

PEG(polyethylene glycol) 농도와 PEG/Gly(glycerol) 혼합비에 따른 견 피브로인 필름의 물성

- 연구노트 -

마유현 · 송경빈[†]

충남대학교 식품공학과

Effects of PEG (Polyethylene Glycol) Concentration and Mixing Ratio of PEG/Gly (Glycerol) on the Physical Properties of Silk Fibroin Films

Yuhyun Ma and Kyung Bin Song[†]

Dept. of Food Science & Technology, College of Agriculture & Life Sciences,
Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

To study the effects of plasticizer concentration and its ratio on the physical properties of silk fibroin films, polyethylene glycol (PEG) was used at 4 different concentrations; 1, 2, 3, 4.5% (w/v). Tensile strength (TS) and water vapor permeability (WVP) increased with the increase of PEG concentration, while opposite trend was observed for percent elongation of silk fibroin films. WVP of silk fibroin films increased from 2.54 ng · m/m²sPa for 1% of PEG to 5.41 ng · m/m²sPa for 4.5%. In addition, a mixture of PEG and glycerol (Gly) as a plasticizer was used at the ratio of 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, and 0:100 (w/w). Percent elongation of the films was improved to 130.95% when the ratio of 75:25 was used. On the contrary, WVP of silk fibroin films increased with the decrease of the ratio of PEG:Gly. Effect of the plasticizer concentration and its ratio on the color of silk fibroin films was negligible. These results suggest that mixture of PEG and Gly as a plasticizer provide more flexible than PEG alone in silk fibroin films, and the best ratio of PEG to Gly was 75:25.

Key words: silk fibroin, protein film, physical properties

서 론

가식성 필름은 식품을 wrapping하거나 coating할 때 사용할 수 있는 포장 재료로서 그동안 식품에 대한 적용에 대해 많이 연구되어 왔다(1). 가식성 필름은 기존의 플라스틱 필름에 비해 가격 경쟁력 및 물리적 성질은 떨어지지만, 쉽게 분해되고 포장 재질에 영양 성분, 향미, 색소, 감미료, 항산화제 등의 성분을 첨가하여 내용물에 관능적 기능을 부여할 수 있는 장점이 있다. 또한 식품과 외부와의 물질 이동을 차단하고 외부 충격으로부터 보호하며 식품의 self life를 증가시킨다. 최근 환경 문제가 크게 대두되면서 기존 플라스틱 필름의 대체 물질로 생분해성 고분자 물질을 이용한 인체에 무해하고 환경 친화적인 포장재에 대한 관심이 증대하고 있다(2-4).

견 피브로인은 glycine, alanine, serine, tyrosine의 함량이 매우 높고 아미노산을 이용한 의약품 및 건강보조식품의 소재로서의 응용 가능성을 충분히 가지고 있다. 또한 인체에 무해하고 유용한 단백질원으로 친환경적이며 낮은 투습도

를 가지고 있어 견 피브로인을 이용한 막, gel, 분말 등의 다양한 연구가 진행되고 있다(5). 그 한 예로 Asakura 등(6)은 견 피브로인이 화학적 변화 없이 용해되어 섬유나 필름으로 재생 가능하다고 보고하였다. 또한 최근 견 피브로인은 생체 적합성, 효소 고정화 담체, 세포의 기질 등 생물공학 또는 생체조직공학 소재로서의 응용 가능성도 검토되고 있는 천연 고분자 물질로써 가식성 필름의 좋은 소재이다(5,7,8). 그러나 견 피브로인으로 필름을 만들 경우, 필름이 부서지기 쉬워 물성을 측정하기 어렵다. 따라서 필름의 제조 시 부서짐을 방지하고 작업 적성을 증대하기 위해 가소제의 처리가 필요하다(9).

