

아까시 꽃 추출물을 첨가한 성게 껍질 필름의 제조

- 연구노트 -

양현주 · 송경빈

충남대학교 식품공학과

Preparation of Sea Urchin Skeleton Film Containing *Robinia pseudoacacia* Flower Extract

Hyun-Ju Yang and Kyung Bin Song

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University

ABSTRACT Sea urchin skeleton (SUS) generated from production of sea urchin eggs was used as a biodegradable film base material, and its composite film with gelatin was prepared. In addition, *Robinia pseudoacacia* flower extract (RFE) was incorporated into the film-forming solution to provide antioxidant and anti-microbial activities. The tensile strength (TS) of the SUS/gelatin composite films increased with increasing gelatin content, whereas elongation at break (E) decreased. Among the composite films, SUS/gelatin film at a ratio of 8:2 (w/w) exhibited the most desirable TS and E values. Furthermore, SUS composite film containing RFE showed a reduced TS and increased E compared to the control film. Based on 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assays and disc diffusion results against growth of *Listeria monocytogenes*, antioxidant and anti-microbial activities of films increased with increasing RFE concentration. Consequently, SUS composite film containing RFE showed proper physical properties as well as antioxidant and anti-microbial activities. These results indicate that SUS can be used as a film base material while the SUS composite film containing RFE can be utilized as active packaging.

Key words: biodegradable film, sea urchin skeleton, *Robinia pseudoacacia* flower extract

서 론

성게는 극피동물문(Echinodermata), 성게강(Echinoidea)으로 분류되고 그중 보라성게, 말뚝성게, 분홍성게 등이 식용으로 사용되지만, 비식용 부위가 80%이기 때문에 연간 약 2,300톤의 성게 껍질이 그대로 방치되고 있어서 환경오염 문제를 일으키고 있다(1,2). 따라서 환경오염이나 폐기물 활용 등 문제점을 해결하기 위해 성게 껍질로부터 기능성 유효 성분을 추출하거나 비료, 가축 사료로 일부 사용되고 있지만(1,3), 그 활용 방안 증가를 위해서는 더 많은 연구가 필요하다. 특히, 성게 껍질은 회분을 제외하고는 대부분 탄수화물과 단백질로 구성되어 있기에(1) 친환경적인 생분해성 film base 또는 coating 소재로의 활용이 가능하다.

최근 플라스틱 포장재를 대체하고자 생분해가 가능한 재료로 제조된 포장재가 많이 연구되고 있는데(4), 특히 막걸리박, 옥피 등 식품 가공부산물 및 폐기물을 이용해 생분해

성 필름을 제조함으로써 폐기물의 처리 비용 감소 및 그 활용도를 증가시키는 추세이다(5,6). 그러나 이렇게 제조한 생분해성 필름은 플라스틱 필름보다 열악한 물성을 가지고 있기에 이를 보완하기 위해 좋은 필름형성능력을 갖추는 gelatin, chitosan, agar 등의 물질을 첨가하여 복합필름을 제조하는데, 그중에서도 gelatin이 뛰어난 필름형성능력을 갖추고 있다고 보고된 바 있다(7).

식품의 유통, 저장 중 발생하는 지방 산화 및 미생물의 성장이나 오염을 감소시키기 위해 항산화, 항균 물질이 포함된 기능성 포장재의 개발이 이루어지고 있는데(8), 천연물질을 더 선호하는 소비자들의 인식 변화에 따라 자몽 종자 추출물 등 천연 기능성 추출물을 첨가한 포장재 개발에 관한 연구 등이 활발히 이루어지고 있다(9,10). 이러한 천연물 중에서 특히 아까시 꽃 추출물(*Robinia pseudoacacia* flower extract, RFE)에는 acacetin 등 flavone glycosides가 함유되어 있어서(11) 항균, 항산화 능력과 더불어 특유의 달콤한 향을 가지고 있어 성게 껍질 자체의 어취를 줄일 수 있는 flavor enhancer로서 그 응용 가능성이 있다고 판단된다. 따라서 본 연구에서는 폐기되는 말뚝성게 껍질을 생분해성 필름 소재로 사용하고 gelatin을 첨가해 물성을 개선하고, 또한 RFE를 첨가하여 항산화, 항균 능력을 가지는 생분해성

Received 19 January 2016; Accepted 10 March 2016

Corresponding author: Kyung Bin Song, Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

E-mail: kbsong@cnu.ac.kr, Phone: +82-42-821-6723

식품 포장재 또는 coating 소재로서의 개발 가능성을 확인하고자 수행되었다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에서 사용된 말뚝성게 껍질은 강원도 동해시 소재 수산 업체에서 제공받아, 60°C에서 6시간 건조한 후 grinder로 분쇄하여 분말로 사용하였다. Fructose, sorbitol, sucrose, gelatin은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 아까시 꽃은 대전에 있는 대형마트에서 구입하여 사용하였다.

