

PHB/chitosan 필름의 항균성 및 필름 포장시 식빵의 품질 특성*

Antimicrobial Activity of PHB/Chitosan Films and Quality of White Bread Packaged with the Films

김미라
경북대학교 식품영양학과

Meera Kim
Dept. of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University

Abstract

The antimicrobial activity of PHB/chitosan films and the quality of white bread packaged with the films were investigated. Chitosan film showed the highest antimicrobial activity and PHB(L) film also showed high antimicrobial activity against *Fusarium solani* KCTC 6636 and *Penicillium citreonigrum* KCTC 6927. White bread packaged with chitosan film had good moisture retention. L^* and b^* of white bread increased but a^* did little change during storage regardless of the film kind. The TBA values of white bread packaged with chitosan or PHB(L) film slowly increased during storage. The springiness of white bread packaged with PHB(M), PHB(L) and chitosan film was high. The colony forming units of microorganisms for white bread packaged with chitosan film were low during storage. Therefore, PHB(M), PHB(L) and chitosan films were superior to PHB(H) and PHB films as package material for white bread.

Key Words : PHB/chitosan film, antimicrobial activity, white bread, quality

I. 서론

합성 수지는 사용 후 자연에서 분해가 거의 일어나지 않기 때문에 심각한 환경오염을 일으킨다. 또한 이들을 소각할 때에도 유해한 물질이 발생하기 때문에 건강과 환경에 문제가 되고 있다. 따라서 세계 각국에서는 자연적으로 분해가 어려운 합성 수지의 사용을 규제하고 쉽게 분해될 수 있는 생분해성 물질의 사용을 확대하고 있다(Kaplan et al., 1993; Steinbuechel, 1992; Taylor, 1979). 우리나라에서도 일회용 합성 수지의 사용을 규제하고 있어 생분해성 물질의 사용이 증가하고 있으며, 의료계, 포장산업 등에서도 기존에 사용했던 합성 수지를 생분해성 물질로 대체하여 사용하기 위한 노력들을 하고 있다.

Poly(3-hydroxybutyric acid: PHB)는 미생물에 의해 합성되는 생분해성 물질로 합성 수지와 유사한 성질을 가

지고 있으며 성형 및 용융이 자유로운 특성을 가지고 있다. 특히 기존 고분자 물질과의 혼합이 용이하기 때문에 앞으로 여러 분야에서 사용될 수 있는 잠재력을 가지고 있다(Dieter & Zuger, 1985; Kamaev et al., 2001). 그러나 PHB로 만든 필름은 딱딱하고 구부렸을 때 부서지기 쉬워 사용에 제한을 받았는데, 최근 PHB와 다른 고분자 물질들을 혼합하여 만든 혼합 필름의 물성이 향상된 것으로 보고되어(Avella & Martuscelli, 1988; Greco & Martuscelli, 1989; Iriando et al., 1996; Marand & Collins, 1990) 그 사용 범위가 확대될 수 있는 가능성을 보여주었다. 특히 chitosan은 갑각류의 껍질에서 얻어지는 chitin의 탈아세틸 물질로 생분해성 필름의 신소재로 주목받고 있다. Chitosan 필름에 관해 수행된 연구들을 보면 Butler 등(1996)은 가식성 chitosan 필름의 물성과 산소투과도 조절능력에 관해 연구하였으며, Ogawa 등(1984)은 chitosan 필름을 제조하여 chitosan의 분자 배열

* 본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(과제번호: R04-2000-000-00064-0)지원으로 수행되었음.

Corresponding author: Meera Kim
Tel: 053) 950-6233, Fax: 053) 950-6229
E-mail: meerak@mail.knu.ac.kr

에 관한 연구를 수행하였다. Vojdani와 Torres(1989)는 chitosan 필름을 통해 식품의 미생물 생장방어에 이용되는 potassium sorbate의 투과성을 연구하였고, Wong 등(1992)과 Muzzarelli 등(1974)은 용해제로 포름산을 사용하여 chitosan 필름을 제조하고 투습계수와 산소투과도를 측정하였다. 이러한 연구들을 통해 chitosan이 우수한 필름 형성 능력과 기체 차단성을 가지고 있음이 보여졌다. 또한 생분해성과 필름형성 능력을 가지고 있는 chitosan과 PHB를 혼합하면 PHB의 단점이 보완되어 필름의 물성이 향상되고, 기체 투과성, 수분 투과성, 유지 투과성이 낮아져 식품 포장재로서의 특성이 좋아지는 것으로 나타났다(Gu & Kim, 2002; Kim, 2004).

합성수지로 인한 환경오염 때문에 최근 들어 식품산업에서도 식품포장재로서 기존의 합성 필름을 대신하여 생분해성 필름을 이용하기 위한 연구들이 수행되고 있는 바, 본 연구에서는 PHB와 chitosan을 혼합하여 만든 필름의 항균성을 평가하고 이 필름을 가지고 식빵 포장 실험을 수행함으로써 이들 필름의 식품포장재로서의 가능성을 평가하였다.

II. 재료 및 방법

1. PHB/chitosan 필름의 제조

PHB/chitosan 필름은 PHB(MW=400,000~700,000) (Fluka, Switzerland)와 chitosan(viscosity 550 cp) (Tae Hoon Bio Co., Korea)을 Table 1과 같이 일정비율로 혼합하여 제조하였다. 각 성분의 용해도를 고려하여 PHB는 1 g당 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol(HFIP) (Acros Organics, USA) 1.5 ml에 용해시키고, chitosan은 1 g당 증류수 60 ml, acetic acid 0.4 ml, HFIP 5 ml를 사용하여 40℃에서 교반하면서 용해시켰다. 용액의 기포를 없애기 위해 sonicator를 이용하여 초음파로 degasing하고 실온에서 30분 정도 방치하였다. 이 용액을 Teflon이 코팅된 판(30×30 cm) 위에 부어 casting한 후 25℃에서 2일간 건조시켜 PHB/chitosan 필름을 제조하였다.

