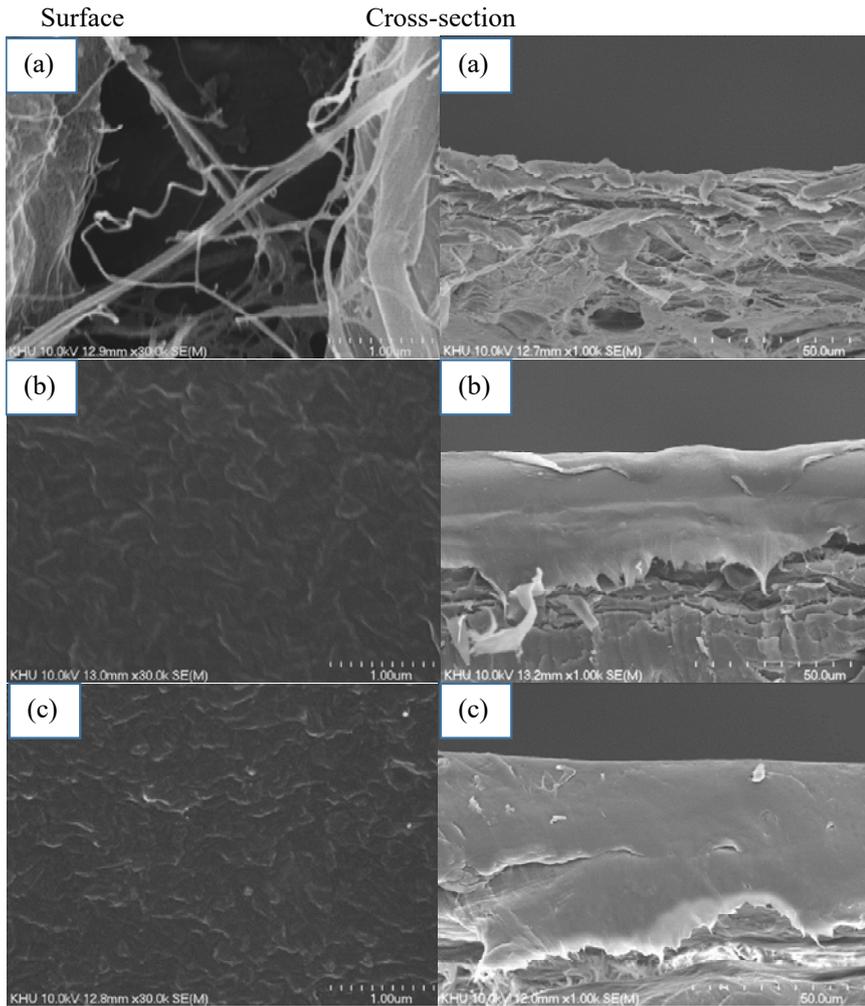


그림. 26. SEM micrographs of surface and cross-section of (a) uncoated, (b) LDPE coated (c) LDPE/Mel/ZnONP/GSE coated wrapping papers.

식중독세균인 *E. coli*와 *L. monocytogenes*에 대한 항균성테스트 결과를 그림. 27에 나타냈다. LDPE를 코팅한 랩핑페이퍼는 아무런 항균성을 보이지 않았으나 LDPE/Mel/ZnONP/GSE를 코팅한 랩핑페이퍼는 두 균주에 대한 생육 억제효과가 있었다. 미생물의 생육억제는 *L. monocytogenes*보다 *E. coli*에 대해 보다 효과적이었다.

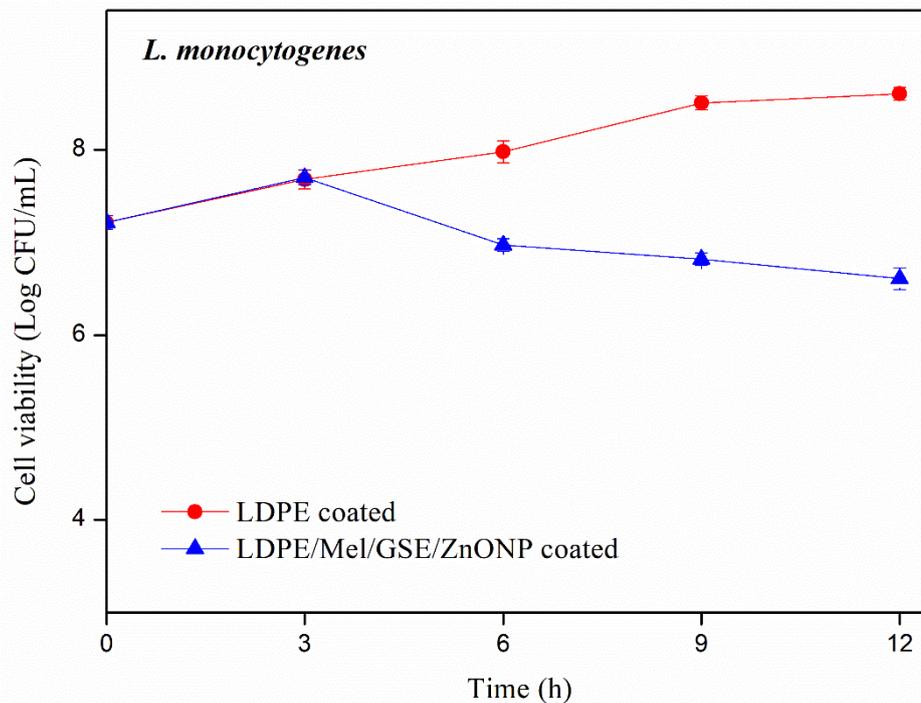
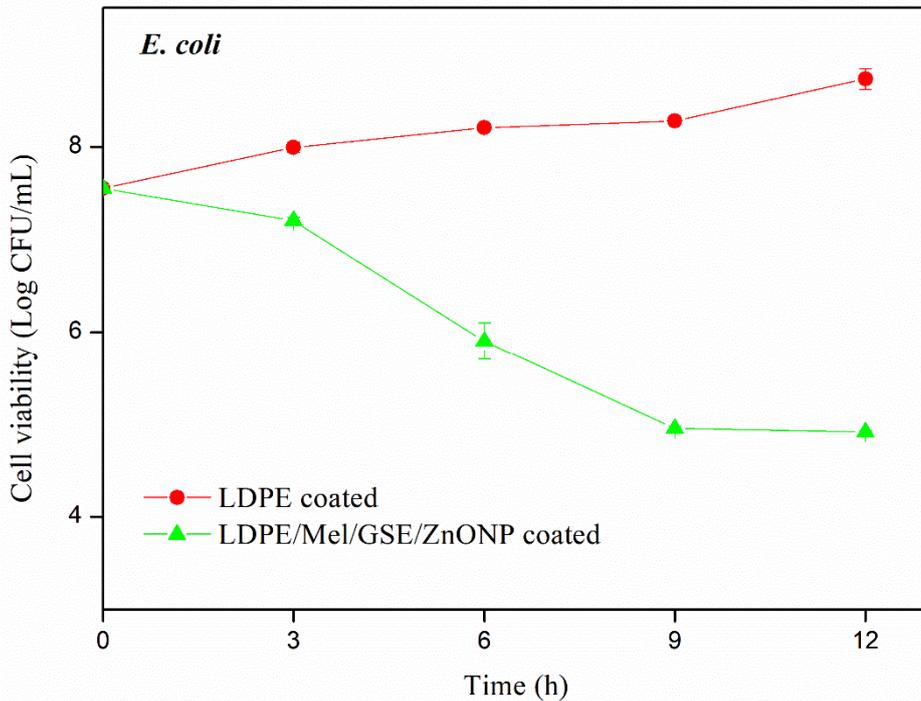


그림. 27. Antimicrobial activity of LDPE-, and LDPE/Mel/ZnONP/GSE coated wrapping paper.

그림. 28은 LDPE와 LDPE/Mel/ZnONP/GSE로 코팅한 랩핑페이퍼를 사용하여 김밥을 포장한 후 3일간 보관하면서 미생물(total aerobic bacteria, total coliform, fungus and yeast)의 생육 정도를 관찰한 결과이다. 저장기간 중에 김밥의 미생물 수는 모두 저장기간이 증가함에 따라 증가하였는데, total aerobic bacteria와 fungus and yeast는 저장 24시간 이후부터 비코팅 페이퍼나 LDPE코팅 페이퍼에 비해 LDPE/Mel/ZnONP/GSE코팅페이퍼로 포장한 경우 적으나마 뚜렷한 생육속도 저해

효과가 있었고, total coliform에 대해서는 저장 초기부터 뚜렷한 항균효과를 나타냈다.

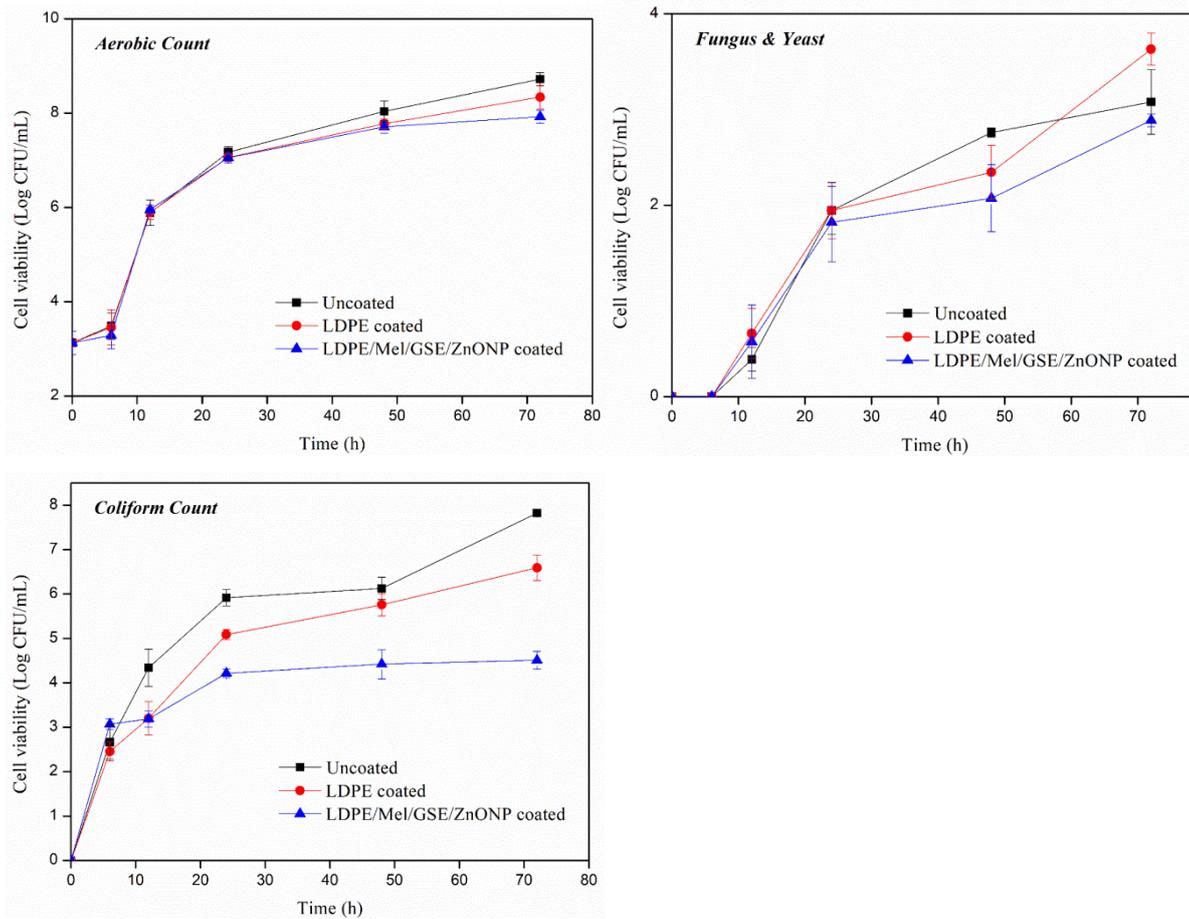


그림. 28. Antibacterial activity of LDPE and LDPE/Mel/ZnONP/GSE coated wrapping papers for Gimbab packaging.

그림. 29는 LDPE와 LDPE/Mel/ZnONP/GSE로 코팅한 랩핑페이퍼를 사용하여 샌드위치를 포장한 후 5일간 보관하면서 미생물(total aerobic bacteria, total coliform, fungus and yeast)의 생육 정도를 관찰한 결과이다. LDPE/Mel/ZnONP/GSE코팅페이퍼로 포장한 경우 각군의 미생물에 대해 성장속도 저하효과가 관찰되었는데, 김밥포장시험 결과와 마찬가지로 total aerobic bacteria와 fungus and yeast 보다는 total coliform에 대해 보다 효과적이었다.

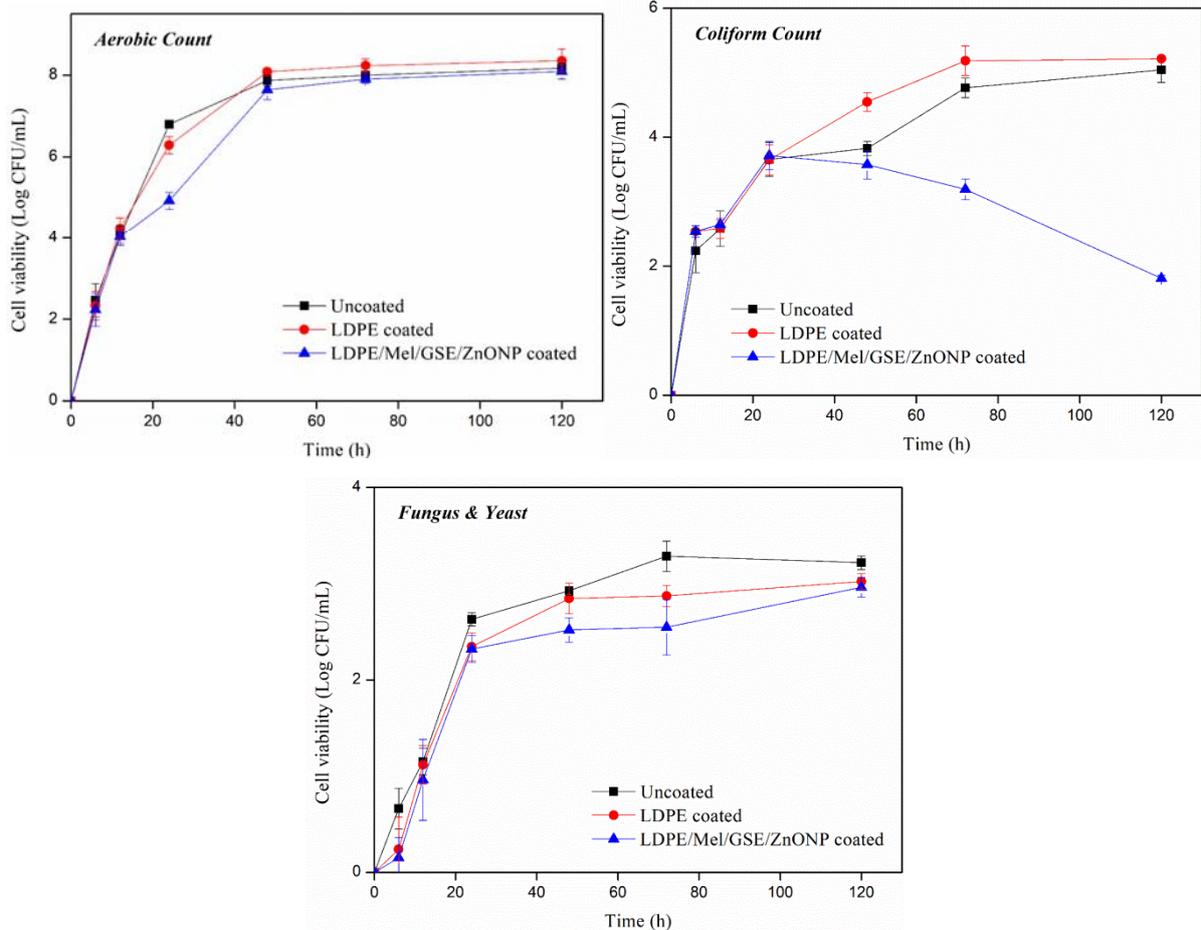


그림. 29. Antibacterial activity of LDPE and LDPE/Mel/ZnONP/GSE coated wrapping papers in sandwich packaging.

나. 소결

LDPE/Mel/ZnONP/GSE로 코팅한 랩핑페이퍼는 수분저항성과 유지에 대한 저항성이 크고 식중독 세균에 대한 강한 항균성을 나타냈다. LDPE/Mel/ZnONP/GSE로 코팅한 랩핑페이퍼를 사용하여 김밥과 샌드위치를 포장하였을 때 미생물의 생육속도를 저하시키는 효과를 관찰 했다. 이 결과는 LDPE/Mel/ZnONP/GSE로 코팅한 랩핑페이퍼가 김밥이나 샌드위치와 같은 HMR식품의 포장에 적합함을 의미한다. LDPE/Mel/ZnONP/GSE코팅 랩핑페이퍼의 산업적인 생산은 기존의 LDPE 코팅지를 생산하는 바와 같은 extrusion coating방법을 사용하여 대량생산이 가능하다.

제3절 식품 보관 기능성이 향상된 필름 시제품 개발

1. 멜라닌 나노 입자를 함유하는 카라기난 나노복합필름의 시제품 개발

오징어먹물로부터 분리한 멜라닌 나노입자(MNP)는 구형으로 그 크기가 40-160 nm 였다. 여러 농도의 멜라닌 나노입자 (0, 0.25, 0.5, 1.0, and 2.0 wt%)를 첨가하여 카라기난과 복합필름을 제조하여 그 물리적, 열안정성, 자외선 차단성 등의 특성을 조사하였다. Field emission scanning electron (FE-SEM) micrograph 테스트 결과 멜라닌 나노입자가 카라기난 매트릭스에 잘 분산되어

있음을 확인하였다. 멜라닌 나노입자는 자외선의 거의 완벽하게 차단하였으며 필름의 외관과 투명성에 크게 영향을 미쳤다. 함량 1wt%까지는 필름의 인장강도를 증가시켰으며 필름의 열안정성 역시 멜라닌의 첨가에 의해 증가하였다. 멜라닌의 첨가에 의해 수분 배리어성이 감소되고 카라기난 필름의 소수성을 증가시켰다. 또한 멜라닌을 첨가한 카라기난필름은 강한 항균성을 나타내었으며, 식중독 세균인, *L. monocytogenes* 와 *E. coli*에 대해 약간의 항균성을 나타냈다.

가. 재료 및 방법

(1) 재료

Food grade의 오징어먹물 (sepia ink 92%, NaCl 8%)을 Cerezo Berzosa, S. A. (Carcer, Spain)에서 구입하여 사용하였다. κ -carrageenan은 Hankook Carragen (Jeonnam, Korea)에서 구입하였으며, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 과 potassium persulfate 는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Brain heart infusion broth (BHI), tryptic soya broth (TSB) 은 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd. (Ansan, Gyeonggi-do, Korea)에서 구입하고, Glycerol 과 ascorbic acid 는 Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd. (Siheung, Gyeonggi-do, Korea)에서 구입하였다. 식중독 세균인 *Escherichia coli* O157: H7 ATCC 43895 와 *Listeria monocytogenes* ATCC 15313는 한국중균협회, (KCTC, Seoul, Korea)로부터 분양받아 각각 BHI 및 TSB 아가배지에 배양하여 4 °C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

(2) 멜라닌의 분리 및 특성조사

오징어먹물로부터 Eumelanin을 centrifugation method를 사용하여 분리하였다.

멜라닌 나노입자의 크기분석은 nanoparticle analyzer (Zetasizer, Nano-ZS, Malvern instrument, Worcestershire, UK)를 사용하여 조사하였으며, 미세구조는 field emission scanning electron microscopy (FESEM, S-4800, Hitachi Co., Ltd, Matsuda, Japan) 를 사용하여 조사하였다. 나노 멜라닌의 FTIR spectra 를 Fourier transform infrared (FTIR) spectrophotometer (TENSOR 37 Spectrophotometer, Billerica, MA, USA)를 사용하여 조사하였다.

(3) 카라기난/MNP 필름의 제조

멜라닌 나노입자의 농도를 달리 하여 (MNP: 0, 0.25, 0.5, 1 and 2 wt % based on carrageenan) 카라기난/MNP composite film을 solution casting 법으로 제조하였으며, 각 필름을 첨가한 MNP의 함량에 따라 Carr/MNP0.25, Carr/MNP0.5, Carr/MNP1.0, and Carr/MNP2.0로 명기하였다.

(4) 카라기난/멜라닌 필름의 특성

제조된 필름의 미세구조를 field emission scanning electron microscopy (FESEM, S-4800, Hitachi Co., Ltd, Matsuda, Japan) 로 조사하고, FTIR spectra를 attenuated total reflectance-FTIR spectrophotometer (TENSOR 37 Spectrophotometer with OPUS 6.0 software, Billerica, MA, USA) 을 사용하여 4000-600 cm^{-1} 범위에서 조사하였다.

(5) 표면색 및 투명도

필름의 표면색을 Chroma meter (Konica Minolta, CR-400, and Tokyo, Japan)사용하여 측정하였

다. 이 때 reference background로 standard white color plate (L = 97.75, a = -0.49, and b = 1.96)를 사용하여 각 필름의 Hunter color (L, a, and b) 값을 측정하고 총색차값 (ΔE)을 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{0.5} \quad (1)$$

필름의 UV-vis spectra 를 UV-vis spectrophotometer (Optizen POP UV/Vis Series, Mecasys Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하여 200-800 nm 범위에서 측정하였으며, 필름의 자외선 차단성과 투명도를 각각 280 nm 와 660 nm에서 광투과도를 측정하여 사용하였다.

(6) 두께 및 기계적 강도

시료의 두께는 digital hand-held digimatic micrometer (Mitutoyo, Model QuantuMike IP 65, Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japan) 를 사용하여 측정하였다.

필름 시료의 tensile strength (TS), elongation at break (EB), elastic modulus (EM) 등의 mechanical properties 를 ASTM Method D 882-88 방법에 따라 Instron Universal Testing Machine (Model 5565, Instron Engineering Corporation, Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다.

(7) 투습도 및 수분접촉각

시료의 투습도(water vapor permeability; WVP, g.m/m².Pa.s)는 ASTM E96-95 표준방법을 사용하여 측정하였다 (Gennadios, Weller, & Gooding, 1994). 투습컵법을 사용하여 먼저 시료의 투습률 (water vapor transmission rate; WVTR, g/m².s)을 결정한 후 다음 식에 따라 투습도를 계산하였다:

$$WVP = WVTR \times L/\Delta p$$

여기에서 L 은 필름 시료의 두께 (m), Δp 는 투습도 측정 시의 필름시료 양면의 분압차 (Pa) 이다. 시료의 수분접촉각 (water contact angle; WCA) 을 contact angle analyzer (model Phoenix 150, Surface Electro Optics Co., Ltd., Kunpo, Korea)를 사용하여 측정하였다.

(8) 열안정성

시료의 열안정성은 thermogravimetric analyzer (Hi-Res TGA 2950, TA Instrument, New Castle, DE, USA)를 사용하여 조사하였고, TGA 데이터로부터 DTG 값을 다음식에 따라 계산하였다 (Oun & Rhim, 2015b):

$$DTG = (wt_{+\Delta t} - wt_{-\Delta t})/2\Delta t$$

종이시료의 최대분해온도 (Tmax) 는 DTG 곡선으로부터 구하고, 최종 char content 와 무게감소는 (%)TGA곡선으로부터 구하였다 (Shankar & Rhim, 2017).

(9) 항균특성

필름의 항균 활성을 두 종류의 식중독 세균 (그람 양성균인 *L. monocytogenes* 및 그람 음성균인 *E. coli*)에 대한 생육억제 효과로 조사 하였다 (Shankar & Rhim, 2017). 시험균을 무균적으로 TSB 및 BHI 배지에 접종하고 37 °C에서 16 시간 동안 항온배양 하였다. 희석한 접종액 (108-109 CFU/mL) 200 µL를 50, 100 및 200 mg의 건조 된 생고분자 코팅 시료를 첨가한 20 mL TSB 및 BHI broth에 무균 적으로 옮기고 37 °C에서 15 시간 동안 항온에서 진탕배양하였다. 한천 플레이트에 샘플을 희석도포한 후 생존 세포 수를 측정하여 생육억제효과를 주기적으로 측정 하였다.

(10) 항산화성

멜라닌 나노입자와 복합필름의 항산화성을 free radical scavenging activity 를 측정하는 2가지의 방법, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH•)과 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS•+) radical scavenging methods를 사용하여 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 멜라닌 나노입자의 특성

The morphology of MNP was observed using FE-SEM을 사용하여 관찰한 나노멜라닌의 미세구조는 그림. 30a와 같다. 나노멜라닌은 구형으로 그 크기가 40-160 nm의 범위였으며, 평균직경은 98 ± 22 였다. dynamic light scattering (DLS) test 결과는 나노멜라닌의 직경이 201.4 ± 1.7 nm 이고 polydispersity index가 0.196 ± 0.01 였다. 일반적으로 제타전위가 +30mV보다 크거나 -30mV보다 적은 값을 갖는 현탁액은 불안정한 것으로 여겨지며, 이는 본 나노멜라닌 입자가 상당히 안정하다는 것을 나타낸다.

나노멜라닌의 FTIR 결과 (Fig. 30b) 는 멜라닌의 -OH group 에 의해 3405 cm^{-1} 에서 넓은 absorption band를 보이고 있다. 이러한 broadening 현상은 OH groups 과 amine groups 사이의 수소결합 때문이다. 이외의 FTIR결과는 멜라닌나노입자 내에 멜라닌의 특징적인 chemical groups 이 존재함을 보였다.

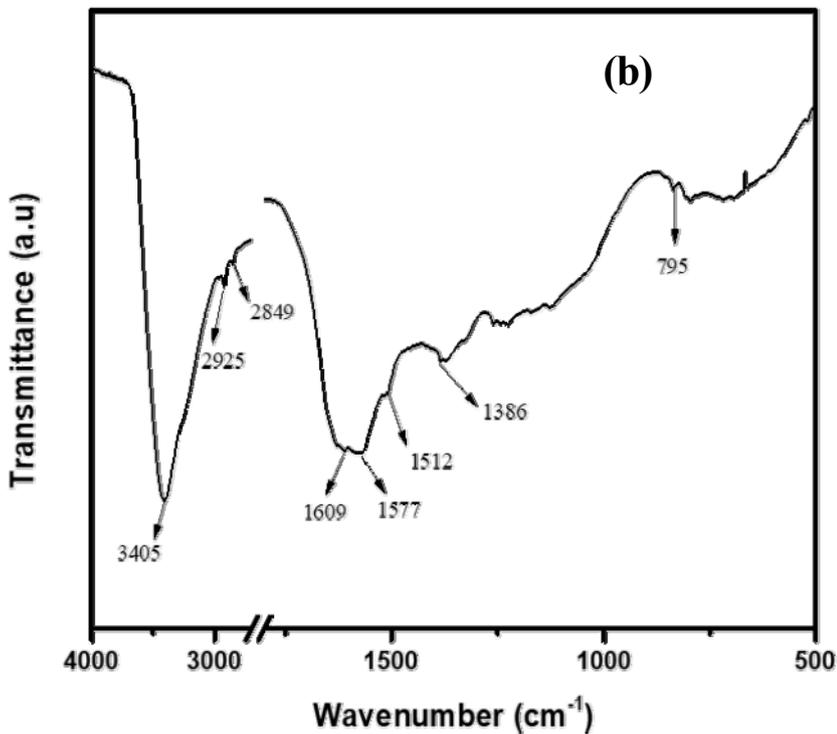
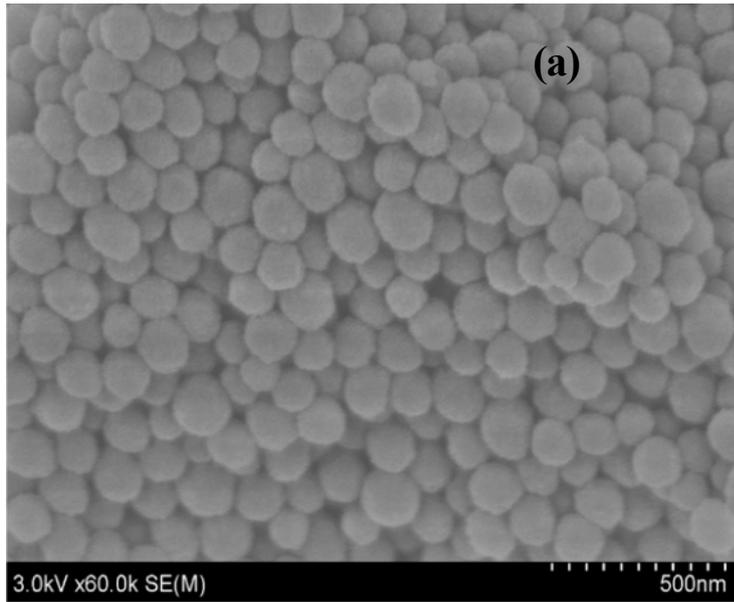


그림. 30. FE-SEM micrograph (a) and FTIR spectra (b) of MNP.

(2) 표면색 및 광투과도

Table 14 은 카라기난과 카라기난/멜라닌 복합필름의 표면색과 광투과도를 나타내고 있다. 카라기난 필름은 투명하고 무색이었으나 멜라닌이 첨가된 필름은 검은색을 나타냈다. Table 14에서 보는 바와 같이 필름의 밝기 (lightness; Hunter L-value) 는 현저하게 ($p < 0.05$) 감소하였으며, 홍색도 (redness: Hunter-a value) 와 황색도 (yellowness; Hunter b-value)는 현저하게 증가하였다. 결과적으로 필름의 총색차 (ΔE) 역시 크게 증가하였다.

Table 14. Surface color and transmittance of carrageenan and Carr/MNP nanocomposite films.

Films	L	a	b	ΔE	T ₂₈₀ (%)	T ₆₆₀ (%)
Carrageenan	91.1±0.1 ^e	-0.5±0.01 ^a	5.4±0.1 ^a	1.4±0.1 ^a	74.6±0.1 ^e	90.5±0.2 ^e
Carr/MNP ^{0.25}	69.9±0.3 ^d	1.3±0.04 ^b	9.6±0.1 ^b	23.0±0.3 ^b	41.9±1.5 ^d	63.4±1.5 ^d
Carr/MNP ^{0.50}	63.9±1.0 ^b	1.6±0.08 ^c	9.8±0.1 ^b	28.9±1.0 ^c	35.6±0.8 ^c	55.9±1.3 ^c
Carr/MNP ^{1.0}	49.9±1.5 ^c	2.3±0.06 ^d	9.9±0.1 ^b	42.8±1.5 ^d	18.7±0.3 ^b	34.9±0.2 ^b
Carr/MNP ^{2.0}	28.2±0.7 ^a	2.2±0.17 ^d	9.9±0.1 ^b	64.1±0.1 ^e	2.6±1.0 ^a	12.5±1.4 ^a

카라기난과 카라기난/멜라닌 복합필름의 광투과도 곡선은 그림. 31에 보인 바와 같다. 카라기난 필름은 투명하고 자외선과 가시광선에 대해 높은 투과도를 보였으나 멜라닌을 첨가한 후에는 이들 투과도가 첨가량에 비례하여 현저하게 감소하였다. 카라기난 필름의 T₂₈₀ 과 T₆₆₀ 은 각각 74.6±0.1%, 90.5±0.2%로서 자외선과 가시광선에 대해 높은 투과도를 보였으나 2 wt%의 MNP를 첨가하였을 때에는 그 값이 각각 2.6±1.0% 와 12.5±1.4%로 감소하였다. Carr/MNP 복합필름의 높은 자외선 차단성은 식품포장이나 화장품에서 자외선 차단제로 사용 가능성이 높다.

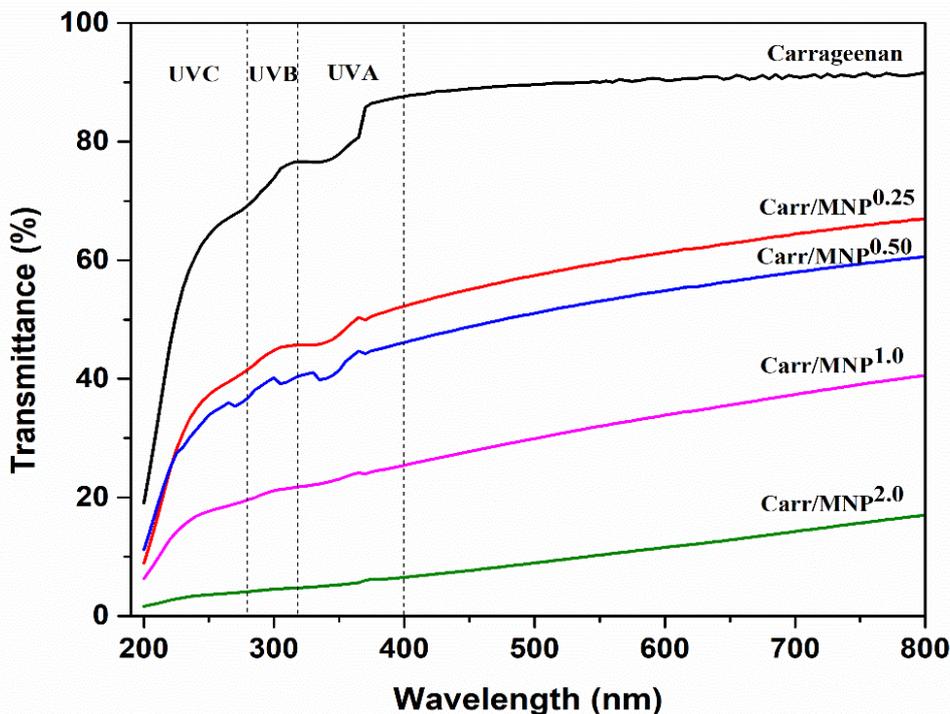


그림. 31. Transmittance spectra of carrageenan and Carr/MNP nanocomposite films.

(3) 나노복합필름의 미세구조

복합필름의 미세구조와 복합필름내의 나노입자의 분산정도를 FE-SEM을 이용하여 조사하였다 (그림. 32). SEM 결과에서 보는 바와 같이 카라기난 필름은 표면이 부드러운 균일한 필름이었으며,

Carr/MNP 복합필름은 필름 내에 MNP가 균일하게 분산되어 있음을 보이고 있다. 그러나 MPN의 함량이 증가할 경우 MNP가 응집하는 현상을 관찰 할 수 있었다.

