KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 24, No. 1, pp. 14~24(1992)

Chitin의 산업적 이용을 위한 기초연구

양 융 · 현준호 · 황윤희
연세대학교 공과대학 식품공학과

A Basic Study on Chitin from Krill and Kruma Prawn for Industrial Use

Ryung Yang, Joon-Ho Hyon and Yoon-Hee Whang
Department of Food Engineering, Yonsei University

Abstract

An attempt was made to prepare chitin from kuruma prawn shell and antarctic krill for industrial use, and new procedure for the preparation of chitin was developed. When antarctic krill powder and kuruma prawn shell powder were treated through the new procedures developed in this study, purified chitin, identified by IR spectrum and nitrogen content, was obtained. Molecular weight in formic acid of purified chitin was 1.56×10^5 for krill and 1.78×10^5 for kuruma prawn respectively. Degree of polymerization of N-acetylglucosamine was 750 for krill chitin and 850 for kuruma prawn chitin. Purified chitin showed a higher degree of acetylation, and was relatively rich in methionine residue.

Key words: chitin, krill chitin, kuruma prawn chitin, N-acetylglucosamine

서 론

Chitin(poly-β-(1-4)-N-acetyl-D-glucosamine)은 물, 각종 유기용매, 묽은 산 및 알칼리에 불용성인 흰색의 결정형 혹은 무정형의 polymer로 약 5000개 이상의 잔기를 가지고, 분자량이 약 100만 이상인 천연고분자로서 최근들어 식품첨가제 및 의료용 등의 신소재로 이에 대한 연구가 주목되고 있다[1-3].

이것은 거의 대부분이 동물에 존재하고 있는 것으로 알려져 있는데 그 분포를 보면 게, 새우와 같은 갑각류의 cuticle, 메뚜기, 바퀴벌레와 같은 곤충류의 cuticle, 곰팡이의 균사, 조개류, 오징어 등의 연체동물의 기관에 존재하는 것으로 그 함량은 Table 1에서 보는 바와 같이 각각의 종에 따라 매우 다양한 것으로 알려져 있다[4].

Chitin의 재원은 주로 게, 새우 등에서 근육층을 채취한 뒤에 얻어지는 산업폐기물로 알려져 있는데, 이들 수산가공분야에서 유래되는 산업폐기물과 미생물 관련업계로부터 생산, 제조될 수 있는 chitin은 세계적으로 연간 약 1.5×10^5 metric tons으로 추정되고 있으며 이중 미국의 경우 수산식품가공에서 나오는 chitin의 생산량이 연간 $5.3\sim7.8\times10^6$ kg에 달하고 있는 것으로 보고되고 있다[6]. 따라서 최근 chitin은 산업폐기물의 경제적 활용이라는 측면에 있어서 중요한 대상이 되고 있고 또한, chitin 추출시 미가공단백질을 재회수할 수 있다는 측면에 있어서도 관심이 모아지고 있다[5,6].

최근 chitin을 유용하게 이용할 수 있다는 다수의 연구결과들이 발표되고 있다[7-25]. 인체에 대한 동물임상실험 결과 chitin이 인체에 무해하다는 것이 보고되었고[7,8], chitin의 유도체인 chitosan은 dietary fiber로서 사용이 가능할 수 있을 뿐만 아니라[4] hypolipidemic, hypocholesterolemic activity가 있다는 것이 보고되었다[9,10]. 또한 chitinase에 의해 chitin을 가수분해시키면 SCP의 배지로서 사용할 수 있으며, chitin을 유용하게 이용하기 위한 chitinase의 생산에 관한 연구[11-13]도 이루어지고 있고, chitin의 산업적인 제조방법에 관한 process 연구[14]도 이루어지고 있다.

Chitin은 여러가지 유기산을 흡착하는 성질이 있는 것으로 알려져 coffee 제조산업에서 extract 중의 caffeic acid, chlorogenic acid 뿐만 아니라 oxalic acid, citric acid, fumalic acid 등의 제산제(deacidifying agent)로서 이용될 수 있다고 보고되고 있다[15].

Chitin은 색소에 대한 흡착효과를 나타내는 것으로 발표되고 있다. Watkins 등[16]은 FD & C Red No. 40을 이용하여 pH 2~7에서 chitin과 안정하게 binding한다는 사실을 보임으로써 food dye에 대한 nonabsorbable carrier로서의 이용가능성을 제시하였고 aniline-naphthionic acid와 Congo red 등은 chitin의 acetamido group의 exchange mechanism에 의해 흡착이 이루어진다고 하였는데[17] 이에 대한 동물실험 결과 인체에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보고되었다[16].

이 외에도 chitin membrane은 calcium alginate gel과

Corresponding author: Ryung Yang, Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Table 1. Chitin content of selected crustacea, insect, molluscan organs and fungi[4]

	Chitin content (%)
Crustacea	
Cancer(crab)	72.1[3]
Carcinus(crab)	0.4~3.3[1], 8.29[2] 64.2[4]
Paralithodes(king crab)	35[2]
Callinectes(blue crab)	14[1]
Pleuroncodes(red crab)	1.3~1.8[2]
Crangon(shrimp)	5.8[2], 69.1[3]
Alaskan shrimp	28[4]
Nephrops(lobster)	69.8[3], 6.7[2]
Homarus(lobster)	60.8~77.0[3]
Lepas(barnacles)	58.3[3]
Insect	
Periplaneta(cockroach)	2.0[3]
Blatella(cockroach)	18.4[3], 10[2], 35[3]
Colcoptera(beetle)	27~35[3]
Tenebrio(beetle)	2.1[1], 4.9[2], 31.3[3]
Calleria(wax warm)	33.7[3]
May beetle	16[2]
Dipteria(true fly)	54.8[3]
Pieris(sulfer butterfly)	64[3]
Grasshoper	2~4[1], 20[3]
Bombyx(silkwarm)	44.2[3]
Molluscan Organs	
Clamshell	6.1
Oyster shell	3.6
Squid, skeletal pen	41.0
Krill(deproteinized shell)	40.2± 5.2
Fungi	
Aspergillus niger	42.0[5]
Penicillium notatum	18.5[1]
Penicillium chrysogenium	20.1[5]
Saccharomyces cerevisiae (baker yeast)	2.9[5]
Mucor rouxii	44.5
Lactarius vellereus (mushroom)	19.0

[1]Wet body weight
[2]Dry body weight
[3]Organic weight of cuticle
[4]Total dry weight of cuticle
[5]Dry weight of cell wall

같은 물성으로 제조되어 식품의 edible wrap으로 이용될 수 있을 뿐만 아니라 식품포장재로서의 사용이 가능하다는 것이 제시되었고[18-20], 900℃ 이상으로 pyrolysis시키면 여러가지 pyranzines이 생성되는데 이것은 식품의 flavor로서 cocoa 등의 볶음취에 기여하는 flavor이기도 하여 향강화제로서 이용가능한 것으로 알려져 있다[21,22].

또한 최근 의료용 신소재로서의 chitin의 이용은 특별한 관심을 끌고 있다. 즉, 인체에 무해하다는 사실 뿐만 아니라 이에 대한 antibody가 형성되지 않아 부작용이 없어 미국 및 일본에서는 여러가지 의료용 신소재 및 의약용으로서 연구가 많이 진행되고 있다[23]. 그 대표적인 용도를 보면 소화성 외과용 봉합사, 화상 및 찰과상에서 이용되는 인공피부[24], 항혈전제[25], 인체내 약물투여의 새로운 방법인 release control[26]의 재료 등을 들 수 있으며 그 밖에도 충치예방제[27], 항종양제[25], 면역부활제(adjuvant)[25] 등에 이용하는 등, 이에 대한 고부가가치적인 연구가 활발히 이루어지고 있다.

