(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년02월15일
(11) 등록번호 10-1594167
(24) 등록일자 2016년02월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/305 (2006.01) *C08J 5/18* (2006.01)
(52) CPC특허분류(Coo. Cl.)
A23L 1/3053 (2013.01)
B65D 65/38 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0019390
(22) 출원일자 2015년02월09일
심사청구일자 2015년02월09일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020060125995 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
충남대학교 산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
송경빈
대전광역시 유성구 장대로71번길 34(장대푸르지오아파트) 106동 704호
이가연
충청남도 공주시 무령로 169-5 (교동,대우아파트) 102동 503호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

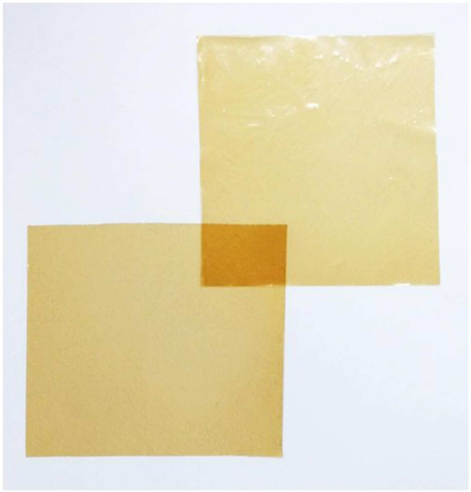
전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 유진오

(54) 발명의 명칭 **자몽 종자 추출물을 함유한 항균성 불가사리 단백질 필름의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 불가사리로부터 추출된 단백질에 천연 항균제인 자몽 종자 추출물을 첨가하여 항균성을 함유하는 가식성 필름(edible film)을 제조하는 방법에 관한 것으로, 본 발명의 자몽 종자 추출물을 포함한 불가사리 단백질 필름은 인장강도, 신장률 및 항균성이 우수하므로 기능성 식품 포장재로 유용하게 사용될 수 있으며, 해양 생태계 파괴의 주범으로 알려진 불가사리를 이용하여 저렴하게 단백질을 추출하고 필름을 제조함으로써 가격 경쟁력이 뛰어나다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류(Coo. C1.)
C08J 5/18 (2013.01)
(72) 발명자
이지현
대전광역시 중구 계룡로 852 (오류동, 삼성아파트) 25동 601호
양현주
경기도 안양시 만안구 태평로 214(안양동 경남아너스빌) 102동 1401호
이현주
충청북도 청주시 서원구 매봉로13번길 1 (분평동) 101호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2014-1591-01
부처명 교육부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 지방대학 특성화 사업
연구과제명 지역맞춤형 미래농업인재 양성사업
기 여 율 1/1
주관기관 충남대학교 산학협력단
연구기간 2014.07.01 ~ 2015.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

자몽 종자 추출물, 불가사리로부터 추출된 전체 단백질 및 글리세롤을 유효성분으로 함유하는 가식성 필름(edible film)으로,

상기 자몽 종자 추출물은 필름 전체 중량에 대하여 0.1 내지 1.5 중량%이고,

상기 불가사리로부터 추출된 전체 단백질은 필름 전체 중량에 3 내지 7 중량%이며,

상기 글리세롤은 전체 단백질 중량에 대하여 20 내지 50 중량%인 가식성 필름.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 단백질은 불가사리로부터 알칼리 및 산 추출방법, 유기용매 추출방법 또는 증류수 추출방법으로 추출된 것을 사용하는 것을 특징으로 하는 가식성 필름.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

1) 불가사리로부터 전체 단백질을 추출하는 단계;

2) 상기 단계 1)의 단백질에 글리세롤 및 자몽 종자 추출물을 첨가하여 필름 용액을 제조하는 단계; 및

3) 상기 필름 용액을 가열한 후 모듈에 분주하여 건조시키는 단계를 포함하는 가식성 필름의 제조 방법.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

