

게 가공 폐기물로 부터 키틴의 분리

노홍균[†] · 이문이

효성여자대학교 식품공학과

Isolation of Chitin from Crab Shell Waste

Hong-Kyoon No[†] and Mun-Yi Lee

Dept. of Food Science and Technology, Hyosung Women's University, Kyungsan 713-702, Korea

Abstract

Procedures for isolation of chitin have been developed from crab (*Chionoecetes opilio*) shell waste with 26.65% chitin on a dry basis. Optimal conditions for demineralization of crab shell were 1N HCl at ambient temperature for 30min with a solids to solvent ratio of 1 : 15 (w/v). Optimal deproteinization involved treatment with 5% NaOH at 65° C for 1hr with a solids to solvent ratio of 1 : 15 (w/v). Effective decoloration was achieved by bleaching with 0.32% sodium hypochlorite solution for 3min with a solids to solvent ratio of 1 : 10 (w/v). Particular attention was given to characterization of the physicochemical properties of the crab chitin. Chitins, from four different mesh sizes of crab shell, did not show significant differences in nitrogen and ash compositions. Bleaching decreased the viscosity of chitin but did not affect its solubility.

Key words : chitin, crab shell, isolation, characterization

서 론

매년 막대한 양의 산업 폐기물인 게껍질이 우리나라 동해안 지역의 게 가공업체들로부터 배출되고 있다. 이 폐기물은 방치시 주요 환경오염원이 될 수 있으나 경제 적 활용 측면에서는 키틴(chitin)의 우수한 원료로 이용 될 수 있다.

키틴(poly-β-(1-4)-N-acetyl-D-glucosamine)은 셀룰로오스(cellulose)와 유사한 구조를 가지고 있으며¹⁾, 셀룰로오스 다음으로 자연에서 가장 풍부한 다당류이다²⁾. 키틴은 갑각류(게, 새우, 가재 등) 외각의 주요 구성성분이며, 이 외에도 일부 곤충류와 균류, 효모 등 자연계에 널리 분포되어 있다^{3,4)}.

키틴은 키토산(탈아세틸화된 키틴)과 더불어 화학, 의학 및 식품산업 분야 등에 다양한 용도로 이용될 수 있기 때문에 최근 많은 관심을 끌어들였다. 키틴과 키토산의 대표적인 응용 연구분야를 살펴보면, 폐수처리(응고제, 중금속 흡착제, 염료폐수 정화제), 화장품 분야(조발, 크림, 린스 등), 약학 및 의학 분야(항생제, 상

처치료 촉진제, 수술용 봉합사, 콘택트렌즈 등), 효소 고정화 및 정제, 농약(살충제, 살균제) 및 식품(결합제, 안정제, 저칼로리 및 증량제 등)분야 등⁵⁻¹²⁾이 있다.

지금까지 갑각류 폐기물로 부터 키틴을 분리하기 위해 여러 방법들이 개발되어 왔으며^{3,13,14)}, 이들 방법들은 화학적 처리에 그 기초를 두고 있다. 현재 산업적으로 이용되고 있는 키틴은 주로 게나 새우 껍질에서 얻어지며, 전 세계적으로 해마다 생산되는 키틴의 원료인 갑각류와 연체동물의 폐기물 양은 약 1.44×10^6 metric tons에 이르는 것으로 추정되고 있다¹⁵⁾. 우리나라의 경우, 1991년도 갑각류(게 및 새우)의 총생산량은 109,423톤이며, 이중 연근해 어업의 생산량은 106,503톤에 달한다. 연근해 어업의 생산량 중 50%인 53,493톤은 게이 나며머지는 새우인 것으로 보고되었다¹⁶⁾. 따라서, 국내의 수산물 가공업체들로부터 나오는 갑각류 폐기물의 양만도 매년 수만톤에 달하리라 여겨진다.

갑각류 폐기물은 주로 30~40% 단백질과 30~50% 탄산칼슘 및 20~30% 키틴으로 구성되어 있다. 그러나, 이들 비율은 갑각류의 종류와 계절 등에 따라 다르므로¹⁷⁾ 이에 따른 키틴 분리조건도 다르며, 따라서 분리된 키틴의 물리화학적 특성 및 기능성도 갑각류의

[†]To whom all correspondence should be addressed

종류와 제조방법에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 왔다¹⁰.

본 연구에서는 게 가공업체들로부터 나오는 폐기물을 부가가치가 높은 키틴 자원으로 활용코자, 이들 폐기물로부터 키틴을 효율적으로 분리할 수 있는 조건을 설정하고 이로 부터 제조된 키틴의 물리화학적 성질을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

키틴을 분리하기 위하여 사용된 원료는 대게 (*Chionoecetes opilio*) 껍질로 경북 영덕군에 소재하고 있는 게 가공업체로부터 수집되었다. 수집된 폐기물은 즉시 물로 세척하여 잔류 단백질 및 불순물을 제거하고, 80°C에서 3시간 건조시켰다. 건조된 게껍질은 Wiley mill (Standard Model No. 3, Arthur H. Thomas Co., PA)로 분쇄한 후 10, 20, 40, 80mesh의 체로 쳐서 입자의 크기별로 구분하였으며, 이들을 각각 시료병에 담아 실온에 보관하면서 사용하였다.

키틴의 분리

게껍질로부터 키틴을 효율적으로 분리하기 위하여 No 등¹⁴의 방법을 근거로 탈회분, 탈단백질 및 탈색소에 관련된 여러가지 요소들을 검토하였으며, 재현성 있는 결과를 얻기 위해서 20~40mesh 사이의 입자만을 사용하였다.

