

차아염소산나트륨을 이용한 새우 키틴의 탈색

안창원 · 남희섭 · 이형재 · 신용철*

(주)농심 기술개발연구소

*경상대학교 미생물학과

Decolorization of Shrimp Chitin Using Sodium Hypochlorite

Chang-Won Ahn, Hee-Sop Nam, Hyung-Jae Lee and Yong-Choul Shin*

Research & Development Center, Nong Shim

*Department of Microbiology, Gyeongsang National University

Abstract

An effective process manufacturing the decolorized chitin with high quality was established using shrimp shell powder. Ash and protein in shrimp shell powder were efficiently removed by 1.66% HCl and 3% NaOH treatments, respectively. A bleached chitin could be also obtained by 0.16% NaClO for 30 minutes, the treatment of which was much better than previously reported decolorization methods such as ethanol, acetone and H₂O₂ treatments. Since the pattern of IR spectrum of sample chitin was closely similar to those of commercially available chitins and the degree of deacetylation showed low value of 22.8%, it could be concluded that the bleached chitin obtained had highly-purified character as well as high quality of appearance.

Key words: chitin, decolorization, sodium hypochlorite

서 론

Chitin(poly-β-(1,4)-N-acetyl-D-glucosamine) 및 chitosan(poly-β-(1,4)-D-glucosamine)은 지구상에서 cellulose 다음으로 풍부한 biomass로, 분자량 100만 이상의 천연 고분자 물질이다. 그동안 미활용 생물자원으로 방치되어 있던 이들은, 최근 chitin, chitosan의 공업적 제조방법의 정립과 더불어 응집제, 효소고정화제, 화장품, 의약품, 토양개량제 등으로 활용코자 하는 응용연구가 활발히 진행되고 있다¹⁻³⁾. 특히 항균력, 항암력, 면역활성 및 cholesterol저하효과 등의 생리활성이 알려짐에 따라 새로운 식품소재로서의 활용에 대한 관심이 주목되고 있다²⁻⁵⁾. 한편, 공업적으로 chitin의 원료로 공급되는 게, 새우의 껍질은 산업폐기물로 알려져 있어 chitin을 만들어 사용하는 것이 폐기물처리라는 측면에서도 관심의 대상이 되고 있다⁶⁾.

Chitin을 제조하기 위해서는 chitin과 결합되어 있는 수용성, 불용성 단백질과 CaCO₃가 주성분인 무기염의 제거, 그리고 지방질 및 색소 등의 제거가 필요하다. Chitin의 제조방법으로 잘 알려진 Hackman의 방법⁷⁾은, (1) HCl처리에 의한 무기염제거, (2) NaOH 가열처리에 의한

단백질 제거, (3) 유기용매처리에 의한 지방질 및 색소 제거 순의 공정을 통하여 chitin을 제조한다. 그러나, 이 방법은 chitin의 탈아세틸화도가 높아지며, 분자량이 감소된다는 단점을 가지고 있으므로, 용도와 원료에 따라 적절한 제조방법을 나름대로 모색하는 것이 바람직하다. 특히, 새우를 원료로 사용하여 chitin을 제조할 경우에, chitin의 색소 흡착능력으로 인해²⁾ xanthophyll계통의 색소가 잔존하게 되므로 이들 색소를 효율적으로 제거하여야 한다.

본고에서는, 새우껍질로부터 순수한 chitin을 제조하여 식품첨가물로 허가되고 있는 차아염소산나트륨을 이용하여 효과적인 탈색처리를 할 수 있는 공정에 대해 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

국내산(전북 근해) 보리새우(*Penaeus japonicus*)껍질을 건조한 후 분쇄하여 분석용 표준망체 18 mesh로 통과시킨 분말을 시료로 사용하였다.

일반성분 분석

수분, 지방, 단백질, 회분 등의 일반성분 분석은 A.O.A.C.법⁸⁾에 따라 측정하였다.

