

## 전분 함량 보정을 통한 판지류의 가용성 잔류물질 정량 분석

임채훈 · 박정윤 · 이태주 · 엄기증<sup>1</sup> · 김형진<sup>†</sup>

접수일(2013년 12월 5일), 수정일(2013년 12월 19일), 채택일(2013년 12월 21일)

### Quantitative Analysis of Soluble Residues by Correction of Starch Content in Paperboard Grade

Chae-Hoon Lim, Joung-Yoon Park, Tai-Ju Lee, Gi Jeung Um<sup>1</sup> and Hyoung-Jin Kim<sup>†</sup>

Received December 5, 2013; Received in revised form December 19, 2013; Accepted December 21, 2013

#### ABSTRACT

Even though the notice No. 2010-11 of the Ministry of Food and Drug Safety Administration that has been applied to analyze the content of the water soluble residue eluted from multi-layer paperboard was abolished in 2011, its application for the analysis on evaporation residue is still valid. There are very high possibilities that the noticed existing method gives the misleading result on the evaporation residue due to the water soluble starch eluted from the multi-layer paperboard. The quantitative analysis on water-soluble residue with starch content correction has been carried in the study using UV/Vis spectroscopy and HPLC. The UV/Vis spectroscopy absorbance analysis showed the large amount of the oxidized starch obtained from the aqueous residue eluted out of the multi-layer paperboard after the iodine,  $\alpha$ -amylase reaction, and starch hydrolysis. The residual content decreased by the correction through the enzyme hydrolysis.

**Keywords:** Paperboard grade, water soluble residues, starch content, enzyme hydrolysis

---

• 국민대학교 삼림과학대학 임산생명공학과 (Department of Forest Products & Biotechnology, College of Forest Science, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea)

<sup>1</sup> 한국기후변화대응연구센터

<sup>†</sup> 교신저자(Corresponding Author): E-mail: [hyjikim@kookmin.ac.kr](mailto:hyjikim@kookmin.ac.kr)

## 1. 서론

최근 물류 및 유통산업의 급속한 팽창으로 인한 종이포장재의 수요가 증가되고 있다. 대표적인 포장재로서 강도적 특성을 충족하는 다층판지로 제조된 골판지가 주로 사용되고 있으며, 포장 용도에 따라서는 식품 및 화장품 포장재와 같이 내열성 및 인쇄적성이 요구되는 다층판지류의 백판지를 사용하기도 한다. 일반적으로 다층판지의 표면층은 미표백크라프트펄프(UKP) 또는 표백크라프트펄프(BKP)를 사용하며, 중심층 또는 이면층은 재활용 폐지를 주원료로 사용하여 다층으로 제조한다. 이와 같이 판지류는 다층 제조를 통한 두께, stiffness 개선뿐만 아니라 포장 목적에 따른 강도적 특성의 제어, 고품양지를 생산하기 위한 재활용 폐지 원료의 등급에 따른 효율적 이용 등의 이점이 있다.<sup>1)</sup> 다층판지는 각 층별 원료 조성 및 공정 조절을 통한 효율적 제조가 가능하지만, 이와 반대로 다층 시트 사이의 층간 결합력 약화, 층간 박리 등의 문제점을 야기하기도 한다. 이에 따라 다층판지 제조 시 층간결합력 향상을 위한 분급기술의 이용, 지료조성 공정인자의 조절 등 다양한 제어 방법이 응용되어 왔다. 공정 조절 인자 중 하나로서 건, 습방용 레진 등의 첨가제를 활용하기도 하지만 보류적성 및 공정수의 오염과 같은 추가적인 문제점이 야기하기도 하여 최근에는 전분 활용을 통한 효율적인 공정 조절 및 품질 제어를 실시하고 있다.

전분은 천연계 물질로서 식물의 광합성을 통한 탄소동화작용으로 생성된다. 일반적으로 다당류의 탄수화물로서 글루코오스(glucose)를 기본단위로 구성되며, 다양한 구조의 입자 형태로 존재한다.<sup>2)</sup> Figs. 1, 2<sup>3)</sup>에서와 같이 전분은 D-글루코오스(D-glucose)를 단량체로 하는 축합체이지만, 직쇄상 사슬구조를 지니는 아밀로오스(amylose)와 분지형 구조를 지니는 아밀로펙틴(amylopectin)으로 구성되는 혼합물질이다.<sup>2,3)</sup> 천연 고분자 물질인 전분은 일반적으로 합성 고분자 물질에 비해 가격이 저렴하고 친환경적이므로 제지산업에서 다양하게 적용되고 있다. 전분은 종이의 품질 개선을 위해 양성전분, 산화전분 등으로 개질<sup>4)</sup>되어 지력증강용, 표면사이징용, 다층판지 제조공정에서의 구조적 인 강도 개선 목적의 층간결합용,<sup>1)</sup> 또한 골판지 제조 시의 라이너와 골심지의 접착용 등 광범위하게 적용되고 있다.