탈회분은 원료중량의 10배 혹은 15배에 해당하는 1N HCl용액을 시료에 가하여 실온에서 각각 0.5~3시간 동안 교반시켰다. 이어서 Whatman No. 4 여과지를 사용하여 진공여과한 후, 잔사를 물로 충분히 수세하고 증류수로 다시 세척한 후 과잉의 수분을 제거하기 위하여 진공여과시켰다.

이어서 탈단백질은 원료중량의 15배에 해당하는 NaOH(3%, 4%, 5%)용액을 가하여 45, 65 및 100°C에서 각각 1~4시간 동안 교반한 후, 상기와 같은 방법으로 수세, 여과하였다.

탈회분, 탈단백질 후 잔류 색소를 제거하기 위해서 여러가지 탈색 방법들^{14, 18-23}에 따라 실험하였으며, 탈색된 키틴은 상기와 같이 수세, 여과한 후 60°C에서 4시간 건조시켰다.

최적 조건은 탈회분과 탈단백질화 후 측정된 잔류 회분과 질소 함량에 근거하였으며, 키틴을 분리하는 최적공정은 Fig. 1과 같다.

일반성분 분석

수분, 회분 및 지방 함량은 AOAC²⁴의 표준방법에 따라 정량하였다. 단백질 함량(N×6.25)은 Kjeltec Auto 1030 Analyzer (Tecator, Sweden)를 사용하여 질소를 측정 후 산출하였다.

키틴 및 키틴질소 함량

키틴 및 키틴질소 함량은 Black과 Schwartz²⁵의 방법에 따라 정량하였다. 키틴 함량은 시료 2g을 100°C의 oil bath상에서 100ml의 1N HCl과 5% NaOH로 각각 1시간씩 처리한 후 아세톤으로 세척하고 105°C에서 항량이 될 때 까지 건조시켜 무게를 달았다. 건조된 시료를 550°C에서 회화시킨 후 그 중량 감소를 키틴 함량으로 나타내었다.

키틴질소 함량은 상기의 방법에 따라 탈회분, 탈단백질 및 아세톤으로 세척한 후 얻어진 건조 키틴으로부터 Kjeltec Auto 1030 Analyzer (Tecator, Sweden)를 사용하여 측정하였다.

Carotenoids 함량

게껍질로부터 carotenoids의 추출은 Lee²⁶의 방법을 수정하여 행하였다. 즉, 시료 약 0.5g을 담은 시험판에서 Polytron PT 1200 homogenizer (Kinematica AG, Switzerland)를 사용하여 각각 5ml의 2-propanol : chloroform (1 : 1, v/v)으로 3분씩 3회 추출하였다. 혼합액을

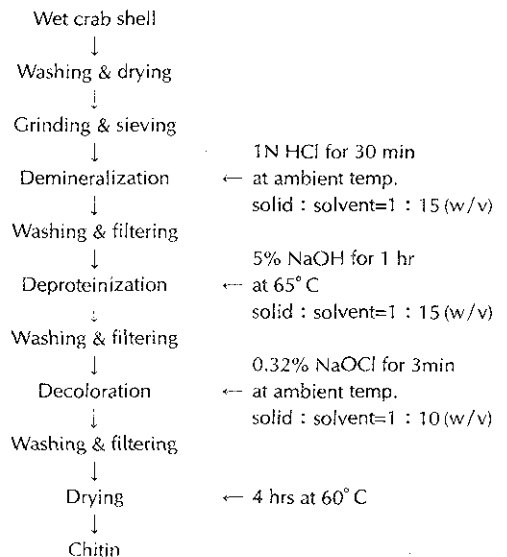


Fig. 1. Overall process for preparation of chitin from crab shell.

여과한 후, rotary evaporator로 증발시키고 잔류 carotenoids를 일정량의 아세톤에 다시 녹여 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다. 총 carotenoids 함량은 extinction coefficient $E(1\%, 1\text{cm})=1900^{27}$ 과 Kelly와 Harmon²⁸의 공식을 이용해서 계산하였다.

Color 측정

색깔은 Minolta Chroma Meter CR-200 (Minolta camera Co. Ltd., Osaka, Japan)을 이용하여 측정하였으며 그 결과는 CIE-1976 L*, a*, b* 값으로 나타내었다. 여기서 L*은 lightness, a*는 redness, b*는 yellowness를 나타낸다.

점도

점도는 5% lithium chloride (LiCl)를 함유한 N,N-dimethylacetamide (DMAc)용액 (DMAc-5% LiCl)에 키틴을 0.1% 농도로 첨가하여 실온에서 1.5시간 동안 교반한 후 Brookfield viscometer (Model RVT, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Stoughton, MA)를 사용하여 측정하였다. 키틴의 점도는 20°C에서 spindle No. 1으로 5, 10, 20, 50 및 100rpm에서 각각 측정한 값을 평균하여 centipoise (cP)로 나타내었다.

용해도

키틴의 용해도는 Rutherford와 Austin²⁹의 방법에 따라, 약 0.25g의 키틴을 50ml의 DMAc-5% LiCl 용액에서 1.5시간 동안 실온에서 교반하여 용해시킨 후 5,000 × g에서 30분간 원심분리하여 불용성 물질을 제거하였다. 상정액에 용해된 키틴은 아세톤 100ml를 가하여 침전시킨 후, 원심분리 (5,000 × g, 30min)하여 회수하였다. 회수된 키틴은 물로 충분히 세척하고 60~90ml의 아세톤으로 다시 세척한 후 건조시켜 무게를 측정하여 최초 키틴의 무게에 대한 % 용해도를 나타내었다.