Corresponding author: Hee-Sop Nam, Research & Development Center, Nong Shim Co., Ltd., 203-1, Dangjeong-dong, Kunpo-si, Kyungki-do 435-030, Korea

Chitin의 제조

새우껍질의 건조 분말로부터 chitin을 제조하기 위해 Hackman의 방법⁽⁷⁾을 수정하여 사용하였다. 회분을 제거하기 위해 원료 중량의 10배를 기준으로 0.83%, 1.66%, 2.49%, 3.32%의 HCl을 가한 후 상온에서 200 rpm으로 2시간 교반시켰다. 교반 후 Whatman No.4 여과지를 사용하여 여과하고, 잔사를 증류수로 세척하여 다시 여과해서 여과액이 중성이 될 때까지 이 과정을 반복하였다. 단백질을 제거하기 위해서는, HCl 처리에 의해 회분이 제거된 시료에 원료 중량의 10배를 기준으로 0.5%, 1.0%, 2.0%, 3.0%, 5.0%의 NaOH를 가하여 97±3℃에서 200 rpm으로 2시간동안 교반시켰다. HCl 처리시와 동일한 방법으로 여과, 세척, 중화를 실시하였다. 상기 실험에서 얻은 시료를 탈색처리에 사용하였다.

Chitin의 탈색

위에서 제조된 chitin에 차아염소산나트륨을 처리하여 탈색 실험하였다. 회분과 단백질이 제거된 시료 chitin에 원료중량의 10배를 기준으로 0.08%, 0.16%, 0.32%의 차아염소산나트륨을 가하여 상온에서 100 rpm으로 교반시켰다. 교반후 Whatman No.4 여과지를 사용하여 여과하고, 잔사를 증류수로 세척하여 다시 여과해서 여과액에서 염소이온이 검출되지 않을 때까지 반복하였다. Chitin의 색도는 Hunter 색체계의 ΔE값으로 나타내었다. ΔE는 시료와 표준백색간의 색차를 공간적인 거리로 표현한 것으로, 색차계(Minolta Model CR-200b)를 이용하여 Hunter scale에 의한 L, a, b값을 측정후 ΔE로 표시하였다.

탈색된 chitin의 탈아세틸화도는 IR spectrophotometer(Bio-Rad Model FTS-7)로 IR spectrum을 측정하여, Sannan 등⁽⁹⁾과 김 등⁽¹⁰⁾의 방법에 따라 1550 cm⁻¹과 2878 cm⁻¹의 흡광도의 비(A1550/A2878)를 구하여 다음식에서 탈아세틸화도를 계산하였다.

$$\text{탈아세틸화도}(\%) = -34.68 \times \frac{A_{1550}}{A_{2878}} + 98.03$$

결과 및 고찰

새우껍질 분말의 일반성분

일반적으로 새우껍질의 성분은, 종류, 산지, 가공방법에 따라 다소 변동이 있을 수 있다. 본 실험에 사용한 국내산 새우껍질 건조 분말의 일반성분을 보면(Table 1), 단백질이 53.2%로 다른 새우껍질^(11,12)보다 훨씬 높았다. 이것은 새우껍질에 새우 육질부분이 상당수 남아 있음을 의미하였다. 한편, chitin을 포함한 기타성분은 17.7%였다.

회분제거

새우껍질에 존재하는 chitin은 단백질과 CaCO₃가 주

Table 1. Composition of shrimp shell powder (%)