이와 같이 chitin은 산업적으로 많은 분야에 이용될 수 있는 것으로 기대되고 있으나, 동물의 종류 등 재료의 출처나 추출방법에 따라 그 성질에 차이를 보이기 때문에 이에 관한 많은 연구가 있어 왔다[28,29].

본 연구에서는 폐기물로 얻어지는 보리새우(*Penaeus japonicus*) 껍질과 단백질이용의 전망성이 좋은 antarctic krill(*Euphasia superba*)을 재료로 하여, 산업적 이용을 위한 기초연구로서 기존의 chitin 추출조건을 수정, 조합하여 산업적으로 보다 효율적인 추출조건을 설정하고, 이로부터 추출한 chitin들의 물리적, 화학적 성질들을 비교하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험재료로는 Antarctic kriil(*Euphasia superba*)과 보리새우(*Penaeus japonicus*) 껍질을 사용하였다.

Antarctic Krill의 경우 krill 전체를 해수로 세척한 후 건조, 마쇄하여 분말형태로 된 것을 사용하였으며, 보리새우의 경우 가공폐기물로 나온 껍질을 물로 세척한 후 건조, 마쇄하여 powder의 형태로 된 것을 사용하였다.

일반성분조성

수분함량은 105℃ 건조법[30], lipid함량은 Soxhlet method[31]로 측정하였으며, 단백질함량은 micro Kjeldahl[32]법, ash함량은 550℃ 회화법[33]으로 측정하였다.

Chitin함량의 측정

시료중의 chitin함량은 Hackman method[34]를 수정하여 실시하였다. 즉, 원료는 10g을 사용하였으며, 단백질을 100℃에서 200 m*l*의 1 N NaOH로 2시간씩 3회 추출하고 mineral을 상온에서 200 m*l*의 1 N HCl로 하루동안 3회 추출하였으며, acetone 및 H_2O_2로 색소를 추출한 후 잔사를 60℃에서 건조시켜 그 무게를 측정하였다.

Chitin의 추출 및 정제

산업적으로 이용할 수 있는 새로운 chitin의 추출 및 정제방법은 Romo 등[36]과 Hackman[34]의 방법을 수정, 조합하여 정량적 검토를 거쳐 작성하였다.

분석용 표준망체 32 mesh를 통과시킨 시료 50g을 증류수 500 m*l*에 넣고 NaOH를 사용하여 pH를 10.5로 맞추어 1시간 동안 교반시킨 후 Whatman No. 4 여과지를 사용하여 여과하였다. 이때 나온 잔사로 위의 과정을 3회 실시하였으며, 4회에 가서는 교반시킨 액을

하루 방치시킨 후 여과하였다. 잔사를 1 N HCl 500 ml에 넣고 상온에서 1시간 동안 교반시킨 후 여과하였다. 이 과정을 2회 실시하였다.

여기서 나온 잔사를 2차 증류수 500 ml로 세척하였다. 이 과정을 2회에 걸쳐 실행하였다.

잔사를 1 N NaOH 500 ml에 넣어 100℃에서 1시간 동안 처리한 후 여과하였다. 이 과정을 2회 실시하였다.

잔사를 2차 증류수 500 ml로 세척하여 여과시켰다. 이 과정을 2회 반복하고 여기서 나온 잔사를 300 ml methanol로 세척하여 여과하였다.

이 과정에서 남은 잔사를 건조시켜 chitin을 얻었다.

또한 각 과정에서 나온 여액은 Lowry method[35]를 이용하여 단백질 함량을 측정하였다. 단백질정량을 위한 검량선은 bovine serum albumin으로 작성하였고 750 nm에서 흡광도를 측정하였다.

SEM(Scanning Electron Microscope)

건조된 chitin을 ion beam coater로 gold coating시킨 후 Hitachi H 600 전자현미경으로 5000배 확대하여 관찰하였다. 사진은 Polaroid No. 55를 사용하여 촬영하였다.

IR 분석

Nusole을 사용하여 Schimadzu IR 435 V-03으로 분석하였다. 표준시료로는 Sigma사의 C 3641 chitin을 사용하였다.

고유점도 및 분자량 측정

본 연구에서 추출한 chitin을 anhydrous formic acid와 lithium chloride를 5% 함유하고 있는 N,N-dimethylacetamide(5% LiCl-DMAc)에 녹인 후 농도를 희석시키면서 각 농도별 환원점도($\eta_{sp/c}$)를 구하였다. 각 환원점도는 Ostwald형 모관점도계를 사용하여 25℃에서 상대점도(η_r)를 측정하였다. 상대점도와 농도와의 관계로부터 환원점도(reduced viscosity) $\eta_{sp/c}$를 구하고 다음의 Huggins의 식에 따라 고유점도(intrinsic viscosity)를 구하였다[64].

$$\eta_{sp/c}=[\eta]+k'[\eta]^2c$$

여기서 k'는 Huggins constant이며 c는 용질의 중량농도(g/dl)이다.

다음의 평균분자량 측정은 Mark-Houwink-Sakurada의 식에 따라 구하였다[65].

$$[\eta]=KM^a$$

여기서 $[\eta]$는 고유점도, M는 평균분자량 그리고 a는 Mark-Houwink exponent이다.

Glucosamine양 측정

Chitin을 1 mg/ml(4 M HCl)의 농도로 하여 100℃, 진공하에서 시간별로 산가수분해시킨 후 이때 생성된 glucoseamine양을 Davidson[37] 방법을 이용하여 측정하였다.

적당히 희석시킨 가수분해물 1 ml를 screw cap tube에 넣고 acetylacetone reagent 1 ml를 혼합하여 뚜껑을 닫고 끓는 water bath상에서 40분간 가열하였다. 이것을 흐르는 물에 냉각시키고 여기에 4 ml 95% ethanol과 1 ml Ehrlich's reagent을 차례로 혼합시킨 다음 1시간 방치 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, glucosamine HCl을 사용하여 미리 구한 검량곡선에 의해 glucosamine양을 구하였다.

Table 2. Operating condition of gas chromatography

Column	Porapak Q(80/100 mesh)
Detector	Flame ionization detector
Injector & detector temperature	250℃
Oven temperature	200℃
Carrier gas	N_2 gas
Flow rate	30 ml/min
Sample size	0.75 μl
Injection volume	3 μl

Acetic acid양 측정

Chitin을 25 mg/ml(4 M HCl)의 농도로 하여 100℃, 진공하에서 시간별로 산가수분해시킨 후 유리되어 나오는 acetic acid를 gas chromatography로 분석하였으며, 이때 내부표준물질은 propionic acid를 사용하였다.

분석조건은 Table 2에 나타내었으며, 매 측정시 표준용액으로 검량선을 작성하여 acetic acid양을 구하였다.

