

주박 단백질 농축물로부터 가식성필름의 제조

조승용 · 박장우* · 이철

고려대학교 응용생명환경화학과, *안성산업대학교 식품공학과

Edible Films from Protein Concentrates of Rice Wine Meal

Seung-Yong Cho, Jang-Woo Park* and Chul Rhee

Department of Agricultural Chemistry, Korea University

*Department of Food Technology and Science, Ansung National University

Abstract

Biodegradable edible films were prepared from rice protein concentrates (RPC) made from rice wine meal by alkaline extraction and isoelectric precipitation. The effect of film forming solution pH and plasticizers were studied, and cross-linkers were added to improve mechanical properties and water vapor permeabilities (WVP) of films. Films could be formed within pH 8~11 with tensile strength (TS) of 4.3~5.7 MPa. Films produced under pH 11 had the highest TS (5.7 MPa) and the lowest WVP (0.44 ng·m/m²·s·Pa). Added glycerol, polyethylene glycol 200 (PEG) and its mixture (GLY:PEG=50:50) as plasticizers also affected the mechanical properties and WVP of films. TS and elongation at break (E) of 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 μm were 0.38~0.54 ng·m/m²·s·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. Film strength was improved by the addition of small amount of sodium hydrogen sulfate, succinic anhydride, ascorbic acid and citric acid, whereas TS of films containing 0.5~2.0% of NaCl and CaCl₂ were lower than those without the salts. The highest TS (6.3 MPa) was achieved with films containing 0.1% of succinic anhydride.

Key words: rice wine meal, rice protein concentrate, edible film

서 론

가식성 단백질 필름은 collagen, casein, whey protein, corn zein, wheat gluten, 대두단백 등을 원료로 제조되어 식품내부 물질이동의 차단제 역할을 하며 영양성분, 향미성분, 항산화제 등의 carrier 역할을 한다⁽¹⁾. 가식성필름이 식용가능하며 쉽게 생분해된다는 것은 가식성필름의 가장 큰 장점이지만, 그 기원이 생물 고분자이므로 기존의 플라스틱 고분자 필름에 비해 가격경쟁력이 뒤지는 단점이 있다. 따라서 저가의 자원을 이용하여 가식·생분해성 필름을 제조하는 연구가 최근 모색되어 Yang 등⁽²⁾은 식용유 제조후 부산물로 생성되는 대두박으로부터 단백질을 추출하여 가식성필름을 제조하였으며, Gnanasambandam 등⁽³⁾은 쌀 도정

중 부산물로 생성되는 미강으로부터 가식성필름을 제조하여 보고하였다. 한편, 쌀단백질은 미강으로부터 알칼리 추출하여 등전점 침지법으로 제조하거나⁽⁴⁾ 쌀가루에 효소를 사용하여 전분질을 제거하여 제조하는⁽⁵⁾ 것으로 주요한 단백질 자원이지만 용해도 등의 가능성이 약하여 다른 단백질들에 비해 식품산업에 널리 이용되지 못하고 있다. 쌀단백질을 이용한 새로운 활용 방안으로서 Shih⁽⁶⁾은 쌀가루를 효소처리하여 전분을 제거함으로써 쌀단백질 농축물을 제조하여 pullulan과의 혼합 가식성필름을 제조하였다.

식품산업 부산물로 생성되는 저가의 쌀단백질 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

Corresponding author: Chul Rhee, Department of Agricultural Chemistry, Korea University, Seoul 136-701, Korea

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 Kim⁷⁾은 청주박의 전분질을 이용하여 저식염 고추장을 양조하였다. 그러나 주박의 건물기준 40% 이상인 단백질 성분의 식품소재로서 이용에 대한 연구는 이루어지지 않은 실정이다.

따라서 본 실험에서는 주박 단백질을 식품소재로서 개발하고, 저가의 가식성 필름을 생산하고자 청주제조시 부산물로 얻어지는 주박으로부터 단백질을 추출하여 가식성필름을 제조하였으며, 이때 필름용액의 pH, 가소제의 종류 및 농도에 따른 필름의 기계적특성 및 수분 투과특성을 조사하였으며 가교제를 첨가하여 필름의 성질을 개선하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 주박은 양조회사(백화양조, 군산)에서 청주제조후 부산물로 생성된 것을 수거하여 -20°C에서 냉동 보관한 것을 해동하여 사용하였다.