Bulk density

Anderson 등³¹의 방법에 따라, 20~40mesh 사이와 100mesh를 통과한 키틴 분말 일정량을 눈금이 그려진 실린더에 넣고, 1분 동안 vortex 상에서 진동시킨 후 부피를 측정하여 g/ml로 표시하였다.

IR 측정

IR spectrum은 Sannan 등³²의 방법에 따라 KBr disc를 만들어 IR spectrophotometer (Polaris FT-IR, Mattson Co., USA)로 측정하였다.

통계처리

Data는 2반복 실험 평균치로 표시하였으며, 그 결과의 유의성은 ANOVA test, data 간의 유의성은 Duncan's multiple range test에 의하였다.

결과 및 고찰

대게껍질의 성분조성

대게껍질의 일반성분은 Table 1과 같이, 단백질 29.19%, 지방 1.35%, 회분 40.60%이며 키틴은 26.65%로 이는 대게껍질이 키틴의 우수한 원료임을 잘 나타내고 있다. 조 등²⁹에 의하면, 효소로 게살 정미성분을 분해 추출하고 남은 찌꺼기의 일반성분은 단백질 15.82%, 지방 3.03%, 회분 65.24%, 키틴 15.8%로, 본 연구에서 사용된 대게껍질에 비해 단백질 및 키틴 함량이 낮은 반면 회분함량은 높았다. 갑각류(게, 새우, 바다가재 및 crawfish) 껍질은 주로 단백질 30~40%, 회분(대부분 탄산칼슘) 30~50% 및 키틴 20~30%로 구성되어 있으며, 이들 비율은 갑각류의 종류와 수확 계절에 따라 차이가 있는 것으로 알려져있다¹⁷.

한편, 게껍질의 붉은 색은 carotenoids 색소로, 본 연구에서 2-propanol : chloroform으로 추출할 수 있는 carotenoids 함량은 8.9ppm이었으며 용매 추출 후에도 상당량의 색소는 여전히 게껍질에 잔존하였다. 따라서, 기존 상품과 유사한 백색의 키틴 제품을 얻기 위해서는 적절한 탈색공정이 요구되었다.

키틴의 분리

탈회분

탈회분은 원료중량의 15배에 해당하는 1N HCl로 실온에서 30분간 교반함으로써 가장 효율적으로 이루어졌다. 원료중량의 10배에 해당하는 1N HCl을 가하여 30분간 처리했을 때 회분 함량은 2.38%를 나타냈으며 반응시간이 3시간 까지 연장되어도 더 이상 감소

Table 1. Chemical composition of crab shell

Composition	Value*
Crude protein (%)	29.19
Fat (%)	1.35
Ash (%)	40.60
Chitin (%)	26.65
Chitin nitrogen (%)	6.41
Extractable carotenoids (ppm)	8.90

*Average of duplicate determinations. All values are expressed as a dry basis

되지 않았으나, 원료중량의 15배에 달하는 1N HCl로 30분 처리했을 때의 회분함량은 0.10% 정도로 거의 제거되었다(Fig. 2). 이는 효율적인 탈회분을 위해서는 원료내의 minerals과 충분히 반응할 수 있는 적절한 양의 산이 공급되어야 함을 시사해 주고 있다^{11,12}. 본 연구 결과는 No 등¹⁴이 crawfish 껍질에서 탈회분시 얻은 최적조건과 일치하였다. 한편, 조 등¹⁵은 꽃게껍질을 탈회분시 원료중량의 15배에 해당하는 1N HCl과 2N HCl로 실온에서 30분 처리했을 때 회분함량이 각각 1.51%, 1.07%를 나타냈고, 2N HCl로 3시간 처리했을 때 0.30%의 회분이 잔존하였다고 보고하였다.

탈단백질

최적 탈단백질 조건은 Table 1에서 키틴질소의 함량이 6.41%를 나타내므로, 회분과 단백질을 제거시킨 후 측정된 조키틴(탈색전 키틴)의 질소함량이 이와 유사할 때 최적조건으로 간주하였다.

탈단백질은 탈회분된 시료에 원료 중량의 15배에 해당하는 5% NaOH용액을 가하여 65°C에서 1시간 동안 교반함으로써 가장 효율적으로 이루어졌다. 탈단백질시 알칼리 농도와 추출 온도 및 시간이 탈회분된 시료의 질소 함량에 미치는 효과는 Table 2와 같다. 추출 온도 45°C에서는 추출시간과 NaOH 농도가 증가함에 따라 질소함량은 감소하는 경향이었으나, 전반적으로 키틴의 질소함량 6.41% 보다는 높았다. 반면, 65°C에서는 3% NaOH로 3시간, 4% NaOH로 2시간, 혹은 5% NaOH로 1시간 각각 처리함으로써 대략 질소함량 6.41%에 근접하였으며, 이 후 처리시간과 온도가 증가하더라도 질소함량에는 큰 변화가 없었다. 반응 온도 65°C에서, 상기의 세가지 탈단백질 추출조건에 따른

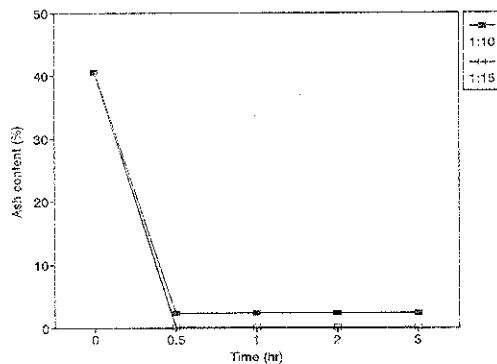


Fig. 2. Effect of solid to solvent (1N HCl) ratios and extraction times on reduction of ash content in crab shell at ambient temperature.

