

664  
L293A

최 종  
연구보고서

식품산업 부산물을 이용한 가식성필름의 제조기술 개발  
및 산업화에 대한 연구

Development of Edible Films from Food Industry  
By-products and Its Industrialization

고려대학교  
응용생명환경화학과

농 립 부

## 최 종 보 고 서

1998 년도 농림특정연구사업에 의하여 완료한

식품산업 부산물을 이용한 가식성필름의 제조기술 개발 및 산업화에 대한연구에 관한

연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 8부

2. 최종보고서 디스켓 1매

1998 . 10 . 31 .

주관연구기관 : 고려대학교

총괄연구책임자 : 이.철

주관연구기관장 : 김 정



농림부장관 귀하

## 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “식품산업 부산물을 이용한 가식성필름의 제조기술 개발 및 산업화에 대한연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

1998 . 10 . 31 .

주관연구기관명 : 고려대학교

총괄연구책임자 : 이 철

세부연구책임자 : 최 상 운

세부연구책임자 : 박 현 진

연 구 원 : 박 장 우

연 구 원 : 안 덕 준

# 요 약 문

## I. 제 목

식품산업부산물을 이용한가식성필름의 제조기술 개발 및 산업화에 대한연구

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

- 산업의 발달과 더불어 일회용품의 사용빈도가 증가함에 따라 플라스틱 포장 폐기물에 의한 환경오염 문제가 대두되면서 생물자원을 이용한 분해성 포장재의 개발에 관한 연구가 활발히 수행되고 있다. 이들 연구 중 식품 포장과 관련된 것으로서 가식분해성 필름(edible and degradable film)을 들 수 있겠다. 역사적으로 많은 종류의 가식분해성 필름들은 오랜 기간에 걸쳐 식품산업 등에 이용되어 왔으며, 특히 단백질과 cellulose로부터 생산된 필름이 많이 사용되었다. 그러나 플라스틱의 제조가 성공되면서 생물자원으로부터 생산된 이들 필름은 이들의 단점인 분해성에 의해 사장되었다가 다시 이러한 점이 환경 친화적인 장점으로 대두되면서 현재에는 이들 필름에 대한 연구가 국제적으로 활발히 진행되고 있는 실정이다.
- 가식분해성 필름은 식품표면을 coating하거나, 식품의 내포장재로 사용하여 식품을 외부의 충격으로부터 보호하고 식품의 저장수명을 증가시키는

동시에 수증기, 기체 및 용질의 이동을 방지하는 식용 가능한 차단막을 의미한다. 이러한 가식분해성 필름은 기존의 비식용, 비분해성 플라스틱 고분자필름에 비하여 내용물과 포장재가 함께 소비될 수 있어 포장재 폐기물이 발생하지 않으며, 포장재 폐기물이 발생한 경우에도 완전히 가식성 재질로만 제조되었으므로 기존의 고분자재질보다 쉽게 분해되며, 포장재질에 flavor, 색소, 감미료 등의 성분을 첨가하여 내용물에 관능적(organoleptic) 특성을 부여하는 등의 장점을 지닌다. 현재 가식성 필름 및 코팅에 대하여 많은 연구가 되고 있는 생물자원들로는 옥수수 단백질(corn zein), 밀 단백질(wheat gluten), 대두박 단백질(soy protein isolate), 당밀 단백질(sorghum), 우유 단백질(casein, whey), 전분, Polysaccharides 등이 있다. 이러한 생물자원으로부터 생산된 가식성 필름은 기존의 식품 포장재로 쓰이는 고분자 필름에 비해 포장재로서의 물리적 특성과 수분투과에 대한 차단성이 우수하지 못한 단점이 있으며, 식용필름은 식품으로 사용될 수 있는 생물고분자로부터 기원하므로 기존의 플라스틱 고분자 필름보다 가격 경쟁력이 뒤지는 단점을 가지고 있다.

- 따라서 본 연구에서는 식용가능하며 저렴한 가격으로 구할 수 있는 식품 공업 부산물 중 폐기되거나 혹은 저부가가치의 사료 등으로 이용되는 대두공업에서의 부산물인 대두박, 두부비지, 청주제조 공정 중의 주박, 치즈 제조시 제거되는 유청(whey) 단백질 등의 생물자원을 이용하여 이로부터 가식성 필름을 제조하고, 이들의 포장재특성 및 물질투과 차단성을 개선하여 기존의 고분자필름과 가격경쟁력을 지니며 우수한 기능을 가진 환경친화적 가식성 필름을 제조하고자 하였다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

농축산물가공중 발생된 부산물로부터 필름형성 유용물질을 추출하여 가식 성분해 필름의 제조방법을 확립하고, 형성된 필름의 물질 전달에 대한 차단성을 향상시키기 위한 화학적(단위체의 첨가, 소수성 물질의 첨가 등), 물리적(lamination방법 등)방법에 의한 필름의 성질을 변형하여 이를 식품포장분야에 적용하였다.

#### 1. 식품산업 부산물로부터 가식성필름의 제조

가. 식품산업 부산물로부터 필름형성용 단백질의 분리

- 1). 대두박, 두부비지 및 주박으로부터 단백질 추출
- 2). 유청분말로부터 유청 단백질 농축물의 제조
- 3). 추출단백질의 기능성 및 이화학적 특성조사

나. 추출단백질을 이용한 가식성필름의 제조

- 1). 필름형성용액의 pH와 온도의 영향
- 2). 가소제 첨가에 의한 필름의 물성 조절

다. 필름형성에 관여하는 단백질 분획 조사

라. 유청분말을 이용한 생고분자필름의 제조

#### 2. 물리, 화학적 방법을 이용한 가식성필름의 물성개선

가. 화학적 방법을 이용한 가식성필름의 물성개선

- 1). 가교제의 첨가효과

2). 지방산의 첨가효과

3). 필름의 물성에 미치는 가수분해의 효과

나. 물리적 방법을 이용한 가식성필름의 물성개선

1). Lamination법을 이용한 필름의 물성개선

### 3. 가식성필름의 식품포장분야 응용

가. 필름의 저장성 및 수분과의 상호작용

1). 저장 중 필름의 물성변화

2). 상대습도에 따른 필름의 물성변화

3). 가식성필름의 흡습특성

나. 가식성필름으로 포장한 대두유의 저장성 조사

#### IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

##### 1. 대두박, 두부비지, 주박 및 유청 단백질 농축물의 제조

- 대두박, 두부비지의 경우 건조하지 않은 두부비지에 10배(w/w)의 증류수를 가하고 주박의 경우 건조하지 않은 주박에 20배(w/w)의 증류수를 가하여 믹서로 혼합한 후, 이를 1.0 N NaOH 용액으로 pH 11로 조절하여 25℃에서 60분간 교반시켜 가용성분을 추출하였다. 이 추출액을 10분간 원심분리(8,000 rpm)한 후, 상정액을 1.0 N HCl로 두부비지 단백질의 경우 대두 단백질의 등전점인 pH 4.3으로 조절하여 단백질을 침전 혹은 주박 단백질의 경우 pH 7.0으로 조절하여 침전시킨 후, 10분간 원심 분리(8,000 rpm)하여 두부비지 단백질 침전물을 분리하였다. 이를 냉동건조한 후 5 배의 n-Hexane으로 2회 탈지한 후 마쇄하여 80 mesh의 표준체를 통과시켜 단백질을 제조하였다. 유청 단백질의 경우 유청 분말에 30배의 증류수를 가한 후 75℃까지 가열교반하여 유청단백질을 열처리하고 냉각하여 0.1 N HCl로 pH를 4.5로 조절하여 유청단백질을 침전시킨다. 상정액을 제거한 후 다시 증류수를 가하고 pH 4.5로 조절하는 과정을 상정액으로 유당이 거의 추출될 때까지 반복한 후 10분간 원심 분리(8,000 rpm)하여 유청 단백질 침전물을 분리하였다. 이를 냉동건조한 후 5 배의 n-Hexane으로 3회 탈지한 후 마쇄하여 80 mesh의 표준체를 통과시켜 단백질을 제조하였다.

##### 2. 추출단백질을 이용한 가식성필름의 제조

- 청주 제조시 부산물로 생성되는 주박으로부터 추출한 단백질 농축물을 이용하여 가식성 필름을 제조하였다. 이때 필름용액의 pH, 가소제의 종류와



농도가 필름의 기계적 특성 및 수분투과특성에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 필름용액이 pH 4.0 ~ pH 7.0인 경우 단백질의 용해도가 낮아 필름을 형성할 수 없었으며 pH 8.0 ~ pH 11.0으로 조절하였을 때에는 4.3 ~ 5.7 MPa의 인장강도를 지닌 필름을 형성할 수 있었다. 필름의 기계적 특성과 수분투과 특성은 필름용액의 pH에 영향을 받으며 필름용액을 pH 11.0으로 조절하였을 때 가장 높은 인장강도(5.7 MPa)와 수분차단력( $0.44 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )을 보였다. 가소제로 glycerol과 polyethylene glycol (PEG) 200을 첨가하였을 때 인장강도와 신장률은 가소제의 혼합비율(GLY:PEG = 100:0, 50:50, 0:100)과 농도(0.2, 0.4, 0.6, 0.8 g plasticizer/g RPC)에 따라 각각 5.5 ~ 1.0 MPa 및 3.6 ~ 24.3%이었다. 동일 가소제 농도에서 인장강도는 glycerol을 첨가하였을 때 가장 높았으며 신장률은 glycerol과 PEG 200을 혼합 사용하였을 때 가장 높은 것으로 나타났다. 한편, 두께가 60  $\mu\text{m}$ 인 필름의 수분투과도는  $0.38 \sim 0.54 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 로 나타났으며, 가소제의 첨가량이 적을수록, 일정 가소제 농도에서는 PEG 200의 비율이 클수록 수분투과에 대한 차단성이 우수하게 나타났다.

- 두부생산시 부산물로 다량 생산되는 두부비지를 효과적으로 이용하기 위해 이로부터 가식성 필름을 제조하였으며, 가소제로서 glycerol과 sorbitol을 사용하였을 때 이들의 농도가 가식성필름의 수분투과도와 기계적 특성(인장강도와 신장률)에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 필름형성용액이 pH 4 - 5인 경우는 등전점 부근이어서 단백질이 불용화되어 필름이 형성되지 않았으며 pH 6 - 9의 영역에서는 일부 단백질만 용해되어 필름의 표면이 거칠었다. pH 10 이상의 영역에서 균일한 표면의 필름을 제조할 수 있었다. 또 단백질 시료가 필름을 형성하기 위해서는 단백질의 변성이

요구되므로 필름형성용액의 온도를 60℃ 이상으로 하였으며, 균질화 할 때 생성되는 거품은 필름의 성상에 악영향을 끼치므로 거품을 효과적으로 제거하기 위하여 용액을 90℃ 까지 가온하여 비등하게 함으로써 거품의 형성을 효과적으로 억제하였다. 또한 필름형성용액이 pH 7 -11일때 필름의 인장강도는 필름형성용액의 pH가 높아짐에 따라 증가하는 것으로 나타났다. 가소제의 농도가 증가함에 따라 필름의 인장강도는 13.5 MPa에서 2.2 MPa로 감소하였으며, 가소제의 농도가 0.6(g plasticizer/ g sample)인 경우 인장강도는 가소제로 sorbitol을 사용하였을 때가 더 높은 경향을 보였지만 신장률은 glycerol을 사용하였을때가 더 높게 나타났다. 수분투과도는 첨가된 가소제의 양과 종류에 따라 0.42 ~0.92 ng·m/m'·s·Pa의 범위를 보였으며 많은 양의 가소제가 사용될수록 수분투과도가 높았다. 또한 가소제로서 sorbitol을 사용하였을 때가 glycerol을 사용하였을 때보다 수분 투과에 대한 차단효과가 전 가소제 농도 범위(0.2~0.6 g plasticizer/g protein)에 걸쳐 우수하였다.

- 유청분말 단백질을 이용하여 가식성필름을 제조할 때, 필름형성용액의 pH, 가소제의 종류 및 농도에 따른 가식성필름의 기계적 및 수분 투과특성의 변화를 조사하였다. 필름형성용액이 pH 6.0이하의 산성이었을 때에는 가용성 단백질로서 필름을 형성시키기 어려웠으며 pH 9.0이상의 알칼리로 조절하여 제조한 필름은 7.5 - 8.1 MPa의 높은 인장강도를 보였다. 그러나 pH 11.0 인 경우는 필름이 갈변화되어 pH 11.0은 필름형성조건으로 부적절하였다. 가식성필름의 기계적 및 수분투과특성은 첨가된 가소제에 따라 크게 영향을 받는 것으로 나타났다. 가소제로서 PG를 첨가한 경우는 높은 인장강도를 보였지만 필름의 유연성을 부여하지 못하였다. 반면에 sorbitol을 첨가하였을 때에는 유연성을 지니며 비교적 높은 인장강도

와 수분 투과에 대한 차단력을 지니는 것으로 나타났다.

- 가소제로 glycerol과 sorbitol을 혼합사용하였을 때 동일한 가소제 농도에서 sorbitol의 함량이 많아질 수록 인장강도와 수분투과에 대한 차단력은 증가하였으며, 신장률의 경우 가소제를 0.3 g plasticizer/g protein의 농도로 사용되었을 때에는 가소제의 혼합사용시 신장률의 차이를 보였지만 0.4 g plasticizer/g protein이상의 농도에서는 차이를 보이지 않았다. 여러 가지 가소제가 사용되었을 때, 가소제로서 glycerol과 sorbitol이 사용되었을 때 가 필름의 기계적 특성이 가장 우수하였으며, glycerol의 경우 소량 첨가로도 plasticizing 효과가 우수하였으며, sorbitol의 경우 높은 신장률을 지니며 인장강도가 우수한 것으로 나타났다.

### 3. 대두단백질의 분자량 분획물이 필름에 미치는 영향

- 대두박으로부터 추출한 대두단백질을 암모니아를 사용하여 용액의 pH를 pH 10으로 조절한 후 cutoff size가 각각 100,000과 300,000인 membrane을 가진 한외여과기로 분획을 나누어 이로부터 필름을 제조한 결과 분자량이 큰 분획일 수록 인장강도와 신장률은 높았지만 수분투과도는 분획간에 유의차가 없었다. 또한 분자량이 300,000 이상인 분획으로 제조한 필름이 다른 분획으로 제조한 필름에 비해 투명도가 높았으며, 각각의 분획으로 제조한 필름들은 분획처리하지 않은 시료로 제조한 필름에 비해 water solubility가 낮은 것으로 나타났다.

### 4. 유청분말을 이용한 생고분자필름의 제조

- 산업 부산물로 발생된 유청분말을 이용하여 생고분자 필름의 제조에 관하여 조사하였다. 필름의 matrix를 보조하는 물질로 sodium caseinate를 사

용하였으며, 이렇게 제조된 필름의 기계적 성질에 영향을 미치는 인자로써 필름 용액의 pH와 가소제 및 cross linker를 택하였다.

- 원료단백질로써 사용된 유청분말과 sodium caseinate의 비율이 70 : 30까지 필름으로써의 기계적 기능을 부여했으며, 이 이상의 혼합 비율에서는 유청분말에 들어있는 lactose의 높은 함량에 기인하여 필름 자체가 너무 끈적거리는 현상을 나타내어 기계적 성질에 대한 실험을 할 수 없었다. pH별에 따른 필름성상에 있어서는 필름의 pH가 5 이하이었을 때 필름용액의 겔화 (gelation)가 일어나서 유리판에 부을 수가 없었으며, pH 수준이 6과 7일 경우에는 필름 용액 중 원료단백질의 용해가 완전히 일어나지 않아 입자가 존재하였다. 사용된 필름 용액의 pH 수준 중에서 pH 10이 가장 기계적 성질에 적합하게 나타났으며, 최대치의 TS와 E는 각각 15.17 MPa과 191.8%로 나타났다. 가소제의 종류 및 농도 수준에 있어서는 glycerol은 부적합한 결과를 나타냈으며, 가장 적합한 가소제의 종류 및 농도로서는 sorbitol 30%와 40%로 나타났으며, 이들의 최대치 TS는 각각 10.81 MPa과 6.59 MPa로 또한 최대치의 E는 각각 96.54%와 149.65%로 나타났다. 필름의 기계적 성질에 미치는 첨가된 cross linker의 영향은 가소제로써 sorbitol 30%를 사용하였을 때 sodium citrate가 (TS : 2.89 - 20.65 MPa, E : 0.40 - 167.38%), 가소제로써 sorbitol 40%를 사용하였을 때는 sodium chloride가 (TS : 1.58 - 21.96 MPa, E : 0.43 - 193.32%) 영향을 가장 많이 주는 것으로 나타났다. 결과적으로 본 연구에서는 필름용액의 pH 수준 10과 가소제 및 cross linker로써 sorbitol 및 sodium citrate와 sodium chloride를 사용하여 원료단백질원 중 유청분말의 비율을 70%까지 증가시켜 생고분자 필름을 제조할 수 있었다.

## 5. 가교제의 첨가에 의한 필름의 물성 개선

- 가교제를 첨가한 주박 단백질 필름의 인장강도(TS)는 sodium hydrogen sulfate, ascorbic acid 및 citric acid를 0.5%까지 첨가하였을 경우에는 대조구에 비해 증가하는 것으로 나타났으나, 가교제의 첨가농도가 높을수록 필름의 인장강도는 감소하여 가교제가 0.5% 이상 첨가된 경우 필름의 인장강도는 대조구와 유의차를 보이지 않았다. 가교제로서 succinic anhydride를 사용하였을 때 필름의 인장강도가 가장 높은 것으로 나타났으며, 특히 succinic anhydride를 0.1% 첨가하였을 때 필름의 인장강도는 6.3 MPa로서 대조구에 비해 인장강도를 25.5% 증가시킬 수 있었다. 한편 수분투과도는 NaCl와 CaCl<sub>2</sub>를 2.0% 수준으로 첨가하였을 때에는 각각 0.54 및 0.56 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa으로 대조구에 비해 증가하였으나, 이 경우를 제외하면 가교제를 첨가하여 제조한 필름의 수분투과도는 가교제의 종류 및 농도에 따라 0.44 ~0.53 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa의 범위를 보여 대조구(0.48 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa)와 유의차(p<0.05)가 없는 것으로 나타났다.
- 유청 단백질 필름에 가교제로서 ascorbic acid, succinic acid를 첨가한 경우에는 인장강도가 증가하지 않았으나 citric acid를 첨가하였을 때에는 인장강도를 14% 증가시킬 수 있었다. Citric acid를 0.3% 첨가하였을 때까지는 필름의 인장강도가 증가하였지만 그 이후에는 첨가농도가 증가함에 따라 오히려 인장강도가 감소하였다.
- 대두박으로부터 추출한 단백질 필름에 가교제로서 ascorbic acid, succinic acid를 첨가한 경우에는 인장강도가 감소하였으나 citric acid를 첨가하였을 때에는 인장강도를 20% 증가시킬 수 있었다. Citric acid를 0.2% 첨가하였을 때까지는 가교제의 첨가량이 많을수록 필름의 인장강도가 증가하

였지만 그 이후에는 첨가농도가 증가함에 따라 오히려 인장강도가 감소하였다. 반면에 가교제의 첨가는 가식성 필름의 수분투과도에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다.

#### 6. 소수성 물질의 첨가에 의한 필름의 물성 개선

- 지방산을 첨가한 유청 단백질필름의 수분투과도는 첨가되는 지방산의 농도가 증가할수록 감소하였으며, 각 지방산의 종류에 따라 감소정도가 다르게 나타났다. 즉, 대조구의 수분투과도는 필름의 두께가  $75\mu\text{m}$  일 때  $0.596\text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 를 나타내었으며, 각 지방산의 농도를 15%로 첨가하여 제조한 필름의 수분투과도는  $75\mu\text{m}$ 의 두께에서 stearic acid의 경우  $0.419\text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ , palmitic acid는  $0.428\text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ , linoleic acid는  $0.527\text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 을 나타내었다. 필름의 수분에 대한 내성을 나타내는 water solubility는 소수성을 갖는 지방산의 농도가 증가함에 따라 필름의 수분에 대한 저항성이 증가하여 감소하는 경향을 나타내었다. 인장강도와 신장률에서 stearic acid와 palmitic acid 첨가필름은 대조구에 비하여 유의성을 보이며( $P<0.05$ ) 감소하였다. 그러나 linoleic acid의 경우에는 15%의 첨가 농도에서 약 20%의 신장률 증가를 나타내었고 인장강도의 감소율도 다른 처리구에 비하여 낮은 수치를 나타내었다. 대두유를 첨가하여 제조한 유청 단백질필름의 수분투과도는 첨가되는 대두유의 농도가 증가함에 따라 감소되는 경향을 나타내었으며, water solubility는 이와는 반대로 증가되는 현상을 나타내었다. 한편, 인장강도는 대조구에 비해 유의성을 보이며 전체적으로 감소하였으나( $P<0.05$ ), 농도차이에 의한 변화는 보이지 않았으며, 신장률은 유의수준 5%내에서 차이를 보이지 않았다.

- 대두박으로부터 추출한 단백질필름은 지방산(stearic acid와 palmitic acid)

을 첨가함에 따라 인장강도와 신장률은 감소하였으나 수분 투과에 대한 차단성은 증가하였다. 한편 지방산을 첨가함에 따라 water solubility와 불투명도는 증가하는 것으로 나타났다.

#### 7. 필름의 물성에 미치는 가수분해의 효과

- 분리대두단백질(SPI)을 이용하여 필름을 제조할 때, 원료 SPI와 이의 가수분해물에 대한 salt 및 가교제 첨가에 따른 분해성필름의 기계적 특성 및 수분투과특성의 변화에 대하여 조사하였다. 필름형성용액으로는 원료 SPI를 95℃에서 2분간 정치한 후 냉각한 용액과 동일온도에서 2분간 0.01N HCl로 산가수분해한 용액을 사용하였다. 필름형성용액의 pH는 암모니아수를 이용하여 pH 10으로 조절하였으며, 가교제로는 glutardialdehyde, salt로는 NaCl 및 CaCl<sub>2</sub>를 사용하여 3가지 ionic strength로 조정하였다. 가수분해물을 이용하여 제조한 필름의 경우 원료 SPI로 만든 필름보다 전반적인 물성은 떨어졌으나 신장율은 증가함을 나타내었다. 원료 SPI로 제조한 필름의 경우 가교제를 첨가하지 않았을 경우 NaCl 및 CaCl<sub>2</sub> 첨가에 따라 인장강도 1~2 MPa정도 감소함을 나타내었으나, 신장율의 경우는 NaCl 첨가시 약 18%정도 향상됨을 보여주었다. 또한 수분차단특성은 CaCl<sub>2</sub> 첨가시 원료 SPI로 제조한 필름보다 약 10%정도 개선됨을 나타내었다. 가교제를 첨가한 필름의 경우 NaCl 첨가시에는 인장강도의 변화가 없었으나, CaCl<sub>2</sub> 첨가시에는 약 10% 정도 증가하는 경향을 나타내었다. 그리고 신장율은 salt 첨가시 감소하는 경향을 보였으며, 수분차단특성은 CaCl<sub>2</sub>첨가시 약 10%정도 개선됨을 나타내었다.

## 8. Lamination 법에 의한 필름의 물성개선.

- 유청분말과 sodium caseinate를 각각 100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50의 비율로 조절한 필름 제조의 단백질 원료 10 g을 95% 에탄올 60 mL와 증류수 40 mL의 혼합 용매 체계에 넣어 용해시킨 후 가소제로 glycerol, sorbitol, 이들의 1:1 혼합물을 각각 10, 20, 30 g/g protein으로 첨가하여 필름형성용액을 만들어 casting plate에 부은 후 필름이 건조되면 그위에 알코올에 용해시킨 corn zein을 부은 후 건조하여 유청분말과 sodium caseinate 혼합필름을 알코올 용해성 단백질인 corn zein과 lamination 필름을 제조하였다. 이때 glycerol을 첨가한 유청분말 100%가 사용된 필름은 유청면이 너무 끈적거려서 필름을 제조할 수 없었지만, sorbitol을 첨가한 유청분말과 sodium caseinate를 50:50의 비율로 혼합한 필름을 corn zein과 lamination하였을 경우 28.1 MPa의 높은 인장강도를 지닌 필름을 제조할 수 있었다.

## 9. 필름의 수분과의 상호작용 및 저장성

- 두부비지와 대두박에서 추출한 단백질 필름의 기계적 특성은 필름의 주위 상대습도에 따라 크게 영향을 받는 것으로 나타났다. 즉, 상대습도가 증가할수록 필름의 인장강도는 약해졌으며 신장률은 증가하는 것으로 나타났다. 이는 수분이 가소제로서의 역할을 하고 있음을 의미하는 것이다. 가소제로 glycerol, sorbitol 그리고 이들의 1:1 혼합물을 0.3, 0.5, 0.7 g/g protein의 농도로 첨가하여 상대습도의 영향을 조사한 결과, 위와 같은 상대습도의 영향은 사용된 가소제의 종류와 농도에 따라 다른 것으로 나타났다. 즉, 가소제를 0.3 g/g protein의 농도로 첨가하였을 때에는 특정 상



대습도에서 가소제의 종류가 필름의 인장강도에 크게 영향을 미치지 못하였으나, 가소제를 0.7 g/g protein의 농도로 첨가하였을 때에는 특정 상대습도에서 가소제의 종류가 필름의 인장강도에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 한편, 상대습도 75%이상의 높은 상대습도에서 저장한 시료의 경우는 필름의 integrity가 감소하여 가소제의 종류와 농도가 필름의 물성에 크게 영향을 미치지 못하였다. 이와 같은 결과는 필름의 흡습특성과 높은 상관관계를 지니는 것으로 나타났다.

- 가소제로 glycerol, sorbitol 그리고 이들의 1:1 혼합물을 0.3, 0.5, 0.7 g/g protein의 농도로 첨가하여 필름을 제조하여 필름의 흡습곡선, 초기흡습속도 및 등온흡습곡선을 조사한 결과, 일정상대습도에서 가소제 종류에 따른 필름의 초기흡습속도와 등온흡습곡선은 glycerol > mixture > sorbitol의 순으로 glycerol을 가소제로 첨가한 필름이 가장 높은 흡습특성을 보였다.
- 대두박으로부터 추출한 단백질에 가소제로서 glycerol, sorbitol, glycerol과 sorbitol의 혼합물을 첨가하여 필름을 제조하여 상대습도 50%, 25℃에서 30일간 저장한 결과, 필름의 인장강도는 증가하였지만 신장율은 감소하였다. 가소제로 sorbitol 만을 첨가한 필름의 경우 저장 시료의 신장율이 저장하지 않은 시료의 55% 정도로 감소한 반면, glycerol 만을 첨가한 필름의 경우 저장 시료의 신장율이 저장하지 않은 시료의 3% 정도로 감소하여 가장 큰 폭으로 감소하였다. 즉 필름을 저장함에 따라 가소제로 glycerol을 사용한 필름은 부서지기 쉬운 성질을 나타내었으며 이러한 성질은 sorbitol을 첨가함으로써 개선할 수 있었다. 한편 30일간 저장한 필름의 흡습곡선, 초기흡습속도 및 등온흡습곡선을 조사한 결과, 일정상대습도에서 가소제 종류에 따른 필름의 초기흡습속도와 등온흡습곡선은 sorbitol > mixture > glycerol의 순서로 glycerol을 가소제로 첨가한 필름이 가장

낮은 흡습특성을 보였다. 이와 같은 결과는 glycerol이 sorbitol에 비해 mobility가 높아 저장 중 필름과 인접한 주위로 가소제가 migration되는데 기인하는 것으로 사료되었다.

#### 10. 본 연구결과의 활용방안

수분활성도 차이가 큰 여러 성분의 혼합물로 이루어진 피자 및 아이스크림 콘 등의 식품에 수분투과도가 개선된 가식성 필름을 이용하여 수분이동을 방지하여 피자의 빵이나 아이스크림콘이 눅눅해짐을 방지한다. 생체 고분자 (biopolymer)로 부터 만든 가식성 필름을 라면 및 인스턴트 분말식품 등의 내포장재로 이용하여 기존의 포장 폐기물의 배출을 억제할 수 있음과 동시에 식품 저장성을 늘릴 수 있으며, 포장을 뜯지 않은채 수화시켜 먹을 수 있으므로 인스턴트 식품이 갖는 간편성을 증대시킨다. 특히 생물고분자 필름은 낮은 산소투과도를 지니므로 지방함량이 높아 산패되기 쉬운 라면의 유상스프류의 포장에 응용하면 전망이 밝을 것으로 사료된다. 본 연구의 경우 실험실 규모로 포장재를 제조하였으므로 식품산업에의 직접응용을 위해서는 scale-up에 대한 작업이 수반되어야 할 것이다.

## SUMMARY

Biodegradable edible films were produced from by-products of food industry. Protein concentrates from soybean meal, soybean curd meal, rice wine meal, and whey powder were prepared. The physico-chemical properties of protein concentrates were investigated. Factors affecting film formation were analyzed and controlled to improve mechanical and barrier properties of protein concentrate edible films. Also, whole whey powder was utilized to produce biopolymer film with the combination of film matrix supporting material, sodium caseinate.

Protein concentrates from soybean meal, soybean curd meal, rice wine meal were prepared by alkaline extraction and isoelectric precipitation. Whey powder solutions were denatured by heat treatments to insolubilize whey proteins at pH 4.3. Whey protein concentrates were prepared by removing dissolved lactose from whey powder solution at pH 4.3.

Protein edible films were prepared by dissolving protein concentrates in a distilled water. Plasticizers were added to the solution. The pH of solutions were adjusted with ammonia water, and the solutions were stirred and heated. The film forming solutions were poured onto a Teflon coated glass plate and dried overnight at room temperature. Effect of film forming solution pH and temperature, molecular weight fraction of protein concentrates, and added plasticizer systems were studied. Cross-linkers and hydrophobic materials were added, and protein hydrolyzate and laminated film were produced to improve mechanical properties and water vapor permeabilities (WVP) of films. Selected

physical properties of the films were measured, along with permeabilities to water vapor.

Film forming solution pH and temperature affected the properties of protein edible films. Soy protein concentrate (SPC) films produced under pH 10 at 80°C, whey protein concentrate (WPC) films produced under pH 10 at 90°C had the highest TS (3.4 MPa and 10.0 MPa, respectively) but no significant differences were detected among WVPs. Rice wine meal protein concentrate (RPC) films produced under pH 11 had the highest TS (5.7 MPa) and the lowest WVP (0.44 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa).

Molecular weight of SPC affected the mechanical properties of films but did not influence the water vapor barrier properties. The mechanical properties (TS and E) of the films increased as the higher molecular weight SPC fraction was used. The most transparent film was produced by using high molecular weight (M.W.>300,000) fraction. Protein solubilities of fractionated films were lower than non-fractionated SPC film.

Plasticizers also affected the mechanical properties and WVP of edible protein films. The sorbitol plasticized SPC films and WPC films showed the highest mechanical properties (TS and E) and lowest WVP among the tested SPC films and WPC films, respectively. However, mixtures of glycerol and sorbitol (1:1 w/w) were favored since sorbitol plasticized films curled as moisture absorbed. Mechanical properties of SPC films were influenced by environmental relative humidities. Conditioning a film at low relative humidity made a film with high TS but rigid. When the high concentration of plasticizer was added, the plasticity of the film could be observed at low relative humidities. SPC films containing 0.5 g

of glycerol and sorbitol mixtures/g of SPC and WPC films containing 0.4 g of glycerol and sorbitol mixtures/g of WPC showed good mechanical and barrier properties. The TS of the films were 6.1 and 6.2 MPa, respectively, and E were 58.6% and 28.5%, respectively. TS and elongation at break (E) of RPC films at various plasticizer levels were 5.5 - 1.0 MPa and 3.6 - 24.3%, respectively. At the same plasticizer concentration, the highest TS was observed when glycerol was used whereas the highest E was measured when mixture was used as plasticizer. WVPs of films with thickness of 60  $\mu\text{m}$  were 0.38 - 0.54  $\text{ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ . WVP of films decreased as the ratio of glycerol/PEG 200 was decreased, and WVP increased as the total amount of plasticizer added to the films increased.

Mechanical properties of SPC Film and WPC films could be improved by the addition of small amounts of citric acid. The added cross-linkers did not affect the water barrier properties of films. The highest TS was observed when 0.2% of citric acid was added for SPC film and 0.3% of citric acid was added for WPC film. TS of RPC films increased by addition of sodium hydrogen sulfate, succinic anhydride, ascorbic acid and citric acid, whereas TS of films containing 0.5~2.0% of NaCl and  $\text{CaCl}_2$  were lower than those without the salts. The highest TS (6.3 MPa) was achieved with films containing 0.1% of succinic anhydride.

Addition of fatty acids to SPC films and WPC films improved water vapor barrier properties. The mechanical properties of SPC and WPC films, however, decreased dramatically as the fatty acid concentration increased. Protein solubility and opacity of fatty acid added films were higher than fatty acid free film. Both mechanical and water vapor barrier properties of SPC films and WPC films could

be improved by laminating a corn zein film layers onto the films.

Biopolymer films were prepared from whey powder-sodium caseinate mixtures at several mixing ratios. The films could be formed by use of whey powder up to 70%. As the whey powder content increased, TS of the film decreased while E increased. Films containing more than 70% of whey powder could not be formed due to the stickiness of lactose in whey powder. The optimum pH of the film solution was found to be 10. Among the plasticizers tested, sorbitol was found to be the most effective plasticizer while glycerol was inadequate for the film. Tensile strengths of films containing 30% - 40% whey powder were higher than 10 MPa with relatively high E, when the films were plasticized with 30% (w/w) and 40% sorbitol. TSs of the relatively weak films containing 50% - 60% whey powders were improved by the addition of small amount of sodium citrate for 30% sorbitol plasticized films, and by the addition of sodium chloride for 40% sorbitol plasticized films. It was concluded that up to 70% of whey powder could be utilized to produce biopolymer films by adding sorbitol and cross linkers at pH 10.

## CONTENTS

SUMMARY .....	17
CONTENTS (English) .....	21
CONTENTS (Korean) .....	27
Chapter 1. Preface .....	33
Chapter 2. A study of factors affecting the film formations of protein concentrates from by-product of food industry .....	38
I . Preface .....	39
II. Materials and Methods .....	49
1. Materials .....	49
2. Preparation of proteins from by-product of food industry .....	49
a. Extractability of proteins from soybean meal and rice wine meal .....	49
b. Water absorption .....	50
c. Oil absorption .....	50
d. Preparation of protein concentrates .....	51
1) Soybean meal protein concentrates .....	51
2) Soybean curd meal protein concentrates .....	51
3) Rice wine meal protein concentrates .....	53
4) Whey protein concentrates .....	53
3. Physico-chemical properties of protein concentrates .....	55
a. Chemical composition .....	55
b. Amino acid analysis .....	55
c. Solubility .....	57
d. Electrophoresis .....	57
e. Gel permeation chromatography (GPC) .....	58
4. Factors affecting protein film formations .....	59

a. Effect of pH and temperature of film forming solution .....	59
1) Soy protein film .....	59
2) Rice wine meal protein film .....	59
3) whey protein film .....	60
b. Effect of plasticizer .....	60
1) Soy protein film .....	60
2) whey protein film .....	60
5. Effect of molecular weight of soy protein .....	61
a. Preparation of molecular weight fractions .....	61
b. Film formation .....	62
6. Whey powder-sodium caseinate mixture film .....	62
a. Film formation .....	62
b. Effect of pH and plasticizer .....	64
7. Evaluation of properties of edible film .....	64
a. Thickness .....	64
b. Mechanical properties .....	64
c. Water vapor permeabilities .....	65
d. water solubility .....	66
e. Color .....	67
f. Opacity .....	68
g. Statistical analysis .....	68
III. Results and discussions .....	69
1. Physico-chemical properties of extracted protein concentrates .....	69
a. Chemical composition .....	69
b. Effect of pH on extractabilities of proteins .....	69
c. Amino acid composition of protein concentrates .....	72
d. Effect of pH on physico-chemical properties .....	74
1) Solubility .....	74
2) Functional properties (water absorption and oil absorption) .....	76
3) Electrophoresis patterns .....	77



4) Molecular weight distribution .....	81
2. Preparation of edible films from extracted protein concentrates .....	83
a. Effect of pH and temperature of film forming solution .....	83
1) Soy protein film .....	83
2) Whey protein film .....	87
3) Rice wine meal protein film .....	89
b. Effect of plasticizer systems .....	93
1) Soy protein film .....	93
2) Whey protein films .....	97
3. Effect of molecular weight on properties of soy protein film .....	100
a. Molecular weight distribution of soy protein fractions .....	100
b. Amino acid composition of soy protein fractions .....	103
c. Effect of molecular weight on mechanical and water vapor barrier properties. ....	105
d. Solubilities .....	108
e. Opacity and color .....	110
4. Effect of pH and plasticizers on whey powder-sodium caseinate mixture film .....	113
 Chapter 3. Improvement of film properties by physical and chemical methods .....	 118
I. Preface .....	119
II. Materials and methods .....	125
1. Materials .....	125
2. Effects of additives on properties of protein concentrates .....	125
a. Effect of plasticizer mixtures .....	125
1) Soy protein film .....	125
2) Whey protein film .....	126
3) Rice wine meal protein film .....	127
b. Relationships between waters and soy protein films .....	127

1) Effect of relative humidities on mechanical properties of films ...	127
2) sorption characteristics of soy protein film .....	127
c. Addition of cross-linkers .....	128
1) Soy protein film .....	128
2) Whey protein film .....	129
3) Rice wine meal protein film .....	129
d. Preparation of hydrolyzed protein film .....	130
e. Addition of hydrophobic materials .....	132
1) Soy protein film .....	132
2) Whey protein film .....	132
f. Preparation of laminated films .....	133
3. Preparation of whey powder-sodium caseinate mixture film .....	134
a. Film formation .....	134
b. Effect of plasticizers .....	134
c. Effect of cross-linkers .....	135
4. Storage stability of edible film .....	135
a. Soy protein film .....	135
b. Whey protein film .....	136
5. Evaluation of properties of edible films .....	136
a. Thickness .....	136
b. Mechanical properties .....	137
c. Plasticity ratio .....	137
d. Gas barrier properties .....	137
1) Theory .....	137
2) Water vapor permeabilities .....	139
3) Oxygen permeabilities .....	139
e. Oil resistance .....	140
f. Water solubility .....	143
g. Color .....	143
h. Opacity .....	144
6. Application of whey protein films on food systems .....	144

a. Storage condition of soybean oil .....	145
b. Measurement of peroxide value .....	145
7. Statistical analysis .....	145
III. Results and discussions .....	146
1. Effects of plasticizer mixtures .....	146
a. Soy protein film .....	146
b. Whey protein film .....	163
c. Rice wine meal protein film .....	166
2. Improvement of film properties by chemical methods .....	173
a. Effect of cross-linkers .....	173
1) Soy protein film .....	173
2) Whey protein film .....	176
3) Rice wine meal protein film .....	178
b. Effect of protein hydrolyzation .....	183
1) Properties of hydrolyzed protein films .....	183
2) Effect of salt on properties of films .....	189
3) Effect of ionic strength on properties of films .....	189
c. Effect of added hydrophobic materials .....	195
1) Soy protein films .....	195
a) Mechanical properties .....	195
b) Water vapor barrier properties .....	197
c) Protein solubility .....	199
d) color and opacity .....	201
e) Scanning electron micrographs .....	204
2) Whey protein films .....	207
a) Effect of fatty acid .....	207
b) Effect of soybean oil .....	210
라. Improvement of film properties by laminated films .....	215
3. Whey powder-sodium caseinate mixture film .....	220
a. Effect of plasticizer .....	220

b. Effect of cross-linker .....	225
4. Storage stabilities of edible film .....	235
a. Soy protein film .....	235
b. Whey protei film .....	243
5. Application of edible films on food systems .....	248
References .....	250

## 목 차

SUMMARY .....	17
CONTENTS .....	21
목 차 .....	27
제1장. 서 론 .....	33
제2장. 가식성 필름 형성능력에 미치는 영향 인자들에 관한 연구 .....	38
제1절. 서설 .....	39
제2절. 재료 및 방법 .....	49
1. 재 료 .....	49
2. 식품산업 부산물로부터 필름형성용 단백질의 제조 .....	49
가. pH에 따른 대두박 및 주박단백질의 추출율 .....	49
나. 수분흡수력 측정 .....	50
다. 유지흡수력의 측정 .....	50
라. 단백질 농축물의 제조 .....	51
1) 대두단백질농축물의 제조 .....	51
2) 두부비지 단백질 농축물 제조 .....	51
3) 주박단백질 농축물(Rice protein concentrate, RPC)의 제조 .....	53
4) 유청단백질 농축물(Whey protein concentrate, WPC)의 제조 .....	53
3. 시료 단백질 농축물의 이화학적 특성 분석 .....	55
가. 일반성분 분석 .....	55
나. 아미노산 분석 .....	55
다. 단백질의 용해도측정 .....	57
라. 전기영동 .....	57
마. Gel permeation chromatography (GPC) .....	58

4. 추출 단백질 필름의 제조에 미치는 영향인자들 .....	59
가. 필름형성용액의 pH와 온도의 영향 .....	59
1) 대두 단백질 필름 .....	59
2) 주박 단백질 필름 .....	59
3) 유청 단백질 필름 .....	60
나. 가소제 종류 및 농도의 영향 .....	60
1) 대두 단백질 필름 .....	60
2) 유청단백질 필름 .....	60
5. 대두단백질의 분자량의 영향 .....	61
가. 분자량 분획물의 제조 .....	61
나. 대두단백질 분획물 필름의 제조 .....	62
6. 유청분말-카제인 혼합필름의 제조 .....	62
가. 필름 제조 .....	62
나. pH 및 가소제의 효과 .....	64
7. 가식성 필름의 평가 .....	64
가. 필름의 두께 측정 .....	64
나. 기계적 특성의 측정 .....	64
다. 필름의 수분투과도 측정 .....	65
라. 용해도( water solubility ) 측정 .....	66
마. 색도측정 .....	67
바. 불투명도(Opacity) 측정 .....	68
사. 통계적 분석 .....	68
제3절. 결과 및 고찰 .....	69
1. 추출단백질의 이화학적 성질 .....	69
가. 일반성분 .....	69
나. 단백질의 추출율에 미치는 pH의 영향 .....	69
다. 추출단백질의 아미노산 조성 .....	72
라. 추출단백질의 이화학적 성질에 미치는 pH의 영향 .....	74
1) 용해도 .....	74

2) 단백질의 기능성 (수분흡수력과 유지흡수력) .....	76
3) 전기영동 특성 .....	77
4) Gel permeation chromatography (GPC)에 의한 분자량 분포 .....	81
2. 추출단백질을 이용한 가식성필름의 제조 .....	83
가. 필름용액의 pH와 온도의 영향 .....	83
1) 대두단백질 필름 .....	83
2) 유청단백질 필름 .....	87
3) 주박단백질 필름 .....	89
나. 가소제의 종류 및 농도의 영향 .....	93
1) 대두 단백질 필름 .....	93
2) 유청 단백질 필름 .....	97
3. 분자량이 대두 단백질 필름에 미치는 영향 .....	100
가. 대두단백 분획물의 분자량 분포 .....	100
나. 대두 단백질 분획물들의 아미노산 조성 .....	103
다. 기계적특성과 수분투과도에 미치는 분자량의 영향 .....	105
라. 용해도에 미치는 영향 .....	108
마. 불투명도 및 색도 .....	110
4. 유청분말-카제인 혼합 필름에 미치는 pH와 가소제의 영향 .....	113
제3장. 물리 화학적 처리에 의한 필름의 물성변화 .....	118
제1절. 서 설 .....	119
제2절. 재료 및 방법 .....	125
1. 재 료 .....	125
2. 추출 단백질 필름의 물성에 미치는 첨가제의 효과 .....	125
가. 가소제 조합의 효과 .....	125
1) 대두 단백질 필름 .....	125
2) 유청단백질 필름 .....	126
3) 주박 단백질 필름 .....	127

나. 대두단백질 필름과 수분의 관계 .....	127
1) 기계적특성에 미치는 상대습도의 영향 .....	127
2) 흡습속도와 등온흡습곡선 .....	127
다. 가교제의 첨가 .....	128
1) 대두 단백질 필름 .....	128
2) 유청단백질 필름. ....	129
3) 주박 단백질 필름 .....	129
라. 가수분해한 필름의 제조 .....	130
마. 소수성 물질의 첨가 .....	132
1) 대두 단백질 필름 .....	132
2) 유청 단백질 필름 .....	132
바. 래미네이트 필름(laminated film)의 제조 .....	133
3. 유청분말-카제인 혼합필름의 제조 .....	134
가. 필름 제조 .....	134
나. 가소제의 효과 .....	134
다. Cross linker의 효과 .....	135
4. 가식성 필름의 저장성 조사 .....	135
가. 대두단백질 필름의 저장성 .....	135
나. 유청 단백질 필름 .....	136
5. 가식성 필름의 평가 .....	136
가. 필름의 두께 측정 .....	136
나. 기계적 특성의 측정 .....	137
다. 신장특성의 판별 .....	137
라. 필름의 기체 투과 특성 .....	137
1) 기체 투과도 이론 .....	137
2) 수분투과도 .....	139
3) 산소투과도의 측정 .....	139
마. 유지투과도의 측정 .....	140
바. 용해도( water solubility ) 측정 .....	143



사. 색도측정 .....	143
아. 불투명도(Opacity) 측정 .....	144
6. 제조된 가식성 필름의 식품에의 적용 .....	144
가. 유청 단백질 필름의 제조 및 저장 .....	145
나. 과산화 물가 (peroxide value) 측정 .....	145
7. 통계적 분석 .....	145
제3절. 결과 및 고찰 .....	146
1. 가소제 조합에 의한 필름의 물성변화 .....	146
가. 대두 단백질 필름 .....	146
나. 유청 단백질 필름 .....	163
다. 주박 단백질 필름 .....	166
2. 화학적 방법에 의한 필름의 물성개선 .....	173
가. 가교제(cross-linker)의 첨가 영향 .....	173
1) 대두 단백질 필름 .....	173
2) 유청 단백질 필름 .....	176
3) 주박 단백질 필름 .....	178
나. 가수분해 처리의 영향 .....	183
1) SPI의 가수분해물로 제조한 필름특성 .....	183
2) 염의 존재에 따른 필름의 물성변화 .....	186
4) 염의 종류 및 ionic strength에 따른 SPI 필름의 물성변화 .....	189
다. 소수성물질의 첨가 영향 .....	195
1) 대두단백질 필름 .....	195
가) 기계적 특성 .....	195
나) 수분투과특성 .....	197
다) 용해도 .....	199
라) 색도 및 불투명도 .....	201
마) 주사현미경 관찰 .....	204

2) 유청단백질 필름 .....	207
가) 지방산의 영향 .....	207
나) 대두유 의 영향 .....	210
라. 래미네이트 필름의 제조를 통한 물성개선 .....	215
3. 유청분말-카제인의 혼합필름 .....	220
가. 가소제의 효과 및 신장특성의 판별 .....	220
나. 가교제의 효과 및 신장특성의 판별 .....	225
4. 가식성필름의 저장성 .....	235
가. 대두단백질 필름 .....	235
나. 유청단백질 필름 .....	243
5. 제조된 가식성 필름의 식품에의 적용 .....	248
인용문헌 .....	250

## 제1장. 서 론

산업의 발달과 더불어 일회용품의 사용빈도가 증가함에 따라 플라스틱 포장 폐기물에 의한 환경오염 문제가 대두되면서 생물자원을 이용한 분해성 포장재의 개발에 관한 관심이 증대되었으며, 그 중 식품 포장과 관련하여 가식성필름(edible film)에 대한 연구가 최근 활발히 진행되고 있다.

가식성필름(edible film)은 식품의 표면을 싸거나 식품의 내부에 사용하여 식품을 외부의 충격으로부터 보호하고 식품의 저장 수명을 증가시키는 동시에 수분, 기체 및 용질의 이동을 방지하는 기능을 한다<sup>1)</sup>.

이러한 가식성필름은 기존의 비가식성, 비분해성 플라스틱 고분자필름에 비하여 (1) 내용물과 포장재가 함께 소비될 수 있어 포장재 폐기물이 발생하지 않으며 포장재 폐기물이 발생한 경우에도 완전히 가식성 재질로만 제조되었으므로 기존의 고분자재질 보다 쉽게 분해되며, (2) 포장재질에 flavor, 색소, 감미료 등의 성분을 첨가하여 내용물에 관능적(organoleptic) 특성을 부여하며, (3) 콩류 및 딸기와 같이 현재 실용적 이유로 인해 개별적으로 포장할 수 없는 제품들을 하나하나 개별적으로 소포장할 수 있으며, (4) 불균질한 성분들로 이루어진 식품의 내부에 사용되어 식품성분간의 물질이동의 차단제로 이용될 수 있고, (5) 필름은 항산화제 혹은 미생물 억제제의 carrier의 기능을 할 수 있으며, (6) 비가식성 필름 포장재와 더불어 래미네이트 필름 (laminated film) 식품포장재를 제조하였을 때 가식성 필름은 식품에 직접 접촉하는 내부 포장재로써 이용할 수 있다는 장점이 있다<sup>2)</sup>.

가식성필름의 형성은 주성분, 용매체계(solvent system) 및 가소제체계(plasticizer system)의 조합에 의하여 이루어진다<sup>3)</sup>.

일반적으로 가식성 필름을 형성하는 주성분은 크게 친수성 콜로이드(hydrocolloid), 지질(lipid), 친수성 콜로이드와 지질의 복합물(composites)로 분류할 수 있다<sup>4)</sup>.

친수성 콜로이드 필름은 그 주성분이 탄수화물 또는 단백질로 이루어진 것으로 이들로부터 제조한 필름의 성질은 필름을 형성하는 주성분의 물리화학적 특성, 그 물질의 molecular charge<sup>5),6)</sup> 및 용해도 등에 따라 다르게 나타난다. 이들의 공통된 특징은 산소, 이산화탄소 및 유지투과에 대한 차단성은 우수한 반면 주 구성성분이 친수성이므로 수분투과에 대한 차단성은 떨어진다는 것이다. 한편 가식성필름의 제조에 사용되는 지질로는 왁스류(waxes), acylglycerols, 지방산(fatty acids) 등이 사용되는데 지질 자체만으로는 필름형성이 어려워 코팅제로 이용되거나 친수성 콜로이드와의 복합필름의 형태로 제조되고 있다. 지질을 주 구성성분으로 제조한 가식성필름은 친수성 콜로이드 필름과는 반대로 높은 수증기투과에 대한 차단력을 보이고 있으며 이는 지방산(fatty acids) chain의 길이에 따라 다르게 나타난다고 보고되고 있다<sup>7)</sup>. 친수성 콜로이드 필름형성에 사용되는 단백질은 가식성필름의 형태로 식품의 수분손실을 억제하거나, 종이코팅, 인쇄용 잉크, 염료 및 사진용 필름 등에 코팅제로 이용되어 왔다. 특히, 식품산업과 관련하여 collagen은 가식성필름으로 제조되어 소시지 casing으로 사용되어 왔으며<sup>8)</sup>, corn zein의 경우 견과류 및 과자류의 코팅에 산업적으로 이용되며<sup>9)</sup>. 그외 카제인, 유청단백질, wheat gluten, 대두단백질 등이 가식성필름의 소재로 활발히 연구되고 있다. 이러한 단백질로 제조한 필름은 가식성필름이 가지는 장점외에도 식품 중의 특정 영양소가 결핍된 경우 부족한 영양소가 함유된 가식성필름을 사용함으로써 보완해 줄 수 있으며, 이들의 낮은 산소 및 유지투과특성을 이용하여 산패되기 쉬운 식품의 저장성을 향상시킬 수 있다<sup>10)</sup>. 그러나, 단백질로부터 생산된 가

식성 필름은 기존의 식품 포장재로 쓰이는 합성 고분자 필름에 비해 인장강도와 신장률과 같은 포장재로서의 물리적 특성과 수분투과에 대한 차단성이 우수하지 못하며, 가식성필름은 식품으로 사용될 수 있는 생물고분자로부터 기원하고 또한 기존의 단백질필름은 정제된 것을 필름재료로 이용하였으므로 플라스틱 합성 고분자필름보다 가격 경쟁력이 뒤지는 단점을 가지고 있어 널리 상업적으로 이용되지 못하고 있으므로 식용 가능하며 저렴한 가격으로 구할 수 있는 가식성 필름의 재료를 이용하는 것이 필요하다. 식품가공과정 중 환경문제를 유발할 수 있는 식품산업 부산물들은 저가의 동물 사료용으로 이용되거나 혹은 이들 물질을 정제 가공하는데 소요되는 비용과 수익의 균형이 맞지 않아 다량이 폐기되고 있는 실정이다. 이는 기본적으로 부산물 이용 방안이 저부가가치의 사료산업 등에 국한되어 부산물 수요가 많지 않은데 기인한다. 이들 부산물 중 단백질함량이 높지만 아직 식품으로서의 활용도가 낮은 단백질자원을 이용하여 이로부터 가식성 필름을 제조하게 되면 저가의 가식성필름이 제조가능하고 산업폐기물의 생성을 줄일 수 있는 장점을 지닌다. 이를 위하여 대두유 (soybean oil) 제조시 생성되는 대두박, 청주제조 공정 중의 주박, 치즈나 카제인 제조시 제거되는 유청(whey) 단백질 등의 식품공업 부산물 중 폐기되거나 혹은 저부가가치의 사료 등으로 이용되는 단백질 자원들이 가식성필름의 재료로서 모색되어 질 수 있다. 대두는 수분함량이 9% 수준으로 건조하였을 때, 단백질 42%, 유지 20%, 탄수화물 27.0%, 조섬유 6.1% 및 회분 5.5%를 함유하여 전세계적으로 중요한 식량자원으로 인정되어 왔으며 특히, 식용유의 중요한 제조원료로 사용되고 있다. 식용유를 제조하고 부산물로 남게 되는 탈지대두박은 일부 장류 제조용으로 사용되기도 하며, 대두박을 이용하여 농축 대두단백질, 분리대두단백질, 대두단백질 커드, 조직화된 대두 단백질(textured soybean product), 섬유상 대두단백질(spun protein isolate) 등을 제조하여 식품에 첨가되거나 새로운 식품으로 제조되고 있다. 그

러나 이는 전체 대두박 생산량에 비하여 극히 일부이며 미국의 경우 전체 대두단백질의 5% 이하만이 식품으로 직접 이용될 뿐<sup>11)</sup> 대부분 저가의 동물 사료용으로 이용되고 있는 실정이다. 식품산업 부산물로 생성되는 또 다른 저가의 단백질 원료로는 청주제조시 부산물로서 원료 쌀의 약 20%에 달하는 주박을 들 수 있다. 주박은 당질, 알코올, 유기산 및 효모 등을 함유하고 있지만 전분질과 단백질이 주성분을 이루고 있으며 단백질의 함량은 쌀이나 밀보다 높다. 그러나 현재 주박의 이용분야는 그 알코올 성분을 이용하여 식초를 만들거나, 향미성분을 이용하여 야채의 절임류에 이용되기는 하지만 우리 기호에 부적합하여 대부분이 동물 사료로 이용되거나 폐기처리 되고 있는 실정이다. 따라서 주박의 식품소재로서의 이용을 위해 Lee와 Kim<sup>12)</sup>은 청주박의 전분질을 이용하여 저식염 고추장을 양조하였다. 그러나 주박의 건물기준 40% 이상인 단백질 성분의 식품소재로서 이용에 대한 연구는 이루어지지 않은 실정이다.

또한, 치즈나 카제인 제조시 부산물로 얻어지는 유청(whey)은 식생활의 구조 변화에 따른 유가공업, 특히 치즈공업의 발달로 인해 그 생산량이 증가되고 있다. 유청은 건조하였을 때 60~70%가 유당이며 11~14%가 유청단백질(whey protein)로 구성되어 있다<sup>13)</sup>. 이중 유청단백질은 총 우유단백질의 20%를 차지하고있는 단백질로서 필수아미노산과 영양생리적 활성을 가지고 있으며 폭넓은 기능을 지니고 있어 식품첨가제로 다양하게 이용하고자 하는 연구들이 수행되고 있다<sup>14)</sup>. 국내에서도 유청을 이용하여 유청음료<sup>15)</sup>와 인삼과 유청을 혼합한 인삼유청음료<sup>16)</sup>의 개발을 모색하였으며, Cho와 Hong<sup>14)</sup>은 시판 유청분말의 기능적 특성을 조사하여 보고하였다. 그러나 총 생산되는 유청의 60% 정도만이 식품에 이용되거나 동물사료에 이용되며<sup>17)</sup>, 나머지는 폐기물로 분류되어 식품자원의 손실과 처리에 따르는 경제적인 부담을 초래하고 있다.

따라서 본 연구에서는 생물자원으로부터 유래한 대두박, 주박, 유청 등의 저가의 산업부산물을 이용하여 가식성필름을 제조하고 이때 가식성필름의 성질에 미치는 영향인자에 대하여 조사하였으며, 물리적, 화학적 방법을 사용하여 가식성필름의 인장강도, 신장률 등의 기계적 특성 및 수분투과에 대한 차단성을 개선하였으며, 가식성필름의 수분과의 상호작용에 대하여 조사하여 가식성필름의 저장성을 검토하였다.

## 제2장.

# 가식성 필름 형성능력에 미치는 영향 인자들에 관한 연구



## 제1절. 서설

가식성 필름과 가식성 코팅은 그 역사가 매우 오래되어 고대 이집트, 중국, 그리스 등지에서는 이미 카제인을 이용하여 식품의 수분 손실을 방지하는데 이용하였다고 전해지며<sup>18)</sup>, 약 12~13세기 경 중국에서는 오렌지와 레몬을 wax에 침지하여 수분 손실을 지연시키는 방법을 이용하였다<sup>19)</sup>. 16세기 경 영국에서는 지방으로 식품을 coating한 "larding" 이라는 것이 식품의 수분 손실을 억제하기 위해 사용되었으며, 또한 미국에서는 1930년대 이후 wax를 감귤류에 코팅하여 이용하여 왔다<sup>20)</sup>. 가식성 필름은 근래에 들어서 여러 광범위한 분야에서 사용되고 있는데, 이중 wax는 통조림 공장에서 수세 과정 중 제거되는 과채류의 천연 wax성분을 대체하기 위한 수단으로 과채류의 코팅에 사용되며, collagen으로부터 만들어진 casing은 sausage 또는 육류 가공품에 오랫동안 이용되어 왔다. Corn zein 용액은 nutmeat나 당과류에 이용되었으며, 가열된 두유의 표면에서 얻어진 대두 필름("yuba" 또는 "soy milk skin")은 극동 지역에서 고기류와 야채류를 요리하기 전에 wrapping하기 위해 사용되어 졌다.

본 연구에 사용된 주요 원료 부산물인 대두박과 비지의 유용 생고분자는 단백질이며 이러한 대두단백질을 주원료로 제조한 가식성 필름이 동양에서 예부터 이용되어져 왔다. 이는 약 1,000년전 중국의 사찰에서 두유를 서서히 가열할 때 형성된 얇은 막을 건져내어 건조하거나 그대로 섭취한 것이 시초이며, 그 후 차와 함께 다과(茶菓)로 애용되어 왔으며 이는 제조하는데 비용이 많이 들어 일상식이 아닌 별식으로 여겨졌다. 이는 현재 일본에서는 탕엽(湯葉) 이나 탕파(湯波, yuba), 대만에서는 두피(豆皮, tou-fu-pi), 중국 광둥일부에서는 부죽(腐竹), 말레이시아에서는 fu-chock으로 불리우며<sup>21)</sup> 많이 이용되고 있다. 이 필름은 주로 단백질과 지방으로 구성되어있어 문헌에서는 soy

protein-lipid 필름이라고 불리운다<sup>22)</sup>.