Amino acid 분석

Krill과 보리새우껍질로부터 추출한 chitin을 각각 300 mg 취하여 6 N HCl로 110℃의 진공하에서 24시간 동안 산가수분해시킨 후 가수분해물을 Whatman No. 1 여과지를 사용하여 여과시켰다. 여액을 rotary evaporator를 사용하여 농축시킨 후 pH 2.2 sodium citrate buffer로 희석하여 BTC 2710 ion exchange resin을 이용한 Biotronic사의 amino acid analyzer로 분석하였다.

결과 및 고찰

Antarctic krill(*Euphasia superba*) 및 보리새우(*Penaeus japonicus*)껍질의 일반성분조성

krill의 성분에 대한 분석결과에 의하면 krill의 성분조성은 보통 연령, 성별에 따라 성분조성이 다르다고 보고되고 있다[38]. Kimura[39]에 의하면 krill의 일반성분은 시료의 차이에 따라 다소 변동은 있으나, 각부생선물일 경우 수분 약 80%, 조단백질 10~14%, 지질 2~5%, chitin 1.5~5%, 당질 1~2%, 회분이 3% 내외라 하고 있다.

Table 3. The composition of antarctic krill (*Euphausia superba*)

Sample	Content (%)					
	Moisture	Lipid	Protein	Ash	Chitin	Others
A	6.00	12.98	58.01	14.32	5.82	2.87
B	4.70	12.00	63.50	11.20	6.00	2.60

A: this experiment, B: by Romo et al.[36]

한편, Romo 등[36]은 건조 raw krill(uncooked krill)의 일반성분과 steam으로 cooking한 cooked krill의 일반성분을 비교하였으며, 그 조성은 서로 약간의 차이를 보이고 있는데 이때 전체적인 성분함량의 차이는 cooking과정 중 soluble한 물질들이 손실되기 때문인 것으로 보고하였다.

본 연구에 사용한 krill powder의 일반성분조성은 Table 3에 나타낸 바와 같이, 수분 6.00%, 지방 12.98%, 단백질 58.01%, ash 14.32%, chitin 5.82%, 기타 2.87%로 나타났다. Romo 등[36]이 연구한 건조 raw uncooked krill의 경우 수분 4.70%, 지방 12.00%, 단백질 63.50%, ash 11.20%, chitin 6.00%, 기타 2.60%로 나타나 각 성분마다 약간의 차이는 보이나 대체로 그 성분조성은 본 연구의 결과와 유사한 것으로 나타나고 있다.

한편 보리새우껍질의 경우 수분 10.35%, 지방 16.70%, 단백질 19.81%, ash 31.37%, chitin 21.45%, 기타 0.28%로 나타나 krill powder에 비하여 수분, 회분 그리고 chitin의 함량이 상대적으로 많았으며, 단백질함량은 비교적 적은 것으로 나타났다.

Chitin의 추출방법의 선정

일반적으로 갑각류의 껍질상에 존재하는 chitin의 존재형태는 단백질 및 탄산칼슘과 상하세 결합되어 있는 형태이므로 그로부터 chitin을 분리하기 위해서는 주로 두 가지의 주요한 과정, 즉 단백질 분리과정과 탄산칼슘 분리과정을 거쳐야 한다고 알려져 있다[4,40].

Chitin을 추출하는 전형적인 방법으로 Hackman[34]은 바닷가재껍질로부터 chitin을 추출하는 과정에서 탄산칼슘을 제거하기 위하여 2 N HCl을 사용하였으며, 단백질을 제거하기 위하여 1 N NaOH를 사용하여 100℃에서 12시간 처리하였다. 그러나 chitin추출시 강산과 강알칼리로 장시간 처리하게 되면 분자량 감소 및 탈아세틸화가 일어나 질이 좋은 chitin을 얻지 못하기 때문에 chitin의 가수분해율을 낮춤으로써 기능성이 높은 chitin을 추출할 수 있는 방법에 대하여 많은 연구가 있었다[6,29,41]. 즉, 단백질제거를 위하여 papain이나 trypsin을 이용한 효소처리법[29], urea 첨가법[6]이 제시되었으며, mineral제거를 위해서는 EDTA를 사용할 수 있다는 것이 제시되었다[41].

그러나 산업적 이용성의 면에서 볼 때는 산과 알칼리로 처리함으로써 chitin을 추출하는 방법이 효율성이 크다고 하고 있다[4,40,42].

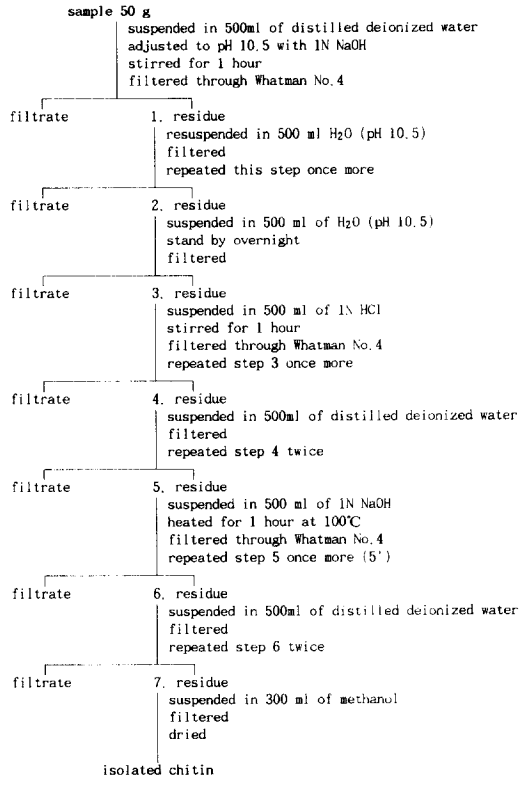

Fig. 1. Flowsheet for isolation and purification of chitin

한편, Romo 등[36]은 uncooked krill waste protein의 용해도에 대한 영향인자에 관하여 연구하였는데, pH 10.5에서 단백질의 용해도가 최대에 달하는 것으로 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 chitin을 추출하는 과정에서 chitin 분자의 가수분해를 최소화하기 위하여 묽은 산 및 알칼리를 사용하였으며, 건조상태에 있는 시료에 대하여 단백질의 용해도를 최대화할 수 있도록 Romo 등의 방법을 이용하였다(Fig. 1).

Fig. 1에 나타낸 flowsheet는 각 단계마다 수차에 걸친 성성적, 정량적 분석을 행하여 최종적으로 확정시킨 것으로 크게 swelling step, demineralization step, deproteinization step, decolorization step으로 나누고 있다.

Swelling step에서는 위와 같이 Romo 등의 방법을 이용하여 시료를 팽윤시켰으며, demineralization step과 deproteinization step은 Hackman의 방법을 수정한 것으로 mineral을 제거하기 위하여 상온에서 묽은 산인 1 N HCl을 사용하였고, 단백질을 제거하기 위하여 100℃에서 묽은 알칼리인 1 N NaOH를 사용하여 1시간 처리하였다. 또한 decolorization step에서는 methanol을 사용하여 색소의 제거 및 건조의 용이성을 기대하였다.