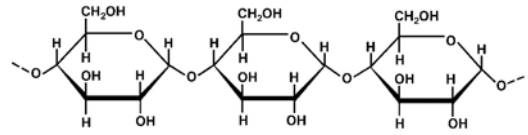


Fig. 1. The structure of amylose( $\alpha$ -1,4 linked glucose unit).<sup>3)</sup>

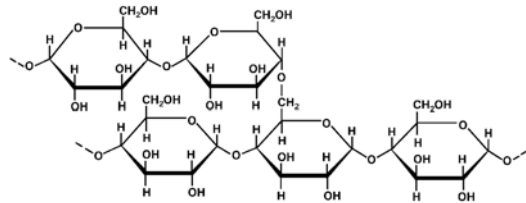


Fig. 2. The structure of amylopectin( $\alpha$ -1,4 linked and  $\alpha$ -1,6 linked glucose unit).<sup>3)</sup>

우리나라는 2004년 칠레와의 자유무역협정 체결을 시작으로 싱가포르, 아세안, 인도, EU, 페루, 미국, 터키 등의 국가와 상호무역증진에 의한 관세 철폐 및 상품의 수출입 장벽 철폐완화 등 획기적인 국가 및 지역 간 협력을 체결하였다.<sup>5)</sup> 이에 따라 수출입되는 포장재의 친환경성과 안정성, 재활용 특성 등은 무역 자유화 시대에 새로운 장벽으로 대두되고 있으며 주로 포장재로 활용되는 다층판지의 유해물질 국제 환경규제는 더욱 강화될 것으로 예상되고 있다. 식품의약품안전처 고시 제2010-11호에서는 종이포장재에서 용출되는 증발잔류물 시험법을 제시하고 그 함량을 30 mg/kg 이하로 규제하였으나, 2011년 종이포장재에 대한 용출 시험 규격의 합리적 개선의 일환으로 삭제하였다. 다만 종이컵 등 가공지체 중 식품과 직접 접촉되는 면이 합성수지체로 도장된 경우에는 도장된 합성수지체의 용출규격을 적용하도록 하였다.<sup>6)</sup> 상기 언급된 식품의약품안전처 제2010-11호에 고시된 증발잔류물 시험법으로 다층판지로부터 가용성 잔류물질 함량 분석을 실시할 경우 제지공정에서 첨가된 전분이 최종제품 중에 함유되어 다양한 성상의 전분 용출로 인해 총 증발잔류물 함량의 오류를 발생시킬 가능성이 높아지게 된다.

최 등<sup>7)</sup>은 종이포장재에 따른 식품의 품질과 안전성

확보의 전제 목적으로 다층판지로부터 잠재적 가용성 잔류물에 의한 식품으로의 이행을 연구한 바 있으며, 이 외에도 종이포장재의 잔류 오염물질이 포장 내용물에 영향을 주는 다수의 연구결과<sup>8-11)</sup>들이 보고되었다. 박 등<sup>6)</sup>은 다층판지로 제조된 골판지 상자의 수용성 증발 잔류물 함량을 측정하였으며, 지력증강 및 층간접착용으로 사용되는 전분이 다량 용출됨을 확인하였다.

종이로부터 용출된 잔존 전분을 정량하기 위한 연구 결과도 지속적으로 보고되고 있다. Knutson<sup>12)</sup>은 전분의 아밀로오스와 요오드 반응으로 분광광도계로 측정된 흡광도를 평가하여 blue complex의 형태로  $\alpha$ -1,4-글루칸( $\alpha$ -1,4-glucan)과 요오드의 고전적인 반응에 의해 측정된다고 보고하였으며, 정 등<sup>4)</sup>은 분광분석법을 이용한 제지공정 백수 내에 잔존하는 전분을 정량화하기 위해 전분이 요오드와 반응하면 청남색으로 발색된다는 점에 근거하여 분광분석법에 의한 흡광도를 측정함으로써 백수 내에 잔존하는 전분의 양을 정량화하는 분석법을 제시하였다. 또한 전분의  $\alpha$ -아밀라아제( $\alpha$ -amylase) 가수분해 기작을 이용한 연구도 수행되어, Rodriguez 등<sup>13)</sup>은 아밀라아제( $\alpha$ -아밀라아제,  $\beta$ -아밀라아제 및 글루코 아밀라아제)가 생명공학 분야의 중요한 효소들 집단체로서 이 중에서  $\alpha$ -아밀라아제가 산업에 널리 적용되고 있다고 보고하였으며,  $\alpha$ -아밀라아제(1,4- $\alpha$ -D-glucan glucanohydrolase, E.C. 3.2.1.1)는 전분 내의 아밀로오스와 아밀로펙틴의  $\alpha$ -1,4-글리코시드 결합을 절단하여 전분을 가수 분해한다는 연구 결과를 보고하였다.

따라서 지속적으로 강화되는 국제 환경 규제에 대응하기 위해서는 포장재로부터 환경호르몬 및 가용성 잔류물질에 대한 정확한 정량 분석이 반드시 요구된다. 전술한 바와 같이 종이포장재용 다층판지는 전분을 다량 함유하고 있어 가용성 잔류물질 중 전분 보정을 통한 새로운 시험방법의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 이에 본 연구에서는 다층판지로부터 용출되는 전분의 함량을 분석하고자 물을 용매로 이용한 속슬렛 추출을 통해 전분 용출을 유도하여 자외선/가시광선 분광분석기(UV/Vis spectroscopy) 및 고속액체 크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)를 이용한 분석법을 접목하고자 하였으며, 또한 전분으로 인한 수용성 잔류물질 및 기타 환경 호르몬물질 분석 시 발생할 수 있는 오차를 최소화하고 정

확한 전분 정량법을 구축하기 위한 기초 연구를 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 공시 재료

본 연구에서 사용된 공시 판지 시료는 A사의 다층판지를 사용하였으며, 전분은 정량분석용 검량선 작성을 위해 B 사로부터 파우더 형태의 양성전분과 산화전분을 분양받아 사용하였다. 또한 효소는  $\alpha$ -아밀로오스(Junsei chemical, Japan)를 사용하였으며, 분광분석법을 이용한 비색정량 시 양성전분과 산화전분을 청남색으로 발색시키기 위하여 0.1 N 트리요오드화물(triiodide)를 제조하여 사용하였다. 0.1 N 트리요오드화물은 요오드화 칼륨(potassium iodide) 40 g, 요오드(iodine) 13 g을 증류수 30 mL에 혼합 후 총량이 100 mL가 되도록 증류수를 첨가하여 1 N 트리요오드화물을 제조한 후 10배 희석하여 0.1 N 트리요오드화물로 제조<sup>4)</sup>하였다.

