

어분단백질 필름의 물리적 특성에 미치는 어분단백질 추출조건의 영향

유병진¹ · 심재만

강릉대학교 식품과학과

Effects of Extracting Conditions on the Physical Properties of Fish Meal Protein Isolate Film

Byeong-Jin You[†] and Jae-Man Shim

Dept. of Food Science, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

Abstract

To determine optimal conditions for preparing protein isolate film from fish meal, the water vapor permeability (WVP), tensile properties and solubility of fish meal protein isolate (FMPI) film were measured. FMPI was extracted from fish meal under conditions of various extraction times at 60°C. Extracting time little affected to WVP of FMPI film. The film added with glycerol as plasticizer showed higher WVP than sorbitol added. As extracting time increased up to 1 hr, tensile strength and elongation were increased. While in more extracting time than 1 hr, increasing extracting time made tensile strength and elongation be decreased. The relationships between soluble protein amount and both of tensile strength and elongation showed negative correlations. The correlation of soluble protein amount and tensile strength showed higher value ($r^2=0.83$) than that of elongation ($r^2=0.62$).

Key words: fish meal protein isolate film, water vapor permeability, tensile properties

서 론

가식성 및 생분해성 필름은 식품과 외부와의 물질이동을 차단하고, 영양성분, 향기성분, 항산화제 등의 carrier 역할을 한다(1). 기존의 플라스틱 고분자 필름은 생분해성 필름에 비해 가격 경쟁력 및 물리적 성질이 우수하기는 하지만(2,3), 생분해성 필름은 단백질과 다당류 및 지질을 주원료로 하여 이들의 단독 또는 조합에 의해 만들어지고, 생물학적 분해가 용이하고 식용 가능하여 포장재로 인한 환경오염을 줄일 수 있다는 것이 생분해성 필름의 가장 큰 장점이다. 따라서 저가의 자원을 이용하여 가식성 및 생분해성 필름에 대한 연구에 관심이 집중되고 있다. 특히 Griffin(4)은 쌀, 밀, 콩, 감자, 옥수수, 칩 등의 전분을 이용하여 생분해성 필름을 제조하여 그 특성을 보고하였으며, Yang 등(5)은 식용유 제조후 부산물로 생성되는 대두박으로부터 단백질을 추출하여 가식성 필름을 제조하는 방법을 보고하였고, Gnanasambandam 등(6)은 쌀 도정중 부산물로 생성되는 미강으로부터 가식성 필름을 제조하여 그의 기계적 특성을 보고하였다.

단백질 필름의 인장강도는 단백질 사슬 상호간의 결합력에 따라 영향을 받으므로 단백질 분자 상호작용에 관련된 결합에 영향을 미치는 pH의 변화, 염과 용매의 첨가, 열처리

등이 단백질 필름의 인장강도에 영향을 미치는 요인으로 작용한다(7). Lieberman과 Gilbert(8)는 sorbitol, glycerol 및 polyethylene glycol같은 가소제를 생분해성 필름 제조 시에 첨가하면 단백질분자간의 수소결합을 감소시키고 분자상호간의 공간을 증가시켜 인장강도를 감소시킨다고 하였다. 또한 소맥 gluten 필름에서는 단백질의 축쇄결합제로 알려진 glutaraldehyde를 필름 제조 시에 첨가하면 필름의 인장강도를 증가시킨다고 하였고(9), Gennadios 등(10)은 단백질 hydrocolloid를 알칼리용액(pH 9-13)으로 조절하여 제조한 필름이 산성(pH 2~4)으로 조절하여 제조한 필름보다 인장강도가 높다고 하여 단백질 필름의 인장강도에 영향을 미치는 주된 요인들이 단백질 분자의 용해도라고 보고하고 있다.

