

최 종
연구보고서

GA0371-0238

봉교 복합체를 이용한 항균/항산화
방출조절(controlled release) 기능성 식품포장
고분자 개발

Development of Edible Propolis Complex Polymers
Having Controlled Release Function of Antimicrobial and
Antioxidative Activity for Food Packaging

연구 기관
한국식품개발연구원

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “봉교 복합체를 이용한 항균/항산화 방출조절(controlled release) 기능성 식품포장 고분자 개발”에 관한 연구 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2003년 8월 11일

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원

총괄연구책임자 : 김 종 태

연 구 원 : 김 철 진

연 구 원 : 조 용 진

연 구 원 : 안 병 학

연 구 원 : 양 승 용

연 구 원 : 신 원 선

연 구 원 : 이 수 정

연 구 원 : 전 보 연

연 구 원 : 최 애 진

연 구 원 : 지 호 균

연 구 원 : 김 진 동

요 약 문

I. 제 목

붕교 복합체를 이용한 항균/항산화 방출조절(controlled release) 기능성 식품포장 고분자 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 붕교/고분자 복합물을 이용한 항균/항산화 방출조절 고분자 조성물 제조기술 확립
- 방출조절 edible film의 제품의 제조 및 식품포장재료의 항균/항산화 적용 실험
- 방출조절 edible film 제품의 다양화 및 상업적 생산공정 개발

III. 연구개발 내용 및 범위

- 1차년도 : 붕교원료의 추출과 특성분석 및 고분자 조성물 개발
 - 용매별 붕교 추출 분획물 제조
 - 붕교복합 고분자 조성물 (붕교/셀룰로오스, 붕교/단백질, 붕교/전분) 제조
 - 붕교 및 붕교복합 고분자의 항균/항산화 특성분석
 - 붕교 복합고분자의 수분투과도 및 열전이 특성
- 2차년도 : 붕교복합 edible film의 특성분석 및 식품적용
 - Incorporation에 의한 edible film의 제조
 - 붕교복합 edible film의 재원에 따른 특성
 - 붕교복합 edible film의 식품적용 실험
 - 붕교복합 edible film의 방출특성 분석
- 3차년도 : 붕교복합 edible film의 제품 응용실험과 품질관리 기술 개발
 - 반고체 및 액상식품용 edible film의 용도개발

- Edible film의 유통과정중 품질유지 효과실험
- Edible film의 용도별 규격화 및 상업화
- Edible film 생산의 경제성 평가

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

- 고체 프로폴리스중 70%(v/v) 수용성 에틸알코올에 용해하는 총 플라보노이드의 함량은 2%에서 14%로 증가하면서 추출물중의 총플라보노이드 함량은 비례적으로 증가하였다.
- 수용성 에틸알코올의 농도에 따른 프로폴리스 추출액의 항균활성은 70% 농도가 가장 높았다. 또한, 수용성 에틸알코올 40% 농도 이상의 농도에서 추출한 프로폴리스 추출액의 균의 종류에 따른 항균력은 *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*의 순으로 높은 경향을 보였다.
- 프로폴리스의 수용성 에틸알코올에 대한 첨가농도가 2~14%로 증가할수록 *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*의 모든 균에 대한 항균활성이 증가하였다.
- 프로폴리스 추출물의 항산화력은 대조구 대두유가 5주 저장후 과산화물가가 61.5 meq/kg을 갖는 유도기간을 갖는 반면에 프로폴리스 추출물을 첨가한 경우 대조구와 비슷한 과산화물가를 나타내는 유도기간에 도달하는 기간은 15주를 보여 프로폴리스 추출물의 산화방지 효과는 대조구에 비하여 2~3배 이상 큰 것을 나타내었다.
- 봉교/셀룰로오스 edible film의 수분투과도와 permeability는 상대습도 83%, 75%, 33%, 53%의 순으로 높게 나타났으며, 모든 edible film의 제품이 저장일 2일 이후로는 일정한 값을 유지하였다.

- 봉교/셀룰로오스 edible film의 DMA 분석결과 storage modulus 는 45℃까지 급격히 감소하다가 그 이후에는 약간씩 감소하는 경향을 나타내었으며, 대조구 봉교/셀룰로오스 edible film 보다 약간 높은 modulus 값을 보였다. 또한, 상대습도와 저장기간에 따른 edible film간의 modulus 값의 변화가 구별되었으나 봉교/셀룰로오스 edible film과 대조구 edible film의 강도 및 인장력은 큰 차이를 보이지 않았다.
- 대조구 edible film과 봉교/셀룰로오스 edible film의 두께(0.063~0.163 mm)에 따른 수분투과도는 edible film의 두께가 증가함에 따라서 감소하는 결과를 보였으며, 전분 edible film과 봉교/전분 edible film 모두 봉교/셀룰로오스 edible film보다 대단히 큰 수분투과도를 나타내었다.
- 봉교/셀룰로오스 edible film을 생면의 포장재로 활용하는 적용실험을 실시한 결과 대조구 edible film에 비해 봉교/셀룰로오스 edible film은 저장 중 총세균수와 대장균수의 증식을 저해하는 결과를 보였다. 즉, 총세균수는 대조구 edible film의 경우 10℃에서 저장 4주후에 1.1×10^6 CFU/g 로 기준치를 초과한 반면, 봉교/셀룰로오스 edible film 처리구는 10℃에서 저장 4주까지도 7.7×10^4 CFU/g의 값을 나타내었다.
- 저장기간과 상대습도의 조건을 달리하여 봉교/셀룰로오스 edible film에 함유되어 있는 flavonoid 성분중 주요 지표성분인 caffeic acid, 1-coumaric acid 및 quercetin을 25℃에서 상대습도 33, 58, 75 및 83%의 각기 다른 조건에서 저장하면서 방출속도 측정하였다. caffeic acid, 1-coumaric acid는 저장기간 6일 까지는 급속하게 방출되는 특성을 보였으나, quercetin은 비교적 완만한 방출을 보여 주었다. 그리고 6주까지는 상대습도가 높음에 따라서 각 flavonoid 성분의 방출속도가 빠른 현상을 보였다.

- caffeic acid, l-coumaric acid 및 quercetin의 방출속도상수는 전반적으로 상대습도가 높은 조건이 낮은 조건보다 큰 값을 보여주고 있으며, 반감기는 caffeic acid, l-coumaric acid, quercetin의 순서대로 각각 17~18일, 24~29일 및 40~734일로 짧은 결과를 보였다.
- 봉교/젤라틴 edible film에서 0.035, 0.07 및 0.105%로 봉교의 첨가량을 달리한 후 저장중 총 플라보노이드의 잔존율을 살펴 본 결과 저장온도 0℃와 10℃에서는 5~10, 40~60 및 60~70% 정도를 보였으나, 25℃인 경우는 0℃와 10℃ 보다는 방출속도가 약간 증가되었다. 이러한 결과는 저장온도가 높아짐에 따라서 edible film에서의 플라보노이드 물질의 이동 및 확산속도가 증가한 결과로 설명된다.
- 봉교/젤라틴 edible film을 껌제품의 포장재로 활용할 경우 5주 경과 시점까지의 총플라보노이드의 잔존율은 57~62% 정도를 보임과 동시에 수분손실 방지 및 겔강도 유지등과 같은 품질 안정성을 제공하는 잇점이 있어 껌제품의 유통기간중 품질유지를 위한 기능성 edible film 포장재로로의 활용가능성이 있을 것으로 예측된다.
- 봉교/젤라틴 edible film을 DHA 포장용 연질캡슐의 적용실험 결과 대조구의 경우 20일이 경과하면서 과산화물가가 50 meq/kg으로 급속하게 증가되기 시작하면서 저장기간 90일 까지 지속적으로 증가되는 경향을 나타내었으나 봉교의 첨가량이 0.28, 0.56 및 0.84%인 edible film의 경우 첨가량에 비례하여 과산화물가가 감소되어 90일 저장후 전반적으로 30~70 meq/kg의 범위를 보였다.

SUMMARY

I. Title

Development of Edible Propolis Complex Polymers Having Controlled Release Function of Antimicrobial and Antioxidative Activity for Food Packaging

II. Objective and Significance of Research

- o Establishment of processing technology of edible propolis complex polymers having controlled release of antimicrobial and antioxidative activity
- o Preparation of functional edible films incorporated with propolis complex and its application as a food packaging material for controlled release function of antioxidative activity
- o Utilization of the edible film having controlled release function and development of processing technology for commercial production

III. Scope

- o Phase I: Extraction and characterization of propolis, and development of edible polymer composites
 - Preparation of propolis extracts with different solvents
 - Preparation of edible propolis complex polymer composites with cellulose, protein or starch
 - Characterization of antimicrobial and antioxidant activity for propolis and its polymer composites with cellulose, protein or starch

- Characterization of water vapor transmission rate and thermal transfer for the propolis polymer composites
- o Phase II: Characterization and application of edible films from propolis and other biopolymers
 - Preparation of edible films from propolis and other biopolymers (cellulose, protein, and starch) by using incorporation technique
 - Characterization of edible films depending on the dimension
 - Application of edible films in food package
 - Characterization of controlled release of the edible films for flavonoids
- o Phase III : Development of application technology and quality control technology of the developed edible films
 - Application of the edible films for semi-solid and liquid food
 - Establishment of effectiveness of edible films in model system of food distribution
 - Standardization of the edible films and commercialization of production process for the edible films

IV. Results and Recommendation

- o Total flavonoid content of propolis extracts increased proportionally as propolis content in the 70%(v/v) water saturated ethyl alcohol increased from 2 to 14%.
- o The antimicrobial activity of propolis extracts was different depending on ethyl alcohol concentration and the highest when 70%(v/v) water saturated ethyl alcohol was used. The antimicrobial activity of propolis extracts using over 40%(v/v) water saturated ethyl alcohol was the higher in order for

Saccharomyces cerevisiae, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*.

- o The antimicrobial activity for *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* increased as the content of propolis in the water saturated ethyl alcohol increased from 2 to 14%.
- o The peroxide value of soybean oil, used as control, was 61.5 meq/kg, the value for induction period, after 5 weeks storage; however, the addition of propolis extract increased the induction period to 15 weeks. This result may indicate that propolis extract increases the effect of antioxidative activity to 2~3 times.
- o The effect of relative humidity on the water transmission rate and permeability of the edible film from propolis-cellulose polymers was as follows: 83% > 75% > 33% > 53%. The water transmission rate and permeability of all edible films studied were maintained constantly after 2 days storage.
- o The storage modulus of the edible film from propolis-cellulose polymers decreased fast until 45°C and then, decreased slowly in DMA test. Its modulus was a little higher than that of cellulose edible film as a control. The change of modulus depending on relative humidity and storage period was different among edible films tested; however, the hardness and extension of propolis-cellulose edible film were not different from those of the control.
- o The water transmission rate and permeability of cellulose and propolis-cellulose edible films decreased as their thickness

increased from 0.06 to 0.163 mm. The water transmission rate of starch and propolis-starch edible films was much higher than that of propolis-cellulose edible film.

- o In the application test of propolis-cellulose edible film for fresh noodle package, the addition of propolis inhibited the growth of microbial and *E. coli* during storage. When cellulose edible film as a control was used for the fresh noodle package, total microbial was 1.1×10^6 CFU/g, which is over safety standard, after 4 weeks storage at 10°C, while it was 7.7×10^4 CFU/g when propolis-cellulose edible film was used.
- o The release rates of caffeic acid, 1-coumaric acid, and quercetin, which are major components of flavonoid, were measured at 25°C and different relative humidities (33, 58, 75, and 83%) for different storage periods. Caffeic acid and 1-coumaric acid were released fast until 6 days storage, while quercetin was released slowly. And the release rate of each flavonoid component increased until 6 weeks storage with the increase of relative humidity.
- o The release rate constant of caffeic acid, 1-coumaric acid, and quercetin was the higher at the higher relative humidity. The half period of caffeic acid, 1-coumaric acid, and quercetin were 17~18, 24~29, and 40~734 days, respectively.
- o Total flavonoid retention of propolis-gelatine edible films with 0.035, 0.07, and 0.105% propolis addition was 5~10, 40~60, and 60~70% at storage temperatures of 0 and 10°C, respectively. The release rate of flavonoid was a little higher at 25°C than at 0 and 10°C. These results explained that transfer and diffusion

rates of flavonoid of edible films increase with the increase of storage temperature.

- o When propolis-gelatin edible film was used as packaging material for gel products, total flavonoid retention was 57~62% until 5 weeks, and product quality was stable by prevention of moisture loss and maintenance of gel hardness. Propolis-gelatin edible film appears to be applicable as a good packaging material for gel products to maintain product quality during distribution period.
- o In the application test of propolis-gelatin edible film for DHA packaging soft capsule, the peroxide value of DHA increased suddenly to 50 meq/kg after 20 days storage and then, increased continuously until 90 days storage when gelatin edible film as a control was used. However, the peroxide value decreased as the addition of propolis increased from 0.28 to 0.84% and was generally 30~70 meq/kg after 90 days storage when propolis-gelatin was used.

CONTENTS

SUMMARY	3
Chapter 1. Introduction	19
Chapter 2. Material and method	23
Section 1. Material	23
Section 2. Method	23
1. Mineral content in propolis	23
2. Analysis of volatile compounds in propolis	23
3. Identification of volatile compounds in propolis	24
4. Preparation of propolis extract	25
5. Total flavonoids in propolis extract	25
6. Antimicrobial activity of propolis extract	25
7. Antioxidative activity of propolis extract	26
8. Preparation of edible films	26
9. Water vapor transmission rate and permeability of edible polymer	27
10. Dynamic mechanical analysis of edible film	27
11. Controlled release rate of flavonoids	27
12. Antimicrobial activity of edible films during storage of fresh noodles	27
13. Edible films for packaging Yackwa	28
14. Application of edible films for semi-solid and liquid foods	29
15. Preparation and application of soft edible films	29

Chapter 3. Result and discussion	31
Section 1. Extraction and characterization of propolis, and development of edible polymer composites	31
1. Approximate analysis and mineral content of propolis	31
2. Volatile compounds in propolis.	32
3. Total flavonoids in propolis extract depending on the extraction condition	35
4. Antimicrobial activity of propolis extract	36
5. Antioxidative activity of propolis extract	38
6. Water vapor transmission rate and DMA of edible polymer composites	40
Section 2. Characterization and application of edible film from propolis and other biopolymers	51
1. Preparation of edible film from propolis and other biopolymers by incorporation technique	51
2. Characterization of edible film depending on the dimension	52
3. Application of edible films in food package	60
4. Characterization of controlled release for flavonoids from edible film	71
Section 3. Development of application technology and quality control technology of edible films	75
1. Application of edible films for semi-solid and liquid foods	75
2. Establishment of effectiveness of edible films in model system of food distribution	80

3. Standardization of edible films and commercialization of production process for edible films	88
4. Economic analysis for edible film production	97
Reference	101

목 차

요약문	3
제 1 장 서론	19
제 2 장 재료 및 방법	23
제 1 절 시료	23
제 2 절 실험방법	23
1. 봉교의 무기질 함량	23
2. 봉교의 향기성분 분석	23
3. 봉교 향기성분의 동정	24
4. 프로폴리스 추출물의 제조	25
5. 프로폴리스 추출물중 총플라보노이드 함량	25
6. 프로폴리스 추출물의 항균 특성	25
7. 프로폴리스 추출물의 항산화 특성	26
8. Edible film의 제조	26
9. Edible film의 수분투과도(water vapor transmission rate, WVTR)와 permeability	27
10. Edible film의 DMA(Dynamic mechanical analysis) 특성	27
11. 봉교의 Flavonoids의 방출속도	27
12. 봉교 edible film의 생면저장중 항균특성	27
13. 약과저장용 봉교/전분 edible film	28
14. 반고체 식품용 봉교/단백질 edible film 제조 및 응용실험	29
15. 봉교/단백질 soft edible film 제조 및 응용실험	29

제 3장 결과 및 고찰	31
제 1 절 봉교원료의 추출과 특성분석 및 고분자 조성물 개발	31
1. 프로폴리스의 일반성분 및 무기질 함량	31
2. 프로폴리스의 향기성분	32
3. 추출조건에 따른 총플라보노이드 함량	35
4. 프로폴리스의 항균 특성	36
5. 프로폴리스의 항산화 특성	38
6. 봉교 복합고분자의 수분투과도 및 열전이 특성	40
제 2 절 봉교복합 edible film의 제조 및 특성분석	51
1. Incorporation에 의한 edible film의 제조	52
2. 봉교복합 edible film의 수분투과도 및 열전이 특성	52
3. 봉교복합 edible film의 식품적용 실험	60
4. 봉교복합 edible film의 방출특성 분석	71
제 3 절 봉교복합 edible film의 제품 응용실험과 품질관리	
기술 개발	75
1. 반고체 및 액상식품용 edible film의 용도개발	80
2. Edible film의 유통모델에서의 품질유지 효과실험	80
3. 봉교복합 edible film의 용도별 규격화 및 상업화	88
4. Edible film 생산의 경제성 분석	97
참고문헌	101

제 1 장 서 론

프로폴리스(propolis)는 벌이 나무, 꽃, 잎, 잎눈 등으로부터 수집하는 beewax와 수지(resin) 물질을 타액과 혼합시켜 만든 물질로서, 항균, 항박테리아, 항바이러스, 항산화, 면역기능 등과 같은 생리활성적 효과를 제공하는 것으로 알려져 있어⁽¹⁻⁵⁾, 최근 식품 및 의약분야에서 새로운 소재로 활용하기 위한 연구가 시도되고 있는 단계이다. 프로폴리스는 보통 60~70℃ 범위에서 액체상태가 되며, 100℃ 이상에서는 용융되는 성질을 갖는다. 프로폴리스는 수지와 왁스물질로 이루어져 있기 때문에 효과적으로 사용하기 위하여 적정 용매로 추출하여 사용하게 되는데, 가장 많이 이용되는 용매는 에탄올, 에테르, 글리콜 및 물 등이나, 대부분의 항박테리아 성분은 주로 물과 알콜에 잘 용해한다. 프로폴리스를 구성하고 있는 성분은 150~180여 개의 휘발성 물질과 폐놀계 화합물인데 주로 flavones, flavanones, flavonols과 같은 화합물이다^(6,7). Shigemi 등⁽⁸⁾은 프로폴리스로부터 7개의 p-coumaric acid 유도체, 4개의 flavonoids, 1개의 prenylated phenolic acid, 4개의 diterpenoic acid, 1개의 lignan, 2개의 p-coumaric acid ester, 5개의 cinnamic acid 유도체 등을 분리 확인하였다. 또 Tomoki 등⁽⁹⁾은 프로폴리스의 수용성 성분으로부터 macrophage의 확장과 운동성을 높여 주는 caffeoylquinic acid 유도체를 분리 확인하였고, Katsuhiko 등⁽¹⁰⁾은 강력한 항산화 작용을 갖는 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid를 분리한 결과를 보고하고 있다. 프로폴리스의 이용중 화장품 분야에는 프로폴리스의 박테리아 및 곰팡이균 저해효과를 이용한 피부치료 및 화장품 형태가 가장 많고⁽¹¹⁾, 의약분야에는 심장, 혈관 및 내외과 질환의 광범위한 치료와 예방용 소재⁽¹²⁾로 이용되고 있다. 한편, 식품분야에는 보존성 증진을 위한 식품포장 재료로의 이용^(13, 14), 냉동생선의 저장수명 연장⁽¹⁵⁾, 양계산업에서 달걀생산량 및 체중 증가⁽¹⁶⁾등의 효과를 위한 첨가제로 활용하였으며, 김 등⁽¹⁷⁾은 식빵 제조시 프로폴리스를 천연보존제로서 활용할 수 있는 응용연구를 통하여 프로폴리스의 첨가가 식빵의 저장수명 연장과 품질유지에 크게 영향을 미치는 연구결과를 보고하였다. 프로폴리스의 활성은 추출방법에 따라서 크게 다른 특성을 보이는데, 쿠바산 프로폴리스의 항균활성에 대한 연구에서 용매에 대한 침지시간, 온도, 농도, 교반형태 등에

따라 다른 보고⁽¹⁸⁾를 하고 있으며, Debuysse⁽¹⁹⁾는 70% 알코올을 사용한 추출물이 대체의약의 일환으로 병원균 치료에 가장 좋은 활성을 보인다고 하였다. 이같은 보고들은 프로폴리스가 제공하는 활성도는 산지와 수중에 따라서 특성이 크게 차이가 나며, 적용분야가 다를 경우 추출조건이 추출물의 활성을 크게 좌우한다고 말한다. 그러므로 추출농도와 사용전 특성을 구명하는 것은 중요한 사항중의 하나이다. 또한, 국내에서 사용되고 있는 프로폴리스 추출물의 경우 대부분이 에틸알코올로 추출된 제품이 유통되고 있으나, 추출에 사용 용매와 최종 추출액의 농도가 정확하게 제시되거나 품질관리가 제대로 이루어지고 있지 않은 실정이다. 이에 김 등⁽²⁰⁾은 프로폴리스 추출물을 에틸알코올 용매의 농도와 프로폴리스 농도에 따른 추출에서 폴리스 추출물중 총플라보노이드 함량은 알코올 용액의 농도 20~50%까지는 증가하였으나, 60과 70%에서는 약간씩 감소하였으며, 70% 에틸알코올로 추출한 프로폴리스 추출액은 *E. coli*, *L. plantarum*, *S. cerevisiae*의 모든 균에 대하여 높은 항균활성을 보이는 물론 프로폴리스의 농도가 2~14%인 추출물을 대두유에 첨가하였을 때 37℃에서 저장기간 동안 산화방지 효과가 높게 나타났음을 보고하였다.

방출조절(controlled release) 고분자는 특정기능을 갖는 성분을 고분자와 융화시켜 시간이 경과함에 따라서 고분자 조성에 용화되었던 성분이 서서히 고분자층을 통과하여 다른 쪽으로 전달되도록 하는 기술로서, 의약분야에서 치료 효과를 높이기 위하여 투약범위 내에서의 약을 일정한 농도와 수준으로 인체에 공급하기 위한 제약기술로 널리 사용되고 있다. 한편, 식품산업의 발달과 더불어 새로운 가공식품의 출시는 매년 급증하고 있는데, 이와 동반적으로 식품업계의 해결과제로 대두되고 있는 것이 상품의 유통과정중 식품구성 성분의 변화와 미생물 번식에 의한 품질저하로 인하여 경제적인 손실이 매우 크다는 것이다. 현재 상업적으로 사용되고 있는 항균기능 식품포장재는 Ag-substitute zeolite를 플라스틱에 용화시킨 제품인데, 이 물질은 폭 넓은 항균 스펙트럼을 갖는 장점이 있으나, 비싸기 때문에 사용량을 적게 사용함으로써 낮은 항균효과가 제공되는 단점이 있다. 또한, sorbate, propionate, benzoate 등과 같은 화학약품이 사용되고 있으나, 최근 소비자들의 천연원료에 대한 선호도가 급증하면서 사용량이 점차 줄고 있으며, 미생물로부터 배양한 몇몇 항균제가 있으나, 수율이 낮고 가격이 비싸 경제성이 없는 것으로 판

단되고 있다. 그리고 많은 천연 혹은 합성 항균 및 항산화제가 발굴은 되었으나, 상업적으로 활용되지 못하고 있는 원인 중에 하나는 항균/항산화 물질의 식품포장재와의 적합성과 가공시 열안정성 등이 떨어지기 때문인 것으로 알려져 있다. 봉교는 양봉 부산물로서 수종과 지역에 따라서 구성성분이 약간씩 다르나, 기능특성을 제공하는 것은 에틸 알코올을 용매로 하여 추출할 때 얻어지는 분획물인 플라보노이드 화합물인 것으로 알려져 있으며, 옛부터 의약 및 치료제의 원료로 가장 많이 사용되어 오고 있다. 또한, 최근에는 기능성 식품소재로 활용하기 위한 연구에서 식빵에 첨가할 경우 곰팡이균에 대한 항균력이 발휘되어 저장성이 향상되고, 지질의 산화를 억제하는 산화방지 효과에 대한 결과가 보고되었다. 더구나, 제빵의 경우 반죽시 첨가하여 높은 온도에서 빵을 굽는 열처리 공정을 거친 후에도 항균력을 유지하는 사실은 봉교의 열안정성이 입증된 결과로서 가열처리가 수반되는 항균성 방출조절 고분자의 원료로 적합하다고 판단된다. Table 1은 봉교의 활성성분인 flavonoids를 이루는 구성성분을 나타낸 것이다. 봉교의 항균작용은 봉교가 구성하고 있는 복합성분 즉, flavonoids, kaempferide, galangin, pinocembrin, pinobanksin, pinobankinsin-3-acetate, pinosylvin, perulic acid, cinnamylidene acetic acid, p-coumaric acid benzyl ester, caffeic acid 등과 같은 성분들에 의한 것이고, 항산화 작용은 주로 flavonoids에 의한 것으로 알려져 있다.

