

마이크로파를 이용한 게껍질로부터 키틴/키토산 분리제조반응

최광진

인제대학교 신소재공학부

Production of Chitosan from Crabshells using Microwave

Guang Jin Choi

School of Advanced Materials Engineering, Inje University

요 약

마이크로파를 이용하여 천연 게껍질로부터 키토산을 제조하는 공정에 대한 연구가 수행되었다. 본 연구의 주목적은 키토산을 제조함에 있어서 청정에너지원으로서 마이크로파의 효율성을 시험하고자 하는 것이다. 또한 기존의 염산을 사용하는 키토산 고분자의 올리고당화 가수분해 반응을 청정촉매인 인체 식용성 유기산으로 대체하는 공정도 연구되었다.

마이크로파는 반응시간을 줄이는데는 크게 효과적임을 알 수 있었다. 그러나, 반응시간 이외에 화학적 선택성 등의 부가적인 이점은 관찰하기 어려웠다. 키토산 고분자의 가수분해 반응에 본 연구에서 사용된 유기산은 매우 효과적임이 관찰되었다. 이러한 유기산의 촉매역할은 가압반응조건에서 더욱 두드러지게 나타났다. 예를 들어 300,000 이상의 분자량을 갖는 키토산 고분자는 120°C/1시간의 가압반응을 통해서 거의 물에 가까운 점도를 갖는, 분자량이 매우 작은 키토산 올리고당으로 분해될 수 있음을 보여주었다.

ABSTRACT : A microwave-assisted process to prepare chitosan from natural crabshells has been investigated. This study was primarily to examine the effectiveness of microwave as clean energy for chitosan preparation. Several human-edible organic acids were used as clean catalyst, possibly to improve the current HCl-based hydrolysis process of polymeric chitosan.

The microwave was found to be effective substantially in reducing the reaction time. Nonetheless, no beneficial effect of microwave other than time, such as the chemical selectivity, was hardly observed. The organic acids were very effective in the hydrolysis reaction of polymeric chitosan. Their catalytic behavior was greatly improved especially when reactions were performed under pressure. In the case of autoclave reaction for 60 minutes at 120°C, viscous solution of polymeric chitosan (mol. wt. > 300,000) turned into thin solutions of water-like viscosity, which means chitosan molecules were decomposed to very small-sized oligomers.

1. 서 론

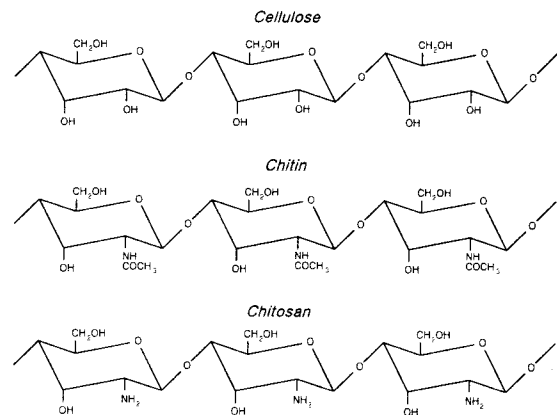
키토산(chitosan)은 천연물인 게, 새우, 곤충 등의 갑피에 많이 포함되어 있는 키틴(chitin)의 유도체이며, 지구상에서 셀룰로오스(cellulose) 다음으로 가장 풍부한 천연자원이기도 하다[1-5]. 매년 막대한 양의 산업 폐기물인 계껍질이 우리 나라 동해안 지역의 게 가공업체들로부터 배출되고 있다[5]. 이 폐기물은 방치시 주요 환경오염원이 될 수 있으나 경제적 활용 측면에서는 키틴의 우수한 원료로 이용될 수 있다.