필름의 부서짐은 분자간의 인력으로 발생되는데, 이때 가소제는 분자 간의 인력을 감소시키고, 단백질 분자의 free volume과 chain mobility를 증가시켜 필름의 유연성과 확장성을 증가시킨다(10). Gontard 등(11)의 보고에 따르면 wheat gluten film 형성 시 가소제의 첨가로 인한 분자 구조의 변화는 필름의 기능을 변경시킨다고 보고하였다. 그 외에도 가소제의 종류와 농도에 따른 다양한 hydrocolloid-based 필

[†]Corresponding author. E-mail: kbsong@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6723. Fax: 82-42-825-2664

름의 연구가 진행되어 왔다(12-14). 가소제의 크기, 모양, 구성은 단백질의 수소 결합에 영향을 주고(15), 많은 양의 가소제는 분자의 확산을 촉진시키며 필름의 가스 투과도와 투습도를 증가시키는 부정적인 면이 있다고 알려져 있어서(16) 필름 제조 시 적절한 가소제의 사용이 중요하다.

본 연구진은 가소제의 종류에 따른 건 피브로인 필름의 물성을 측정된 결과 필름 제조 시 가소제로 글리세롤(Gly)이나 폴리프로필렌글리콜(PPG)을 사용한 것보다 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 사용하였을 때의 물성이 가장 적합하였다고 보고한 바 있다(9). 따라서 이러한 연구 결과를 바탕으로, 본 연구에서는 PEG의 농도를 달리하고, 또한 PEG와 Gly를 혼용하여 필름을 제조하였을 때 이에 따른 인장강도, 신장률, 투습도 및 색도에 미치는 영향에 대해 연구함으로써 보다 나은 물성의 건 피브로인 필름을 제조하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

세리신을 제거한 건 피브로인은 World Way Co.(YeonKi, Korea) 것을 사용하였다. 가소제인 글리세롤(Gly)과 폴리에틸렌글리콜(PEG)는 Aldrich사(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

필름 용액의 제조

건 피브로인은 calcium chloride/증류수/ethanol(1:8:2 mole) 용액에 90°C에서 1시간 동안 용해시킨 후 3일 동안 투석을 실시하였다. 투석한 뒤 건 피브로인 용액에 가소제로서 PEG의 농도를 다르게 하여 각각 1, 2, 3, 4.5%(w/v) 첨가하여 혼합하였고, 또한 투석한 건피브로인 용액에 PEG와 Gly의 비율을 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100(w/w)로 총 가소제는 건 피브로인 용액의 3%(w/v)로 처리하여 혼합하였다. 가소제가 처리된 건 피브로인 용액은 70°C에서 20분간 증탕 처리하였다.

필름 제조 및 건조

건 피브로인 필름 용액을 cheese cloth를 이용하여 거른 뒤 teflon 필름으로 코팅한 수평의 유리판(24 cm×30 cm)에 두께가 균일하게 건 피브로인 필름 용액(80 mL)을 부은 후 실온에서 48시간 건조시켰다. 건조된 필름은 투습도(2 cm×2 cm), 인장 강도(2.54 cm×10 cm), 색도(7 cm×7 cm) 측정용으로 구분하여 크기를 각각 절단하였다.

필름의 두께

절단한 필름 조각은 25°C, 50%의 상대 습도로 조절된 항온습기에서 2일간 저장하여 수분 함량을 조절한 뒤 필름 물성 측정에 사용하였다. 각 필름 시료의 두께는 micrometer(Mitutoyo, Model No. 2046-08, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다.

투습도(water vapor permeability, WVP) 측정용 시료는

중심부와 4개 주위 부분의 두께를 측정하여 그 평균값을 사용하여 투습계수의 계산에 사용하였으며, 인장강도(tensile strength, TS) 측정용 시료 역시 5개 부위의 두께를 측정하여 그 평균값을 사용하였다.

인장 강도 및 신장률

필름의 인장강도(tensile strength, TS)와 신장률(elongation at break, E)은 ASTM Standard Method D882-91 방법(17)에 따라 Instron Universal Testing Machine(Model 4484, Instron Corp., Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다. 절단한 필름 조각은 25°C, 50%의 상대 습도로 조절된 항온습기에서 2일간 저장하여 수분 함량을 조절한 뒤 Kim 등(18)의 방법을 이용하여 초기 grip간의 거리는 5 cm, cross head의 속도는 500 mm/min로 사용하였다. 필름의 인장강도는 필름을 잡아 늘일 때 필름이 절단될 때까지 작용한 가장 큰 힘을 필름의 초기 단면적으로 나누어 계산하였고, 필름의 신장률은 필름이 절단될 때까지 움직인 grip간의 거리를 초기 grip간의 거리에 대한 백분율로 나타내었다.

