

막분리 기술에 의한 해양바이오 신소재 개발

김세권
부경대학교 화학과

Development of Marine Biomaterials by Membrane Separation Technology

Se-Kwon Kim
Department of Chemistry, Pukyong National University

서론

최근 건강에 대한 국민들의 관심이 높아지고 있어 국가경제의 침체기에도 불구하고 웰빙산업은 바이오산업의 발전과 더불어 지속적으로 성장하고 있는 산업분야이다. 지금까지 바이오산업은 육상생물자원으로부터 신소재 및 신의약품을 개발하고, 원료를 확보해 왔으나 한정된 생물자원에 대한 신소재 개발이 한계에 부딪히면서 해양생물자원에서 새로운 소재개발을 위한 해양바이오산업이 주목을 받게 되었다. 해양바이오산업은 해양생물자원이 수계라는 특수한 환경 하에서 서식하고 있어 원료확보 및 접근이 용이하지 않아 소재개발의 관련 연구가 부분적으로 이루어져 왔으나 생물공학 기술의 발달로 연구개발에 전기를 맞게 되었다. 특히, 막분리 공정기술은 해양생물자원으로부터 신소재 개발 및 대량 생산에 의한 산업화에 기여하여 해양바이오 산업을 발전시키는데 매우 중요한 역할을 하였다.

막분리 기술은 1829년 Tomas Graham의 phosphoric acid와 회벽토 등의 고체물질 속에서 기체와 액체의 확산에 관한 연구가 최초이며, 그 후 1850년 colloidion막을 통한 확산투석(dialysis)에 관한 연구가 시작되었다[1]. 현재 다양한 분야에서 사용되고 있는 막은 1960년대에 개발된 박막으로 그 종류에는 선택투과성이 있는 cellulose acetate 합성 반투막으로 구성된 전기투석막[2,3], 정밀여과막[4], 역삼투막[5] 및 한외여과막[6]이 있다. 특히 Loeb와 Sourirajan[5]이 개발한 비대칭막의 제조법 개발은 막분리 기술에 대한 상품화의 시초가 되었으며, 정밀여과막은 1968년 생맥주의 제조에, 한외여과막은 1971년 치즈웨이(cheese whey)의 처리에, 역삼투막은 1979년 토마토 과즙의 농축에

사용된 이후로[7], 막소재의 다양화, 제막법의 개선, 모듈화 기술의 개발, 막 장치의 개발 및 작동조건의 최적화 등에 관한 연구가 활발하게 진행되었다.

막 분리기술은 상변화 없이 조작이 가능하므로 상변화에 의한 물질의 물리화학적 성질의 변화를 피할 수 있고, 에너지의 소요경비를 절감할 수 있으며, 가열을 하지 않으므로 온도변화나 pH에 약한 물질의 제조공정에 적용할 수 있다. 또한, 막장치는 간단하여 협소한 장소에 설치가 가능하며, 공정설계 및 규모확장이 단순할 뿐만 아니라 자동화 하기가 용이하여 적은 인원으로 운전 및 연속적인 조작이 가능하다는 장점이 있다[8,9].

이와 같은 많은 장점으로 인하여 막 분리기술은 식품산업 분야에서 가장 널리 활용되고 있는데, 생맥주, 청주, 와인 등의 주류산업에서 청징, 무균여과 및 미생물 관리[10], 대두유의 정제[11,12], 과일 및 야채주스의 청징화 공정[13,14], 장류의 정제[15], 커피 및 다류의 분말화[16], 우유단백질의 탈염 및 농축[17], 천연색소의 농축[18] 등에 사용되고 있다. 한편 막은 염이 많이 함유된 물질중에서 염을 제거시킬 수 있을 뿐만 아니라 미생물 발효액으로부터 초산의 생산[19], 젖산 발효액의 농축[20], 산의 회수[21] 등에도 활용되고 있다.

기존의 막의 역할은 물질을 분리하거나 농축하는데 국한되어 사용되었지만 최근에는 막과 반응기를 조합시킨 막 반응기 장치를 제작하여 효소를 고정화시키지 않고 효소와 기질을 동시에 순환시켜 촉매성질을 유지한 채로 반응시켜 생성물을 분리하는 연구가 보고되고 있다[22]. 최근 다양한 막 소재의 개발과 막의 분리능이 더욱 높아짐에 따라 막효소반응기를 사용하여 각종 생리활성을 갖는 생리기능성 펩타이드[23,24], 올리고당[25,26] 및 지방산[27,28]의 생산 및 분리가 가능하게 되었으며, 그 일부는 산업화가 이루어지고 있다.

막 분리 및 막효소반응기의 이용기술은 주로 식품분야를 중심으로 이용되어 왔으며, 최근에는 해양생물자원을 단순히 식품분야에서의 이용한계를 극복하기 위하여 고부가가치의 생리기능성 소재개발에 적용되고 있다.