<Table 1> Mixing ratio of PHB/chitosan films

Type of Film	PHB(g)	Chitosan(g)
PHB	1.50	0
PHB(H)	1.20	0.30
PHB(M)	0.75	0.75
PHB(L)	0.30	1.20
Chitosan	0	1.50

2. PHB/chitosan 필름의 항균성 분석

1) 이용 균주

필름의 항균성을 분석하기 위해서 식품 부패성 또는 식중독성 미생물인 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 1750, *Salmonella typhimurium* KCTC 2515, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 2001, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Fusarium solani* KCTC 6636, *Aspergillus flavus* KCTC 6633, *Penicillium citreonigrum* KCTC 6927 등의 균주를 이용하였다. 균주는 계대 배양하여 사용하고 세균은 nutrient 배지(Difco, USA)를, 곰팡이는 potato dextrose 배지(Difco, USA)를 사용하여 배양하였다.

2) Diffusion assay

항균성 검색은 diffusion assay를 이용하여 실시하였다 (James & Sherman, 1987; Kudo & Saga, 1990). 즉, 각 균주를 해당 액체 배지에 접종하고 spectrophotometer (Beckman DU-650, USA)를 이용하여 600 nm에서 흡광도가 0.3이 될 때까지 배양하였다. 배양된 균주를 해당 고체배지에 100 μ l씩 균일하게 분주한 후 70% 에틸 알콜로 멸균시킨 필름 disc(지름 13 mm)를 배지 위에 놓았다. 세균은 37℃에서 24시간 동안, 곰팡이는 24℃에서 48시간 동안 배양하여 disc 주위에 생성된 inhibition zone의 직경을 측정하였다. 필름의 항균성은 2회 반복 실험하여 평균값으로 나타내었다.

3. PHB/chitosan 필름으로 포장된 식빵의 품질변화 분석

1) 식빵 제조

식빵은 식빵 믹스(제일제당)를 구입하여 자동제빵기 (Kaiser, UBM 500)를 이용하여 제조하였다. 식빵을 PHB/chitosan 필름으로 포장하여 상대습도 50%, 20℃의 항온항습기에서 보관하면서 일정기간마다 식빵의 품질변화를 분석하였다.

2) 식빵의 수분함량

식빵에 함유된 수분함량을 105℃ 상압건조법을 이용하여 측정하였다(AOAC, 1995). 식빵 시료 2g 정도를 달아 무게를 정확히 측정한 후 시료를 칭량병에 넣고 시료의 무게가 항량에 도달할 때까지 105℃ 건조기에서 건조시켰다. 2회 반복 실험하여 평균값을 구하였다.

3) 식빵의 색도

식빵의 색도를 색차계(Model RF-1, Nippon Denshoku IND. Co. Ltd., Japan)를 이용하여 L^* (명도), a^* (적색도), b^* (황색도)값으로 측정하였으며 4회 측정값의 평균값으로 나타내었다. 이때 사용한 표준백색판의 L , a , b 값은 $L=90.4$, $a=0.9$, $b=2.6$ 이었다.

4) 식빵의 TBA가

식빵의 산패도는 TBA가로 측정하였다. 식빵 시료 2 g에 벤젠 20 ml와 thiobarbituric acid(TBA) 시액 20 mL를 가한 후 흔들어서 주면서 4분간 방치하였다. 이 내용물을 4,000 rpm의 속도로 10분간 원심분리를 한 후, 상층액을 분리여과하여 끓는 물에서 30분간 가열하였다. 이를 냉각시킨 후 증류수를 공시험으로 하여 530 nm에서 시액의 흡광도를 측정하여 TBA가를 계산하였으며 3회 반복 실험하여 평균값을 얻었다.

5) 식빵 특성의 기계적 평가

식빵의 텍스처를 기계적으로 평가하기 위해 Rheometer(COMPAC-100, Sun Scientific, Tokyo, Japan)를 이용하여 two-bite compression test로 측정하였다. 시료의 크기를 $2 \times 2 \times 2$ cm로 잘라 cylindrical plunger(2 cm diameter)로 30% deformation, load cell 10 kg, 300 mm/min cross head speed로 설정하여 측정하였다. 3회 반복하여 실험하고 평균값을 구하였다.

6) 식빵 특성의 관능적 평가

식빵의 색, 냄새와 질감에 대한 관능적 특성의 변화를 분석하기 위하여 훈련된 관능평가원 8명을 대상으로 7점 척도법을 사용하여 평가하였다. 식빵 시료($3 \times 3 \times 2$ cm)를 물과 함께 관능요원에게 제시하였으며 외관, 냄새, 조직감 등의 항목에 대해 0점에서 6점으로 특성이 강할수록 높은 점수를 주도록 하였다. 전체적인 선호도 평가는 다른 항목들의 평가와 구분하여 따로 실시하였으며, 매우 나쁘다를 0점으로, 매우 좋다를 6점으로 하여 평가하였다. 각 검사는 3회 반복하여 실시하였다.

7) 식빵의 미생물수 분석

식빵 시료 10 g에 멸균된 0.1% bactopectone 용액 90 mL를 넣어 stomacher(Model 400, Seward, England)로 3분간 균질화시킨 후 이를 계속적으로 희석시켜 미생물 분석을 위한 시료로 사용하였다. 일반 세균수는 standard

plate count법으로 측정하였으며(Speck, 1992) plate count agar(Difco, USA)를 배지로 사용하였고, 곰팡이 및 효모는 PDA(Difco, USA) 배지를 사용하였다. 일반 세균은 32°C에서 48시간동안, 효모 및 곰팡이는 25°C에서 5일간 배양하여 CFU(colony forming unit)를 구하였다. 2회 반복하여 실험하였으며 미생물수는 평균값으로 나타내었다.

4. 통계적 분석

본 실험에서 얻은 데이터는 SAS 통계처리 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 구하고, 분산분석과 Duncan의 다중범위검정을 실시하여 분석하였다(SAS Institute Inc., 2000).

