

갑각류 외피의 유효이용을 위한 Chitin 및 Chitosan의 제조와 물성학적 특성에 관한 연구

1. Chitosan의 분자량과 탈아세틸화도에 미치는 제조조건의 영향

이근태 · 박성민 · 백운두
부산수산대학교 식품공학과

Preparation and Rheological Properties of Chitin and Chitosan

1. Effect of preparation condition on the degree of deacetylation and the molecular weight of chitosan

Keun-Tai LEE, Seong-Min PARK and Oon-Doo BAIK

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

Chitosan was prepared from red snow crab (*Chinonectes japonicus*) under various conditions of deacetylation (NaOH concentration, heating temperature, heating time and intermittent and repetition treatment). By measuring the degree of deacetylation and the molecular weight (Mw), effect of preparation condition was studied. As the concentration of NaOH increased in deacetylation process, for chitosan treated over 40% NaOH, the rate of increase of the deacetylation of chitosan decreased, but the difference of Mw decrease was nearly constant. When treatment temperature increased from 130°C to 150°C, the deacetylation degree increased only 3% from 84% to 87%, but Mw decreased from 267,000 to 85,800. The difference of Mw decrease of chitosan treated 130~150°C was larger than that with 90°C~130°C. The deacetylation degree and Mw of the chitosan prepared by continuous treatment for 3 hrs was 84% and 267,000. On the other hand those of chitosan with intermittent and repetition treatment for 3hrs was 93% and 28,000. In order to increase the degree of deacetylation and inhibit depolymerizing, the intermittent and repetition treatment was found to be more effective than the continuous treatment.

Key words : chitosan, condition of preparation, degree of deacetylation, molecular weghit

서 론

Chitosan은 chitin과 달리 formic acid, lactic acid, ascorbic acid, acetic acid 등 유기산의 수용액이나 묽은 염산과 같은 무기산에 잘 용해되는 특성을 가지고 있다(Muzzarelli, 1977a). 이러한 chitosan은 인체에 무독하고(Arai et al., 1968), 막형성능, 유화능, 흡착능 등이 뛰어나 의약, 환경, 식품분야에서 효소 고정화용 담체, 항종양제 및 항콜레스테롤제, 응집제, 흡착제, 유화제 등으로 이용하기 위한 연구가 이루어지고 있다

(Bough and Landes, 1978; Knorr, 1984; Senstad and Mattiasson, 1988; Roberts and Taylor 1988).

Chitosan의 분자량과 탈아세틸화도는 chitosan의 기능특성에 있어 가장 중요한 인자로서 필름형성능 및 물리적 강도는 분자량이 높을수록 크며(Muzzarelli, 1977b), 응집성은 탈아세틸화도가 높을수록 우수하다고 알려져 있다(Bough and Landes, 1978). Chitosan의 분자량과 탈아세틸화도는 제조조건에 따라 많은 차이가 있으므로(Wu and Bough, 1978) 산업적 이용목적에 적합한 chitosan의 제조를 위해서는 NaOH농도, 가

1. Chitosan의 분자량과 탈아세틸화도에 미치는 제조조건의 영향

열온도, 가열시간, 연속처리 및 간헐알칼리처리 등의 제조조건이 chitosan의 분자량과 탈아세틸화도에 미치는 영향에 대한 조사가 선행되어야 할 것이다.

점도를 측정된 다음(Rabek, 1980) 이로부터 고유점도와 분자량의 관계를 나타낸 Mark-Houwink 식($[\eta] = K \times Mw^a$)을 이용하여 분자량을 구하였다. 이때 상수인 K와 a는 Roberts와 Domszy(1982)가 구한 값 3.04×10^{-5} 과 1.26을 사용하였다.

재료 및 방법

1. 재료

Chitosan의 원료는 경북 영덕군 강구면 소재 개가공공장에서 가공 후 폐기되는 붉은 대게(*Chimonocetes japonicus*)의 갑각을 수거하여 이것을 수세한 후 50°C에서 열풍건조하고 20mesh 정도로 분쇄한 후 플라스틱 용기에 넣어 5°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 방법

(1) Chitosan의 제조

분쇄한 원료갑각(100g)에 2N HCl용액(1l)을 가하여 교반하면서 3시간 동안 상온에서 처리한 후 수세한 액의 pH가 중성이 될 때까지 수회수세한 다음 50°C에서 열풍건조하였다. 이상과 같이 탈회분한 시료에 다시 1N NaOH 용액을 시료 중량의 10배 가하여 100°C에서 3시간 반응시켜 단백질을 제거하여 chitin을 제조한 후 이를 탈아세틸화하여 chitosan을 얻었다. 이때 탈아세틸화의 조건으로 NaOH 농도는 30%~60%로 하였고, 가열온도는 90°C~150°C로 하였으며, 처리시간은 60분~240분으로 하였다. 그리고 간헐반복 처리회수는 60분간 NaOH처리한 후 수세한 액의 pH가 중성이 될 때까지 수세하는 과정을 1회로 하고 1회에서 얻은 chitosan을 다시 60분간 NaOH처리하여 수세하는 것을 2회로 하여 3회, 4회까지 처리하여 chitosan을 제조하였다.