주박단백질 농축물(Rice protein concentrate, RPC)의 제조

건조하지 않은 주박에 20배(w/w)의 증류수를 가한 후 1.0 N NaOH 용액으로 pH를 11.0으로 조절하여 25°C에서 60분간 vertical stirrer를 이용하여 교반시켜 주박 단백질을 추출하였다. 이를 10분간 원심분리(10,000×g)하여 불용성 물질을 제거한 후 상징액을 1.0 N HCl용액으로 pH 4.3으로 조정하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000×g, 10 min)하여 청주 단백질 침전물을 분리하였다. 얻어진 주박 단백질 침전물을 증류수로 세척하고 동결건조하여 마쇄한 후 n-hexane으로 탈지하고 80 mesh의 표준체를 통과시켜, 이를 시료로 실험에 사용하였다(Fig. 1).

주박 단백질의 추출율

추출율은 Bac의 방법⁸⁾을 수정하여 측정하였다. 즉, 주박 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(10,000×g)하였다. 원심분리 후 얻어진 상징액 4 mL 중의 단백질 함량을 semimicro-Kjeldahl법⁹⁾으로 측정하여 추출율을 다음과

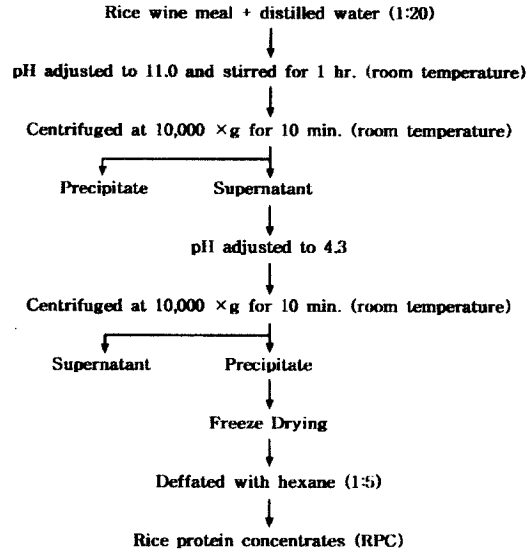


Fig. 1. Flow chart for the preparation of rice protein concentrates (RPC) from rice wine meal.

같이 구하였다.

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

주박 단백질 농축물의 이화학적 특성 분석

주박의 알코올 함량은 주박 100 g을 취하여 300 mL의 증류수를 가하고 이를 증류한 후 증류액 100 mL을 취하여 10°C에서 주정도 부침을 사용하여 측정하였다. 시료의 수분함량 및 조단백질 함량은 A.O.A.C법¹⁰⁾에 따라 105°C 상압건조법과 semimicro-Kjeldahl법으로 측정하였다.

필름용액의 pH에 따른 단백질 용해도의 측정은 주박 단백질 시료 1 g에 50 mL의 증류수를 첨가하고 0.1 N HCl 또는 0.1 N NaOH 용액으로 pH를 2.0에서 11.0으로 조정한 후 추출율 측정법에 준하여 행하였다.

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

각각의 pH에 용해된 단백질의 분자량 분포를 gel permeation chromatography (GPC)를 이용하여 측정하였다. 시료 3 mg을 3 mL의 pH 8.0, 20 mM Tris buffer와 pH 10.0 20 mM glycine buffer에 용해시키고 이를 Sephacryl H-300 컬럼으로 분석하였다. 분석조건은 컬럼(1.9×70 cm)에 buffer 용액을 25 mL/hr의 속도로 용출시켰으며, 2.5 mL씩 분획하여 280 nm에서 각 획분의 단백질 흡광도를 조사하였다.

가식성필름의 제조

일정량의 가소제(glycerol과 PEG 200)를 증류수 100 mL에 용해시킨 후 시료 5.0 g을 첨가하여 2분간 균질화(10,000 rpm, T-25, IKA Labortechnik, Germany) 하였다. 암모니아수를 사용하여 용액의 pH를 조절하고 90°C까지 가열교반하여 필름용액을 제조하고 거품을 제거하기 위해서 실온에서 5분간 방치시킨 후, 이를 Teflon 필름이 코팅된 유리판(25×25 cm) 위에 부은 후 25°C에서 건조하여 주박 단백질 가식성필름을 제조하였다.

가식성필름 제조시 필름용액의 pH에 따른 가식성 필름의 성질 변화를 조사하기 위하여 암모니아수를 사용하여 pH 8.0~11.0으로 조절하면서 가열교반하여 필름용액을 제조하고, 이를 원심분리(10,000×g, 15 min)하여 불용성 단백질을 제거한 후 가소제로 PEG 200을 0.2 g/g RPC의 농도로 첨가하여 필름을 제조하였다.