투습계수

필름의 투습계수(Water vapor permeability, WVP)는 ASTM E 96-95 방법(19)에 따라 polymethylacrylate cup(20)을 사용하여 수분투과도를 측정하였다. 25°C, 50%의 상대 습도로 조절된 항온습기에 보관하며 필름 층을 통한 cup 부의 수분 이동에 따른 매 시간마다 cup의 무게 감소를 측정하여 무게 감소율을 계산하였다. 수분 투과율(water vapor transmission rate, WVTR)과 투습계수(WVP)는 다음 식에 의해 계산하였다.

$$WVTR = \text{Slope} / \text{Film Area}$$

$$WVP = (WVTR \times L) / \Delta p$$

이 때, slope는 시간에 따른 컵의 무게 감소율, film area는 수분 이동이 일어나고 있는 필름의 넓이, L은 필름의 평균 두께, Δp 는 필름을 사이에 둔 cup 내부와 외부 수증기 부분 압의 차이이다.

색도

필름의 색도는 색차계(CR-300 Minolta Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 사용하여 Hunter L, a 및 b 값을 측정하였다. 색도 측정은 필름 시료를 색좌표값이 L=97.47, a=-0.02, b=1.67인 표준백색판(Calibration Plate CR-200 /CR-300) 위에 놓고 필름의 중심부와 주변 네 부위를 포함하여 다섯 부위의 색도를 측정하여 평균값으로 표시하였다. 여기에서 L 값은 색의 밝기를 나타내는 것으로 L=0(black)에서 L=100(white)을 나타내고, a값은 a=-80(greenness)에서 a=100(redness)을 나타내고, b값은 b=-80(blueness)에서 b=70(yellowness)을 나타낸다(21).

통계 분석

필름 처리구에 의한 색도의 유의차 검정은 SAS program(1999, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 분산분석 후 Duncan's multiple range test로 통계 처리하였다.

결과 및 고찰

이전의 연구 보고(9)에서 가소제의 종류에 따른 견 피브로인 필름의 물성을 측정된 결과 PEG를 첨가하여 만든 필름이 가장 적합하였다. 따라서 본 연구에서는 견 피브로인 PEG의 농도를 달리하고 또한 PEG와 Gly를 혼용하여 사용한 필름의 물성을 측정하였다. PEG 농도에 따른 견 피브로인 필름의 인장강도는 4.92~32.54 MPa이었고(Table 1), 가소제를 첨가하지 않은 대조구는 teflon 필름으로 코팅한 유리판에서 떼어낼 때 부서지기 쉬워 물성을 측정할 수 없었다. PEG의 농도가 1%인 견 피브로인 필름에서 32.54 MPa로 가장 높은 인장강도를 나타내었고, PEG의 농도가 높아질수록 인장강도는 감소하는 경향을 보였다. Hardenburg(22)는 식품 표면에 형성된 필름은 구조적인 견고성이 유지되어야 식품의 가공, 저장, 유통 중 식품 표면의 손상을 방지하는 기능을 할 수 있고, 또한 필름의 구조적인 견고성은 필름의 인장강도와도 관계가 있다고 보고하였다. PEG의 농도를 다르게 하여 만든 견 피브로인 필름의 인장강도는 4.92~32.54 MPa로 zein이나 SPI 필름(23)의 3~4 MPa인 것과 비교해 볼 때 높은 인장강도를 보였다.

일반적으로 필름의 인장강도와 신장률은 반비례 관계이기 때문에 인장강도가 증가하게 되면 신장률은 감소하게 된다. 신장률은 1% PEG 경우 5.63%인데 반하여 3% PEG 경우 12.01%, 4.5% PEG 경우 54.79%로 측정되었다(Table 1). 인장강도와는 반대로 PEG의 농도가 증가할수록 신장률은 증가하였다. 이러한 결과는 생선 근육단백질에 친수성 가소제

농도를 다르게 하여 첨가한 뒤 필름을 형성한 Cuq 등(24)의 보고와 일치한다. Lieberman과 Gilbert의 보고(25)에 따르면 가소제는 분자 내부의 수소결합을 감소시켜 분자간의 거리를 증가시켜 필름의 견고성을 감소, 유연성과 확장성을 증가시키기 때문이라고 하였다.