### 2.2 실험 방법

#### 2.2.1 분광분석법을 이용한 전분의 검량선 작성

다층판지 제조 시 섬유상 원료인 폐지에서 사용되는 양성전분과 산화전분이 혼합되어 물에 용해된 상태로 존재<sup>4)</sup>할 수 있다. 따라서 다층판지의 용출 후 용매에 잔존하는 전분을 정량하기 위해 양성전분과 산화전분의 흡광도와 고유의 파장범위를 탐색하였다. 파우더 형태의 양성전분과 산화전분을 90°C에서 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm으로 농도를 조절하여 30분간 호화하였다. 호화된 양성전분과 산화전분 10 mL에 0.1 N 트리요오드화물 0.1 mL를 첨가하여 자외선/가시광선 분광분석기(Optizen POP, Mecasys)를 이용하여 400~800 nm의 가시광선 흡광도를 측정하였다.<sup>4)</sup>

#### 2.2.2 HPLC를 이용한 당 정량분석을 위한 전분의 효소 가수분해

다층판지 제조 시 판지의 층간결합강도 향상을 목적으로 사용한 생전분이 존재하기도 하지만, 셀룰로오스 섬유원료로 사용한 폐지 유래의 산화전분이 용해된 상

태로 존재할 수 있다. 다층판지의 표면층에서 약 590 nm의 파장에서 흡광도를 나타내는 산화전분이 존재한다는 연구 보고<sup>4)</sup>에 따라 산화전분 용액을  $\alpha$ -아밀라아제로 효소가수분해 시키기 위해 산화전분과 효소의 최적 반응조건을 탐색하였다. 0.1 M Phosphate buffer solution 제조를 위해 제일인산칼륨( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , Potassium phosphate monobasic, pH 4.5)과 제이인산칼륨( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , Potassium phosphate dibasic, pH 8.5)을 사용하여, 혼합 후 pH가 6, 7, 8이 되도록 제조하였다. 산화전분은 오토클레이브(autoclave)에서 121 °C의 조건으로 15 분간 액화시켰으며,  $\alpha$ -아밀라아제 첨가 후 진탕 배양기(shaking incubator)에서 말토오스(maltose), 말토트리오스(maltotriose), 글루코오스(glucose)로 가수분해<sup>14)</sup>를 실시하였다.  $\alpha$ -아밀라아제는 1 M phosphate buffer solution 10 ml에 0.2%(w/v)으로 농도를 조절하였으며 최적 투입농도와 온도조건을 탐색하기 위해 호화된 산화전분 용액 10 ml에  $\alpha$ -아밀라아제의 첨가 농도를 1~5 g/L로 조절하고 온도를 40 °C~70 °C로 조절하여 반응시켰다.

### 2.2.3 전분 함량 보정을 통한 수용성 잔류물질 정량 분석

종이 포장재의 수용성 잔류물질 함량은 식품의약품 안전처에 고시된 ‘기구 및 용기·포장의 기준 및 규격’에 의거하여 물을 용매로 25 °C 항온수조에서 10 분간 용출시킨 후 증발 건조시켜 그 함량을 측정하였으며, 다음 식을 이용하여 증발잔류물 함량을 계산하였다.

$$\text{Evaporation residue, mg/L} = \frac{(a-b) \times 1,000}{\text{Sample volume, mL}}$$

$a$  = dry weight of sample test, mg

$b$  = weight of blank test, mg

그러나 박 등<sup>6)</sup>은 다층판지로 제조된 골판지 상자의 수용성 증발잔류물 함량 중 전분이 상당량 존재한다는 보고에 따라, 전분 정량을 통한 다층판지로부터 용출되는 수용성 잔류물질 함량을 보정하고자 하였다. 종이포장재용 다층판지 2 g을 물을 용매로 속슬렛 추출기를 사용하여 용출실험을 실시한 후  $\alpha$ -아밀라아제를

이용한 효소가수분해를 실시하였다. 효소가수분해 후 다층판지의 수용성 잔류물질 용액내의 전분 농도를 요오드법<sup>15)</sup>으로 UV/Vis 분광분석기를 이용하여 정량하였으며, 기존의 다층판지의 수용성 잔류물질 함량 측정법에 의해 얻은 결과를 보정하였다.