조키틴의 점도 및 용해도를 측정해 비교해 본 결과(Table 3), 별 차이점이 없었다. 따라서, 본 연구에서는 탈단백질 시간과 반응온도를 최소화할 수 있는 65°C에서 5% NaOH로 1시간 추출함을 최적조건으로 설정하였다.

탈단백질시 사용되는 알칼리용액의 양은 일반적으로 원료중량의 10배¹⁴ 혹은 그 이상¹⁵이며, 본 연구에서는 충분한 교반으로 보다 균질한 제품을 얻고자 원료중량 대 알칼리용액의 비율 1 : 15로 하였다.

지금까지 보고된 연구에 의하면, 탈회분은 일반적으로 실온에서 묽은 염산(2.5~10%)으로, 탈단백질은 65~100°C에서 묽은 NaOH용액(1~10%)으로 행해졌으며, 반응시간은 제조방법에 따라 30분^{14,15}에서 수일간^{14,15}에 이르렀다. 그러나, 강산과 강알칼리로 장시간 처리는 키틴의 분자량 감소 및 탈아세틸화를 야기시킴으

Table 2. Effect of alkaline concentrations, extraction temperatures and times on reduction of nitrogen content in the demineralized shell with a solid to solvent ratio of 1 : 15 (w/v)

Temp.(°C)	Time (hr)	Concentration of NaOH		
		3%	4%	5%
---Nitrogen content (%)*---				
45	1	7.36±0.07	7.33±0.00	7.27±0.03
	2	6.87±0.10	6.85±0.06	6.74±0.10
	3	6.95±0.06	6.85±0.04	6.48±0.06
	4	6.71±0.26	6.47±0.01	6.58±0.11
65	1	6.72±0.14	6.57±0.12	6.38±0.12
	2	6.50±0.08	6.38±0.19	6.40±0.07
	3	6.33±0.13	6.31±0.14	6.35±0.21
	4	6.34±0.14	6.32±0.21	6.39±0.19
100	1	6.46±0.01	6.42±0.14	6.35±0.20
	2	6.40±0.15	6.34±0.29	6.46±0.20
	3	6.45±0.19	6.29±0.24	6.37±0.15
	4	6.40±0.04	6.46±0.15	6.40±0.20

*Mean±standard deviation of duplicate determinations, on a dry basis

Table 3. Comparison of viscosity and solubility for unbleached chitins prepared from different deproteinization conditions

Conditions	Viscosity (cP) ¹	Solubility (%) ²
3% NaOH, 3hr, 65°C	21.5	57.7
4% NaOH, 2hr, 65°C	17.6	61.6
5% NaOH, 1hr, 65°C	20.1	59.8

¹ 0.1% chitin in N,N-dimethylacetamide containing 5% lithium chloride (DMAc-5% LiCl)

² Measured in DMAc-5% LiCl

^{1/2} Average of duplicate determinations, on a dry basis

로^{21,26}, 키틴 분자의 분해를 최소화할 수 있는 추출조건
의 선정이 요구된다.

탈색소

탈회분, 탈단백질 후 키틴에 강하게 결합된 carotenoids 색소²⁷를 제거하기 위해서 여러가지 탈색방법들을 적용해 본 결과 (Table 4), 0.32% 혹은 0.5% sodium hypochlorite (NaOCl)로 처리시 가장 육안적으로 깨끗한 백색의 키틴 재품을 얻을 수 있었으며 이때 적색도를 나타내는 a*는 -값을, 황색도를 나타내는 b*값은 4 이 하였다. 그 외 방법들은 색소제거에 별 효과가 없었다.

Table 5에서는 NaOCl 농도와 반응시간에 따른 키틴 재품의 L*a*b* 값을 나타낸 것으로, 원료 중량의 10배에 해당하는 0.25% NaOCl용액으로 5분간 처리시 키틴은 약간 황색 (b*=4.91)을 띠었다. 반면, 0.32% NaOCl로 3 분간 처리시 키틴의 색깔은 5분간 처리된 키틴의 색깔 과 거의 유사한 밝은 백색을 나타내므로 3분간 처리가 보다 바람직한 것으로 간주되었다.

Table 4. Color values of chitins bleached with various reagents

Bleaching reagent	Color value ¹		
	L*	a*	b*
0.5% Sodium hypochlorite ¹⁹	72.04	-0.85	3.15
Absolute acetone ²⁰	61.02	4.69	16.42
3% Hydrogen peroxide ¹⁸	68.55	3.09	12.95
Ethyl acetate ²¹	61.59	6.12	13.12
0.32% Sodium hypochlorite ¹⁴	74.26	-0.89	3.53
Methanol ²²	60.52	4.61	13.56
96% Ethanol + ether ²³	59.98	4.69	12.61

¹L* : lightness, a* : redness, b* : yellowness

Table 5. Color values of chitins bleached with different concentrations of sodium hypochlorite (NaOCl) solution at various bleaching times

Concentration of NaOCl (%)	Bleaching time (min)	Color value ¹		
		L*	a*	b*
0.25	0	63.30	8.63	15.25
	1	60.83	0.17	9.42
	2	64.02	-0.45	7.63
	3	67.89	-0.82	6.12
	4	66.24	-0.84	5.22
0.32	5	66.47	-0.81	4.91
	1	63.79	-0.21	7.82
	2	65.95	-0.30	7.36
	3	67.12	-0.85	3.85
	4	66.21	-0.83	3.96
	5	68.32	-0.89	3.41

¹L* : lightness, a* : redness, b* : yellowness

No 등¹⁴은 crawfish 키틴을 0.32% NaOCl로 탈색하기 전 아세톤으로 추출할 수 있는 색소를 미리 제거함으로써 탈색시간을 감소시킬 수 있었다고 보고하였으나, 본 연구에서는 아세톤 전처리가 색소추출에 별 효과가 없었으며, 또한 차 후 탈색시간에도 아무런 영향을 끼치지 않았다 (data not shown). 이는 갑각류의 종류에 따라 carotenoids 색소의 함량과 결합력이 서로 다르기 때문이라 여겨진다.