현재 이용 가능한 천연자원 중에 비교적 생산량이 많고 가격이 저렴하여 원료공급과 취급이 용이한 어분을 생분해성 포장재의 원료로 사용하는 것은 사료로만 사용되고 있는 어분단백질의 부가가치를 높힐 뿐 아니라, 간접적으로는 일시 다핵성 어종의 처리를 위한 어분생산을 긍정적으로 촉진할 수 있는 계기가 될 수 있을 것이다. 따라서 본 실험은 어분에서 단백질을 추출할 때 추출조건에 따라 단백질의 물리화학적 성질과 기능성이 영향을 받기 때문(11)에 어분단백질의 추출조건을 달리하여 추출된 단백질로 필름을 가공하였을

[†]Corresponding author. E-mail: ybjun@kangnung.ac.kr
Phone 82-33-640-2331, Fax 82-33-640-2330

때 추출조건이 필름의 인장강도, 신장률, 수증기투과도 및 용해도에 미치는 영향에 대하여 조사하였으므로 보고하는 바이다.

재료 및 방법

Fish meal protein isolate(FMPI)의 제조

현대 특수사료 주식회사(강릉시 하시동)에서 구입한 어분을 You와 Lee(11)의 방법에 따라 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 0.2 N NaOH 용액을 가하여 60°C 항온수조에서 추출시간을 달리하여 추출한 뒤 원심분리하였다. 원심 분리하여 얻은 상등액을 중화시켜 진공 동결하여 본 실험에 사용하였다.

필름의 조제

필름은 Fig. 2에서 나타낸 바와 같이 FMPI를 일정한 농도별로 용해시킨 후 pH를 조절하고 가소제를 첨가하여 100 mL로 정용한 용액을 60°C 항온수조에서 10분 동안 shaking한 후 acrylated borone sulfide로 코팅된 플라스틱 판에 성형하여 60°C에서 건조시켰다. 가소제 종류별로 필름을 제조할 때는 glycerol(MW. 92.09, Sigma Chemical Co.) 및 D-sorbitol(MW. 182.12, Sigma Chemical Co.)을 각각 가소제로 사용하여 FMPI 5%, 가소제 2.5%, pH 11로 하여 40 mL 성형하였다.

필름의 수증기 투과도

필름의 수증기 투과도는 ASTM의 방법(12)에 따라 측정하였다. 즉, 조제된 필름을 25°C, 52% 상대습도의 항온항습

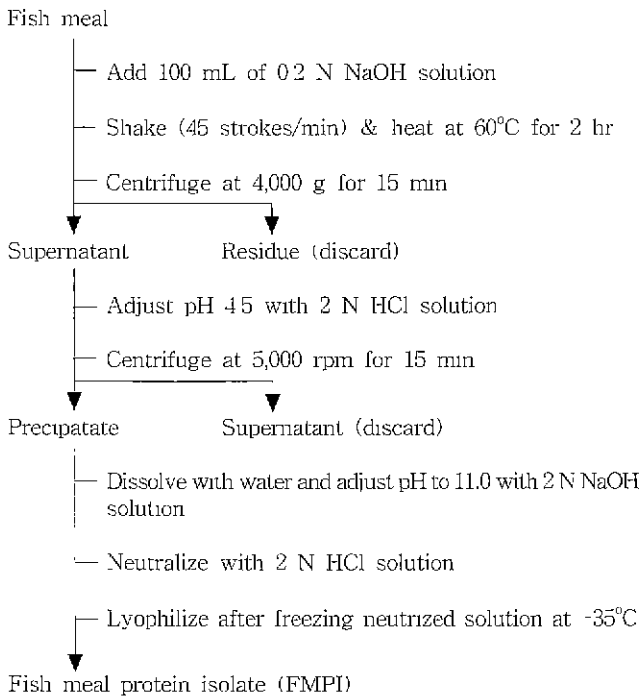
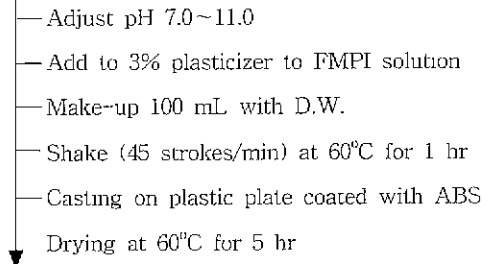


Fig. 1. Diagram for preparation of fish meal protein isolate.