또한 전분 이외의 물질로 기인한 전분의 발색저하를 방지하기 위해 2100 rpm에서 30분간 원심분리를 실시한 후 상등액을 취해 흡광도를 분석하였다. 다층판지의 수용성 잔류물질에 용해된 상태로 존재하는 이물질의 발색에 의한 흡광도 증가를 고려하여 요오드를 첨가하지 않은 다층판지의 수용성 잔류물질 흡광도를 구하여 보정하였다. 이때 용출된 용액내의 전분과 요오드의 반응온도를 조절하여 최적 온도조건을 탐색하였다. 다층판지의 수용성 잔류물질 내 전분의 흡광도를 파장에 따라 검량식에 대입하여 다층판지의 수용성 용출물질에 잔존하는 산화전분의 함량을 분석<sup>4)</sup>하였다. 따라서 최종적으로 전분의  $\alpha$ -아밀라아제 가수분해에 의한 당정량 분석을 위해 HPLC(Alltech, Prevail Carbohydrate Column)의 ELSD 검출을 하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 분광분석법을 이용한 전분의 검량선 측정

Fig. 3은 양성전분과 산화전분의 농도에 따른 최대 흡광도에 의한 검량선 결과이다. 양성전분과 산화전분을 각각 50~250 ppm 농도로 조절하여 호화된 전분용액 10 mL에 0.1 N 트리요오드화물 0.1 mL와 반응시켜 UV/Vis 분광분석기를 이용하여 최대 흡광도를 분석하였다. 분광분석법을 이용한 전분 함량의 분석은 빛을 이용하여 화합물의 농도를 측정하는 방법으로서 가시광선 흡수를 기초로 한 비색법으로서 Beer's 법칙으로 해석할 수 있다.<sup>16)</sup> 각각의 양성전분과 산화전분은 요오드와의 비색 반응을 통해 청남색으로 발색되어 흡광도 값에 대한 Beer's 법칙을 근거하여 추세선을 작성하고 기울기에 대한 검량식을 얻었다. Fig. 4에 나타난 바와 같이 양성전분은 600 nm에서, 산화전분은 590 nm의 흡수파장 범위에서 최대 흡광도를 나타냈으며, 검량선에 나타난 관계식을 통해 다층판지로부터 수용성 용출물질에 존재하는 전분 함량의 정량에 이용하였다.

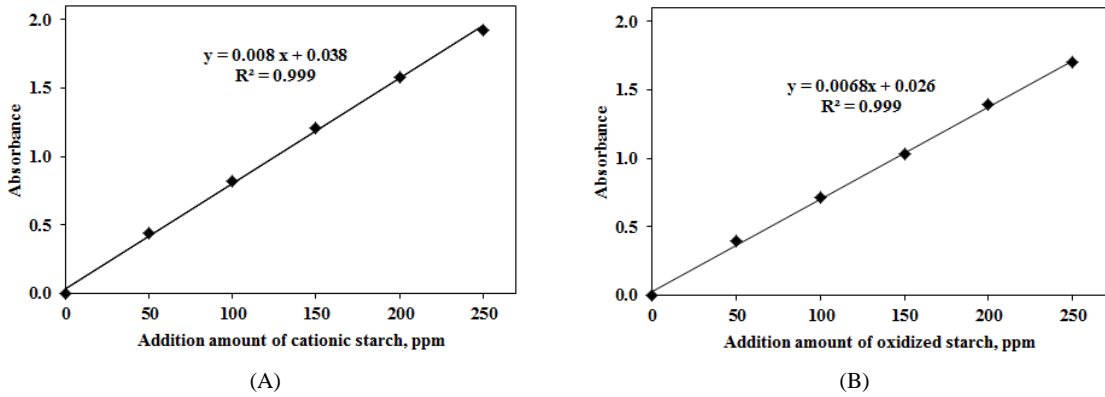


Fig. 3. The standard curve of cationic starch(A) and oxidized starch(B).

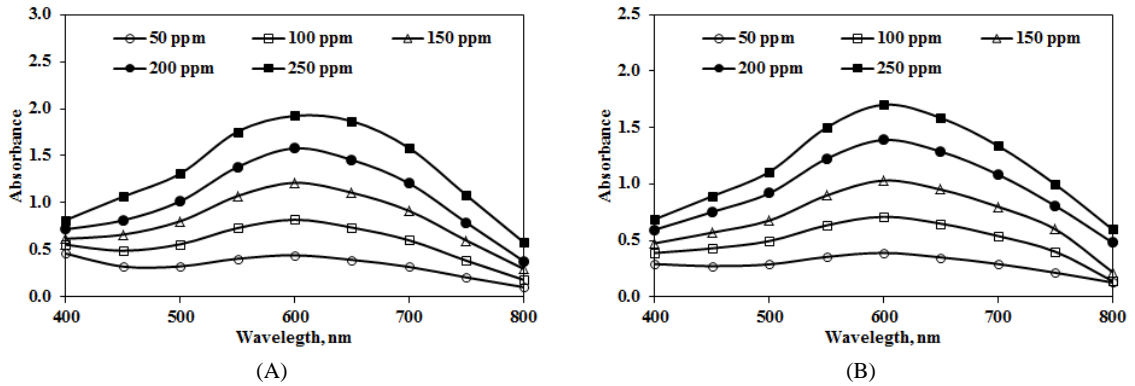


Fig. 4. The absorbance of cationic starch(A) and oxidized starch(B).

$$\text{Concentration of oxidized starch} = \frac{(\text{absorbance} - 0.026)}{0.0068}$$

$$\text{Concentration of cationic starch} = \frac{(\text{absorbance} - 0.038)}{0.008}$$