키틴(poly- β -(1-4)-N-acetyl-D-glucosamine)은 α -키틴과 β -키틴이 있으며, α -키틴은 갑각류 외각의 주요 구성성분이다[2,11]. 지금까지 갑각류 폐기물로부터 키틴을 분리하기 위한 여러 방법들이 개발되어 왔으며, 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 톤에 이르는 것으로 추정되고 있다. 우리 나라의 경우, 1991년도 갑각류의 총 생산량은 109,423 톤이며 이중 연근해 어업의 생산량 중 50%인 53,493 톤은 게이며 나머지는 새우인 것으로 알려져 있다[5].

갑각류 폐기물은 주로 30-40%의 단백질과 30-50%의 탄산칼슘 및 20-30%의 키틴으로 구성되어 있다[6-7]. 그러나, 이들 비율은 갑각류의 종류와 계절 등에 따라 다르므로, 이에 따른 키틴 분리조건도 다르며, 따라서 분리된 물리화학적 특성 및 기능성도 갑각류의 종류와 제조방법에 따라 차이가 있다. 그러나, 여러 화학적 처리에 기초를 두고 있는 분리방법들의 공통적인 문제점은 고농도의 염산 폐수와 수산화나트륨 폐수의 발생과 처리, 고농도의 산-염기 용액에서 장시간 반응으로 인해 일어나는 키틴의 변성이다[8-10]. 이외에도 계껍질의 처리공정후 방류되는 산과 염기 폐수는 매우 심각한 환경문제로 대두되고 있다.

키토산 및 키토산-올리고당은 그 이용 범위가 매우 넓은데, 응집제, 식품 첨가제, 의료용 재료 등

로 크게 나눌 수 있다[12-13]. [Figure-1]은 유사한 구조를 갖는 셀룰로오스, 키틴 및 키토산의 화학구조를 비교한 그림이다. 응집제로 사용되어지는 키토산은 주로 저급 키토산으로 그 가격이 매우 싸다. 그러나 식품용 및 의약제용(주로 키토산-올리고당이 사용), 의료용 재료로 사용되어 지는 키토산, 키토산-올리고당은 응집제로 사용되어지는 저급 키토산에 비해 그 가격이 원료의 차이로만 약 수십 배가 넘는 정도로 매우 부가가치가 높다. 따라서 고순도 키토산의 생산은 많은 부가가치를 남기는 좋은 제품으로서의 가능성을 지니고 있다. 키틴과 키토산의 구분은 단위분자가 포함하고 있는 아세틸 기의 양으로 결정된다. 즉, 아세틸 기가 50%이상이면 '키틴'이라고 부르며 50%이하이면 '키토산'이라고 부른다. 그리고 아세틸 기가 적어질수록 고부가가치의 고순도 키토산이 되며, 이러한 고순도 키토산은 주로 의료용 재료로 사용되어진다. 현재 국내외의 키토산 제품중의 대부분은 아세틸 기의 함량이 높은 저순도 키토산이라고 알려져 있다.[14-16].



[Figure-1] 셀룰로오스, 키틴 및 키토산의 화학구조

키토산이 분해된 올리고당은 그 크기에 따라 생리기능성이 발현하게 될 뿐만 아니라 섭취시 흡수율을 높일 수 있어 주로 식품에 응용되어지고 있다. 키토산을 분해하여 올리고당으로 만드는 데는 2가지 방법이 있다. 하나는 화학적 제조법으로 염산과 같은 강산을 사용하는 것이고, 다른 하나는 생물학적 제조법인 효소를 사용하는 방법이다. 화학적 제조법은 비

