

수용성 단백질에 대한 새우껍질 Chitosan의 흡착 특성

손 병 일 · 김 경 삼
부산여자대학 식품영양과

Adsorption Property of Shrimp Shell Chitosan to Water Soluble Proteins

Byung-Yil Son and Kyung-Sam Kim

Dept. of Food and Nutrition, Pusan Women's College

Abstract

In order to adsorb and reuse water soluble proteins in seafood processing industry, effect of chitosan preparing conditions(deacetylation degree, molecular weight) and factors(pH, reaction time, sodium chloride in chitosan-water soluble protein mixture) which affected on adsorption between shrimp shell chitosan and water soluble proteins were investigated. The higher deacetylation degree and lower molecular weight chitosan was increased adsorption rate of water soluble proteins. The optimum adsorption pH of albumin, hemoglobin, albumin-myoglobin mixture adsorption were 4.0, 7.0, 4.0 respectively. The reaction time to need in adsorption was 3~4hrs and sodium chloride prevented from adsorption between chitosan and water soluble proteins.

Key words : chitosan, water soluble protein, pH, reaction time, deacetylation degree, molecular weight.

서 론

새우, 게 등의 갑각류 껍질에서 추출한 chitin은 N-acetyl-D-glucosamine이 $\beta \rightarrow 1,4$ 결합을 한 구조를 가지고 있으며, 지구상에서 cellulose 다음으로 풍부한 무독성 천연 고분자 화합물이다. 그러나 이러한 chitin은 물이나 알콜 등과 같은 일반용매에는 녹지 않는 특성을 가지고 있어 그 자체로는 이용 가능성이 매우 낮기 때문에 이를 강염기로 탈아세틸화시켜 유도체화한 chitosan을 오늘날 의학, 생화학, 약학, 식품 및 화장품 공업 등에서 널리 이용하려는 연구가 진행되고 있다(Hirano and Tokura, 1982 : Knorr, 1984, 1991 : Muzzarelli, 1977 : No and Meyers, 1989). 그리고 최근에 chitosan에 대한 중요한 산업적 이용의 하나로서 산업폐수처리 및 식품가공공장에서 발생하는 폐수 중의 영양성 물질을 회수하려는 노력이 이루어지고 있다. Chitosan은 산용액 중에서 양의 전하를 띠고 있으므로 폐수처리 과정 중에 양이온 응집제로서 효과적인 작용을 할 수 있으며(Peniston and Johnson, 19-

70). 이를 이용하여 식품가공공장에서 방출되는 폐수 중의 단백질 및 유기물질을 회수할 수 있다고 보고되고 있다(Bough, 1976).

수산가공산업에 있어서 수용성 단백질은 어육의 수세기 수세액과 함께 제거되므로 중량의 손실, 영양가의 저하, 폐수처리 비용의 증가 등과 같은 부가 문제를 발생시켜 생산업체의 부담이 되고 있다. 목적으로 하는 최종제품의 품질을 위하여 수용성 단백질의 제거가 필요한 경우도 있으나 이 경우에도 폐수처리의 문제는 여전히 남게 된다. 현재 수산가공공장의 효과적인 폐수처리를 위하여 주로 활성오니법이 사용되고 있는데 설비 및 운전비용이 많이 드는 부담이 있다. 만일 chitosan을 이용하여 폐수처리의 1차 또는 2차 단계에서 폐수 중에 함유되어 있는 수용성 단백질을 효과적으로 응집 제거할 수 있다면 폐수처리 시설의 부하를 상당히 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라 회수된 단백질의 재활용도 가능하게 되어 일석이조의 효과를 거둘 수 있을 것으로 예상된다. Chitosan의 단백질 응집기능은 이미 확인되어 있으므로 충분한 가능성이

* Corresponding author : Byung-Yil Son

있다고 판단된다. 더욱이 chitosan의 단백질 응집기능을 개선하여 그 효율을 더욱 높인다면 저비용으로 고효율을 얻을 수 있는 고무적인 결과를 도출할 수 있을 것이라 생각된다.