Robinia pseudoacacia flower extract(RFE) 추출

RFE는 건조된 아까시 꽃가루에 20배의 60% 에탄올을 첨가하고 실온에서 24시간 교반한 뒤, Whatman No. 2 여과지(GE Healthcare UK Ltd., Chalfont St Giles, UK)로 여과하고 감압 농축한 후 동결 건조하였다.

RFE를 함유한 성게 껍질(SUS) 복합필름 제조

복합필름을 제조하기 위해 예비실험을 통해 다양한 비율(10:0, 8:2, 6:4)의 성게 껍질 분말과 gelatin, 2.5 g fructose를 100 mL 증류수에 첨가하여 30분간 교반하고, homogenizer(IKA, Ultra-Turrax T25, Staufen, Germany)를 이용하여 1,200 rpm에서 5분간 homogenization 한 다음 sonication(Model-GE 750, Sonics & Materials, Newtown, CT, USA)을 10분간 한 뒤 60°C에서 30분간 가열 처리하였다. 처리 후 실온에서 식힌 뒤 다양한 농도(0.5, 1.0, 1.5%)의 RFE를 첨가하여 30분간 교반한 다음, 거즈를 이용해 여과한 액(80 mL)을 Teflon 유리판(24×30 cm)에 균일하게 부어 실온에서 18시간 건조하여 제조하였다.

필름의 인장강도, 신장률 및 투습도 측정

필름의 인장강도(tensile strength, TS)와 신장률(elongation at break, E)을 측정하기 위해 ASTM Standard Method D638M 방법에 따라 25°C, 상대습도 50%에서 48시간 conditioning 한 후 Instron Universal Testing Machine(Model 4484, Instron Co., Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다. 필름의 투습도(water vapor permeability, WVP)는 Lee 등(12)의 방법에 따라서 8시간 동안 매시간 측정하였다.

필름의 항산화 능력 측정

필름의 항산화 능력 확인을 위해 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능을 Yang 등(13)의 방법에 따라 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능 측정은 16시간 동안 암실에서 반응시킨 7 mM ABTS 용액과

2.45 mM potassium persulfate의 혼합용액(2:1, v/v)을 3차수로 희석하여 734 nm에서 흡광도를 0.7(±0.02)로 맞추어 사용하였다. ABTS 혼합용액(2.85 mL)과 0.15 mL의 필름형성용액을 혼합하여 암실에서 10분간 반응시킨 뒤 734 nm에서의 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능 측정은 메탄올을 사용해 제조한 1 mM DPPH 용액 1 mL와 필름형성용액 3 mL를 혼합하여 암실에서 1시간 반응시킨 뒤 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

균주 배양과 필름의 항균 능력 측정

Listeria monocytogenes(ATCC 19111)를 brain heart infusion(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 접종하여 37°C, 24시간 배양한 균 액을 필름의 항균 능력 측정을 위한 디스크 확산법에 사용하였다. 배양된 *L. monocytogenes*를 Oxford medium base(Difco Laboratories) plate에 멸균 면봉으로 균 액을 묻혀 배지 표면에 고르게 도말하고, 10 mm 지름의 멸균된 paper disc(Advantec Toyo Kaisha, Tokyo, Japan)에 필름형성용액을 75 µL씩 분주한 뒤 균이 도말된 배지에 부착시켜 4°C에서 30분간 보관함으로써 paper disc에 분주된 용액의 확산을 쉽게 하였다. 보관 후 37°C에서 24시간 배양하면서 생성된 inhibition zone의 지름을 측정하였다.

통계 분석

SAS(Statistical Analysis System program version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 사용하여 각각의 실험 결과를 $P < 0.05$ 수준에서 분산분석, Duncan's multiple range test 하였고, 그 결과를 평균±표준편차로 표현하였다. 모든 실험은 최소 3 반복 이상 수행하였다.

