

## 키토산/젤라틴 블랜드 폴리머의 물리적 및 열적 특성에 대한 연구

김병호 · 박장우\*

국립한경대학교 식품생물공학과 및 식품생물산업연구소

### Studies on the Physical and Thermal Properties of the Chitosan/Gelatin Blend

Byung-Ho Kim and Jang-Woo Park\*

Department of Food and Biotechnology, and Food and Bio-industrial Research Center,  
Hankyong National University

To mass-produce useful biopolymer films, chitosan/gelatin blend films were prepared by solution casting method. Effects of mixing ratio, tensile strength (TS), elongation (E) at break, total color difference ( $\Delta E$ ), opacity, water vapor permeability (WVP), oxygen permeability (OP), and thermal properties on chitosan/gelatin blend films properties were investigated. TS, E,  $\Delta E$ , opacity, WVP, and OP values were 58.24-22.01 MPa, 13.11-24.67%, 1.86-17.45, 0.3104-1.2161 nmO.D./ $\mu\text{m}$ , 1.6875-1.7225 ng · m/m<sup>2</sup> · s · Pa, and  $2.2380 \times 10^{-7}$ - $2.2975 \times 10^{-7}$  mL ·  $\mu\text{m}^2$  · s · Pa, respectively. TS of blend films decreased, while E,  $\Delta E$ , and opacity increased with increasing chitosan content. WVP of blend films did not show any significant relationship with mixing ratio and thickness of blend films. Miscibility of films was examined over entire composition range by thermogravimetric analyzer (TGA) and dynamic mechanical analyzer (DMA). TGA results showed gelatin is more thermally stable than chitosan and some interactions among functional groups of two biopolymers. Glass transition temperature ( $T_g$ ) of films as determined by DMA decreased with increasing content of chitosan in the blend. Results of thermal analysis indicate high miscibility among polymer components in the blend.

**Key words:** biopolymer, chitosan, gelatin, physical properties, dynamic mechanical analysis

## 서 론

최근 플라스틱 포장재의 사용 및 폐기에 대한 법적인 규제가 강화되면서 각 분야에서 자연환경의 오염을 최소화하기 위한 연구에 관심이 높아지고 있다. 이러한 문제를 해결하기 위한 방법으로 환경친화적인 포장재 개발이 절실히 요구되면서 탄수화물, 단백질 및 지질 등의 물질로부터 생고분자 분해성 필름의 개발에 관한 연구가 활발하게 이루어져 왔다. 이들 생고분자 필름은 사용 후에는 동물의 사료로 쓰거나 폐기하더라도 쉽게 분해되어 퇴비화가 가능한 환경친화적인 포장재로서 최근 이의 이용 및 개발에 대한 관심이 높아지고 있다(1-3).

고분자 블랜드는 다양한 응용을 위해 새로운 특성을 갖는 고분자재료를 만드는 효과적인 방법이다. 특히 기계적 및 가공성이 우수한 젤라틴 천연고분자와 기능성이 뛰어난 키토산 천연고분자를 이용하여 블랜드 시키면 기능성이 우수한 고분자 재료를 용이하게 만들 수 있다. 키토산(poly- $\beta$ -1,4-N-D-glu-

cosamine)은 키토신을 탈아세틸화 시킨 것으로 키토신은 N-acetyl-D-glucosamine이  $\beta$ -(1,4) 결합한 다당류로 게, 새우 등의 갑각류의 껍질이나 곤충류의 표피, 버섯, 균류의 세포벽 등에 널리 분포되어 있는 천연고분자 물질이다(4). 키토산에 대한 연구는 식품분야, 의용재료, 약품 원료, 산업폐수 처리용 응집제, 섬유제조, 화장품 소재 등 각 분야에서의 연구가 활발히 진행되고 있다(5). 이외에도 키토산은 분자량이 약  $1 \times 10^7$  Dalton의 고분자로서 고도의 결정구조를 갖고 있어 일반적인 유기용매나 알칼리용액에는 잘 용해되지 않으나, pH 6 이하의 유기산에는 용해되어 점도가 높은 용액을 형성하므로 이러한 성질을 이용하여 생분해성 필름을 제조하는 연구가 수행되고 있다. Kienzle-Sterzer 등(6)은 키토산의 농도와 용매의 종류에 따른 키토산 필름의 기계적 물성에 미치는 영향을 조사하였으며, Caner 등(7)은 용매로 사용한 산의 농도와 가소제의 농도에 따른 키토산 필름의 특성을 조사하였다. Kim 등(8)은 키토산 필름은 식품산업에서 요구하고 있는 생분해성, 유연성, 낮은 산소 투과도를 동시에 만족시키는 장점을 가지고 있고, 가교제나 가소제 및 기타 다른 물질 등을 첨가하거나 또는 키토산 유도체를 변형 시킴으로써 더욱 우수한 물성을 갖는 필름제조가 가능하다고 하였다. 이외에도 키토산 필름의 물성을 개선하기 위해 키토산을 다른 고분자와 함께 혼합하여 복합필름을 제조한 시도도 있었다. Lazaridou 등(9)은 chitosan과 starch, chitosan과 pullulan

\*Corresponding author: Jang-Woo Park, Department of Food and Biotechnology, Hankyong National University 67, Sukjung-dong, Ansong-si, Kyonggi-do 456-749, Korea  
Tel: 82-31-670-5157  
Fax: 82-31-677-0990  
E-mail: jangwoo\_park@hotmail.com

혼합필름의 thermophysical 특성을 조사하였으며, Arvanitoyannis 등(10)은 chitosan과 gelatin 가식성 필름의 기계적 및 투과 특성에 대하여 연구하였다. Begin 등(11)은 HCl과 formate에 녹여서 제조한 키토산 필름의 생분해성 포장이나 항균제를 포함하는 필름 제조용으로의 사용 가능성을 제시하였으며, Hoagland 등(12)은 chitosan/pectin 적층 필름을 개발하였고, Wong 등(13)은 chitosan/lipid 필름을 개발하였다. 젤라틴은 동물의 뼈, 연골, 가죽 등 결합조직의 주요 단백질 성분인 콜라겐(collagen)의 부분적인 가수분해에 의해 얻어지는 유도단백질로서 주로 식품의 단백질 겔화제(gelling agent)로 사용되고 있다(14,15). 젤라틴은 비교적 낮은 온도와 농도에서도 점성을 부여하며(16), 냉각될 때 젤라틴 용액은 선명하고 탄력성 있는 열가역적 겔(thermoreversible gel)을 형성하기 시작한다(17). 이러한 과정을 젤라틴의 겔화(gelation)라고 하며, 일반적으로 젤라틴의 겔화는 온도, pH, 희분함량, 제조방법 및 농도 등에 따라 크게 영향을 받는 것으로 알려졌다(18). Bigi 등(19)은 젤라틴과 hydroxyapatite 혼합필름의 구조와 기계적인 특성에 대하여 연구하였고, 또한 Bigi 등(20)은 glutaraldehyde로 가교결합시켜 젤라틴 필름의 기계적인 특성을 향상시키고, 그 필름의 열적성질을 연구하였다. Sobral 등(21)은 sorbitol의 작용에 따라 bovine hide와 pigskin 젤라틴 가식성 필름에 있어 수분 투과도, 기계적 및 열적 특성에 관하여 연구하였다.