III. 결과 및 고찰

1. PHB/chitosan 필름의 항균성 분석

Diffusion assay를 이용하여 필름의 항균성을 검색한 결과 chitosan 필름이 세균과 곰팡이 모두에 대해 가장 높은 항균력을 나타내었다(Table 2). 실험한 세균 중에서는 *Escherichia coli* KCTC 1682에 대한 항균성이 가장 높게 나와 chitosan 필름이 대장균에 대한 저항력이 있음을 보여주었다. 또한 chitosan 필름은 실험한 미생물들 중에서 세균보다 곰팡이에 대해 항균성이 높은 것으로 나타나 *Fusarium solani* KCTC 6636, *Aspergillus flavus* KCTC 6633, *Penicillium citreonigrum* KCTC 6927에 대해서도 넓은 inhibition zone을 보여주었다. Chitosan 필름 다음으로는 PHB(L) 필름이 높은 항균성을 나타내었다. 특히 PHB(L) 필름은 *F. solani* KCTC 6636와 *P. citreonigrum* KCTC 6927에 대한 항균성이 큰 것으로 나타났다. Chitosan이 첨가되지 않은 PHB 필름과 chitosan 함량이 적은 PHB(H), PHB(M) 필름들은 미생물에 대한 항균성이 뚜렷이 나타나지 않았다. 따라서 필름에서 나타난 항균성은 chitosan의 항균작용에 의한 것으로 사료되었다. Chitosan은 항균성을 가지고 있으며 특히 *E. coli*, *B. subtilis*, 식물 병원성 곰팡이 등에 대한 항균성이 크다고 보고되었는데(Omura et al., 2003), 본 실험에서도 곰팡이 및 *E. coli* KCTC 1682에 대한 항균효과가 큰 것으로 나타났다. Chitosan이 첨가된 PHB 필름이 항균성을 나타냄으로써 이들이 식품포장재로 사용될 때 항균작용으로 인해 식품의 저장기간을 연장시켜줄 수 있을 것으로 기대되었다.

<Table 2> Antimicrobial activity of PHB/chitosan films against some food hazardous microorganisms (mm)

Microorganisms	PHB	PHB(H)	PHB(M)	PHB(L)	Chitosan
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1682	13	13	13	13	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 1750	13	13	13	15	16
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 2515	13	13	13	14	17
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KCTC 2001	13	13	13	14	17
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916	13	13	13	14	16
<i>Fusarium solani</i> KCTC 6636	13	14	13	22	22
<i>Aspergillus flavus</i> KCTC 6633	14	13	16	13	17
<i>Penicillium citreonigrum</i> KCTC 6927	14	13	16	19	22

2. 저장 중 식빵의 품질변화 분석

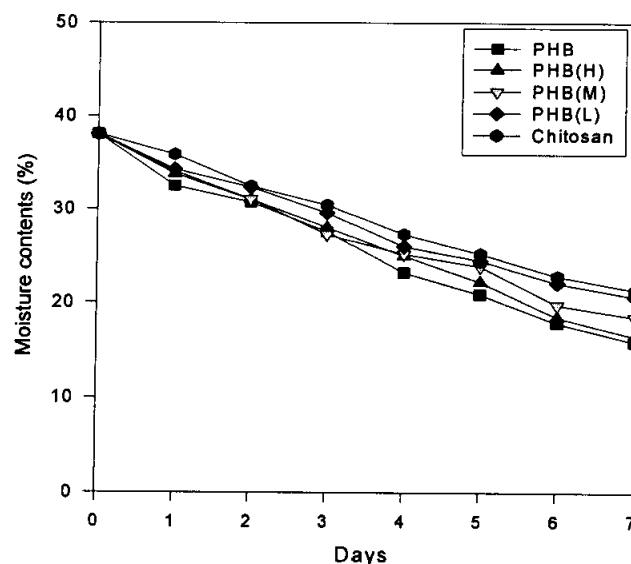
1) 식빵의 수분함량

PHB/chitosan 필름으로 포장한 식빵의 저장기간 중 수분함량의 변화는 Fig. 1과 같다. Chitosan 필름으로 포장한 식빵이 저장기간 중 가장 많은 수분을 보유한 것으로 나타났으며 필름 중 chitosan의 비율이 낮아질수록 수분함량이 적어지는 것으로 나타났다. 이는 필름의 수분 투과도와 관계가 있는 것으로 생각되는데, chitosan의 첨가가 필름의 수분 투과도를 낮추는 효과를 주었기 때문으로 보인다(Kim, 2004). PHB(L) 필름도 chitosan 필름과 비슷한 식빵의 수분함유량을 나타내 수분 보유성이 좋은 것으로 나타났다. 저장초기 3일 동안에는 여러 필름으로 포장한 식빵들 사이에 수분 함유량의 차이가 크지 않았

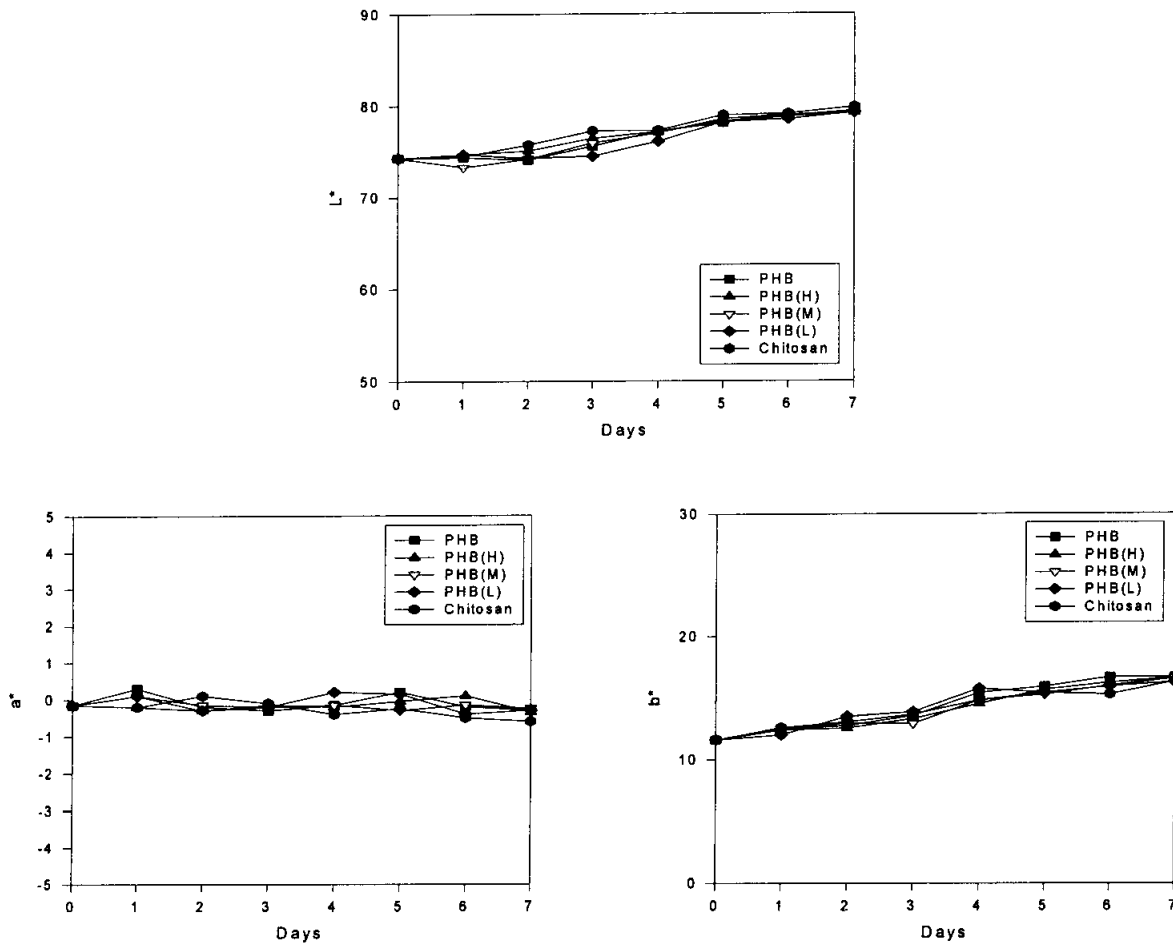
으나 저장 7일째에는 이들 식빵 사이에 약 1~5% 정도의 수분 함유량 차이가 나타났다. 따라서 수분 보유성이 필요한 식품 포장시에는 chitosan이 첨가된 PHB 필름을 사용하는 것이 바람직한 것으로 보여졌다.