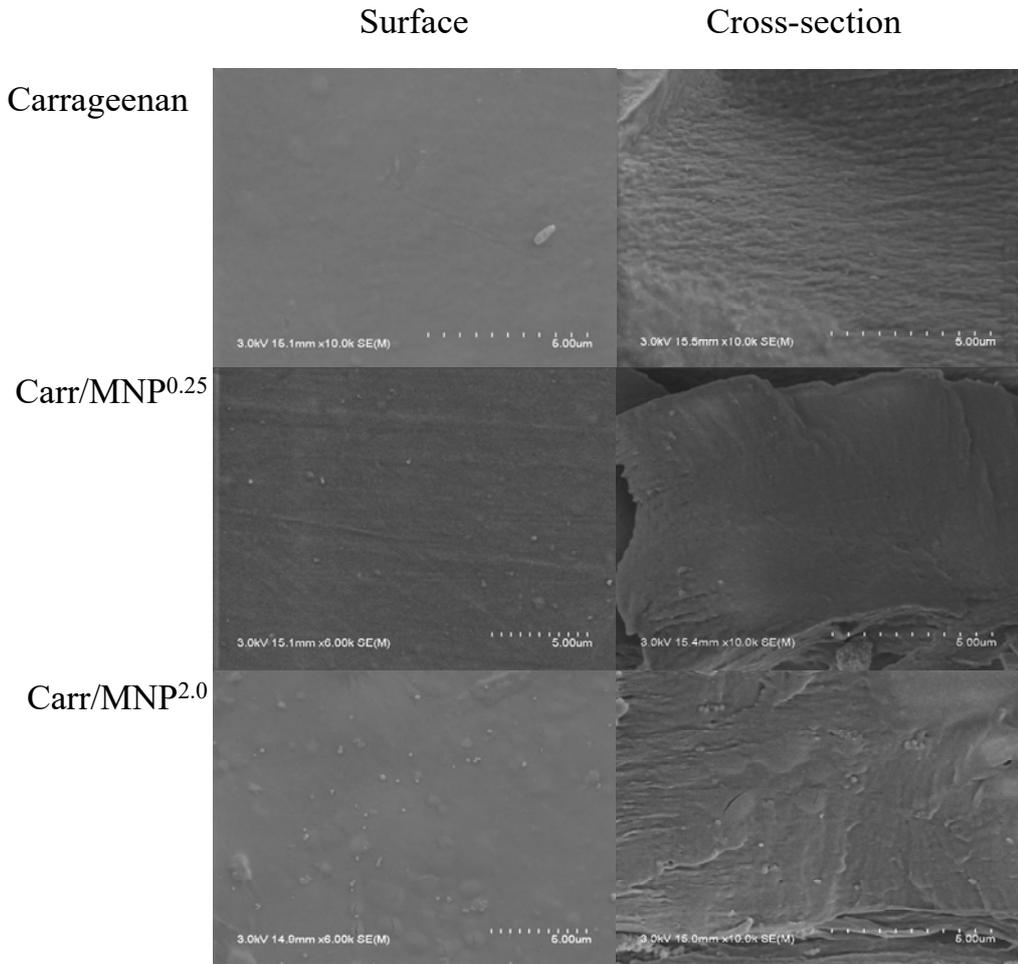


그림. 32. Surface and cross-sectional view of FE-SEM micrographs of nanocomposite films.

(4) FTIR analysis

나노복합 필름의 FTIR spectra 결과는 그림. 33에 보인 바와 같다.

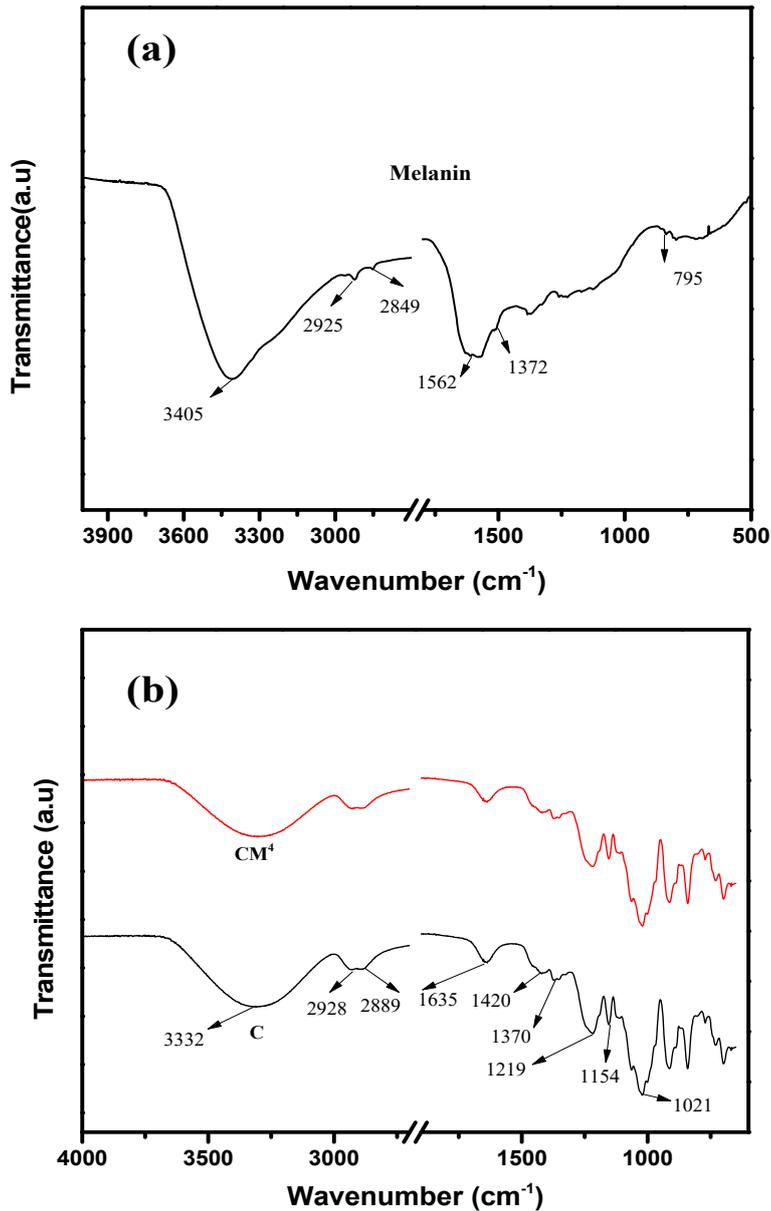


그림. 33. FTIR spectra of melanin and carrageenan, carrageenan/melanin nanocomposite film.

FTIR결과에서는 특기할만한 functional groups의 변화가 관찰되지 않았는데, 이는 멜라닌과 복합필름을 형성한 후에도 카라기난의 구조가 변하지 않았음을 의미한다.

(5) 두께 및 기계적 특성

카라기난과 카라기난/멜라닌 복합필름의 기계적물성 측정 결과를 Table 15에 표시하였다. 카라기난 필름의 두께는 $47.9 \pm 4.0 \mu\text{m}$ 으며, 멜라닌의 첨가시에는 멜라닌의 첨가량에 비례하여 그 두께가 $72.0 \pm 1.8 \mu\text{m}$ 로 증가하였다. 카라기난필름의 기계적인 특성 역시 멜라닌의 첨가에 의해 크게 영향을 받았는데, 카라기난 필름의 인장강도는 $57.0 \pm 4.6 \text{ MPa}$ 였으나 0.25 wt% 의 MNP를 한 경우 $62.9 \pm 0.6 \text{ MPa}$ 으로 증가하였다. 그러나 2.0 wt% 의 MNP를 첨가했을 때에는 $46.2 \pm 3.7 \text{ MPa}$ 로

감소하였다. 반면에 필름의 연신율은 카라기난 필름이 $4.4 \pm 0.3\%$ 로서 flexibility가 낮은 필름이었으나 멜라닌을 첨가한 후에는 다소 증가하였으나 그 차이는 크지 않았다. 필름의 stiffness (determined by EM)은 멜라닌을 첨가하였을 때 현저하게 감소했다.

Table 15. Mechanical, water vapor permeability (WVP), and hydrophobicity (WCA) properties of nanocomposite films.

Films	Thickness (μm)	TS (MPa)	EB (%)	EM (GPa)	WVP ($\times 10^{-9}$ g.m/m ² .Pa.s)	WCA ($^{\circ}$)
Carrageenan	47.9 \pm 4.0 ^a	57.0 \pm 4.6 ^b	4.4 \pm 0.3 ^a	3.30 \pm 0.1 ^d	1.72 \pm 0.13 ^a	48.7 \pm 4.9 ^a
Carr/MNP ^{0.25}	51.0 \pm 0.9 ^b	62.9 \pm 0.6 ^c	4.7 \pm 0.5 ^{ab}	2.77 \pm 0.1 ^c	2.13 \pm 0.03 ^b	47.9 \pm 3.8 ^a
Carr/MNP ^{0.50}	69.4 \pm 0.9 ^c	60.1 \pm 0.4 ^{bc}	5.5 \pm 0.5 ^c	2.51 \pm 0.1 ^b	2.01 \pm 0.03 ^{ab}	52.8 \pm 2.5 ^b
Carr/MNP ^{1.0}	68.6 \pm 1.7 ^c	58.2 \pm 1.8 ^{bc}	4.8 \pm 0.0 ^{ab}	2.45 \pm 0.1 ^b	2.15 \pm 0.26 ^b	55.3 \pm 6.8 ^b
Carr/MNP ^{2.0}	72.0 \pm 1.8 ^d	46.2 \pm 3.7 ^a	5.2 \pm 0.2 ^{bc}	2.05 \pm 0.1 ^a	2.13 \pm 0.15 ^b	61.1 \pm 4.4 ^c

The values have been presented as a mean \pm standard deviation. The value in the same column followed by the same letter is not significantly ($p > 0.05$) different.

(6) 투습도 및 수분접촉각

카라기난과 카라기난/멜라닌 복합필름의 투습도 (WVP) 와 수분접촉각 결과도 Table 15에 나타냈다. 카라기난 필름의 투습도는 $1.72 \pm 0.13 \times 10^{-9}$ g m/m².Pa.s이었으나 나노멜라니과 복합필름을 형성한 후에는 유의적으로 ($p < 0.05$) 증가하였다.

카라기난 필름의 수분접촉각은 $48.7 \pm 4.9^{\circ}$ 이었으나 멜라니과 혼합하였을 때에는 크게 증가하여 표면의 소수성이 증가하였음을 알 수 있었다.

(7) 열안정성

그림. 34는 카라기난 필름과 두가지 농도(0.25 and 2.0 wt%)의 멜라닌을 첨가한 복합필름의 TGA (그림. 34a) 와 DTG (그림. 34b) 결과를 보인다. 카라기난과 카라기난/멜라닌 복합필름의 초기 무게 감소는 60-70 oC에서 나타나기 시작했는데, 이는 주로 수분의 증발에 기인한다. 두번째 무게 감소는 150 $^{\circ}$ C 부근에서 시작되어 195 $^{\circ}$ C 부근에서 최대값을 보이는데(그림. 34b), 이는 가소제로 첨가한 글리세린의 열분해에 기인한다. 주된 열분해는 210-260 oC에서 나타났으며 그 최대값은 카라기난, Carr/MNP0.25, Carr/MNP2.0 필름이 각각 228 oC, 228 oC, 235 oC 였다. 600 oC에서 최종 char 함량은 카라기난, Carr/MNP0.25, Carr/MNP2.0 필름이 각각 25.9, 33.7, 35.3% 이었다.

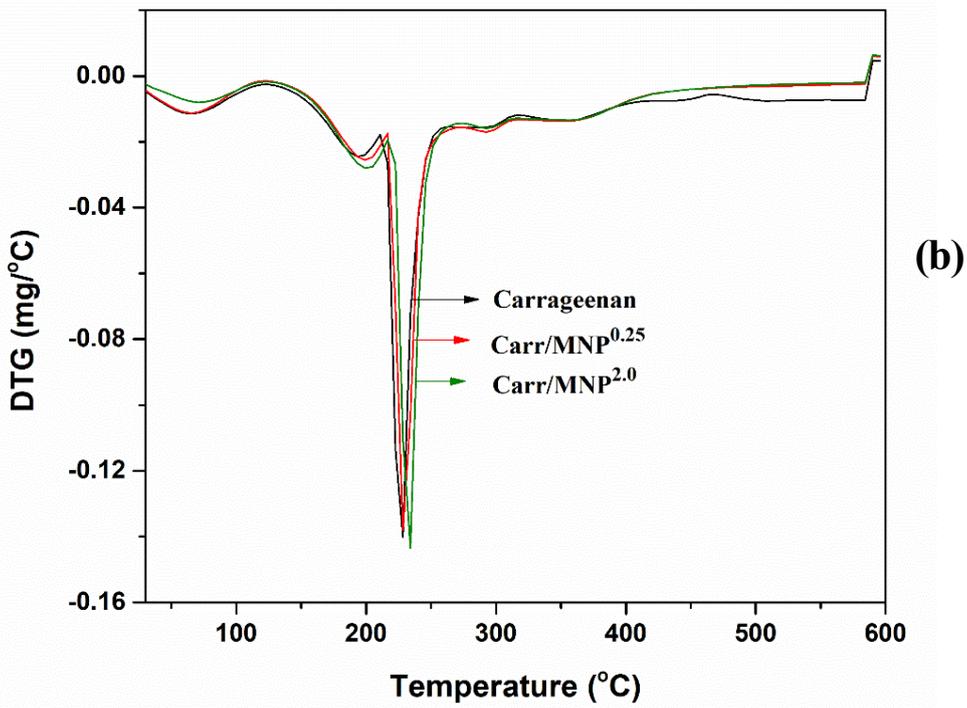
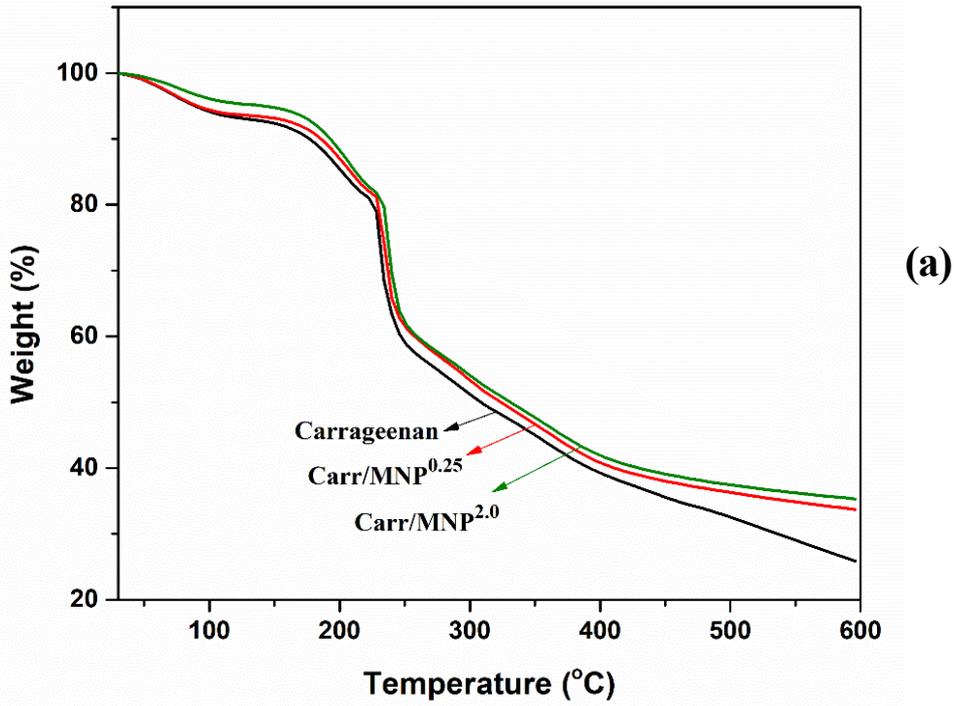


그림. 34. TGA (a) and DTG (b) thermograms of carrageenan and Carr/MNP nanocomposite films

(8) 항균특성

카라기난과 카라기난/멜라닌 복합필름의 식중독세균인 *E. coli* 와 *L. monocytogenes*, 에 대하여 조사한 결과를 그림. 35에 나타냈다. 카라기난 필름은 두 종의 세균에 대해 항균성을 보이지 않았으나 멜라닌을 첨가한 나노복합필름은 미약하나마 두 균주에 대해 뚜렷한 항균성을 나타냈다. 카라기난/멜라닌 복합필름은 이들 세균의 생육을 완전히 저해하지는 못했으나 대조군 필름에 비해 이들 세균의 생육 저해 활성이 높은 결과를 보였으며, 그 활성은 멜라닌의 함량이 증가할수록 더 증가하였다. 카라기난/멜라닌 복합필름의 항균활성은 Gram-positive 균 (*L. monocytogenes*) 보다 Gram-negative 균 (*E. coli*)에 더 크게 나타났다. 이러한 카라기난/멜라닌 복합필름의 항균활성은 멜라닌의 항균성에 기인한다.

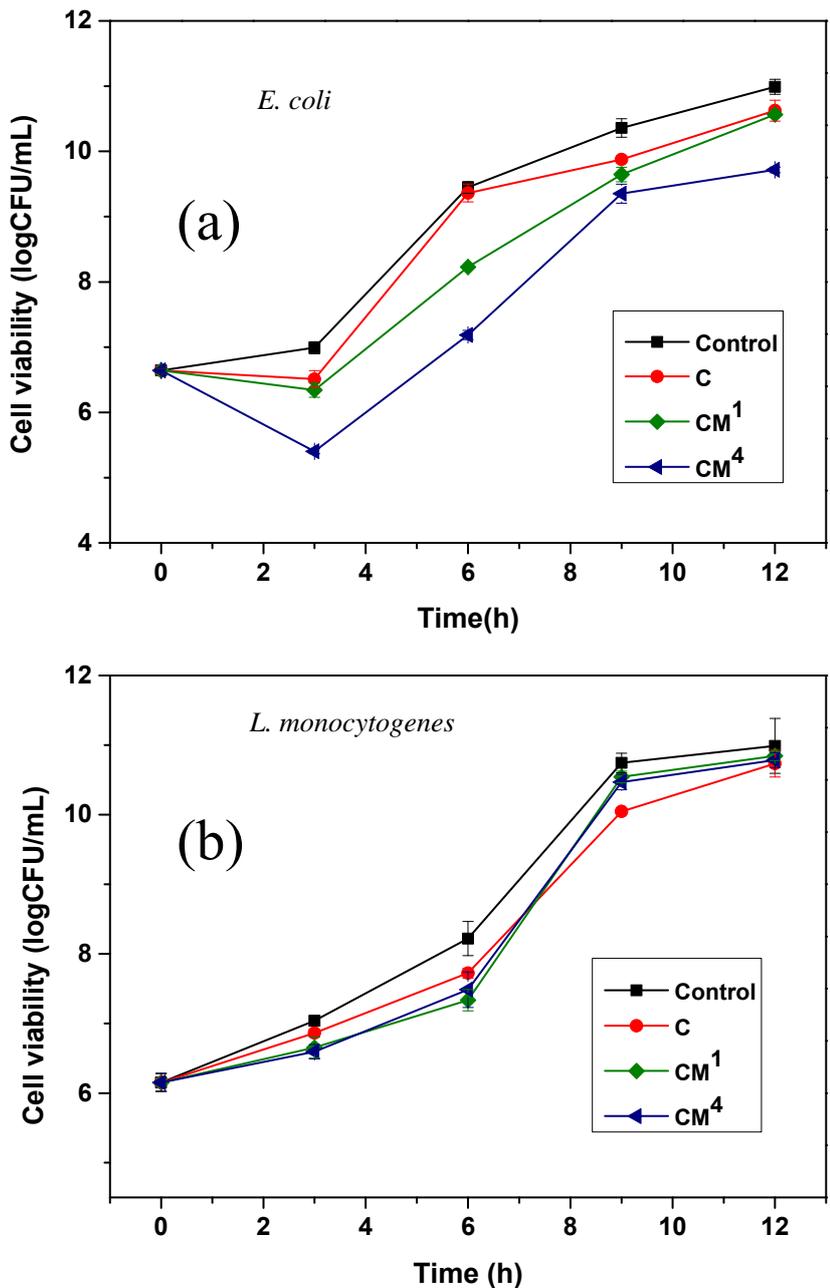


그림. 35. Antibacterial activity of carrageenan/MNP composite films against *E. coli* and *L. monocytogenes*.

(9) 항산화성

카라기난과 카라기난/멜라닌 복합필름의 항산화성을 DPPH 와 ABTS radical scavenging activity 로 측정한 결과를 그림. 36에 나타냈다. MNP는 DPPH 와 ABTS radical scavenging activity가 각각 4.0-42.5%과 11.5-75.8%으로 ascorbic acid (AA) 에 비하여 높은 항산화성을 나타냈다 (그림. 36a-b). Carr/MNP 복합필름의 항산화성은 MNP의 농도가 증할수록 증가하였다 (그림. 36c). 카라기난 필름의 DPPH 및 ABTS scavenging efficiency 는 각각 4.2%와 4.5%였으나 2.0 wt%의 MNP를 첨가한 경우에는 그 값이 각각 53.6% 와 57.7%로 증가하였다 (그림. 36c).

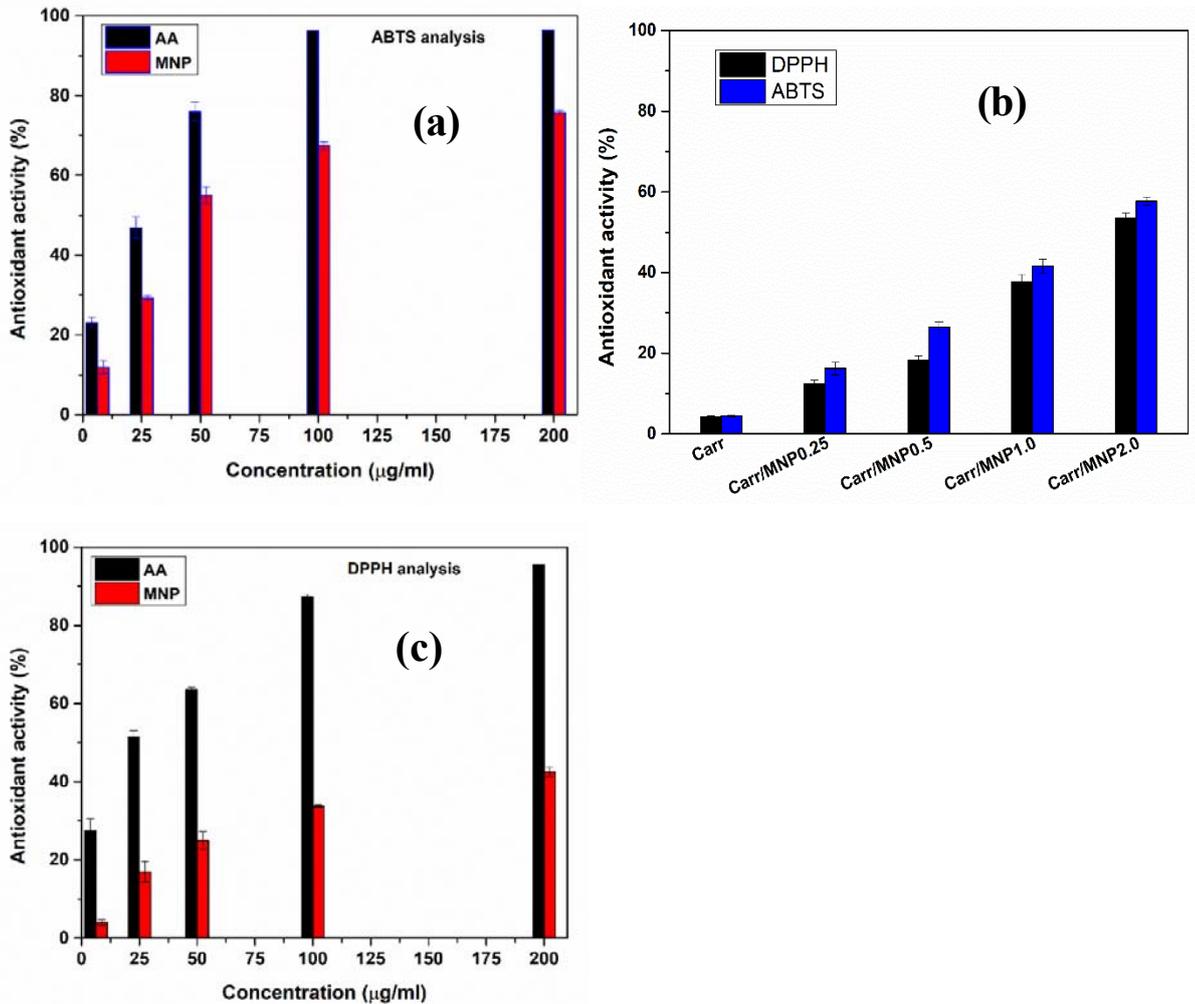


그림. 36. Antioxidant activity of MNP, ascorbic acid (a-b) and Carr/MNP nanocomposite films (c) determined by DPPH and ABTS analysis methods.

다. 소결

오징어 먹물로부터 분리한 멜라닌 나노입자 (MNP)는 평균 직경이 98 ± 22 nm인 구형이고, 제타 전위가 -30.83 ± 0.61 mV인 단분산 (다분산 지수 0.196 ± 0.01) 입자였다. 나노멜라닌의 첨가에 의해 카라기난 필름의 물리적, 생물학적 특성에 크게 변화를 보였다. FE-SEM과 FTIR 결과는 나노멜라닌이 카라기난 필름에 균일하게 분산되어 있음을 보였다. 카라기난/멜라닌 나노복합 필름은 강한 자외선 차단성을 갖으며, 필름이 강도와 소수성 및 수증기 차단성이 증가하였다. 이외에도 카라기난/멜라닌 나노복합 필름은 식중독 세균에 대해 항균활성을 나타냈으며, 강한 항산화성을 나타냈다. 카라기난/멜라닌 나노복합 필름은 항균/항산화성 식품포장과 생의약분야의 응용이 기대된다.

2. 구리 산화물 나노 입자의 멜라닌 - 매개 합성 및 기능성 한천 / CuO NP 나노 복합 필름의 제조
 멜라닌을 안정제로 사용하여 산화구리 나노입자(CuO NP)를 제조하고 이 산화구리 나노입자를 기능성 agar/CuO NP 나노복합필름 제조에 사용하였다. 산화구리 나노입자는 대체적으로 구형을 나타냈으며 수용액에서 안정성이 있었다. 아가와 나노복합필름을 제조했을 때 산화구리 나노입자는 필름에 균일하게 분산되었다. 산화구리나노입자의 첨가는 필름의 투명도는 크게 저하시키지 않으며 자외선

차단성을 크게 증진시켰다. 산화구리 나노입자의 첨가에 의해 필름이 기계적 물성은 크게 변하지 않았으며, 필름의 소수성을 증가시켰다. 아가/CuO NP 나노복합필름은 식중독 세균인 E. coli 와 L. monocytogenes 에 대해서 강한 항균활성을 나타냈다.

가. 재료 및 방법

(1) 재료

멜라닌의 원료로서 food grade squid ink 를 Cerezo Berzosa, S. A. C/Iglesia (Carcer, Spain)에서 구입하여 사용하였으며, Food grade agar를 Gel-Tec Co. Ltd., (Seoul, Korea)에서 구입하였다. Copper chloride, potassium hydroxide와 glycerol은 Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd. (Siheung, Gyeonggi-do, South Korea)에서 구입하였으며, Brain heart infusion broth (BHI), tryptic soya broth (TSB) 와 bacto agar powder는 Duksan Pure Chemicals Co., Ltd. (Ansan, Gyeonggi-do, South Korea)에서 구입하였다. Escherichia coli O157: H7 ATCC 43895 와 Listeria monocytogenes ATCC 15313 는 한국중균협회(KCTC, Seoul, Korea)에서 분양받아 각각 BHI 와 TSB 아가 배지에 배양하여 4 °C 에 보관하면서 사용하였다.

(2) 산화구리 나노입자의 제조

Copper chloride, melanin, 및 KOH를 사용하여 melanin mediated CuO NP를 제조하였다. 이를 위해 먼저 오징어먹물로부터 멜라닌을 centrifugal separation method으로 분리하고, 0.1 N KOH 용액을 사용하여 0.1 mg/mL 의 멜라닌 용액을 제조한 후, 100 mL 의 melanin 용액에 copper chloride (10 mM)를 첨가하고 80 °C로 가열하였다. 이후 5 mM KOH 용액을 한방울씩 첨가하여 그 용액이 짙은 갈색이 될 때까지 80 °C 에서 2 시간 가열하였다. 이 때 짙은 갈색은 산화구리 나노입자가 형성되었음을 나타내는데, 생성된 산화구리 나노입자를 10,000 rpm에서 20 분간 원심분리하여 수거한 pH가 중성이 될 때까지 물로 수세한 후 ethanol로 세척하고 50 oC 에서 건조하여 산화구리 나노입자 분말을 얻었다.

(3) 산화구리 나노입자의 특성분석

산화구리나노입자의 생성여부를 UV-vis spectrophotometer (Mecasys Optizen POP Series UV/Vis, Seoul, Korea)를 사용하여 200-700 nm 범위에서 광흡수스펙트럼을 분석하여 조사하였다. 나노입자의 사이즈분석은 particle size analyzer (Zetasizer Nano S (ZEN 1600), Malvern Instruments Ltd, UK)를 사용하여 dynamic light scattering 방법으로 조사하였다.

CuO NP의 미세구조는 field emission scanning electron microscopy (FE-SEM, S-4800, Hitachi Co., Ltd, Matsuda, Japan)으로 관찰하고, 입자의 크기는 ImageJ (ImageJ 1.46r, National Institute of Health, USA)를 사용하여 측정하였다. CuO NP의 원소분석은 FE-SEM microscopy에 부착된 energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX)를 사용하여 분석하였다.

멜라닌과 CuO NP의 결합여부는 Fourier transform infrared (FTIR) spectrophotometer (SENSOR 37 Spectrophotometer, Billerica, MA, USA)를 사용하여 4000-500 cm⁻¹ 범위에서 조사하였다.

CuO NP 시료의 X-ray diffraction pattern은 XRD diffractometer (PANalytical X'pert Pro MRD Diffractometer, Amsterdam, Netherlands)를 사용하여 2θ = 20-80o 범위에서 조사하였다.

(4) 아가/CuO NP 나노복합필름의 제조

아가/CuO NP 나노복합필름을 solution casting 방법으로 제조하였다. 필름용액을 제조하기 위해 4 g의 아가와 1.2 g의 glycerol을 150 mL의 CuO NP 용액 (1 and 2 wt% of agar)에 섞은 후에 90 °C에서 30 분간 가열하면서 용해시켰다. 필름용액을 Teflon film (Cole-Parmer Instrument Co., Chicago, IL, USA)이 코팅된 유리판 (24 cm × 30 cm)에 캐스팅한 후 실온에서 건조시켜 필름을 제조하였다. 모든 필름은 사용하기 전에 25 °C, 50 % RH 조건에서 적어도 48 시간 수분조절을 한 후 사용하였다.

(5) 아가/CuO NP 나노복합필름의 특성분석

(가) 표면의 미세구조

나노복합필름 표면의 미세구조를 FE-SEM (FE-SEM, S-4800, Hitachi Co., Ltd., Matsuda, Japan) 을 사용하여 (acceleration voltage: 10 kV; current: 10 μA) 측정하였다.

(나) FTIR 및 XRD analysis

나노복합필름의 Fourier Transform Infrared (FTIR) spectra를 attenuated total reflectance-FTIR (ATR-FTIR) spectrophotometer (TENSOR 37 Spectrophotometer with OPUS 6.0 software, Billerica, MA, USA)를 사용하여 4000-700 cm⁻¹ 범위에서 측정하였다.

필름의 XRD pattern을 X-ray diffractometer (PANalytical X' pert pro MRD diffractometer, Amsterdam, Netherlands)를 사용하여 2θ = 20-70° 범위에서 조사하였다.

(다) 열안정성

시료의 열안정성은 thermogravimetric analyzer (Hi-Res TGA 2950, TA Instrument, New Castle, DE, USA)를 사용하여 조사하였고, TGA 데이터로부터 DTG 값을 다음식에 따라 계산하였다 (Oun & Rhim, 2015b):

$$DTG = (wt_{+ \Delta t} - wt_{- \Delta t}) / 2\Delta t$$

종이시료의 최대분해온도 (Tmax) 는 DTG 곡선으로부터 구하고, 최종 char content 와 무게감소는 (%)TGA곡선으로부터 구하였다 (Shankar & Rhim, 2017).

(라) 표면색 및 투명도

필름의 표면색을 Chroma meter (Konica Minolta, CR-400, and Tokyo, Japan) 사용하여 측정하였다. 이 때 reference background로 standard white color plate (L = 97.75, a = -0.49, and b = 1.96)를 사용하여 각 필름의 Hunter color (L, a, and b) 값을 측정하고 총색차값 (ΔE)을 다음식에 따라 계산하였다.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{0.5} \quad (1)$$

필름의 UV-vis spectra 를 UV-vis spectrophotometer (Optizen POP UV/Vis Series, Mecasys

Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하여 200-800 nm 범위에서 측정하였으며, 필름의 자외선 차단성과 투명도를 각각 280 nm 와 660 nm에서 광투과도를 측정하여 사용하였다.

(마) 기계적 특성

시료의 두께는 digital hand-held digimatic micrometer (Mitutoyo, Model QuantuMike IP 65, Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japan) 를 사용하여 측정하였다.

필름 시료의 tensile strength (TS), elongation at break (EB), elastic modulus (EM) 등의 mechanical properties 를 ASTM Method D 882-88 방법에 따라 Instron Universal Testing Machine (Model 5565, Instron Engineering Corporation, Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다.

(바) 투습도(WVP) 및 수분접촉각 (WCA)

시료의 투습도(water vapor permeability; WVP, g.m/m².Pa.s)는 ASTM E96-95 표준방법을 사용하여 측정하였다 (Gennadios, Weller, & Gooding, 1994). 투습컵법을 사용하여 먼저 시료의 투습률 (water vapor transmission rate; WVTR, g/m².s)을 결정한 후 다음 식에 따라 투습도를 계산하였다:

$$WVP = WVTR \times L/\Delta p$$

여기에서 L 은 종이 시료의 두께 (m), Δp 는 투습도 측정 시의 종이시료 양면의 분압차 (Pa) 이다. 시료의 수분접촉각 (water contact angle; WCA) 을 contact angle analyzer (model Phoenix 150, Surface Electro Optics Co., Ltd., Kunpo, Korea)를 사용하여 측정하였다.

(6) 항균특성

필름의 항균 활성을 두 종류의 식중독 세균 (그램 양성균인 *L. monocytogenes* 및 그람 음성균인 *E. coli*)에 대한 생육억제 효과로 조사 하였다 (Shankar & Rhim, 2017). 시험균을 무균적으로 TSB 및 BHI 배지에 접종하고 37 °C에서 16 시간 동안 항온배양 하였다. 희석한 접종액 (108-109 CFU/mL) 200 μL를 50, 100 및 200 mg의 건조 된 생고분자 코팅 시료를 첨가한 20 mL TSB 및 BHI broth에 무균 적으로 옮기고 37 °C에서 15 시간 동안 항온에서 진탕배양하였다. 한천 플레이트에 샘플을 희석도포한 후 생존 세포 수를 측정하여 생육억제효과를 주기적으로 측정 하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) CuO NP의 특성

CuO NP 용액의 색깔은 암갈색으로 변화하였는데, 이는 CuO NP의 생성 때문이다. CuO NP 용액의 흡광패턴은 그림. 37에 보인 바와 같다. 일반적으로CuO NP 용액은 ~ 350 nm에서 흡광특성을 나타낸다. 그러나 CuO NP 용액의 최대흡광파장이 lower wavelength (~ 300 nm)로 이동했는데, 이는 멜라닌 때문이다. CuO NP의 energy band gap을 Fig.1b 에 보인 바와 같이 Tauc plot을 사용하여 나타냈으며, CuO NP의 energy band gap은 4.01 eV였는데, 이는 CuO NP의 band gap (3.5 eV)보다 높은 값을 보였다. 이는 멜라닌의 존재에 기인한다.

CuO NP의 미세구조는 그림. 37c에 보인 바와 같다. CuO NP는 비교적 구형으로 그 크기가 20-130 nm 범위였고, 평균직경이 66.3 ± 24 nm 였다. CuO NP의 원소를 EDX를 사용하여 조사하였다 (그림. 37d). EDX spectrum은 ~ 1 keV 에서 강한 Cu atom의 시그널과 ~ 8 keV 과 ~ 9 keV에서 약한 시그널을 보이는데, 이는 금속 구리에 기인한다.

Dynamic light scattering (DLS) 를 이용하여 입자크기를 분석한 결과를 그림. 37e에 나타냈다. CuO NP의 hydrodynamic diameter는 280.7 ± 3.8 nm였고, polydispersity index 는 0.37 ± 0.02 였다. CuO NP용액의 zeta potential은 -40.1 ± 2.6 mV로서 이 용액이 매우 안정함을 알 수 있다.