21세기 바이오산업은 해양바이오산업이 차세대 신소재 개발 및 국가발전의 새로운 동력산업으로서 고부가가치를 창출할 수 있는 핵심산업으로 주목을 받고 있다. 따라서 필자는 해양생물자원 유래의 생리기능성 소재개발에 관한 연구 및 해양바이오산업의 발전을 위한 막분리기술 및 막효소반응기의 응용에 대해 살펴보고자 한다.

1. 해양생물자원 유래의 생리기능성 펩타이드

최근 기능특성을 갖는 단백질의 수요가 증가함에 따라 단백질의 기능을 개선하고자 하는 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 특히 단백질의 효소적 가수분해물로부터 생리활성 펩타이드의 탐색에 관한 연구가 시도되고 있다.

단백질은 종류가 많고, 효소의 선택과 정제방법에 따라 다양한 기능을 가진 펩타이드를 생산할 수 있다. 펩타이드는 단백질 보다 소화흡수성이 우수하며, 특히 저분자 펩타이드는 풍미의 개선, 물성개량, 그리고 미생물의 배지 등에 이용된다. 또한 정제된 특수한 펩타이드는 영양생리기능성 물질로서 항알레르기 식품, 유아분유, 건강영양 보조식품 등에 이용되고 있다[29].

단백질의 기능성 개선을 위한 효소적 가수분해에 관한 연구로는 casein[30], bovine serum albumin[31], peanut flour 가수분해물의 제조[32] 등이 있으며, 어류단백질의 기능성 개선에 대해서는 어육단백질 가수분해물의 제조[33,34], 말쥐치피 콜라겐의 효소적 수식 및 기능성[35], 정어리단백질 가수분해물의 기능성 개선[36,37]에 관한 연구 등이 보고되어 있다. 이들 대부분은 회분식(batch)으로 단백질 가수분해물을 제조한 연구들로 효소가 많이 소비되기 때문에 산업적 응용에 문제가 되고 있다. 따라서 막과 효소반응기를 조합시킨 막효소반응기를 이용하면 효소를 재순환시켜 사용할 수 있고 연속적 조작이 가능하여 회분식의 단점을 보완할 수 있다.

이러한 막효소반응기를 이용하여 어류 유래의 단백질로부터 생리기능성 펩타이드의 탐색에 관한 연구로는 한외여과막 반응기를 이용한 어피젤라틴의 연속적 생산[38,39], 재순환 3단계 막반응기를 이용한 어피젤라틴의 연속적 가수분해 최적화 공정개발[40] 및 천연조미료 개발[41], 한외여과막을 사용한 대구frame 단백질 가수분해물의 제조 및 기능성 개선[30], 한외여과막 반응기를 이용한 fish protein concentrate (FPC)의 가수분해[42] 등이 보고되어 있다.

특히, 김과 변[40]은 어피에서 추출한 젤라틴을 3단계 막반응기 (Fig. 1)에서 효소로 가수분해하여 분자량(1 kDa, 5 kDa 및 10 kDa)에 따른 가수분해물을 제조하였으며, 이때 효소 mg당 가수분해물의 생산량은 회분식에 비해 1차, 2차 및 3차 막반응기에서 각각 5배, 8배 및 10배 증가하였다고 보고하였다. 또한 제조된 가수분해물의 기능성을 검토한 결과[43], 등온흡습도는 3차 가수분해물이 가장 높았고, 점도, 포말성 및 포말안정성, 유화성 및 유화안정성은 각 단계별 차이가 거의 없었으며, 완충능은 산성pH 영역에서 높다고 하였다. 한편, 이들 각 단계별 가수분해물의 항산화성[44] 및 항고혈압성[45]은 각각 2차 및 3차 가수분해물에서 가장 높게 나타났으며, 분리정제 과정을 통하여 아미노산 서열을 확인한 결과, 2차 가수분해물 유래의 항산화성 펩타이드의 아미노산 서열은 Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly, 3차 가수분해물 유래의 항고혈압 펩타이드는 Gly-Leu-Pro 및 Gly-Leu-Met으로 고부가가치의 의약제제로서의 이용 가능성을 제시한 바 있다.