자몽 종자 추출물, 불가사리로부터 추출된 전체 단백질 및 글리세롤을 유효성분으로 함유하는 식품 포장재로,

상기 자몽 종자 추출물은 필름 전체 중량에 대하여 0.1 내지 1.5 중량%이고,

상기 불가사리로부터 추출된 전체 단백질은 필름 전체 중량에 3 내지 7 중량%이며,

상기 글리세롤은 전체 단백질 중량에 대하여 20 내지 50 중량%인 식품 포장재.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 자몽 종자 추출물을 함유하는 항균성 불가사리 단백질 필름의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 가공식품 포장용 플라스틱 포장재의 폐기 시 발생하는 환경오염 문제 때문에 최근 친환경적인 식품 포장재에 대한 관심이 증대되고 있다. 가식성 필름(edible film)은 기존 포장재와 달리 생분해성이기 때문에 폐기로 인한 환경오염을 줄일 수 있고, 다양한 천연 소재로부터 제조가 가능하다는 장점을 갖는다. 또한, 식품 표면을 코팅하거나, 식품의 내부에 사용하여 식품을 외부의 충격으로부터 보호하고 식품의 저장 수명을 증가시키는 동시에 수분, 기체 및 용질의 이동을 방지하는 기능을 한다. 나아가, 가식성 필름은 종래의 고분자 재질보다 쉽게 분해될뿐만 아니라, 포장 재질에 향미, 색소, 감미료 등의 성분을 첨가하여 내용물에 관능적(organoleptic) 특성을 부여하며, 딸기와 같이 실용적 이유로 인해 개별적으로 포장할 수 없는 제품들을 개별적으로 소포장할 수 있는 장점이 있다. 이러한 가식성 필름 중에서 흥미로운 것은 단백질 필름으로써 젤라틴(gelatin), 옥수수 단백(corn zein), 밀 글루텐(wheat gluten), 콩 단백질(soy protein), 콜라겐(collagen) 및 카제인(casein) 등을 소재로 하며, 이들 중 비교적 가격이 저렴한 곡류 단백질들이 가식성 필름에 많이 이용되고 있다(양성범 외, KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL., 1997, 29(3), 452-459).

[0003] 그러나 일반적으로 가식성 필름은 기존 플라스틱 필름에 비해 물성이 좋지 않고, 가격이 높아 경제성이 낮기에 널리 상용화되지 못하고 있다.

[0004] 불가사리는 해저에 서식하고 있는 대표적인 극피동물로써 아무르 불가사리(*Asterias amurensis*), 가시단풍 불가사리(*Astropecten polyacanthus*), 별 불가사리(*Asterina pectinifera*), 빨강 불가사리(*Centonardoa semiregularis*), 거미 불가사리(*Ophioplocus Japonicus*) 등 그 종류가 다양하다. 그러나 불가사리는 가리비, 굴, 전복, 홍합 등 고부가가치의 패류를 먹이로 하고 있기 때문에 수산 양식업에 큰 피해를 주고 있지만 천적이 없고 번식력이 뛰어나서 현재로서는 뚜렷한 해결방안이 없는 실정이다. 현재 포획하여 수거된 불가사리는 대부분 육상에 폐기되어 방치되고 있는 상태로 부패를 수반한 악취와 함께 환경오염을 야기하고 있다. 따라서 이렇게 방치되고 있는 불가사리를 활용하기 위해 대한민국 공개 특허 제 10-2002-0060860 호에서는 불가사리를 석회처리하여 비료로 제조하였고, 제 10-2001-0049531 호에서는 불가사리로부터 추출한 아미노산 질소를 포함한 식물 영양제를 제조하였다. 또한 제 10-2001-0044347호에서와 같이 불가사리를 이용한 칼슘 보충제를 제조하거나 제 10-2011-0020114호에서와 같이 불가사리 추출물을 포함하는 항 비만용 조성물을 제조하는 등 불가사리를 이용한 다양한 시도가 이루어지고 있지만, 불가사리 단백질 필름에 관한 연구는 없다.

[0005] 자몽 종자 추출물(grapefruit seed extract, GSE)은 자몽 종자를 물, 에틸알코올 등으로 추출한 것으로 아미노산(amino acid), 지방산(fatty acid), 비타민(vitamin) C, 토코페롤(tocopherol), 폴리페놀(polyphenol) 성분 등이 함유되어 있어서 화장품이나 기능성 식품 소재, 항균 및 항산화 등의 목적으로 사용될 수 있는 물질로 알려져 있다. 자몽 종자 추출물을 이용하기 위해 대한민국 특허 제 10-2002-0071640 호에서는 항균활성을 갖는 키토산, 키토산올리고당 및 자몽 종자 추출물을 함유한 기능성 식품 조성물을 제조하였고, 제 10-2014-0094952 호에서는 자몽 종자 추출물을 포함하는 저장성이 향상된 막걸리를 제조하는 등 다양한 시도가 이루어지고 있지

만, 자몽 종자 추출물을 이용한 불가사리 단백질 필름에 관한 연구는 보고된 바 없다.

[0006] 따라서, 본 발명자들은 필름의 물성을 보완함과 동시에 경제성을 제고하기 위한 가식성 식품 포장재를 개발하기 위하여, 해양 생태계 파괴의 주범으로 알려진 불가사리로부터 추출된 불가사리 단백질로 필름을 제조하였으며 천연 항균제인 자몽 종자 추출물을 첨가하여 항균성을 부여함으로써 가격 경쟁력을 확보하고 물성이 우수하여 기능적으로 차별성을 가지는 식품 포장재를 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 자몽 종자 추출물을 함유하는 항균성 불가사리 단백질 필름 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 자몽 추출물 및 불가사리로부터 추출한 단백질을 유효성분으로 함유하는 가식성 필름(edible film)을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은

[0010] 1) 불가사리로부터 단백질을 추출하는 단계;

[0011] 2) 상기 단계 1)의 단백질에 가소제 및 자몽 종자 추출물을 첨가하여 필름 용액을 제조하는 단계; 및

[0012] 3) 상기 필름 용액을 가열한 후 모듈에 분주하여 건조시키는 단계를 포함하는 가식성 필름의 제조 방법을 제공한다.