여기에서 키토산은 대량생산시 단독으로는 사용이 불가능하다는 열성형 단점을 지니고 있기 때문에 현재까지 키토산의 여러 기능들을 이용한 필름제조는 실험실적인 방법(casting method)을 탈피하지 못하고 있다. 하지만, 생고분자 원료로 사용할 수 있는 물질들 중에, 투명한 젤라틴은 첨가되는 가소제의 종류 및 농도에 따라 용융점의 변화가 많기 때문에 키토산과 젤라틴을 중합 반응시키면 젤라틴이 열에 녹는 물질로 작용하여 키토산의 열적 단점을 보완하므로 대량생산 할 수 있는 가능성이 많을 것으로 판단된다. 따라서, 키토산과 젤라틴을 이용하여 혼합비율별로 필름을 제조하였다. 상기에서 설명된 키토산과 젤라틴을 이용하여 혼합필름 제조시 혼합비율에 따른 필름 특성에 관한 연구는 아직까지 미흡한 상태이다. 본 연구에서는 키토산과 젤라틴을 이용하여 혼합필름을 제조하였을 때, 혼합비율이 키토산/젤라틴 혼합필름의 기계적(인장강도 및 신장률), 외적(색도 및 불투명도), 투과(수분 및 산소 투과도) 및 열적 특성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 키토산(average molecular weight 40 KDa, degree of deacetylation 90%)은 목포시에 소재한 Bio-Tech. Co. (Korea)로부터 구입하였으며, 젤리강도(jelly strength)가 240-260 bloom인 젤라틴은 UNIGEL Co.(Korea)에서 구입하였다. 키토산 용매인 acetic acid 및 필름의 가소제로 사용한 glycerol은 Showa Chemical Co.(Japan)에서 구입하였고, 물은 증류수(distilled water)를 사용하였다.

### 혼합필름 제조

키토산은 젤라틴과 달리 증류수에서 용해성이 좋지 않기 때문에 2%(v/v) acetic acid를 용매로 사용하였다. 먼저 키토산 및 젤라틴의 최종농도가 각각 3%(w/w)가 되도록 용질 30g을 칭량하고, 가소제인 glycerol 9g을 가한 뒤, 준비된 묽은 2%(v/v)

**Table 1. Mixing ratio of chitosan/gelatin film**

Sample No.	3% (w/w) Chitosan solution concentration (%)	3% (w/w) Gelatin solution concentration (%)
0	0	100
1	10	90
2	20	80
3	30	70
4	40	60
5	50	50
6	60	40
7	70	30
8	80	20
9	90	10
10	100	0

acetic acid 용액 및 80-90°C로 가열된 증류수 1000 mL를 채웠다. 이 키토산 및 젤라틴 용액을 hot plate stirrer에서 80-90°C로 가열교반 시켜 각각의 3%(w/w) 키토산 용액과 젤라틴 용액을 제조하였다. 혼합필름을 제조하기 위해 이미 제조된 각각의 3%(w/w) 키토산 및 젤라틴 용액을 Table 1과 같은 혼합비율에 따라 혼합필름을 조제하였다. 즉, 혼합비율별로 조절된 각각의 혼합용액들은 균질기를 이용하여 6,000 rpm에서 2분간 중합반응 시켰다. 그리고, hot plate stirrer에서 80-90°C로 재가열 교반시켜 혼합필름 용액을 제조한 다음, 이 혼합필름 용액 110 mL를 수평한 teflon glass plate(22×22 cm)에 기포가 생기지 않도록 casting한 후 상온에서 약 72시간 동안 건조시켰다. 건조된 필름을 teflon glass plate로부터 떼어내어 시료로 사용하였다. 또한 모든 혼합필름 시료는 실험전에 25°C, 50% RH로 조절된 항온습기(SE-96HP, Sang Woo Scientific Co., Korea)에서 48시간 이상 수분함량을 조절시킨 후 실험에 사용하였다(Fig. 1). 특히 열분석용 시료는 Phosphorus(V) Oxide(Kanto Chemical Co., Japan)가 들어있는 데시케이터에서 1주일 이상 보관하면서 수분을 제거시켰고, 가소제가 첨가되지 않은 순수한 단일 또는 혼합필름으로 제조하였다.

### 두께 측정

제조된 혼합필름의 두께는 0.001 mm의 정밀도를 지니는 hand-held micrometer(Tecklock Co., Japan)를 이용하여 측정하였다. 인장강도 및 신장률, 색도, 불투명도, 수분 투과도, 산소 투과도 및 열분석 측정용 혼합필름의 중심부와 다른 주변 부분을 측정하여 최대 및 최소값을 제외시키고, 나머지 값들을 이용하여 평균 및 표준편차 값으로 나타내었다.

### 기계적 특성 측정

전처리로 수분함량을 조절시킨 후 혼합필름(7×2.54 cm)을 ASTM D 822-97 표준시험법(22)에 따라 Texture Analyzer(TA-HDi 500, Stable Micro System, England)을 이용하여 인장강도 및 신장률을 측정하였다. 이때 Texture Analyzer 측정조건에서 초기 grip간의 거리는 50 mm, crosshead 속도는 500 mm/min으로 조절하였다. 인장강도 및 신장률은 각각 다음 식 (1)과 (2)를 이용하여 계산하였다.

$$TS(\text{MPa}) = \text{Maximum tensile force} / \text{Cross section area} \quad (1)$$

$$\text{Elongation}(\%) = (\Delta L / L) \times 100 \quad (2)$$

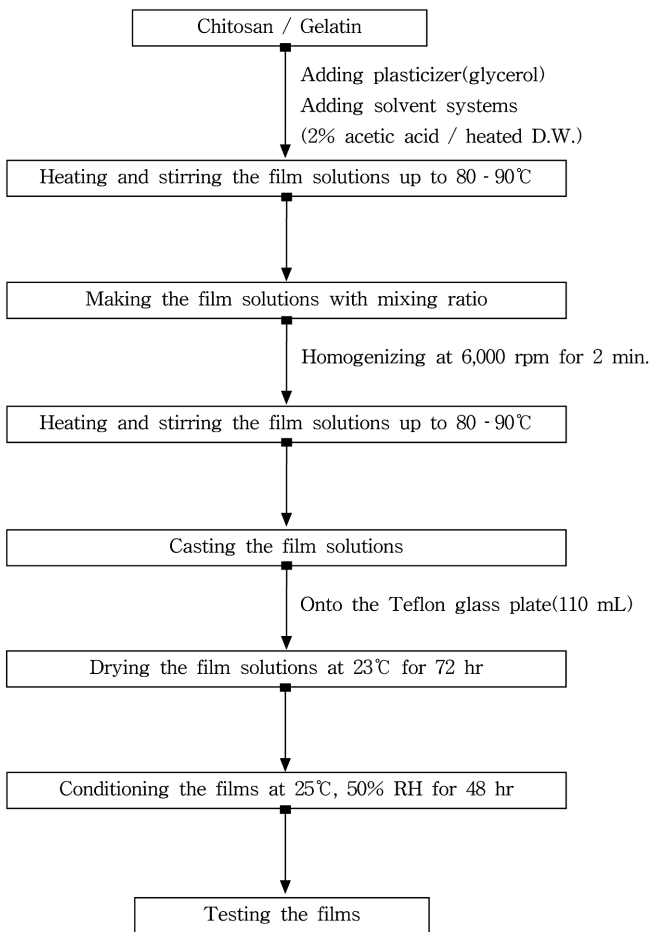


Fig. 1. Flow chart for the preparation of chitosan/gelatin film.