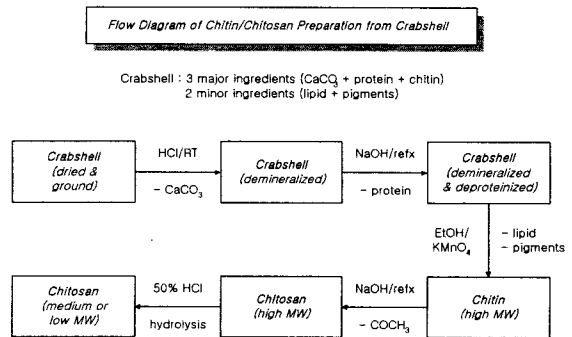
용이 적게 들고 간단히 저분자 올리고당을 만들 수 있지만 그 반응이 매우 강하여 강한 면역증강작용 등을 나타내는 6량체 이상의 올리고당을 생산하기 어렵고, 환경오염을 야기할 뿐만 아니라 인체에 유해한 부산물질을 생성하는 등의 단점이 있다. 또한 산을 완전히 제거시키지 않은 채로 이것이 체내에 유입되면 당 대사에 큰 영향을 미치며, 이로 인한 인슐린의 작용에 이상이 생겨 당뇨병과 같은 질병에 걸릴 수도 있다[17]. 이에 비해 효소를 이용한 키토산-올리고당의 제조는 산을 사용하지 않으므로 인체에 해가 없고, 화학적 처리에 비해 6량체 이상의 올리고당을 많이 제조할 수 있다는 장점이 있으나 생산비용이 매우 높고, 미생물을 이용하기 때문에 공정 조건이 까다로우며, 단위시간당 생산량이 매우 적은 단점을 가지고 있다.

본 연구는 마이크로파를 이용하여 천연 게껍질로부터 키틴을 분리하고 이를 탈아세틸 반응을 통해서 키토산을 제조하는 공정을 연구하였다. 또한 얻어지는 키토산 고분자의 가치를 향상시키기 위한 올리고당을 제조하는 가수분해반응이 연구되었다. 이를 위해서 인체의 생리작용에 유익하거나 또는 생리현상의 과정에서 생성 또는 흡수되는 천연 유기산을 이용하여 키토산을 분해하여 키토산 올리고당을 제조하는 동시에 그 아세틸 기를 제거하여 고순도의 키토산을 제조하는 공정을 모색하였다.

2. 실험방법

갑각류 등 천연적인 자원으로부터 키틴이나 키토산을 제조하는 방법 중에서 가장 기준으로 삼는 방법은 Hackman방법인데, 이 방법의 특징은 반응시간이 매우 길고, 고농도의 염산 및 NaOH 용액을 사용한다는 것이다. 본 연구에서는 마이크로파를 이용하여 반응시간과 반응농도를 달리해 가며 기존의 Hackman방법과 마이크로파 방법을 비교하여 그 차이점을 관찰해 보았다. 실험을 2단계로 나누어서 각각 따로 하여, 최종적인 키틴을 얻는 것보다 각 과정에서 제거되어지는 탄산칼슘과 단백질의 양에 더 관심을 두었고 Hackman방법과는 달리 남은 고체잔류물의 질량으로 비교하였다. [Figure-2]는 게껍질로부

터 키토산 올리고당을 제조하는 공정의 흐름을 개략적으로 나타낸 것이다. 시료의 화학분석 및 점도분석을 위하여, Brookfield Viscometer(model DV-II+)와 FT-IR Spectrometer(Nicolet Magna 750)가 각각 사용되었다.



[Figure-2] 게껍질로부터 키토산 올리고당 제조공정 흐름도

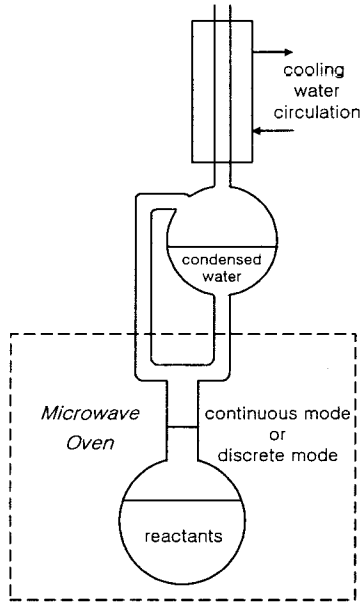
탈탄산칼슘(Demineralization) 공정

건조된 게껍질을 일정한 크기로 분쇄한 후 0.1N, 1N, 5N의 HCl 용액에 넣어 교반시켜 주면서 각각 1시간, 5시간동안 반응시켰다. 여과후 건조오븐에서 24시간 건조시키고, 건조된 껍질을 1000mL 증류수에 수세한 후 여과시켜 잔류 HCl을 제거하였다. 위와 같은 수세과정을 3회 이상 반복했다. 잔류 HCl이 제거된 껍질을 오븐에 24시간 건조시킨 후, 무게를 측정하였다.