Table 1. Flavonoids in propolis

Flavonoids			
Flavones	Flavonols	Flavonones	Flavononols
	-Galangin		
	-Galangin-3-methyl ethyl		
	-Isalpinin		
-Acacetin	-Kaempferide		
-Chrysin	-Kaempferoll	-Pinostrubin	-Pinobanksin
-Tectochrysin	-Quercetin	-Sakuranetin	
-Apigenin	-Quercetin-3,3-dimethylethyl		
-Pectolinarigenin	-Rhamnocitrin		
	-Rhamnetin		
	-Isorhamnetin		

한편, 저밀도 polyethylene 필름에 봉교 추출액을 incorporation시킨 포장용지의 경우 *L. plantarum*, *E. coli*, *S. cerevisiae*, *F. oxysporum* 등의 균에 대하여 항균성이 있는 것으로 나타나 항균기능 포장재의 활성원료로서 활용할 수 있는 가능성이 국내 연구진에 의하여 보고되었다. 현재까지 알려진 바에 의하면 국내에서 항균 또는 항산화 등과 같은 기능성을 제공하는 천연 물질을 사용하여 방출조절 고분자를 생산하는 연구는 물론 제품이 소개되어 있지 않기 때문에 국내산의 탐색된 천연물질을 사용한 방출조절 고분자의 개발연구는 국내산 천연물질의 부가가치화와 응용기술 개발이라는 측면에서 큰 의미가 있다고 본다.

봉교(propolis)는 양봉 부산물로서 특유의 생리 및 약리 특성 때문에 건강보조식품과 의약품의 원료로 사용되고 있으나, 다양한 수입산 제품이 국내시장에 소개되면서, 국내산 관련제품의 경쟁력과 시장성은 큰 기대에 미치지 못하고 있다. 따라서 시장규모가 2002년 현재 400억원인 봉교 관련 가공식품 시장을 경쟁력과 시장성이 미약한 건강보조 식품 및 의약품으로의 이용보다는 원료 이용을 증대와 시장규모가 큰 식품포장산업에 적용하여 방출조절 고분자 제품을 개발함으로써 산업적인 파급효과를 증폭시켜 경제가치를 높일 수 있을 것으로 기대된다. 봉교를 이용한 항균/항산화 방출조절 고분자의 개발이 시도된다면 양봉 부산물의 용도개발로 인한 소비확대와 부가가치 있는 식품산업용 소재의 개발로 양봉농가의 수익증대를 꾀할 수 있을 것이다.

기능성 식품포장 고분자 분야에 있어서 국내의 경우 천연물질을 이용한 방출조절 고분자의 연구개발은 아직 초보적인 단계이며, 포장재 관련업계에서 키토산을 이용한 미곡 저장용 항균포대를 개발하여 특허를 신청중에 있고 본격적인 상품생산 단계까지는 아직 도달하지 못하고 있는 실정이다. 또한, 일부 업체에서는 세라믹 재질을 이용한 항균성 포장소재를 개발하였으나, 핵심기술은 외국기술에 의존한 수준이며, 생산되는 제품의 단가도 높아 경제성이 없는 것으로 보고되고 있다. 현재 국내에는 일본과 미국 등에서 개발된 기능성 식품 포장재인 히녹티올, 아릴이소티오시아네이트, 은치환 제올라이트 등과 같은 것이 수입되어 판매되고 있으나, 가격이 비싸 광범위하게 사용할 수 없는 실정이다. 국내산 천연 식물 또는 추출물을 식품의 항균성 포장재로 사용할 수 있는 식품보존 향상제 원료로는 프로폴리스, 감귤, 뽕나무, 계피, 생강, 마늘, 감초 등이 있다.

제 2 장 재료 및 방법

제 1 절 재료

프로폴리스 원료는 (주)일진약품(서울, 한국)으로부터 경북 상주산 원료를 구입하여 이물질 제거 후 실험에 사용하였다.

제 2 절 실험방법

1. 봉교의 무기질 함량

프로폴리스에 함유된 무기질 함량의 분석은 건식회화법⁽²¹⁾을 이용하였다. 시료를 550℃에서 4시간 동안 회화시킨 후 0.2 N-HNO₃ 용액에 용해하여 100 ml로 정용한 다음 여과하여 ICP(Inductively coupled plasma, Jobin-Yvon Model JY 38 Plus, France)를 사용하여 분석하였으며, 분석조건은 power 1kW, nebulizer 압력 3.5 bar, aerosol 유속 0.3 l/min, 보조가스 유입속도 0.3 l/min 및 냉각가스 유입속도 12 l/min 이었다.

2. 봉교의 향기성분 분석

향기성분의 추출은 Purge and Trap Concentrator(Model LSC 2000, Tekmar, Cincinnati, Ohio, U.S.A.)를 이용한 dynamic headspace 농축법을 사용하였다. 고체 프로폴리스 30g을 마쇄하여 200 ml 시료병(Schott Glas, Mainz, Germany)에 담고 시료병은 water bath를 이용하여 70℃로 가열하며 유도관을 통하여 질소를 분당 50ml씩 공급하여 headspace에 휘산된 휘발성 향기성분을 30분간 purge하였다. 향기성분은 Tennax GC가 충전된 1/4" x 300mm의 stainless steel 관을 사용하여 포획하였으며 purge가 끝난 다음 1분간 dry purge를 실시하였다. GC의 분석조건이 준비되면 trap을 180℃로 가열하여 향기성분을 탈착하고 유도관을 통해 GC injector로 이송하여 분석을 실시하였다. 이때 GC의 분석조건은 시료 주입구의 온도를 120℃, FID의 온도는 300℃로 고정하였으며, column oven의 온도를 30℃에서 2분간 유지한 다음 분당 2.0℃의 비율로 200℃까지 상승시키며 분석을 실시하였다. 분리해 사

용된 column의 지름은 0.32mm으로서 cross-linked polyethylene glycol이 coating된 Hewlett-Packard(Palo Alto, CA, USA)의 FFAP fused silica capillary column을 사용하였으며, column의 길이는 30m였다. 향기성분의 양적인 변화비교는 GC 검출기로 사용된 FID의 response(area count)를 자동적분기(HP3396A, Hewlett-Packard, USA)로 측정하여 상대적인 값으로 나타내었다. 자동적분기의 조작조건은 zero=5, attenuation=7, chart speed=0.5cm/min, area rejection=50,000, threshold=5, peak width=0.04로 하였다.

3. 봉교 향기성분의 동정

GC에 의하여 분리된 향기성분의 동정은 Gas Chromatograph-Mass Spectrometric Detector(GC/MSD: Hewlett-Packard 5972 System, PA, USA)를 이용하였다. 향기성분의 추출 및 주입은 전술한 GC 분석방법과 동일하게 하였다. 시료 도입을 위한 interface 온도는 300°C, ionization voltage는 70 eV, resolution은 1000, mass range는 30~300 m/e로 하였으며 그 밖의 조건은 향기성분의 분리를 위한 GC 분석방법과 동일한 조건으로 실시하였다. GC의 검출기로 사용한 FID에서 얻어진 chromatogram과 MSD에서 얻어진 total ion chromatogram(TIC)을 상호 비교하기 위한 표준 index 물질로서 탄소수가 6인 hexane으로부터 33인 tri-tricontane까지의 n-alkane 혼합물을 사용하였다. 먼저 n-alkane을 GC에 주입하였을 때 얻어지는 chromatogram으로부터 각각의 n-alkane에 대한 머무름 시간을 구하고 이들 시간을 n-alkane의 탄소수 × 100으로 치환하였다. 다음 시료에서 얻어진 각 성분의 머무름 시간을 n-alkane의 시간대에 따라 1차 함수로 대입하여 linear relative index(LRI)를 구하였다 (식1). 한편, 동일한 n-alkane 혼합액을 GC/MSD에 주입하고 TIC로부터 얻어지는 머무름 시간을 먼저와 동일하게 탄소수 × 100으로 대치하고 시료의 TIC에서 얻어진 각 성분의 머무름 시간에 대한 LRI를 구한 다음 이를 GC의 FID에 의한 chromatogram을 각 성분의 LRI와 비교하여 GC의 chromatogram에 분리된 각 성분의 peak와 GC/MSD의 TIC에 나타난 각 성분의 peak를 확인하였다.

$$LRI = \left[\frac{RtC - RtN}{Rt(N+1) - RtN} + N \right] \times 100 \quad (\text{식 1})$$

RtN: retention time of the n-alkane eluting before the component

Rt(N+1): retention time of the n-alkane eluting after the component

RtC: retention time of the component

N: carbon number of n-alkane eluting before the component

4. 프로폴리스 추출물의 제조

에틸알코올의 농도별에 따른 프로폴리스 추출물의 제조는 10, 20, 30, 40, 50, 60 및 70% (v/v)의 에틸알코올의 용액 250ml에 12%(w/v)에 해당하는 프로폴리스를 넣고 실온에서 6시간 동안 교반 후 추출 및 여과하여 시료로 하였다. 프로폴리스의 함량별 추출물은 70% (v/v) 에틸알코올 용액 250ml에 4, 6, 8, 10, 12, 14%(w/v)에 해당하는 프로폴리스를 넣고 실온에서 6시간 동안 교반 후 추출 및 여과하여 시료로 하였다.

5. 프로폴리스 추출물중 총플라보노이드 함량

프로폴리스 추출물중의 총플라보노이드 함량은 식품공전에 제시된 방법에 의하여 측정하였다. 프로폴리스 추출물 80mg에 상당하는 양에 90% 에틸알코올 20ml를 가하고 증류수를 대조액으로 하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 질산알루미늄용액 대신 물 0.1ml를 가한 것의 흡광도를 뺀 흡광도 차를 이용하여 총플라보노이드(mg/ml)를 산출하였다. 이 때의 표준곡선은 quercetin을 이용하여 작성하였다.

6. 프로폴리스 추출물의 항균 특성

프로폴리스 추출물의 항균력은 paper disc법으로 검정하였다. 멸균된 agar 배지를 멸균 petridish에 5ml 분주하여 균일한 층이 형성되도록 굳힌 후 37°C에서 24시간 배양하여 오염여부를 확인하였다. *Escherichia coli*(KFRI 25922), *Lactobacillus plantarum*(KFRI 815) 및 *Saccharomyces cerevisiae*(KFRI 268)의 전 배양된 균액을 희석한 후 농도별로 각각 0.1ml씩 접종하여 spreading하

였다. 그 위에 원형의 여지(paper disc, $\Phi 8\text{mm}$, Toyo)를 놓고 1mg/ml 농도의 프로폴리스 추출물을 50 μl 씩 흡수시키고 각 균의 최적 활성 온도의 incubator에서 24시간 배양한 후 clear zone의 지름을 caliper로 측정 비교하였다. 대조구는 프로폴리스 추출 분획물 대신 70% 에틸알코올을 사용하였다.

7. 프로폴리스 추출물의 항산화 특성

70% 에틸알코올로 추출한 프로폴리스 추출물을 시판 대두유에 2.6%(v/v) 첨가한 처리군과 첨가하지 않은 대조군을 37 $^{\circ}\text{C}$ 항온기에서 18주간 저장하면서 과산화물가(Peroxide value)를 측정하였다.

8. Edible film의 제조

가. 붕교/셀룰로오스 고분자

에탄올과 증류수를 혼합하여 MC(methyl cellulose), HPMC(hydroxypropyl methyl cellulose), Polyethylene glycol 400를 첨가하고 혼합물을 65 $^{\circ}\text{C}$ 로 가열하여 용해시키고, 여기에 stearic-palmitic acid blend(50:50)를 첨가하여 완전히 용해시켰다. 이것을 glass plate에 1mm 두께로 코팅한 후 100 $^{\circ}\text{C}$ dry-oven에서 15min 동안 건조시켜 필름을 제조하였다.

나. 붕교/단백질 고분자

증류수 85ml에 SPI 10g을 용해시킨 후 75-80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 15분 동안 가열한 후 GP, propylene glycol, alginate emulsifier, glycerin을 첨가하여 완전히 용해시켰다. 이것을 glass plate에 1mm 두께로 코팅한 후 60-70 $^{\circ}\text{C}$ dry-oven에서 15min 동안 건조시켜 필름을 제조하였다.

다. 붕교/전분 고분자

증류수 75ml에 starch 8g을 용해시킨 후 100 $^{\circ}\text{C}$ 에서 15분 동안 한 후 GP, propylene glycol, alginate emulsifier, glycerin을 첨가하여 완전히 용해시켰다. 이것을 glass plate에 1.5mm 두께로 코팅한 후 60-70 $^{\circ}\text{C}$ dry-oven에서 15min 동안 건조시켜 필름을 제조하였다.

9. 수분투과도(water vapor transmission rate, WVTR)와 permeability

붕교/셀룰로오스 edible film을 제조하여 건조된 CaCl_2 20g이 들어 있는 직경 4.7cm의 glass cup 위를 덮고 paraffin wax로 다시 sealing하여 실온의 상대습도 33, 58, 75 및 83%에서 25일간 저장하면서 cup의 무게 증가를 측정하여 계산하였다. 기기적 방법은 투습도 측정기(MOCON W1-A, MOCON, MN, USA)를 사용하여 film의 직경을 5cm² 크기로 aluminium foil guard에 장착하고 37.8℃, 상대습도 100%의 조건하에 측정하였다.

10. DMA(Dynamic mechanical analysis)

Edible film의 재원을 길이: 10.0mm, 폭: 5.0mm, 두께: 0.047mm로 하여 4종류의 포화용액으로 상대습도(MgCl_2 (RH 33%), NaBr(RH 58%), NaCl(RH 75%), KCl(RH 83%))가 유지되는 chamber에서 25℃의 조건으로 30일간 저장한 후 DMA(Dynamic Mechanical Analysis, Perkin Elmer, USA)를 이용하여 가열온도구간: 25-120℃, 가열온도속도: 5℃/min, Static force: 120 mN, Dynamic force: 100mN, Frequency: 1Hz의 조건에서 측정하였다.

11. 붕교의 Flavonoids의 방출속도

Edible film을 상대습도(MgCl_2 (RH 33%), NaBr(RH 58%), NaCl(RH 75%), KCl(RH 83%))를 달리하여 한 달간 저장하면서 film 1 sheet(15×15cm) 무게에 10배에 해당하는 70% EtOH을 넣고 10분간 교반하여 0.45 μl filter로 여과하여 propolis 용매 추출의 flavonoids 성분 분석과 같은 방법으로 HPLC로 측정하고 방출속도를 구하였다.

12. 붕교 edible film의 생면저장중 항균특성

진분 및 셀룰로오스 붕교복합 고분자 film을 제조하여 25℃, RH 83%인 조건에서 보관후 생면시료 10g 씩을 포장하여 0, 5, 10, 25℃로 저장온도를 달리하여 4주간 저장하면서 총세균수, 대장균수, 유산균수를 측정하였다. 생면시료는 멸균백에 넣고 0.85% 생리식염수 90ml를 가하여 Stomaker에서 60초간 혼합마쇄후 마쇄액을 취해 세균수 측정에 사용하였다. 총균수는 Plate Count Agar 배지를 이용하였고, 유산균수는 *Lactobacillus* MRS Agar 배지를 사용

하였으며, 대장균수는 Nutrient Agar 배지를 이용하여 측정하였다. 균수는 35℃에서 48시간 배양한 후 세균 집락의 수를 시료 g당 균수로 표시하였다.

13. 약과저장용 봉교/전분 edible film

가. 약과저장용 edible film 제조 및 코팅

전분과 propylene glycol, glycerine, alginate로 조성된 slurry를 1-4% 농도로 제조된 edible film 용액에 약과를 10초간 침지한 후 실온에서 표면건조를 유도한 후 OPP film에 포장하여 저장중 품질변화 측정에 사용하였다.

나. 과산화물가 측정

저장중 약과의 과산화물가는 AOCS의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 약과에 함유된 지방을 Soxhlet 방법으로 유지하여 유지 1~3g을 250ml 삼각플라스크에 넣고 acetic acid -chloroform (3:2) 용액을 30ml 넣고 잘 섞은 후 1ml의 KI용액을 넣고 1분간 암소에 보관한 다음 증류수 75ml를 가하고 0.01N 티오황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 용액으로 적정하여 노란색이 사라지는 시점에서 1% 전분용액 1ml를 넣고 다시 적정하여 푸른색이 사라지는 시점을 종말점으로 하였다. 시료가 없는 상태에서 공시험을 하였고 과산화물가를 계산하였다.

다. 산가 측정

저장중 약과의 산가는 Hautfenne 등의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 약과에 함유된 지방을 Soxhlet 방법으로 유지하여 유지 1~3g을 250ml 삼각플라스크에 넣고 ether-ethanol 혼합액(1:1) 100ml를 가하고 1% phenolphthalein 용액 2~3방울 가한다. 이 용액을 에탄올 용해 0.1N-KOH 용액으로 적정하여 미홍색이 유지되는 시점을 종말점으로 하였다. 시료가 없는 상태에서 공시험을 하였고 산가를 계산하였다.

라. 경도 측정

저장중 약과의 경도는 경도계(Compac-100, Sun Scientific Co., LTD)를 이용하여 측정하였다.

라. 색도 측정

각 slurry로 코팅한 약과의 색도는 색차계(CR-200, Minolta Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하여 L(명도), a(적색도) 및 b(황색도) 값을 얻었다.

14. 반고체 식품용 봉교/단백질 edible film 제조 및 응용실험

젤라틴과 sorbitol을 주원료로 하여 봉교의 첨가량을 달리한 edible film은 Table 2와 같이 제조하였다. 반고체 모델식품으로는 30% 농도의 옥수수 전분 분산액을 1차 가열 및 호화시킨 후 직경 5cm의 원형 용기에 담고 105℃에서 30분간 2차 가열하여 냉각하고 이미 준비된 젤라틴 edible film이 코팅된 뚜껑을 덮어 0, 10 및 25℃에서 저장기간중 품질변화를 측정하였다. 항균작용을 하는 플라보노이드 성분의 방출특성은 시간경과에 따른 총플라보노이드의 함량 변화를 측정하여 분석하였다.

15. 봉교/단백질 soft edible film 제조 및 응용실험

Gelatin 43%, glycerine 14%, sorbitol 5% 및 수분 5%의 조성물에 봉교 추출물 0.8%를 첨가하여 soft edible film을 제조하여 실험에 사용하였다.

Table 2. Composition of gelatin based edible films

(%)

Sample	Gelatin	Sorbitol	D.W.	Propolis ext.
1	20	6	64	10
2	20	6	64	20
3	20	6	64	30

제 3 장 결과 및 고찰

제 1 절 봉교원료의 추출과 특성분석 및 고분자 조성물 개발

1. 프로폴리스의 일반성분 및 무기질 함량

본 실험에 사용한 프로폴리스의 일반성분 분석은 Table 3에 나타낸 것과 같이 조지방 90.9, 탄수화물 5.3, 조단백질 0.7, 회분 0.2, 수분 3.0% 이었다. 프로폴리스의 무기질 함량을 분석한 결과를 Table 4에 나타내었다. K>Ca>Na>Mg>Fe 순으로 76.8, 38.9, 21.3, 12.8, 11.5 mg의 함량을 나타내고 있으며, Ge, Cd, Pb, Se 등은 검출되지 않았다. 이같은 결과는 프로폴리스를 함유하는 다양한 형태 즉, tablets, capsules, ampoules, syrup 등과 같은 건강 보조제품에 있어서도 미량원소중 K, Ca, Na, Mg 등이 주성분을 차지하는 보고⁽²²⁾와 일치하고 있어 프로폴리스중에 함유된 미량원소의 구성성분을 예측할 수 있는 자료로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

Table 3. Chemical composition of propolis

(%)

Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Carbohydrate
3.0	0.7	90.9	0.2	5.3

Table 4. Mineral contents in propolis¹⁾

Fe	Mg	Ca	Zn	K	Na	Ge	Cd	Pb	Se
11.5	12.8	38.9	1.6	76.8	21.3	ND ²⁾	ND	ND	ND

¹⁾ Results expressed as mg/100g propolis

²⁾ ND: Not detected

2. 프로폴리스의 향기성분

프로폴리스, 벌꿀, 화분 등과 같은 양봉산물의 향기성분은 ester류, 지방족과 방향족 alcohol류, aldehyde류, ketone류 및 산류 등과 같은 다양한 60여개의 물질들이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다.⁽²³⁾ 본 연구에 사용한 프로폴리스의 향기성분 분석결과를 Table 5와 Fig. 1에 나타내었는데, ester류는 4-pentene-1-yl acetate, 3-methyl-2-buten-1-ol acetate 및 benzyl acetate, alcohol류는 2-methyl-3-buten-2-ol, 3-methyl-3-buten-1-ol, 2-methyl-2-buten-1-ol, benzyl alcohol 및 phenylethyl alcohol, aldehyde류는 2-methyl-2-butenal, pentenal, 및 benzaldehyde, 산류는 acetic acid, dimethyl-propanedioic acid, 2-methyl-hexanoic acid 및 2-methyl-2-butenic acid 등이 중요 향기성분 물질로 존재하였다. 한편, 벌꿀과 프로폴리스에는 수집과정에서 일부 소량성분의 혼입이 이루어 지기 때문에 많은 향기성분이 두 물질에 공존하게 되며, 이러한 이유로 acetone, furfural, benzaldehyde 등이 벌꿀과 프로폴리스 및 화분에 있어서 주된 향기성분인 것으로 보고되고 있다⁽²⁴⁾.



Fig. 1 GC chromatogram of propolis extract

Table 5. Volatile compounds and their relative composition in propolis

No	R.T. ¹⁾	Compounds	Area($\times 10^6$)	Area(%)
1	5.01	2-methyl-3-buten-2-ol	15191	11.47
2	6.10	2-methyl-2-butenal	5087	3.84
3	8.59	1,4-pentadien	371	0.28
4	8.86	1-limonene	466	0.35
5	9.61	1,8-cineole	1729	1.31
6	10.24	4-pentene-1-yl acetate	2969	2.24
7	11.05	pentenal	2582	1.95
8	12.53	styrene	895	0.68
9	12.75	3-methyl-2-buten-1-ol acetate	2776	2.10
10	13.07	isoprene	1822	1.38
11	16.12	3-methyl-3-buten-1-ol	11961	9.03
12	17.59	6-methyl-5-hepten-2-one	985	0.74
13	18.73	4-methyl-1-pentanol	421	0.32
14	19.56	2-methyl-2-buten-1-ol	14073	10.63
15	19.90	1,2-pentadiene	9913	7.49
16	20.97	2-methoxy toluene	292	0.22
17	24.51	cis-linalool	536	0.40
18	24.86	Trimethyl-keto-vinyltetrahydropyran	187	0.14
19	25.65	bis(1-methylethyl) benzene	968	0.73
20	26.25	acetic acid	11584	8.75
21	27.80	2-ethyl-1-hexanol	152	0.11
22	28.63	benzaldehyde	5879	4.44
23	29.08	β -caryophyllene	291	0.22
24	30.18	linalool	174	0.13
25	31.31	propionic acid	1737	1.31
26	32.61	dimethyl-propanedioc acid	6698	5.06
27	33.09	β -cyclocitral	667	0.50
28	34.27	tetrahydro cycloprop(a)indene	794	0.60
29	36.13	acetophenon	376	0.28
30	36.31	butyric acid	665	0.50
31	37.09	α -selinene	124	0.09
32	37.73	2-hydroxy-benzaldehyde	177	0.13
33	38.30	2-methyl-hexanoic acid	7490	5.66
34	39.64	2-methyl-2-propenoic acid	380	0.29
35	40.78	benzyl acetate	4480	3.38
36	43.78	β -phenylethyl formate	327	0.25
37	44.36	cis-calamenene	136	0.10
38	45.44	acetic acid, 2-phenylethyl ester	742	0.56
39	47.57	4-phenyl-2-butanone	607	0.46
40	48.12	2-methyl-2-butenoic acid	4534	3.42
41	49.50	benzyl alcohol	7791	5.88
42	51.14	phenylethyl alcohol	3370	2.55

¹⁾ R.T.: retention time (min)

3. 추출조건에 따른 총플라보노이드 함량

프로폴리스의 항균활성은 추출방법에 의하여 큰 영향을 받는데, Debuyser⁽¹⁹⁾는 70% 에틸알코올 수용액에 의한 추출물이 가장 높은 활성을 제공한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 이를 근거로 수용성 에틸알코올의 농도가 프로폴리스 추출물의 총플라보노이드 함량에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 프로폴리스의 용매에 대한 첨가농도를 12%로 하여 수용성 에틸알코올 수용액 농도의 범위 20, 30, 40, 50, 60, 70%에서 프로폴리스의 추출실험을 통하여 농도에 따른 총플라보노이드의 함량변화를 Table 6에 나타내었다. 프로폴리스 추출물중 총플라보노이드 함량은 수용성 알코올 용액의 농도 20~70% 농도에 비례하여 증가하였다. 수용성 에틸알코올의 농도가 70%인 경우 프로폴리스 추출물중 총플라보노이드의 함량은 가장 높았고 70% 농도에서 추출한 프로폴리스 추출물은 항균활성을 제공하는 연구보고를 바탕으로 70%(v/v) 수용성 에틸알코올 용매에 대한 프로폴리스의 첨가량비(% , w/v)에 따른 프로폴리스 추출물중에 함유된 총플라보노이드의 함량을 Table 7에 나타내었다. 프로폴리스의 농도가 수용성 에틸알코올에 대하여 2%에서 14%로 증가하면서 추출물중의 총플라보노이드 함량은 비례적으로 증가하여 프로폴리스를 에틸알코올 수용액에 대하여 12~14% 농도로 첨가하여 추출하였을 경우 총플라보노이드의 함량이 4.8~4.9%dls 결과를 나타내었다. 따라서 본 연구에 사용한 프로폴리스 원료와 추출실험에 있어서 70% 수용성 에틸알코올에 프로폴리스를 용해하여 총플라보노이드 함량이 최대로 함유된 프로폴리스 추출물을 얻기 위한 수용성 에틸알코올 용매에 대한 프로폴리스의 농도는 12%가 적절함을 알 수 있는 결과로 판단된다.