여기에서 maximum tensile force(N)는 혼합필름을 인장시켜 필름이 절단될 때까지의 작용한 가장 큰 힘을 말하며, cross section area는 혼합필름의 평균 단면적(average thickness×width, m<sup>2</sup>)을 의미한다. 또한 L은 Texture analyzer 초기 grip 사이의 거리(mm)이며, ΔL은 혼합필름이 절단될 때까지 움직인 grip간의 거리(mm)를 나타낸다.

#### 색도 측정

제조된 혼합필름(4×4 cm)의 색도는 색차계(Color-eye 7000, Macbeth, USA)를 사용하여 Hunter scale에 의한 L(lightness, 명도), a(redness, 적색도) 및 b(yellowness, 황색도) 값을 측정하였다. 여기에서 L 값은 색의 밝기를 나타내는 것으로 L=0(black)에서 L=100(white)을 나타내고, a 값은 색의 초록과 적색도를 나타내는 것으로 a=-80(greenness)에서 a=100(redness)을 나타낸다. 그리고 b 값은 청색과 황색도를 나타내는 것으로 b=-80 (blueness)에서 b=70(yellowness)을 나타낸다. 색도 측정은 필름 시료를 색좌표 값이 L=95.91, a=0.00 및 b=2.27인 표준 백색판(calibration plate) 위에 놓고, 혼합비율이 동일한 필름 3종류를 각 3회씩 측정하여 평균 및 표준편차 값으로 표시하였다. 이들 Hunter L, a 및 b 값으로부터 표준 백색판과의 총색차(total color difference; ΔE)와 황색지표(yellowness index; YI)를 다음의 식 (3)과 (4)에 의하여 계산하였다.

$$\Delta E =$$

$$\sqrt{(L_{\text{film}} - L_{\text{standard}})^2 + (a_{\text{film}} - a_{\text{standard}})^2 + (b_{\text{film}} - b_{\text{standard}})^2} \quad (3)$$

$$YI = 142.86 \times b/L \quad (4)$$

#### 불투명도 측정

혼합필름(1.5×0.7 cm)의 불투명도는 BSI 방법(23)을 변형하여 측정하였다. 필름을 0.7×1.5 cm의 사각형으로 자른 후 이를 사각의 분광분석용 석영 cell의 빛 통과 영역에 부착시키고, 분광분석계(UV-530, JASCO, Japan)를 이용하여 가시광선 영역인 350-750 nm 파장을 주사 시키면서 이때의 흡광도를 측정하였다. 필름의 불투명도는 기록된 흡광도 곡선의 면적으로 정의하였으며, 단위는 nmO.D./μm로 나타내었다.

#### 수분 투과도 측정

혼합필름(7×7 cm)의 수분 투과도는 ASTM E 96-95 표준시험법(24)에 따라 Cup Method를 이용하여 측정하였다. 이때 cup은 공기의 누출을 방지하기 위해 고무 O-ring을 장착 시켰으며, 내경이 4.6 cm, 깊이가 2.1 cm인 polymethyl methacrylate(Piedmont plastic, Inc., Geenville, SC, USA) 재질이다. cup 내부에 증류수를 넣고, 이를 혼합필름으로 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°C의 항온항습기에 방치하면서, 14시간 동안 매 2시간 간격으로 cup의 무게 감소를 0.0001 g 단위까지 측정하였다. 시간에 따른 cup의 무게 감소의 관계로부터 cup의 시간에 따른 무게 감소율을 구하였다. 수증기 투과율(water vapor transmission rate, WVTR)은 식 (5)과 같이 cup의 시간에 따른 무게 감소율을 필름의 면적으로 나누어 구하였으며, 이 수증기 투과율로부터 다음 식 (6)을 이용하여 수분투과도(water vapor permeability, WVP)를 구하였다.

$$WVTR = \text{Slope/Film area} \quad (5)$$

$$WVP = WVTR(L/\Delta P) \quad (6)$$

이때, 식 (5)에서의 WVTR은 수증기 투과율(g/m<sup>2</sup>·24 hr), slope는 시간에 따른 cup의 무게 감소율(g/24 hr), film area는 수분 이동이 일어나고 있는 필름의 넓이(m<sup>2</sup>)를 말하며, 식 (6)에서의 WVP는 필름의 투과계수(ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa), L은 필름의 평균 두께(μm), ΔP는 필름을 사이에 둔 cup 내부와 외부의 수증기 부분압의 차이(Pa)이다. 필름의 수분 투과도 측정은 각 조건에서 3회 반복실험을 실시하여 평균 및 표준편차 값으로 나타내었다. 또한, 필름하부의 수증기압을 필름의 하부와 증류수의 표면사이에 있는 공기의 저항에 의한 영향을 McHugh 등(25)과 Gennadios 등(26)의 방법에 따라 보정하여 이를 수분 투과도의 보정값(water vapor permeability by correction method, WVPC)으로 하였다.

#### 산소 투과도 측정

산소 투과도는 OX-Tran 100A(Mocon Inc. Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 ASTM D 3985-81 표준시험법(27)으로 측정하였다. 시료(5×5 cm)를 1장의 aluminum foil mask(5 cm<sup>2</sup>

uncovered area) 사이에 접촉시키고, 이를 testing cell에 넣어 산소 투과도를 측정하였다. Aluminum foil mask는 기계적인 지지체이며, 시료에 보다 일정한 투과 면적을 유지하는데 도움이 된다. 측정온도는 25°C로 고정시키고, 시료가 장착된 후에 일단 혼합가스(98% N<sub>2</sub>+2% H<sub>2</sub>)로 측정 cell 내부 양면을 16시간 정도 분사하며, 이후 산소를 상층부에 주입시키면 시료를 통한 산소는 산소농도 측정 센서에 의해 측정된다. 투과 cell 상층부에 노출된 산소의 유량은 15 cc/min이며, 혼합가스의 유량은 10 cc/min으로 고정하였다. 산소 투과도의 측정은 1시간 동안에 1% 이하로 측정이 변화되지 않을 때의 값을 측정하였다. 이때 필름을 사이에 둔 산소의 부분압력을 1기압으로 가정하였다.

**열적 특성 측정**

혼합필름의 열안정성은 thermogravimetric analyzer(TG/DTA 6200, Seiko Instruments, Japan)를 이용하여 분석하였다. 측정은 질소 순환조건에서 약 12 mg의 시료를 30°C에서 600°C까지 20°C/min의 승온속도로 측정하였다. 또한 필름(평균 1.11×0.37×0.008 cm)의 열동적 분석은 dynamic mechanical analyzer (DMA 2980, TA Instruments, USA)를 이용하여 Park 등(28)과 Yoo 등(29)의 방법으로 측정하였다. 즉, 인장형태(tensile mode)의 측정모드에서 주파수(frequency) 1 Hz, 진폭크기(amplitude) 5 μm로 하여, -30°C에서 250°C까지 2°C/min의 승온속도로 질소 순환조건에서 측정하였다.