Fish meal protein isolate (FMPI) solution



Fish meal protein isolate film

Fig. 2. Diagram for preparation of FMPI film.

incubator에서 24시간 동안 방치시킨 후 필름을 수증기 투과 측정용 cup(φ=45 mm, d=25 mm)에 밀착시켰는데, 이때 공기 누출을 방지하기 위하여 바세린을 사용하였다. 필름을 밀착시킨 후 일정량의 CaCl₂를 컵용기에 넣고 필름이 밀착된 뚜껑으로 컵을 밀폐시키고 상대습도가 75%로 조절된 chamber에 넣었다. 그리고 chamber를 25°C로 유지되는 incubator 속에서 시간에 따른 무게의 증가율이 일정해지는 시간에서부터 일정시간이 경과됨에 따라 무게의 변화량으로써 수증기 투과도(water vapor permeability, WVP)를 식(1)에 따라 계산하였다.

$$WVP = \frac{C \Delta X}{A \Delta P} = \frac{(g)(mil)}{(m^2)(day)(mmHg)} \quad (1)$$

식(1)에서 C, ΔX, A 및 ΔP는 각각 시간에 따른 cup의 무게 증가율, 필름의 두께, 필름의 면적 및 필름을 사이에 두고 cup 내부(10%, RH)와 외부(75%, RH)의 수증기 부분압차이다.

인장강도 및 신장률 측정

조제된 필름의 인장강도 및 신장률은 ASTM의 방법(13)에 따라 rheometer(Fudo, VRN 2010J, Japan)로써 측정하였다. 조제된 필름을 가로 1.5 cm, 세로 3 cm의 실험규격으로 조정하고, 상대습도 53%, 25°C incubator에서 24시간 동안 안정화시킨 후 측정하였다. Rheometer의 조건에서 plate speed가 5.0 cm/min이었으며 plate의 힘은 10 kg이었다. 인장강도는 필름의 끊어질 때의 강도에 대한 필름의 폭과 필름의 두께를 곱한 값의 비(Pa)로 나타내었으며 신장률은 필름이 절단되기 시작할 때까지 늘어난 길이에서 처음 필름의 길이를 뺀 값에 대한 처음 필름의 길이의 백분율로 계산하였다.

필름의 용해도

필름의 용해도는 Stuchell와 Krochta의 방법(14)에 따라 Fig 3에 나타낸 방법으로 측정하였다. 제조된 필름을 가로 1.5 cm, 세로 2.5 cm로 절단하여 진공 건조시킨 후 증류수에 용해되는 양은 AOAC법(15)에 따른 semi-micro Kjeldahl법의 의하여 단백질 용해도를 측정하였다. 또한 총 용해도는 증류수에 용해시킨 필름을 다시 진공 건조시켜 처음 필름의 무게와의 차이에 의해 백분율(%)로 나타내었다.

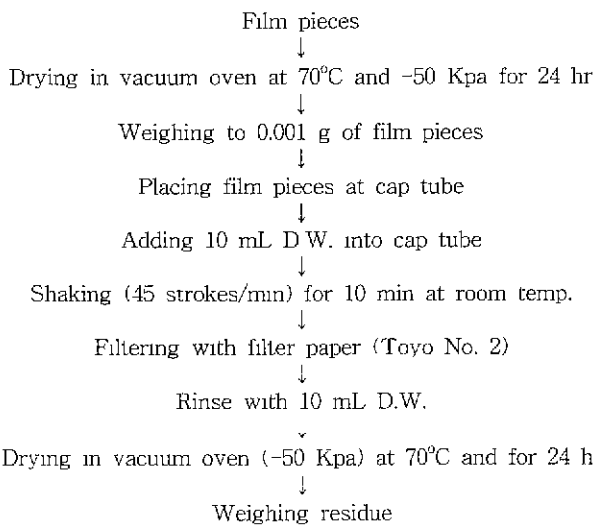


Fig. 3. Method for determining total soluble material of FMPI film.