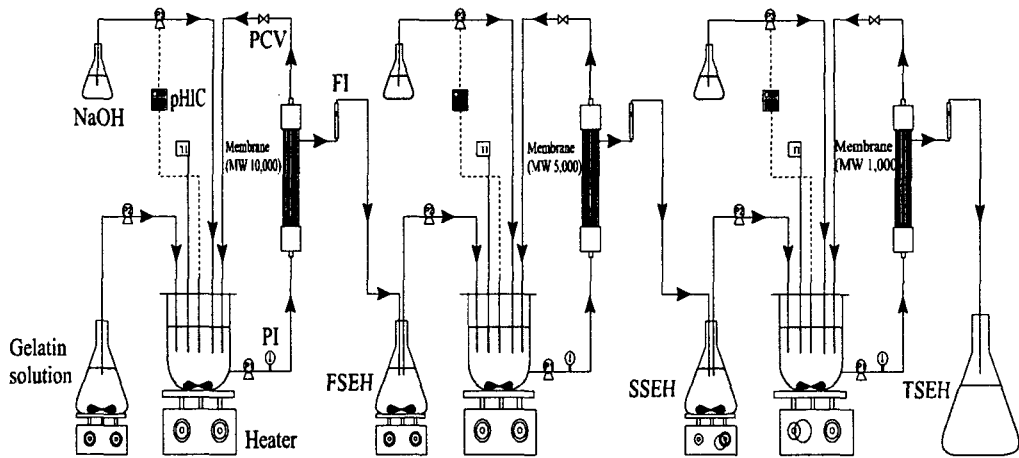


Fig. 1. Schematic diagram of the recycle three-step membrane reactor for the production and separation of enzymatic fish skin gelatin hydrolysates.

TI : temperature indicator, PI : pressure indicator, FI : flow indicator, P1 : recycling pump, P2 : feed pump, P3 : NaOH pump, PCV : pressure control valve, pHIC : pH indicator controller, FSEH : first step enzymatic hydrolysate, SSEH : second step enzymatic hydrolysate, TSEH : third step enzymatic hydrolysate

2. 해양생물자원 유래의 생리기능성 올리고당

키토산은 키틴을 강알칼리로 탈아세틸화함으로써 제조되며, 아세트산, 젖산 및 포름산 등과 같은 유기산 그리고 염산 및 질산 등과 같은 무기산에 용해된다. 키토산은 다양이온(polycation)의 성질을 갖고 있으며 물처리용 금속흡착제, 이온교환체, 효소고정화 담체, 의약품 등 많은 분야에서 응용되고 있다[46]. 최근 키토산 올리고당이 항종양, 면역 증강 및 부활작용[47], 항균 및 항곰팡이 활성[48], 콜레스테롤 개선[49] 및 고혈압 억제작용[50] 등 여러 가지 생리활성을 가지고 있음이 밝혀짐으로써 생리기능성 신소재로서 연구개발이 수행되어왔다.

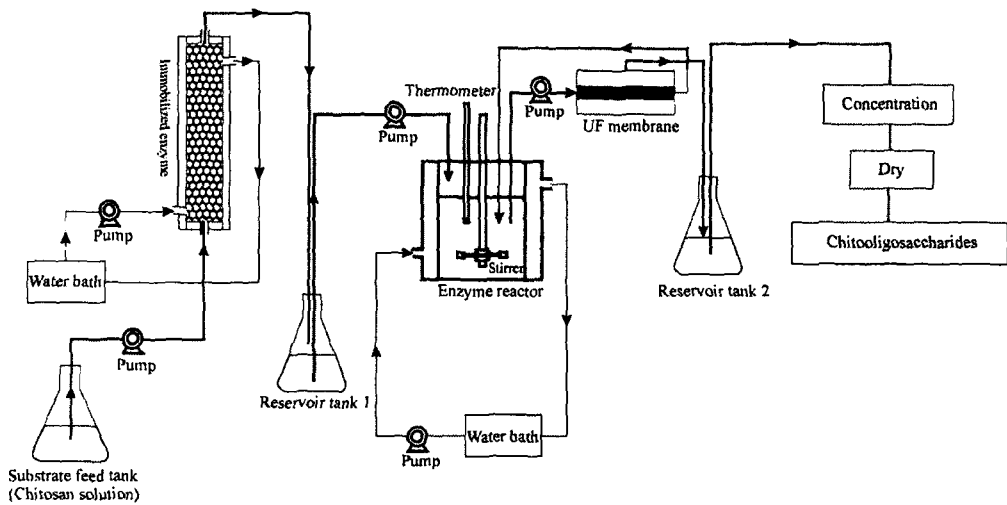


Fig. 2. Schematic diagram of the ultrafiltration reactor system used for continuous production of chitooligosaccharides.

이와 같은 생리기능성을 갖는 키토산 올리고당은 화학적 분해법[51] 및 효소적 분해법[52]으로 제조할 수 있는데 전자의 경우, 단당류인 D-glucosamine의 함량이 높고, 생리기능성을 갖는 4~6당의 올리고당의 함량이 낮을 뿐만 아니라 산에 의한 화학적 수식으로 인해 안전성 문제가 대두되고 있다. 그러나 키토산의 효소적 분해법은 분해시간을 조절하여 단당류의 함량을 낮추고 4~6당의 올리고당의 함량을 높일 수 있다.