**통계적 분석**

혼합필름의 인장강도, 신장률, 색도, 불투명도, 수분 및 산소 투과도 측정값들은 평균값과 표준편차로 나타내었고, 각 실험 평균값의 유의적인 차이 검정은 SAS(Statistical Analysis System) 통계 package(30)를 이용하여 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**기계적 특성**

일반적으로 고분자 필름의 품질을 결정하는 요소 중에서 기계적인 특성은 대단히 중요하다. 대부분의 필름은 연포장으로 사용될 때 인장응력을 가장 많이 받기 때문에 동일한 두께 및 기능에서 인장강도가 높은 것이 기계적인 성능측면에서 고려할 때 유리하다고 할 수 있다. Table 2는 혼합비율에 따른 키토산/젤라틴 혼합필름의 인장강도 및 신장률 측정값을 나타낸 것이다. 젤라틴 필름의 인장강도는 58.24 MPa로 가장 높게 측정되었고, 키토산의 농도가 증가함에 따라 57.81 MPa에서 26.54 MPa로 나타났다. 또한 키토산 필름의 인장강도는 22.01 MPa로 가장 낮았으며, 키토산의 농도가 증가함에 따라 점차적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 신장률은 13.11%에서 24.67%로 인장강도 결과와는 다르게 증가되었다. 일반적으로 필름의 인장강도와 신장률 사이에는 반비례 관계가 있는데, 이는 본 실험의 결과와 일치하였다. 일반적으로 고분자의 콜로이드 용액은 겔을 형성한 후 일정한 온도 및 습도 조건하에서 건조시키면 필름이 형성된다. 젤라틴은 대부분의 단백질과는 달리 온도가 증가됨에 따라 겔(gel) 상태로 변화되는 생고분자 물질이다. 겔화(gelation) 과정을 살펴보면, 가열 용액내에서 불규칙한 coil 형태로 용해되어 있는 젤라틴은 냉각됨에 따라 3중 나선구조(triple helix structure)로 되돌아 가려는 3개의 polypeptide 사슬로부터 형성된 작은 영역들이 가교결합(cross-linking)을 통해 접

**Table 2. Effect of mixing ratio on tensile strength and elongation at break point of chitosan/gelatin film**

Sample <sup>1)</sup> No.	Thickness (μm)	Tensile strength <sup>2)</sup> (MPa)	Elongation (%)
0	80.15±2.72	58.24±1.20 <sup>a</sup>	13.11±2.20 <sup>f</sup>
1	80.33±4.88	57.81±3.20 <sup>a</sup>	13.26±3.48 <sup>e</sup>
2	71.35±0.88	55.65±0.50 <sup>a</sup>	14.43±1.62 <sup>e</sup>
3	75.18±4.30	51.09±3.53 <sup>b</sup>	16.25±3.02 <sup>e</sup>
4	75.73±1.72	42.73±1.48 <sup>e</sup>	16.90±1.96 <sup>e</sup>
5	75.08±5.61	37.45±4.06 <sup>d</sup>	17.93±4.90 <sup>bc</sup>
6	76.40±6.16	32.94±1.03 <sup>e</sup>	15.10±5.84 <sup>f</sup>
7	92.53±5.02	33.33±1.86 <sup>e</sup>	23.61±3.35 <sup>ab</sup>
8	92.58±6.57	28.38±1.80 <sup>f</sup>	24.20±2.84 <sup>a</sup>
9	86.10±9.68	26.54±2.72 <sup>f</sup>	19.04±7.37 <sup>abc</sup>
10	95.48±6.17	22.01±1.94 <sup>e</sup>	24.67±5.90 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Notation of blends of chitosan/gelatin are following: 0(0/100), 1(10/90), 2(20/80), 3(30/70), 4(40/60), 5(50/50), 6(60/40), 7(70/30), 8(80/20), 9(90/10), 10(100/0).

<sup>2)</sup>Mean standard deviation (n=5).

<sup>a-f)</sup>Means with the different letter in same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

합지역(cross-linking site)을 형성하므로, 최종적으로 3차원의 네트워크(network)를 형성하는 것으로 보고되었다(31,32). 젤라틴 필름은 젤라틴 분자가 겔을 형성한 후 분자 중에 존재하는 물 분자가 건조과정을 거치는 동안 더욱 조밀한 구조를 형성하기 때문에, 구조상 2중 나선구조나 8중 나선구조를 형성하는 키토산 필름보다 높은 인장강도를 갖는 것이다. 따라서 키토산의 농도가 증가할수록 키토산/젤라틴 혼합필름의 인장강도가 감소되는 경향을 나타내었다고 판단된다. 또한 본 연구에서 사용한 가소제인 glycerol이 첨가되면서 키토산과 젤라틴 사이에 일부 결합하여 인장강도는 저하시키지만, glycerol 원료 자체의 물성 때문에 혼합필름의 신장률은 증가되었다고 판단된다. 신장률은 필름이 인장되어 파단될 때의 변형된 정도를 나타내는데, 키토산/젤라틴 혼합필름에서 키토산의 함량이 증가함에 따라 sample No. 6과 9를 제외하고는 점차적으로 증가하였다. 따라서 혼합비율에 따라 키토산/젤라틴 혼합필름의 인장강도 및 신장률이 달라지므로, 이를 혼합필름이 응용되는 분야에 따라 적절한 혼합비율로 혼합필름을 제조하는 것이 바람직하다고 생각된다.

**색도**

색도는 혼합필름의 외관을 결정하는 중요한 특성으로서 혼합비율에 따른 혼합필름의 Hunter L, a, b, ΔE 및 YI 값들을 Table 3에 나타내었다. L 값의 경우 키토산 함량이 증가할수록 혼합필름의 L 값은 감소되었고, a 와 b 값은 L 값에 반비례로 증가되었다. 또한, 키토산의 함량이 증가함에 따라 제조된 혼합필름의 ΔE 및 YI 값들은 키토산 함량 90%를 제외하고는 보다 높은 값들로 측정되었다. 혼합필름의 YI 값은 황색도 값이 가장 높은 Sample No. 10 필름의 YI가 29.38로 가장 높았으며, 높은 명도(95.27)와 낮은 황색도(3.98)를 나타낸 Sample No. 0 혼합필름의 YI가 5.98로 가장 낮았다. 이러한 키토산/젤라틴 혼합필름의 색깔 차이는 Hunter L, b 값들의 차이에 기인하는 것으로 판단된다. 혼합필름의 색깔을 육안으로 직접 관찰하여도 키토산의 양이 증가할수록 투명한 필름에서 점차적으로 짙은 노란색의 혼합필름으로 변화하는 것을 확인할 수 있었다. Rhim 등(33)은 키토산 필름의 Hunter L, a, b 및 ΔE 값이 각각 94.5,

**Table 3. Color spectrophotometer values of mixing ratio on Hunter values(L, a, and b), total color differences ( $\Delta E$ ), and yellow index(YI) of chitosan/gelatin film**