본 연구에서 추출한 chitin을 사진촬영하여 Fig. 2에

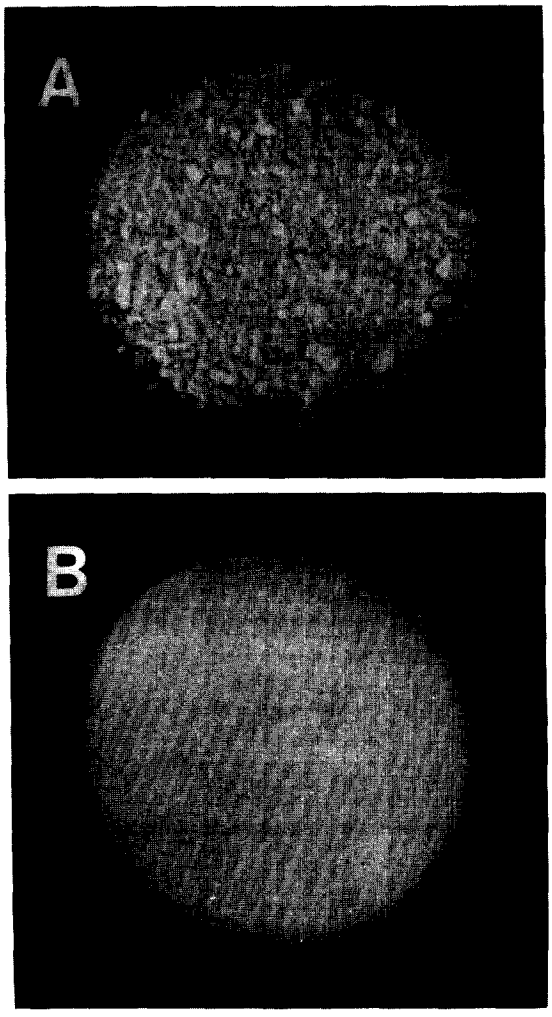

Fig. 2. The photograph of chitin obtained from krill and kuruma prawn
A; Chitin obtained from krill, B; Chitin obtained from kuruma prawn

나타내었다. 보리새우로부터 추출한 chitin의 경우 순백색을 나타내나 krill로부터 추출한 chitin의 경우는 옅은 갈색을 띤 백색을 나타내고 있다. Krill의 경우 생체를 건조하여 분말화하는 과정에서 갈색화가 상당히 진행되고 있었으므로 미량의 갈색색소의 잔존을 피할 수 없었으나 보리새우의 경우에는 껍질을 출발물질로 하고 있으므로 만족스러운 결과를 얻을 수 있었다.

Fig. 3은 추출한 chitin을 전자현미경으로 관찰, 사진촬영한 것으로 추출된 chitin이 fibrous한 형태로 존재하고 있음을 보여주고 있다.

Chitin 추출시의 단백질 yield

Chitin 추출시 제거되는 단백질양을 측정함으로써 전체적인 수율을 계산하였으며, 제거된 단백질의 재회수성을 검토하였다.

Fig. 3. Electron micrograph of chitin obtained from krill

Table 4. The composition of kuruma prawn (*Penaeus japonicus*) shell

Content (%)					
Moisture	Lipid	Protein	Ash	Chitin	Others
10.35	16.70	19.81	31.37	21.45	0.28

Table 5는 krill과 보리새우로부터 chitin을 추출하는 과정에서 제거되는 단백질양을 나타낸 것으로 같은 step에서 나온 단백질양에는 차이가 있으나, 각 step별 제거도에 있어서는 모두 같은 양상으로 나타났다. 즉, krill과 보리새우 모두 1 N NaOH에 의한 가열처리과정에서 각각 40.26%, 8.47%로 가장 많은 단백질이 제거되었으며, 그 다음은 step 1과 step 2의 swelling 단계에서 각각 7.45%, 3.52%가 제거된 것으로 나타났다.

알칼리처리에 의해 제거된 단백질은 다시 회수하여 이용할 수 있다고 알려져 있다[4,43]. 즉, 여과시켜 나온 단백질용액을 원심분리하여 불순물을 제거하고 1 N HCl을 사용하여 pH를 약 4.5로 낮추면 침전된 단백질을 회수할 수 있다[4].

krill의 경우, krill 전체를 시료로 하여 chitin을 추출하였기 때문에 비교적 많은 양의 단백질을 제거 및 회수할 수 있었다. Krill 단백질의 경우 그 영양성에 있어서 다른 단백질에 뒤떨어지지 않는다는 보고들이 있으며[44,45], 일본에서는 이미 krill 단백질을 이용한 제품이 생산되고 있다고 알려져 있다[46].

Table 5. Protein yield from chitin preparation

Process	Protein, g (yield %)	
	Krill	Kruma prawn
step 1 & 2	3.73(7.45)	1.76(3.52)
step 3	0.26(0.51)	0.50(0.10)
step 4	0.17(0.35)	0.01(0.01)
step 5	20.13(40.26)	4.24(8.47)
step 5′	0.32(0.64)	0.21(0.43)
step 6	0.03(0.06)	0.01(0.01)
total	24.64(49.27)	6.73(12.54)

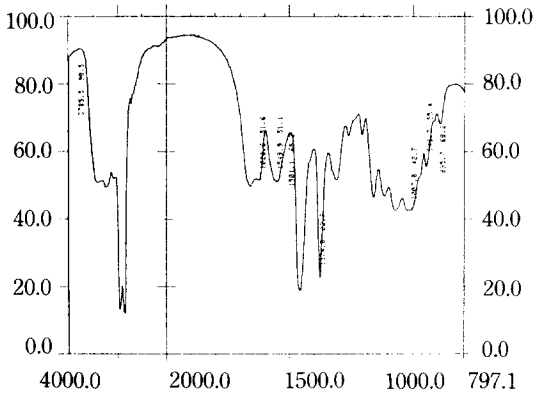

Fig. 4. IR spectrum of Sigma C 3641 chitin

한편, 보리새우의 경우는 krill의 경우보다는 단백질 회수량은 적으나(Table 5) 이 결과는 새우껍질의 단백질함량이 상대적으로 낮기 때문인 것으로 해석되었다. 그러나 대량의 산업폐기물로부터 chitin을 추출함과 동시에 잔존단백질을 재회수할 수 있다는 점은 주목되어야 한다고 생각되었다.

Chitin의 IR 특성비교

본 연구에서 추출한 chitin을 확인하기 위해서 Sigma사에서 구입한 chitin과 IR spectrum을 비교하였으며, 아세틸화도의 정도를 검토하였다.

Fig. 4는 Sigma사의 C 3641 chitin의 IR spectrum이며, Fig. 5와 Fig. 6은 각각 krill과 보리새우로부터 추출한 chitin의 IR spectrum들이다.

IR spectrum은 chitin의 물리화학적 특성을 연구하는데 유용하다고 알려져 있다[47,48]. Sannan 등[47]은 IR spectrum을 이용하여 chitin의 아세틸화도를 측정하였으며, Muzzarelli 등[48]은 IR과 X-ray diffraction을 이용하여 chitin의 유도체인 chitosan의 성질을 연구하였다.