필름의 두께측정

필름의 두께는 micrometer(Teclock, Jeweled, Japan)로써 8곳을 반복 측정하여 평균하였다.

결과 및 고찰

어분 단백질 필름의 수증기 투과도

FMPI의 추출시간에 따른 glycerol 및 sorbitol 첨가 필름에 대한 수증기 투과도를 각각 Table 1 및 2에 나타내었다. Table 1에서 알 수 있듯이 추출시간이 15분에서 10시간으로 달리하였을 때 필름의 수증기 투과도는 184~231 g·mils/m²·day·mmHg로 추출시간의 변화에 따른 필름의 수증기 투과도는 일정한 경향을 나타내지 않았다.

Table 2에서는 추출시간에 따른 sorbitol 첨가 필름의 수증기 투과도를 나타낸 것으로 FMPI의 추출시간이 15, 30분, 1, 2, 3, 5 및 10시간일 때 각각 120, 102, 85, 100, 107, 96, 및 101 g·mils/m²·day·mmHg로 추출시간 증가함에 따라 glycerol이 첨가된 필름과 마찬가지로 일정한 경향은 보이지 않

Table 1. Effects of extracting time on water vapor permeability (WVP) of FMPI¹⁾ film prepared with glycerol

Extracting time (hr)	Film thickness (mils ³⁾)	WVP (g·mils/m ² ·day·mmHg)
0.16	17.62±0.09 ²⁾	811±16
0.50	18.26±1.16	840±14
1.00	17.24±3.28	848±14
2.00	16.74±0.20	676±19
3.00	18.66±0.09	792±23
5.00	16.18±0.37	845±16
10.00	15.84±2.21	697±3

¹⁾Fish meal protein isolate.

²⁾Mean values±S.D. (n=3)

³⁾Represents 1/1,000 inches.

Table 2. Effects of various extracting time on water vapor permeability (WVP) of FMPI¹⁾ film prepared with sorbitol

Extracting time (hr)	Film thickness (mils ³⁾)	WVP (g·mils/m ² ·day·mmHg)
0.16	14.24±0.51 ²⁾	436±5
0.50	13.62±2.07	374±8
1.00	11.16±2.94	311±13
2.00	13.66±0.99	368±6
3.00	14.68±0.45	396±9
5.00	11.94±0.20	351±4
10.00	13.32±1.58	370±11

¹⁾Fish meal protein isolate.

²⁾Mean values±S.D. (n=3).

³⁾Represents 1/1,000 inches

았다. FMPI의 추출시간의 증가에 따른 필름의 수증기 투과도의 변화가 일정한 경향을 나타내지 않은 것은 단백질의 추출시간이 증가하면 추출되는 단백질의 분자량이 감소된다(11)는 사실을 고려해 볼 때 단백질 분자량의 크기는 단백질 필름의 수증기 투과도에 미치는 영향은 크지 않을 것으로 판단되었다.

또한 Table 1 및 2에서 알 수 있듯이 가소제로서 glycerol을 첨가한 필름의 수증기 투과도가 sorbitol 첨가 필름보다 수증기 투과도가 높게 나타나는 이유는 sorbitol의 친수성이 glycerol보다 크다는 보고(16)로 미루어 보아 sorbitol 필름에 흡수된 수분의 증발 속도가 glycerol 첨가 필름보다 낮기 때문으로 생각된다.