2) 식빵의 색도

저장 중 식빵의 색도 변화는 L^* , a^* , b^* 로 측정하였으며 그 결과는 Fig. 2와 같다. L^* 값은 저장기간 동안 증가하는 경향을 보여 저장초기에는 74.3이었으나 저장 7일째에는 79.2~79.8의 값을 나타내었다($p<0.05$). 그러나 필름 종류 간에는 유의적인 차이를 보이지 않아 포장 필름의 종류가 식빵의 명도에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 식빵의 a^* 는 저장기간 동안 거의 변화하지 않았다. 처음 a^* 값은 -0.15이었으며, 저장 7일째의 a^* 값은 -0.25~-0.60



[Fig. 1] Moisture content changes of white bread packaged with PHB/chitosan films during storage.



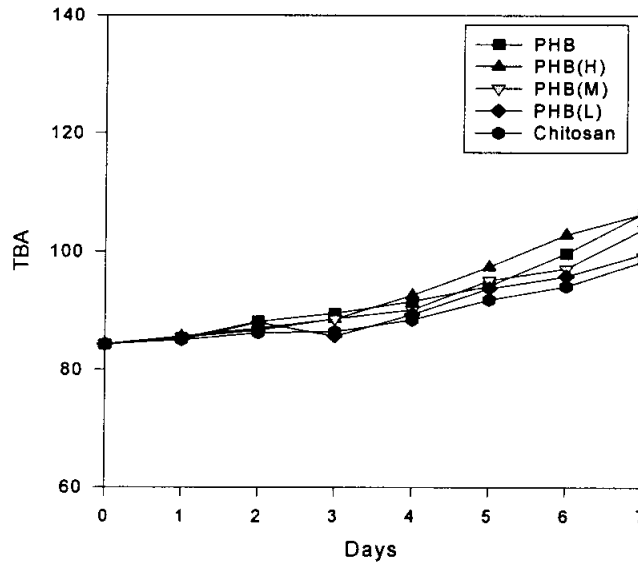
[Fig. 2] Color changes of white breads package with PHB/chitosan films during storage.

으로 평균 -0.36이었다. 따라서 적색도의 값이 경미하게 증가하였으나 유의적이지 않았고, 필름간에도 유의적인 차이를 나타내지는 않았다($p>0.05$). 식빵의 b^* 값은 저장하는 동안 증가하는 경향을 나타내었다. 저장초기의 b^* 값은 11.6이었으나 점차적으로 증가하여 저장 7일째에는 평균 16.47의 값을 나타내었다. 따라서 저장하는 동안 식빵의 황색이 짙어지는 것을 알 수 있었다. b^* 값에서도 포장 필름에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다($p>0.05$). 전체적으로 볼 때 식빵의 색도 변화는 저장기간에 더 많은 영향을 받았으며, PHB/chitosan 필름 종류는 식빵의 색도 변화에 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

3) 식빵의 TBA가

저장기간 중 식빵의 TBA가 Fig. 3에 제시되어 있다. 저장기간 중 TBA는 증가하는 경향을 나타냈으며, PHB 필름과 PHB(H) 필름으로 포장한 식빵의 TBA가 가장 크게 증가하였다. Chitosan 필름으로 포장

한 식빵의 TBA는 저장기간 중 가장 작게 증가하였으며, PHB(L) 필름으로 포장한 식빵도 chitosan 필름으로 포장한 식빵의 TBA와 비슷한 값을 나타내 이들 식빵에서 지질의 산화가 크게 일어나지 않았음을 확인할 수 있었다. 지질의 산화정도는 필름의 산소 투과도와 관계가 있을 것으로 생각되는데 산소 투과도가 높으면 지질 산패에 필요한 산소가 공급됨으로써 산패가 촉진될 수 있다. PHB 필름은 산소 투과도가 높으나 chitosan이 첨가되어 산소 투과도가 낮아지는 것으로 보고되었는데(Kim, 2004), 본 실험에서도 산소 투과도가 높은 PHB 필름으로 포장한 식빵에 비해 chitosan이 첨가된 필름에서 식빵의 지방의 산패가 억제된 것으로 사료되었다. 식빵의 저장초기보다 저장후기에 TBA가 더 빠르게 증가하는 경향이 나타났는데 이는 저장후기에 지질의 자동산화가 연쇄반응으로 급격히 일어났기 때문인 것으로 보인다. 식빵은 버터와 우유 등 지방을 함유하고 있는 재료들로 구성되어 있으며, 이렇게 지방을 함유하고 있는 식품에서는 지



[Fig. 3] TBA changes of white breads package with PHB/chitosan films during storage.