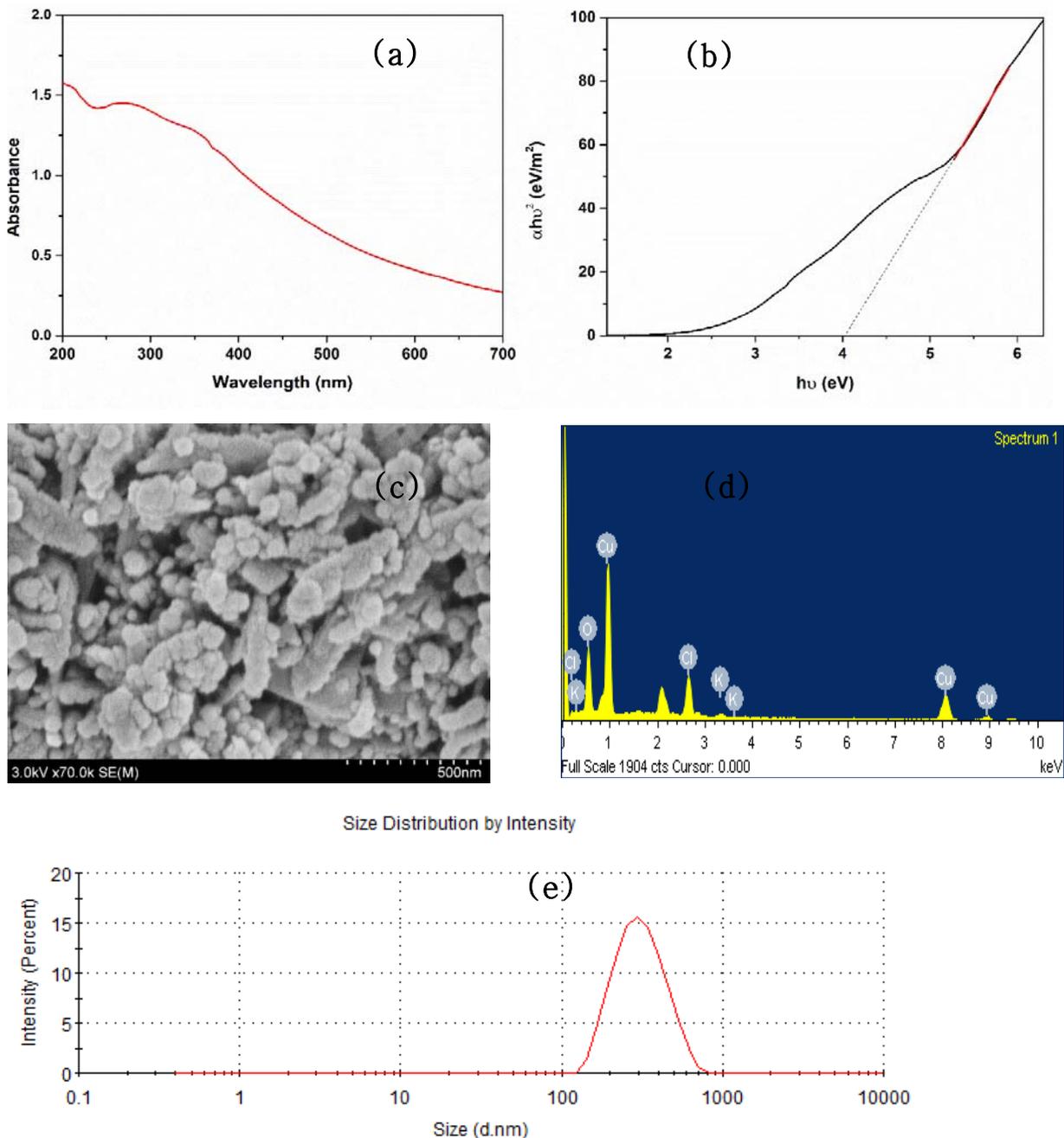


그림. 37. (a) UV-vis spectrum of melanin-mediated CuO NP, (b) Tauc plot, (c) FE-SEM images, (d) EDX spectrum, and (e) DLS spectrum of CuO NP.

CuO NP의 FTIR 결과를 그림. 38a에 나타냈다. FTIR 결과는 멜라닌과 CuO NP 사이의 결합을 보이고 있다.

CuO NP의 결정구조를 XRD 분석을 통하여 조사하였다 (그림. 38b). $2\theta = 35.6^\circ$ (002) 와 $2\theta = 38.8^\circ$ (111)에서의 XRD reflection은 CuO (space group C2/c)의 생성에 기인한다. 나노입자의 평균결정크기를 Debye Scherer's equation ($D = 0.9\lambda/\beta\cos\theta$) 을 사용하여 계산한 바 그 크기는 13.1 nm였다.

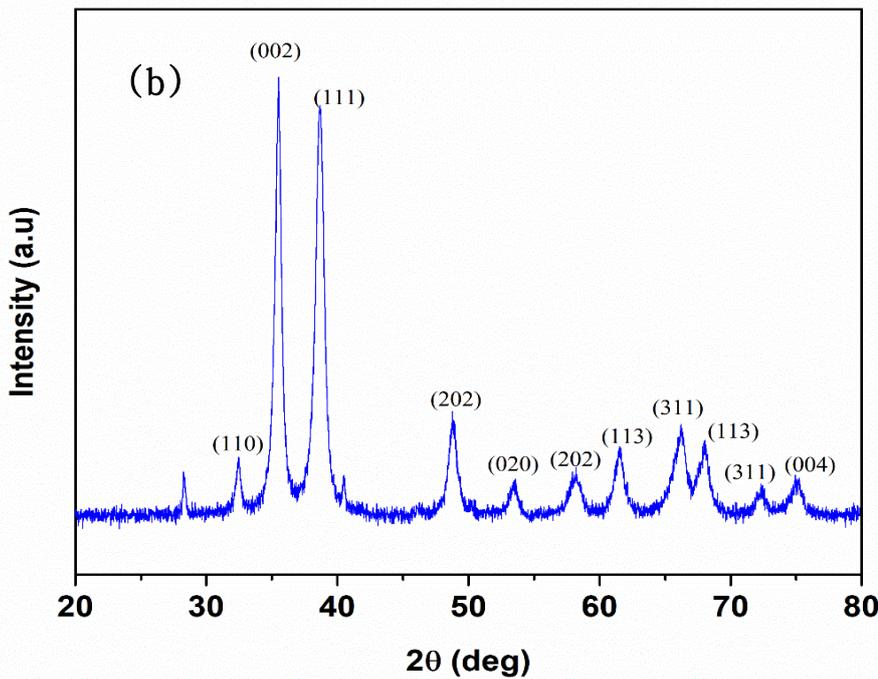
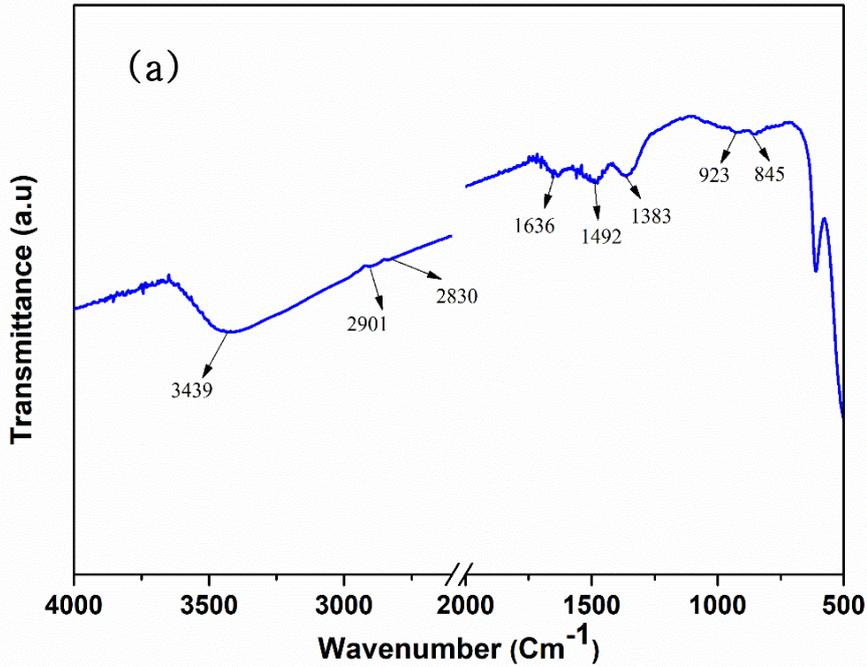


그림. 38. (a) FTIR spectrum and (b) XRD pattern of CuO NP.

(2) 나노복합필름의 특성

(가) 미세구조

그림. 39은 필름 표면의 미세구조를 보여주는 FE-SEM micrograph이다. 나노입자가 균일하게 분산된 나노복합필름의 모습을 보이고 있다. 아가/CuO NP2 복합필름의 원소분석 결과, 1 keV 와 8 keV 에서 약한 시그널을 보이는데, 이는 전형적인 금속 구리에서 볼 수 있는 것으로 나노복합필름에 CuO NP가 존재함을 의미한다.

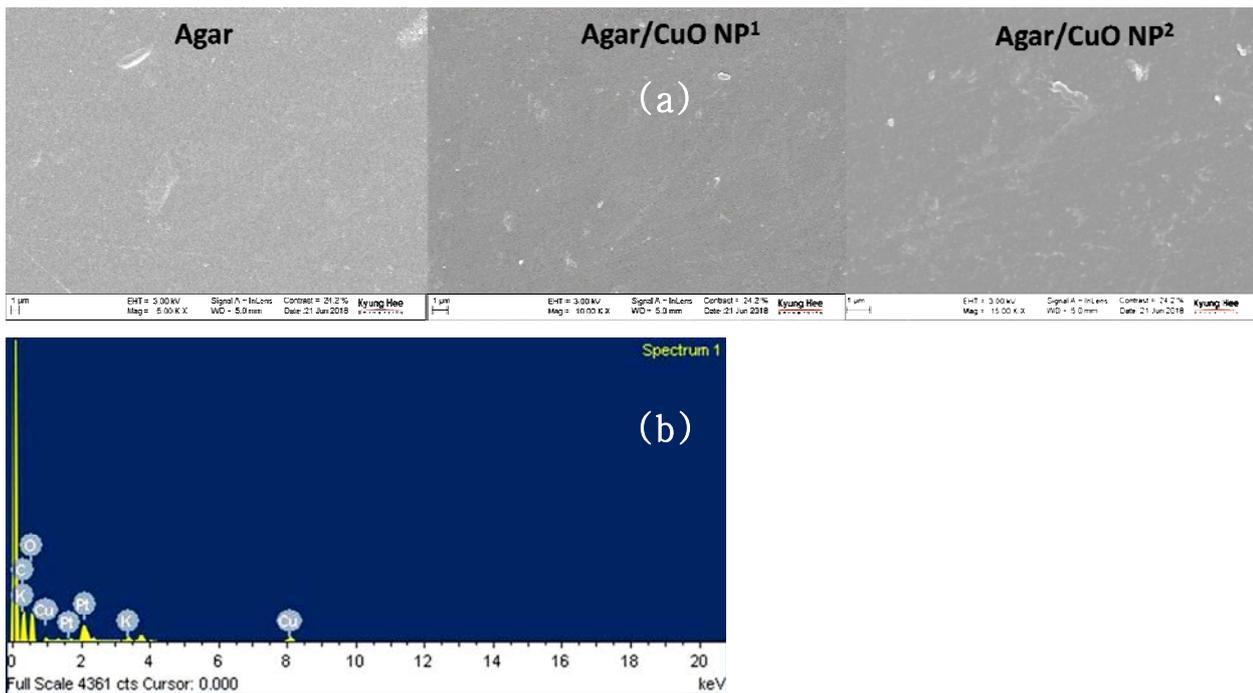


그림. 39. (a) FE-SEM micrographs and (b) EDX spectrum of agar/CuO NP nanocomposite films.

(나) FTIR 및 XRD

아가와 아가/CuO NP 나노복합필름의 FTIR spectra 결과를 그림. 40a에 나타냈다. 일반적으로 나노복합필름의 기능성 그룹에 특기할 만한 변화가 없었는데, 이는 아가의 구조가 으며, CuO NP의 첨가에 의해 별다른 변화가 없음을 의미한다. 다만 피크강도의 차이가 있었는데 이는 아가와 CuO NP의 물리적인 결합에 기인한다. FTIR 결과 역시 아가와 CuO NP 사이의 compatibility가 높음을 보이고 있다.

나노복합필름 중의 CuO NP의 crystallinity를 XRD를 통하여 조사하였으며 아가와 아가/CuO NP 나노복합필름의 XRD pattern 결과를 그림. 40b에 나타냈다. 아가필름은 특별한 diffraction peak를 보이지 않았으나 아가/CuO NP 나노복합필름은 35.45, 38.56o에서 피크를 나타냈는데, 이는 결정형 CuO NP의 (002) 및 (111) lattice plane에 기인한다. 복합필름의 XRD diffraction pattern은 앞서 합성한 CuO NP와 일치한다 (그림. 38b).

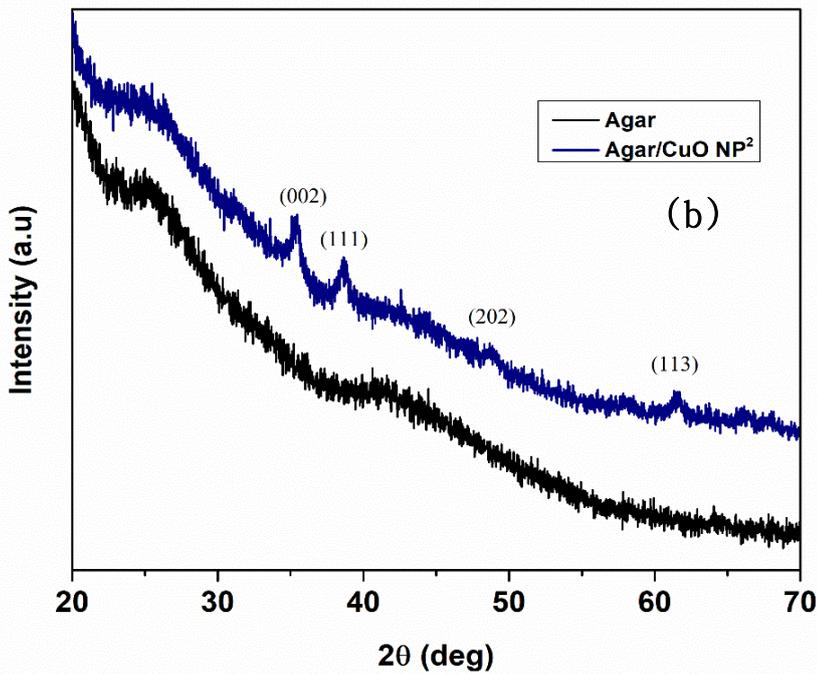
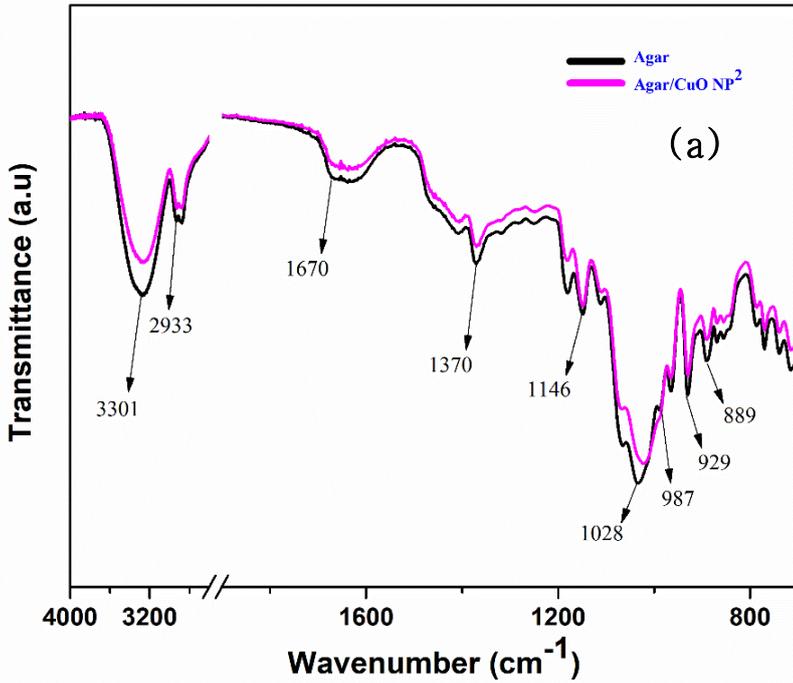


그림. 40. (a) FTIR spectra and (b) XRD patterns of agar/CuO NP nanocomposite film.

(다) 열안정성

아가와 아가/CuO NP 나노복합필름의 TGA 및 DTG 결과를 그림. 41에 나타냈다. 아가와 아가/CuO NP 나노복합필름은 3단계의 열분해 반응을 나타냈는데, 첫번째는 각각 90 °C 와 95 °C에서 나타났으며, 이는 수분의 증발에 기인한다. 두번째는 200 °C 부근에서 시작하여 250 °C에서 최대 값을 보였는데, 이는 가소제로 사용된 글리세롤의 분해에 기인한다. 다음으로 주된 열분해는 300 °C 부근에서 시작되었는데, 이는 아가의 열분해에 기인한다. 아가와 아가/CuO NP 나노복합필름의 600 °C에서 남은 char residue의 양은 각각 19.6% 및 30.6%였다.

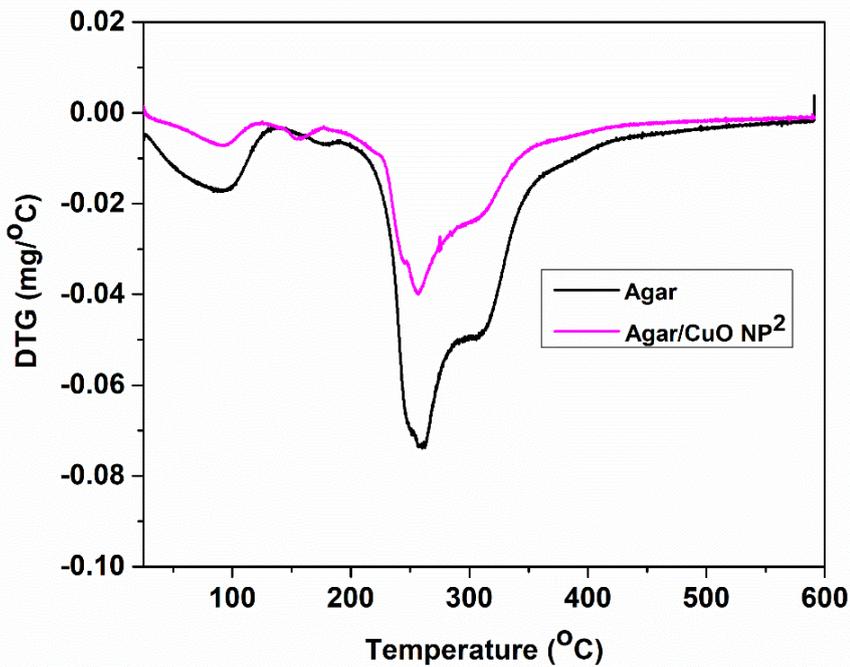
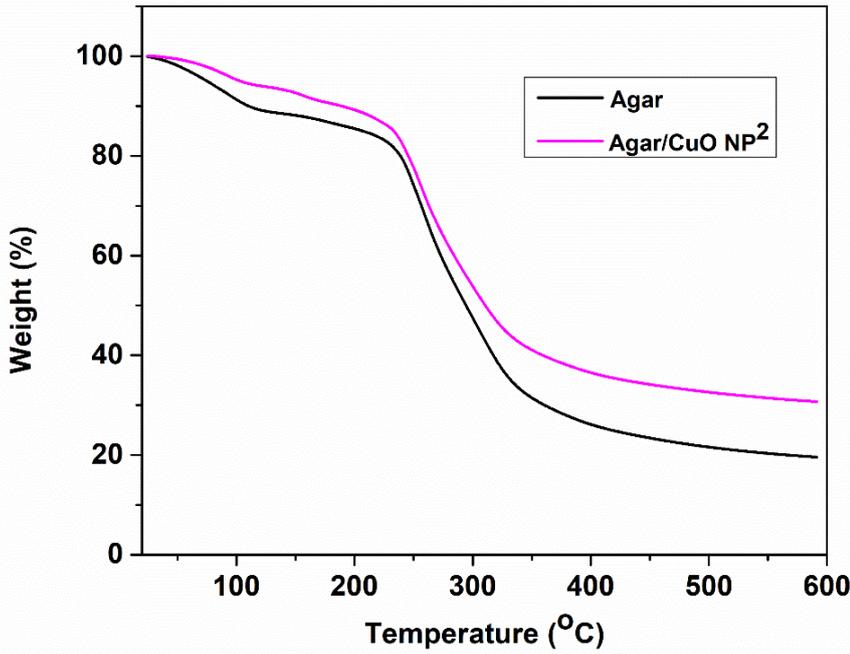


그림. 41. TGA and DTG thermograms of agar/CuO NP nanocomposite film.

(라) 표면색 및 광투과도

아가와 아가/CuO NP 나노복합필름의 표면색 측정 결과를 Table 16에 나타냈다. 아가필름의 모든 색 값들이 CuO NP의 첨가에 의해 유의적인 ($p < 0.05$) 차이를 보이며 변화하였다. 특히 필름의 밝기 (lightness: Hunter L-value)는 CuO NP의 첨가농도에 비례하여 크게 감소하였다. 반면에 홍색도 (Hunter a-value)와 황색도는 증가하였으며, 이에 따라 총색차 (ΔE) 역시 증가하였다.

Table 16. Surface color and transmittance of agar-based films.

Films	L	a	b	ΔE	T ₂₈₀ (%)	T ₆₆₀ (%)
Agar	90.6±0.3 ^c	-0.64±0.1 ^a	7.3±0.1 ^a	3.2±0.2 ^a	44.5±2.5 ^c	88.5±0.9 ^c
Agar/CuO NP ¹	60.3±0.4 ^b	6.92±0.1 ^b	20.3±0.1 ^b	36.4±0.3 ^b	9.9±1.9 ^b	49.7±0.1 ^b
Agar/CuO NP ²	42.4±1.3 ^a	10.24±0.1 ^c	19.04±0.2 ^b	53.0±1.2 ^c	1.4±1.2 ^a	26.9±0.1 ^a

The values have been represented as a mean ± standard deviation. The value in the same column followed by the same letter is not significantly (p > 0.05) different.

필름의 자외선차단성과 투명성 결과도 Table 16에 표기되어 있다. 아가필름은 T660 이 88.5%로서 매우 투명하였으나 CuO NP의 첨가에 의해 T660 이 50%로 감소하였으나 여전히 see-through가 가능하였다. 아가/CuO NP 복합필름의 자외선 차단효과는 가시광선에 비해 크게 증진되었다. 2 wt%의 CuO NP를 첨가했을 경우, 400 nm 이하에서 거의 모든 자외선을 차단하였다. 아가/CuO NP 복합필름의 강한 자외선 차단특성은 멜라닌과 CuO NP에 기인한다.

(마) 기계적 특성

나노복합필름의 기계적물성특성 결과를 Table 17에 나타냈다. 아가/CuO NP 나노복합필름의 두께는 아가필름에 비해 유의적으로 증가하였다. 아가/CuO NP 나노복합필름의 기계적강도 (TS) 와 연신율 (EB)은 유의적인 차이가 없었으나 stiffness (EM)는 다소 증가하였다

Table 17. Mechanical properties, water vapor permeability, and water contact angle of agar-based films.

Films	Thickness (μm)	TS (MPa)	EB (%)	EM (GPa)	WVP (×10 ⁻⁹ g.m/m ² .Pa.s)	WCA (deg.)
Agar	49.0±0.4 ^a	45.1±0.6 ^a	4.4±0.6 ^a	2.17±0.05 ^b	2.99±0.3 ^a	40.9±3.8 ^a
Agar/CuO NP ¹	59.2±0.6 ^c	45.1±1.8 ^a	4.8±0.6 ^a	1.85±0.10 ^a	3.99±0.4 ^b	50.2±4.0 ^b
Agar/CuO NP ²	55.5±0.7 ^b	44.9±0.9 ^a	4.7±0.3 ^a	1.95±0.10 ^{ab}	4.35±0.5 ^b	51.2±2.7 ^b

The values have been represented as a mean ± standard deviation. The value in the same column followed by the same letter is not significantly (p > 0.05) different.

(바) 투습도(WVP) 및 수분접촉각 (WCA)

아가와 아가/CuO NP 나노복합필름의 투습도와 수분접촉각 결과도 Table 17에 나타냈다. 아가/CuO NP 나노복합필름의 투습도는 아가필름에 비해 유의적인 차이를 보이며 증가했는데, 이는 아가 매트릭스와 나노입자 사이에 비연속적인 결합이 이루어졌기 때문으로 판단된다.

필름표면의 소수성의 지표로 사용되는 수분접촉각은 아가필름이 40.9±3.8°로서 매우 친수성이 높은 표면을 갖음을 보이고 있다. 복합필름을 형성한 후에는 50.2±4.0° 와 51.2±2.7° 로 증가하여 표면의 소수성이 다소 증가하였음을 보이고 있다.

(3) 항균성

아가와 아가/CuO NP 나노복합필름의 항균특성을 식중독세균인 *E. coli* 와 *L. monocytogenes* 에 대해 조사하여 그 결과를 그림. 42에 나타냈다. 아가필름은 아무런 항균성을 보이지 않았으나 CuO NP를 첨가한 복합필름은 미생물의 종류와 나노입자의 사용농도에 따라 뚜렷한 항균성을 나타냈다. 아가/CuO NP 나노복합필름은 *E. coli* 균주를 9-12 시간 내에 완전 사멸시켰다. 반면에 *L. monocytogenes*, 균주에 대해서는 단순히 생육속도를 저해하는 효과를 보였다.

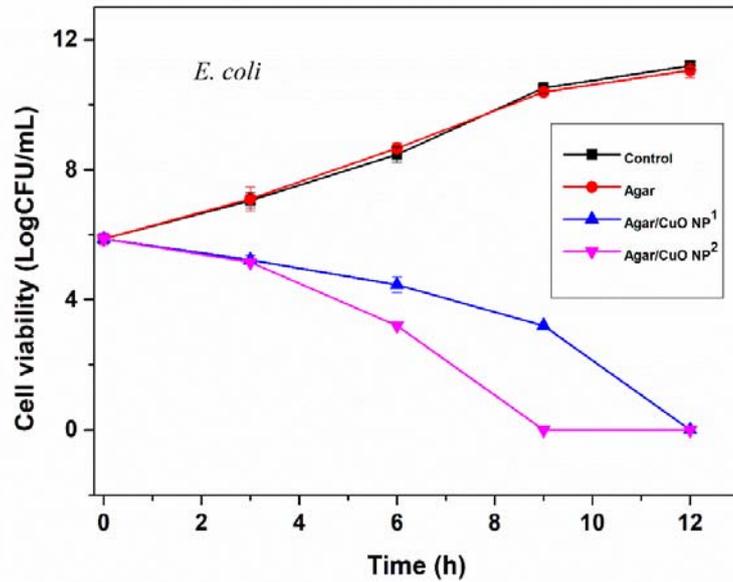
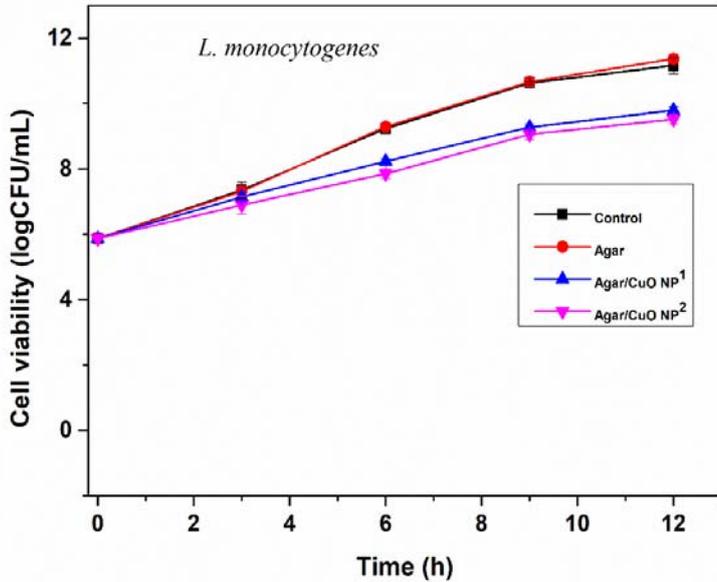


그림. 42. Antimicrobial activity of agar/CuO NP nanocomposite films against *E. coli* and *L. monocytogenes*.

다. 소결

멜라닌을 안정제로 사용하여 구형의 CuO NP를 제조하고 이를 이용하여 아가/CuO NP 나노복합필

를 제조하였다. FE-SEM 결과는 CuO NP가 아가필름에 균일하게 분산도니 것을 보였으며, FTIR 결과는 멜라닌에 의해 안정화된 CuO NP가 아가와 잘 조화를 이룸을 보였다. 아가/CuO NP 복합필름은 높은 자외선 차단성을 나타냈다. 또한 아가/CuO NP 나노복합필름은 E. coli와 L. monocytogenes,에 대해 강한 항균활성을 나타냈다. 강한 자외선 차단성과 항균성을 갖는 아가/CuO NP 나노복합필름은 환경친화형의 기능성 식품포장재로성의 응용성이 높은 것으로 기대된다.

3. HMR식품 포장용 기능성 필름제조용 마스터 배치 제조 및 기능성 필름 제조

기능성 HMR 식품포장 필름을 제조하기 위하여 포장재의 가격과 현가공공정을 고려하여 필름베이스로 LDPE를 선정하고 여기에 앞서 연구에서 밝혀진 기능성 소재인 멜라닌, ZnO 나노입자, 자몽씨추출물(GSE)를 혼합하여 LDPE/Mel/ZnONP/GSE 마스터배치를 제조하고 이를 사용하여 extrusion blowing 방법으로 LDPE/Mel/ZnONP/GSE 필름을 제조하여 그 물성을 조사하였다.

여기에서 멜라닌 (Mel)은 항산화성, 항균성, 자외선 차단성을 부여하고, ZnO 나노입자 (ZnO NP)는 항균성 및 자외선 차단성, 자몽씨추출물 (GSE)는 항균성과 자외선 차단성, 항산화성을 부여하기 위해 사용하였다.

가. 개발내용

그림. 43에는 LDPE/Mel/ZnONP/GSE 마스터배치와 LDPE/Mel/ZnONP/GSE 필름의 모습을 보이고 있다.



그림. 43. LDPE/Mel/ZnONP/GSE master batch and nanocomposite film.

LDPE/Mel/ZnONP/GSE 필름의 표면색과 자외선 및 가시광선 투과도 (T280, T660)는 Table 18에 보인 바와 같다. LDPE/Mel/ZnONP/GSE필름은 LDPE필름에 비해 다소 어두우며, 홍색도와 황색도가 증가하였고, 자외선 차단성이 크게 증가하였다.

Table 18. Surface color and light transmittance of LDPE and LDPE/Mel/GSE/ZnONP films

film	L	a	b	ΔE	T ₂₈₀ (%)	T ₆₆₀ (%)
LDPE	91.25±0.1 ^b	0.4±0.1 ^b	4.3±0.1 ^a	1.1±0.1 ^a	62.7±1.1 ^b	85.3±0.7 ^b
LDPE/Mel/GSE/ZnONP	80.8±0.2 ^a	0.2±0.1 ^a	12.4±0.1 ^b	13.3±0.2 ^b	5.7±0.9 ^a	56.7±1.8 ^a

그림. 44은 LDPE/Mel/ZnONP/GSE필름과 LDPE필름의 흡광스펙트럼 결과이다. LDPE필름은 특징적인 흡광피크를 보이지 않았으나 LDPE/Mel/ZnONP/GSE필름은 375nm부근에서 뚜렷한 흡광피크를 보였는데, 이는 멜라닌에 의한 것이다.

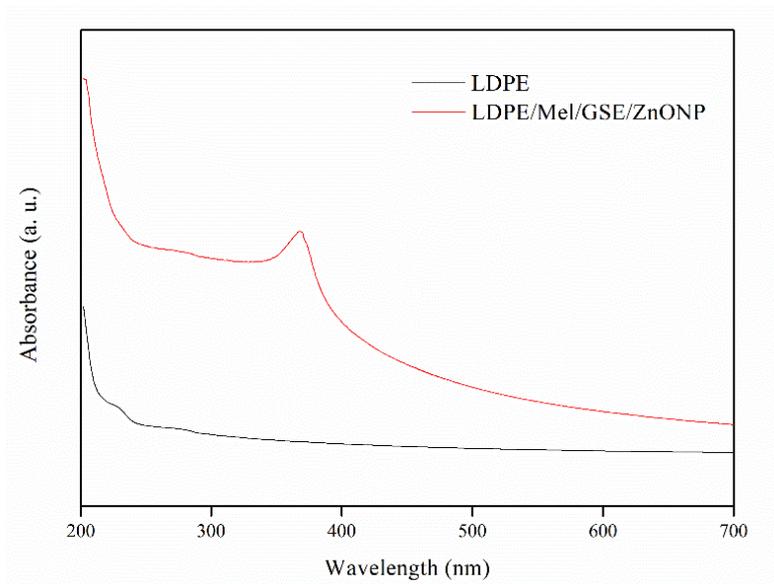


그림. 44. UV-visible spectra of LDPE and LDPE/Mel/GSE/ZnONP films.

Table 19에는 LDPE/Mel/ZnONP/GSE필름과 LDPE필름의 tensile test 결과를 나타냈다. LDPE필름에 비해 LDPE/Mel/ZnONP/GSE필름의 인장강도가 감소하였다. 이는 이들 첨가물에 의해 LDPE 매트릭스의 연속성이 저하하였기 때문이다.

Table 19. Thickness and tensile properties of LDPE, and LDPE/Mel/GSE/ZnONP films.

film		Thickness (μm)	TS (MPa)	EB (%)	EM (MPa)
Machine direction	LDPE	59.6±2.5 ^a	22.0±1.8 ^b	798.2±47.0 ^b	104.0±10.6 ^a
	LDPE/Mel/GSE/ZnONP	69.8±1.8 ^b	17.0±0.9 ^a	528.0±40.6 ^a	102.9±8.1 ^a
Cross direction	LDPE	62.9±0.3 ^a	22.6±1.1 ^b	397.6±30.3 ^a	104.5±3.0 ^a
	LDPE/Mel/GSE/ZnONP	68.6±0.2 ^b	15.1±0.8 ^a	546.5±14.5 ^b	113.2±4.5 ^a

Table 20에는 LDPE/Mel/ZnONP/GSE필름과 LDPE필름의 투습도(WVP)와 수분접촉각(WCA)의 결과를 나타냈다. 이들 기능성 물질의 첨가는 LDPE필름의 소수성이나 투습도에 큰 변화를 가져오지 않았다.

Table 20. Water vapor permeability (WVP) and water contact angle (WCA) of LDPE and LDPE/Mel/GSE/ZnONP films.

film	WCA (deg.)	WVP ($\times 10^{-12}$ g.m/m ² .Pa.s)
LDPE	84.2 \pm 2.8 ^b	1.5 \pm 0.1 ^a
LDPE/Mel/GSE/ZnONP	79.4 \pm 2.6 ^a	1.4 \pm 0.2 ^a

그림. 45은 LDPE/Mel/ZnONP/GSE필름과 LDPE필름의 FTIR 테스트 결과이며, 그림. 46는 열안정성 테스트 결과이다. 이들 기능성물질의 첨가에 의해 LDPE 필름의 열안정성은 유의미한 영향을 받지 않았다.