### 3.2 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질 내 전분 정량 분석

Fig. 5는 종이포장재용 다층판지로부터 용출한 수용성 잔류물질 내에 잔존하는 전분의 분광분석법에 의한 흡광도 결과이다. 그림에서와 같이 흡광도 변곡 결과는 산화전분을 나타내는 590 nm의 흡광도를 보였으며, 최대 흡광도 0.511를 나타내 검량식에 대입한 결과

전분 함량은 71.32 ppm으로 계산되었다. 이에 따라 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질 내에 잔존하는 전분은 다수의 산화전분이 포함된 것을 확인할 수 있었다. 따라서 HPLC를 이용하여 전분의 보다 정확한 당

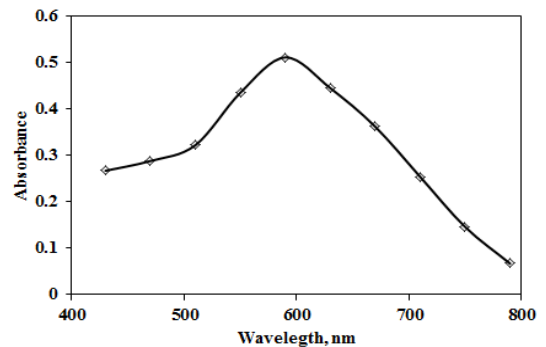


Fig. 5. The absorbance of starch in water soluble residues from paperboard grade.

정량분석을 위해 산화전분을 토대로 효소가수분해 최적조건을 탐색하였다.

### 3.3 HPLC를 이용한 당 정량분석을 위한 전분의 효소가수분해

종이포장재용 다층판지로 부터 용출된 수용성 잔류물질 내 산화전분의 최적 가수분해 조건을 탐색하기 위해 효소의 pH, 첨가량, 반응온도 조건을 설정하여 반응을 실시하였다. Fig. 6은 α-아밀라아제의 pH가 산화전분의 가수분해에 미치는 영향을 나타낸 결과이다. 파우더 형태의 α-아밀라아제의 가수분해에 미치는 pH의 영향을 살펴보면 0.1 M, pH 7.5 조건의 인산염 완충용액(phosphate buffer solution)에서 가수분해 능력이 우수하다고 연구 보고<sup>13)</sup>된 바 있으며, α-아밀라아제 효소가수분해 반응은 pH 7에서 반응속도가 증가한다고 연구 보고된 바 있다.<sup>17)</sup>

Fig. 6의 결과에서와 같이 모든 pH 조건에서 산화전분은 가수분해가 되었으며, pH 7의 조건에서 가장 낮은 흡광도를 나타냈으며, 이는 α-아밀라아제가 pH 7에서 가장 우수한 가수분해 능력을 나타내는 것으로 판단할 수 있다.

Fig. 7은 α-아밀라아제의 첨가량에 따른 산화전분 가수분해 후 흡광도 결과이다. 효소의 첨가량이 증가할수록 산화전분 가수분해 후 흡광도가 증가하여 산화전분에 대한 가수분해 효과가 낮아지는 것으로 나타났다. 따라서 α-아밀라아제 첨가량이 1 g/L일 때 가수분해 효과가 가장 우수함을 확인하였다.

Fig. 8은 효소의 가수분해 반응온도에 따른 흡광도를 나타낸 결과이다. 산화전분의 가수분해 시 온도조

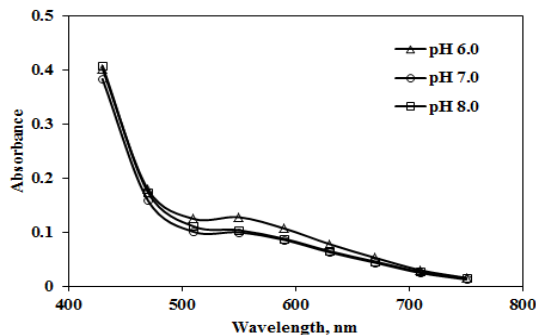


Fig. 6. The absorbance of oxidized starch by enzyme hydrolysis depending on pH conditions.

건에 의한 영향을 탐색하기 위하여 40°C, 50°C, 60°C, 70°C로 설정하여 가수분해 반응을 실시하였다. 효소가수분해 온도가 높을수록 흡광도는 저하되었으나, 590 nm 파장에서 70°C 조건의 흡광도는 40°C와 50°C 조건의 흡광도와 유사한 결과를 나타냈다. 따라서 60°C 온도조건에서 흡광도가 가장 낮아 최적 반응 조건이라고 사료된다. 이러한 결과는 아밀라아제의 활성에 미치는 온도의 영향에 대한 연구 시 60°C에서 최대의 활성이 나타난다는 Omemu 등<sup>18)</sup>의 연구결과와도 일치한다.

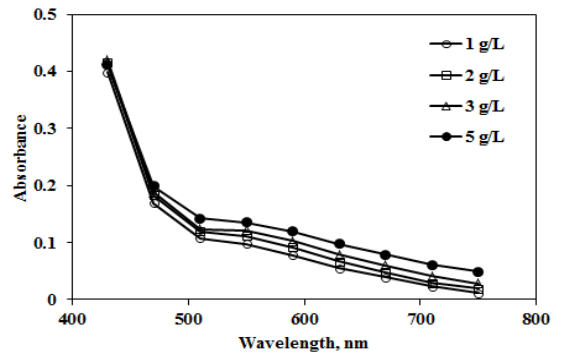


Fig. 7. The absorbance of oxidized starch by enzyme hydrolysis depending on addition amounts.