Soy protein-lipid 필름에 대한 연구가 여러 연구자들에 의해 수행되었는데, Wu와 Bate<sup>23)</sup>는 65℃의 물에 대두를 1시간동안 침지시키고 표면의 물기를 제거한 후 물과 대두를 혼합 분쇄하여 두유를 제조하는 최적공정조건을 제시하였다. 또한 Sian과 Ishak<sup>24)</sup>은 대두를 분쇄한 후 물기를 제거한 것을 10배의 물과 혼합한 후 원심분리하여 두유를 고형분과 협잡물로부터 분리하는 방법을 사용하였다. Wu와 Bates<sup>25)</sup>는 제조온도를 최적화하기 위한 연구를 수행한 결과, 농도를 끓는점에 가까운 높은 온도(95℃)로 가열할수록 필름형성 속도가 증가한다고 보고하였으며, Farnum 등<sup>26)</sup>은 98℃로 가열하여 필름을 제조하였고 두유가 끓게되면 필름이 제조되지 않았다고 보고하였다. 그러나 이와 같은 방법으로 제조한 필름은 성상이 균일하지 못하며, 용액으로부터 건져낸 횟수에 따라 제품의 품질이 일정하지 못하다는 단점이 있다.

또 다른 방법이 Janes와 Chou<sup>27)</sup>에 의해 개발되었는데 이들은 두유의 단백질을 등전점(pH 4.5) 처리하여 침전시키고, 이를 원심분리하여 단백질을 모아 원래 두유의 pH로 중화한 것을 Teflon이 코팅된 팬에 넣고 얇게 펴서 100℃에서 1시간동안 건조한 후 생성된 필름을 떼어내어 필름을 제조하였다. Roy 등<sup>28)</sup>은 두유를 고형분 함량이 30%가 되도록 농축시키고 이 농축물을 die를 통해 필름상 혹은 사상(絲狀)으로 사출시켜 나온 것을 가열하여 단백질이 완전히 coagulation되도록 하여 필름의 형성을 제어할 수 있고 균일한 성상의 대두필름을 만들 수 있는 특허를 출원하였다.

필름제조방법의 새로운 방법으로 곡류단백질을 용해하여 필름형성용액을 제조하고 이를 수평이 조절된 casting plate에 부은 후 건조하여 제조하는 방법이 개발되었다. Anker 등<sup>29)</sup>은 곡류단백질의 하나인 건조한 밀 글루텐(wheat gluten)을 물과 알코올의 혼합용액에 용해하고, 수용성 무기염으로 용액의 pH

를 알칼리로 조정한 후, 가소제를 첨가하여 제조한 필름용액을 식품이나 기타 고체물질의 표면에 붓고 건조하여 코팅하거나 혹은 이를 떼어내어 비교적 인장강도가 강하고 유연성이 있는 글루텐 필름을 제조하였다. 이들의 제조방법을 이용하여 Aytđ 등<sup>30)</sup>은 15 g의 글루텐과 6 g의 glycerol을 72 mL의 95% 에탄올에 용해한 후 가열 교반하면서 48 mL의 물과 12 mL의 6 N 암모니아수를 첨가하여 필름형성용액을 제조하고, 이로부터 제조한 글루텐필름의 성질을 합성 고분자필름 특성의 일반적인 측정항목인 두께, 신장률, 인장강도, 파열강도 등의 기계적특성과 수분, 산소 및 이산화탄소 등의 투과특성을 조사하여 이를 셀로판(cellophane)과 비교한 결과 필름의 기계적특성은 셀로판에 비해 낮았으며, 두가지 필름 모두 산소와 이산화탄소의 투과에 대한 차단성은 높았으나 수분투과에 대한 차단성은 낮았다고 보고하였다. Gennadios 등<sup>31)</sup>은 활성 글루텐과 대두단백질을 7:3으로 혼합하여 필름형성용액을 만들어 단백질 필름을 제조하고 이를 Aytđ 등<sup>30)</sup>의 방법을 이용하여 제조한 글루텐 필름과 기계적 성질을 비교한 결과 분리대두단백질과의 혼합필름이 높은 인장강도를 보였으며, 필름의 산소투과도를 0% 상대습도, 7, 15, 25, 35℃에서 조사한 결과 온도에 따른 필름의 산소투과도는 Arrhenius model을 따른다고 보고하였다<sup>32)</sup>. 그러나 이와 같은 방법들로 제조한 필름은 사용된 용매체계가 알코올 수용액이므로 고가의 제조비용이 소요되는 단점을 지니고 있다.

반면에 대두단백질필름의 주원료인 대두 단백질은 극성 아미노산의 함량이 높아 친수성을 나타내고 있어 film-forming 용액 제조 시 물을 용매로 사용할 수 있으므로 필름 제조에 비용이 적게 드는 장점을 가진다. Gennadios 등<sup>6)</sup>은 5%의 분리대두단백질과 3%의 glycerin을 증류수에 용해하여 필름형성용액을 만들고 이로부터 필름을 제조할 때 필름형성용액의 pH가 필름의 기계적 특성과 물질투과 차단성에 미치는 영향에 대하여 조사한 결과 필름용액의

pH가 1-3 그리고 6-12이었을 때 필름이 제조되었으며, 대두단백질의 등전점 부근(pH 4.5)에서는 필름형성능이 약하였다고 보고하였다. 또한 pH 6-11의 알칼리 영역에서 제조한 필름의 인장강도, 신장률, 수분이동 차단성이 pH 1-3에서 제조한 필름 보다 우수하였다고 보고하였다. 그러나 분리대두단백질 필름은 산소나 이산화탄소 등의 건조한 기체의 이동에 대한 차단막(barrier)으로서의 품질은 상당히 우수한 장점이 있으나, 친수성 필름이므로 수분투과도가 높고, 함황 아미노산인 methionine과 cysteine의 함량이 낮아 단백질 분자내에 disulfide 결합이 약하여 인장강도가 약한 것이 단점으로 보고되고 있다<sup>33)</sup>.

또한 대두단백질과 관련한 연구들은 상업적으로 시판되는 대두단백질을 재료로 하였으며 가소제를 glycerol에 국한하여 연구를 수행하였으므로 Yang 등<sup>33)</sup>은 대두박으로부터 단백질을 추출할 때의 추출pH에 따른 필름의 기계적 특성 및 수분투과도를 조사한결과 단백질을 pH 2의 산성에서 추출하였을 때 높은 인장강도와 낮은 수분투과도를 보였으며 이는 단백질 함량이 높고 단백질의 구성성분 중 IIS의 함량이 높는데 기인하는 것으로 보고하였다. 그러나 아직까지 대두단백질 필름의 제조와 관련된 단백질의 특성에 대한 조사나 가소제 체계의 조절, 대두단백질의 필름형성 기작은 아직 연구가 미진한 상태이다.

한편 주박은 쌀을 원료로 청주를 제조할 때 부산물로 생성되는 것으로 청주제조시 당화공정에 의해 전분의 일부가 제거되어 건물기준시 40%에 달하는 쌀 단백질 함량을 보인다. 쌀 단백질은 용해도에 따라 glutelin (orizenin), globulin, albumin 및 prolamin으로 나뉘어지며, 그 함량은 품종과 보고자들에 따라 차이를 보이고 있다. 쌀의 주요 단백질인 glutelin (oryzenin)은 약알칼리에 용해되는 고분자의 저장단백질로서 도정한 쌀의 배유 단백질의 약 80%를 차지한다<sup>34)</sup>. Glutelin의 분자량은 105~106의 범위를 지니며 분자량 38, 25 및

16 kD인 세개의 subunit으로 구성되어 있다. Prolamin은 알코올에 용해되는 저분자의 저장단백질로서 쌀 단백질의 5-10%를 차지하고 있어 낮은 prolamin 함량은 쌀 단백질의 주요한 특징이 되고 있다. 수용성 단백질인 albumin과 염용성 단백질인 globulin은 주로 미강쪽에 분포되어 있으며 이들은 생물학적으로 중요한 물질을 지닌 단백질이다. 쌀 단백질의 아미노산 조성의 특징은 다른 곡물들에 비해 lysine함량이 높으며 glutamin acid의 함량이 낮다는 것이다<sup>35)</sup>.

쌀 단백질 농축물(rice protein concentrate)은 일반적으로 쌀가루나 도정시 부산물로 생성되는 미강으로부터 알칼리 추출하여 등전점(pH 4.5)침지법으로 제조하거나<sup>36)</sup> 효소로 전분질을 당화해서 전분을 제거하여 제조한다<sup>37)</sup>. Morita와 Kiriya<sup>38)</sup>는 쌀가루를 효소처리하여 당화시키고 이를 여과하고 끓는 물과 에탄올로 세척하여 단백질 함량 90% 이상의 rice protein isolate를 제조하였다. 그러나 쌀 단백질은 용해도 등의 기능성이 약하여 다른 단백질들에 비해 식품산업에 널리 이용되지 못하고 있으며 주박의 단백질을 이용한 사례는 보고되어있지 않다.

쌀 단백질을 이용한 새로운 활용 방안으로서 가식성필름으로서의 이용방안이 제기되었다. Shih<sup>39)</sup>는 쌀가루를 효소 처리하여 전분을 일부 제거함으로써 단백질 함량 53%의 쌀단백질 농축물을 제조하고 이를 pullulan과 혼합하여 가식성필름을 제조하였다. 이때 가교제로 propyleneglycol alginate를 알칼리 조건에서 소량 첨가하면 필름의 강도와 수분투과특성을 개선시킬 수 있었다고 하였다.

한편, Gnanasambandam<sup>40)</sup> 등은 부산물로 생성되는 미강을 pH 9.5로 알칼리 처리하고 이를 원심분리 및 여과하여 불용성 성분을 제거한 후 가용성분에 가소제로 glycerol을 첨가하고 가열교반하여 생분해성 단백질필름을 제조

하였다. 이들은 필름형성용액의 pH를 3.5와 9.5에서 필름을 제조하였을 때, 필름의 인장강도와 용해도 등의 기계적 특성은 알칼리에서 제조한 필름이 우수하였으나 수분 및 산소의 이동에 대한 차단성은 산성에서 제조한 필름이 더 우수하였다고 보고하였다.

현재까지 쌀을 이용한 가식성필름의 제조에 관한 연구는 거의 이루어져 있지 않은 상태이지만 위의 연구와 같이 부산물로 생성되는 미강이나 주박을 이용함으로써 저가의 미이용 자원을 활용하여 고부가가치화가 가능할 것으로 예상된다.

액상의 유청은 치즈나 카제인 제조시의 부산물로 생성되며 이의 생산량은 증가하고 있지만 대부분 식품원료로 활용되지 못한채 사료용 또는 폐기물로 분류되었다. 유청 혹은 탈지 고형분으로부터 유당을 제거하여 우유단백질(milk protein)을 제조하는 방법으로는 등전점 침전하여 caseinate를 제조하는 방법과 한외여과(ultrafiltration)법을 사용하여 고분자인 우유단백질로부터 저분자인 유당을 분리하는 방법<sup>41)</sup>이 널리 사용되고 있으며, 실험실 규모로 gel permeation chromatography (GPC)를 이용하는 방법, 한외여과와 cryodestabilization을 이용한 카제인을 동결침전(cryoprecipitation)하는 방법<sup>42)</sup>, membraneless osmosis<sup>43)</sup>를 이용한 우유단백질의 분리 및 알코올을 이용하여 유당만을 선택적으로 추출하는 방법<sup>44)</sup> 등이 이용되고 있다. 이 중 변성되지 않은 유청단백질 농축물(Whey protein concentrate, WPC)를 분리하기 위한 방법으로 한외여과를 이용하여 현재 사용되어지고 있으며 분리유청단백질(Whey protein isolate, WPI)를 정제하기 위한 기술로는 high performance hydrophilic ion exchange법이 사용되고 있다. WPI는 단백질함량이 80%이상 포함된 것을 의미하며, WPC는 20%에서 80%의 유청단백질이 함유되어 있다. 유청단백질은 현재 동물사료 뿐만 아니라 제과 제빵 및 유아식에 이용되고 있다.

유청단백질은 pH 4.6에서 용해되는 성질로 대표되며 이는 전체 우유단백질의 20%를 차지하고 있다. 유청단백질에는  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin, bovine serum albumin, immunoglobulin 그리고 proteoseptone류의 다섯 가지의 단백질 fraction이 존재한다. 유청단백질의 주요 구성단백질 성분은  $\beta$ -lactoglobulin으로 이는 유청단백질의 62%를 차지한다.  $\beta$ -lactoglobulin은 소수성기와 sulfhydryl기가 내부에 존재하는 구형 단백질로 65°C 이상에서 변성작용이 일어나 내부의 sulfhydryl기, 반응성이 높은 소수성기들 및  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>기가 외부로 노출된다<sup>45)</sup>. 유청단백질 용액을 가열하면 유리 sulfhydryl기의 산화와 thioldisulfide interchange 반응이 일어나 유청단백질 분자들이 중합하게 된다<sup>46)</sup>.  $\alpha$ -lactalbumin은 유청단백질의 25%를 차지하는 네개의 disulfide bond를 가진 구형 단백질이며, Bovine serum albumin (BSA)는 17개의 disulfide bond와 하나의 free thiol기를 지닌 분자량 66,000의 거대 구형 단백질이다. Immunoglobulin과 proteose-peptone은 유청단백질의 나머지 부분을 차지하고 있다.

Wu와 Bates<sup>47)</sup>는 가열한 두유로부터 가식성필름을 제조하는 방법을 응용하여 액상의 cottage cheese whey와 다른 유청단백질 농축물(WPC)들의 필름형성 능력에 대해 연구하였다. 이들은 가열한 2.8%의 단백질용액의 표면에 형성된 필름층을 유리막대로 건져내고 건조하여 필름을 제조한 결과 cottage cheese whey와 calcium WPC는 필름형성능력이 좋지 못한 반면 sodium WPC는 좋은 성상의 필름을 제조할 수 있었다. 그러나 이러한 방법은 균일한 성상의 필름을 제조하기에는 부적합하다는 단점을 지닌다.

가교결합을 촉매하는 효소를 사용하여 유청단백질 필름을 제조하는 연구가 Mafmoud와 Savello<sup>48)</sup>에 의해 시도되었다. 이들은 Ca<sup>2+</sup> 이온과 glycerol을 첨가한 pH 7.5의 완충용액에 각각 5%의 유청단백질( $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$

-lactoglobulin 및 이들의 1:1 혼합물)을 용해시켜 필름형성용액을 만들고 가교 결합을 촉매하는 효소인 transglutaminase를 첨가하여 필름을 제조한 결과, 필름의 구성단백질은 수분투과도에 영향을 미치지 못하였으며 첨가한 glycerol의 농도에 따라 인장강도, 수분함량, 수분투과특성이 직접적으로 영향을 받았다고 보고하였다. 또한 이들은  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin 및 이들의 1:1 혼합물로 제조한 필름들의 용해도와 가수분해도를 측정한 결과 필름의 용해도는 가소제로 사용된 glycerol의 농도와 용매의 pH와 직접적인 관련이 있으며, SDS,  $\beta$ -mercaptoethanol에는 불용성이나 단백분해 효소에 의해서는 분해되는 것으로 보고하였다<sup>49)</sup>. 그러나 위와 같이 가식성필름을 제조하기 위해 효소처리를 이용하는 방법은 고가의 제조비용이 드는 단점이 있다.

유청단백질은 구형의 구조(globular structure)를 지니고 있어 필름의 형성이 어렵지만 변성되면 random coil형태로 완전히 unfold되어 강한 필름을 형성할 수 있다. 유청단백질의 주성분인  $\beta$ -lactoglobulin은 pH 6.5에서 70℃부터 비가역적으로 변성되기 시작하며<sup>50)</sup>, 유청단백질은 100℃ 근처에서 완전히 열변성되어 다른 유청단백질들과 disulfide 결합을 형성한다<sup>51)</sup>. 이때 유당이 존재하면 열변성이 일어나는 최저온도가 높아진다고 한다<sup>52)</sup>. McHugh 등<sup>53)</sup>은 8-12%의 분리유청단백질(whey protein isolate, WPI) 용액을 75℃에서 100℃사이로 가열처리하여 필름용액을 만들어 이를 매끈하고 수평이 조절된 판에 붓고 실온에서 건조하여 분리유청단백질 필름을 제조하고, 필름의 수분투과도에 미치는 가소제와 상대습도의 영향에 대하여 조사하였다. 그 결과 가소제로 사용된 glycerol과 sorbitol은 필름 내부 고분자간의 수소결합을 감소시켜 필름의 수분투과도를 증가시키는 동시에 필름에 유연성을 부여하였으며, 일정 가소제 농도와 상대습도에서 가소제로 sorbitol을 사용한 필름의 수분투과도가 glycerol을 사용한 필름보다 낮았다고 보고하였다. 또한 McHugh 와 Krochta<sup>54)</sup>



는 가소제를 첨가한 분리유청단백질 가식성필름의 산소투과도는 상대습도에 지수적으로 영향을 받으며 동일한 인장강도인 경우 sorbitol을 가소제로 사용한 필름의 산소투과도가 glycerol을 사용한 필름보다 낮아 가소제로서의 효과는 sorbitol이 더 우수한 것으로 나타났다고 보고하였다. 한편 Fairley 등<sup>55)</sup>은 음이온 계면활성제인 sodium dodecyl sulfate (SDS)를 가소제로 첨가하여 분리유청단백질필름을 제조하였다. 가소제로 SDS만 사용하였을 때에는 가소제로서의 효과가 없었으나 glycerol혹은 sorbitol과 혼합하여 사용하였을 때 가소제로서의 효과를 나타내었으며 단백질에 대하여 20% 첨가하였을 때 수분투과도의 변화없이 신장률과 수분용해도를 증가시켰다고 보고하였다.

그러나 위와 같이 가식성필름을 제조하기 위해 분리유청단백질을 이용하는 방법은 고가의 제조비용이 소모되므로 상업적으로 이용하기 어렵다. 따라서 비교적 저가의 가식성필름을 제조할 수 있는 방법들이 모색되었다. Maynes와 Krochta<sup>56)</sup>는 가식성필름의 제조를 위한 탈지유의 이용가능성에 대한 연구를 수행하였다. 탈지유로 제조한 필름은 필름형성시 결정화되는 유당에 의해 필름의 성상이 균일하지 못하였고 casting 판에 필름이 붙는 경우가 발생하여 이를 해결하기 위하여 한외여과법과 ethanol 추출법을 통해 유당을 제거하여 필름을 제조하였다. 그 결과 한외여과법을 이용하여 유당을 제거시킨 유단백질로 제조한 필름이 에탄올 추출법을 이용한 것보다 더 높은 인장강도와 낮은 수분투과도를 보였다고 보고하였다. Banerjee와 Chen<sup>57)</sup>은 분리유청단백질 보다는 저가인 유청단백질 농축물을 이용하여 가식성필름을 제조하여 이를 sodium caseinate, potassium caseinate, calcium caseinate 및 분리유청단백질 필름과 특성을 비교한 결과, 유청단백질 농축물로 제조한 필름의 인장강도는 caseinate 필름들과 비슷하였으며 수분투과도는 더 낮은 것으로 나타났다고 보고하여 가식성필름의 재료로서 유청단백질 농축물의 가능성을 보였

다.

이상의 연구들에서 제조한 가식성필름들의 성질은 필름의 주성분인 친수 고분자들의 종류 뿐만 아니라 동종의 단백질이라도 이들의 이화학적성질에 따라 다르며 여러 첨가제에 의해 현저히 달라진다. 또한 최근까지 유청단백질을 이용하여 제조된 생고분자 필름에 대한 연구는 주로 농축 유청단백질이 나 또는 분리 유청단백질과 같은 상업적으로 시판되는 원료를 사용하였으며, 산업 부산물로 발생된 유청분말을 그대로 이용한 것은 없었다.

따라서 본 연구에서는 생물자원으로부터 유래한 대두박, 주박, 유청 등의 저가의 산업부산물을 이용하여 이로부터 필름형성용 유용 생고분자인 단백질을 추출하여 기존의 가식성 필름 제조이론을 바탕으로 가식성 필름을 제조하고 이때 가식성필름의 성질에 미치는 영향인자에 대하여 조사하였으며, 유청분말과 sodium caseinate를 혼합 이용하여 최대한 유청분말을 이용할 수 있는 혼합비율과 제조조건을 결정하고자 하였다.

## 제2절. 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 실험에 사용한 유청과 대두박은 유청분말(㈜ 삼익유가공)과 열처리를 하지 않은 시판 탈지대두분(㈜ 개미산업)을 이용하였으며, 주박은 양조회사(백화양조, 군산)에서 청주제조 후 부산물로 생성된 것을 수거하여 -20℃에서 냉동 보관한 것을 해동하여 사용하였다. 가식성 필름 제조에 첨가되는 가소제로는 glycerol (GLY), propylene glycol (PG), polyethylene glycol (PEG) 200, PEG 400, PEG 600 (Showa Chemical Co., Japan) 및 sorbitol (Junsei Chemical Co., Ltd. Japan)을 사용하였다.

### 2. 식품산업 부산물로부터 필름형성용 단백질의 제조

#### 가. pH에 따른 대두박 및 주박단백질의 추출율

추출율은 Bae의 방법<sup>58)</sup>을 수정하여 측정하였다. 즉, 시료 10 g에 20배의 증류수(200 mL)를 가한 후 0.1 N HCl 또는 0.1 N NaOH 용액으로 추출용액의 pH를 pH 2.0~12.0으로 조절하면서 60분간 magnetic stirrer로 교반한 후, 10분간 원심분리(8,000 rpm)하였다. 원심분리 후 얻어진 상정액 4 mL 중의 단백질 함량을 semi-microKjeldahl법으로 측정하여 추출율 다음과 같이 구하였다.

$$\text{추출율} = \frac{\text{추출된 단백질의 무게 (g)}}{\text{시료 중 단백질의 무게 (g)}} \times 100 \quad \text{식 (1)}$$

#### 나. 수분흡수력 측정

각 pH에 용해된 시료를 1 mL 씩 취하고 이를 완전히 건조시킨 후 수분흡수력을 Beuchart의 방법<sup>59)</sup>을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 시료에 20배 (V/W)의 0.1 M Sodium citrate buffer solution (pH 4.0)을 가하여 혼합시킨 후 20분 동안 정치시켰다. 20분간 원심분리(3,000 rpm)한 후 상정액을 제거하여 시료에 흡수된 수분의 무게를 측정하였다. 이때 수분 흡수력을 다음식에 의하여 계산하였다.

$$\text{수분흡수력 (\%)} = \frac{\text{시료에 흡수된 수분의 무게 (}g_f\text{)}}{\text{시료중 단백질의 무게 (}g_t\text{)}} \times 100$$

#### 다. 유지흡수력 측정

각 pH에 용해된 시료를 1 mL 씩 취하고 이를 완전히 건조시킨 후 유지흡수력을 Beuchart의 방법<sup>59)</sup>을 일부 변형하여 측정하였다. 즉, 시료에 20배 (V/W)의 정제 대두유를 넣고 30초 동안 혼합하여 20분 동안 정치시킨 후 20분간 원심분리(10,000 rpm)하였다. 그 후 상정액을 제거하여 시료에 흡수된 유지의 무게를 측정하여 다음식에 의하여 유지흡수력을 측정하였다.

$$\text{유지흡수력 (\%)} = \frac{\text{시료에 흡수된 유지의 무게 (}g_f\text{)}}{\text{시료중 단백질의 무게 (}g_t\text{)}} \times 100$$

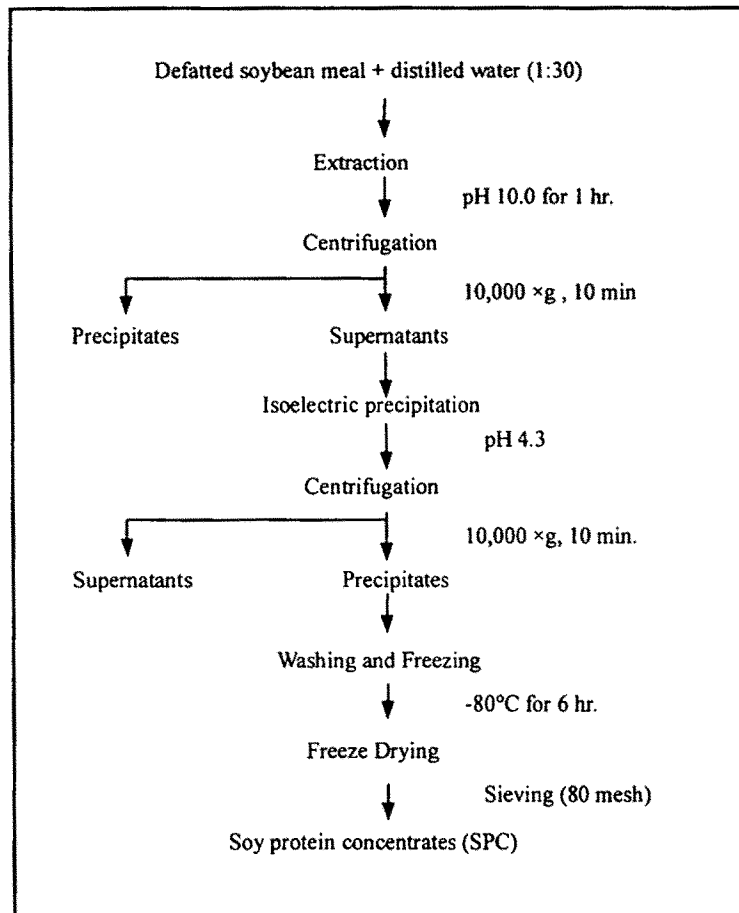
## 라. 단백질 농축물의 제조

### 1) 대두박 단백질 농축물 제조

대두박에 30배(w/w)의 증류수를 가한 후 1.0 N NaOH 용액으로 pH를 10.0으로 조절하여 25℃에서 60분간 vertical stirrer를 이용하여 교반시켜 대두단백질을 추출하였다. 이를 10분간 원심분리(10,000 ×g)하여 불용성 물질을 제거한 후 상정액을 1.0 N HCl용액으로 pH 4.3으로 조정하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000 ×g, 10 min)하여 단백질 침전물을 분리하였다. 얻어진 대두단백질 침전물을 증류수로 세척하고 동결건조하여 마쇄한 후 80 mesh의 표준체를 통과시켜, 이를 시료로 실험에 사용하였다 (Fig. 1-1).

### 2) 두부비지 단백질 농축물 제조

건조하지 않은 두부비지에 10배(w/w)의 증류수를 가하여 믹서로 혼합한 후, 이를 1.0 N NaOH 용액으로 pH 11로 조절하여 25℃에서 60분간 교반시켜 가용성분을 추출하였다. 이 추출액을 10분간 원심분리(10,000 ×g)한 후, 상정액을 1.0 N HCl로 대두 단백질의 등전점인 pH 4.3으로 조정하여 단백질을 침전시킨 후, 10분간 원심 분리(10,000 ×g)하여 두부비지 단백질 침전물을 분리하였다. 이를 냉동건조한 후 5 배의 n-Hexane으로 2회 탈지한 후 마쇄하여 80 mesh의 표준체를 통과시킨 것을 시료로 사용하였다.



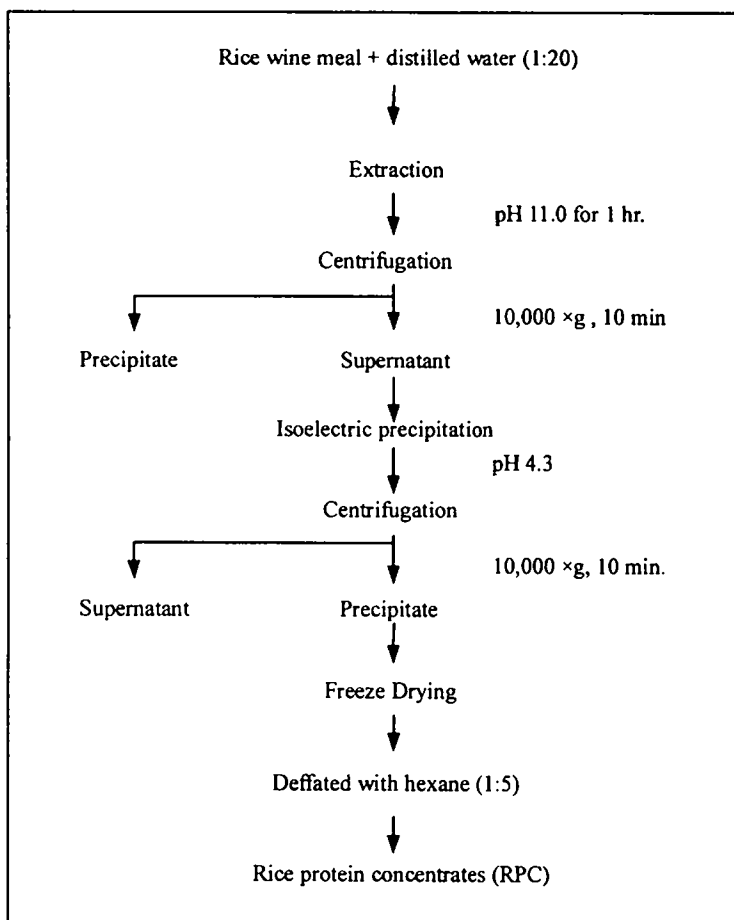
**Fig. 1-1. Flow chart for the preparation of soy protein concentrates from defatted soy meal**

### 3) 주박단백질 농축물(Rice protein concentrate, RPC)의 제조

건조하지 않은 주박에 20배(w/w)의 증류수를 가하고 믹서로 혼합한 후, 이를 1.0 N NaOH 용액으로 pH를 11.0으로 조절하여 25℃에서 60분간 vertical stirrer를 이용하여 교반시켜 가용성분을 추출하였다. 이를 10분간 원심분리(10,000 ×g)하여 불용성 물질을 제거한 후 상등액을 1.0 N HCl용액으로 pH 4.3으로 조정하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000 ×g, 10 min)하여 주박 단백질 침전물을 분리하였다. 얻어진 주박 단백질 침전물을 증류수로 세척하고 동결건조하여 마쇄한 후 이를 5배의 n-hexane으로 3회 탈지하고 80 mesh의 표준체를 통과시킨 것을 주박단백질 농축물시료로 실험에 사용하였다 (Fig. 1-2).

### 4) 유청단백질 농축물(Whey protein concentrate, WPC)의 제조

유청 분말에 증류수를 가한후 75℃까지 열처리하고 냉각하여 0.1 N HCl으로 pH를 4.5로 조절하여 유청단백질을 침전시킨다. 상등액을 제거한후 다시 증류수를 가하고 pH 4.5로 조절하는 과정을 상등액으로 3회 반복하여 유당을 제거하고 10분간 원심 분리(10,000 ×g)하여 유청 단백질 침전물을 분리하였다. 이를 냉동건조한 후 5 배의 n-Hexane으로 3회 탈지한 후 마쇄하여 80 mesh의 표준체를 통과시킨 것을 유청단백질 농축물 시료로 사용하였다.



**Fig. 1-2. Flow chart for the preparation of rice protein concentrate from rice wine meal**



### 3. 시료 단백질 농축물의 이화학적 특성 분석

#### 가. 일반성분 분석

재료 및 단백질 농축물의 수분함량, 조단백질함량, 조지방함량 및 회분함량은 A.O.A.C법<sup>60)</sup>에 따라 각각 105℃ 상압건조법, semi-microKjeldahl법, Soxhlet법 및 건식 회화법으로 측정하였다. 또한 청주박의 알코올 함량은 청주박 100 g을 취하여 300 mL의 증류수를 가하고 이를 증류한 후 증류액 100 mL을 취하여 10℃에서 주정도 부침을 사용하여 측정하였다.

#### 나. 아미노산 분석

추출 단백질 및 대두 단백질 분획물의 아미노산 조성은 Henrikson등<sup>61)</sup>의 방법에 따라 아미노산 분석용 시료 단백질 60 mg에 1%의 phenol을 함유한 6 N HCl 15 mL를 가하고 Pico-Tag Workstation을 이용하여 기체질소로 잔존 산소를 제거시켜 밀봉한 다음, 105℃에서 24시간 동안 가수분해한 시료용액의 아미노산을 산 가수분해하여 아미노산으로 분해시킨 후 PITC (phenylisothiocyanate)를 사용하여 PTC (phenylisothiocarbmyl) 유도체로 만들어 HPLC (high performance liquid chromatography)를 이용하여 역상 분리 방식으로 분리한 후 UV (254nm) 검출기로 검출하였다. 아미노산 분석에 사용된 분석장치 및 가동조건은 Table 1-1에 나타내었다.

**Table 1-1. The operating conditions of the HPLC used for the analysis of the amino acid contents**

Instrument	Waters 510 HPLC pump, Waters 717 autosampler
Column	Waters Pico-Tag column (3.9 × 150 mm, 4µm)
Detector	Waters 486 UV detector (λ 254 nm)
Mobile phase	0.14 M sodium acetate trihydrate, 0.05% triethylamine in deionized water (pH 6.4 with phosphoric acid) 94 mL + Acetonitrile 6 mL
Eluent A :	
Eluent B :	60% Acetonitrile

**Gradient table**

Time (min)	Flow (mL/min)	% A	% B	Curve
0	1.0	100	0	*
10.0	1.0	54	46	5
10.5	1.0	0	100	6
11.0	1.0	0	100	6
14.0	1.0	100	0	6
14.5	1.0	100	0	6
20.5	1.0	100	0	6
21.0	1.0	100	0	6

#### 다. 단백질의 용해도 측정

용해도는 Bae의 방법<sup>58)</sup>을 수정한 추출을 측정법에 준하여 측정하였다. 즉, 시료 5 g에 10배의 증류수(50 mL)를 가한 후 0.1 N HCl 또는 0.1 N NaOH 용액으로 용액의 pH를 pH 2.0 - 11.0으로 조절하면서 10분간 magnetic stirrer로 교반한 후, 10분간 원심분리(10,000 ×g)하였다. 원심분리 후 얻어진 상정액 1 mL 중의 단백질 함량을 semi-microKjeldahl법으로 측정하여 용해도를 다음과 같이 구하였다.

$$\text{용해도} = \frac{\text{증류수에 용해된 단백질의 무게 (g)}}{\text{시료 중 단백질의 무게 (g)}} \times 100 \quad \text{식 (2)}$$

#### 라. 전기영동

추출 단백질의 전기영동은 50 mL의 증류수에 각각의 단백질 시료 1.0 g을 넣고 0.1 N HCl과 0.1 N NaOH 용액으로 pH를 2.0에서 11.0으로 조절하면서 20분 동안 교반시킨 후, 20분간 원심분리(10,000)하여 얻어진 상정액을 시료로 사용하였다. 각 pH에 용해된 각각의 시료의 전기영동을 Laemmli의 방법<sup>62)</sup>에 따라 행하였다. 전기영동은 10% SDS polyacrylamide gel을 사용하였다. 이때 사용된 표준물질은 protein molecular weight standard, high range (GIBCO BRL products, U.S.A)로서 myosin (200 kDa), phosphorylase B (97,4 kDa), BSA (68,000), ovalbumin (43 kDa), carbonic anhydrase (29 kDa), b-lactoglobulin (18.4 kDa) 및 lysozyme (14.3 kDa)이었으며 시료와 buffer의 비는 4:1로 하였다.

마. Gel permeation chromatography (GPC)

각각의 pH에 용해된 단백질의 분자량 분포를 gel permeation chromatography (GPC)를 이용하여 측정하였다. 시료 15 mg을 1 mL의 pH 8.0 20 mM Tris buffer와 pH 10.0 20 mM glycine buffer에 용해시키고 이를 Sephacryl H-300 컬럼으로 분석하였다. 분석조건은 컬럼(2.0 × 90 cm)에 buffer 용액을 25 mL/hr의 속도로 용출시켰으며, 2.5 mL씩 분획하여 280 nm에서 각 획분의 단백질 흡광도를 조사하였다.

#### 4. 추출 단백질 필름의 제조에 미치는 영향인자들

##### 가. 필름형성용액의 pH와 온도의 영향

###### 1) 대두 단백질 필름

가소제로 glycerol 2.0 g을 증류수 100 mL에 용해시킨 후 시료 4.0 g을 첨가하여 2분간 균질화(10,000 rpm, T-25, IKA Labortechnik, Germany)하였다. 암모니아수를 사용하여 필름형성용액의 pH를 6.0 - 11.0으로 조절하고 필름형성용액의 온도를 60, 70 및 80℃로 조절하면서 가열교반하여 필름용액을 제조하고 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이를 Teflon 코팅한 수평이 조절된 유리판(25 cm × 25 cm) 위에 부은 후 25℃에서 건조하여 단백질 가식성필름을 제조하였다.

###### 2) 주박 단백질 필름

주박 단백질필름 제조 시 필름용액의 pH에 따른 가식성필름의 성질 변화를 조사하기 위하여 증류수 100 mL에 용해된 단백질의 함량이 5%가 되게 주박 단백질 시료를 넣고 암모니아수를 사용하여 pH 8.0 - 11.0으로 조절하면서 교반하고 이를 원심분리(10,000 g, 15 min)하여 불용성 단백질을 제거한 후 가소제로 PEG 200을 0.2 g/g rice protein concentrate (RPC)의 농도로 첨가하고 이를 90℃로 가열교반하여 필름 용액을 제조하고, 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이를 Teflon 코팅한 수평이 조절된 유리판(25 cm × 25 cm) 위에 부은 후 25℃에서 건조하여 단백질 가식성필름을 제조하였다.

### 3) 유청 단백질 필름

유청 단백질 필름 제조 시 필름용액의 pH에 따른 가식성 필름의 성질 변화를 조사하기 위하여 증류수 100 mL에 용해된 단백질의 함량이 5%가 되게 유청 단백질 시료를 넣고 암모니아수를 사용하여 pH 8.0 - 11.0으로 조절하면서 교반하고 이를 원심분리(10,000 g, 15 min)하여 불용성 단백질을 제거한 후 가소제로 glycerol 과 sorbitol을 1:1로 혼합한 것을 0.2 g/g whey protein concentrate (WPC)의 농도로 첨가하고 이를 60, 70, 80 및 90℃로 가열교반하여 필름 용액을 제조하고, 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이를 Teflon 코팅한 수평이 조절된 유리판(25 cm × 25 cm) 위에 부은 후 25℃에서 건조하여 단백질 가식성 필름을 제조하였다.

#### 나. 가소제 종류 및 농도의 영향

##### 1) 대두 단백질 필름

시료 단백질(soy protein concentrate, SPC) 4.0 g을 100 mL의 증류수에 용해한 후, 가소제로 glycerol, propylene glycol (PG), polyethylene glycol (PEG 200), PEG 400, sorbitol 등을 각각 0.3 - 0.7 g/g SPC의 농도로 첨가하여 균질화하고 이 용액의 pH를 10.0으로 조절하면서 80℃로 가열교반한 후 casting하여 필름을 제조하여 가소제의 종류 및 농도에 따른 대두 단백질 필름의 인장강도와 신장률 등의 기계적 특성 및 수분투과특성의 변화를 측정하였다.

##### 2) 유청단백질 필름

시료 단백질(whey protein concentrate, WPC) 5.0 g을 100 mL의 증류수에 용해한 후, 가소제로 glycerol, propylene glycol (PG), polyethylene glycol (PEG

200), PEG 400, sorbitol 등을 각각 0.3 - 0.5 g/g SPC의 농도로 첨가하여 균질화하고 이 용액의 pH를 10.0으로 조절하면서 90℃로 가열교반한 후 casting하여 필름을 제조하여 가소제의 종류 및 농도에 따른 대두 단백질 필름의 인장강도와 신장률 등의 기계적 특성 및 수분투과특성의 변화를 측정하였다.

## 5. 대두단백질의 분자량의 영향

### 가. 분자량 분획물의 제조

대두단백질 100 g을 증류수 2 L에 넣고 암모니아수를 이용하여 pH 10.0으로 조절하여 단백질을 용해하였다. 이 용액을 0.5 m<sup>2</sup>의 면적을 지닌 100,000 nominal molecular weight limit (NMWL)의 filter가 장착된 한외여과기(Millipore Intertech, Bedford, MA, U.S.A)에 넣어 permeate와 filtrate로 분리하였다. 여과막을 통과하지 못하고 순환된 filtrate가 500 mL로 감소되었을 때 증류수(1.5 L)를 첨가하여 이를 다시 순환시켰으며, 이 작업을 3회 반복하여 여과를 행하였다. 이때, 여과막을 통과한 시료를 100,000이하의 분자량을 지닌 시료로 하였으며, filtrate는 다시 300,000 NMWL의 filter를 장착한 한외여과기에 넣고 순환시켜 여과막을 통과한 시료 (분자량 100,000 - 300,000)와 통과하지 못한 시료(분자량 300,000 이상)로 분리하였다. 각각의 분획들을 rotary evaporator를 이용하여 농축한 다음 70℃에서 동결한 후 동결건조하여 제조한 건조단백질을 마쇄하고 80 mesh의 표준체를 통과시킨 것을 시료로 하였다. 제조된 100,000 NMWL filter를 통과한 시료, 100,000 NMWL filter는 통과하지 못하였지만 300,000 NMWL filter를 통과한 시료, 그리고 300,000 NMWL filter를 통과하지 못한 시료를 SP-F1, SP-R1F3 및 SP-R3로 각각 명명하였으며, 이들 단백질의 분자량 분포를 전기영동과 gel permeation chromatography (GPC)를 통하여 확인하였다.

## 나. 대두단백질 분획물 필름의 제조

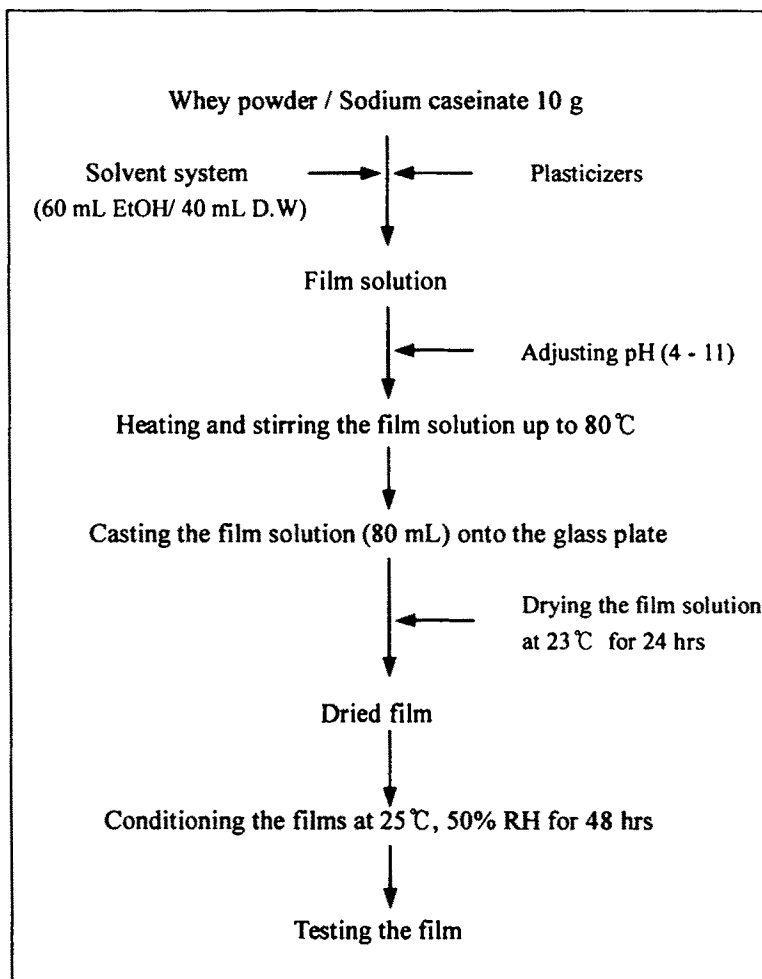
가소제로 glycerol 2.0 g을 증류수 100 mL에 용해시킨 후 분자량 별로 분획한 대두단백질 분획물 4.0 g을 첨가하여 2분간 균질화(10,000 rpm, T-25, IKA Labortechnik, Germany)하였다. 암모니아수를 사용하여 필름형성용액의 pH를 10.0으로 조절하고 필름형성용액의 온도를 80℃로 가열교반하여 필름용액을 제조하고 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이를 Teflon 코팅한 수평이 조절된 유리판(25 cm × 25 cm) 위에 부은 후 25℃에서 건조하여 단백질 가식성필름을 제조하였다. 단백질 분획물 필름의 기계적 특성, 수분투과 특성, 용해도, 색도 및 불투명도를 측정하여 이들 단백질들의 분자량이 필름에 미치는 영향을 조사하였다.

## 6. 유청분말-카제인 혼합필름의 제조

### 가. 필름 제조

필름의 제조 공정은 Fig 1-3에 나타내었다. 즉, 유청분말과 sodium caseinate의 혼합비를 달리하여 제조한 혼합원료 (whey-sodium caseinate mixture, WCM) 10 g을 95% 에탄올 60 mL와 증류수 40 mL의 혼합 용매 체계에 넣어 용해시킨 후 가소제 및 cross linker를 첨가하고 균질기(T-25, IKA Labortechnik, Germany)로 6,000 rpm에서 2분 동안 혼합한 다음 이 용액을 1.0 N HCl과 1.0 N NaOH를 이용하여 pH를 조절하면서 75℃ - 80℃의 온도에서 가열교반하였다. 필름용액 80 mL을 Teflon 필름으로 코팅한 고무 테두리가 있고 수평이 조절된 유리판(27 cm × 27 cm) 위에 부은 후, 23℃에서 24시간 동안 건조시켜 생고분자 필름을 제조하였다. 이때 필름은 1 처리구 당 3개씩 제조하였다.





**Fig. 1-3. Preparation procedure for biopolymer films made from whey powder and sodium caseinate.**

## 나. pH 및 가소제의 효과

유청분말과 sodium caseinate를 40:60 (w/w)으로 혼합하여 이를 필름제조에 사용하였다. 가소제로는 glycerol, PEG 400 및 sorbitol을 각각 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 및 0.5 g plasticizer/g WCM의 농도로 첨가하였다. 가소제를 첨가한 필름용액의 pH를 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0 및 11.0으로 조절한 후 필름을 제조하여 각각의 가소제 종류 및 농도에서 필름용액의 pH에 따른 필름의 기계적 성질을 조사하였다.

## 7. 가식성 필름의 평가

### 가. 필름의 두께 측정

형성된 가식성 필름은 인장 강도(Tensile strength, TS)의 측정을 위해서 80 mm × 25 mm로 절단하고 두께 측정용 micrometer (Teclock, Japan)를 이용하여 필름의 두께를 5회 측정한 후 평균값으로 나타내었으며, 수증기 투과도 (Water vapor permeability, WVP) 측정을 위한 필름의 두께는 필름을 70 mm × 70 mm로 절단한 후 9회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

### 나. 기계적 특성의 측정

절단한 가식성 필름을 상대습도가 50%로 조절된 25℃의 항온항습조에 48 시간 방치하여 필름의 수분함량을 조절한 후 ASTM D882-90 표준 시험법<sup>63)</sup>에 따라 Texture analyzer (TA-XT2, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 필름의 인장강도(tensile strength, TS), 신장률(elongation, E) 및 break force를 측정하였다. 이때 초기 grip간의 거리는 50 mm로, crosshead 속도는 500 mm/min

으로 조절하였다. 인장 강도와 신장률은 각각 다음 식 (2)과 (3)를 이용하여 구하였으며, break energy는 인장력이 가해질 때부터 필름이 끊어질 때 까지 거리-인장력 곡선의 면적으로 나타내었다.

$$TS = \frac{\text{Maximum tensile force}}{\text{Cross sectional area}} \quad \text{식(2)}$$

$$\text{Elongation} = \frac{\Delta L}{L} \times 100 \quad \text{식(3)}$$

식 (2)에서의 maximum tensile force는 필름을 잡아늘릴 때, 필름이 절단될 때까지 작용한 가장 큰 힘을 말하며, cross sectional area는 필름의 평균 단면적을 의미한다. 식(3)에서의 L은 Texture analyzer 초기 grip 사이의 거리, DL은 필름이 절단될 때까지 움직인 grip간의 거리를 나타낸다.

#### 다. 필름의 수분투과도 측정

수분 투과도 측정은 절단된 가식성 필름을 상대습도가 50%로 조절된 25℃의 항온 항습조에 48시간 방치하여 필름의 수분 함량을 조절시킨 다음, ASTM E96-90 표준 시험법<sup>64)</sup>에 따라 cup method를 이용하여 수증기 투과도를 측정하였다. 이때 cup은 공기의 누출을 방지하기 위해 고무 O-ring을 장착시켰으며, 외경이 6.7 cm, 내경이 4.6 cm, 깊이가 2.1 cm인 poly (methyl methacrylate) (Piedmont Plastics, Inc., Greenville, SC)재질로, cup 내부에 증류수를 넣고 이를 필름으로 덮은 후, 용기의 직경과 같은 직경을 가진 뚜껑으로 덮고, 대칭으로 놓여 있는 4개의 나사를 조여 용기내의 수증기가 직경 4.6 cm의 원형 필름층을 통해서만 외부로 이동하도록 하였다. 이를 상대습도가 50%로 조절된 25℃의 항온 항습조에 방치하면서, 이때 필름층을 통한 cup 내부의 수증기의 이동에 기인한 cup의 무게 감소를 측정하였다. 시간에 따른

cup의 무게 감소의 관계로부터 cup의 시간에 따른 무게 감소율을 구하였다. 수증기 투과율(water vapor transmission rate, WVTR)은 식(4)와 같이 cup의 시간에 따른 무게 감소율을 필름의 면적으로 나누어 구하였으며, 이 수증기 투과율로부터 다음 식(5)를 이용하여 수분투과도(water vapor permeability, WVP)를 구하였다.

$$WVTR = \frac{\text{Slope}}{\text{Film area}} \quad \text{식(4)}$$

$$WVP = WVTR \left( \frac{L}{\Delta p} \right) \quad \text{식(5)}$$

이때, 식(4)에서의 slope는 시간에 따른 cup의 무게 감소율을, film area는 수분 이동이 일어나고 있는 필름의 넓이를 말하며, 식(5)에서의 L은 필름의 평균 두께,  $\Delta p$ 는 필름을 사이에 둔 cup 내부와 외부의 수증기 부분압의 차이이다.

또한 필름하부의 수증기압을 필름의 하부와 증류수의 표면사이에 있는 공기의 저항에 의한 영향을 McHugh 등<sup>65)</sup>과 Park 등<sup>7)</sup>의 방법에 따라 보정하여 이를 수분투과도의 보정값(water vapor permeability by correction method, WVPC)으로 나타내었다.

#### 라. 용해도( water solubility ) 측정

수분용해도 측정을 위한 필름 시료 약 1 g을 2.5 cm 2.5 cm으로 절단한 후 이를 phosphorus pentoxide로 상대습도가 0%로 조절된 desiccator에 72시간 방치하여 필름을 건조시켰다. 건조된 필름시료 20-30 mg을 정확히 칭량하여 이를 시험관에 넣고 증류수를 5 mL가한 후 시험관을 밀봉한 다음 이를 25C

의 진탕수조에 넣고 24시간 동안 저속으로 진탕시켰다. 진탕액 1 mL을 취하여 이를 원심분리(12,000 rpm, 5 분)하여 불용성물질을 제거하고 상정액 20 L을 취하여 Bradford 법<sup>66)</sup>을 이용하여 595 nm에서의 흡광도를 측정하고 bovine serum albumin을 이용하여 구한 표준식으로부터 용해된 단백질 함량을 구하였다. 용해도는 필름의 단백질 중 증류수에 용해된 단백질의 백분율로 나타내었다.

#### 마. 색도측정

필름의 색도는 색차계 (CR 300 Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다. 필름 시료를 표준백색판(calibration plate CR-A43, L=95.91, a=0.00, and b=2.27) 위에 놓고 3회 측정한 평균값을 Hunter L, a 및 b로 나타내었다. 여기에서 L값은 색의 밝기를 나타내는 것으로 L=0 (black)에서 L=100 (white)까지의 값을 가지며, a 값은 색의 적색도를 나타내는 것으로 a=-80 (greenness)에서 a=100 (redness), b값은 황색도를 나타내는 것으로 b=-80 (blueness)에서 b=70 (yellowness)의 값을 나타낸다. 이들 Hunter L, a 및 b값으로부터 표준백색판과의 색차(total color difference,  $\Delta E$ )와 황색지표(yellowness index, YI)를 다음과 같이 구하였다.

$$\Delta E = \sqrt{(L-L')^2 + (a-a')^2 + (b-b')^2} \quad \text{식(6)}$$

$$YI = 142.86 \times \frac{b}{L} \quad \text{식(7)}$$

이때, L, a 및 b은 표준백색판의 값(L=95.91, a=0.00, and b=2.27)을 의미한다.

#### 바. 불투명도(Opacity) 측정

필름의 불투명도는 필름을 0.7 cm × 1.5 cm의 사각형으로 자른 후 이를 사각의 분광분석용 석영 cell의 빛 통과 영역에 부착시키고 분광분석계 (Uvikon spectrophotometer 922, Kontron Instruments, Italy)를 이용하여 400-800 nm 파장영역의 광을 주사시키면서 이때의 흡광도 측정하였다. 필름의 불투명도는 기록된 흡광도 곡선의 면적으로 정의하였으며 nm×O.D.의 단위로 나타내었다.

#### 사. 통계적 분석

SAS(Statistical Analysis System) 통계 package<sup>67)</sup>를 사용하여 분산 분석 및 Duncan 다범위 검증(Duncan's multiple range test)을 실시하였다.

### 제3절. 결과 및 고찰

#### 1. 추출단백질의 이화학적 성질

##### 가. 일반성분

시료 대두박, 주박, 유청분말 및 이들의 단백질 농축물의 일반성분 분석결과는 Table 1-2에 나타내었다. 탈지대두박은 43.4%의 단백질 함량을 보였으며, 건조하지 않은 주박의 경우 수분 38.8%와 알코올 함량 15.2%를 함유하며 이때 단백질 함량이 19.6%로서 이는 건조 중량의 42.6%를 차지하고 있어 높은 단백질 함량을 보였다. 유청분말의 경우 12.4%의 단백질 함량을 보였으며 유당을 포함한 탄수화물이 76.7%로서 높은 함량을 보였다. 한편 대두박, 주박 및 유청분말의 단백질 농축물들은 단백질함량이 각각 71.2%, 67.3% 및 79%로 나타났으며 단백질 농축물을 제조하였을 때 수율은 대두, 주박 및 유청단백질 농축물이 각각 24%, 16%, 7.2%로 나타나 대두박으로부터 단백질을 추출하였을 때 가장 높은 수율을 보였다.

##### 나. 단백질의 추출율에 미치는 pH의 영향

대두박으로부터 단백질을 추출할 때의 추출율은 Fig. 1-4에 나타낸 바와 같이 용매의 pH가 등전점 부근인 pH 4에서 가장 낮은 추출율(19.4%)을 나타내었으며 산성 혹은 알칼리성이 강해짐에 따라 추출율이 증가하여 pH 2.0에서 추출하였을 때 추출율은 40%정도이었으나 pH 10에서는 83%의 추출율을 보였으며 pH 11이상에서는 90%이상의 추출율을 나타내었다. 이는 대두박으로부터 단백질을 추출할 때 단백질의 추출율은 추출 pH에 크게 영향을 받고 있음을 의미한다.

**Table 1-2. Chemical composition of soybean meal, rice wine meal, whey powder and their protein concentrates.**

constituents	Soy bean		Rice wine		Whey	
	Soy bean meal	SPC <sup>1)</sup>	Rice wine meal	RPC <sup>2)</sup>	Whey powder	WPC <sup>3)</sup>
Moisture	8.4	6.4	38.8	6.2	2.7	5.5
Crude protein	43.4	71.2 <sup>4)</sup>	19.6	67.3 <sup>5)</sup>	12.4	66.2 <sup>6)</sup>
Crude lipid	0.4	0.8		2.0	2.5	0.2
Crude ash	5.9	5.9		1.1	5.7	1.8
Carbohydrates	41.9	15.7		23.4	76.7	26.3
Alcohol	-	-	15.2	-	-	-
Yield		24%		16%		7.2%

<sup>1)</sup>Soy protein concentrate, <sup>2)</sup>Rice protein concentrate, <sup>3)</sup>Whey protein concentrate

<sup>4)</sup>Calculation of protein content = N(%) × 5.71,

<sup>5)</sup>Calculation of protein content = N(%) × 5.95,

<sup>6)</sup>Calculation of protein content = N(%) × 6.38



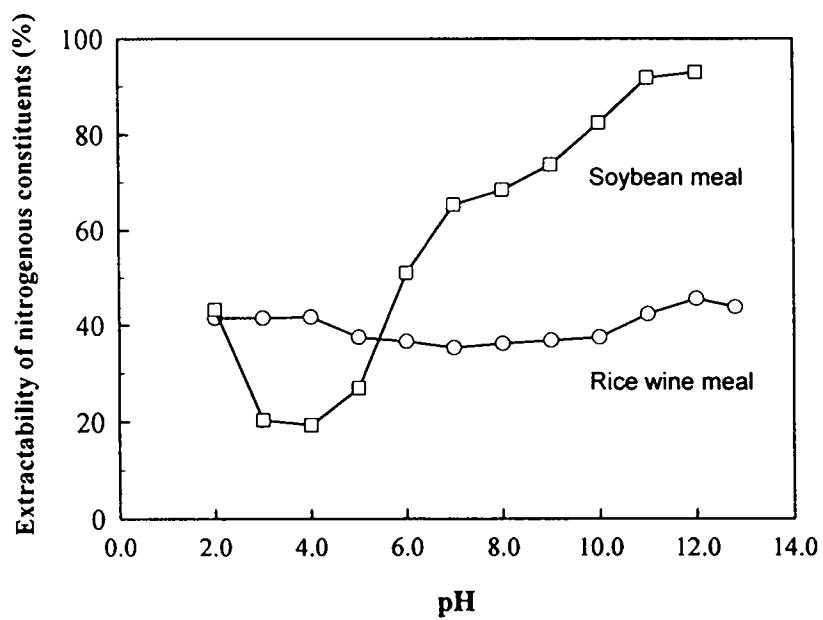


Fig. 1-4. The effect of pH on the extractability of nitrogenous constituents

추출용매의 pH를 달리하여 청주 제조 시 부산물로 생성되는 주박으로부터 단백질을 추출할 때의 추출율은 추출용매의 pH가 중성 (pH 7.0)일 때 35.2%가 추출되어 가장 낮았으며 알칼리성 혹은 산성일수록 추출율이 증가하여 단백질의 주성분이 알칼리에 용해되는 glutelin이 주성분이므로 pH 12.0일 때 45.6%가 추출되어 가장 높은 주박 단백질의 추출율을 나타내었다. 추출용매의 pH에 따른 추출율의 차이가 10.4%를 보여 주박으로부터 단백질을 추출할 때 추출율에 미치는 추출용매 pH의 영향은 그리 크지 않은 것으로 나타났다. 그러나 추출용매의 pH를 12로 조절하였을 경우 비단백 알칼리 가용물질의 용해로 인해 추출단백질 농축물의 단백질함량이 낮아지며 이취가 발생하므로<sup>36)</sup> 본 연구에서는 청주단백질의 추출을 pH 11.0에서 행하였다.

#### 다. 추출단백질의 아미노산 조성

추출단백질의 아미노산 조성비는 Table 1-3에 나타내었다. 산 가수분해 과정 중 tryptophan, cystein, methionine 등의 아미노산은 파괴되므로 결과에서 제외하였다. 대두단백질의 경우 glutamic acid와 aspartic acid의 함량이 각각 20.7%와 7.1%로서 높게 나타났다. 유청 단백질은 glutamic acid의 함량이 16.7%로 가장 높게 나타났으며, leucine과 lysine 이 각각 9.1%와 9.7%로 높은 함량을 보였다. 그러나 a-lactalbumin, b-lactoglobulin 및 bovine serum albumin의 아미노산 조성의 각각 10.2%, 17.1% 및 9.4%의 높은 부분을 차지하는<sup>45)</sup> aspartic acid는 4.8%로 낮은 값을 보였다. 주박 단백질은 glutamic acid, leucine 및 valine의 함량이 높은 것으로 나타났는데, 이는 쌀 단백질의 80%를 차지하고 있는 알칼리 용해성 단백질인 gluteline 중 이들 아미노산이 다량 함유되어 있는데 기인한다<sup>34)</sup>.