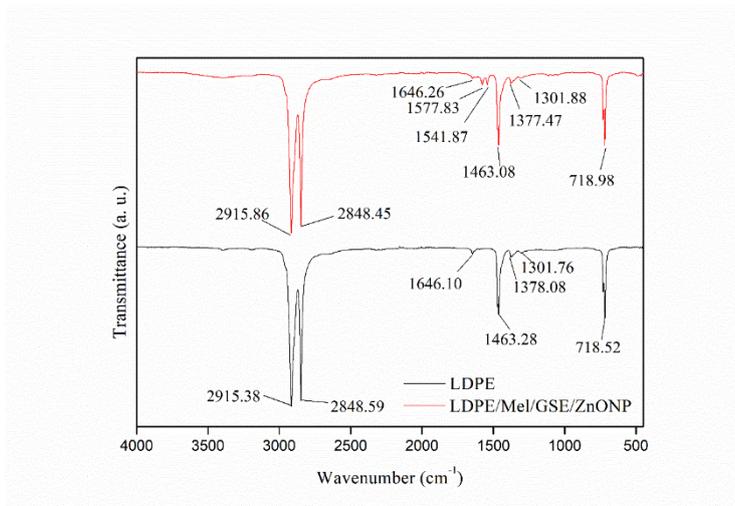


그림. 45. FTIR spectra of LDPE, and LDPE/Mel/GSE/ZnONP films.

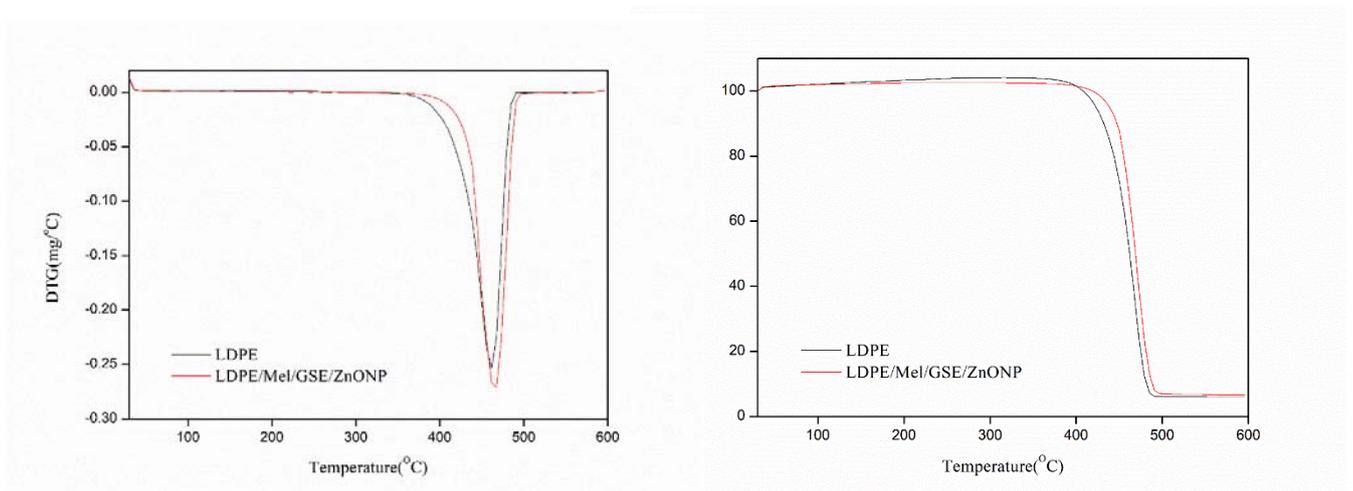


그림. 46. TGA and DTGA spectra of LDPE, and LDPE/Mel/GSE/ZnONP films.

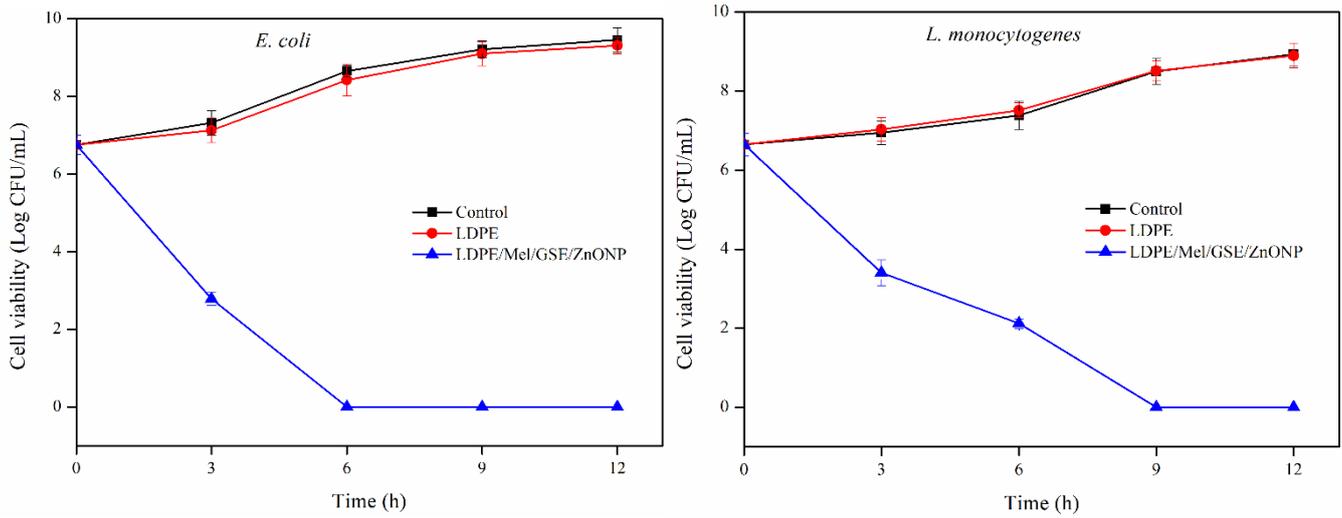


그림. 47. Antimicrobial activity of LDPE and LDPE/Mel/GSE/ZnONP films.

LDPE/Mel/ZnONP/GSE 필름과 LDPE 필름의 식중독 세균인 *L. monocytogenes* 와 *E. coli*에 대한 항균성 테스트 결과는 Fig. 47에 나타난 바와 같이 LDPE/Mel/ZnONP/GSE 필름은 그람-양성균인 *L. monocytogenes* 를 9시간만에 그람-음성균인 *E. coli*를 6시간만에 완전히 사멸시켜, 두 식중독 세균에 대해 강한 항균성을 나타냈다. 이러한 항균성은 주로 ZnO 나노입자와 차몽씨추출물 (GSE)의 항균성에 기인한다.

이러한 항균효과는 공인시험기관의 성적을 통해서도 검증되었다.

TEST REPORT



의뢰자 : (주)한그린테크	접수번호 : M287-18-02242
주소 : 서울특별시 금천구 가산디지털 1로 145, 6층 602호	발급일자 : 2018-08-20
품명 : 필름	용도 : 품질관리용
의뢰자제시시료명 : KH1-LD FILM	쪽번호 : 1/4

2018-08-06 일자로 의뢰하신 시료에 대한 시험결과는 아래와 같습니다.

■ 시험 결과 ■

01. 항균력 (JIS Z 2801 : 2010, 필름밀착법) : 세균수/㎡, 항균활성치 log

		BLANK	#1
균주 1	초기균수	1.4 x 10 ⁴	1.4 x 10 ⁴
	24 시간후	2.4 x 10 ⁴	< 0.63
	항균활성치	-	4.6
균주 2	초기균수	1.4 x 10 ⁴	1.4 x 10 ⁴
	24 시간후	1.1 x 10 ⁶	< 0.63
	항균활성치	-	6.2

주) 표준필름 : Stomacher® 400 POLY-BAG
 시험조건 : 시험균액을 (35 ± 1) °C, 90 % R.H. 에서 24 시간 정지 배양 후 균 수 측정
 항균효과 : 항균활성치 2.0 이상
 사용공시균주 : 균주1 - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P
 균주2 - *Escherichia coli* ATCC 8739
 별첨사진참조

** 시험 결과 기록 완료 **

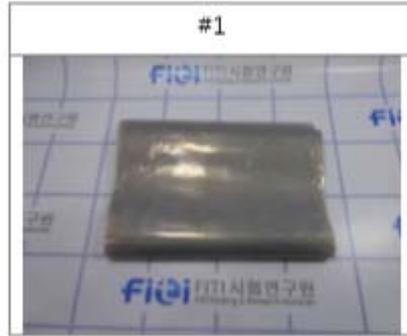
FIDI 시험연구원장



※ 문서 확인 번호 : JPIP-JJ6Q-AW6H ※

(홈페이지에 접속 후 "성적서확인"메뉴에서 문서 확인 번호를 통해 위 변조 여부를 확인할 수 있습니다.)

**** 시료사진 ****



- 항균력 시험사진 : 균주1 : BLANK -



- 항균력 시험사진 : 균주2 : BLANK -



- 항균력 시험사진 : 균주1 : #1 -



- 항균력 시험사진 : 균주2 : #1 -



나. 소결

항균성, 항산화성, 자외선 차단성 등의 기능성을 갖는 멜라닌과 ZnO 나노입자 및 자몽씨추출물을 LDPE와 혼합하여 마스터 배치를 만들고 이를 이용하여 범용적으로 사용할 수 있는 기능성 필름을 제조하였다. LDPE/Mel/ZnONP/GSE필름은 식중독 세균인 *L. monocytogenes* 와 *E. coli*에 대해 강한 항균성을 나타내어 HMR식품의 항균포장재로 사용 가능성이 높은 것으로 판단된다. 또한 이러한 필름은 기존의 필름가공방법을 그대로 사용할 수 있어 산업화가 용이한 것으로 판단된다.

제4절 커팅채소 및 과일용 기능성 포장용기 개발

1. 커팅채소 및 과일용 소재 물질 개발

가. 개요

채소와 과일은 HMR용으로 가공하기 위해 커팅 과정을 거치게 된다. 이렇게 커팅된 커팅채소 및 과일은 원물인 농산물 상태보다 공기에 접촉되거나 외부환경에 노출되는 면적이 커지므로 더 쉽게 변질되게 된다. 이러한 현상을 지연시키기 위해 주관기관이 보유한 기존 선도유지물질에 다공성과 항균성을 증가시킬 수 있는 물질을 일부 첨가하여 혼합한 조성을 개발하였다.

본 연구에서는 무기계 물질인 TiO_2 와 ZnO를 다공성이 큰 zeolite, boehmite에 함침시켜 기능을 향상시키고자 하였다. 또한 이렇게 개발된 물질을 기존 선도유지물질인 AR-34에 혼합하여 기능성을 극대화하고자 하였다. AR-34는 주요 구성 성분이 황토(loess), 맥반석(barley stone), 옥(jade), 불석(zeolite), 숯(charcoal), 고령토(kaolin), 장석(feldspar), 흑운모(biotite), 셀레늄(selenium) 등으로 주요 구성 성분들의 복합적인 작용에 의해 우수한 선도유지 효과가 구현되는 물질로 기존 농산물이서 우수한 선도유지 효과를 보이는 물질이다.

나. 무기 신소재 물질 조성개발 Process

무기계 물질을 다공성 담체에 함침시키는 방법은 건조 sol-gel 전환법을 사용하였다. 먼저 다공성 물질인 zeolite, boehmite를 다공성 물질 : 증류수를 1:3의 비율로 혼합하여 20W/V%로 슬러리화 하였다. 다음 첨가하려는 항균 이온의 목적에 따라 Ti의 첨가시에는 $TiOCl_2$, Zn의 첨가시에는 $ZnCl_2$ 를 증류수에 녹여 용액화 하였다. 이 때 $TiOCl_2$ 와 $ZnCl_2$ 수용액의 농도는 0.5M이었으며 함침(Impregnation)시에는 1M 농도의 NH_4OH 용액과 1M 농도의 H_2SO_4 용액을 PH5로 유지시키며 히팅맨틀내에서 약 2시간 동안 90℃정도로 반응시켰다. 반응이 끝난 용액은 Filtration과 Washing 과정을 통해 약 3회 이상 수분기를 제거해주고, 알콜이나 증류수로 2-3회 세정을 통해 세척한 뒤 건조과정을 거쳤다.

건조 후 나온 결과물은 덩어리진 상태가 많으므로 믹서나 막자사발로 고르게 분쇄시킨 뒤 하소(Calcination) 과정을 수행하였다. 하소는 결과물에 있는 수분이나 기타 유기불순물을 제거하는 작업으로 1단계인 승온은 분당 약 5도씩으로 실시하였고 하소온도는 각각의 물질에 따라 온도를 달리 하여 진행하였다.

감마알루미나(boehmite)를 matrix로 하는 물질은 boehmite의 상전이 온도가 약 700℃정도 이므로 하소는 그 이하의 온도에서 이루어져야 한다. 본 연구에서는 감마알루미나를 matrix로 하는 경우 하소온도는 600℃, 하소시간은 1시간으로 설정하여 하소를 진행하였다.

그 밖의 물질들은 높은 고온에서 상전이나 분해가 일어나므로 유기불순물이나 기타 성분을 제거하

는데 충분할 정도의 온도로 하소를 진행하였다. 이 경우 하소온도는 900℃, 하소시간은 1시간으로 설정하여 하소를 진행하였다.

하소가 끝난 후 얻어진 결과물은 믹서나 막자사발로 다시 분쇄과정을 거쳐 응집물들을 제거하여 고른 분말을 얻고자 하였다.

2. 용기용 PET 마스터배치 개발

가. 용기용 PET 마스터배치

PET(열가소성 폴리에스테르)는 섬유, 용기 및 필름과 같은 생성물을 제조하기 위해 압출, 사출성형 분야에서 흔히 사용된다. 그러나 PET는 PE(폴리에틸렌)이나 PP(폴리프로필렌) 등에 비해 낮은 용융 점도, 낮은 용융 강도 및 낮은 용융 탄성을 갖기 때문에 수지 속에 세라믹 물질과 같은 첨가물이 혼합되면 용융 점도가 더 낮아져 마스터배치 제조가 쉽지 않다. 또한 마스터배치 첨가에 의해 제작되는 성형품의 균일한 품질 안정성을 위해서는 마스터배치 내에서 선도유지 물질의 분산성이 매우 중요하기 때문에 단분산 펠릿을 제조하는 것이 PET 마스터배치 제조에 있어 핵심이 된다.

나. PET 마스터배치 제조 개관

선도유지 물질이 포함된 PET 마스터배치의 낮은 용융 강도 및 용융 점도를 극복하기 위해서는 PET 마스터배치 제조 시에 PET의 용융 강도 및 용융 점도를 높여 줄 수 있는 방법을 사용해야 한다. PET의 용융 강도 및 용융 점도를 높여줄 수 있는 방법 중 본 연구에서는 PET 마스터배치 제조 시에 중합체의 분자량을 증가시킬 수 있도록 폴리에스테르의 개질을 위해 분지제 및 사슬결합제를 첨가하였다.

분지제는 폴리올 분지제를 사용하였고 사슬결합제는 다가 무수물을 사용하였다. 본 연구의 마스터배치에 사용하기에 적합한 폴리에스테르는 일반적으로 사용되는 약 0.4dL/g의 고유점도(IV, Intrinsic Viscosity)에 비해 더 높은 약 0.6dL/g의 고유점도를 갖는 것을 사용하였다. 이는 선도유지 물질이 함유되므로써 발생하는 용융 점도의 저하 현상을 커버하기 위한 목적이다.

다. PET 마스터배치 제조

PET 마스터배치를 다음과 같은 과정을 통해 제작하였다. 앞의 함침결과를 토대로 함침이 제대로 이루어진 조성 물질과 기존 선도유지 물질의 혼합을 통해 PET 마스터배치를 제조하였다. 함침물질과 기존 선도유지 물질의 조성비는 기능성 및 경제성을 고려하여 기존물질 대 함침물질의 비율을 80/20으로 정하였다.

마스터배치의 제조는 제조된 원료 분말을 고분자수지인 폴리에스테르와 혼합한 후 extruder에 투입하여 진행하였다. 원료와 폴리에스테르 수지의 균일한 혼합을 위해 power mixer를 사용하였으며 원료 분말과 폴리에스테르 수지의 혼합 batch를 extruder에 투입하였다. 이 때 용융 점도의 감소방지를 위해 분지제와 사슬결합제를 동시에 투입하였고 분산성 향상을 위해 지방산염 계열의 분산제와 첨가제로서 wax를 사용하였다. extruder의 chamber내 온도는 약 280℃ 정도를 유지하며 마스터배치의 직경이 약 2.5mm~3mm가 되도록 screw의 속도를 조절하며 안정적인 마스터배치의 제조가 가능하도록 조건을 설정하였다.

3. 용기용 PET 다층 sheet 개발

다층 PET sheet는 PET sheet 내에서 선도유지 물질의 함량을 최대한 낮추기 위한 다층 sheet 개

발을 목표로 하였다. 선도유지 물질의 함량을 낮추기 위해서는 다층 PET sheet에서 내면층의 두께를 최소한으로 가져가는 것이 필요하다. 하지만 내면층의 두께를 낮추는 데는 제약조건이 따르게 되는데 동시 압출의 경우 두 sheet 층 사이의 두께의 차이가 클수록 토출되는 플라스틱 수지의 양의 차이가 커져 박리가 일어나거나 중간에 sheet가 절단되는 현상이 발생하게 된다. 이를 방지하기 위해 sheet의 압출 공정 조건을 제어할 필요가 있다.

본 연구에서는 플라스틱 수지 물질로 PETG(Poly Ethylene Terephthalate Glycol)을 사용하여 제조된 PET 마스터배치와 혼합 후 압출기에서 250℃ 의 온도에서 토출량을 조절하며 라미네이션 롤러의 온도를 조절하여 용기 제조에 필요한 용기용 다층 PET sheet를 제작하였다.

4. HMR용 PET 용기제작

가. 커팅채소용 PET 용기제작

앞에서 제작된 다층 PET sheet를 이용 커팅채소용 용기를 제작하였다. 커팅채소용기는 기존에 대형마트 및 온라인에서 판매중인 샐러드 용기에 대한 조사를 통해 용기의 크기와 디자인을 결정하였고 성형은 용기에 맞는 금형설계 후 제작된 금형을 통한 진공성형방식에 의해 제작하였다. 용기는 사용의 편리성과 고객의 요청사항을 고려하여 커팅채소 1입 용기와 4입 용기의 2종류로 구성하였고 몸체와 뚜껑을 분리하는 방식을 채택하였다.

그림 48에 제작된 커팅채소용 PET 용기의 사이즈 및 외형을 나타내었다.

품명	제품사진	크기(mm)
커팅채소 1입 몸체		100x100x100
커팅채소 1입 뚜껑		100x100x10
커팅채소 4입 몸체		160x120x70
커팅채소 4입 뚜껑		160x120x10

그림. 48. 제작된 커팅채소용기의 외형 및 사이즈

제작된 커팅채소용기를 활용하여 다양한 커팅채소를 실제로 그림. 49와 같이 활용하였으며 사업화하여 마트에서 사용하고 있다.



그림. 49. 제작된 용기의 활용예

나. 커팅과일용 PET 용기제작

다층 PET sheet를 이용하여 커팅과일용 용기를 제작하였다. 커팅과일용기는 사용성을 고려하여 기존의 용기 디자인을 변형하여 소비자가 쉽게 커팅과일을 먹을 수 있도록 포크를 포함시킬 수 있도록 금형을 설계하고 이에 맞추어 용기를 제작하였으며 그림. 50에 제작된 커팅과일용 용기의 외형 사진을 나타내었다.



그림. 50. 커팅과일용 용기

실제 소비자가 사용시에는 과일액상이 흘러나오지 않고 뚜껑을 쓰기 편하도록 제작하는 것이 필요하다. 최종적으로 제작된 커팅과일 용기는 이지필 필름을 상단부에 도입하고 상단 부분 탑실링을 통해 제작되었으며 그 공정과 이를 통해 실제 제작되어 사업화된 제품의 사진을 그림. 51에 나타내었다.



그림. 51. 커팅과일 용기 5열 자동실링작업 및 최종제품

다. PET 용기 선도테스트

제작된 PET 용기의 HMR용기로의 선도유지 효과를 알아보기 위해 선도테스트를 수행하였다. PET 용기용 물질로 개발된 함침 Bohemite 및 함침 Zeolite를 사용하여 제작한 용기와 비교를 위해 시판 유기항균제(MST)를 넣어 제작한 용기 및 일반용기의 4종을 비교 대상으로 하였다.

테스트 품목은 토마토와 혼합샐러드(양배추, 양상추, 오이 등 채소혼합)를 대상으로 하였으며 일정 기간 경과 후 ATP와 일반세균, 대장균 함량을 측정하였다.

(1) 토마토 선도테스트

토마토				
ATP			일반세균 10 ⁵	
구분	RLU	평균 RLU	집락수	CFU/g(ml)
일반	1118	1122	72	67.5
	1126		63	
A(T/BM)	1864	1862	109	101.5
	1859		94	
B(Z/ZL)	498	496	55	49
	493		43	
C(MST)	704	706	78	83.5
	707		89	

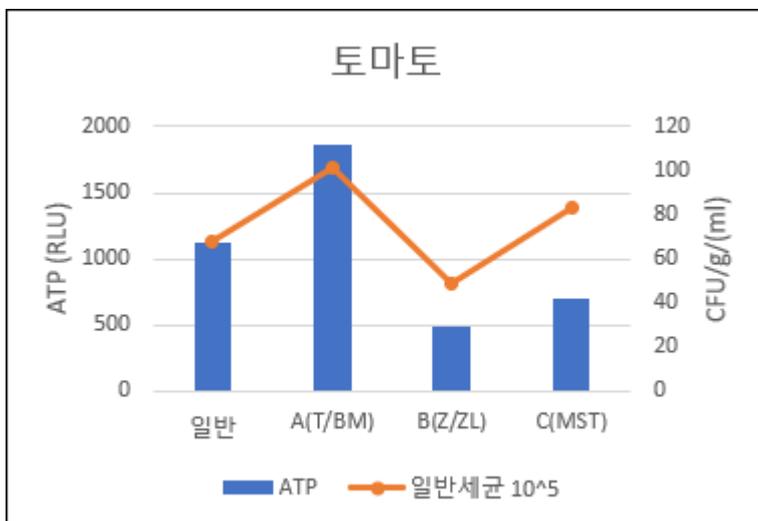


그림. 52. ATP 및 일반세균 수치 결과(토마토)

토마토 시료를 사용해 일반, A(T/BM), B(Z/ZL), C(MST)의 4종 샘플 비교테스트를 진행하였다. 관능평가 외에 ATP와 일반세균, 대장균 및 대장균군 실험을 진행 하였다. ATP의 오염도 수치를 나타내는 파란색 막대그래프를 보면 B(Z/ZL)가 496 RLU 값으로 C(MST) 706 RLU, 일반 1122 RLU, A(T/BM) 1862 RLU 순으로 ATP 오염도 수치가 높아지는 것을 알 수 있었다. 일반세균수를 나타

내는 주황색 꺾은 선형 그래프를 보면 10⁵에서 B(Z/ZL)가 49 CFU/g/(ml)으로 가장 낮은 집락수를 보였고, 일반 67.5 CFU/g/(ml), C(MST) 83.5 CFU/g/(ml), A(T/BM) 101.5 CFU/g/(ml)로 순차적으로 일반세균 집락수가 높아져 토마토의 부패도가 증가하는 것을 볼 수 있다. 대장균 및 대장균군은 검출되지 않아 기록하지 못하였다. ATP와 일반세균으로 4종의 용기 샘플을 종합적으로 평가하였을 때 B(Z/ZL)에서의 토마토가 가장 오염도, 부패도가 적어 양호하였고, A(T/BM)에서의 토마토가 가장 오염도, 부패도가 높아 좋지 못하였다.

(2) 혼합샐러드

혼합 샐러드								
ATP			일반세균 10 ⁵		일반세균 10 ⁶		대장균군 10 ⁵	
구분	RLU	평균 RLU	집락수	CFU/g(ml)	집락수	CFU/g(ml)	집락수	CFU/g(ml)
일반	32041	31943	114	117.5	25	23.5	33	30
	31845		121		22		27	
A(T/BM)	55351	55043	154	151.5	38	33	17	-
	54735		149		28		10	
B(Z/ZL)	38175	37675	107	103	21	22.5	19	-
	37174		99		24		9	
C(MST)	75666	74172	190	185.5	40	40.5	73	68
	72677		181		41		63	

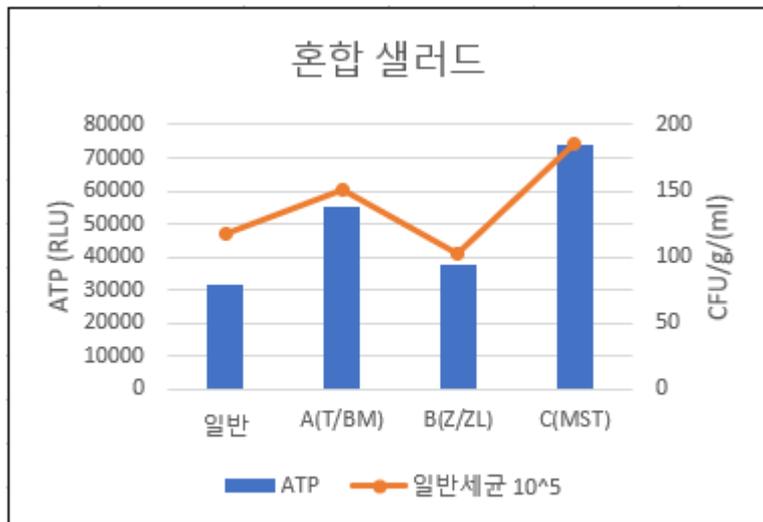


그림. 53. ATP 및 일반세균 수치 결과(혼합샐러드)

양배추, 양상추, 토마토, 오이를 혼합한 샐러드 시료를 사용해 일반, A(T/BM), B(Z/ZL), C(MST)의 4종 샘플 비교테스트를 진행하였다. 관능평가 외에 ATP와 일반세균, 대장균 및 대장균군 실험을 진행 하였다. ATP의 오염도 수치를 나타내는 파란색 막대그래프를 보면 일반이 31943 RLU 값으로 B(Z/ZL) 37675 RLU, A(T/BM) 55043 RLU ,C(MST) 74172 RLU 순으로 ATP 오염도 수치가 높아지는 것을 알 수 있었다. 일반세균수를 나타내는 주황색 꺾은 선형 그래프를 보면 10⁵에서

B(Z/ZL)가 103 CFU/g/(ml)으로 가장 낮은 집락수를 보였고, 일반 117.5 CFU/g/(ml), A(T/BM) 151.5 CFU/g/(ml), C(MST) 185.5 CFU/g/(ml) 순차적으로 일반세균 집락수가 높아져 혼합 셀러드의 부패도가 증가하는 것을 볼 수 있었다. 10^6 일반세균에서 또한 10^5 와 같은 결과로 용기별 수치 차이가 크지 않아 기록하지는 않았다. 혼합셀러드에서 대장균은 검출되지 않았고, 대장균군만 검출이 되었다. 10^5 의 희석배수에서 A(T/BM)와 B(Z/ZL)는 15개 미만의 집락수로 유의 하지 않아 기록하지 않았고, 일반이 30 CFU/g/(ml), C(MST) 68 CFU/g/(ml)로 산출되어 A(T/BM)와 B(Z/ZL), 일반, C(MST)순으로 대장균군 수가 높아졌다. ATP와 일반세균, 대장균군으로 4종의 용기 샘플을 종합적으로 평가하였을 때 B(Z/ZL)에서의 혼합셀러드가 가장 오염도, 부패도가 적어 양호하였고, C(MST)에서의 혼합셀러드가 가장 오염도, 부패도가 높아 좋지 못하였다.

이와 같이 당사 실험실에서 테스트한 결과를 바탕으로 가장 우수한 성능을 보인 조성B(Z/ZL) 제품을 생산하여 수요업체에 제공하였다. 수요처 업체에서 자체 테스트를 수행하였으나 업체의 내부 사정에 의해 테스트 결과를 제공받지는 못하여 본 보고서에는 제시할 수가 없는 한계가 있다. 추후 수요처와의 협의를 통해 실제 유통과정에서의 data를 확보할 계획이다.

제5절 김밥용 기능성 포장용기 개발

1. 김밥용 포장재 제작

김밥용 포장재는 선행연구를 통해 개발된 GSE, CMC, Carrageenan을 함유한 친환경 항균 기능성 코팅액을 유산지에 바코타를 이용하여 도포하는 방식으로 제작하였다. 바코타 코팅 시 코팅액의 두께에 따른 흡습성과 선도효과의 차이를 보기위해 바코타의 두께를 3가지 종류로 조절하였다. 각각의 습도막두께는 바코타 20은 45.7micron, 바코타 40은 91.4micron, 바코타 60은 137.2 micron 이다.

2. 김밥용 포장재의 선도기능성 평가

시료별로 김밥을 감싸 저장하여 일반세균의 생균수를 측정된 결과 시간이 경과함에 따라 포장한 김밥의 생균수는 꾸준히 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 저장 후 24시간이 경과하였을 때 바코타 20 시료를 제외하고 모든 시료군에서 5.0 CFU/ml 이상의 생균수를 보이며 미생물 오염이 진행된 것을 확인할 수 있었다.

저장 중 모든 시간대에서 N(유산지) 시료와 PE 내층코팅한 시료의 생균수가 높은 경향을 나타냈으며, 바코타를 도포한 시료의 경우 저장 초기에는 바코타 40 시료가 가장 느린 미생물 증식속도를 나타냈으며, 바코타 60 시료의 경우에는 초기 6 시간에서는 2번째로 낮은 생균수인 2.6990 CFU/ml 를 나타내다가 12 시간이 경과했을 때에는 바코타 20 시료보다 더 높은 3.8865 CFU/ml 으로 나타났으며 이러한 경향은 24 시간이 경과했을 때에도 바뀌지 않고 계속 유지되는 경향을 보였다. 바코타 60 시료는 저장 18 시간 이후로 균의 증식속도가 빨라져 24 시간 경과 후에는 N(유산지) 시료와 대등한 6.3802 CFU/ml 의 값을 나타냈다. 바코타 40 시료는 저장 초기인 12 시간까지는 가장 낮은 생균수인 2.4771과 2.7709 CFU/ml 을 나타내다가 저장 18 시간 경과 이후부터 급증하여 4.7993 CFU/ml 에 이르러 바코타를 도포한 다른 시료들보다 높은 생균수 값을 나타냈다.

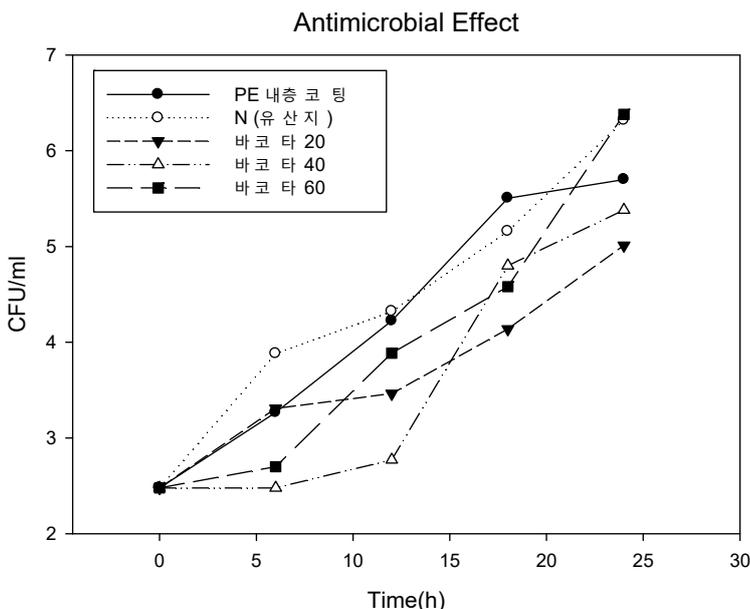


그림. 54. 시료별 김밥 저장 중 일반세균 수 변화 결과

김밥 저장 실험과정에서 주목할만한 점들이 관찰되었다. N(유산지)로 포장한 김밥의 경우 시료인 김밥 주변으로 김밥과 시료가 접촉되었던 부분의 수분 또는 유분의 이동이 발생한 것을 확인할 수 있었다. 이는 절단면의 수분과 기름성분이 저장 중 포장지로 이동하였다는 것을 의미하며 저장기간 중에 식품의 품질을 보장할 수 없어 저장할 수 있는 식품의 범위가 한정되어 효율적이지 못한 포장기법으로 판단된다.



그림. 55. N(유산지) 시료의 김밥 저장 후 사진촬영 결과

이에 대비되는 현상을 내층 PE(Polyethylene)코팅된 시료인 그림. 56에서 확인할 수 있는데 그림. 55와는 달리 그림. 56에서는 김밥과 닿는 면적에도 수분의 흡수없이 유지되고 있는 것을 확인할 수 있다. 식품과 접촉하는 종이 포장지 내부면에 PE를 증착시켜 복합포장지를 제조하여 포장하면 PE가 식품과 포장지 사이의 수분과 기름성분의 이동을 차단하는 역할로 작용하여 저장기간 중에 식품의 품질이 포장지의 재질에 영향을 받지 않도록 해주는 효과가 있다. 그러나 일반세균수의 증가양상에서는 이러한 내층코팅이 김밥의 저장 중 미생물 증식에 별 다른 영향을 주지는 못하는 것을 확인할 수 있었다.



그림. 56. PE 내충코팅 시료김밥 저장 후 사진촬영 결과

바코타 20, 40, 60을 처리하여 김밥을 저장할 경우, 24 시간 후 모든 바코타 시료에서 김밥의 수분이 포장재로 이동되는 현상을 발견할 수 있었으며 김밥의 일부분 또한 이격되어 포장재에 부착되는 현상을 확인할 수 있었다. 또한 포장지로 수분이 이동되는 현상이 N(유산지) 시료에서보다 더 큰 경향을 확인하였으며 그 결과로 비코타를 함유한 시료의 김밥은 저장 후 밥알의 수분 손실로 인하여 갈색으로 변색되는 것을 확인할 수 있었다. 저장 중 식품의 품질에 부정적인 영향을 미치지 않아야 하는 것이 포장재의 기본적인 요건 중 하나인 점을 고려할 때 본 과제에서 사용된 시료들은 결함을 가지고 있다고 판단하는 것이 옳으나 바코타로 코팅한 시료가 N(유산지) 시료와 PE내충코팅 시료들에 비하여 김밥 저장 중 미생물 증식속도의 저하가 관측되어 기능성을 확인하였기 때문에 위 사진들에서 나타나는 저장 중의 품질 변화가 바코타로 코팅함으로써 발생하는 문제인지에 대해서는 후속 연구 및 실험을 통하여 확인할 필요가 있다고 생각된다.



그림. 57. 바코타 20 시료의 김밥 저장 후 사진촬영 결과



그림. 58. 바코타 40 시료의 김밥 저장 후 사진촬영 결과



그림. 59. 바코타 60 시료의 김밥 저장 후 사진촬영 결과

제6절 친환경 샌드위치용 기능성 포장용기 시제품 개발

1. 친환경 샌드위치용 포장용기 시제품 개발

친환경 샌드위치용 포장용기 시제품 개발은 일반적으로 사용되는 PET용기와 친환경 소재인 PLA를 사용하여 제작된 용기에 앞선 연구에서 개발한 PBAT, ZnONP, GSE의 항균 소재를 포함한 코팅액을 제조한 후 코팅하여 친환경 샌드위치용 포장용기를 개발하는 방식으로 진행하였다.