Sample <sup>1)</sup> No.	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	L <sup>2)</sup>	a	b	$\Delta E$	YI
0	77.25 $\pm$ 0.71	95.27 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	-0.34 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	3.98 $\pm$ 0.01 <sup>i</sup>	1.86 $\pm$ 0.01 <sup>i</sup>	5.98 $\pm$ 0.01 <sup>i</sup>
1	77.60 $\pm$ 2.40	95.06 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	-0.76 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	4.38 $\pm$ 0.24 <sup>i</sup>	2.40 $\pm$ 0.26 <sup>i</sup>	6.59 $\pm$ 0.37 <sup>i</sup>
2	72.10 $\pm$ 1.00	94.77 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	-0.88 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	5.36 $\pm$ 0.05 <sup>h</sup>	3.41 $\pm$ 0.04 <sup>h</sup>	8.08 $\pm$ 0.07 <sup>h</sup>
3	77.40 $\pm$ 1.80	94.31 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>	-1.03 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	7.28 $\pm$ 0.40 <sup>g</sup>	5.36 $\pm$ 0.44 <sup>g</sup>	11.03 $\pm$ 0.63 <sup>g</sup>
4	80.00 $\pm$ 1.10	93.98 $\pm$ 0.05 <sup>e</sup>	-1.22 $\pm$ 0.02 <sup>fg</sup>	9.03 $\pm$ 0.10 <sup>f</sup>	7.13 $\pm$ 0.11 <sup>f</sup>	13.72 $\pm$ 0.16 <sup>f</sup>
5	77.00 $\pm$ 2.40	93.62 $\pm$ 0.05 <sup>f</sup>	-1.30 $\pm$ 0.03 <sup>h</sup>	10.53 $\pm$ 0.45 <sup>e</sup>	8.67 $\pm$ 0.43 <sup>e</sup>	16.07 $\pm$ 0.68 <sup>e</sup>
6	71.50 $\pm$ 1.80	93.04 $\pm$ 0.12 <sup>g</sup>	-1.21 $\pm$ 0.03 <sup>f</sup>	12.01 $\pm$ 0.44 <sup>d</sup>	10.23 $\pm$ 0.45 <sup>d</sup>	18.44 $\pm$ 0.70 <sup>d</sup>
7	72.80 $\pm$ 4.90	92.44 $\pm$ 0.12 <sup>h</sup>	-1.17 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	13.31 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>	11.63 $\pm$ 0.32 <sup>c</sup>	20.57 $\pm$ 0.50 <sup>c</sup>
8	78.50 $\pm$ 2.50	90.91 $\pm$ 0.62 <sup>i</sup>	-0.91 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	17.75 $\pm$ 1.71 <sup>b</sup>	16.30 $\pm$ 1.81 <sup>b</sup>	27.91 $\pm$ 2.89 <sup>b</sup>
9	68.50 $\pm$ 2.50	91.09 $\pm$ 0.13 <sup>i</sup>	-1.00 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	17.39 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>	15.91 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>	27.28 $\pm$ 0.76 <sup>b</sup>
10	99.75 $\pm$ 4.68	89.31 $\pm$ 0.01 <sup>j</sup>	-1.25 $\pm$ 0.04 <sup>g</sup>	18.37 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	17.45 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	29.38 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Notation of blends of chitosan/gelatin are following; 0(0/100), 1(10/90), 2(20/80), 3(30/70), 4(40/60), 5(50/50), 6(60/40), 7(70/30), 8(80/20), 9(90/10), 10(100/0).

<sup>2)</sup>Mean standard deviation (n=9).

<sup>a-j)</sup>Means with the different letter in same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

**Table 4. Effect of mixing ratio on opacity values of chitosan/gelatin film**

Sample <sup>1)</sup> No.	Thickness ( $\mu\text{m}$ )	Opacity <sup>2)</sup> (nmO.D./ $\mu\text{m}$ )
0	75.64 $\pm$ 0.45	0.3104 $\pm$ 0.018 <sup>g</sup>
1	73.60 $\pm$ 3.78	0.3757 $\pm$ 0.0189 <sup>f</sup>
2	69.40 $\pm$ 2.19	0.3524 $\pm$ 0.0113 <sup>fg</sup>
3	75.40 $\pm$ 1.67	0.7539 $\pm$ 0.0165 <sup>cd</sup>
4	76.20 $\pm$ 1.92	0.7286 $\pm$ 0.0188 <sup>d</sup>
5	66.60 $\pm$ 1.34	0.5069 $\pm$ 0.0102 <sup>e</sup>
6	66.60 $\pm$ 2.88	0.9931 $\pm$ 0.0430 <sup>b</sup>
7	68.80 $\pm$ 1.79	0.7967 $\pm$ 0.0207 <sup>c</sup>
8	90.40 $\pm$ 6.88	0.9938 $\pm$ 0.0796 <sup>b</sup>
9	76.80 $\pm$ 2.39	1.2016 $\pm$ 0.0372 <sup>a</sup>
10	87.70 $\pm$ 3.12	1.2161 $\pm$ 0.0420 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Notation of blends of chitosan/gelatin are following; 0(0/100), 1(10/90), 2(20/80), 3(30/70), 4(40/60), 5(50/50), 6(60/40), 7(70/30), 8(80/20), 9(90/10), 10(100/0).

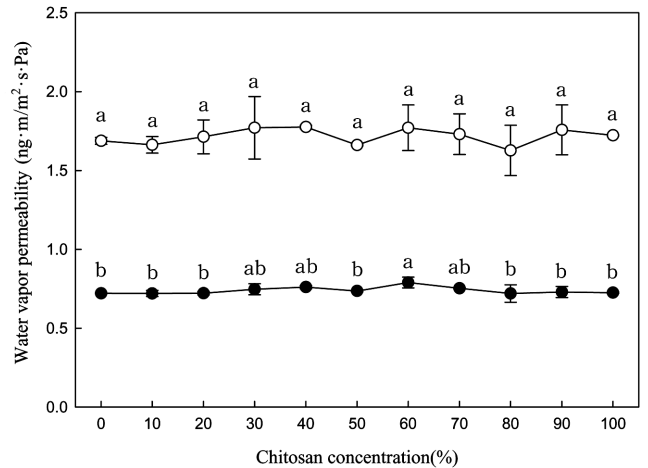
<sup>2)</sup>Mean standard deviation (n=3).

<sup>a-g)</sup>Means with the different letter in same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

-0.19, 10.3 및 8.6이라고 보고하였는데, 본 연구에서 젤라틴이 첨가되지 않은 키토산 필름과 비교하였을 때, Rhim 등(33)의 결과보다 황색도와 총색차에서 약 2배 정도 높은 값을 나타내었다. 이는 키토산 용액 제조시 키토산을 묽은 초산용액에 용해시켜 키토산의 -NH<sub>2</sub>기가 산성염 상태로 변화되는 단계이기 때문에 가수분해시간이 증가함에 따라 황색도가 증가되었다고 생각된다.

**불투명도**

색도와 마찬가지로 필름의 외관을 결정하는 중요한 특성으로서 제조된 혼합필름의 불투명도는 Table 4에 나타난 것과 같이 0.3104 nmO.D./ $\mu\text{m}$ 에서 1.2161 nmO.D./ $\mu\text{m}$ 의 범위로 측정되었다. 키토산의 농도가 증가할수록 대체적으로 불투명도도 증가하는 경향을 나타내었다. 키토산의 함량이 20%까지는 큰 차이를 나타내지 않았다. 또한 키토산 필름(Sample No. 10)의 불



**Fig. 2. Effect of mixing ratio on water vapor permeability of chitosan/gelatin films (n=3).**

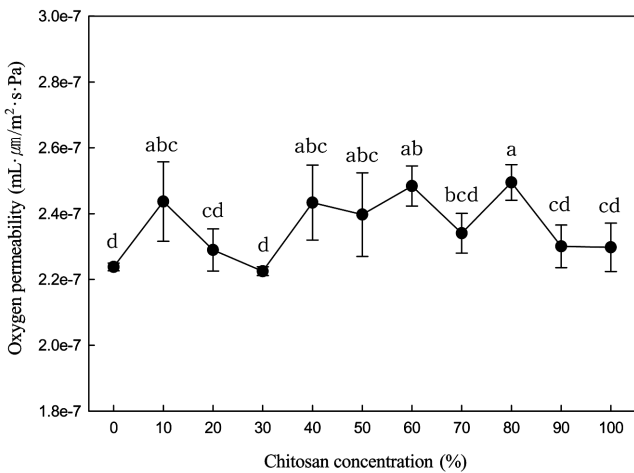
○-○: Corrected water vapor permeability value (correction method), ●-●: Measured water vapor permeability value (ASTM method).