**Table 1-3. Amino acid composition of extracted protein concentrates.**

Amino acids	Total amino acid contents (%)		
	SPC <sup>1)</sup>	WPC <sup>2)</sup>	RPC <sup>3)</sup>
Alanine	3.3	2.9	3.7
Arginine	4.9	2.4	4.9
Aspartic acid	7.1	4.8	6.2
Glutamic acid	20.7	16.7	14.3
Glycine	4.9	2.8	5.7
Histidine	3.6	3.1	3.6
Isoleucine	5.4	5.8	6.1
Leucine	6.8	9.1	7.8
Lysine	7.6	9.7	5.3
Phenylalanine	6.6	6.0	7.1
Proline	6.2	7.7	5.1
Serine	6.2	6.6	6.1
Threonine	4.7	6.2	5.6
Tyrosine	4.6	5.3	6.9
Valine	5.0	6.5	7.6

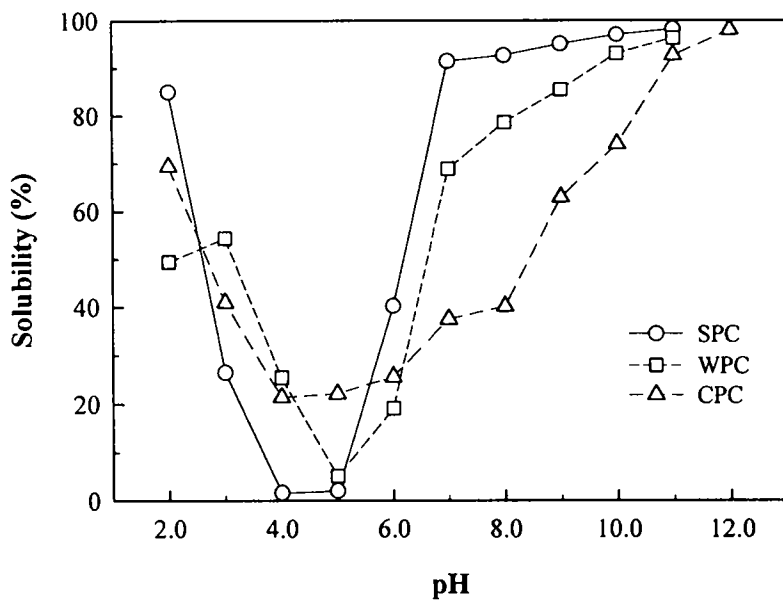
<sup>1)</sup>Soy protein concentrate, <sup>2)</sup>Whey protein concentrate, <sup>3)</sup>Rice protein concentrate,

## 라. 추출단백질의 이화학적 성질에 미치는 pH의 영향

### 1) 용해도

알칼리 추출법에 의해 제조된 대두단백질 농축물과 주박 단백질 농축물을 재료로 하여 가식성 필름을 제조할 때 pH에 따른 단백질의 용해도를 조사하여 Fig 1-5에 나타내었다. 대두단백질 농축물의 용해도는 등전점 부근인 pH 4-5 부근에서 1.6 - 2.0%로 거의 용해되지 않았으며 이로부터 필름용액의 pH가 낮아지거나 높아짐에 따라 필름의 용해도는 급격히 증가하여 pH 2에서는 85%의 단백질이 용해되었으며 pH 7에서는 90%이상의 단백질이 용해되어 대두단백질 농축물의 용해도는 pH 2-7영역에서는 용매의 pH에 크게 영향을 받으나 pH 7이상에서는 pH가 높아짐에 따라 점진적으로 증가하는 경향을 나타내어 필름형성용액의 pH가 알칼리성일 때에는 용해도가 pH의 영향을 크게 받지 않는 것으로 나타났다. 유청단백질은 pH 5에서 5.1%가 용해되어 최저치를 보였으며 용매의 pH가 높아짐에 따라 증가하여 pH 10 이상에서는 90%이상 용해되었다.

주박단백질의 경우 또한 등전점 부근인 pH 4-5 부근에서 용해도가 가장 낮았으나 21.4-22.1%정도가 용해되어 대두단백질이나 유청단백질에 비해 높은 등전점에서의 용해도를 보였다. 필름용액의 pH가 낮아지거나 높아짐에 따라 필름의 용해도는 증가하여 pH 2.0에서는 70%의 단백질이 용해되었고 pH 12.0에서는 단백질의 98%가 용해되었다.



**Fig. 1-5. Effects of film forming solution pHs on solubilities of soy protein concentrates (SPC), whey protein concentrates (WPC) and rice protein concentrates (RPC)**

## 2) 단백질의 기능성 (수분흡수력과 유지흡수력)

각각의 pH로 조절한 펄름형성용액 중 용해된 단백질을 다시 건조하여 이들의 수분흡수력과 유지흡수력을 측정한 결과를 Table 1-4에 나타내었다. 이에 따르면 각각의 pH에 용해된 단백질들은 수분흡수력의 차이를 보이고 있으며 유청단백질의 경우 pH 2에 용해된 단백질이 가장 높았으며 주박 단백질의 경우 pH 8에 용해된 단백질이 가장 높은 수분흡수력을 보였다. 한편 유지흡수력은 비지에서 추출한 대두 단백질, 유청단백질 및 주박 단백질 모두 pH 8에서 높은 유지흡수력을 보였다.

**Table 1-4. Effect of film forming solution pH on water absorption and oil absorption of protein concentrates**

	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8	pH 10	pH 12
<b>Water absorption (%)</b>						
SPC	11.3	32.9	28.6	38.8	33.6	33.3
WPC	65.7		48.4	27.9	20.7	12.0
RPC		53.0	158.0	59.0	23.0	43.4
<b>Oil absorption (%)</b>						
SPC	35.7	13.5	51.8	55.2	53.2	40.6
WPC	75.6	106.8	40.6	101.7	68.4	39.4
RPC	60.9	56.2	111.4	117.6	47.6	51.2

### 3) 전기영동 특성

용매의 pH에 따른 추출 단백질들의 전기영동 결과를 Fig 1-6에 나타내었다. 두부비지로부터 추출한 대두단백질의 경우 분자량 범위가 150 kD, 100 kD, 80 kD, 76 kD, 63 kD, 48 kD, 39 kD, 33 kD 및 30 kD에서 band가 나타났으며 두부제조시 염용성 단백질이 추출되어 대두단백질 전기영동의 전형적으로 나타나는 IIS 단백질의 주성분인 glycinine의 band의 강도가 상당히 약화되었음을 알 수 있었다.

유청단백질은 39 kD, 29 kD, 18.5 kD, 14 kD에서 단백질이 확인되었고 이중 18.5 kD에서 관찰된 단백질은 유청 단백질의 62%를 차지하는  $\beta$ -lactoglobulin이며 단당체의  $\beta$ -lactoglobulin은 하나의 유리 sulfhydryl기와 두개의 disulfide기를 가지고 있다<sup>45)</sup>. 또한 14 kD에서 관찰된 단백질은 유청단백질의 25%를 차지하는  $\alpha$ -lactalbumin으로 이는 네개의 disulfide bond를 가진 구형 단백질이다.  $\alpha$ -lactalbumin은 calcium과 활발히 결합하여 변성에 대해 안정하게 되는 것으로 보고되고 있다<sup>17)</sup>.

주박으로부터 추출한 단백질은 분자량 범위가 50 kD, 39 kD, 30 kD, 22 kD에서 단백질이 확인되었다. 용매의 pH에 따라 각 단백질의 band를 나타내는 분자량 범위는 큰 차이를 보이지 않았으나, 용매의 pH에 따라 단백질의 용해도가 다르므로 band의 강도는 pH에 따라 큰 차이를 보였다

Soybean curd meal protein

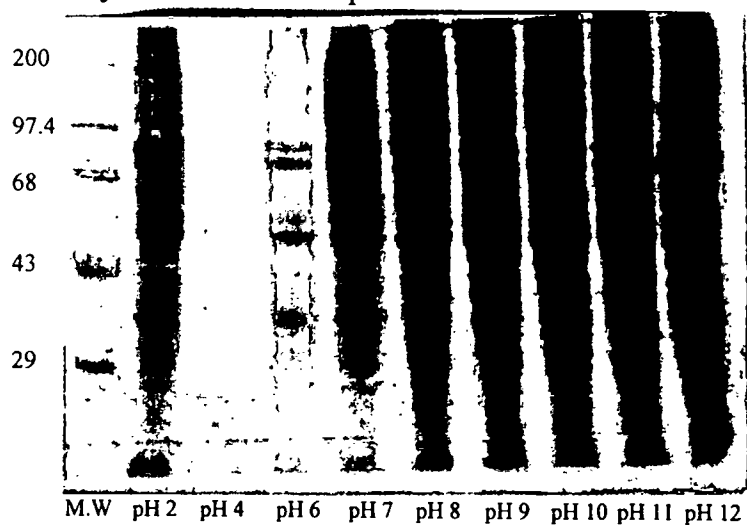


Fig. 1-6. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis patterns for protein concentrates at various pHs



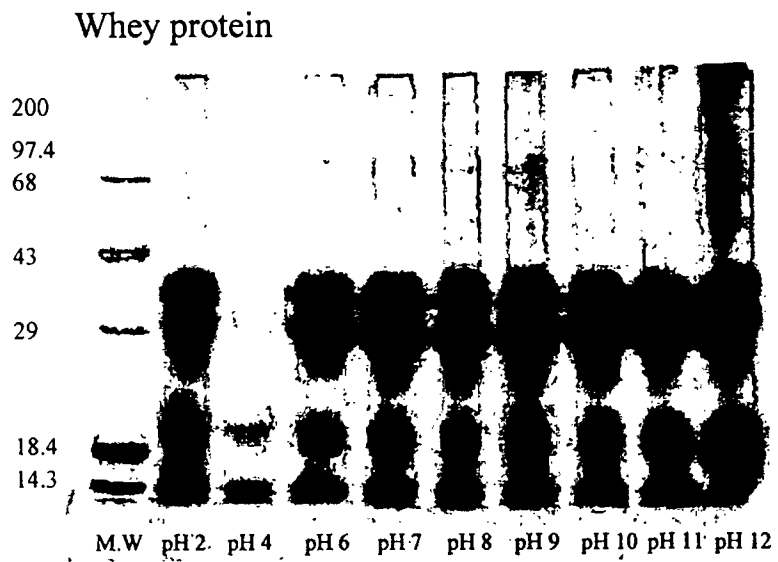


Fig. 1-6. Continued

Rice wine meal protein

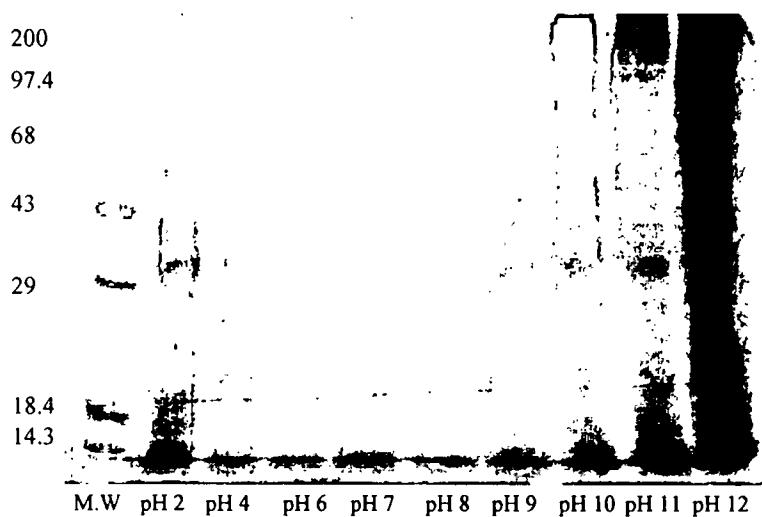
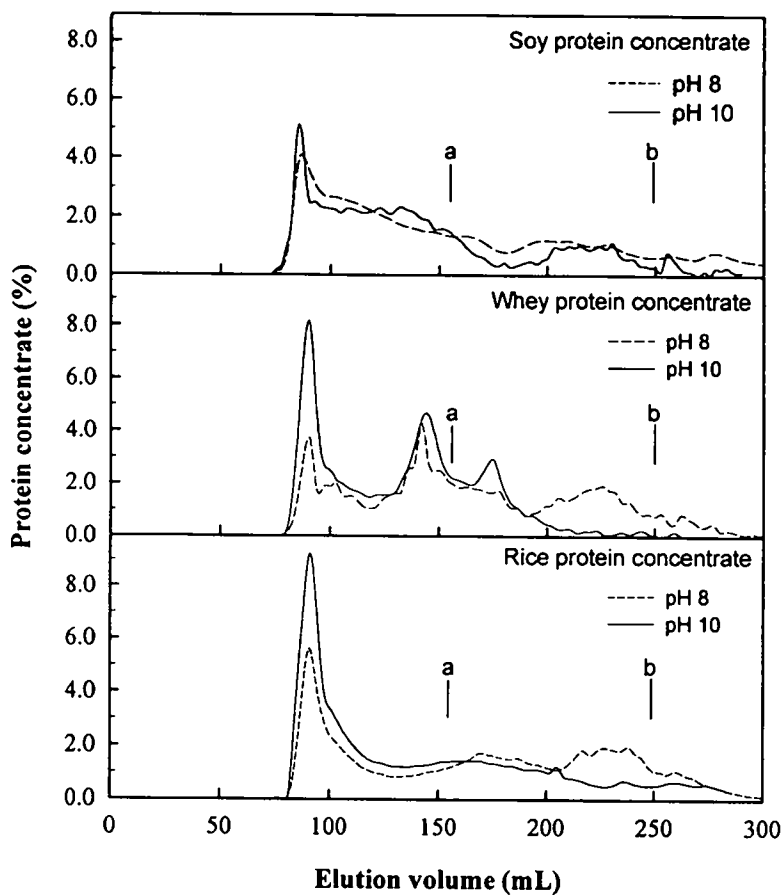


Fig. 1-6. Continued

#### 4) Gel permeation chromatography (GPC)에 의한 분자량 분포

전기영동의 결과에서는 필름형성용액의 pH에 따른 단백질 분자량의 분포를 알 수는 없었다. 따라서 필름형성용액을 pH 8과 pH 10으로 조절하였을 때 각각의 pH에 용해된 농축단백질의 분자량 분포를 GPC를 이용하여 측정한 결과를 Fig 1-7에 나타내었다. 이에 따르면 pH 10에 용해된 단백질의 분자량 분포가 pH 8에 용해된 단백질보다 더 고분자 쪽으로 분포하고 있음을 알 수 있다. 특히 pH 10에서 용해된 단백질은 column의 void volume 직후 분획내 단백질 함량이 높았는데 이는 알칼리에 의해 unfold된 단백질들이 서로 엉키게 되어 마치 거대분자처럼 행동하는 것으로 여겨진다.



**Fig. 1-7. Gel permeation chromatography of protein concentrates (RPC) on Sephacryl H-300.**

The column (1.9 × 70 cm) was eluted with 20 mM Tris buffer (pH 8) and 20 mM glycine buffer (pH 10) at a flow rate of 25 mL/hr; 2.5 mL fractions were collected. A: Apoferritin (M.W. 443,000), b: Bovine serum albumin (M.W. 66,900)

## 2. 추출단백질을 이용한 가식성필름의 제조

### 가. 필름용액의 pH와 온도의 영향

#### 1) 대두단백질 필름

대두박으로부터 추출한 단백질을 이용하여 가식성필름을 제조할 때 필름형성용액의 pH와 온도에 따른 필름의 기계적 특성을 Table 1-5에 나타내었다. 필름용액의 pH를 조절하여 가식성 필름을 제조한 결과 pH 6이하에서 필름용액을 제조하였을 때에는 등전점 부근에서 용해되지 않은 입자들이 다량 존재하여 이 범위의 pH는 필름용액으로 적절하지 못하였다. 필름용액을 pH 6.0 - pH 11.0으로 조절하고 각각의 pH에서의 가용성 단백질을 60℃, 70℃ 및 80℃의 온도로 가열교반하여 제조한 필름들의 두께는 84.4 - 95.7  $\mu\text{m}$ 이었다. 이들 필름을 상대습도 50%에서 48시간동안 저장한 후 측정된 필름의 인장강도는 필름용액을 pH 8이하로 조절하고 60℃로 가열하여 제조한 필름의 경우 2.0 MPa로서 최저치를 나타내었으나 pH와 온도가 증가함에 따라 증가하여 80℃에서 pH 10 이상으로 조절하여 제조하였을 때에는 3.4 MPa로서 최대치를 나타내었다. 이는 필름형성용액의 pH가 등전점에서부터 멀어지고 온도가 높아짐에 따라 단백질은 변성되어 unfold되고 용해되므로 sulfhydryl기와 소수성기들이 외부로 노출되어 건조시 disulfide 결합이나 소수성결합력에 의해 서로 결합하기 때문이다<sup>6)</sup>. 신장률의 경우 필름용액을 60℃와 70℃로 가열하여 제조한 필름들은 70℃에서 pH 11로 제조한 필름을 제외하고는 신장률이 45.1 - 66.1%의 범위로 서로 유의차( $p>0.05$ )를 보이지 않았지만 필름용액의 가열온도를 80℃로 높였을 때에는 60℃ 및 70℃에서 제조한 필름보다 신장률이 유의적으로 증가하여 pH 7 - 10의 범위에서 90%이상의 신장률을 보였다.

**Table 1-5. Effects of pH and temperature of film forming solution on mechanical properties of soy protein concentrate (SPC) films prepared from soybean meal.**

Temperature	pH	Thickness (µm)	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)	Break energy (kJ/m <sup>2</sup> )
60 °C	pH 6	94.8 ± 8.2 <sup>1)</sup>	2.0 ± 0.4 <sup>i</sup>	52.1 ± 10.5 <sup>6b</sup>	48.3 ± 11.2 <sup>f</sup>
	pH 7	93.2 ± 16.7	2.0 ± 0.3 <sup>i</sup>	52.8 ± 13.4 <sup>6b</sup>	48.3 ± 8.6 <sup>f</sup>
	pH 8	95.7 ± 9.1	2.3 ± 0.3 <sup>hi</sup>	45.1 ± 10.0 <sup>b</sup>	46.6 ± 6.6 <sup>f</sup>
	pH 9	95.5 ± 10.3	2.4 ± 0.2 <sup>6i</sup>	51.6 ± 8.6 <sup>6b</sup>	53.6 ± 7.5 <sup>f</sup>
	pH 10	93.3 ± 12.1	2.7 ± 0.4 <sup>6ef</sup>	48.5 ± 12.1 <sup>6b</sup>	57.1 ± 9.3 <sup>ef</sup>
	pH 11	94.8 ± 9.7	3.0 ± 0.3 <sup>6b</sup>	53.5 ± 10.2 <sup>6b</sup>	74.5 ± 16.3 <sup>d</sup>
70 °C	pH 6	89.3 ± 10.5	2.1 ± 0.1 <sup>h</sup>	59.6 ± 8.3 <sup>6c</sup>	57.5 ± 9.0 <sup>ef</sup>
	pH 7	90.9 ± 12.0	2.3 ± 0.3 <sup>6b</sup>	54.3 ± 12.7 <sup>6b</sup>	57.6 ± 6.9 <sup>ef</sup>
	pH 8	94.0 ± 13.4	2.5 ± 0.2 <sup>6c</sup>	62.0 ± 10.8 <sup>6c</sup>	68.7 ± 12.3 <sup>de</sup>
	pH 9	93.3 ± 13.5	2.7 ± 0.2 <sup>6de</sup>	66.1 ± 15.1 <sup>f</sup>	80.7 ± 12.6 <sup>d</sup>
	pH 10	90.5 ± 15.4	3.0 ± 0.4 <sup>6c</sup>	60.2 ± 10.1 <sup>6c</sup>	81.8 ± 10.1 <sup>d</sup>
	pH 11	95.0 ± 9.5	3.2 ± 0.3 <sup>6b</sup>	78.4 ± 17.1 <sup>6de</sup>	112.5 ± 24.1 <sup>bc</sup>
80 °C	pH 6	91.9 ± 12.7	2.4 ± 0.4 <sup>6d</sup>	75.2 ± 14.5 <sup>6e</sup>	77.9 ± 14.8 <sup>d</sup>
	pH 7	96.1 ± 8.3	2.6 ± 0.3 <sup>6c</sup>	93.9 ± 17.7 <sup>6b</sup>	101.8 ± 11.9 <sup>c</sup>
	pH 8	84.4 ± 10.0	2.9 ± 0.4 <sup>6cd</sup>	90.2 ± 17.0 <sup>6bc</sup>	109.0 ± 13.2 <sup>bc</sup>
	pH 9	92.1 ± 5.5	3.1 ± 0.3 <sup>6b</sup>	99.3 ± 10.1 <sup>a</sup>	120.6 ± 24.3 <sup>ab</sup>
	pH 10	91.5 ± 13.9	3.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	97.2 ± 9.3 <sup>a</sup>	129.1 ± 18.1 <sup>a</sup>
	pH 11	87.1 ± 9.2	3.4 ± 0.5 <sup>a</sup>	82.0 ± 9.1 <sup>6cd</sup>	117.0 ± 13.9 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Means ± Standard deviation (n=10).

<sup>a,b,c,d,e,f,g,h,i</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple comparison.

필름을 절단할 때까지 소모된 에너지인 breaking energy 또한 pH 8이하에서 60℃로 가열하여 제조한 필름은 46.6 kJ/m<sup>2</sup>으로 최저치를 보였으며 필름용액의 pH와 온도가 증가함에 따라 break energy 또한 증가하여 80℃, pH 10에서 129.1 kJ/m<sup>2</sup>로 최대값을 보였다.

한편 수분투과도는 Table 1-6에 나타낸 바와 같이 필름용액의 pH 및 온도에 따라 유의차를 보이지 않으며 0.58 - 0.68 ngm/m<sup>2</sup>sPa범위의 일정한 값을 나타내어 필름용액의 pH를 6 - 12로 조절하였을 때 대두단백질필름의 수분투과도는 pH의 변화에 관계없이 일정하였다는 Gennadios 등<sup>6)</sup>의 보고와 동일한 결과를 보였다.

즉, 대두단백질로 제조한 필름은 유청이나 주박단백질에 비해 pH의 영향을 덜 받는 것으로 나타났는데 이는 필름을 제조한 pH 범위에서 대두단백질은 전반적으로 높은 용해도를 보여 pH에 의한 용해도의 영향이 크지 않은데 기인하는 것으로 사료되며, 본 연구에서 대두단백질 필름용액을 pH 10으로 조절하고 80℃로 가열하였을 때 가장 우수한 기계적 성질을 지닌 필름을 제조할 수 있을 것으로 판단되었다.

**Table 1-6. Effects of pH and temperature of film forming solution on water vapor permeabilities of soy protein concentrate (SPC) films**

Temperature	pH	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	$\text{WVP}_A^{1)}$ ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )	$\text{WVP}_C^{2)}$ ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )	Error <sup>3)</sup>
60 °C	pH 6	82.6 $\pm$ 2.3 <sup>4)</sup>	0.64 $\pm$ 0.05	1.18 $\pm$ 0.14	54%
	pH 7	80.4 $\pm$ 1.9	0.66 $\pm$ 0.05	1.29 $\pm$ 0.19	51%
	pH 8	80.6 $\pm$ 1.3	0.64 $\pm$ 0.01	1.21 $\pm$ 0.04	53%
	pH 9	83.3 $\pm$ 3.3	0.68 $\pm$ 0.04	1.29 $\pm$ 0.08	52%
	pH 10	84.9 $\pm$ 5.3	0.65 $\pm$ 0.03	1.20 $\pm$ 0.14	55%
	pH 11	82.2 $\pm$ 0.1	0.62 $\pm$ 0.07	1.14 $\pm$ 0.23	55%
70 °C	pH 6	80.4 $\pm$ 3.6	0.65 $\pm$ 0.04	1.24 $\pm$ 0.11	53%
	pH 7	81.8 $\pm$ 5.6	0.65 $\pm$ 0.05	1.24 $\pm$ 0.24	52%
	pH 8	86.5 $\pm$ 15.1	0.65 $\pm$ 0.12	1.15 $\pm$ 0.23	56%
	pH 9	83.8 $\pm$ 7.8	0.66 $\pm$ 0.04	1.21 $\pm$ 0.07	54%
	pH 10	86.6 $\pm$ 9.4	0.66 $\pm$ 0.03	1.19 $\pm$ 0.11	55%
	pH 11	87.3 $\pm$ 5.8	0.65 $\pm$ 0.01	1.16 $\pm$ 0.08	56%
80 °C	pH 6	89.9 $\pm$ 7.6	0.67 $\pm$ 0.06	1.21 $\pm$ 0.17	56%
	pH 7	85.4 $\pm$ 2.0	0.66 $\pm$ 0.04	1.20 $\pm$ 0.14	55%
	pH 8	83.0 $\pm$ 6.9	0.65 $\pm$ 0.06	1.19 $\pm$ 0.14	54%
	pH 9	85.8 $\pm$ 2.0	0.64 $\pm$ 0.05	1.15 $\pm$ 0.15	56%
	pH 10	78.9 $\pm$ 4.8	0.58 $\pm$ 0.03	1.04 $\pm$ 0.13	56%
	pH 11	80.8 $\pm$ 4.8	0.61 $\pm$ 0.05	1.08 $\pm$ 0.11	56%

<sup>1)</sup>Water vapor permeability calculated by ASTM method.

<sup>2)</sup>Water vapor permeability calculated by correction method.

<sup>3)</sup>Error =  $(\text{WVP}_A/\text{WVP}_C) \times 100$

<sup>4)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=4). No significant ( $p < 0.05$ ) differences were detected among WVP means by Duncan's multiple range test.



## 2) 유청단백질 필름

유청분말에서 유당을 제거하여 제조한 단백질 농축물을 원료로 가식성 필름을 제조할 때 필름형성용액의 pH와 온도에 따른 필름의 기계적 특성을 Table 1-7에 나타내었다. 제조된 필름의 신장률은 필름용액의 온도와 pH에 크게 영향을 받지 않으며 2.7% - 9.8%의 낮은 값을 보였다. 필름형성용액을 pH 8과 pH 9에서 제조한 필름의 인장강도는 필름용액의 온도가 높아짐에 따라 증가하는 경향을 보였으나 pH 10이상으로 제조한 필름들은 필름용액의 온도가 증가하더라도 제조된 필름의 인장강도는 유의차를 보이지 않았다. 한편, 필름형성용액의 온도를 동일하게 조절하여 제조한 유청단백질 필름의 인장강도는 필름용액의 pH를 8에서 10으로 높일수록 증가하는 경향을 나타내었으며 필름용액의 pH를 10이상으로 조절하였을 때에는 제조된 인장강도는 유의차가 없는 것으로 나타났다. 또한 필름용액을 60℃로 가열하여 제조한 필름의 경우 필름용액의 pH를 8에서 11로 높임에 따라 필름의 인장강도는 6.9 MPa에서 9.9 MPa로 증가하여 43%의 증가를 보였으나 90℃에서 제조한 경우는 용액의 pH를 증가시킴에 따라 18% 만이 증가하여 인장강도에 미치는 pH의 영향은 필름용액의 가열온도가 낮을수록 큰 것으로 나타났다. 유청단백질은 소수성기와 sulfhydryl기가 내부에 존재하는 구형 단백질로 65℃이상에서 변성작용이 일어나 내부의 sulfhydryl기, 반응성이 높은 소수성기들 및 ε-NH<sub>2</sub>기가 외부로 노출된다<sup>45)</sup>. 유청단백질 용액을 가열하면 유리 sulfhydryl기의 산화와 thiol-disulfide interchange 반응이 일어나 유청단백질 분자들이 중합하게 된다<sup>68)</sup>. 60℃와 70℃의 비교적 낮은 온도에서 필름을 제조할 경우 단백질의 변성정도가 낮아 중합정도가 약하게 되므로 필름의 인장강도가 낮게 나타나며, 이때 용액의 pH를 알칼리로 조절함으로써 단백질이 unfolding되는 정도가 커져 필름의 인장강도가 높아지는 것으로 생각된다.

**Table 1-7. Effects of pH and temperature of film forming solution on mechanical properties of whey protein concentrates (WPC) films prepared from whey powder**

Temperature	pH	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
60 $^{\circ}\text{C}$	pH 8	66.8 $\pm$ 6.4	6.9 $\pm$ 0.6 <sup>e</sup>	3.9 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>
	pH 9	83.4 $\pm$ 3.3	7.9 $\pm$ 0.9 <sup>f</sup>	3.2 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup>
	pH 10	81.0 $\pm$ 4.5	9.4 $\pm$ 0.3 <sup>abcd</sup>	4.7 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup>
	pH 11	76.3 $\pm$ 4.3	9.9 $\pm$ 0.7 <sup>ab</sup>	4.0 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>
70 $^{\circ}\text{C}$	pH 8	79.9 $\pm$ 5.1	6.7 $\pm$ 1.6 <sup>e</sup>	2.7 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>
	pH 9	107.4 $\pm$ 7.7	8.5 $\pm$ 0.1 <sup>def</sup>	4.5 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>
	pH 10	84.3 $\pm$ 3.7	9.3 $\pm$ 0.8 <sup>abcd</sup>	3.8 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>
	pH 11	86.1 $\pm$ 17.5	9.7 $\pm$ 0.9 <sup>abc</sup>	3.5 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>
80 $^{\circ}\text{C}$	pH 8	85.2 $\pm$ 4.7	7.8 $\pm$ 0.3 <sup>f</sup>	4.6 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>
	pH 9	93.8 $\pm$ 8.4	8.2 $\pm$ 0.6 <sup>ef</sup>	9.8 $\pm$ 6.6 <sup>a</sup>
	pH 10	84.7 $\pm$ 7.2	9.0 $\pm$ 0.2 <sup>cde</sup>	5.2 $\pm$ 1.7 <sup>b</sup>
	pH 11	84.7 $\pm$ 14.6	9.1 $\pm$ 0.7 <sup>bode</sup>	8.3 $\pm$ 6.6 <sup>a</sup>
90 $^{\circ}\text{C}$	pH 8	89.0 $\pm$ 6.0	8.5 $\pm$ 0.7 <sup>def</sup>	4.1 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>
	pH 9	87.2 $\pm$ 4.8	9.1 $\pm$ 0.4 <sup>bcd</sup>	4.9 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup>
	pH 10	80.1 $\pm$ 9.0	10.0 $\pm$ 1.0 <sup>ab</sup>	4.3 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup>
	pH 11	94.3 $\pm$ 22.0	9.2 $\pm$ 0.6 <sup>bcd</sup>	4.0 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=10).

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan' multiple comparison.

필름의 수분투과도는 Table 1-8에 나타낸 바와 같이 필름형성용액의 pH와 온도에 따라 ASTM법에 의해 측정된 값(WVP<sub>A</sub>)이 0.41 - 0.61 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa의 범위였으며 측정시 측정컵 내부의 공기층의 저항을 보정하여 계산한 결과 0.64 - 0.96 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa범위의 값(WVP<sub>C</sub>)을 나타내어 이들 값 사이에는 33 - 38%의 차이를 보였다. 한편, 필름의 수분투과도는 필름용액의 pH와 온도에 영향을 거의 받지 않는 것으로 나타났으며, 다만 필름용액을 pH 8과 pH 11로 조절하고 60℃로 가열하여 제조한 필름의 경우 다른 필름들과 유의차를 보이며 낮거나(pH 8) 높게(pH 11) 나타났는데 이는 필름 두께의 영향을 받아 차이를 보인 것으로 사료된다.

### 3) 주박단백질 필름

필름용액을 pH 3.0 - pH 11.0으로 각각 조절하여 가식성 필름을 제조한 결과 pH 4.0 - pH 7.0으로 필름용액을 제조하였을 때에는 필름용액 내에 용해되어서 필름의 matrix를 형성할 수 있는 단백질의 비율이 전체단백질의 40% 이하로 용해되지 않은 입자들이 다량 존재하여 이 범위의 pH는 필름용액으로 적절하지 못하였다 필름용액을 pH 8.0 - pH 11.0으로 조절하였을 때 각각의 pH에서 가용성 단백질로 제조한 필름들의 두께는 60.6 - 70.9 μm이었다. 이들 필름을 상대습도 50%에서 48시간동안 저장하였을 때의 신장률은 1.6 - 2.7%로서 차이를 보이지 않았으나, 인장강도의 경우 필름용액을 pH 8.0으로 조절하였을 때에는 4.3 MPa이었지만 필름용액의 pH가 높아질수록 인장강도가 증가하여 pH 11.0에서는 5.7 MPa의 최대치를 나타내었다.

**Table 1-8. Effects of pH and temperature of film forming solution on water vapor permeabilities of whey protein concentrate (WPC) films**

Temperature	pH	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP <sub>A</sub> <sup>1)</sup> ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )	WVP <sub>C</sub> <sup>2)</sup> ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )	Error <sup>3)</sup>
60 °C	pH 8	67.3 ± 8.1	0.41 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.64 ± 0.03 <sup>d</sup>	36%
	pH 9	80.8 ± 1.0	0.50 ± 0.01 <sup>abcd</sup>	0.78 ± 0.02 <sup>abcd</sup>	36%
	pH 10	79.9 ± 4.0	0.49 ± 0.03 <sup>bcd</sup>	0.76 ± 0.08 <sup>abcd</sup>	36%
	pH 11	98.0 ± 10.1	0.61 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.19 <sup>a</sup>	36%
70 °C	pH 8	69.9 ± 1.2	0.44 ± 0.03 <sup>de</sup>	0.70 ± 0.07 <sup>cd</sup>	37%
	pH 9	90.8 ± 18.7	0.56 ± 0.14 <sup>abc</sup>	0.89 ± 0.23 <sup>abc</sup>	36%
	pH 10	82.9 ± 2.7	0.50 ± 0.05 <sup>abcde</sup>	0.78 ± 0.10 <sup>abcd</sup>	35%
	pH 11	74.8 ± 5.1	0.47 ± 0.03 <sup>bcd</sup>	0.73 ± 0.07 <sup>bcd</sup>	35%
80 °C	pH 8	88.8 ± 4.2	0.55 ± 0.06 <sup>abcd</sup>	0.86 ± 0.13 <sup>abc</sup>	36%
	pH 9	88.8 ± 5.1	0.59 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.95 ± 0.09 <sup>ab</sup>	38%
	pH 10	81.9 ± 0.3	0.49 ± 0.05 <sup>bcd</sup>	0.75 ± 0.11 <sup>abcd</sup>	35%
	pH 11	72.0 ± 7.9	0.45 ± 0.06 <sup>cde</sup>	0.72 ± 0.13 <sup>cd</sup>	36%
90 °C	pH 8	86.5 ± 4.1	0.52 ± 0.05 <sup>abcde</sup>	0.80 ± 0.11 <sup>abcd</sup>	35%
	pH 9	82.2 ± 3.7	0.48 ± 0.02 <sup>bcd</sup>	0.73 ± 0.03 <sup>bcd</sup>	34%
	pH 10	97.1 ± 19.8	0.55 ± 0.10 <sup>abcd</sup>	0.82 ± 0.15 <sup>abcd</sup>	33%
	pH 11	86.5 ± 12.1	0.54 ± 0.07 <sup>abcd</sup>	0.86 ± 0.10 <sup>abcd</sup>	37%

<sup>1)</sup>Water vapor permeability calculated by ASTM method.

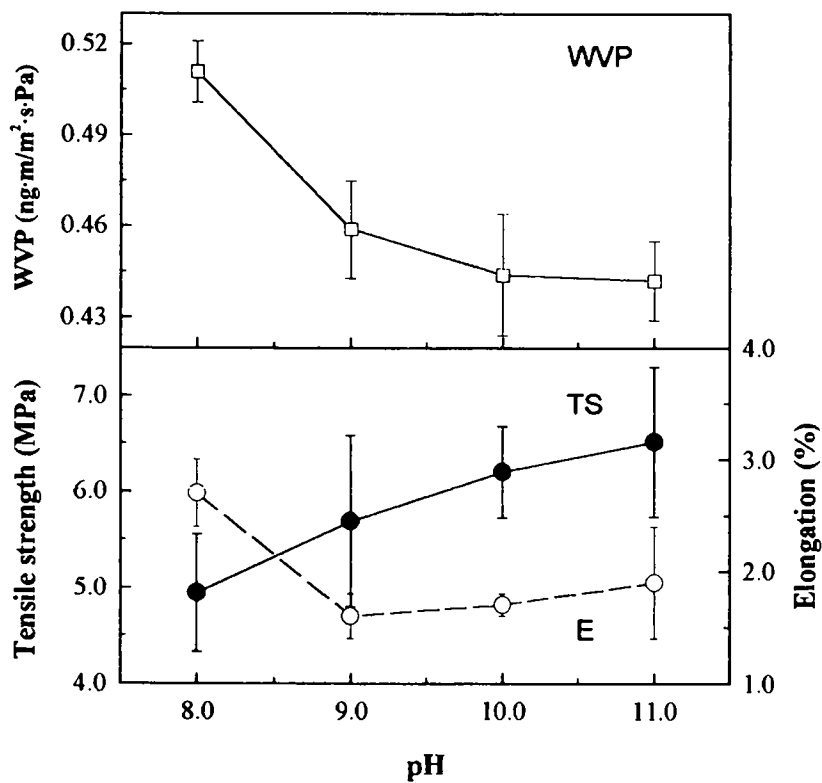
<sup>2)</sup>Water vapor permeability calculated by correction method.

<sup>3)</sup>Error = (WVP<sub>A</sub>/WVP<sub>C</sub>) × 100

<sup>4)</sup>Means ± Standard deviation (n=3). No significant (p<0.05) differences were detected among WVP means by Duncan's multiple range test.

한편 두께가 65  $\mu\text{m}$ 인 주박 단백질 필름의 수분투과도는 pH 9.0 이상의 필름용액으로 제조한 필름들의 경우 큰 차이를 보이지 않았지만 pH가 높아짐에 따라 감소하는 경향을 나타내어 pH 11.0의 필름용액으로 제조한 필름의 수분투과도( $0.44 \text{ ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )는 pH 8.0으로 제조한 필름( $0.51 \text{ ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )보다 14% 감소되었다(Fig 1-8).

필름용액의 pH는 가열과 함께 단백질의 3차 구조가 unfolding하여 망상구조의 필름을 형성하는 과정에 크게 영향을 미친다<sup>6)</sup>. pH 8.0의 필름용액에서는 단백질의 용해도가 낮아 unfolding되는 정도가 약하여 견고한 망상구조의 필름을 형성하지 못하는 반면 pH 11.0인 필름용액 내의 단백질은 90% 이상이 용해되어 unfolding되므로 비교적 치밀한 필름 matrix를 형성할 수 있다. 또한 각각의 pH에서 용해된 단백질의 분포가 Fig 1-7에서 보는 바와 같이 pH 8.0에 용해된 단백질이 pH 10.0의 경우보다 분자량 66,000 이하의 저분자 비율이 높으며 pH 10에 용해된 단백질은 거대분자 상태인 부분이 많아 필름형성 시 더 많은 부분이 거대분자의 망상구조를 이루므로 필름용매가 pH 8.0일 때 보다 높은 인장강도를 지닌 필름을 제조할 수 있었다. 즉, 필름용액의 pH는 단백질의 용해도, 3차 구조의 unfolding 및 필름 matrix를 형성하는 단백질의 분자량에 영향을 미쳐 궁극적으로 필름의 기계적 특성과 수분투과특성에 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 본 실험의 경우 pH 11.0의 필름용액으로 제조한 가식성 필름의 기계적 특성과 수분투과특성이 상대적으로 가장 우수한 것으로 판단되었다.



**Fig. 1-8.** The effect of film forming solution pH on tensile strength (TS), elongation (E) and water vapor permeabilities (WVP) of rice protein concentrate (RPC) films

## 나. 가소제의 종류 및 농도의 영향

### 1) 대두 단백질 필름

대두단백질 필름제조 시 각종의 가소제를 농도별로 첨가하여 이때 필름의 기계적 특성 변화를 Figure 1-9에 나타내었다. 가소제로 glycerol을 0.3 - 0.7 g/g SPC의 농도로 첨가한 경우 가소제의 농도가 0.3에서 0.4 g/g SPC로 증가함에 따라 인장강도는 17.0 MPa에서 9.3 MPa로 급격히 감소하였으나 신장률은 3.8%에서 6.4%로 증가하여 큰 변화를 보이지 않았다. 그러나 glycerol의 농도가 0.4에서 0.6 g/g SPC로 증가함에 따라 인장강도는 9.3 MPa에서 3.1 MPa로 감소하였으며 신장률은 6.4%에서 83.0%로 크게 증가하여 가장 높은 신장률을 보여, 필름의 신장률을 증가시키기 위해서는 일정 농도 이상의 가소제 함량을 필요로 함을 알 수 있다. 또한 glycerol의 농도를 0.6에서 0.7 g/g SPC로 증가하였을 때에는 인장강도와 신장률의 변화가 없었는데 이는 필름의 유연성을 부여하는데 필요한 가소제의 함량 이상으로 첨가되어 오히려 필름의 integrity가 감소하는 것으로 여겨진다. 즉, 가소제로 첨가한 glycerol의 농도가 0.3에서 0.7 g/g SPC로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 지속적으로 감소하였으나 신장률은 0.4 - 0.6 g/g SPC의 범위에서는 급격히 변화하였지만 가소제 함량이 0.4 g/g SPC 이하 또는 0.6 g/g SPC 이상 첨가되었을 때에는 신장률의 변화가 나타나지 않았다. 이러한 경향은 PEG 200에서도 관찰되었다. 한편 가소제로 sorbitol을 첨가한 경우 첨가한 가소제의 농도가 0.3에서 0.7 g/g SPC로 높아짐에 따라 인장강도는 지속적으로 감소하였으며 신장률 또한 지속적으로 증가하였다. 반면에 가소제로 PEG 400을 첨가한 경우 필름의 유연성을 거의 부여하지 못하여 가소제로 적합하지 않은 것으로 나타났다.

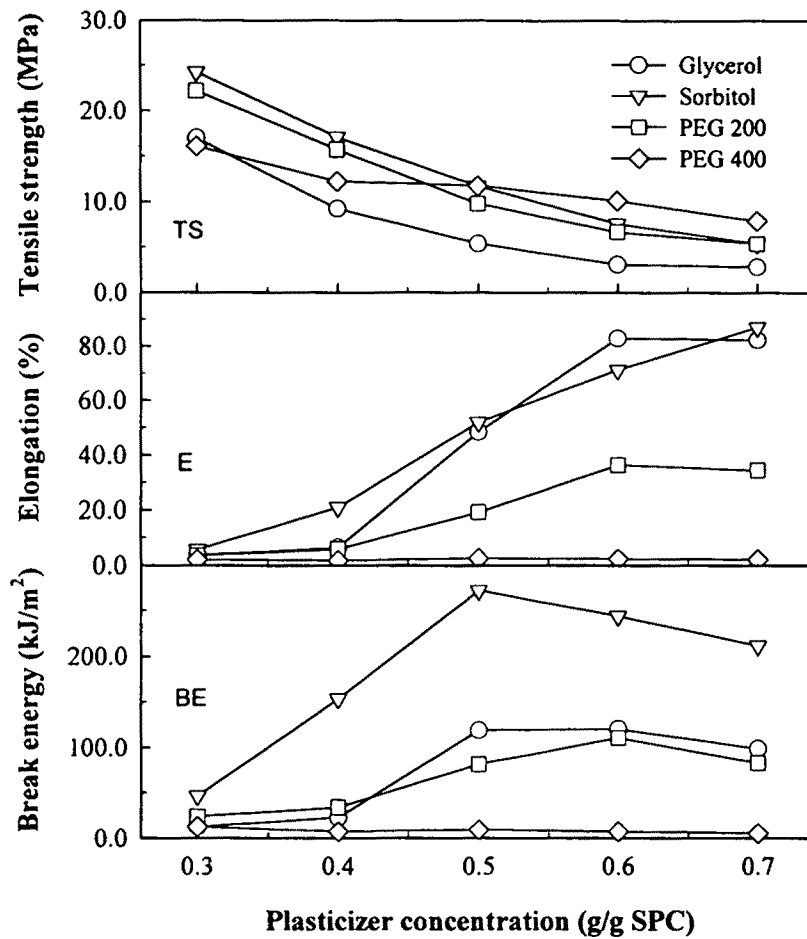


Fig. 1- 9. Effect of plasticizer on tensile strength (TS), Elongation (E) and breaking energy (BE) of soy protein concentrate films from soybean meal



가소제의 종류에 따른 필름의 인장강도는 가소제 전 범위에 걸쳐 glycerol을 첨가한 필름이 가장 낮게 나타났으며 sorbitol과 PEG 200을 첨가한 필름들은 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 PEG 200의 경우 신장률이 낮은 것으로 나타났다.

이상의 결과와 같이 일정 범위의 가소제 농도에서는 가소제의 증감에 따른 인장강도와 신장률은 역의 상관관계를 가지므로 필름의 기계적특성을 인장에 의한 필름 변형곡선의 면적을 구하여 break energy, 즉 인장력에 의해 필름을 끊는데 소모되는 에너지를 측정된 결과 glycerol, sorbitol 및 PEG 200 들을 가소제로 첨가한 필름은 가소제를 0.5-0.6 g/g SPC의 농도로 첨가하였을 때 가장 높은 BE가 소모되어 이 가소제 범위에서 가장 우수한 물성을 지닐 수 있을 것이다.

가소제 종류와 농도에 따른 수분투과도의 변화를 Fig. 1-10에 나타내었다. 가소제의 종류에 관계없이 가소제의 농도가 증가함에 따라 수분투과도는 증가하는 경향을 보였다. 가소제로 sorbitol을 첨가한 경우 전 가소제 농도범위에 걸쳐 수분투과도가 다른 가소제를 첨가한 필름들보다 낮은 것으로 나타났으며, 가소제로 sorbitol을 제외한 glycerol, PEG 200 및 PEG 400을 사용한 경우 이들의 수분투과도들은 큰 차이를 보이지 않았다.

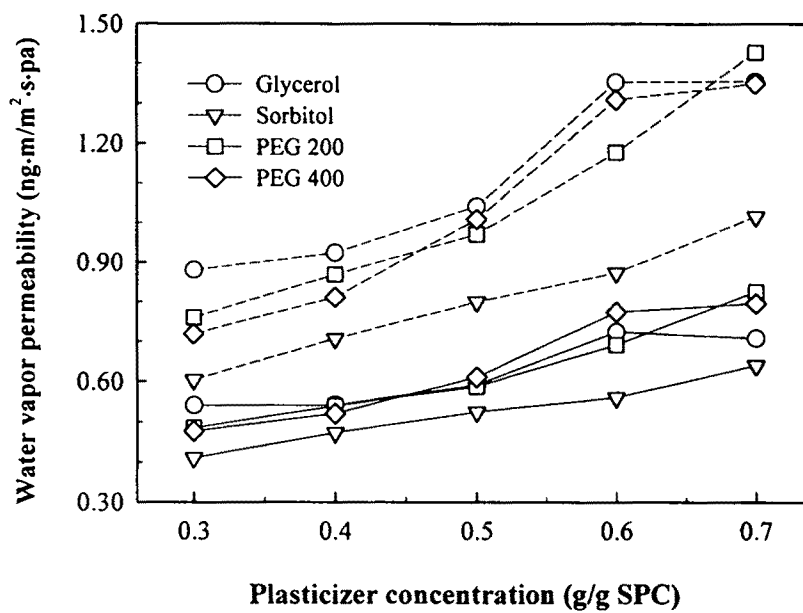


Fig. 1-10. Effect of plasticizer on measured WVP (solid line) and corrected WVP (dashed line) of soy protein concentrate films prepared from soybean meal.

## 2) 유청 단백질 필름

유청분말로부터 유당을 제거하여 제조한 유청 단백질로부터 필름제조 시 각종의 가소제를 농도별로 첨가하여 이때 필름의 기계적 특성 변화를 Table 1-9에 나타내었다. 가소제로 propylene glycol (PG)를 첨가한 필름은 인장강도는 10 MPa 이상으로 높았으나 신장률이 낮으며 부서지기 쉬운 성상을 나타내어 가소제로 부적당하였다. PG를 제외한 가소제들은 가소제의 농도가 높아짐에 따라 인장강도는 감소하였으며, 신장률은 증가하는 전형적인 경향을 보였다. 다만 glycerol의 경우 0.4 g/g WPC 이상의 농도로 첨가한 경우 인장강도와 신장률의 변화를 보이지 않았다.

사용된 가소제들 중 sorbitol을 첨가한 필름이 전 가소제 농도 범위에서 인장강도가 가장 높은 것으로 나타났으며 신장률 또한 PEG 200이나 PEG 400을 첨가한 필름들 보다 높은 것으로 나타나 사용된 가소제들 중 sorbitol을 사용한 필름의 기계적 특성이 우수한 것으로 나타났다. 한편 glycerol을 첨가한 필름의 인장강도는 가장 낮았으나 신장률은 가장 높은 것으로 나타났다.

각종의 가소제를 농도별로 첨가하여 이때 필름의 수분투과도의 변화를 Table 1-10에 나타내었다. 필름의 수분투과도는 glycerol을 가소제로 첨가한 필름이 가장 높은 것으로 나타났으며 PG를 첨가한 필름이 가장 낮은 것으로 나타났으며 sorbitol의 경우도 수분투과도가 PG를 제외한 다른 가소제들보다 낮은 것으로 나타났다. 필름의 수분투과도는 가소제의 농도가 높아짐에 따라 증가하는 경향은 보였지만 필름에 유연성을 부여하는 정도가 낮은 PG의 경우 가소제의 농도 변화에 따른 수분투과도의 변화는 관찰되지 않았다.

이상의 결과로부터 가소제로서 sorbitol을 사용한 필름이 우수한 기계적 물성을 지니며 낮은 수분투과도를 보이는 것으로 나타났다.

**Table 1-9. Effects of plasticizer on mechanical properties of whey protein concentrates (WPC) films prepared from whey powder**

Plasticizer	Concentration (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
Glycerol	0.3	78.9 $\pm$ 8.8 <sup>1)</sup>	6.4 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	24.2 $\pm$ 4.8 <sup>cd</sup>
	0.4	81.7 $\pm$ 7.8	2.6 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	38.4 $\pm$ 6.0 <sup>a</sup>
	0.5	87.4 $\pm$ 9.7	2.6 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	37.8 $\pm$ 3.1 <sup>a</sup>
PG	0.3	73.9 $\pm$ 14.8	13.8 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>	2.2 $\pm$ 0.4 <sup>e</sup>
	0.4	71.5 $\pm$ 4.7	15.6 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>	2.1 $\pm$ 0.3 <sup>e</sup>
	0.5	73.2 $\pm$ 8.7	15.8 $\pm$ 2.6 <sup>a</sup>	2.1 $\pm$ 0.4 <sup>e</sup>
PEG 200	0.3	83.1 $\pm$ 12.1	7.3 $\pm$ 0.8 <sup>d</sup>	10.5 $\pm$ 2.6 <sup>f</sup>
	0.4	83.1 $\pm$ 18.8	3.8 $\pm$ 0.2 <sup>f</sup>	23.4 $\pm$ 4.8 <sup>d</sup>
	0.5	91.8 $\pm$ 7.5	2.4 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	34.6 $\pm$ 3.4 <sup>ab</sup>
PEG 400	0.3	83.1 $\pm$ 13.4	7.3 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>	4.5 $\pm$ 2.3 <sup>e</sup>
	0.4	83.5 $\pm$ 7.9	4.9 $\pm$ 0.3 <sup>e</sup>	9.4 $\pm$ 1.1 <sup>f</sup>
	0.5	117.5 $\pm$ 25.9	3.5 $\pm$ 0.2 <sup>f</sup>	11.8 $\pm$ 0.7 <sup>f</sup>
Sorbitol	0.3	76.3 $\pm$ 14.4	9.6 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	16.4 $\pm$ 5.6 <sup>c</sup>
	0.4	86.5 $\pm$ 10.0	6.8 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>	28.3 $\pm$ 3.6 <sup>d</sup>
	0.5	88.3 $\pm$ 10.5	4.7 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	32.7 $\pm$ 9.0 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=10).

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple comparison.

**Table 1-10. Effects of plasticizer on water vapor permeabilities (WVP) of whey protein concentrates (WPC) films prepared from whey powder**

Plasticizer	Concentration (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )
Glycerol	0.3	73.6 $\pm$ 6.1 <sup>1)</sup>	0.57 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>
	0.4	81.1 $\pm$ 7.4	0.67 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
	0.5	85.5 $\pm$ 5.0	0.70 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
PG	0.3	68.3 $\pm$ 8.4	0.37 $\pm$ 0.06 <sup>s</sup>
	0.4	72.6 $\pm$ 1.7	0.36 $\pm$ 0.02 <sup>s</sup>
	0.5	74.3 $\pm$ 8.8	0.40 $\pm$ 0.06 <sup>fs</sup>
PEG 200	0.3	78.1 $\pm$ 9.2	0.51 $\pm$ 0.05 <sup>cde</sup>
	0.4	83.0 $\pm$ 12.8	0.53 $\pm$ 0.11 <sup>cd</sup>
	0.5	85.2 $\pm$ 5.5	0.57 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>
PEG 400	0.3	73.9 $\pm$ 5.9	0.51 $\pm$ 0.04 <sup>defg</sup>
	0.4	82.6 $\pm$ 10.5	0.51 $\pm$ 0.05 <sup>cde</sup>
	0.5	87.7 $\pm$ 7.1	0.58 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>
Sorbitol	0.3	69.7 $\pm$ 5.4	0.42 $\pm$ 0.04 <sup>efg</sup>
	0.4	79.3 $\pm$ 4.9	0.48 $\pm$ 0.02 <sup>cdef</sup>
	0.5	78.9 $\pm$ 4.1	0.52 $\pm$ 0.08 <sup>cde</sup>

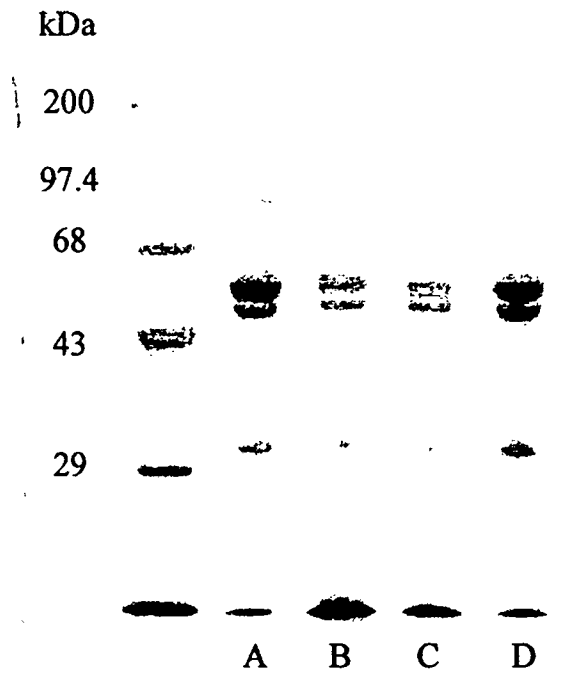
<sup>1)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=4).

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

### 3. 분자량이 대두 단백질 펄름에 미치는 영향

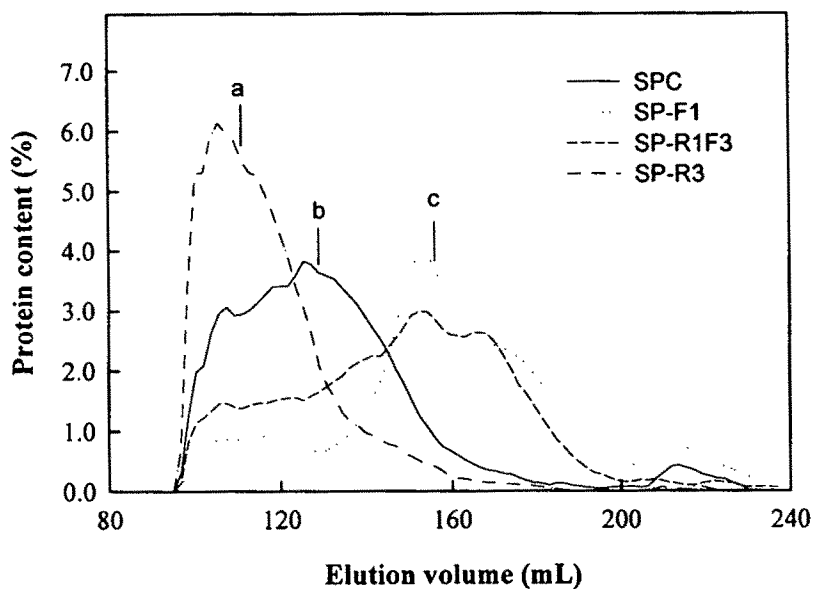
#### 가. 대두단백 분획물의 분자량 분포

대두단백질을 한외여과기를 사용하여 분자량 10만 이하(SP-F1), 10만에서 30만 사이(SP-R1F3), 그리고 30만 이상(SP-R3)의 단백질 분획물을 제조하였을 때 이 단백질 분획물들의 전기영동 결과를 Fig. 1-11에 나타내었다. 이들의 단백질 함량은 각각 76.5%, 81.5% 및 87.1%로 나타났으며 단백질 분획물 들을 전기영동한 결과 360 kDa 부근에서 glycine unit가 6개 assemble된 band, 150 kDa 부근에서 7S의 dimer로 여겨지는 band가 관찰되었으며, 68 kDa에서 97.4 kDa 사이에서  $\alpha'$ -conglycinin과  $\alpha$ -conglycinin의 band가, 그리고 43 kDa에서 68 kDa사이에서 glycine과  $\beta$ -conglycinin의 band가 관찰되었다. 200 kDa이하의 단백질 band들은 비슷한 pattern을 보였지만 분획하지 않은 대두단백질과 SP-R3 분획물에 비해 SP-F1과 SP-R1F3 분획물의 100 kDa이상의 band들의 강도가 약한 것으로 나타났다. 이는 한외여과에 의한 분획물 들은 분획하지 않은 대두단백질 들과 같은 분자량의 subunit들을 지니고 있지만 분자량의 분포가 다르다는 것을 의미한다. 따라서 gel permeation chromatography를 이용하여 이들 분획물들의 분자량 분포를 측정한 결과를 Fig 1-12에 나타내었다. 이에 의하면 한외여과에 의한 단백질 분획들의 분자량 분포는 SP-F1의 경우 분자량 50 kDa 근처에서 최고값을 보였으며 SP-R3의 경우 700 kDa 이상에서 최고값을 보여 이들의 분자량 분포는 상이한 것으로 나타났다.



**Fig. 1-11. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis patterns for soy protein concentrate (SPC) and fractionated soy proteins.**

A: SP-R3, B: SP-R1F3, C: SP-F1, D: SPC



**Fig. 1-12. Molecular weight distribution of soy protein fractions determined by gel filtration on Sephacryl H-300.**

The column (2.0 × 90 cm) was eluted with 20 mM borax buffer (pH 10) at a flow rate of 18 mL/hr; 1.8 mL fractions were collected. a: Thyroglobulin (M.W. 669,000), b: b-amylase (M.W. 200,000), c: carbonic anhydrase (M.W. 29,000)



#### 나. 대두 단백질 분획물들의 아미노산 조성

대두 단백질의 분자량별 분획물의 아미노산 조성 결과를 Table 1-11에 나타내었다. 이에 따르면 단백질 분획물의 분자량에 따라 아미노산의 조성은 차이를 보이는 것으로 나타났다. 즉, 단백질 분획물의 분자량이 클수록 아미노산 중 isoleucine, leucine, phenylalanine 및 tyrosine 의 함량은 증가하였으며, 반면에 glycine, histidine, lysine 및 threonine 등의 함량은 감소하였다. 또한 분획하지 않은 대두박 단백질 농축물의 아미노산 조성은 중간적인 함량을 보였다.