결과 및 고찰

SUS 복합필름의 물성

SUS 필름의 신장률을 높이기 위해 가소제로 sorbitol, sucrose, fructose를 첨가하여 예비실험을 진행한 결과(data not shown), 최적의 가소제로 2.5 g의 fructose를 선정하여 본 실험에서 사용하였고 인장강도를 개선하고자 gelatin을 첨가하여 복합필름을 제조하였다(Table 1). SUS 필름에 fructose를 첨가하였을 때 2.66 MPa, 66.04%의 TS

Table 1. Physical properties of SUS composite films

SUS : gelatin ratio	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)
10:0	2.66±0.83 ⁽¹⁾²⁾	66.04±6.25 ^a
8:2	28.20±2.59 ^b	36.06±2.70 ^b
6:4	76.69±4.30 ^a	14.34±2.41 ^c

¹⁾Values are mean±SD (n=5).

²⁾Any means in the same column followed by different letters are significantly ($P < 0.05$) different by Duncan's multiple range test.

Table 2. Physical properties of SUS composite films containing various amounts of RFE

<i>Robinia pseudoacacia</i> flower extract (%)	Tensile strength (MPa)	Elongation at break (%)	WVP (10^{-9} g m/m ² sPa)
0	28.20±2.59 ^{a1)2)}	36.03±2.70 ^c	1.67±0.06 ^c
0.5	25.43±2.77 ^{ab}	42.33±4.00 ^b	2.13±0.13 ^b
1.0	24.38±5.60 ^{ab}	48.76±4.72 ^b	2.18±0.03 ^{ab}
1.5	22.29±2.45 ^b	52.73±3.16 ^a	2.34±0.11 ^a

¹⁾Values are mean±SD (n=5).

²⁾Any means in the same column followed by different letters are significantly ($P<0.05$) different by Duncan's multiple range test.

와 E를 나타내어 인장강도가 낮았으나, gelatin을 첨가한 결과 첨가량이 증가함에 따라 TS는 증가하고 E가 감소하였다. 본 연구 결과와 유사하게 Song 등(10)의 연구 결과에서도 barely bran protein 필름에 gelatin을 첨가하였을 때 그 비율이 증가함에 따라 TS가 증가하고 E가 감소하였는데, 이러한 차이는 필름 주재료인 고분자 물질과 gelatin 간의 결합 증가에 의한 물성 변화로 기인한다. 또한, Lee 등(12)의 연구에서도 고추씨 박 단백질 필름에 첨가되는 gelatin 함량이 증가함에 따라 TS가 증가하고 E가 감소하였다. 이러한 결과를 바탕으로 SUS 복합필름의 인장강도 및 신장률을 고려했을 때 SUS:gelatin 비율이 8:2(w/w)일 때가 최적 조건이었으며, 이때 물성은 TS가 28.20 MPa이었고 E는 36.06%였다.

RFE 함유 SUS 복합필름의 물성

SUS 복합필름에 항균 및 항산화 능력을 부여하기 위해 다양한 농도의 RFE(0.5, 1.0, 1.5%)를 필름형성용액(SUS:gelatin=8:2, 2.5 g fructose)에 첨가하여 필름을 제조하였다(Table 2). RFE 농도가 증가함에 따라 RFE를 첨가하지 않은 대조구에 비해 TS가 최대 5.9 MPa까지 감소하고 E가 최대 16.7%까지 증가하였다. 이러한 결과는 RFE 첨가로 필름 내 고분자 물질인 SUS의 분자 간 결합 감소에 의한 것이라고 판단된다. 본 연구 결과와 유사하게 Kanmami와 Rhim(14)의 연구에서 agar 필름에 자몽종자 추출물을 첨가한 결과 추출물의 농도가 증가함에 따라 TS가 감소하고 E가 증가하였는데, 이러한 차이는 필름 내 agar와 같은 고분자 물질 간의 결합이 감소함에 따른 결과라고 보고하였다. WVP의 경우 RFE를 0.5, 1.0, 1.5% 첨가함에 따라 2.13, 2.18, 2.34 10^{-9} g m/m²sPa로 RFE의 농도와 비례하여 증가하였다. 이것은 RFE 첨가로 필름 내 분자 간 결합이 감소하여 pore 크기가 증가해 수분 투과가 더 잘 일어나게 되었다고 판단된다(15). Nouri와 Mohammadi Nafchi(16)의 보고에서도 sago starch 필름에 betel leaves 추출물을 첨가한 결과, 첨가량에 비례하여 WVP가 증가하였다고 보고한 바 있다.