PEG 농도를 달리한 견 피브로인 필름의 인장강도와 신장률을 비교해 볼 때 PEG의 농도가 1%인 경우 필름의 인장강도는 높으나 신장률이 극히 낮고, 4.5%인 경우 신장률은 높으나 인장강도가 낮은 경향을 보였다. 투습도의 경우 농도가 증가할수록 큰 증가율을 보였다. 그러나 투습도가 농도와 비례하지만 인장강도와 신장률을 같이 고려해 볼 때 1%, 2%, 4.5%보다 3% PEG가 첨가된 필름의 경우 물성이 가장 적당하다고 판단되어, 가소제로서 PEG와 Gly를 혼용하여 사용할 때 견피브로인 용액에 대한 가소제의 양을 3%로 고정하여 실험하였다.

PEG와 Gly의 비율을 다르게 한 경우, 인장강도는 PEG:Gly의 비가 100:0일 때 13.72 MPa로 가장 높았고, 0:100일 때 4.58 MPa로 가장 낮았다. PEG의 비가 낮아지고 Gly의 비가 높아질수록 인장강도는 감소하는 경향을 보였다(Table 1). 이에 반하여 신장률은 PEG:Gly의 비가 75:25일 때 130.95%로 가장 높게 나타났다. PEG만을 사용하여 필름을 형성한 경우보다 PEG와 Gly를 혼용하여 사용한 경우, PEG:Gly (75:25)일 때 신장율은 최고 10배까지 증가하였다. 이와 같이 필름의 물성에 대한 가소제의 효과는 필름과 가소제의 구조상의 유사성에 크게 영향을 받으며, 이는 가소제의 분자량, 사슬내의 탄소수, OH기의 수 등에 의해 결정된다고 보고되었다(26,27). 본 연구에서 사용된 Gly는 PEG보다 작은 분자이므로 쉽게 단백질 사슬 내로 들어가 이들의 OH기와 단백질의 amide기가 수소결합을 형성하여 가소제의 역할을 한다. 따라서 가소제로서 Gly와 PEG를 혼용하여 사용한 필름이 PEG를 사용한 경우보다 더 유연한 물성을 지니는 것으로 판단된다.

단백질로 제조한 필름의 경우, 단백질의 친수성기가 많으므로 산소나 이산화탄소의 투과성은 낮지만 투습도는 높다.

Table 1. Effects of plasticizer concentration and its ratio on tensile strength (TS) and percent elongation (% E) of silk fibroin films

Plasticizer treatment	Tensile strength (MPa)	Elongation (%)
PEG (%)	1	32.54±3.06 ^{a1)}
	2	14.97±2.40 ^b
	3	13.72±2.89 ^b
	4.5	4.92±0.85 ^c
PEG:Gly ratio	100:0	13.72±2.89 ^a
	75:25	11.62±0.51 ^a
	50:50	6.36±0.40 ^b
	25:75	6.59±0.11 ^b
	0:100	4.58±0.40 ^b

¹⁾Means of five replications±standard deviations. Means in the same column followed by the same letter are not significantly ($\alpha=0.05$) different by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effects of plasticizer concentration and its ratio on water vapor permeability (WVP) of silk fibroin films

Plasticizer treatment	WVP (ng · m/m ² · Pa)	
PEG (%)	1	2.54±0.08 ^{c1)}
	2	3.03±0.02 ^b
	3	3.25±0.05 ^b
	4.5	5.41±0.35 ^a
PEG:Gly ratio	100:0	3.25±0.05 ^d
	75:25	3.84±0.09 ^{cd}
	50:50	4.31±0.07 ^{bc}
	25:75	4.91±0.33 ^{ab}
	0:100	5.13±0.48 ^a

¹⁾Means of three replications±standard deviations. Means in the same column followed by the same letter are not significantly ($\alpha=0.05$) different by Duncan's multiple range test.