Table 6. Effect of concentration of ethyl alcohol on the extraction yield of total flavonoids

Ethyl alcohol (%)	20	30	40	50	60	70
Total flavonoids (%)	0.1	3.0	4.5	4.6	4.6	4.9

Table 7. Effect of the ratio of propolis to 70% ethyl alcohol on the extraction yield of total flavonoids

Propolis (%)	6	8	10	12	14
Total flavonoids (%)	3.7	3.8	4.5	4.8	4.9

4. 프로폴리스의 항균 특성

수용성 에틸알코올의 농도에 따른 프로폴리스 추출액의 항균력을 측정한 결과를 Table 8에 나타내었다. *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*에 대하여 수용성 에틸알코올 10%, 20%, 30% 농도에서 추출한 프로폴리스의 항균활성을 살펴 본 결과 이들 균에 대하여는 전혀 활성을 나타내지 않았으며, 수용성 에틸알코올의 농도가 40% 이상으로 높아질수록 항균활성이 서서히 증가하는 경향을 보였다. 70% 수용성 에틸알코올에서의 프로폴리스 추출액은 가장 높은 항균활성을 보였으며, 수용성 에틸알코올 40% 농도이상에서 프로폴리스 추출액의 균의 종류에 따른 항균력은 *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*의 순으로 높은 경향을 보였다. 그리고 모든 균에 대하여 항균효과를 보인 40~70% 농도의 수용성 에틸알코올에서 추출한 프로폴리스 추출물의 항균활성은 대조구인 70% 에틸알코올 보다 월등하게 높은 결과를 보였다. 따라서 프로폴리스는 식품산업 분야에서 천연 항균제로 활용할 수 있는 가능성이 충분하며 부가가치 있는 기능소재로 개발하기 위한 다양한 용도개발과 활용기술을 위한 체계적인 후속연구가 요구된다. 프로폴리스의 수용성 에틸알코올에 대한 첨가농도에 따른 프로폴리스 추출액의 항균활성은 프로폴리스의 첨가농도가 2~14%로 증가할수록 *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*의 모든 균에 대하여 항균활성이 증가하는 결과를 보였다. 프로폴리스 추출물의 농도가 6%인 경우 *Escherichia coli*에 대한 항균효과가 대조구에 비하여 2배정도, *Lactobacillus plantarum*와 *Saccharomyces cerevisiae*에 대하여는 10%인 경우가 2배정도의 높은 결과를 보였으며, 프로폴리스의 첨가농도 12%와 14%간에 항균활성은 큰 차이를 보이지 않았다(Table 9). 이러한 프로

폴리스의 항균특성은 손쉽게 확보할 수 있는 천연소재라는 장점을 제공한다고 할 수 있다. 이에 일부 연구자들은 프로폴리스의 항균특성을 이용한 식품보존용 포장재^(13, 14), 생선의 선도연장⁽¹⁵⁾, 미생물 오염억제⁽²⁵⁾ 등과 같은 목적으로 활용할 수 있는 연구결과를 보고하고 있다.

Table 8. Antimicrobial activities of propolis extracts prepared by different concentration of ethyl alcohol (% , v/v) against various microorganisms

(Unit : cm)

	Control	10	20	30	40	50	60	70
<i>E. coli</i>	0.35	-	-	-	0.55	0.70	0.70	0.85
<i>L. plantarum</i>	0.40	-	-	-	0.40	0.70	0.80	0.85
<i>S. cerevisiae</i>	0.40	-	-	-	0.70	0.80	0.90	1.0

Table 9. Antimicrobial activities of propolis extracts prepared by different concentration of propolis (% , w/v) against various microorganisms

(Unit : cm)

	Control	2	4	6	8	10	12	14
<i>E. coli</i>	0.35	0.75	0.75	0.85	0.90	0.90	0.95	1.05
<i>L. plantarum</i>	0.40	0.45	0.65	0.65	0.70	0.80	0.90	0.95
<i>S. cerevisiae</i>	0.40	0.60	0.65	0.70	0.70	0.75	0.85	0.90

5. 프로폴리스의 항산화 특성

프로폴리스 추출물의 항산화 특성을 살펴보기 위하여 70% 수용성 에틸알코올로 프로폴리스의 함유농도가 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14%로 되게 추출한 추출물을 대두유에 4%(v/v) 첨가하여 37℃ 항온기에서 18주간 저장하면서 과산화물가를 측정된 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 프로폴리스 추출물이 첨가되지 않은 대두유는 5주 저장후 과산화물가가 61.5 meq/kg을 갖는 유도기간을 갖는 반면에 프로폴리스 추출물의 함유농도가 8, 10, 12, 14%인 추출물을 첨가한 경우 대조구와 비슷한 과산화물가를 나타내는 유도기간에 도달하는 기간은 15주이었다. 또한, 프로폴리스 추출물의 함유농도가 2, 4, 및 6%인 추출물 처리구는 각각 11, 12 및 14주가 경과되어 대조구와 비슷한 유도기간에 도달하였다. 이러한 결과로 볼 때 본 실험에 사용한 프로폴리스 추출물의 농도 2~14%는 대두유의 산화방지에 대조구에 비하여 2~3배 이상 효과가 있는 것으로 판단할 수 있다. 따라서 프로폴리스 추출물은 식용유지의 산화방지를 위한 품질유지용 첨가제로 사용할 경우 천연 항산화제로서의 상품적 가치가 있다고 판단된다.

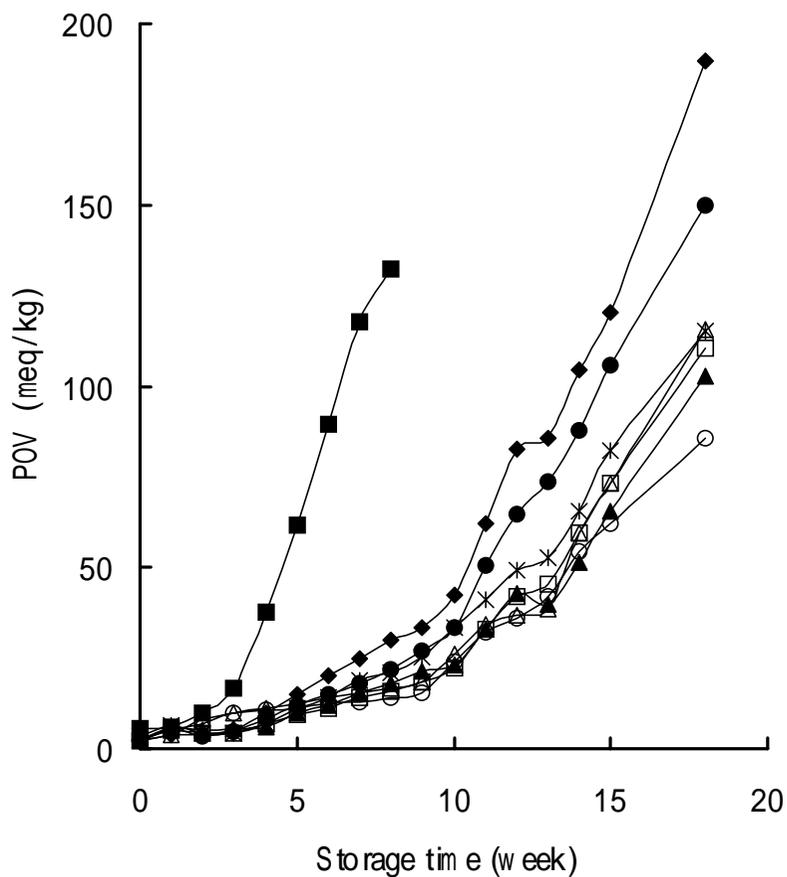


Fig. 2 Changes in peroxide value of soybean oil at various concentrations of propolis extract (PE) during storage at 37°C -■-; Soybean oil without PE, -◆-; PE 2%, -●-; PE 4%, -*-*; PE 6%, -□-; PE 8%, -▲-; PE 10%, -○-; PE 12%, -△-; PE 14%

6. 봉교 복합고분자의 수분투과도 및 열전이 특성

가. 수분투과도(Water Vapor Transmission Rate, WVTR)와 permeability
봉교/셀룰로오스 edible film을 제조하여 건조된 CaCl_2 20g이 들어 있는 직경 4.7cm의 glass cup위를 덮고 paraffin wax로 다시 sealing하여 실온의 상대습도 33, 58, 75 및 83%에서 25일간 저장하면서 cup의 무게 증가를 측정하여 계산하였다. Fig. 3과 4는 봉교/셀룰로오스 edible film과 대조구 edible film의 WVTR과 permeability의 변화를 상대습도 33, 53, 75, 83%로 달리한 조건에서 30일간 저장하면서 측정하여 나타낸 것이다. 그림에서 알 수 있듯이 RH 83%에서 저장한 대조구 edible film과 봉교/셀룰로오스 edible film이 제일 높고 RH 75%, 33%, 53%의 순으로 WVTR과 permeability가 높게 나타났다. 그리고 다른 RH 조건에 비해 RH 83%에서 저장한 대조구 edible film이 봉교/셀룰로오스 film보다 현저하게 높은 값을 보이고 있다. 한편, 모든 film의 제품이 저장일 2일 이후로는 큰 변화없이 일정한 값을 유지하는 경향을 보였다. 봉교/셀룰로오스 edible film이 대조구 edible film에 비하여 낮은 WVTR과 permeability를 보이는 것은 봉교가 함유하고 있는 수지와 미량의 왁스성분이 셀룰로오스와 상호작용하여 형성된 구조에 의하여 수분이동이 방해작용을 받은 것 때문인 것으로 예측된다.

나. DMA 특성

Fig. 5~7은 봉교/셀룰로오스 edible film과 대조구 edible film을 RH 33%, 58%, 75% 및 83%의 조건에서 28일간 저장하면서 DMA 특성변화를 나타낸 것이다. Storage modulus는 45°C까지 급격히 감소하다가 그 이후에는 약간씩 감소하는 경향을 나타내었는데, 봉교/셀룰로오스 edible film이 전반적으로 약간 높은 modulus 값을 보여 주고 있다. 또한, RH가 높을수록 저장기간에 따른 edible film간의 modulus 값의 변화가 경미하게 구별되었다. Loss modulus는 40°C까지는 증가하다가 감소하여 60°C이상에서는 큰 변화가 없었다. 저장일수가 증가할수록 Loss modulus는 감소하는 경향을 나타내었으나 7, 14, 및 21일 저장한 film에 있어서는 큰 차이가 없었다. 저장일수에 따른 Storage modulus의 변화는 Loss modulus와 비슷한 경향으로 전개되었다. $\tan\delta$ 는 5

0°C 부근에서 정점을 갖는 큰 peak를 보였고 온도가 계속 상승되면서 고분자의 연화작용에 의하여 60°C 이후부터 약간씩 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 가열온도에 의해 고분자 성분의 열가소성에 기인한 film의 탄성과 인장력 증가에 의한 결과로 해석된다. 특히, 저장초기 (0 일)의 $\tan \delta$ 는 50°C 부근에서 보이는 peak가 형성되지 않았으나, 7, 14, 21, 28일 저장일에서는 뚜렷한 peak를 보인 현상은 봉교/셀룰로오스 edible film이 제조후 시간이 지나면서 고분자 성분들간의 상호작용에 의한 결합이 이루어졌음을 예측할 수 있다. 결론적으로 봉교/셀룰로오스 edible film과 대조구 edible film의 강도 및 인장력은 큰 차이를 보이지 않은 것을 알 수 있다. Fig. 8과 9는 봉교/셀룰로오스 edible film을 상대습도 58%의 조건에서 저장기간(0, 7, 14, 21, 28일)이 edible film의 물리적 특성에 미치는 효과를 DMA 분석하여 보다 자세히 나타낸 것이다. 그림에서 알 수 있듯이 봉교/셀룰로오스 edible film 제조직후는 탄성과 film의 유연성이 유지되나 저장기간이 경과할수록 수분손실에 따른 film을 구성하는 고분자 성분들간의 분리현상으로 인하여 약간의 열물리적 특성의 차이가 발생함을 알 수 있다. Table 10과 11은 DMA 특성분석시 가열온도 구간에서의 DMA 분석값을 나타낸 것이다. 따라서 식품분야에 적용시 대상식품과 식품의 유통조건에 따라 물리적 안정성을 확보할 수 있는 조성물을 개발하는 것이 활용가능 여부를 판단할 수 있는 중요한 변수가 될 수 있다. 이상과 같은 결과에 비추어 볼 때 전반적으로 봉교/셀룰로오스 edible film을 식품용 포장재로 사용하는 데 있어서 물리적 단점은 없을 것으로 판단된다

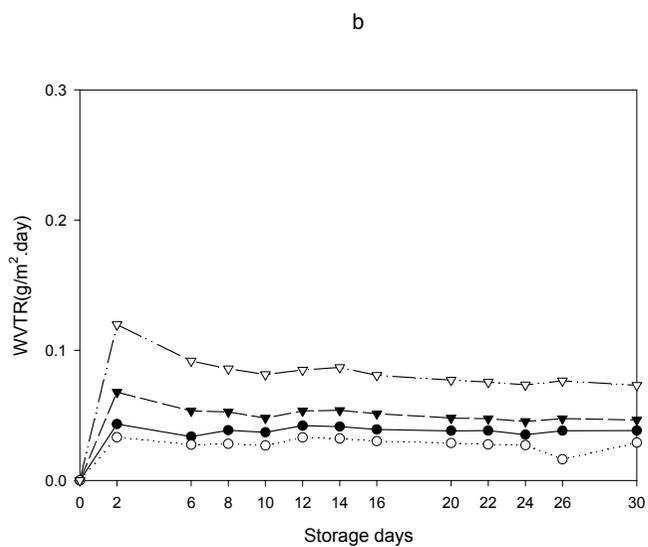
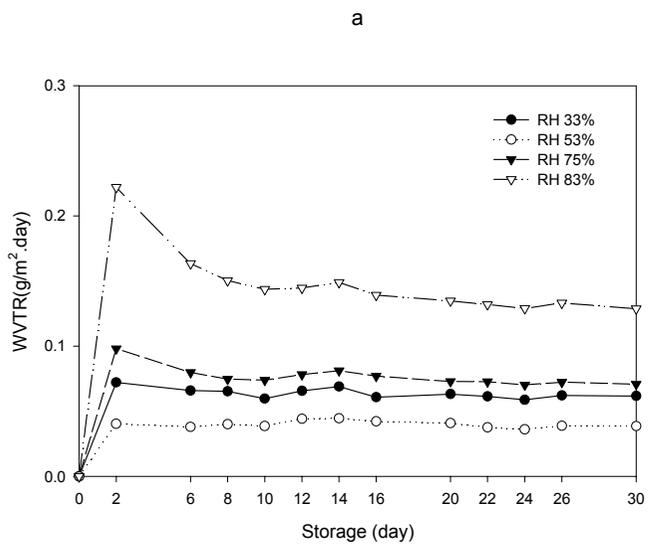


Fig. 3 Effect of relative humidity on the WVTR of edible films with or without propolis during storage for 30 days at room temperature. (a) + propolis and (b) - propolis

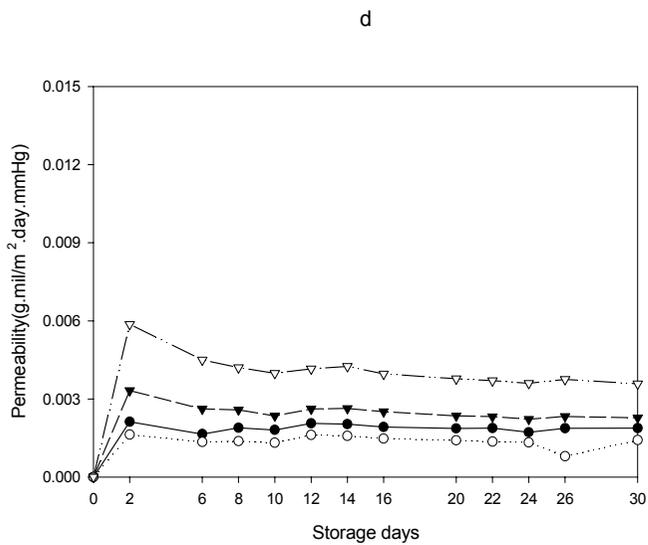
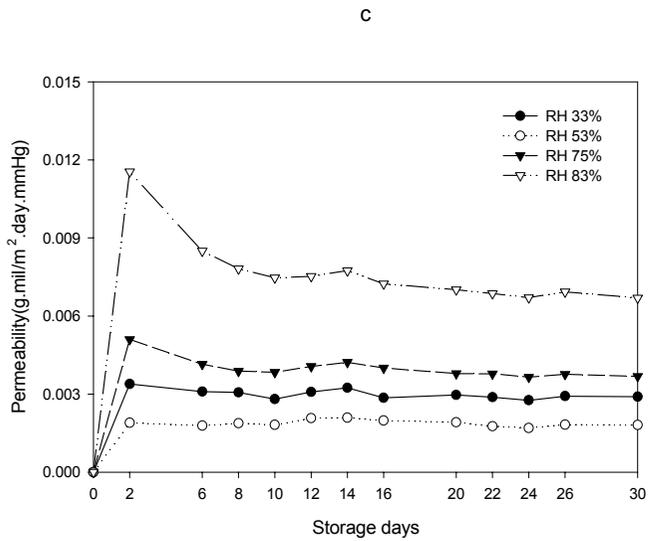


Fig. 4 Effect of relative humidity on the permeability of edible films with or without propolis during storage for 30 days at room temperature. (c) - propolis and (d) + propolis

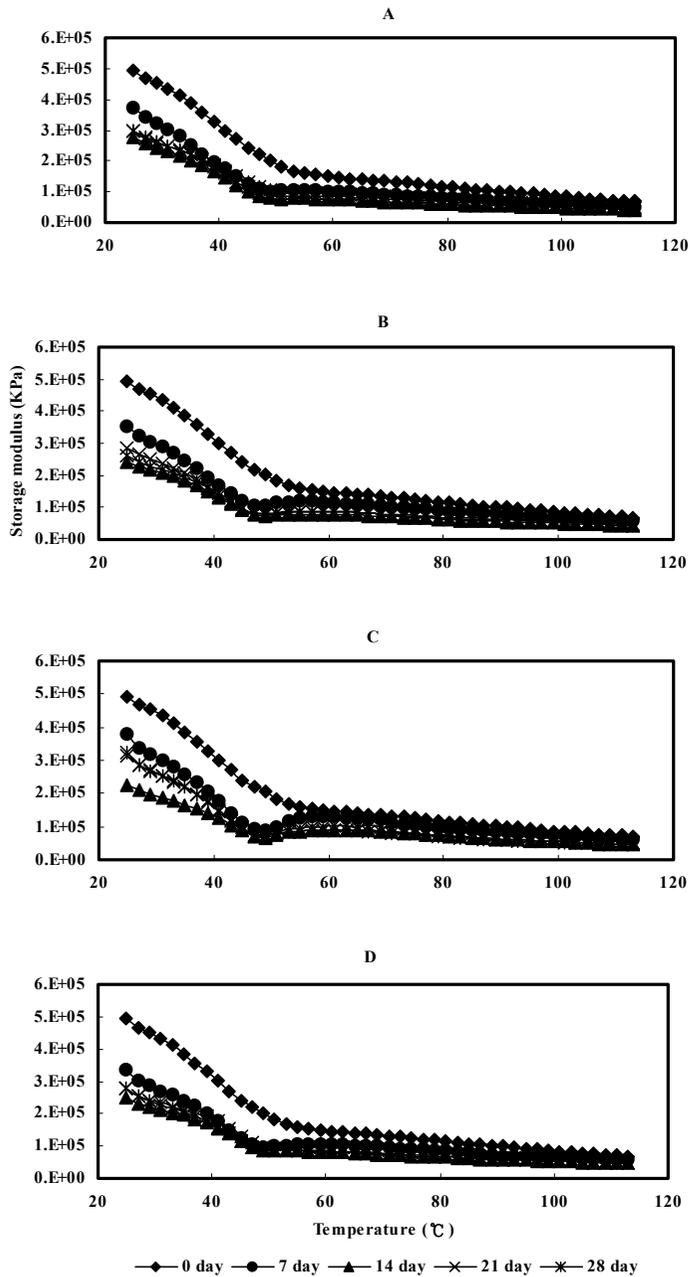


Fig. 5 DMA storage modulus for the edible film with propolis for different relative humidity as a function of temperature during storage of 28 days. (A) RH 33%; (B) RH 58%; (C) RH 75%; and (D) RH 83%

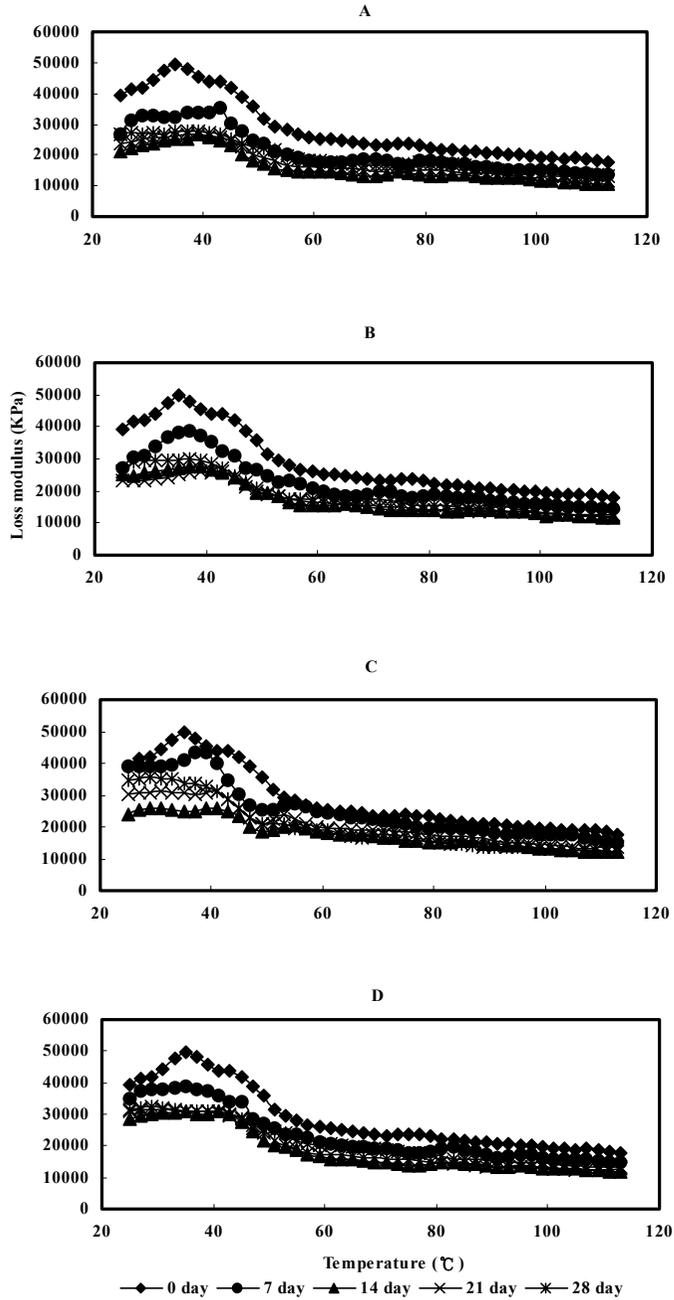


Fig. 6 DMA loss modulus for the edible film with propolis for different relative humidity as a function of temperature during storage of 28 days. (A) RH 33%; (B) RH 58%; (C) RH 75%; and (D) RH 83%