[0013] 아울러, 본 발명은 자몽 추출물 및 불가사리로부터 추출한 단백질을 유효성분으로 함유하는 가식성 식품 포장재를 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명은 불가사리로부터 추출된 단백질에 천연 항균제인 자몽 종자 추출물을 첨가하여 항균성을 함유하는 가식성 필름(edible film)을 제조하는 방법에 관한 것으로, 본 발명의 자몽 종자 추출물을 포함한 불가사리 단백질 필름은 인장강도, 신장률 및 항균성이 우수하므로 기능성 식품 포장재로 유용하게 사용될 수 있으며, 해양 생태계 파괴의 주범으로 알려진 불가사리를 이용하여 저렴하게 단백질을 추출하고 필름을 제조함으로써 가격 경쟁력이 뛰어나다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 불가사리로부터 단백질을 추출하는 방법을 나타내는 도면이다.

도 2는 불가사리 단백질, 가소제 및 자몽 종자 추출물을 이용하여 단백질 필름을 제조하는 방법을 나타내는 도면이다.

도 3은 본 발명에 따라 추출된 불가사리 단백질 필름을 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0017] 본 발명은 자몽 추출물 및 불가사리로부터 추출한 단백질을 유효성분으로 함유하는 가식성 필름(edible film)을 제공한다.

[0018] 상기 불가사리 단백질은 전체 중량에 대하여 3 내지 7 중량%로 사용될 수 있으며, 전체 중량에 대하여 5 중량%로 사용하는 것이 가장 바람직하다. 상기 범위를 벗어나는 3 중량% 미만인 경우 물성이 매우 약하거나 필름이 형성되지 않는다는 문제점이 있으며, 10 중량% 초과인 경우 두께가 두껍고 단백질의 균질화가 어려워 오히려 인장강도 및 신장률과 같은 물성이 좋지 않아 가식성 필름으로써 적합하지 않다.

[0019] 상기 불가사리 단백질은 불가사리로부터 알칼리-산 추출 방법, 효소처리 추출 방법, 수용성 추출 방법 등으로 추출될 수 있고, 바람직하게는 알칼리-산 추출 방법으로 추출될 수 있으나, 이에 한정하지 않는다.

[0020] 본 발명의 가식성 필름은 가소제를 추가적으로 포함하는 것이 바람직하다.

[0021] 상기 가소제는 글리세롤, 솔비톨, 과당, 자당 또는 이 혼합물을 사용할 수 있고, 바람직하게는 글리세롤이 사용될 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 상기 가소제로서 솔비톨 또는 과당을 이용하였을 경우 필름의 인장강도는 우수하였으나, 신장률이 좋지 않았다. 본 발명에 있어서 가소제로써 글리세롤은 전체 단백질 중량에 대하여 20 내지 50 중량%로 첨가될 수 있으며, 30 중량%를 사용하는 것이 가장 바람직하다. 상기 글리세롤이 20 중량% 이하인 경우 인장강도는 높으나 신장률이 낮아 필름이 부스러지는 문제점을 가지고 있었으며, 40 내지 50 중량%인 경우 신장률은 높지만 인장강도 낮은 문제점이 있다.

[0022] 상기 자몽 추출물은 자몽 종자 추출물인 것이 바람직하며, 전체 중량에 대하여 0.1 내지 1.5 중량%로 첨가되는 것이 바람직하나, 1.0 중량%인 것이 가장 바람직하다. 상기 범위를 벗어나는 0.1 중량% 미만인 경우 항균성이 떨어지고, 1.5 중량% 초과로 과다하게 함유되면 물성이 감소하여 필름이 약해진다.

[0023] 또한, 본 발명은

[0024] 1) 불가사리로부터 단백질을 추출하는 단계;

[0025] 2) 상기 단계 1)의 단백질에 가소제 및 자몽 종자 추출물을 첨가하여 필름 용액을 제조하는 단계; 및

[0026] 3) 상기 필름 용액을 가열한 후 모듈에 분주하여 건조시키는 단계를 포함하는 가식성 필름의 제조 방법을 제공한다.

[0027] 상기 단계 2)의 가소제는 글리세롤인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0028] 상기 가식성 필름은 항균성을 가지는 것이 바람직하다.

[0029] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 불가사리로부터 필름 제조를 위한 단백질 추출을 위해 30,000 rpm의 블렌더를 이용하여 건조된 불가사리를 분쇄한 후 30 mesh 체를 이용하여 선별된 불가사리 400 g과 0.1 M 수산화나트륨을 1:6(w/v) 비율로 혼합켜 1시간 동안 교반하였다. 이후, 침전 및 세척 후 0.5% 주석산을 첨가하여 1시간 동안 교반하였으며, 침전 및 세척을 반복한 후 1 M 주석산으로 pH를 6으로 맞추어 초음파 분쇄기로 균질화하였으며 80℃에서 3시간 동안 교반하였다. 이를 다시 원심분리하여 상등액을 취한 후, 동결건조하여 24.16 g의 단백질을 얻었으며 총 수득한 불가사리 단백질의 수율은 6.04% 이었다(도 1 참조).