(2) 탈아세틸화도 측정

각 조건에서 제조된 chitosan의 IR spectrum을 측정하여 2878cm⁻¹에서의 흡광도와 1550cm⁻¹에서의 흡광도의 비(A1550/A2878)를 구한 다음 Sannan 등(1978)이 제시한 검량선을 이용하여 탈아세틸화도를 계산하였다.

(3) 분자량 측정

Chitosan의 분자량은 먼저 모세관 점도계를 사용하여 chitosan-0.1M acetic acid-0.02M NaCl 용액의 고유

결과 및 고찰

1. 알칼리 농도의 영향

NaOH 농도를 30%, 40%, 50% 및 60%로 하여 chitin을 130°C에서 3시간 처리하였을 때의 각 NaOH 농도별 탈아세틸화도 및 분자량은 Fig. 1과 같다. NaOH의 농도가 높을수록 탈아세틸화는 많이 일어났으며, 30%에서 40%로 농도가 증가하였을 때 탈아세틸화도는 68%에서 80%로 급격히 증가하였으나 40% 이상의 농도로 처리하였을 경우 농도의 증가에 따른 탈아세틸화도의 증가폭은 줄어들었다. Amide 결합은 염기적 조건에서 ester 결합(β -1,4)보다 강하기 때문에 탈아세틸화시 ester 결합이 절단되어 분자량이 감소하게 되는데(Muzzarelli, 1977c), chitosan의 분자량은 NaOH 농도의 증가에 반비례하여 거의 직선적으로 감소하였다. 탈아세틸화도와 분자량을 동시에 고려할 경우 NaOH 농도는 40~50%가 적당한 것으로 나타났다.

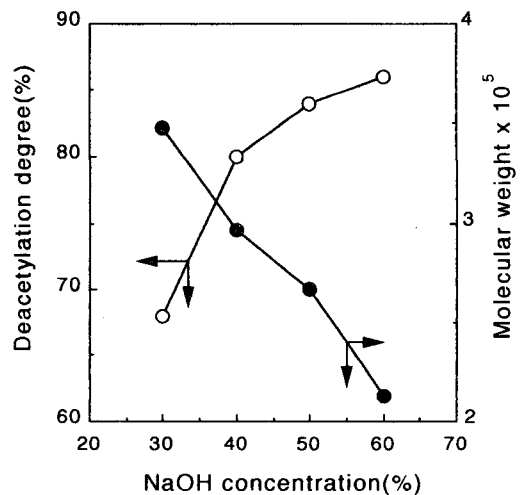


Fig. 1. Effect of NaOH concentration on the molecular weight and the deacetylation degree of chitosan prepared at 130°C for 3hrs.

2. 가열온도의 영향

Chitin을 90°C, 110°C, 130°C 및 150°C에서 50% NaOH로 각각 3시간 처리하였을 때 가열온도별 탈아세틸화도 및 분자량의 결과는 Fig. 2와 같다. 90°C에서 130°C까지는 온도상승에 비례하여 탈아세틸화도가 크게 증가하였으나 130°C이상에서는 탈아세틸화도의 증가는 매우 적었다. 반면 분자량은 90°C에서 130°C까지는 소폭 감소하였으나 130°C이상에서는 그 감소폭이 매우 큰 것으로 나타났다. 130°C이상의 탈아세틸화 처리는 탈아세틸화도는 소폭 증가시키고 분자량 감소만 크게 하는 단점이 있으므로 130°C 이하에서 처리하는 것이 적당하다고 생각된다.

3. 가열시간의 영향

Fig. 3에 chitin을 50% NaOH로 130°C에서 60분, 90분, 120분, 180분, 210분 및 240분간 반응시켰을 때 탈아세틸화도와 분자량의 변화를 나타내었다. 120분간 처리하였을 경우 탈아세틸화도는 82%로 급격히 증가하였으나 그 이상의 처리시간에서는 처리시간이 길어져도 탈아세틸화도의 증가는 적었으며, 210분 이상 처리하였을 경우 탈아세틸화는 더 이상 일어나지 않았다. 이에 비해 분자량은 처리시간 60분에서 120분까지는 346,000에서 288,000으로 급격히 감소했고 그 보다 장시간 처리할 경우 분자량의 감소는 약간 줄었으나 탈아세틸화도의 증가에 비하여 분자량의 감소폭이 더 크게 나타났다. 이런 경향은 새우외피로 제조한 chitin을 재료로 하여 실험한 Wu(1978)의 보고와도 거의 일치하였다. 따라서 130°C에서는 3시간 이상 알칼리처리할 경우 탈아세틸화도는 변화하지 않고 분자량만 감소되므로 3시간 이하로 처리하는 것이 바람직하다.