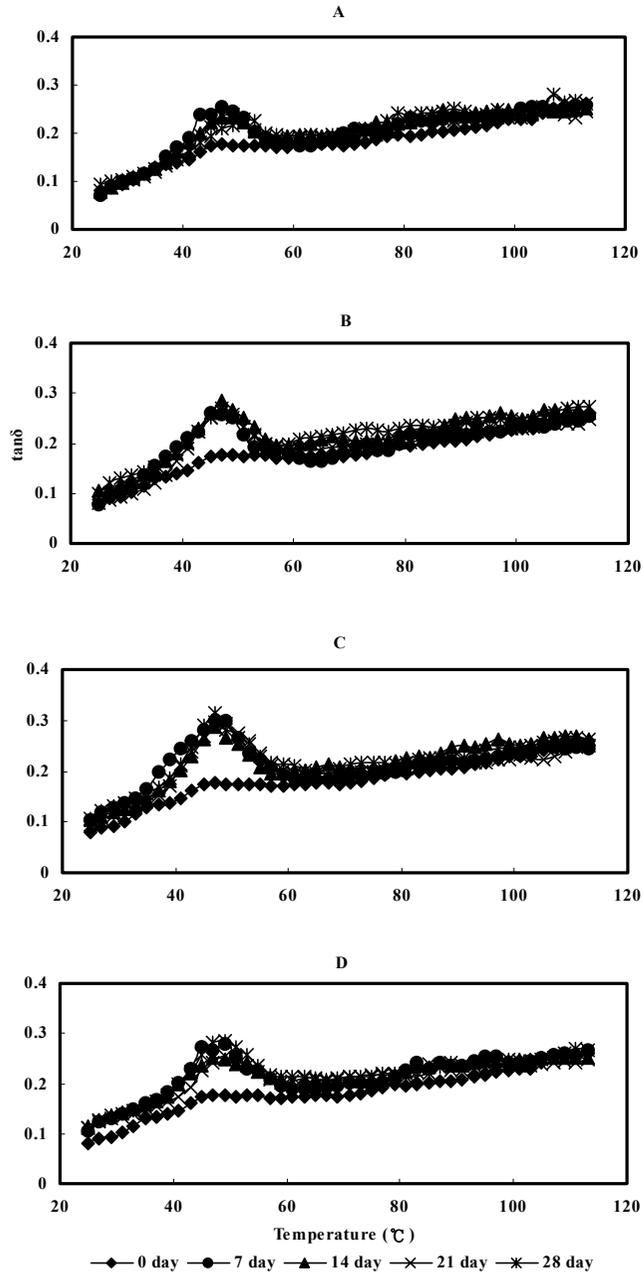


Fig. 7 DMA $\tan \delta$ for the edible film with propolis for different relative humidity as a function of temperature during storage of 28 days. (A) RH 33%; (B) RH 58%; (C) RH 75%; and (D) RH 83%

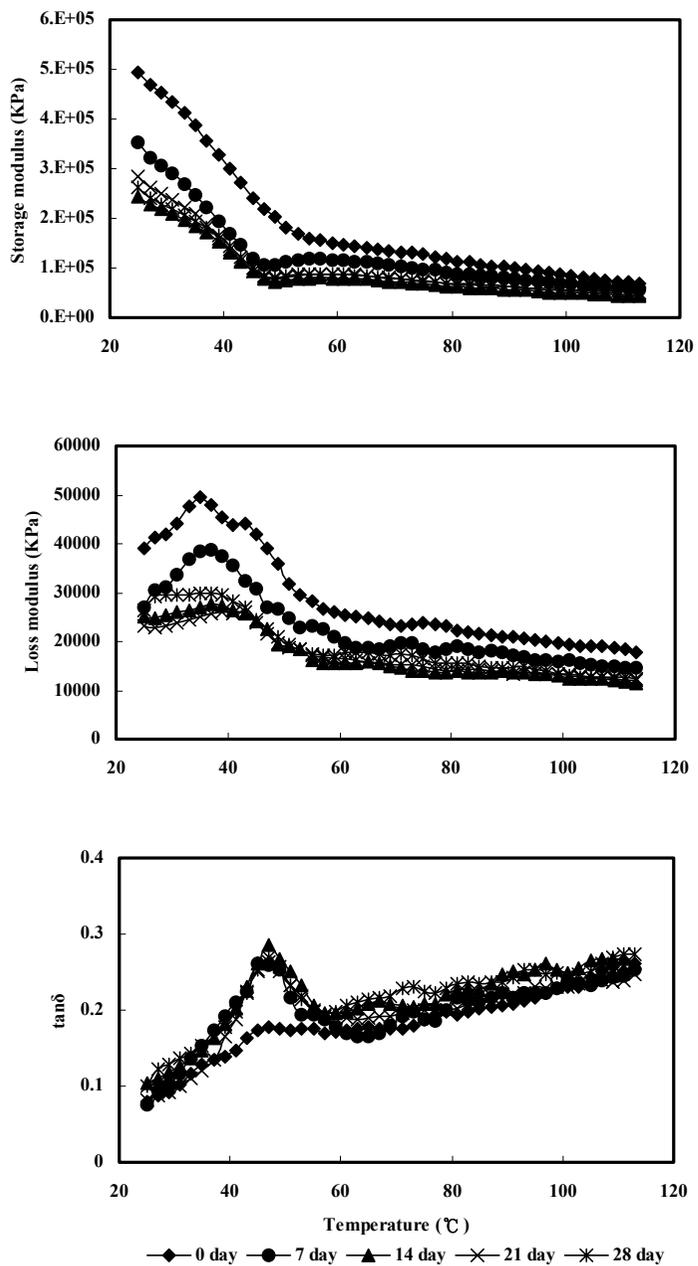


Fig. 8 DMA for the edible film with propolis for RH 58% as a function of temperature during storage of 28 days

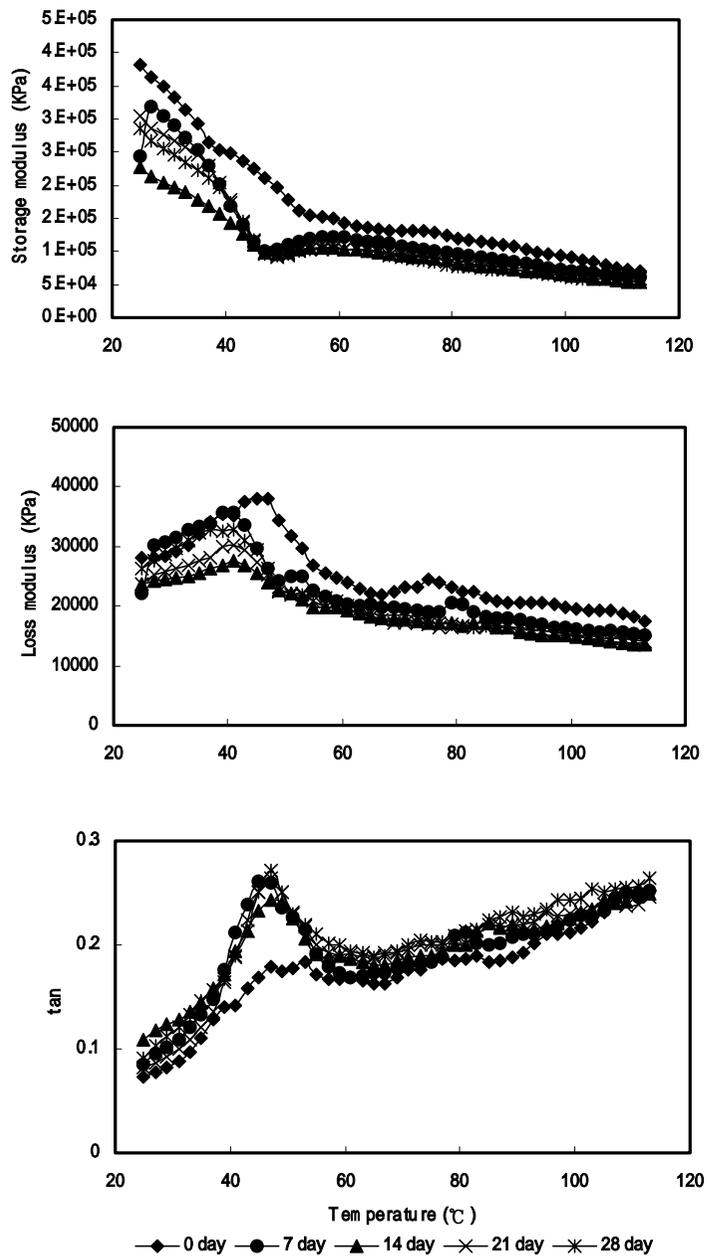


Fig. 9 DMA for the edible film without propolis for RH 58% as a function of temperature during storage of 28 days

Table 10. DMA characteristics of cellulose based edible films incorporated with propolis during storage of 28 days

	Storage (day)	Temperature()			
		40	60	80	100
Storage M odulus (kPa)	0	329000	151000	118000	86000
	7	195000	117000	92100	70000
	14	152000	78800	63000	51200
	21	159000	87700	70000	57400
	28	166000	87300	69100	53800
Loss m odulus (kPa)	0	45500	25900	23300	19600
	7	37500	20900	18400	16000
	14	27400	15400	13800	13000
	21	26100	16600	14100	13200
	28	29400	17300	15700	13400
Tan	0	0.1382	0.1718	0.1981	0.2277
	7	0.1924	0.1776	0.1998	0.2293
	14	0.1807	0.1961	0.2200	0.2540
	21	0.1648	0.1892	0.2009	0.2302
	28	0.1782	0.1983	0.2279	0.2482

Table 11. DMA characteristics of cellulose based edible films without propolis during storage of 28 days

	Storage (day)	Temperature (°C)			
		40	60	80	100
Storage Modulus (kPa)	0	252000	149000	125000	93500
	7	202000	121000	97800	73500
	14	157000	105000	85600	66600
	21	205000	104000	88000	68700
	28	197000	105000	80800	63400
Loss modulus (kPa)	0	35300	24800	23100	19800
	7	35600	20900	20500	16500
	14	26800	19800	17100	15000
	21	29900	19800	16400	15300
	28	32600	20900	17000	15400
Tan	0	0.1403	0.1674	0.1845	0.2115
	7	0.1766	0.1724	0.2045	0.2239
	14	0.1723	0.1896	0.1999	0.2258
	21	0.1648	0.1892	0.2009	0.2302
	28	0.1665	0.1996	0.2096	0.2429

제 2 절 봉교복합 edible film의 특성분석 및 식품적용

1. Incorporation에 의한 edible film의 제조

가. 봉교/셀룰로오스 edible film의 제조

에탄올과 증류수를 혼합하여 Table 12의 조성비에 따라 MC(methyl cellulose), HPMC(hydroxypropyl methyl cellulose), Polyethylene glycol 400를 첨가하고 혼합물의 65℃로 온도로 가열하여 용해시키고, 여기에 stearic-palmitic acid blend(50:50)를 첨가하여 완전히 용해시켰다. 이것을 glass plate에 1mm 두께로 코팅한 후 100℃ dry-oven에서 15min 동안 건조시켜 필름을 제조하였다.

Table 12. Composition of cellulose based edible films

MC	7g
HPMC	3g
Polyethylene glycol 400	6g
Stearic-palmitic acid blend(50:50)	9g
Ethanol(95%)	200ml
D.W.	100ml

나. 봉교/전분 edible film의 제조

증류수 75ml에 starch 8g을 용해시킨 후 Table 13의 조성비로 glycerin, alginic acid, propylene glycol을 첨가한 후 68℃에서 14분 가열하였다. 이것을 glass plate에 15mm 두께로 코팅한 후 60~70℃ dry-oven에서 15min 동안 건조시켜 필름을 제조하였다.

Table 13. Composition of starch based edible films

Starch	8g
D.W.	75ml
Glycerin	2g
Propylene glycol 400	2g
Alginic acid	4g

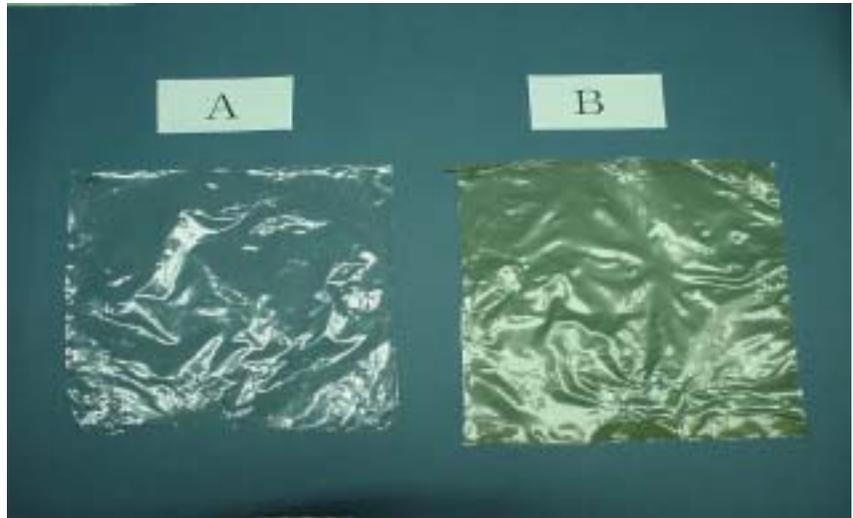
2. 봉교복합 edible film의 재원에 따른 특성

Incorporation에 의한 봉교/셀룰로오스 및 봉교/전분 edible film을 Fig. 10에 나타내었고, edible film 두께에 따른 수분투과정도를 수분투과도 장치에 의하여 측정된 결과를 Table 14에 나타내었다. 봉교/셀룰로오스와 봉교/전분 edible film 제조를 위하여 slurry의 두께를 1, 1.5 및 2mm로 spreading한 후 실험에 사용한 edible film의 두께는 표에서 보는 바와 같이 0.063~0.163 mm 범위를 보이고 있다. 대조구 셀룰로오스 edible film과 봉교/셀룰로오스 edible film의 수분투과도는 edible film의 두께가 증가함에 따라서 감소하는 결과를 보이고 있다. 또한, 대조구 셀룰로오스 edible film과 봉교/셀룰로오스 edible film의 비교에 있어서도 수분투과도가 edible film의 두께에 비례하는 결과를 보이고 있는데, 특히 봉교와 셀룰로오스 복합 edible film 제조시 일정한 두께로 spreading이 되지 않으면 edible film의 두께가 일정하게 유지되지 않기 때문에 제조과정중 중요한 품질관리지표가 된다. 한편, 전분을 원료로 한 edible film의 경우 대조구 전분 edible film과 봉교/전분 edible film 모두 봉교/셀룰로오스 edible film보다 대단히 큰 수분투과도를 나타내고 있다. 이러한 결과는 전분계 edible film이 수분에 대하여 극히 낮은 저항성을 나타내고 있는 이 제까지 밝혀진 연구결과들과 잘 일치되는 것으로서 전분계 edible film의 수분에 대한 안정성을 높일 수 있는 기술개발의 필요성이 강조된다고 판단된다.

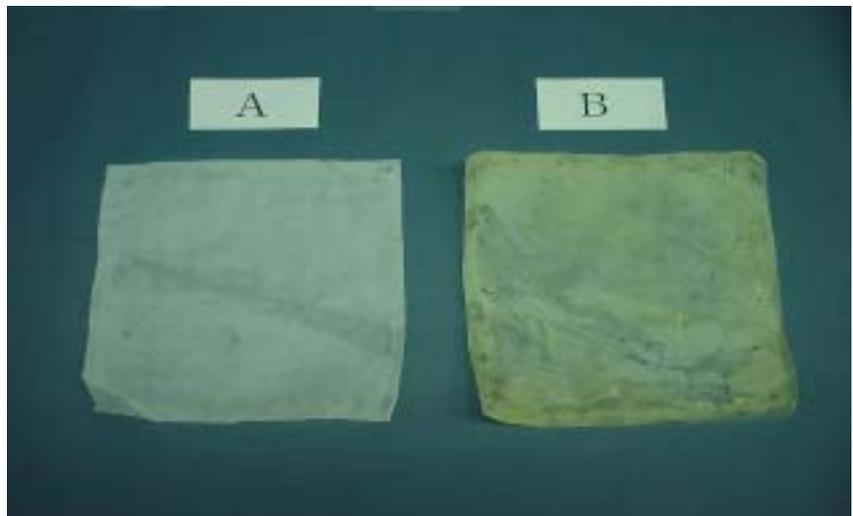
셀룰로오스 edible film의 열전이 특성을 살펴보기 위하여 열시차주사분석에 의한 용융온도와 엔탈피 변화를 측정하여 Table 15에 나타내었다. 대조구 셀

룰로오스 edible film과 봉교/셀룰로오스 edible film의 열전이 특성은 약간의 차이를 보이고 있다. 1차 용융개시는 봉교/셀룰로오스 edible film이 45.4°C로 대조구 셀룰로오스 edible film의 47.1°C보다 약간 낮은 온도를 보였으며, 용융 엔탈피도 봉교/셀룰로오스 edible film이 67.2 J/g로 대조구 셀룰로오스 edible film의 76.9 J/g 보다 낮았다. 이 온도영역에서의 흡열반응곡선은 주로 지방산과 봉교성분에 관련된 것으로서 가열처리가 지방산의 셀룰로오스에 대한 결합을 증진시키기 때문에 봉교/셀룰로오스 edible film의 경우 대조구 셀룰로오스 edible film보다 낮은 흡열온도와 열량을 보인 것으로 예측된다. 또한, 75~173°C 구간에서 봉교/셀룰로오스 edible film과 대조구 셀룰로오스 edible film 모두 전반적으로 특이한 용융특성을 보이고 있지 않다. 즉, 이러한 사실은 봉교/셀룰로오스 edible film과 대조구 셀룰로오스 edible film이 모두 상분리(phase separation) 현상이 일어나지 않은 것을 반증하는 결과이다. edible film의 원료중 첨가된 polyethylene glycol이 가소제로서의 역할은 물론 상분리를 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있으나 실험에 사용한 봉교/셀룰로오스 edible film과 대조구 셀룰로오스 edible film에 있어서 봉교, 지방산, polyethylene glycol 및 셀룰로오스계 원료들간의 상호결합에 크게 작용하였기 때문인 것으로 판단된다. Fig. 11과 12는 봉교/전분 edible film과 봉교/셀룰로오스 edible film의 DMA 특성을 나타낸 것인데 두 edible film 간의 열물성 특성이 현저하게 다른 경향을 보이는 것을 알 수 있다. 전분 edible film에 있어서 대조구 edible film의 두께가 각각 0.083, 0.117, 0.163 mm인 경우 두께가 얇을수록 storage modulus(G' ; SM)가 높은 결과를 보였으며, 특히 0.163mm인 경우 다른 두 개의 두께를 갖는 edible film보다 더 낮은 SM을 나타냈다. 가열온도 20~100°C 구간에서의 SM은 크게 변화하지 않고 약간의 증가와 감소되는 형태를 보였다. 특이한 사항은 봉교/전분 edible film과 대조구 전분 edible film이 가열온도 60°C를 전후로 SM의 변화형태가 다른 것을 알 수 있다. 대조구 전분 edible film의 두께가 얇을수록 tan δ 의 범위가 0.1 부근을 상회하다가 가열온도 80°C 부근에서는 수분증발에 따른 edible film의 경도가 증가하면서 tan δ 값이 높아지고 있으나 봉교/전분 edible film의 경우 가열온도 전체 구간에서 tan δ 값이 0.15 수준을 유지하고 있다. 이러한 결과는 봉교/전분 edible film의 경우 대조구 edible film보다 봉교와 전분의 상호결합에

따른 수분 유지의 효과가 크기 때문인 것으로 판단된다. 한편, 봉교/셀룰로오스 edible film의 경우는 SM의 변화는 가열온도 20~50℃ 부근까지는 급격하게 감소하는 현상을 보인 후 60℃ 부근 까지 다시 증가하고 이후 서서히 감소하였다. 특히, 두께가 제일 얇은 경우 다른 두 종류의 두께를 갖는 film보다 초기에 높은 SM값을 보이면서 가열온도 증가에 따라서 감소하는 결과를 보였다. $\tan \delta$ 의 변화에서도 가장 얇은 (0.092 mm) 봉교/셀룰로오스 edible film이 50~60℃ 구간에서 변화 peak를 보이긴 하였으나 가열온도의 증가에 상관없이 전체적으로 0.2 수준을 유지하였다.