따라서 본 연구에서는 수산가공공장에서 발생되는 폐수 중에 많이 존재할 수 있는 어혈이나 어육 중의 수용성 단백질 제거를 위한 chitosan의 이용을 검토하고자 chitosan의 탈아세틸화도와 분자량에 따른 수용성 단백질의 흡착 효과의 변화 및 각종 흡착 조건이 단백질과 chitosan의 흡착에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

Chitosan의 원료는 수산가공공장에서 가공 후 버려지는 새우 껍질을 수집하여 이것을 수세한 후 50°C에서 열풍건조하고, 20 mesh 정도로 분쇄한 후 플라스틱 용기에 넣어 상온에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 또한 실험에 사용한 수용성 단백질(bovine albumin, bovine hemoglobin, myoglobin)은 Sigma사(U.S.A.)에서 제품을 구입하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) Chitin 및 chitosan의 제조

새우 chitin의 조제는 Hackman의 방법(1954)에 따라 분쇄한 새우껍각에 2N HCl 용액 (원료껍각의 10배)을 서서히 가하면서 탄산가스가 발생하지 않을 때까지 유리막대로 잘 저어준 후 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 교반이 끝난 다음 수세액이 중성에 이를 때까지 충분히 수세한 후 1N NaOH 용액 (시료의 10배)을 가하여 heating mantle(E107, Misung Scientific Co.)을 이용하여 100°C에서 3시간 동안 가열하면서 교반하였다. 가열 후 충분히 수세한 다음 50°C에서 열풍건조하여 chitin을 얻었다. 그리고 chitosan은 앞의 방법으로 조제한 chitin에 고농도의 30% NaOH 용액 (시료 chitin의 15배)을 가하여 일정 시간 동안(1~3hrs) 반응시키 후 중성이 될 때까지 수세하여 50°C에서 건조하여 잘게 분쇄하였다(10 mesh).

30% NaOH용액으로 반응시간(1~3hrs)을 달리하여 조제한 탈아세틸화도는 60%, 70% 및 80%이었다.

2) Chitosan의 분자량 조절

제조된 chitosan을 0.1M acetate - 0.1M sodium acetate buffer(pH 4.0) 용액에 1% 용해시킨 뒤 20,

40, 60분간 초음파(ultra-sonicator, on and off time: 30sec) 처리하여 저분자화 시킨다. 이렇게 저분자화된 chitosan 용액에 0.1M NaOH를 첨가하여 생성된 백색 침전물을 여과하여 증류수로 수세한 뒤 동결건조(Vacuum Freezer Dryer, SFDSM12, Samwon Freezing Engineering Co.) 시킨 뒤 분쇄하였다.

3) Chitosan의 탈아세틸화도 측정

Sannan 등(1978)의 방법에 따라 시료 2mg(200 mesh)과 KBr 100mg을 완전히 혼합한 후 10분 동안 마쇄하고, KBr cell을 만들어 IR spectrum을 측정하여 2,878cm⁻¹과 1,550cm⁻¹에서의 흡광도의 비(A₁₅₅₀/A₂₈₇₈)를 구한 다음 Sannan 등이 구한 검량선을 이용하여 탈아세틸화도를 계산하였다.

4) 고유점도와 분자량 측정

Chitosan의 고유점도를 구하기 위하여 Ubbelohde형 모세관 점도계를 사용하였다. 즉 0.1M acetic acid-0.02M NaCl 용액을 용매로 하여 0.01%, 0.03%, 0.05%, 0.08%, 0.1% chitosan 용액을 조제한 후, 각 chitosan 용액의 상대점도를 측정하고 이로부터 비점도와 환원점도를 구한 다음 고유점도를 구하였다.

분자량은 고유점도와 분자량의 관계를 나타낸 Mark-Houwink 식을 이용하여 구하였다. 이때 상수인 K와 a는 Roberts 등(1988)이 0.1M Acetic acid - 0.02M NaCl 용액에 chitosan을 녹여서 구한 값을 이용하였다.

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

여기서, $[\eta]$ 는 고유점도, K 는 3.04×10^{-5} , Mw 는 분자량, a 는 1.26이다.