어분 단백질 필름의 인장강도 및 신장률

가소제로서 glycerol을 첨가할 때 FMPI의 추출시간의 변화에 따른 필름의 인장강도와 신장률을 Fig. 4a에 나타내었다. 인장강도에 있어서 추출시간이 0.16시간일 때는 0.069 Mpa이었던 것이 추출시간이 증가함에 따라 인장강도도 증가하여 1시간일 때 0.204 Mpa로 최고 값에 이르렀다가 그 이후에는 감소하여 10시간 추출하였을 때에는 0.022 Mpa로 최소치를 나타내었다. 그리고 신장률의 변화에서도 추출시간 0.16시간일 때 91.5%이었던 것이 추출시간이 증가할수록 증가하여 1시간 추출할 경우 141.5%를 나타내 최대값에 이르렀고, 그 이후 추출시간이 경과함에 따라 감소하여 추출 10시간일 때 108.0%를 보였다. 또한 가소제로서 sorbitol을 첨가할 때 FMPI의 추출시간에 따른 필름의 인장강도 및 신장률을 Fig. 4b에 나타내었다. 인장강도의 경우 추출시간 0.16시간 일 때 0.241 Mpa이었던 것이 추출시간이 증가함에 따라 증가하여 1시간 추출할 때 0.585 Mpa로 최대값을 나타내었다가 그 이후 추출시간이 경과함에 따라 감소하여 추출 시간이 10시간일 때 0.204 Mpa로써 최저값을 나타내었다. 신장률에 있어서도 비슷한 경향을 나타내 2시간 추출할 때 162.2%를 나타내 최고값을 보였다. 이와 같이 glycerol 및 sorbitol이 첨가된 필름에서 추출 1 및 2시간일 때 가장 높은 인장강도와 신장률을 나타내는 것은 추출시간이 1시간 미만일 경우에는 NaOH 용액에 추출되는 어분 단백질이 충분히 unfold-

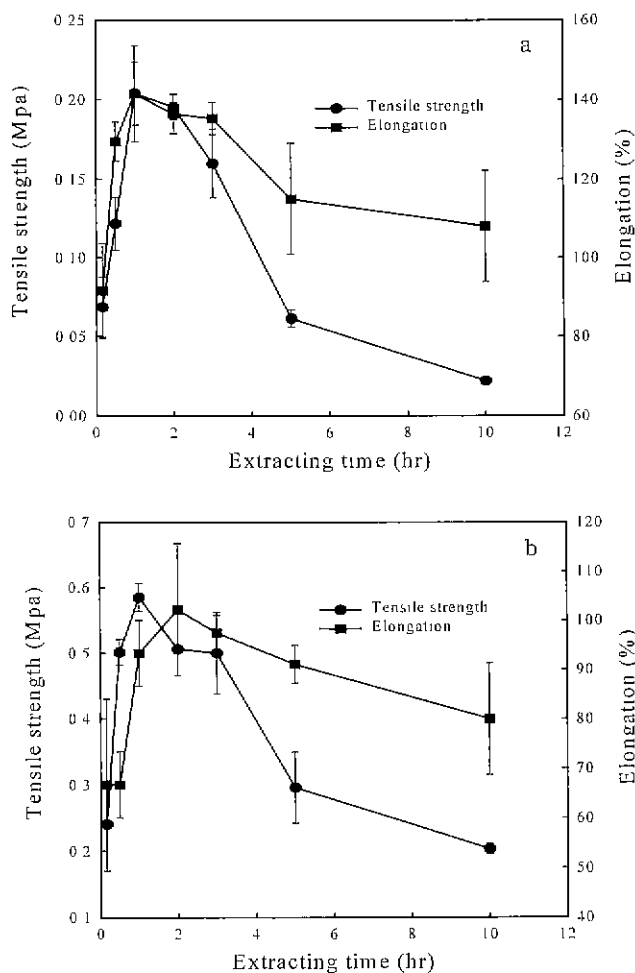


Fig. 4. Effects of extracting time on tensile properties of FMPI film made with plasticizers. a: glycerol, b: sorbitol.

ing되지 않아서 단백질 분자 상호간의 결합 부위가 적거나, 친수성이 높은 결합부위가 상대적으로 많이 생성되므로 단백질 분자간의 결합보다는 단백질 분자와 가소제와의 결합이 더 많이 형성되기 때문으로 생각되며(8), 추출시간이 1시간 이상에서 감소하는 경우는 단백질 분자는 충분히 unfolding되어서 단백질 분자간의 결합부위는 증가하지만 단백질의 가수분해로 인하여 단백질 분자의 크기가 작아져(11) 필름의 인장강도를 감소시켰기 때문으로 생각된다.