RFE 함유 SUS 복합필름의 항산화 및 항균 능력

다양한 농도의 RFE를 첨가한 SUS 복합필름의 항산화 능력을 확인하기 위해 ABTS, DPPH 라디칼 소거능을 측정하

였다(Table 3). 그 결과 각각의 라디칼 소거능 결과를 통해 항산화능이 확인되었는데, 이러한 결과는 아까시 꽃 추출물 내 다양한 flavonoid에 의한 것으로 판단된다(11). 또한 RFE 첨가량이 증가함에 따라 라디칼 소거능이 비례하게 증가하였는데, 이러한 결과는 Kim 등(17)이 보고한 아까시 꽃 추출물의 농도별 DPPH 라디칼 소거능 결과와 유사하였다. 또한, 항균 능력을 확인하고자 디스크 확산법을 통해 *L. monocytogenes*의 생육 억제능을 측정하였는데(Table 4), RFE 농도가 0.5, 1.0, 1.5%로 증가함에 따라 inhibition zone이 21.01, 26.86, 32.94 mm로 농도에 비례하게 증가하여 RFE가 *L. monocytogenes*의 생육을 뚜렷이 저해하는 것을 확인할 수 있었다. 특히, *L. monocytogenes*는 광범위한 생육 온도를 가지는 병원성 식중독균으로, 최근 식중독이 발생할 가능성이 크기에 본 SUS 복합필름의 항균 능력 측정 대상 균으로 선정하였다. 한편, SUS 복합필름은 37°C 이상의 온도에서는 녹을 수 있는 특성이 있어서 식품 coating 소재나 냉장 온도에서 유통되는 가공식품의 저장성 증대를 위한 기능성 포장 소재로의 활용이 가능하다고 판단된다.

Table 3. Antioxidant activities of SUS composite films containing various amounts of RFE

<i>Robinia pseudoacacia</i> flower extract (%)	ABTS radical scavenging (%)	DPPH radical scavenging (%)
0	—	—
0.5	51.95±0.86 ^{c1)2)}	37.65±0.09 ^c
1.0	77.91±2.25 ^b	68.94±0.10 ^b
1.5	82.50±2.73 ^a	73.90±0.07 ^a

¹⁾Values are mean±SD (n=3).

²⁾Any means in the same column followed by different letters are significantly ($P<0.05$) different by Duncan's multiple range test.

Table 4. Antimicrobial activity of SUS composite films containing various amounts of RFE against *Listeria monocytogenes*

<i>Robinia pseudoacacia</i> flower extract (%)	Inhibition zone (mm)
0	0
0.5	21.01±1.92 ^{c1)2)}
1.0	26.86±1.10 ^b
1.5	32.94±1.66 ^a

¹⁾Values are mean±SD (n=3).

²⁾Any means in the same column followed by different letters are significantly ($P<0.05$) different by Duncan's multiple range test.

따라서 이러한 연구 결과들은 폐기되는 성게 껍질로 제조한 복합필름에 RFE를 첨가함으로써 항산화와 항균 능력이 있고 생분해가 가능한 저렴한 기능성 식품 포장 또는 코팅 소재로의 개발이 가능하다는 것을 시사하며, 향후 SUS 복합필름의 열 안정성 증대를 위한 추가적인 연구가 더 필요하다고 판단된다.