5) Chitosan의 수용성 단백질 흡착능 측정

수용성 단백질 흡착능 실험에는 각각 0.1mg을 달아 20ml 탈이온수에 녹여 albumin, hemoglobin, myoglobin 용액을 조제하였고 albumin-myoglobin(1:1) 혼합용액의 경우 0.05mg을 각각 달아 탈이온수에 녹여 단백질 농도를 조절하여 실험에 사용하였다. 0.1M, 1.0M HCl 또는 0.1, 1M NaOH를 이용하여 pH를 4.0~8.0 범위로 조정하여 chitosan을 일정량(50, 100, 200, 300mg) 첨가하였으며 교반기를 이용하여 일정 시간 교반하여 침전시킨 후에 상층액을 여과하였다. 여액의 단백질의 농도는 Lowry법에 따라 750nm에서 흡광도를 측정하고 검량선(Fig. 3)을 이용하여 구한

다음 chitosan에 흡착된 수용성 단백질의 흡착을 5회 이상 반복하여 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{흡착률(\%)} = \frac{\text{초기 단백질 농도(\%)} - \text{흡착 후 단백질 농도(\%)}}{\text{초기 단백질 농도(\%)}} \times 100$$

결과 및 고찰

1. Chitosan의 조건에 따른 단백질 흡착 효과

1) Chitosan의 탈아세틸화도

탈아세틸화도가 chitosan의 수용성 단백질 흡착에 미치는 영향을 알아보기 위해서 탈아세틸화도(Deacetylation degree, 이하 DD로 표기)가 60%, 70%, 80% 인 chitosan 100mg을 0.5% albumin, hemoglobin, albumin-myoglobin(1:1) 용액에 첨가한 뒤 1시간 교반한 후의 단백질 흡착률의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 0.5% albumin 용액에서는 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 각각 11.9%, 31.1%, 55.2%로 탈아세틸화도가 높은 chitosan이 흡착률이 높게 나타났으며, DD-80 chitosan이 흡착률에 있어서 DD-60 chitosan에 비하여 5배 가량 높은 흡착률을 나타내었다. 0.5% hemoglobin 용액에서는 7.0%, 9.0%, 11.1%로 탈아세틸화도의 증가에 따라 흡착률이 높아지기는

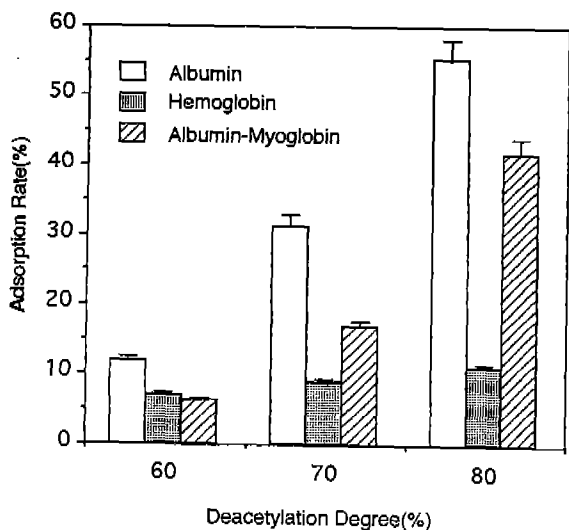


Fig. 1. Effect of deacetylation degree(%) on the adsorption rate of water soluble proteins by chitosan. Chitosan content : 100mg chitosan/20ml protein solution, Reaction time : 60 min.

하지만 현저하게 큰 차이는 보이지 않았다. 이는 hemoglobin이 Fe을 둘러싼 porphyrin환 구조에 단백질이 결합된 형태를 하고 있기 때문인 것으로 추정된다. 0.5% albumin-myoglobin 혼합 용액에서는 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 각각 6.3%, 16.8%, 41.7%로 탈아세틸화도가 높은 chitosan이 흡착률이 높게 나타났으며, DD-80 chitosan이 흡착률에 있어서 DD-60 chitosan에 비하여 7배 가량 높은 흡착률을 나타내었다. Chitosan에 대한 단백질 흡착은 chitosan 탈아세틸화도가 높아짐에 따라 단백질 흡착률이 높아지는 것으로 보아 chitosan의 amine기(NH₂-)가 단백질과의 흡착에 크게 관여하고 있다고 볼 수 있다. Domard 등(1989)은 폐수 중에 존재하고 있는 kaolinite에 대한 chitosan의 흡착능에 있어서도 탈아세틸화도가 높은 것이 흡착능이 높다고 보고하고 있다.