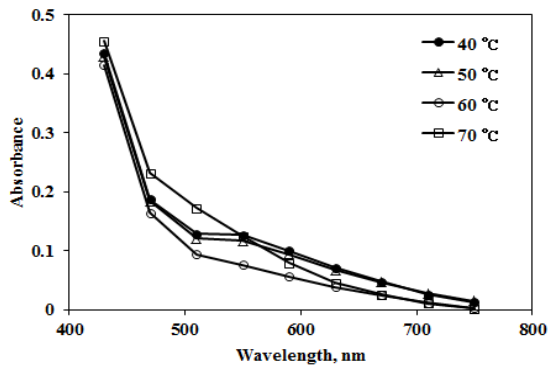


Fig. 8. The absorbance of oxidized starch by enzyme hydrolysis depending on temperature conditions.

### 3.4 전분 함량 보정을 통한 수용성 잔류물질 정량 분석

Fig. 9는 고온, 상온, 저온의 온도조건 설정에 따른 산화전분 50 ppm에 존재하는 아밀로오스와 요오드를

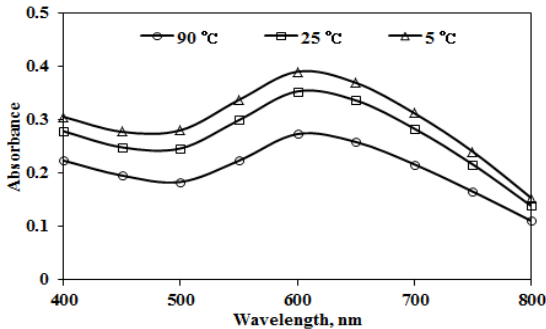


Fig. 9. Changes in absorbance after reacting oxidized starch and iodine depending on temperature conditions.

반응시켜 얻은 흡광도 결과이다. 온도 변화와 관계없이 산화전분은 모두 약 590 nm에서 최대 흡광도를 나타냈으며, 아밀로오스와 요오드의 반응온도가 낮아질수록 흡광도는 증가하였다. 5°C 조건에서 효소의 반응속도가 증가하는 것으로 나타났으며, 이에 아밀로오스와 요오드의 비색 정량을 위한 최대 흡광도는 5°C 조건을 가장 적합한 온도 조건으로 설정할 수 있었다.

Fig. 10은 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질 내의 산화전분 함량 계산에 따른 보정된 수용성 잔류물질 정량분석 결과이다. 속슬랫 추출기를 이용하여 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질은 159.2 ppm으로 나타났으며, 용출된 용액의 아밀로오스-요오드의 비색 반응에 의한 분광분석법을 이용한 수용성 잔류물질 내의 전분 함량은 71.32 ppm으로 나타났다. Fig. 10에 도시한 바와 같이 전분 함량을 보정하지 않을 경우 기존의 수용성 잔류물질 시험 결과 159.2 ppm에서 전분 함량 보정 후 80.3 ppm으로 감소하는 결과를 나

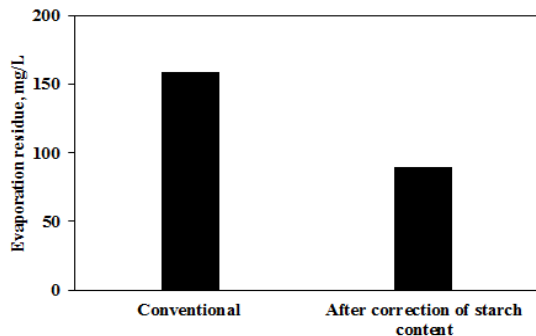


Fig. 10. The quantitative analysis of water soluble residues after the correction of oxidized starch content.

타냈다. 이는 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질 내에 산화전분이 잔존하고 있다는 것을 의미하며, 다층판지 제조 공정 중 사용한 산화전분의 용출에 의해 수용성 잔류물질 함량이 왜곡된 것으로 판단할 수 있다.

Fig. 11는 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질에 α-아밀라아제 가수분해 처리 후 흡광도 변화를 얻은 결과이다. α-아밀라아제를 이용하여 가수분해한 경우 무처리 된 산화전분에 비해 낮은 흡광도를 나타냈다. 이는 α-아밀라아제 의한 아밀로오스와 아밀로펙틴의 1,4-글리코시드 결합이 깨열되어 말토오스, 말토트리오스, D-글루코오스 등으로 당화<sup>19)</sup> 되어 일어난 결과로 사료되며, 이러한 결과에 따라 트리요드화물 첨가 후 아밀로오스-요오드 반응을 유도했을 때 발색이 나타나지 않은 것으로 사료된다. 그러나 Ying Ma 등<sup>20)</sup>의 옥수수 전분의 효소 가수분해 연구에 따르면 α-아밀라아제는 아밀로펙틴의 α-1,6-글리코시드 결합은 가수분해를 하지 못한다는 연구결과가 보고되기도 하였다. 따라서 본 연구에서도 α-아밀라아제에 의한 산화전분이 완전히 가수분해 되지 않은 것으로 판단되어 HPLC를 이용하여 수용성 잔류물질에 잔존하는 산화전분의 당 정량 분석을 위해 아밀로글루코시드 가수분해효소(amylo glucosidase)를 이용한 아밀로오스와 아밀로펙틴의 α-1,4-글리코시드 결합과 α-1,6-글리코시드 결합을 D-글루코오스 (D-glucose) 단량체로 가수분해할 수 있는 시험방법이 적용되어야 할 것이다.