<sup>a-b)</sup>Means with the different letter in same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

투명도는 젤라틴 필름(Sample No. 0)의 불투명도 보다 약 4배 높게 나타났다. 이는 앞서 설명된 색도 측정에 따른 명도가 점차적으로 감소되고, 황색도의 값이 증가되는 차이에 기인하는 것으로 판단된다. 필름의 투명도는 식품포장에 적용할 때 중요한 요인이다. 불투명도의 측정치가 크다는 것은 빛이 흡수된 면적이 넓은 것을 의미하며, 투명 정도가 낮은 것을 의미한다.

**수분 투과도**

혼합비율별로 제조된 키토산/젤라틴 혼합필름의 수분 투과도는 Fig. 2에서와 같이 1.6875 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa에서 1.7225 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa로 측정되었다. 키토산과 젤라틴의 혼합비율 80:20인 Sample No. 8의 수분 투과도(1.6271 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa)가 가장 낮았으며, 혼합비율 40:60인 Sample No. 4의 수분 투과도(1.7756 ng·m/m<sup>2</sup>·s·Pa)가 가장 높았다. 하지만, Duncan의 다



**Fig. 3. Effect of mixing ratio on the oxygen permeability of chitosan/gelatin films (n=3).**

<sup>a-d)</sup>Means with the different letter in same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

중비교 분석결과로 키토산의 농도가 증가함에 따라 혼합필름의 수분 투과도는 유의적인( $p < 0.05$ ) 차이를 나타내지 않았으므로, 키토산/젤라틴 혼합필름의 수분 투과도에 있어 혼합비율이 미치는 영향은 거의 없는 것으로 나타났다. 생고분자 필름의 투과도에 미치는 대표적인 요인으로는 생고분자 원료의 분자량, 필름용액 제조에 필요한 적절한 용매, 또한 첨가되는 가소제의 종류 및 농도 등으로 구분할 수 있다. 단백질과 같은 친수성 고분자 필름은 가소제가 첨가되는 양이 증가함에 따라 무정형 부분의 고분자 사슬의 밀집된 정도가 약해져 수분 투과도는 증가하는 것으로 보고되었는데(34), 키토산/젤라틴 혼합필름에 첨가된 가소제(glycerol)의 양은 혼합비율별로 모두 동일하였기 때문에 혼합필름의 수분 투과도에는 영향을 미치지 못한 것으로 판단된다. 불용성 키토산과 수용성 젤라틴을 이용하여 제조한 키토산/젤라틴 혼합필름에서 키토산이 묽은 초산 용액에 용해되어 친수성인 염의 형태로 전환되어 젤라틴과 더불어 전체적으로 혼합필름은 친수성 고분자 필름의 성질을 나타내는 것으로 사료된다. Banker 등(35)은 친유성 고분자 필름

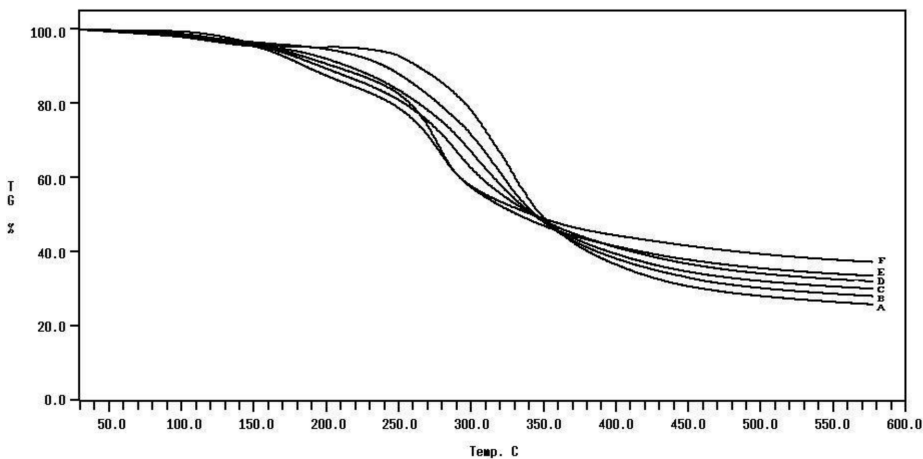
의 수분 투과도는 두께의 변화와는 관계없이 일정하였지만, 친수성 고분자 필름의 수분 투과도는 필름의 두께와 직선적인 비례관계에 있으며, 이는 흡습으로 인해 팽윤된 필름내 무정형 부분을 통해 필름내부에서의 수분확산이 친수성기와 물 분자의 친화력에 의해서 빠른 속도로 일어나기 때문인 것으로 보고하였다. 하지만, 키토산/젤라틴 혼합필름은 혼합비율별 두께가 77.00 m에서 87.96 m의 범위로 두께에 따른 수분 투과도의 영향은 없는 것으로 측정되었다. 또한 Park 등(36)은 키토산 필름의 수분 투과도는 용매에 의하여 영향을 받으며 가소제의 농도가 증가할수록 수분 투과도가 증가한다고 보고하였는데, 본 연구에서는 키토산/젤라틴 혼합필름의 혼합비율 및 두께는 수분 투과도에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

**산소 투과도**

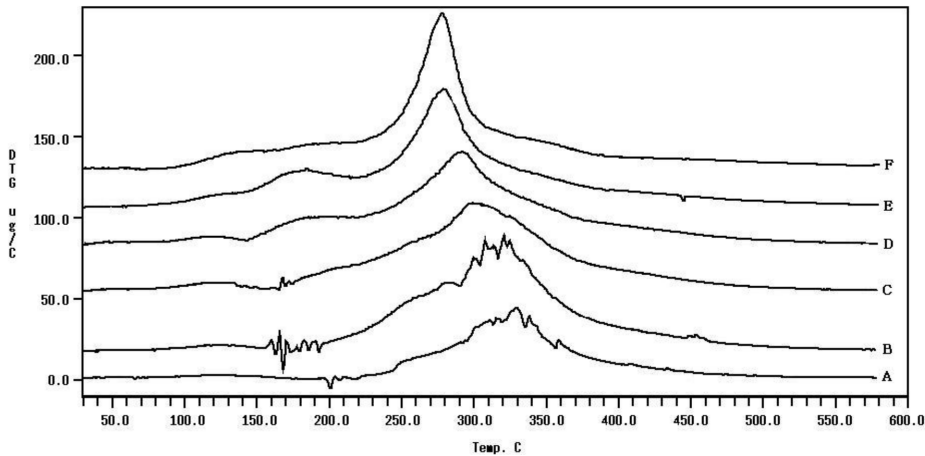
키토산/젤라틴 혼합필름의 산소 투과도는 혼합비율에 따라 Fig. 3과 같이  $2.2380 \times 10^{-7}$  mL·m/m<sup>2</sup>·s·Pa에서  $2.2975 \times 10^{-7}$  mL·m/m<sup>2</sup>·s·Pa로 나타났다. 일반적으로 고분자 필름의 투과도는 고분자의 밀도, 분자량, 결정도, 가소제의 종류 및 양, 습도, 필름의 두께 등에 따라 많은 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 상업 및 공업포장 재료로서 사용되기 위한 생고분자 필름은 포장 내용물을 보호하기 위하여 외부의 습기 및 산소를 차단하는 효과가 있어야 한다. Fellows(37)는 25°C, 45% RH에서 두께가 0.025-0.200 mm인 LDPE(low density polyethylene) 필름의 산소 투과도가 8,000 mL/m<sup>2</sup>·24 hr이며, 25°C, 45% RH에서 두께 0.020-0.030 mm OPP(oriented polypropylene) 필름의 산소 투과도는 1,600-2,000 mL/m<sup>2</sup>·24 hr라고 보고하였다. 이는 본 실험에서의 결과가 범용 필름인 LDPE와 OPP 필름의 산소 투과도보다 월등히 낮은 산소 투과 특성을 나타내므로 내투기성이 필요한 식품포장에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