(1) PET용기의 코팅용액 제조 및 코팅

코팅용액은 4 g 의 PBAT를 400 mL 의 chloroform 용해시켜 제조하였다. PBAT/GSE 코팅용액은 1 g 의 GSE를 10 mL의 ethanol에 용해한 후, 8 mL 의 ethanolic GSE 용액 (5 wt% of PBAT)

을 400 mL 의 chloroform 과 혼합한 후 4 g 의 PBAT 를 용해시켜 제조하였다. PBAT/ZnONP 코팅용액은 480 mg의 ZnONP (3 wt% of PBAT) 를 400 mL 의 chloroform 에 첨가하여 bath-type sonicator (Ultrasonic cleaner FS140H, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) 를 사용하여 30 분간 처리한 후 IKA T25 homogenizer (T25 basic, Ika Labortechnik, Janke & Kunkel GmbH & Co., KG Staufen, Germany)를 사용하여 5분간 high-speed homogenization 처리하고, 여기에 4 g 의 PBAT 를 천천히 첨가하여 용해시켜 제조하였다. PBAT/ZnONP/GSE 코팅용액은 320 mg의 ZnONP (2 wt% of PBAT) 를 400 mL 의 chloroform 에 첨가하여 bath-type sonicator (Ultrasonic cleaner FS140H, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) 를 사용하여 30 분간 처리한 후 IKA T25 homogenizer (T25 basic, Ika Labortechnik, Janke & Kunkel GmbH & Co., KG Staufen, Germany)를 사용하여 5분간 high-speed homogenization 처리하고, 여기에 4.8 mL 의 ethanolic GSE 용액 (3 wt% of PBAT)과 4 g 의 PBAT 를 천천히 첨가하여 용해시켜 제조하였다. 용액은 샌드위치 용기에 분주해 1분 후 제거하여 코팅하였다.

(2) PLA용기의 코팅용액 제조 및 코팅

코팅용액은 4 g 의 zein를 400 mL 의 ethanol에 용해시켜 제조하였다. zein/GSE 코팅용액은 1 g 의 GSE를 10 mL의 ethanol에 용해한 후, 8 mL 의 ethanolic GSE 용액 (5 wt% of zein) 을 400 mL 의 ethanol 과 혼합한 후 4 g 의 zein를 용해시켜 제조하였다. zein/ZnONP 코팅용액은 480 mg의 ZnONP (3 wt% of zein) 를 400 mL 의 ethanol 에 첨가하여 bath-type sonicator (Ultrasonic cleaner FS140H, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) 를 사용하여 30 분간 처리한 후 IKA T25 homogenizer (T25 basic, Ika Labortechnik, Janke & Kunkel GmbH & Co., KG Staufen, Germany)를 사용하여 5분간 high-speed homogenization 처리하고, 여기에 4 g 의 zein 를 천천히 첨가하여 용해시켜 제조하였다. zein/ZnONP/GSE 코팅용액은 320 mg의 ZnONP (2 wt% of zein) 를 400 mL 의 chloroform 에 첨가하여 bath-type sonicator (Ultrasonic cleaner FS140H, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) 를 사용하여 30 분간 처리한 후 IKA T25 homogenizer (T25 basic, Ika Labortechnik, Janke & Kunkel GmbH & Co., KG Staufen, Germany)를 사용하여 5분간 high-speed homogenization 처리하고, 여기에 4.8 mL 의 ethanolic GSE 용액 (3 wt% of zein)과 4 g 의 zein 를 천천히 첨가하여 용해시켜 제조하였다. 용액은 샌드위치 용기에 분주해 1분 후 제거하여 코팅하였다.

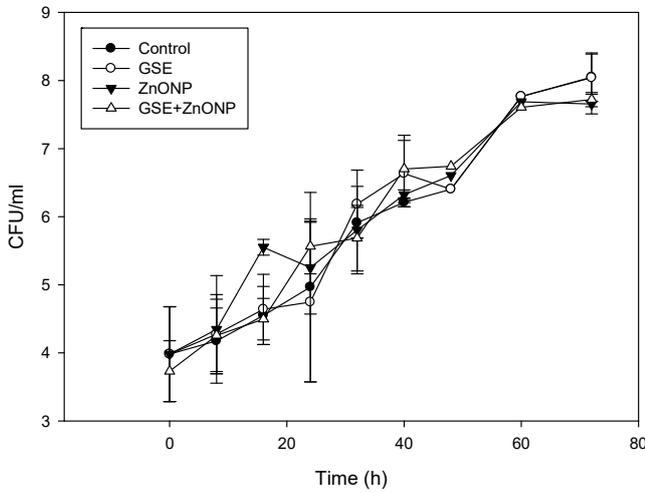
2. 개발된 샌드위치 용기에 대한 선도기능성 평가

PET 포장재를 사용하여 샌드위치 저장한 결과, 초기 저장 균은 3.7315~3.9815 CFU/ml을 나타냈으며, 시간이 지남에 따라 점진적으로 증가하여 40 시간이 경과한 후에는 모든 시료군에서 일반세균의 생균수가 6.0 CFU/ml 을 넘어서면서 샌드위치 내부의 초기균이 증식하여 부패가 진행되었다고 판단할 수 있었다.

저장실험 시작 후 16 시간까지는 크게 균이 증식하지 않는 모습을 보이다 실험 시작 후 18시간이 경과한 후에는 시료물질 별로 다르게 균이 증식하는 양상을 확인할 수 있었다. 18시간 에서는 ZnO Nano-particle을 도포한 포장재에서의 증식이 두드러지게 나타났으며 이러한 경향은 24시간에서는 GSE와 ZnO Nano-particle 도포한 포장재에서 가장 높은 결과를 보이며 변화하였다. 저장 후 60시간이 경과한 시점에서는 모든 시료군에서 7.0 CFU/ml 을 넘어가면서 더 이상 균이 증가하지 않았는데 이는 샌드위치 내의 균의 증식이 정체기에 다다랐음을 나타내는 것이다. 이와 같은 결과는 샘플

플간 차이로 인해 발생하는 결과차이 그 이상의 것으로 보기 어려웠으며, 따라서 개발된 기능성 포장재의 항균기능성이 실제 샌드위치 포장에 효과를 나타내었다고 보긴 어려웠다.

PET(Antimicrobial effect)



PET(Antimicrobial effect)

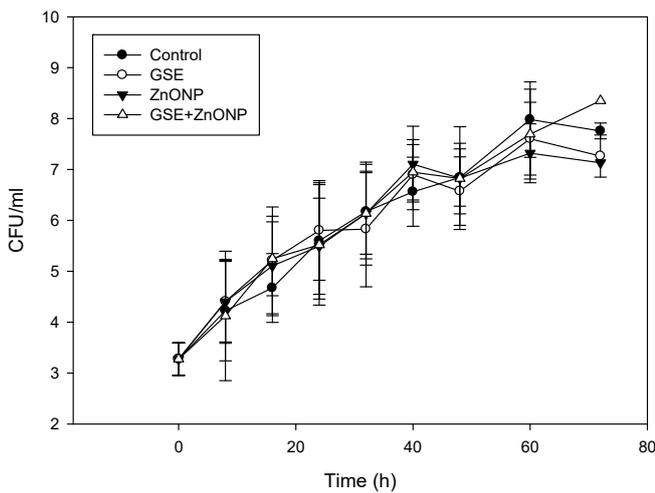


그림. 60. PET, PLA 포장 샌드위치의 일반 세균 수 변화 측정 결과

PLA 포장재를 사용하여 샌드위치를 저장한 결과 초기 저장 균은 0.3204~ 3.2746 CFU/ml을 나타냈으며, 시간이 지남에 따라 점진적으로 증가하여 36시간이 경과한 후에는 모든 시료군에서 일반세균의 생균수가 6.0 CFU/ml 을 넘어서면서 샌드위치 내부의 초기균이 증식하여 부패가 진행되었다고 판단할 수 있었다. 이는 PET 포장재를 이용한 실험결과보다 6 시간 가량 부패가 빨라진 것을 나타내는 결과로 PLA 포장재의 소재특성이 PET 포장재에 비해 샌드위치 내의 일반세균이 자라기에 더 적합한 환경을 제공하였다고 생각 할 수 있다. PLA 포장재 역시 저장실험 시작 후 18 시간까지는 크게 균이 증식하지 않는 모습을 보이다 실험 시작 후 18 시간이 경과한 후에는 시료물질 별로 다르게 균이 증식하는 양상을 확인할 수 있었다. 18시간 에서는 아무런 조작용을 하지 않은 포장재에서의 증식이 가장 적은 것으로 나타났으며 이러한 경향은 24 시간이 경과한 후에 GSE와 ZnO Nano-particle 도포한 포장재를 사용한 시료의 결과와 비슷해지면서 증가하는 양상을 보였다.

이후 균의 증식은 계속하여 이루어지다가 PET 포장재와 유사하게 저장 후 60 시간이 경과한 시점에서 모든 시료군에서 7.0 CFU/ml 을 넘어가면서 더 이상 균이 증가하지 않았다.

각 항균시료를 처리한 제품군을 PET, PLA 포장재 저장에 따른 기준으로 정리하여 살펴보았을 때 모든 시료군에서 PLA 포장재가 PET 포장재에 비하여 저장 중 일반세균의 증식이 빠르거나 동일한 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 특히 GSE를 첨가한 시료군에서 두드러지게 나타나는데 이는 PLA 포장재가 PET 포장재에 비하여 GSE의 항균활성을 발현시키기 어렵게 만드는 영향을 미친다고 생각할 수 있다.

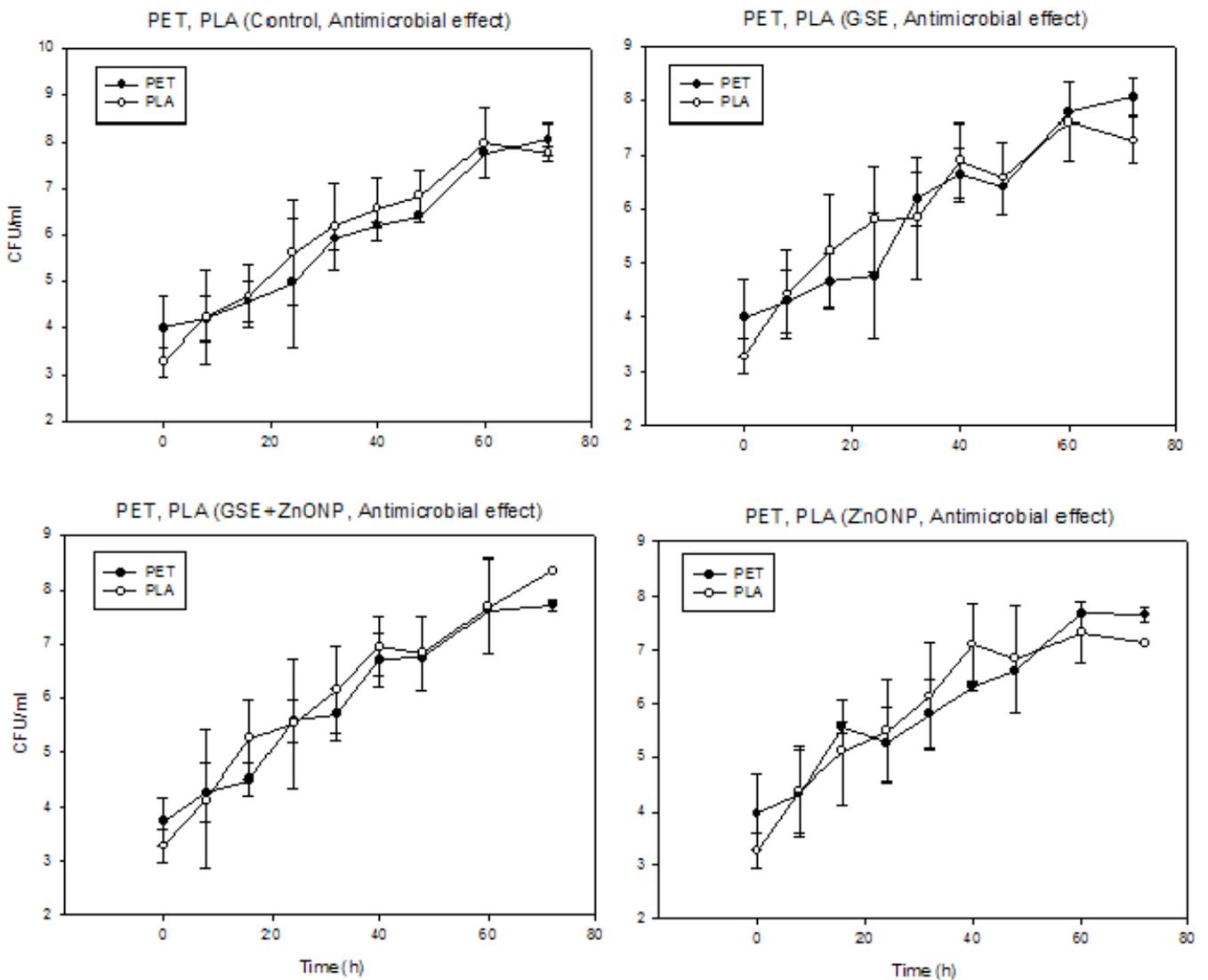


그림. 61. 각 항균 시료별 PET, PLA 저장에 따른 일반 세균 수 변화 측정 결과

PET 포장재를 사용하여 샌드위치를 저장 중 수소이온농도(pH) 변화를 측정된 결과 시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 저장 중 식품의 내부의 세균은 식품 속의 탄수화물, 지방, 단백질을 분해하여 에너지원으로 사용하고 젖산, 아세트산 등의 여러 유기산을 분비하거나

고분자를 저분자로 이화시키면서 다양한 유리기를 생성해내는데 이중 카복실산기를 포함하는 다양한 유기산에 의해 식품의 pH는 지속적으로 감소하여 그 양이 감각기를 자극 할 수 있는 임계치에 다다르게 되면 식품을 구매한 소비자가 섭취하였을 때 자극적인 산미를 느낄 수 있는 수준에까지 이르게 된다. 따라서 샌드위치 저장 중의 pH 감소는 저장 중 샌드위치 내부의 미생물이 대사, 증식함으로써 생성되는 다양한 유기산 분자들에 의해 초래되었다고 생각할 수 있다. pH 가 감소되는 속도는 시료별로 대체로 비슷하지만 저장 후 18시간에는 ZnONP에서 가장 낮았고, 24시간에는 GSE가 가장 낮은 양상을 보였으며, 균의 증식이 정체기에 이르는 60 시간 이후에는 더 이상 감소하지 않고 유지되는 경향이 나타났다. 또한 초기 5.9067에서 저장 72시간 경과 후 5.6450으로 완만하게 변화하는 것을 확인할 수 있었는데 이는 균의 증식에 따른 pH 감소폭이 다른 식품과 비교할 때 크지 않다는 것을 의미한다.

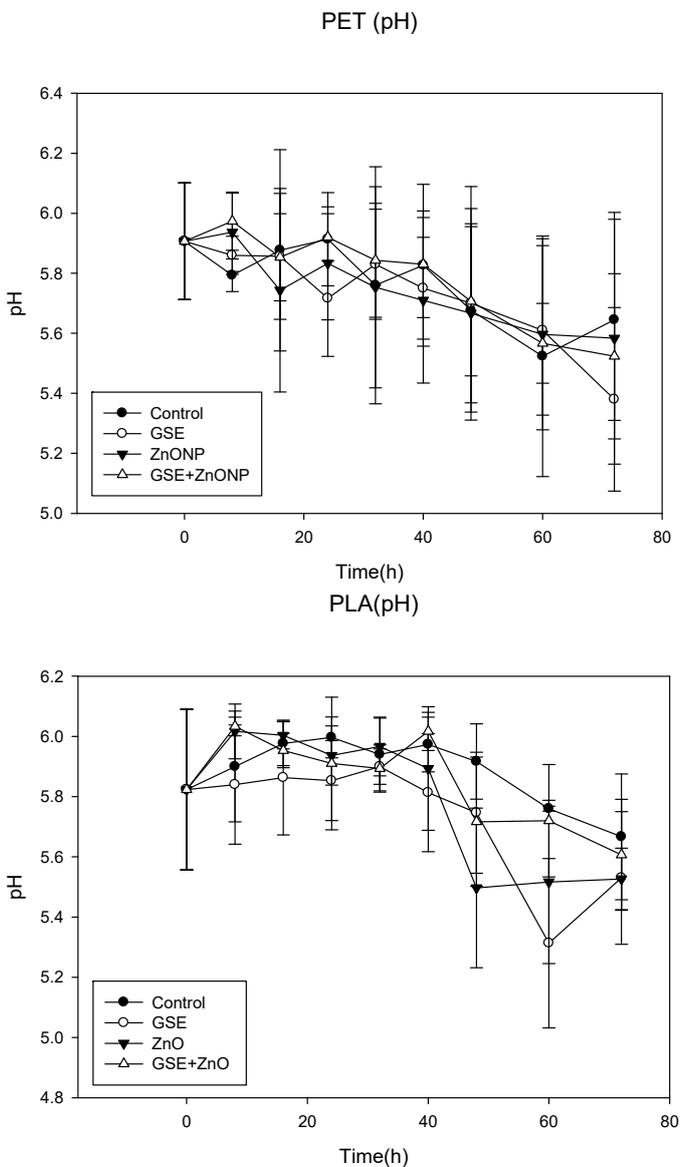


그림. 62. PET, PLA 포장 샌드위치의 pH 변화 측정 결과

PLA 포장재를 사용하여 샌드위치를 저장 중 수소이온농도(pH) 변화를 측정된 결과 PET 포장재를

사용한 시료와 유사하게 시간이 경과함에 따라 pH가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 PLA 포장재의 경우에 pH는 저장 40 시간까지 완만하게 유지되다가 저장 40 시간 이후 급격하게 증가하여 40 시간 기준 pH가 5.8133~ 6.0167 였던 반면, 48시간에는 가장 낮은 pH값을 보인 GSE+ ZnONP 시료의 경우 5.4967까지 큰 폭으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 저장 중 일반세균의 생균수의 변화를 측정된 Figure 10과 11에서는 세균의 증식이 두 시료의 경우 모두 비슷한 양상을 보인 것과는 다른 양상인데 이는 PLA와 PET 포장재의 차이가 샌드위치 내부에서 자라는 균의 생균수 총량이 아닌 균총의 차이로 나타날 수 있다는 점을 암시하는 것이며 Figure 12에서 나타난 GSE 도포 PET 포장재와 PLA 포장재의 일반세균 생균수 수치가 유의한 차이를 보이는 데에도 위와 같은 원인이 작용하였다고 판단된다.

각 시료군을 PET, PLA 포장재 저장에 따른 기준으로 정리하여 샌드위치 내의 pH의 변화를 살펴보면 때에도 차이를 확인할 수 있었는데 아무런 조작도 하지 않은 Control 시료의 경우 실험 초기인 0 시간을 제외하고는 모두 낮은 양상을 보였으며, 다른 시료군에서는 저장 40 시간이 경과할 때까지는 PET 포장재를 사용한 시료군에서 더 낮은 pH를 나타내다가 저장 60 시간을 기준으로 두 포장재 모두 비슷한 수치에 이르는 것을 확인할 수 있었다.

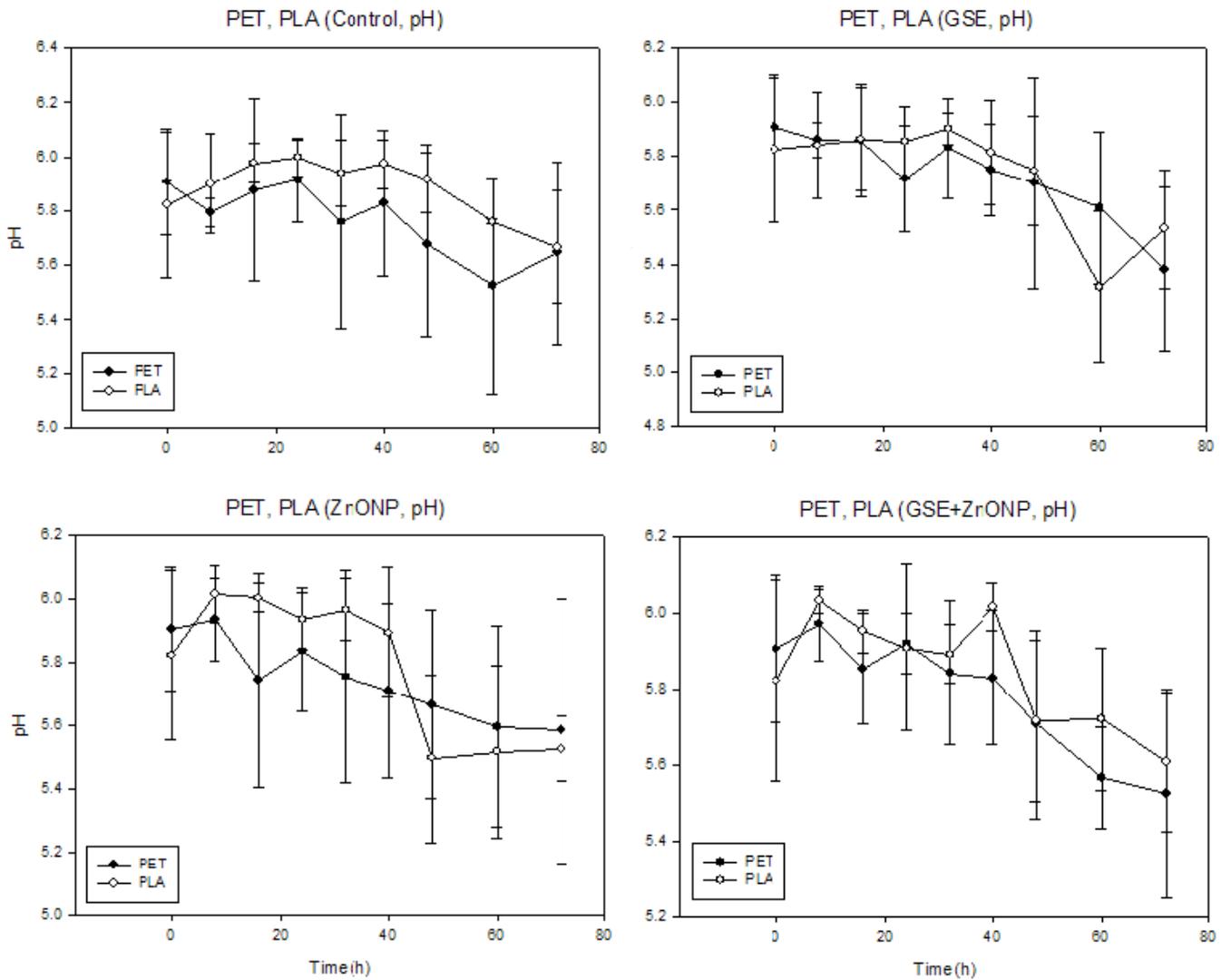


그림. 63. 각 항균 시료별 PET, PLA 저장에 따른 pH 변화 측정 결과

제7절 천연항균소재 포집, 발현 기술 개발

이전의 연구들을 통해 포장재에 항균물질을 함입시키는 방법은 포장재 자체의 항균성은 유지되나 실제 포장재 내의 식품에는 그 전달에 한계가 있음이 밝혀졌다. 이를 극복하기 위한 방법으로 항균 소재를 포집한 후 원하는 시기에 발현하여 항균력을 극대화 할 필요가 있으므로 이에 관한 연구를 진행하였다.

1. 자몽종자추출물과 산화아연입자의 복합 항균활성 측정

가. 항균활성 측정방법

자몽종자추출물(Grapeseed extract, GSE)과 산화아연입자(Zinc Oxide Particle)의 복합 항균실험은 그람음성의 간균인 *Escherichia coli*(KCTC2441, KCTC, Daejeon, Korea)를 사용하여 측정되었다. 초기균수 5CFU/ml 로써 각각 w/w으로 제조된 농도별 자몽종자추출물(ES식품원료, Gunpo, Korea)과 산화아연입자(99.9% purity, Avention, Incheon, Korea)용액을 첨가한 젓당 액체배지에 접종하여 진탕배양기(LSI-3016R, LabTech, East Sussex, UK)에서 37°C, 190 rpm으로 배양하며 시간의 경과에 따른 생균수의 변화를 측정하였다. 샘플은 각 희석배수에 따라 멸균생리식염수(0.9% NaCl)로 희석한 젓당한천배지에 평판도말한 후 배양기(IB-25G, JeioTech, Billerica, MA, USA)를 사용하여 37°C 에서 24~48시간 배양하여 생성된 집락의 수를 측정하여 희석배수를 곱하여 Colony-forming unit/ml(CFU/ml)로 나타냈다.

나. 각 물질별 복합 항균활성 측정 결과

(1) 자몽종자추출물 (Grape seed extract, GSE)의 항균활성 측정

GSE는 항 미생물 효과를 가지는 성분은 비타민P라고 알려진 플라보노이드라는 성분이며, 이 물질은 주로 잘 익은 자몽의 종자, 껍질에 많이 존재한다. 나린진은 자몽 속에 존재하는 플라보노드의 일종으로서 쓴맛이 있다. 자몽종자 추출물의 주요 향미생물 작용의 성분인 Citral은 감귤류에 많이 존재하며 자연적으로 *Gerania* 과 *Neral*의 두가지 cis-trans 이성질체로 존재한다. Citral의 주요기능은 Gram 양성 및 Gram음성균 뿐만 아니라 곰팡이에 대해서 항균작용도 하며 향료로도 이용된다. 액체배지 속 GSE는 빠른 속도로 확산하여 미생물의 생육을 저해하고 균의 성장과 증식을 억제하는 항균작용을 한다. 본 실험에서 대장균(*Escherichia coli*) KCTC 2441에 대한 농도 별 GSE의 항균활성을 측정한 결과를 Figure 20에 나타냈다. 그 결과 GSE은 KCTC 2441에 대하여 생육억제, 세포사멸을 야기하는 항균작용을 가진 것으로 확인되었으며 작용하는 GSE의 농도가 증가할수록 생균수는 감소하는 반비례관계를 나타내 GSE의 항균활성은 그 농도에 비례하는 현상을 확인할 수 있다.

Grapefruit Seed Extract(GSE) antimicrobial effect

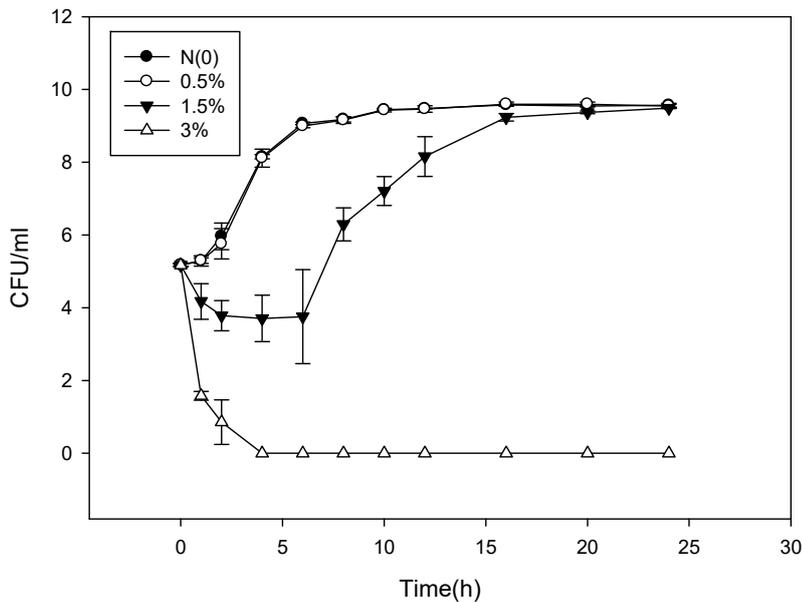


그림. 64. GSE 농도에 따른 항균활성

0.5%의 농도로 처리한 시료에서는 대조군인 일반포장재(N)의 생균수와 실험 초기 1 시간과 2 시간의 생균수가 대조군의 경우 각각 5.2887 CFU/ml 5.9637 CFU/ml을 나타내는 것과 비교하여 각각 5.2965 CFU/ml와 5.7593 CFU/ml 나타내어 항균작용을 나타내기는 하였으나 그 차이는 미미하였던 것으로 판단된다. 이러한 경향은 실험 4 시간 경과후에는 더욱 확실하게 확인할 수 있는데 실험 4 시간 경과 후 시료 N의 생균수는 8.1515 CFU/ml, 0.5% 농도로 처리한 시료는 8.1135 CFU/ml으로 거의 유사한 값을 나타냈다. 첨가한 자몽종자 추출물의 농도가 1.5%와 3%로 증가할수록 시료 내의 생균수는 급격하게 감소하는 것을 확인 할 수 있었으며 3% 농도의 시료에서는 실험 시작 4 시간 후에는 더 이상의 생균수를 측정하지 못하여 모든 균이 사멸되었다고 판단하였다. GSE의 정확한 항균활성 작용 경로는 아직 정확히는 알려지지 않았으나 소수의 논문에서 산화로 인한 세포벽 구조의 붕괴로 인한 미생물의 사멸을 제시하고 있다. 1.5% 농도의 자몽종자 추출물을 첨가한 시료의 생균수 변화 추이를 보면 실험 초기 0 시간에는 5.1748 CFU/ml을 기록하였으나 1 시간 경과 후에는 GSE의 항균작용에 의하여 4.1766 CFU/ml로 감소하였으며 2 시간 경과후에 3.7819 CFU/ml, 4 시간 경과 후에는 3.7065 CFU/ml까지 감소하였으나 그 후 증가하기 시작하여 실험 6 시간 경과 후에는 3.7564 CFU/ml으로 정체된 뒤 실험 8 시간부터 계속 증가하여 실험 24 시간 경과후에는 9.4849 CFU/ml을 나타내 대조군인 N 시료와 비슷한 생균수 수치를 나타냈다. 이러한 결과는 GSE의 항균활성이 세포 사멸을 야기시키면서 그 항균활성을 잃어가는 정량적 항균활성 특성을 가지는 것을 암시하는 결과이며, 이는 초기 균수가 많을수록, 시료 내의 GSE의 농도가 낮을수록 항균활성이 감소되는 것처럼 나타날 수 있다는 것을 의미한다.

(2) 산화아연입자(ZnO) 의 항균활성 측정

산화아연은 일반적으로 백색안료, 가황촉진제, 촉매, 사진재료, 형광체, 아연화 연고와 같은 의약품,

화장품 등으로 사용되어 오고 있어 우리 생활에 널리 활용되고 있다. 특히 무해하고 280-400nm 파장대의 자외선을 흡수하기 때문에 금속과 고무의 보호코팅, 피부보호크림 등으로 상업 또는 산업적으로도 많이 활용되고 있다. 최근 입자의 크기가 수 마이크론 이하인 산화아연 미세입자가 인체 유해성이 적고 항균효과가 우수하며 태양광 등에 무관하게 항균효과를 발휘하는 효과를 가지고 있다는 사실이 밝혀져 식품업계에서도 이러한 성질을 활용하여 항균활성을 가진 능동식품포장재를 개발하려는 시도가 활발하게 진행 중이다.

본 실험에서 대장균(*Escherichia coli*) KCTC 2441에 대한 농도 별 산화아연입자의 항균활성을 측정하였다. 측정 결과 산화아연입자 또한 KCTC 2441에 대한 항균활성을 나타내는 것으로 확인되었으나 정량적으로 생균수를 감소시켰던 자몽종자추출물의 결과와는 다른 기작의 항균활성을 가지는 것으로 판단되는 결과를 얻을 수 있었다. 대조군인 N 시료와 비교하였을 때 0.01% 농도의 산화아연입자를 첨가한 시료는 실험 초기 5.1331 CFU/ml에서 실험 1 시간 후 5.3669 CFU/ml로 증가하였으나 같은 시간 시료 N의 5.5044 CFU/ml보다 낮은 값을 보였다. 0.05% 산화아연입자를 첨가한 시료는 실험 초기 5.1647 CFU/ml, 0.5% 산화아연입자를 첨가한 시료는 5.1312 CFU/ml로 Figure 20에서 확인한 자몽종자추출물의 초기 항균활성은 시료의 농도에 큰 영향을 받았던 것과 다르게 산화아연입자의 농도가 증가하여도 항균활성은 크게 증가하지 않는 양상을 보였다.

ZnO particle antimicrobial effect

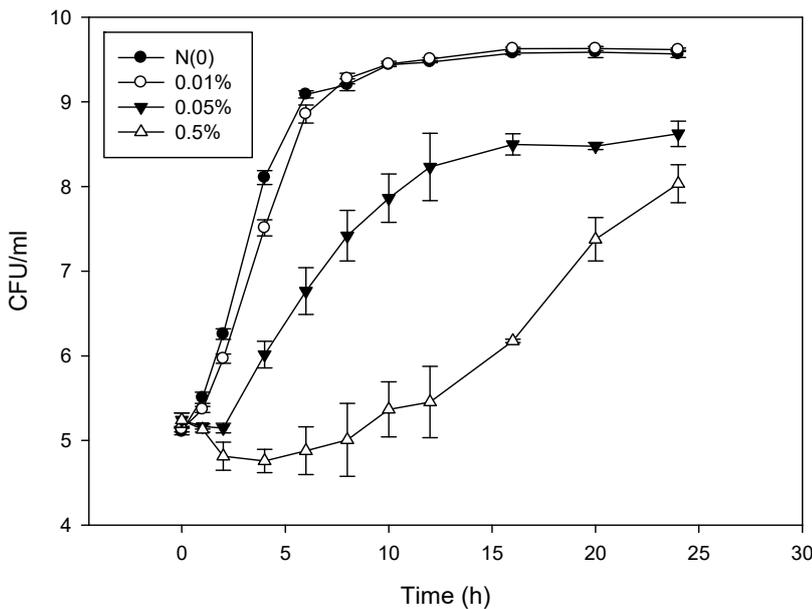


그림. 65. 산화아연 농도에 따른 항균효과

그러나 산화아연입자와 자몽종자추출물을 동일한 농도로 사용하였다고 가정했을 때 0.5% 농도에서 시간에 따른 자몽종자추출물의 생균수는 대조군인 시료 N과 유사하여 항균효과가 미미하였으나 같은 농도의 산화아연입자 시료의 경우에는 생균수가 실험 초기 5.2401 CFU/ml, 실험 1 시간 후 5.1312 CFU/ml, 2 시간 후 4.8134 CFU/ml, 6 시간 후 4.8787 CFU/ml, 12 시간 후 5.4535 CFU/ml, 24 시간 후 8.0329 CFU/ml 로 크게 감소하는 것을 확인할 수 있었으며 자몽종자추출물에서는 균이 모두 사멸하지 않으면 시간의 경과에 따라 생균수가 증가하여 대조군과 같은 생균수에

도달하는 것과 다르게 산화아연입자 시료의 경우 0.05% 시료를 제외한 0.1%, 0.5% 시료의 경우 각각 8.6233 CFU/ml 8.0329 CFU/ml를 기록하여 산화아연입자의 존재가 균의 증식을 억제하는 것으로 판단된다. 그러나 그 자세한 저해 기작은 아직 알려져 있지 않아 산화아연농도의 증가와 항균능력의 증가를 정량적으로 나타내기에는 한계가 있어 이에 관한 추가 조사와 후속연구가 필요할 것으로 보인다.

(3) 자몽종자추출물과 산화아연입자의 복합 항균활성

앞선 결과들을 바탕으로 생각해 볼 때 자몽종자추출물과 산화아연입자들은 서로 다른 항균작용 기작을 나타내는 것으로 추정된다. 자몽종자추출물은 그 농도에 비례하여 항균활성이 강해지는 경향이 있으나 활성을 나타내기 위하여 비교적 높은 농도가 유지되어야 하며 균의 사멸을 유도하는 과정에서 활성을 잃어 지속적인 항균활성을 유지하지 못하는 것으로 판단된다. 산화아연입자는 이와는 반대로 농도의 증가에 따른 항균활성의 증가는 낮으나 비교적 낮은 농도의 시료에서도 항균활성을 나타내며 시간에 따라 항균활성이 사라지지 않고 생균수의 증가를 지속적으로 억제하는 것으로 나타났다.