Fig. 4, 5 및 6에 나타낸 바와 같이, Sigma C 3641 chitin과 krill로부터 추출한 chitin 그리고 보리새우로부터 추출한 chitin 모두 매우 유사한 peak 양상을 보이고 있다. 각 spectrum에서 1450 cm^{-1} 근처의 peak는 C-N

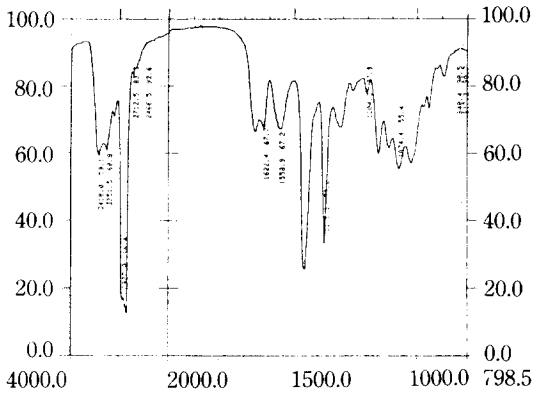

Fig. 5. IR spectrum of chitin obtained from krill

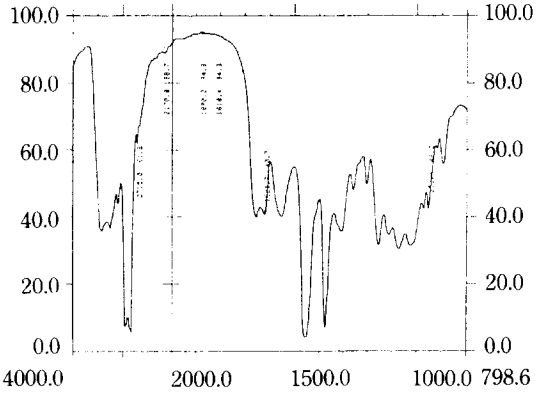

Fig. 6. IR spectrum of chitin obtained from kuruma prawn

group의 peak로 보여지며, 1650, 1550 cm^{-1} 근처의 peak들은 각각 amide I과 amide II의 peak로 보여지는데, amide I의 peak가 2개로 나타나는 것은 polymer상에서의 C=O group들 중 일부가 수소결합을 하고 있기 때문인 것으로 해석되었다. 이상의 결과들은 chitin의 IR spectrum이 출처에 따라 조금씩 차이는 있으나 대체로 3263, 1655, 1620과 1550 cm^{-1} 근처에서 공통적인 peak가 나타난다고 한 Feofilova 등[49]의 보고와 일치하고 있다.

한편 탈아세틸화된 chitin, 즉 chitosan의 경우에는 1620과 1550 cm^{-1}의 peak들이 사라지고 1600 cm^{-1} 부근에서 하나의 broad한 peak가 나타난다고 알려져 있는데[50], 본 spectrum상에는 그 2개의 peak들이 뚜렷하게 분리되어 있는 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서 얻어진 chitin의 경우 추출과정에서 탈아세틸화가 거의 일어나지 않아 비교적 아세틸화도가 높다는 것을 시사하고 있다.

고유점도 및 분자량측정

Chitin을 산업적으로 이용하는 경우 각각의 상품의

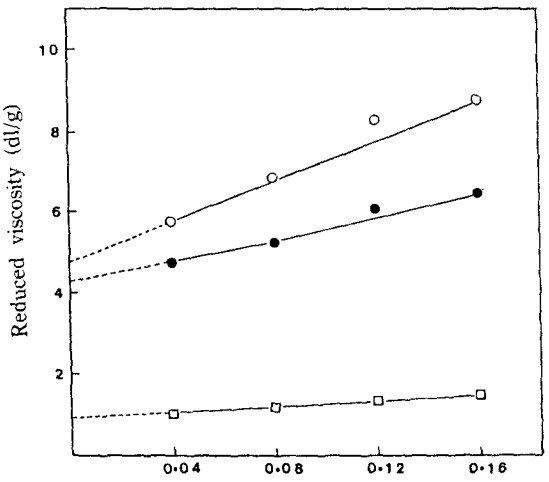

Fig. 7. Extrapolation to zero concentration of the reduced viscosity of chitin solubilized in formic acid
●—●; Chitin obtained from krill, ○—○; Chitin obtained from kuruma prawn, □—□; Sigma C 3641 chitin

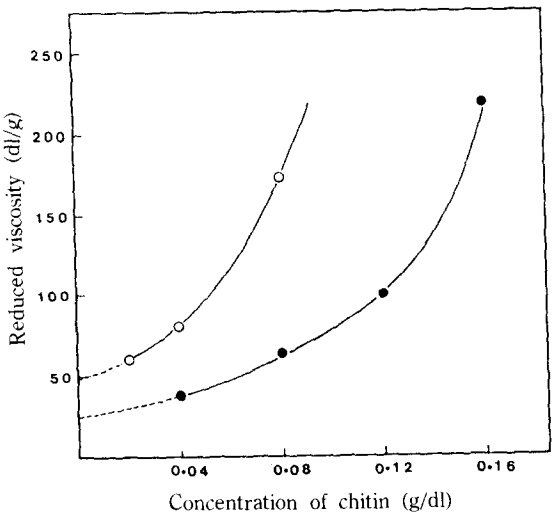

Fig. 8. Extrapolation to zero concentration of the reduced viscosity of chitin solubilized in 5% LiCl-dimethylacetamide
●—●; Chitin obtained from krill, ○—○; Chitin obtained from kuruma prawn

특성에 따라 점성 및 중합도나 분자량분포는 중요한 인자로 되고 있다[51].

일반적으로 용액상에서 polymer의 고유점도의 크기는 그 용질의 고유한 특성을 나타내는 성질로서, 특정 용매에 대한 용질의 고유점도를 알면 다음과 같은 관계식에 의해 분자량을 구할 수 있다고 알려져 있다[52,65].

$$[\eta]=K\times M_w^a$$

여기서 K와 a는 상수이며 온도, 사용된 용질과 용매에 따라 서로 다른 값을 갖는다.

한편, Lee[53]는 formic acid를 용매로 한 chitin의 경우에 $K=8.93\times10^{-4}$, $a=0.71$을 구하였다.

따라서 본 연구에서는 formic acid를 용매로 하여 고유점도를 구하고, 이로부터 위의 식을 이용하여 분자량을 구하였으며, 그와 아울러 chitin의 가장 강력한 용매로 알려져 있는 5% LiCl-dimethylacetamide(5% LiCl-DMAc)[54]을 용매로 사용하여 고유점도를 구함과 동시에 용액상에서의 chitin분자의 거동을 검색하였다.

각 용매에 대한 chitin의 고유점도는, formic acid를 용매로 사용한 경우 Fig. 7과 같고 5% LiCl-dimethylacetamide (5% LiCl-DMAc)를 용매로 사용한 경우는 Fig. 8과 같다.

formic acid를 사용한 경우 krill로부터 추출한 chitin, 보리새우로부터 추출한 chitin, 그리고 Sigma사의 C 3641 chitin의 고유점도가 각각 4.30, 4.77, 0.95(g/dl)로 보리새우로부터 추출한 chitin의 고유점도가 가장 큰 것으로 나타났다.

또한 위의 식을 이용하여 분자량을 구한 결과 krill로부터 추출한 chitin, 보리새우로부터 추출한 chitin, 그리고 Sigma C 3641의 경우 각각 1.56×10^5, 1.78×10^5, 0.18×10^5이었다. 따라서 본 연구에서 선정된 chitin 추출방법으로 추출된 chitin의 분자량은 Sigma C 3641보다 컸으며, krill에서 추출한 chitin보다 보리새우에서 추출한 chitin의 분자량이 더 큰 것으로 나타났다. 본 연구에서 구한 고유점도의 크기는 Lee에 의해 구해진 고유점도보다는 작은 값으로 나타났으나 일반적으로, 산업적으로 이용되는 chitin의 점도 및 분자량은 천연상의 chitin의 약 10~50% 수준이라고 보고되고 있다[42].