마이크로파를 이용한 실험에서는 0.1N의 저 농도에서만 실험하였고, 반응 시간은 반응시 발생하는 거품이 어느 정도 사라지는 7분간으로 하였다. 또한 Hackman방법으로 60-70℃로 가열하면서 1시간 반응시켜 온도의 영향을 알아보았고, Hackman방법으로 1시간 반응 후 마이크로파에 다시 한번 반응시켜 그 효과를 알아보았다.

[Figure-3]은 본 연구에서 사용된 마이크로파 환류반응 시스템의 개략도를 도시한 것이다. 마이크로파 오븐은 일반 가정에서 사용하는 750W급 제품이었고, 환류를 위해서 오븐 위에 직경 1cm의 구멍을 두 개 뚫었다. 마이크로파는 사용된 마이크로파 오븐에 설정되어 있는 '강'과 '약'의 두 모우드를 적절히

조합하여 반응에 이용하였다. 측정결과, '강'모우드는 마이크로파가 계속적으로 'on'상태이고, '약'모우드는 10초간의 'on'과 12초간의 'off'가 계속적으로 이어지는 상태임을 확인할 수 있었다.



[Figure-3] 마이크로파 환류(Reflux) 반응시스템의 개략도

탈단백질(Deproteination) 공정

건조된 개껍질을 일정 크기로 분쇄하고 0.01N, 0.2N, 1N, 5N의 NaOH 용액에 넣고 각각 2시간, 5시간 동안 환류(reflux)상태에서 반응시키고 여과한 후, 오븐에 24시간 건조시켰다. 건조된 껍질을 1000mL 증류수에 수세한 후 여과시켜 잔류 NaOH를 제거시켰다. 위와 같은 수세 과정을 3회 이상 반복했다. 잔류 NaOH가 제거된 껍질을 오븐에서 24시간 건조시킨 후, 무게를 측정하였다. 마이크로파를 이용한 실험에서는 0.01N NaOH와 0.2N NaOH에서 각각 30분 동안 환류상태에서 반응시켰다.

키틴산 가수분해반응

가수분해반응 연구는 크게 3가지의 방법으로 나누어져 시행되었다. 먼저 1단계로서 여러 다른 종류, 다른 농도의 천연 유기산에 같은 양의 키틴산을 넣

고 고압반응기(autoclave)에서 반응시킨 후 점도를 측정하여 올리고당 제조의 가능성을 보이는 산을 선택하였다. 다음 2단계로서, 선택되어진 산에 키틴산을 녹인 후 환류, 고압반응 등을 통해 올리고당 제조에 있어서 열과 압력의 영향을 조사하였다. 반응 후 시료는 점도를 측정하여 전체 분자량의 변화를 관찰했다. 마지막 3단계로 반응 후의 시료에 아세톤을 섞어 아직 올리고당이 되지 않은 고분자 키틴산을 침전시켜 분리해 낸 후 건조하여 FT-IR 분석을 통해 아세틸기의 제거 여부를 조사하였다. 아세톤을 섞어도 침전하지 않는 시료는 이미 모든 키틴산이 저분자의 올리고당으로 분해되었다고 간주하였다. 이러한 해석은 분자량이 10 unit인 표준 키틴산 올리고당의 아세톤 용해도 실험을 통해서 얻어진 것이다. 본 연구에서 사용된 유기산의 특성은 [Table-1]과 같이 정리된다.