인장강도에서는 glycerol 첨가 필름이 sorbitol 첨가의 경우보다 낮게 나타났으며 신장률의 경우에는 이와 반대로 glycerol 첨가 필름이 sorbitol 경우보다 높게 나타나 어분 단백질 필름의 인장강도 및 신장률을 조절하기 위하여 첨가하는 가소제의 종류를 선택하는 것이 중요하며 단백질 필름의 인장강도와 신장률은 단백질의 결합력에 영향을 받는 것으로 생각된다.

어분 단백질 필름의 용해도

Glycerol이 첨가된 필름의 추출시간에 따른 총 용해물질과 용해단백질의 변화를 Fig. 5a에 나타내었다 총 용해물질의

변화는 FMPI의 추출시간이 10분일 때 58.50%이었던 것이 추출시간이 증가함에 따라 감소하여 1시간 추출일 때 52.14%로 최저값을 보이다가 그후 추출시간이 계속 증가함에 따라 증가하여 10시간 추출의 경우 60.38%로 최대값을 나타내었다. 용해단백질의 경우에 있어서도 총 용해물질의 경향과 비슷한 경향을 나타내 추출시간 0.16일 때 15.49%이었던 것이 추출시간이 증가함에 따라 감소하여 추출 1시간일 때 11.59%로 최소값을 보이고 추출시간이 그 이상 경과할 경우에 증가하여 10시간 추출에서는 18.76%로 최대값을 나타내었다. 이와 같이 1시간 동안 추출한 FMPI로써 제조한 필름의 용해도가 가장 낮게 나타난다는 것은 Fig. 4a의 결과에서 필름의 인장강도가 가장 크다는 결과를 고려해보면 이 조건으로 추출된 FMPI로써 제조된 필름에서는 단백질 분자간의 결합력이 비교적 강하고 소수성이 크다는 것을 의미한다

Sorbitol 첨가 필름의 추출시간에 따른 총 용해물질과 용해단백질의 변화를 Fig. 5b에 나타내었다 Glycerol 첨가 필름에서와 비슷하여 총 용해물질의 경우에는 추출시간이 0.16일

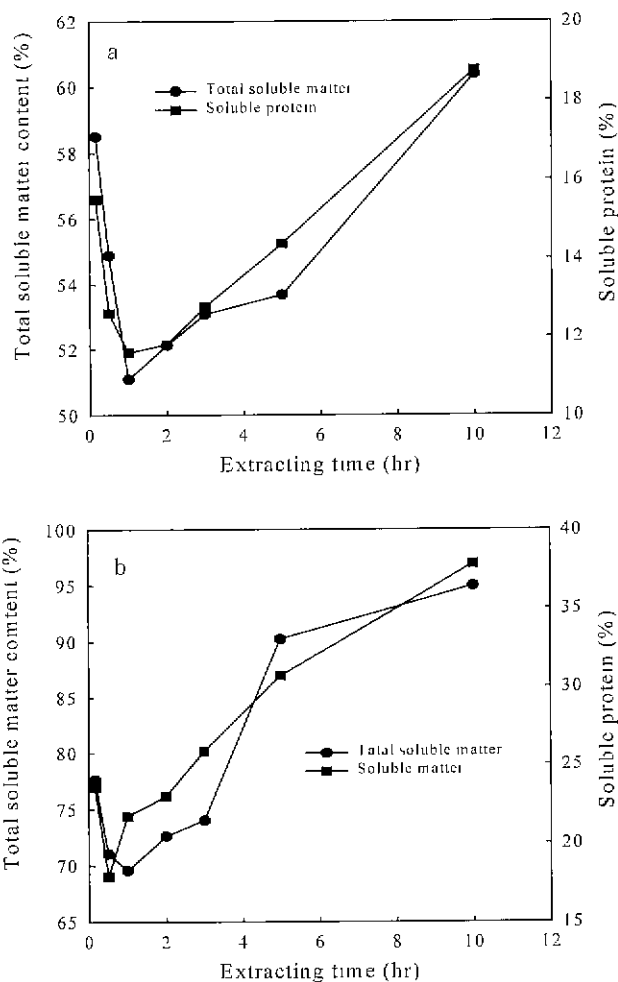


Fig. 5. Effects of extracting time on total soluble matter and soluble protein of FMPI film made with plasticizers. a: glycerol, b: sorbitol