따라서 위와 같은 결과를 바탕으로 두 항균물질을 동시에 사용하였을 시의 나타나는 항균활성을 결과를 관측하기 위하여 두 항균물질을 혼합하여 복합항균물질을 제조하여 KCTC 2441에 대한 항균활성을 조사하였다. 다음 Figure의 오른쪽은 1% 자몽종자추출물 시료를 대조군으로 하여 산화아연입자를 농도별로 첨가한 복합항균물질의 항균활성을 측정하여 나타낸 것이며 왼쪽은 0.01% 산화아연입자의 첨가로 인한 복합항균물질의 항균활성을 측정하여 나타낸 것이다. 실험 결과 자몽종자추출물의 농도를 1%와 1.5% 시료에 대하여 0.01% 산화아연입자를 첨가하여 복합항균물질을 제조하여 항균활성을 측정하여, 산화아연입자의 존재가 항균활성을 증가시키는 것으로 확인되었으며, 산화아연입자와 자몽종자추출물을 같은 농도로 단독 사용하였을 때 보다 확연히 높은 항균활성을 보인 것을 확인할 수 있었다. 또한 산화아연입자의 농도를 0.01%에서 0.02%와 0.05%로 증가시켜 항균활성을 측정하였을 때에도 농도에 따라 항균활성이 증가하여 세포사멸을 야기하는 것을 확인할 수 있었다. 본 실험결과에 따라 자몽종자추출물과 산화아연입자는 KCTC 2441에 대하여 상승적(synergistic) 복합항균작용을 나타내는 것으로 판단되었다.

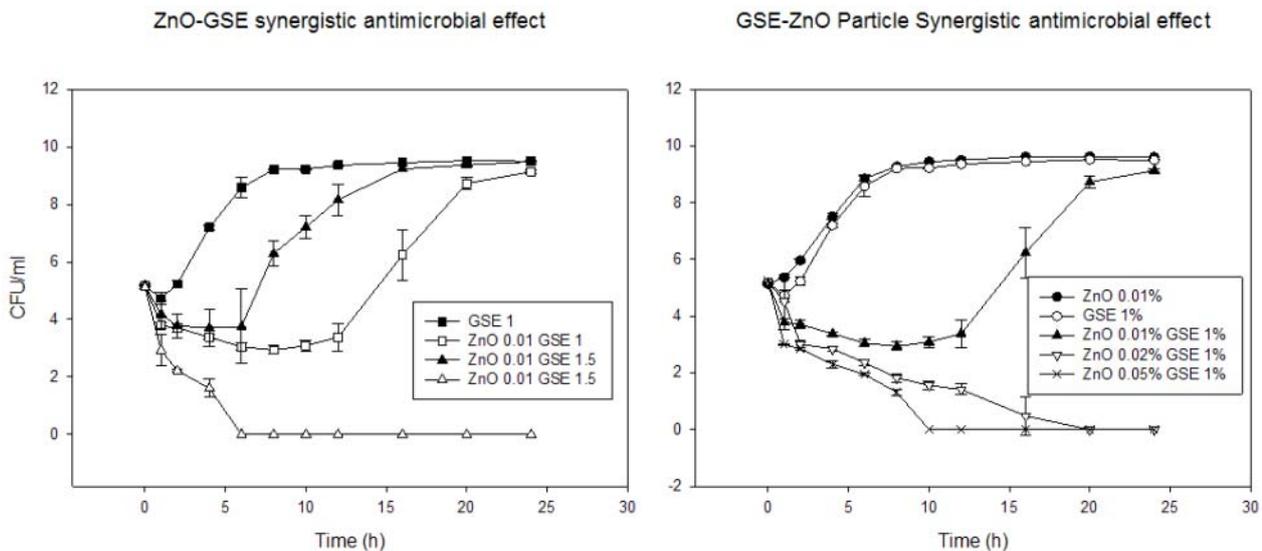


그림. 66. 자몽종자추출물과 산화아연입자의 복합 항균활성 측정결과

그러나 본 실험이 단일균주인 KCTC 2441을 대상으로 진행되었다는 점, 두 항균물질의 정확한 작용 기전이 밝혀지지 않았고 복합항균작용의 기전 또한 불명확하여 추가적인 연구와 후속실험이 필요할 것이라고 생각된다.

2. Polymer의 천연항균소재 포집능 측정

(1) 제조 및 측정방법

(가) Lemongrass oil Nano-emulsion 제조

Lemongrass oil (5%(w/w), FG grade, Sigma Aldrich, East Indian)을 100 ml tall beaker에 목적하는 Hydrophilic Lipophilic Balance value(HLB value)에 적합하도록 Span20 (HLB 8.6) 과 Tween 20 (HLB 16.8)을 혼합하여 제조한 유화제를 전체 부피가 50 ml이 되도록 제조하여 실험에 사용하였다

$$HLB = V1/(V1 + V2) * HLBS + V2/(V1+V2)*HLBT$$

$$HLB = V1/(V1 + V2) * HLBS + V2/(V1 + V2) * HLBT$$

$$V1 = \text{Span 20의 부피}$$

$$V2 = \text{Tween 20의 부피}$$

$$HLBS = \text{Span 20의 HLB value}$$

$$HLBT = \text{Tween 20의 HLB value}$$

만들어진 혼합액은 Homogenizer(HG-15D, Daihan, Korea) 를 사용하여 8,000과 10,000 RPM 순서대로 각각 1분간 Pre-emulsification처리한 후 1시간 동안 실온에서 안정화시켰다. 그 후 Ultra-sonicator(VC750, vibra-cell, newtown, CT, USA)를 사용하여 10 분간 Sonication 하였으며 Sonication 조건은 750 W, 20 KHz, 60% Amplification, 20 mm Tip을 사용하여 pulse on 1 s, pulse off 1 s 조건으로 진행하였고 sonication 시간 동안 항온순환수조(CW3-05P, JeioTech, Billerica, MA, USA)를 사용하여 시료의 온도가 25℃ 이하로 유지되도록 하였다.

(나) Dynamic Light Scattering (DLS)

Sonication 한 시료는 입도분석기(Z90, Malvern, Malvern, UK)를 사용하여 Dynamic Light Scattering(DLS) 분석을 진행하였으며, Multiple scattering effect를 방지하기 위하여 시료는 100~200 배 가량 희석되어 Attenuator 11 로 측정하였고 그 결과를 Derived count number 가 300~600 KCP 사이에 해당하는 값을 최종 측정값으로 결정하였다.

$$D_z = \frac{k_B T}{3\pi\eta D_{t,avg}}$$

Dz=hydrodynamic diameter(Z-average)

Dt,avg=translational diffusion coefficient(byDLS)

kB=Boltzmann's constant

T = thermodynamic temperature

η = dynamic viscosity

(다) 분산안정성 측정

분산안정성의 측정은 (Lumisizer, LUM Co., Boulder, CO, USA)을 사용하여 측정되었으며 시료 0.4 ml을 cell에 충전하여 4,000 rpm 조건으로, 매 10 초당 측정하여 10,000 초 동안 측정하여 분석하였다.

Stability index는 투과도 프로파일에서 데이터를 구하게 되며 다음 공식에 의해 계산되었다.

$$\text{Stability index} = \frac{\text{Profile}_{n\text{번째}}\text{의 면적} - \text{Profile}_{\text{first}}\text{의 면적}}{\text{Profile}_{\text{last}}\text{의 면적} - \text{Profile}_{\text{first}}\text{의 면적}}$$

(라) Zeta-potential 측정

제작된 emulsion 입자들의 분산형태를 분석하기 위하여 입도분석기(ELSZ-2000, Otsuka Electronics Co., Osaka, Japan)를 사용하여 입자들의 Zeta-potential을 측정하였다. Zeta-potential 은 각 HLB value와 Polymer 첨가 유무에 따라 측정되었으며 측정된 Zeta-potential 은 mV 단위로 표시하였다.

(마) Polymer의 천연항균소재 포집능 측정

Sonication 된 시료를 0.2 g 취하여 3 ml hexane을 가하여 희석한 후 진탕항온수조(BS-21, JeioTech, Billerica, MA, USA)에서 40°C, 30 분간 150 rpm으로 진탕하여 Emulsion 속의 Lemongrass oil을 추출하였으며 추출을 마친 시료는 10,000rpm 조건으로 30 분간 원심분리(Supre22K, Hanil Scientific, Gimpo, Korea) 하였다. 원심분리된 시료는 상등액을 취하여 230.03 nm에서 흡광도를 측정하여 Standard curve(R2=0.9019)에 대입하였다.

(2) Responsive polymer를 이용한 분산상 항균 소재의 포집 및 발현 조절 기능 연구

앞서 연구된 결과와 같이 유기 항균소재와 무기 항균소재를 동시에 활용할 경우, 매우 효과적인 항균력을 갖는 소재 조합을 구성할 수 있을 것으로 기대할 수 있었다. 하지만, GSE의 경우 분산이 이뤄지는 물질이 아니므로 포장재 표면에 도포하였을 경우, 포장재 내부의 미생물의 생육을 억제하는 것을 기대할 수 없다. 따라서 분산이 가능한 항균 소재를 활용할 수 있는 기술이 개발되어야 항균활성을 나타내는 포장재 설계 및 개발에 효과적일 것이다. 그런데, 분산상의 유기물질을 포장에 활용할 경우, 제조와 동시에 분산이 일어나 기능이 발현되어야 할 시점에는 모두 분산되고 없어 효과가 나타나지 않거나, 처음부터 분산이 일어나지 않아 GSE와 같은 효과의 물질로 작용하는 경우가 발생할 것이다. 이에, 분산상의 물질을 포집하고 분산시킬 수 있는 시스템의 개발이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 분산성 항균물질로 알려진 lemongrass oil을 emulsion 시스템으로 포집하고, 이것이 붕괴되면서 나타나는 분산특성을 연구하고, 이를 조절하기 위해 습도에 따라 swelling 특성이 나타나는 Polyvinyl alcohol (PVA)를 이용하여 분산 조절 시스템을 개발하고 특성을 연구하였다.

(가) Lemongrass oil Nano-emulsion의 안정성 측정

상온에서 휘발성이 높아 분산특성이 있는 Lemongrass oil (LO)을 포집하기 위한 system으로 활용한 emulsion의 특성은 emulsion을 형성하기 위해 활용한 Span 20 과 Tween 20 두 유화제의 혼합 비율에 따라 결정된 HLB 값에 따라 droplet의 Hydraulic diameter가 결정되고, 그에 따라 안전

성이 결정되는 것을 확인할 수 있었다.

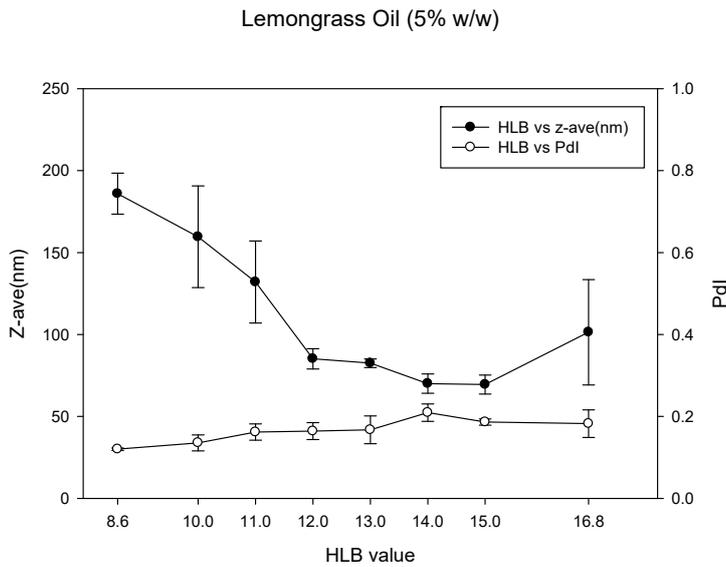
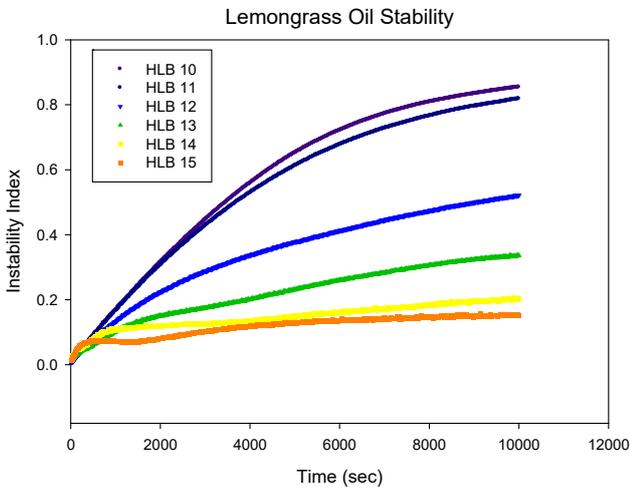


그림. 67. Lemongrass oil Nano-emulsion의 Particle size

그래프를 보면 Particle size의 분포를 나타내는 PDI 값은 전체 HLB 값에서 미미하게 변화하며 particle size 가 가장 낮은 HLB 14.0과 15.0에서 가장 높은 경향을 보이는데 이는 최적 HLB 값에 근접해감에 따라서 분산상과 Lemongrass oil 사이의 계면장력은 감소하여 매우 작은 Particle size의 입자들이 만들어 질 수 있는 조건은 만들어졌으나 실험에 사용한 Ultra sonicator의 출력과 유화과정 중 시료의 교반 속도가 이에 미치지 못하여 생성되는 모든 Nano-emulsion 입자에 그 힘이 고루 전달되지 못했기 때문으로 생각된다. 실험 조건에서 유화과정에 가해진 힘을 동일하게 유지하였기 때문에 Dropelt size는 Lemongrass oil 과 분산상(물), 그리고 HLB 값의 변화에 종속적으로 변화하여 나타나며 계면장력이 작을수록 더 작은 입자가 형성될 수 있고 이는 온전히 두 계면 사이의 계면장력을 줄여주는 양친매성 물질인 유화제의 역할로 생각할 수 있다. 분산상과 심물질에 따라 결정되는 최적 HLB 값은 실험적으로 측정될 수 있는데 최적 HLB 값을 벗어나게 되면 두 유체 사이의 계면장력이 증가하기 때문에 유체의 최적 HLB를 조사해보면 HLB 값의 변화에 따라 에멀전의 안정도가 최적 HLB 에서는 최고점을 이루며 그 양 옆으로는 감소하여 밀이 불룩한 곡선을 이루는 것이 특징이다. 위 그래프에서는 14.0과 15.0의 HLB 값에서 particle size 가 가장 낮은 것을 확인하였으며, 14.0 에서 15.0 사이의 HLB 값을 분산매를 Lemongrass oil 으로 하고 물을 분산상으로 하여 Span20 과 Tween20 를 첨가하여 유화시킨 유화액의 최적 HLB임을 실험적으로 결정하였다.



분산안정성 측정		
HBL 값	Instability Index	경과시간 (초)
10	0.857866	9,999
11	0.818285	9,999
12	0.521358	9,999
13	0.335858	9,999
14	0.204024	9,999
15	0.150559	9,999

그림. 68. Lemongrass oil nano-emulsion의 HLB 차이에 따른 Instability Index 측정 결과

위 그래프에서 확인한 Lemingrass oil emulsion의 Particle size 가 각 HLB 값에서 형성된 Nano-emulsion 입자들의 안정성과 비례하는지 확인하기 위하여 분산상의 Instability Index를 조사하였다. Sonication 으로 생성된 Nano-emulsion 입자들은 서로 같은 전기 전하 값을 가지며, 이 힘이 Nano-emulsion 입자들을 분산상에 고루 분포하도록 만든다. 분산된 Nano-emulsion 입자들은 중력 등의 힘에 의해 시간이 지날수록 침강하게 되는데 분산이 잘 되어있을수록 외부 힘에 저항하여 분산상태를 유지하려는 반발력이 강하게 작용한다. Figure 2를 보면 HLB 14.0 과 15.0 에서 Instability index 가 가장 느리게 증가하는 것을 확인할 수 있으며, HLB 13.0, 12.0, 11, 10 순으로 instability index 의 증가폭이 커지는 것을 확인할 수 있다. 이는 Figure 1 에서 나타난 Nano-emulsion 입자들의 Particle size 증가폭과 거의 유사하여 유화액의 분산안정성이 Particle size 에 반비례하는 것을 확인할 수 있었다. Figure 2의 결과에 따르면 최적 HBL 14.0, 15.0 에서 Instability Index 값이 최소가 되어 위 HLB 값이 Lemongrass oil nano-emulsion의 최적 HLB 값이라는 앞선 결과를 논리적으로 뒷받침한다고 생각된다.

(나) Polymer 첨가 Lemongrass oil Nano-emulsion의 안정성 측정

만들어진 Lemongrass Nano-emulsion 을 polymer 를 사용하여 포집시키기 위하여 9%의 Poly-vinyl Alcohol(PVA) 용액을 사용하여 Nano-emulsion을 제조하였다. PVA 는 물에 잘 녹는 친수성 고분자로 인체에 무해하며 열안정성과 건조 시 film 형성 능력이 우수하고 수분에 강하게 작용하는 능력이 있어 건조 후에도 수분을 흡착하여 re-swelling 하려는 성질을 가지는 polymer이다. 유화 과정에서 polymer 의 첨가는 계의 점도를 증가시키고 particle과 결합하여 flocculation, coalescence, Ostwalt Ripening 현상의 속도를 늦춰 분산안정성을 높이는 요소로 작용하여 결과적으로 emulsion 내의 포집 물질의 화학적 안정성을 높여주는 역할을 한다. 다음 그래프를 보면

Lemongrass oil 에 PVA 를 첨가함으로써 모든 HLB 값에서 Particle size 가 감소한 것을 확인할 수 있었으며 특히 최적 HLB 값에서 멀어질 수록 그 효과가 더 크게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. PDI 값은 유의하게 변하지는 않았지만 조금씩 증가하는 것을 확인할 수 있었는데 이는 PVA 가 유화액의 점도를 증가시키면서 Sonication 과정에서 유화용액 전체에 Ultrasonicator가 가하는 힘이 고루 전달되지 않았기 때문으로 생각된다.

LO with 9% PVA

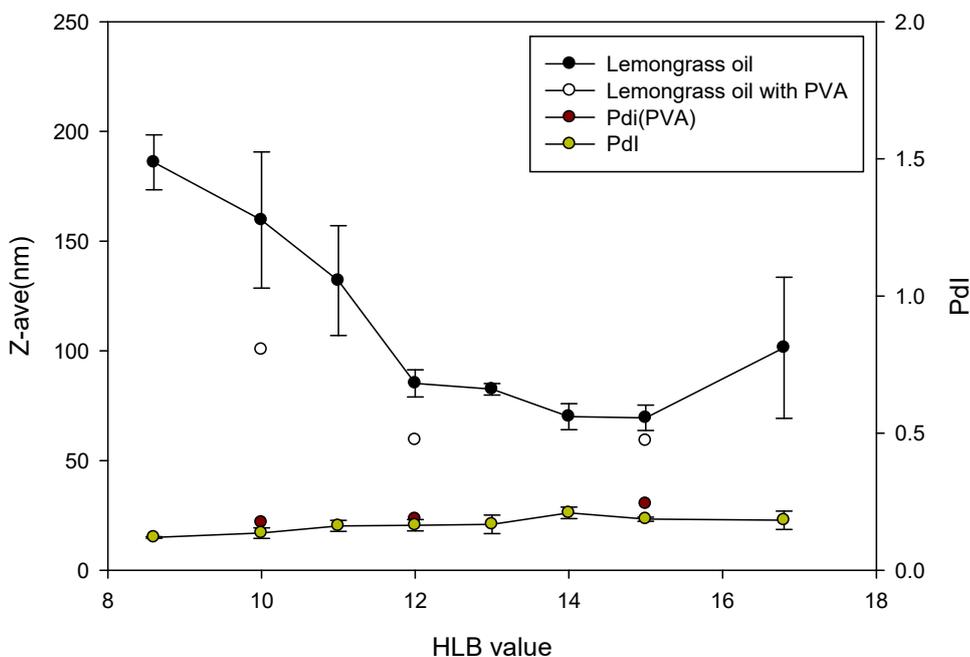


그림. 69. PVA 첨가에 따른 Lemongrass oil Nano-emulsion의 hydraulic diameter변화

PVA 첨가한 Lemongrass Nano-emulsion의 분산안정성을 측정한 결과 LO emulsion의 안정성과 비교하였을 때 PVA 첨가로 인해 유화액의 분산안정성이 크게 증가한 것을 확인할 수 있었다. HLB 값 차이에 따른 Instability index 의 변화는 Figure 2와 비교할 때 미미하지만 HLB 13.0 과 15.0 이 다른 HLB 값에 비하여 높은 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 Table 1 과 Table 2를 비교하였을 때 PVA 첨가로 인하여 시료의 Instability index 가 0.150559 에서 0.135 으로 감소한 것으로 나타나 분산안정성을 향상시키는 역할을 하는 것으로 생각된다. 즉, PVA 첨가 시에 Lemongrass oil Nano-emulsion의 분산안정성은 HLB 값의 변화보다 PVA 첨가 유무에 더 큰 영향을 받는 것을 알 수 있었으며 이는 Polymer 가 Emulsion particle 과 강하게 상호작용한다는 것을 의미한다.

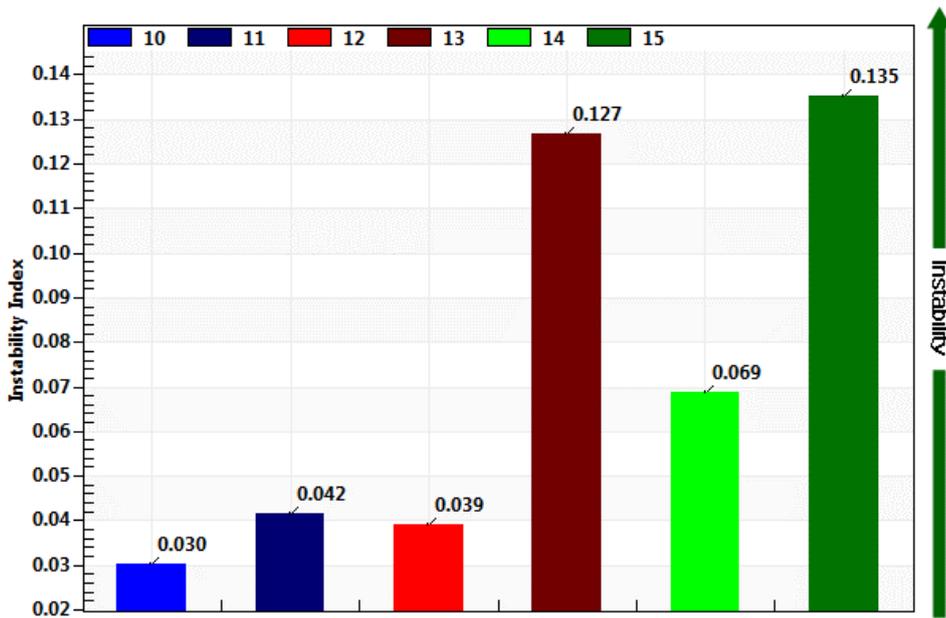
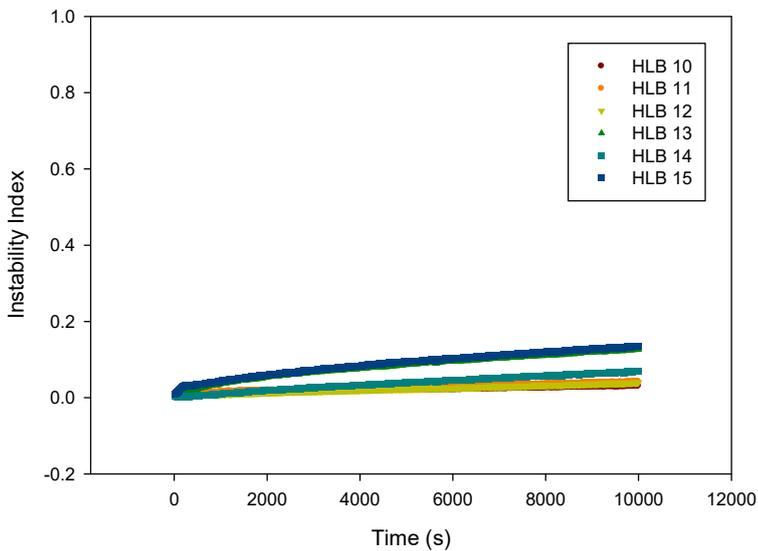


그림. 70. PVA 첨가 Lemongrass oil Nano-emulsion 9,990 초 경과 후 HLB 값에 따른 Instability Index 비교

9% PVA-LO emulsion stability



분산안정성 측정		
HBL 값	Instability Index	경과시간 (초)
10	0.03	9,999
11	0.042	9,990
12	0.039	9,990
13	0.127	9,990
14	0.069	9,990
15	0.135	9,990

그림. 71. PVA 첨가한 Lemongrass oil Nano-emulsion의 HLB 차이에 따른 Instability Index 측정 결과

PVA 첨가한 Lemongrass oil Nano-emulsion의 zeta-potential과 첨가하지 않은 Lemongrass oil Nano-emulsion의 Zeta-potential를 측정한 결과 PVA를 첨가하지 않은 시료는 HLB 값이 증가함

에 따라 Zeta-potential 값이 증가하는 양상을 보였다. Particle을 감싸고 있는 유화제의 종류와 심물질의 전기적 특성에 따라 측정되는 Zeta-potential 값은 분산매와 분산상, 유화제의 종류에 따라 달라질 수 있는데 유화제가 포집대상 물질인 Lemongrass oil을 충분히 감쌌다고 판단할 수 있는 Zeta-potential 값은 HLB 값 14.0 과 15.0 사이인 -19.19 에서 -20.77 mV 라고 유추할 수 있다. PVA 첨가시의 HLB 값 변화에 따른 Zeta-potential 값은 PVA 를 첨가하지 않은 시료와 비교할 때 판이하게 다른데 이는 첨가된 PVA 가 유화제와 Lemongrass oil의 극성 잔기들을 감싸 전하를 감소시키고 계의 점도를 증가시켜 zeta-potential 에서 측정하는 입자의 전기영동속도를 감소시켰기 때문이다. 또한 최적 HLB 인 HLB 14.0 과 15.0 으로 HLB 값이 변화해갈수록 Zeta-potential 값이 PVA 를 첨가하지 않은 시료와 비슷한 수준까지 감소하는 것을 볼 수 있는데 Figure 4 에서는 HLB 값 14.0과 15.0에서 가장 분산도가 낮았던 결과와 zeta-potential 결과가 일치하는 것을 바탕으로 생각하여 보았을 때 이는 최적 HLB 값에서는 오히려 생성된 Lemongrass oil Nano-emulsion 입자가 PVA의 안정화 능력을 감소시키는 듯한 모습을 보이거나 위 HLB 값에서는 이미 안정한 분산상을 이루고 있기 때문에 PVA의 첨가에 따른 분산안정성 상승효과가 상대적으로 미미했던 것으로 판단된다.

Lemongrass Oil (5% w/w)

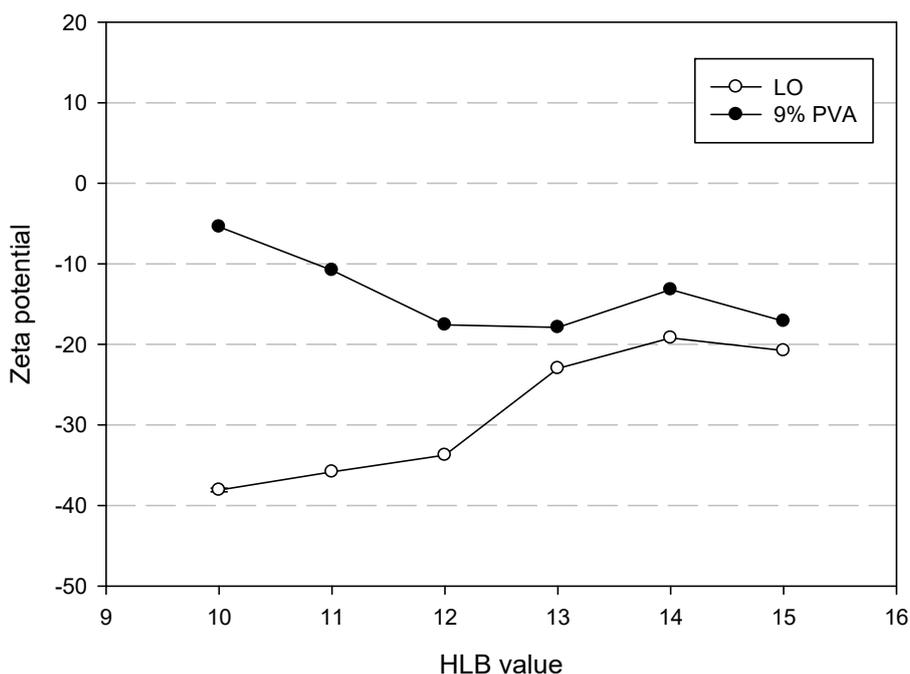


그림. 72. Lemongrass oil Nano-emulsion과 PVA를 첨가한 emulsion의 Zeta-potential 측정 결과

(다) 천연항균소재 포집능 측정

제조된 Emulsion의 Encapsulation ratio를 측정한 결과 PVA 를 첨가하지 않은 시료의 경우 HLB 10에서 15모두 80%를 초과하였으며, 대부분의 Lemongrass oil이 Emulsion안에 포집되었다고 생각되며 손실되는 적은 양의 Lemongrass oil은 Emulsion제조 중에 휘발되어 유실된 것으로 판단된다. 반면 PVA 를 첨가한 Emulsion에서는 Encapsulation ratio가 첨가하지 않은 것에 비하여 전

HLB구간에서 더 낮게 나타나는 것을 볼 수 있는데 이는 제조된 Nano-emulsion의 추출과정에서 PVA에 흡착된 Emulsion들이 추출용매에 의해 분리되지 않았기 때문으로 추정된다. Emulsion의 입자크기가 감소하여 표면적이 증가할수록 PVA입자에 흡착되는 Emulsion particle의 수가 증가하여 결과적으로 Encapsulation ratio가 상대적으로 낮은 결과가 나왔다고 판단된다. 그러나 Encapsulation ratio가 가장 낮게 나타난 경우인 HLB 11의 73.923%에도 일반적으로 대부분의 심물질이 Emulsion입자 내에 성공적으로 포집되었다고 판단할 수 있기 때문에 Tween20과 Span20을 사용하여 제조한 Lemongrass oil Nano-emulsion이 상당히 안정된 분산상을 이루는데 성공하였다고 말할 수 있다.

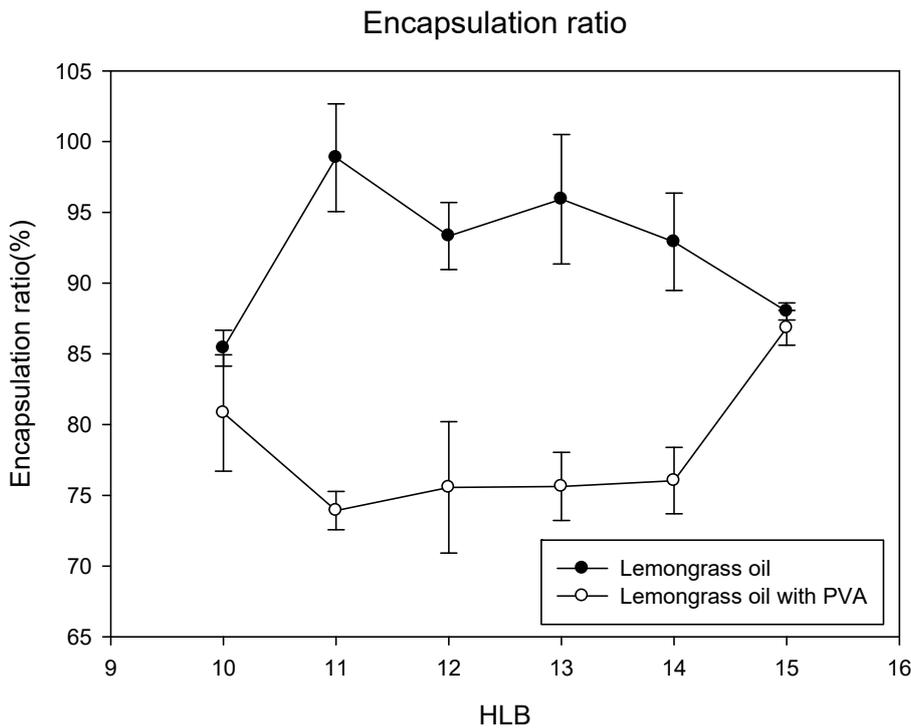


그림. 73. 제조된 Nano-emulsion의 lemongrass oil 포집율

3. 상대습도에 따른 향균물질의 방출 측정

(1) 제작 및 측정방법

(가) PVA-Lemongrass oil film 제작

제작한 시료(HLB value 15) 10 g을 Petri dish에 분주하여 drying oven (OF-11E, JeioTech, Billerica, MA, USA)에서 22 시간 동안 건조하여 사용하였다.

(나) Film의 포집 효율 조사

만들어진 PVA-Lemongrass oil film에 증류수 20 ml을 가하여 40°C, 30 분 동안 용해시킨 필름 용액 1 ml을 9 ml hexene 으로 희석하여 진탕향운수조 (BS-21, JeioTech, Billerica, MA, USA)를 사용하여 40°C, 30분 간 150rpm으로 진탕하여 Lemongrass oil을 추출하였으며 추출한 용액은 10,000rpm 조건으로 30 분간 고속원심분리기(한일, Supra22K)로 원심분리 하였다. 그 후 상등액을

230.03nm에서 분광광도계(SHIMADZU 사 UV-2600)를 사용하여 흡광도를 측정하여 Standard curve($R^2=0.9019$)에 적용하여 Lemongrass Oil의 최종 함량으로 정하였다.

(3) 상대습도 조건에 따른 Lemongrass oil 방출 조사

앞서 진행한 film의 포집 효율 조사를 향온항습기 (TH-PE, JeioTech, Billerica, MA, USA)를 사용하여 정해진 습도조건 (RH 80, RH 30(25°C))에서 방치하여 Lemongrass oil을 방출시키고 남아있는 Lemongrass oil의 양으로 확인하였다.

(2) 측정 결과

제조한 LO-PVA Film을 각기 다른 상대습도조건에서 방치하여 그 방출량을 측정한 결과, 건조한 조건인 30RH에서는 시간의 경과에 무관하게 Lemongrass oil의 잔존량이 32.8738%에서 40.3153%사이로 유지되는 반면 80RH인 조건에서는 시간의 경과에 따라 Lemongrass oil의 방출이 일어나 남아있는 Lemongrass oil의 함량이 40.3153, 39.6673, 28.5358, 35.6083, 23.9848, 18.0808 순으로 감소하는 경향을 나타내는 것을 확인 할 수 있었다. PVA는 친수성이 굉장히 강한 Polymer로 건조된 PVA가 형성한 Film은 주변의 수분을 흡착하여 Reswelling되려는 경향이 강하다. PVA Film이 Reswelling되면 Film 내부의 포집되어있던 Lemongrass oil Nano-emulsion 입자들의 이동이 발생하여 결과적으로 Lemongrass oil의 방출이 향상되게 된다. 이 같은 현상은 Image 1을 보면 더 자세히 알 수 있는데, spray dry된 PVA granule을 각기 다른 RH 조건에서 Reswelling 시킨 결과 높은 RH조건일수록 입자들이 서로 합쳐져 크기가 커지고 구조가 붕괴되는 경향을 보였다. 따라서 본 과제에서 제작하여 수행한 실험에서도 동일한 현상이 발생하였다고 추론할 수 있으며 RH가 증가함에 따라 Lemongrass oil의 방출속도가 증가하고 낮은 RH조건에서는 방출이 저해되거나 거의 일어나지 않는 결과를 얻었다고 할 수 있다.