[Table-1] 연구에 사용된 유기산의 종류 및 특성

| 유기산 | 특성 |
|------------------------|--|
| lactic acid (젖산) | - 인체내 에너지대사 회로중의 한 물질 - 김치 등의 발효식품에 많이 포함 |
| citric acid (구연산) | - 인체내 크렙스회로중의 한 물질 - 천연 감귤류 과일에 많이 포함 |
| propionic acid (프로피온산) | - 자체 또는 Ca/Na염 형태로 과자/캔디류의 첨가제 및 포장재료로 많이 사용 |
| tartaric acid (타탈산) | - 천연과일 특히 포도에 많이 함유 - 포도주공장에서 부산물로 생산 |
| ascorbic acid (비타민C) | - 신선한 야채나 과일에 함유 - 콜라겐 합성 및 장내 철분흡수 등에 관여 |
| pyruvic acid (피루브산) | - 인체내 글루코오스나 글리세롤 또는 탈아민단백질 등의 분해시 생성되는 중간물질 |

본 실험에서는 여러 기초연구를 통하여 얻어진 결과를 바탕으로 하여 4가지의 유기산(citric acid, lactic acid, tartaric acid, propionic acid)을 우선적으로 연구하였다. 우선 각각 산의 수용액(tartaric acid는 5wt% 및 8wt%, 나머지는 3wt% 및 5wt%)에 키

토산을 2wt%로 첨가하여 용해시켰다. 각각의 용액을 전술한 바 있는 환류반응장치에 50mL씩 넣고, 여러 시간(1시간에서 7시간까지)동안 반응시키고 나서 상온까지 식힌 후 각각의 점도를 측정하였다. 이때 반응조건에 따른 용액의 색변화도 관찰하였다. 각각의 용액은 반응 후, 아세톤을 이용하여 재결정하고 2번에 걸친 세척 후 건조하였다. 이렇게 얻어진 키토산 올리고당은 막자사발을 이용하여 곱게 간 후 FT-IR을 이용하여 화학적 특성을 측정하였다.

환류반응 연구에서 사용된 것과 같은 유기산/키토산 수용액을 준비하여 각각의 50mL용액을 준비된 고압반응기에 넣고 가수분해반응을 시행하였다. 여기서의 공정변수로 반응온도(100, 120, 150℃)와 반응시간(15, 30, 60, 120분)이었다. 각각의 조건에서 반응 후, 상온까지 식히고 점도를 측정하여 반응의 정도를 분석하였다. 고압반응의 경우 가수분해 정도가 커서 아세톤을 이용한 키토산 분자의 재결정은 잘 이루어지지 않았다. 즉, 키토산 분자가 매우 작아져서 아세톤에 대한 용해도가 매우 커짐을 관찰할 수 있었다. 장차 순수한 키토산을 분리해 낼 수 있는 방법을 고안할 필요가 있다.

3. 결과 및 고찰

탈탄산칼슘 공정

[Table-2]는 0.1N HCl 500mL을 사용하여 20g의 계겉질로부터 CaCO₃를 용해 제거시키는 반응결과를 정리한 것이다.

여러 조건에서의 반응결과, HCl의 양이 일정하면 반응의 경로에 관계없이 제거되는 CaCO₃의 양이 거의 일정함을 관찰할 수 있다. 즉, 탈탄산칼슘 과정에서 온도의 영향은 거의 없음을 의미한다. 반응 시간에 대해서도 각각 1시간과 5시간동안 Hackman방

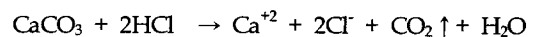
법으로 반응시킨 결과 잔류량이 거의 같다. 즉, 일정 시간 이상의 반응은 탈탄산칼슘 과정에 아무런 영향을 끼치지 않는다. 그러나, 단 시간에 많은 에너지를 발생시키며, 분자내의 쌍극자(dipole)를 진동시키는 마이크로파를 이용하였을 때 7분 정도의 반응만으로 Hackman방법으로 1시간 반응시킨 효과를 얻었다. 즉, 마이크로파를 이용하였을 때 같은 농도의 HCl 용액에서 더 많은 CaCO₃를 녹여내지는 못했으나, 그 반응 시간을 7분으로 단축시키는 효과를 보였다.