침지시간에 따른 탈회분 및 탈단백질 효과

갑각류로 부터 키틴을 분리하기 위하여 탈회분 및 탈단백질시 적절한 교반을 행한다. 그러나 교반은 상당한 에너지 소모를 요구하므로 자연침지에 의한 탈회분 및 탈단백질 효과를 검토해 보았다.

전조된 계껍질 (20-40mesh size)을 원료중량 15배의 1N HCl용액에 침지시킨 후 실온에서 침지시간 (4, 8, 16, 24시간)에 따른 탈회분 효과를 조사한 결과 (data not shown), 침지 4시간 후 잔류 회분함량은 0.30%를 나타냈으며, 8시간 이후에는 0.15% 까지 감소되었다.

Fig. 1의 방법에 따라 탈회분된 계껍질을 원료중량 15배의 5% NaOH용액에 침지시킨 후 실온에서 탈단백질 효과를 검토한 결과는 Fig. 3과 같다. 침지시간이 길어짐에 따라 질소함량은 서서히 감소하여 침지 96 시간 후에 질소 함량은 키틴의 질소 함량 6.41% 보다 약간 높은 6.50%를 나타냈다.

침지에 의한 탈회분 및 탈단백질은 여러 연구자들^{34, 35}에 의해서 일찌기 시도된 바 있으나, 교반에 비해 추출 효율성이 낮고 장시간을 요하므로 키틴분자의 분해

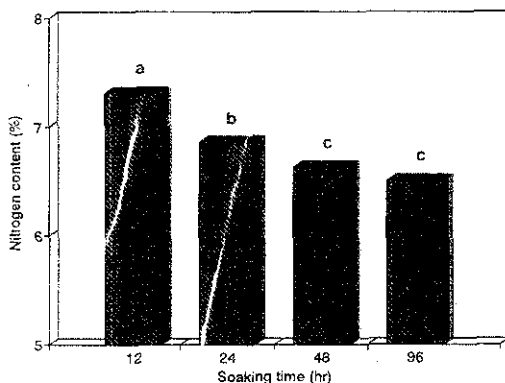


Fig. 3. Effect of soaking times in 5% NaOH on reduction of nitrogen content in the demineralized shell at ambient temperature with a solid to solvent ratio of 1 : 15 (w/v). Bars having the same letter above them are not significantly different (p > 0.05).

를 초래할 수 있으리라 여겨진다.^{31,38)} 한편, 키틴의 원료로 사용되는 갑각류 폐기물은 저장시 부패하기 쉬우므로 이것을 방지하기 위한 한 수단으로 Johnson과 Peniston³¹⁾은 이들 폐기물을 키틴 추출 전 묽은 알칼리용액에 침지시키는 방법을 제시한 바 있다.

키틴의 특성

계껍질 (20~40mesh size)에서 Fig. 1의 방법으로 분리한 최종 키틴제품의 특성은 Table 6과 같다.

질소함량

탈색된 키틴의 질소함량은 수분과 회분이 없는 상태로 계산해서 6.45%로 이는 Shahidi와 Synowiecki³²⁾가 보고한 snow crab (*Chionoectes opilio*) 껍질에서 추출한 키틴의 질소함량 6.42%와 거의 유사하였다. 계껍질로부터 상업적으로 제조된 키틴제품의 질소함량을 측정해 본 결과, 미국의 Sigma사 제품(C-7170)은 6.57%, 국내에서 제조된 키틴은 6.37%를 나타내어 제품간에 다소 차이가 있었다.

키틴의 질소함량은 일반적으로 6~7% 범주에 속하며 species와 연구자에 따라 다소 상이하게 발표되고 있다³⁹⁾. 키틴의 질소함량이 이론치인 6.89% 보다 높을 때는 키틴에 결합된 단백질이 불완전하게 제거되었거나 탈아세틸화를 의미하며, 이론치 보다 낮을 경우에는 hydrolytic deamination이 일어났거나 제품이 오염된 것을 의미한다고 보고된 바 있다³⁹⁾.

지방 및 회분함량

키틴의 지방 및 회분함량은 대부분 1% 이하 혹은 결

측되지 않는 것으로 보고되고 있으며³⁹⁾, 본 연구에서는 지방은 거의 검출되지 않았으며 회분은 0.15% 정도였다.

점도 및 용해도

5% lithium chloride를 함유한 N,N-dimethylacetamide용액에서 0.1% 키틴의 점도는 12.8cP를 나타냈다. 한편 0.1% 키틴용액을 실온에 저장하면서 일주일 간격으로 4주 동안 점도를 측정해 본 결과 (data not shown), 점도의 변화는 거의 없이 매우 안정하였다.