방의 산패를 방지하는 것이 중요한데 chitosan을 PHB 필름에 첨가함으로써 산소 투과도를 낮추고 지방산패를 억제시키는 효과를 기대할 수 있을 것으로 기대되었다.

4) 식빵 특성의 기계적 평가

식빵을 저장하면서 측정된 텍스처의 변화는 Table 3과 같다. 식빵의 견고성(hardness)을 살펴보면 식빵을 저장하는 동안 식빵을 포장하고 있는 필름의 종류에 관계없

<Table 3> Textural properties of white breads packaged with PHB/chitosan films during storage

Characteristics	Film	Days								
		0	1	2	3	4	5	6	7	
Hardness (g/cm ²)	PHB	^A 15.60 ^{bc}	^A 15.94 ^b	^A 16.82 ^b	^{AB} 18.65 ^{ab}	^A 18.85 ^{ab}	^A 20.64 ^a	^A 21.88 ^a	^A 22.40 ^a	
	PHB(H)	^A 15.40 ^b	^A 15.76 ^b	^A 17.62 ^b	^A 19.45 ^{ab}	^A 18.94 ^{ab}	^A 20.26 ^a	^A 21.47 ^a	^A 22.56 ^a	
	PHB(M)	^A 15.38 ^b	^A 15.82 ^b	^A 17.45 ^{ab}	^{AB} 18.56 ^a	^A 19.66 ^a	^A 21.85 ^a	^A 20.97 ^a	^A 21.43 ^a	
	PHB(L)	^A 15.60 ^{bc}	^A 16.02 ^b	^A 17.23 ^b	^{AB} 18.54 ^{ab}	^A 18.96 ^{ab}	^A 20.27 ^a	^A 21.57 ^a	^B 21.05 ^a	
	Chitosan	^A 15.43 ^c	^A 15.50 ^c	^A 17.62 ^{bc}	^B 17.85 ^{bc}	^A 18.54 ^b	^A 19.99 ^b	^A 21.04 ^a	^B 21.22 ^a	
Springiness (%)	PHB	^A 0.97 ^a	^A 0.92 ^a	^A 0.85 ^{ab}	^A 0.80 ^b	^A 0.76 ^b	^A 0.72 ^{bc}	^A 0.71 ^{bc}	^B 0.65 ^c	
	PHB(H)	^A 0.95 ^a	^A 0.94 ^a	^A 0.82 ^{ab}	^A 0.79 ^{ab}	^A 0.75 ^b	^A 0.74 ^b	^A 0.71 ^b	^B 0.65 ^c	
	PHB(M)	^A 0.95 ^a	^A 0.89 ^b	^A 0.81 ^b	^A 0.78 ^b	^A 0.77 ^b	^A 0.73 ^{bc}	^A 0.69 ^c	^A 0.70 ^c	
	PHB(L)	^A 0.97 ^a	^A 0.94 ^a	^A 0.80 ^b	^A 0.75 ^{bc}	^A 0.75 ^{bc}	^A 0.72 ^c	^A 0.71 ^c	^A 0.70 ^c	
	Chitosan	^A 0.94 ^a	^A 0.90 ^a	^A 0.85 ^{ab}	^A 0.78 ^{bc}	^A 0.77 ^{bc}	^A 0.72 ^c	^A 0.70 ^c	^A 0.69 ^c	
Chewiness (%)	PHB	^A 7.54 ^b	^A 7.62 ^b	^{AB} 7.68 ^b	^A 7.92 ^{ab}	^{AB} 8.88 ^{ab}	^A 9.01 ^a	^A 9.23 ^a	^A 9.35 ^a	
	PHB(H)	^A 7.43 ^b	^A 7.45 ^b	^{AB} 7.59 ^b	^A 7.91 ^b	^A 9.23 ^a	^A 9.32 ^a	^A 9.37 ^a	^A 9.44 ^a	
	PHB(M)	^A 7.38 ^c	^A 7.41 ^c	^A 7.71 ^{bc}	^A 7.85 ^b	^B 8.54 ^b	^A 9.15 ^{ab}	^A 9.39 ^a	^A 9.38 ^a	
	PHB(L)	^A 7.49 ^{cd}	^A 7.53 ^{cd}	^A 7.66 ^c	^A 7.87 ^c	^{AB} 8.79 ^b	^A 9.22 ^a	^A 9.27 ^a	^A 9.28 ^a	
	Chitosan	^A 7.55 ^c	^A 7.60 ^{bc}	^A 7.72 ^{bc}	^A 7.81 ^b	^{AB} 8.94 ^{ab}	^A 9.06 ^{ab}	^A 9.25 ^a	^A 9.29 ^a	

Each value is the mean for three replicates.

Means with different superscript are significantly different(p<0.05).

^{A-B}: Duncan's multiple range test for PHB/chitosan films(column) for each characteristic.

^{a-d}: Duncan's multiple range test for days(row) for each characteristic.

이 모든 식빵군에서 견고성이 유의적으로 증가하여 식빵을 저장하는 동안에 식빵이 딱딱해지는 것으로 나타났다. 저장 중 식빵 견고성의 변화는 식빵의 수분함량과 관계가 있는데 저장 중 식빵의 견고성이 증가한 것은 앞의 식빵 수분함량 실험결과에서 나타난 것처럼 저장 중 수분함량이 감소된 것에 기인한 것으로 생각되었다. 필름 종류에 따른 식빵 견고성의 차이는 저장 3일째와 7일째에만 나타나고 다른 기간에는 차이가 없었다. 따라서 저장기간은 식빵의 견고성에 영향을 미쳤으나 필름 종류는 견고성의 차이에 큰 영향을 주지 않았음을 볼 수 있었다.

저장 중 식빵의 탄력성(springiness)은 저장기간 동안 점차 감소하는 경향을 보였으며, 저장 2일과 3일째에 많이 감소하였다. 필름 종류에 따른 변화로는 저장 7일째 유의적인 차이가 나타났으며, PHB(M), PHB(L), chitosan 필름으로 포장한 식빵이 PHB, PHB(H)로 포장한 식빵보다 유의적으로 탄력성이 큰 것으로 나타났다.