2) Chitosan의 분자량

Chitosan의 분자량이 수용성 단백질 흡착에 미치는 영향을 알아보기 위해서 탈아세틸화도가 80%인 chitosan을 0.1M acetic acid-0.1M sodium acetate buffer(pH 4.0)에 1% 농도로 녹인 후 25°C에서 20, 40, 60분 초음파 처리시켰을 때 분자량의 변화는 350,000에서 20, 40, 60분 후에 각각 240,000, 180,000, 140,000으로 감소하였다. 이렇게 조제된 저분자 chitosan 100mg을 0.5%, albumin, hemoglobin, albumin-myoglobin 용액에 첨가한 뒤 1시간 교반한 후의 단백질 흡착률의 변화를 Fig. 2에 나타내었다.

0.5% Albumin 용액에서는 chitosan의 분자량이 350,000일 때 63.12%, 240,000일 때에는 70.29%, 180,000일 때에는 76.03%, 140,000일 때에는 86.25%로 chitosan의 분자량이 낮을수록 흡착률은 높게 나타났다. 0.5% hemoglobin 용액에서는 chitosan의 분자량이 350,000일 때 11.13%, 240,000일 때에는 14.96%, 180,000일 때에는 15.73%, 140,000일 때에는 18.48%로 chitosan의 분자량이 낮을수록 흡착률은 높게 나타나지만 albumin 만큼 현저한 차이는 보이지 않았다. Albumin과 myoglobin을 1:1로 혼합한 경우에 0.5% 혼합단백질 용액에서는 chitosan의 분자량이 350,000일 때 41.71%, 240,000일 때에는 51.10%, 180,000일 때에는 57.97%, 140,000일 때에는 66.65%로 chitosan의 분자량이 낮을수록 흡착률은 높게 나타났다. 이는 chitosan이 초음파에 의해서 불균일하게 절단되기는 하지만 그에 따른 아민기(NH₂-)의 노출이 많아짐으로써 수용성 단백질과의 흡착이 커지는 것으로 추정

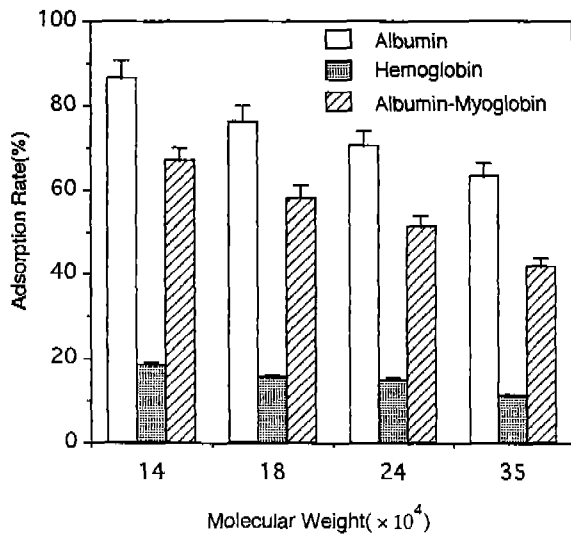


Fig. 2. Effect of molecular weight on the adsorption rate of water soluble proteins by chitosan. Chitosan content : 100mg chitosan/20ml protein solution, Reaction time : 60min.

되며 이와 같은 경향은 chitosan에 대한 증금속 흡착에서도 유사하게 나타나고 있다(Muzzarelli, 1977).

2. 수용성 단백질과 chitosan의 흡착에 미치는 인자

1) pH

단백질 용액의 pH 변화에 따른 chitosan의 흡착효과를 알아보기 위하여 0.05% albumin, hemoglobin, albumin-myoglobin(1:1) 혼합용액 20ml에 pH를 4~8로 변화시켜 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan을 100mg 첨가시켰을 때의 흡착률의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. Albumin은 pH 4에서 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 각각 32.84%, 41.28%, 66.72%로 가장 높은 흡착률을 나타내었으며 pH가 증가함에 따라 단백질 흡착률은 낮아졌으나 pH 7에서 다소 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 알부민의 등전점 (pI=4.8) 부근에서 chitosan과의 흡착이 잘 일어남을 보여주고 있으며, pH 7에서도 약간의 흡착이 일어남을 볼 수 있다. 또한 chitosan의 탈아세틸화도가 높을수록 전 pH 영역에서 albumin의 흡착능은 높게 나타났다.