**Table 1-11. Amino acid composition of soy protein fractions and soy protein concentrate (SPC)**

Amino acid	Total amino acid contents (%)			
	SP-F1 <sup>1)</sup>	SP-R1F3 <sup>2)</sup>	SP-R3 <sup>3)</sup>	SPC <sup>4)</sup>
Alanine	3.5	3.0	2.8	3.3
Arginine	4.7	4.7	4.9	4.9
Aspartic acid	6.5	7.9	7.9	7.1
Glutamic acid	21.4	22.1	22.7	20.7
Glycine	5.5	4.6	4.3	4.9
Histidine	3.9	3.3	3.1	3.6
Isoleucine	5.1	5.4	5.5	5.4
Leucine	6.1	6.7	7.2	6.8
Lysine	8.6	7.4	6.7	7.6
Phenylalanine	5.7	6.2	6.9	6.6
Proline	6.0	6.3	6.0	6.2
Serine	5.8	6.0	5.9	6.2
Threonine	4.6	4.3	3.9	4.7
Tyrosine	4.3	4.4	4.8	4.6
Valine	5.0	5.0	5.2	5.0

<sup>1)</sup>SPC filtrates of the 100,000 cutoff size membrane.

<sup>2)</sup>SPC retentate of the 100,000 cutoff size membrane but filtrates of the 300,000 membrane.

<sup>3)</sup>SPC retentate of the 300,000 cutoff size membrane.

<sup>4)</sup>Not fractionated soy protein concentrate.

#### 다. 기계적특성과 수분투과도

대두단백질 분획물 들로 제조한 필름의 기계적 특성을 측정하고 이를 Table 1-12에 분획하지 않은 대두단백질로 제조한 필름과 비교하여 나타내었다. 이에 의하면 원료 단백질의 분자량이 클수록 제조된 단백질의 인장강도와 신장률은 증가하는 것으로 나타났다. Okamoto<sup>69)</sup>는 11S와 7S 단백질 분획물로부터 soy protein-lipid 필름을 제조한 결과 11S 단백질로 제조한 필름의 인장강도가 약 2-3배 높았다고 보고하였으며 이는 11S 단백질이 disulfide결합형성능이 7S에 비해 높기 때문<sup>70)</sup>으로 설명하였다. Yang 등<sup>33)</sup>은 분리대두단백질의 11S와 7S 분획물을 제조하여 casting 법에 의해 필름의 제조한 결과 11S로 제조한 필름의 인장강도와 신장률이 높았다고 보고하였으며 이는 단백질 분획물의 분자량과 관련 있음을 시사하였다. 본 연구의 분자량과 필름의 기계적 특성과의 관계는 methyl cellulose 필름과 hydroxypropyl cellulose 필름의 인장강도와 신장률이 분자량이 커짐에 따라 증가한다는 Park 등<sup>71)</sup>의 보고와 동일한 경향을 보이고 있다. 단백질 분획물 중 SP-R3으로 제조한 필름의 인장강도는 3.4 MPa를 보여 분획하지 않은 단백질로 제조한 필름의 인장강도 (3.2 MPa)보다 높은 것으로 나타났으며 신장률은 대두단백질로 제조한 필름이 110.9%로 분획물로 제조한 필름보다 높은 것으로 나타났다. 한편 이들의 break energy는 SP-F1 < SP-R1F3 < SP-R3 < SP의 순으로 증가하였다. 반면에 이들의 수분투과도는 Table 1-13에 나타난 바와 같이 단백질의 분자량과 관계 없이 0.46 ~ 0.49 ngm/m<sup>2</sup>sPa의 범위를 보여 유의차(P > 0.05)를 보이지 않았다.

**Table 1-12. Effect of molecular weight on mechanical properties of soy protein concentrate (SPC) films from soy bean meal**

SPI fractions	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (Mpa)	Elongation (%)	Break energy ( $\text{kJ/m}^2$ )
SPC <sup>1)</sup>	71.6 $\pm$ 4.9	3.2 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	110.9 $\pm$ 6.2 <sup>a</sup>	154.1 $\pm$ 10.0 <sup>a</sup>
SP-F1 <sup>2)</sup>	66.5 $\pm$ 5.6	1.6 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	51.6 $\pm$ 9.4 <sup>c</sup>	34.6 $\pm$ 6.6 <sup>d</sup>
SP-R1F3 <sup>3)</sup>	70.5 $\pm$ 3.6	2.4 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	51.5 $\pm$ 5.1 <sup>c</sup>	53.8 $\pm$ 7.4 <sup>c</sup>
SP-R3 <sup>4)</sup>	72.8 $\pm$ 4.9	3.4 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	73.5 $\pm$ 6.2 <sup>b</sup>	114.9 $\pm$ 9.5 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Not fractionated soy protein concentrate.

<sup>2)</sup>SPC filtrates of the 100,000 cutoff size membrane.

<sup>3)</sup>SPC retentate of the 100,000 cutoff size membrane but filtrates of the 300,000 membrane.

<sup>4)</sup>SPC retentate of the 300,000 cutoff size membrane.

<sup>a,b,c,d</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

**Table 1-13. Effect of molecular weight on water vapor permeabilities (WVP) of soy protein concentrate (SPC) films from soybean meal**

SPI fractions	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP <sub>A</sub> <sup>1)</sup> ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )	WVP <sub>C</sub> <sup>2)</sup> ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )	Error <sup>3)</sup>
SPC <sup>4)</sup>	67.7 $\pm$ 6.5	0.48 $\pm$ 0.04	0.83 $\pm$ 0.06	42%
SP-F1 <sup>5)</sup>	61.5 $\pm$ 3.0	0.46 $\pm$ 0.02	0.83 $\pm$ 0.06	42%
SP-R1F3 <sup>6)</sup>	68.6 $\pm$ 3.6	0.49 $\pm$ 0.02	0.85 $\pm$ 0.06	42%
SP-R3 <sup>7)</sup>	65.9 $\pm$ 1.2	0.47 $\pm$ 0.01	0.80 $\pm$ 0.03	42%

<sup>1)</sup>Water vapor permeability calculated by ASTM method.

<sup>2)</sup>Water vapor permeability calculated by correction method.

<sup>3)</sup> Error =  $((\text{WVP}_C - \text{WVP}_A) / \text{WVP}_C) \times 100$

<sup>4)</sup>Not fractionated soy protein concentrate.

<sup>5)</sup>SPC filtrates of the 100,000 cutoff size membrane.

<sup>6)</sup>SPC retentate of the 100,000 cutoff size membrane but filtrates of the 300,000 membrane.

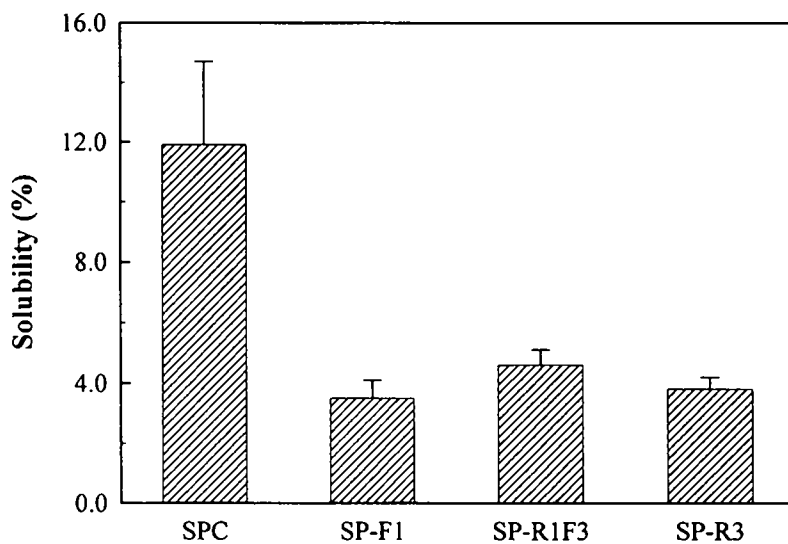
<sup>7)</sup>SPC retentate of the 300,000 cutoff size membrane.

No significant ( $p < 0.05$ ) differences were detected among WVP means by Duncan's multiple comparison.

## 라. 용해도

대두 단백질 농축물과 분획물들의 필름 시편을 25℃의 증류수에 넣고 24시간동안 천천히 흔들어 주며 용해도를 측정된 결과를 Fig 1-13에 나타내었다. 그 결과 필름 시편들은 진탕 후에도 와해되지 않고 필름의 성상을 유지할 수 있었다. 용액 중으로 용해된 단백질은 양을 분획하지 않은 단백질 농축물로 제조한 필름의 경우 11.9%의 단백질이 용해된 반면, 단백질 분획물들은 3.5 - 4.6% 만이 용해되어 거의 용해되지 않는 것으로 나타났으며 분획물 필름의 용해도는 서로 유의차( $P > 0.05$ )를 보이지 않았다.

Stuchell과 Krochra<sup>72)</sup>는 시판되는 분리단백질을 이용하여 필름을 제조하고 증류수에 용해시킨 결과 용해되는 부분은 주로 단량체들이나 작은 펩타이드류 및 가소제 등의 비단백성분 등이 주로 용해되며 필름의 망상구조를 이루는 단백질의 용해도는 낮았다고 보고하였다. 또한 Kunte 등<sup>73)</sup>은 분리대두단백질의 7S와 11S 분획물로 필름을 제조하여 용해도를 조사한 결과 비분획 단백질 필름의 용해도는 12%인 반면 7S와 11S 필름의 용해도는 각각 8.6%와 4.0%로서 낮은 값을 보였다고 보고하였다. 이들은 11S에 비해 7S의 용해도가 높은 결과에 대한 이유를 7S의 분자량이 낮고 11S 단백질이 disulfide 결합 능력이 강하기 때문이며 비분획 단백질의 용해도가 높은 것은 비단백질 성분의 함량이 높은 것에 기인하는 것으로 추정하였는데 본 연구결과 단백질의 함량이 서로 비슷하며 분자량이 낮은 SP-F1 필름의 단백질 용해도가 비분획 단백질 필름의 용해도의 약 1/3값을 보여 균일한 분자량분포가 필름의 용해도를 낮추는 중요한 요인이 되고있다고 사료되었다.



**Fig. 1-13. Protein solubility of edible films from soy protein concentrate (SPC) and fractions.**

SPC: Not fractionated soy protein concentrate, SP-F1: SPC filtrates of the 100,000 cutoff size membrane, SP-R1F3: SPC retentate of the 100,000 cutoff size membrane but filtrates of the 300,000 membrane, SP-R3: SPC retentate of the 300,000 cutoff size membrane.

#### 마. 불투명도 및 색도

불투명도와 색도는 단백질필름의 외관을 결정하는 중요한 특성으로서 대두단백질 농축물과 분획물로 제조한 필름의 불투명도와 색도를 Table 1-14와 Table 1-15에 각각 나타내었다. 단백질 필름들의 불투명도는 분자량이 높은 단백질들로 제조한 SP-R3 필름이 가장 낮아 투명한 필름으로 판명되었으며 SP-F1 필름과 SP-RIF3의 불투명도는 유의차( $P > 0.05$ )를 보이지 않았다. 비분획 대두단백질로 제조한 필름은 SP-R3 필름과 불투명도가 비슷하였다.

분획 단백질 필름들의 색도는 명도와 적색도에서 유의차( $P > 0.05$ )를 보이지 않았으며 황색도는 단백질의 분자량이 작을수록 유의적으로 증가하였다. 필름의 yellowness index (YI)는 황색도가 높은 SP-F1 필름이 31.08로서 가장 높았으며 높은 명도(85.70)와 낮은 황색도를 보인 SP-R3 필름의 YI가 18.91로서 가장 낮았다. 또한 필름의 색도와 백색표준판의 색도와의 색차는 높은 황색도를 보인 SP-F1이 가장 큰 것으로 나타났는데 이는 SP-F1 필름의 높은 불투명도와 관계있는 것으로 사료된다. 한편 비분획 대두단백질로 제조한 필름의 Hunter L, a, b값이 각각 88.22, -0.68 및 13.06로서 밝고 황색도가 낮은 것으로 나타났다.



**Table 1-14. Effect of molecular weight on opacity of soy protein concentrate (SPC) films from soy bean meal**

SPI fractions	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Opacity (nm O.D. <sup>1)</sup> )
SPC <sup>1)</sup>	72.3 $\pm$ 2.1	63.9 $\pm$ 4.6 <sup>a</sup>
SP-F1 <sup>2)</sup>	82.7 $\pm$ 9.3	78.4 $\pm$ 4.6 <sup>b</sup>
SP-R1F3 <sup>3)</sup>	79.0 $\pm$ 5.6	75.8 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>
SP-R3 <sup>4)</sup>	84.0 $\pm$ 2.0	60.9 $\pm$ 5.6 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Optical density.

<sup>2)</sup>Not fractionated soy protein concentrate.

<sup>3)</sup>SPC filtrates of the 100,000 cutoff size membrane.

<sup>4)</sup>SPC retentates of the 100,000 cutoff size membrane but filtrates of the 300,000 membrane.

<sup>5)</sup>SPC retentates of the 300,000 cutoff size membrane.

<sup>a,b</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

**Table 1-15. Effect of molecular weight on color value of soy protein isolate (SPI) films from soy bean meal**

SPI fractions	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	L	a	b	$\Delta E$	YI
SPC <sup>1)</sup>	65.2 $\pm$ 4.5	88.22 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>	-0.68 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	13.06 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	13.29 $\pm$ 0.70 <sup>b</sup>	21.16 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>
SP-F1 <sup>2)</sup>	80.5 $\pm$ 1.6	82.75 $\pm$ 2.98 <sup>b</sup>	-0.63 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	17.99 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	20.61 $\pm$ 1.77 <sup>a</sup>	31.08 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>
SP-R1F3 <sup>3)</sup>	70.7 $\pm$ 0.9	86.00 $\pm$ 2.32 <sup>ab</sup>	-0.54 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	13.78 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	15.27 $\pm$ 1.54 <sup>b</sup>	22.91 $\pm$ 0.66 <sup>b</sup>
SP-R3 <sup>4)</sup>	66.6 $\pm$ 2.4	85.70 $\pm$ 1.00 <sup>ab</sup>	-0.46 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	11.35 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>	13.69 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	18.91 $\pm$ 0.14 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>Not fractionated soy protein concentrate.

<sup>2)</sup>SPC filtrates of the 100,000 cutoff size membrane.

<sup>3)</sup>SPC retentate of the 100,000 cutoff size membrane but filtrate of the 300,000 membrane.

<sup>4)</sup>SPC retentate of the 300,000 cutoff size membrane.

<sup>ab,cd</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

#### 4. 유청분말-sodium caseinate 혼합필름에 미치는 pH와 가소제의 영향

유청분말-카제인 혼합(Whey powder-sodium caseinate mixture, WCM)필름의 기계적 성질에 미치는 필름용액의 pH는 Table 1-16에 나타낸 바와 같이 필름 형성에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 즉, 필름용액의 pH가 5.0 이하이었을 때 필름용액의 겔화 (gelation)가 일어나서 유리판에 부을 수가 없었으며, pH 6.0과 7.0일 경우에는 필름용액 중 원료단백질의 용해가 완전히 일어나지 않아 입자가 존재하였다.

가소제로 glycerol을 0.1 g/g WCM의 농도로 첨가하였을 때에는 필름이 너무 부서지기 쉬운 성질을 나타내어 기계적 성질을 측정할 수 없었으며, glycerol 0.2 - 0.4 g/g WCM 수준에서는 pH 10.0과 11.0에서만, glycerol 0.5 g/g WCM 수준에서는 pH 11.0에서만 필름의 기계적 성질을 측정할 수 있었다. 그 결과, 필름의 인장강도는 필름이 형성된 pH 수준에서 glycerol의 농도가 0.2 g/g WCM에서 pH 10일 때 가장 높게 (6.3 MPa) 나타났으며, 형성된 필름의 신장률은 모두 50% 이상으로 나타났다. 그러나 인장강도에 대한 이 수치는 일반적으로 필름의 기계적 성질로 합당한 인장강도인 10 MPa에는 크게 미치지 못하는 것이었다.

가소제로써 PEG 400을 농도별로 첨가하였을 경우 0.5 g/g WCM의 농도 수준을 제외하고는 모두 pH를 7.0 이상으로 조절하면 필름이 형성되었다. 그 결과, 필름의 인장강도는 PEG 400을 0.2 g/g WCM의 농도로 첨가하고 필름용액을 pH 9.0으로 조절하였을 때 가장 높게 (12.3 MPa) 나타났다. 그러나, PEG 400을 가소제로 첨가한 경우 비록 3개의 처리구에서 인장강도의 최대값이 10 MPa 이상을 보였지만 이때의 신장률은 너무 낮은 (2.1 % 이하) 것으로 나타났다.

**Table 1-16. Effects of film solution's pHs on mechanical properties of the films made with 40% whey powder and 60% sodium caseinate**

Plasticizer conc. (g/g WCM)	pH	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)		Elongation (%)		
			Mean	Range	Mean	Range	
Glycerol	0.2	4 - 9	-	-	-	-	
		10	100.3 $\pm$ 6.0 <sup>1)</sup>	6.3 $\pm$ 0.7	5.1 - 7.5	84.5 $\pm$ 10.9	70.9-102.8
		11	100.0 $\pm$ 11.0	4.2 $\pm$ 0.7	3.2 - 5.6	153.6 $\pm$ 23.3	118.3-188.3
	0.3	4 - 9	-	-	-	-	-
		10	114.0 $\pm$ 19.3	2.8 $\pm$ 0.4	2.3 - 3.2	120.7 $\pm$ 13.6	107.6-139.5
		11	113.1 $\pm$ 7.5	4.4 $\pm$ 0.3	3.9 - 4.7	144.9 $\pm$ 12.3	131.8-154.4
	0.4	4 - 9	-	-	-	-	-
		10	116.6 $\pm$ 3.6	1.6 $\pm$ 0.1	1.5 - 1.8	134.7 $\pm$ 7.8	125.1-142.4
		11	114.7 $\pm$ 13.2	1.5 $\pm$ 0.2	1.2 - 1.8	136.9 $\pm$ 13.2	129.5-160.4
0.5	4 - 10	-	-	-	-	-	
	11	121.7 $\pm$ 5.2	1.6 $\pm$ 0.5	1.6 - 1.7	170.2 $\pm$ 23.7	153.4-187.0	

<sup>1)</sup>Mean $\pm$  standard deviation

**Table 1-16. Continued**

Plasticizer conc. (g/g WCM)	pH	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)		Elongation (%)		
			Mean	Range	Mean	Range	
PEG 400	0.1	4 - 6	-	-	-	-	-
		7	122.7 $\pm$ 2.6	7.4 $\pm$ 1.6	5.3 - 9.7	1.3 $\pm$ 0.9	0.3 - 2.9
		8	111.9 $\pm$ 6.0	7.0 $\pm$ 2.3	4.1 - 11.4	2.1 $\pm$ 2.7	0.2 - 8.8
		9	95.6 $\pm$ 14.1	6.2 $\pm$ 0.8	5.1 - 7.2	109.1 $\pm$ 30.9	56.3 - 143.9
		10	92.6 $\pm$ 14.1	4.9 $\pm$ 0.2	4.7 - 5.1	119.6 $\pm$ 12.9	104.7 - 127.3
	11	101.2 $\pm$ 5.7	5.3 $\pm$ 1.3	3.9 - 7.8	110.3 $\pm$ 29.8	70.6 - 155.6	
	0.2	4 - 6	-	-	-	-	-
		7	111.8 $\pm$ 8.8	7.2 $\pm$ 0.9	5.9 - 8.5	1.3 $\pm$ 0.4	0.8 - 2.0
		8	103.1 $\pm$ 6.2	7.9 $\pm$ 2.9	2.9 - 12.5	0.9 $\pm$ 0.4	0.3 - 1.9
		9	103.5 $\pm$ 8.0	12.3 $\pm$ 3.0	7.1 - 15.8	1.2 $\pm$ 0.7	0.4 - 2.9
		10	100.3 $\pm$ 3.3	5.4 $\pm$ 1.3	4.4 - 7.2	125.6 $\pm$ 24.0	95.6 - 151.6
	11	104.4 $\pm$ 0.7	5.3 $\pm$ 0.9	4.6 - 6.3	70.4 $\pm$ 22.6	46.8 - 97.8	
	0.3	4 - 6	-	-	-	-	-
		7	155.1 $\pm$ 13.4	6.2 $\pm$ 0.7	4.9 - 7.4	5.1 $\pm$ 3.9	0.9 - 11.5
		8	126.9 $\pm$ 3.4	5.5 $\pm$ 1.8	3.5 - 9.4	32.2 $\pm$ 20.2	3.1 - 62.6
		9	121.4 $\pm$ 7.0	7.6 $\pm$ 1.7	4.8 - 9.6	1.2 $\pm$ 0.7	0.4 - 2.9
		10	116.1 $\pm$ 6.0	4.0 $\pm$ 1.7	2.2 - 7.6	88.1 $\pm$ 32.2	7.9 - 116.2
	11	105.1 $\pm$ 8.0	7.1 $\pm$ 0.4	6.6 - 7.6	5.1 $\pm$ 5.7	2.0 - 16.4	
	0.4	4 - 6	-	-	-	-	-
		7	155.7 $\pm$ 15.8	2.4 $\pm$ 0.3	2.0 - 2.7	0.5 $\pm$ 0.1	0.3 - 0.6
		8	138.8 $\pm$ 11.3	5.0 $\pm$ 1.2	2.8 - 6.4	1.9 $\pm$ 1.3	0.5 - 3.4
9		140.0 $\pm$ 14.2	3.7 $\pm$ 0.7	2.9 - 4.9	63.5 $\pm$ 21.6	31.6 - 90.6	
10		135.7 $\pm$ 14.0	3.6 $\pm$ 1.3	2.5 - 6.5	66.8 $\pm$ 22.7	24.7 - 94.0	
11	133.6 $\pm$ 14.1	3.2 $\pm$ 1.3	2.0 - 6.3	128.3 $\pm$ 47.7	57.3 - 185.0		
0.5	4 - 9	-	-	-	-	-	
	10	112.8 $\pm$ 8.9	7.2 $\pm$ 1.3	5.0 - 8.8	3.5 $\pm$ 3.5	1.4 - 13.8	
	11	117.8 $\pm$ 9.5	7.3 $\pm$ 0.7	6.0 - 8.7	6.6 $\pm$ 6.3	1.7 - 21.8	

<sup>1)</sup>Mean $\pm$  standard deviation

**Table 1-16. Continued**

Plasticizer conc. (g/g WCM)	pH	Thickness ( $\mu\text{m}$ )		Tensile strength (MPa)			Elongation (%)				
				Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range		
Sorbitol	0.1	4 - 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		11	79.4 $\pm$ 9.2	13.9 $\pm$ 6.3	5.3 - 22.2	0.6 $\pm$ 0.4	0.2 - 1.3				
	0.2	4 - 9	-	-	-	-	-	-	-	-	
		10	107.4 $\pm$ 6.6	9.6 $\pm$ 3.7	3.0 - 15.2	0.7 $\pm$ 0.4	0.2 - 1.3				
		11	93.2 $\pm$ 8.1	15.1 $\pm$ 2.1	10.0 - 17.7	5.2 $\pm$ 1.9	2.2 - 9.1				
	0.3	4 - 6	-	-	-	-	-	-	-	-	
		7	119.1 $\pm$ 8.1	11.4 $\pm$ 2.7	6.0 - 15.2	1.9 $\pm$ 0.7	0.8 - 3.1				
		8	115.5 $\pm$ 7.1	11.0 $\pm$ 1.7	8.6 - 14.4	9.2 $\pm$ 8.8	2.3 - 35.9				
		9	105.5 $\pm$ 13.3	8.8 $\pm$ 1.3	7.3 - 12.0	68.1 $\pm$ 15.1	54.3 - 98.3				
		10	105.9 $\pm$ 9.3	8.7 $\pm$ 1.3	7.2 - 10.8	60.9 $\pm$ 27.0	20.8 - 96.5				
		11	107.0 $\pm$ 17.5	5.9 $\pm$ 0.9	4.8 - 7.2	121.3 $\pm$ 20.6	98.7 - 159.8				
	0.4	4 - 7	-	-	-	-	-	-	-	-	
		8	138.2 $\pm$ 7.8	4.2 $\pm$ 0.8	3.1 - 5.2	71.6 $\pm$ 13.9	49.2 - 86.9				
		9	118.8 $\pm$ 12.8	6.9 $\pm$ 1.6	5.7 - 10.5	82.5 $\pm$ 24.1	50.0 - 117.3				
		10	137.4 $\pm$ 11.8	6.2 $\pm$ 0.2	6.0 - 6.6	115.5 $\pm$ 15.6	88.7 - 149.7				
		11	152.0 $\pm$ 16.7	5.2 $\pm$ 0.3	4.7 - 5.9	111.7 $\pm$ 28.6	54.3 - 138.5				
	0.5	4 - 7	-	-	-	-	-	-	-	-	
		8	152.9 $\pm$ 7.6	3.9 $\pm$ 0.4	3.4 - 4.6	101.8 $\pm$ 17.0	80.5 - 121.2				
9		125.7 $\pm$ 11.2	4.3 $\pm$ 0.5	3.8 - 5.3	126.6 $\pm$ 16.6	100.6 - 154.2					
10		126.1 $\pm$ 7.5	4.8 $\pm$ 0.5	4.2 - 5.5	154.7 $\pm$ 20.5	126.5 - 191.8					
11		128.1 $\pm$ 3.3	3.5 $\pm$ 0.8	3.0 - 4.7	154.7 $\pm$ 9.2	141.5 - 162.7					

<sup>1)</sup>Mean $\pm$  standard deviation

가소제로써 sorbitol을 농도별로 첨가하였을 때 필름이 형성된 pH 조건에서 sorbitol을 0.1 또는 0.2 g/g WCM의 농도로 첨가하였을 때에는 각각 pH 10.0과 9.0까지 매우 부서지기 쉬운 성질을 나타내어 기계적 성질을 측정할 수 없었다. 또한 이들 가소제 농도에서는 비록 pH 11.0에서 모두 높은 인장강도(13.9 MPa과 15.1 MPa)를 보였지만 신장률은 매우 낮은 것 (0.6%와 5.2%)으로 나타났다. 한편, sorbitol을 0.3 g/g WCM의 농도로 첨가하였을 때에는 필름용액의 pH가 증가함에 따라 인장강도는 감소하는 반면 신장률은 증가하는 경향을 나타내었으며, 특히 pH를 9.0과 10.0으로 조절하였을 때 제조된 필름의 인장강도는 각각 8.8 MPa 및 8.7 MPa, 신장률은 각각 68.1%와 60.1%로 나타났으며, 0.4 g/g WCM의 농도로 첨가한 경우 pH를 9.0과 10.0에서 제조된 필름의 인장강도는 각각 6.9 MPa 및 6.2 MPa이며 신장률은 모두 50% 이상으로 나타나, 유청분말-sodium caseinate 혼합필름 제조시 가소제로써 sorbitol을 사용한 경우, 이를 0.3과 0.4 g/g WCM의 농도로 첨가하고 필름용액의 pH를 9.0과 10.0으로 조절하였을 때 가장 좋은 결과를 얻을 수 있었다.

필름용액의 pH의 변화에 대한 필름의 기계적 성질의 위와 같은 결과는 Park 등<sup>5)</sup>이 보고한 sodium caseinate 필름의 기계적 성질에 미치는 pH의 영향과 거의 유사한 것으로 나타났다. 또한 Brandenburg 등<sup>74)</sup>은 알칼리 조건 (pH 10과 11)에서 만든 대두 단백질 필름의 신장률이 pH 6과 7에서 만든 필름의 신장률 보다 높게 나타났다고 보고하였다.

따라서 이 결과를 종합하여 볼 때 필름의 인장강도 및 신장률 등의 기계적 성질은 필름용액의 pH를 10.0으로 조절하고 가소제를 0.3 혹은 0.4 g/g WCM의 농도로 첨가하였을 때 가장 적합한 것으로 나타났으며, glycerol은 가소제로 사용하기에 부적합한 것으로 나타났다.

## 제3장.

### 물리 화학적 처리에 의한 필름의 물성변화



## 제1절. 서 설

가식성 필름은 식품에 직접 접촉하여 수분, 기체 및 기타 향미성분의 이동에 대한 차단막으로 역할을 할 수 있어 첨가제 등을 사용하지 않고 식품의 저장기간을 연장할 수 있는 새로운 저장 수단으로 주목받고 있다.

가식성 필름은 생물고분자로부터 기원하며 가식성 필름의 형성여부 및 제조된 가식성필름의 물성은 1차적으로 필름의 주성분이 되는 고분자에 의해 결정된다. 단백질 필름은 단백질 분자들이 견고한 망상구조(network)를 이루어 형성되며, 이때 가소제를 첨가하면 가소제는 단백질 분자들 간의 수소결합을 방해하여 결국 유연성을 지닌 필름이 형성되게 되어 단백질 필름의 기계적특성은 첨가한 가소제의 종류 및 양에 의해서 크게 영향을 받고 있다. 따라서 가소제 시스템의 조합 방법은 필름 물성을 개선하는데 중요한 요인으로 여겨지고 있다. 단백질분자들의 망상구조는 단백질 분자들이 분자간 disulfide 결합과 소수성결합 등을 함으로써 형성되며 이때 multifunctional group을 지닌 분자들은 단백질 분자간의 결합을 도와 망상구조를 이루게 하는 가교제(cross-linker)의 역할을 한다. 그런데 대두단백질은 아미노산 중 함황아미노산인 cystein과 methionin의 함량이 낮으므로 disulfide 결합정도가 약하여 필름의 인장강도가 낮은 것으로 알려지고 있다. 또한 가식성 필름의 주성분이 되는 고분자들 중 대두나 유청단백질들을 이용한 가식성필름은 친수성이므로 산소나 이산화탄소 등의 건조한 기체의 이동에 대한 차단막(barrier)으로서의 품질은 상당히 우수한 장점이 있으나, 친수성 필름이므로 수분투과도가 기존의 합성고분자들에 비해 높은 단점이 있어 필름의 기계적 특성과 수분 투과특성을 개선하고자 하는 연구가 여러 연구자들에 의해 수행되었다.

유청단백질 필름의 경우 수분투과에 대한 차단성을 개선하고자 하는 연구

들이 주로 이루어 졌는데 이는 유청단백질과 유지의 복합필름과 같이 다성분계 가식성필름을 제조하여 단백질필름이 지니는 높은 수분투과에 대한 차단성을 개선하며 또한 지질필름이 지니는 약한 기체투과에 대한 차단성과 기계적 특성을 개선하는 연구들이었다.

Parris 등<sup>75)</sup>은 sodium alginate에 전유(whole milk), sodium caseinate, 탈지유 및 유청을 혼합하고 가소제 조합을 조절함으로써 필름의 수분투과도를 낮추고자 시도하였다. 이들은 가소제로서 sorbitol을 사용하였을 때 가장 수분투과도가 낮았으며 전유를 첨가하였을 때 전유에 포함된 유지방에 의하여 수분투과도를 효과적으로 낮출 수 있었다고 보고하였다. McHugh 와 Krochta<sup>76)</sup>는 유청단백질에 acetylated monoglyceride, 왁스류, fatty alcohols 및 지방산을 첨가하고 에멀전화하여 필름을 제조한 결과 waxes를 첨가한 에멀전필름이 가장 낮은 수분투과도를 보였으며 유지의 사슬이 길어짐에 따라 유청단백질과 유지의 에멀전 필름의 수분투과도가 감소하였으며 지방산의 농도 또한 수분투과도에 영향을 미쳤다고 보고하였다. 그러나 이들은 필름의 기계적 특성을 언급하지 않았으며 또한 에멀전이 완전하지 못하여 건조 중에 층분리가 일어나 부분적으로 래미네이트 필름이 형성되었다. Shellhammer와 Krochra<sup>77)</sup>는 왁스류와 무수 유지방의 고융점 획분을 분리유청단백질과 2단계의 균질화 작업을 통해 안정한 에멀전을 제조하여 첨가한 지질의 종류와 농도가 필름의 기계적 특성과 수분투과특성에 미치는 영향을 조사한 결과 제조된 필름의 수분투과도는 첨가한 지질의 종류와 농도에 따라 크게 영향을 받아 지질의 농도가 증가할수록 수분투과도는 sigmoid형태로 감소하였으며 특히 beeswax를 첨가하였을 때 가장 낮은 값을 보였다. 또한 에멀전 필름의 기계적특성은 지질의 농도가 증가함에 따라 신장률은 변화가 없었으나 인장강도는 크게 감소하였다고 보고하였다. 그러나, 이상의 연구결과들은 유청단백질의 경우 기계적 특성

개선에 대한 연구는 거의 이루어지지 않은 상태이며 또한 수분투과도 개선시 인장강도가 낮아지는 문제 또한 여전히 해결해야 할 과제로 남아있다.

한편 대두단백질 필름의 물성을 개선하고자 하는 연구가 다양하게 시도되었다. 인장강도 등의 기계적특성을 개선하기 위해 필름형성력에 영향을 미치는 기본적인 요인인 대두단백질 등의 필름주성분을 물리적 혹은 화학적으로 처리하거나, 필름형성용액에 사용되는 용매시스템의 종류와 혼합비, 가소제의 종류와 농도, 필름제조시 건조조건 등을 최적화하거나, 또한 고분자가 견고한 망상구조를 이룰 수 있도록 보조제로서 cross-linking 물질을 첨가하는 방법을 사용하였다.

대두단백질 필름은 외관상으로는 투명한 것으로 보이나 필름내에 불용성 입자가 존재하고 있으므로 대두단백질을 알칼리처리하여 용해도를 높이고 부분적으로 변성시켜 필름의 물성과 외관을 향상시키고자 한 연구가 Brandenburg 등<sup>74)</sup>에 의해 수행되었다. 이들은 시판하는 분리대두단백질을 100배의 0.1N NaOH에 용해시키고 불용성 물질을 원심분리하여 제거한 후 다시 등전점 처리하여 단백질을 침전시키고 이를 동결건조하고 분쇄하여 알칼리처리 단백질을 제조하였다. 알칼리 처리한 단백질을 Gennadios 등<sup>6)</sup>의 방법으로 필름을 제조하였을 때 필름형성용액의 pH가 높을수록 인장강도가 증가하였으며, 이들 필름을 알칼리처리를 하지 않은 필름과 비교하였을 때 수분 차단성질, 산소차단성질 및 인장강도는 개선하지 못하였으나 신장률이 증가되고 필름의 외관이 향상되었다고 보고하였다.

열처리와 효소처리를 통하여 대두단백질의 기계적 특성과 수분 차단성질을 개선하고자 하는 연구가 Stuchell과 Krochta<sup>72)</sup>에 의해 수행되었다. 이들은 대두단백질 필름형성용액을 열처리하여 단백질이 변성되게 함으로써 열처리하지 않은 필름 보다 부드럽고 투명한 성상을 지니며 수분투과도가 낮고, 신

장률과 가용성 단백질 함량이 증가된 필름을 제조하였다고 보고하였으며, 가교제로서 단백질의 가교결합을 촉매하는 효소인 horseradish peroxidase를 첨가한 결과 인장강도와 가용성 단백질 함량은 증가되었으며 신장률은 감소되었으나 수분투과도에는 영향을 미치지 못하였다고 보고하였다.

한편 대두단백질 필름을 합성고분자와 혼합하여 기존의 플라스틱을 대체하고자 하는 연구가 Ghorpade 등<sup>78)</sup>에 의해 시도되었다. 이들은 대두단백질과 수용성 합성고분자인 poly(ethylene oxide) (PEO)를 19:1, 9:1, 4:1 및 1.5:1로 혼합하여 필름을 제조한 결과 대두단백질과 PEO는 가교결합이 일어나지 않으며, PEO의 첨가량이 증가함에 따라 인장강도는 감소하며 신장률은 증가하였다고 보고하였다.

또한 Ghorpade 등<sup>79)</sup>은 대두단백질을 acetic anhydride, succinic anhydride, calcium chloride 및 formaldehyde 등의 가교제로 화학적인 처리를 하여 필름의 물성개선을 시도하였다. 대두단백질을 acetic anhydride와 succinic anhydride로 acylation 시켰을 때 인장강도 등의 기계적 특성과 물질이동 차단성질의 변화 없이 필름의 용해도를 증가시켰으며, calcium 이온을 첨가하였을 때에는 인장강도는 증가하였으나 투과특성은 변화가 없었다고 하였다. 필름에 formaldehyde를 첨가한 경우 인장강도를 증가시키며 용해도와 수분투과도는 감소시켰으나 산소투과도는 증가하였다고 보고하였다.

필름의 물성을 개선하기 위한 또다른 방법으로 필름제조 후 후처리에 의하여 필름의 물성을 개선하고자 하는 연구가 시도되었다. Gennadios 등<sup>80)</sup>은 대두단백질 필름 제조 후 필름을 80 또는 90℃의 열로 경화 (heat curing)하는 물리적 방법으로 물성을 개선하였다. 필름을 열처리하였을 경우 인장강도와 Hunter 색차계의 황색도는 증가하였고 신장률, 수분함량, 용해도 및 수분투과도는 감소하였으며, 이러한 heat curing의 효과는 열처리 시간과 온도가 증가

할수록 크다고 보고하였다. 또한 Rangavajhyala 등<sup>81)</sup>은 65, 80 그리고 95℃에서 각각 6, 18 및 24시간 동안 열처리한 필름의 용해도와 필름내 단백질 분자의 분자량 분포를 조사한 결과 필름의 용해도는 열처리온도가 높을수록 낮아지며, 이를 SDS-PAGE 전기영동을 통해 조사한 결과 필름이 형성되거나 열처리과정 중 단백질이 회합(aggregation)되었으며 이는 수소결합과 분자내 disulfide결합에 의해 일어난다고 하였다. 한편 제조된 대두단백필름에 자외선을 조사하여 물성을 개선하고자한 연구가 Gennadios 등<sup>82)</sup>에 의해 보고되었는데, 필름에 자외선의 조사량이 증가함에 따라 단백질이 회합되어 인장강도는 증가하였고 신장율은 반대로 감소하였지만 수분투과도는 영향을 받지 않았다고 하였다.

Rhim<sup>83)</sup>은 제조한 대두단백질 필름에 formaldehyde 증기를 흡착시켜 화학적으로 후처리하여 필름의 물리적 강도를 높이고 수증기 투과성을 개선하고자 하였다. 필름에 formaldehyde 흡착시 필름 내 단백질 분자사이에 가교결합이 형성되어 필름의 인장강도는 증가되고 신장률과 수분용해도는 감소되었다고 보고하였다.

이상의 연구들 중 대두단백질을 가교제를 사용하여 물성을 개선하는 방법들은 효소처리하는 경우처럼 비용이 많이 들거나 혹은 화학처리에 의해 가식성을 잃어버리는 경우가 발생하게 된다.

본 연구에서는 대두박과 두부비지로부터 추출한 대두단백질, 주박단백질, 및 유청단백질 등의 친수성 단백질로 제조한 가식성 필름의 기계적 특성 및 물질투과특성을 개선하기 위해 (1) 가소제들을 조합 사용하여 최적의 가소제 시스템을 결정하고, 이때 수분과의 상호작용을 규명하였으며, (2) 단백질을 약하게 가수분해하거나 가교제를 이용하여 중합함으로써 단백질의 화학적처리가 필름의 물성에 미치는 영향을 조사하였으며, (3) 지방산을 첨가하여 수분

투과에 대한 차단성을 개선하며 (4) corn zein 단백질과의 래미네이트 필름을 제조하여 필름의 물성개선을 도모하였다. 단백질 농축물의 제조에 따른 낮은 수율을 개선하며 부산물의 이용을 확대하기 위하여 산업 부산물인 유청분말과 필름 matrix를 보조하는 sodium caseinate를 혼합 이용하여 생고분자 필름을 제조하였으며 이때 가소제 및 가교제(cross linker)의 영향을 조사하여 유청분말을 최대한 이용할 수 있는 혼합비율과 제조조건을 결정하고자 하였다.

물성이 개선된 유청단백질 필름을 실제 식품포장에 적용하기 위하여 유청단백질 필름으로 대두유와 잣을 포장하고 이들의 저장성을 조사하여 가식성 필름의 식품포장 적성을 검토하였다.

## 제2절. 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 실험에 사용한 유청과 대두박은 유청분말(㈜ 삼익유가공)과 열처리를 하지 않은 시판 탈지대두분(㈜ 개미산업)을 이용하였으며, 대두박과 주박은 두부공장(풀무원, 춘천)과 양조회사(백화양조, 군산)에서 두부와 청주제조 후 부산물로 생성된 것을 수거하여 -20℃에서 냉동 보관한 것을 해동하여 사용하였다. 가식성 필름 제조에 첨가되는 가소제로는 glycerol (GLY), propylene glycol (PG), polyethylene glycol (PEG) 200, PEG 400, PEG 600 (Showa Chemical Co., Japan) 및 sorbitol (Junsei Chemical Co., Ltd. Japan)을 사용하였다.

### 2. 추출 단백질 필름의 물성에 미치는 첨가제의 효과

#### 가. 가소제 조합의 효과

##### 1) 대두 단백질 필름

##### 가) 대두박으로부터 추출한 대두단백질 필름

시료 단백질(soy protein concentrate, SPC) 4.0 g을 100 mL의 증류수에 용해한 후, 가소제로 glycerol (GLY)과 sorbitol (SOR) 등을 단백질 시료 4.0 g에 대하여 GLY, sorbitol 및 이들의 혼합물(GLY:SOR = 50:50 (w/w))을 각각 0.4, 0.5, 0.6 g/g SPC의 농도로 첨가하여 균질화하고 이 용액의 pH를 10.0으로 조절하면서 80℃로 가열교반하여 필름용액을 제조하고 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이를 Teflon 코팅한 수평이 조절된 유리판(25

cm × 25 cm) 위에 부은 후 25℃에서 건조하여 단백질 가식성필름을 제조하였다. 가소제의 조합에 따른 대두 단백질 필름의 인장강도와 신장률 등의 기계적 특성, 수분투과특성, 색도 및 수분과의 상호작용을 측정하였다.

#### 나) 두부비지로부터 추출한 대두단백질 필름

농축단백질 시료 4.0 g과 가소제로 사용된 glycerol과 sorbitol을 각각의 비율에 따라 증류수 100 mL에 분산시킨 후 homogenizing하였다. 이때, 가소제의 농도는 0.4, 0.6, 0.8 g plasticizer/g sample이었으며, 각각의 가소제농도에서 glycerol과 sorbitol을 100:0, 50:50 및 0:100의 비율로 첨가하였다. 암모니아수(Showa Chemical Inc., Japan)를 사용하여 용액을 pH 11.0로 조절한 후, 용액을 90℃에 도달할 때까지 가열교반하여 필름제조용 용액을 제조하였다. 가열교반시 교반이 끝난 용액을 거품을 제거하기 위해서 실온에서 약 5분간 방치시킨 후, Teflon<sup>®</sup> 필름으로 coating한 수평이 조절된 유리판(25 cm × 25 cm) 위에 부은 후 실온에서 건조시켜 가식성 필름을 제조하였다.

#### 2) 유청단백질 필름

시료 단백질(whey protein concentrate, WPC) 5.0 g을 100 mL의 증류수에 용해한 후, 가소제로 glycerol과 sorbitol 등을 각각 0.3, 0.4, 0.5 g/g SPC의 농도로 첨가하여 균질화하였으며, 이때 가소제는 각각의 가소제농도에서 glycerol과 sorbitol을 100:0, 50:50 및 0:100의 비율로 첨가하였다. 이 용액의 pH를 10.0으로 조절하면서 90℃로 가열교반하여 필름 용액을 제조하고, 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이를 Teflon 코팅한 수평이 조절된 유리판(25 cm × 25 cm) 위에 부은 후 25℃에서 건조하여 단백질 가식성필름을 제조하였다.



### 3) 주박 단백질 필름

가소제로서 glycerol (GLY), propylene glycol (PG), polyethylene glycol 200 (PEG 200), PEG 400, PEG 600 (Showa Chemical Co., Japan)을 검토한 결과 주박 단백질 필름에 유연성 부여 정도가 우수한 GLY과 PEG 200을 가소제로 선정하여 단백질 시료 5.0 g에 대하여 GLY, PEG 200 및 이들의 혼합물 (GLY:PEG 200 = 50:50 (w/w)을 0.2, 0.4, 0.6 및 0.8 g plasticizer/g RPC의 농도로 가소제를 증류수 100 mL에 용해시킨 후 시료 단백질과 함께 2분간 균질화(10,000 rpm, T-25, IKA Labortechnik, Germany)하였다. 암모니아수를 사용하여 용액을 pH 11로 조절하고 90℃까지 가열교반하여 필름용액을 제조하고 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이를 Teflon 필름이 코팅된 유리판(25 cm × 25 cm) 위에 부은 후 25℃에서 건조하여 주박 단백질 가식성필름을 제조하여 필름의 성질에 미치는 가소제의 영향을 조사하였다.

#### 나. 대두단백질 필름과 수분의 관계

##### 1) 기계적특성에 미치는 상대습도의 영향

절단된 가식성 필름을 포화염용액을 사용하여 상대습도가 11, 32, 52, 67 및 75%로 조절된 25℃의 항온 항습조에 7일 간 방치하여 필름의 수분 함량이 주위 상대습도와 평형이 되게 한 후, 필름의 인장 강도(tensile strength, TS) 와 신장률(elongation, E)을 측정하였다.

##### 2) 흡습속도와 등온흡습곡선

포화염용액으로 상대습도가 일정하게 조절된 25℃의 항온항습조에 필름 시편 0.5 g을 넣은 후 흡습시키면서 일정 기간마다 무게를 측정하여 흡습곡

선을 구하였으며, 더 이상 증량의 변화하지 않은 상태까지 방치한 후 그 때의 수분함량을 측정하여 이를 평형수분함량으로 하였다. 이때의 수분활성도를 수분활성도 측정기(Thermoconstanter TH200, Novasina, Swiss)로 측정하여 평형상대습도와 평형수분함량을 관계를 등온흡습곡선(sorption isotherm curve)으로 나타내었다.

#### 다. 가교제의 첨가

##### 1) 대두 단백질 필름

###### 가) 대두박 단백질 필름

제조된 필름의 물성을 증진시키기 위하여 가교제(cross-linker)로서 ascorbic acid, citric acid, succinic acid를 단백질 시료에 대하여 0.05 - 1.0% (w/w)의 농도로 첨가하였다. 증류수 100 mL에 대두박으로부터 추출한 단백질 4.0 g과 가소제로 glycerol과 sorbitol을 1:1로 혼합하여 0.5 g/g SPC의 농도로 첨가하였으며, 필름용액의 pH를 암모니아수를 사용하여 pH 10.0으로 조절한 후 가열교반하면서 용액의 온도가 80℃에 이르렀을 때 가교제를 첨가하였다.

###### 나) 비지 단백질 필름

가교제(cross-linker)로서 ascorbic acid, citric acid, succinic acid를 4.0 g의 단백질 시료에 대하여 0.1%, 0.3%, 0.5% 그리고 0.7% (w/w)의 농도로 첨가하였다. 이때 사용된 가소제는 glycerol과 sorbitol을 1:1로 혼합하여 0.6 g/g protein의 농도로 첨가하였으며, 필름용액의 pH를 암모니아수를 사용하여 pH 11.0으로 조절한 후 가열교반하면서 용액의 온도가 80℃에 이르렀을 때 가교제를 첨가하였다

## 2) 유청단백질 필름.

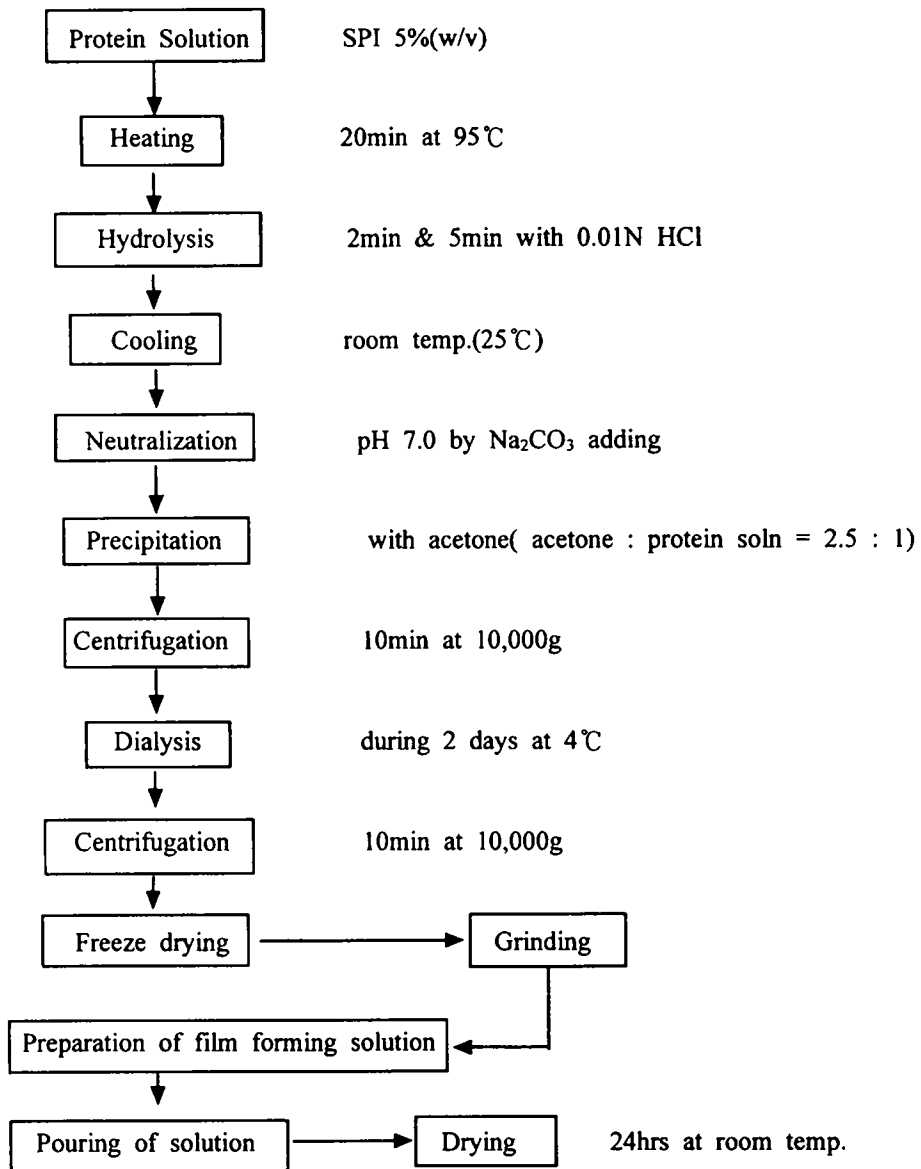
가교제(cross-linker)로서 ascorbic acid, citric acid, succinic acid를 단백질 시료에 대하여 0.1%, 0.3%, 0.5% 그리고 0.7% (w/w)의 농도로 첨가하였다. 이때 사용된 가소제는 glycerol과 sorbitol을 1:1로 혼합하여 0.4 g/g protein의 농도로 첨가하였으며, 필름용액의 pH를 암모니아수를 사용하여 pH 10.0으로 조절한 후 가열교반하면서 용액의 온도가 80℃에 이르렀을 때 가교제를 첨가하였다

## 3) 주박 단백질 필름

제조된 필름의 물성을 증진시키기 위하여 가교제(cross-linker)로서 sodium chloride, calcium chloride, sodium hydrogen sulfate 및 ascorbic acid를 단백질 시료에 대하여 0.5%, 1%, 2% (w/w)의 농도로 첨가하였으며, succinic anhydride와 citric acid를 0.1%, 0.5%, 1%농도로 첨가하였다. 이때 사용된 가소제는 PEG 200을 0.2 g/g RPC의 농도로 첨가하였으며, 필름용액의 pH를 암모니아수를 사용하여 pH 11.0으로 조절한 후 가열교반하면서 용액의 온도가 80℃에 이르렀을 때 가교제를 첨가하였다.

## 라. 가수분해한 필름의 제조

분리대두단백질(soybean protein isolate, SPI) 5g을 증류수 100 mL에 넣고 95℃까지 가열교반하면서 완전히 용해시킨 후 동일 온도에서 2분간 정치 후 냉각하여 필름형성용액을 제조하였다. 또한 95℃에서 0.01N HCl을 첨가하여 2분간 반응시킨 후 상온으로 급냉하고 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 첨가하여 중화하여 SPI hydrolysate 필름형성용액으로 사용하였다. 또한 이 용액을 아세톤을 이용하여 농축시킨 후 4℃에서 2일간 투석(dialysis)과정을 통해 중화반응으로 형성된 염(NaCl)을 제거하고 원심분리하였다. 상징액을 버린 후 침전물을 동결건조하여 탈염 필름형성용액제조에 사용하였으며, 용액제조과정은 분리대두단백질 필름형성용액제조와 같은 과정을 따랐다. 이들 필름형성용액에 가소제로 glycerol을, 가교제로 glutardialdehyde를, 그리고 염의 효과를 알아보기 위하여 1가염(NaCl)과 2가염(CaCl<sub>2</sub>)을 첨가한 후 암모니아수를 부가하여 필름형성용액의 pH를 10.0으로 조정하였다. 이 용액을 90℃에서 20분간 가열교반한 후 냉각하여 테프론 필름으로 코팅된 유리판을 사용하여 casting 법으로 분해성 필름을 제조하였다. 이러한 필름제조공정을 Fig. 2-1에 요약하여 나타내었다.



**Fig. 2-1. Preparation of SPI hydrolysate films.**

## 마. 소수성 물질의 첨가

### 1) 대두 단백질 필름

시료 단백질(soy protein concentrate, SPC) 4.0 g을 100 mL의 증류수에 용해한 후, 가소제로 glycerol (GLY)과 sorbitol (SOR) 등을 단백질 시료 4.0 g에 대하여 GLY과 sorbitol의 혼합물(GLY:SOR = 50:50 (w/w))을 0.5 g/g SPC의 농도로 첨가하여 균질화하고 이 용액의 pH를 10.0으로 조절하면서 80°C로 가열교반하였다. 이 때 stearic acid를 시료 단백질에 대하여 5, 10, 15, 20, 25, 30 %의 농도로 첨가하여 가식성필름을 제조하였다. 또한 palmitic acid의 경우는 시료 단백질에 대하여 5, 10, 15, 20, 25, 30 %의 농도의 양을 에탄올 20 mL에 첨가하고 가열교반하여 용해시키고, 단백질 4.0 g을 증류수 80 mL에 용해하고 pH를 10으로 조절하여 가열교반한 필름용액에 이를 섞어 제조하였다.

### 2) 유청 단백질 필름

유청단백질 필름의 낮은 수분차단력을 개선시키기 위하여 소수성 물질을 농도별로 첨가하고 제조된 필름의 수분투과도와 용해도, 기계적 특성을 조사하였다. 시료 4.0 g을 증류수에 용해시킨 후 가소제로 glycerol을 첨가(0.4 g/g WPC)하여 필름형성용액을 제조하였다. 소수성 물질로서 사용된 대두유는 시료에 대하여 3, 5, 7 %의 농도로 필름형성용액 제조시에 첨가하였으며, 지방산으로 stearic acid(C<sub>18:0</sub>), palmitic acid(C<sub>16:0</sub>), linoleic acid(C<sub>18:2</sub>)를 시료에 대해 각각 5, 10, 15 %의 농도로 각 지방산의 성질에 따라 용매와 첨가온도를 달리 하여 첨가하였다. 즉, palmitic acid와 linoleic acid는 95%의 ethanol 10ml에 용해시킨 후 필름형성 용액에 첨가하였으며, stearic acid는 필름형성용액의 온도가 65°C-70°C일 때 첨가하였다. 제조된 필름형성 용액을 95°C에서 20분간

가열, 교반 시키고 냉각한 뒤 cheese cloth를 통과시켜 거품과 이물질등을 제거하고 40℃에서 20시간 동안 건조시켜 필름을 제조하였다.

#### 바. 래미네이트 필름(laminated film)의 제조

대두박으로부터 추출한 단백질 필름과 유청단백질 필름의 수분투과에 대한 낮은 차단성을 개선하기 위하여 옥수수 단백질 (corn zein)과의 이중층인 laminated 필름을 제조하였다. 제조 방법은 대두단백질 8.0 g, 가소제로서 glycerol 2.0 g, sorbitol 2.0 g을 증류수 250 mL에 넣어 혼합하고 이를 pH 10으로 조절한 다음 가열교반하였다. 필름형성용액의 온도가 80℃에 이르렀을 때 가교제로 citric acid를 0.016 g 첨가하고 약 5분간 더 가열한 후 필름용액을 제조하고 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이중 80 mL을 Teflon 필름이 코팅된 유리판(25 cm × 25 cm) 위에 부은 후 25℃에서 건조하여 대두 단백질의 가식성필름 층을 제조하였다. 한편 유청 단백질 필름 층의 제조공정은 대두단백질 필름 제조법과 같으며 이때에는 단백질 8.0 g, 가소제로 glycerol 1.6 g, sorbitol 1.6 g을 증류수 250 mL에 용해하였으며 가교제는 citric acid를 0.024 g 첨가하였다. 옥수수 단백질 필름의 제조는 가소제로 5.5 g의 polyethylene glycol 400과 6.0 g의 glycerol을 150 mL의 에탄올에 용해시킨 후 corn zein 25.0 g을 첨가하여 용액의 온도가 85℃에 도달할 때 까지 가열교반하였다. 이 용액의 온도를 40 - 50℃로 냉각시키고 이를 건조한 대두 혹은 유청 단백질 필름위에 35 mL을 casting하여 실온에서 건조하여 제조하였다.

### 3. 유청분말-카제인 혼합필름의 제조

#### 가. 필름 제조

유청분말과 sodium caseinate의 혼합비를 달리하여 제조한 혼합원료(whey-sodium caseinate mixture, WCM) 10 g을 95% 에탄올 60 mL와 증류수 40 mL의 혼합 용매 체계에 넣어 용해시킨 후 가소제 및 cross linker를 첨가하고 균질기(T-25, IKA Labortechnik, Germany)로 6,000 rpm에서 2분 동안 혼합한 다음 이 용액을 1.0 N HCl과 1.0 N NaOH를 이용하여 pH를 조절하면서 75°C - 80°C의 온도에서 가열교반하였다. 필름용액 80 mL을 Teflon 필름으로 코팅한 고무 테두리가 있고 수평이 조절된 유리판(27 cm × 27 cm)에 위에 부운 후, 23°C에서 24시간 동안 건조시켜 생고분자 필름을 제조하였다. 이때 필름은 1 처리구 당 3개씩 제조하였다.

#### 나. 가소제의 효과

유청분말과 sodium caseinate를 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40 및 70:30 (w/w)으로 혼합비를 달리한 혼합원료(whey-sodium caseinate mixture, WCM)를 제조하여 각각의 혼합비율로 필름을 제조하였을 때 필름의 기계적 성질에 대한 가소제의 영향을 sorbitol 혹은 sorbitol과 PEG 400의 혼합물을 첨가하여 조사하였다. 이때 가소제는 0.3 및 0.4 g plasticizer/g WCM의 농도로 첨가하였으며, sorbitol과 PEG 400의 혼합비율은 가소제를 0.3 g plasticizer/g WCM의 농도로 첨가한 경우 3:0, 2:1, 1.5:1.5, 및 1:2 (w/w)의 비율로 혼합하여 첨가하였으며, 가소제를 0.4 g plasticizer/g WCM의 농도로 첨가한 경우 4:0, 3:1, 2:2 및 1:3 (w/w)의 비율로 혼합하여 첨가하였다. 가소제를 첨가한 필름용액의 pH는 10.0으로 조절하여 필름을 제조하였다.