한편 5% LiCl-DMAc를 사용한 경우의 고유점도도 krill로부터 추출한 chitin의 경우 25(g/dl), 보리새우로부터 추출한 chitin의 경우 48(g/dl)로 나타나 krill에서 추출한 chitin보다 보리새우에서 추출한 chitin의 고유점도가 더 큰 것으로 나타났다. 이와 같은 사실은 krill에서 추출한 chitin 보다 보리새우에서 추출한 chitin의 분자량이 더 크다는 것을 시사하고 있다. 한편, 5% LiCl-dimethylacetamide chitin 용액의 경우 환원점도는 chitin의 농도에 따라 non-linear한 의존성을 보여주고 있는데 이것은 어느 농도 이상에 가서 생기는 분자간 interaction에 기인한 것이라고 한 Muzzarelli[55]의 보고와 일치하고 있다.

Chitin의 산가수분해 특성

식품첨가제로 유용한 microcrystalline chitin(MCC)를 생산하거나 lysozyme의 기질로써 이용하기 위하여서는 chitin을 부분적으로 가수분해시켜야 한다고 알려져 있다[6,56]. 또한 chitin의 산가수분해과정은 chitin의 출처에

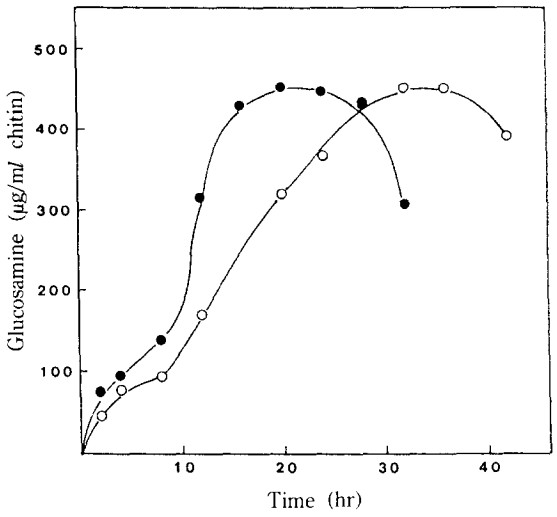

Fig. 9. Hydrolysis of chitin obtained from krill and kuruma prawn

●—●; Chitin obtained from krill, ○—○; Chitin obtained from kuruma prawn

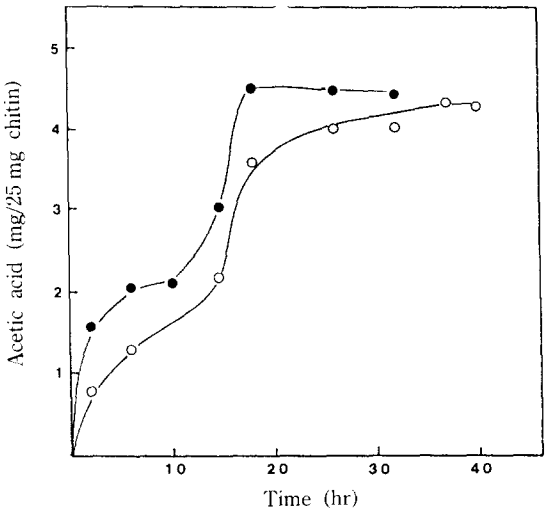

Fig. 10. Deacetylation of chitin obtained from krill and kuruma prawn

●—●; Chitin obtained from krill, ○—○; Chitin obtained from kuruma prawn

따라 차이가 있다고 보고되고 있다[57-59].

이와 관련하여 본 연구에서는 추출한 chitin을 산가수분해시킨 후 생성되는 glucosamine 및 acetic acid양을 측정하여 chitin의 가수분해특성을 알아보았다.

Fig. 9은 4 M HCl로 100℃에서 chitin을 가수분해시켰을 때 생성되는 glucosamine양을 경시적으로 나타낸 것이다. 생성된 glucosamine양의 최대치는 서로 유사하나 가수분해정도는 krill로부터 추출한 chitin의 경우 약 20시간 후에, 그리고 보리새우로부터 추출한 chitin의 경우 약 35시간 후에 최대에 달하였다.

Wieckowaska[57]와 Wu 등[58]은 chitin을 가수분해시킨 후, glucosamine양을 측정함으로써 chitin을 정량하였으나, Holan 등[59]이 보여준 chitin의 산가수분해양상은 본 연구와 가수분해조건이 같음에도 불구하고 가수분해정도는 약 10시간 후에 최대에 달하였다. 이 결과는 동물의 종류 등 재료의 출처에 따라 가수분해상태가 다르다는 것을 시사하고 있다.

한편 chitin의 가수분해에 의한 생성 glucosamine양의 최대치는 예상보다 낮았으나 가수분해과정 중 glucosamine의 생성과 glucosamine의 분해가 동시에 일어나기 때문에 glucosamine의 생성량은 60%를 초과하지 않는다는 Yamaoka 등[60]의 보고를 유의할 필요가 있다고 생각되었다.

Fig. 10은 4 M HCl로 100℃에서 chitin을 산가수분해시켰을 때 유리되어 나오는 acetic acid 양을 경시적으로 나타낸 것이다.

유리 acetic acid양의 최대치는 서로 유사하였으나 최대치에 도달하는 시간은 krill로부터 추출한 chitin의 경우 약 20시간, 그리고 보리새우로부터 추출한 chitin의 경우 약 35시간으로 나타나 서로 차이를 보이고 있다. 한편, 유리되어 나오는 acetic acid양을 이용하여 chitin을 정량한 Holan 등[59]의 보고에 의하면 본 연구와 가수분해조건이 같음에도 불구하고 약 10시간으로 최대가수분해율에 이르고 있다. 이 결과는 chitin의 출처 및 분리정제방법에 따라 deacetylation 정도는 차이가 있을 수 있다는 점을 시사하고 있다.

Table 6. Amino acid composition of chitin obtained from krill and kuruma prawn

Amino acid	Content of amino acid ($\times 10^{-4}$ mg/g)	
	Krill	Kuruma prawn
Asp	0.58	1.40
Thr	0.37	0.91
Ser	0.35	0.90
Gly	0.86	1.62
Ala	0.95	1.57
Met	279.32	463.61
Iso	6.26	3.40
Leu	–	1.98
Tyr	1.33	2.73
Phe	–	5.47

Chitin의 amino acid 분석

chitin을 추출하는 과정에서 알칼리로 장시간 동안 처리하여도 소량의 amino acid는 chitin속에 잔존해 있으며, 그의 종류 및 함량은 chitin의 물리적, 화학적 성질에 영향을 준다고 알려져 있다[29]. 또한 이러한 amino acid의 종류 및 함량은 chitin의 출처 및 추출방법에 따라

Table 7. Some physicochemical characteristics of chitin obtained from krill and kuruma prawn

	Krill	Kuruma prawn
chitin extracted	2.96g (5.92%)	10.79g (21.58%)
nitrogen(%)	6.35*	6.64*
moisture(%)	7.75	10.17
ash(%)	0.4	0.4
molecular weight	1.56×10^5 in formic acid	1.78×10^5 in formic acid
degree of polymerization	750	850

*nitrogen content free from moisture and ash

다르다고 알려져 있다[6,29,55]. 따라서 본 연구에서 추출한 chitin을 amino acid 분석하여, 추출 후 chitin에 잔존해 있는 amino acid의 종류 및 함량을 알아보았다.