Hemoglobin은 pH 7에서 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 각각 21.02%, 25.47%, 33.27%로 가장 높은 흡착률을 나타내었고 albumin에 비해서는 흡착률이 떨어졌다. Hemoglobin의 등전점(pI=6.8) 부근에서 흡착이 일어남을 볼 수 있으며, albumin에서

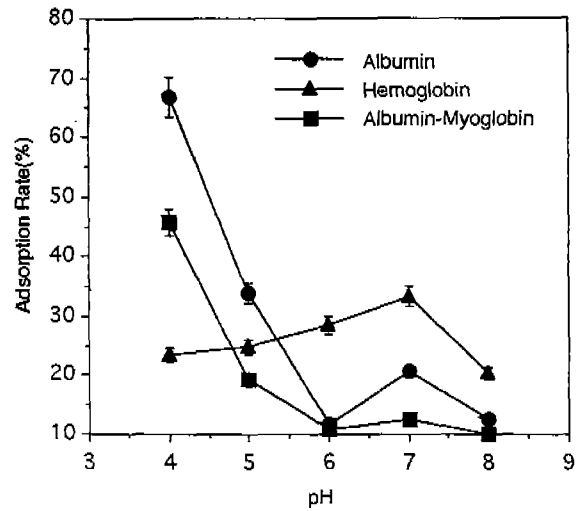


Fig. 3. Effect of pH on the adsorption rate of water soluble proteins by chitosan. Chitosan content : 100mg chitosan/20ml protein solution. Reaction time : 60min.

와 마찬가지로 chitosan의 탈아세틸화도가 높을수록 hemoglobin의 흡착능은 높게 나타났다.

Albumin과 myoglobin을 4:1로 혼합시킨 경우에는 pH 4에서 DD-60, DD-70, DD-80의 흡착률은 각각 18.38%, 34.60%, 45.74%로 가장 높게 나타났으며, pH가 증가함에 따라 감소하였으나 pH 7에서는 약간 증가하였다.

2) 반응시간

반응시간에 따른 수용성 단백질 흡착률의 변화를 알아보기 위해서 albumin, hemoglobin 및 albumin-myoglobin 혼합 단백질(혼합비=4:1) 용액 20ml에 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan을 100mg 첨가시킨 뒤 반응시간을 1시간에서 6시간까지 변화시켰을 때의 흡착률의 변화를 Fig. 4에 나타내었다.

0.5% albumin에 1시간 반응시 DD-60, DD-70, DD-80의 흡착률은 10.17%, 31.75%, 63.12%이었으며, 4시간까지 반응시 DD-60, 70, 80%의 흡착률은 14.27%, 37.92%, 71.54%로 미미한 증가를 보였으며, 그 이상 반응시에는 흡착률의 변화는 거의 보이지 않았다. 0.5% hemoglobin에서도 1시간 반응시 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 7.02, 9.03, 11.13%, 3시간 반응시켰을 때 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 8.56, 11.02, 13.24%로 역시 미미한 증가를 보였고 그 이상의 반응시간에 있어서 흡착률에는 거의 영향을 미치지 않은 것으로 보아 chito-

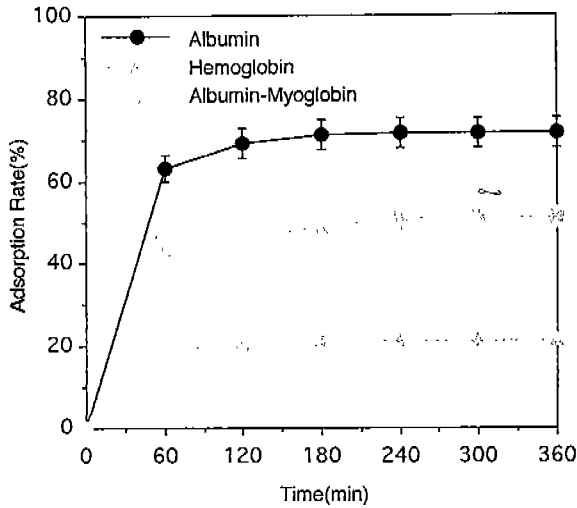


Fig. 4. Effect of reaction time on the adsorption rate of water soluble proteins by chitosan. Chitosan content : 100mg chitosan/20ml protein solution.