때 77.63%이었던 것이 추출시간이 경과함에 따라 감소하여 1시간 추출일 때 69.58%로 가장 낮은 값을 보였다가 그 이후 추출시간의 증가에 따라 증가하여 10시간 추출일 때에는 94.99%로 최대값을 보였다. 용해단백질의 변화에 있어서는 추출시간 0.50일 때 17.89%로 최소값을 보였고 10시간 추출에서 37.81%로 최대값을 보였다. 이와 같이 sorbitol이 첨가된 필름의 용해도가 추출시간 30분~1시간에서 가장 낮게 나타난 것으로 보아 필름을 구성하는 단백질 분자간의 결합력은 30분~1시간 추출하여 제조된 어분 단백질에서 가장 크다는 것을 알 수 있었다.

Fig. 5에서 알 수 있듯이 sorbitol 첨가 필름이 glycerol 첨가 필름보다 총 용해물질과 용해단백질량이 더 크게 나타난 이유는, 용해도는 수증기 투과도와는 달리 수분에 대한 내성을 나타낸다는 것을 고려하면 sorbitol이 glycerol보다 친수성이 크기 때문으로 생각된다(16).

인장강도, 신장률 및 용해도의 상관관계

Glycerol을 첨가하여 제조된 필름의 단백질 용해도, 인장강도 및 신장률의 상관관계를 Fig. 6에 도시하였다. Glycerol이 첨가되어 제조된 필름의 단백질 용해도가 11.59%에서 18.76%로 용해된 단백질의 양이 증가함에 따라 인장강도와 신장률은 각각 0.204~0.022 Mpa 및 141.5~108.0%으로 일정한 비율로 감소하였다. Fig. 6에서 나타낸 인장강도와 신장률의 회귀계수가 각각 0.8246 및 0.6210으로 미루어 보아 필름의 단백질이 용해된 양은 인장강도와 밀접한 상관관계를 나타내었으나 신장률과는 큰 상관성을 나타내지 않았다. 또한 FMPI 필름의 인장강도와 신장률이 필름단백질의 용해도가 증가함에 따라 감소하는 것은 필름을 형성하고 있는 단백질 분자간의 결합 중에서 필름의 인장강도와 신장률에 관계하는 결합

은 소수성이 크기 때문이라고 생각한다.

요 약

어분으로부터 추출한 어분 단백질을 이용하여 가식성 및 생분해성 필름을 제조할 때, 어분 단백질의 추출 시간을 달리 하여 제조된 필름의 수증기 투과도, 인장강도, 신장률 및 용해도의 변화를 측정된 결과는 다음과 같다. 어분단백질 추출 시간이 FMPI 필름의 수증기 투과도에 미치는 영향은 크지 않았다. 가소제로써 glycerol을 첨가한 필름의 수증기 투과도가 sorbitol을 첨가한 필름보다 높았다. 인장강도와 신장률은 어분 단백질의 추출시간이 증가함에 따라 증가하다가 1시간 일 때 가장 높았으며 그 이상 추출시간이 증가함에 따라 감소하였다. 총 용해물질의 함량과 수용성 단백질 함량은 어분 단백질의 추출시간이 증가함에 따라 감소하다가 1시간일 때 가장 낮았으며, 추출시간이 1시간 이상 증가함에 따라 증가하였다. 필름의 수용성 단백질 함량과 인장강도와 신장률은 음의 상관관계를 나타내었으며 신장률($r^2=0.62$)보다는 인장강도($r^2=0.83$)가 수용성 단백질의 함량과 밀접한 상관관계를 나타내었다.