Fig. 12는 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질에 α-아밀라아제 처리 전후의 요오드 비색반응을 나타낸 사진이다. α-아밀라아제를 처리하지 않은 용액은 전분 내의 아밀로오스와 요오드의 비색반응에 의해 청남

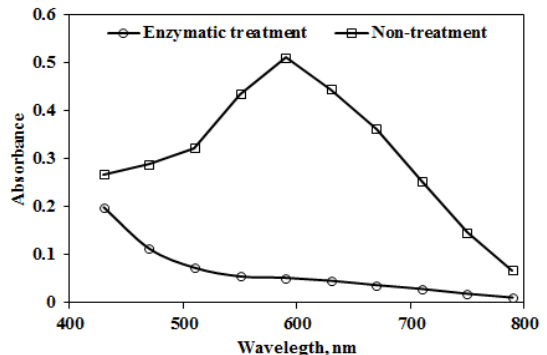


Fig. 11. Changes in absorbance of oxidized starch in water soluble residues by enzyme treatment.

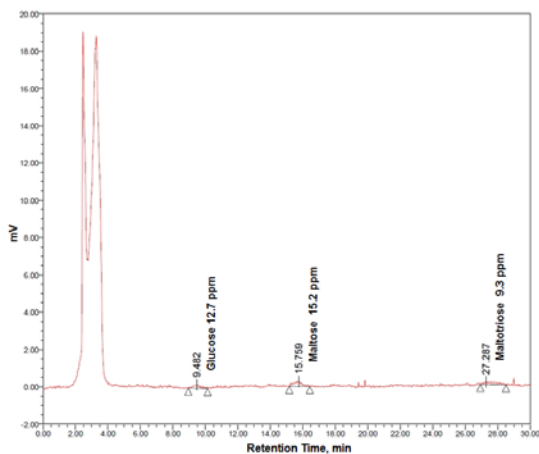


**Fig. 12. Changes in color by non-enzyme treatment(A) and enzyme treatment(B) of oxidized starch from water soluble residues.**

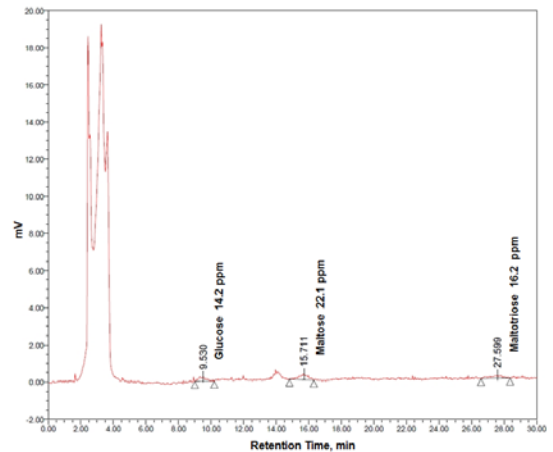
색을 나타냈지만, α-아밀라아제를 처리한 용액은 전분 내의 아밀로오스가 당으로 분해되어 요오드와의 비색반응을 나타내지 않은 것으로 판단된다. Kolusheva 등<sup>17)</sup>은 α-아밀라아제가 고분자 체인의 안쪽에 있는 다당류 분자를 공격하여 전분 내 아밀로오스의 나선을 절단함으로써 요오드 반응에 의해 청남색으로 나타나는 발색특성을 띠지 않는다고 보고 하였다. 이러한 보고와 마찬가지로 α-아밀라아제를 이용하여 전분 내의 아밀로오스를 당으로 분해시키는 과정으로서 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질을 효소 처리 한 후 HPLC를 이용하여 산화전분의 당 정량 분석에 적용할 수 있을 것

으로 판단한다.

Fig. 13 및 14는 다층판지로부터 용출된 수용성 잔류물질 내 산화전분의 함량을 HPLC 분석법을 이용하여 나타낸 결과이다. 크로마토그램 분석 결과에서 다층판지로부터 용출된 잔류물질 내 산화전분의 가수분해된 당의 총 함량은 52.5 ppm을 나타냈다. 단순히 아밀로오스와 요오드의 비색반응에 의한 흡광도로 정량을 분석하는 분광분석법과 비교했을 때 71.32 ppm에서 18.82 ppm으로 차이를 나타내는 값을 얻었다. 이는 전분의 아밀로오스와 요오드 비색반응을 통한 간접적인



**Fig. 13. The chromatogram of the enzymatic hydrolysis of standard oxidized starch.**



**Fig. 14. The chromatogram of the enzymatic hydrolysis of oxidized starch in water soluble residues from paperboard grade.**



전분 정량분석에 따른 분광분석법과 달리 HPLC를 이용한 보다 정밀한 당 분석 결과에서는  $\alpha$ -아밀라아제와 아밀로오스와 아밀로펙틴의 가수분해를 충분히 이루지 못한 것으로 판단되며, 낮은 전분 함량을 나타낸 것으로 사료된다. 따라서 HPLC를 이용한 전분 내의 정밀한 당 정량 분석을 위해서는 아밀로오스와 아밀로펙틴 모두 글루코오스만으로 가수분해시켜 글루코오스의 높은 당화 수율을 기대할 수 있는 아밀로글루코시드가 가수분해 효소를 적용하는 것이 타당하다고 판단된다. 이에 종이포장재용 다층판지로부터 용출된 전분 함량 보정을 통한 수용성 잔류물질의 보다 정확한 정량분석이 가능할 것으로 사료된다.