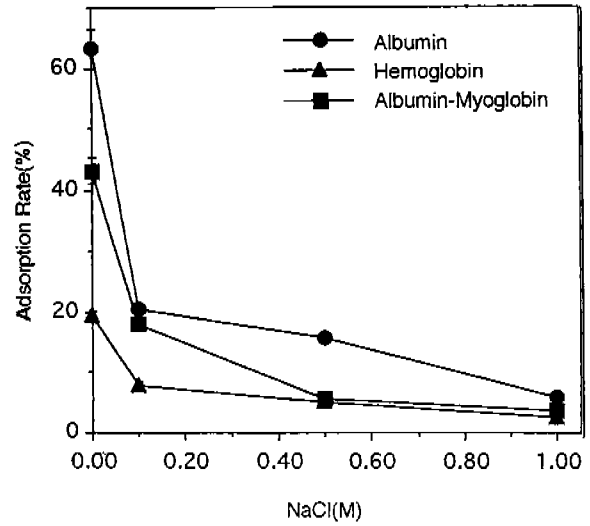


Fig. 5. Effect of NaCl(M) concentration on the adsorption rate of water soluble proteins by chitosan. Chitosan content : 100mg chitosan/20ml protein solution, Reaction time : 60min.

san의 흡착능은 반응시간이 한 시간내 흡착이 거의 이루어졌으며 그 이후(1hr)에는 미미한 흡착을 보였다. 0.5% albumin-myoglobin에 1시간 반응시 DD-60, DD-70, DD-80의 흡착률은 8.25%, 16.82%, 43.14%이었으며, 4시간까지 반응시 DD-60, DD-70, DD-80의 흡착률은 9.13%, 21.58%, 50.85로 증가를 보였고 albumin이나 hemoglobin에 비해서 흡착률이(1hr 이후) 조금 높게 나타났다. 그 이후 반응시에는 흡착률의 변화는 거의 나타나지 않았다. 따라서 반응시간에 있어서 chitosan의 흡착능은 한 시간내에 흡착이 이루어지는 것으로 보아 chitosan과 단백질간의 흡착은 반응초기(1hr)에 흡착이 완료되는 경향을 보였다. Jun (1994)는 두부제조공장에서 발생하는 폐수 처리에 있어서 pH 5.8에서 chitosan을 30mg/L로 첨가하여 침전시간을 30분으로 했을 때 탁도가 94% 감소하며, 3시간까지 침전시켜도 탁도상의 변화는 거의 없다고 보고하고 있다(Guerrero, 1998).

3) 염농도

어육 수세시에는 수세 용액에 염이 존재할 수 있으므로, 염의 농도가 수용성 단백질의 흡착에 미치는 영향을 알아보기 위하여 NaCl 농도 0.1, 0.5, 1.0M 농도로 첨가된 0.5% albumin, hemoglobin, albumin-myoglobin(1:1) 용액 20ml에 chitosan을 100mg 첨가하여 1시간 반응시켰을 때 염농도에 따른 단백질 흡착률 변화를 Fig. 5에 나타내었다.

염이 존재하지 않을 때 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 11.94%, 31.05%, 55.24%이었으나 염농도가 0.1M일 때 DD-60은 7.69%, DD-70은 16.78%, DD-80은 22.01%, 염농도가 0.5M, 1M로 높아짐에 따라 DD-60, DD-70, DD-80의 흡착률은 각각 6.0%에서 3.30%, 8.76%에서 6.82%, 10.60%에서 7.30%로 염농도가 증가함에 따라 chitosan의 흡착률은 낮게 나타났으며 탈아세틸화도가 높은 chitosan이 염농도의 증가에 따라 흡착률의 감소가 크게 나타났다. 0.5% hemoglobin에서는 염이 존재하지 않을 때 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 7.05%, 9.02%, 11.13%, 염농도가 0.1M일 때 DD-60은 2.18%, DD-70은 4.25%, DD-80은 7.91%, 염농도가 0.5M, 1.0M로 높아짐에 따라 DD-60, DD-70, DD-80의 흡착률은 각각 1.85%에서 1.75%, 2.23%에서 2.02%, 5.05%에서 2.46%로 염농도가 증가함에 따라 chitosan의 흡착률은 낮게 나타났다. 0.5% Albumin-myoglobin 혼합단백질의 경우 염이 존재하지 않을 시에 DD-60, DD-70, DD-80 chitosan의 흡착률은 8.25%, 16.82%, 43.14%였으며 염농도가 0.1M일 때 DD-60은 6.085%, DD-70은 13.00%, DD-80은 17.97%, 염농도가 0.5M, 1.0M로 높아짐에 따라 DD-60, DD-70, DD-80의 흡착률은 각각 3.54%에서 1.88%, 4.37%에서 2.16%, 5.62%에서 3.56%로 마찬가지로 염농도가 증가함에 따라 chitosan의 흡착률은 낮게 나타났다. 이와 같이 염농도의 증가로 인한 이온강도의 증가는