4. 알칼리처리 회수의 영향

Chitin을 50% NaOH로 130°C에서 1시간 처리 후 수세하고, 같은 조작을 반복하여 2회, 3회, 4회 알칼리처리하였으며, 또한 3회 알칼리처리한 chitosan을 0.2M acetic acid에 녹인 후 이 용액을 교반하면서 1N NaOH를 적하하여 재침전시켜 정제한 chitosan을 1회 더 처리하였다. 이렇게 처리한 각 chitosan의 탈아세틸화도 및 분자량의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 연속적으로 처리한 chitosan의 탈아세틸화도와 비교하여

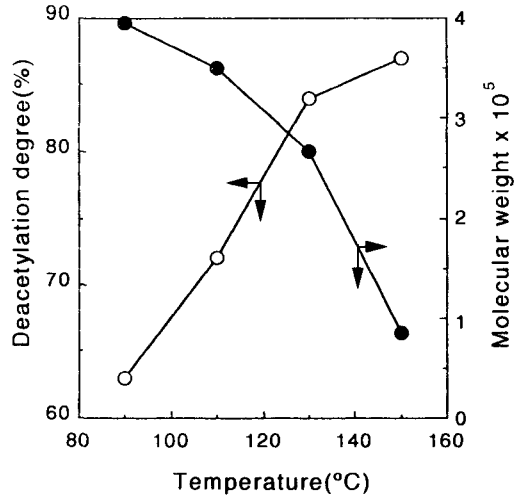


Fig. 2. Effect of heating temperature on the molecular weight and the deacetylation degree of chitosan prepared with 50% NaOH for 3hrs.

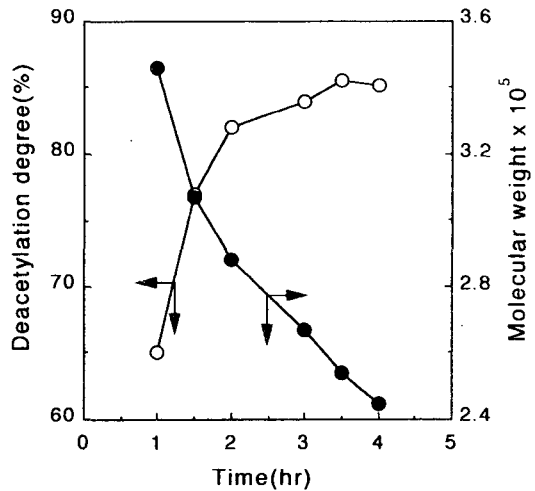


Fig. 3. Effect of heating time on the molecular weight and the deacetylation degree of chitosan prepared with 50% NaOH at 130°C.

간헐적으로 반복처리한 chitosan의 탈아세틸화도가 전체적으로 높았다. 연속적으로 3시간 이상 알칼리처리하여 86% 이상의 탈아세틸화도를 얻을 수 없었지만 간헐적으로 반복처리한 경우 3회 처리했을 때 93%의 탈아세틸화가 일어났다. 또 4회 반복처리한 chitosan의 탈아세틸화도는 93.3%로 3회 반복처리한 것에 비해 거의 증가하지 않았지만 3회 간헐적으로 처리한

1. Chitosan의 분자량과 탈아세틸화도에 미치는 제조조건에 미치는 영향

chitosan을 정제한 후 1회 더 알칼리처리한 것은 97%의 탈아세틸화도를 나타내었고 그 때의 분자량은 186,000이었다. 연속으로 3시간 처리했을 경우 탈아세틸화도는 84%이었고, 분자량은 267,000이었으나 간헐 반복처리로 3시간처리 했을 때는 탈아세틸화도가 93%, 분자량은 280,000으로 연속처리한 경우보다 더 높았다. 따라서 간헐적 알칼리처리가 연속처리보다 탈아세틸화도는 더 높여주고, 분자량 감소는 억제시키는 방법이라고 판단되었는데, 이는 연속알칼리처리에서 시료와 반응 후 소실되는 NaOH가 간헐반복처리할때 다시 공급되기 때문에 탈아세틸 효과가 큰 것이라고 사료되며, Fig. 4에서 연속처리초반에는 처리후반에 비해 탈아세틸화 효과는 우수하고 분자량감소는 적었던 것으로 나타났는데 간헐반복처리는 연속처리초기 조건에서 반복 알칼리 처리하므로 이상의 결과가 나타났다고 본다.