#### 다. Cross linker의 효과

유청분말과 sodium caseinate의 혼합원료 중 유청분말이 50%이상 사용된 시료 즉, 유청분말과 sodium caseinate를 50:50, 60:40 및 70:30 (w/w)으로 혼합하여 제조한 시료의 낮은 기계적 특성을 개선하고자 cross linker로써 sodium chloride, citric acid 및 sodium citrate를 각각 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 및 1.1 g/g WCM 수준으로 첨가하였다. 이 때 가소제는 sorbitol을 0.3, 0.4 g/g WCM의 농도로 첨가하였으며, 필름용액의 pH는 10으로 고정시켜 필름을 제조하였다.

#### 4. 가식성 필름의 저장성 조사

##### 가. 대두단백질 필름의 저장성

대두박으로부터 추출한 대두단백질 4.0 g을 100 mL의 증류수에 용해한 후, 가소제로 glycerol (GLY)과 sorbitol (SOR) 등을 단백질 시료 4.0 g에 대하여 GLY, sorbitol 및 이들의 혼합물(GLY:SOR = 50:50 (w/w))을 각각 0.5 g/g SPC의 농도로 첨가하여 균질화하고 이 용액의 pH를 10.0으로 조절하면서 80℃로 가열교반하여 가식성필름을 제조하였다. 이들 필름을 상대습도가 50%로 조절된 25℃의 항온항습조에 30일간 저장한 후 기계적 특성과 수분투과특성을 저장하지 않은 시료와 비교하였다.

## 나. 유청 단백질 필름

유청분말 단백질 농축물로부터 제조한 친수성 가식성 필름과 이 필름의 낮은 수분차단력을 개선하기 위해 지방산을 첨가하여 제조한 필름의 저장조건에 따른 물성변화를 살펴보기 위하여 각 조건에서 일정기간 저장하며 필름의 기계적 특성과 수분투과도의 변화를 조사하였다.

시료 4.0g을 증류수에 용해시킨 후 가소제로 glycerol을 첨가(0.4g/g WPC)하여 pH를 10.0으로 조절한 필름형성 용액을 95℃에서 20분간 가열, 냉각시키고 casting방법으로 필름을 제조하였다. 또한 이 필름의 낮은 수분차단력을 개선시키기 위해 같은 방법으로 제조된 필름형성용액에 지방산으로서 stearic acid를 단백질에 대해 20%의 농도로 첨가하여 필름을 제조하였다. 제조된 필름을 각각 32%, 52%, 75%로 상대습도가 조절된 4℃, 25℃, 40℃의 항온항습조에 저장하며 2일, 15일, 30일 후에 필름의 물성변화를 측정하였다.

## 5. 가식성 필름의 평가

### 가. 필름의 두께 측정

형성된 가식성 필름은 인장 강도(Tensile strength, TS)의 측정을 위해서 80 mm × 25 mm로 절단하고 두께 측정용 micrometer (Teclock, Japan)를 이용하여 필름의 두께를 5회 측정한 후 평균값으로 나타내었으며, 수증기 투과도 (Water vapor permeability, WVP) 측정을 위한 필름의 두께는 필름을 70 mm × 70 mm로 절단한 후 9회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

#### 나. 기계적 특성의 측정

절단한 가식성필름을 상대습도가 50%로 조절된 25℃의 항온항습조에 48 시간 방치하여 필름의 수분함량을 조절한 후 ASTM D882-90 표준 시험법<sup>63)</sup>에 따라 Texture analyzer (TA-XT2, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 필름의 인장강도(tensile strength, TS), 신장률(elongation, E) 및 break energy를 측정하였다. 이때 초기 grip간의 거리는 50 mm로, crosshead 속도는 500 mm/min으로 조절하였다.

#### 다. 신장특성의 판별

필름의 기계적 성질 중 연 포장재의 전형적인 신장률 경향을 나타내는 가소성 (plasticity)을 판별하기 위하여 본 연구에서는 가소율 (plasticity ratio)을 사용하였다. 가소율은 전체 측정 시료 중 필름을 잡아당길 때 인장강도의 최대치를 나타내는 항복력을 지나서 필름이 파열되는 현상, 즉 가소성 변형 현상을 나타내는 표본의 수를 백분율로 나타낸 것으로, 다음 식과 같은 방법으로 구하였다<sup>84)</sup>.

$$\text{가소율} = \frac{\text{가소성 변형을 나타내는 표본 수}}{\text{처리구의 전체 표본수}} \times 100 \quad \text{식 (2-1)}$$

#### 라. 필름의 기체 투과 특성

##### 1) 기체 투과도 이론

기체의 투과과정은 Fick's first law에 의해서 수학적으로 나타낼 수 있다. 농도변화에 비례하는 flux (J)는 다음과 같이 정의된다<sup>85)</sup>.

$$J = - D \left( \frac{\partial C}{\partial X} \right) \quad \text{식 (2-2)}$$

J는 단위시간 당 일정 면적 ( $\text{g/m}^2\cdot\text{s}$  or  $\text{mL/m}^2\cdot\text{s}$ )을 통과한 기체의 총합이다. D는 확산계수이며, C는 물질의 확산에 의한 농도변화이고 X는 film의 두께를 의미한다. 정상상태에서 확산이 일어나며 필름 층을 통과하는 기체의 농도 변화가 일정하다는 가정 하에 flux (J)는 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$J = - D \left( \frac{C_2 - C_1}{X} \right) = \frac{Q}{A \cdot t} \quad \text{식 (2-3)}$$

Q는 필름을 통과하여 확산하는 기체의 양의 합 (g 또는 mL)이며, A는 필름의 면적 ( $\text{m}^2$ ), t는 시간(s)을 의미한다. Henry의 법칙을 적용하면, 기체의 농도 차를 기체의 부분압 차이로 표현할 수 있다. 이를 다시 정리하면 다음과 같은 투과도 식으로 나타낼 수 있다.

$$\frac{Q}{A \cdot t} = D \cdot S \left( \frac{p_2 - p_1}{X} \right) = P \cdot \frac{\Delta p}{X} \quad \text{식 (2-4)}$$

S는 Henry의 법칙에서의 용해도계수(mole/atm)이며,  $\Delta p$ 는 기체가 필름을 통과하는 부분압력의 차(Pa), P는 투과도( $\text{mL}\cdot\text{m/m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$  혹은  $\text{g}\cdot\text{m/m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )이다. 따라서 수증기 투과도와 산소투과도는 다음 식으로부터 구할 수 있다.

$$P = \frac{Q \cdot X}{A \cdot t \cdot \Delta p} \quad \text{식 (2-5)}$$

P = Permeability (mL·m/m<sup>2</sup>·s·Pa 혹은 g·m/m<sup>2</sup>·s·Pa)

Δp = 개스 또는 수증기 부분압력차 (Pa)

Q = 필름을 통과한 개스 또는 수증기의 양 (mL 혹은 g)

X = 필름두께 (m)

A = 필름면적 (m<sup>2</sup>)

T = 시간 (s)

## 2) 수분투과도

수분 투과도 측정은 절단된 필름 시편을 상대습도가 50%로 조절된 25°C 의 항온 항습조에 48 시간 방치하여 필름의 수분 함량을 조절시킨 다음, ASTM E96-90 표준 시험법<sup>64)</sup>에 따라 cup method를 이용하여 수증기 투과도를 측정하였다. 또한 필름하부의 수증기압을 필름의 하부와 증류수의 표면사이에 있는 공기의 저항에 의한 영향을 보정하여 이를 수분투과도의 보정값 (water vapor permeability by correction method, WVP<sub>C</sub>)으로 나타내었다.

## 3) 산소투과도의 측정

산소투과도는 OX-Tran 100 (Mocon Inc., Minneapolis, MN, USA)을 사용하여 미국의 표준 방법(ASTM D-3985-81)으로 측정하였다. 본 산소 투과기는 2개의 시료를 측정할 수 있는 2개의 측정 cell이 장착되어 있으며 산소투과도는 표준 필름 (polyester 0.92 mil, polyester 5 mil) 필름의 투과도와 비교하여 계산된다. 필름 시료(10 cm × 10 cm)를 2장의 aluminum foil mask (5 cm<sup>2</sup>

uncovered area) 사이에 접착시키고 이를 testing cell에 넣어 산소투과도를 측정하였다. Aluminum foil mask는 기계적인 지지체이며 필름 시료에 보다 일정한 면적과 두께를 유지하는데 도움이 된다. 측정온도는 25℃로 유지하였다. 산소투과도 측정기는 시료가 장착된 후에 일단 질소로 측정 cell 내부 양면을 16시간 정도 분사하며, 이후 산소를 상층부에 flushing 하여 시료를 통과한 산소는 산소 농도측정 센서에 의해 측정된다. 투과 cell 상층부에 노출된 산소의 유량은 150 cc/min이며 질소의 유량은 14 cc/min으로 고정한다. 산소투과도의 측정은 1시간 동안에 1% 이하로 측정이 변화되지 않을 때의 값을 측정하였다. 이때 필름을 사이에 둔 산소의 부분 압력을 1기압으로 가정하였는데 이는 순수한 산소가 필름을 통과한 후 대기압 상태로 노출되기 때문이다. 산소투과도는 식 (2-5)을 이용하여 계산하였다.

#### 마. 유지투과도의 측정

가식성 필름의 유지 투과도는 Trezza와 Vergano<sup>86)</sup>가 corn zein coating paper의 유지 투과도 측정에 사용한 TAPPI test 507 방법<sup>87)</sup>에 따라 측정하였다. 이 방법은 Fig. 2-2에서 보는 바와 같이 10×10 cm 크기의 코팅면이 위로 향하도록 설치한 가식성필름의 상부에는 9×9 cm, 하부에는 10×10 cm 크기의 여과지를 겹쳐 놓고, 상부의 여과지에 0.1 mL의 용해된 쇠기름을 균일하게 가하여 상부의 여과지를 쇠기름으로 포화시켰다. 이때 사용한 쇠기름은 투과된 유지의 확인을 쉽게 하기 위하여 Oil red O (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)로 염색하여 사용하였다. 상하 여과지의 바깥쪽에는 분리용 aluminum foil (12×12 cm)과 1 mm 두께의 stainless steel plate (12×12 cm)를 순서대로 올려놓아 유지투과도 측정용 세트를 만들었으며, 이러한 세트 10개를 겹쳐서 상하에 15×15 cm 크기의 나무판지를 올려 놓고 이들 두 나무판지의 네 귀퉁이에 구멍을 뚫어 유지투과도 측정용 세트와 나무판지를 볼트와 너트

로 고정시켜 이를 60℃의 oven에 보관하면서 1시간 간격으로 시료를 꺼내어 가식성 필름의 유지투과도를 측정하였다. 가식성 필름의 유지투과도는 필름 상부의 유지로 포화된 여과지로부터 필름을 통과하여 하부에 장착된 여과지에 투과된 면적을 point-counting method<sup>88)</sup>에 따라 전체 투과면적에 대한 비율로서 표시하였다. 투과면적의 계측은 1 mm 간격의 모눈종이를 OHP 필름에 복사하여 이를 유지가 투과된 여과지의 상부에 겹쳐 놓고 투과면적을 계측하였다.

• TAPPI test T 507

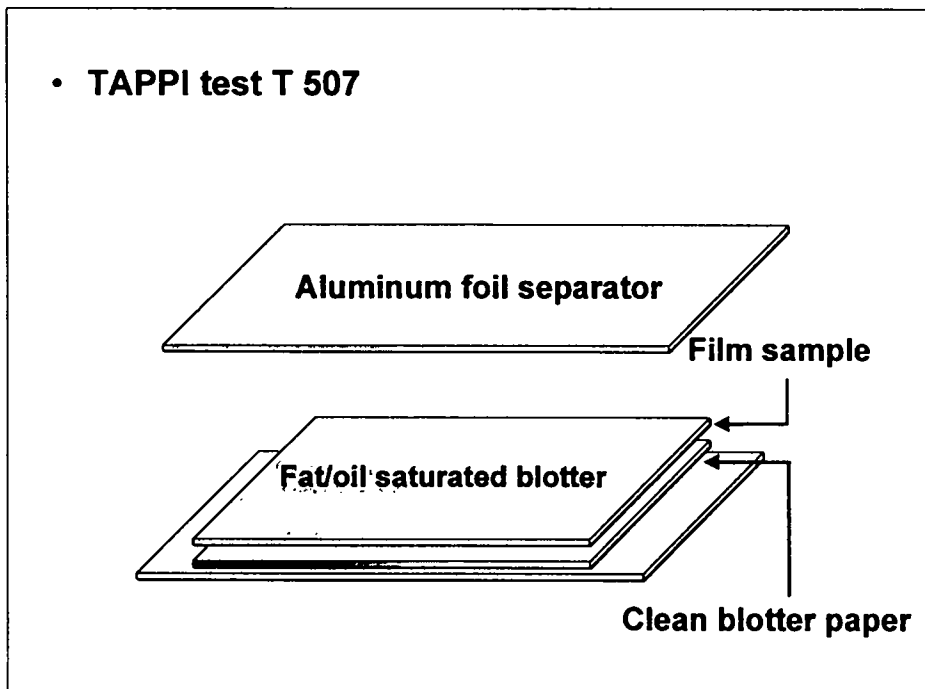


Fig. 2-2. schematic of TAPPI test method T 507 used for testing oil resistance of soy protein film.



#### 바. 용해도(water solubility) 측정

수분용해도 측정을 위한 필름 시료 약 1 g을 2.5 cm × 2.5 cm으로 절단한 후 이를 phosphorus pentoxide로 상대습도가 0%로 조절된 desiccator에 72시간 방치하여 필름을 건조시켰다. 건조된 필름시료 20-30 mg을 정확히 칭량하여 이를 시험관에 넣고 증류수 5 mL를 가한 후 시험관을 밀봉한 다음 이를 25°C의 진탕수조에 넣고 24시간 동안 저속으로 진탕시켰다. 진탕액 1 mL을 취하여 이를 원심분리(12,000 rpm, 5 분)하여 불용성물질을 제거하고 상정액 20  $\mu$ L을 취하여 Bradford 법<sup>66)</sup>을 이용하여 595 nm에서의 흡광도를 측정하고 bovine serum albumin을 이용하여 구한 표준식으로부터 용해된 단백질 함량을 구하였다. 용해도는 필름의 단백질 중 증류수에 용해된 단백질의 백분율로 나타내었다.

#### 사. 색도측정

필름의 색도는 색차계 (CR 300 Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다. 필름 시료를 표준백색판(calibration plate CR-A43, L=95.91, a=0.00, and b=2.27) 위에 놓고 3회 측정한 평균값을 Hunter L, a 및 b로 나타내었다. 여기에서 L값은 색의 밝기를 나타내는 것으로 L=0 (black)에서 L=100 (white)까지의 값을 가지며, a 값은 색의 적색도를 나타내는 것으로 a=-80 (greenness)에서 a=100 (redness), b값은 황색도를 나타내는 것으로 b=-80 (blueness)에서 b=70 (yellowness)의 값을 나타낸다.

이들 Hunter L, a 및 b값으로부터 표준백색판과의 색차(total color difference,  $\Delta E$ )와 황색지표(yellowness index, YI)를 다음과 같이 구하였다.

$$\Delta E = \sqrt{(L-L')^2 + (a-a')^2 + (b-b')^2} \quad \text{식(6)}$$

$$YI = 142.86 \times \frac{b}{L} \quad \text{식(7)}$$

이때, L, a 및 b는 표준백색판의 값(L=95.91, a=0.00, and b=2.27)을 의미한다.

#### 아. 불투명도(Opacity) 측정

필름의 불투명도는 필름을 0.7 cm × 1.5 cm의 사각형으로 자른 후 이를 사각의 분광분석용 석영 cell의 빛 통과 영역에 부착시키고 분광분석계(Uvikon spectrophotometer 922, Kontron Instruments, Italy)를 이용하여 400-800 nm 파장영역의 광을 주사시키면서 이때의 흡광도 측정하였다. 필름의 불투명도는 기록된 흡광도 곡선의 면적으로 정의하였으며 nm×O.D.의 단위로 나타내었다.

#### 6. 제조된 가식성 필름의 식품에의 적용

식품산업 부산물로 제조한 가식성 필름의 실제 식품포장에의 응용을 위하여 일반 플라스틱필름과 유청단백질 필름에 각각 일정량의 대두유를 넣고 저장하며 기름의 과산화물가를 측정, 비교하였다.

#### 가. 유청 단백질 필름의 제조 및 저장

증류수 100 mL에 유청 단백질 3.0 g과 가소제로서 glycerol과 sorbitol을 1:1로 혼합한 것을 0.4 g/g WPC의 농도로 첨가하여 용해시킨 필름용액에, 가교제로서 citric acid를 시료 단백질에 대하여 0.3% (w/w) 첨가하여 단백질 필름을 제조하였다. 제조된 단백질 필름을 heat sealer를 이용하여 5 cm×5 cm의 포장지로 만든 후, 대두유(신동방) 3 g을 포장하고 기존 유지(인스턴트 식품의 유성스프)의 포장재로 사용되는 nylon metallocene linear low density polyethylene(NMLLDPE)필름도 같은 방법으로 대두유 3 g을 포장하여 상대습도를 50%로 조절한 40℃, 50℃, 60℃ 항온항습조에 저장하면서 저장 기간에 따른 유지의 과산화 물가를 측정하여 유지의 저장안정성을 조사하였다.

#### 나. 과산화 물가 (peroxide value) 측정

포장된 유지의 과산화 물가는 AOCS법에 의하여 측정하였다. 0.3 g~2.0 g 범위내로 취한 유지에 acetic acid와 chloroform를 3:2 (v/v) 로 혼합한 용액 10 mL로 용해시킨 후 KI (potassium iodide) 포화용액 1 mL을 가하여 잘 흔들어 그늘에 5분간 정치한 후 다시 증류수 75 mL를 가하고 곧  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  표준용액으로 적정하여 1 g 속의 유지에 들어 있는 과산화물의 mMol을 산출하여 과산화물가로 하였다.

#### 7. 통계적 분석

SAS(Statistical Analysis System) 통계 package<sup>67)</sup>를 사용하여 분산 분석 및 Duncan 다범위 검증(Duncan's multiple range test)을 실시하였다.

### 제3절. 결과 및 고찰

#### 1. 가소제 조합에 의한 필름의 물성변화

##### 가. 대두 단백질 필름

##### 1) 두부비지 단백질 농축물 필름

###### 가) 기계적 특성

두부비지로부터 추출한 대두단백질을 원료로 필름을 제조하고 가소제의 혼합비율에 따른 필름의 기계적 특성을 측정한 결과를 Table 2-1에 나타내었다. 가소제의 농도를 0.2 g plasticizer/g protein으로 첨가한 필름은 너무 부서지기 쉬운 성질을 나타내었으며 신장률도 거의 보이지 않아 기계적 특성을 측정할 수 없었다. 가소제의 농도가 0.4에서 0.8 g plasticizer/g protein으로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 감소하였으며 신장률은 증가하였다. 일정 가소제 농도에서 가소제 혼합비율에 따른 인장강도의 변화는 가소제 중 sorbitol의 함량이 높을수록 인장강도는 증가하는 것으로 나타났으며 신장률의 경우 전 가소제 농도 범위에서 glycerol과 sorbitol을 50:50으로 혼합 사용하였을 때가 높은 것으로 나타났다.

###### 나) 물질투과 특성

###### (1) 수분 및 산소투과 특성

두부비지로부터 제조된 가식성 필름의 수분투과도와 산소투과도는 Table 2-2에 나타내었다.

**Table 2-1. Effect of plasticizer ratio on tensile strength and elongation of edible films from soybean curd meal.**

Plasticizer conc. (g/g sample)	Mixing ratio (GLY : SOR)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
0.4	100 : 0	65.2 $\pm$ 11.3 <sup>1)</sup>	11.1 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	5.5 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>
	50 : 50	56.2 $\pm$ 8.2	10.3 $\pm$ 2.2 <sup>b</sup>	2.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>
	0 : 100	76.5 $\pm$ 12.5	15.0 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	5.7 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>
0.6	100 : 0	60.5 $\pm$ 10.6	7.2 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	18.9 $\pm$ 11.2 <sup>b</sup>
	50 : 50	69.5 $\pm$ 7.1	7.0 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	36.6 $\pm$ 9.6 <sup>a</sup>
	0 : 100	73.7 $\pm$ 19.4	9.8 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	9.8 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>
0.8	100 : 0	76.2 $\pm$ 5.2	2.9 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	41.2 $\pm$ 8.1 <sup>b</sup>
	50 : 50	76.2 $\pm$ 11.0	3.3 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	58.3 $\pm$ 7.0 <sup>a</sup>
	0 : 100	68.3 $\pm$ 7.7	4.7 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	28.4 $\pm$ 5.2 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Mean  $\pm$  Standard deviation (n=10)

<sup>abc</sup>Superscriptive letters in a same plasticizer concentration indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

**Table 2-2. Effect of plasticizer ratio on water vapor and oxygen permeabilities of soy protein films from soybean curd meal.**

Plasticizer conc. (g/g sample)	Mixing ratio (GLY : SOR)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP <sup>1)</sup> ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )	OP <sup>2)</sup> ( $\text{fL}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )
0.4	100 : 0	58.5 $\pm$ 8.4 <sup>3)</sup>	0.62 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	-
	50 : 50	48.9 $\pm$ 6.7	0.47 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.0314
	0 : 100	59.9 $\pm$ 3.9	0.48 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.0422
0.6	100 : 0	62.2 $\pm$ 5.2	0.71 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.0364
	50 : 50	65.5 $\pm$ 5.2	0.67 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.0295
	0 : 100	68.9 $\pm$ 12.8	0.58 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.0393
0.8	100 : 0	64.4 $\pm$ 5.7	0.83 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.0733
	50 : 50	63.1 $\pm$ 8.3	0.74 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup>	0.0330
	0 : 100	64.7 $\pm$ 1.4	0.62 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.0567

<sup>1)</sup>Water vapor permeability

<sup>2)</sup>Oxygen permeability

<sup>3)</sup>Standard deviation.

<sup>ab</sup>Superscriptive letters in a same plasticizer concentration indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

수분투과도는 가소제의 농도가 0.4 에서 0.8 g plasticizer/g protein으로 높아 질수록 가소제의 혼합비에 따라 0.48-0.62의 범위에서 0.62-0.83의 범위로 증가하였다. 또한 일정 가소제 농도에서는 가소제로서 glycerol을 사용한 필름의 수분투과도가 다른 필름들에 비해 유의적으로 높은 것으로 나타났으며, sorbitol을 사용한 필름과 가소제로 glycerol과 sorbitol을 50:50으로 혼합하여 사용한 필름들의 수분투과도는 유의차를 보이지 않았다.

한편, 두부비지에서 추출한 대두단백질 필름의 산소투과도는 0.03 - 0.07  $\text{fl}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 범위의 값을 보였으며 기존의 옥수수 단백 및 밀 단백 생고분자 필름에 비하여 낮은 것으로 나타났다. 일반적으로 본 실험에서 추출한 필름의 경우 가소제의 농도가 증가할수록 산소투과도가 증가하는 것으로 나타났다. 또한 단일 가소제 보다 glycerol과 sorbitol을 50 : 50으로 혼합하여 사용하였을 때 일반적으로 산소투과도가 낮은 것으로 나타나 이 결과는 Park 등<sup>89)</sup>의 결과와 동일한 경향을 보였다.

## (2) 유지투과 특성

두부비지에서 추출한 생고분자로부터 제조한 가식성 필름의 유지투과도는 Table 2-3에 나타내었다. 이에 나타낸 바와 같이 두부비지에서 추출한 가식성 필름의 유지 투과도는 매우 낮거나 거의 투과되지 않는 것으로 나타났으며 가소제로 sorbitol을 0.6 g/g sample의 농도로 첨가한 필름의 경우 3시간 후부터 0.04 - 1.1  $\text{cm}^2$ 의 면적이 염색되었으며, glycerol을 0.8 g/g sample의 농도로 첨가한 필름의 경우 4시간 후 6.7  $\text{cm}^2$ , 5시간 후 4.1  $\text{cm}^2$ 의 면적에 oil이 투과되는 것으로 나타났다. 이외의 필름에서는 염색된 정도는 시간에 비례하지 않았거나 초기에 약간의 면적이 염색되었으나 시간이 지남에 따라 염색되지 않는 경우이다.

**Table 2-3. Effect of plasticizer ratio on oil resistance of soy protein films from soybean curd meal.**

Plasticizer conc. (g/g sample)	Mixing ratio (GLY:SOR)	Stained Area (cm <sup>2</sup> ) <sup>1)</sup>					
		0 hr	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	5 hr
0.4	100 : 0	0.00 ± 0.00	1.23 ± 2.12	0.28 ± 0.49	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	50 : 50	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	0 : 100	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.17 ± 3.32	0.00 ± 0.00
0.6	100 : 0	0.00 ± 0.00	0.48 ± 0.46	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	4.20 ± 4.10	0.00 ± 0.00
	50 : 50	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	0 : 100	0.00 ± 0.00	0.27 ± 0.39	0.00 ± 0.00	1.14 ± 1.00	0.04 ± 0.07	0.37 ± 0.63
0.8	100 : 0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.35 ± 0.60	0.00 ± 0.00	6.76 ± 11.53	4.08 ± 7.06
	50 : 50	0.00 ± 0.00	0.22 ± 0.38	0.00 ± 0.00	0.13 ± 0.22	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	0 : 100	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

<sup>1)</sup>Stained area (cm<sup>2</sup>) per ream (278 cm<sup>2</sup>); TAPPI test T507 for biopolymer films at 60°C



그 예로 glycerol을 0.4 g/g sample의 농도로 첨가한 필름의 경우 1시간 후 1.2 cm<sup>2</sup> 및 2시간 후 0.3 cm<sup>2</sup>의 면적이 염색되었으며 sorbitol을 0.4 g/g sample의 농도로 첨가한 필름의 경우 4시간 후 2.2 cm<sup>2</sup>의 면적이 염색되었다. Glycerol을 0.6 g/g sample의 농도로 첨가한 필름의 경우 1시간 후 0.5 cm<sup>2</sup> 및 4시간 후 4.2 cm<sup>2</sup>의 면적이 염색되었다. Glycerol과 sorbitol을 혼합하여 0.8 g/g sample의 농도로 첨가한 필름에서는 1시간 후 0.2 cm<sup>2</sup>, 3시간 후에는 0.1 cm<sup>2</sup>의 면적이 염색되었다. 필름은 그 내부에는 수많은 bubble과 pinhole을 갖고 있어 casting 방법으로 생산된 가식성 필름에서 취한 시료가 다른 필름시료들에 비하여 bubble과 pinhole을 많이 갖고 있는 경우에는 염색된 정도가 시간에 비례하지 않으며 초기에 필름의 표면이 염색되더라도 4-5 시간 후에는 전혀 염색되지 않는 경우가 있다<sup>9)</sup>.

## 2) 대두박 단백질 농축물 필름

### 가) 기계적 특성

대두박으로부터 단백질을 추출하여 필름을 제조할 때 가소제로 glycerol과 sorbitol을 사용하여 상대습도 50%에서 48시간동안 저장한 대두박 단백질 필름의 기계적 특성에 미치는 가소제의 영향을 Table 2-4에 나타내었다. 가소제의 농도가 0.4에서 0.6 g plasticizer/g SPC로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 감소하는 경향을 나타내었다. 즉, glycerol이 가소제로 사용되었을 경우 첨가된 가소제의 농도가 0.4에서 0.6 g/g SPC로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 10.2에서 3.9 MPa로 감소하였으며, sorbitol을 가소제로 사용하였을 때에는 농도가 0.4에서 0.6 g/g SPC로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 12.4에서 6.5 MPa로 감소하였다.

**Table 2-4. Effect of plasticizer (glycerol and sorbitol) ratio and concentration on mechanical properties of soy protein concentrate (SPC) films prepared from soybean meal**

Concentration (g/g SPC)	Ratio (GLY : SOR)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)	Break energy ( $\text{kJ/m}^2$ )
0.4	100 : 0	77.7 $\pm$ 11.6 <sup>1)</sup>	10.2 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	25.1 $\pm$ 5.1 <sup>c</sup>	112.4 $\pm$ 26.4 <sup>bc</sup>
	50 : 50	69.0 $\pm$ 2.9	10.3 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	39.8 $\pm$ 5.9 <sup>d</sup>	182.2 $\pm$ 27.7 <sup>ab</sup>
	0 : 100	77.1 $\pm$ 6.1	12.4 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	36.7 $\pm$ 8.8 <sup>d</sup>	203.2 $\pm$ 47.1 <sup>a</sup>
0.5	100 : 0	92.0 $\pm$ 3.8	6.0 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>	51.8 $\pm$ 7.0 <sup>e</sup>	138.6 $\pm$ 16.5 <sup>cd</sup>
	50 : 50	76.9 $\pm$ 10.2	6.1 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	58.6 $\pm$ 3.3 <sup>abc</sup>	157.9 $\pm$ 10.4 <sup>bc</sup>
	0 : 100	81.5 $\pm$ 14.6	7.8 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	41.7 $\pm$ 6.1 <sup>d</sup>	146.9 $\pm$ 20.6 <sup>cd</sup>
0.6	100 : 0	88.8 $\pm$ 13.6	3.9 $\pm$ 0.6 <sup>f</sup>	55.3 $\pm$ 3.9 <sup>bc</sup>	100.2 $\pm$ 17.2 <sup>e</sup>
	50 : 50	82.8 $\pm$ 10.2	4.1 $\pm$ 0.1 <sup>f</sup>	61.9 $\pm$ 10.1 <sup>ab</sup>	115.5 $\pm$ 10.0 <sup>de</sup>
	0 : 100	78.0 $\pm$ 7.7	6.5 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>	66.3 $\pm$ 7.5 <sup>a</sup>	196.5 $\pm$ 24.2 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=10).

<sup>a,b,c,d,e,f</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

일정 가소제 농도에서 가소제 종류에 따른 인장강도의 변화는 Table 2-4에 나타낸 바와 같이 0.4, 0.5 및 0.6 g/g SPC의 각각의 가소제 농도 수준에서 sorbitol을 가소제로 사용한 필름의 인장강도가 12.4, 7.8 및 6.5 MPa로 가장 높았으며, 가소제로서 glycerol을 단독 혹은 glycerol과 sorbitol을 혼합하여 사용한 경우에는 Duncan 다범위 검증법을 실시한 결과 유의수준 5%에서 유의차가 없었다.

신장률의 경우, 가소제로 glycerol을 단독으로 사용하거나 glycerol과 sorbitol을 혼합 사용한 경우 가소제의 농도를 0.4에서 0.5 g plasticizer/g SPC의 농도로 증가시켰을 때에는 신장률이 각각 25.1, 39.8%에서 51.8, 58.6%로 유의적으로 증가하였으나 이를 0.5 g plasticizer/g SPC 첨가한 필름과 0.6 g plasticizer/g SPC 첨가한 필름은 유의차가 없는 것으로 나타나 가소제 첨가량을 0.5 g plasticizer/g SPC 이상으로 증가시키더라도 신장률의 증가는 기대할 수 없는 것으로 나타났다. 반면에, sorbitol을 가소제로 첨가한 필름은 첨가농도를 0.4에서 0.5 g plasticizer/g SPC으로 늘릴 때에는 신장률의 유의차가 없었으나 0.6 g plasticizer/g SPC의 농도로 첨가함에 따라 신장률이 66.3%로 증가하였다. 일정 가소제 농도에서 필름의 신장률은 가소제를 0.4 g plasticizer/g SPC 혹은 0.5 g plasticizer/g SPC 첨가한 경우 glycerol과 sorbitol을 혼합 첨가한 필름의 신장률이 가장 높은 것으로 나타났으나, 가소제를 0.6 g plasticizer/g SPC 첨가하였을 때에는 sorbitol 첨가구의 신장률이 지속적으로 증가하여 sorbitol 첨가 필름의 신장률이 가장 높은 것으로 나타났다.

필름을 끊는데 필요한 에너지인 break energy는 sorbitol을 첨가한 필름의 경우 인장강도가 12.4 MPa로 가장 높은 0.4 g plasticizer/g SPC 농도 수준과 신장률이 66.3%로 가장 높은 0.6 g plasticizer/g SPC 농도수준에서 최대를 보였다.

#### 나) 수분투과특성

가소제의 종류 및 농도에 따른 수분투과도의 변화를 측정된 결과를 Table 2-5에 나타내었다. ASTM 법에 의해 측정된 필름들의 수분투과도(WVP<sub>A</sub>)는 가소제로 첨가된 glycerol과 sorbitol의 농도와 혼합비에 따라 0.40-0.63 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa의 범위를 보였다. 수분투과도 측정 시, 측정컵 내부로부터 필름층을 통해 수분이 이동함에 따라 투과도 측정컵 내부의 필름의 인접한 공기층에는 수증기압 강하가 일어나 실제 필름층 양단간의 상대습도 차는 50%보다 낮게된다. 이를 보정한 값이 WVP<sub>C</sub>이며 이값은 0.62 - 1.11 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa의 범위를 보였다. 일정 가소제에서 가소제로 sorbitol을 첨가한 필름의 수분투과도는 가소제의 농도가 높아지더라도 유의차가 없는 것으로 나타났지만 가소제로 glycerol 혹은 glycerol과 sorbitol을 혼합 첨가한 시료의 경우 수분투과도는 가소제의 농도가 높을수록 증가하는 경향을 보였다. 일정 가소제 농도에서는 sorbitol을 가소제로 첨가한 필름이 가장 수분투과도가 낮은 것으로 나타났다. 또한 동일한 필름 두께에서 수분투과도를 비교한 결과를 Fig. 2-3에 나타내었다. 이에 의하면 가소제의 농도가 높아짐에 따라 수분투과도는 증가하는 경향을 보였으며 가소제로 glycerol의 함량이 증가함에 따라 수분투과도가 높은 것으로 나타났다. 또한 가소제의 종류에 따른 필름의 수분투과도는 가소제의 농도가 0.4 g/g SPC에서 0.6 g/g SPC으로 증가함에 따라 더 큰 차이를 보였다.

#### 다) 색도

가소제의 혼합비에 따른 필름의 색도를 Table 2-6에 Hunter L, a, b 값, 표준 백색판과의 색차 및 황색지표로 나타내었다. 가소제로 sorbitol이 첨가된 경우 가소제의 농도가 높아짐에 따라 명도가 감소하는 경향을 보였지만 전체적으로 가소제에 따른 색도는 큰 차이를 보이지 않았다.

**Table 2-5. Effect of plasticizer (glycerol and sorbitol) ratio and concentration on water vapor permeabilities of soy protein concentrate (SPC) films prepared from soybean meal**

Concentration (g/g SPC)	Ratio (GLY : SOR)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP <sub>A</sub> <sup>1)</sup> (ng·m/m <sup>2</sup> ·s·Pa)	WVP <sub>C</sub> <sup>2)</sup> (ng·m/m <sup>2</sup> ·s·Pa)	Error <sup>3)</sup> (%)
0.4 g / g SPC	100 : 0	64.4 ± 3.7	0.47 ± 0.01 <sup>bcd</sup>	0.84 ± 0.01 <sup>bcd</sup>	43%
	50 : 50	66.4 ± 2.9	0.45 ± 0.02 <sup>cd</sup>	0.74 ± 0.03 <sup>cd</sup>	40%
	0 : 100	66.7 ± 3.9	0.40 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.62 ± 0.04 <sup>e</sup>	35%
0.5 g / g SPC	100 : 0	71.0 ± 6.4	0.55 ± 0.04 <sup>ab</sup>	1.01 ± 0.06 <sup>ab</sup>	46%
	50 : 50	68.0 ± 5.6	0.48 ± 0.02 <sup>bcd</sup>	0.81 ± 0.03 <sup>bcd</sup>	42%
	0 : 100	71.3 ± 6.6	0.43 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.67 ± 0.02 <sup>de</sup>	36%
0.6 g / g SPC	100 : 0	78.8 ± 9.4	0.63 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.11 ± 0.27 <sup>a</sup>	45%
	50 : 50	75.3 ± 5.2	0.53 ± 0.03 <sup>abc</sup>	0.91 ± 0.06 <sup>abc</sup>	41%
	0 : 100	74.5 ± 5.4	0.46 ± 0.03 <sup>cd</sup>	0.72 ± 0.06 <sup>cd</sup>	35%

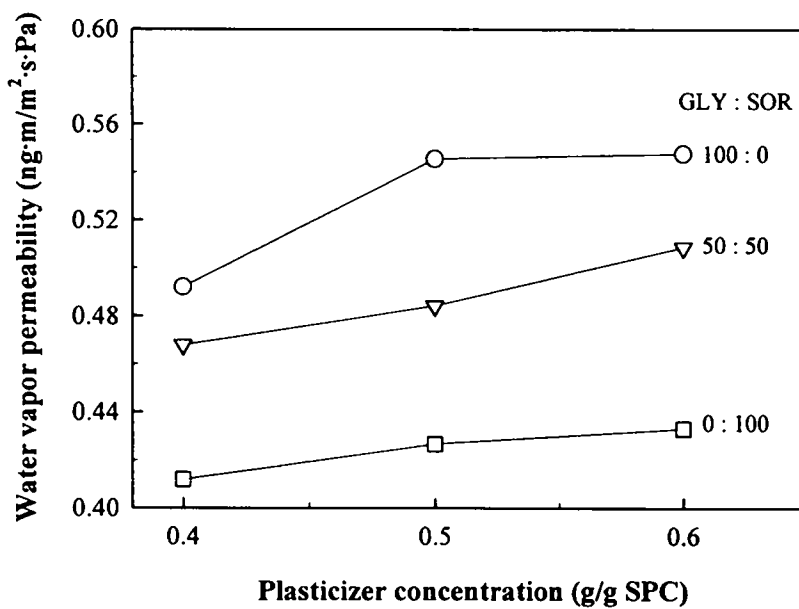
<sup>1)</sup>Water vapor permeability calculated by ASTM method.

<sup>2)</sup>Water vapor permeability calculated by correction method.

<sup>3)</sup> Error =  $(WVP_A/WVP_C) \times 100$

<sup>4)</sup>Means ± Standard deviation (n=4).

<sup>a,b,c,d,e</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple comparison.



**Fig. 2-3. Effect of plasticizer (glycerol and sorbitol) ratio and concentration on water vapor permeabilities of soy protein concentrate films with thickness of 60  $\mu\text{m}$ .**

**Table 2-6. Effect of plasticizer (glycerol and sorbitol) ratio and concentration on Hunter values (L, a, and b), total color differences ( $\Delta E$ ) and yellow index (YI) of soy protein concentrate (SPC) films<sup>1)</sup>**

Concentration (g/g SPI)	Ratio (GLY:SOR)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	L	a	b	$\Delta E$	YI
0.4 g/g SPI	100 : 0	51.41 $\pm$ 3.87 <sup>2)</sup>	89.35 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	-0.53 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	14.99 $\pm$ 0.07 <sup>bc</sup>	14.32 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup>	23.96 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>
	50 : 50	59.52 $\pm$ 2.05	90.71 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	-0.71 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	13.18 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>	12.10 $\pm$ 0.20 <sup>d</sup>	20.75 $\pm$ 0.31 <sup>d</sup>
	0 : 100	73.67 $\pm$ 1.90	89.42 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	-0.62 $\pm$ 0.03 <sup>cd</sup>	14.55 $\pm$ 0.19 <sup>bc</sup>	13.90 $\pm$ 0.13 <sup>e</sup>	23.24 $\pm$ 0.27 <sup>e</sup>
0.5 g/g SPI	100 : 0	55.33 $\pm$ 2.02	88.79 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	-0.64 $\pm$ 0.03 <sup>cd</sup>	16.72 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	16.13 $\pm$ 0.29 <sup>ab</sup>	26.91 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>
	50 : 50	66.15 $\pm$ 5.04	88.43 $\pm$ 1.52 <sup>ab</sup>	-0.44 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	14.46 $\pm$ 0.35 <sup>e</sup>	14.35 $\pm$ 0.82 <sup>bc</sup>	23.37 $\pm$ 0.68 <sup>e</sup>
	0 : 100	70.74 $\pm$ 4.03	86.10 $\pm$ 0.61 <sup>bc</sup>	-0.50 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	15.02 $\pm$ 0.41 <sup>bc</sup>	16.10 $\pm$ 0.68 <sup>ab</sup>	24.93 $\pm$ 0.85 <sup>b</sup>
0.6 g/g SPI	100 : 0	60.48 $\pm$ 4.85	90.35 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	-0.73 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	14.53 $\pm$ 0.11 <sup>bc</sup>	13.49 $\pm$ 0.20 <sup>cd</sup>	22.98 $\pm$ 0.23 <sup>e</sup>
	50 : 50	58.59 $\pm$ 2.50	89.55 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	-0.55 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	15.09 $\pm$ 0.59 <sup>b</sup>	14.32 $\pm$ 0.74 <sup>bc</sup>	24.08 $\pm$ 1.06 <sup>bc</sup>
	0 : 100	80.59 $\pm$ 8.79	85.61 $\pm$ 3.74 <sup>e</sup>	-0.22 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	14.84 $\pm$ 0.27 <sup>bc</sup>	16.39 $\pm$ 2.65 <sup>a</sup>	24.80 $\pm$ 1.51 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Films were placed on top of a standard white plate (L=95.91, a=0.00, and b=2.27).

<sup>2)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=3).

<sup>a,b,c,d</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

## 라) 가소제에 따른 수분의 영향

### (1) 흡습특성

단백질로 제조한 가식성필름은 친수성이므로 수분의 영향을 많이 받으며 또한 수분은 가소제의 역할을 한다고 알려져 있어 단백질 필름의 수분과의 상호작용은 필름의 특성을 결정하는 주요한 인자가 될 수 있어 가소제의 첨가 농도와 혼합비에 따른 필름의 등온흡습곡선을 구하여 이를 Fig. 2-4에 나타내었다. 등온흡습곡선은 평형상태에서의 상대습도와 수분함량의 관계를 나타낸 것으로 본 연구에서 필름 시료들이 평형에 도달하는데 소요된 기간은 가소제의 농도가 높은 필름을 높은 상대습도에서 저장하였을 때 가장 늦게 평형에 도달하였다. 이 대두단백질로 제조한 가식성필름의 등온흡습곡선은 첨가된 가소제의 종류 및 농도에 따라 다르게 나타났다. 일정 상대습도에서 필름의 수분함량은 가소제로 glycerol을 사용한 필름이 가소제로 sorbitol을 사용한 필름보다 높은 것으로 나타났다. 또한 동일한 가소제에서는 가소제의 농도가 높을수록 수분함량이 높았다. 이는 가소제로 사용된 glycerol과 sorbitol의 친수성 정도가 단백질 보다 크며 또한 친수성 정도가 서로 상이하어 가소제의 흡습특성이 서로 다르기 때문으로 사료된다.

### (2) 상대습도에 따른 기계적 특성

가식성필름의 기계적 특성은 필름 주위의 상대습도에 따라 크게 변하는 것으로 나타났다. 즉, 습도가 11%에서 75%로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 가소제의 종류와 농도에 따라 14-32 MPa의 수준에서 1-4 MPa 이하로 감소하였으며 이러한 상대습도에 따른 필름의 인장강도의 변화는 상대습도 75%이상에서는 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 2-5).



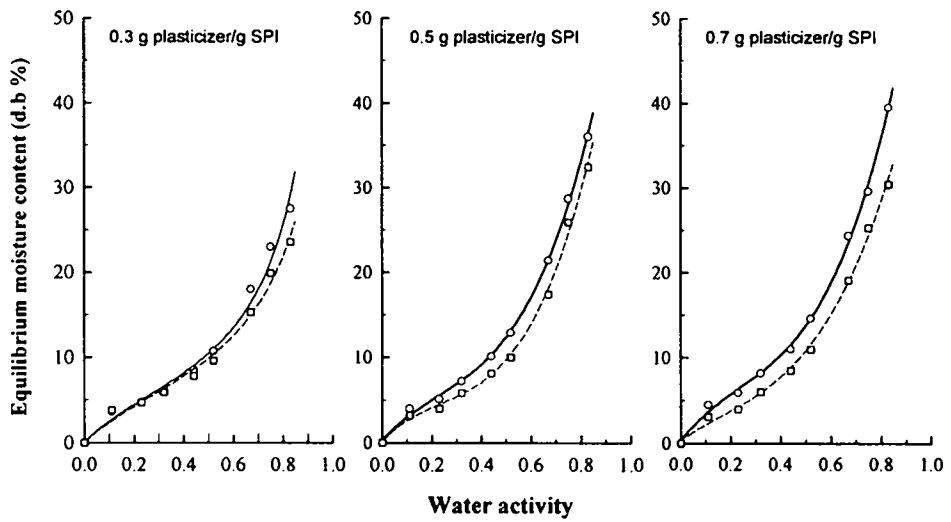
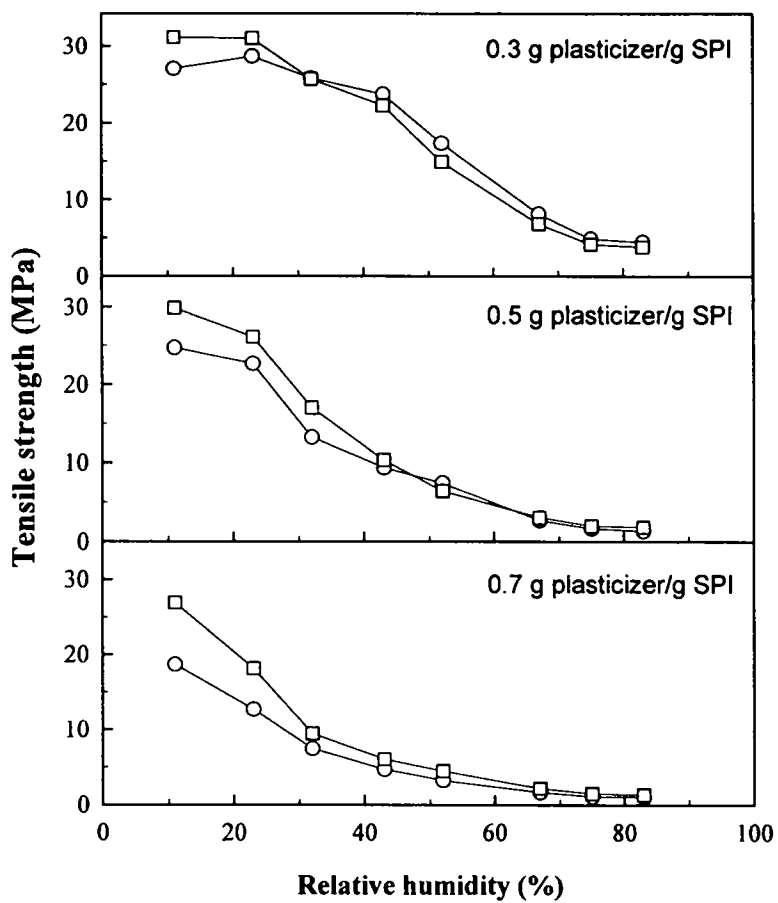


Fig. 2-4. Effects of plasticizers on sorption isotherms for soy protein concentrate films at 25°C

—○— Glycerol, - -○- Sorbitol



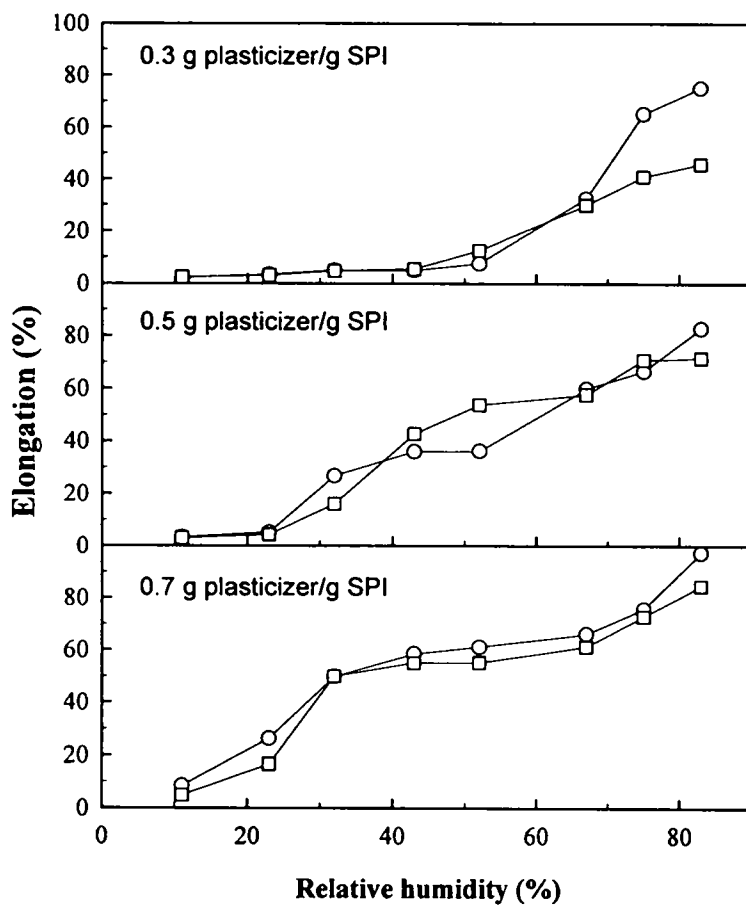
**Fig. 2-5. Effect of relative humidity on tensile strength (TS) of soy protein isolate films prepared from soybean meal.**

—○— Glycerol, —□— Sorbitol

한편 가소제로 sorbitol을 첨가하고 이를 11%에서 저장하였을 때 필름의 인장강도는 sorbitol의 첨가농도에 큰 영향을 받지 않아 가소제가 첨가된 필름이라 하더라도 건조상태에서는 필름이 유연성이 없이 부서지기 쉬운 성질을 나타내어 필름에 유연성을 부여하기 위해서는 적정량의 수분을 포함하고 있어야 한다는 것을 알 수 있었다.

동일한 상대습도에서 필름의 인장강도는 필름의 저장 상대습도가 낮을수록 가소제의 차이에 따른 인장강도의 차이가 큰 것으로 나타났으며, 가소제로 glycerol을 사용한 경우가 sorbitol이 첨가된 필름보다 낮은 상대습도에서 가소제의 농도가 증가함에 따른 인장강도의 감소 정도가 가장 뚜렷하였다. 이는 glycerol의 흡습성이 크므로 낮은 상대습도에서도 수분의 흡습량이 많아 흡습된 수분과 함께 가소제로 작용하기 때문으로 사료된다.

상대습도의 변화에 따른 필름의 신장률의 변화를 Fig 2-6에 나타내었다. 신장률의 경우 필름 주위의 상대습도가 11%인 경우에는 가소제의 종류 및 농도, 그리고 상대습도에 관계없이 거의 비슷한 값을 가지며 부서지기 쉬운 성질을 보였으나 상대습도가 증가함에 따라 가소제를 0.3 g plasticizer/g SPC의 농도로 첨가한 필름의 경우 상대습도 52%에서 신장률이 증가하기 시작하였으며 가소제 농도가 0.5 및 0.7 g plasticizer/g SPC으로 높아짐에 따라 각각 32%와 23%에서 신장률이 증가하기 시작하여 가소제의 농도가 증가할수록 더 낮은 상대습도에서 필름의 유연성이 나타났다. 또한 가소제로 glycerol을 사용하였을 때 낮은 상대습도에서의 신장률이 sorbitol보다 큰 것으로 나타났다. 이는 glycerol의 높은 흡습특성과 관련 있을 것으로 사료된다.



**Fig. 2-6. Effect of relative humidity on elongation (E) of soy protein concentrate films prepared from soybean meal.**

—○— Glycerol, —□— Sorbitol

#### 나. 유청 단백질 필름

유청 단백질로부터 가식성필름을 제조할 때 가소제로 glycerol, sorbitol 그리고 glycerol과 sorbitol의 1:1 혼합물을 첨가하였을 때 필름의 기계적특성을 측정하여 이를 Table 2-7에 나타내었다. 그 결과 가소제의 농도와 혼합비에 따른 필름의 기계적 특성은 대두단백질과 유사하게 가소제의 농도가 높을수록 인장강도는 감소하였으며 동일한 가소제 농도에서 필름의 인장강도는 가소제로 sorbitol을 첨가하였을 때 가장 높았으며 glycerol을 첨가하였을 때 가장 낮은 것으로 나타났다. 신장률은 가소제로 sorbitol을 0.3 g/g WPC의 농도로 첨가하였을 때에는 인장강도는 10.7 MPa로 높은 값을 보였지만 신장률이 5.8%로 낮은 값을 보였으며 약간 부서지기 쉬운 성상을 나타내어 필름으로 부적당한 것으로 사료되었으며 가장 신장률이 높은 glycerol을 혼합 첨가한 필름도 16.1%의 낮은 신장률을 보였다. 가소제의 농도에 따른 신장률의 변화는 가소제의 농도가 0.3 g/g WPC에서 0.4 g/g WPC으로 증가함에 따라 신장률도 증가하였으나 가소제의 농도가 0.4 g/g WPC에서 0.5 g/g WPC으로 높이더라도 신장률은 변화가 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터 유청단백질로 제조한 필름의 경우 가소제의 농도를 0.4 g plasticizer/g WPC로 조절하는 것이 가장 기계적특성이 우수한 필름을 제조할 수 있다고 판단되었으며, 가소제로 sorbitol 만을 첨가한 필름은 인장강도는 높게 나타났으나 공기 중 수분의 흡탈습으로 인한 비틀어짐(curling)이 심하여 본 연구에서는 가소제로 glycerol과 sorbitol을 1:1로 혼합 첨가하는 방법이 가장 적합한 것으로 사료되었다. 유청단백질 필름의 수분투과도와 산소투과도는 Table 2-8에 나타낸 바와 같이 가소제의 종류 및 농도에 따라 0.49에서 0.69  $\text{ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 의 범위를 보여 대두단백질로 제조한 필름의 수분투과도와 비슷한 값을 보였다.

**Table 2-7. Effects of plasticizer mixing ratio on mechanical properties of whey protein concentrates (WPC) films prepared from whey powder**

concentration (g/g WPC)	Mixing ratio (GLY:SOR)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
0.3	100 : 0	80.6 $\pm$ 10.8 <sup>1)</sup>	7.7 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>	11.7 $\pm$ 6.7 <sup>b</sup>
	50 : 50	89.7 $\pm$ 9.5	9.6 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	16.1 $\pm$ 4.5 <sup>a</sup>
	0 : 100	81.7 $\pm$ 4.5	10.7 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	5.8 $\pm$ 1.6 <sup>c</sup>
0.4	100 : 0	98.2 $\pm$ 9.9	3.5 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>	29.8 $\pm$ 7.1 <sup>a</sup>
	50 : 50	83.6 $\pm$ 9.2	6.2 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	28.5 $\pm$ 8.5 <sup>a</sup>
	0 : 100	87.8 $\pm$ 10.1	7.8 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	27.0 $\pm$ 7.0 <sup>a</sup>
0.5	100 : 0	91.1 $\pm$ 6.1	2.7 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	28.8 $\pm$ 4.5 <sup>a</sup>
	50 : 50	105.9 $\pm$ 13.4	4.3 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	31.5 $\pm$ 5.6 <sup>a</sup>
	0 : 100	87.9 $\pm$ 9.9	5.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	28.3 $\pm$ 8.8 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=10).

<sup>a,b,c</sup>Superscriptive letters in a same plasticizer concentration indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

**Table 2-8. Effect of plasticizer ratio on water vapor and oxygen permeabilities of whey protein films from whey powder**

Plasticizer conc. (g/g sample)	Mixing ratio (GLY : SOR)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP <sup>1)</sup> ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )	OP <sup>2)</sup> ( $\text{fL}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )
0.4	100 : 0	79.0 $\pm$ 10.7 <sup>3)</sup>	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.0646
	50 : 50	82.0 $\pm$ 3.3	0.53 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	-
	0 : 100	82.2 $\pm$ 5.7	0.49 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.0236
0.6	100 : 0	82.9 $\pm$ 1.3	0.69 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.0807
	50 : 50	86.6 $\pm$ 7.0	0.58 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.0251
	0 : 100	80.2 $\pm$ 2.6	0.50 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.1129
0.8	100 : 0	84.9 $\pm$ 4.1	0.69 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.2649
	50 : 50	87.4 $\pm$ 8.6	0.64 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.0526
	0 : 100	94.7 $\pm$ 1.3	0.59 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.0508

<sup>1)</sup>Water vapor permeability

<sup>2)</sup>Oxygen permeability

<sup>3)</sup>Mean  $\pm$  Standard deviation.

<sup>abc</sup>Superscriptive letters in a same plasticizer concentration indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

## 다. 주박 단백질 필름

### 1) 기계적 특성

상대습도 50%에서 48시간동안 저장한 주박 단백질 필름의 기계적 특성에 미치는 가소제의 영향을 Table 2-9에 나타내었다. 가소제의 농도가 0.2에서 0.8 g plasticizer/g RPC로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 감소하는 경향을 나타내었다. 즉, glycerol이 가소제로 사용되었을 경우 첨가된 가소제의 농도가 0.2에서 0.8 g/g RPC로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 5.5에서 1.1 MPa로 감소하였으며, PEG를 가소제로 사용하였을 때에는 농도가 0.2에서 0.8 g/g RPC로 증가함에 따라 필름의 인장강도는 5.1에서 1.0 MPa로 감소하였다. 이와 같은 결과는 Yang 등<sup>33)</sup>이 언급한 바와 같이 가소제가 단백질 고분자 내의 무정형 부분과 분자간 이차결합력에 의해 복합체를 형성함으로써 무정형 영역 내 고분자사슬 간의 수소결합을 감소시켜 인장 강도를 감소시키는 것으로 알려지고 있다. 일정 가소제 농도에서 가소제 종류에 따른 인장강도의 변화는 Table 2-9에 나타낸 바와 같이 가소제의 농도가 0.4 및 0.6 g plasticizer/g RPC일 경우에는 glycerol을 가소제로 사용한 필름의 인장강도가 3.6 및 1.6 MPa로 가장 높았으며, 가소제로서 PEG를 단독 혹은 glycerol과 PEG를 혼합하여 사용한 경우에는 Duncan 다범위 검증법을 실시한 결과 유의수준 5%에서 유의차가 없었다. 가소제의 농도가 0.2 및 0.8 g plasticizer/g RPC일 경우에는 첨가된 가소제의 종류에 따른 인장강도의 차이를 보이지 않았다.

신장률의 경우, 0.4~0.8 g plasticizer/g RPC의 가소제 농도 범위에서 glycerol과 PEG를 혼합 사용하였을 때가 glycerol 혹은 PEG를 단독으로 사용하였을 때보다 신장률이 우수한 것으로 나타났다.



**Table 2-9. The effect of plasticizers on the mechanical properties of edible films from rice protein concentrates (RPC) extracted from rice wine meal**

Plasticizer concentration (g/g RPC)	Plasticizer ratio (GLY : PEG)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
0.2	100 : 0	$63.5 \pm 6.5^{1)}$	$5.5 \pm 0.7^a$	$3.6 \pm 0.5^b$
	50 : 50	$74.3 \pm 3.0$	$5.1 \pm 0.4^a$	$6.4 \pm 0.6^a$
	0 : 100	$72.9 \pm 4.0$	$5.1 \pm 0.5^a$	$6.9 \pm 2.2^a$
0.4	100 : 0	$57.3 \pm 4.3$	$3.6 \pm 0.2^a$	$15.0 \pm 3.4^b$
	50 : 50	$62.3 \pm 7.2$	$2.5 \pm 0.2^b$	$23.6 \pm 5.7^a$
	0 : 100	$62.4 \pm 7.5$	$2.5 \pm 0.3^b$	$13.3 \pm 1.9^b$
0.6	100 : 0	$71.0 \pm 11.1$	$1.6 \pm 0.2^a$	$17.0 \pm 3.2^b$
	50 : 50	$65.8 \pm 11.9$	$1.3 \pm 0.1^b$	$24.3 \pm 4.1^a$
	0 : 100	$61.8 \pm 5.8$	$1.4 \pm 0.2^b$	$14.0 \pm 1.8^c$
0.8	100 : 0	$64.0 \pm 5.9$	$1.1 \pm 0.1^a$	$11.2 \pm 0.8^c$
	50 : 50	$69.7 \pm 6.9$	$1.0 \pm 0.1^a$	$18.0 \pm 3.0^a$
	0 : 100	$70.5 \pm 10.7$	$1.0 \pm 0.1^a$	$15.1 \pm 2.6^b$

<sup>1)</sup>Standard deviation.