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 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 첨가하여 필름의 성질에 미치는 가소제의 영향을 조사하였다. 이때 필름용액은 pH 11.0으로 조절하였다.

또한 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°C에 이르렀을 때 가교제를 첨가하였다.

필름의 기계적 특성 측정

형성된 가식성필름의 인장강도 측정을 위해서 80×25 mm로 절단하여 두께 측정용 micrometer (Teclock, Japan)를 이용하여 필름의 두께를 5회 측정한 후, 상대습도가 50%로 조절된 25°C의 항온항습조에 48시간 방치하여 필름의 수분함량을 조절한 후 ASTM D882-90 표준 시험법⁽¹⁰⁾에 따라 Texture analyzer (TA-XT2, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 필름의 인

장강도(tensile strength, TS)와 신장력(elongation, E)을 측정하였다. 이때 초기 grip간의 거리는 50 mm로, crosshead 속도는 500 mm/min으로 조절하였다.

필름의 수분투과도 측정

수분투과도 측정은 70×70 mm의 크기로 절단된 가식성 필름을 상대습도가 50%로 조절된 25°C의 항온항습조에 48 시간 방치하여 필름의 수분 함량을 조절시킨 다음, ASTM E96-90 표준 시험법⁽¹¹⁾에 따라 cup method를 이용하여 수분투과도를 측정하였다. 수분투과도 측정용 cup은 Yang 등⁽²⁾이 언급한 바와 같은 방법으로 제조하였으며 cup 내부에 증류수를 넣고 이를 필름으로 덮은 후, 상대습도가 50%로 조절된 25°C의 항온 항습조에 방치하면서, 필름 층을 통한 cup 내부의 수분의 이동에 기인한 cup의 무게 감소율을 측정하였다. 수분 투과율(Water vapor transmission rate, WVTR)은 cup의 시간에 따른 무게 감소율을 필름의 면적으로 나누어 구하였으며, 이 수분 투과율로부터 수분 투과도(Water vapor permeability, WVP)를 구하였다.

$$WVP = WVTR \left(\frac{L}{\Delta p} \right)$$

이때, L은 필름의 평균 두께, p는 필름을 사이에 둔 cup 내부와 외부의 수증기 부분압의 차이이다.

통계적 분석

SAS (Statistical Analysis System) 통계 package⁽¹²⁾를 사용하여 분산 분석 및 Duncan 다범위 검증(Duncan's multiple range test)을 실시하였다.

결과 및 고찰

주박 단백질의 추출율

쌀을 원료로 한 청주 제조시 부산물로 생성되는 주박은 수분 38.8%, 알코올 15.2% 및 19.6%의 단백질을 함유하고 있어 건물기준으로 42.6%의 높은 단백질 함량을 보이고 있다. 추출용매의 pH를 달리하여 주박으로부터 단백질을 추출할 때의 추출율은 추출용매의 pH가 중성(pH 7.0)일 때 35.2%가 추출되어 가장 낮았으며 알칼리성 혹은 산성일수록 추출율이 증가하여 pH 12.0일 때 45.6%가 추출되어 가장 높은 주박 단백질의 추출율을 나타내었다 (Fig. 2). 그러나 pH 12.0에서는 비단백 알칼리 가용물질의 용해로 인해 추출단백질 농축물의 단백질함량이 낮아지며 이취가 발생하

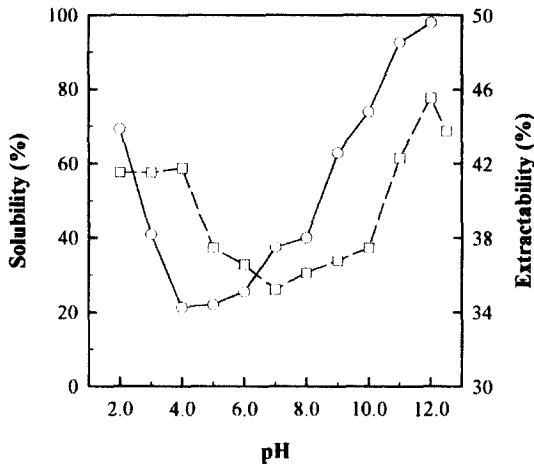


Fig. 2. Extractability (□—□) and solubility (○—○) of rice wine meal protein concentrate with different solution pH.