Jeon and Kim[25]은 다양한 생리활성의 발현으로 크게 주목을 받고 있는 키토산 올리고당을 효소적 가수분해로 효율적이고도 연속적으로 생산할 수 있는 새로운 한외여과막 반응기 시스템(Fig. 2)을 개발하였고, 생산된 키토산 올리고당을 그들 분자량에 따라 생리활성을 검토한 결과, 키토산 올리고당의 항암활성은 올리고당의 분자량 크기에 따라 크게 의존하였으며, 키토산 올리고당의 항암활성도 분자량 5~10 kDa 정도인 키토산 올리고당이 가장 항암활성이 높다고 하였다. 또한 키토산 및 키토산 올리고당이 랫드에 대하여 급성 및 아급성이 전혀 없는 것으로 확인하였다[53]. 필자는 막분리 기술을 이용한 키토산 올리고당의 대량 생산기술을 (주)키토라이프에 기술이전시켜 국내 키토산산업의 발전에 견인차 역할을 하였다.

3. 해양생물자원 유래의 지질의 기능성 개선

신체조직이 정상적인 기능을 하는데 필요한 필수지방산은 체내에서 합성할

수 있는 것과 합성할 수 없는 것이 있으며, 후자는 음식에서 섭취할 필요가 있다. 필수지방산은 영양생리학적으로 ω -3계, ω -6계로 나누어지며, 체내의 대사과정에서 서로 호환성은 없다. 따라서 ω -3계 및 ω -6계의 지방을 음식으로부터 섭취할 필요가 있지만 이들은 체내에서 경쟁적으로 대사되기 때문에 ω -3계와 ω -6계의 지방산을 균형 있게 섭취해야 한다.

최근 식생활이 서구화 및 인스턴트화 되어감에 따라 청소년을 중심으로 ω -3계 지방산의 섭취비율이 감소되고 있으며, 더욱이 ω -3계의 대사과정에 작용하는 효소는 유아와 노인 및 당뇨병, 고지혈증, 암 등의 성인병 환자뿐만 아니라 과잉알콜 섭취 및 비타민 B₆가 부족한 상태에 있는 사람들이 저해를 받기 쉬운 것으로 알려져 있다. 이러한 저해인자를 가진 사람 또는 선천적으로 대사효소가 결손된 사람은 에코사노이드 (ecosanoid)전구체인 다중불포화지방산이 부족하게 된다. 특히 DHA는 인체 내에서 합성될 수 없기 때문에 필요한 DHA를 음식으로부터 섭취하여야 한다. DHA의 필요 섭취량은 일반적으로 DHA를 함유한 ω -3계가 전체 지질 섭취량의 3%로 권장하고 있다[54].

DHA를 함유한 ω -3 다중불포화지방산을 섭취하기에는 생선을 먹는 것이 가장 용이하지만, 현실적으로 권장 섭취량으로 계산하면 하루에 1~3그램의 ω -3 다중불포화지방산을 섭취한다는 것은 어종에 따라 매우 많은 양의 생선을 먹어야 한다는 것을 뜻한다. 그러나 많은 양의 생선을 먹는다는 것은 경비, 요리의 어려움, 콜레스테롤 문제 등이 있기 때문에 생선으로부터 ω -3 다중불포화지방산을 추출하거나 지질의 효소적 품질개량에 의한 ω -3 다중불포화 지방산의 함량을 향상시키는 방법 등이 필요하다[55].

ω -3 다중불포화지방산 함량을 높이기 위한 방법은 여분의 지질량을 감소시켜 ω -3 다중불포화지방산의 함량을 높여 생리활성을 갖는 트리글리세리드를 얻는 것이다. 그러나 현재 제품화되어 있는 ω -3 다중불포화지방산이 다량 함유된 트리글리세리드는 저온 용제분별법으로 얻어지지만 40% 이상으로 농축하는데 어려움이 있다. 이것은 트리글리세리드 분자가 복잡한 조성으로 이루어져 있기 때문에 이러한 방법으로 농축하려면 어유의 트리글리세리드 분자를 한번 더 분해시켜야 할 필요가 있다. 또한 수산화나트륨에 의한 겔화와 같은 화학적인 방법은 다중불포화지방산의 산화, 중합 등을 일으키기 쉽기 때문에 어유의 품질개량에 온화한 조건에서 반응시킬 수 있는 효소적 방법이 가장 효과적인 방법이다.