Moisture	4.9
Protein	53.2
Lipid	1.4
Ash	22.8
Others (including chitin)	17.7

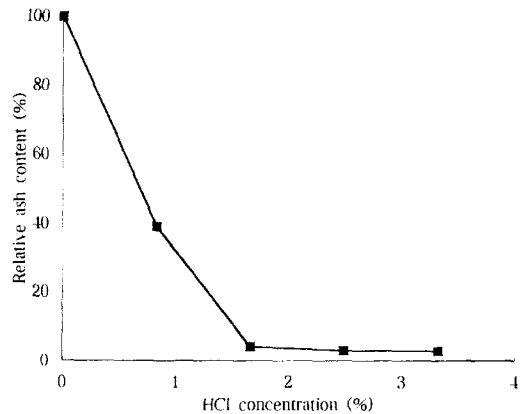


Fig. 1. Decrease residual ash content with hydrochloride treatment

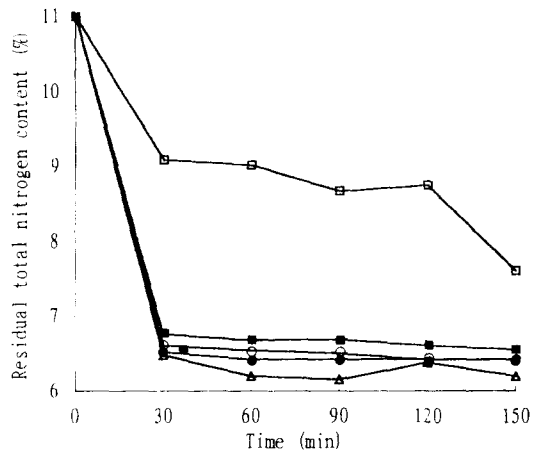


Fig. 2. Removal of protein by sodium hydroxide treatment

□-□; 0.5% NaOH, ■-■; 1.0% NaOH, ○-○; 2.0% NaOH, ●-●; 3.0% NaOH, △-△; 5.0% NaOH

성분인 무기염과 강하게 결합되어 있어, 이것을 제거하는 공정이 필요하다. Chitin을 제조하는 전형적인 방법으로서, Hackman⁽⁷⁾은 CaCO₃를 제거하기 위하여 2N HCl을 사용하였으며 단백질을 제거하기 위하여 1N NaOH를 사용하여 100℃에서 12시간 처리하였다. 그러나, chitin제조시 강산을 처리하게 되면 산가수분해가 이루어져 분

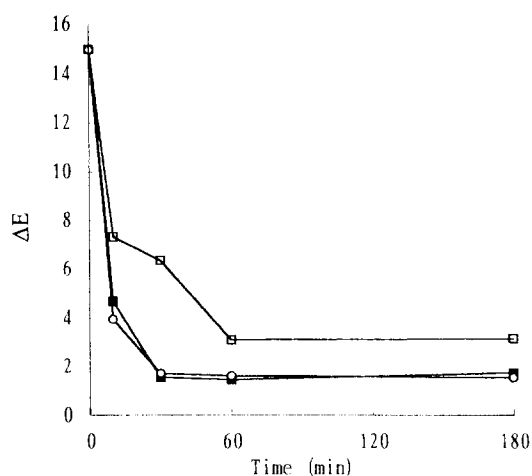


Fig. 3. Bleaching effect of crude chitin with sodium hypochlorite

□—□; 0.08% NaClO, ■—■; 0.16% NaClO, ○—○; 0.32% NaClO

자량이 감소하고, 또한 강알칼리로 장시간 처리하는 동안 탈아세틸화가 진행되어 품질이 좋은 chitin을 얻지 못하게 된다. 따라서, 본 실험에서는 Hackman의 방법을 수정하여 비교적 온화한 처리조건에서 품질좋은 chitin을 제조하고자 하였다.

새우껍질에 잔존하는 회분함량은 HCl처리농도가 높아질수록 급격히 감소하여, HCl 처리농도 1.66% 이상에서 95% 이상의 회분이 제거됨을 볼 수 있었다(Fig. 1). 그러나, 처리하는 HCl의 농도가 높아질수록 chitin의 가수분해율이 높아지기 때문에⁽¹³⁾ HCl 처리조건은, 상온에서 원료중량의 10배의 1.66% HCl로 200 rpm에서 2시간 교반 추출하는 것으로 선정하였다.

단백질 제거

NaOH처리에 의한 새우껍질의 단백질 제거는 총질소함량의 감소로 나타내었다(Fig. 2). 0.5% NaOH에서는 단백질의 제거가 충분치 못하였으나, 1% 이상의 농도에서 30분 이상 처리하면 단백질이 현저히 제거됨을 볼 수 있었다. 본 실험에서는 단백질을 충분히 제거하기 위하여 3% NaOH를 1시간 처리하는 것을 최적 조건으로 선정하였다. 이 조건에서 HCl처리 후 잔존하던 11.0%의 총질소함량이 6.4%로 감소하였다. 일반적으로 제조된 chitin의 질소함량이 6~7%이고⁽¹¹⁾, 이론적인 순수 chitin의 질소함량치가 6.89%임을 감안할 때, 본 실험결과 얻어진 chitin의 질소함량은 비교적 낮은 값을 보였다. 이는 양 등의 결과에서⁽¹¹⁾ 보리새우로부터 제조된 chitin의 질소함량이 6.64%였다는 결과와 유사하게 나타났다.