므로⁽⁴⁾ 본 연구에서는 청주단백질의 추출을 pH 11.0에서 행하였다.

필름용액 pH의 영향

알칼리 추출법에 의해 제조된 주박 단백질 농축물은 단백질 62.5%, 수분 4.6%를 함유하고 있다. 이를 재료로 하여 가식성 필름을 제조할 때 필름용액의 pH에 따른 단백질의 용해도를 조사하여 Fig. 2에 나타내었다. 주박 단백질 농축물의 용해도는 pH 4.0에서 최저치를 보였으며, 필름용액의 pH가 낮아지거나 높아짐에 따라 필름의 용해도는 점차적으로 증가하여 pH 2.0에서는 70%의 단백질이 용해되었고 pH 12.0에서는 단백질의 98%가 용해되었다. 필름용액을 pH 3.0~11.0으로 각각 조절하여 가식성 필름을 제조한 결과 pH 4.0~7.0으로 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 못한 것으로 사료되었다.

필름용액의 pH를 pH 8.0~11.0으로 조절하였을 때 각각의 pH에서 가용성 단백질로 제조한 필름들의 두께는 60.6~70.9 μm 이었다. 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. 한편 두께가 65 μm 인 주박 단백질 필름의 수분투과도

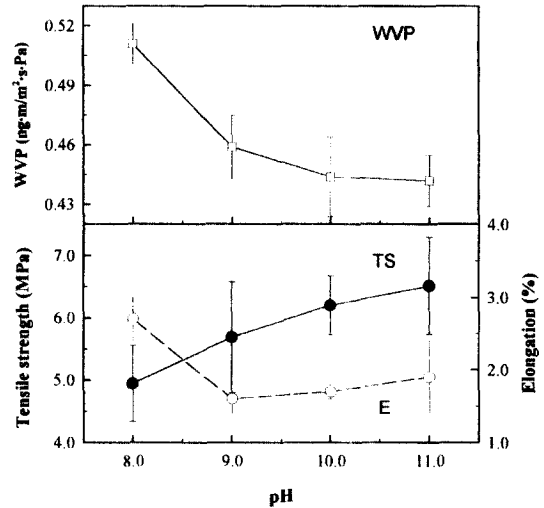


Fig. 3. The effect of film forming solution pH on tensile strength (●—●), elongation (○—○) and water vapor permeabilities (WVP, □—□) of rice protein concentrate film.

는 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 $\text{ng} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}$)는 pH 8.0으로 제조한 필름(0.51 $\text{ng} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}$) 보다 14% 감소되었다(Fig. 3).

필름용액의 pH는 가열과 함께 단백질의 3차 구조가 unfolding하여 망상구조의 필름을 형성하는 과정에 크게 영향을 미친다⁽¹³⁾. 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. 4에서 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 필름형성시 더 많은 부분이 거대분자의 망상구조를 이루므로 필름용액이 pH 8.0일 때보다 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 기계적특성과 수분투과특성에 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 본 실험의 경우 pH 11.0의 필름용액으로 제조한 가식성 필름의 기계적 특성과 수분투과특성이 상대적으로 가

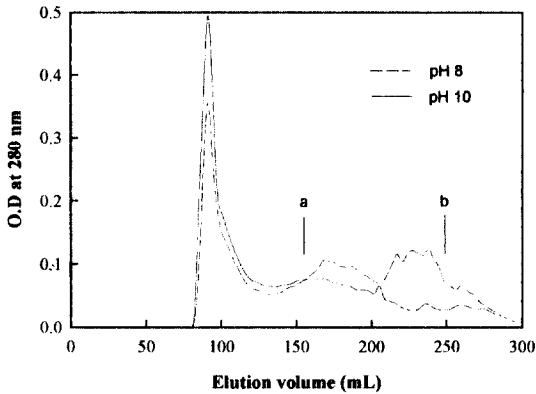


Fig. 4. Gel permeation chromatography of rice protein concentrate on Sephacryl H-300. The column (1.9×70 cm) was eluted with 20 mM Tris buffer (pH 8) and 20 mM glycine buffer (pH 10.0) at a flow rate of 25 mL/hr; 2.5 mL fractions were collected. a: Apoferritin (M.W. 443,000), b: Bovine serum albumin (M.W. 66,900)

장 우수한 것으로 판단되었다.