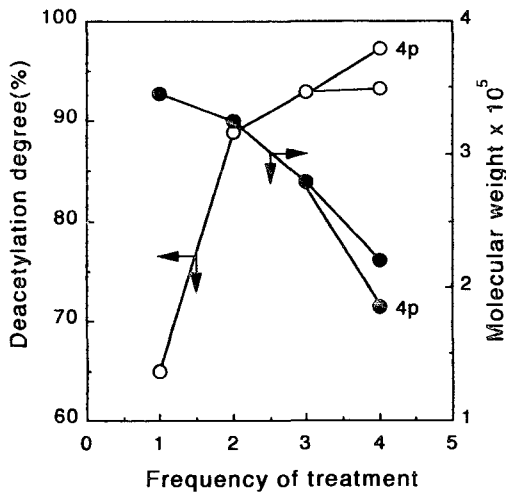


Fig. 4. Effect of frequency of repetition treatment on the molecular weight and the deacetylation degree of chitosan prepared with 50% NaOH at 130°C.

4p: The letter p indicates additional alkali treatment after the purification of chitosan sample.

요 약

Chitosan의 탈아세틸화도와 분자량에 미치는 chitosan 제조조건에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

탈아세틸화 과정에서 NaOH 농도가 높을수록 탈아세틸화는 많이 일어났으나 40% 이상의 농도에서는 농도가 증가할수록 탈아세틸화의 증가폭은 감소하고, 분자량의 감소폭은 줄어들지 않았다. 가열온도를 130°C에서 150°C로 증가시켰을 때 탈아세틸화도는 84%에서 87%로 3% 정도 증가한 반면 분자량은 267,000에서 85,800로 90°C에서 130°C로 증가하였을 때의 분자량 감소폭보다 크게 나타났다. 그리고 3시간 이상 연속 알칼리처리하여도 86% 이상의 탈아세틸화도를 얻지 못하였지만 간헐적으로 수세하여 처리한 경우 3회 처리하였을 때 93%의 탈아세틸화가 일어났다. 연속으로 3시간 처리했을 경우 탈아세틸화도는 84%이었고, 분자량은 267,000이었으나 간헐반복처리로 3시간처리 했을 때는 탈아세틸화도가 93%, 분자량은 280,000으로 연속처리한 경우보다 더 높았다.

감사의 글

이 연구는 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비 지원에 의하여 연구된 결과의 일부이며 이에 깊은 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

- Arai, K., T. Kinumaki and T. Fujita. 1968. Toxicity of chitosan. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., 56, 89~94.
- Bough, W. A. and D. R. Landes. 1978. Treatment of food processing wastes with chitosan and nutritional evolution of coagulated by-products. Proceedings of the International Conference on Chitin/Chitosan, 1, 218~230.
- Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food: A challenge for food research and development. Food Tech., 38, 85~97.
- Muzzarelli, R. A. A. 1977a. Chitin. Pergamon Press, Oxford, pp. 58~65.
- Muzzarelli, R. A. A. 1977b. Chitin. Pergamon Press, Oxford, pp. 69~78.

- Muzzarelli, R. A. A. 1977c. Chitin. Pergamon Press, Oxford, pp. 94~101.
- Rabek, F. J. 1980. Experimental methods in polymer chemistry. Pitman Press, pp. 123~141.
- Roberts, G. A. F. and J. G. Domszy. 1982. Determination of the viscometric constants for chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.*, 4, 374~377.
- Roberts, G. A. F. and K. E. Taylor. 1988. The preparation and characterization of chitin beads for use in chromatography. *Proceedings of the International Conference on Chitin/Chitosan*, 1, 577~588.
- Sannan, T., K. Kurita, K. Ogura and Y. Iwakura. 1978. Studies on chitin: 7. I.R. spectroscopic determination of degree of deacetylation. *Polymer*, 19, 458~459.
- Senstad, C. and B. Mattiasson. 1988. Chitosan as a ligand carrier in affinity precipitation. *Proceedings of the International Conference on Chitin/Chitosan*, 4, 589~603.
- Wu, A. C. M. and W. A. Bough. 1978. A study of variables in the chitosan manufacturing process in relation to molecular-weight distribution, Chemical characteristics and waste-treatment effectiveness. *Proceedings of the International Conference on Chitin/Chitosan*, 1, 88~102.
-
- 1995년 4월 14일 접수
1995년 6월 12일 수리