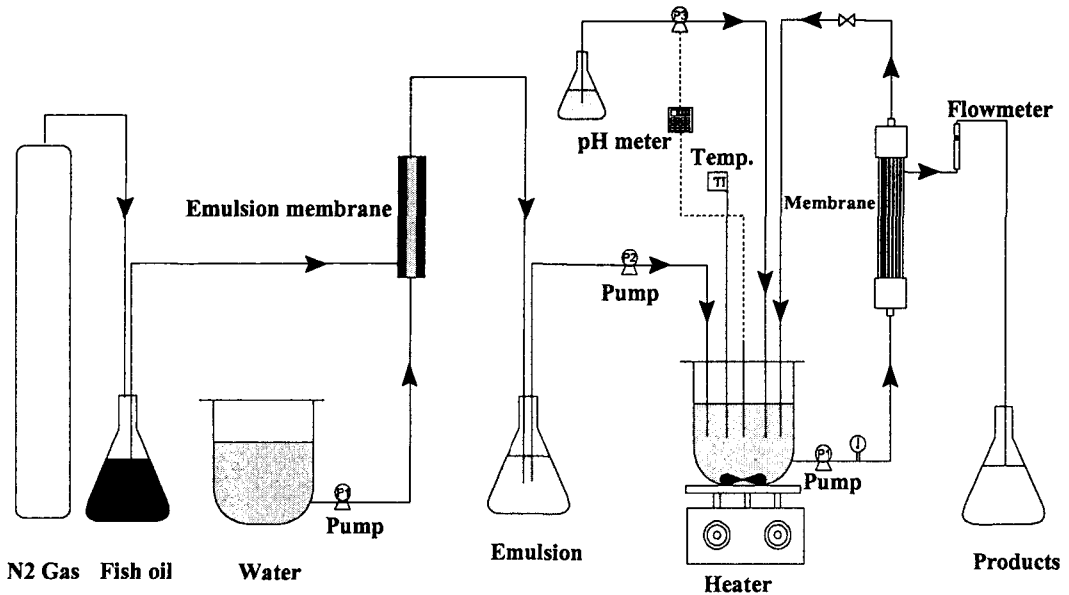


Fig. 3. Schematic diagram of the emulsification membrane for continuous production of emulsion and ultrafiltration membrane reactor system for hydrolysis of fish oil by lipase.

일반적으로 리파제는 다중불포화지방산에 작용하는데 어려움이 있는데 이것은 DHA가 카르복실기 부근에 이중결합을 가지고 있어 분자형태상의 입체장애에 의한 것으로 보고되어 있다[56]. 리파제의 기질특이성의 연구에서 *Candida rugosa* 유래의 리파제는 지질을 가수분해시킴으로써 미분해 글리세리드 획분에 2배 이상의 다중불포화지방산을 농축시키는 것으로 확인되었다. 따라서 ω -3 다중 불포화지방산을 함유한 어유 지방산을 얻는 것도 중요할 뿐만 아니라 DHA에 잘 작용하는 효소의 선택도 필요하다.

정어리유는 효소적 가수분해에 의해 65%이상의 가수분해율을 얻을 수 있는데 이것은 화학적 분해법과 같은 정도의 비율로 EPA, DHA가 함유된 지방산을 얻을 수 있다는 것이 확인되어 연속적인 가수분해에 대한 연구가 진행되고 있다.

어유의 연속적 가수분해에 사용되고 있는 막효소반응기는 유화액을 제조할 수 있는 유화막제조 장치와 막효소반응기 장치를 조합시킨 것으로서 어유중의 EPA 및 DHA의 순도를 높이거나 에스테르 분해반응을 시킬 수 있다 (Fig. 3). 이 장치는 lipase를 매체에 고정화시키지 않고 막반응기내에서 재순환시켜 지속적으로 사용할 수 있어 효소의 이용효율성을 높일 수 있다. 어유의 가수분해 반응은 반응기내에 불활성 가스를 넣어 과산화물의 생성을 억제하여 양질의 어유

지방산을 얻을 수 있다. 이 지방산은 저온용매분별법, 염형성법, 요오드부가법에 의해 70%정도의 고농도 다중불포화지방산을 얻을 수 있다.

기질로 다중불포화지방산을 사용한 트리글리세리드 합성은 반응 중에 지방산의 일부가 중합하여 디글리세리드가 합성되므로 화학양론적인 양의 글리세린을 첨가한 반응계의 경우, 지방산의 부족으로 트리글리세리드의 수율이 저하하는 것으로 알려져 있다. 이러한 경향은 반응온도 40℃에서 행하여도 마찬가지이기 때문에 글리세린과 지방산의 혼합비를 변화시켜 디글리세리드의 생성을 억제할 수 있다. 반응후의 조성은 글리세린의 첨가량을 5~10%로 적게 하였을 때 중합도가 증가하지 않고 디글리세리드의 생성량도 감소하여 트리글리세리드의 수율을 향상시킬 수 있다. 합성된 트리글리세리드는 염기성 알루미나로 불순물을 흡착하여 제거한 후, HPLC에서 겔여과크로마토그래피 칼럼으로 트리글리세리드를 분석하고, 모세관 기체크로마토그래피에 의해 구성지방산이 DHA인 것을 확인할 수 있다.

막효소반응기를 이용한 온화한 조건에서의 효소반응은 다중불포화지방산을 다량 함유하는 어유의 품질개량에 유용하며, 다중불포화지방산에 잘 작용하는 효소를 이용함으로써 에스테르 분해반응을 용이하게 할 수 있다. 공업적인 측면에서 보면 이 방법은 효소의 재이용이 가능할 뿐만 아니라 반응후의 정제가 용이하다는 이점이 있다. 또한 종래 기술로는 얻을 수 없었던 순수한 다중불포화지방산-트리글리세리드의 순도를 높일 수 있기 때문에 식품 및 건강기능성 식품소재로 이용할 수 있다.