Table 3. Effects of plasticizer concentration and its ratio on Hunter L, a, b values, and total color difference (ΔE) of silk fibroin films

Plasticizer treatment		L	a	b	ΔE
PEG (%)	1	96.35 \pm 0.17 ^{b1)}	-0.23 \pm 0.05 ^a	2.64 \pm 0.15 ^c	1.50 \pm 0.19 ^b
	2	96.35 \pm 0.11 ^b	-0.29 \pm 0.02 ^{ab}	2.91 \pm 0.13 ^b	1.69 \pm 0.17 ^{ab}
	3	96.39 \pm 0.27 ^{ab}	-0.34 \pm 0.03 ^b	2.82 \pm 0.08 ^{bc}	1.62 \pm 0.21 ^{ab}
	4.5	96.69 \pm 0.05 ^b	-0.49 \pm 0.04 ^c	3.30 \pm 0.14 ^a	1.86 \pm 0.13 ^a
PEG:Gly ratio	100:0	96.39 \pm 0.27 ^a	-0.34 \pm 0.03 ^a	2.82 \pm 0.08 ^b	1.62 \pm 0.21 ^b
	75:25	96.26 \pm 0.14 ^a	-0.58 \pm 0.11 ^b	3.74 \pm 0.42 ^a	2.47 \pm 0.42 ^a
	50:50	96.36 \pm 0.04 ^a	-0.45 \pm 0.07 ^{ab}	3.36 \pm 0.15 ^a	2.06 \pm 0.16 ^{ab}
	25:75	96.42 \pm 0.09 ^a	-0.44 \pm 0.04 ^{ab}	3.44 \pm 0.12 ^a	2.11 \pm 0.10 ^{ab}
	0:100	96.61 \pm 0.39 ^a	-0.48 \pm 0.04 ^{ab}	3.39 \pm 0.17 ^a	2.00 \pm 0.28 ^{ab}

¹⁾Means of five replications \pm standard deviations. Means in the same column followed by the same letter are not significantly ($\alpha=0.05$) different by Duncan's multiple range test.

생분해성 고분자의 높은 투습도는 포장재 내부에 있는 식품에 변패를 일으킬 수 있어 필름의 물성에 있어서 중요한 인자이다(28). 가소제 농도에 따른 견 피브로인 필름의 투습도는 Table 2에 나타나 있다. PEG 1%, 2%, 3%, 4.5% 필름의 투습도는 각각 2.54, 3.03, 3.25, 5.41 ng·m/m²s Pa이었다. PEG의 농도가 3%에서 4.5%로 증가할 때 투습도가 65% 이상 증가하여 가장 높은 증가율을 보였다. 전체적인 투습도는 2.54~5.41 ng·m/m²s Pa로 소수성을 가진 zein 필름의 투습도가 5.30 ng·m/m²s Pa 것과 비교해 볼 때 큰 차이는 나지 않았다(29). 본 연구 결과는 gluten 필름에서 가소제의 농도가 증가할수록 투습도가 증가하는 경향을 보인 Gontard 등(11)의 연구 결과와 일치한다. 친수성 가소제는 단백질 구조를 변화시켜 밀도를 감소시키고, 물 분자의 흡수와 방출에 기인하여 hydrocolloid-based film의 투습도를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 따라서 가소제 농도에 따른 투습도의 증가는 친수성 가소제 분자와 관련되어 있다. PEG와 Gly의 비율을 달리하여 필름을 제조한 경우 Gly의 비가 높아질수록 투습도가 증가하는 경향을 보였는데 Gly만을 넣어 만든 경우 5.24 ng·m/m²s Pa로 투습도가 가장 높게 나타났다. PEG는 functional group이 Gly와 달라 친수성이 낮아 Gly를 넣어 만든 필름보다 PEG와 혼합하여 필름을 만들 경우가 투습도가 낮았다. 이는 밀단백과 옥수수단백에 Gly와 PEG를 넣어 필름을 만들어 물성을 측정 한 Park 등(30)의 실험 결과와 일치한다.