<sup>a,b,c</sup>Superscriptive letters indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison within the same plasticizer concentration.

PEG를 첨가한 필름의 신장률은 0.2~0.8 g PEG/g RPC의 가소제 첨가농도 범위에서 가소제의 농도가 높아짐에 따라 증가하는 경향을 보였으나, 가소제로서 glycerol을 단독 혹은 glycerol과 PEG를 혼합하여 사용한 경우에는 가소제의 농도가 0.2에서 0.6 g plasticizer/g RPC로 증가하였을 때에는 신장률이 증가하였지만, 첨가농도를 0.8 g plasticizer/g RPC로 높였을 때에는 필름의 integrity가 감소하여 필름의 신장률은 오히려 감소하였다.

## 2) 수분투과특성

가소제의 종류 및 농도에 따른 수분투과도의 변화를 측정한 결과를 Table 2-10에 나타내었다. 이에 의하면 가소제로서 glycerol과 PEG가 각각 0.2 g/g RPC의 농도로 첨가된 필름의 수분투과도는 각각 0.45 및 0.34  $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 이었으며 첨가된 가소제의 농도가 0.8 g/g RPC로 높아짐에 따라 이들의 수분투과도는 각각 0.53 및 0.54  $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 로 증가하여, 필름의 수분투과에 대한 차단성은 가소제의 함량이 높아짐에 따라 약해지는 것으로 나타났다. 가소제의 첨가에 따른 가식성필름의 수분투과도의 변화를 보고한 여러 연구들에 따르면 글루텐필름<sup>91)</sup>과 같은 곡물단백질 뿐만 아니라 유청 단백질필름<sup>53)</sup> 및 셀룰로오스필름<sup>71)</sup> 등에서도 본 실험과 유사한 경향을 나타낸 것으로 보고되고 있다. 일반적으로 고분자필름의 수분투과도는 고분자 자체의 극성과 같은 고분자의 화학적특성과 고분자의 orientation, 결정성 부분의 정도, 가교결합의 정도와 같은 고분자의 구조적 특성에 영향을 받으며<sup>92)</sup>, 단백질과 같은 친수성 고분자필름에 가소제가 첨가됨에 따라 무정형 부분의 고분자 사슬의 밀집된 정도가 약해져 수분투과도는 증가하는 것으로 알려지고 있다.

**Table 2-10. The effect of plasticizers on the water vapor permeability of edible films from rice protein concentrates (RPC) extracted from rice wine meal**

Plasticizer ratio (GLY : PEG)	Plasticizer concentration (g/g RPC)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Water vapor permeability ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )
100 : 0	0.2	$56.8 \pm 4.0^{1)}$	$0.45 \pm 0.03^b$
	0.4	$50.7 \pm 3.2$	$0.44 \pm 0.03^b$
	0.6	$62.0 \pm 1.9$	$0.54 \pm 0.03^a$
	0.8	$58.1 \pm 2.9$	$0.53 \pm 0.03^a$
50 : 50	0.2	$54.1 \pm 4.1$	$0.36 \pm 0.03^c$
	0.4	$55.3 \pm 3.4$	$0.43 \pm 0.05^{bc}$
	0.6	$60.0 \pm 7.0$	$0.51 \pm 0.08^{ab}$
	0.8	$64.9 \pm 1.9$	$0.56 \pm 0.01^a$
0 : 100	0.2	$58.1 \pm 2.9$	$0.34 \pm 0.02^c$
	0.4	$56.4 \pm 3.0$	$0.44 \pm 0.02^b$
	0.6	$61.2 \pm 5.7$	$0.51 \pm 0.06^a$
	0.8	$62.3 \pm 4.3$	$0.54 \pm 0.03^a$

<sup>1)</sup>Standard deviation.

<sup>a,b,c</sup>Superscriptive letters indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison within the same plasticizer ratio.

한편 수분투과도는 Table 2-11에 나타난 바와 같이 필름의 두께에 영향을 받으며 필름의 두께가 증가할수록 수분투과도는 증가하는 경향을 나타내었다. WVP 측정용 필름시료의 두께가 60.2~63.8  $\mu\text{m}$ 범위로 비교적 두께가 일정한, 가소제로서 0.6 g GLY/g RPC을 첨가한 시료의 경우, 필름의 두께에 대한 WVP를 직선 회귀한 결과 기울기가 0.0091,  $r^2$  값 0.2573으로 나타나 필름의 두께와 수분투과도의 상관성이 낮았지만, 두께가 55~68  $\mu\text{m}$  범위의 가소제로서 GLY와 PEG를 50:50으로 혼합하여 0.6 g plasticizer/g RPC의 농도로 첨가한 시료의 경우 기울기와  $r^2$  값이 0.0109, 0.9954로 각각 나타나 필름의 두께와 수분투과도는 높은 상관성을 지니며 비례하는 것으로 나타났다. Banker 등<sup>93)</sup>은 친유성 고분자 필름의 수분투과도는 두께의 변화와는 관계없이 일정하였지만 친수성 고분자 필름의 수분투과도는 필름의 두께와 직선적인 비례관계에 있으며 이는 흡습으로 인해 팽윤된 필름내 무정형 부분을 통해 필름내부에서의 수분확산이 친수성기와 물분자의 친화력에 의해서 빠른 속도로 일어나기 때문인 것으로 보고하였다. McHugh 등<sup>94)</sup>은 필름의 두께가 증가함에 따라 수분투과도가 증가하는 이유를 필름의 두께가 증가함에 따라 물질이동에 대한 필름의 저항성이 커져 수분투과도 측정값 내부 필름표면의 수증기 부분압이 증가하기 때문인 것으로 보고하였다.

따라서 필름의 두께가 60  $\mu\text{m}$ 일때의 가소제 종류 및 농도에 따른 주박 단백질 필름의 수분투과도를 Fig. 2-7에 비교하였다. 이에 의하면 필름의 수분투과도는 가소제로 PEG를 첨가하였을 때가 GLY을 첨가하였을 때보다 낮은 것으로 나타났으며 가소제 중 PEG의 비율이 높아짐에 따라 직선적으로 감소하는 경향을 보였는데, 이러한 가소제의 종류에 따른 수분투과도의 차이는 가소제의 농도가 0.4 g/g RPC일 때가 0.8 g/g RPC일 때보다 더 큰 차이를 보였다.

**Table 2-11. Relationship between thickness and water vapor permeability of rice protein concentrate (RPC) films extracted from rice wine meal**

Plasticizer ratio <sup>1)</sup>	Plasticizer conc. (g/g RPC)	Thickness (μm)	Linear equation	r <sup>2</sup> 2)
100 : 0	0.2	56.8 ± 4.0 <sup>3)</sup>	WVP <sup>4)</sup> = 0.0059 × T <sup>5)</sup> + 0.111	0.7285
	0.4	50.7 ± 3.2	WVP = 0.0083 × T + 0.015	0.9063
	0.6	62.0 ± 1.9	WVP = 0.0091 × T - 0.026	0.2573
	0.8	58.1 ± 2.9	WVP = 0.0075 × T + 0.088	0.5600
50 : 50	0.2	54.1 ± 4.1	WVP = 0.0065 × T + 0.005	0.6240
	0.4	55.3 ± 3.4	WVP = 0.0123 × T - 0.251	0.8793
	0.6	60.0 ± 7.0	WVP = 0.0109 × T - 0.145	0.9954
	0.8	64.9 ± 1.9	WVP = 0.0057 × T + 0.193	0.6623
0 : 100	0.2	54.7 ± 3.6	WVP = 0.0061 × T + 0.008	0.9951
	0.4	56.4 ± 3.0	WVP = 0.0042 × T + 0.196	0.3054
	0.6	61.2 ± 5.7	WVP = 0.0107 × T - 0.151	0.9995
	0.8	62.3 ± 4.3	WVP = 0.0061 × T + 0.152	0.9999

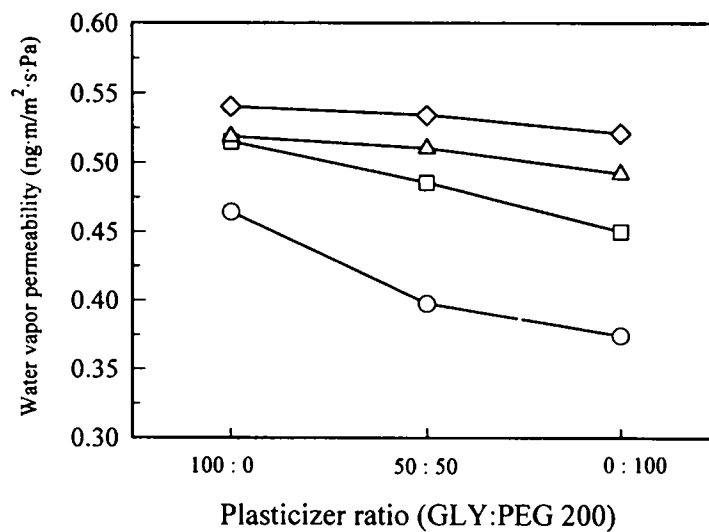
<sup>1)</sup>glycerol : PEG 200

<sup>2)</sup>correlation coefficient

<sup>3)</sup>Standard deviation

<sup>4)</sup>Water vapor permeability

<sup>5)</sup>Thickness



**Fig. 2-7. The effects of plasticizers on the water vapor permeability of edible films from rice protein concentrate (RPC) with thickness of 60  $\mu\text{m}$ .**

○— 0.2 g plasticizer/g RPC,    □— 0.4 g plasticizer/g RPC,  
 △— 0.6 g plasticizer/g RPC,    ◇— 0.8 g plasticizer/g RPC

즉, 가소제 농도 0.4 g/g RPC일 때 가소제로 GLY와 PEG를 사용한 경우의 수분투과도는 각각 0.52 및 0.45  $\text{ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 로 큰 차이를 보였으나 첨가농도가 0.8 g/g protein으로 높아짐에 따라 수분투과도는 각각 0.54 및 0.52  $\text{ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 으로 증가하여 가소제 종류에 따른 수분투과도는 그리 큰 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 GLY이 PEG에 비해 분자량이 작고 높은 친수성을 지니므로 가소제의 효과가 커서 낮은 첨가농도에도 높은 수분투과도를 나타내었으며 또한 첨가농도가 높아지더라도 수분투과도는 크게 증가하지 않았으나, PEG의 경우는 GLY보다 가소제로서의 효과가 낮아서 가소제의 농도를 0.4 g/g RPC 이상으로 첨가하였을 때 수분투과도가 지속적으로 증가하는 것으로 사료된다.

## 2. 화학적 방법에 의한 필름의 물성개선

### 가. 가교제(cross-linker)의 첨가 영향

#### 1) 대두 단백질 필름

대두단백질의 물성을 개선하기 위해 가교제로서 2개 이상의 관능기를 지닌 (multi-functional group) 유기산을 첨가하여 이들이 대두 단백질 필름의 기계적 특성에 미치는 영향을 Table 2-12에 나타내었으며 가교제를 첨가하여 제조한 필름의 수분투과특성을 Table 2-13에 나타내었다. 필름형성용액에 ascorbic acid와 succinic acid를 첨가하여 제조한 필름의 인장강도는 6.0 MPa에서 6.6 MPa의 범위를 보였으며 이는 가교제를 첨가하지 않은 대조구 (control)와 인장강도의 유의적인 차이가 없거나 또는 감소하였다.

**Table 2-12. Effects of cross-linkers on mechanical properties of soy protein concentrate (SPC) films prepared from soybean meal**

Cross-linker	Concentration (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
Ascorbic acid	Control	66.0 $\pm$ 14.3	6.6 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	60.9 $\pm$ 12.8 <sup>a</sup>
	0.05	73.3 $\pm$ 7.2	6.6 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	56.5 $\pm$ 11.4 <sup>a</sup>
	0.1	72.3 $\pm$ 6.0	6.4 $\pm$ 0.5 <sup>ab</sup>	52.9 $\pm$ 12.6 <sup>a</sup>
	0.2	72.9 $\pm$ 13.4	6.4 $\pm$ 0.8 <sup>ab</sup>	54.4 $\pm$ 11.1 <sup>a</sup>
	0.4	73.7 $\pm$ 11.9	6.3 $\pm$ 0.8 <sup>ab</sup>	49.5 $\pm$ 11.9 <sup>a</sup>
	0.6	71.3 $\pm$ 6.6	6.4 $\pm$ 0.5 <sup>ab</sup>	51.4 $\pm$ 19.9 <sup>a</sup>
	0.8	68.8 $\pm$ 9.8	6.3 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	54.0 $\pm$ 9.4 <sup>a</sup>
	1.0	65.7 $\pm$ 5.4	6.0 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	56.9 $\pm$ 11.1 <sup>a</sup>
Succinic acid	Control	66.0 $\pm$ 14.3	6.6 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	60.9 $\pm$ 12.8 <sup>a</sup>
	0.05	65.8 $\pm$ 11.1	6.5 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	39.9 $\pm$ 10.9 <sup>c</sup>
	0.1	71.4 $\pm$ 8.6	6.5 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	44.4 $\pm$ 7.4 <sup>bc</sup>
	0.2	69.5 $\pm$ 9.7	6.2 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	45.6 $\pm$ 8.3 <sup>bc</sup>
	0.4	68.9 $\pm$ 7.5	6.2 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	53.5 $\pm$ 10.6 <sup>ab</sup>
	0.6	69.6 $\pm$ 8.9	6.3 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	51.8 $\pm$ 11.0 <sup>ab</sup>
	0.8	69.8 $\pm$ 4.9	6.3 $\pm$ 0.5 <sup>ab</sup>	41.5 $\pm$ 12.3 <sup>c</sup>
	1.0	66.6 $\pm$ 10.7	6.4 $\pm$ 0.7 <sup>ab</sup>	36.7 $\pm$ 11.0 <sup>c</sup>
Citric acid	Control	66.0 $\pm$ 14.3	6.6 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>	60.9 $\pm$ 12.8 <sup>a</sup>
	0.05	69.8 $\pm$ 10.7	7.1 $\pm$ 0.6 <sup>de</sup>	40.6 $\pm$ 10.7 <sup>b</sup>
	0.1	65.8 $\pm$ 4.2	7.3 $\pm$ 0.5 <sup>bcd</sup>	42.5 $\pm$ 10.4 <sup>b</sup>
	0.2	66.6 $\pm$ 5.1	7.9 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	42.1 $\pm$ 13.6 <sup>b</sup>
	0.4	67.8 $\pm$ 6.7	7.6 $\pm$ 0.4 <sup>abc</sup>	50.4 $\pm$ 10.5 <sup>b</sup>
	0.6	62.9 $\pm$ 8.8	7.8 $\pm$ 0.7 <sup>ab</sup>	44.0 $\pm$ 8.2 <sup>b</sup>
	0.8	66.6 $\pm$ 6.4	7.2 $\pm$ 0.7 <sup>cd</sup>	47.1 $\pm$ 9.0 <sup>b</sup>
	1.0	68.3 $\pm$ 9.4	7.0 $\pm$ 0.5 <sup>de</sup>	41.3 $\pm$ 9.1 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=10).

<sup>a,b,c,d</sup>Superscriptive letters in a same cross-linker indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.



**Table 2-13. Effects of cross-linkers on water vapor permeabilities of soy protein concentrate (SPC) films prepared from soybean meal**

Cross-linker	Concentration (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )		WVP <sub>A</sub> <sup>1)</sup> (ng·m/m <sup>2</sup> ·s·Pa)	
Ascorbic acid	Control	66.3	± 10.8 <sup>2)</sup>	0.47	± 0.10
	0.05	67.4	± 3.2	0.50	± 0.06
	0.1	64.4	± 3.7	0.47	± 0.05
	0.2	65.9	± 8.5	0.48	± 0.06
	0.4	63.0	± 5.8	0.45	± 0.06
	0.6	64.8	± 4.1	0.48	± 0.05
	0.8	65.5	± 3.9	0.47	± 0.05
	1.0	62.8	± 2.3	0.47	± 0.06
Succinic acid	Control	66.3	± 10.8	0.47	± 0.10
	0.05	64.1	± 8.3	0.48	± 0.08
	0.1	64.4	± 6.4	0.47	± 0.05
	0.2	67.9	± 9.6	0.50	± 0.11
	0.4	58.8	± 5.6	0.42	± 0.04
	0.6	66.0	± 2.9	0.47	± 0.03
	0.8	66.9	± 3.7	0.47	± 0.04
	1.0	63.1	± 6.3	0.44	± 0.04
Citric acid	Control	66.3	± 10.8	0.47	± 0.10
	0.05	68.0	± 11.0	0.47	± 0.06
	0.1	66.9	± 2.0	0.47	± 0.02
	0.2	63.7	± 2.7	0.44	± 0.04
	0.4	63.9	± 1.9	0.46	± 0.02
	0.6	72.7	± 7.4	0.52	± 0.03
	0.8	65.4	± 5.6	0.47	± 0.07
	1.0	67.6	± 9.0	0.47	± 0.05

<sup>1)</sup>Water vapor permeability calculated by ASTM method.

<sup>2)</sup>Means ± Standard deviation (n=4). No significant (p<0.05) differences were detected among WVP<sub>A</sub> means by Duncan's multiple range test.

반면에 가교제로서 citric acid를 소량 첨가하였을 때에는 필름의 인장강도를 증가시킬 수 있었는데 citric acid를 0.2% 첨가하였을 때 필름의 인장강도는 대조구보다 20% 향상된 7.9MPa로서 최대치를 나타내었으며, citric acid가 농도 이상으로 첨가하였을 때에는 필름의 인장강도가 점차로 감소하였다. citric acid를 첨가하였을 때 필름의 신장률은 가교결합의 형성으로 인해 40.6 - 50.4%의 범위의 낮은 값을 보였으며 이는 대조구(60.9%)의 신장률과 유의적인 차이를 보였다. 그러나 citric acid를 첨가한 필름들의 신장률은 첨가농도에 따른 차이를 보이지 않았다.

한편 가교제를 첨가한 대두단백질 필름들의 수분투과도는 0.44 - 0.52 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa의 범위를 보여 가교제의 종류와 첨가농도에 관계없이 일정한 값을 보였으며 대조구와도 유의차를 보이지 않았다.

즉, 대두단백질 필름을 제조할 때 가교제로서 citric acid를 0.2% 첨가함으로써 수분투과도의 변화없이 필름의 인장강도를 20% 증가시킬 수 있었으며 이때 신장률은 31% 감소하였다.

## 2) 유청 단백질 필름

유청단백질 필름에 ascorbic acid, succinic acid 및 citric acid를 첨가하였을 때의 기계적 특성 변화도 대두단백질 필름들과 유사한 경향을 나타내었으며 이를 Table 2-14에 나타내었다. 가교제로 ascorbic acid와 succinic acid를 첨가하였을 때 필름의 인장강도는 가교제를 0.5% 수준으로 첨가하였을 때에는 대조구의 인장강도에 비해 감소하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었으며 0.7% 첨가하였을 때에는 대조구에 비해 유의적으로 감소하였다. 그러나 필름의 신장률은 ascorbic acid와 succinic acid를 0.7%의 농도 수준 까지 첨가하더라도 대조구와 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

**Table 2-14. Effects of cross-linkers on mechanical properties of whey protein concentrate (WPC) films prepared from whey powder**

Cross-linker	Concentration (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
Ascorbic acid	Control	86.5 $\pm$ 10.0	6.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	26.9 $\pm$ 5.4 <sup>a</sup>
	0.1	83.1 $\pm$ 11.1	6.3 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	26.1 $\pm$ 3.5 <sup>a</sup>
	0.3	89.9 $\pm$ 14.3	6.3 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	28.8 $\pm$ 4.1 <sup>a</sup>
	0.5	84.8 $\pm$ 7.4	6.2 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	28.3 $\pm$ 5.5 <sup>a</sup>
	0.7	86.8 $\pm$ 11.5	5.7 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	27.6 $\pm$ 5.8 <sup>a</sup>
Succinic acid	Control	86.5 $\pm$ 10.0	6.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	26.9 $\pm$ 5.4 <sup>a</sup>
	0.1	83.5 $\pm$ 7.1	6.2 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	26.9 $\pm$ 4.8 <sup>a</sup>
	0.3	80.5 $\pm$ 5.9	6.2 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	28.6 $\pm$ 3.5 <sup>a</sup>
	0.5	68.1 $\pm$ 9.3	6.0 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	26.0 $\pm$ 4.6 <sup>a</sup>
	0.7	82.2 $\pm$ 10.0	5.6 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	27.6 $\pm$ 6.5 <sup>a</sup>
Citric acid	Control	86.5 $\pm$ 10.0	6.6 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	26.9 $\pm$ 5.4 <sup>b</sup>
	0.1	84.6 $\pm$ 8.0	7.5 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	34.8 $\pm$ 7.2 <sup>a</sup>
	0.3	83.6 $\pm$ 9.5	7.8 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	32.4 $\pm$ 4.4 <sup>a</sup>
	0.5	85.2 $\pm$ 12.0	7.4 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	26.9 $\pm$ 5.6 <sup>b</sup>
	0.7	83.6 $\pm$ 7.3	7.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	26.5 $\pm$ 4.3 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=10).

<sup>a,b,c</sup>Superscriptive letters in a same cross-linker indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

반면에 가교제로서 citric acid를 첨가한 경우 citric acid를 0.3% 농도 수준까지 첨가하였을 때의 인장강도는 유의적으로 증가하여 0.3% 첨가하였을 때 7.8 MPa 로서 최대치를 보였으며 이보다 citric acid의 농도가 더 증가하면 인장강도는 오히려 감소하는 경향을 보였다. 가교제로 citric acid를 0.1 및 0.3% 첨가한 필름의 신장률은 각각 34.8과 32.4%로 나타나 대조구보다 높게 나타났지만 첨가농도를 0.5%-0.7%의 범위로 증가시켰을 때에는 신장률이 다시 감소하는 경향을 보였다. 한편 필름의 수분투과도는 가교제의 종류와 첨가농도에 따라 0.44 - 0.55 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa의 범위를 보여 대두단백질 필름과 비슷한 값을 나타내었으며 또한 가교제를 첨가하였을 때에는 대두 단백질 필름의 경우와 마찬가지로 가교제의 종류와 농도에 관계없이 일정한 값을 보였다.

즉, 유청단백질 필름 제조시 가교제로 citric acid를 0.3% 첨가하여 필름을 제조하면 수분투과도의 변화없이 인장강도와 신장률이 각각 18%와 20% 개선된 필름을 제조할 수 있었다.

### 3) 주박 단백질 필름

가교제를 첨가하여 제조한 주박 단백질 필름의 기계적 특성은 첨가한 가교제의 종류와 양에 따라 3.4 - 6.3 MPa의 인장강도와 5.7 - 18.3% 범위의 신장률을 나타내었다(Table 2-16). Sodium chloride와 calcium chloride를 0.5 - 2.0% 농도로 첨가한 시료의 경우 인장강도는 대조구 필름에 비해 감소하였으며 첨가농도가 높을수록 감소하였다. 반면에 신장률의 경우 CaCl<sub>2</sub>를 첨가한 시료들은 대조구와 유의차(p<0.05)를 보이지 않았으나 NaCl 첨가구는 2% 첨가하였을 때 신장률을 80% 향상시킬 수 있었다.

**Table 2-15. Effects of cross-linkers on water vapor permeabilities of whey protein concentrate (WPC) films prepared from whey powder**

Cross-linker	Concentration (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP <sub>A</sub> <sup>1)</sup> (ng·m/m <sup>2</sup> ·s·Pa)
Ascorbic acid	Control	79.3 ± 4.9	0.48 ± 0.02
	0.1	79.6 ± 7.0	0.51 ± 0.07
	0.3	80.6 ± 5.5	0.53 ± 0.05
	0.5	81.7 ± 1.5	0.50 ± 0.00
	0.7	78.5 ± 2.1	0.50 ± 0.02
Succinic acid	Control	79.3 ± 4.9	0.48 ± 0.02
	0.1	84.4 ± 9.2	0.52 ± 0.09
	0.3	82.5 ± 10.5	0.51 ± 0.04
	0.5	71.7 ± 12.7	0.44 ± 0.06
	0.7	81.7 ± 9.3	0.55 ± 0.09
Citric acid	Control	79.3 ± 4.9	0.48 ± 0.02
	0.1	78.9 ± 3.2	0.50 ± 0.02
	0.3	78.6 ± 6.4	0.49 ± 0.05
	0.5	81.7 ± 11.5	0.50 ± 0.06
	0.7	95.1 ± 14.1	0.55 ± 0.08

<sup>1)</sup>Water vapor permeability calculated by ASTM method.

<sup>2)</sup>Means ± Standard deviation (n=4). No significant (p<0.05) differences were detected among WVP<sub>A</sub> means by Duncan's multiple range test..

**Table 2-16. Effect of cross-linkers on tensile strength and elongation of edible films from rice protein concentrates (RPC) extracted from rice wine meal**

Cross-linker	Concentration (g/g RPC)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
Control		72.9 $\pm$ 4.0 <sup>1)</sup>	5.1 $\pm$ 0.5 <sup>ef</sup>	10.0 $\pm$ 2.6 <sup>cde</sup>
NaCl	0.5	76.7 $\pm$ 5.9	5.0 $\pm$ 0.4 <sup>f</sup>	12.1 $\pm$ 2.6 <sup>bc</sup>
	1.0	80.4 $\pm$ 9.8	4.1 $\pm$ 0.3 <sup>g</sup>	14.2 $\pm$ 2.9 <sup>b</sup>
	2.0	80.2 $\pm$ 12.6	3.4 $\pm$ 0.2 <sup>h</sup>	18.3 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>
CaCl <sub>2</sub>	0.5	74.8 $\pm$ 5.0	4.4 $\pm$ 0.2 <sup>g</sup>	9.3 $\pm$ 3.3 <sup>def</sup>
	1.0	75.9 $\pm$ 4.0	4.3 $\pm$ 0.3 <sup>g</sup>	9.3 $\pm$ 4.2 <sup>def</sup>
	2.0	81.4 $\pm$ 7.2	3.7 $\pm$ 0.3 <sup>h</sup>	9.4 $\pm$ 2.9 <sup>cdef</sup>
Sodium hydrogen sulfate	0.5	75.0 $\pm$ 5.6	6.1 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	6.5 $\pm$ 0.8 <sup>g</sup>
	1.0	73.1 $\pm$ 5.5	5.4 $\pm$ 0.5 <sup>de</sup>	6.0 $\pm$ 1.3 <sup>g</sup>
	2.0	79.0 $\pm$ 6.2	5.3 $\pm$ 0.4 <sup>de</sup>	7.1 $\pm$ 1.4 <sup>fg</sup>
Ascorbic acid	0.5	70.8 $\pm$ 11.3	6.1 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	6.0 $\pm$ 1.4 <sup>g</sup>
	1.0	75.3 $\pm$ 4.0	5.4 $\pm$ 0.3 <sup>de</sup>	11.0 $\pm$ 3.0 <sup>cd</sup>
	2.0	72.5 $\pm$ 5.2	5.4 $\pm$ 0.4 <sup>de</sup>	12.0 $\pm$ 2.2 <sup>bcd</sup>
Succinic anhydride	0.1	74.8 $\pm$ 4.7	6.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	9.5 $\pm$ 1.5 <sup>cdef</sup>
	0.5	75.9 $\pm$ 5.0	6.1 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	5.7 $\pm$ 1.1 <sup>g</sup>
	1.0	78.0 $\pm$ 5.0	5.6 $\pm$ 0.3 <sup>cd</sup>	7.7 $\pm$ 1.0 <sup>efg</sup>
Citric acid	0.1	76.1 $\pm$ 5.3	5.8 $\pm$ 0.4 <sup>bc</sup>	9.9 $\pm$ 2.2 <sup>cde</sup>
	0.5	75.8 $\pm$ 5.5	5.8 $\pm$ 0.2 <sup>bc</sup>	9.5 $\pm$ 1.7 <sup>cde</sup>
	1.0	78.7 $\pm$ 5.5	5.2 $\pm$ 0.2 <sup>ef</sup>	11.6 $\pm$ 2.5 <sup>cd</sup>

<sup>1)</sup>Mean  $\pm$  Standard deviation.

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

한편, sodium hydrogen sulfate, ascorbic acid 및 citric acid를 0.5%까지 첨가하였을 경우에는 필름의 인장강도는 대조구에 비해 증가하는 것으로 나타났으나, 가교제의 첨가농도가 높을수록 필름의 인장강도는 감소하여 가교제가 0.5% 이상 첨가된 경우 필름의 인장강도는 대조구와 유의차를 보이지 않았다. 가교제로서 succinic anhydride를 사용하였을 때 필름의 인장강도가 가장 높은 것으로 나타났다. 이는 가교제가 첨가됨에 따라 dicarboxylic acid의 anhydride와 단백질의 관능기 사이에 acylation에 의한 가교결합이 일어나기 때문으로 사료되며, 특히 succinic anhydride를 0.1% 첨가하였을 때 필름의 인장강도는 6.3 MPa로서 대조구에 비해 인장강도를 25.5% 증가시킬 수 있었다.

가교제를 첨가한 주박 단백질 필름의 수분투과도는 Table 2-17에 나타낸 바와 같이 NaCl와 CaCl<sub>2</sub>를 2.0% 수준으로 첨가하였을 때에는 각각 0.54 및 0.56 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa으로 대조구에 비해 증가하였으나, 이 경우를 제외하면 가교제를 첨가하여 제조한 필름의 수분투과도는 가교제의 종류 및 농도에 따라 0.44-0.53 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa의 범위를 보여 대조구(0.48 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa)와 유의차(p<0.05)가 없는 것으로 나타났다. 본 연구의 결과와 유사하게, Stuchell과 Krochta<sup>72)</sup>는 horseradish peroxidase를 가교제로 사용하여 대두단백질 필름을 제조하였을 때 필름의 수분투과도는 효소처리하지 않은 것과 차이가 없었다고 보고하였으며, Ghorpade 등<sup>79)</sup>은 대두단백질을 acylation시키거나 혹은 CaCl<sub>2</sub>를 첨가하여 단백질을 가교결합하여 필름을 제조하였을 때 기계적특성은 개선되었으나 수분투과도는 차이가 없었다고 보고하였다. 이들 결과로부터 가교제를 사용하여 화학적으로 단백질을 가교결합하여 필름을 제조하더라도 친수성 단백질 필름의 수분투과도에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 보인다.

**Table. 2-17. Effect of cross-linkers on water vapor permeability (WVP) of edible films from rice protein concentrates (RPC) extracted from rice wine meal**

Cross-linker (%)	Concentration (g/g RPC)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP <sup>1)</sup> ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ )
Control		73.9 $\pm$ 9.1 <sup>2)</sup>	0.48 $\pm$ 0.05 <sup>bcd</sup>
NaCl	0.5	72.8 $\pm$ 9.1	0.48 $\pm$ 0.03 <sup>bcd</sup>
	1.0	69.5 $\pm$ 4.4	0.48 $\pm$ 0.02 <sup>bcd</sup>
	2.0	72.3 $\pm$ 3.9	0.54 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
CaCl <sub>2</sub>	0.5	70.6 $\pm$ 2.6	0.47 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>
	1.0	71.8 $\pm$ 2.0	0.47 $\pm$ 0.03 <sup>cd</sup>
	2.0	78.8 $\pm$ 4.8	0.56 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
Sodium hydrogen sulfate	0.5	76.8 $\pm$ 6.4	0.47 $\pm$ 0.05 <sup>cd</sup>
	1.0	73.8 $\pm$ 5.9	0.48 $\pm$ 0.02 <sup>bcd</sup>
	2.0	79.9 $\pm$ 7.2	0.53 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>
Ascorbic acid	0.5	71.9 $\pm$ 6.5	0.48 $\pm$ 0.02 <sup>bcd</sup>
	1.0	72.9 $\pm$ 1.7	0.47 $\pm$ 0.03 <sup>bcd</sup>
	2.0	71.4 $\pm$ 9.3	0.46 $\pm$ 0.06 <sup>cd</sup>
Succinic anhydride	0.1	70.8 $\pm$ 1.1	0.44 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>
	0.5	70.8 $\pm$ 5.0	0.47 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>
	1.0	76.2 $\pm$ 6.4	0.51 $\pm$ 0.06 <sup>abc</sup>
Citric acid	0.1	76.2 $\pm$ 1.3	0.48 $\pm$ 0.02 <sup>bcd</sup>
	0.5	73.2 $\pm$ 3.0	0.45 $\pm$ 0.02 <sup>cd</sup>
	1.0	76.0 $\pm$ 2.9	0.48 $\pm$ 0.02 <sup>cd</sup>

<sup>1)</sup>Water vapor permeability.

<sup>2)</sup>Standard deviation.

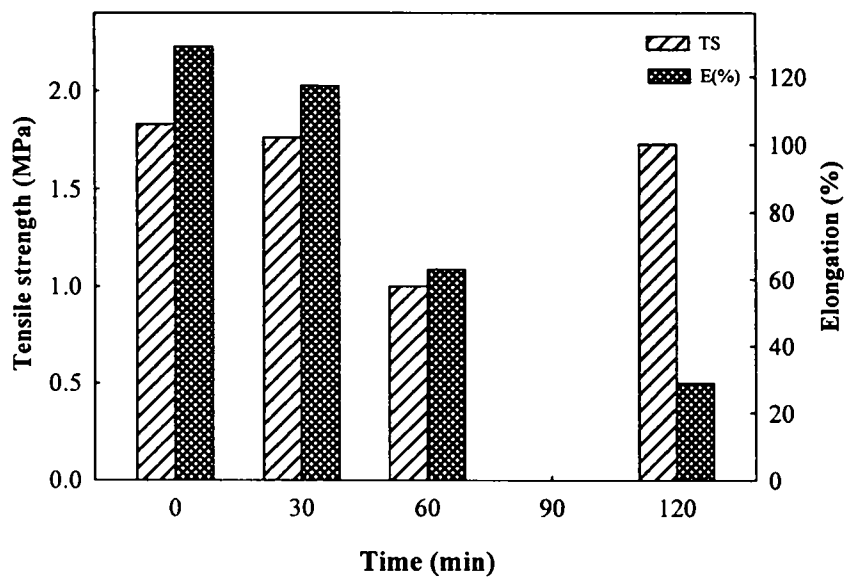
<sup>a,b,c,d</sup>Superscriptive letters indicate significant difference at  $p<0.05$  by Duncan's multiple comparison.



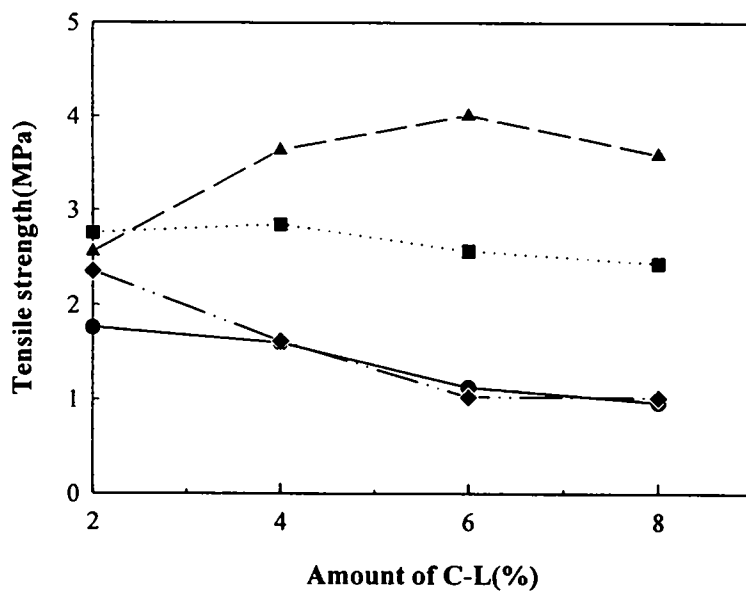
## 나. 가수분해 처리의 영향

### 1) 대두단백질의 가수분해물로 제조한 필름특성

0.01N HCl로 산가수분해를 30분 이상 수행할 경우 무처리구 필름에 비하여 필름의 인장강도 및 신장률 모두가 감소하는 경향(Fig. 2-8)을 나타내어 초기에 설정한 가수분해 시간이 적절하지 못함을 알 수 있었다. 또한 지나친 가수분해를 할 경우 필름형성에 요구되는 펩타이드의 길이보다 훨씬 짧아져 필름을 제조할 경우 물성개선이 이루어지지 않은 것으로 사료된다. 산가수분해한 필름형성용액에 가교제를 첨가하여 필름의 물성개선여부를 알아보았다(Fig. 2-9). 가교제로는 단백질분자의 구성아미노산인 라이신의  $\epsilon$ -아미노기와 acylation 및 phosphorylation을 통해 결합을 형성할 수 있는 succinic anhydride, formaldehyde, glutardialdehyde 및 di-phosphorous pentoxide를 사용하였다. succinic anhydride를 첨가하였을 경우 사용량이 증가함에 따라 인장강도가 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 acylation시 형성되는 아세트산의 negative charge 형성 및 결합하지 않은 상태로 존재함에 따른 단백질 분자간의 정전기적 반발 및 가소제 역할로 기인되는 것으로 생각된다. di-phosphorous pentoxide도 비슷한 경향을 나타내었으며 이 또한 단백질필름형성용액의 net charge가 negative로 변환되어 필름형성조건이 나빠졌기 때문으로 판단된다. formaldehyde는 필름의 인장강도에 큰 변화를 야기하지 않았으나 다소 감소하는 경향을 나타내었는데 이는 formaldehyde가 가소제의 역할을 했기 때문으로 사료된다. glutardialdehyde는 대체적으로 다른 가교제에 비하여 높은 인장강도를 나타내었으며 6%에서 가장 큰 인장강도를 나타내었다.



**Fig. 2-8. Tensile strength (TS), percent elongation (E) at break soy protein isolate (SPI) film on hydrolysis time.**



**Fig. 2-9. Tensile strength of Soy protein hydrolysate film as various cross linker (C-L) adding**

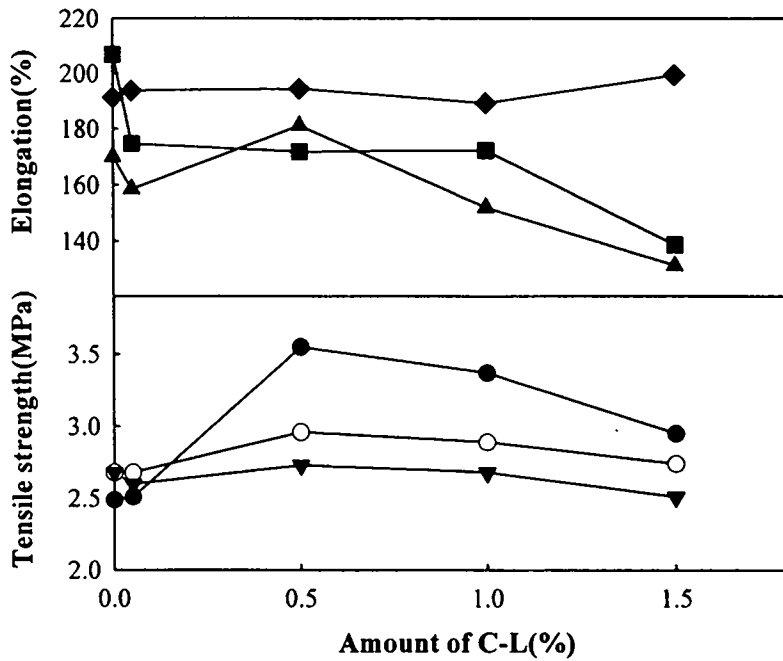
—▲— Glutaraldehyde      ···■··· Formaldehyde  
 —●— Succinic anhydride    —◆··· di-phosphorous pentoxide

산가수분해한 후 필름형성용액에 가교제를 첨가하였을 때 succinic anhydride < di-phosphorous pentoxide < formaldehyde < glutardialdehyde의 순서로 필름의 인장강도가 증가하는 경향을 나타내었다. 이를 토대로 볼 때 사용된 가교제중에서 glutardialdehyde가 가장 적합한 것으로 판단되었다. 또한 이러한 결과를 토대로 산가수분해 시간 및 glutardialdehyde의 사용량을 조절하여 필름의 물성변화를 알아보았다(Fig. 2-10).

그래프를 보면 단백질을 2분 가수분해하였을 경우에 가장 높은 인장강도, 5분 가수분해하였을 경우에 가장 높은 신장율을 나타내었다.

## 2) 염(salt)의 존재에 따른 필름의 물성변화

SPI의 산가수분해시 중화제로 사용한  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 와 가수분해에 사용한 HCl과의 반응에 의해 형성되는 염(NaCl) 및 가수분해에 의한 필름의 물성변화에 대한 영향을 알아보았다(Fig. 2-11). 가수분해하여 제조한 필름의 경우 인장강도에 있어서 무처리구에 비하여 상대적으로 낮은 값을 나타냈으나 신장율의 향상을 기할 수 있었다. 또한 무처리구 필름이 가장 낮은 수분투과특성을 나타내었다. 산가수분해에 의해 형성된 염의 효과를 알아보기 위해 무처리구 필름에 인위적으로 가수분해에 의해 형성된 염의 양에 상응하는 NaCl을 첨가하였을 경우 가수분해하여 제조한 필름과 비슷한 인장강도를 보였으나 신장율에 있어서는 낮은 값을 나타내었다. 가수분해하여 제조한 필름이 가수분해하지 않고 인위적으로 NaCl을 첨가한 필름보다 높은 신장율을 나타낸 것은 염의 효과 외에 가수분해에 의한 영향인 것으로 사료된다. 또한 무처리구 필름에 인위적으로 NaCl을 첨가하여 제조한 필름이 가수분해하여 제조한 필름보다 높은 수분차단특성을 나타내는 것으로 보아 필름제조시 그 특성에 맞게 물성개선을 할 필요가 있는 것으로 생각된다.



**Fig. 2-10. Tensile strength(TS), percent elongation(E) at break of SPI films at various conditions**

- TS after 2min hydrolysis
- TS after 5min hydrolysis
- ▼ TS after 8min hydrolysis
- ▲ E after 2min hydrolysis
- ◆ E after 5min hydrolysis
- E after 8min hydrolysis

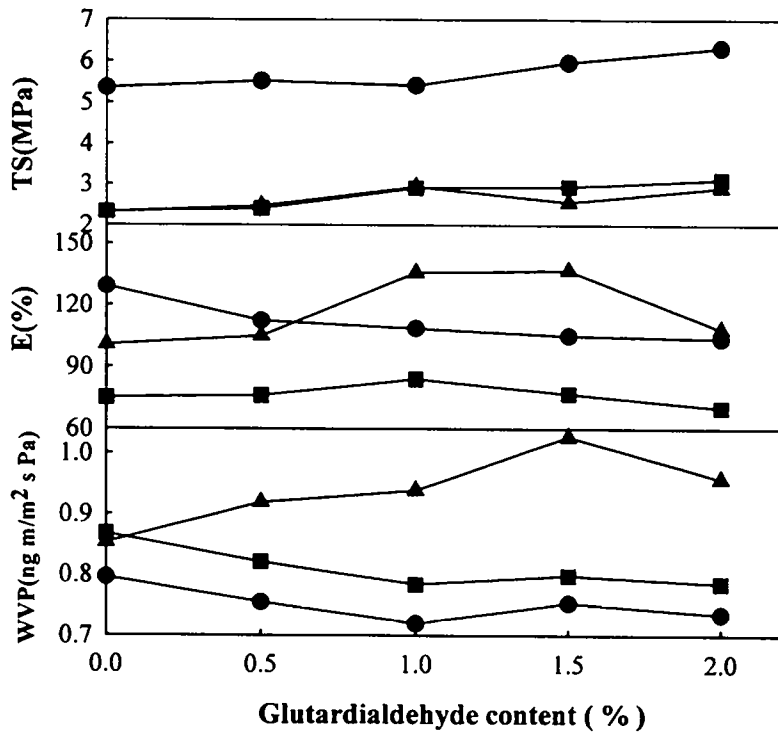


Fig. 2-11. Tensile strength, Percentage elongation at break, and Water vapor permeability( WVP ) of Soy Protein Isolate ( SPI ) films

● SPI only      ■ NaCl 0.58%      ▲ Hydrolysis

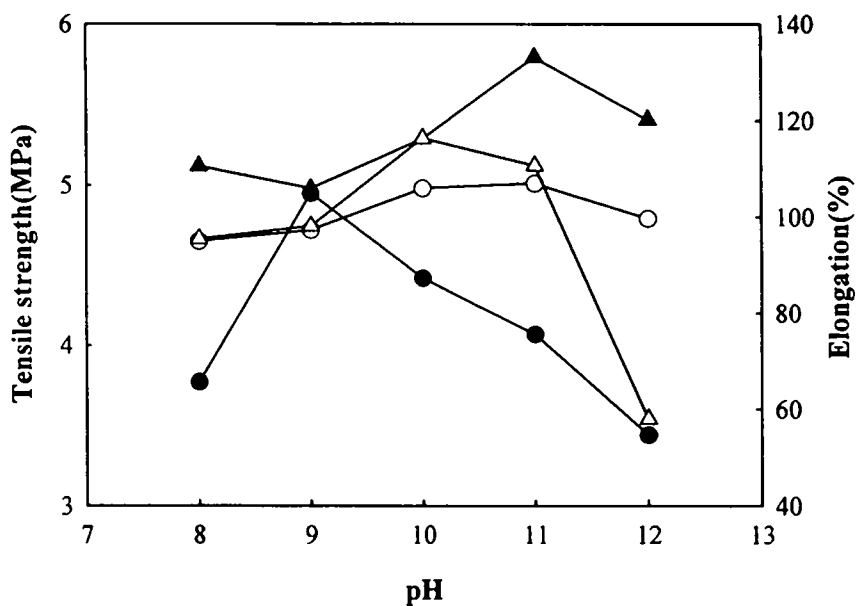
필름의 물성은 Fig. 2-11에 나타난 바와 같이 염에 의해 영향을 받음을 알 수 있었다. 따라서 필름형성용액 제조시 사용하는 pH조정제에 따른 물성변화가 있을 것으로 생각되어 그 영향을 알아보았다(Fig. 2-12). 필름의 인장강도는 필름형성용액의 pH를 NaOH로 조정하였을 경우보다 NH<sub>4</sub>OH로 조정하였을 경우가 전 pH 범위(8~12)에서 높은 경향을 나타내었다. 이는 NaOH로 pH를 조정하였을 경우 필름형성용액에 이온의 효과를 나타내기 때문인 것으로 사료된다. 하지만 신장율은 동일 pH에서 NaOH로 pH를 조정한 경우가 높은 값을 나타내어 신장율 향상에 있어서 염의 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

### 3) 염의 종류 및 ionic strength에 따른 SPI 필름의 물성변화

분리대두단백질(SPI)의 산가수분해물(hydrolysate)로 제조한 필름은 무처리 필름에 비해 신장율이 약 50% 정도 향상되었으나 인장강도 및 수분차단특성은 낮아지는 경향을 나타내었다(Fig. 2-11, Fig. 2-15). 가수분해용액의 중화시 생성되는 염을 제거한 필름은 무처리필름의 인장강도( 5.3Mpa )와 유의차를 보이지 않았다(Fig. 2-13). 이는 필름의 인장강도를 저하시키는 요인으로 염이 영향을 미친다는 일반적인 견해와 일치한다. SPI 및 SPI hydrolysate로 제조한 필름은 glutardialdehyde를 농도별(0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%)로 첨가시 2%에서 가장 높은 인장강도와 수분차단특성을 나타내었다(Fig. 2-11). glutardialdehyde 2% 및 3가지 ionic strength(0.003, 0.006, 0.009) 를 갖도록 염(NaCl, CaCl<sub>2</sub>)을 첨가하여 제조한 SPI필름은 인장강도가 염의 종류에 관계없이 염첨가에 따라 감소하였으나, glutardialdehyde와 염을 함께 사용한 경우는 최고 29% (5.7Mpa → 7.4Mpa)까지 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 2-14). 수분차단특성의 경우도 glutardialdehyde와 CaCl<sub>2</sub>를 함께 사용할 경우 최고 17.5%까지 개선되었다. 그

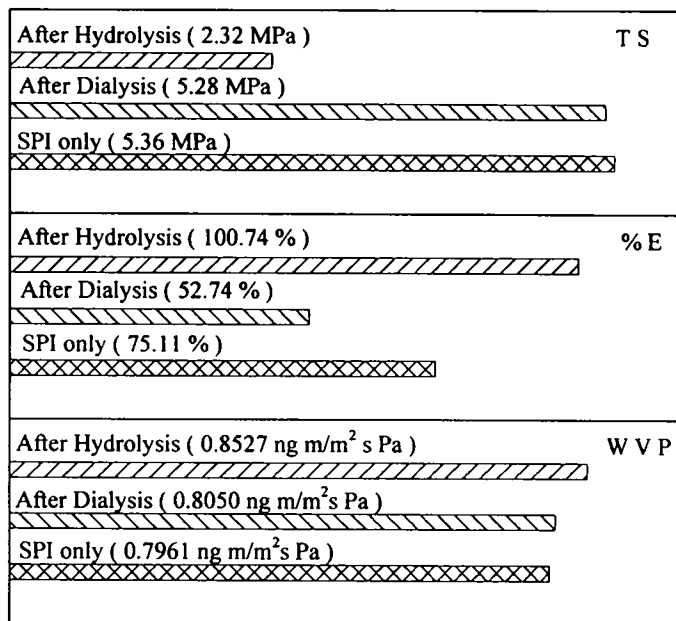
러나 신장율의 경우는 NaCl를 단독으로 사용한 경우에 한하여 모든 처리구에서 개선되었다(Fig. 2-14). 이러한 결과를 볼 때 SPI로 필름제조사 glutardialdehyde와 CaCl<sub>2</sub>를 함께 사용할 경우 물성을 개선할 수 있음을 알 수 있었다. 필름의 인장강도는 salt 종류에 관계없이 ionic strength 증가에 따라 다소 감소하는 경향을 나타내었으며, 신장율은 NaCl첨가시에는 증가함을 보였으나 CaCl<sub>2</sub>첨가시에는 변화가 없었다. 또한 수증기 차단특성은 CaCl<sub>2</sub>를 첨가할 경우에 한하여 개선되는 경향을 나타내었다(Fig. 2-14).



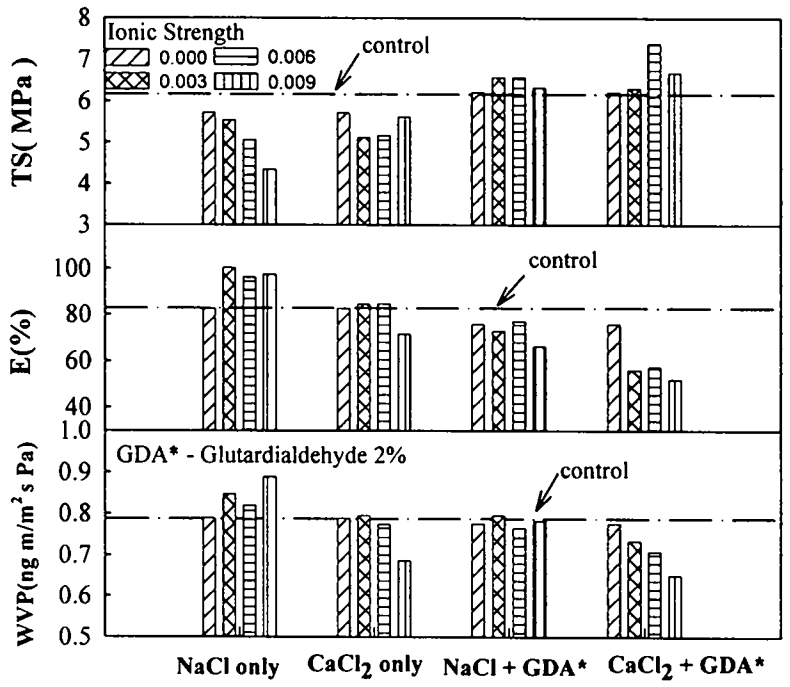


**Fig. 2-12. Tensile strength(TS) and elongation(E) of SPI films at various pH**

- TS(pH adjustment with NaOH)      ▲ E(pH adjustment with NaOH)
- TS(pH adjustment with NH<sub>4</sub>OH)      △ E(pH adjustment with NH<sub>4</sub>OH)



**Fig. 2-13. Mechanical properties and Water vapor permeability ( WVP ) of SPI films on three condition**



**Fig. 2-14. Mechanical properties and Water vapor permeability(WVP) of SPI films on reagents**

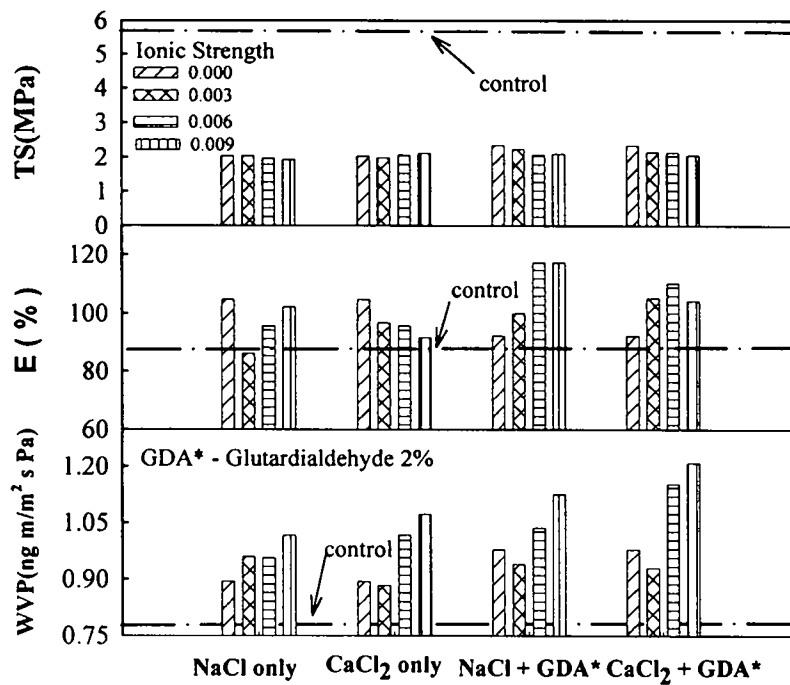


Fig. 2-15. Mechanical properties and Water vapor permeability(WVP) of SPI hydrolysate films on reagents

## 다. 소수성물질의 첨가 영향

### 1) 대두단백질 필름

#### 가) 기계적 특성

단백질 필름의 낮은 수분투과에 대한 차단성을 개선하기 위하여 *stearic acid*와 *palmitic acid*를 첨가하여 대두단백질 필름을 제조하고 이들의 기계적 특성을 Table 2-18에 나타내었다. 지방산을 첨가한 필름의 인장강도는 첨가한 지방산의 농도가 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났다. 지방산을 첨가하지 않은 필름의 인장강도는 8.5 MPa이었으며 *stearic acid*를 첨가한 필름의 경우 첨가 농도를 5%에서 30%로 증가시키기에 따라 인장강도는 6.4 MPa에서 5.0 MPa으로 유의적으로 감소하였으며 *palmitic acid*를 첨가한 필름의 경우 첨가 농도를 5%에서 30%로 증가시키기에 따라 인장강도는 7.2 MPa에서 4.6 MPa으로 *stearic acid*보다 더 큰 폭으로 감소하였다. 신장률의 경우 지방산을 첨가하지 않은 필름의 신장률은 58.1%를 보였으나 *stearic acid*를 5% 첨가한 필름과 *palmitic acid*를 5% 첨가한 필름은 각각 22.2%와 19.3%로 감소하였으며 지방산의 첨가 농도가 증가함에 따라 신장률은 감소하여 *stearic acid*를 30% 첨가한 필름의 경우 2.9%와 *palmitic acid*를 30% 첨가한 필름의 경우 3.6%를 나타내었다. 대두단백질 필름에 지방산을 첨가하였을 때에는 지방산의 첨가 농도가 증가함에 따라 필름의 인장강도와 신장률이 동시에 감소하므로 필름을 절단하는데 필요한 에너지인 *break energy*는 지방산을 첨가하지 않은 필름이 217.6 kJ/m<sup>2</sup>이었지만 지방산의 첨가 농도가 증가할수록 현저히 낮아지는 것으로 나타났다. 이와 같은 현상은 단백질에 소수성 물질인 지방산이 첨가되어 단백질 분자간의 가교결합에 의한 망상구조의 형성을 약하게 하기 때문으로 사료된다.

**Table 2-18. Effect of fatty acid on mechanical properties of soy protein concentrate (SPC) films from soybean meal**

Fatty acid	Concentration (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)	Break energy ( $\text{kJ/m}^2$ )
Control		69.2 $\pm$ 7.0	8.5 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	58.1 $\pm$ 12.8 <sup>a</sup>	217.6 $\pm$ 37.0 <sup>a</sup>
Stearic acid	5	73.5 $\pm$ 3.2	6.4 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	22.2 $\pm$ 7.7 <sup>b</sup>	62.7 $\pm$ 22.8 <sup>b</sup>
	10	73.8 $\pm$ 4.6	6.6 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	10.6 $\pm$ 1.4 <sup>c</sup>	29.0 $\pm$ 4.5 <sup>c</sup>
	15	87.9 $\pm$ 5.0	6.0 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	7.0 $\pm$ 0.8 <sup>c</sup>	15.8 $\pm$ 1.9 <sup>c</sup>
	20	89.7 $\pm$ 4.6	5.8 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	5.4 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>	11.3 $\pm$ 1.5 <sup>c</sup>
	25	89.9 $\pm$ 2.4	5.1 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	4.8 $\pm$ 0.5 <sup>c</sup>	9.2 $\pm$ 1.3 <sup>c</sup>
	30	88.0 $\pm$ 4.4	5.0 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>	2.9 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>	8.1 $\pm$ 2.0 <sup>c</sup>
Palmitic acid	5	71.3 $\pm$ 4.1	7.2 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	19.3 $\pm$ 3.0 <sup>b</sup>	61.3 $\pm$ 10.9 <sup>b</sup>
	10	84.2 $\pm$ 4.5	5.9 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	11.9 $\pm$ 2.6 <sup>c</sup>	29.6 $\pm$ 7.2 <sup>c</sup>
	15	98.0 $\pm$ 12.3	5.0 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>	9.0 $\pm$ 1.1 <sup>cd</sup>	18.3 $\pm$ 3.3 <sup>cd</sup>
	20	93.2 $\pm$ 5.3	5.1 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>	4.9 $\pm$ 0.5 <sup>de</sup>	9.2 $\pm$ 1.4 <sup>d</sup>
	25	100.5 $\pm$ 2.2	4.5 $\pm$ 0.3 <sup>e</sup>	5.0 $\pm$ 0.9 <sup>de</sup>	8.7 $\pm$ 1.9 <sup>d</sup>
	30	95.8 $\pm$ 2.0	4.6 $\pm$ 0.3 <sup>e</sup>	3.6 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	5.9 $\pm$ 0.6 <sup>d</sup>

<sup>a,b,c,d,e</sup>Superscriptive letters in a column of a fatty acid indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.