4. 해양생물자원 유래의 유용 미네랄 성분의 회수 및 이용

해양생물자원은 생명공학 기술의 발전과 더불어 생리기능성 소재에 대한 연구 결과가 도출되어 단지 영양적 가치의 수단에서 벗어나 건강지향적인 건강기능성 식품 소재의 중요한 자원이다. 선진국들은 식품분야의 선진화를 위하여 안전하고 우수한 식품의 개발에 매년 막대한 비용을 투자하고 있으며, 특히 신소재를 이용한 건강기능성 식품소재를 위하여 집중적인 연구개발에 박차를 가하고 있다.

최근 우리나라에서도 국민의 건강기능성 식품에 대한 법령이 제정되어 건강기능성 식품소재에 대한 규격과 기준이 강화되면서 건강기능성 소재산업은 매우 빠른 속도로 발전하고 있다. 건강기능성 소재산업에서 연구대상으로서 해양생물 자원은 풍부한 자원 및 다양한 해양환경에서 서식하는 생물들의 특성에 따라 다양한 기능성을 가지고 있다. 상기에서 언급한 해양생물 유래의 생리기능성 펩타이드, 올리고당, 지질 뿐만 아니라 미네랄 성분은 미량으로서 인체내 대사작용에 관여하는 중요한 건강기능성 소재중의 하나이다. 특히, 칼슘은 인체내에서 골격과 치아를 이루는 뼈의 구성성분으로서 뿐만 아니라 혈압조절 작용에도 관여한

다는 사실이 알려져 있다.

우리나라는 칼슘에 대한 인식이 매우 높아 건강기능성 식품분야에서 칼슘의 소비량은 수위를 차지하고 있으며, 그 외 일반 의약품 및 식품가공 관련분야 등에서 폭넓게 이용되고 있다. 현재 우리나라 칼슘제는 대부분 외국으로부터 수입되고 있으며, 국내에서 개발되고 있는 칼슘제의 대부분은 소뼈와 같은 원료로부터 물리적으로 곱게 갈아서 만든 제품이 대부분이기 때문에 물에 거의 녹지 않을 뿐만 아니라 체내 흡수율도 매우 낮다.

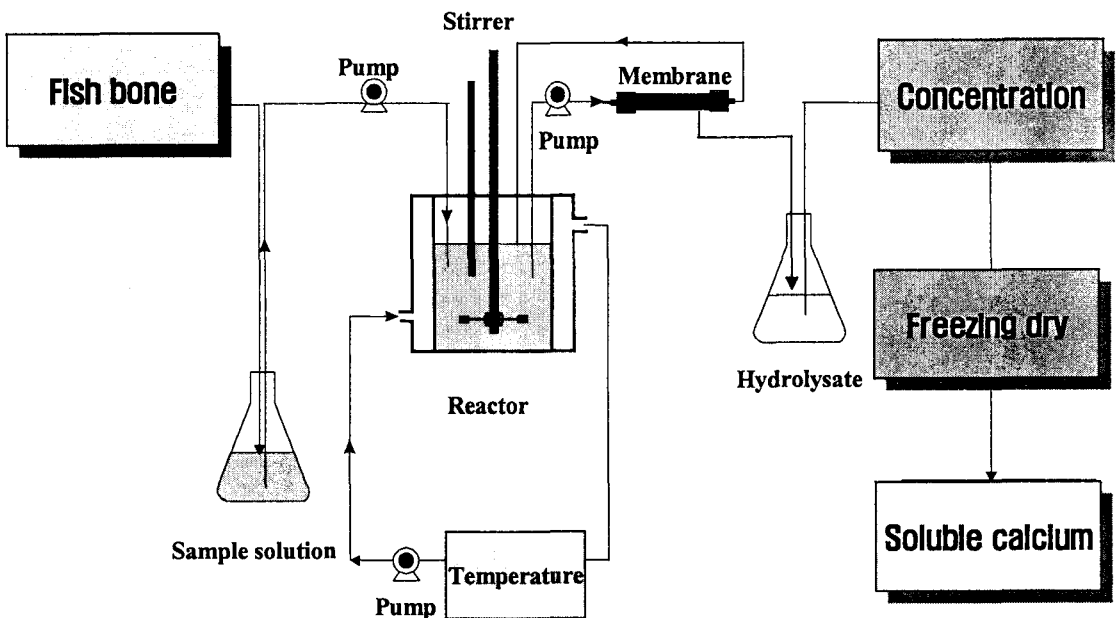


Fig. 4. Schematic diagram of enzymatic membrane reactor for continuous production of soluble calcium from fish bone.