**열적 특성**

Fig. 4와 5는 수분과 가소제를 첨가하지 않은 순수한 젤라틴 필름, 혼합필름 및 키토산 필름의 열적 안정성을 질소 순환조건에서 TG/DTA로 분석한 것이며, 시료의 온도상승에 따른 중량의 변화 및 열분해를 나타내고 있다. Fig. 4는 순수한 젤라틴 필름(A)의 TG 곡선은 주쇄의 분해가 270°C 부근에서 일어나고 있음을 보여주고, 순수한 키토산(F)의 주쇄 분해는 230°C

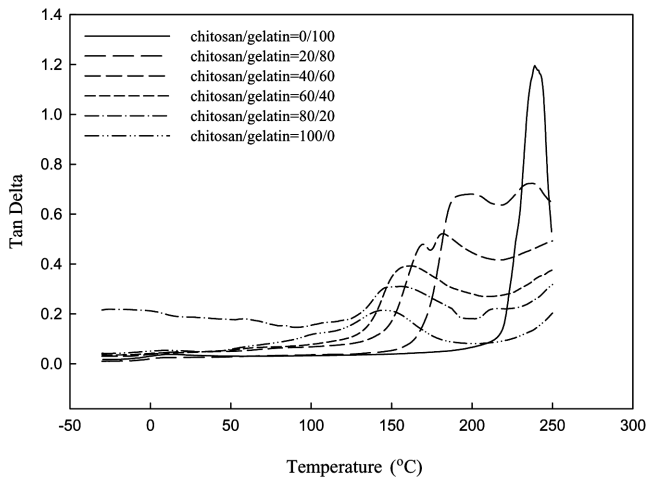


**Fig. 4. Effect of mixing ratio on the thermal gravity analysis of chitosan/gelatin films without H<sub>2</sub>O and glycerol.** Notation of mixing of chitosan/gelatin are following; A(0/100), B(20/80), C(40/60), D(60/40), E(80/20), F(100/0). The measurement was conducted at a 20°C/min heating rate under nitrogen flow.



**Fig. 5. Effect of mixing ratio on differential thermogravimetric analysis of chitosan/gelatin film without H<sub>2</sub>O and glycerol.**

Notation of mixing of chitosan/gelatin are following; A(0/100), B(20/80), C(40/60), D(60/40), E(80/20), F(100/0). The measurement was conducted at a 20°C/min heating rate under nitrogen flow.



**Fig. 6. Effect of mixing ratio on dynamic mechanical analysis of chitosan/gelatin film without H<sub>2</sub>O and glycerol.**

The measurement was conducted at a 2°C/min heating rate under nitrogen flow.

부근에서 나타났다. 이러한 결과를 볼 때 젤라틴이 키토산보다 열안정성이 우수함을 알 수 있었다. 두 순수 성분의 혼합필름(B-E)에서는 혼합비율에 따라서 열안정성의 차이를 나타내고 있다. 전체적으로 370°C 이상에서는 급격한 분해를 나타내지 않았으며, 550°C 이상에서는 완전연소가 되었다. 잔유물의 중량은 키토산의 함량이 증가함에 따라 25.7%에서 37.2%로 점차적으로 증가하였다. 이는 젤라틴의 펩타이드 구조사슬 사이의 강한 수소결합이 키토산의 아미노기와 혼합되면서 수소결합력이 약화되었기 때문으로 판단된다. 또한 Fig. 5는 열중량도함수(derivative thermogravimetric, DTG) 곡선으로 고분자의 열분해가 일어나는 정도를 알 수 있다. 젤라틴 필름(A)의 측정 결과, 불안정하게 보이지만 120°C 부근에서의 작은 곡선은 저분자 성분의 열분해이고, 330°C 부근에서의 큰 곡선은 주쇄의 열분해가 있음을 보여주고 있다. 곡선 F는 순수한 키토산의 DTG 곡선으로 140°C, 190°C 및 270°C 부근에서 곡선이 나타났고, 대부분의 분해는 270°C 부근에서 일어났다. 고분자 주쇄의 최대 분해온도를 나타내는 곡선(B-E)은 젤라틴의 성분이 증가함에

따라 증가하였고, 최대분해 곡선은 단일 곡선으로 나타났다. 이는 키토산과 젤라틴 고분자들의 관능기(functional groups) 사이에 상호작용(molecular interaction)이 존재하며, 이들 구성 고분자가 상용성이 있음을 나타내는 것이다. Fig. 6에서는 키토산과 젤라틴 각각의 단일 또는 혼합필름들의 분자전이(molecular relaxation)에 관한 결과를 나타내고 있다. 일반적으로 DMA는 고분자와 고분자 사이의 상호작용을 연구할 수 있는 정밀한 기기로써 상용성이 있는 고분자 혼합필름에서 구성 고분자의 유리전이온도는 구성 고분자사이의 조성에 따라서 유리전이온도가 변화하는데 비하여 상용성이 없는 경우에는 구성 고분자의 고유한 유리전이온도를 각각 나타낸다(38). Fig. 6에서 보는 것과 같이 순수한 키토산의 경우 유리전이온도는 144°C로 나타났고, 반면에 젤라틴 필름의 tan  $\delta$  곡선은 240°C 부근에서 나타났다. 이것은 TG/DTA 분석결과에서 보듯이 젤라틴의 분해에 따른 relaxation의 곡선이고, 젤라틴의 유리전이온도는 젤라틴 구조의 경직성에 따라 분해온도보다 높아서 측정이 어렵다. 또한 키토산과 젤라틴의 혼합비율이 20/80인 경우 2개의 relaxation 곡선을 나타내었는데, 200°C 부근에서 나타나는 것이 혼합필름의 유리전이온도이고, 240°C 부근의 tan  $\delta$  곡선은 젤라틴의 분해에 따른 relaxation 곡선이며, 혼합비율이 40/60의 경우도 이와 동일하다. 전체적인 tan  $\delta$  곡선을 관찰할 때 혼합비율에 따라 유리전이온도는 단일 곡선을 나타내었고, 젤라틴의 함량이 증가함에 따라 유리전이온도는 증가하였다. 이렇게 되기 위해서는 구성고분자들의 세그먼트들 사이에서 바람직한 상호작용(interaction)이 있어야 한다. 키토산과 젤라틴 사이의 높은 상용성은 젤라틴의 히드록시기와 키토산의 히드록시기 또는 아미노기 등의 극성기들 사이의 분자내 및 분자간에 존재하는 강한 상호작용에 기인한다. 따라서 이 결과는 키토산과 젤라틴 고분자들 사이에 상용성이 있음을 나타내는 것이다.