## 나) 수분투과특성

대두단백질을 이용하여 필름을 제조할 때 소수성물질인 stearic acid와 palmitic acid를 농도별로 첨가하였을 때 필름의 수분투과도의 변화를 Table 2-19에 나타내었다. 지방산을 첨가한 필름의 지방산의 첨가 농도에 따른 필름의 두께 변화는 첨가하지 않은 필름의 두께가  $67.1 \mu\text{m}$ 이었는데 첨가한 지방의 농도가 높을수록 비례적으로 증가하는 경향을 나타내어 stearic acid를 첨가한 경우에는 농도가 증가함에 따라  $86.2 \mu\text{m}$ 으로 증가하였으며 palmitic acid를 첨가한 경우 첨가 농도가 증가함에 따라  $96.3 \mu\text{m}$ 까지 두께가 증가하여 palmitic acid를 첨가하였을 때 더 두꺼운 필름이 제조되었다. 필름의 수분투과 특성은 지방산을 첨가하지 않은 필름의 수분투과도는 ASTM에 의한 측정값 ( $WVP_A$ )이  $0.51 \text{ ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 을 나타내었지만 지방산을 일정 농도까지 첨가하였을 때에는 첨가된 지방산의 농도에 따라 비례적으로 감소하는 것으로 나타났다. 즉, stearic acid를 첨가한 경우 농도가 증가함에 따라 필름의 수분투과도가 감소하여 20%까지 첨가하였을 때의  $WVP_A$ 는  $0.39 \text{ ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 로 감소하였으며 이 이상의 농도로 첨가하였을 때의  $WVP_A$ 는 유의차가 없는 것으로 나타났다. 한편 palmitic acid를 첨가한 경우에는 stearic acid를 첨가한 필름과 유사한 경향을 나타내어 palmitic acid를 20% 첨가하였을 때까지는 수분투과도를 감소시켰지만 20% 이상 첨가한 경우 더 이상 수분차단성의 개선을 기대하기 어려웠다. 수분투과도에 대한 지방산의 효과는 stearic acid를 첨가한 필름의 경우가 palmitic acid를 첨가한 필름 보다 수분투과에 대한 차단성이 우수한 것으로 나타났다. 수분투과도의 측정값( $WVP_A$ )과 보정값( $WVP_C$ )을 비교하면 지방산의 첨가 농도가 높을수록 수분투과도가 낮아져 높은 상대습도 쪽 필름에 인접한 수증기압의 강하 정도가 낮아지게 되므로 결국  $WVP_A$ 와  $WVP_C$ 의 차이가 줄어들게 된다.

**Table 2-19. Effect of fatty acids on water vapor permeabilities (WVP) of soy protein concentrate (SPC) films from soy bean meal**

Fatty acid	Concentration (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	WVP <sub>A</sub> <sup>1)</sup> (ng·m/m <sup>2</sup> ·s·Pa)	WVP <sub>C</sub> <sup>2)</sup> (ng·m/m <sup>2</sup> ·s·Pa)	Error (%)
Stearic acid	0	67.1 ± 4.1	0.51 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.10 <sup>a</sup>	44
	5	70.1 ± 1.1	0.48 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.05 <sup>b</sup>	40
	10	72.5 ± 6.1	0.44 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.67 ± 0.03 <sup>c</sup>	35
	15	83.3 ± 3.8	0.43 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.61 ± 0.02 <sup>c</sup>	30
	20	84.6 ± 3.2	0.39 ± 0.01 <sup>cd</sup>	0.53 ± 0.01 <sup>d</sup>	27
	25	86.2 ± 0.7	0.37 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.49 ± 0.02 <sup>d</sup>	25
	30	85.0 ± 0.2	0.38 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.52 ± 0.02 <sup>d</sup>	27
Palmitic acid	0	67.1 ± 4.1	0.51 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.92 ± 0.10 <sup>a</sup>	44
	5	68.6 ± 1.3	0.44 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.69 ± 0.02 <sup>cd</sup>	37
	10	81.2 ± 4.7	0.50 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.05 <sup>bc</sup>	36
	15	92.3 ± 7.6	0.54 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.83 ± 0.05 <sup>b</sup>	35
	20	88.3 ± 3.0	0.45 ± 0.02 <sup>cd</sup>	0.65 ± 0.04 <sup>dc</sup>	30
	25	95.5 ± 2.0	0.49 ± 0.01 <sup>bd</sup>	0.70 ± 0.01 <sup>cd</sup>	30
	30	96.3 ± 8.0	0.43 ± 0.03 <sup>d</sup>	0.59 ± 0.04 <sup>c</sup>	27

<sup>1)</sup>Water vapor permeability calculated by ASTM method. <sup>2)</sup>Water vapor permeability calculated by correction method.

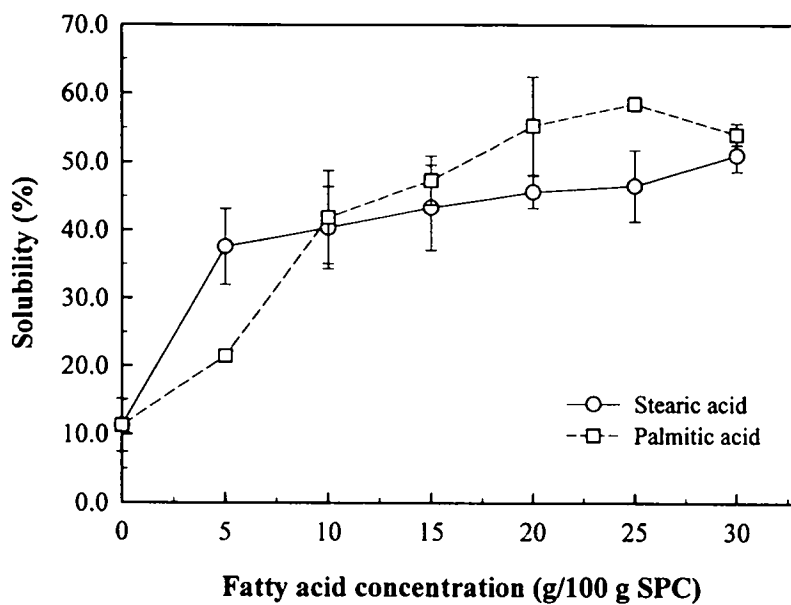
<sup>3)</sup>Error =  $(\text{WVP}_C - \text{WVP}_A / \text{WVP}_C) \times 100$

<sup>a,b,c,d,e</sup>Superscriptive letters in a column of a fatty acid indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple comparison.



#### 다) 용해도

지방산을 첨가한 필름을 실온에 물에 넣고 24시간 동안 약하게 진탕한 후 물에 용해된 단백질의 양을 측정하여 용해도로 표시한 결과를 Fig. 2-16에 나타내었다. 지방산을 첨가한 필름의 용해도는 대조구에 비해 증가하는 것으로 나타났다. 지방산으로 stearic acid를 첨가한 경우 대조구인 지방산을 첨가하지 않은 시료는 11.3%가 용해되었으나 stearic acid를 5% 첨가한 시료의 용해도는 37.6%를 나타내어 크게 증가하였으며 5% 이상의 농도로 첨가한 경우 지속적으로 증가하는 경향을 보였지만 큰 차이는 없는 것으로 나타났다. 반면에 지방산으로서 palmitic acid를 첨가한 경우는 25% 첨가하였을 때까지는 지방산의 농도가 증가함에 따라 지속적으로 증가하여 25% 첨가하였을 때 58.5%가 용해되어 최대값을 보였으며 지방산의 농도를 25%와 30% 첨가한 경우는 용해도의 차이가 없는 것으로 나타났다. 일반적으로 필름의 용해도는 단백질의 소수성과 관련되어 있는 것으로 알려지고 있다. Ghorpade 등은 대두단백질을 acetylation 혹은 succinylation 하여 필름을 제조하면 필름의 소수성이 감소하여 용해도가 증가하며, calcium chloride를 첨가하였을 때에는 calcium의 양이온과 음으로 대전된 단백질의 carboxylic group과 가교결합을 함으로써 필름의 소수성이 증가하여 용해도가 감소한다고 보고하였다. 본 실험의 경우 단백질 필름 용액에 지방산을 첨가하여 casting하면 건조 중에 부분적으로 층 분리가 일어나 표면 쪽에 지방산이 다량 분포하게 되며 필름 내부에 존재하는 지방산들은 단백질 필름 내에서 단백질 분자들의 결합을 방해하는 역할을 하게 된다. 따라서 지방산을 첨가한 단백질 필름은 망상구조를 이루지 못하고 극성을 지닌 작용기를 노출하게 되며 물에 용해하였을 때 이들 작용기에 물분자가 쉽게 작용함으로써 용해도가 증가하는 것으로 사료된다.



**Fig. 2-16. Effect of fatty acid on solubility of soy protein isolate films prepared from soybean meal.**

#### 라) 색도 및 불투명도

지방산을 첨가하지 않은 대두단백질 필름의 Hunter L, a 및 b 값은 Table 2-20에 나타낸 바와 같이 각각 86.46, -0.53 및 13.16으로 나타났다. 필름 제조 시 stearic acid를 첨가하였을 때 필름의 명도(L값)는 대조구와 유의차( $p>0.05$ )를 보이지 않았으나 첨가한 stearic acid의 양이 증가함에 따라 필름의 적색도와 황색도는 증가하는 경향을 나타내어 표준 백색판과의 색차와 황색지표가 증가하는 것으로 나타났다. 한편 palmitic acid를 첨가한 경우 대조구에 비해 필름의 L값은 증가하였으며 palmitic acid를 첨가한 시료들 간의 L값들은 유의차가 없었지만 첨가된 palmitic acid의 농도가 증가할수록 적색도와 황색도가 증가하였다. 동일한 농도를 첨가하였을 때 지방산으로 palmitic acid를 첨가한 필름은 stearic acid를 첨가한 필름에 비해 대조구와의 색차가 낮은 것으로 나타났다.

필름의 불투명도를 측정하여 Table 2-21에 나타내었다. 본 실험에서 필름의 불투명도는 흡광도 곡선의 면적( $\text{nm}\cdot\text{O.D}$ )으로 나타내었다. 지방산을 첨가하지 않은 대조구 필름은 노란빛을 띠는 투명한 성상을 보였으며 이의 불투명도는  $26.8 \text{ nm}\cdot\text{O.D}$ 를 보였다. 지방산을 첨가한 필름은 지방산의 첨가 농도가 증가함에 따라 불투명도가 증가하여 stearic acid가 30% 첨가된 필름의 경우  $221.6 \text{ nm}\cdot\text{O.D}$ 를 보였으며 palmitic acid를 첨가한 시료의 경우  $246.9 \text{ nm}\cdot\text{O.D}$ 를 보였다. 각각의 농도에서 지방산의 종류에 따른 불투명도의 변화는 지방산을 5 - 10% 첨가하였을 때에는 stearic acid를 첨가한 필름의 불투명도가 더 높았지만 15% 이상 첨가한 필름의 불투명도는 palmitic acid를 첨가한 필름이 더 높았다.

**Table 2-20. Effect of fatty acids on Hunter values (L, a, and b) and total color differences ( $\Delta E$ ) of soy protein concentrate (SPC) films<sup>1)</sup>**

Fatty acid	Conc. <sup>2)</sup> (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	L	a	b	$\Delta E$	YI
Stearic acid	0	61.7 $\pm$ 1.3 <sup>3)</sup>	86.46 $\pm$ 1.14 <sup>ab</sup>	-0.53 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>	13.16 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	14.45 $\pm$ 0.71 <sup>d</sup>	21.74 $\pm$ 0.35 <sup>d</sup>
	5	90.7 $\pm$ 2.7	84.98 $\pm$ 0.82 <sup>b</sup>	0.07 $\pm$ 0.22 <sup>c</sup>	17.29 $\pm$ 0.29 <sup>ab</sup>	18.58 $\pm$ 0.69 <sup>ab</sup>	29.07 $\pm$ 0.74 <sup>ab</sup>
	10	85.5 $\pm$ 9.8	86.09 $\pm$ 0.90 <sup>ab</sup>	0.03 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	16.31 $\pm$ 0.96 <sup>bc</sup>	17.14 $\pm$ 1.30 <sup>bc</sup>	27.08 $\pm$ 1.86 <sup>ab</sup>
	15	94.0 $\pm$ 9.9	87.16 $\pm$ 1.31 <sup>a</sup>	0.04 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	16.78 $\pm$ 0.97 <sup>bc</sup>	16.95 $\pm$ 1.48 <sup>c</sup>	27.53 $\pm$ 1.97 <sup>bc</sup>
	20	83.3 $\pm$ 0.8	86.67 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	16.19 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	16.71 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	26.69 $\pm$ 0.24 <sup>c</sup>
	25	89.4 $\pm$ 0.5	85.70 $\pm$ 0.45 <sup>ab</sup>	0.38 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	18.00 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	18.76 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	30.01 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>
Palmitic acid	30	90.1 $\pm$ 6.3	84.82 $\pm$ 0.65 <sup>b</sup>	0.57 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	17.98 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	19.24 $\pm$ 0.61 <sup>a</sup>	30.28 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>
	0	61.7 $\pm$ 1.3	86.46 $\pm$ 1.14 <sup>b</sup>	-0.53 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>	13.16 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	14.45 $\pm$ 0.71 <sup>abc</sup>	21.74 $\pm$ 0.35 <sup>c</sup>
	5	72.8 $\pm$ 4.5	89.20 $\pm$ 1.01 <sup>a</sup>	-0.34 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	14.18 $\pm$ 0.86 <sup>b</sup>	13.68 $\pm$ 1.24 <sup>bc</sup>	22.72 $\pm$ 1.65 <sup>c</sup>
	10	84.5 $\pm$ 3.7	88.79 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	-0.18 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	14.42 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>	14.09 $\pm$ 0.68 <sup>bc</sup>	23.21 $\pm$ 0.89 <sup>bc</sup>
	15	92.7 $\pm$ 0.6	89.47 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	-0.05 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	14.04 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	13.41 $\pm$ 0.33 <sup>c</sup>	22.41 $\pm$ 0.40 <sup>c</sup>
	20	87.7 $\pm$ 2.7	88.80 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	0.21 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	15.22 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	14.77 $\pm$ 0.54 <sup>ab</sup>	24.48 $\pm$ 0.78 <sup>ab</sup>
	25	98.2 $\pm$ 4.2	88.49 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	15.31 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	15.01 $\pm$ 0.67 <sup>ab</sup>	24.72 $\pm$ 0.87 <sup>ab</sup>
	30	99.8 $\pm$ 9.2	88.18 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	0.37 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	15.62 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	15.43 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	25.31 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Films were placed on top of a standard white plate (L=95.91, a=0.00, and b=2.27).

<sup>2)</sup>Concentration of fatty acid in g/100 g SPI.

<sup>3)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=3).

<sup>ab,acd,c</sup>Superscriptive letters in a column of a fatty acid indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple comparison.

**Table 2-21. Effect of fatty acid on opacity of soy protein concentrate (SPC) films prepared from soybean meal**

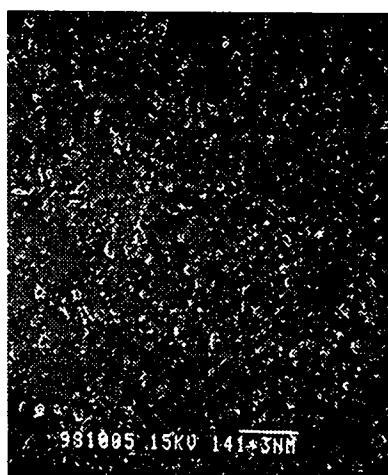
Fatty acid	Concentration (g/100 g SPI)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Opacity (nm O.D. <sup>1)</sup> )
Control		63.7 $\pm$ 1.2 <sup>2)</sup>	26.8 $\pm$ 1.8 <sup>h</sup>
Stearic acid	5	74.3 $\pm$ 1.2	78.2 $\pm$ 6.4 <sup>g</sup>
	10	88.7 $\pm$ 0.6	130.0 $\pm$ 28.8 <sup>ef</sup>
	15	100.0 $\pm$ 5.2	152.7 $\pm$ 13.0 <sup>de</sup>
	20	88.3 $\pm$ 2.9	160.2 $\pm$ 6.4 <sup>cd</sup>
	25	82.3 $\pm$ 0.6	190.2 $\pm$ 6.0 <sup>b</sup>
	30	87.0 $\pm$ 0.0	221.6 $\pm$ 4.7 <sup>a</sup>
Palmitic acid	5	85.7 $\pm$ 2.3	58.4 $\pm$ 5.2 <sup>g</sup>
	10	105.0 $\pm$ 1.0	108.9 $\pm$ 12.8 <sup>f</sup>
	15	98.7 $\pm$ 2.1	154.1 $\pm$ 36.2 <sup>de</sup>
	20	73.7 $\pm$ 1.5	183.9 $\pm$ 4.9 <sup>bc</sup>
	25	97.3 $\pm$ 3.8	228.9 $\pm$ 13.2 <sup>a</sup>
	30	108.0 $\pm$ 1.7	246.9 $\pm$ 16.8 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Optical density

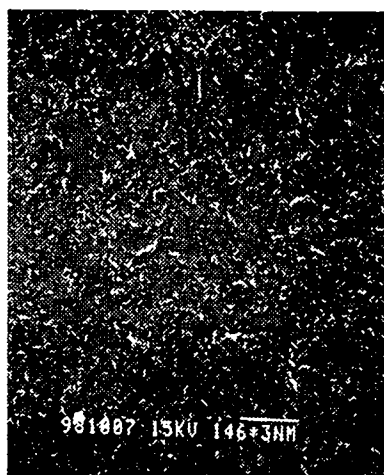
<sup>2)</sup>Means  $\pm$  Standard deviation (n=3).

마) 주사현미경 관찰

Stearic acid와 palmitic acid를 첨가하여 emulsion한 대두단백질 필름의 표면과 절단면을 전자주사현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 2-17과 Fig 2-18에 각각 나타내었다. 지방산으로 stearic acid를 첨가한 필름의 표면이 palmitic acid를 첨가한 필름에 비해 더 균일한 것으로 나타나 균일한 두께의 필름을 형성할 수 있었으나 palmitic acid를 첨가한 필름은 표면이 불균질하여 두께가 일정하지 않은 필름이 제조되었다. 이를 절단면 관찰을 통해 살펴보면 필름의 두께가 stearic acid를 첨가한 필름이 더 균일하다는 것을 알 수 있으며, 첨가된 지방산들은 stearic acid의 경우 필름용액의 건조시 부분적으로 상의 분리가 일어나 필름의 표면쪽에 stearic acid가 주로 존재하였으며 필름의 밑 쪽으로 갈수록 지방산의 함량은 감소하여 필름의 밑쪽에는 지방산이 존재하지 않았다. 반면에 palmitic acid를 첨가한 필름의 절단면은 건조표면은 불균일하였지만 지방산이 필름내 비교적 균일하게 분포하였다. 이는 palmitic acid를 첨가한 필름의 낮은 기계적특성과 높은 용해도와 관련있는 것으로 사료되었다.

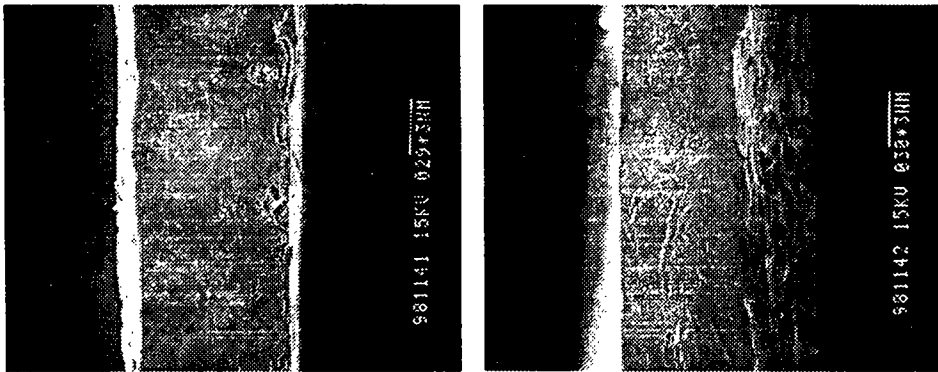


20% Stearic acid



20% Palmitic acid

**Fig. 2-17. Scanning electron micrograph of the surface of the soy protein films with 20% stearic acid and 20% palmitic acid viewed at a magnification of 100X.**



20% stearic acid

20% palmitic acid

**Fig. 2-18. Scanning electron micrograph of the cross-section of the soy protein film with 20% stearic acid and 20% palmitic acid viewed at a magnification of 500X.**



## 2) 유청단백질 필름

### 가) 지방산의 영향

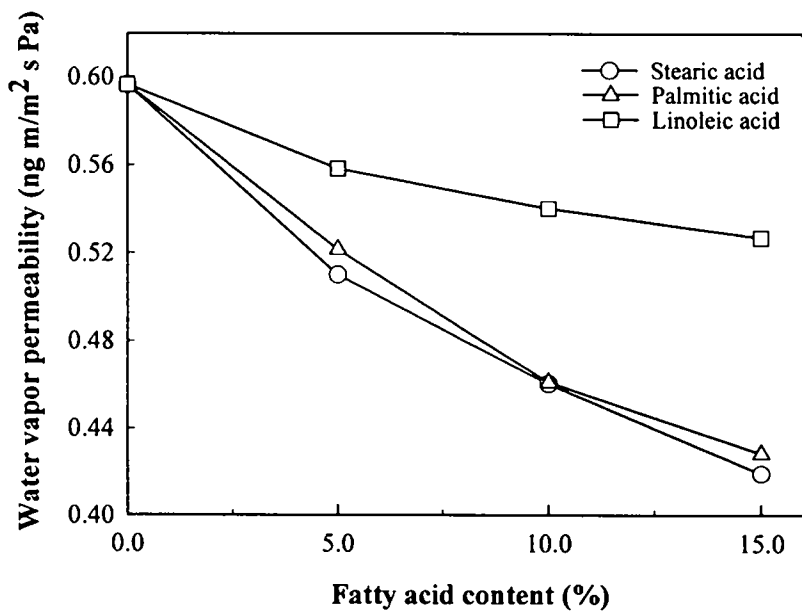
지방산을 첨가하여 제조한 유청 단백질 필름의 기계적 특성을 Table 2-22에 나타내었다. 지방산을 첨가한 필름은 5%만 첨가하였을 때에도 대조구에 비하여 인장강도가 유의적( $P < 0.05$ )으로 감소하였으며 지방산의 첨가 농도가 증가할수록 인장강도가 감소하는 경향을 보였다. 또한 지방산들 중 stearic acid를 첨가한 필름의 인장강도가 가장 약한 것으로 나타났으며 linoleic acid를 첨가한 필름이 지방산의 첨가에 따른 인장강도의 약화 정도가 낮은 것으로 나타났다. 필름의 신장률은 대조구의 경우 2.3%의 낮은 신장률을 보였다. 지방산으로 stearic acid와 palmitic acid를 첨가한 필름의 경우 이보다 더 낮은 1.0 - 1.8%의 신장률의 범위를 보였으며 이는 첨가한 지방산의 농도가 높아짐에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 반면에 linoleic acid를 첨가한 필름의 경우 신장률은 2.4 - 2.6%로서 대조구와는 큰 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다.

지방산을 첨가한 필름의 수분투과도는 첨가되는 지방산의 농도가 증가할수록 감소하였으며, 각 지방산의 종류에 따라 감소정도가 다르게 나타났다 (Fig. 2-19). 즉, 대조구의 수분투과도는 필름의 두께가  $75 \mu\text{m}$  일 때  $0.60 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 를 나타내었으며, 각 지방산의 농도를 15%로 첨가하여 제조한 필름의 수분투과도는  $75 \mu\text{m}$ 의 두께에서 stearic acid의 경우  $0.42 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ , palmitic acid는  $0.43 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ , linoleic acid는  $0.53 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 를 나타내어 stearic acid > palmitic acid > linoleic acid의 순으로 그 감소 정도가 달랐다.

**Table 2-22. Effect of fatty acid content on mechanical properties of whey protein concentrate (WPC) film**

Fatty acid		Thickness (nm)	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
control		71.9 ± 8.6	7.9 ± 0.5 <sup>ab</sup>	2.3 ± 0.4 <sup>b</sup>
stearic acid	5%	80.8 ± 4.7	4.6 ± 0.2 <sup>d</sup>	1.5 ± 0.2 <sup>cd</sup>
	10%	79.8 ± 6.1	3.8 ± 0.4 <sup>e</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>e</sup>
	15%	82.3 ± 9.4	3.5 ± 0.4 <sup>e</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>e</sup>
Palmitic acid	5%	95.9 ± 16.0	4.8 ± 0.3 <sup>d</sup>	1.8 ± 0.2 <sup>c</sup>
	10%	98.4 ± 8.1	4.3 ± 0.2 <sup>d</sup>	1.7 ± 0.4 <sup>cd</sup>
	15%	91.4 ± 2.6	3.8 ± 0.3 <sup>e</sup>	1.4 ± 0.2 <sup>d</sup>
Linoleic acid	5%	73.5 ± 3.3	7.3 ± 0.5 <sup>b</sup>	2.5 ± 0.3 <sup>a</sup>
	10%	78.9 ± 6.1	5.5 ± 0.4 <sup>c</sup>	2.4 ± 0.2 <sup>ab</sup>
	15%	97.8 ± 7.1	4.7 ± 0.5 <sup>c</sup>	2.6 ± 0.4 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test ( $\alpha=0.05$ ).



**Fig. 2-19. Effect of fatty acid content on water vapor permeability (WVP) of whey protein concentrate(WPC) film.**

이는, 지방산을 첨가한 필름의 수분투과도 특성이 첨가된 지방산의 사슬 길이와 불포화도에 큰 영향을 받으며, 포화 지방산의 사슬길이가 증가할수록 수분투과도의 감소효과는 큰 것으로 나타났다는 지금까지의 보고내용과 일치하는 결과이다. 이러한 결과는 필름 내에서의 지방산 사슬의 길이가 짧을수록 이동성이 증가하기 때문이라고 알려진다.

#### 나) 대두유 의 영향

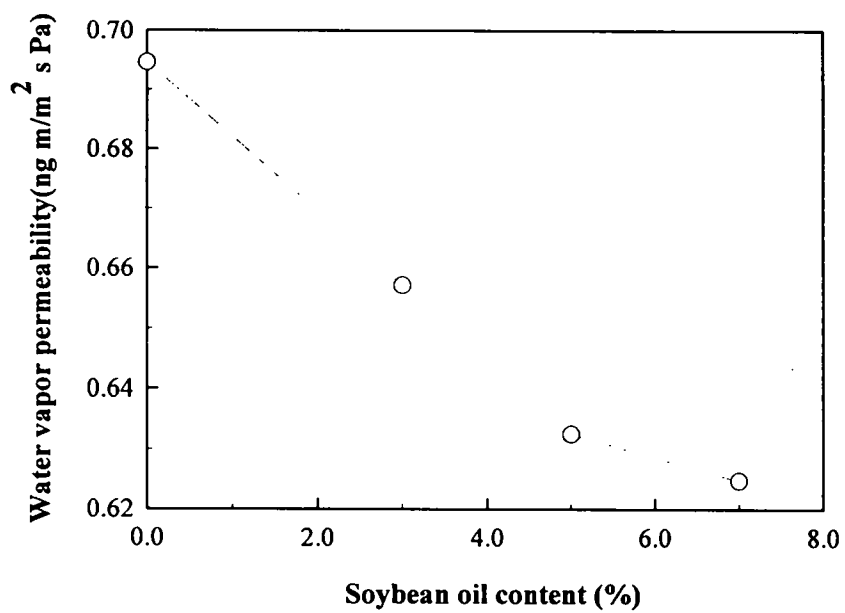
유청단백질의 수분투과도를 감소시키기 위한 또 하나의 방법으로 대두유를 필름 제조시 필름 형성용액에 첨가하고 균질화하여 에멀전 상태로 제조하고 필름을 제조하였다. 이때 대두유의 함량을 유청단백질에 대해 7%(w/w) 이상 첨가한 경우는 건조시 부분적으로 상의 분리가 일어났으며 그 결과 첨가된 대두유는 제조된 필름의 표면에 존재하였지만 5% 이하로 첨가한 경우는 비교적 균일한 성상의 필름을 제조할 수 있었다. 그러나 제조된 필름의 인장강도는 대두유를 첨가하였을 때 대조구에 비해 유의적( $p < 0.05$ )으로 감소하였으며, 첨가량이 증가함에 따른 인장강도의 차이는 보이지 않았다. 또한 신장률은 대두유의 첨가농도에 따라 2.7 - 3.5%를 보여 대조구(3.1%)와 유의수준 5%내에서 차이를 보이지 않았다(Table 2-23).

대두유를 첨가하여 제조한 필름의 수분투과도는 대조구의 경우  $0.70 \text{ ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 를 나타내었으며, 대두유의 농도를 5%까지 첨가하였을 경우 수분투과도는 직선상으로 감소하여 5% 첨가시에는  $0.63 \text{ ng}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 을 보였으나 5% 이상 첨가하였을 때에는 수분투과도의 감소 정도가 둔화되는 경향을 보였다(Fig. 2-20).

**Table 2-23. Effect of soybean oil content on mechanical properties of whey protein concentrate (WPC) film**

Soybean oil	Thickness (nm)	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
control	75.2 ± 12.1	8.9 ± 1.1 <sup>a1)</sup>	3.1 ± 0.7 <sup>a</sup>
3%	91.5 ± 8.6	6.3 ± 0.6 <sup>b</sup>	2.7 ± 0.5 <sup>a</sup>
5%	87.6 ± 7.2	6.4 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.7 ± 0.7 <sup>a</sup>
7%	97.2 ± 7.4	6.1 ± 0.4 <sup>b</sup>	3.5 ± 0.8 <sup>a</sup>

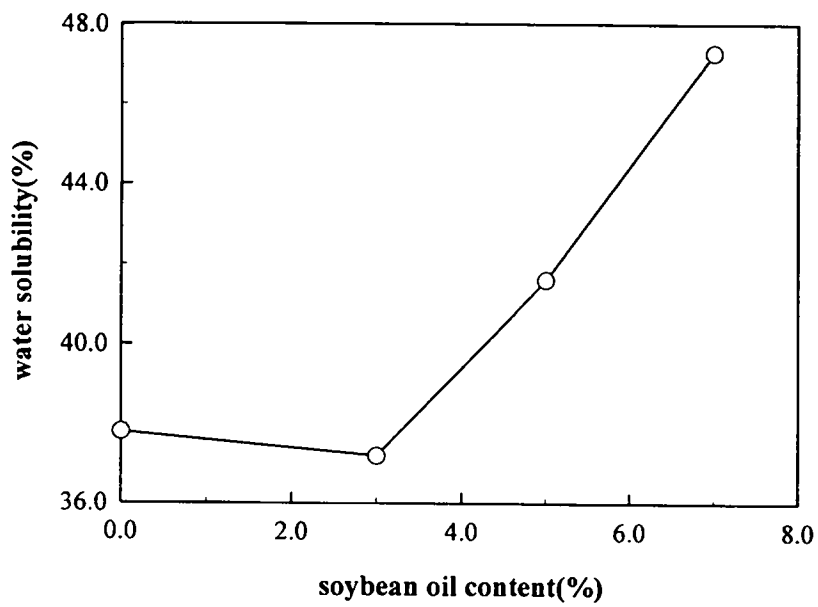
<sup>1)</sup>Means with the same letter in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test ( $\alpha=0.05$ ).



**Fig. 2-20. Effect of soybean oil content on water vapor permeability (WVP) of whey protein concentrate (WPC) film.**

용해도는 대조구의 경우 37.8%가 용해되었지만 대두유의 첨가 농도가 7%로 높아짐에 따라 47.3%가 용해되어 대두유의 첨가 농도가 높을수록 증가되는 경향을 나타내었다(Fig. 2-21). 이는 첨가된 대두유가 단백질의 망상구조 형성을 방해하여 결과적으로 약한 조직의 필름이 형성되는 것에 기인하는 것으로 사료된다.

이상의 결과로 볼 때, 소수성물질을 첨가하여 제조한 유청 단백질 필름은 첨가성분 및 농도에 관계없이 전체적으로 수분차단력이 개선되는 경향을 보였으며, 그 첨가농도가 높아짐에 따라 개선율도 향상되었다. 하지만, 인장강도와 신장률은 전체적으로 대조구에 비해 낮은 수치를 나타내 소수성 물질의 첨가가 유청 단백질 필름의 기계적 특성에는 바람직하지 못한 영향을 끼치는 것으로 나타났다.



**Fig. 2-21. Effect of soybean oil content on water solubility (WS) of whey protein concentrate(WPC) film.**



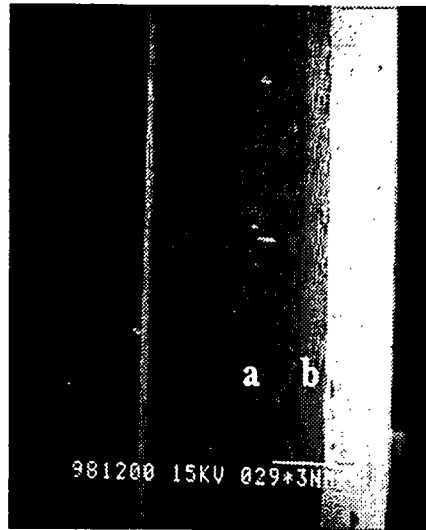
#### 라. 래미네이트 필름의 제조를 통한 물성개선

Zein은 옥수수의 prolamin fraction으로 알코올에 용해되므로 수용성 단백질인 대두 단백질과 유청 단백질 필름을 제조한 후 그위에 zein 필름형성용액을 casting하여 이중층 필름을 제조하였다. 대두단백질 필름에 옥수수 단백질 필름을 lamination하여 제조한 이중층 필름의 표면과 절단면을 전자주사현미경으로 관찰하여 이를 Fig.2-22에 나타내었다. 절단면의 관찰로부터 대두단백질 필름위에 얇은 zein 필름층이 lamination되었음을 확인할 수 있었으며 zein 필름의 표면은 편홀이 존재하였지만 매끈한 성상의 필름이 제조되었음을 알 수 있었다.

옥수수 단백질 필름을 lamination하여 제조한 이중층 필름의 인장강도는 Table 2-24에 나타낸 바와 같이 대두단백질 과 옥수수 단백질의 이중층 필름(S-C 필름)의 경우 11.4 MPa와 유청단백질 필름과의 이중층 필름(W-C 필름)의 경우 12.5 MPa를 나타내어 lamination하지 않은 필름의 인장강도가 각각 7.9 MPa와 7.8 MPa인데 비해 유의적으로 증가하였다. 또한 신장률은 대두단백질로 제조한 필름은 42.1%이었지만 S-C 필름은 23.4%가 늘어나 유의적으로 감소하는 것으로 나타났으나 유청단백질 필름과 W-C 필름의 신장률은 각각 32.2%와 30.0%를 나타내어 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.



Surface



Cross-section

**Fig. 2-22. Scanning electron micrograph of the surface and cross section of the soy protein (a) and corn zein (b) laminated film viewed at a magnification of 100X for surface and of 500X for cross section. Surface is the corn zein film layer of laminated film.**

**Table 2-24. Mechanical properties of corn zein laminated soy protein and whey protein films.**

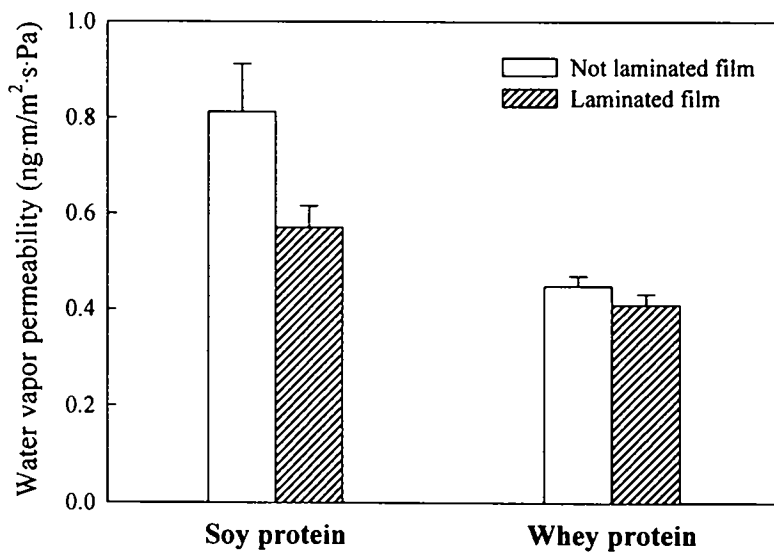
Sample	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
Soy protein film	66.6 $\pm$ 5.1	7.9 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	42.1 $\pm$ 13.6 <sup>a</sup>
S-C laminated film <sup>1)</sup>	118.2 $\pm$ 11.2	11.4 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	23.4 $\pm$ 11.2 <sup>b</sup>
Whey protein film	84.9 $\pm$ 10.9	7.8 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	32.2 $\pm$ 4.6 <sup>a</sup>
W-C laminated film <sup>2)</sup>	110.2 $\pm$ 11.2	12.5 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	30.0 $\pm$ 15.3 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Soy protein-corn zein laminated film

<sup>2)</sup>Whey protein corn zein laminated film

<sup>a,b</sup>Superscriptive letters indicate significant difference at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test

두께가 90  $\mu\text{m}$ 이었을 때 필름의 수분투과도는 Fig. 2-23에 나타난 바와 같이 이중층 필름을 형성한 필름이 대두단백질이나 유청단백질로만 제조한 필름보다 낮은 것으로 나타났다. 대두단백질로 제조한 필름의 수분투과도는  $0.81 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 이었지만 이중층 필름은  $0.45 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 를 나타내어 이중층 필름을 제조하였을 때에는 수분투과도를 대두단백질필름의 55% 수준으로 감소시킬수 있는 것으로 나타났으며 유청단백질로 제조한 필름의 수분투과도는  $0.57 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 이었는데 W-C 필름은  $0.41 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 로서 유청 단백질필름을 corn zein과 이중층 필름을 제조함으로써 수분투과도를 유청단백질의 72% 수준으로 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다. 이는 corn zein 필름이 가지는 높은 인장강도와 낮은 수분투과도에 기인하는 것으로 사료되며 이러한 corn zein 필름의 장점과 대두 단백질 필름이나 유청 단백질 필름이 가지는 높은 기체투과에 대한 차단성 및 유지 투과에 대한 차단성의 장점을 결합함으로써 우수한 기능성을 지닌 가식성 필름은 제조할 수 있을 것이라 사료되었다.



**Fig. 2-23. Water vapor permeabilities of laminated soy protein and whey protein films of 90  $\mu\text{m}$  thickness.**

### 3. 유청분말-카제인의 혼합필름

#### 가. 가소제의 효과 및 신장특성의 판별

각기 다른 혼합비로 제조한 유청분말과 sodium caseinate의 혼합물을 원료로 필름용액의 pH를 10.0으로 조절하여 제조한 혼합필름의 인장강도와 신장률에 미치는 가소제의 효과를 Fig. 2-24에 나타내었다. 혼합원료 중 유청분말의 비율이 80% 이상인 경우 필름은 형성되었지만 유청분말 중 70% 이상을 차지하는 lactose에 의해 끈적끈적 거리는 성질을 나타내어 필름으로서의 기능을 부여하지 못하였다.

가소제를 0.3 g/g WCM의 농도로 첨가하였을 때 혼합원료 중 유청분말의 함량이 증가할수록 인장강도는 감소하며 신장률은 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 혼합원료 중 단백질 함량의 감소에 기인하는 것으로 생각된다. 유청분말의 비율을 50% 까지 첨가하였을 때, 유청분말을 40% 포함하고 가소제로서 sorbitol과 PEG 400을 1:2의 비율로 혼합하여 첨가한 필름(4.5 MPa)과 유청분말을 50% 포함하고 가소제로서 sorbitol과 PEG 400을 2:1의 비율로 혼합하여 첨가한 필름(9.6 MPa)을 제외한 대부분의 처리구에서 인장강도의 평균값은 10 MPa이상으로 나타났으며, 유청분말의 비율이 50 - 70%로 혼합하여 제조한 필름의 경우도 평균값은 10 MPa보다 낮게 나타났지만 인장강도가 10 MPa 이상인 필름시료가 30%이상으로 나타났다. 또한 50% 이상의 신장률을 보이기 시작하는 처리구는 sorbitol을 가소제로 첨가한 경우 유청분말과 sodium caseinate의 비율을 30:70에서 나타났다.

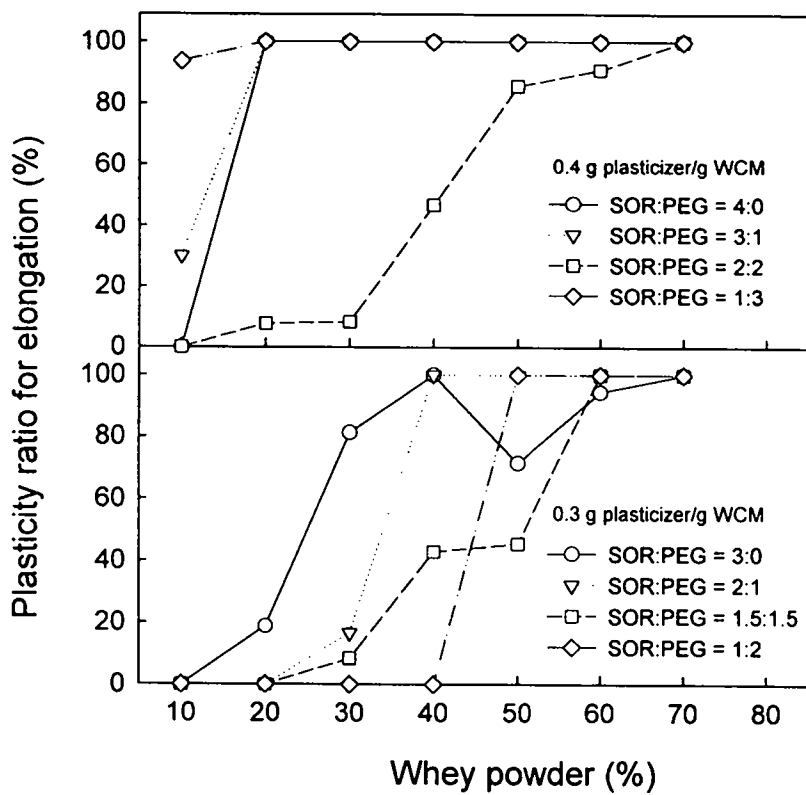


가소제를 0.4 g/g WCM의 농도로 첨가하였을 때 유청분말의 혼합비율에 따른 인장강도와 신장률의 변화는 가소제를 0.3 g/g WCM의 농도로 첨가하였을 때와 동일한 경향을 나타내었지만 가소제의 첨가량이 높아짐에 따라 낮은 인장강도와 높은 신장률을 보였다. 가소제로 sorbitol과 PEG 400을 2:2의 비율로 혼합하여 첨가한 필름의 경우 가장 높은 인장강도를 보였으나 신장률은 유청분말이 40% 혼합하였을 때부터 50%이상을 보여 유청분말이 20% 혼합되었을 때부터 높은 신장률을 보인 다른 필름들에 비해 낮은 값을 보였다. 한편 이외의 가소제 혼합비에서는 PEG 400의 함량이 증가할수록 인장강도가 감소하는 것으로 나타났으며, 신장률은 증가하는 것으로 나타났다. 가소제로 sorbitol과 PEG 400을 1:3의 비율로 혼합한 경우 혼합원료 중 유청분말의 함량을 70%로 하였을 때 필름 형성은 일어나지만 그 성상이 너무 부드러워서 필름의 기계적 성질을 측정할 수가 없었다.

가소제의 비율 및 농도 수준에 대한 필름의 기계적 성질의 위와 같은 결과는 McHugh 등<sup>95)</sup>이 보고한 40% sorbitol을 가소제로 첨가하였을 때의 인장강도가 가소제로서 30%와 50%의 sorbitol을 첨가했을 때 보다 더 높은 수치를 나타냈다는 보고와는 반대되는 것으로 나타나지만 신장률에 있어서는 동일한 결과를 보였다. 이는 McHugh 등<sup>95)</sup>이 사용한 시료는 분리 유청단백질로써 단백질 함량이 90%이상인 것으로서 본 실험에서 사용한 것과 다른 것에 기인하는 것으로 판단된다.



필름의 신장특성 판별에 대한 실험 결과를 Fig. 2-25에 나타내었다. 가소제로 sorbitol을 0.3 g/g WCM의 농도로 첨가하였을 때 혼합원료 중 유청분말의 비율이 30%부터 70%이상의 가소율 (plasticity ratio)을 나타냈으며, 가소제의 농도가 0.4 g/g WCM인 경우는 가소제로 sorbitol과 PEG 400을 2:2의 비율로 혼합하여 첨가하였을 때만 제외하고 모든 처리구에서 혼합원료 중 유청분말의 비율이 20%부터 90%이상의 가소율을 나타냈다. 이러한 결과는 생고분자 필름의 제조에 있어서 다른 석유화학 고분자들과 달리 이들 원료의 불균일성, 즉 필름형성시 필름내의 구조의 불균일성에 기인하는 것으로 사료된다. 따라서 위의 결과를 볼 때 필름의 기계적 성질에 대한 가소제의 비율 및 농도 수준의 영향은 sorbitol을 단독으로 사용하면서 농도를 0.3 혹은 0.4 g/g WCM으로 첨가한 경우 모두 필름형성에 적합한 것으로 나타났다.



**Fig. 2-25. Effects of plasticizers on plasticity ratio of the films with various whey powder contents at pH 10. (SOR = sorbitol; PEG = polyethylene glycol 400)**

#### 나. 가교제의 효과 및 신장특성의 판별

유청분말과 sodium caseinate를 각각 50:50, 60:40, 70:30의 비율로 혼합한 필름형성용 용액의 pH를 10.0으로 조절하고 이에 가소제로써 sorbitol을 0.3 혹은 0.4 g/g WCM의 농도로 첨가하여 제조한 필름의 기계적 성질에 미치는 가교제의 효과를 Table 2-25와 Table 2-26에 나타내었다.

가소제로 sorbitol을 0.3 g/g WCM의 농도로 사용한 필름의 경우 첨가한 가교제 중 sodium citrate가 인장강도의 향상에 가장 효과가 좋은 것으로 나타났다. 즉, 유청분말과 sodium caseinate의 비율이 50:50인 경우 첨가된 sodium citrate의 함량이 0.9%까지 인장강도 10 MPa이상인 비율이 증가된 것으로 나타났다으며, 유청분말과 sodium caseinate의 비율이 60:40인 경우는 첨가된 sodium citrate 함량이 0.7%에서 인장강도가 최대치(8.5 MPa)를 나타냈다. 또한 유청분말과 sodium caseinate의 비율이 70:30인 경우, 첨가된 sodium citrate의 함량이 0.3%까지 인장강도가 증가된 것으로 나타났다. 신장률에 있어서는 가교제를 첨가한 처리구 모두 첨가하지 않은 처리구보다 더 낮은 수치의 신장률을 나타내었다. 이러한 결과는 첨가된 가교제의 이온과 생고분자 사이에 새로운 가교결합이 일어남으로써 나타나는 것으로 사료된다.

가소제로써 sorbitol을 0.4 g/g WCM의 농도로 사용한 필름의 경우 첨가한 가교제 모두가 인장강도 향상에 효과가 있는 것으로 나타났으며, 유청분말과 sodium caseinate의 비율이 50:50인 경우 sodium chloride, sodium citrate, citric acid 순으로 그 효과가 나타났다. 즉, sodium chloride를 0.1%와 0.3%를 첨가했을 때 평균 인장강도는 모두 10 MPa 이상으로 나타났으며, 10 MPa 이상의 인장강도를 나타낸 비율은 각각 85%와 40%로 나타났다.

**Table 2-25. Effects of cross linkers on mechanical properties of the films plasticized with 30% (w/w WCM) sorbitol**

Whey : SC <sup>1)</sup>	Cross linker Conc. (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)		TS <sub>10</sub> <sup>2)</sup>	Elongation (%)		E <sub>w</sub> <sup>3)</sup> (%)
			Mean	Range		Mean	Range	
NaCl								
50:50	0	99.2 $\pm$ 6.4 <sup>4)</sup>	14.4 $\pm$ 4.6	8.8 - 20.7	71.4	66.8 $\pm$ 51.7	1.3 - 169.8	50.0
	0.1	120.7 $\pm$ 14.0	8.1 $\pm$ 4.3	1.8 - 13.3	55.6	20.2 $\pm$ 25.1	0.3 - 64.0	22.2
	0.5	122.3 $\pm$ 18.0	8.7 $\pm$ 2.7	3.0 - 15.4	27.8	38.5 $\pm$ 48.2	0.5 - 120.2	38.9
	0.9	109.9 $\pm$ 10.3	9.2 $\pm$ 3.6	1.2 - 13.1	52.6	31.6 $\pm$ 37.6	0.3 - 102.2	21.1
60:40	0	104.0 $\pm$ 15.1	8.1 $\pm$ 1.9	5.4 - 11.9	11.1	79.1 $\pm$ 33.4	38.9 - 142.2	77.8
	0.1	123.8 $\pm$ 10.3	6.2 $\pm$ 2.1	1.1 - 9.5	0.0	68.0 $\pm$ 58.7	0.3 - 162.8	58.8
	0.5	115.6 $\pm$ 10.6	5.9 $\pm$ 2.8	1.3 - 11.3	7.1	48.4 $\pm$ 53.5	0.3 - 126.6	42.9
	0.9	102.0 $\pm$ 15.8	6.9 $\pm$ 2.4	2.7 - 10.8	9.1	14.6 $\pm$ 27.5	0.4 - 71.4	18.2
70:30	0	100.5 $\pm$ 13.9	4.8 $\pm$ 1.6	2.8 - 7.7	0.0	130.9 $\pm$ 37.7	78.3 - 193.7	100.0
	0.1	116.9 $\pm$ 3.1	7.3 $\pm$ 3.7	1.0 - 13.5	11.8	24.7 $\pm$ 42.9	0.2 - 119.6	23.5
	0.5	110.1 $\pm$ 9.3	5.9 $\pm$ 1.5	3.6 - 8.9	0.0	60.6 $\pm$ 64.8	0.6 - 176.3	47.4
	0.9	121.4 $\pm$ 22.1	4.9 $\pm$ 1.6	2.2 - 8.9	0.0	86.9 $\pm$ 47.6	1.4 - 151.7	80.0

<sup>1)</sup>Sodium caseinate

<sup>2)</sup>Percent of films showed over 10 MPa of tensile strength

<sup>3)</sup>Percent of films showed over 50% of elongation

<sup>4)</sup>Mean  $\pm$  standard deviation

Table 2-25. Continued.

Whey : SC <sup>1)</sup>	Cross linker Conc. (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)		TS <sub>10</sub> <sup>2)</sup>	Elongation (%)		E <sub>50</sub> <sup>3)</sup> (%)
			Mean	Range		Mean	Range	
Citric acid								
50:50	0	99.2 $\pm$ 6.4 <sup>4)</sup>	14.4 $\pm$ 4.6	8.8 - 20.7	71.4	66.8 $\pm$ 51.7	1.3 - 169.8	50.0
	0.1	115.9 $\pm$ 5.2	3.1 $\pm$ 2.2	1.1 - 7.0	0.0	0.8 $\pm$ 1.1	0.2 - 3.3	0.0
	0.5	116.6 $\pm$ 8.8	8.4 $\pm$ 2.9	1.8 - 12.2	33.3	8.0 $\pm$ 19.8	0.3 - 86.3	5.6
	0.9	117.0 $\pm$ 16.3	6.5 $\pm$ 2.2	1.1 - 9.4	0.0	5.7 $\pm$ 11.5	0.4 - 49.5	0.0
60:40	0	104.0 $\pm$ 15.1	8.1 $\pm$ 1.9	5.4 - 11.9	11.1	79.1 $\pm$ 33.4	38.9 - 142.2	77.8
	0.1	11.4 $\pm$ 8.9	7.3 $\pm$ 1.5	3.2 - 10.1	5.0	41.9 $\pm$ 45.9	0.4 - 121.7	40.0
	0.5	117.5 $\pm$ 14.8	7.2 $\pm$ 1.7	2.2 - 10.6	5.0	59.5 $\pm$ 53.3	0.3 - 144.7	55.0
	0.9	124.0 $\pm$ 8.4	4.4 $\pm$ 2.0	1.7 - 7.8	0.0	27.4 $\pm$ 44.0	0.2 - 110.5	26.3
70:30	0	100.5 $\pm$ 13.9	4.8 $\pm$ 1.6	2.8 - 7.7	0.0	130.9 $\pm$ 37.7	78.3 - 193.7	100.0
	0.1	115.8 $\pm$ 14.6	5.0 $\pm$ 1.1	2.9 - 7.3	0.0	70.0 $\pm$ 54.8	0.5 - 151.0	65.0
	0.5	114.0 $\pm$ 15.9	5.4 $\pm$ 1.5	3.0 - 8.1	0.0	92.9 $\pm$ 44.0	0.8 - 148.6	83.3
	0.9	118.9 $\pm$ 14.6	3.7 $\pm$ 0.7	3.0 - 5.2	0.0	123.1 $\pm$ 35.5	37.3 - 169.5	94.1

<sup>1)</sup>Sodium caseinate

<sup>2)</sup>Percent of films showed over 10 MPa of tensile strength

<sup>3)</sup>Percent of films showed over 50% of elongation

<sup>4)</sup>Mean  $\pm$  standard deviation

Table 2-25. Continued.

Whey : SC <sup>1)</sup>	Cross linker Conc. (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)		TS <sub>10</sub> <sup>2)</sup> (%)	Elongation (%)		E <sub>50</sub> <sup>3)</sup> (%)
			Mean	Range		Mean	Range	
Sodium citrate								
50:50	0	99.2 $\pm$ 6.4 <sup>4)</sup>	14.4 $\pm$ 4.6	8.8 - 20.7	71.4	66.8 $\pm$ 51.7	1.3 - 169.8	50.0
	0.1	114.9 $\pm$ 12.1	11.6 $\pm$ 3.0	6.7 - 15.9	71.4	0.9 $\pm$ 0.3	0.4 - 1.5	0.0
	0.3	121.9 $\pm$ 14.9	12.8 $\pm$ 3.2	8.6 - 20.7	86.7	3.1 $\pm$ 3.1	1.2 - 6.2	0.0
	0.5	116.1 $\pm$ 13.0	12.5 $\pm$ 2.5	7.5 - 17.4	87.5	19.5 $\pm$ 27.4	0.5 - 83.0	12.5
	0.7	119.4 $\pm$ 10.6	12.3 $\pm$ 2.8	9.4 - 18.2	73.3	36.6 $\pm$ 35.8	1.3 - 97.8	40.0
	0.9	115.3 $\pm$ 12.2	14.3 $\pm$ 3.1	9.1 - 18.1	87.5	3.7 $\pm$ 2.2	0.8 - 8.1	0.0
60:40	1.1	117.9 $\pm$ 7.9	14.2 $\pm$ 2.6	5.9 - 12.9	12.5	10.7 $\pm$ 21.2	0.6 - 3.8	0.0
	0	104.0 $\pm$ 15.1	8.1 $\pm$ 1.9	5.4 - 11.9	11.1	79.1 $\pm$ 33.4	38.9 - 142.2	77.8
	0.1	112.8 $\pm$ 7.9	7.7 $\pm$ 1.7	5.9 - 12.9	12.5	1.8 $\pm$ 1.0	0.6 - 3.8	0.0
	0.3	112.1 $\pm$ 13.2	6.4 $\pm$ 2.3	3.3 - 12.8	10.0	2.7 $\pm$ 2.4	0.6 - 8.0	0.0
	0.5	115.5 $\pm$ 14.1	7.7 $\pm$ 1.9	5.1 - 11.6	15.0	39.1 $\pm$ 38.1	0.9 - 99.8	50.0
	0.7	119.1 $\pm$ 15.3	8.5 $\pm$ 2.8	5.7 - 18.2	21.1	68.9 $\pm$ 51.9	1.8 - 128.3	63.2
70:30	0.9	117.4 $\pm$ 10.6	7.3 $\pm$ 1.4	4.8 - 11.2	5.3	64.5 $\pm$ 49.9	1.8 - 133.8	63.2
	1.1	115.1 $\pm$ 12.6	7.9 $\pm$ 2.1	4.5 - 14.2	11.8	57.1 $\pm$ 51.4	0.7 - 136.0	52.9
	0	100.5 $\pm$ 13.9	4.8 $\pm$ 1.6	2.8 - 7.7	0.0	130.9 $\pm$ 37.7	78.3 - 193.7	100.0
	0.1	114.8 $\pm$ 15.6	7.3 $\pm$ 2.1	3.8 - 10.6	6.7	11.6 $\pm$ 28.1	0.7 - 110.1	6.7
	0.3	114.0 $\pm$ 18.7	5.1 $\pm$ 2.1	2.9 - 10.6	5.0	95.2 $\pm$ 39.4	4.7 - 167.4	90.0
	0.5	121.9 $\pm$ 9.1	4.3 $\pm$ 1.5	3.4 - 9.0	0.0	111.9 $\pm$ 36.5	8.6 - 157.5	94.1
70:30	0.7	108.4 $\pm$ 13.2	4.8 $\pm$ 1.3	3.6 - 9.2	0.0	112.8 $\pm$ 46.3	1.7 - 166.7	88.2
	0.9	113.7 $\pm$ 8.4	4.2 $\pm$ 0.9	3.2 - 6.4	0.0	117.3 $\pm$ 27.7	65.5 - 159.3	100.0
	1.1	112.0 $\pm$ 8.0	4.5 $\pm$ 1.3	3.3 - 8.0	0.0	126.4 $\pm$ 36.0	34.5 - 166.3	88.9

<sup>1)</sup>Sodium caseinate, <sup>2)</sup>Percent of films showed over 10 MPa of tensile strength, <sup>3)</sup>Percent of films showed over 50% of elongation.