가소제의 영향

상대습도 50%에서 48시간동안 저장한 주박 단백질 필름의 기계적 특성에 미치는 가소제의 영향을 Table 1에 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⁽²⁾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 1에 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 검증을 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. PEG를 첨가한 필름의 신장률은 0.2~0.8 g PEG/g RPC의 가소제 첨가농도범위에서 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 증가하

Table 1. 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 (μm)	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
0.2	100:0	63.5±6.5 ¹⁾	5.5±0.7 ^a	3.6±0.5 ^b
	50:50	74.3±3.0	5.1±0.4 ^a	6.4±0.6 ^a
	0:100	72.9±4.0	5.1±0.5 ^a	6.9±2.2 ^a
0.4	100:0	57.3±4.3	3.6±0.2 ^a	15.0±3.4 ^b
	50:50	62.3±7.2	2.5±0.2 ^b	23.6±5.7 ^a
	0:100	62.4±7.5	2.5±0.3 ^b	13.3±1.9 ^b
0.6	100:0	71.0±11.1	1.6±0.2 ^a	17.0±3.2 ^b
	50:50	65.8±11.9	1.3±0.1 ^b	24.3±4.1 ^a
	0:100	61.8±5.8	1.4±0.2 ^b	14.0±1.8 ^c
0.8	100:0	64.0±5.9	1.1±0.1 ^a	11.2±0.8 ^c
	50:50	69.7±6.9	1.0±0.1 ^a	18.0±3.0 ^b
	0:100	70.5±10.7	1.0±0.1 ^a	15.1±2.6 ^b

¹⁾Standard deviation.

^{a,b,c}Superscriptive letters indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple comparison within the same plasticizer concentration.

였을 때에는 신장률 증가하였지만, 첨가농도를 0.8 g plasticizer/g RPC로 높였을 때에는 필름의 integrity가 감소하여 필름의 신장률은 오히려 감소하였다.

가소제의 종류 및 농도에 따른 수분투과도의 변화를 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다. 이에 의하면 가소제로서 glycerol과 PEG가 각각 0.2 g/g RPC의 농도로 첨가된 필름의 수분투과도는 각각 0.45 및 0.34 ng·m/m²·s·Pa이었으며 첨가된 가소제의 농도가 0.8 g/g RPC로 높아짐에 따라 이들의 수분투과도는 각각 0.53 및 0.54 ng·m/m²·s·Pa로 증가하여, 필름의 수분

투과에 대한 차단성은 가소제의 함량이 높아짐에 따라 약해지는 것으로 나타났다. 가소제의 첨가에 따른 가식성필름의 수분투과도의 변화를 보고한 여러 연구들에 따르면 글루텐필름⁽¹⁴⁻¹⁵⁾과 같은 곡물단백질 뿐만 아니라 유청 단백질필름⁽¹⁶⁾ 및 셀룰로오스필름⁽¹⁷⁾ 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⁽¹⁸⁾, 단백질과 같은 친수성 고분자필름에 가소제가 첨가됨에 따라 무정형 부분의 고분자 사슬의 밀집된 정도가 약해져 수분투과도는 증가하는 것으로 알려지고 있다.

한편 수분투과도는 Table 3에 나타낸 바와 같이 필름의 두께에 영향을 받으며 필름의 두께가 증가할수록 수분투과도는 증가하는 경향을 나타내었다. 즉, WVP 측정용 필름시료의 두께가 60.2~63.8 μm범위로 비교적 두께가 일정한, 가소제로서 0.6 g GLY/g RPC을 첨가한 시료의 경우, 필름의 두께에 대한 WVP를 직선 회귀한 결과 기울기가 0.0091, r² 값 0.2573으로 나타나 필름의 두께와 수분투과도의 상관성이 낮았지만, 두께가 55~68 μm 범위의 가소제로서 GLY와 PEG를 50 : 50으로 혼합하여 0.6 g plasticizer/g RPC의 농도로 첨가한 시료의 경우 기울기와 r² 값이 0.0109, 0.9954로 각각 나타나 필름의 두께와 수분투과도는 높은 상관성을 지니며 비례하는 것으로 나타났다. Banker 등⁽¹⁹⁾은 친유성 고분자 필름

Table 2. 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 (μm)	Water vapor permeability (ng·m/m ² ·s·Pa)
100 : 0	0.2	56.8 ± 4.0 ¹⁾	0.45 ± 0.03 ^b
	0.4	50.7 ± 3.2	0.44 ± 0.03 ^b
	0.6	62.0 ± 1.9	0.54 ± 0.03 ^a
50 : 50	0.2	54.1 ± 4.1	0.36 ± 0.03 ^c
	0.4	55.3 ± 3.4	0.43 ± 0.05 ^b
	0.6	60.0 ± 7.0	0.51 ± 0.08 ^{ab}
0 : 100	0.2	58.1 ± 2.9	0.34 ± 0.02 ^c
	0.4	56.4 ± 3.0	0.44 ± 0.02 ^b
	0.6	61.2 ± 5.7	0.51 ± 0.06 ^a

¹⁾Standard deviation.