한편 저장 중 식빵의 씹힘성(chewiness)은 저장하는 동안 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 식빵의 씹힘성은

포장한 필름 종류에 따라서 유의적인 차이가 거의 나타나지 않았으며 저장 4일째에는 PHB(M)으로 포장한 식빵의 씹힘성이 약간 낮았다.

5) 식빵 특성의 관능적 평가

PHB/chitosan 필름으로 포장한 식빵의 관능적인 특성을 평가하기 위해서 색, 질감, 냄새, 전체적인 선호도에 대한 관능검사를 실시하였으며 그 결과는 Table 4에 나타나 있다. 색의 경우 대체로 저장 5일째부터 흰색에서 황색으로 빠르게 변하는 것으로 보여졌으며 저장말기에는 저장초기의 값과 유의적으로 다른 것으로 평가되었다. 흰색은 PHB(H) 필름으로 포장한 식빵에서 저장후기에 많이 변화된 것으로 평가되었다. 식빵의 부드러움(softness)은 저장기간 동안 저하된 것으로 평가되었는데 이는 식빵의 수분함량 실험결과 및 기계적 평가에서 분석된 식빵의 견고성 실험결과와 일치하는 것이었다. PHB(M), PHB(L), chitosan 필름으로 포장한 식빵의 부드

<Table 4> Sensory attributes of white breads packaged with PHB/chitosan films during storage

Characteristics	Film	Days								
		0	1	2	3	4	5	6	7	
White color	PHB	^A 4.45 ^a	^A 4.48 ^a	^A 4.52 ^a	^B 4.39 ^a	^A 4.18 ^{ab}	^A 4.03 ^{ab}	^A 3.55 ^b	^{AB} 3.12 ^b	
	PHB(H)	^A 4.32 ^a	^A 4.36 ^a	^A 4.43 ^a	^A 4.65 ^a	^A 4.24 ^a	^{AB} 3.98 ^{ab}	^B 3.24 ^b	^B 2.83 ^c	
	PHB(M)	^A 4.61 ^a	^A 4.52 ^a	^A 4.47 ^a	^B 4.39 ^{ab}	^A 4.23 ^{ab}	^A 4.17 ^{abc}	^A 3.45 ^{bc}	^A 3.21 ^c	
	PHB(L)	^A 4.51 ^a	^A 4.49 ^a	^A 4.23 ^{ab}	^B 4.38 ^a	^A 4.29 ^{ab}	^B 3.82 ^b	^A 3.53 ^b	^A 3.47 ^{bc}	
	Chitosan	^A 4.57 ^a	^A 4.45 ^a	^A 4.59 ^a	^A 4.37 ^a	^A 4.37 ^a	^{AB} 3.95 ^{ab}	^A 3.62 ^b	^A 3.36 ^b	
Softness	PHB	^A 4.10 ^a	^B 3.72 ^{ab}	^B 3.58 ^{ab}	^{AB} 3.40 ^b	^A 3.01 ^b	^A 2.30 ^{bc}	^A 2.28 ^{bc}	^B 1.97 ^c	
	PHB(H)	^A 4.25 ^a	^A 4.31 ^a	^A 4.19 ^a	^B 3.28 ^b	^A 3.10 ^b	^A 2.26 ^c	^A 2.04 ^c	^B 2.12 ^c	
	PHB(M)	^A 4.25 ^a	^{AB} 4.07 ^a	^A 3.95 ^a	^B 3.14 ^{ab}	^A 3.25 ^{ab}	^A 2.24 ^c	^A 2.11 ^c	^{AB} 2.15 ^c	
	PHB(L)	^A 4.37 ^a	^A 4.15 ^a	^A 4.21 ^a	^A 3.84 ^{ab}	^A 3.27 ^{ab}	^A 2.32 ^b	^A 2.17 ^b	^A 2.18 ^b	
	Chitosan	^A 4.15 ^a	^{AB} 4.09 ^a	^A 4.17 ^a	^A 3.88 ^{ab}	^A 3.14 ^b	^A 2.56 ^b	^A 2.22 ^c	^A 2.24 ^c	
Bread flavor	PHB	^A 3.35 ^a	^A 3.24 ^a	^A 3.03 ^a	^A 2.48 ^{ab}	^A 2.21 ^{ab}	^B 1.68 ^b	^A 1.42 ^b	^B 1.22 ^b	
	PHB(H)	^A 3.27 ^a	^A 3.11 ^a	^A 2.81 ^a	^B 2.19 ^{ab}	^B 2.06 ^{ab}	^{AB} 1.87 ^{ab}	^A 1.54 ^b	^A 1.43 ^b	
	PHB(M)	^A 3.15 ^a	^A 3.08 ^a	^A 2.85 ^a	^A 2.68 ^{ab}	^A 2.35 ^{bc}	^A 1.96 ^c	^A 1.40 ^c	^A 1.09 ^c	
	PHB(L)	^A 3.29 ^a	^A 3.21 ^a	^A 3.15 ^a	^A 2.57 ^b	^A 2.41 ^b	^A 2.42 ^b	^A 1.68 ^b	^A 1.67 ^b	
	Chitosan	^A 3.15 ^a	^A 3.06 ^a	^A 3.12 ^a	^A 2.48 ^b	^A 2.33 ^b	^A 2.11 ^{bc}	^A 1.62 ^c	^A 1.58 ^c	
Overall acceptability	PHB	^A 4.70 ^a	^{AB} 4.41 ^a	^B 4.16 ^a	^A 4.25 ^{ab}	^A 3.21 ^b	^A 3.54 ^b	^B 2.73 ^{bc}	^B 2.20 ^c	
	PHB(H)	^A 4.63 ^a	^B 4.20 ^a	^A 4.31 ^a	^A 4.10 ^{ab}	^A 3.40 ^b	^B 3.05 ^b	^A 2.81 ^{bc}	^B 2.24 ^c	
	PHB(M)	^A 4.81 ^a	^A 4.60 ^a	^A 4.60 ^a	^A 4.20 ^a	^A 3.37 ^b	^A 3.58 ^b	^{AB} 2.79 ^c	^{AB} 2.56 ^c	
	PHB(L)	^A 4.82 ^a	^A 4.65 ^a	^A 4.53 ^a	^A 4.28 ^a	^A 3.45 ^b	^A 3.49 ^b	^A 2.96 ^{bc}	^A 2.69 ^c	
	Chitosan	^A 4.81 ^a	^A 4.72 ^a	^A 4.61 ^a	^A 4.32 ^a	^A 3.51 ^{bc}	^A 3.36 ^{bc}	^A 3.03 ^c	^A 2.74 ^c	

Each value is the mean for three replicates.