(Starch based)



(Cellulose based)

Fig. 10 Starch and cellulose based edible films without propolis (A) and with propolis(B)

Table 14. Water vapor transmission rate(WVTR) for cellulose and starch based edible films

Edible films	Thickness (mm)	WVTR (g/cm ² /day)
CC1	0.063±0.0002	47.30
CC2	0.102±0.0003	41.28
CC3	0.117±0.0004	22.28
CP1	0.092±0.0001	27.74
CP2	0.101±0.0002	31.27
CP3	0.145±0.0005	13.45
SC1	0.083±0.0004	<1,200
SC2	0.117±0.0002	<1,200
SC3	0.163±0.0003	<1,200
SP1	0.081±0.0002	<1,200
SP2	0.114±0.0003	<1,200
SP3	0.188±0.0002	<1,200

CC: Cellulose based film without propolis

CP: Cellulose based film with propolis

SC: Starch based film without propolis

SP: Starch based film with propolis

Table 15. Glass transition of cellulose based edible films

Edible films	T1 (°C)	T2 (°C)	Peak T (°C)	Enthalpy (J/g)	Onset T (°C)
With propolis					
1st peak	45.4	69.76	58.78	67.26	53.13
2nd peak	75.94	90.63	82.02	0.456	79.01
3rd peak	91.85	105.56	96.63	0.249	92.82
4th peak	162.62	186.76	172.62	1.415	167.62
Without propolis					
1st peak	47.11	71.93	59.26	76.94	53.99
2nd peak	78.88	91.57	87.74	0.253	85.51
3rd peak	94.75	105.33	95.5	0.424	93.97
4th peak	163.46	177.48	168.93	0.381	166.53

T1= initial temperature (°C)

T2: end temperature (°C)

Peak T: peak temperature (°C)

Onset T: onset temperature (°C)

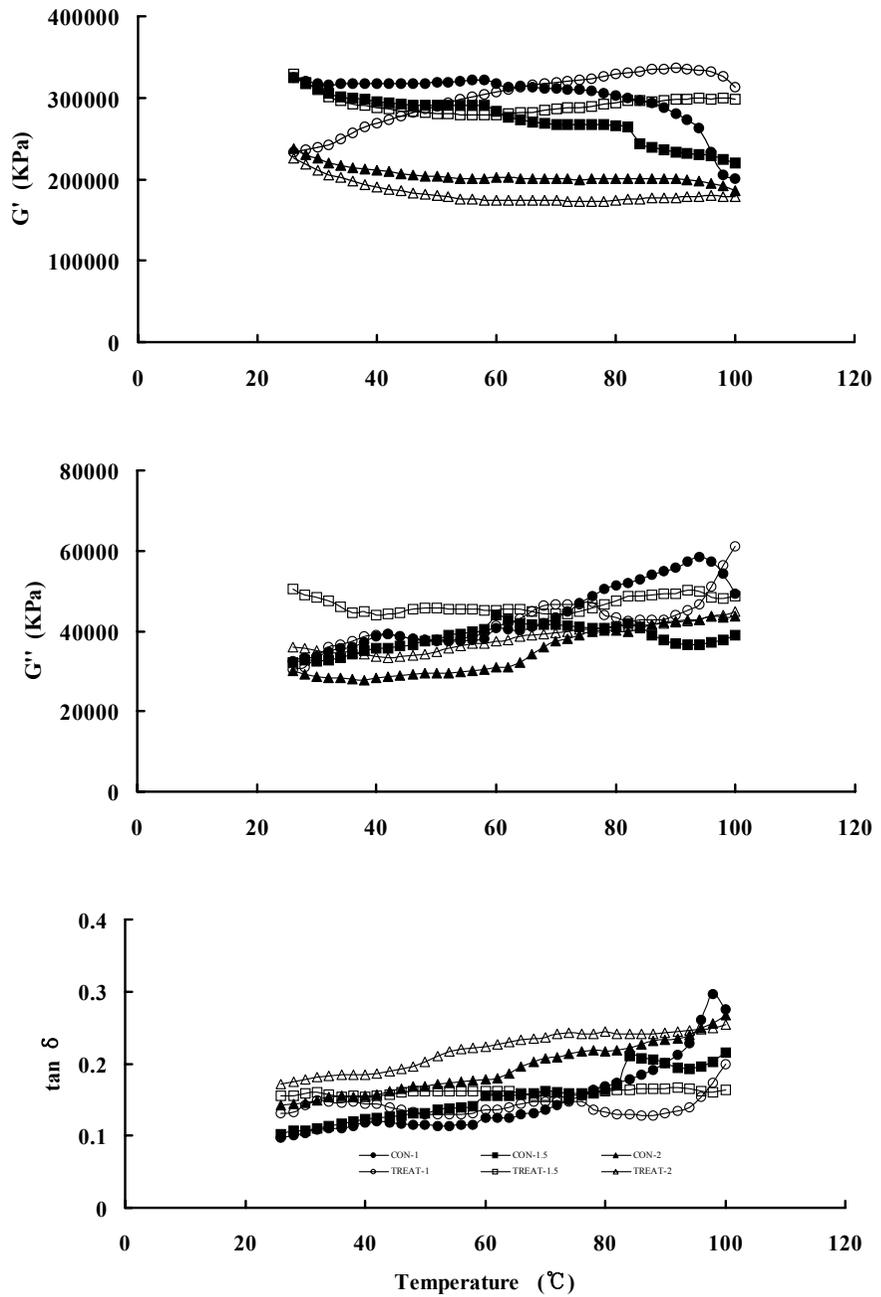


Fig. 11 DMA for the starch based edible films incorporated with propolis and without propolis

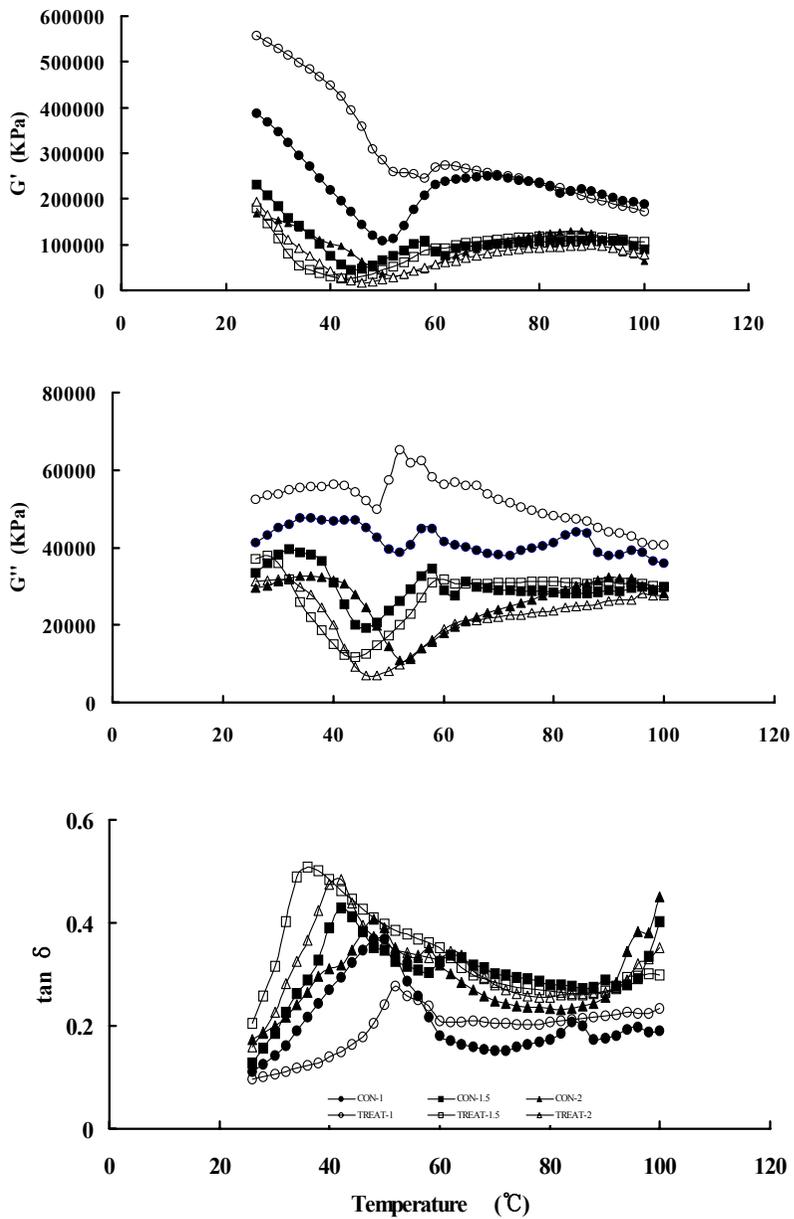


Fig. 12 DMA for the cellulose based edible films incorporated with propolis and without propolis

3. 봉교복합 edible film의 식품적용 실험

가. 생면의 저장성 향상실험

봉교/셀룰로오스 edible film을 생면의 포장재로 활용하기 적용실험을 실시하여 저장온도에 따른 세균수의 변화를 Fig 13, 14에 나타내었다. 봉교추출물을 첨가하지 않은 대조구 edible film에 비해 봉교복합 edible film은 저장 중 총세균수와 대장균수의 증식을 저해하는 결과를 보였다. 또한 Table 16에서 보는 바와 같이 저장온도가 낮을수록 세균의 증식율이 낮게 나타났고, 0℃에서는 3주 저장 후에 세균수가 감소하는 것을 알 수 있었다. 식품공전에 따르면 생면제품의 성분규격중 총세균수는 1×10^6 CFU/g으로서, 본 실험에서 대조구가 10℃에서 저장 4주후에 1.1×10^6 CFU/g 로 기준치를 초과한 반면, 처리구는 10℃에서 저장 4주까지도 7.7×10^4 CFU/g의 값을 나타냄으로서 본 실험에 사용한 처리구 봉교복합 edible film은 현행 식품공전에 규격에 적합함을 보여 식품의 선도유지용 edible film으로서 활용이 가능함을 제시하고 있다. 한편 저장온도 25℃의 생면시료는 대조구의 경우 3주 저장 후에, 처리구는 4주 저장 후에 곰팡이가 형성한 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 봉교복합 edible film의 식품 포장재용으로서의 활용시 낮은 저장온도와 봉교추출물의 항균력이 식품의 저장성 연장에 동시 효과적으로 작용한다고 생각된다. 따라서, 본 연구를 통하여 개발하려는 봉교복합 edible film의 개발과 활용연구가 성공적으로 수행된다면 현행 생면제품의 냉장보관 및 저장수명을 크게 높일 수 있는 적절한 포장제임을 예측할 수 있다.

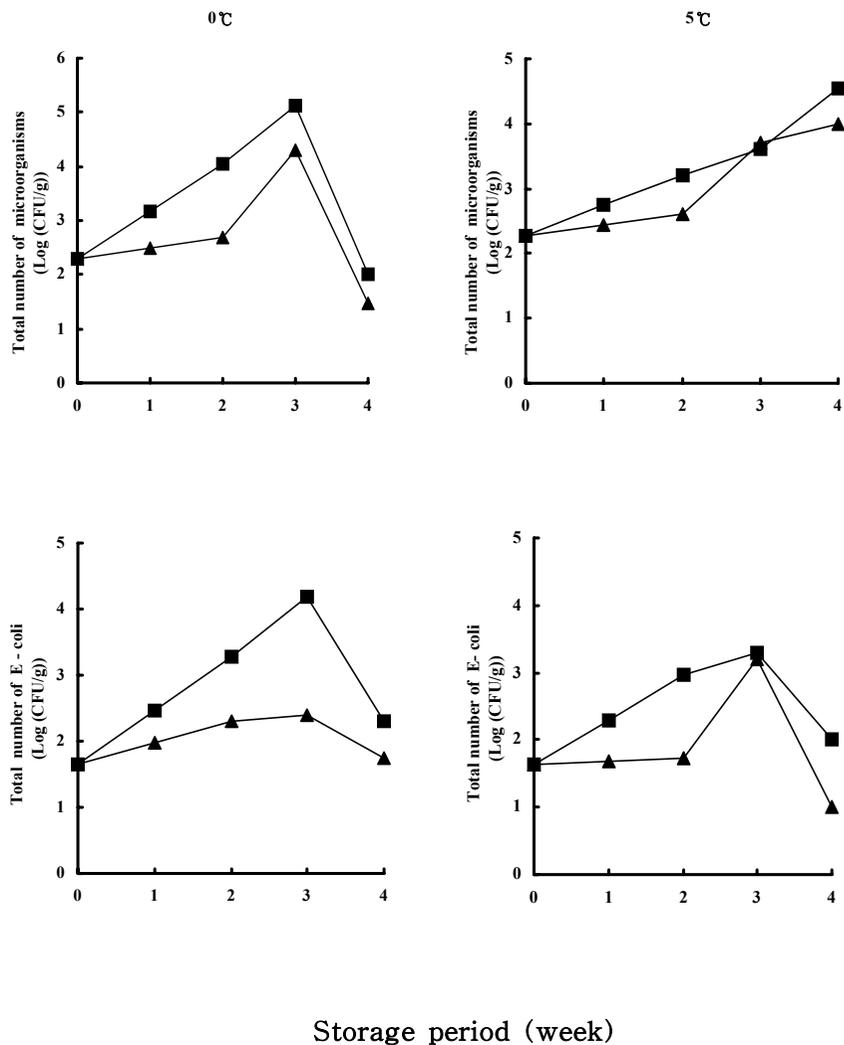


Fig. 13 Changes in total microbial count and total number of E. coli. for wet noodles packed in cellulose based edible films during storage at 0°C and 5°C. ■: EP without propolis, ▲: EP with propolis

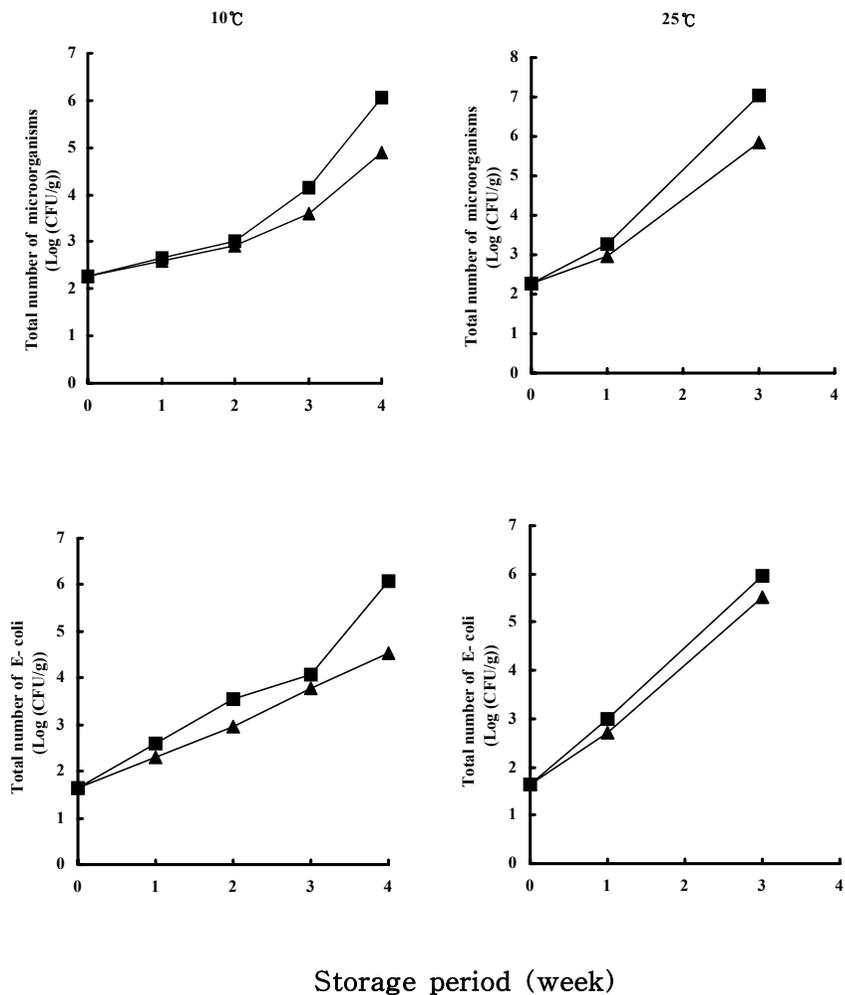


Fig. 14 Changes in total microbial count and total number of E. coli. for wet noodles packed in cellulose based edible films during storage at 10°C and 25°C. ■: EP without propolis, ▲: EP with propolis

Table 16. Changes in total microbial count of wet noodles packed in cellulose based edible films during storage

Storage		Microbial count (CFU/g)			
Temp (°C)	Weeks	Without propolis		With propolis	
		TM ¹⁾	E.coli	TM	E.coli
0	0	1.9×10^2	4.4×10	1.9×10^2	4.4×10
	1	1.5×10^3	2.0×10^2	3.1×10^2	4.9×10
	2	1.1×10^4	9.2×10^2	5.0×10^2	5.5×10
	3	12.9×10^4	2.0×10^3	2.0×10^4	1.6×10^3
	4	1.0×10^2	1.0×10^2	3.0×10	1.0×10
5	0	1.9×10^2	4.4×10	1.9×10^2	4.4×10
	1	5.5×10^2	2.9×10^2	2.8×10^2	9.4×10
	2	1.6×10^3	1.9×10^3	4.0×10^2	2.0×10^2
	3	4.0×10^3	1.5×10^4	5.1×10^3	2.5×10^2
	4	3.5×10^4	2.0×10^2	1.0×10^4	5.5×10
10	0	1.9×10^2	4.4×10	1.9×10^2	4.4×10
	1	4.4×10^2	4.0×10^2	3.9×10^2	2.0×10^2
	2	1.0×10^3	3.6×10^3	8.0×10^2	9.1×10^2
	3	1.4×10^4	1.2×10^4	4.0×10^3	5.8×10^3
	4	1.1×10^6	1.2×10^6	7.7×10^4	3.4×10^4
15	0	1.9×10^2	4.4×10	1.9×10^2	4.4×10
	1	1.8×10^3	1.0×10^3	9.0×10^2	5.0×10^2
	2	—	—	—	—
	3	1.1×10^8	9.3×10^6	6.9×10^5	3.4×10^5
	4	—	—	—	—

¹⁾ Total microbial count

— : Not determined

나. 약과의 저장성 향상실험

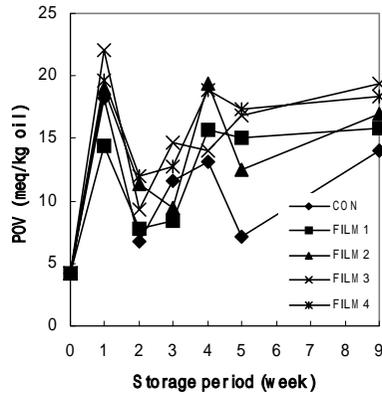
약과 제품에 대한 봉교복합 edible film의 항산화 작용을 관찰하기 위하여 실험에 사용한 전분 도포액의 조성비를 Table 17에 나타내었다. edible film 제품 1~4는 호화감자전분+봉교추출물+가소제 등으로 이루어진 조성물이고, edible film 제품 5~8은 호화감자전분만으로 이루어진 조성물이다. 호화감자전분 edible film의 조성물 slurry에 약과를 1분간 침지하여 도포한 후 OPP 식품포장용 필름에 포장하여 25℃에서 4주간 저장하며 산화정도, 경도 및 색도를 측정하였다.

Table 17. Compostion of edible film slurry made from potato starch gelatinized, plasticizers and propolis extract

Composition Edible film	Starch (g)	Distilled Water (ml)	Glycerin (g)	Alginate acid (g)	Propylene glycol (g)	Propolis extract (ml)
1	1.6	160	0.2	0.2	0.4	16
2	3.2	160	0.4	0.4	0.8	16
3	4.8	160	0.6	0.6	1.2	16
4	6.4	160	0.8	0.8	1.6	16
5	1.6	160	-	-	-	16
6	3.2	160	-	-	-	16
7	4.8	160	-	-	-	16
8	6.4	160	-	-	-	16

약과제품의 봉교복합 edible film에 포장하여 저장중 과산화물가의 변화를 Fig. 15에 나타내었다. Fig. 15-(a)에 있어서 호화감자전분+봉교추출물+가소제로 이루어진 도포 처리군의 원료 약과의 과산화물가는 5 meq/kg 이었으나 저장 1주 후 조성물중 호화전분의 함량이 높아짐에 따라서 과산화물가가 증가한 결과를 보여주고 있다. 또한 2주 및 3주 이상 경과함에 따라서 과산화물가가 계속적으로 증가하고 전분함량의 증가에 따른 영향도 동일하게 관찰되었다. 그러나 저장기간을 통하여 호화감자전분+봉교추출물+가소제전분 조성물로 도포처리 하지 않은 대조구의 경우 처리구에 비하여 낮은 과산화물가를 보여 주고 있다. 또한, 저장기간 전반에 걸친 과산화물가의 범위를 보면 호화감자전분+봉교추출물+가소제 조성물의 도포액 처리군은 10~20 meq/kg인데 비하여 호화감자전분 도포액만을 단독 처리한 경우는 15~30 meq/kg으로 약간 높은 값을 보이고 있다. 이러한 결과는 호화감자전분만의 도포액보다는 가소제가 첨가된 도포액 조성물이 도포후 가소제에 의한 필름형성이 보다 우수하여 지방의 산화억제에 작용한 것으로 판단된다.

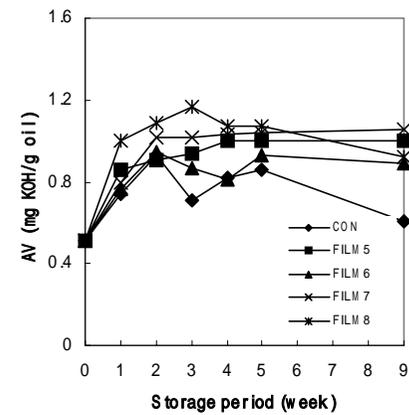
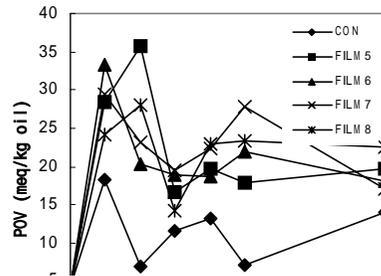
한편, 호화감자전분 도포액의 단독처리 및 호화감자전분+봉교추출물+가소제 조성물의 도포액 처리군 모두 과산화물가가 도포액을 전혀 처리하지 대조구 약과시료가 보다 높은 과산화물가를 보이고 있는데, 이러한 결과는 호화감자전분 및 호화감자전분+봉교추출물+가소제 조성물에 함유된 가소제가 용매작용에 의하여 약과에 함유된 지방을 용해하고 용해된 지방을 약과 표면으로 이동시킴으로서 공기와의 접촉을 가능하게 함과 동시에 도포 수용액에 침지후 약과조직의 연화에 따른 부분적인 붕괴에 의하여 약과 내외부의 노출에 따른 지방의 산화반응 촉진에 기인하는 것으로 예측된다. Fig. 16는 약과저장중 호화감자전분 도포액의 단독처리 및 호화감자전분+봉교추출물+가소제 조성물의 도포액 처리군의 산가변화를 나타낸 것인데, 과산화물가의 변화와 비슷한 경향을 보였다. 즉, 저장 1주 후 산가의 증가가 시작되어 5주 정도까지 증가하였으며, 대조구에 비하여 처리구가 모두 높은 산가를 보여 주고 있다. 이러한 결과는 과산화물가 변화에서와 같이 조성물에 의한 영향 때문인 것으로 판단된다.



(a)

(b)

Fig. 15 Peroxide value (POV) of coated Yackwa during storage at 25°C



(a)

(b)

Fig. 16 Acid value (AV) of coated Yackwa during storage at 25°C

그러나, 상기와 같이 과산화물가와 산가의 변화에 대한 결과로 볼 때 봉교 복합 고분자 조성물에 의한 약과중 유지성분에 대한 항산화 효과를 탐색하기 위한 실험방법은 수정이 요구되었다. 즉, 일반적으로 식용유지 성분의 산화안정성은 과산화물가가 60~100 meq/kg oil에 도달하는데 소요되는 시간을 비교함으로써 평가할 수 있다. 따라서 과산화물가와 산가의 정확한 측정을 위하여 저장온도를 1차 실험 조건보다 높은 40℃에서 가속실험을 실시하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

약과의 저장중 조직감 변화를 측정하여 Fig. 17에 나타내었는데, 대조구에 비하여 호화감자전분 도포액의 단독처리 및 호화감자전분+봉교추출물+가소제 조성물의 도포액 처리군 모두 약과제품이 단단해짐을 방지하는 효과가 있음을 알 수 있었다. 약과제품의 색도변화를 Fig. 18~20에 나타내었는데, 시료 개체간의 차이로 인하여 변화폭이 컸으며 큰 차이를 보이지는 않았고, 호화감자전분의 함량 변화에 따른 차이도 발견할 수 없었다.