본 연구에서 추출한 키틴의 용해도 (58.4%)는 crawfish 키틴 (26.4%)⁴⁰⁾과 Dungeness crab 키틴 (30%)²⁹⁾의 용해도 보다는 높았으나, pink shrimp, red crab, horse-shoe crab과 brown shrimp 키틴의 용해도 (62~92%)²⁹⁾ 보다는 낮았다. 그러나, 58%를 나타내는 blue crab 키틴의 용해도와는 거의 동일하였다. 일반적으로 용해도가 낮은 원인은 용해중 형성된 젤이 여과에 의해서 제거되기 때문이며²⁹⁾, 이런 현상은 본 연구에서도 또한 발견되었다. 한편, Brine과 Austin¹⁸⁾은 낮은 용해도는 불완전한 단백질 제거에서 기인하며, species와 제조 방법에 따라서 용해도는 상당한 차이 (28~99%)가 있다고 보고하였다.

색깔

탈색된 키틴 제품의 색깔은 밝은 백색이며, 이때 색차계로 측정된 값들은 L*=67.12, a*=-0.85, b*=3.85를 각각 나타내었다.

Bulk density

키틴의 bulk density는 입자 크기가 20~40mesh일 때 0.27g/ml를 나타내며, 100mesh 이하일 때는 0.43g/ml를 나타내었다. 한편, 장 등⁴⁰⁾은 게 (*Chionoectes opilio*) 껍질에서 제조한 키틴의 bulk density는 0.13~0.15g/ml인 것으로 보고 하였으며 본 연구의 결과와 상이한 것은 아마도 입자의 크기 차이에서 기인하리라 여겨진다. 키틴의 bulk density는 제조원료에 따라서도 달라 계껍질에서 추출한 키틴이 새우나 krill에서 추출한 키틴 보다 2.6~2.8배 정도 밀도가 높은 것으로 보고된 바 있다^{13,32)}.

IR spectrum

IR spectrum은 키틴의 물리화학적 특성을 연구하는데 유용한 것으로 알려져있다³⁰⁾. 본 연구에서 제조한 키틴과 미국 Sigma사 키틴제품(C-7170)의 spectrum을 비교한 결과 (Fig. 4), 매우 유사한 peak 양상을 보이

Table 6. Characterization of chitin isolated from crab shell

Specification	Description ¹
Nitrogen(%) ²	6.45
Fat(%)	ND ³
Ash(%)	0.15
Viscosity(cP) ⁴	12.8
Solubility(%) ⁵	58.4
Color	white ⁶
Bulk density(g/ml) (20~40mesh size)	0.27
(< 100mesh size)	0.43

¹ Average of duplicate determinations

² Calculated on a moisture-free and ash-free basis

³ ND=not detectable.

⁴ 0.1% chitin in N,N-dimethylacetamide containing 5% lithium chloride (DMAc-5% LiCl)

⁵ Measured in DMAc-5% LiCl.

⁶ Color value measured with Minoita Chroma Meter CR-200 was L*=67.12, a*=-0.85, b*=3.85

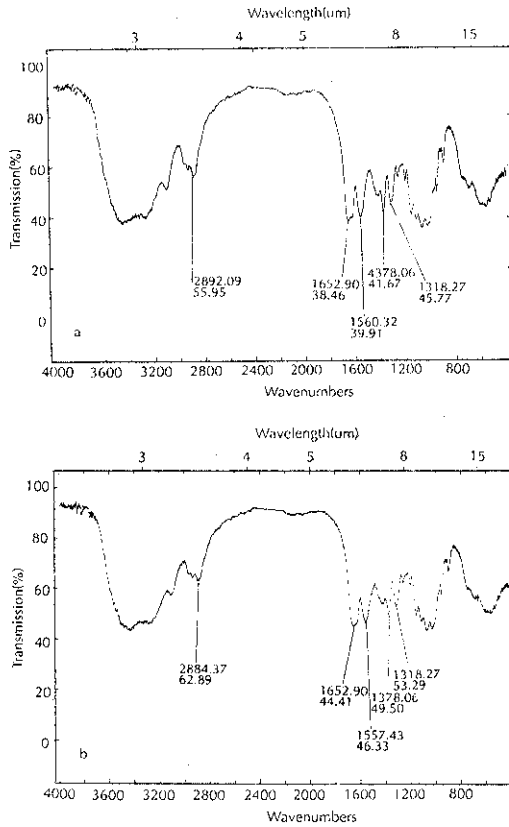


Fig. 4. IR spectrum of crab chitin(a) and Sigma C-7170 chitin(b).

고 있었다.

입자 크기에 따른 키틴 추출효과

Fig. 1의 키틴 분리공정이 효과적으로 이용되기 위해서는 계겉질의 크기에 관계없이 동일하게 적용될 필요가 있다. 따라서, 입자 크기가 다른 네가지 mesh size의 계겉질로 Fig. 1의 방법에 따라 추출을 행한 후 질소, 회분 및 수율을 측정해 본 결과 (Table 7), 입자 크기에 따른 키틴의 질소 및 회분함량에는 별 차이가 없었다 ($p > 0.05$). 이러한 유사한 결과는 No 등¹⁹⁾과 일찌기 Blumberg 등¹⁹⁾의 연구에서도 또한 관찰되었다.