Table 2. Comparison of degree of bleaching effect with other methods

Treatment	$\Delta E^{1)}$
No treatment	15.0
95% ethanol, 24 hr	14.7 ⁽⁷⁾
100% acetone, 24 hr	14.6 ⁽¹¹⁾
10% H ₂ O ₂ , 24 hr	5.8 ⁽¹²⁾
30% H ₂ O ₂ , 24 hr	4.3
0.16% NaClO, 30 min	1.6

$$^1\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

Table 3. Comparison of quality of experimentally purified chitin with other products

Product	ΔE	DDA ¹⁾
Sigma	12.7	26.24
"A" company	4.4	29.71
NaClO treatment	1.6	22.77

¹⁾Degree of deacetylation, calculated from Sannan's equation⁽⁹⁾ and IR spectrum (A_{1550}/A_{2878})

탈색제에 의한 영향

새우껍질의 건조 분말로부터 회분과 단백질이 제거된 시료는 xanthophyll계 색소에 의해 연분홍색을 띄었다. 색을 띄고 있는 chitin은 그 응용대상제품의 외관에 영향을 줄 수 있어 사용이 제한될 수 있다. 따라서, 탈색공정을 통하여 무색의 chitin을 제조하는 것은 chitin의 활용폭을 넓히는 방법이 된다. 차아염소산나트륨의 처리농도와 처리 시간별 chitin의 색도변화를 관찰하여 최적 처리 농도와 처리 시간을 결정하고, 기존에 사용되던 여러 탈색방법들^(7,14,15)과 비교하였다.

회분과 단백질이 제거된 시료에 차아염소산나트륨을 처리하면 강력한 탈색효과가 나타났다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 차아염소산나트륨의 처리 농도와 처리 시간이 증가함에 따라 ΔE 값이 급격히 감소하여, 처리농도 0.16%, 처리시간 30분에서 충분한 탈색효과를 보여주었다. 이 결과는 기존에 chitin의 색소 제거에 사용되었던 ethanol⁽⁷⁾, acetone처리⁽¹⁴⁾보다 훨씬 큰 효과를 보였으며, 30% 이상 고농도의 H₂O₂를 이용하여 장시간 처리하는 방법⁽¹⁵⁾보다 더 좋은 탈색효과를 나타내었다(Table 2). 또, 기존의 시판 제품들과의 색도를 비교해 본 결과(Table 3), 시판 chitin들보다 훨씬 낮은 ΔE 값을 보이고, 무색에 가까와 식품에의 적용에 훨씬 유리한 것으로 나타났다.

본 실험에서 제조, 탈색한 chitin시료의 순도와 제조 공정중에 탈아세틸화되었는지 여부를 알아보기 위해 IR spectrophotometer로 IR spectrum을 측정하여 시판 chitin과 비교하였다(Fig. 4). 시료 chitin의 IR spectrum은 전반적으로 시판 chitin들과 유사한 band 양상을 보였다. 2880 cm⁻¹ 근처의 band는 C-H group, 3200 cm⁻¹ 근처의

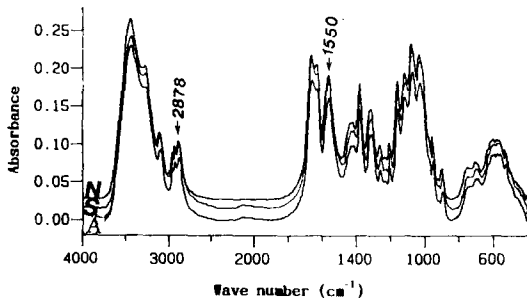


Fig. 4. Infrared spectra of various chitin samples (N; NaClO treatment, S; Sigma, A; "A" company)

band는 C-OH group, 1650 cm^{-1} , 1550 cm^{-1} 근처의 band들은 각각 amide I과 amide II의 band로 보여져^(9,10), chitin의 IR spectrum이 시료에 따라 조금씩 차이는 있으나 대체로 3263 cm^{-1} , 1655 cm^{-1} , 1620 cm^{-1} 과 1550 cm^{-1} 근처에서 공통적인 band가 나타난다고 보고한 Feofilova 등의 보고⁽¹⁶⁾와 일치하였다.