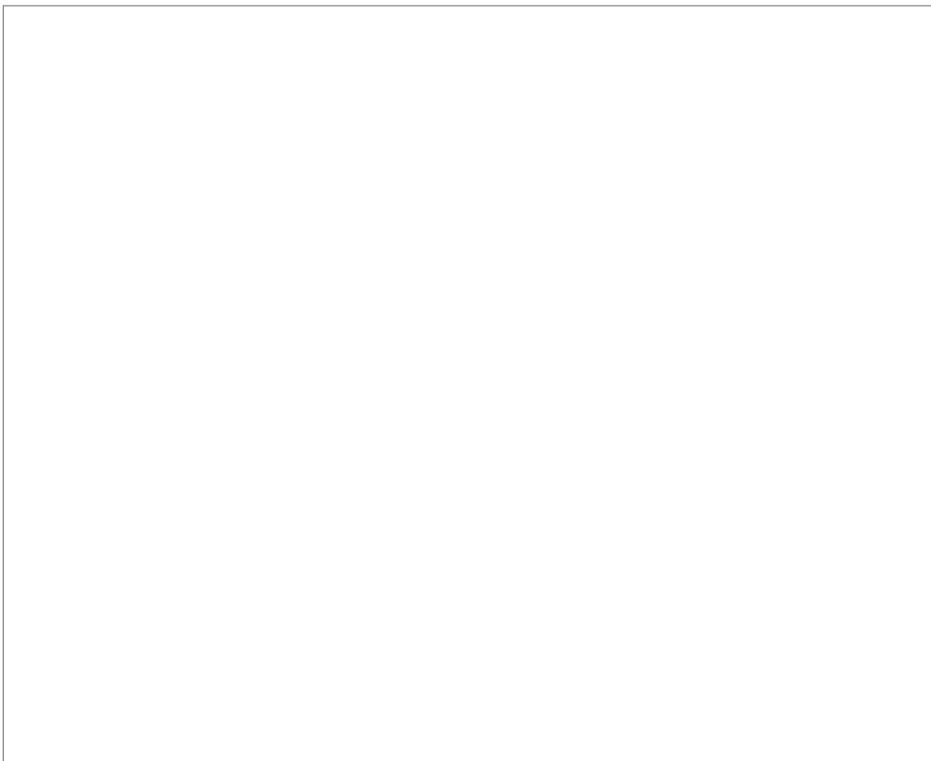


그림. 74. 상대습도 조건에 따른 LO-PVA Film의 Lemongrass oil 방출량 측정 결과

위 결과들을 종합하여 볼 때 특정 심물질과 유화제를 조절하여 생성되는 Emulsion의 Particle size와 분산안정성을 조절하는 것이 가능하며 더 나아가서는 Polymer의 첨가에 따라 그 안정성과 분산능을 조절할 수 있고, 포집된 Emulsion을 Polymer를 건조하는 등의 특정 조작을 통하여 목적하는 성질을 가질 수 있도록 유도할 수 있다는 것을 확인하였다. 또한 polymer는 안정성이 비교적 떨어지는 Emulsion이라도 분산안정성을 크게 증가시켜주는 장점이 있으며 이는 내부 심물질의 단점을 Polymer 구조안에 포집시켜 보완할 수 있다는 것을 의미한다. 위와 같은 성질을 응용한다면 산화와 방출이 빠르게 일어나는 천연 향균물질의 단점을 보완하고 Polymer의 특성을 이용하여 Film화시켜 식품포장에 응용할 수 있을 것이라고 생각된다.

제8절 천연향균소재 포집, 발현 기술을 활용한 포장재 개발

1. 향균소재 포집, 발현 기술을 활용한 코팅액 제조

상기 실험을 통해 얻어진 결과를 바탕으로 기능성 포장재를 산업적으로 생산하기 위한 방법으로 연구된 향균물질을 물감 또는 잉크형태로 생산하여 기존, 또는 개발된 기능성 포장재 위에 도포하거나 인쇄하는 것을 기획하였다. 따라서 이를 위한 방법을 물감생산업체인 쉘드(주)와 함께 연구하였다. 이를 위해 아크릴에멀전 (AC-261P, 롬앤하스)에 최소한의 첨가제(방부제, 소포제, 계면활성제)와 호서대학교에서 연구 개발된 향균물질들을 넣은 후 점도 증가제(증점제)를 이용하여 원하는 점도의 gel을 형성하여 도포될 수 있는 물감제품을 생산하고자 하였다.



그림. 75. 사용된 폴리아크릴

(1) 항균물질로 GSE를 이용한 잉크제조

우선 아크릴 에멀전을 물에 녹여 gelation 시킨 후, 제조된 GSE 용액을 전체의 25%까지 함유되도록 첨가하였다. 그러나 1%에서부터 응집이 일어나기 시작해 2%를 넘자 완전히 굳어져 혼합이 진행되지 않았다.

그 원인으로 pH, 점도, 교반순서에 따른 문제점을 의심하였다. pH의 경우, 아크릴 에멀전은 PH 8~9에서 가장 큰 안정성을 보이는데 PH 3 정도인 GSE가 혼합되는 과정에서 갑작스러운 pH변화가 일어났고 그로 인해 안정성을 잃었을 가능성을, 아크릴 에멀전은 원하는 점도로 증점시킨 후에도 안정화될 때까지 조금씩 점도가 증가하는 특성이 있는데, 투입한 GSE 용액이 점도의 가속화를 일으켜 굳어버렸을 가능성, 그리고 아크릴에멀전을 겔화시키는 과정에서 첨가제를 비롯한 여타 첨가물질의 순차적 교반순서가 잘못되어 반응을 일으켜 굳어버린 경우 등을 의심할 수 있었다.

이를 해결하고자, gelation 방법을 변화시키면서 그 변화를 관찰하였다. 우선, 방부제, 소포제, 계면활성제를 비롯한 혼합액의 첨가제 혼합 순서에 변화를 주며 관찰한 결과, 기본적 첨가제의 첨가와 혼합순서는 영향이 없었음을 확인하였다. pH 변화에 의한 응집에 의한 원인을 의심하여 측정한 결과, 알려진 아크릴 에멀전의 pH는 8.5~9 이고 gelation 생산에 활용한 아크릴 에멀전의 경우 pH=8.6 이었다. 여기에 여러 첨가제를 추가했을 때 pH는 8.3이었으므로, 사용된 폴리아크릴 에멀전

에 첨가제를 추가함으로써 겔의 응집을 유도하는 상황은 아니었다. 그러나 GSE와 ZnO를 넣으며 pH 변화를 관찰해본 결과 전체중량에 1.8%만 첨가했을 뿐인데도 pH=8.3에서 7.3으로 큰 변화가 관찰되었다.

따라서 여기에 pH 조절제로 2-amino-methyl propanol을 이용하여 pH를 8.3으로 맞추며 겔화를 진행하였다. 그 결과 GSE를 총중량의 약 10%까지 혼합이 가능했으나, 아이보리 색으로 혼합액의 색이 변화되었다. 하지만 이를 도포하여 건조하였을 때는 그 색의 차이를 구분하기 어려웠다.

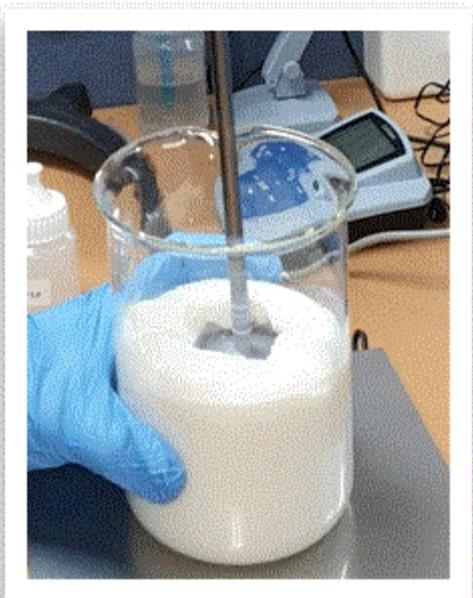
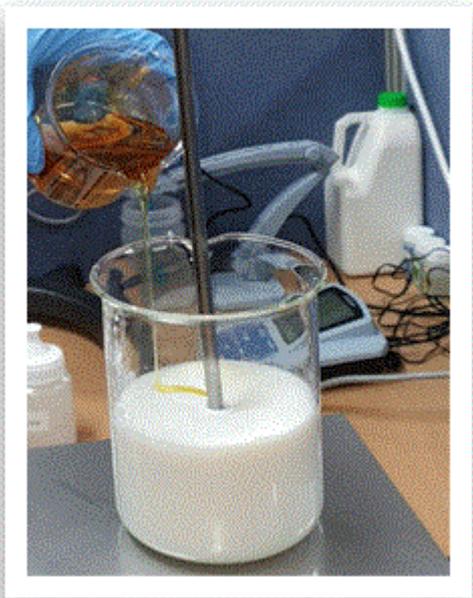


그림. 76. 폴리아크릴을 이용한 항균물질 함유 물감제조 과정

(2) 항균물질로 GSE와 ZnO를 혼합한 항균기능성 잉크제조

GSE (0.015%)와 ZnO (0.01%)를 혼합하여 제조한 항균물질을 이용한 잉크제조에서는 약 20%까지

혼합하여도 pH의 변화가 크게 나타나지 않았으며, 큰 어려움 없이 혼합이 진행되었다. 즉, ZnO와의 혼합으로 인해 유기 항균물질을 활용할 수 있는 시스템 적용에 성공할 수 있었다. 따라서 유기항균 물질과 무기항균물질을 혼합하여 사용하는 기법과 이를 gel화 시켜 잉크 또는 물감의 형태로 제조하기 위한 후속 연구들이 반드시 필요하다 판단되었다.

(3) Lemongrass oil emulsion을 항균물질로 적용한 잉크 제조

5%의 LO를 함유한 emulsion을 항균물질로 사용하여 폴리아크릴 물감을 제조했을 때, 예상되었던 pH 강하는 관찰되었으나 크게 발생하진 않았다. 또한 GSE와 ZnO와 마찬가지로 함유량을 증가시켰을때도 폴리아크릴로 겔화되는 과정에서 어려움이 없이 증점이 이루어졌다. 다만, 증점되는 시간이 길어졌으며, 필요한 증점제, 폴리아크릴 량이 늘었다.

Table. 21. Lemongrass oil emulsion (5%) 혼합량에 따른 아크릴 젤의 pH 변화

혼합량(g)	혼합율(%)	pH
10	1.8	8.4
100	13	8.3
200	25	8.2

상기 3가지 방법을 통해 3가지 항균특성을 갖는 물감, 잉크를 생산하였으며 이를 이용하여 PE, PP 기반의 포장재에 도포해본 결과, 폴리아크릴 특성에 맞게 건조되며 흡착되는 현상을 나타내었다. 이 현상은 항균물질의 종류에 상관없이 관찰되었으며, 물감의 형태로 제조가 가능함을 알 수 있었다. 다만, 항균성능과 항균물질의 포집율 등은 향후 연구해야할 것으로 생각되었다.

2. 항균소재 포집, 발현 기술을 활용한 포장재 개발

(1) 코팅액을 활용한 샌드위치 용기 개발

항균소재가 포함된 코팅액을 활용하여 샌드위치 용기를 개발하고자 하였다. 코팅액은 예비실험에서 가장 효과적인 것으로 판단된 lemonglass oil을 사용하였다. 전면 인쇄가 아닌 패턴이 들어간 인쇄 방법을 통해 고가의 항균코팅액의 사용을 최대한 억제하는 방법이 필요하다. 패턴 인쇄는 실크스크린을 제작하여 인쇄를 수행하였고 인쇄 공정의 용이성 및 향후 대량 생산의 적용 가능성을 고려 샌드위치 본체인 PET sheet에 도포하는 대신 PET sheet 위 커버인 필름 부분에 원하는 패턴을 인쇄하는 방식으로 용기를 제작하였다. 그림. 77는 패턴 인쇄에 사용한 실크스크린 인쇄용 제판이며 그림. 78는 실제 인쇄에 사용된 실크스크린 인쇄장비이다. 현재는 수동작업으로 이루어지나 향후 대량 생산시에는 자동화 공정을 도입할 계획이다.

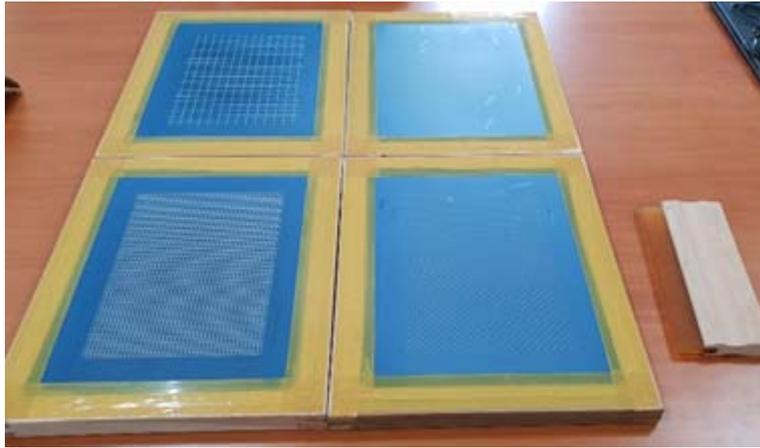


그림. 77. 실크스크린 패턴 인쇄용 제판

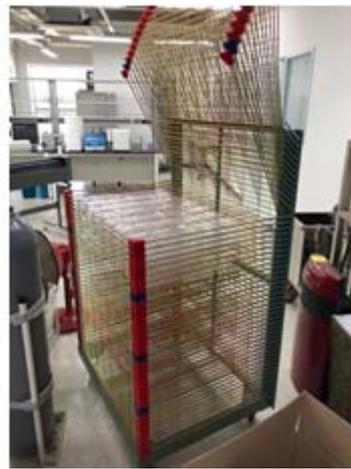
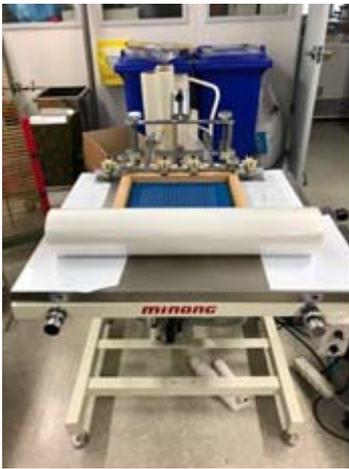


그림. 78. 실크스크린 인쇄장비

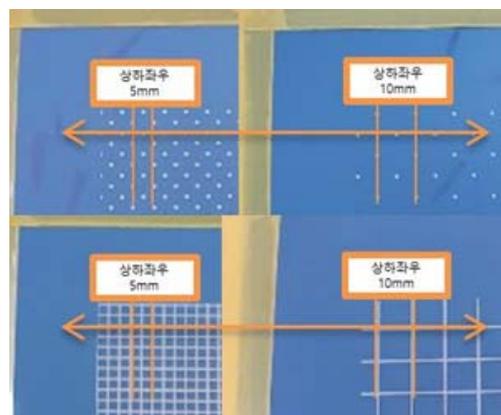


그림. 79. 인쇄패턴

인쇄 패턴은 점패턴과 선패턴으로 점패턴과 선패턴의 간격을 그림. 79와 같이 설정하였다. 그림. 80는 항균 코팅액을 위 패턴에 맞춰 인쇄한 필름이다.

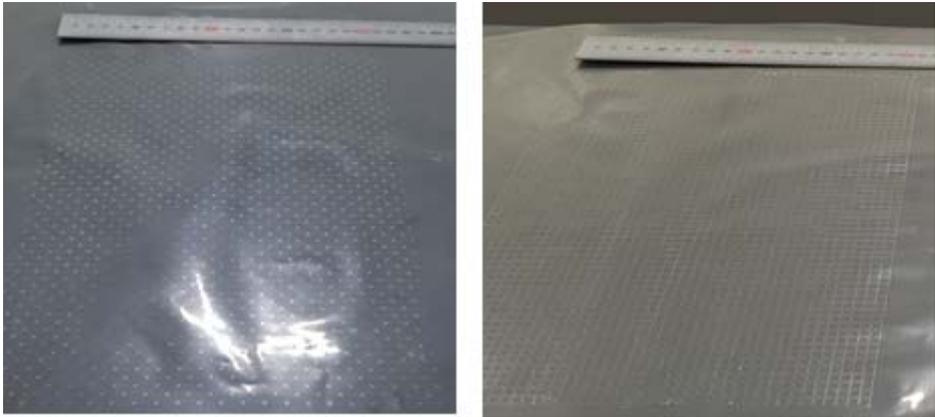


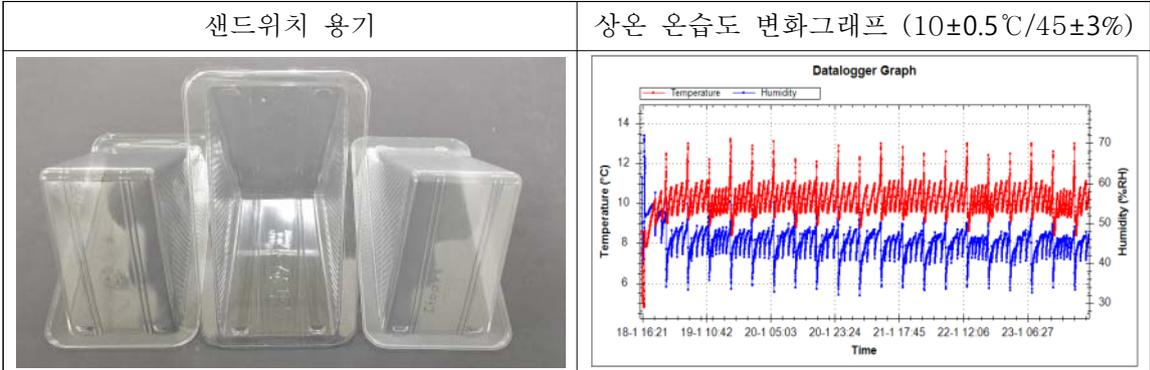
그림. 80. 항균 코팅액이 패턴 인쇄된 필름(좌:점패턴, 우:선패턴)

(2) 항균 샌드위치 용기의 선도테스트

(가) 재료 및 방법

실크스크린을 통해 항균제 코팅액을 도포한 필름에 따른 샌드위치 테스트를 위해 일반 LDPE, 점패턴 코팅 LDPE, 체크패턴 코팅 LDPE, 전면 코팅 LDPE 4종의 필름을 준비하여 테스트를 진행하였다. 실크 스크린은 점패턴, 체크패턴 모두 상하좌우 5mm 간격에 Lemongrass Oil(노랑) 5% 코팅액으로 제조된 필름을 사용하였다. 샌드위치 용기는 일반 용기를 사용하였고, 일반용기에 각 4종의 필름을 적용하였다.

샌드위치는 동일한 날짜, 시간대, 장소에서 만들어진 파riba게트 햄에그 샌드위치를 사용하였다. 실험에 사용된 햄에그 샌드위치는 일반 식빵에 슬라이스 치즈, 슬라이스 햄, 달걀 샐러드, 양파, 피망, 소스 등으로 만들어졌다. 샌드위치를 2개씩하여 용기에 넣고 각각의 필름으로 실링하여 포장한 뒤 선도 테스트룸에서 약 5일간 온도 $10\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ / 습도 $45\pm 3\%$ 로 보관한뒤 실험을 진행하였다.



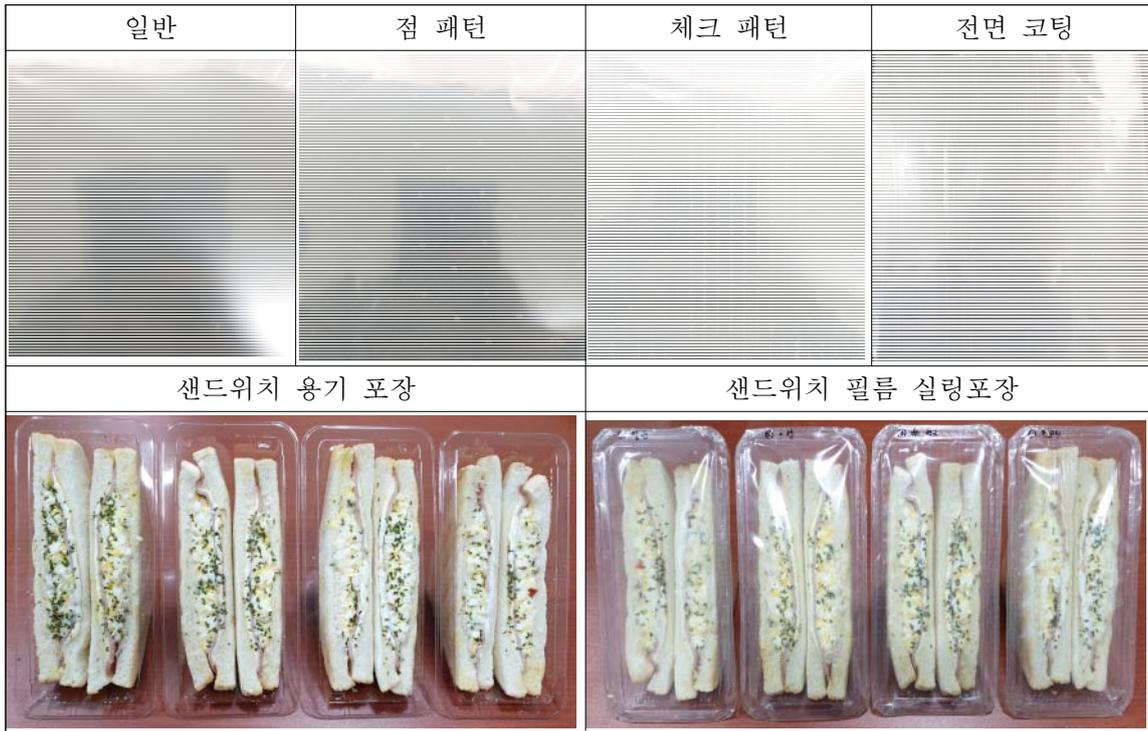


그림. 81. 선도테스트를 위한 샌드위치 포장

(나) 일반세균 실험 결과

각각의 테스트 필름으로 햄에그 샌드위치를 포장한 뒤 5일 후, 갈변 및 부패 정도는 외관상 큰 차이가 없어 보였다. 관능평가 외에 건조필름법으로 일반세균과 대장균 및 대장균군 실험을 통해 샌드위치의 부패정도를 알 수 있었다.

일반세균수는 배양 후 발생한 세균 집락수를 계수하여 검체 중의 생균수를 산출하는 방법으로 현재 오염도나 부패의 진행도를 알 수 있다. 1개 평판당 15~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계산하는 것을 원칙으로 한다.

①일반 ②점패턴 ③체크패턴 ④전면코팅 4가지의 필름으로 햄에그 샌드위치를 테스트한 결과 Lemongrass Oil(노랑) 5% 향균 코팅액을 사용하지 않은 ①일반 LDPE 필름의 일반세균 수가 10^5 에서 276으로 가장 높게 측정되었다. 4가지 필름 샘플 중에 가장 샌드위치의 오염도가 높은 것을 알 수 있다. 그리고 희석배수 10^5 에서 ②점패턴 256, ③체크패턴 120, ④전면코팅 86 순으로 일반세균 수가 적게 측정 되어 오염도 수치가 낮아지는 것을 알 수 있었다. ①일반과 ②점패턴의 일반세균 수치상 큰 차이는 보이지 않지만 ①일반과 ③체크패턴, ④전면코팅을 비교해 보았을 때는 차이를 볼 수 있었다. 이는 점패턴에서 체크, 전면으로 갈수록 필름에 코팅된 Lemongrass Oil의 함량이 많아지는 것을 알 수 있다. 이에 따라 향균 코팅액을 사용하지 않은 일반 필름보다는 향균 코팅액을 사용한 필름에서 저장효과가 높은 것으로 평가 되었다.

샌드위치 일반세균 (Aerobic count plate)						
회석배수	10 ⁵			10 ⁶		
구분	사진	집락수	CFU/g(ml)	사진	집락수	CFU/g(ml)
① 일반		290	276		26	29
		262			32	
② 점패턴		248	255.5		25	26.5
		263			28	
③ 체크패턴		113	120		6	-
		127			14	
④ 전면코팅		83	86		7	-
		89			10	

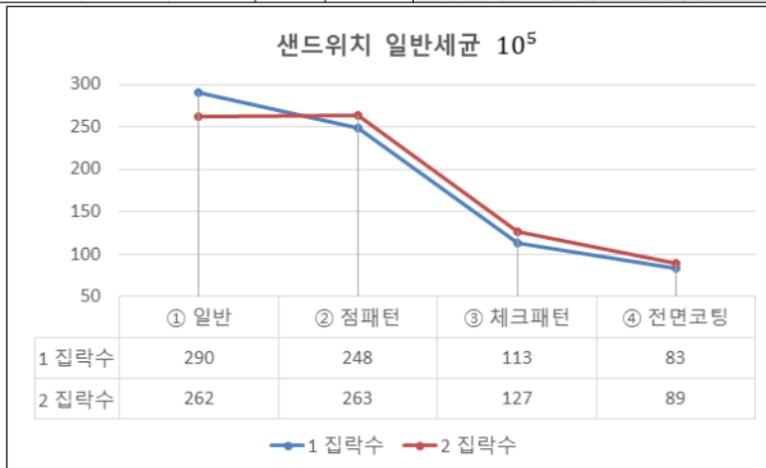


그림. 81. 항균 샌드위치 용기를 활용한 선도테스트 결과

(다) 결론 및 향후 과제

이번 실험결과를 통해 항균 코팅액의 양이 많아지면 항균 효과가 커져 샌드위치의 선도유지에 효과가 있음이 입증되었다. 하지만 전면코팅의 경우 코팅액 제조비용으로 인해 경제성이 낮아지는 문제가 있다. 이를 해결하기 위해 패턴 코팅을 시도했으나 원하는 정도의 코팅 함량으로 선도유지 효과를 구현하는 데는 아직 좀 부족한 것으로 판단된다. 이는 코팅액의 점도를 조절하기 위해 첨가한 아크릴 폴리머와 항균 소재와의 응집현상이 발생하여 코팅액의 항균제 함량을 원하는 대로 조절하지 못한데에 기인한다. 추후 연구를 통해 코팅액에 포함되는 항균제 함량을 조절할 수 있는 코팅액 개발이 이루어지면 원하는 패턴에 의해 선도유지 효과를 조절할 수 있는 항균제의 개발을 통해 경제성 있는 샌드위치 용기 개발이 가능한 것으로 판단된다.

제9절 결론

본 과제는 친환경 HMR 포장용기 제작에 사용 가능한 다양한 기능성 소재들에 대한 기초적 연구와 실제 제품화를 이루기 위해 HMR 포장용기로 사용 가능한 종이류 시제품, 필름 시제품을 개발하였고 경제성을 확보하기 위해 새로운 기술로 천연항균소재 포집, 발현 기술 조절을 활용하여 포장재를 개발하는 연구들로 진행되었다.

기능성 소재에 대한 기초적 연구로 친환경 항균 소재 물질로 양파와 마늘의 농업폐기물을 활용하여 셀룰로오스 미세섬유 소재를 개발하였고 키틴-은이 포함된 하이브리드 나노물질을 개발하였다.

특히 실제 HMR 포장용기로 사용될 수 있는 종이류 및 필름류에 대해 다양한 시제품을 개발하였고 개발된 제품의 항균 기능성을 검증하였으며 실제 식품에 대한 선도테스트에서 효과를 검증하여 제품화로의 큰 응용가능성을 발견하였다.

본 연구에서 개발된 자몽씨 추출물과 멜라닌 나노입자 및 키틴-은 하이브리드 나노물질을 활용한 종이 및 필름류는 각각의 용도에 맞춘 제품화가 가능하여 HMR용 기능성 선도유지 용기로의 응용이 가능할 것으로 판단된다.

* 연구개발성과
- 논문게재성과

번호	논문명	저자명	학술지명	권,호	년도	비고
1	Antimicrobial wrapping paper coated with a ternary blend of carbohydrates (alginate, carboxymethyl cellulose, carrageenan) and grapefruit seed extract	Shiv Shankar, Jong - Whan Rhim	Carbohydrate polymers	196	2018	게재
2	Extraction and Characterization of Cellulose Microfibers from Agricultural Wastes of Onion and Garlic	Jeevan Prasad Reddy, Jong - Whan Rhim	Journal of Natural fibers	15(4)	2018	게재
3	Effects of poly(butylene adipate-co-terephthalate) coating on the water resistant, mechanical, and antibacterial properties of Kraft paper	Shiv Shankar, Jong - Whan Rhim	Progress in organic coatings	123	2018	게재
4	Effect of isolation methods of chitin nanocrystals on the properties of chitin-silver hybrid nanoparticles	Ahmed A. Oun, Jong - Whan Rhim	Carbohydrate polymers	197	2018	게재
5	Melanin-mediated synthesis of copper oxide nanoparticles and preparation of functional agar/CuO NP nanocomposite films. Journal of Nanomaterials	Swarup Roy, Jong - Whan Rhim	Journal of Nanomaterials		2019	게재 확정

- 학술발표성과

번호	발표제목	발표자	학술회의명	년도
1	Development and evaluation of active packaging for chichen storage employing mixture of mineral substances	김대민 외	2018 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	2018
2	환경친화적 식품 포장을 위한 생분해성 필름	임종환	한국포장학회 제54회 학술대회	2018
3	Multifunctional bio-nanocomposite films for food packaging applications	임종환	2018 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	2018

- 특허성과

번호	특허명	출원인	출원등록번호	출원등록일	비고
1	과일 신선보관용기	(주)한그린테크	10-1883177	2018-7-24	등록
2	머신러닝 기반 신선도 측정 및 방법	(주)한그린테크	10-1926181	2018-11-30	등록
3	식품 신선도 유지 포장재	(주)한그린테크	10-2018-0073451	2018-6-26	출원
4	절단수박 보관용기	(주)한그린테크	10-2018-0079524	2018-7-9	출원

* 사업화성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0.6억원	
			향후 3년간 매출	20억원	
		관련제품	개발후 현재까지	0.2억원	
			향후 3년간 매출	8억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0% 국외 : 0%	
			향후 3년간 매출	국내 : 5% 국외 : 1%	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0% 국외 : 0%	
			향후 3년간 매출	국내 : 3% 국외 : 0.5%	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			위

* 사업화계획

항 목	세부 항목		성 과		
사업화 계획	사업화 소요기간(년)		2		
	소요예산(백만원)		500		
	예상 매출규모 (억원)		현재까지	3년후	5년후
			0.6	15	100
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0	5	10
		국외	0	1	3
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	-			
	수 출	-	7	60	

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

- 식품 저장 기능성 친환경 기능성 소재 생산 및 활용 기술 연구
- 기능성 소재의 발현 조절 기술 및 포장 응용 기술 연구
- HMR 상품 특성을 고려한 포장재, 포장용기의 개발

3-2. 목표 달성여부

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
AR-34 기반 HMR 기능성 포장재, 포장용기 개발	10	100	- 커팅채소용기 4종, 커팅과일용기 1종 개발 완료 사업화
천연항균소재 추출 기술 개발	5	100	- 저비용 천연항균소재 추출 기술 개발
천연항균소재 포집 및 발현 기술 개발	10	100	- 천연항균소재 조절 기능 확보
천연항균소재 포집, 발현 system 산업화 연구	10	90	- 산업적 생산 기술 확보
천연항균소재의 포장재 적용 기술 연구	5	90	- 바이머폴리머 분산 기술 확보 중
항균성 부여 포장재의 능력 검증 및 평가	10	100	- 공인시험기관을 통한 항균력 인 증
개발 HMR 상품 대상별 기능성 향상 포장용기 개발	10	90	- 김밥 및 샌드위치 용기 특성 개 선 진행 중
개발된 포장재, 포장용기의 물리적, 화학적, 생물학적 특성 분석	10	100	- 포장용기의 특성 평가
효과조절과 기능 조절을 위한 추가적인 조절 기법 연구	10	90	- 수분 조절 및 기타 저장성 향상 연구
개발된 HMR 포장 용기, 포장재의 대상 식품 저장성 향상도 평가	10	100	- 포장용기 별 대상 식품 저장성 테스트 평가
포장 디자인 연구와 저비용 생산 기술 연구	10	100	- 저비용 소재와 항균 코팅액 패턴 인쇄를 통한 생산 기술 연구

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 종합적으로 검토 결과 본 연구에서 수립하였던 각 제품별 비용절감형 HMR 포장용기 개발 목표는 거의 달성한 것으로 판단됨
- 연구기간의 부족으로 천연항균물질의 발현, 조절 기술을 통한 포장재의 적용을 위한 연구를 진행하여 일정 성과를 얻었으나 실제 제품화 수준까지 도달하기 위해서는 추가적인 심화연구가 필요함
- 천연항균물질의 발현, 조절 기술의 제품화가 이루어지면 기존 포장재과 확실히 차별화되는 선도 유지 포장재로의 기능성을 발휘할 수 있을 것으로 기대됨

4. 연구결과의 활용 계획 등

(1) 연구성과의 활용분야 및 활용방안

- 본 연구를 통해 개발된 천연항균소재 기술은 현 과제에서 목표로 삼은 커팅채소, 과일 및 김밥, 샌드위치 뿐 아니라 다른 HMR 식품에도 적용 가능한 기술로 향후 타 HMR 식품 (ex. 도시락)의 포장재 제조에서도 사용가능함
- 본 연구에서 개발된 제품을 활용하여 직접 사업화를 진행할 계획으로 주 수요처인 HMR 식품·생산 가공 업체 및 대형유통업체에 대한 마케팅을 진행할 계획임

(2) 추가연구의 필요성

- 연구기간의 부족으로 인해 천연항균물질의 발현, 조절 기술을 활용한 경제성 있는 제품 개발에 대한 추가적인 연구가 필요함

붙임. 참고문헌

1. 양파와 마늘의 농업 폐기물을 활용한 셀룰로오스 미세섬유 소재 개발

- Abdul, K. H. P. S., M. S. Alwani, and A. K. M. Omar. 2006. Chemical composition, anatomy, lignin distribution and cell wall structure of Malaysian plant waste fibers. *Bioresources* 1: 220-232.
- Aseer, J. R., K. Sankaranarayanan, P. Jayabalan, R. Natarajan, and K. Priya Dasan. 2013. Morphological, physical, and thermal properties of chemically treated banana fiber. *Journal of Natural Fibers* 10: 365-380.
- Bacci, L., S. D. Lonardo, L. Albanese, G. Mastrome, and B. Perito. 2011. Effect of different extraction methods on fiber quality of nettle (*Urtica dioica* L.). *Textile Research Journal* 81: 827-837.
- Benítez, V., E. Molla, M. A. Martín-Cabrejas, Y. Aguilera, F. J. López-Andréu, K Cools, L. A. Terry, and R. M. Esteban. 2011. Characterization of Industrial Onion Wastes (*Allium cepa* L.): Dietary Fibre and Bioactive Compounds. *Plant Foods for Human Nutrition* 66: 48-57.
- Brian, M, and P. Alejandro. 2009. International Year of Natural Fibers. <http://www.naturalfibers2009.org/en/index.html>.
- Chowdhury, A., B. Avijit, and D. Siddhartha. 2012. Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies for removal of copper (II) from aqueous solution by onion and garlic skin. *Water* 4: 37-51.
- He, Y., Y. Pang, Y. Liu, X. Li, and K. Wang. 2008. Physicochemical characterization of rice straw pretreated with sodium hydroxide in the solid state for enhancing biogas production. *Energy & Fuels* 22: 2775-2781.
- Janewit, W., W. Nakorn, and P. Suneerat. 2008. Product yields and characteristics of rice husk, rice straw and corncob during fast pyrolysis in a drop-tube/fixed-bed reactor. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 30: 393-404.
- Jayaramudu, J., B. R. Guduri, and A.V. Rajulu. 2009. Properties of natural fabric polyalthia cerasoides. *Fibers and Polymers* 10: 338-342.
- John, M. J., and D. A. Rajesh. 2008. Recent developments in chemical modification and characterization of natural fiber-reinforced composites. *Polymer Composites* 29: 187-207.
- Keshwani, D. R., and J. J. Cheng. 2009. Switch grass for bioethanol and other value-added applications: a review. *Bioresource Technology* 100: 1515-1523.
- Maheswari, C. U., B. R. Guduri, and A.V. Rajulu. 2008. Properties of lignocellulose tamarind fruit fibers. *Journal of Applied Polymer Science* 110: 1986-1989.
- Maheswari, C. U., K. O. Reddy, M. Muzenda, B. R. Guduri, and A.V. Rajulu. 2012. Extraction and characterization of cellulose microfibrils from agricultural residue - *Cocos nucifera* L. *Biomass Bioenergy* 246: 555-563.
- Moran, J. I., V. A. Alvarez, V. P. Cyras, and A. Vazquez. 2008. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose* 15: 149-159.
- Padma, S. V, and S. Rakhi. 2009. Dyeing of cotton, wool and silk with extract of *Allium*

cepa. *Pigment Resin Technol* 38: 242-247.