^{a,b}Superscriptive letters indicate significant difference at p < 0.05 by Duncan's multiple comparison within the same plasticizer ratio.

Table 3. Relationship between thickness and water vapor permeability of rice protein concentrate (RPC) films extracted from rice wine meal

Plasticizer ratio (GLY : PEG)	Plasticizer concentration (g/g RPC)	Thickness (μm)	Linear equation	r ² ¹⁾
100 : 0	0.2	56.8 ± 4.0 ²⁾	WVP ³⁾ = 0.0059 × T ⁴⁾ + 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

¹⁾Correlation coefficient.

²⁾Standard deviation.

³⁾Water vapor permeability.

⁴⁾Thickness.

의 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⁽²⁰⁾은 필름의 두께가 증가함에 따라 수분투과도가 증가하는 이유를 필름의 두께가 증가함에 따라 물질이동에 대한 필름의 저항성이 커져 수분투과도 측정점 내부 필름표면의 수증기 부분압이 증가하기 때문인 것으로 보고하였다.

따라서 필름의 두께가 60 μm 일때의 가소제 종류 및 농도에 따른 주박 단백질 필름의 수분투과도를 Fig. 5에 비교하였다. 이에 의하면 필름의 수분투과도는 가소제로 PEG를 첨가하였을 때가 GLY를 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. 즉, 가소제 농도 0.4 g/g RPC일 때 가소제로 GLY와 PEG를 사용한 경우의 수분투과도는 각각 0.52 및 0.45 $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 로 큰 차이를 보였으나 첨가농도가 0.8 g/g protein으로 높아짐에 따라 수분투과도는 각각 0.54 및 0.52 $\text{ng}\cdot\text{m}/$

$\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 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.

가교제(cross-linker)의 영향

가교제를 첨가하여 제조한 필름의 기계적 특성은 첨가한 가교제의 종류와 양에 따라 3.4~6.3 MPa의 인장강도와 5.7~18.3% 범위의 신장률을 나타내었다 (Table 4). Sodium chloride와 calcium chloride를 0.5~2.0% 농도로 첨가한 시료의 경우 인장강도는 대조구 필름에 비해 감소하였으며 첨가농도가 높을수록 감소하였다. 반면에 신장률의 경우 CaCl_2 를 첨가한 시료들은 대조구와 유의차($p<0.05$)를 보이지 않았으나 NaCl 첨가구는 2% 첨가하였을 때 신장률을 80% 향상시킬 수 있었다. 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 5에 나타낸 바와 같이 NaCl 과 CaCl_2 를 2.0% 수준으로 첨가하였을 때에는 각각 0.54 및 0.56 $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 으로 대조구에 비해 증가하였으나, 이 경우를 제외하면 가교제를 첨가하여 제조한 필름의 수분투과도는 가교제의 종류 및 농도에 따라 0.44~0.53 $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ 의 범위를 보여 대조구(0.48 $\text{ng}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$)와 유의차($p<0.05$)가 없는 것으로 나타났다. 본 연구의 결과와 유사하게, Stuchell과 Krochta⁽²¹⁾는 horseradish peroxidase를 가교제로 사용하여 대두단백질 필름을

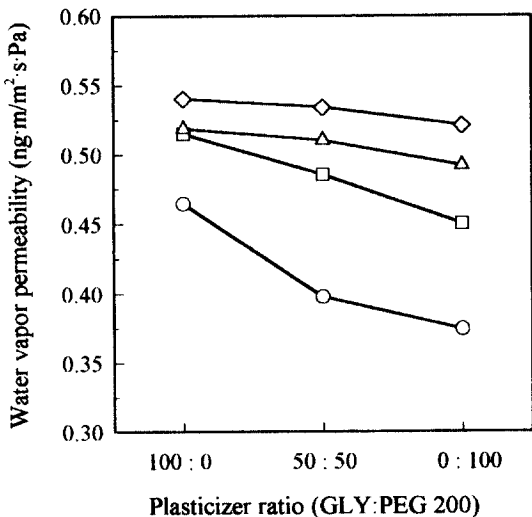


Fig. 5. The effects of plasticizers on the water vapor permeability of edible films from rice protein concentrate (RPC) with thickness of 60 μm . ○—○: 0.2 g plasticizer/g RPC, □—□: 0.4 g plasticizer/g RPC, △—△: 0.6 g plasticizer/g RPC, ◇—◇: 0.8 g plasticizer/g RPC