## 4. 결론

기준에 적용되었던 종이포장재용 증발잔류물 분석 방법(식품의약품안전처 고시 제 2010-11호)에 대한 오류 가능성의 확인에 따라 이를 개선시킬 수 있는 방안이 요구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 UV/Vis 분광분석기 및 HPLC를 이용하여 종이 포장재용 다층판지에서 용출되는 수용성 잔류물질로부터 전분 함량 보정을 통한 정량 분석을 실시하였다. 실험 결과, UV/Vis 분광분석기를 이용하여 요오드와  $\alpha$ -아밀라아제 반응 및 전분 가수분해에 따른 흡광도 분석을 통해 다층판지로부터 용출한 수용성 잔류물질 중에 산화전분이 다량 존재함을 확인하였고, 산화전분을 효소 가수분해시켜 보정함으로써 잔류물 함량이 감소되는 것을 확인하였다. 또한  $\alpha$ -아밀라아제로 산화전분을 구성하는 아밀로오스와 아밀로펙틴의  $\alpha$ -1,4-글리코시드 결합을 가수분해시켜 HPLC를 이용하여 전분 함량을 보정함으로써 수용성 잔류물질의 함량이 낮아짐을 확인할 수 있었다.

## 사 사

본 논문은 2011년 국민대학교 교내연구비 지원에 의하여 작성되었습니다.

## Literature Cited

1. Ryu, J. Y., and Lee, H. R., The effect of blending starches on the development of plybond strength of two-ply linerboard, *Journal of Korea TAPPI* 39(4): 14-20 (2007).
2. Oh, J. K., Lim, D. H., Kim, S. Y., and Kim, H. J., Environmental friendly adhesives using natural materials, *J. Adhesion and Interface* 9(3):34-42 (2008).
3. Neimo, L., *Papermaking Science and Technology*, Book 4, TAPPI Press, Helsinki, Finland, pp. 270 (1999).
4. Jung, S. H., Ryu, J. Y., and Kim, H. J., A quantitative analysis of dissolved starch in white water by UV spectroscopy, *Journal of Korea TAPPI* 37(4):38-43 (2005).
5. Park, J. Y., Lee, T. J., Kim, H. J., and Kim, J. M., Fiberanalysis and environmental assessment of recycled waste paper for eco-friendly corrugated box manufacture, *Journal of Korea TAPPI* 45(4):65-74 (2013).
6. Ministry of Food and Drug Safety, Standard and rule-for packaging of utensil (2011).
7. Choi, J. O., Lee, K. S., and Lee, D. S., Migration of potential volatile surrogate contaminants from paper packaging into food through gas phase, *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 33(5):917-920 (2004).
8. Hancock, B., Health and safety aspects of flexographic food packaging inks, *Pigment & Resin Technology* 26(2):97-101 (1997).
9. Mariani, M. B., Chiacchierini, E., and Gesumundo, C., Potential migration of diisopropyl naphthalenes from recycled paperboard packaging into dry foods, *Food Add. Contam.* 16(5):207-213 (1999).
10. Summerfield, W., and Cooper, I., Investigation of migration from paper and board into food-development of methods for rapid testing, *Food Add. & Contam.* 18(1):77-88 (2001).
11. Choi, J. O., Jitsunari, F., Asakawa, F., Park, H. J., and Lee, D. S., Migration of surrogate contaminants in paper and paperboard into water through polyethylene coating layer, *Food Add. & Contam.* 19(12):1200-1206 (2002).
12. Knutson, C. A., Evaluation of variations in amylose-iodine absorbance spectra, *Carbohydrate Polymers* 42(1):65-72 (2000).
13. Bravo Rodriguez, V., Jurado Alameda, E., Martinez

- Gallegos, J. F., Reyes Requena, A., and Garcia López, A. I., Enzymatic Hydrolysis of Soluble Starch with an  $\alpha$ -Amylase from *Bacillus licheniformis*, *Biotechnol. Prog.* 22(3):718-722 (2006).
14. Na, J. B., and Kim, J. S., The Optimum Condition of SSF to Ethanol Production from Starch Biomass, *Korean Chem. Eng. Res.* 46(8):858-862 (2008).
15. Lascaris, E., Mew, L., Forbes, L., Mainwaring, D., and Lonergan, G., Drainage improvement of recycled fibre backwater following  $\alpha$ -amylase bio-modification, *Appita J.* 50(1):51-56 (1997).
16. Harris, D. C., *Quantitative Chemical Analysis*, Eighth Edition, W. H. Freeman and Company, New York, pp. 394-396 (2010).
17. Kolusheva, T., and Marinova, A., A study of the optimal conditions for starch hydrolysis through thermostable  $\alpha$ -amylase., *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 42(1):93-96 (2007).
18. Omemu, A. M., Akpan, I., Bankole, M. O., and Teniola, O. D., Hydrolysis of raw tuber starches by amylase of *Aspergillus niger* AM07 isolated from the soil, *African Journal of Biotechnology* 4(1):19-25 (2005).
19. Rendleman, J. A. Jr., Hydrolytic action of  $\alpha$ -amylase on high-amylose starch of low molecular mass, *Biotechnol. Appl. Biochem* 31(3):171-178 (2000).
20. Ying, M., Chunguang, C., Jing, W., and Sun, D. W., Enzymatic hydrolysis of corn starch for producing fat mimetics, *Journal of Food Engineering* 73(3):297-303 (2006).