[0030] 본 발명자들은 불가사리 단백질 필름을 제조하기 위해 상기에서 얻은 불가사리 단백질 5 g(5%, w/v)을 교반 후 초음파 분쇄기를 사용하여 8분 동안 균질화 하였으며, 감압펌프를 이용하여 기포를 제거하고, 40℃의 항온수조에서 30분간 중탕하였다. 가소제는 글리세롤을 1 g(20%, w/w), 1.5 g(30%, w/w), 2 g(40%, w/w) 또는 2.5 g(50%, w/w)을 넣었으며, 천연항균제로 자몽 종자 추출물 0, 0.5, 1.0 또는 1.5 중량%을 넣어 불가사리 단백질 필름 용액을 제조하였으며 테플론으로 코팅된 모듈에 50 내지 60 ㎛의 일정한 두께로 분주하여 상온에서 24시간 건조시켜 불가사리 단백질 필름을 제조하였다(도 2 및 도 3 참조).

[0031] 본 발명자들은 본 발명의 불가사리 단백질 필름의 물성을 측정하기 위하여 하기와 같이 인장강도 및 신장률을 측정하였다. 인장강도의 경우 글리세롤 20%의 경우 인장강도는 높으나 신장률이 낮아 필름이 부스러지는 문제를 가지고 있었으며, 글리세롤 40% 및 50%의 경우 신장률은 높지만 인장강도가 낮은 문제를 가지고 있어 글리세롤 30%가 가장 적절한 것으로 확인되었다(표 1 참조).

[0032] 또한, 본 발명자들은 천연 항균제로써 자몽 종자 추출물 첨가량에 의한 본 발명의 불가사리 단백질 필름의 인장강도 및 신장률을 확인하기 위하여 글리세롤 1.5 g(30%, w/w)를 첨가한 불가사리 단백질 필름에 자몽 종자 추출물 0, 0.5, 1.0 또는 1.5 중량%을 첨가하였다. 자몽 종자 추출물을 첨가한 불가사리 단백질 필름은 자몽 종자 추출물을 첨가하지 않은 필름에 비해 인장강도는 감소하였고, 신장률은 증가하는 것을 확인하였으며 0.5% 첨가한 필름의 인장강도는 높으나 신장률이 낮기 때문에, 인장강도와 신장률이 모두 높은 자몽 종자 추출물 1.0%가 가장 적절한 것으로 확인되었다(표 2 참조).

[0033] 또한, 본 발명자들은 글리세롤 1.5 g(30%, w/w)을 첨가한 불가사리 단백질 필름의 자몽 종자 추출물 첨가량에 따른 항균활성을 확인하기 위하여 디스크 확산법(disc-diffusion method)을 이용하여 대장균(Escherichia coli) O157:H7(NCTC 12079) 또는 포도상구균(Staphylococcus aureus KCTC 1621)에 대한 항균성을 확인하였다. 자몽 종자 추출물을 첨가한 불가사리 단백질 필름은 자몽 종자 추출물을 첨가하지 않은 필름에 비해 *E. coli* O157:H7 및 *S. aureus* 균에 대해서 항균성이 우수한 것을 확인하였으며 자몽 종자 추출물의 농도가 높아질수록 더 우수한 항균성을 나타내는 것을 확인하였다(표 3 참조). 이러한 결과는 기존의 가식성 필름인 맥강 단백질 및 젤라틴에 자몽 종자 추출물이 함유된 필름에 비해 항균성이 1.6배 높았다.

[0034] 또한, 본 발명자들은 글리세롤 1.5 g(30%, w/w) 및 자몽 종자 추출물 1.0%을 첨가한 불가사리 단백질 필름의 색을 측정하기 위해 총색차(total color difference), 채도(chroma) 및 불투명도(opacity)를 측정하였다. 본 발명의 불가사리 단백질 필름의 색은 황토색을 띄며, 불투명도는 3% 정도로 빛 투과 정도가 높고 투명한 것을 확인하였다(표 4 참조). 이러한 특성은 식품 포장재로 사용되었을 때, 식품의 시각적 효과를 높일 수 있으며 친환경 이미지를 부각한 투명한 포장재라는 느낌을 부여하여 소비자들의 선호도를 제고시킬 수 있다.

[0035] 본 발명자들은 불가사리 단백질 5 중량%, 글리세롤을 불가사리 단백질 중량에 대하여 30% 및 자몽 종자 추출물 1.0 중량%를 혼합하여 최적의 가식성 필름을 제조하였으며, 따라서 본 발명의 상기 가식성 필름은 인장강도, 신장률 및 항균성이 우수하여 식품 포장재 등에 사용될 수 있다.