처리시료의 탈아세틸화도

시료 chitin의 탈아세틸화도를 측정하기 위하여 IR spectrum의 결과를 Sannan의 식에 대입하였다. Sannan 등⁽⁹⁾은 화학적으로 정량한 chitin의 탈아세틸화도와 IR spectrum상의 흡광도간의 상관 관계를 연구한 결과, IR spectrum상의 amide II group에 해당하는 band의 흡광도가 탈아세틸화도와 높은 상관관계가 있음을 밝혔다. Sannan의 식에 따라 구한 시료chitin의 탈아세틸화도는 22.77%(Table 3), 시판 chitin들과 비교해서 낮은 값을 나타내어, 본 실험에서 채택한 차아염소산나트륨을 탈아세틸화를 적게 일으키는 우수한 chitin탈색방법으로 판단되었다.

요 약

새우껍질 건조 분말을 원료로 하여 품질이 우수하고 효과적으로 탈색된 chitin을 제조하는 공정을 정립하였다. 새우껍질에서 회분을 제거하기 위한 최적조건은 1.66% HCl로 2시간 교반 추출하는 것이었으며, 단백질을 3% NaOH로 1시간 처리에 의해 효과적으로 제거되었다. 또, 탈색제로 0.16% 차아염소산나트륨을 30분간 처리하여 백색의 키틴을 얻을 수 있었다. 이 탈색처리는 ethanol, acetone, H_2O_2 처리 등의 기준에 보고된 탈색방법들보다 월등한 효과를 나타내었다. 실험적으로 제조된 chitin의

IR spectrum 양상은 시판 chitin들과 유사하였으며, 탈아세틸화도는 22.8%의 비교적 낮은 값을 나타내어 품질이 우수한 chitin임을 알 수 있었다.

문 헌

1. 키틴, 키토산 연구회: 最後の バイオマス 키틴, 키토산. 技報堂, p.51(1988)
2. 변희국, 강옥주, 김세권: 키틴 및 키토신 유도체의 합성과 그 물리화학적 특성. 한국농화학회지, 35, 265 (1992)
3. Hirano, S.: Biological functions of chitin and chitosan in animal organs and tissues. *Food & Food Ing. J. Japan*, 159, 65(1994)
4. Austin, P.R., Brine, C.J., Castle, J.E. and Zikakis, J.P.: Chitin: New facets of research. *Science*, 212, 749 (1981)
5. Knorr, D.: Use of chitinous polymer in food. *Food Technol.*, 38, 85(1984)
6. Knorr, D.: Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol.*, 45, 114(1991)
7. Hackman, R.H.: Studies on chitin I. Enzymic degradation of chitin and chitin esters. *Aust. J. Biol. Sci.*, 7, 168(1954)
8. A.O.A.C.: Official Method of Analysis, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., p.330(1984)
9. Sannan, T., Kurita, K., Ogura, K. and Iwakura, Y.: Studies on chitin: 7. I.R. spectroscopic determination of degree of deacetylation. *Polymer*, 19, 458(1978)
10. 김성배, 박태경: 게 껍질로부터 chitin의 분리 및 특성 규명. 한국생물공학회지, 9, 174(1994)
11. 양 용, 현준호, 황윤희: Chitin의 산업적 이용을 위한 기초연구. 한국식품과학회지, 24, 14(1992)
12. 안창범, 이용호: 갑각류 부산물을 이용한 키틴의 제조 및 이용에 관한 연구; 1. 키틴, 키토산 및 미세결정화 키틴의 기능특성. 한국수산학회지, 25, 45(1992)
13. 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)
14. Dunn, H.J. and Farr, M.P.: Microcrystalline chitin. U.S. Patent 3,847,897 (1974)
15. Horowitz, S.T., Roseman, S. and Blumenthal, H.J.: The preparation of glucosamine oligosaccharides. I. separation. *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 5046(1957)
16. Feofilova, E.P., Tereshina, V.M., Ivanova, N.I., Genei, Y.V. and Gopenngauz, F.L.: Physicochemical properties of the chitin of crabs and certain microscopic fungi. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 16, 377(1980)

(1994년 10월 12일 접수)