Hackman[61]은 곤충, 게, 오징어로부터 추출한 chitin의 경우 aspartic acid와 histidine이 많이 남아 있었다고 보고하였으며, Karlson 등[62]은 참게(horseshe carb)의 껍질은 mild한 알칼리로 처리한 후에도 glycine과 alanine이 많이 잔존하였다고 보고하였다. 또한 Brine 등[29]은 aspartic acid, serine, glycine이 많이 있으며 이것은 chitin과 protein간의 공유결합과 관계가 있을 것이라고 보고하였다.

Table 6에 나타낸 바와 같이, krill과 보리새우로부터 추출한 chitin에는 aspartic acid, serine과 glycine도 존재하나 methionine이 가장 많은 것으로 나타나고 있다.

이상의 결과들을 종합하여 본 연구에서의 추출방법으로 얻어진 chitin의 특성을 Table 7에 나타내었다. 건조 칼물질에 50g으로 하였을 때 krill에서 추출한 chitin의 양은 2.96g이고 보리새우에서 추출한 chitin의 양은 10.79g으로 각각 5.92%, 21.58%에 해당하며, 이것은 Table 3 및 4의 일반성분조성에서와 유사한 것으로 나타났다.

한편 질소함량은 krill에서 추출한 chitin의 경우 6.35%, 보리새우에서 추출한 경우 6.64%로 나타났는데 이 값은 수분과 회분이 없는 상태를 계산해서 구한 것으로 이론치인 6.89%보다는 약간 작게 나타났다. 일반적으로 chitin의 질소함량은 6~7%인 것으로 알려져 있다[42].

또한 ash함량은 모두 0.4%로 나타나 추출과정 중 대부분의 ash가 제거되었음을 시사하며, 이것은 Broussignac[63]이 추출한 경우의 0.62%보다 낮게 나타났다. 수분함량은 krill에서 추출한 경우 7.75%, 보리새우에서 추출한 경우 10.17%로 나타났으며 이 값은 Mathur 등[42]이 보고한 2~10%에 유사한 것으로 나타났다.

한편 chitin의 분자량은 krill에서 추출한 chitin의 경우 1.56×10^5, 보리새우에서 추출한 경우 1.78×10^5으로 나타났고, 중합도는 각각 750, 850 정도로 나타나 보리새우에서 추출한 chitin이 krill에서 추출한 chitin보다 분자량 및 중합도가 더 큰 것으로 나타났다.

요 약

폐기물로부터 얻어지는 보리새우(*Penaeus japonicus*) 껍질과 단백질이용의 전망성이 좋은 antarctic krill(*Euphasis superba*)을 시료로 하여, chitin의 산업적 이용을 위한 기초연구로서, 보다 효율적인 chitin의 추출조건을 설정하고, 새로운 방법으로 추출한 chitin들의 물리적, 화학적 성질들을 비교하였다. 본 연구에서 선정된 추출방법으로 chitin을 추출한 결과 보리새우의 껍질을 출발물질로 한 정제 chitin은 순백색의 powder로 얻어졌으며, 정제 chitin의 질소함량 및 ash함량은 각각 6.64%와 0.4%로 나타났다. krill의 chitin의 경우에는 6.35%의 질소함량과 0.4%의 ash함량을 나타내었다. 고유점도를 측정하여 formic acid 용액계에서 구한 정제 chitin의 분자량은 krill의 경우 1.56×10^5, 보리새우의 경우 1.78×10^5, Sigma C 3641이 0.18×10^5으로 나타났으며, N-acetylglucosamine의 중합도는 krill의 경우 약 750, 보리새우의 경우 약 850이었다. 본 연구의 추출방법으로 정제된 chitin은 비교적 아세틸화도가 큰 것으로 확인되었고, 추출 후의 아미노산 잔존량 중에서 methionine이 많이 남아 있는 것이 특징으로 나타났다.

감사의 말

본 연구는 1990학년도 연세대학교 학술연구비의 지원에 의하여 이루어진 것으로 깊은 감사를 드립니다.

문 헌

1. Muzzarelli, R.A.A.: *Natural Chelating Polymers* Pergamon Press, Oxford, p.108(1973)
2. 平野茂博：食品用素材：月刊フードケミカル, 食品用素材として キチン, キトサン研究の現狀と將來性. 食品化學新聞社, p.1(1987)
3. 戶倉清一：最後のバイオマス キチン, キトサン. 技報堂, pp.65-74(1988)
4. Knorr, D.: Use of chitinous polymers in food. *Food Technol.*, Volume, 85(1984)
5. Revah-Moiseev, S. and Carrod, A.: Conversion of enzymatic hydrolysate of shellfish waste chitin to single cell protein. *Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 1067(1981)
6. Austin, P.R., Brine, C.J., Castle, J.E. and Zikakis, J.P.: Chitin: New facets of research. *Science*, **212**, 749 (1981)
7. Landes, D.R. and Bough, W.A.: Effects of chtosan-a coagulating agent for food processing wastes-in the diet of rats on growth and liver and blood consumption. Bull. *Environ. Contam. Toxicol.*, **15**, 555(1976)
8. Bough, W.A. and Landes, D.R.: Recovery and nutritional evaluation of proteinaceous solids separated from whey by coagulation with chitosan. *J. Dairy Sci.*, **59**, 1874(1976)
9. Nagyvary, J.J., Falk, J.D., Hill, M.L., Schmidt, M.L.,