[0036] 아울러, 본 발명은 자몽 추출물 및 불가사리로부터 추출한 단백질을 유효성분으로 함유하는 가식성 식품 포장재를 제공한다.

[0037] 상기 불가사리 단백질은 전체 중량에 대하여 3 내지 7 중량%로 사용될 수 있으며, 전체 중량에 대하여 5 중량%로 사용하는 것이 가장 바람직하다.

[0038] 상기 불가사리 단백질은 불가사리로부터 알칼리-산 추출 방법, 효소처리 추출 방법, 수용성 추출 방법 등으로 추출될 수 있고, 바람직하게는 알칼리-산 추출 방법으로 추출될 수 있으나, 이에 한정하지 않는다.

[0039] 본 발명의 가식성 필름은 가소제를 추가적으로 포함하는 것이 바람직하다.

[0040] 상기 가소제는 글리세롤, 솔비톨, 과당, 자당 또는 이 혼합물을 사용할 수 있고, 바람직하게는 글리세롤이 사용될 수 있으나, 이에 한정하지 않는다. 본 발명에 있어서 가소제로써 글리세롤은 전체 단백질 중량에 대하여 20 내지 50 중량%로 첨가될 수 있으며, 바람직하게는 30 중량%를 사용하는 것이 바람직하다.

[0041] 상기 자몽 추출물은 자몽 종자 추출물인 것이 바람직하며, 자몽 종자 추출물의 양은 전체 중량에 대하여 0.1 내지 1.5 중량%로 첨가될 수 있고, 1.0 중량%를 사용하는 것이 가장 바람직하다.

[0042] 본 발명자들은 불가사리 단백질 5 중량%, 글리세롤을 불가사리 단백질 중량에 대하여 30% 및 자몽 종자 추출물 1.0 중량%를 혼합하여 최적의 가식성 필름(edible film)을 제조하였으며, 본 발명의 상기 가식성 필름은 인장강도, 신장률 및 항균성이 우수하여 식품 포장재 등에 사용될 수 있다.

[0043] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의하여 상세히 설명한다.

[0044] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0045] **<실시예 1> 불가사리로부터 단백질의 추출**

[0046] 본 발명자들은 불가사리로부터 필름 제조를 위한 단백질 추출을 위해 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0047] 구체적으로, 본 발명에 사용된 불가사리는 아무르 불가사리(*Asterias amurensis*)로 마산합포구청에서 분양받았다. 불가사리의 단백질 추출 수율을 높이기 위해 30,000 rpm의 블렌더를 이용하여 건조된 불가사리를 분쇄한 후 30 mesh 체를 이용하여 선별하였다. 상기 선별된 불가사리 400 g과 0.1 M 수산화나트륨을 1:6(w/v) 비율로 혼합시킨 후 1시간 동안 교반하였다. 교반 후, 10,000 x g에서 20분 동안 원심분리하여 얻어진 침전물을 수돗물로 세척하였다. 세척 후, 0.5% 주석산을 첨가하여 1시간 동안 교반하였으며, 다시 10,000 x g에서 20분 동안 원심분리하여 침전물을 수돗물로 세척하였다. 세척 후, 1 M 주석산으로 pH를 6으로 맞춘 후, 초음파 분쇄기를 사용하여 30분 동안 균질화한 후, 80℃에서 3시간 동안 교반하였다. 이를 다시 원심분리하여 상등액을 취한 후, 동결건조하여 24.16 g의 단백질을 얻었다(도 1).

[0048] 그 결과, 총 수득한 불가사리 단백질의 수율은 6.04%인 것을 확인하였다.

[0049] **<실시예 2> 불가사리 단백질 필름의 제조**

[0050] **<2-1> 필름 용액의 제조**

[0051] 본 발명자들은 상기 <실시예 1>에서 얻은 불가사리 단백질 5 g(5%, w/v)을 증류수 100 mL가 포함된 비이커에 넣고 30분간 교반한 후, 초음파 분쇄기를 사용하여 8분 동안 균질화 하였으며, 감압펌프를 이용하여 기포를 제거하였으며, 40℃의 항온수조에서 30분간 중탕하였다. 그리고 가소제는 글리세롤을 1 g(20%, w/w), 1.5 g(30%, w/w), 2 g(40%, w/w) 또는 2.5 g(50%, w/w)을 넣었으며, 천연항균제로 자몽 종자 추출물(ABC Techno Inc.(Tokyo,Japan)) 0, 0.5, 1.0 또는 1.5 중량%을 넣어 불가사리 단백질 필름 용액을 제조하였다.

[0052] **<2-2> 불가사리 단백질 필름의 건조**

[0053] 상기 <실시예 2-1>에서 제조된 필름 용액을 테플론으로 코팅된 모듈에 50 내지 60 μm의 일정한 두께로 분주하여 상온에서 24시간 건조시켜 불가사리 단백질 필름을 제조하였다(도 2 및 도 3).