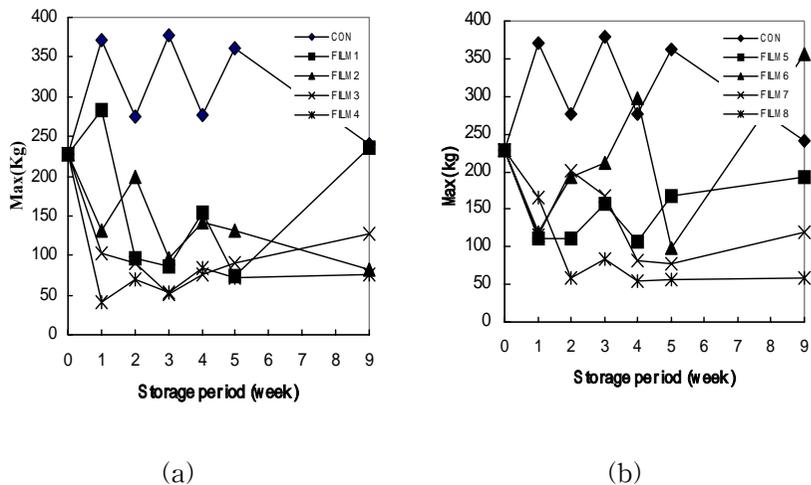
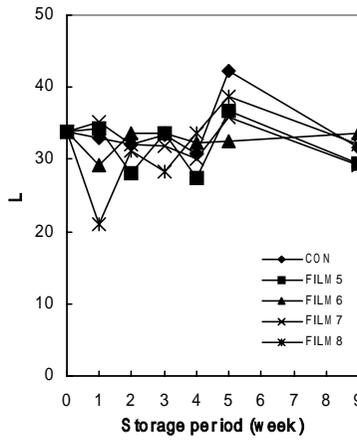
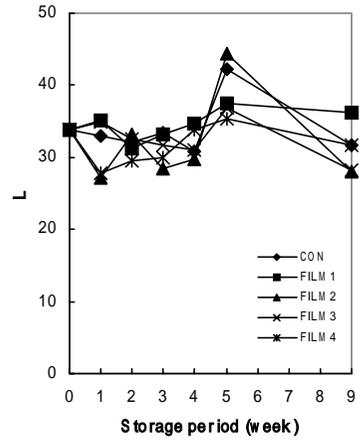


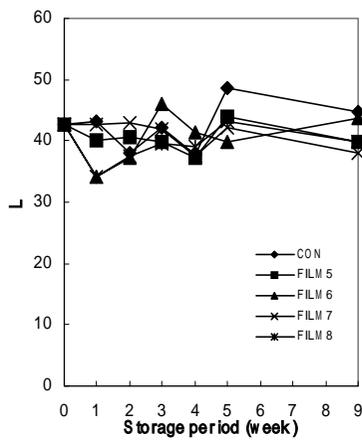
Fig. 17 Hardness of coated Yackwa during storage at 25℃



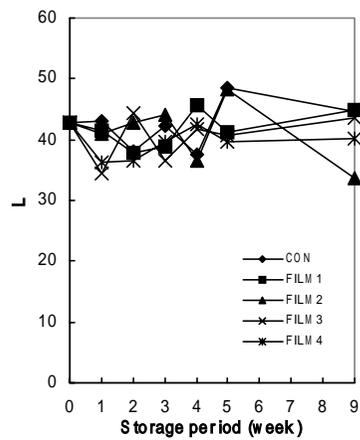
(a)



(b)

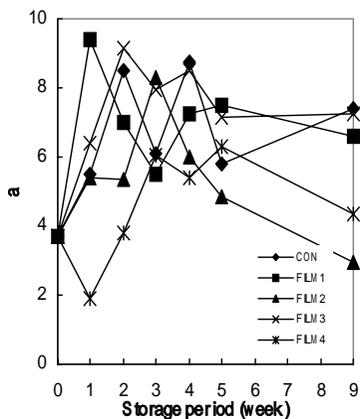


(c)

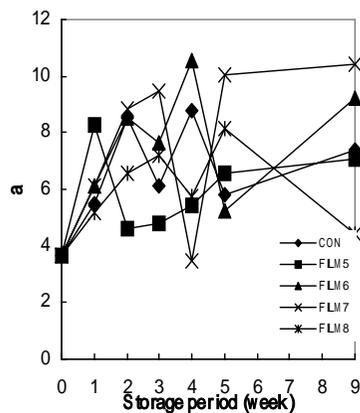


(d)

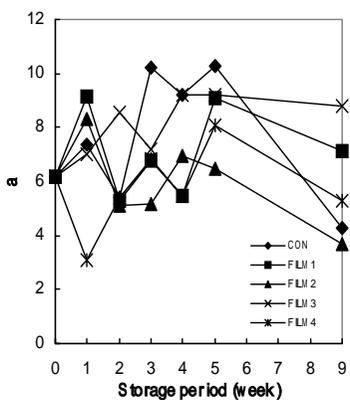
Fig. 18 Color value L of coated Yackwa during storage at 25°C



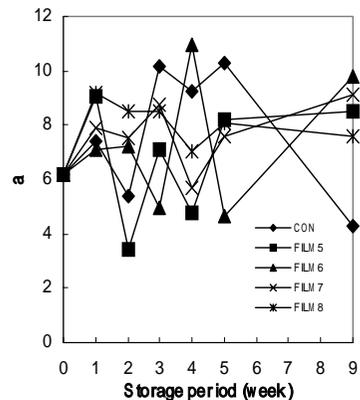
(a)



(b)

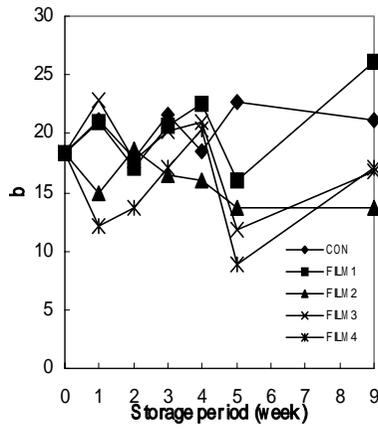


(c)

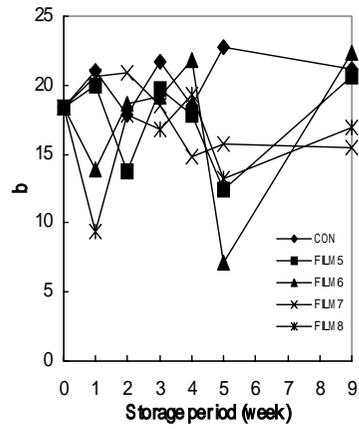


(d)

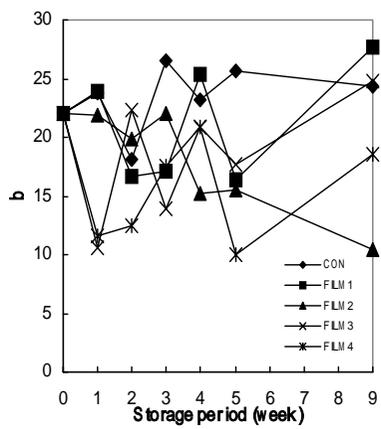
Fig. 19 Color value a of Yackwa during storage at 25°C



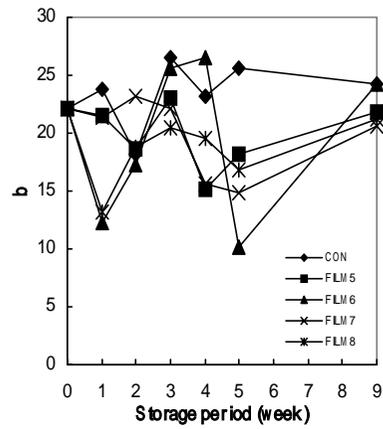
(a)



(b)



(c)



(d)

Fig. 20 Color value b of coated Yackwa during storage at 25°C

4. 봉교복합 edible film의 방출특성 분석

저장기간과 상대습도의 조건을 달리하여 봉교/셀룰로오스 edible film에 함유되어 있는 flavonoid 성분중 중요 지표성분인 caffeic acid, l-coumaric acid 및 quercetin을 25℃에서 상대습도 33, 58, 75 및 83%의 각기 다른 조건에서 저장하면서 방출속도 측정하여 Fig. 21에 나타내었다. caffeic acid, l-coumaric acid는 저장기간 6일까지는 급속하게 방출되는 특성을 보였으나, quercetin은 비교적 완만한 방출을 보여 주었다. 그리고 6주까지는 상대습도가 높음에 따라서 각 flavonoid 성분의 방출속도가 빠른 현상을 보였다. 이러한 사실은 전분이나 셀룰로오스 계열의 edible film이 수분에 대하여 물리적 안정성이 높지 못한 단점으로 설명할 수 있다. 즉, 습도가 높아짐에 따라서 edible film의 물리적 변형과 파괴가 진행함에 따라서 incorporation에 의하여 셀룰로오스와 결합되어 있던 봉교 성분이 쉽게 방출되기 때문이다. 그리고 12일과 20일정도까지는 상대습도에 따른 약간의 차이를 보이긴 했으나 전체적인 방출속도는 크게 변화하지 않았으며, 저장기간이 20일에서 30일이 경과되는 시점에서 edible film으로부터의 flavonoid 성분의 2차적인 방출이 진행되는 결과를 보여 주었다.

Table 18, 19, 20은 caffeic acid, l-coumaric acid 및 quercetin의 방출속도상수와 반감기를 나타내고 있다. 3가지 성분의 방출속도상수는 전반적으로 상대습도가 높은 조건이 낮은 조건보다 큰 값을 보여 주고 있으며, 반감기는 caffeic acid, l-coumaric acid, quercetin의 순서대로 각각 17~18일, 24~29일 및 40~734일과 같은 짧은 특징을 보이고 있다.

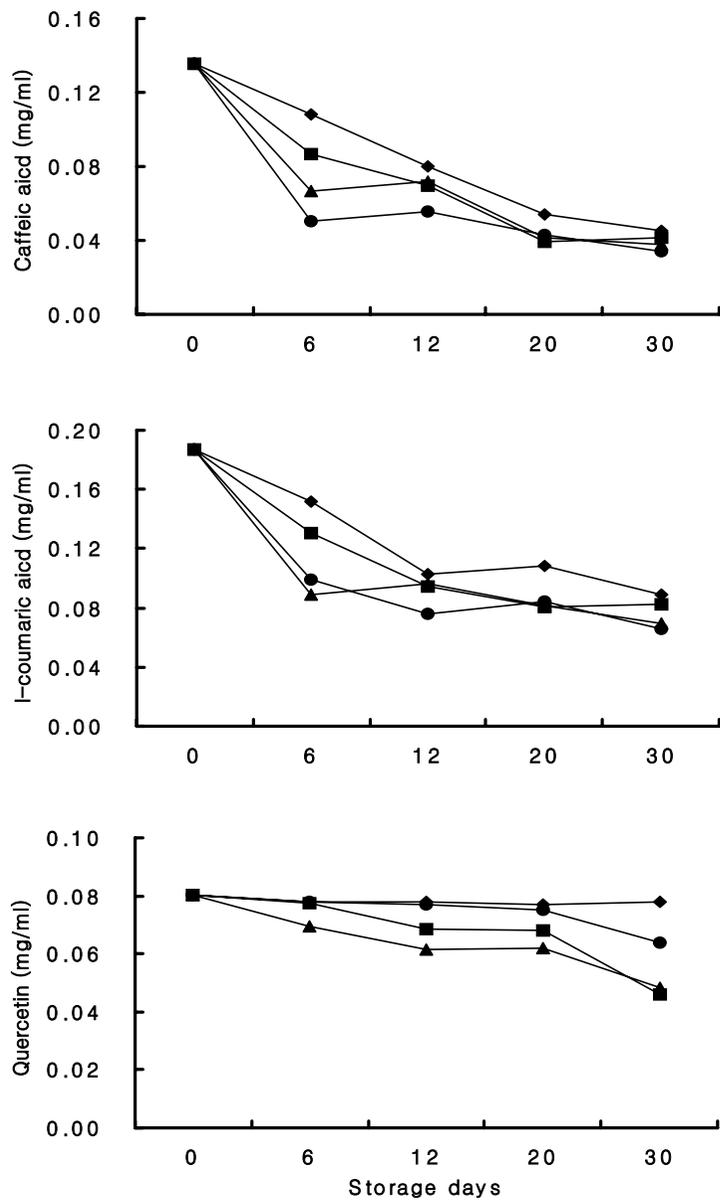


Fig. 21 Flavonoids release from cellulose based edible films as a function of storage day and relative humidity. -◆-; RH 33%, -■-; RH 58%, -●-; RH 75%, -▲-; RH 83%

Table 18. Release rate constant and half life of caffeic acid from cellulose based edible films depend on the relative humidity

	Relative humidity (%)			
	35	58	75	83
R ²	0.929	0.818	0.588	0.727
R ² (first order)	0.972	0.875	0.719	0.841
Slope	-0.039	-0.041	-0.038	-0.040
First order constant	0.039	0.041	0.038	0.040
Half life (day)	17.896	16.710	18.173	17.465

Table 19. Release rate constant and half life of l-coumaric acid from cellulose based edible films depend on the relative humidity

	Relative humidity (%)			
	35	58	75	83
R ²	0.801	0.736	0.613	0.592
R ² (first order)	0.836	0.788	0.697	0.679
Slope	-0.024	-0.027	-0.029	-0.027
First order constant	0.024	0.027	0.029	0.027
Half life (day)	29.132	25.676	24.005	26.098

Table 20. Release rate constant and half life of quercetin from cellulose based edible films depend on the relative humidity

	Relative humidity (%)			
	35	58	75	83
R ²	0.498	0.892	0.857	0.914
R ² (first order)	0.498	0.856	0.839	0.923
Slope	-0.001	-0.017	-0.007	-0.015
First order constant	0.001	0.017	0.007	0.015
Half life (day)	734.755	39.888	99.709	45.147

제 3 절 봉교복합 edible film의 제품 응용실험과 품질관리기술 개발

1. 반고체 및 액상식품용 edible film의 용도개발

봉교/젤라틴 edible film을 반고체 식품에의 적용가능한 기술을 개발하기 위하여 우선 젤라틴/봉교 edible film을 봉교의 첨가량이 0.035, 0.07 및 0.105%가 되게 첨가한 후 저장온도에 따른 총플라보노이드의 방출변화를 측정하여 Fig. 22~24에 나타내었다. 봉교의 첨가량이 증가함에 따라서 edible film내에 잔존하는 총플라보노이드의 함량은 크게 증가된 결과를 보였는데, 모든 저장온도에서 저장일 3일까지 급속하게 감소한 후 15일까지 거의 일정한 수준을 유지하는 결과를 나타내었다. 첨가된 봉교의 함량 0.035, 0.07 및 0.105%에 있어서 총 플라보노이드의 잔존율은 저장온도 0℃와 10℃에서는 5~10, 40~60 및 60~70% 정도를 보였으나, 25℃인 경우는 0℃와 10℃보다는 방출속도가 약간 증가된 것을 보이고 있다. 이러한 결과는 저장온도가 증가함에 따라서 edible film에서의 물질이동 및 확산속도가 증가됨으로서 총 플라보노이드의 방출량이 증가한 것을 알 수 있다. 따라서 봉교가 지닌 항균/항산화 특성을 최대로 살린 edible film을 식품용 기능성 포장재로 활용하기 위하여는 첨가농도와 품질유지와의 상관관계를 결정하는 것이 중요하다고 판단된다. Table 21는 젤라틴/봉교 edible film의 저장온도에 따른 총 플라보노이드의 방출속도상수와 반감기를 나타낸 것이다. 표에서 알 수 있듯이 봉교의 첨가량이 적을수록 방출속도상수는 큰 값을 보이며 첨가량에 비례하는 결과를 보이고 있는데, 이는 edible film에 첨가된 봉교의 주성분인 휘발성의 플라보노이드 성분이 단위 면적당 적은 양이 분산되어 있는 edible film에서 휘발성 성분의 확산이 보다 용이하게 일어난 결과로 해석할 수 있다. 이와 관련한 플라보노이드 성분의 반감기는 봉교의 첨가량의 증가와 정비례하여 저장온도의 전 범위에 있어 3~8배 정도 큰 결과를 보여 주고 있다. 한편, 저장온도에 따른 반감기는 0℃인 경우보다는 10℃와 25℃의 경우 반감기가 약간씩 증가한 결과를 보여 주고 있는데, 0℃ 저장인 경우 edible film내에서 봉교 성분이 젤라틴과의 분리현상 발생에 따른 균일한 확산이 일어나지 않는 것으로 판단된다.

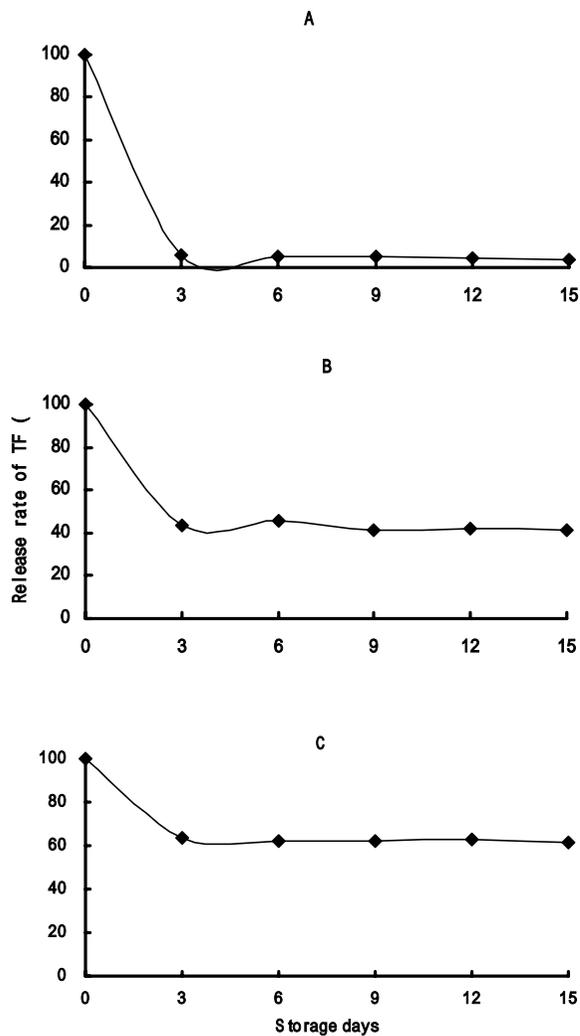


Fig. 22 Release rate of total flavonoids from gelatin based edible films depend on the amount of propolis extract (PE) during storage at 0°C. A; PE 0.035%, B; PE 0.07%, C; PE 0.105%

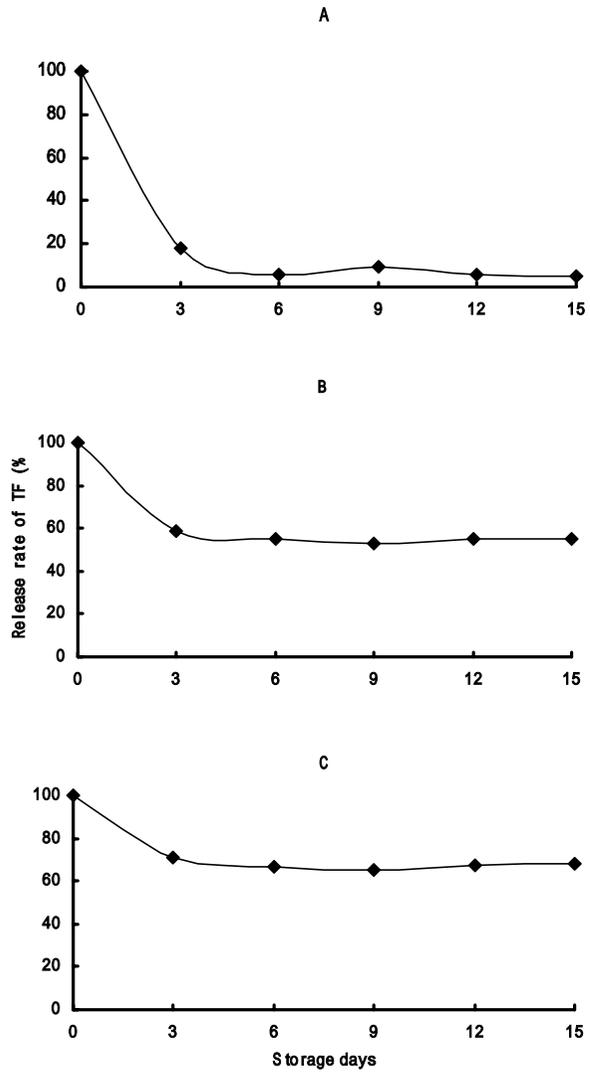


Fig. 23 Release rate of total flavonoids from gelatin based edible films as a function of storage day at 10°C. A; PE 0.035%, B; PE 0.07%, C; PE 0.105%

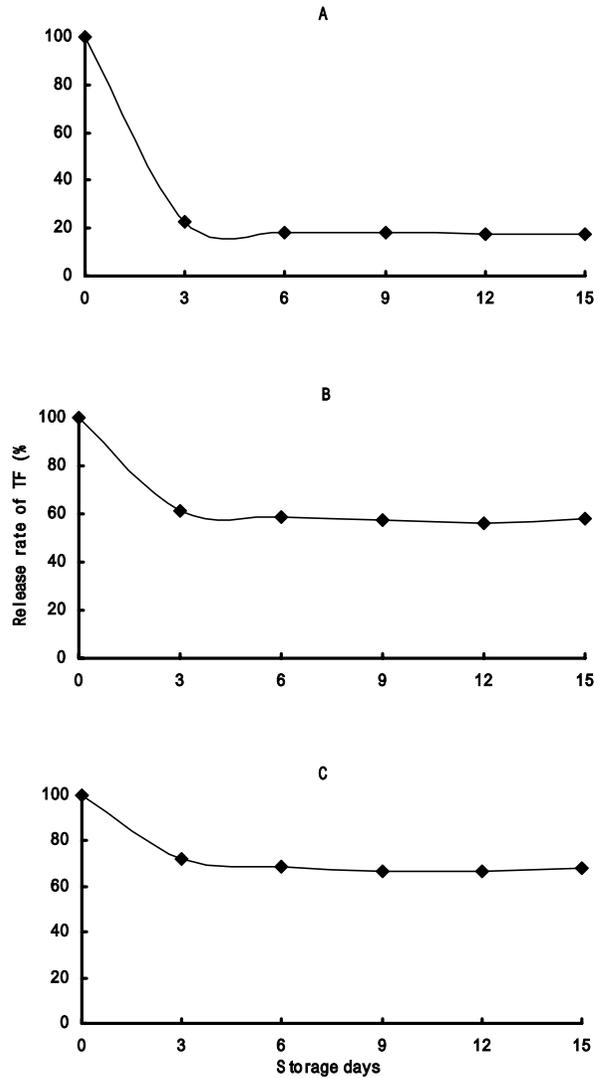


Fig. 24 Release rate of total flavonoids from gelatin based edible films as a function of storage day at 25°C. A; PE 0.035%, B; PE 0.07%, C; PE 0.105%

Table 21. Release rate constant and half life of total flavonoids from gelatin based edible films depend on the relative humidity and the amount of propolis extract (PE)

	Storage temp(°C)	PE (%)		
		0.035	0.07	0.105
R ²	0	0.446	0.479	0.450
	10	0.519	0.473	0.468
	25	0.470	0.506	0.534
R ² (first order)	0	0.546	0.506	0.456
	10	0.691	0.485	0.473
	25	0.528	0.529	0.554
Slope	0	-0.165	-0.044	-0.023
	10	-0.168	-0.030	-0.020
	25	-0.089	-0.029	-0.021
First order constant	0	0.165	0.044	0.023
	10	0.168	0.030	0.020
	25	0.089	0.029	0.021
Half life (day)	0	4.197	15.604	29.894
	10	4.119	22.873	34.912
	25	7.783	24.070	33.256

2. Edible film의 유통모델에서의 품질유지 효과실험

붕교/젤라틴 edible film을 겔제품의 품질유지용 포장재로 활용하기 위하여 유통모델을 통한 실험을 실시하였다. 겔제품은 옥수수 전분겔 (농도 30%)을 제조하여 호화 냉각후 직경 5cm, 높이 2cm의 원통형 용기에 일정량씩 담고 젤라틴/붕교 edible film이 접착된 뚜껑을 덮고, 0, 10, 25°C 조건에서 5주간 저장하면서 접착된 젤라틴/붕교 edible film에서의 총 플라보노이드의 방출량, 겔제품의 수분변화, 겔제품의 강도 등의 변화를 관찰하였다. Fig. 25는 붕교/젤라틴 edible film으로부터 저장온도와 기간에 따른 총플라보노이드의 방출량 변화를 나타낸 것이다. 붕교의 첨가량 0.035, 0.07 및 0.105%로 달리하여 제조한 edible film에서 총플라보노이드의 방출량은 저장온도 0, 10 및 25°C 모두에서 저장기간 2주까지는 비교적 빠르게 진행되었고, 이후 5주까지는 완만한 방출속도를 보였다. 겔제품의 저장기간중 수분함량 변화를 Fig. 26에 나타내었는데, 0°C 에서는 저장기간 전체에 걸쳐 붕교의 첨가량에 따른 겔제품에 있어서 수분함량의 큰 변화를 보이지 않았으나, 5주후 붕교 0.105%가 첨가된 edible film의 경우 다른 처리구와 대조구에 비하여 비교적 높은 수분함량을 유지하는 결과를 보였다. 10°C 저장에 있어서는 처리구와 대조구 모두 저장기간 4주까지는 수분함량의 큰 변화가 없었으나 5주 경과시 대조구에 비하여 edible film 처리구 모두가 수분유지 효과를 보여주고 있다. 이는 붕교/젤라틴 edible film이 대조구 film보다 수분투과를 억제하는 효과가 있음을 증명하는 결과로 해석할 수 있다. 한편, 25°C 온도에서 저장한 경우 저장기간 1주가 경과하면서 겔제품이 부패하면서 품질이 유지되지 않아 겔제품의 품질유지를 위한 edible film의 적용시 유통온도 25°C에서는 1주일 이내로 유통기한을 설정하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

전분 겔제품의 품질인자중 중요하게 취급되는 겔의 강도변화를 Fig. 27에 나타내었다. 0°C 저장인 경우 edible film 처리구 및 대조구 모두 겔의 강도는 저장기간중 큰 변화를 보이지 않았으나, 25°C 저장인 경우 전반적으로 저장기간이 경과함에 따라서 겔강도는 서서히 증가하였는데, 이는 저장온도가 증감함에 따라서 겔로부터의 수분증발이 발생하여 겔강도의 증가가 일어났기 때문인 것으로 설명할 수 있다.

따라서 붕교/젤라틴 edible film을 겔제품의 포장재로 활용할 경우 5주 경과

시점까지의 총플로노이드의 잔존율은 57~62% 정도를 보임과 동시에 수분손실 방지 및 켈강도 유지등과 같은 품질 안정성을 제공하는 잇점이 있어 켈제품의 유통기간중 품질유지를 위한 기능성 edible film 포장재로의 활용가능성이 있을 것으로 예측된다.