가소제 농도에 따른 필름의 색은 Table 3에 나타난 바와 같다. 전체적인 Hunter L, a, b 값은 제조된 필름 사이에 뚜렷한 차이가 없었으며 또한 총색차 역시 큰 차이가 없었다. 이는 egg albumin으로 만든 필름의 경우 가소제의 종류와 농도가 제조된 필름의 색에 큰 영향을 주지 않았다는 Gennadios 등(31)의 결과와 일치한다. Rhim 등(32)은 카라기난 필름의 총색차가 2.01~4.19인 것으로 보고하였고, Song과 Kim(33)은 셀룰로스 필름의 총색차가 1.76~3.04로 보고하였는데, 본 연구에서 사용된 견 피브로인 필름의 총색차가 1.50~2.47로 나타난 것으로 보아 견 피브로인 필름은 카라기난

필름이나 셀룰로스 필름에 비해 총색차가 다소 낮은 값을 나타내었다.

결론적으로 견 피브로인 필름의 가소제로써, PEG:Gly의 비가 75:25일 경우가 PEG만을 사용하여 만든 필름보다 투습도가 약간 증가하기는 하였으나 인장강도는 상업용 LDPE (low density polyethylene)와 유사한 수치를 나타내면서도 다른 필름에 비해 높은 신장율을 가지고 있기 때문에 식품포장재로서의 활용으로서 가장 적합하리라 생각된다.

요 약

견 피브로인 용액에 PEG를 농도 별로 처리하거나 PEG와 Gly를 혼합하여 사용하여 필름을 제조한 뒤 그 물성을 측정하였다. PEG의 농도가 1%인 견 피브로인 필름에서 32.54 Mpa로 가장 높은 인장강도를 나타냈고, PEG의 농도가 높아질수록 인장강도는 감소하였다. 인장강도와는 반대로 PEG의 농도가 증가할수록 신장률은 증가하는 경향을 보였는데 PEG의 농도가 3%서 4.5%로 증가할 때 350% 이상의 높은 증가율을 보였고 또한 투습도의 경우 66% 증가하였다. PEG와 Gly의 비율을 다르게 한 경우 인장강도는 PEG:Gly의 비가 100:0일 때 13.72 Mpa로 가장 높았고, 0:100일 때 4.58 Mpa로 가장 낮았다. 이에 반하여 신장률은 PEG:Gly의 비가 75:25일 때 130.95%로 가장 높게 나타났다. 투습도의 경우 Gly만을 넣어 만든 경우 5.13 ng·m/m²s Pa로 투습도가 가장 높게 나타났고 Gly의 비가 높아질수록 투습도가 증가하는 경향을 보였다. 전체적인 Hunter L, a, b와 ΔE 값은 PEG 농도와 PEG:Gly의 혼합하여 만든 필름 사이에 뚜렷한 차이가 없었다. 본 실험 결과 견 피브로인 필름의 가소제로써 PEG와 Gly를 혼합하여 사용할 경우 PEG만을 사용하여 만든 필름보다 신장률이 크게 증가하며, 또한 PEG와 Gly를 75:25의 비로 혼용하여 사용한 경우가 Gly의 첨가로 투습도가 조금 증가하기는 하였으나 인장강도는 상업용 LDPE (low density polyethylene)와 유사한 수치를 나타내면서도 높은 신장률을 가지고 있기 때문에 식품포장재로 활용이 가장 적합하다고 판단된다.