[0054] **<실험예 1> 불가사리 단백질 필름의 물성 확인**

[0055] 본 발명자들은 상기 <실시예 2>에서 제조한 불가사리 단백질 필름의 물성을 측정하기 위하여 하기와 같이 인장강도 및 신장률을 측정하였다.

[0056] 구체적으로, 상기 <실시예 2>에서 제조한 불가사리 단백질 필름을 절단한 후 온도 25℃, 상대습도 50%로 유지되는 항온항습기에서 48시간 동안 방치하여 필름을 안정화시킨 후, ASTM D882-90 표준 시험법에 따라 물성 측정기(M250-2.5 CT, The Testometric company Ltd., Lancashire, UK)를 이용하여 필름의 물성을 측정하였다. 이때 초기 그립 간 차이는 50 mm, 크로스 헤드 속도는 50 cm/min으로 조절하였으며, 인장강도와 신장률은 하기 [수학식 1] 및 [수학식 2]를 통하여 구하였다. 본 발명의 불가사리 단백질 필름에 첨가된 가소제로써 글리세롤을 1 g(20%, w/w), 1.5 g(30%, w/w), 2 g(40%, w/w) 또는 2.5 g(50%, w/w)을 넣어 상기 시험법을 따라 인장강도 및 신장률을 측정하였다. 또한, 천연 항균제로써 자몽 종자 추출물 첨가량에 의한 본 발명의 필름의 인장강도 및 신장률을 확인하기 위하여 글리세롤 1.5 g(30%, w/w)를 첨가한 불가사리 단백질 필름에 천연 항균제로써 자몽 종자 추출물 0, 0.5, 1.0 또는 1.5 중량%을 첨가하여 인장강도 및 신장률을 측정하였다.

[0057] [수학식 1]

[0058] $$\text{인장강도} = \frac{A}{F}$$

[0059] 이때, A= 필름의 평균 단면적; 및

[0060] F= 필름이 절단될 때까지 작용한 가장 큰 힘.

[0061] [수학식 2]

[0062] $$\text{신장률} = \frac{\Delta L}{L} \times 100$$

[0063] △L= 필름이 절단될 때까지 움직인 그립 간의 거리; 및

[0064] L= 초기 그립 간의 거리.

[0065] 그 결과, 표 1에 나타낸 바와 같이 본 발명의 불가사리 단백질 필름의 인장강도의 경우 글리세롤 20%를 가소제로 사용하였을 때 가장 높았으며, 신장률의 경우 글리세롤 50%를 포함한 경우가 가장 높은 것을 확인하였다(표 1). 그러나, 글리세롤 20%의 경우 인장강도는 높으나 신장률이 낮아 필름이 부스러지는 문제를 가지고 있었으며, 글리세롤 40% 및 50%의 경우 신장률은 높지만 인장강도가 낮은 문제를 가지고 있어 글리세롤 30%가 가장 적절하다고 판단하였다.

[0066] 또한, 표 2에 나타낸 바와 같이, 자몽 종자 추출물을 첨가한 불가사리 단백질 필름은 자몽 종자 추출물을 첨가하지 않은 필름에 비해 인장강도는 감소하였고, 신장률은 증가하는 것을 확인하였다(표 2). 필름의 물성 측면에서 보면 자몽 종자 추출물 0.5% 첨가한 필름의 인장강도는 높으나 신장률이 낮기 때문에, 인장강도와 신장률이 모두 높은 자몽 종자 추출물 1.0%가 가장 적절하다고 판단하였다.

[0067] 표 1

글리세롤(%)	인장강도(MPa)	신장률(%)
20	17.30±2.38	2.55±0.66
30	16.64±0.67	12.55±3.26
40	5.65±0.01	40.14±1.61
50	3.15±0.21	52.82±6.54

[0068] 표 2

자몽종자 추출물(%)	인장강도(MPa)	신장률(%)
0	16.64±0.67	12.55±3.26
0.5	15.82±0.27	8.81±0.55
1	7.27±1.27	64.70±3.44
1.5	1.87±0.26	122.73±4.57

[0069] **<실험예 2> 불가사리 단백질 필름의 항균활성 확인**

[0070] 본 발명자들은 상기 <실시예 2>에서 제조한 글리세롤 1.5 g(30%, w/w)을 첨가한 불가사리 단백질 필름의 자몽 종자 추출물 첨가량에 따른 항균활성을 확인하기 위하여 디스크 확산법(disc-diffusion method)을 이용하였다.

[0071] 구체적으로, 상기 <실시예 2>에서 제조한 불가사리 단백질 필름을 직경이 10 mm가 되도록 자른 후, 대장균(*Escherichia coli*) O157:H7(NCTC 12079) 또는 포도상구균(*Staphylococcus aureus* KCTC 1621)이 접종된 배지에 부착시키고 37℃에서 24시간 배양하여 생긴 균주의 생장 억제 환의 직경을 측정하였다.