Means with different superscript are significantly different(p<0.05).

^{A,B}: Duncan's multiple range test for PHB/chitosan films(column) for each characteristic.

^{a,c}: Duncan's multiple range test for days(row) for each characteristic.

려움이 PHB, PHB(H) 필름으로 포장한 식빵에 비해 높은 것으로 나타났는데 이는 필름의 수분 투과도와 연관된 것으로 PHB(M), PHB(L), chitosan 필름의 수분 투과도가 낮기 때문인 것으로 사료되었다(Kim, 2004). 빵 냄새(bread flavor)는 저장기간이 길어질수록 감소하였으나 포장 필름 종류에 따른 차이는 크게 나타나지 않았다. 따라서 필름 종류에 따라 수분 보유성에는 차이가 있었으나 향기 보유성에 있어서는 큰 차이가 없는 것으로 평가되었다.

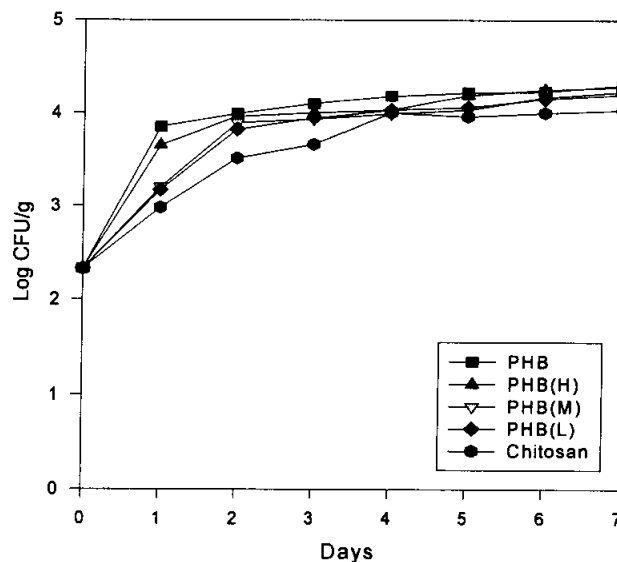
식빵에 대한 전체적인 선호도에서 저장 초기와 중기에는 포장 필름의 종류에 따라 유의적인 차이가 없었으나 저장 말기에는 PHB(M), PHB(L), chitosan 필름으로 포장한 식빵의 선호도가 PHB, PHB(H) 필름으로 포장한 식빵보다 높게 나타나 관능적 특성이 더 좋은 것으로 평가되었다. 따라서 전체적으로 볼 때 식빵 포장용으로 PHB(M), PHB(L), chitosan 필름이 더 우수한 것으로 판단되었다.

6) 식빵의 미생물적 특성

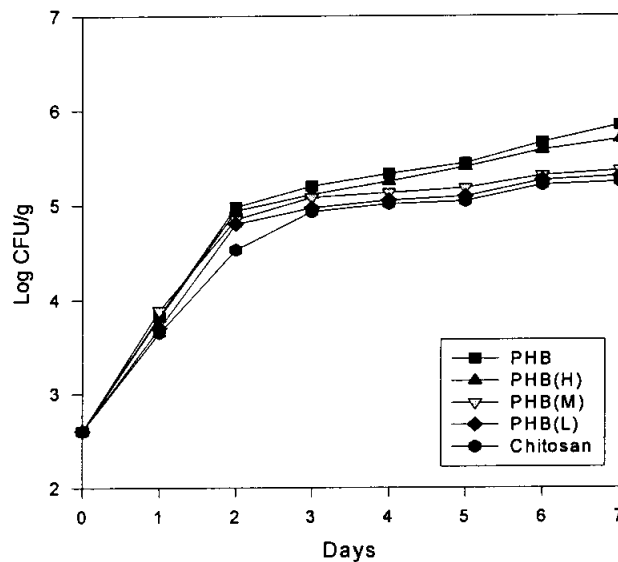
식빵을 저장하는 동안 일반 세균수의 변화는 Fig. 4와 같다. 저장 초기에는 세균수가 빠르게 증가하였으나 저장 3~4일 후부터는 세균수의 증가가 둔화되어 비교적 일정한 수를 나타내었다. 이는 저장하는 동안 식빵의 수분함량이 감소되면서 세균 증식이 장애를 받았기 때문으로 생각되었다. 저장 초기에는 포장된 필름의 종류에 따라 식빵 사이에 세균수의 차이를 보였으나, 저장기간이 길어

질수록 이들 사이에 차이가 줄어들었다. Chitosan 필름이나 chitosan이 함유된 필름은 수분 보유성이 우수하여 세균 증식에 더 좋을 것으로 예상하였으나 실제로는 이들 필름으로 포장한 식빵에서 세균수가 적게 나온 것은 chitosan이 항균성도 보유하고 있기 때문인 것으로 추정되었다. 한편 저장기간이 길어짐에 따라 식빵의 수분함량이 낮아져 모든 식빵군이 세균이 증식하기에 적합하지 않은 환경으로 변함으로써 chitosan의 항균력보다는 수분 감소 효과가 세균 증식 억제에 더 큰 영향을 주어 결국 저장 후기에는 모든 식빵에서 비슷한 세균수를 나타낸 것으로 생각되었다.

저장 중 식빵의 효모 및 곰팡이수의 변화는 Fig. 5에 나타나 있다. 효모 및 곰팡이수의 변화는 세균수의 변화와 비슷한 양상을 보였으며, 저장 초기에 증식속도가 빠른 것으로 나타났다. 따라서 초기에는 효모 및 곰팡이가 증식하기에 적합한 환경이었으나 점차 증식에 장애를 받은 것으로 보여졌다. 한편 저장 중기와 후기에는 PHB와 PHB(H) 필름으로 포장한 식빵의 효모 및 곰팡이수가 PHB(M), PHB(L), chitosan 필름으로 포장한 식빵에 비해 높게 나타났다. 이는 효모와 곰팡이는 세균에 비해 낮은 수분활성도에서도 자랄 수 있기 때문에 이들이 증식할 때 수분함량에 의한 영향력이 작아지고 chitosan의 항균성이 작용했기 때문으로 보여졌다.