문헌

1. Guilbert S. 1986. Technology and application of edible protective films. In *Food Packaging and Preservation, Theory and Practice*. Mathlouthi M, ed. Elsevier Applied Science Pud Co, London, England. p 371-394.
2. Yang SB, Cho SY, Rhee C. 1997. Preparation of edible films from soybean meal. *Korean J Food Sci Technol* 29: 452-459.
3. Gennadios A, Weller CL. 1990. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technol* 44: 63-69.
4. You BJ, Shim JM. 2001. Effect of extracting conditions on the physical properties of fish meal protein isolate film. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 494-499.
5. Choi HK, Hahm JH. 1995. Preparation and structural characterization of silk fibroin powder and film. *Korean J Seric Sci* 37: 142-153.
6. Asakura T, Demura M, Tsutsumi M. 1988. ^{23}Na and ^{27}Al NMR studies of the interaction between *bombyx mori* silk fibroin and metal ions trapped in the porous silk fibroin membrane. *Makromol Chem Rapid Commun* 9: 835-839.
7. Qian J, Liu Y, Lui H, Yu T, Deng J. 1996. An amperometric new methylene blue N-mediating sensor for hydrogen peroxide based on regenerated silk fibroin as an immobilization matrix for peroxidase. *Analytical Biochemistry* 236: 208-214.
8. Minoura N, Aiba S, Gotoh Y, Tsukada M, Imai Y. 1995. Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices. *J Biomed Mater Res* 29: 1215-1221.
9. Ma Y, Song KB. 2005. Physical properties of silk fibroin films treated with various plasticizer. *J Food Sci Nutr* 10: 187-190.
10. Banker GS, Gore AY, Swarbrick J. 1966. Water vapour transmission properties of free polymer films. *J Pharm Pharmacol* 18: 457-466.
11. Gontard N, Guilbert S, Cuq J. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *J Food Sci* 58: 206-211.
12. Gennadios A, Weller CL, Testin RF. 1993. Property modification of edible wheat, gluten-based films. *Trans ASAE* 36: 465-470.
13. Donhowe IG, Fennema O. 1993. The effect of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. *J Food Process Preserv* 17: 247-257.
14. McHugh TH, Kochta JM. 1994. Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *J Agric Food Chem* 42: 841-845.
15. Sothornvit R, Kochta JM. 2001. Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films. *J Food Eng* 50: 149-155.
16. Galletta G, Gioia LD, Guilbert S, Cuq B. 1998. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and cross-linking agent. *J Dairy Sci* 81: 3123-3130.
17. ASTM. 1995. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. ASTM D 882-91. Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA, USA.
18. Kim KM, Weller MA, Gennadios A. 2002. Heat curing of soy protein films at atmospheric and sub-atmospheric condition. *J Food Sci* 67: 708-713.
19. ASTM. 1995. Standard test methods for water vapor transmission of materials. ASTM E 96-95. Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA, USA.
20. Park H, Manjeet S. 1995. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulose materials. *J Food Eng* 25: 497-507.
21. Clydesdale FM. 1984. Color measurement. In *Food Analysis Principles and Techniques*. Gruenwedel DW, Whitaker JR, eds. Marcel Dekker, Inc, New York, NY, USA. Vol 1, p 95.
22. Hardenburg RE. 1967. Wax and related coatings for horticultural product. A bibliography. Agricultural Research Service Bulletin 51-15, United State Department of Agriculture, Washington, D.C.
23. Lee M, Lee S, Ma Y, Park S, Bea D, Ha S, Song KB. 2005. Effect of plasticizer and cross-linking agent on the physical properties of protein films. *J Food Sci Nutr* 10: 81-91.
24. Cuq B, Gontard N, Cuq JL, Guilbert S. 1997. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizer. *J Agric Food Chem* 45: 622-626.
25. Lieberman ER, Gilbert SG. 1973. Gas permeation of collagen films as affected by cross-linking, moisture, and plasticizer content. *J Polymer Sci* 41: 33-43.
26. Park HJ, Weller CL, Vergano PL, Testin RF. 1993. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. *J Food Sci* 58: 1361.
27. Banker GS. 1966. Film coating theory and practice. *J Pharm Sci* 55: 81.
28. Krochta JM. 1997. Edible protein films and coatings. In *Food Proteins and Their Applications*. Damodaran S, Paraf A, eds. Marcel Dekker, Inc, New York, NY, USA. p 529-550.
29. Lee S, Lee MS, Song KB. 2003. Effect of γ -irradiation on physico-chemical properties of zein films. *J Food Sci Nutr* 8: 343-348.
30. Park HJ, Bunn JM, Weller CL, Vergano PL, Testin RF. 1994. Water permeability and mechanical properties of grain protein-based films as affected by mixture of polyethylene glycerol and glycerol plasticizers. *Trans ASAE* 37: 1281-1285.
31. Gennadios A, Weller CL, Hanna MA, Froning GW. 1996. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *J Food Sci* 61: 585-589.
32. Rhim JW, Wellwe CL, Harn KS. 1998. Characteristics of chitosan films as affected by the type of solvent acid. *Food Sci Biotechnol* 7: 263-268.
33. Song TH, Kim CL. 1999. Effect of calcium addition on physicochemical properties of cellulose-based edible films. *Korean J Food Sci Technol* 31: 99-105.

(2005년 10월 7일 접수; 2005년 12월 12일 채택)