한편, 키틴의 수율은 입자의 크기가 클수록 증가하는 경향이였다. No 등¹⁹⁾은 입자 크기에 따른 crawfish meal의 성분변화를 측정해 본 결과, 입자가 클수록 키틴 함량이 증가하는 것을 발견하였다. 따라서, 본 연구에서 입자 크기에 따른 수율의 차이는 입자 크기에 따른 키틴 함량의 차이 때문이라 여겨진다. 계겉질의 입자가 20~40mesh size일 때 키틴의 함량은 Table 1에서

Table 7. Comparison of nitrogen and ash contents, and yields for chitins prepared from four different particle size ranges of crab shell

Particle size range (mesh)	Percent (%) ¹		
	Nitrogen ²	Ash	Yield
>10	6.35	0.20	28.45
10~20	6.42	0.15	25.70
20~40	6.45	0.15	24.75
40~80	6.44	0.14	22.70

¹ Average of duplicate determinations, on a dry basis

² Calculated on a moisture-free and ash-free basis

Table 8. Comparison of viscosity and solubility for chitins before and after bleaching

Bleaching ¹	Viscosity (cP) ²	Solubility (%) ³
Before	19.3 ^a	59.8
After	12.8 ^b	58.4

¹ Bleached with 0.32% NaOCl for 3min with a solids to solvent ratio of 1 : 10 (w/v)

² 0.1% chitin in N,N-dimethylacetamide containing 5% lithium chloride(DMAc-5% LiCl) ^{ab} Different superscripts within a column indicate significant differences ($P < 0.05$)

³ Measured in DMAc-5% LiCl

^{2,3} Average of duplicate determinations, on a dry basis.

26.65% 이고, 수율은 24.75% (Table 7) 이므로 이는 약 93%의 키틴 회수율을 나타내고 있다.

키틴의 점도 및 용해도에 미치는 탈색효과

키틴 제조시 탈색공정이 키틴의 물리적 성질에 미치는 효과를 조사해 본 결과 Table 8에서와 같이, 점도는 탈색으로 인해 탈색전 19.3cP에서 12.8cP로 33.7%가 감소하였으며, 용해도는 탈색 전 (59.8%)과 탈색 후 (58.4%) 별 차이를 나타내지 않았다.

탈색으로 인한 점도 저하가 키틴의 기능성에 어느 정도 영향을 미치는지는 현재로서는 의문이나 탈색된 백색의 키틴제품이 비탈색된 키틴에 비해 외관적 상품 가치가 높은 것을 보였다. 한편, 비탈색된 키틴은 DMAc-5% LiCl에 용해시 carotenoids 색소로 인해 용액이 붉은색을 띠는 단점이 있었다. 그러나, 점도가 보다 높은 키틴제품이 요구되거나, 케텐이 캐토크산 제조의 전구물질로 사용될 때에는 탈색공정이 생략되는 것이 바람직하리라 여겨진다.

결론적으로, 키틴의 추출조건은 키틴의 물리화학적 특성에 영향을 미치며 또한 기능성에도 영향을 미치리라 생각된다. 따라서, 앞으로 키틴을 여러 분야에 응용하기 위해서는 키틴의 추출조건과 기능성과의 관계에 대해서 보다 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

요 약

개 가공 폐기물을 부가가치가 높은 키틴 자원으로 활용코자, 이들 폐기물로 부터 키틴을 효율적으로 분리할 수 있는 조건을 설정하고 이로 부터 제조된 키틴의 물리화학적 성질을 조사하였다. 탈회분은 원료중량의 15배에 해당하는 1N HCl로 실온에서 30분간 교반함으로써, 탈단백질은 탈회분된 시료에 원료중량의 15배에 해당하는 5% NaOH용액으로 65°C에서 1시간 동안 교반함으로써 가장 효율적으로 이루어졌다. 탈색소는 원료중량의 10배에 해당하는 0.32% NaOCl로 3분간 처리시 가장 바람직하였다. 침지에 의한 탈회분 및 탈단백질은 교반에 비해 추출 효율성이 낮고 장시간을 요하였다. 백색의 최종 키틴제품은 질소함량이 6.45%, 회분은 0.15%이었으며, 5% lithium chloride를 함유한 N,N-dimethylacetamide-용액(DMAc-5% LiCl)에서 0.1% 키틴의 점도는 12.8cP를 나타냈다. 또한 DMAc-5% LiCl에서 키틴의 용해도는 58.4%를 나타냈으며, bulk density는 입자 크기가 20~40mesh 일때 0.27g/ml, 100mesh 이하일 때는 0.43g/ml를 나타내었다. 입자 크기에 따른 키틴의 질소 및 회분함량에는 별 차이가 없었으며, 키틴의 수율은 입자의 크기가 클수록 증가하는 경향이었다. 키틴 제조시 탈색공정은 키틴의 점도를 감소시켰으며 용해도에는 별 영향이 없었다.

감사의 글

본 연구는 1993년도 효성여자대학교 교비연구비에 의하여 수행된 것으로 깊은 감사를 드립니다. 또한 본 연구를 수행하는데 시료준비 및 질소분석에 도움을 준 식품공학실 연구원과 대한제분 김정진 부장님께 감사를 드립니다.