필자는 이러한 문제를 해결하기 위하여 수산가공공장에서 얻을 수 있는 어뼈가 인체의 뼈 성분과 매우 유사하여 어뼈를 이용한 칼슘소재를 개발하게 되었다. 어뼈에는 다량의 칼슘이외에 콜라겐 단백질과 미네랄 성분들이 함유되어 있다. 어뼈로부터 물리화학적인 방법을 이용하여 칼슘은 100% 회수하였으며, 막효소반응기(Fig. 4)에서 어류내장 효소를 사용하여 어뼈에 함유되어 있는 콜라겐 단백질을 콜라겐 펩티드로 만들어 어뼈 유래 칼슘과 함께 복합체를 형성하여 수용성 칼슘소재를 개발하여 골다공증 쥐를 이용한 생체내 실험에서 칼슘흡수율이 매우

높아진 결과를 얻었다.

결 론

건강에 대한 국민들의 기대가 높아지면서 바이오산업은 건강기능성 식품 및 의약품 소재 개발에 심혈을 기울이고 있으며, 그 소재개발 대상으로 육상생물자원이 한계에 부딪히면서 해양생물자원에서 건강기능성 소재를 개발하기 위한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 육상 및 해양생물자원을 대상으로 연구개발된 건강기능성 소재들이 산업화로 이행되기 위해서는 생산공정에서 막분리기술을 적용시켜야 할 필요가 있다.

막분리 기술은 에너지의 소요량이 적고 상변화 없이 물질의 분리농축, 협소한 장소에 설치가능, 조작 및 작동이 용이하다는 장점으로 인해 식품산업분야를 중심으로 다양한 산업분야에서 응용되고 있다. 그러나 해양바이오산업에서는 막분리 기술을 적용할 수 있는 공정이 많이 있음에도 불구하고 산업적 응용은 아직까지도 미흡한 실정이다.

미이용 해양생물자원 및 수산가공부산물에서도 건강기능성 소재로 개발될 수 있는 유용한 성분들이 많이 함유되어 있으며, 생물공학적인 기법을 적용하여 고부가가치의 소재로 개발될 수 있다. 막 분리 및 막효소반응기는 항산화성, 항고혈압성, 항균성 및 항알츠하이머성 생리활성을 갖는 펩타이드 및 올리고당의 대량 생산에 적용될 수 있을 뿐만 아니라 지질의 기능성 개선을 위한 에스테르 반응 및 유화액 제조 등에도 이용될 수 있다. 생리활성을 갖는 펩타이드, 올리고당, 지질 및 칼슘소재들은 건강기능성 소재산업에서 각광을 받고 있으며, 그 시장규모는 대기업과 제약업체가 참여하면서 급격하게 성장하고 있다.

최근 국내에서도 다양한 분야에서 막의 산업적 응용이 점차 확대되고 있으며, 이에 따라 막의 공급 및 새로운 막의 연구개발이 활발하게 이루어지고 있다. 따라서 정밀여과막, 한외여과막, 역삼투막, 나노여과막 및 전기투석막 등과 같은 막분리 기술이 해양바이오산업 분야에 적용되어 유용한 생리기능성 물질의 생산이 가능하여 수해양 분야를 고부가가치의 산업으로 전환시킬 수 있을 것으로 기대된다. 해양바이오산업에서 해양생물자원으로부터 새로운 건강기능성 식품 소재의 개발은 국민건강을 위해 지속적으로 연구가 수행되어야 하며, 대량 생산을 위해서는 다양한 기능성 막을 이용한 막분리 및 막효소반응기를 사용함으로써 생리기능성 소재의 산업화를 효과적으로 달성할 수 있을 것이다.