단백질에 대한 chitosan의 흡착능이 떨어지는 것으로 사료된다.

요 약

수산물 가공시 흘러나오는 폐수 중에 함유되어 있는 수용성 단백질을 chitosan에 흡착시키기 위하여 albumin과 hemoglobin, albumin-myoglobin 혼합단백질을 이용하여 chitosan과의 흡착 및 chitosan 제조조건에 따른 흡착효과와 chitosan의 수용성 단백질 흡착에 미치는 인자를 살펴본 결과는 다음과 같다.

Chitosan의 탈아세틸화 조건을 60, 70, 80%로 달리 하여 albumin, hemoglobin, albumin-myoglobin 혼합용액에 적용했을 때 chitosan의 탈아세틸화도가 높을수록 chitosan과 단백질 사이의 흡착률은 높게 나타났다. 초음파 처리에 의하여 chitosan의 분자량을 변화시켰을 때 chitosan의 분자량이 작을수록 chitosan과 단백질 사이의 흡착률은 높게 나타났다. pH 변화에 따른 Chitosan과 수용성 단백질의 흡착률은 albumin 및 albumin-myoglobin 혼합용액에서는 pH 4.0에서, hemoglobin 용액에서는 pH 7.0에서 흡착률이 높게 나타났다. Chitosan과 수용성단백질과의 흡착에서 반응 시간은 albumin 및 albumin-myoglobin 혼합용액에서는 4시간, hemoglobin 용액에서는 3시간까지 흡착률이 증가하였고, 그 이후의 시간이 경과하여도 흡착률의 증가는 거의 보이지 않았다. 수용성 단백질 용액에 NaCl 농도를 0.1M에서 1.0M로 증가시켜 첨가했을 때 염의 농도가 높을수록 chitosan과 단백질 사이의 흡착이 잘 일어나지 않았다.

참고문헌

- Bollag, D. M. and Edelstein, S. J. : Protein methods. Wiley-Liss. A John Wiley and Sons. Inc. Publication (1991).
- Bough, W. A., Shewfelt, A. L. and Salter, W. A. : Use of chitosan for the reduction and recovery of solids in poultry processing waste effluents, *Poultry Sci.*, 54, 992~1000 (1975).
- Bough, W. A. : Reduction of suspended solids in vegetable canning waste effluents by coagulation with chitosan. *J. Food Sci.*, 40, 297~301 (1975).
- 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, 1874~1879 (1976).
- Bough, W. A. : Chitosan—a polymer from seafood waste for use in treatment of food processing wastes and activated sludge. *Process Biochem.*, 13~16 (1976).
- Brine, C. J., Sandford, P. A. and Zikakis, J. P. : Advanced in chitin and chitosan. Elsevier applied science. London and New York (1992).
- Chang, K., Tsai, G. Lee, J. and Fu, W. : Heterogeneous N-deacetylation of chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Research*, 303, 327~332 (1997).
- Chang, K., Tsai, G. Lee, J. : Response surface optimization and kinetics of isolating chitin from pink shrimp (*Solenocera melantho*) shell waste. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 1900~1904 (1997).
- Domard, A., Rinaudo, M. and Terrassin, C. : 1989. Adsorption of chitosan and a quaternized derivative on kaolinite. *J. Applied Polymer Sci.*, 38, 1799~1806 (1989).
- Guerrero, L., Omil, F. Méndez, R. and Lema, M. : Protein recovery during the overall treatment of wastewater from fish-meal factories. *Bioresource Technology*, 63, 221~229 (1998).
- 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).
- Huang, C. and Chen, Y. : Coagulation of colloidal particles in water by chitosan. *J. Chem. Tech. Biotechnology*, 66, 227~232 (1996).
- Jeuniaux, C. : Chitosan as a tool for the purification of waters. *Proceedings of the 3th International Conference on Chitin and Chitosan*, 551~570 (1985).
- Jun, H. K., Kim, J. S. No, H. K. and Meyers, S. : Chitosan as a coagulant for recovery of proteinaceous solids from tofu wastewater. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1834~1838 (1994).
- Knorr, D. : Use of chitinous polymers in food—A challenge for food research and development. *Food Tech.*, 38, 85~90 (1984).
- Knorr D. : Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.*, 7, 593~595 (1986).
- Knorr, D. : Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Tech.*, 45, 114~122 (1991).
- Muzzarelli, R. A. A. *Natural cheating polymers*. Pergamon Press, 177~226 (1972).
- Muzzarelli, R. A. A. *Chitin*. Pergamon press, Oxford, U.K. (1977)
- 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,