Wilkins, A.K. and Bradbury, E.L.: The hypolipidemic activity of chitosan and other polysaccharides in rats. *Nutrition Reports Int.*, 20, 677(1979)
10. Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., Fukuda, N. and Hasegawa, Y.: A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 787(1980)
11. Yasuyuki, T., Noriaki, N. and Kenzo, S.: Isolation and identification of chitinolytic bacteria. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 59(3), 253(1985)
12. Manuel, E.Y. and Richard, L.B.: Kinetics of chitinase production I. Chitin hydrolysis. *Biotechnol. Bioeng.*, 27, 769(1985)
13. Manuel, E.Y. and Richard, L.B.: Kinetics of chitinase production II. Relationship between bacterial growth, chitin hydrolysis and enzyme synthesis. *Biotechnol. Bioeng.*, 27, 776(1985)
14. Cosio, I.G., Fisher, R.A. and Carroad, P.A.: Bioconversion of shellfish chitin waste: waste pretreatment, enzyme production, process design and economic analysis. *J. Food Sci.*, 47, 901(1982)
15. Magnolate, D.: A process for deacidifying a coffee extract and the deacidified extract obtained. UK Patent Application GB 2029 688A (1978)
16. Watkins, T.R. and Knorr, D.: In vivo dye-binding of chitin and its effect on gerbil growth and gut function. *Nutrition Reports Int.*, 27, 1161(1983)
17. Muzzarelli, R.A.A.: Biochemical modification of chitin. In "*Insect Intgument*", Ed. H.R. Hepburn Elservier Scientific Publishing Co., Amsterdam, p.46(1976)
18. Kienzle-sterzer, C.A., Rodriguez-Sanchez, D. and Rha, C.: Mechanical properties of chitosan films: Effect of solvent acid. *Macromol. Chem.*, 183, 1353(1982)
19. Kienzle-Sterzer, C.A., Rodriguez-Sanchez, D., Karalekas, D. and Rha, C.: Stress relaxation of a polyelectrolyte network as affected by ionic strength. *Macromolecules*, 15, 631(1982)
20. Vorlop, K.D. and Klein, J.: Formation of spherical chitosan biocatalysts by ionotropic gelation. *Biotechnol. Letters*, 3(1), 9(1981)
21. Schlotzbauer, W.S., Chortyk, O.T. and Austin, P.R.: Pyrolysis of chitin, a potential tobacco extender. *Agri. Food Chem.*, 24, 177(1976)
22. Knorr, D., Wampler, T.P. and Teutunico, R.A.: Formation of pyrazines by chitin pyrolysis. *J. Food Sci.*, 50, 1762(1985)
23. 鈴木茂生：月刊フードケミカル，キチン，キトサンの醫藥への應用-キチン，キトサンおよびそのオリゴ糖の免疫賦活作用について．食品化學新聞社 p.47(1987)
24. 木船肱爾：月刊フードケミカル，キチン，キトサンの生體適合材料としての利用．食品化學新聞社，p.87(1987)
25. 戸倉青一：月刊フードケミカル，キチン，キトサンの生理活性について．食品化學新聞社，p.5(1987)
26. 井上一弘，永井恒司：月刊フードケミカル，キチン，キトサンの徐放性醫藥品製劑への應用．食品化學新聞社，p.54 (1987)
27. 絲井弘志：月刊フードケミカル，食品の低う蝕劑としての特性と利用，食品化學新聞社，p.95(1987)
28. Brine, C.J. and Austin, P.R.: Chitin variability with species and method of preparation. *Comp. Biochem. Physiol.* 69B, 283(1981)
29. Brine, C.J. and Austin, P.R.: Chitin isolates: Species variation in residual amino acids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 70B, 173(1981)
30. 정동효, 장현기, 김명찬, 박상희：최신 식품 분석법, 삼중당 p.84(1973)
31. 정동효, 장현기, 김명찬, 박상희：최신 식품 분석법, 삼중당 p.109(1973)
32. 정동효, 장현기, 김명찬, 박상희：최신 식품 분석법, 삼중당 p.105(1973)
33. 정동효, 장현기, 김명찬, 박상희：최신 식품 분석법, 삼중당 p.141(1973)
34. Hackman, R.H.: Studies on chitin I. Enzymic degradation of chitin and chitin esters. *Aust. J. Biol. Sci.*, 7, 168(1954)
35. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randell, R.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
36. Romo, C.R. and Anderson, C.G.: Determination of optimum parameters for protein isolation from krill(*Euphasia superba*) waste products. *J. Food Sci.*, 44, 1425 (1979)
37. Davidson, E.A.: Analysis of sugars found in mucopolysaccharides. *Methods Enzymol.*, 8, 52(1966)
38. 李應昊：食品으로서의 krill의 利用. 韓水誌 別冊, 33 (1977)
39. 木村 進, オキアミとその利用. 化學と生物, 13(7), 432 (1964)
40. Knorr, D.: Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol.*, January, 114(1991)
41. Foster, A.B., Hackman, R.H.: Application of ethylenediaminetetra acetic acid in the isolation of crustacean chitin. *Nature*, 180, 40(1957)
42. Mather, N.K. and Narang, C.K.: Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. *J. Chem. Edu.*, 67(11), 938(1990)
43. No. H.K., Meyers, S.P. and Lee, K.S.: Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Agric. Food Chem.*, 37(3), 575(1989)
44. Sidhu, G.S., Montgomery, W.A., Holloway, G.L. and Salker, D.M.: Biochemical composition and nutritive value of krill(*Euphsia superba* Dana) *J. Sci. Food Agric.*, 21, 293(1970)
45. Arai, K., Watanable, T. and Kinumaki, T.: Studies on the utilization of antarctic krill, *Euphasia superba* Dana I. Nutritive value by a rat-feeding trial. *Bull. Tokai Reg. Fish Res. Lab.*, 85, 1(1976)
46. 藤井豊：オキアミの利用をめぐる，技術的諸問題-開發現況と今後の課題．食品工業，47(10)，1341(1981)
47. Sannan, T., Kurita, K., Ogura, Y. and Iwakura, Y.: Studies on chitin 7. I.R. spectroscopic determination of degree of deacetylation. *Polymer*, 19, 458(1978)
48. Mussarelli, R.A.A., Ferrero, A. and Pizzoli, M.: Light-scattering, X-ray diffraction, elemental analysis and infrared spectrophotometry characterization of chitosan, a chelating polymer. *Talanta*, 19, 1222(1972)
49. Feofilova, E.P., Tereshina, V.M., Ivanova, N.I., Genei, Ya.V. and Gopenngauz, F.L.: Physicochemical properties of the chitin of crabs and certain microscopic fu-

ngi. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikro biologiya*, **16**(3), 377(1980)
50. Sannan, T., Kurita, K. and Iwakura, Y.: Solubility change by alkaline treatment and film casting. *Die Makromol. Chem.*, **176**, 1191(1975)
51. 月刊フードケミカル, キチン, キトサン商品一覧, 食品化學新聞社, p.135(1987)
52. Flory, P.J.: *Priciples of Polymer Chemistry* Cornell univ. Press, Ithaca, NY., p.87(1953)
53. Lee, V.: Solution and shear properties of chitin and chitosan. *Univ. Microfilms. Ann Arbor*, **74**(29), 446 (1974)
54. Austin, P.R.: Chitin solution. *U.S. Patent* 4,059,457 (1977)
55. Muzzarelli, R.A.A.: "*Chitin*" Pergamon Press, p.60 (1977)
56. Rupley, J.A.: The hydrolysis of chitin by concentrated hydrochloric acid, and preparation of low-molecular-weight substrates for lysozyme. *Biochim. Biophys. Acta*, **83**, 245(1964)
57. Wieckowska, E.: Determination chitin on the basis of glucosamine content. *Chem. Anal.*, **13**, 1311(1968)
58. Wu, L.C. and Stahman, M.A.: Chromatographic estimation of fungal mall in plant materials. *Phytopathology*, **65**, 1032(1975)
59. Holan, J., Votruba, J. and Vlasakova, V.: New method of chitin determination based on deacetylation and gas-liqid chromatographic assay of liberated acetic acid. *J. Chromatography*, **190**, 67(1980)
60. Yamaoka, F., Nagamura, K., Kagei, Y., Yamashita, A., Kondo, Y. and Hirano, S.: Acid degradation of amino-monosaccharides and aminopolysaccharides. *Agic. Biol. Chem.*, **52**(8), 2113(1988)
61. Hackman, R.H.: Studies on chitin IV. The occurrence of complexes in which chitin and protein are covalently linked. *Aust. J. Biol. Sci.*, **13**, 568(1960)
62. Karlson, P., Sekeri, K.E., Richards, A.G. and Richards, P.A.: The amino acid composition of various type of cuticle of *Limulus polyphemus L. Comp. Biochem. Physiol.* **51B**, 323(1969)
63. Broussignac, B.: Chitosan, a natural polymer not well known by the industry. *Chim. Ind. Genie Chim.*, **99**, 1241(1968)
64. Rabek, J.F.: Viscosity measurments for diluted polymers, in *Experimental Methods in Polymer Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, p.126(1980)
65. Rabek, J.F.: The viscosity-average molecular weight, in *Experimental Methods in Polymer Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, p.128(1980)

(1991년 7월 1일 접수)