감사의 글

이 연구는 2000년도 강릉대학교 학술연구조성비에 의해서 수행되었으므로 지원해 주신 강릉대학교에 감사드립니다.

문 헌

1. Kester, J.J. and Fennema, O.: Edible films and coatings. A review. *Food Technol*, **40**, 47-59 (1986)
2. Guibert, S.: Technology and application of edible protective films. In *Food Packaging and Preservation, Theory and Practice*, Mathloath, M. (ed.), Elsevier Applied Science Pub. co., London, England, p.371 (1986)
3. Gennadios, A. and Weller, C.L.: Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technol.*, **44**, 63-69 (1990)
4. Griffin, J.L.: Biodegradable fillers in thermoplastics. *Advance in Chem. Series Amer Chem Soci.*, Washington D. C., p 159-170 (1974)
5. 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)
6. Gnanasambandam, R., Hehlarachy, N.S. and Coleman, M.: Mechanical and barrier properties of rice bean films. *J. Food Sci.*, **62**, 395-398 (1997)
7. Cheftel, J.C., Cuq, J. and Lorient, D.: Amino acids, peptides, and protein. In *Food Chemistry*. 2nd ed., Fennema, O.R. (ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, p.245 (1985)
8. Liberman, E.R. and Gilbert, S.G.: Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture, and plasticizer content. *J. Polymer Sci.*, **41**, 33-39 (1973)
9. Gennadios, A., Weller, C.L., Hanna, M.A. and Froning, G.W.: Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *J. Food Sci.*, **61**, 585-588 (1996)
10. Gennadios, A., Brandenburg, A.H., Weller, C.L. and Testin,

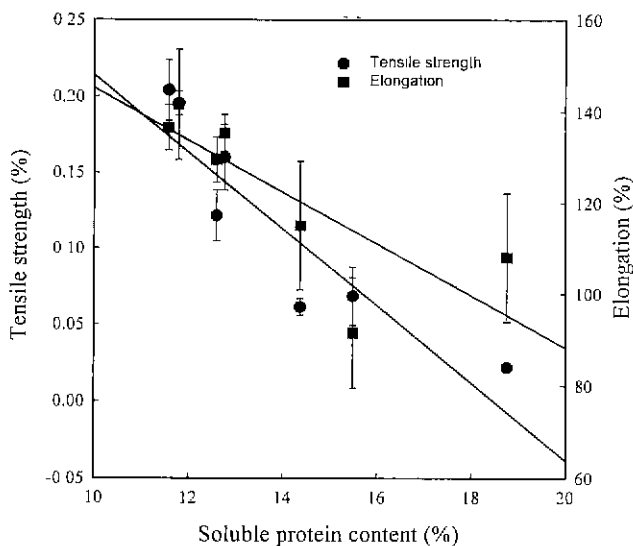


Fig. 6. Relationship between tensile properties and soluble protein content of FMPI film.

● $Y = -0.470X - 0.0252$; $r^2 = 0.829$.

■ $Y = -5.634X + 200$; $r^2 = 0.621$.

- R.F. : Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *J. Agric. Food Chem*, **41**, 1835-1838 (1993)
11. You, B.J. and Lee, K.H. Improving functional properties of fish meal protein. *Bull. Korean Fish Soc.*, **23**, 401-406 (1990)
 12. ASTM : Standard test methods for water vapor transmission of materials. E-96-95. In *Annual Book of American Standard Testing Methods*, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA (1995)
 13. ASTM . Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting D882-95a. In *Annual Book of American Standard Testing Method*, American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA (1995)
 14. Stuchell, Y.M. and Krochta, J.M. : Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films *J. Food Sci.*, **59**, 1332-1335 (1994)
 15. AOAC : Nitrogen (total) in fertilizers. In *Official Methods of Analysis*, 15th ed, Assoc. of Offic. Anal. Chem., Arlington, p 17 (1990A)
 16. Labuza, T.P. Moisture Sorption : In *Practical Aspects of Isotherm Measurements and Use*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, p.141 (1984)

(2001년 2월 15일 접수)