문 헌

- Muzzarelli, R. A. A. : "Natural chelating polymers". Pergamon Press, Oxford(1973)
- Ruiz-Herrera, J. : The distribution and quantitative importance of chitin in fungi. In "Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan" Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R. (eds.), MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA., p.11 (1978)
- Austin, P. R., Brine, C. J., Castle, J. E. and Zikakis, J. P. : Chitin : New facets of research. *Science*, **212**, 749 (1981)
- Knorr, D. : Use of chitinous polymers in food-A challenge for food research and development. *Food Technol.*, **38**, 85(1984)
- Hirano, S. and Tokura, S. : "Proceedings of the Second International Conference on Chitin and Chitosan". The Japan Society of Chitin and Chitosan, Sapporo, Japan (1982)
- Muzzarelli, R. A. A. : "Chitin". Pergamon Press, Oxford(1977)
- Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R. : "Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan". MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA (1978)
- No, H. K. and Meyers, S. P. : Crawfish chitosan as a coagulant in recovery of organic compounds from seafood processing streams. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 580 (1989)
- No, H. K. and Meyers, S. P. : Recovery of amino acids from seafood processing wastewater with a dual chitosan-based ligand-exchange system. *J. Food Sci.*, **54**, 60 (1989)
- Rawls, R. L. : Prospects brighten for converting chitin wastes to valuable products. *Chemical and Engineering News*, May, 42(1984)
- Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. and Sandford, P. : "Chitin and Chitosan". Proceedings from the 4th International Conference on Chitin and Chitosan. Trondheim, Norway(1988)
- Zikakis, J. P. : "Chitin, Chitosan, and Related Enzymes". Proceedings of the Joint U.S.-Japan Seminar on Advances in Chitin, Chitosan, and Related Enzymes. Academic Press, Orlando (1984)
- Anderson, C. G., DePablo, N. and Romo, C. R. : Antarctic Krill (*Euphausia superba*) as a source of chitin and chitosan. In "Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan" Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R.(eds.), MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA., p.54(1978)
- No, H. K., Meyers, S. P. and Lee, K. S. : Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 575 (1989)
- Knorr, D. : Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol.*, **45**, 114 (1991)
- 한국수산회 : "수산연감". p. 99 (1992)
- Green, J. H. and Kramer, A. : "Food Processing Waste Management". AVI Publishing Co., Westport, CT, p. 214 (1984)
- Brine, C. J. and Austin, P. R. : Chitin variability with species and method of preparation. *Comp. Biochem. Physiol.*, **69B**, 283 (1981)
- Blumberg, R., Southall, C. L., Van Rensburg, N. J., and Volckman, O. B. : South African fish products. XXXII-The rock lobster : A study of chitin production from processing wastes. *J. Sci. Food Agric.*, **2**, 571 (1951)
- Kamasastri, P. V. and Prabhu, P. V. : Preparation of chitin and glucosamine from prawn shell waste. *J. Sci. Ind. Res.*, **20D**, 466 (1961)
- Brzeski, M. M. : Concept of chitin/chitosan isolation

- from Antarctic Krill (*Euphausia superba dana*) shells on a technical scale. In "Proceedings of the Second International Conference on Chitin and Chitosan" Hirano, S. and Tokura, S. (eds.), The Japan Society of Chitin and Chitosan, Sapporo, Japan, p.15 (1982)
22. 양용, 현준호, 황윤희 : Chitin의 산업적 이용을 위한 기초연구. 한국식품과학회지, **24**, 14 (1992)
 23. 조정숙, 한정준, 이철호 : 꽃게 껍질에서 분리제조한 키틴산 필름의 물성에 관한 연구. 한국식품과학회지, **24**, 574 (1992)
 24. A.O.A.C. : *Official Methods of Analysis*. 13th ed., Association of official analytical chemists, Washington, DC (1980)
 25. Black, M. M. and Schwartz, H. M. : The estimation of chitin nitrogen in crawfish waste and derived products. *Analyst*, **75**, 185 (1950)
 26. Lee, K. S. : Evaluation of crawfish by-products in pigmentation of egg yolk. *M. S. Thesis*, Louisiana State University, Baton Rouge, LA. (1985)
 27. Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S., Austreng, E. and Streiff, K. : Carotenoids in diets for salmonids. I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture*, **41**, 213 (1984)
 28. Kelly, C. E. and Harmon, A. W. : Method of determining carotenoid contents of Alaska pink shrimp and representative values for several shrimp products. *Fish. Bull.*, **70**, 111 (1972)
 29. Rutherford, F. A. and Austin, P. R. : Marine chitin properties and solvents. In "Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan" Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R. (eds.), MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA., p.182 (1978)
 30. Sannan, T., Kurita, K., Ogura, K. and Iwakura, Y. : Studies on chitin : 7. IR spectroscopic determination of degree of deacetylation. *Polymer*, **19**, 458 (1978)
 31. Johnson, E. L. and Peniston, Q. P. : Utilization of shellfish waste for chitin and chitosan production. Ch. 19. In "Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products" Martin, R. E., Flick, G. J., Hebard, C. E. and Ward, D. R. (eds.), AVI Publishing Co., Westport, CT, p.415 (1982)
 32. Shahidi, F. and Synowiecki, J. : Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1527 (1991)
 33. Moorjani, M. N., Achutha, V. and Khasim, D. I. : Parameters affecting the viscosity of chitosan from prawn waste. *J. Food Sci. Technol.*, **12**, 187 (1975)
 34. Okafor, N. : Isolation of chitin from the shell of the cuttlefish, *Sepia officinalis* L. *Biochim. Biophys. Acta*, **101**, 193 (1965)
 35. Whistler, R. S. and BeMiller, J. N. : Chitin. *J. Org. Chem.*, **27**, 1161 (1962)
 36. Foster, A. B. and Webber, J. M. : Chitin. *Adv. Carbohydr. Chem.*, **15**, 371 (1961)
 37. Fox, D. L. : Chitin-bound keto-carotenoids in a crustacean carapace. *Comp. Biochem. Physiol.*, **44B**, 953 (1973)
 38. Lusena, C. V. and Rose, R. C. : Preparation and viscosity of chitosan. *J. Fish. Res. Board Can.*, **10**, 521 (1953)
 39. No, H. K. and Meyers, S. P. : Preparation and characterization of chitin and chitosan-A review. *J. Aquatic Food Product Technol.*, in press (1994)
 40. 장현주, 전동원, 이서래 : 게껍질 Chitin 및 Chitosan의 소화관내 기능성에 관한 *in vitro* 연구. 한국식품과학회지, **26**, 348 (1994)

(1994년 11월 18일 접수)