[Fig. 4] Total bacterial populations of white breads packaged with PHB/chitosan films during storage.



[Fig. 5] Yeast and mold populations of white breads packaged with PHB/chitosan films during storage.

IV. 요약

PHB/chitosan 필름의 항균성 실험에서는 chitosan 필름이 실험에 사용한 세균과 곰팡이 모두에 대해 가장 높은 항균력을 나타내었고 PHB(L)도 *Fusarium solani* KCTC 6636와 *Penicillium citreonigrum* KCTC 6927에 대해 높은 항균성을 나타내었다. 식빵포장 실험에서는 chitosan이 첨가된 필름으로 포장된 식빵이 저장기간 중 수분 보유율이 좋은 것으로 나타났으며, 식빵의 색도에 있어서는 포장 필름의 종류에 관계없이 L^* 과 b^* 는 저장기간 동안 증가하였고 a^* 는 저장기간 동안 거의 변화하지 않았다. Chitosan 필름과 PHB(L) 필름으로 포장한 식빵의 TBA가는 저장기간 중 적게 증가하여 이들 식빵에서 지질의 산화가 크게 일어나지 않았음을 확인할 수 있었다. 식빵의 질감특성 분석에서는 PHB(M), PHB(L), chitosan 필름으로 포장한 식빵이 PHB, PHB(H)로 포장한 식빵보다 유의적으로 탄력성이 큰 것으로 나타났다. 식빵 저장 중 미생물 수의 변화에서는 chitosan의 항균력으로 chitosan이 함유된 필름으로 포장된 식빵에서 미생물 수가 적게 나타났다. 따라서 전체적으로 볼 때 식빵 포장용으로 PHB(M), PHB(L), chitosan 필름이 PHB(H), PHB 필름보다 더 적합한 것으로 판단되었다.

주제어 : PHB/chitosan 필름, 항균성, 식빵, 품질

참고 문헌

- AOAC (1995) *Official Methods of Analysis*, 16th ed., Washington, D.C., Association of Official Analysis Chemists.
- Avella, M, Martuscelli, E (1988) Poly-D(-)-(3-hydroxybutyrate)/poly(ethylene oxide) blends: phase diagram, thermal and crystallization behavior. *Polymer*, 29, 1731-1737.
- Butler, BL, Vergano, PJ, Testin, RF, Bunn, JM, Wiles, JL (1996) Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *J. Food Sci.*, 61, 953-955, 961.
- Dieter, S, Zuger, MF (1985) On the preparation of methyl and ethyl (R)-(-)-3-hydroxy-valerate by depolymerization of a mixed PHB/PHV biopolymer. *Tetrahedron letters*, 25, 2747-2750.
- Greco, P, Martuscelli, E (1989) Crystallization and thermal behavior of poly(D(-)-3-hydroxybutyrate)-based blends. *Polymer*, 30, 1475-1483.
- Gu, JK, Kim, M (2002) Effects of chitosan addition on physical properties and crystallization of poly(3-hydroxybutyric acid) film. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 31, 475-481.
- Iriondo, P, Iruin, JJ, Fernandez-Berridi, MJ (1996) Association equilibria and miscibility prediction in blends of poly(vinylphenol) with poly

- (hydroxybutyrate) and related homo- and copolymers: An FTIR study. *Macromolecules*, 29, 5605-5610.
- James, GC, Sherman, J (1987) *Chemotherapeutic agent in microbiology, A laboratory manual chemical agents of control* (pp. 247-254). New York: Chapman & Hall.
- Kamaev, PP, Aliev, II, Iordanskii, AL, Wasserman, AM (2001) Molecular dynamics of the spin probes in dry and wet poly(3-hydroxybutyrate) films with different morphology. *Polymer*, 42, 515-520.
- Kaplan, DL, Mayer, JM, Ball, D, McCassie, J, Allen, AL, Stenhouse, PS (1993) Fundamentals of biodegradable polymers. In C. Ching, D.L. Kaplan & E.L. Thomas (Eds.), *Biodegradable polymers and Packaging*. Lancaster, Technomic Publishing Co., Inc.
- Kim, M (2004) Gas and lipid permeabilities and biodegradability of poly(3-hydroxybutyric acid)/chitosan blend film. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 33, 1224-1229.
- Kudo, T, Saga, N (1990) Development of a simple method for antibiotic susceptibility testing in algae using paper disks. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 455-459.
- Marand, H, Collins, M (1990) Crystallization and morphology of poly(vinylidene fluoride)/poly(3-hydroxybutyrate) blends. *Polymer Preprints*, 31, 552-553.
- Muzzarelli, RA, Isolati, A, Terrero, A (1974) Chitosan Membranes. *Ion Exchange and Membranes*. 1, 193-196.
- Ogawa, K, Hirano, S, Miyanishi, T, Yui, T, Watanabe, T (1984) A new polymorph of chitosan, *Macromol.*, 17, 973-975.
- Omura, Y, Shigemoto, M, Akiyama, T, Saimoto, H, Shigemasa, Y, Nakamura, I, Tsuchido, T (2003) Antimicrobial activity of chitosan with different degrees of acetylation and molecular weights. *Biocontrol Science*, 8, 25-30.
- SAS Institute Inc. (2000) *Statistical analysis system. User's guide*, version 6.12. Cary, SAS Institute Inc.
- Speck, ML (1992) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 23rd ed., Washington, D.C., APHA.
- Steinbuechel, A (1992) Biodegradable plastics. *Current Opinion Biotechnol*, 3, 291-297.
- Taylor, L (1979) Degradable plastics: solution or illusion? *Chemtech.*, 9, 542-548.
- Vojdani, F, Torres, JA (1989) Potassium sorbate permeability of polysaccharide films: chitosan, methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose, *J. Food Processing and Preservation*. 13, 417-430.
- Wong, DWS, Gastineau, FA, Gregorski, KS, Tillin, SJ, Paylath, AE (1992) Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy, *J. Agric. Food Chem.*, 40, 540-544.

(2005. 01. 30 접수; 2005. 04. 18 채택)