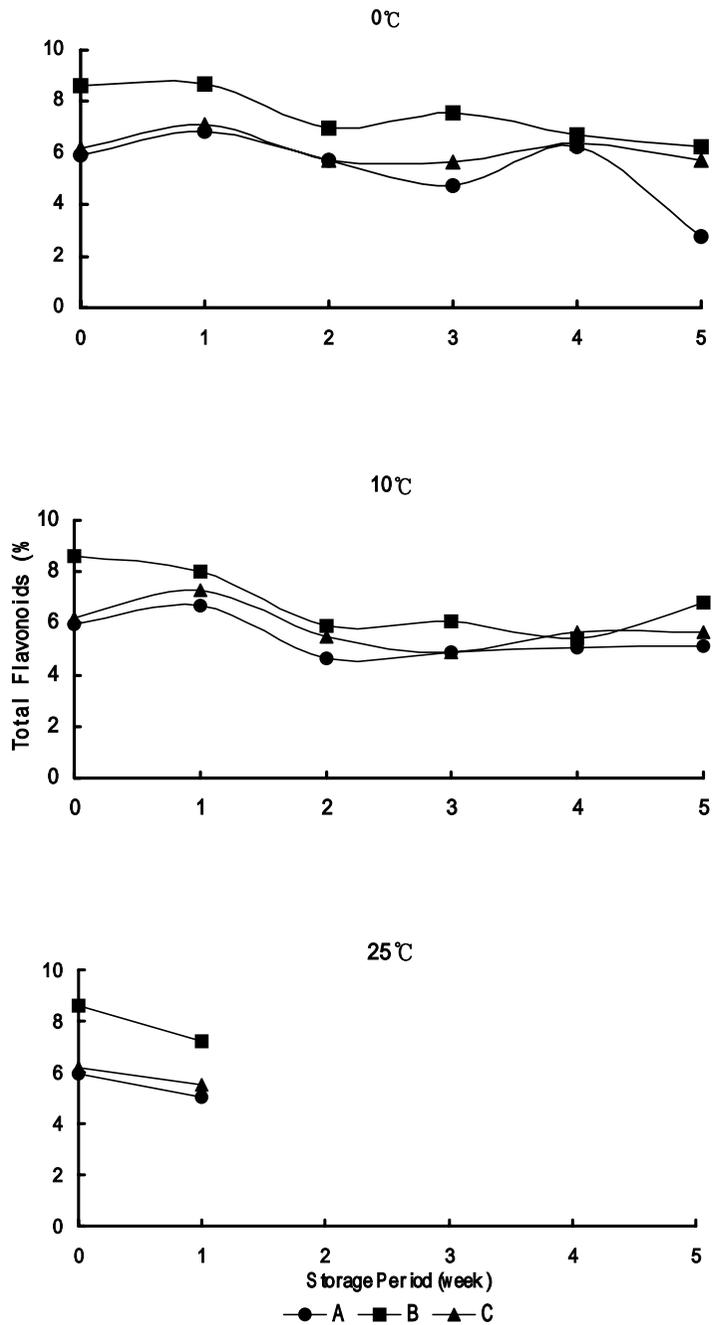


Fig. 25 Release of total flavonoid from the starch gel food during storage depend on the storage temperature and propolis addition

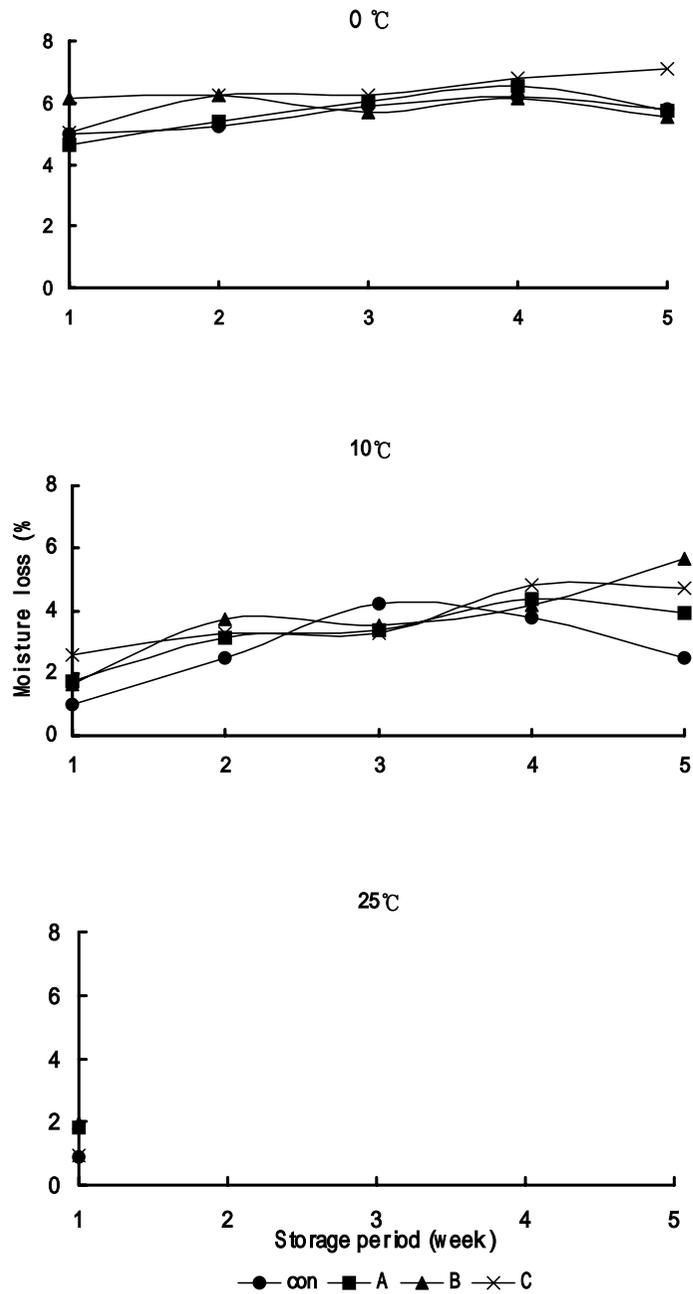


Fig. 26 Effect of gelatin based films on the moisture loss of the starch gel food during storage

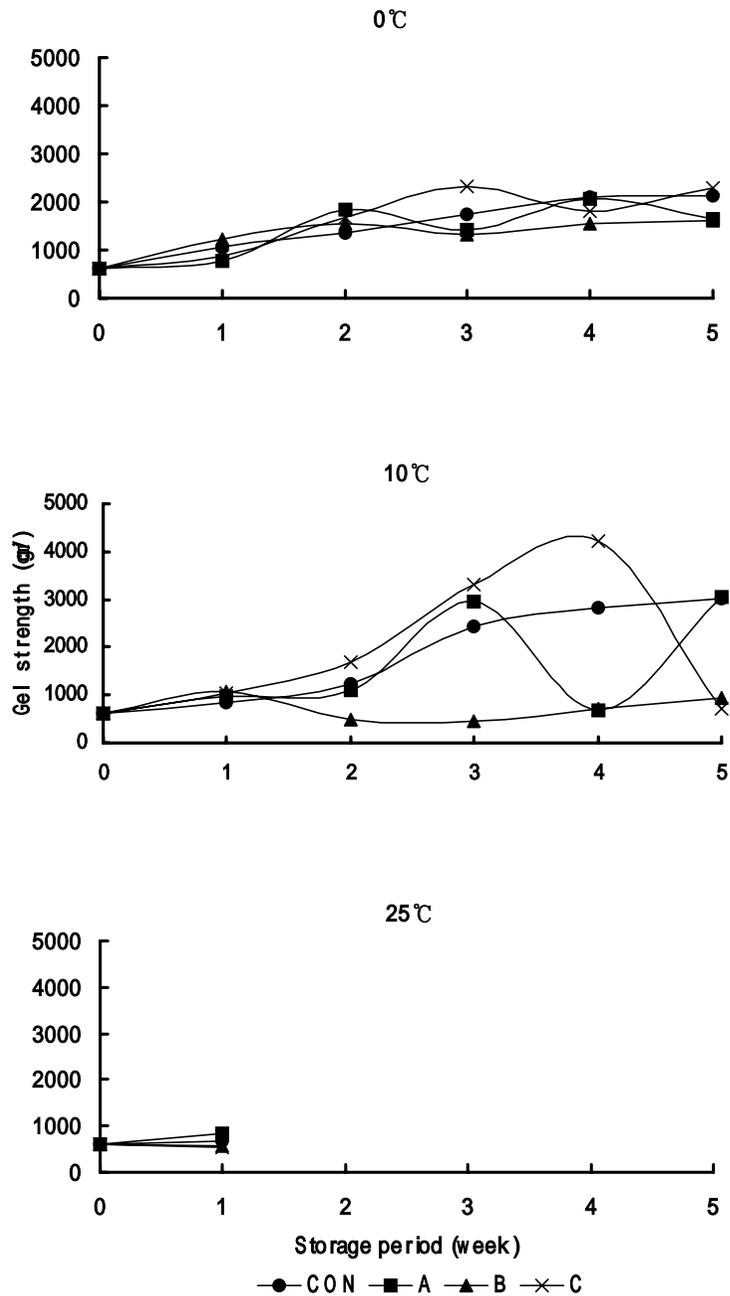


Fig. 27 Effect of gelatin based films on the gel strength of the starch gel food during storage at different temperature

액상식품용 edible film의 적용실험을 위하여 국내산 어유에서 추출한 DHA의 산화안정성 효과를 분석한 결과를 Fig. 28에 나타내었다. DHA에 대하여 붕교 추출물을 0.28, 0.56 및 0.84% 첨가하고 저장기간중 과산화물가(POV)의 변화량을 측정된 결과 초기 유도기 1주일이 경과하면서 대조구의 경우 과산화물가는 50 meq/kg을 보였으며, 2주가 경과하면서 116 meq/kg으로 최대값을 보인 후 5주까지는 서서히 감소한 경향을 보여 주었다. 반면 붕교 추출물이 첨가된 처리구에서는 2주 경과 후부터 붕교 첨가량에 비례하여 20 meq/kg 이하의 과산화물가를 유지하는 안정성을 보였다. 따라서 붕교 추출물을 DHA 포장용 단백질 캡슐의 edible film으로서 활용이 가능함을 확인할 수 있었다.

DHA가 300mg 함유된 연질캡슐에 붕교추출물이 0.8% 함유된 붕교/젤라틴 edible film 형태로 제조하여 40°C 조건에서 90일간 저장중 품질안정성을 과산화물가의 변화량을 측정하여 분석한 결과를 Fig. 29에 나타내었다. 대조구 DHA 함유 연질캡슐의 경우 20일이 경과하면서 과산화물가가 50 meq/kg으로 급속하게 증가되기 시작하면서 저장기간 90일 까지 지속적으로 증가되는 경향을 나타내었다. 한편, 붕교의 첨가량이 0.28, 0.56 및 0.84%인 edible film의 경우 첨가량에 비례하여 과산화물가가 감소되어 90일 저장후 전반적으로 30~70 meq/kg의 범위를 보이는 결과를 보였다. 따라서 붕교/젤라틴 복합체를 이용하여 산화에 민감한 지방 또는 고도불포화지방산 등과 같은 성분들의 산화방지를 위한 edible film으로의 활용은 국내의 큰 규모로 성장하고 있는 기능성 식품시장에서 고품질 유지 및 안정성 확보를 위한 포장기술로서 가치가 있다고 판단된다.

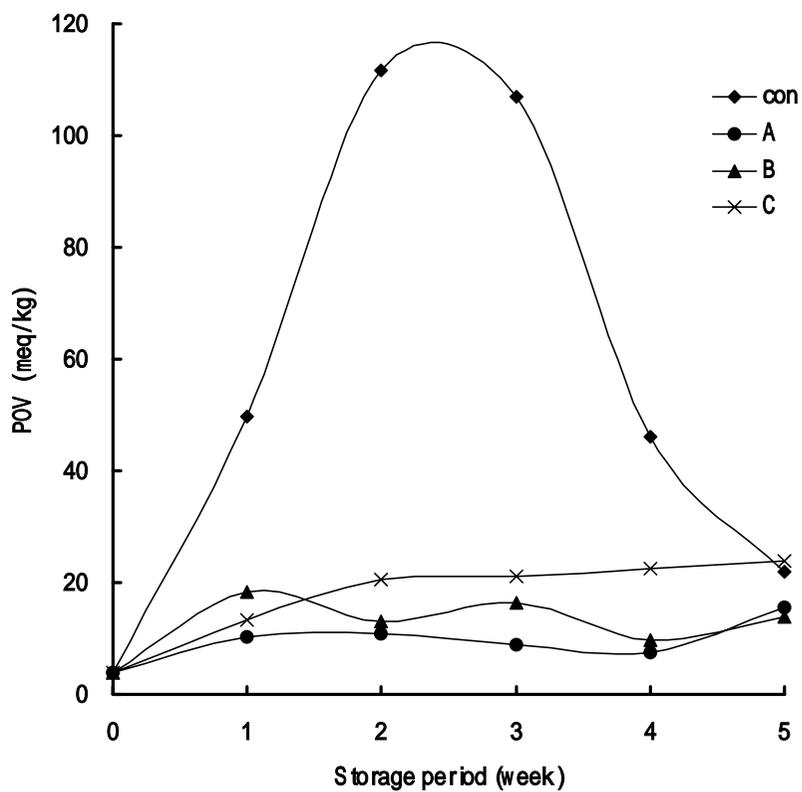


Fig. 28 Effect of propolis extract on the stability of DHA during storage. CON; control, A; PE 0.28%, B; PE 0.56%, C; PE 0.84%

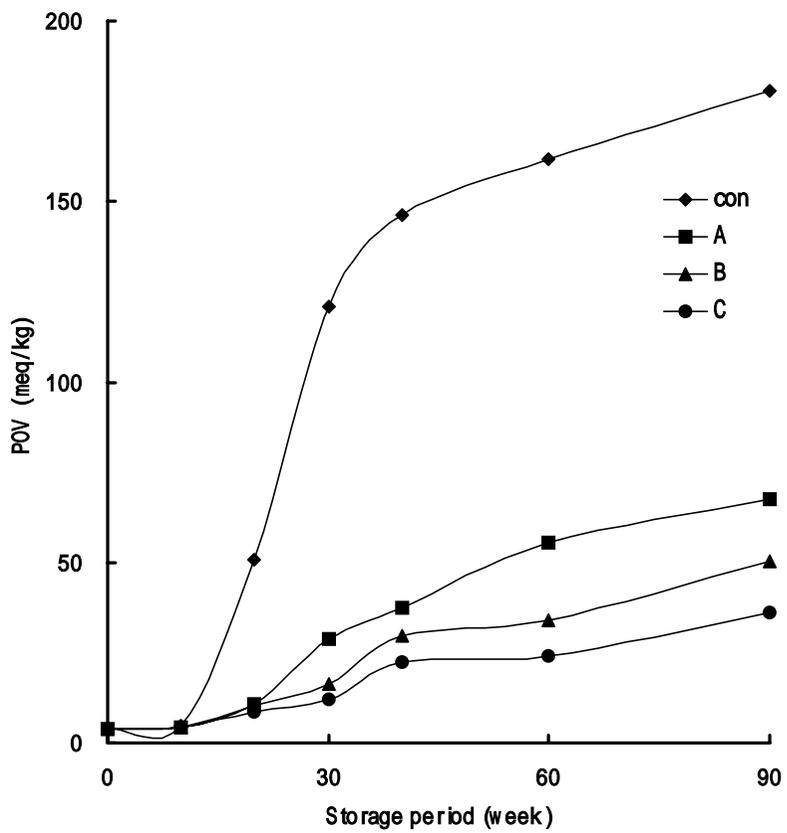


Fig. 29 Stability of DHA which encapsulated in gelatin/propolis based edible film. CON; Control, A; PE 0.28%, B; PE 0.56%, C; PE 0.84%

3. 봉교복합 Edible film의 용도별 규격화 및 상업화

가. Edible film의 용도별 규격화

본 연구결과를 통하여 실험실적 규모로 개발된 봉교복합체를 주성분으로 하는 전분, 단백질 및 셀룰로오스계 edible film의 제조기술을 적용할 대상 식품의 종류에 따른 형태와 품질규격은 상업적으로 활용함에 있어서 중요한 품질 관리 인자가 된다.

Table 22. Tensile properties of selected protein films compared to polysaccharide and synthetic polymer films

Film *	Tensile strength** (MPa)	Elongation** (%)
Co:Ce:Gly=3.4:0.8:1	3-11	25-50
SC:Gly=2:1	3	30
CC:Gly=2:1	4	1
WPI:Gly=2.3:1	14	31
WPI:Sor=1.2:1	2-3	28-53
WPC:Gly=2:1	3	21
EWP:Gly=3.3:1	4	12
EWP:PEG=1.7:1	3	88
SPI:Gly=4:1	13	17
CZ:PEG=2.33:1	6	44
WG:Gly=2.7:1	2-4	170-208
Cellophane	55-124	16-60
Methyl cellulose	62	10
HPMC	69	10
Amylose	70	23
LDPE	9-17	500
HDPE	17-35	300
PP	42	300
OPP	165	50-75
Polyester	175	70-100
Polystyrene	35-55	1

*Co=collagen; Ce=cellulose; Gly=glycerol; SC=sodium caseinate; CC=calcium caseinate; WPI= whey protein isolate; Sor=sorbitol; WPC= whey protein concentrate; EWP=egg white protein; PEG=polyethylene glycol; SPI=soy protein isolate; CZ=corn zein; WG=wheat gluten; HPMC=hydroxy propyl methylcellulose; LDPE=low-density polyethylene; HDPE=high-density polyethylene; PP=polypropylene; OPP=oriented polypropylene.

** Test conditions: ~25, 50% RH

따라서 봉교복합 edible film을 기능성 식품포장 고분자로서 활용하기 위한 규격사항을 살펴보면 다음과 같다. 먼저 봉교복합 edible film 제조시 film을 구성하는 주성분중 단백질 film과 다당류와 합성고분자 film의 조성비에 따른 전형적인 물리적 특성범위는 Table 22와 같다.

Table 23. Effect of plasticizer type and amount on properties of selected protein films

Film ¹⁾	Treatment	WVP ²⁾ (g · mm/ m ² · d · kPa)	OP ³⁾ (cm ³ · μm/m ² · d · kPa)	TS ⁴⁾ (MPa)	EM ⁴⁾ (MPa)	E ⁴⁾ (%)
WPI:Gly=2.3:1	Gly plasticizer		76	14	490	31
WPI:Gly=5.7:1	Gly plasticizer		19	29	1100	4
WPI:Sor=2.3:1	Sor plasticizer		4.3	14	1040	2
EWP:Gly=3.3:1	Gly plasticizer	211		4		12
EWP:Gly=2:1	Gly plasticizer	256		1		32
EWP:PEG=2:1	PEG plasticizer	149		4		60
EWP:Sor=2:1	Sor plasticizer	118		4		15
SC:Gly [‡]	Gly plasticizer	4.3		5		81
SC:PEG [‡]	PEG plasticizer	8.6		12		41

¹⁾WPI= whey protein isolate; EWP=egg white protein; SC=sodium caseinate; Gly=glycerol; Sor=sorbitol; PEG=polyethylene glycol.

²⁾ WVP=water vapor permeability. Test condition: 25°C, 50%/70-80% RH (film top/bottom).

³⁾ OP=oxygen permeability. Test condition: 23°C, 50% RH.

⁴⁾ TS=tensile strength; EM=elastic modulus; E=elongation. Test condition: ~23°C, 50% RH.

[‡] Same moles plasticizer oxygen atoms/moles SC.

단백질 film은 대부분의 다당류와 합성고분자 film보다 tensile strength(TS)가 낮고, elongation(E)도 합성 film보다 낮은 것이 특징이다. 가소제는 film의 물성에 매우 극단적인 효과를 제공하는데, 가소제의 첨가량이 증가되면 TS와 탄성도가 감소되게 된다. 또한 가소제의 함량이 증가하면 permeability와 elongation이 비례적으로 증가하는 반면 TS와 탄성도가 감소한다. Table 23은 대표적인 단백질 film에 있어 가소제의 종류와 첨가량에 따른 물리적 특성을 나타내고 있다.

나. 봉교복합 Edible film의 제조공정도

Fig. 30-32는 봉교를 원료로 한 전분, 셀룰로오스, 젤라틴 edible film의 제조공정도를 나타낸 것이다.