Pappas, C., P. A. Tarantilis, I. Daliani, T. Mavromustakos, and M. Polissiou. 2002. Comparison of classical and ultrasound-assisted isolation procedures of cellulose kenaf from (*Hibiscus cannabinus* L.) and eucalyptus (*Eucalyptus rodustrus* Sm.). *Ultrasonics Sonochemistry* 9: 19-23.

Rouilly, A., O. Orliac, F. Silvestre, and L. Rigal. 2006. New natural injection-moldable composite material from sunflower oil cake. *Bioresource Technology* 97: 553-561.

Reddy K. O., C. U. Maheswari, M. Shukla, and A. V. Rajulu. 2012. Chemical composition and structural characterization of Napier grass fibers. *Materials Letters* 67: 35-38.

Reddy, K. O., C. U. Maheswari, D. J. P. Reddy, and A. V. Rajulu. 2009. Thermal properties of Napier grass fibers. *Materials Letters* 63: 2390-2392.

Reddy, K. O., C. U. Maheswari, D. J. P. Reddy, B.R. Guduri, and A. V. Rajulu. 2010. Properties of ligno-Cellulose ficus religiosa leaf fiber. *International Journal of Polymers and Technologies* 2: 29-35.

Reddy, K.O., C. U. Maheswari, S. Mukul, J. I. Song, A. V. Rajulu. 2013. Tensile and structural characterization of alkali treated borassus fruit fine fibers. *Composites: Part B* 44: 433-438.

Salak, F., S. Daneshvar, and J. Abedi. 2013. Adding value to onion (*Allium cepa* L.) waste by subcritical water treatment. *Fuel Processing Technology* 112: 86-92.

Sen, T, and H. N. Jagannatha Reddy. 2011. Various industrial applications of hemp, kenaf, flax and ramie natural fibres. *International Journal of Innovation, Management and Technology* 2: 192-198.

Singha, A. S., V. K. Thakur, I. K. Mehta, A. Shama, A. J. Khanna, R. K. Rana, and A. K. Rana. 2009. Surface-modified *Hibiscus sabdariffa* fibers: Physicochemical, thermal, and morphological properties evaluation. *International Journal of Polymer Analysis Characterization* 14: 695-711.

Stark, N. M, and R. E. Rowlands. 2003. Effects of wood fiber characteristics on mechanical properties of wood/polypropylene composites. *Wood and Fiber Science* 35: 167-174.

Sun, X. F., Xu, F., Sun, R. C., Fowler, P, and M. S. Baird. 2005. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. *Carbohydrate Research* 340: 97-106.

Xiaozheng, C., W. Wei, S. Qinghua, L. Yue, L. Xinchun, C. Changqun, and W. Yue. 2009. Experimental evidence for eukaryotic fossil preservation: Onion skin cells in silica solution. *Precambrian Research* 170: 223-230.

Yang, H., R. Yan, H. Chen, D. H. Lee, and C. Zheng. 2007. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel* 86: 1781-1788.

2. 키틴-은 하이브리드 나노 물질 개발

Darroudi, M., Ahmad, M. B., Shameli, K., Abdullah, A. H., & Ibrahim, N. A. (2009). Synthesis and characterization of UV-irradiated silver/montmorillonite nanocomposites. *Solid State Sciences*, 11, 1621-1624.

Dutta, A. K., Egusa, M., Kaminaka, H., Izawa, H., Morimoto, M., Saimoto, H., & Ifuku, S. (2015). Facile preparation of surface N-halamine chitin nanofiber to endow antibacterial and antifungal activities. *Carbohydrate Polymers*, 115, 342–347.

Elayaraja, S., Zagorsek, K., Li, F., & Xiang, J. (2017). In situ synthesis of silver nanoparticles into TEMPO-mediated oxidized bacterial cellulose and their antivibriocidal activity against shrimp pathogens. *Carbohydrate Polymers*, 166, 329–337.

Fan, Y., Fukuzumi, H., Saito, T., & Isogai, A. (2012). Comparative characterization of aqueous dispersions and cast films of different chitin nanowhiskers/nanofibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 69–76.

Fan, Y., Saito, T., & Isogai, A. (2008). Chitin nanocrystals prepared by TEMPO-mediated oxidation of α -chitin. *Biomacromolecules*, 9, 192–198.

Fan, Y., Saito, T., & Isogai, A. (2009). TEMPO-mediated oxidation of β -chitin to prepare individual nanofibrils. *Carbohydrate Polymers*, 77, 832–838.

Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., et al. (2007). Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@Ag nanoparticles. *Nanotechnology*, 18, 604–611.

Guo, L., Duan, B., & Zhang, L. (2016). Construction of controllable size silver nanoparticles immobilized on nanofibers of chitin microspheres via green pathway. *Nano Research*, 9, 2149–2161.

Habibi, Y., Chanzy, H., & Vignon, M. R. (2006). TEMPO-mediated surface oxidation of cellulose whiskers. *Cellulose*, 13, 679–687.

Hoeng, F., Denneulin, A., Neuman, C., & Bras, J. (2015). Charge density modification of carboxylated cellulose nanocrystals for stable silver nanoparticles suspension preparation. *Journal of Nanoparticle Research*, 17, 244–258.

Ifuku, S., Hori, T., Izawa, H., Morimoto, M., & Saimoto, H. (2015). Preparation of zwitterionically charged nanocrystals by surface TEMPO-mediated oxidation and partial deacetylation of α -chitin. *Carbohydrate Polymers*, 122, 1–4.

Ifuku, S., Tsuji, M., Morimoto, M., Saimoto, H., & Yano, H. (2009). Synthesis of silver nanoparticles templated by TEMPO-mediated oxidized bacterial cellulose nanofibers. *Biomacromolecules*, 10, 2714–2717.

Isogai, A., Saito, S., & Fukuzumi, H. (2011). TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, 3, 71–85.

Jo, H. J., Choi, J. W., Lee, S. H., & Hong, S. W. (2012). Acute toxicity of Ag and CuO nanoparticle suspensions against *Daphnia magna*: The importance of their dissolved fraction varying with preparation methods. *Journal of Hazardous Materials*, 227–228, 301–308.

Leung, A. C. W., Hrapovic, S., Lam, E., Liu, Y., Male, K. B., Mahmoud, K. A., & Luong, J. H. T. (2011). Characteristics and properties of carboxylated cellulose nanocrystals prepared from a novel one-step procedure. *Small*, 7, 302–305.

Li, M., Wu, Q., Song, K., Cheng, H. N., Suzuki, S., & Lei, T. (2016). Chitin nano fibers as reinforcing and antimicrobial agents in carboxymethyl cellulose films: Influence of partial deacetylation. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4, 4385–4395.

Li, Z., Zhang, M., Cheng, D., & Yang, R. (2016). Preparation of silver nano-particles immobilized onto chitin nano-crystals and their application to cellulose paper for imparting antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 151, 834-840.

Lokanathan, A. R., Uddin, K. M. A., Rojas, O. J., & Laine, J. (2014). Cellulose nanocrystal-mediated synthesis of silver nanoparticles: Role of sulfate groups in nucleation phenomena. *Biomacromolecules*, 15, 373-379.

Madhumathi, K., Sudheesh Kumar, P. T., Abhilash, S., Sreeja, V., Tamura, H., Manzoor, K., Niar, S. V., Jayakumar, R. (2010). Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21, 807-813.

Maria, L. C. S., Ana L. C. Santos, Oliveira, P. C., Aline S. S. Valle, Barud, H. S., Messaddeq, Y., & Ribeiro, S. J. L. (2010). Preparation and antibacterial activity of silver nanoparticles impregnated in bacterial cellulose. *Polimeros*, 20, 72-77.

Nabeela, K., Thomas, R. T., Nair, J. B., Maiti, K. K., Warriar, K. G. K., & Pillai, S. (2016). TEMPO-oxidized nanocellulose fiber-directed stable aqueous suspension of plasmonic flower-like silver nanoconstructs for ultra-trace detection of analytes. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8, 29242-29251.

Nguyen, V. Q., Ishihara, M., Kinoda, J., Hattori, H., Nakamura, S., Ono, T., Miyahira, Y., Matsui, T. (2014). Development of antimicrobial biomaterials produced from chitin-nanofiber sheet/silver nanoparticle composites. *Journal of Nanobiotechnology*, 12, 49-58.

Nguyen, V. Q., Ishihara, M., Nakamura, S., Hattori, H., Ono, T., Miyahira, Y., & Matsui, T. (2013). Interaction of silver nanoparticles and chitin powder with different sizes and surface structures: The correlation with antimicrobial activities. *Journal of Nanomaterials*, 2013, 1-9.

Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2017a). Preparation of multifunctional chitin nanowhiskers/ZnO-Ag NPs and their effect on the properties of carboxymethyl cellulose-based nanocomposite film. *Carbohydrate Polymers*, 169, 467-479.

Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2017b). Effect of oxidized chitin nanocrystals isolated by ammonium persulfate method on the properties of carboxymethyl cellulose-based films. *Carbohydrate Polymers*, 175, 712-720.

Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2017c). Characterization of carboxymethyl cellulose-based nanocomposite films reinforced with oxidized nanocellulose isolated using ammonium persulfate method. *Carbohydrate Polymers*, 174, 484-492.

Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2015a). Preparation and characterization of sodium carboxymethyl cellulose/cotton linter cellulose nanofibril composite films. *Carbohydrate Polymers*, 127, 101-109.

Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2015b). Effect of post-treatments and concentration of cotton linter cellulose nanocrystals on the properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 134, 20-29.

Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2016). Characterization of nanocelluloses isolated from Ushar

(*Calotropis procera*) seed fiber: Effect of isolation method. *Materials Letters*, 168, 146–150.

Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. a, & Johnson, D. K. (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, 3, 10–20.

Raza, M., Kanwal, Z., Rauf, A., Sabri, A., Riaz, S., & Naseem, S. (2016). Size- and shape-dependent antibacterial studies of silver nanoparticles synthesized by wet chemical routes. *Nanomaterials*, 6, 74–89.

Rhim, J. W., Park, H. M., & Ha, C. S. (2013). Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Progress in Polymer Science*, 38, 1629–1652.

Rhim, J. W., Wang, L. F., Lee, Y., & Hong, S. I. (2014). Preparation and characterization of bio-nanocomposite films of agar and silver nanoparticles: Laser ablation method. *Carbohydrate Polymers*, 103, 456–465.

Shankar, S., Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2018). Preparation of antimicrobial hybrid nano-materials using regenerated cellulose and metallic nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 17–27.

Shankar, S., & Rhim, J. W. (2015). Amino acid-mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial agar/silver nanoparticles composite films. *Carbohydrate Polymers*, 130, 353–363.

Shankar, S., & Rhim, J. W. (2017). Facile approach for large-scale production of metal and metal oxide nanoparticles and preparation of antibacterial cotton pads. *Carbohydrate Polymers*, 163, 137–145.

Solairaj, D., & Rameshthangam, P. (2017). Silver nanoparticle embedded α -chitin nanocomposite for enhanced antimicrobial and mosquito larvicidal activity. *Journal of Polymers and the Environment*, 25, 435–452.

Solairaj, D., Rameshthangam, P., & Arunachalam, G. (2017). Anticancer activity of silver and copper embedded chitin nanocomposites against human breast cancer (MCF-7) cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 608–619.

Tang, H., Lu, A., Li, L., Zhou, W., Xie, Z., & Zhang, L. (2013). Highly antibacterial materials constructed from silver molybdate nanoparticles immobilized in chitin matrix. *Chemical Engineering Journal*, 234, 124–131.

Thatoi, P., Kerry, R. G., Gouda, S., Das, G., Pramanik, K., Thatoi, H., & Patra, J. K. (2016). Photo-mediated green synthesis of silver and zinc oxide nanoparticles using aqueous extracts of two mangrove plant species, *Heritiera fomes* and *Sonneratia apetala* and investigation of their biomedical applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 163, 311–318.

Theivasanthi, T., & Alagar, M. (2012). Electrolytic synthesis and characterization of silver nanopowder. *Nano Biomedicine and Engineering*, 4, 58–65.

Uddin, K. M. A., Lokanathan, A. R., Liljeström, A., Chen, X., Rojas, O. J., & Laine, J. (2014). Silver nanoparticle synthesis mediated by carboxylated cellulose nanocrystals. *Green Materials*, 2, 183–192.

Wijesena, R. N., Tissera, N. D., Abeyratne, C., Bangamuwa, O. M., Ludowyke, N., et. al., (2017). In-situ formation of supramolecular aggregates between chitin nanofibers and silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 173, 295-304.

Xu, X., Liu, F., Jiang, L., Zhu, J. Y., Haagenson, D., & Wiesenborn, D. P. (2013). Cellulose nanocrystals vs. cellulose nanofibrils: A comparative study on their microstructures and effects as polymer reinforcing agents. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 5, 2999-3009.

Xiu, Z. M., Zhang, Q. B., Puppala, H. L., Colvin, V. L., & Alvarez, P. J. (2012). Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. *Nano Letters*, 12, 4271-4275.

Yang, R.T., Yu, H. Y., Song, M. L., Zhou, Y. W., & Yao, J. M. (2016). Flower-like zinc oxide nanorod clusters grown on spherical cellulose nanocrystals via simple chemical precipitation method. *Cellulose*, 23, 1871-1884.

Zeng, J. B., He, Y. S., Li, S. L., & Wang, Y. Z. (2012). Chitin whiskers: An overview. *Biomacromolecules*, 13, 1-11.

Zhang, K., Sun, P., Liu, H., Shang, S., Song, J., & Wang, D. (2016). Extraction and comparison of carboxylated cellulose nanocrystals from bleached sugarcane bagasse pulp using two different oxidation methods. *Carbohydrate Polymers*, 138, 237-243.

Zhang, L., Ge, H., Xu, M., Cao, J., & Dai, Y. (2017). Physicochemical properties, antioxidant and antibacterial activities of dialdehyde microcrystalline cellulose. *Cellulose*, 24, 1-12.

Zhang, Y., Jiang, J., Liu, L., Zheng, K., Yu, S., & Fan, Y. (2015). Preparation, assessment, and comparison of α -chitin nano-fiber films with different surface charges. *Nanoscale Research Letters*, 10, 226-237.

3. 3종의 탄수화물 (알긴산 염, 카르복시 메틸 셀룰로오스, 카라기난) 혼합물과 자몽 씨 추출물로 코팅한 항균 포장지 개발

Abreu, A. S., Oliveira, M., Sa, A., Rodrigues, R. M., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A., Machado, A. V. (2015). Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging. *Carbohydrate Polymers*, 129, 127-134.

Arfat, Y. A., Ahmed, J., & Jacob, H. (2017). Preparation and characterization of agar-based nanocomposite films reinforced with bimetallic (Ag-Cu) alloy nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 155, 382-390.

Cho, S., Seo, I., Choi, J., & Joo, I. (1990). Antimicrobial and antioxidant activity of grapefruit and seed extract on fishery product. *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, 23, 289-295.

Despond, S., Espuche, E., Cartier, N., & Domard, A. (2005). Barrier properties of paper-chitosan and paper-chitosan-carnauba wax films. *Journal of Applied Polymer Science*, 98, 704-710.

Duncan, T. V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 363, 1-24.

Gastaldi, E., Chalier, P., Guillemin, A., & Gontard, N. (2007). Microstructure of

protein-coated paper as affected by physico-chemical properties of coating solutions. *Colloids and Surfaces A*, 301, 301-310.

Gennadios, A., Weller, C. L., & Goodings, C. H. (1994). Measurement errors in water vapor permeability of high permeable hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21, 395-409.

Ghasemlou, M., Aliheidari, N., Fahmi, R., Shojaee-Aliabadi, S., Keshavarz, B., Cran, M. J., et al. (2013). Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. *Carbohydrate Polymers*, 98, 1117-1126.

Haggkvist M, Tie-Qjang L and Odberg L, (1998). Effects of drying and pressing on the pore structure in the cellulose fiber wall studied by 1H and 2H NMR relaxation. *Cellulose*, 5, 33-49.

Jin, T., Liu, L. S., Zhang, H., & Hicks, K. (2009). Antimicrobial activity of nisin incorporated in pectin and polylactic acid composite films against *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 322-329.

Jung, J., Kasi, G., & Seo, J. (2018). Development of functional antimicrobial papers using chitosan/starch-silver nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 530-536.

Kanmani, P., & Rhim, J. W. (2014). Development and characterization of carrageenan/grapefruit seed extract composite films for active packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 68, 258-266.

Kondo, T., Koschella, A., Heublein, B., Klemm, D., & Heinze, T. (2008). Hydrogen bond formation in regioselectively functionalized 3-mono-O-methyl cellulose. *Carbohydrate Research*, 343, 2600-2604.

Llorens, A., Lloret, E., Picouet, P. A., Trbojevich, R., & Fernandez, A. (2012). Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 24, 19-29.

Ramos, M., Jimenez, A., Peltzer, M., & Garrigos, M. C. (2014). Development of novel-biocomposite antioxidant films based on poly(lactic acid) and thymol for active packaging. *Food Chemistry*, 162, 149-155.

Reagor, L., Gusman, J., McCoy, L., Carino, E., & Hegggers, J. P. (2004). The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: I. An in vitro agar assay. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 8, 325-332.

Rhim, J. W., & Kim, J. H. (2009). Properties of poly(lactide)-coated paperboard for the use of 1-way paper cup. *Journal of Food Science*, 74(2), E105-E111.

Rhim, J. W., Lee, J. H., & Hong, S. I. (2006). Water resistance and mechanical properties of biopolymer (alginate and soy protein) coated paperboard. *LWT - Food Science and Technology*, 39, 806-813.

Rhim, J. W., Lee, J. H., & Hong, S. I. (2007). Increase in water resistance of paperboard by coating with poly(lactide). *Packaging Technology and Science*, 20, 393-402.

Shankar S., & Rhim, J. W. (2017). Preparation and characterization of agar/lignin/silver

nanoparticles composite films with ultraviolet light barrier and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 71, 76-84.

Shankar, S., Wang, L. F., & Rhim, J. W. (2017). Preparation and properties of carbohydrate-based composite films incorporated with CuO nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 169, 264-271.

Song, H. Y., Shin, Y. J., & Song, K. B. (2012). Preparation of a barley bran protein/gelatin composite film containing grapefruit seed extract and its application in salmon packaging. *Journal of Food Engineering*, 113, 541-547.

Sothornovit, R. (2009). Effect of hydroxypropyl methylcellulose and lipid on mechanical properties and water vapor permeability of coated paper. *Food Research International*, 42, 307-311.

Sun, S., Lui, P., Ji, N., Hou, H., & Dong, H. (2017). Effects of low polyhydroxyalkanoate content on the properties of films based on modified starch acquired by extrusion blowing. *Food Hydrocolloids*, 72, 81-89.

Tan, Y. M., Lim, S. H., Tay, B. Y., Lee, M. W., & Thian, E. S. (2015). Functional chitosan-based grapefruit seed extract composite films for applications in food packaging technology. *Materials Research Bulletin*, 69, 142-146.

Wang, S., & Jing, Y. (2017). Effects of formation and penetration properties of biodegradable montmorillonite/chitosan nanocomposite film on the barrier of package paper. *Applied Clay Science*, 138, 74-80.

Wang, L. F., & Rhim, J. W. (2016). Grapefruit seed extract incorporated antimicrobial LDPE and PLA films: Effect of type of polymer. *LWT-Food Science and Technology*, 74, 338-345.

Youssef, A. M., Kamel, S., & El-Samahy, M. A. (2013). Morphological and antibacterial properties of modified paper by PS nanocomposites for packaging applications. *Carbohydrate Polymers*, 98, 1166-1172.

Zhang, H., Hortal, M., Jordá-Beneyto, M., Rosa, E., Lara-Lledo, M., & Lorente, I. (2017). ZnO-PLA nanocomposite coated paper for antimicrobial packaging application. *LWT - Food Science and Technology*, 78, 250-257.

4. 멜라닌 나노 입자를 함유하는 카라기난 나노복합필름의 시제품 개발

V.D. Alves, R. Castelló, A.R. Ferreira, N. Costa, I.M. Fonseca, I.M. Coelho, *Procedia Food Sci.* 1 (2011) 240-245.

T.V. Duncan, *J. Colloid Interface Sci.* 363 (2011) 1-24.

A.B. Balaji, H. Pakalapati, M. Khalid, R. Walvekar, H. Siddiqui, In N. Gopal Shimpi (Ed.) *Biodegradable and Biocompatible Polymer Composites*, (2017) 3-32.

C. Brigham, In B. Török, & T. Dransfield (Eds.), *Green Chemistry*, (2018) 753-770.

P. Kanmani, J. W. Rhim. *Int J Biol Macromol.* 68 (2014) 258-266.

K.M. Zia, S. Tabasum, M. Nasif, M. Sultan, N. Aslam, A. Noreen, M. Zuber, *Int J Biol Macromol.* 96 (2017) 282-301.

S. Azizi, R. Mohamad, R. Abdul Rahim, R. Mohammadinejad, A. Bin Ariff, *Int. J. Biol. Macromol.* 104 (2017) 423–431.

S. Shankar, J.P. Reddy, J.-W. Rhim, H.-Y. Kim, *Carbohydr. Polym.* 117 (2015) 468–475.

G. Sharifzadeh, M.U. Wahit, M. Soheilmoghaddam, W.T. Whye, P. Pasbakhsh, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 67 (2016) 426–434.

F. Solano, *New Journal of Science*, 2014 (2014) 498276.

K. Shanmuganathan, J.H. Cho, P. Iyer, S. Baranowitz, C.J. Ellison, *Macromolecules*. 44 (2011) 9499–9507.

L. Hong, J.D. Simon, *J. Phys. Chem. B*. 111 (2007) 7938–7947.

P. Meredith, T. Sarna, *Pigment Cell Res.* 19 (2006) 572–594.

Ł. Łopusiewicz, F. Jędra, M. Mizieleńska, *Polymers*. 10 (2018) 386.

W. Dong, Y. Wang, C. Huang, S. Xiang, P. Ma, Z. Ni, M. Chen, *J. Therm. Anal. Calorim.* 115 (2014) 1661–1668.

Y. Wang, Z. Wang, P. Ma, H. Bai, W. Dong, Y. Xie, M. Chen, *RSC Adv.* 5 (2015) 72691–72698.

Y. Wang, T. Li, X. Wang, P. Ma, H. Bai, W. Dong, Y. Xie, M. Chen, *Biomacromolecules*. 17 (2016) 3782–3789.

Y. Wang, T. Li, P. Ma, H. Bai, Y. Xie, M. Chen, W. Dong, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 4 (2016) 2252–2258.

S. Roy, S. Shankar, J.W. Rhim, *Food Hydrocoll.* 88 (2019) 237–246.

A. Gennadios, C.L. Weller, C.H. Gooding, *J. Food Eng.* 21 (1994) 395–409.

S. Shankar, J.-W. Rhim, *Carbohydr. Polym.* 130 (2015) 353–363.

D. Arrua, M.C. Strumia, M.A. Nazareno, *J. Agric. Food Chem.* 58 (2010) 9228–9234.

M. Bishai, S. De, B. Adhikari, R. Banerjee, *Eur. Polym. J.* 54 (2014) 52–61.

R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, *Free Radic. Biol. Med.* 26 (1999) 1231–1237.

S. Roy, T.K. Das, G.P. Maiti, U. Basu, *Mater. Sci. Eng. B*. 203 (2016) 41–51.

M.L. Roldán, S.A. Centeno, A. Rizzo, *J. Raman Spectrosc.* 45 (2014) 1160–1171.

H. Hezaveh, I.I. Muhamad, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 44 (2013) 182–191.

L. Pereira, A.M. Amado, A.T. Critchley, F. van de Velde, P.J.A. Ribeiro-Claro, *Food Hydrocoll.* 23 (2009) 1903–1909.

J.W. Rhim, L.F. Wang, *Appl. Clay Sci.* 97–98 (2014) 174–181.

K. Shameli, M.B. Ahmad, W.M.Z.W. Yunus, N.A. Ibrahim, R.A. Rahman, M. Jokar, M. Darroudi, *Int. J. Nanomedicine*. 5 (2010) 573–579.

T. Ozdal, E. Capanoglu, F. Altay, *Food Res. Int.* 51 (2013) 954–970.

S. Shankar, X. Teng, G. Li, J.-W. Rhim, *Food Hydrocoll.* 45 (2015) 264–271.

A.M. Nafchi, M. Moradpour, M. Saeidi, A.K. Alias, *LWT – Food Sci. Technol.* 58 (2014) 142–149.

P. Kanmani, J.W. Rhim, *Food Chem.* 148 (2014) 162–169.

J.-F. Su, Z. Huang, X.-Y. Yuan, X.-Y. Wang, M. Li, *Carbohydr. Polym.* 79 (2010) 145–153.

- E.A. Vogler, *Adv. Colloid Interface Sci.* 74 (1998) 69–117.
- A.A. Oun, J.W. Rhim, *Food Hydrocoll.* 67 (2017) 45–53.
- C. Xu, J. Li, L. Yang, F. Shi, L. Yang, M. Ye, *Food Control* 73 (2017) 1445–1451.
- J.A. Mackintosh, *J. Theor. Biol.* 211 (2001) 101–113.
- Y.G. Tu, Y. Z. Sun, Y.G. Tian, M. Xie, J. Chen, *Food Chem.* 114 (2009) 1345–1350.
- N.E.A. El-Naggar, S.M. El-Ewasy, *Sci Rep.* 7 (2017) 42129.
- H. Yuan, W. Zhang, X. Li, X. Lu, N. Li, X. Gao, J. Song, *Carbohydr Res.* 340 (2005) 685–692.
- M. Moradi, H. Tajik, S.M. Razavi Rohani, A.R. Oromiehie, H. Malekinejad, J. Aliakbarlu, M. Hadian, *LWT - Food Sci. Technol.* 46 (2012) 477–484.
5. 구리 산화물 나노 입자의 멜라닌 - 매개 합성 및 기능성 한천 / CuO NP 나노 복합 필름의 제조
 J.-W. Rhim, H.-M. Park, C.-S. Ha, *Bio-nanocomposites for food packaging applications*, *Prog. Polym. Sci.* 38 (2013) 1629–1652.
- P. Gong, H. Li, X. He, K. Wang, J. Hu, W. Tan, S. Zhang, X. Yang, *Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@Ag nanoparticles*, *Nanotechnology.* 18 (2007) 285604.
- Y. Haldorai, J.-J. Shim, *Multifunctional chitosan-copper oxide hybrid material: photocatalytic and antibacterial activities*, *Int. J. Photoenergy.* 2013, (2013) 245646.
- P.S. Kumar, M. Selvakumar, S.G. Babu, S.K. Jaganathan, S. Karuthapandian, S. Chattopadhyay, *Novel CuO/chitosan nanocomposite thin film: facile hand-picking recoverable, efficient and reusable heterogeneous photocatalyst*, *RSC Adv.* 5 (2015) 57493–57501.
- A.M.E. Sayed, S. El-Gamal, W.M. Morsi, G. Mohammed, *Effect of PVA and copper oxide nanoparticles on the structural, optical, and electrical properties of carboxymethyl cellulose films*, *J. Mater. Sci.* 50 (2015) 4717–4728.
- M. Safaei, M. Taran, *Optimized synthesis, characterization, and antibacterial activity of an alginate-cupric oxide bionanocomposite*, *J. Appl. Polym. Sci.* 135 (2018) 45682.
- M.E. Grigore, E.R. Biscu, A.M. Holban, M.C. Gestal, A.M. Grumezescu, *Methods of synthesis, properties and biomedical applications of CuO nanoparticles*, *Pharmaceuticals.* 9 (2016) 75.
- S. Roy, T.K. Das, G.P. Maiti, U. Basu, *Microbial biosynthesis of nontoxic gold nanoparticles*, *Mater. Sci. Eng. B.* 203 (2016) 41–51.
- S. Shankar, L.-F. Wang, J.-W. Rhim, *Preparation and properties of carbohydrate-based composite films incorporated with CuO nanoparticles*, *Carbohydr. Polym.* 169 (2017) 264–271.
- M. Apte, G. Girme, R. Nair, A. Bankar, A. Ravi Kumar, S. Zinjarde, *Melanin mediated synthesis of gold nanoparticles by Yarrowia lipolytica*, *Mater. Lett.* 95 (2013) 149–152.
- K. Shanmuganathan, J.H. Cho, P. Iyer, S. Baranowitz, C.J. Ellison, *Thermooxidative stabilization of polymers using natural and synthetic melanins*, *Macromolecules.* 44 (2011) 9499–9507.

Y. Liu, J.D. Simon, Isolation and biophysical studies of natural eumelanins: Applications of imaging technologies and ultrafast spectroscopy, *Pigment Cell Res.* 16 (2003) 606–618.

V.D. Alves, R. Castelló, A.R. Ferreira, N. Costa, I.M. Fonseca, I.M. Coelho, Barrier properties of carrageenan/pectin biodegradable composite films, *Procedia Food Sci.* 1 (2011) 240–245.

P. Kanmani, J.-W. Rhim, Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles, *Carbohydr. Polym.* 106 (2014) 190–199.

M. Atef, M. Rezaei, R. Behrooz, Preparation and characterization agar-based nanocomposite film reinforced by nanocrystalline cellulose, *Int. J. Biol. Macromol.* 70 (2014) 537–544.

Y. Shchipunov, Bionanocomposites: Green sustainable materials for the near future, *Pure Appl. Chem.* 84 (2012) 2579–2607.

S. Shankar, J. W. Rhim, Amino acid mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial agar/silver nanoparticles composite films. *Carbohydr. Polym.* 130 (2015) 353–363.

S.M. Liff, N. Kumar, G.H. McKinley, High-performance elastomeric nanocomposites via solvent-exchange processing, *Nat. Mater.* 6 (2007) 76–83.

Y. Wang, T. Li, X. Wang, P. Ma, H. Bai, W. Dong, Y. Xie, M. Chen, *Biomacromolecules.* 17 (2016) 3782–3789.

A. Gennadios, C.L. Weller, C.H. Gooding, Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films, *J. Food Eng.* 21 (1994) 395–409.

A.A. Oun, J.-W. Rhim, Carrageenan-based hydrogels and films: Effect of ZnO and CuO nanoparticles on the physical, mechanical, and antimicrobial properties, *Food Hydrocoll.* 67 (2017) 45–53.

N. R. Dhineshbabu, V. Rajendran, N. Nithyavathy R. Vetumperumal, Study of structural and optical properties of cupric oxide nanoparticles, *Appl Nanosci.* 6 (2016) 933–939.

M.S. Jadhav, S. Kulkarni, P. Raikar, D.A. Barretto, S.K. Vootla, U.S. Raikar, Green biosynthesis of CuO & Ag-CuO nanoparticles from *Malus domestica* leaf extract and evaluation of antibacterial, antioxidant and DNA cleavage activities, *New J. Chem.* 42 (2017) 204–213.

S. Roy, S. Mishra, P. Yogi, S.K. Saxena, P.R. Sagdeo, R. Kumar, Synthesis of conducting polypyrrole-titanium oxide nanocomposite: Study of structural, optical and electrical properties, *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* 27 (2017) 257–263.

J. Tauc, R. Grigorovici, A. Vancu, Optical properties and electronic structure of amorphous germanium, *Phys. Status Solidi B.* 15 (1966) 627–637.

S. Saif, A. Tahir, T Asim, Y. Chen, Plant mediated green synthesis of CuO nanoparticles: Comparison of toxicity of engineered and plant mediated CuO nanoparticles towards *Daphnia magna*, *Nanomaterials.* 6 (2016) 205.

Y. Wang, T. Li, P. Ma, H. Bai, Y. Xie, M. Chen, W. Dong, Simultaneous enhancements of UV-shielding properties and photostability of poly(vinyl alcohol) via incorporation of sepia

eumelanin, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 4 (2016) 2252–2258.

M.L. Roldán, S.A. Centeno, A. Rizzo, An improved methodology for the characterization and identification of sepia in works of art by normal Raman and SERS, complemented by FTIR, Py-GC/MS, and XRF, *J. Raman Spectrosc.* 45 (2014) 1160–1171.

S. Shankar, X. Teng, J.-W. Rhim, Properties and characterization of agar/CuNP bionanocomposite films prepared with different copper salts and reducing agents, *Carbohydr. Polym.* 114 (2014) 484–492.

J.-W. Rhim, L.-F. Wang, Y. Lee, S.-I. Hong, Preparation and characterization of bio-nanocomposite films of agar and silver nanoparticles: Laser ablation method, *Carbohydr. Polym.* 103 (2014) 456–465.

S. Ghosh, R. Kaushik, K. Nagalakshmi, S.L. Hoti, G.A. Menezes, B.N. Harish, H.N. Vasan, Antimicrobial activity of highly stable silver nanoparticles embedded in agar-agar matrix as a thin film, *Carbohydr. Res.* 345 (2010) 2220–2227.

S. Shankar, J.-W. Rhim, Amino acid-mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial agar/silver nanoparticles composite films, *Carbohydr. Polym.* 130 (2015) 353–363.

S. Anitha, B. Brabu, D.J. Thiruvadigal, C. Gopalakrishnan, T.S. Natarajan, Optical, bactericidal and water repellent properties of electrospun nano-composite membranes of cellulose acetate and ZnO, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 1065–1072.

S. Roy, S. Shankar, J.-W. Rhim, Melanin-mediated synthesis of silver nanoparticle and its use for the preparation of carrageenan-based antibacterial films, *Food Hydrocoll.* 88 (2019) 237–246.

S. Shankar, X. Teng, G. Li, J.-W. Rhim, Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films, *Food Hydrocoll.* 45 (2015) 264–271.

H. Chambi, C. Grosso, Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with 6transglutaminase, *Food Res. Int.* 39 (2006) 458–466.

J.-F. Su, Z. Huang, X.-Y. Yuan, X.-Y. Wang, M. Li, Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions, *Carbohydr. Polym.* 79 (2010) 145–153.

E.A. Vogler, Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces, *Adv. Coll. Interf. Sci.* 74 (1998) 69–117.

S. Pal, Y.K. Tak, J.M. Song, Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-Negative bacterium *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol.* 73 (2007) 1712–1720.

Z.M. Sui, X. Chen, L.Y. Wang, L.M. Xu, W.C. Zhuang, Y.C. Chai, C.J. Yang, Capping effect of CTAB on positively charged Ag nanoparticles, *Phys. E Low-Dimens. Syst. Nanostructures.* 33 (2006) 308–314.

A.K. Chatterjee, R. Chakraborty, T. Basu, Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles, *Nanotechnology.* 25 (2014) 135101.