[0072] 그 결과, 표 3에 나타낸 바와 같이 천연항균제로 사용된 자몽 종자 추출물을 첨가한 불가사리 단백질 필름은 자몽 종자 추출물을 첨가하지 않은 필름에 비해 *E. coli* O157:H7 및 *S. aureus* 균에 대해서 항균성이 우수한 것을 확인하였으며 자몽 종자 추출물의 농도가 높아질수록 더 우수한 항균성을 나타내는 것을 확인하였다(표 3). 이러한 결과는 기존의 가식성 필름인 맥강 단백질 및 젤라틴에 자몽 종자 추출물이 함유된 필름에 비해 항균성이 1.6배 높았다.

표 3

[0073]

	자몽종자 추출물(%)	Zone of inhibition (mm)	
		E. coli 0157:H7	*S. aureus*
본 발명의 불가사리 단백질 필름	*0*	*0.00±0.00*	*0.00±0.00*
	0.5	21.07±0.59	28.36±0.73
	1	27.37±0.37	34.80±0.78
	1.5	33.79±0.74	49.04±0.60
대조군(백강 단백질 필름)	자몽종자 추출물(%)	Zone of inhibition (mm)	
		E. coli 0157:H7	*L. monocytogenes*
	0	0.00±0.00	0.00±0.00
	0.5	11.93±0.51	18.82±0.98
	1	17.08±0.61	21.39±0.60
	1.5	14.48±0.67	22.73±0.56

[0074] *Escherichia coli* 0157:H7 : 그람 음성 세균(Gram negative bacteria),

[0075] *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* : 그람 양성 세균(Gram positive bacteria).

[0076] **<실험예 3> 불가사리 단백질 필름의 색도 확인**

[0077] 본 발명자들은 상기 <실시예 2>에서 제조한 글리세롤 1.5 g(30%, w/w) 및 자몽 종자 추출물 1.0%을 첨가한 불가사리 단백질 필름의 색을 측정하기 위해 총색차(total color difference), 채도(chroma) 및 불투명도(opacity)를 측정하였다.

[0078] 구체적으로, 색차계(CR-300 Minolta Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 사용하여 헌터값(Hunter values)인 명도(lightness, L*), 적색정도(redness, a*) 및 황색정도(yellowness, b*)를 측정하였으며, 총색차(total color difference) 및 채도(chroma)는 하기 [수학식 3]을 이용하여 구하였다. 또한 의 대조군으로는 L= 97.35, a= -0.15, b= 2.04를 사용하였다. 불투명도(opacity)는 분광광도계(UV-2450, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)을 사용하여 600 nm에서 투과율(transmittance, %)를 측정하였다.

[0079] [수학식 3]

[0080] 총색차(Total color difference) = $[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5}$

[0081] $\Delta L^* = L^*_{sample} - L^*_{standard}$

[0082] $\Delta a^* = a^*_{sample} - a^*_{standard}$

[0083] $\Delta b^* = b^*_{sample} - b^*_{standard}$

[0084] 채도(Chroma) = $[(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5}$

[0085] 그 결과, 표 4에 나타낸 바와 같이 본 발명에서 제조된 불가사리 단백질 필름의 색은 황토색을 띄며, 불투명도는 3% 정도로 빛 투과 정도가 높고 투명하였다(표 4). 이러한 특성은 식품 포장재로 사용되었을 때, 식품의 시각적 효과를 높일 수 있으며 친환경 이미지를 부각한 투명한 포장재라는 느낌을 부여하여 소비자들의 선호도를 제고시킬 수 있다.