Table 4. 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 (μm)	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
Control		72.9 \pm 4.0 ¹⁾	5.1 \pm 0.5 ^{ef}	10.0 \pm 2.6 ^{cd}
NaCl	0.5	76.7 \pm 5.9	5.0 \pm 0.4 ^f	12.1 \pm 2.6 ^{bc}
	1.0	80.4 \pm 9.8	4.1 \pm 0.3 ^g	14.2 \pm 2.9 ^b
	2.0	80.2 \pm 12.6	3.4 \pm 0.2 ^h	18.3 \pm 2.5 ^a
CaCl ₂	0.5	74.8 \pm 5.0	4.4 \pm 0.2 ^g	9.3 \pm 3.3 ^{def}
	1.0	75.9 \pm 4.0	4.3 \pm 0.3 ^g	9.3 \pm 4.2 ^{def}
	2.0	81.4 \pm 7.2	3.7 \pm 0.3 ^h	9.4 \pm 2.9 ^{def}
Sodium hydrogen sulfate	0.5	75.0 \pm 5.6	6.1 \pm 0.4 ^{ab}	6.5 \pm 0.8 ^g
	1.0	73.1 \pm 5.5	5.4 \pm 0.5 ^{de}	6.0 \pm 1.3 ^g
	2.0	79.0 \pm 6.2	5.3 \pm 0.4 ^{de}	7.1 \pm 1.4 ^{fg}
Ascorbic acid	0.5	70.8 \pm 11.3	6.1 \pm 0.4 ^{ab}	6.0 \pm 1.4 ^g
	1.0	75.3 \pm 4.0	5.4 \pm 0.3 ^{de}	11.0 \pm 3.0 ^{cd}
	2.0	72.5 \pm 5.2	5.4 \pm 0.4 ^{de}	12.0 \pm 2.2 ^{bcd}
Succinic anhydride	0.1	74.8 \pm 4.7	6.3 \pm 0.2 ^a	9.5 \pm 1.5 ^{cdef}
	0.5	75.9 \pm 5.0	6.1 \pm 0.2 ^{ab}	5.7 \pm 1.1 ^g
	1.0	78.0 \pm 5.0	5.6 \pm 0.3 ^{cd}	7.7 \pm 1.0 ^{fg}
Citric acid	0.1	76.1 \pm 5.3	5.8 \pm 0.4 ^{bc}	9.9 \pm 2.2 ^{cde}
	0.5	75.8 \pm 5.5	5.8 \pm 0.2 ^{bc}	9.5 \pm 1.7 ^{cde}
	1.0	78.7 \pm 5.5	5.2 \pm 0.2 ^{ef}	11.6 \pm 2.5 ^{cd}

¹⁾Standard deviation.^{a,b,c,d,e,f,g}Superscriptive letters in a column indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple comparison.**Table 5. 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 (μm)	WVP ¹⁾ (ng·m/m ² ·s·Pa)
Control		73.9 \pm 9.1 ²⁾	0.48 \pm 0.05 ^{bcd}
NaCl	0.5	72.8 \pm 9.1	0.48 \pm 0.03 ^{bcd}
	1.0	69.5 \pm 4.4	0.48 \pm 0.02 ^{bcd}
	2.0	72.3 \pm 3.9	0.54 \pm 0.03 ^a
CaCl ₂	0.5	70.6 \pm 2.6	0.47 \pm 0.01 ^{cd}
	1.0	71.8 \pm 2.0	0.47 \pm 0.03 ^{cd}
	2.0	78.8 \pm 4.8	0.56 \pm 0.01 ^a
Sodium hydrogen sulfate	0.5	76.8 \pm 6.4	0.47 \pm 0.05 ^{cd}
	1.0	73.8 \pm 5.9	0.48 \pm 0.02 ^{bcd}
	2.0	79.9 \pm 7.2	0.53 \pm 0.05 ^{ab}
Ascorbic acid	0.5	71.9 \pm 6.5	0.48 \pm 0.02 ^{bcd}
	1.0	72.9 \pm 1.7	0.47 \pm 0.03 ^{bcd}
	2.0	71.4 \pm 9.3	0.46 \pm 0.06 ^{cd}
Succinic anhydride	0.1	70.8 \pm 1.1	0.44 \pm 0.02 ^d
	0.5	70.8 \pm 5.0	0.47 \pm 0.01 ^{bc}
	1.0	76.2 \pm 6.4	0.51 \pm 0.06 ^{abc}
Citric acid	0.1	76.2 \pm 1.3	0.48 \pm 0.02 ^{bcd}
	0.5	73.2 \pm 3.0	0.45 \pm 0.02 ^{cd}
	1.0	76.0 \pm 2.9	0.48 \pm 0.02 ^{cd}