## 요 약

유용한 생고분자 필름을 제조하기 위한 목적으로 키토산과 젤라틴을 이용하여 solution casting 방법으로 혼합비율에 따라 혼합필름을 제조하였다. 또한 키토산/젤라틴 혼합필름의 인장강도, 신장률, 색도, 불투명도, 수분 및 산소 투과도와 같은 물리적인 특성과 열적 특성에 있어 혼합비율이 미치는 효과에 대

하여 조사하였다. 혼합비율별로 제조된 키토산/젤라틴 혼합필름의 인장강도는 58.24 MPa에서 22.01 MPa로 점차적으로 감소하는 경향을 나타내었고, 신장률은 13.11%에서 24.67%로 인장강도 결과와는 다르게 증가되는 경향을 보였다. 필름의 외관을 결정하는 중요한 특성인 색도 측정 결과, L 값의 경우 키토산 함량이 증가할수록 감소되었고, a와 b 값은 L 값에 반비례로 증가되었다. 또한 키토산의 함량이 증가함에 따라 제조된 혼합필름의 ΔE 및 YI 값들은 키토산 함량 90%를 제외하고는 보다 높은 값들로 측정되었다. 혼합필름의 불투명도는 0.3104 nmO.D./μm에서 1.2161 nmO.D./μm의 범위로 측정되었다. 수분 투과도는 1.6875 ng · m/m<sup>2</sup> · s · Pa에서 1.7225 ng · m/m<sup>2</sup> · s · Pa로 측정되었지만, Duncan의 다중비교 분석결과로 키토산의 농도가 증가함에 따라 혼합필름의 수분 투과도는 유의적인(p < 0.05) 차이를 나타내지 않았다. 산소 투과도는 혼합비율에 따라 2.2380 × 10<sup>-7</sup> mL · m/m<sup>2</sup> · s · Pa에서 2.2975 × 10<sup>-7</sup> mL · m/m<sup>2</sup> · s · Pa로 나타났다. 또한 열적 특성을 분석한 결과 혼합비율에 따라 유리전이온도는 단일 곡선을 나타내었고, 젤라틴의 함량이 증가함에 따라 유리전이온도는 증가하였기 때문에 이 결과들을 볼 때, 키토산과 젤라틴 고분자들 사이에 상용성이 있음을 알 수 있었다.

## 문 헌

- Krochta JM, Mulder-Johnson CD. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.* 51: 61-74 (1997)
- Deveaufort F, Quezada-Gallo J, Voilley A. Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38: 299-313 (1998)
- Guilbert S, Gontard N, Gorris LGM. Prolonging the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.* 29: 10-17 (1996)
- Kim DH, Lee C, Kim KO, Lee YC. Physicochemical and sensory properties of water soluble chitosan. *Korean. J. Food Sci. Technol.* 31: 83-90 (1999)
- Cho JM, Park SK, Lee YS, Rhee CO. Effect of soy protein isolate and calcium chloride on the properties of water soluble chitosan film. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 46: 113-116 (2003)
- Kienzle-Sterzer CA, Rodriguez-Sanchez D, Rha C. Mechanical properties of chitosan films: Effect of solvent acids. *Makromol. Chem.* 183: 1353-1359 (1982)
- Caner C, Vergano PJ, Wiles JL. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer and storage. *J. Food Sci.* 63: 1049-1053 (1998)
- Kim JJ, Kim MJ, Jeon DW. Industrial application of chitin/chitosan. *Polymer Sci. Technol.* 8: 579-590 (1997)
- Lazaridou A, Biliaderis CG. Thermophysical properties of chitosan, chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. *Carbohydr. Polym.* 48: 179-190 (2002)
- Arvanitoyannis IS, Nakayama A, Aiba S. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. *Carbohydr. Polym.* 37: 371-382 (1998)
- Begin A, Calsteren MR. Antimicrobial films produced from chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.* 26: 63-67 (1999)
- Hoagland PD, Parris N. Chitodan/pectin laminated films. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1915-1919 (1996)
- Wong DWS, Gastineau FA, Gregordki KS, Tillin SJ, Pavlath AE. Chitodan-lipid films: Microstructure and surface energy. *J. Agric. Food Chem.* 40: 540-544 (1992)
- Ledward DA. Gelatin. pp.67-86. In: *Handbook of Hydrocolloid*. Phillips PO, Williams PA (eds). CRC Press, USA (2000)
- Clark AH, Ross-Murphy SB. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv. Polymer Sci.* 83: 57-192 (1987)
- Oakenfull D, Pearce J, Burley W. Protein gelation. pp. 111-142. In: *Food proteins and their applications*. Damodaran S, Paraf A (eds). Marcel Dekker, USA (1997)
- Normand V, Muller S, Ravey JC, Parker A. Gelation kinetics of gelation: a master curve and network modeling. *Macromolecules* 33: 1063-1071 (2000)
- Wu J, Chiu SC, Rearece EM, Kwei TK. Effects of phenolic compounds on gelation behavior of gelatin gels. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 39: 224-231 (2000)
- Bigi A, Panzavolta S, Roveri N. Hydroxyapatite-gelatin films: a structural and mechanical characterization. *Biomaterials* 19: 739-744 (1998)
- Bigi A, Bracci B, Cojazzi G, Panzavolta S, Roveri N. Drawn gelatin films with improved mechanical properties. *Biomaterials* 19: 2335-2340 (1998)
- Sobral PJA, Menegalli FC, Hubinger MD, Roques MA. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocoll.* 15: 423-432 (2001)
- ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D 882-97). Vol. 8.01, pp. 163-171. In: *Annual Book of ASTM Standards*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA (1999)
- BSI: Optical Methods for Measuring Brightness, Whiteness, Reflectance and Opacity for paper. B.S. 4432, British Standards Institution, London, UK (1968)
- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials (E 96-95). Vol. 4.06, pp. 697-704. In: *Annual Book of ASTM Standards*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA (1995)
- McHugh TH, Avena-Bustillos R, Krochta, JM. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *J. Food Sci.* 58: 899-903 (1993)
- Gennadios A, Weller CL, Gooding CH. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *J. Food Eng.* 2: 395-409 (1994)
- ASTM. Standard methods for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor (D3985-81). In: *Annual Book of ASTM Standard*. American Society for Testing and Materials, PA, USA (1991)
- Park JS, Park JW, Ruckenstein E. Thermal and dynamic mechanical analysis of PVA/MC blend hydrogels. *Polymer* 42: 4271-4280 (2001)
- Yoo SM, Park JS, Chung HY, Shim JY, Kim BH, Park JW. Effect of grape seed extract on methylcellulose film characteristics. *Food Engineering Progress* 7: 242-247 (2003)
- SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (1990)
- Ross-Murphy SB. Structure and rheology of gelatin gels. *Polymer* 33: 2622-2627 (1992)
- Gilsenan PM, Ross-Murphy SB. Rheology characterization of gelatins from mammalian and marine sources. *Food Hydrocolloids* 14: 191-195 (2000)
- Rhim JW, Ham KS, Park SY. Molecular weight of chitosan affect characteristics of chitosan films. *J. Korea Soc. Packaging Sci. Tech.* 6: 80-95 (2000)
- Cho SY, Park JW, Rhee C. Edible films from protein concentrates of rice wine meal. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1097-1106 (1998)
- Banker GS, Gore AY, Swarbrick J. Water vapor transmission properties of free polymer films. *J. Pharm. Pharmacol.* 18: 457-466 (1966)
- Park HJ, Park JW, Song JJ, Kang SK, Vergano PJ, Testin RF. Tensile strength, elongation and water vapor permeability of chitosan-based biopolymer film. *J. Chitin Chitosan* 2: 135-141 (1997)
- Fellows P. *Food Processing Technology Principles and Practice*. Ellis Horwood Ltd., Chichester, England, UK. pp. 432-433 (1988)
- Park JS, Park JW, Ruckenstein E. A dynamic mechanical and thermal analysis of unplasticized and plasticized poly(vinyl alcohol)/methylcellulose blends. *J. Polymer Sci.* 80: 1825-1834 (2001)