- 580~583 (1989).
21. 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, 60~62 (1989).
 22. No. H. K., Kim, J. S., Lee, M. Y. and Cho, Y. I. : Treatment of rice-washing wastewater by pH adjustment. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 23, 660~665 (1994).
 23. Pan, J. R., Huang, C. Chen, S. and Chung, Y. : Evaluation of a modified chitosan biopolymer for coagulation of colloidal particles. *Colloid and Surfaces*, 147, 359~364 (1999).
 24. Paul, A. S. : Chitosan : Commercial uses and potential application *Proceedings of the 4th International Conference on Chitin and Chitosan*, 51~69 (1988).
 25. Roberts, G. A. F. and Taylor, K. E. : The preparation and characterisation of chitin beads for use in chromatography Chitin and chitosan. *Proceedings of the 1st international conference on Chitin and Chitosan*, 577~588 (1988).
 26. Roeckel, M. and Aspé, E. : Achieving clean technology in the fish-meal industry by addition of a new process step. *J. Chem. Tech. Biotechnology*, 67, 96~104 (1996).
 27. Roeckel, M., E. Aspé and Martí, M. C. : Achieving clean technology in the fish-meal industry by addition of a new process step. *J. Chem. Tech. Biotechnology*, 67, 96~104 (1996).
 28. Sannan, T., Kurita, K. Ogura, K. and Iwakura, Y. : Studies on chitin : I. 7. I. R. spectroscopic determination of degree of deacetylation. *Polymer*, 19, 458~459 (1978).
 29. Shimojoh, M., Fukushima, K. and Kurita, K. : Low-molecular-weight chitosans derived from β -chitin : preparation, molecular characteristics and aggregation activity. *Carbohydrate Polymer*, 35, 223~231 (1998).
 30. Takashi, A., Havakawa, N. and Suzuki, T. : Chitosan application in waste water sludge treatment. *Proceedings of the 2nd International Conference on Chitin and Chitosan*, 210~212 (1984).
 31. Twardowski, J. and Anzenbacher. Raman and IR spectroscopy in biology and biochemistry, Ellis Horwood (1996).
 32. Wannagah, W. S. and Musa, A. : Adsorption of humic acid onto chitin and chitosan. *J. Appl. Polym. Sci.*, 69, 2305~2310 (1998).
 33. Yoshida, H., Nishihara, H. and Kataoka, T. : Adsorption of BSA on strongly basic chitosan : equilibrium. *Biotech. Bioeng.*, 43, 1087~1093 (1994).
 34. Zeng, X. F. and Ruckenstein, E. : Supported chitosan-dye affinity membranes and their protein adsorption. *J. Membr. Sci.*, 117, 271-278 (1998).
 35. Zeng, X. F. and Ruckenstein, E. : Cross-linked macroporous chitosan anion-exchange membrane for protein separations. *J. Membr. Sci.*, 148, 195~205 (1998).
 36. 신현국. 식품공업폐수의 특성과 처리. *식품과학과 산업*, 24, 9~13 (1991).

(2000년 6월 8일 접수)