¹⁾Water vapor permeability.²⁾Standard deviation.^{a,b,c,d}Superscriptive letters indicate significant difference at p<0.05 by Duncan's multiple comparison.

제조하였을 때 필름의 수분투과도는 효소처리하지 않은 것과 차이가 없었다고 보고하였으며, Ghorpade 등⁽²²⁾은 대두단백질을 acylation 시키거나 혹은 CaCl₂를 첨가하여 단백질을 가교결합하여 필름을 제조하였을 때 기계적특성은 개선되었으나 수분투과도는 차이가 없었다고 보고하였다. 이들 결과로부터 가교제를 사용하여 화학적으로 단백질을 가교결합하여 필름을 제조하더라도 친수성 단백질필름의 수분투과도에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 보인다.

요 약

청주 제조시 부산물로 생성되는 주박으로부터 추출한 단백질 농축물을 이용하여 가식성 필름을 제조하였다. 이때 필름용액의 pH, 가소제의 종류와 농도, 가교제의 첨가가 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 ng·m/m²·s·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 μm인 필름의 수분투과도는 0.38~0.54 ng·m/m²·s·Pa로 나타났으며, 가소제의 첨가량이 적을수록, 일정 가소제 농도에서는 PEG 200의 비율이 클수록 수분투과에 대한 차단성이 우수하게 나타났다. 가교제로 sodium chloride와 calcium chloride를 0.5~2.0% 농도로 첨가하였을 때 인장강도는 대조구 필름에 비해 감소하였으나 succinic anhydride를 0.1% 첨가하였을 때 필름의 인장강도는 6.3 MPa로서 대조구에 비해 25.5% 증가시킬 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 1996년도 농림수산특정연구사업의 지원으로 수행된 연구결과와 일부로서

이에 감사드립니다.

문 헌

1. Kester, J.J. and Fennema, O.: Edible films and coatings: a review. *Food Technol.*, **40**, 47-59 (1986)
2. 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)
3. Gnanasambandam, R., Hettiarachchy, N.S. and Coleman, M.: Mechanical and barrier properties of rice bran films. *J. Food Sci.*, **62**, 395-398 (1997)
4. Gnanasambandam, R. and Hettiarachchy, N.S.: Protein concentrates from unstabilized and stabilized rice bran: preparation and properties. *J. Food Sci.*, **60**, 1066-1069 (1995)
5. Morita, T. and Kiriyaama, S.: Mass production method for rice protein isolate and nutritional evaluation. *J. Food Sci.*, **58**, 1393-1396 (1993)
6. Shih, F.F.: Edible films from rice protein concentrate and pullulan. *Cereal Chem.*, **73**, 406-409 (1996)
7. 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 (1991)
8. Bae, S.H.: Influences of extraction pH on the functionality of soybean protein isolate. *Ph. D. Thesis*, Korea University, Seoul, Korea (1993)
9. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. (1984)
10. 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)
11. 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)
12. SAS Institute: *SAS/STAT User Guide*, release 6.30 edition (1988)
13. 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)
14. 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)
15. 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)
16. 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)
17. 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 (1993)
18. 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)
19. Banker, G.S., Gore, A.Y. and Swarbrick, J.: Water vapor transmission properties of free polymer films. *J. Pharm. Pharmac.*, **18**, 457-466 (1966)
20. 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)
21. Stuchell, Y.M. and Krochta, J.M.: Enzymatic treatment and thermal effects on edible soy protein films. *J. Food Sci.*, **59**, 1332-1337 (1994)
22. Ghorpade, V.M., Li, H., Gennadios, A. and Hanna, M. A.: Chemically modified soy protein films. *Transaction of the ASAE*, **38**, 1805-1808 (1995)
-

(1998년 3월 18일 접수)