참고문헌

1. 한국막학회, "막분리의 기초", 자유아카데미, 1996
2. K. H. Meyer and W. Strauss, *Helv. Chim. Acta.* 23, 795 (1940).
3. W. Juda and A. Mcrae, *J. Am. Chem. Soc.* 72, 1044 (1950).
4. 김세권, 식품공업분야의 막분리기술과 그 응용, *기술정보* 1, 38 (1986).
5. B. Kunst and S. Sourirajan, *Appl. Polm. Sci.* 18, 347 (1970).
6. A. S. Michaels, *Ind. Eng. Chem.* 75, 32 (1965)
7. 장규섭, *식품과학과 산업* 32, 2 (1999).
8. 伊藤健介, 神武正信, *化學と生物* 22, 166 (1984).
9. 中川公一, *月刊フードケミカル* 7, 98 (1994).
10. 松尾 繁, *月刊フードケミカル* 12, 43 (1988).
11. 岩間昭男, *油化學* 34, 852 (1985).
12. J.C.S. Wu and E. H. Lee, *J. Membr. Sci.* 154, 251 (1999).
13. 김길환, 박현진, 김동만, *한국식품과학회지* 20, 419 (1988).
14. 中西祥晃, *月刊フードケミカル* 12, 27 (1988).
15. 濱田 孝司, 福島 弥一, 茂田井 宏, *New Food Industry* 34, 20 (1992).
16. 佐木 武, *食品と開發* 34, 15 (1999).
17. F. A. Glover and B. E. Brooker, *J. Food Res.* 41, 89 (1974).
18. T. Philip, *Food Technol. Dec.*, 107, (1984).
19. Y. Nomura, M. Iwahara and M. Hongo, *World J. Microbiol Biotechnol.* 10, 427 (1994).
20. M. Siebold, P. V. Frieling, R. Joppien, D. Rindfleisch, K. Schuegerl, H. Roeper, *Proc. Biochem.* 30, 81 (1994).
21. I. S. Goldstein, F. B. Makool, H. S. Sabharwal and T. M. Singh, *Appl. Biochem. Biotechn.* 20, 95 (1989).
22. 神保尚辛, *月刊フードケミカル* 4, 25 (1992).
23. S. B. Lin, W. D. Chiang, C. T. Cordle and R. L. Thomas, *J. Food Sci.* 62, 480 (1997).
24. W. D. Chiang, C. J. Shih and Y. H. Chu, *Food Chem.* 65, 189 (1999).
25. Y. J. Jeon and S. K. Kim, *Carbohydrate Polymers* 41, 133 (2000).
26. Y. J. Jeon and S. K. Kim, *Proc. Biochem.* 35, 623 (2000).
27. K. E. Rice, J. Watkins and C. G. Hill, *Biotechn. Bioeng.* 63, 33 (1999).
28. T. Yamane, M. M. Hoq and S. Shimizu, *J. Jap. Oil Chem. Soc.* 35, 10 (1986).
29. 編輯部, *食品と開發* 34, 14 (1999).
30. S. W. Lee, M. Shimizu, S. Kaminogawa and K. Yamauchi, *Agric. Biol. Chem.* 57, 952 (1987).
31. M. Saito, K. Chikuni, M. Monma and M. Shimizu, *Biosci. Biotech. Biochem.* 57, 952 (1993).
32. L. R. Beuchat, J. Cherry and M. R. Quinn, *Agric. Food Chem.* 23, 616 (1975).
33. B. D. Rebeca, M. T. Pena-Vera and M. Diaz-Castaneda, *J. Food Sci.* 56, 309 (1991).

34. N. Sakai, M. Noyori, H. Matsunaga and T. Hanzawa, *Nippon Shokuhin Kogaku Kaishi* 42, 301 (1995).
35. 김세권, 곽동채, *한국농화학회지* 34, 262 (1991).
36. G. B. Quaglia and E. Orban, *J. Food Sci.* 55, 1571 (1990).
37. K. Sugiyama, M. Egawa, H. Onzuka and K. Oba, *Nippon Suisan Gakkaishi* 57, 475 (1991).
38. 김세권, 변희국, 전유진, 조덕제, *한국농화학회지* 37, 85 (1994).
39. 김세권, 변희국, 강태중, 송대진, *한국수산학회지* 26, 120 (1993).
40. 김세권, 변희국, *공업화학회지* 5, 681 (1994).
41. 김세권, 전유진, 변희국, 안창범, 조덕제, 이용호, *한국생물공학회지* 10, 510 (1995).
42. 최정호, 변희국, 김세권, *멤브레인* 10, 83 (2000).
43. 김세권, 변희국, 전유진, 안창범, 조덕제, 이용호, *공업화학회지* 6, 984 (1995).
44. S. K. Kim, J. T. Jung, Y. T. Kim, K. S. Nam and F. Shahidi. *J. Agric. Food Chem.* (in press)
45. H. G. Byun and S. K. Kim, *Proc. Biochem.* (in press).
46. 内田, *月刊フドケミカル* 2, 22 (1988).
47. A. Tokoro, N. Tatewaki, K. Suzuki, T. Mikami, S. Suzuki and M. Suzuki, *Chem. Pharm. Bull.* 36, 784 (1988).
48. D. F. Kendra and L. A. Hadwiger, *Exp. Mycol.* 8, 276 (1984).
49. Y. Maezaki, K. Tsuji, Y. Nakagawa, Y. Kawai, M. Akimoto, T. Tsugita, W. Takekawa, A. Terada, H. Hara and T. Mitsuoka, *Biosci. Biotech. Biochem.* 57, 1439 (1993).
50. 奥田拓道, *月刊フドケミカル* 2, 33 (1995).
51. J. Defaye, A. Gabelle and C. Pedersen, *Carbohydrates Research* 261, 267 (1994).
52. M. Izume and A. Ohtakara, *Agric. Biol. Chem.* 51, 1189 (1987).
53. 전유진, 김세권, *한국키티킨토산학회지* 4, 115 (1999).
54. Yazawa K. et al. *J. Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)* 40: 975 (1991)
55. Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75: 1767 (1998)
56. Miller, C. et al. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 65: 927 (1988)