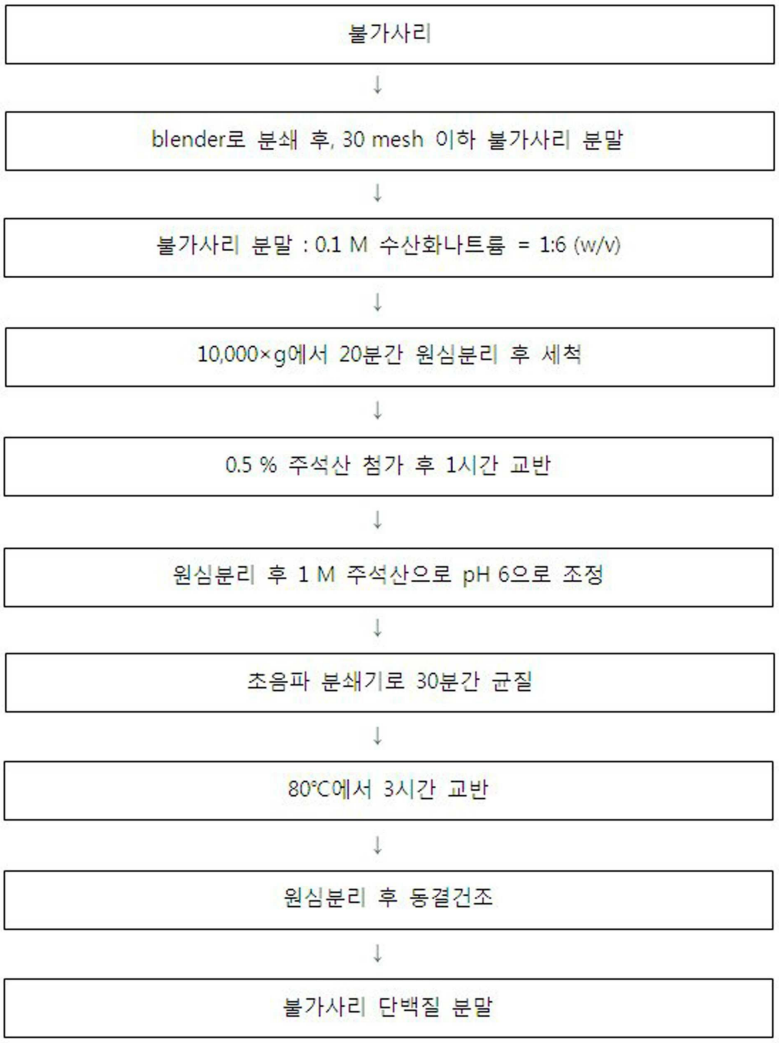
표 4

[0086]

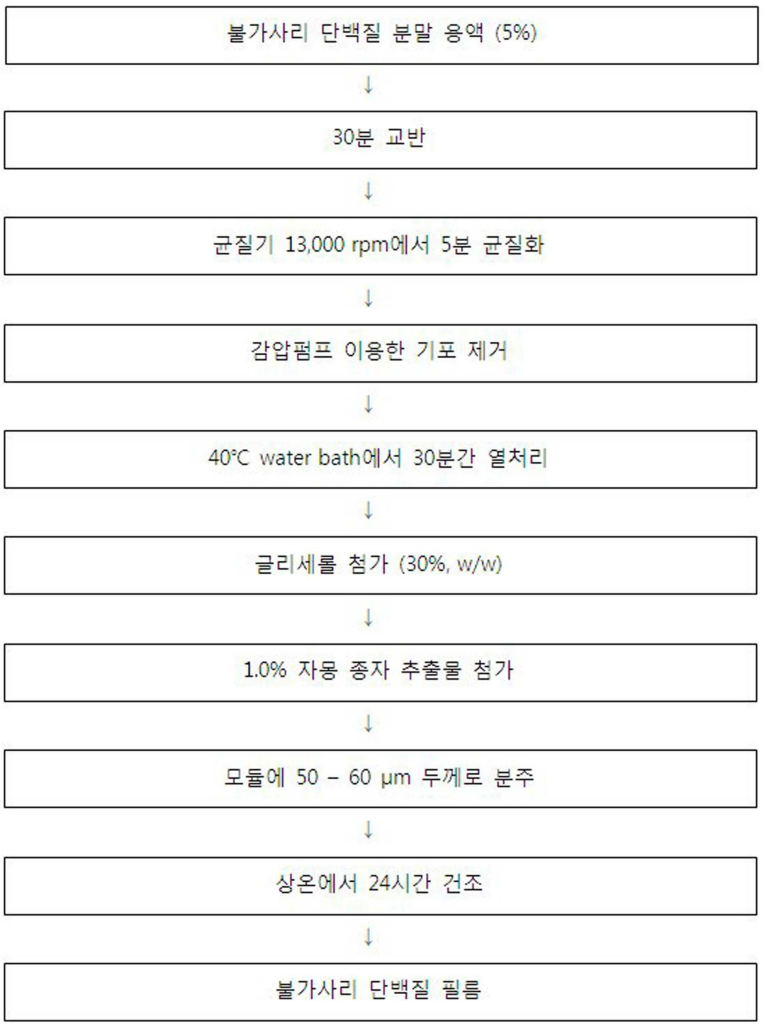
	Total color difference (E^*_{ab})	Chroma (C)	불투명도도(%)
불가사리 단백질 필름	34.73 ± 0.63	33.85 ± 0.48	3.60 ± 0.35

도면

도면1


불가사리
blender로 분쇄 후, 30 mesh 이하 불가사리 분말
불가사리 분말 : 0.1 M 수산화나트륨 = 1:6 (w/v)
10,000×g에서 20분간 원심분리 후 세척
0.5 % 주석산 첨가 후 1시간 교반
원심분리 후 1 M 주석산으로 pH 6으로 조정
초음파 분쇄기로 30분간 균질
80℃에서 3시간 교반
원심분리 후 동결건조
불가사리 단백질 분말

도면2


불가사리 단백질 분말 용액 (5%)
30분 교반
균질기 13,000 rpm에서 5분 균질화
감압펌프 이용한 기포 제거
40℃ water bath에서 30분간 열처리
글리세롤 첨가 (30%, w/w)
1.0% 자몽 종자 추출물 첨가
모듈에 50 – 60 μm 두께로 분주
상온에서 24시간 건조
불가사리 단백질 필름

도면3