<sup>4)</sup>Mean  $\pm$  standard deviation

**Table 2-26. Effects of cross linkers on mechanical properties of the films plasticized with 40% (w/w WCM) sorbitol**

Whey : SC <sup>1)</sup>	Cross linker Conc. (%)	Thickness (µm)	Tensile strength (MPa)		TS <sub>10</sub> <sup>2)</sup> (%)	Elongation (%)		E <sub>50</sub> <sup>3)</sup> (%)
			Mean	Range		Mean	Range	
	NaCl							
50:50	0	121.9 ± 10.7 <sup>4)</sup>	6.3 ± 1.0	5.2 - 8.8	0.0	122.6 ± 14.3	100.4 - 153.7	100.0
	0.1	131.1 ± 12.9	12.0 ± 2.9	3.8 - 16.7	85.0	39.6 ± 43.8	0.4 - 113.3	40.0
	0.3	117.7 ± 18.5	10.4 ± 4.5	6.2 - 22.0	40.0	83.5 ± 50.7	3.9 - 139.3	75.0
	0.5	117.3 ± 11.6	8.1 ± 2.2	5.5 - 12.5	25.0	84.7 ± 43.5	2.2 - 145.2	80.0
	0.7	141.2 ± 5.6	7.9 ± 2.6	5.0 - 13.6	25.0	110.0 ± 50.7	14.1 - 193.3	90.0
	0.9	129.8 ± 18.0	7.7 ± 2.1	6.0 - 13.4	20.0	105.2 ± 29.7	5.2 - 139.7	95.0
60:40	0	171.3 ± 15.8	3.9 ± 0.9	2.9 - 6.2	0.0	131.9 ± 32.9	86.1 - 171.3	100.0
	0.1	130.8 ± 12.6	5.1 ± 2.0	3.4 - 10.6	5.0	111.0 ± 39.0	18.2 - 163.9	95.0
	0.3	140.7 ± 9.1	4.7 ± 2.0	3.1 - 11.0	5.0	110.7 ± 32.6	49.7 - 172.0	95.0
	0.5	148.8 ± 8.0	5.3 ± 2.3	3.0 - 10.3	10.0	85.7 ± 37.9	3.1 - 132.4	80.0
	0.7	115.5 ± 13.5	10.4 ± 2.6	6.9 - 16.1	50.0	53.8 ± 47.8	1.5 - 142.3	50.0
	0.9	133.4 ± 9.8	7.3 ± 1.9	4.3 - 11.1	15.0	58.1 ± 58.6	0.6 - 151.8	50.0
70:30	0	114.5 ± 10.7	3.1 ± 1.0	1.4 - 5.1	0.0	139.0 ± 18.3	118.4 - 176.5	100.0
	0.1	134.1 ± 19.2	4.1 ± 1.8	2.1 - 8.0	0.0	100.1 ± 47.8	4.2 - 166.4	90.0
	0.3	118.3 ± 29.5	4.7 ± 2.4	1.9 - 8.6	0.0	104.8 ± 49.9	4.6 - 176.8	88.9
	0.5	124.1 ± 28.2	4.4 ± 2.1	2.2 - 10.0	0.0	120.4 ± 64.0	1.0 - 189.8	83.3
	0.7	103.5 ± 16.3	4.3 ± 1.8	2.6 - 8.3	0.0	97.5 ± 59.9	1.7 - 158.3	66.7
	0.9	127.0 ± 29.2	4.1 ± 2.2	1.6 - 9.7	0.0	85.5 ± 55.3	0.6 - 164.9	69.3

<sup>1)</sup>Sodium caseinate, <sup>2)</sup>Percent of films showed over 10 MPa of tensile strength, <sup>3)</sup>Percent of films showed over 50% of elongation,

<sup>4)</sup>Mean ± standard deviation

Table 2-26. Continued

Whey : SC <sup>1)</sup>	Cross linker Conc. (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)		TS <sub>10</sub> <sup>2)</sup> (%)	Elongation (%)		E <sub>50</sub> <sup>3)</sup> (%)
			Mean	Range		Mean	Range	
	Citric acid							
50:50	0	121.9 $\pm$ 10.7 <sup>4)</sup>	6.3 $\pm$ 1.0	5.2 - 8.8	0.0	122.6 $\pm$ 14.3	100.4 - 153.7	100.0
	0.1	134.9 $\pm$ 17.3	7.6 $\pm$ 1.6	4.7 - 10.4	5.0	68.5 $\pm$ 59.5	1.4 - 175.2	55.0
	0.3	119.2 $\pm$ 13.9	8.0 $\pm$ 1.1	5.0 - 9.7	0.0	82.1 $\pm$ 48.8	2.2 - 141.1	75.0
	0.5	123.2 $\pm$ 10.3	7.5 $\pm$ 1.4	3.8 - 9.2	0.0	67.0 $\pm$ 58.0	0.8 - 146.3	57.9
	0.7	125.7 $\pm$ 10.7	7.7 $\pm$ 1.6	4.0 - 10.3	5.0	75.1 $\pm$ 55.5	1.4 - 145.1	65.0
	0.9	130.4 $\pm$ 13.1	7.4 $\pm$ 1.2	5.1 - 9.4	0.0	83.9 $\pm$ 52.8	3.5 - 155.8	75.0
60:40	0	171.3 $\pm$ 15.8	3.9 $\pm$ 0.9	2.9 - 6.2	0.0	131.9 $\pm$ 32.9	86.1 - 171.3	100.0
	0.1	123.5 $\pm$ 23.1	5.2 $\pm$ 1.2	3.4 - 7.9	0.0	125.4 $\pm$ 19.2	87.3 - 160.4	100.0
	0.3	127.7 $\pm$ 12.1	4.8 $\pm$ 1.2	3.2 - 6.9	0.0	112.0 $\pm$ 36.1	5.7 - 165.1	95.0
	0.5	122.8 $\pm$ 12.2	5.4 $\pm$ 1.5	3.5 - 7.8	0.0	95.0 $\pm$ 59.9	4.2 - 171.7	70.0
	0.7	115.8 $\pm$ 13.6	8.1 $\pm$ 1.9	4.1 - 13.0	10.0	37.2 $\pm$ 45.2	0.5 - 139.1	40.0
	0.9	119.0 $\pm$ 13.2	6.4 $\pm$ 1.2	4.3 - 8.4	0.0	86.4 $\pm$ 55.6	1.3 - 173.6	75.0
70:30	0	114.5 $\pm$ 10.7	3.1 $\pm$ 1.0	1.4 - 5.1	0.0	139.0 $\pm$ 18.3	118.4 - 176.5	100.0
	0.1	126.2 $\pm$ 13.7	3.6 $\pm$ 1.3	2.5 - 7.0	0.0	127.2 $\pm$ 47.8	56.4 - 202.6	100.0
	0.3	115.2 $\pm$ 17.3	3.9 $\pm$ 1.6	2.4 - 9.3	0.0	22.4 $\pm$ 7.2	13.4 - 46.2	0.0
	0.5	120.4 $\pm$ 9.4	3.7 $\pm$ 1.5	2.4 - 8.5	0.0	125.0 $\pm$ 48.7	22.3 - 185.2	90.0
	0.7	124.1 $\pm$ 12.0	4.0 $\pm$ 1.7	2.0 - 8.3	0.0	119.1 $\pm$ 52.2	3.6 - 200.1	94.7
	0.9	124.8 $\pm$ 13.5	4.0 $\pm$ 1.7	1.1 - 8.8	0.0	100.9 $\pm$ 60.5	0.4 - 198.6	80.0

<sup>1)</sup>Sodium caseinate, <sup>2)</sup>Percent of films showed over 10 MPa of tensile strength, <sup>3)</sup>Percent of films showed over 50% of elongation.

<sup>4)</sup>Mean  $\pm$  standard deviation



Table 2-26. Continued

Whey : SC <sup>1)</sup>	Cross linker Conc. (%)	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Tensile strength (MPa)		TS <sub>10</sub> <sup>2)</sup> (%)	Elongation (%)		E <sub>50</sub> <sup>3)</sup> (%)
			Mean	Range		Mean	Range	
	Sodium citrate							
50:50	0	121.9 $\pm$ 10.7 <sup>d)</sup>	6.3 $\pm$ 1.0	5.2 - 8.8	0.0	122.6 $\pm$ 14.3	100.4 - 153.7	100.0
	0.1	137.7 $\pm$ 10.0	9.3 $\pm$ 2.2	6.9 - 13.9	38.9	98.0 $\pm$ 39.7	33.7 - 153.2	77.8
	0.3	107.1 $\pm$ 9.9	9.5 $\pm$ 1.5	7.5 - 12.4	37.5	95.7 $\pm$ 31.5	44.2 - 150.3	93.8
	0.5	114.5 $\pm$ 10.7	8.5 $\pm$ 1.4	6.2 - 11.0	20.0	94.7 $\pm$ 27.4	28.8 - 134.5	93.3
	0.7	108.9 $\pm$ 12.5	8.3 $\pm$ 1.0	6.8 - 10.0	0.0	87.6 $\pm$ 23.2	50.7 - 132.5	100.0
	0.9	107.9 $\pm$ 9.9	8.6 $\pm$ 1.6	6.4 - 12.5	23.5	81.1 $\pm$ 35.4	10.9 - 139.7	82.4
60:40	0	171.3 $\pm$ 15.8	3.9 $\pm$ 0.9	2.9 - 6.2	0.0	131.9 $\pm$ 32.9	86.1 - 171.3	100.0
	0.1	126.5 $\pm$ 17.6	9.2 $\pm$ 2.0	6.3 - 12.8	25.0	75.9 $\pm$ 40.7	1.9 - 141.7	80.0
	0.3	118.4 $\pm$ 12.7	5.9 $\pm$ 0.9	4.6 - 8.7	0.0	127.3 $\pm$ 38.0	8.7 - 170.0	95.0
	0.5	122.3 $\pm$ 10.8	7.0 $\pm$ 1.0	5.8 - 9.9	0.0	126.2 $\pm$ 16.4	95.1 - 152.7	100.0
	0.7	121.4 $\pm$ 15.5	5.6 $\pm$ 1.1	4.3 - 8.3	0.0	129.1 $\pm$ 23.6	69.8 - 158.0	100.0
	0.9	120.8 $\pm$ 12.6	5.4 $\pm$ 1.2	4.0 - 7.6	0.0	134.3 $\pm$ 22.8	109.1 - 174.7	100.0
70:30	0	114.5 $\pm$ 10.7	3.1 $\pm$ 1.0	1.4 - 5.1	0.0	139.0 $\pm$ 18.3	118.4 - 176.5	100.0
	0.1	120.4 $\pm$ 6.8	4.2 $\pm$ 1.0	2.6 - 5.3	0.0	147.9 $\pm$ 20.1	121.1 - 176.2	100.0
	0.3	118.0 $\pm$ 10.2	4.4 $\pm$ 1.0	3.0 - 5.6	0.0	168.8 $\pm$ 18.3	138.1 - 198.0	100.0
	0.5	112.4 $\pm$ 11.8	2.9 $\pm$ 0.8	1.9 - 4.5	0.0	144.6 $\pm$ 22.8	101.7 - 182.8	100.0
	0.7	115.7 $\pm$ 11.2	2.7 $\pm$ 0.9	1.6 - 4.4	0.0	120.2 $\pm$ 17.3	94.5 - 148.2	100.0
	0.9	119.2 $\pm$ 2.8	3.3 $\pm$ 1.1	2.1 - 5.4	0.0	113.9 $\pm$ 29.2	89.5 - 175.3	100.0

<sup>1)</sup>Sodium caseinate, <sup>2)</sup>Percent of films showed over 10 MPa of tensile strength, <sup>3)</sup>Percent of films showed over 50% of elongation.

<sup>4)</sup>Mean  $\pm$  standard deviation

또한 sodium citrate를 0.1%에서 0.5%까지 첨가했을 때 평균 인장강도는 모두 10 MPa 이하로 나타났으나 10 MPa 이상의 인장강도를 나타낸 비율은 각각 38.9%, 37.5% 및 20.0%로 나타났다. 이 외의 유청분말과 sodium caseinate의 비율에 있어서는 유청분말과 sodium caseinate의 비율이 60:40에서 sodium chloride를 0.7%첨가했을 때만 제외하고 첨가된 cross linker의 종류와 농도에 상관없이 평균 인장강도 값이 모두 10 MPa 이하로 나타났다. 신장률에 있어서는 가소제로써 sorbitol을 0.3 g/g WCM의 농도로 첨가했을 때의 결과와 동일한 경향을 보였다.

필름의 기계적 성질 중 신장특성 판별에 대한 실험 결과를 Fig. 2-26과 Fig. 2-27에 나타내었다. 첨가된 가소제가 0.3 g/g WCM의 sorbitol인 경우 혼합원료 중 유청분말의 함량이 증가할수록 가소율이 증가하는 것으로 나타났다. 또한 가교제로써 sodium citrate를 첨가한 처리구의 경우 유청분말과 sodium caseinate의 비율이 50:50인 경우만 제외하고는 sodium citrate 0.5%이상에서 가소율이 50%이상으로 나타났다. 가소제로써 sorbitol을 0.4 g/g WCM의 농도로 첨가한 경우 가교제가 %가소성에 미치는 영향은 크지 않은 것으로 판단되어진다.

따라서 위의 결과를 볼 때 필름의 기계적 성질 중 인장강도에 대한 가교제의 영향은 sorbitol을 0.3 g/ WCM의 농도로 첨가하여 제조한 필름의 경우 sodium citrate의 효과가 가장 컸으며, sorbitol을 0.4 g/g WCM의 농도로 첨가하여 제조한 필름의 경우에 있어서는 sodium chloride의 효과가 가장 큰 것으로 나타났다.

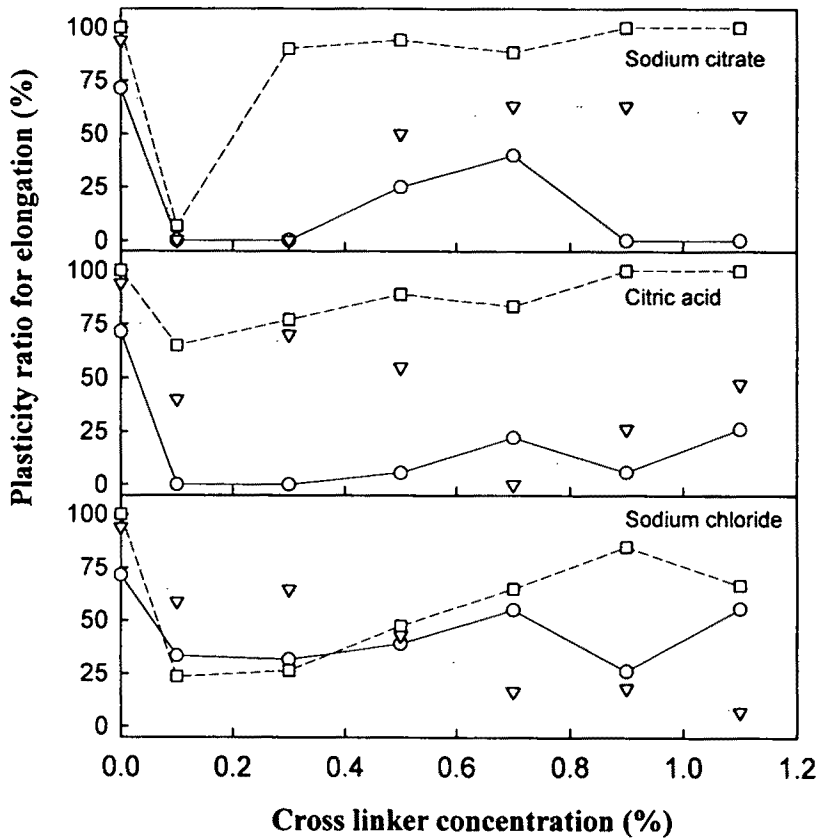


Fig. 2-26. Effects of cross linkers on plasticity ratio of the films with various whey powder contents and sorbitol 30% at pH 10.

- whey powder : sodium caseinate = 50 : 50,
- ▽— whey powder : sodium caseinate = 60 : 40,
- whey powder : sodium caseinate = 70 : 30

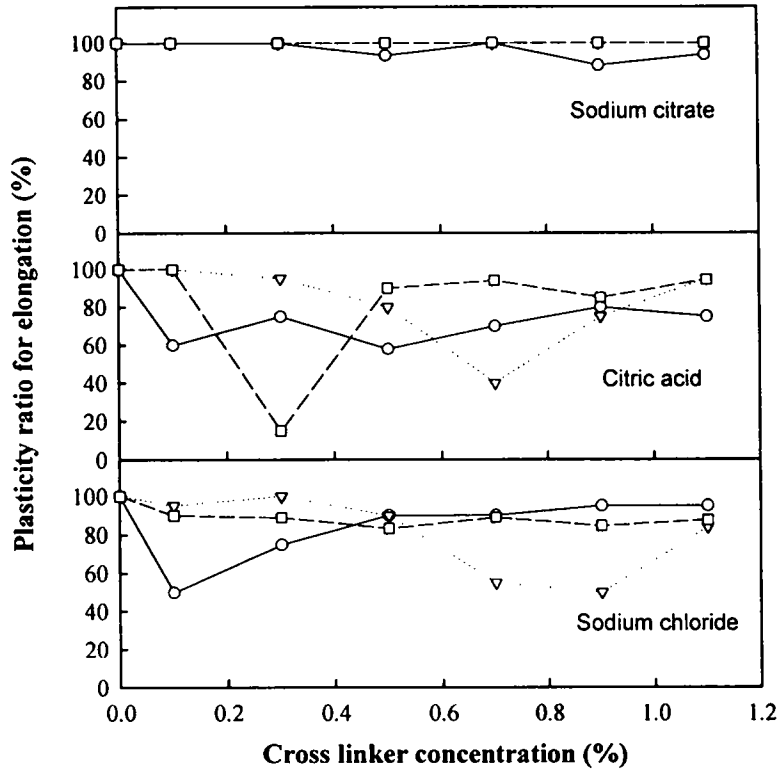


Fig. 2-27. Effects of cross linkers on plasticity ratio of the films with various whey powder contents and sorbitol 40% at pH 10.

- whey powder : sodium caseinate = 50 : 50
- ▽··· whey powder : sodium caseinate = 60 : 40
- whey powder : sodium caseinate = 70 : 30

#### 4. 가식성 필름의 저장성

##### 가. 대두단백질 필름

가소제의 농도를 0.5 g plasticizer/g SPC의 농도로 첨가하여 제조한 대두단백질 필름을 25℃에서 50%의 상대습도로 조절된 항온항습기에 넣고 30일간 저장한 후의 기계적특성을 48시간 동안 수분평형 시킨 시료와 비교하여 Table 2-27에 나타내었다. 저장한 필름의 기계적특성은 48시간동안 수분 평형만을 시킨 필름에 비해 가소제로 glycerol을 단독 또는 glycerol과 sorbitol을 1:1로 혼합하여 첨가한 필름의 인장강도는 증가하였지만 가소제로서 sorbitol을 단독으로 사용하여 제조한 필름의 인장강도는 감소하는 것으로 나타났다. 또한 필름의 신장률은 저장함에 따라 감소하는 것으로 나타났으며 이러한 감소의 경향은 첨가된 가소제의 종류에 따라 다르게 나타났다.

즉, 가소제로 glycerol을 사용한 필름의 경우 초기의 인장강도와 신장률은 각각 6.0 MPa과 51.8% 이었으나 30일간 저장함에 따라 인장강도는 19.4 MPa로 증가하였으나 신장률이 1.7%로 감소하여 부서지기 쉬운 성질의 필름이 되었지만 가소제로 sorbitol을 첨가하였을 때에는 저장후에도 필름의 부서지기 쉬운 성질이 감소하여 가소제로 glycerol과 sorbitol을 1:1로 혼합첨가한 필름은 30일간 저장하였을 때 인장강도와 신장률이 각각 12.7 MPa와 9.8%로서 가소제로서 glycerol만을 첨가한 필름에 비해 필름의 유연성을 유지하였다. 또한 가소제로 sorbitol을 사용한 필름의 경우 초기의 인장강도와 신장률은 각각 7.8 MPa과 41.7% 이었으나 30일간 저장함에 따라 인장강도와 신장률이 6.3 MPa과 22.9%로 나타나 sorbitol을 첨가한 필름의 신장률이 저장한 필름 중에서 가장 높게 나타났다.

**Table 2-27. Mechanical properties of soy protein concentrate (SPC) films prepared from soybean meal<sup>1)</sup> of different storage time**

Storage times	Plasticizer <sup>2)</sup> ratio (GLY : SOR)	Thickness (μm)	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)	Break energy (kJ/m <sup>2</sup> )
2 days	100 : 0	92.0 ± 3.8 <sup>3)</sup>	6.0 ± 0.4 <sup>d</sup>	51.8 ± 7.0 <sup>a</sup>	138.6 ± 16.5 <sup>a</sup>
	50 : 50	76.9 ± 10.2	6.1 ± 0.2 <sup>d</sup>	58.6 ± 3.3 <sup>a</sup>	157.9 ± 10.4 <sup>a</sup>
	0 : 100	81.5 ± 14.6	7.8 ± 0.2 <sup>c</sup>	41.7 ± 6.1 <sup>b</sup>	146.9 ± 20.6 <sup>a</sup>
30 days	100 : 0	58.2 ± 7.3	19.4 ± 3.6 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.1 <sup>d</sup>	8.6 ± 1.5 <sup>c</sup>
	50 : 50	63.4 ± 1.9	12.7 ± 0.7 <sup>b</sup>	9.8 ± 8.9 <sup>d</sup>	49.6 ± 55.2 <sup>c</sup>
	0 : 100	70.6 ± 4.4	6.3 ± 0.4 <sup>d</sup>	22.9 ± 5.8 <sup>c</sup>	64.0 ± 13.9 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Samples were stored at 25°C and 50% relative humidity.

<sup>2)</sup>Plasticizer concentration was 0.5 g plasticizer/g SPC.

<sup>3)</sup>Means ± Standard deviation (n=10).

<sup>a,b,c,d</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

저장한 필름의 break energy는 가소제로 glycerol을 첨가한 필름은 부서지기 쉬운 성질 때문에  $8.6 \text{ kJ/m}^2$ 에 불과하였지만 sorbitol을 첨가한 필름은 유연성이 유지되어 break energy가  $64.0 \text{ kJ/m}^2$ 이었으며, 이러한 값들은 초기의 break energy( $138.6\text{-}157.6 \text{ kJ/m}^2$ )에 비해 상당히 낮은 값으로 30일 동안 저장한 필름의 기계적 물성이 열화되었음을 보여주고 있으며 가소제로서 sorbitol을 사용함으로써 저장에 따른 필름이 부서지기 쉽게 되는 현상을 억제할 수 있을 것으로 사료되었다.

가소제로 glycerol을 첨가한 필름을 저장하였을 때 부서지기 쉬운 성질을 갖는 이유는 사용된 glycerol이 이동성(mobility)이 있어 필름내부 또는 외부로 이동 가능하며 본 연구에서는 필름 저장을 위해 종이(복사용지)와 필름을 교대로 겹쳐 놓아서 저장하였는데 저장 중 glycerol이 인접한 종이층으로 migration되었기 때문으로 사료된다.

Park 등은 글루텐 필름을 20일간 저장하였을 때 인장강도는 증가하였고 신장률은 감소하였으며 신장률의 감소 정도는 가소제로 glycerol을 단독으로 사용한 필름이 glycerol과 polyethylene glycol(PEG)을 사용한 필름에 비해 높았는데 이는 가소제로 glycerol과 PEG를 혼합물의 이동성이 낮기 때문으로 보고하였다.

수분투과도는 Table 2-28에 나타낸 바와 같이 48시간 동안 수분 평형을 시킨 후 측정된 값은 glycerol을 가소제로 첨가한 필름이  $0.55 \text{ ng}\cdot\text{m/m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 으로 가소제로 sorbitol을 단독 혹은 혼합 첨가한 필름보다 높았으나 30일간 저장한 필름의 수분투과도는 glycerol을 첨가한 시료의 경우는  $0.33 \text{ ng}\cdot\text{m/m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 으로 낮아졌으며 glycerol과 sorbitol을 혼합첨가한 필름은 유의차가 없는 것으로 나타났다지만 sorbitol을 첨가한 필름의 경우는 수분투과도가  $0.43 \text{ ng}\cdot\text{m/m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 에서  $0.55 \text{ ng}\cdot\text{m/m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 으로 증가하였다.

**Table 2-28. Water vapor permeabilities of soy protein concentrate (SPC) films prepared from soybean meal<sup>1)</sup> of different storage time**

Storage times	Plasticizer <sup>2)</sup> ratio (GLY : SOR)	Thickness (μm)	WVP <sub>A</sub> <sup>3)</sup> (ng·m/m <sup>2</sup> ·s·Pa)	WVP <sub>C</sub> <sup>4)</sup> (ng·m/m <sup>2</sup> ·s·Pa)	Error <sup>5)</sup> (%)
2 days	100 : 0	71.0 ± 6.4	0.55 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.01 ± 0.06 <sup>a</sup>	46%
	50 : 50	68.0 ± 5.6	0.48 ± 0.02 <sup>ab</sup>	0.81 ± 0.03 <sup>b</sup>	42%
	0 : 100	71.3 ± 6.6	0.43 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.67 ± 0.02 <sup>bc</sup>	36%
30days	100: 0	55.3 ± 2.0	0.33 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.50 ± 0.01 <sup>c</sup>	34%
	50 : 50	66.1 ± 5.0	0.45 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.74 ± 0.02 <sup>b</sup>	40%
	0 : 100	70.7 ± 4.0	0.55 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.24 <sup>a</sup>	45%

<sup>1)</sup>Samples were stored at 25°C and 50% relative humidity.

<sup>2)</sup>Plasticizer concentration was 0.5 g plasticizer/g SPI.

<sup>3)</sup>Water vapor permeability calculated by ASTM method.

<sup>4)</sup>Water vapor permeability calculated by correction method.

<sup>5)</sup> Error =  $((WVP_C - WVP_A) / WVP_C) \times 100$

<sup>6)</sup>Means ± Standard deviation (n=3).

<sup>a,b,c,d,e</sup>Superscriptive letters in a column indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple range test



가소제로 glycerol을 첨가한 피름을 저장하였을 때 수분투과도가 낮아지는 것은 필름이 부서지기 쉬운 성질을 갖는 것과 관련하여 가소제의 mobility에 영향을 받는 것으로 생각된다.

저장한 시료의 수분과의 상호작용을 Fig. 2-28에 등온흡습곡선으로 나타내었다. 일정 수분활성도에서 glycerol을 가소제로 첨가한 필름의 수분함량이 가장 낮았으며 sorbitol을 첨가한 필름이 가장 높은 평형수분함량을 갖는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 저장하지 않은 필름의 등온흡습곡선(Fig 2-4)과 반대의 경향을 보이고 있는데 이는 저장 중 친수성을 갖는 glycerol이 필름 외부로 이동하여 그 결과 sorbitol을 첨가한 필름에 비해 친수성 기가 적어지기 때문인 것으로 사료되며, 첨가한 가소제의 농도가 0.3 g plasticizer/g SPC에서 0.7 g plasticizer/g SPC로 증가함에 따라 Table 2-4에 의하면 가소제로 sorbitol과 glycerol을 첨가한 필름의 등온흡습곡선은 상승하였으나, 저장 필름의 경우는 sorbitol을 첨가한 시료의 등온흡습곡선은 큰 폭으로 상승하였지만 glycerol을 첨가한 시료의 등온흡습곡선은 큰 변화를 보이지 않고 있다. 이는 가소제로 glycerol을 첨가한 필름들은 첨가한 가소제의 양이 다르더라도 저장후의 glycerol 함량은 크게 다르지 않음을 시사하는 것이다. 한편 가소제로 sorbitol을 0.7 g plasticizer/g SPC의 농도로 첨가한 필름은 상대습도 23% 이하의 건조한 조건에서 표면에 sorbitol이 일부 석출되는 것을 관찰할 수 있었는데 이는 가소제로 첨가된 sorbitol 또한 필름 내부에서 이동하고 있음을 보여주는 결과이다.

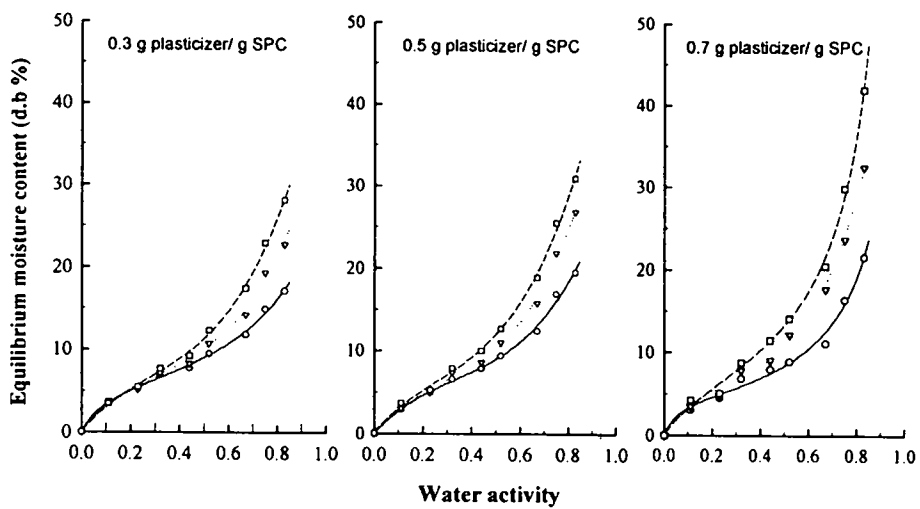


Fig. 2-28. Effects of plasticizers on sorption isotherms for soy protein concentrate films prepared from soybean meal stored at 25°C for 30 days. —○— Glycerol, ▽ Glycerol and sorbitol mixture (1:1), - -○- - Sorbitol

또한 저장 전의 필름들의 등온흡습곡선과 30일 저장 후의 필름의 등온흡습곡선은 Fig 2-29에 나타낸 바와 같이 가소제를 0.5 g plasticizer/g SPC의 농도로 첨가한 저장 전 후의 필름들의 일정 상대습도에서의 평형수분함량은 glycerol을 가소제로 첨가한 필름의 경우 저장 후의 평형수분함량이 크게 감소하였지만 가소제로 glycerol과 sorbitol을 혼합 첨가한 시료는 glycerol 첨가구에 비해 감소 정도가 낮았으며 sorbitol을 가소제로 첨가한 필름은 저장 전 후의 등온흡습곡선의 차이는 거의 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과로부터 가소제를 첨가한 대두단백질 필름을 저장하였을 때에는 가소제의 이동성(mobility)에 따라 필름의 물성은 크게 변화한다는 것을 알 수 있었다. 즉, mobility가 높은 glycerol을 첨가하였을 경우 저장 시 migration에 의해 glycerol이 손실되어 가소제 함량이 낮아지며 동시에 흡습성이 낮아져 필름에 유연성을 부여할 수 있는 평형수분함량도 낮아진다. 따라서 필름의 물성은 부서지기 쉬운 성질을 갖게되며 이러한 현상은 mobility가 낮은 sorbitol을 첨가함으로써 일부 억제할 수 있는 것으로 사료된다.

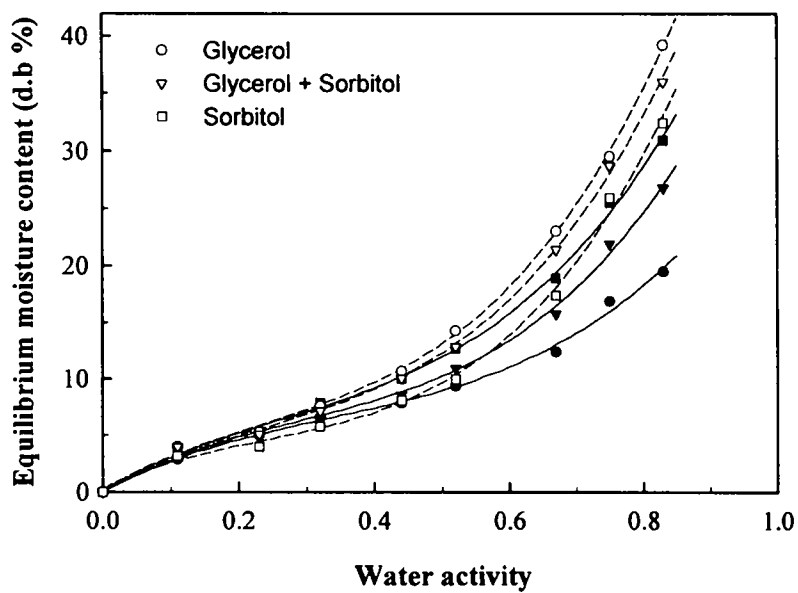


Fig. 2-29. Sorption isotherms for stored (solid line and filled symbol) and not stored (dashed line and hallow symbol) soy protein concentrate films at 25°C.

## 나. 유청단백질 필름

### 1) 기계적 특성

제조된 필름의 기계적 특성 또한 저장온도, 저장상대습도, 저장기간에 따라 각각 일정한 경향을 나타내었다. 먼저, 지방산을 첨가하여 제조한 필름의 최초 인장강도와 신장율은 각 저장조건에 따라 1.0~6.2 MPa, 2.3~11.3%의 범위를 나타내었으며 지방산을 첨가하지 않은 필름은 1.7~16.8 MPa, 2.8~34.1%의 범위를 나타내 지방산을 첨가한 필름의 기계적 특성이 전체적으로 낮은 수치를 보였다. 이는 지방산의 첨가가 필름의 가교결합을 방해하여 나타난 결과로 생각된다. 저장조건에 따른 필름의 인장강도와 신장률의 변화는 Fig. 2-30과 Fig. 2-31에 나타내었는데, 저장온도가 높을수록 저장상대습도가 낮을수록 필름의 종류와 관계없이 인장강도는 높은 수치를 보였으며 신장률은 이와 반대로 낮은 수치를 보였다. 또한 저장기간이 길어짐에 따라서도 모든 저장조건에서 인장강도의 증가와 신장률의 감소를 나타내었는데, 이러한 경향들은 지방산을 첨가하지 않은 필름에서 저장온도가 높을수록 더 뚜렷하게 나타났으며, 높은 저장상대습도 에서는 저장기간에 따른 기계적 특성의 변화의 차이가 다른 상대습도에 비해 적은 것을 볼 수 있었다. 이와 같은 모든 경향들은 수분이 필름의 기계적 특성을 결정짓는 주요한 요인중 하나인 가수해의 역할을 하기 때문이며, 이러한 수분의 역할에 대한 필름의 기계적 특성 변화 의존도는 결과적으로 필름 내 흡착 site의 많고 적음 등과 같은 필름내부의 화학적 구조 차이에 따라 결정되기 때문에 저장중의 온도와 기간에 따른 필름의 내부구조 변화와 서로 관련되어 있는 것으로 생각된다.

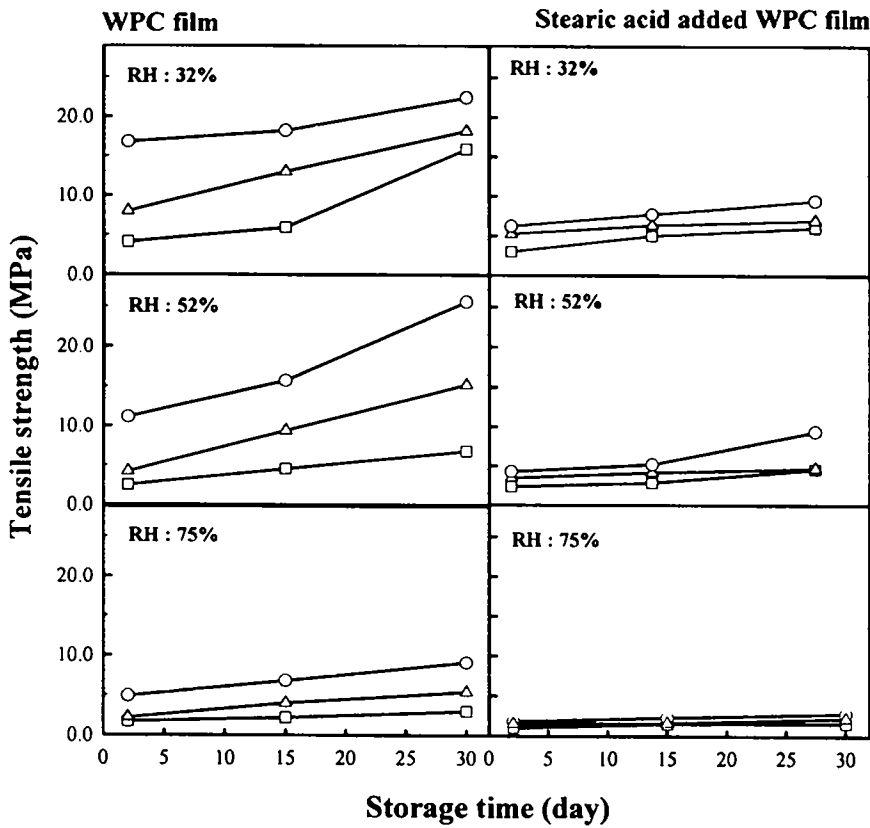
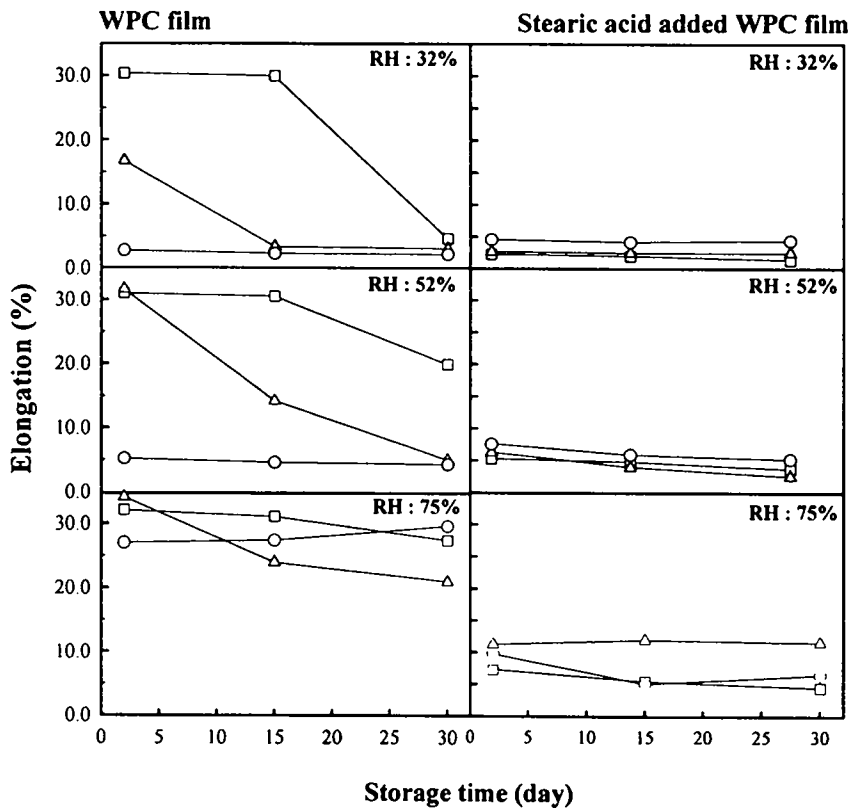


Fig. 2-30. Tensile strength of whey protein concentrate (WPC) films stored at each relative humidity and temperature.

—□— : 4°C      —△— : 25°C      —○— : 40°C



**Fig. 2-31. Elongation of whey protein concentrate (WPC) films stored at each relative humidity and temperature.**

—□— : 4°C    —△— : 25°C    —○— : 40°C

## 2) 수분투과도

제조한 유청단백질 필름의 수분투과도는 각 저장온도와 상대습도, 필름제조 특성에 따라 각각 특정한 경향을 보였다. 지방산을 첨가한 필름을 각 저장온도 및 상대습도에 2일간 저장하였을 때의 수분투과도는 필름의 두께가  $73.1 \sim 85.8 \mu\text{m}$ 일 때  $0.39 \sim 0.44 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 의 범위를 보였으며, 지방산을 첨가하지 않은 필름은  $45.9 \sim 62 \mu\text{m}$ 의 두께에서  $0.34 \sim 0.58 \text{ ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 의 범위를 나타내었다. 두 필름간의 수분투과도 차이를 비교하기 위해 두께를 보정하여 계산하였을 때, 지방산을 첨가한 필름의 수분투과도는 평균 약 36% 낮은 것으로 나타나, 수분투과에 대한 차단성이 개선된 것을 확인할 수 있었다. 저장온도가  $4^\circ\text{C}$ 에서  $40^\circ\text{C}$ 로 증가함에 따라 각각 필름의 수분투과도는 저장온도와 비례하여 감소하였으나, 지방산을 첨가한 필름의 경우에는 저장일수 30일째에 온도에 따른 수증기 투과도 차이를 확인할 수 있었다. 이는 지방산을 첨가하지 않은 필름은 저장온도가 증가함에 따라 필름의 흡습과 탈습으로 인한 필름의 흡착능력의 감소가 온도차이에 의한 영향을 빠르게 받은 반면에 지방산을 첨가한 필름의 경우에는 소수성기의 영향으로 인해 상대적으로 필름의 흡습과 탈습이 모든 저장온도에서 느리게 일어나 이러한 경향을 보이는 것으로 사료된다. 한편, 저장온도  $25^\circ\text{C}$ 에서는 75%의 상대습도에서 저장 60일째 필름표면에 곰팡이의 발생이 확인되어 필름의 장기적인 저장조건에는 부적합한 것으로 나타났다.



**Table 2-29. Water vapor permeability of whey protein concentrate (WPC) films stored at each relative humidity and temperature with thickness of 72  $\mu\text{m}$ .**

Film type	Temp <sup>1)</sup> (°C)	RH <sup>2)</sup> (%)	Storage time			
			2 days	15 days	30 days	60 days
WPC	4	32	0.67 <sup>3)</sup>	0.63	0.61	-
		52	0.72	0.63	0.66	-
		75	0.60	0.60	0.54	-
	25	32	0.61	0.59	0.58	0.56
		52	0.60	0.55	0.52	0.53
		75	0.59	0.59	0.54	-
	40	32	0.66	0.57	0.48	-
		52	0.48	0.47	0.43	-
		75	0.48	0.46	0.44	-
add stearic acid	4	32	0.39	0.37	0.36	-
		52	0.40	0.37	0.40	-
		75	0.37	0.36	0.34	-
	25	32	0.39	0.38	0.36	0.32
		52	0.39	0.38	0.36	0.34
		75	0.37	0.27	0.22	-
	40	32	0.36	0.29	0.25	-
		52	0.38	0.24	0.21	-
		75	0.39	0.34	0.26	-

<sup>1)</sup>Storage temperature

<sup>2)</sup>Storage relative humidity

<sup>3)</sup>Water vapor permeability ( $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ ) calculated by ASTM method.

## 5. 제조된 가식성 필름의 식품에의 적용

일반 플라스틱 필름과 유청단백질 필름에 각각 일정량의 대두유를 넣고 40, 50 및 60℃에서 저장하며 유지의 산패도를 과산화물가를 측정하여 비교하였다. 유청 단백질 필름과 nylon metallocene linear low density polyethylene (NMLLDPE) 필름에 각각 저장한 대두유의 과산화물가는 Fig. 2-32에 나타낸 바와 같이 저장온도가 높을수록 과산화물가의 생성속도가 증가하였으며, 과산화물가가 50 meq/kg oil에 도달하는 시간을 유도기간이라고 정할 때 각 필름에 저장한 대두유의 유도기간은 유청단백질 필름으로 포장한 대두유는 저장온도가 40, 50 및 60℃로 높아짐에 따라 각각 34일, 19일 및 18일 이었으며 NMLLDPE로 포장한 대두유의 경우는 각각 27일, 12일 및 8일로 나타나 동일한 온도에서는 유청 단백질 필름으로 포장한 대두유의 과산화물가 생성속도가 NMLLDPE에 포장한 대두유에 비해 느린 것으로 나타났다. 또한 저장온도가 높을수록 두 필름에 각각 포장한 대두유의 과산화물가 생성속도의 차이가 커지는 것으로 나타났다.

이는 친수콜로이드 필름인 유청 단백질 필름이 지질투과와 산소투과에 대한 차단성에서 기존의 플라스틱 필름에 비하여 우수하기 때문에 유지의 저장 안정성에 더 큰 효과를 보이는 것이라 사료된다.

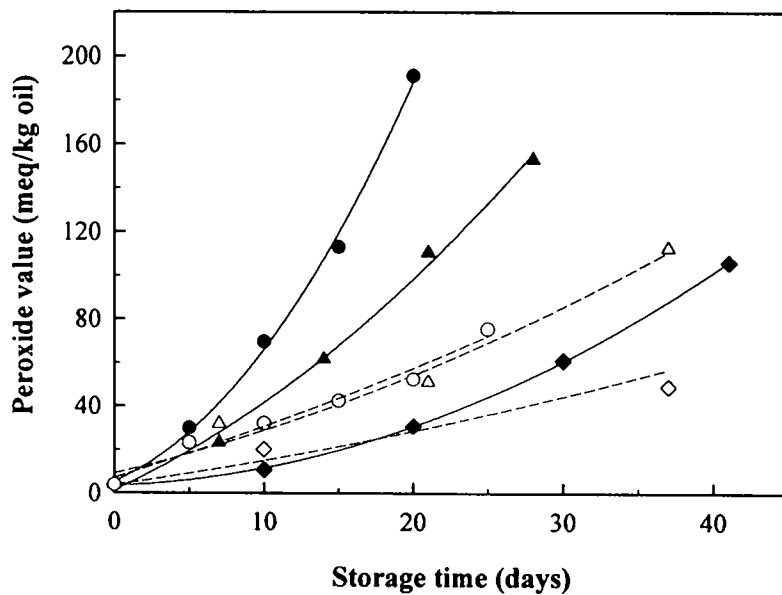


Fig. 2-32. The changes of peroxide value of soybean oil stored in whey protein concentrate (WPC) film (dashed lines and hollow symbols) and nylon metalocene linear low density polyethylene (NMLLDPE) film (solid lines and filled symbols).

◇-◇: 40°C,    △-△: 50°C,    ○-○: 60°C

## 인용문헌

1. Gennadios, A. and Weller, C.L.: Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technol.*, **44**, 63 (1990)
2. Guilbert, S.: Technology and application of edible protective films. In *Food Packaging and Preservation, Theory and Practice*, Mathlouthi, M. (Ed.), Elsevier Applied Science Pub. Co., London, England, p. 371. (1986)
3. Banker, G.S.: Film coating theory and practice. *J. Pharm. Sci.*, **55**, 81 (1966)
4. Donhowe, I.G. and Fennema, O.: Edible films and coatings: Characteristics, formation, definition, and testing methods. In *Edible coatings and films to improve food quality*, Krochta, J.M., Baldwin, E.A. and Nisperos-Carriedo, M.O. (Ed.), Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA, U.S.A., p. 1-25 (1994)
5. Park, J.W. and Park, H.J.: Effect of solvent, pH and salt on water vapor permeability and mechanical properties of sodium caseinate films. *Foods and Biotech.*, **6**, 256 (1997)
6. Gennadios, A., Brandenburg, A.H., Weller, C.L. and Testin, R.F.: Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1835-1839 (1993)
7. Park, J.W., Testin, R.F., Park, H.J., Vergano, P.J. and Weller, C.L.: Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation and water permeability of laminated edible films. *J. Food Sci.*, **59**, 916 (1994)
8. Hood, L.L.: Collagen in sausage casings. *Adv. Meat Res.*, **4**, 109-129 (1987)
9. Cosler, H.B.: Prevention of staleness, rancidity in nut meats and peanuts. *Peanut J. Nut World*, **37**, 10-11, 15 (1958)
10. Park, J.W., Testin, R.F., Vergano, P.J., Park, H.J. and Weller, C.L.: Applications of laminated edible films to potato chip packaging. *J. Food Sci.*, **61**, 766-768, 777 (1996)

11. Hettiarachchy, N. and Kalapathy, U.: Soybean protein products. In *Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization*, KeShun Liu (Ed.), Chapman & Hall, New York, p. 379-411 (1997)
12. Lee, K.S. and Kim, D.H.: Effect of sake cake on the quality of low salted Kochuzang (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **23**, 109-115 (1991)
13. Cho, S.J. and Hong, Y.H.: Physicochemical and functional properties of commercial whey powders (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 151-155 (1995)
14. Jelen, P.: Reprocessing of whey and other dairy waste for use as food ingredients. *Food Technol.*, **37**, 81 (1976)
15. 박형미, 홍윤호, 오승호: 유청음료의 개발에 관한 연구. 한국낙농학회지, **10**, 92 (1988)
16. 기해진, 홍윤호: 인삼유청음료의 제조 및 관능적 특성. 한국영양식량학회지, **22**, 202 (1993)
17. Kinsella, J.E. and Whitehead, D.M.: Proteins in whey: chemical, physical, and functional properties. *Adv. Food and Nutr. Res.*, **33**, 343-439 (1989)
18. Gennadios, A., McHugh, T.H., Weller, C.L. and Krochta, J.M.: Edible coatings and films based on proteins. In *Edible coatings and films to improve food quality*, ed. J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo, I. Lancaster: Technomic Publishing Co., Inc. p. 201 (1994)
19. Hardenberg, R.E.: Wax and related coatings for horticultural products-A bibliography. Agricultural Research Service Bulletin No. 965. Ithaca, NY: Cornell University, (1967)
20. Kaplan, L.L.: Washing, waxing and color-adding. In *Fresh Citrus Fruits*, Wardowski, W.F., Nagy, S. and Grierson, W. (Ed.), The Avi Publishing Company, Inc., Westport, CT, p. 379-395 (1986)
21. Lee, S.K., Woo, I.A. and Kim, C.J.: Soy protein-lipid film preparation and its physicochemical properties (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **5**, 331-337 (1996)
22. Gennadios, A. and Weller, C.L.: Edible films and coatings from soymilk and soy protein. *Cereal Foods World*, **36**, 1004-1009 (1991)

23. Wu, L.C. and Bates, R.P.: Soy protein-lipid films. 1. Studies on the film formation phenomenon. *J. Food Sci.*, **37**, 36-39 (1972)
24. Sian, N.K. and Ishak, S.: Effect of pH on yield, chemical composition, and boiling resistance of soybean protein-lipid film. *Cereal foods world*, **35**, 748-752 (1990)
25. Wu, L.C. and Bates, R.P.: Soy protein-lipid films. 2. Optimization of film formation. *J. Food Sci.*, **37**, 40-44 (1972)
26. Farnum, C., Stanley, D.W. and Gray, J.I.: Protein-lipid interactions in soy films. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **9**, 201-206 (1976)
27. Jaynes, H.O. and Chou, W.N.: New method to produce soy protein-lipid films. *Food Prod. Dev.*, **9**, 86, 90 (1975)
28. Roy, P.K., Feldbrugge, A.H.R. and Bresnahan, D.P.: Textured oil seed protein products. *U.S. Patent*, 4,321,280 (1982)
29. Anker, C.A., Foster, G.A. and Loader M. A.: Method of preparing gluten containing films and coatings. *U.S. patent*, 3,653,925 (1972)
30. Aydin, T.P., Weller, C.L. and Testin, R.S.: Mechanical and barrier properties of edible corn and wheat protein films. *Trans. ASAE*, **34**, 207-211 (1991)
31. Gennadios, A., Weller, C.L. and Testin, R.F.: Property modification of wheat, gluten-based films. *Trans. ASAE*, **36**, 465-470 (1993)
32. Gennadios, A., Weller, C.L. and Testin, R.F.: Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. *J. Food Sci.*, **58**, 212-214, 219 (1993)
33. Yang, S.B., Cho, S.Y. and Rhee, C.: Preparation of edible films from soybean meal (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 452-459 (1997)
34. Juliano, B.O.: The rice caryopsis and its composition. In *Rice: Chemistry and technology*. Houston, D.F. (Ed.), American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, p. 16 (1972)
35. Lszity, R.: *The chemistry of cereal proteins*. 2nd ed., CRC Press, FL, p. 249-273 (1996)
36. Gnanasambandam, R. and Hettiarachchy, N.S.: Protein concentrates from unstabilized and stabilized rice bran: preparation and properties. *J. Food Sci.*, **60**, 1066-1069, 1074 (1995)

37. Chen, W.P. and Chang, Y.C.: Production of high-fructose rice syrup and high-protein rice flour from broken rice. *J. Sci. Food Agric.*, **35**, 1128 (1984)
38. Morita, T. and Kiriyaama, S.: Mass production method for rice protein isolate and nutritional evaluation. *J. Food Sci.*, **58**, 1393-1396 (1993)
39. Shih, F.F.: Edible films from rice protein concentrate and pullulan. *Cereal Chem.*, **73**, 406-409 (1996)
40. Gnanasambandam, R., Hettiarachchy, N.S. and Coleman, M.: Mechanical and barrier properties of rice bran films. *J. Food Sci.*, **62**, 395-398 (1997)
41. Bastian, E.D., Collinge, S.K. and Ernstrom, C.A.: Ultrafiltration: Partitioning of milk constituents into permeate and retentate. *J. Dairy Sci.*, **74**, 2423-2434 (1991)
42. Lonergan, D.A.: Isolation of casein by ultrafiltration and cryodestabilization. *J. Food Sci.*, **48**, 1817-1821, 1826 (1983)
43. Antonov, Y.A., Grinberg, V.Y., Zhuravskays, N.A. and Tolstoguzov, V.B.: Concentration of the proteins of skimmed milk by membraneless, isobaric osmosis. *Carbohydr. Polymers*, **2**, 81 (1982)
44. Hoff, J.E., Nielsen, S.S., Peng, I.C. and Chambers, J.V.: Ethanol extraction of lactose from nonfat dry milk: Production of protein raffinate. *J. Dairy Sci.*, **70**, 1785-1796 (1987)
45. Brunner, J.R.: Milk proteins. In *Food proteins*. Whitaker, J.R. and Tannenbaum, S.R. (Ed.), The Avi Publishing Company, Inc., Westport, CT, p. 175-208 (1977)
46. Shimada, K. and Cheftel, J.C.: Sulfhydryl group/disulfide bond interchange reactions during heat induced gelation of whey protein isolate. *J. Agric. and Food Chem.*, **37**, 161-168 (1989)
47. Wu, L.C. and Bates, R.P.: Influence of ingredients upon edible protein-lipid film characteristics. *J. Food Sci.*, **38**, 783-787 (1973)
48. Mahmoud, R. and Savello, P.A.: Mechanical properties of and water vapor transferability through whey protein films. *J. Dairy Sci.*, **75**, 942-946 (1992)

49. Mahmoud, R. and Savello, P.A.: Solubility and hydrolyzability of films produced by transglutaminase catalytic crosslinking of whey protein. *J. Dairy Sci.*, **76**, 29-35 (1993)
50. Mills, O.E.: Effect of temperature on tryptophan fluorescence of  $\beta$ -lactoglobulin B. *Biochim. Biophys. Acta*, **434**, 324 (1976)
51. Creamer, L.K. and Matheson, A.R.: Effect of heat treatment on the protein of pasteurized skim milk. *New Zealand J. Dairy Sci. Tech.*, **15**, 37-49 (1980)
52. Bernal, V. and Jelen, P.: Thermal stability of whey proteins-a calorimetric study. *J. Dairy Sci.*, **68**, 2847 (1985)
53. McHugh, T.H., Aujard, J.F. and Krochta, J.M.: Plasticized whey protein edible films: Water vapor permeability properties. *J. Food Sci.*, **59**, 416-419 (1994)
54. McHugh, T.H. and Krochta, J.M.: Sorbitol- vs glycerol-plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 841-845 (1994)
55. Fairley, P., Monahan, F.J., German, J.B. and Krochta, J.M.: Mechanical properties and water vapor permeability of edible films from whey protein isolate and sodium dodecyl sulfate. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 438-443 (1996)
56. Maynes, J.R. and Krochta, J.M.: Properties of edible films from total milk protein. *J. Food Sci.*, **59**, 909-911 (1994)
57. Banerjee, R. and Chen, H.: Functional properties of edible films using whey protein concentrate. *J. Dairy Sci.*, **78**, 1673-1683 (1995)
58. Bae, S.H. and Rhee, C.: Influences of extraction pH on the functionality of soybean protein isolate (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 557-561 (1998)
59. Beuchart, L.R.: Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins. *J. Agri. Food Chem.*, **25**, 258 (1977)
60. A.O.A.C.: Official Methods of Analysis, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. (1984)



61. Henrikson, R.L. and Meredith, S.C.: Amino acid analysis by reverse-phase high-performance liquid chromatography: precolumn derivatization with phenylisothiocyanate. *Anal. Biochem.*, **136**, 65-74(1984)
62. Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680- (1970)
63. ASTM: Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D 882-90). In *Selected ASTM Standard on Packaging*, 3rd ed., American Society for Testing and Materials, PA, p. 31 (1991)
64. ASTM: Standard test methods for water vapor transmission of materials (E 96-90). In *Selected ASTM Standard on Packaging*, 3rd ed., American Society for Testing and Materials, PA, p. 299 (1991)
65. 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**, 899-903 (1993)
66. Bradford, M.M.: A rapid and sensitive methods for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254 (1976)
67. SAS Institute: SAS/STAT User Guide, release 6.30 edition (1988)
68. Shimada, K. and Cheftel, J.C.: Sulfhydryl group/disulfide bond interchange reactions during heat induced gelation of whey protein isolate. *J. Agric. and Food Chem.*, **37**, 161-168 (1989)
69. Okamoto, S.: Factors affecting protein film formation. *Cereal Foods World*, **23**, 256-262 (1978)
70. Saio, K., Kajikawa, M. and Watanabe, T.: Food processing characteristics of soybean proteins. Part II. Effect of sulfhydryl groups on physical properties of tofu-gel. *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 890-898 (1971)
71. Park, H.J., Weller, C.L., Vergano, P.J. and Testin, R.F.: Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. *J. Food Sci.*, **58**, 1361-1364, 1370 (1993)
72. Stuchell, Y.M. and Krochta, J.M.: Enzymatic treatment and thermal effects on edible soy protein films. *J. Food Sci.*, **59**, 1332-1337 (1994)

73. Kunte, L.A., Gennadios, A., Cuppett, S.L., Hanna, M.A. and Weller, C.L.: Cast films from soy protein isolates and fractions. *Cereal Chem.*, **74**, 115-118 (1997)
74. Brandenburg, A.H., Weller, C.L. and Testin, R.F.: Edible films and coatings from soy protein. *J. Food Sci.*, **58**, 1086-1089 (1993)
75. Parris, N., Coffin, D.R., Joubran, R.F. and Pessen, H.: Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic films. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1432-1435 (1995)
76. McHugh, T.H. and Krochta, J.M.: Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid films. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **71**, 301 (1994)
77. Shellhammer, T.H. and Krochta, J.M.: Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. *J. Food Sci.*, **62**, 390-394 (1997)
78. Ghorpade, V.M., Gennadios, A., Hanna, M.A. and Weller, C.L.: Soy protein isolate/poly(ethylene oxide) films. *Cereal chem.*, **72**, 559-563 (1995)
79. Ghorpade, V.M., Li, H., Gennadios, A. and Hanna, M.A.: Chemically modified soy protein films. *Trans. ASAE.*, **38**, 1805-1808 (1995)
80. Gennadios, A., Ghorpade, V.M., Weller, C.L. and Hanna, M.A.: Heat curing of soy protein films. *Trans. ASAE.*, **39**, 575-579 (1996)
81. Rangavajhyala, N., Ghorpade, V. and Hanna, M.: Solubility and molecular properties of heat-cured soy protein films. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 4204-4208 (1997)
82. Gennadios, A., Rhim, J.W., Handa, A., Weller, C.L. and Hanna, M.A.: Ultraviolet radiation affects physical and molecular properties of soy protein films. *J. Food Sci.*, **63**, 225-228 (1998)
83. Rhim, J.W.: Modification of soy protein film by formaldehyde (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 372-378 (1998).
84. Chen, H.: Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. *J. Dairy Sci.*, **78**, 2563-2583 (1995)
85. Crank, J. and Park, G.S.: Methods of measurement. In *Diffusion in Polymer*. Crank, J. and Park, G.S. (Ed), Academic Press, London and New York. p. 1-39 (1968)

86. Trezza, T.A. and Vergano, P.J.: Grease resistance of corn zein coated paper. *J. Food Sci.*, **59**, 912 (1994)
87. TAPPI: TAPPI Test Methods. Technical Association of the Pulp and Paper Industry, Atlanta, GA, USA (1991)
88. Howard, R.T. and Cohen, M.: Quantitative metallography by point-counting and linear analysis. *Transactions of the American Institute of Mining and Metallurgical Engineers*. **172**, 413-426 (1947)
89. Park, H.J., Bunn, J.M., Weller, C.L., Vergano, P.J. and Testin, R.F.: Water vapor permeabilities of grain protein-based films as affected by mixtures of polyethylene glycol and glycerin plasticizers. *Transaction of the ASAE*, **37**, 1281-1285 (1994)
90. Park, H.J. and Chinnan, M.S.: Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *J. Food Eng.*, **25**, 497-503 (1995)
91. Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J.: Water and glycerol as plasticizer affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *J. Food Sci.*, **58**, 206-211 (1993)
92. Mchugh, T.H. and Krochta, J.M.: Permeability properties of edible films. In *Edible coatings and films to improve food quality*. Krochta, J.M., Baldwin, E.A. and Nisperos-Carriedo, M.O. (Ed.), Technomic Publishing Company, Lancaster, PA, U.S.A., p. 174 (1994)
93. Banker, G.S., Gore, A.Y. and Swarbrick, J.: Water vapor transmission properties of free polymer films. *J. Pharm. Pharmac.*, **18**, 457-466 (1966)
94. 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**, 899-903 (1993)
95. McHugh, T.H. and Krochta, J.M.: Milk-protein-based edible films and coatings. *Food Technol.*, **48**, 97 (1994)