1) 봉교/전분 edible film

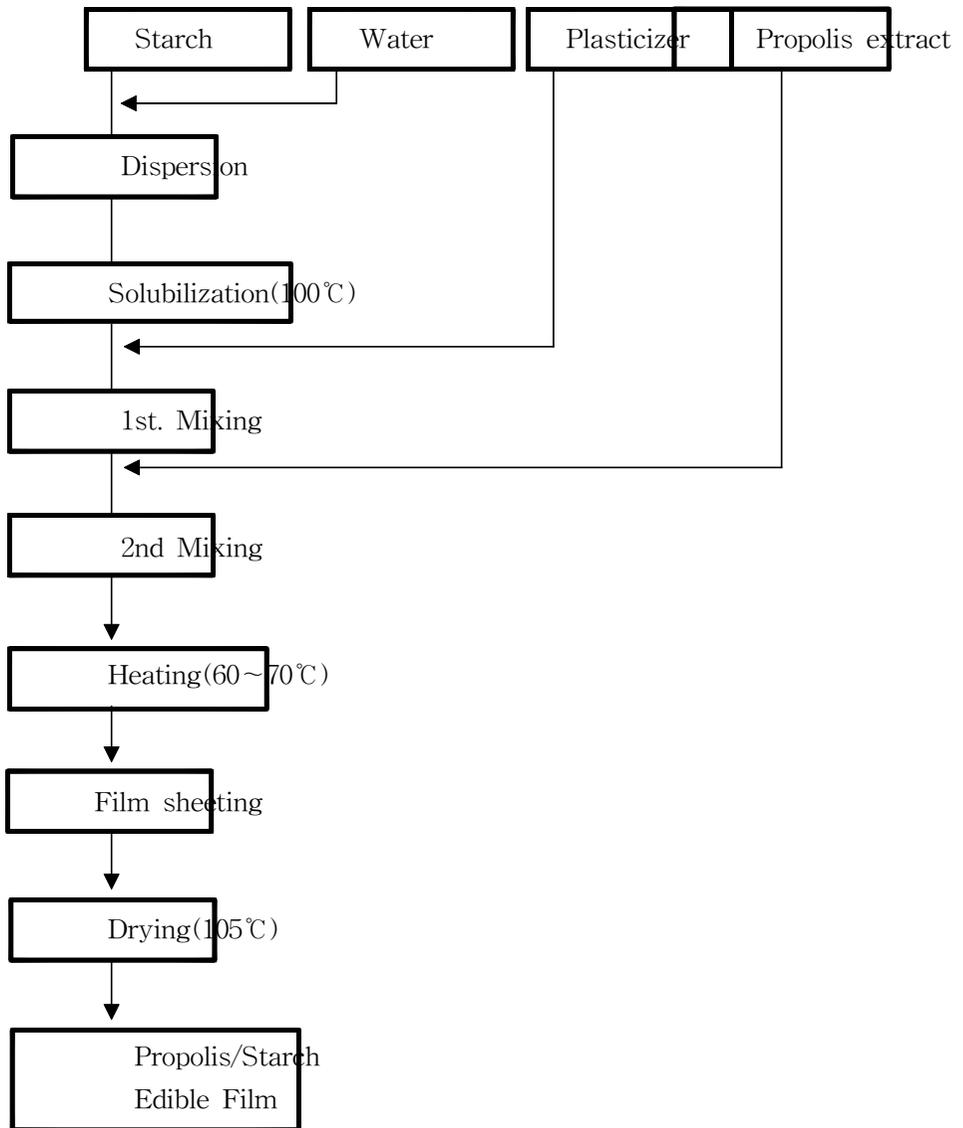


Fig. 30 Flow chart for the preparation process of starch based edible film

2) 봉교/셀룰로오스 edible film

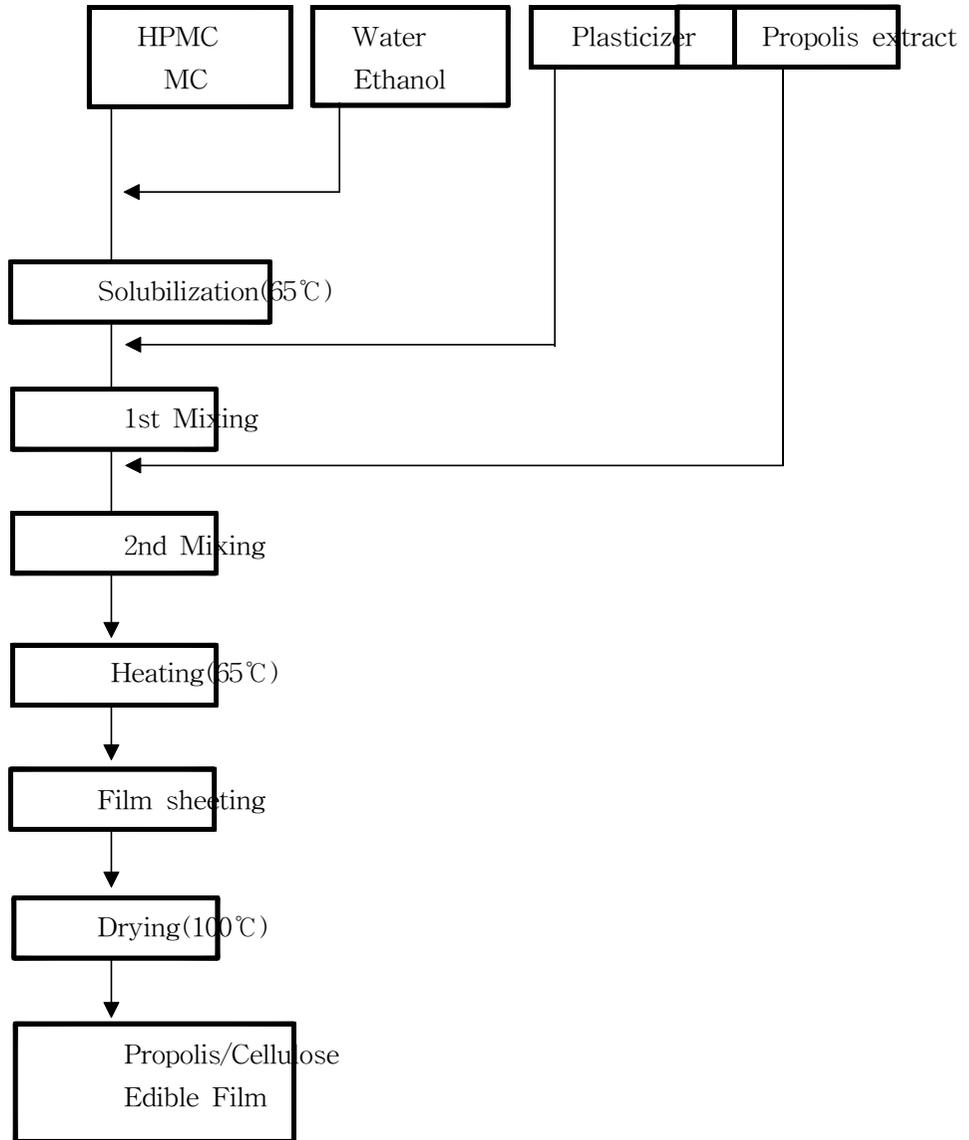


Fig. 31 Flow chart for the preparation process of cellulose based edible film

3) 봉교/젤라틴 edible film

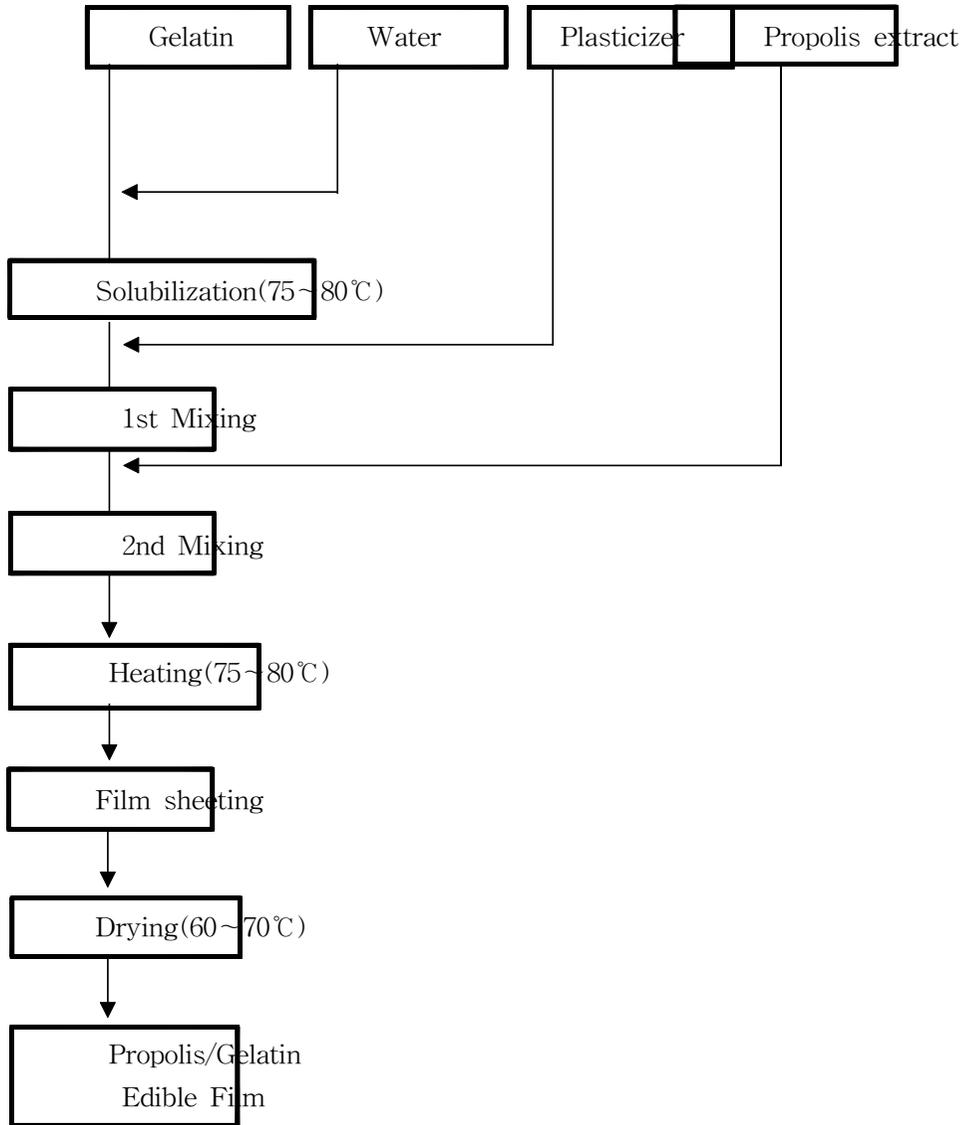


Fig. 32 Flow chart for the preparation process of gelatin based edible film

다. Edible film의 상업적 제조공정

Fig. 33에 edible film의 상업적 제조공정도를 나타내었다. 각 단위공정별 기술적인 사항과 공정변수에 대한 설명은 다음과 같다.

1) 원료 저장고

Edible film 제조용 원료는 전분, 셀룰로오스, 젤라틴 등과 같은 다당류와 단백질 소재를 주로 사용하며, 원료의 입자 크기에 따라서 물리적 특성 즉, 분체 흐름성과 흡습도 등을 고려하여 저장조의 각도와 방습기능을 갖는 구조로 설계되어야 한다. 또한 계량 공급장치를 포함하여야 한다.

2) 부원료 저장고

가소제 및 기타 첨가제 등을 일정하게 공급할 수 있는 저장고로서 원료저장고와 동일한 기능을 갖게 설계되어야 한다.

3) 증류수 및 용매탱크

edible film 원료를 용해시키기 위한 증류수 또는 용매 탱크로서 유기용매에 대하여 부식성이 없는 재질과 용매의 증기가 방출되지 않도록 밀폐가 잘 되어야 하며, 유량계가 부착되도록 설계되어야 한다.

4) 혼합장치

edible film의 원료물질은 대부분이 고분자 물질로서 점성이 높기 때문에 혼합이 용이하지 않다. 따라서 균일한 혼합과 점성이 있는 물질이송이 수행될 수 있도록 점성액체용 혼합기 또는 static mixer를 사용하여야 하며, 점성이 있는 액체 수송용 motor를 사용하여야 한다.

5) 가열장치

가열장치는 고분자 원료의 용해를 위하여 물질의 용점이상으로 가열하기 위한 장치로서 혼합장치에 부착하거나 혼합과 가열을 동시에 수행할 수 있는 장치로 설계하는 것이 바람직하다.

6) 분배장치

분배장치는 고분자 용액을 제조하려는 최종 edible film의 두께를 결정하는 장치로서 고분자 용액을 균일하게 공급하여 제품의 균일성을 유지하게 하는 공정이며, 따라서 정량적으로 조절이 가능한 분배장치를 설치하여야 하고, edible film의 품질을 결정하는 중요한 단계이다.

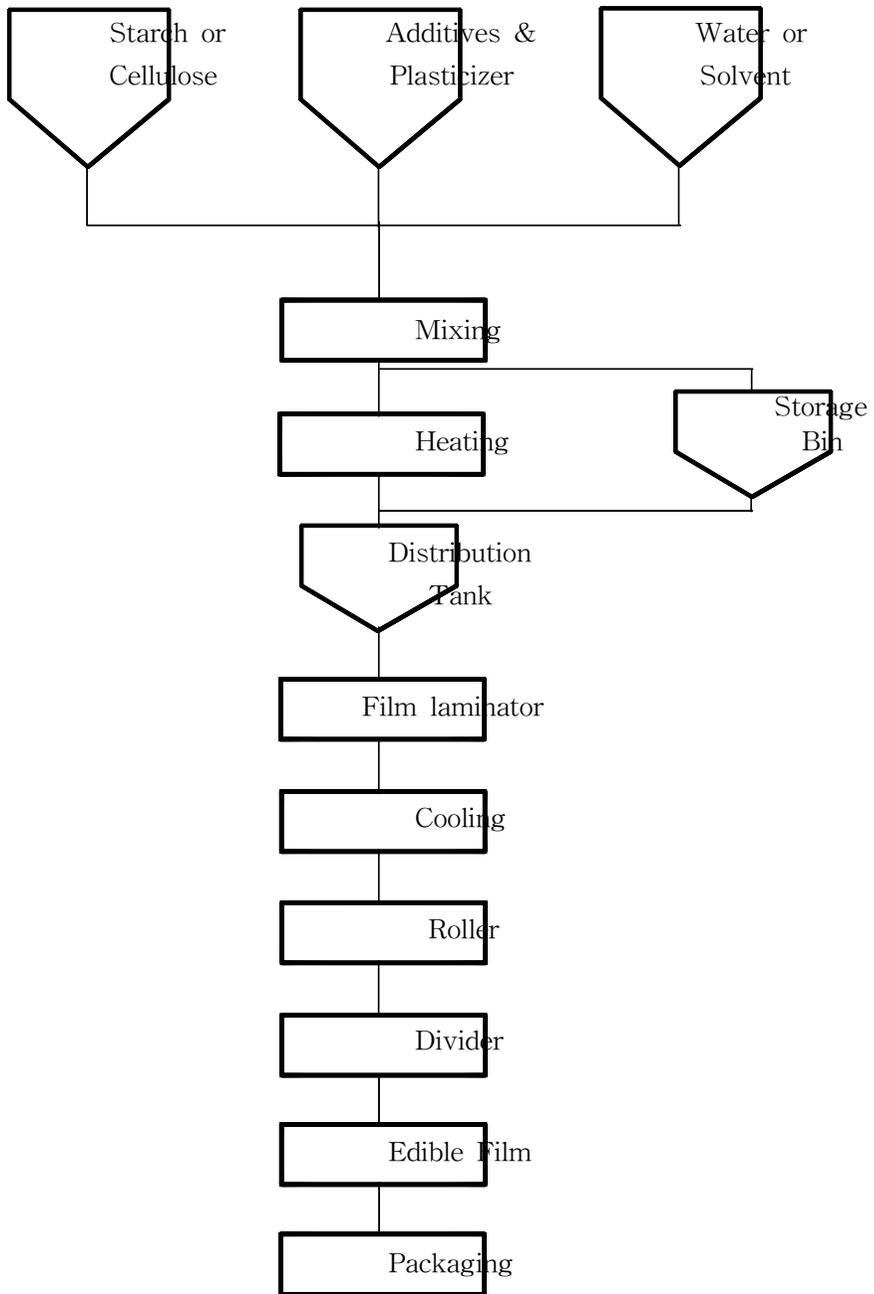


Fig. 33 Flow chart for processing of edible film in commercial production

7) Film Laminator

분배장치와 동시에 edible film의 두께조절과 제품의 품질을 좌우하는 단계로서 edible film 막을 결정하는 공정이기 때문에 정밀한 공정관리가 요구된다.

8) 냉각기

수분함량이 높은 edible film의 표면수분과 이그러짐을 방지하기 위한 냉각 단계로서 공냉식과 냉풍유입식이 사용되며, 설비투자비를 고려하여 결정한다.

9) Roller

제조된 edible film을 보관 및 운송이 용이하도록 film 원형을 감아서 보관할 수 있도록 하는 공정으로서 습도와 온도조절이 요구된다.

10) Divider

edible film을 포장대상 식품의 종류에 따른 재원과 규격에 맞게 절단 또는 재단하는 공정으로서 정량적이고 청결한 공정으로 이루어 질 수 있도록 설계되어야 한다.

11) Edible film 포장

최종 edible film 제품을 포장하는 단계로서 제품의 재원에 맞는 자동 또는 반자동 포장기를 사용한다.

4. Edible film 생산의 경제성 분석

국내 edible film의 시장규모는 정확하게 보고되고 있지는 않지만 생분해성 고분자 시장의 10% 정도로 시장형성이 되어 있는 것으로 추정할 때 연간 약 30톤 정도가 된다. 따라서 edible film 단일품목의 시장성과 상품성은 경쟁력이 없기 때문에 시장규모의 확대와 안정적인 시장 구축을 위하여는 edible film 제품의 개발에 대한 지속적인 연구개발이 필연적이다. 본 절에서는 봉고복합 edible film의 상업화전 경제성 분석을 소규모 생산규모로 생산하는데 있어서 시설설치를 위한 초기 설비투자비와 기동기간에 소요되는 연간 운영비를 산출하여 제품출고가를 산정하고 주 기계설비의 감가상각기간 동안 발생하는 수익의 흐름을 분석하여 타당성 여부를 판단하였다.

표 24는 봉고복합 edible film을 생산하는 공장의 시설자금 투자내역을 나타낸 것이다. 초기 설비투자비는 저장고, 혼합설비, 가열설비, film laminator, 냉각설비, Roller, Divider, 포장설비 등의 310 백만원과 공통설비 140 백만원을 합하여 450 백만원, 주건물, 부속건물 및 폐수처리시설 건설공사비 380 백만원, 평당 15만원하는 대지 1,000평의 토지구입비 150 백만원 등이 소요된다. 또한, 공장건설을 위한 설계용역비와 창업비를 포함하여 착공이전단계에 소요되는 착공이전비용은 6천만원이 소요된다.

표 25는 봉고복합 edible film 5,000 m²를 생산하는데 소요되는 제조비용을 나타낸 것이다. 제조비용은 직접재료비가 3 백22만원, 간접재료비가 1억 5천6백만원, 노무비가 1억 3천만원, 제조경비가 1억 4천만원 등 18억 3천 7백만원에 달하는 것으로 나타났다. 여기에 판매 및 일반관리비가 9천7백만원, 제조원가와 판매 및 일반관리비의 10%로 계상한 이윤 1억 8천3백만원을 합하여 기업체 입장에서의 판매수입에 해당하는 세전출하액은 21억 3천만원 인 것으로 나타났다. 여기에 세전출하액의 10%인 부가가치세액 2억 3천3백만원을 합하면 최종 출하액은 23억 4천3백만원에 이르는 것으로 나타났다. 이상에서의 결과를 봉고복합 edible film 1m²당 원가로 환산하면 직접재료비가 624원, 포장재료비가 270원, 노무비 18원, 제조경비 20원 등 전체가 3만6천7백원이 소요된다. 제조원가에 판매 및 일반관리비 13원과 이윤(제조원가+판매 및 일반관리비의 10%) 3,600원을 더한 세전출고가격은 40,313원이 되며, 10%의 부가가치세 4,031원을 추가로 더하면 최종 공장출고가격은 44,344원에 달한다. 이같은

가격은 시판중인 기능성 식품포장재의 가격과 비슷하거나 약간 높은 가격인 것으로 판단되며, 상업적 생산을 위한 공장설계와 현장생산 공정에 있어서 원가절감을 위한 기술적인 문제와 방법을 고려해야 할 것으로 판단된다.

표 24. Edible film 제조공장의 시설자금 투자내역

항 목	수 량	평균단가	금 액
착 공 이 전 비 용			60,000 천원
토지구입 및 토목공사비			300,000 천원
토지구입비	1,000평	150천원	150,000 천원
토목공사 및 녹지조성			150,000 천원
건 설 공 사 비			380,000 천원
주건물 건설비	120평	1,200천원	144,000 천원
부대시설 건설비	120평	1,200천원	144,000 천원
전기시설비	240평		22,000 천원
폐수처리시설			70,000 천원
기 계 설 비 비			450,000 천원
저장고			20,000 천원
혼합설비			30,000 천원
가열설비			50,000 천원
film laminator			70,000 천원
냉각설비			20,000 천원
Roller			30,000 천원
Divider			20,000 천원
포장설비			50,000 천원
공통설비			140,000 천원
총 계			1,190,000 천원

표 25. 봉교복합 edible film의 출고가 구성

(단 위 : 원)

항 목		총원가	1 m ² 당 원가
직접재료비	봉교	1,550,000	310.00
	전분	200,000	40.00
	HPMC	350,000	70.00
	MC	300,000	60.00
	젤라틴	270,000	54.00
	Glycerol	280,000	56.00
	PEG	170,000	34.00
	계	3,120,000	624.00
간접재료비	PP film	200,000	40.00
	PE film	250,000	50.00
	레이블	300,000	60.00
	내포장 상자	400,000	80.00
	외포장상자	200,000	40.00
	계	156,000,000	270.00
노무비	공장장	31,070,838	4.32
	사무직	15,534,971	2.16
	기술직	23,302,905	3.24
	기술공	24,857,029	3.45
	기타	37,643,154	5.23
	계	132,408,896	18.39
제조경비	복리후생비	9,679,668	1.34
	전력비	9,830,241	1.37
	수도광열비	4,317,273	0.60
	감가상각비	43,760,918	6.08
	세금과공과	3,191,028	0.44
	지급임차료	8,728,400	1.21
	보험료	1,126,245	0.16
	수선비	6,663,617	0.93
	외주가공비	6,851,325	0.95
	운반하역보관비	13,890,357	1.93
	연구개발비	563,123	0.08
	기타경비	33,599,646	4.67
	계	142,201,839	19.75
제 조 원 가		1,837,730,735	367,546.15

표 25. 봉교복합 edible film의 출고가 구성 (계속)

(단위 : 원)

항 목		총원가	1 m ² 당 원가
판매 및 일반관리비	임금,급여,상여	35,850,622	4.98
	퇴직금	2,987,253	0.41
	복리후생비	1,613,278	0.22
	수도광열비	719,694	0.10
	세금과공과	1,529,351	0.21
	지급임차료	3,238,625	0.45
	감가상각비	4,289,853	0.60
	접대비 및 기밀비	779,669	0.11
	광고선전비	14,573,813	2.02
	경상연구개발비	179,924	0.02
	보험료	1,019,567	0.14
	운반하역보관비	5,457,683	0.76
	대손상각	119,949	0.02
	기 타	24,529,587	3.41
	계		96,888,868
이윤(제조원가·판매 및 일반관리비 10%)		1,830,000,000	36,660
세 전 출 고 가		2,130,192,694	40,313
부가가치세(세 전출고가의 10%)		213,019,269	4,031
세 후출고가		23,431,926,940	44,344

참 고 문 헌

1. Rubio, O.C., Cuella, A.C., Rojas, N., Castro, H.V., Rastrelli, L. and Aquino, R. A polyisoprenylated benzophenone from Cuban propolis. *J. Nat. Prod.* **62**: 1013-1015 (1999)
2. Grange, J.M. and Davey, R. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. Roy. Soc. Medicine* **83**: 159-160 (1990)
3. Chernyak, N.F. On synergistic effect of propolis and some anti-bacterial drugs. *Antibiotiki* **18**: 259-261 (1973)
4. Scheller, S., Wilczok, T., Imielski, S., Krol, W., Gabrys, J. and Shani, J. Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. *Int. J. Radiation Biol.* **57**: 461-465 (1990)
5. Dimov, V., Ivanovska, N., Bankova, V. and Popov, S. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. *Vaccine* **12**: 1-7 (1992)
6. Walker, P. and Crane, E. Constituents of propolis. *Apidologie* **18**: 327-334 (1987)
7. Greenway, W., May, J., Scaysbrook, T. and Whatley, F.R. Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis. *Zeitschrift fur Naturforschung* **46**:111-121 (1990)
8. Shigemi, T., Tsutomu, W. and Tadataka, N. Studies on the constituents of Brazilian propolis. II. *Chem. Pharm. Bull.* **47**: 1388-1392 (1999)

9. Tomoki, T., Noboru, I., Tsunetaka, O., Shigeyuki, A., Masao, I. and Masashi, K. Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis which enhance macrophage spreading and mobility. *Biol. Pharm. Bull.* **19**: 966-970 (1996)
10. Katsuhiko H., Sadaaki, K., Noriko, I., Nobuko, O. and Kunio, Y. Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis: 3,4-Dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chem. Pharm. Bull.* **47**: 1521-1524 (1999)
11. Lejeune, B., Pourrat, A. and Dehmouche, H. Propolis utilization en democosmetologie. *Parfums, Cosmetique, Aromes* **82**: 73-77 (1988)
12. Krell, R. Value-added products from beekeeping. pp. 161-166. FAO, Rome, Italy (1996)
13. Mizuno, M. Propolis- or its extract-containing resin compositions. Japanese Patent JP 01 245 058 [89 245 058] (1989)
14. Mizuno, M. Food packaging materials containing propolis as a preservative. Japanese Patent JP 01 243 974 [89 243 974] (1989)
15. Donadieu, Y. La propolis. pp. 36-39. Edition Malonie, Paris (1979)
16. Bonomi, A., Marletto, F. and Bianchi, M. Use of propolis in the food of laying hens. *Revista di Avicoltura* **45**: 43-55 (1976)
17. Kim, C. T., Lee, S. J., Hwang, J. K., Kim, C. J. and Ahn, B. H. Effect of propolis addition on the shelf-life and staling of white bread. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**: 982-986 (1997)

18. Obregon, F.A.M. and Rojas, H.N. Antimicrobial action of alcoholic extracts of propolis. *Revista Cubana de Farmacia* **24**: 34-44 (1990)
19. Debuysse, E. These pour diplome de docteur en pharmacie, pp. 34-41. In: La propolis, Fac. Pharmacie, Nantes, France (1984)
20. Kim, C. T., Kim, C. J., Cho, Y. J., Choi, A. J. and Shin, W. S. Characteristics of propolis extracts from ethanol extraction. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**(6): 941-946 (2002)
21. AOAC. Method of Analysis for Nutrition Labelling. pp. 139-140. 1st. ed. AOAC International, Arlington, VA, USA (1993)
22. Rodriguez, E.G., Abellan, B., Villanueva, M.T.O. Macroelements in dietetic products containing propolis. *Food Chem.* **66**: 15-19 (1999)
23. Aparna, A.R. and Rajalakshmi, D. Honey-its characteristics, sensory aspects, and applications. *Food Rev. Int.* **15**: 455-471 (1999)
24. Radovic, B.S., Careri, K., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M. and Anklam, E. Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chem.* **72**: 511-516 (2001)
25. Pepelinjak, S. and Jalsenjak, I. Use of propolis extract for preserving food against microbiological contamination. *Microbiologie-Aliments-Nutrition* **2**: 301-306 (1984)
26. McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R. and Krochta, J. M. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *J. Food Sci.* **58**(4), 899-903 (1993)

27. Miller, K. S., Chiang, M. T. and Krochta, J. M. Heat curing of whey protein films. *J. Food Sci.* **62**(6), 1189–1193 (1997)
28. Kim, Y. M., Paik, H. D. and Lee, D. S. Shelf-life characteristics of fresh oysters and ground beef as affected by bacteriocin-coated plastic packaging film. *J. Sci. Food Agric.* **82**, 998–1002 (2002)
29. Shamekh, S., Myllärinen, P., Poutanen, K. and Fossell, P. Film formation properties of potato starch hydrolysates. *Starch* **54**, 20–24 (2002)
30. Kester, J. J. and Fennema, O. An edible film of lipids and cellulose ethers: Barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. *J. Food Sci.* **54**(6), 1383–1389 (1989)

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서의 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.