요 약

본 연구에서는 폐기되는 성게 껍질을 이용한 생분해성 필름 소재를 개발하고자 gelatin을 첨가한 복합필름 및 항산화, 항균성을 부여하기 위해 아까시 꽃 추출물(RFE)을 첨가한 필름을 제조하였다. 그 결과 gelatin 비율이 증가함에 따라 성게 껍질 필름의 인장강도가 증가하였고 신장률이 감소하였으며, 성게 껍질과 gelatin을 8:2 비율로 첨가하였을 때 최적의 물성을 보였다. 또한, 필름에 RFE를 첨가함에 따라 인장강도는 감소하였으나 신장률과 필름 투습도는 증가하였다. RFE 함유 성게 껍질 필름의 ABTS, DPPH 라디칼 소거능 측정과 디스크 확산법을 이용하여 항산화 및 항균 능력을 측정하였는데, RFE 농도가 증가함에 따라 항산화, 항균 능력이 향상하였다. 따라서 본 연구 결과, RFE를 첨가한 생분해 성게 껍질 필름은 적절한 물성과 함께 항산화, 항균 능력이 있기에 가공식품의 저장성을 증대시킬 수 있는 기능성 포장 소재로의 활용이 가능하다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 충남대학교 CNU 학술 연구비의 지원에 의한 것으로 감사드립니다.

REFERENCES

1. Lee SJ, Ha WH, Choi HJ, Cho SY, Choi JW. 2010. Hepatic detoxification and antioxidant activity in sea-urchin roe and ethanol extract of roe. *Kor J Fish Aquat Sci* 43: 428-436.
2. Statistics Korea. 2014. Statistic database for aquaculture production 2014. http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/2/7/5/index.board (accessed Jan 2016).
3. Kim YJ. 2005. Influence of dietary sea urchin shell powder on physico-chemical properties of chicken meat. *Korean J Poult Sci* 32: 55-60.
4. Lim GO, Jang SA, Kim JY, Kim HJ, Song KB. 2010. Use of a gelatin film containing grapefruit seed extract in the packaging of strawberries. *Korean J Food Preserv* 17: 196-201.
5. Lee JH, Lee JH, Yang H, Song KB. 2015. Preparation of makgeolli residue protein film containing wasabi extract and its application. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 268-274.
6. Yang HJ, Lee JH, Lee JH, Song KB. 2015. Characterization of a corn fiber protein film containing green tea extract. *J Appl Biol Chem* 58: 145-151.
7. Vanin FM, Sobral PJA, Menegalli FC, Carvalho RA, Habitant AMQB. 2005. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. *Food Hydrocolloids* 19: 899-907.
8. Ramos M, Jiménez A, Peltzer M, Garrigós MC. 2012. Characterization and antimicrobial activity studies of polypropylene films with carvacrol and thymol for active packaging. *J Food Eng* 109: 513-519.
9. Yoon SY, Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Lee SJ, Lee CJ, Park NB, Jung JY, Kwak JH, Nam KW, Ahn DH. 2010. Antimicrobial activity of the *Sargassum fulvellum* ethanol extract and the effect of temperature and pH on their activity. *Korean J Food Sci Technol* 42: 155-159.
10. Song HY, Shin YJ, Song KB. 2012. Preparation of a barley bran protein-gelatin composite film containing grapefruit seed extract and its application in salmon packaging. *J Food Eng* 113: 541-547.
11. Veitch NC, Elliott PC, Kite GC, Lewis GP. 2010. Flavonoid glycosides of the black locust tree, *Robinia pseudoacacia* (Leguminosae). *Phytochemistry* 71: 479-486.
12. Lee JH, Yang HJ, Lee KY, Song KB. 2016. Physical properties and application of a red pepper seed meal protein composite film containing oregano oil. *Food Hydrocolloids* 55: 136-143.
13. Yang HJ, Lee JH, Won M, Song KB. 2016. Antioxidant activities of distiller dried grains with solubles as protein films containing tea extracts and their application in the packaging of pork meat. *Food Chem* 196: 174-179.
14. Kanmani P, Rhim JW. 2014. Antimicrobial and physical-mechanical properties of agar-based films incorporated with grapefruit seed extract. *Carbohydr Polym* 102: 708-716.
15. Lim GO, Jang SA, Song KB. 2010. Physical and antimicrobial properties of *Gelidium corneum*/nano-clay composite film containing grapefruit seed extract or thymol. *J Food Eng* 98: 415-420.
16. Nouri L, Mohammadi Nafchi A. 2014. Antibacterial, mechanical, and barrier properties of sago starch film incorporated with betel leaves extract. *Int J Biol Macromol* 66: 254-259.
17. Kim SJ, Seo GU, Seo BY, Park E, Lee SC. 2011. Antioxidant activity and DNA damage protective effect of a *Robinia pseudoacacia* L. flower extract. *Korean J Food Cook Sci* 27: 99-106.