[Table-3]은 농도를 변화시킨 500ml의 HCl용액에 계겉질 20g을 넣고 각각 1시간동안 반응시킨 결과를 정리한 것이다(Figure-4 참조). 반응후 잔류량의 변화는 0.2N이상의 농도에서는 거의 없음을 알 수 있다.

[Table-3] HCl농도에 따른 탈탄산칼슘 반응결과

| 무게(g) | 0.1N | 0.2N | 1N | 5N |
|---------|-------|------|------|------|
| 초기량 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 반응후 잔류량 | 14.65 | 6.72 | 6.80 | 6.93 |

또한 0.1N HCl과 0.2N HCl에서의 잔류량이 거의 2배가 되므로 이 반응은 HCl : CaCO₃ = 1 : 2 비로 반응이 진행됨을 알 수 있었고, 이들간의 산-염기 반응은 다음과 같은 식으로 이루어진다고 사료된다:



0.1N HCl용액을 사용하여 여러 다른 조건에서 탈탄산칼슘 반응을 시행하고 얻어진 잔류고형성분의 FT-IR 스펙트럼을 비교한 결과, 앞서 설명한 바와 같이 HCl에 의한 CaCO₃의 제거효과 이외에는 별다른 화학적 변화(예를 들면, 탈아세틸 효과나 탈단백질 효과 등)를 관찰 할 수 없었다. 또한, 각각의 다른 농

[Table-2] 탈탄산칼슘 실험결과

| 무게(g) | 1hr 반응 | 5hr 반응 | 60-70℃에서 가열반응 | 1hr 반응후 MW 5min | MW 7min |
|---------|--------|--------|---------------|-----------------|---------|
| 초기량 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 반응후 잔류량 | 14.65 | 14.52 | 14.64 | 14.6 | 14.33 |

도의 HCl용액을 사용하여 1시간동안 탈탄산칼슘 반응을 시행한 후 잔류물의 FT-IR 스펙트럼을 비교하여 보았는데, 역시 유용한 정보를 얻을 수 없었다. 여기서는 FT-IR 스펙트럼을 생략하기로 한다. 0.1N HCl에서 반응조건을 달리해 가며 반응시킨 결과를 비교한 것은 아직 계검질 안에 CaCO_3 가 남아 있는 상태이기 때문에 각각 다른 반응 조건에서의 CaCO_3 추출 효과를 비교하는데 그 타당성을 입증할 수 있었다. 탈탄산칼슘 반응을 거친 계검질의 스펙트럼은 여러 반응조건에 관계없이 매우 유사하지만, 키틴과는 매우 상이하다. 즉, 마이크로파를 이용하는 탈탄산칼슘 반응공정 만으로는 특별한 부가효과(예를 들면, 탈단백질 효과) 등을 관찰할 수 없었다.

탈단백질 공정

[Table-4]는 여러 농도의 NaOH용액 500ml을 사용하여 반응시간의 변화 및 마이크로파의 유무에 따라 탈단백질 반응후 잔류고형분의 무게변화를 정리한 것이다.

[Table-4] NaOH 농도에 따른 탈단백질 반응결과

| NaOH 농도 | 2시간 반응 | 5시간 반응 | MW 30분 |
|---------|--------|--------|--------|
| 0.01 | 23.52g | 22.96g | 24.07g |
| 0.2N | 20.49g | 20.7g | 20.94g |
| 1N | 20.17g | 20.12g | |
| 5N | 16.8g | 16.85g | |

단백질 제거과정의 실험에서도 반응 시간, 반응 농도를 변화시키면서 실험하였다. 위 결과표에서 보는 바와 같이 농도에 따라서는 잔류량에 어느 정도의 차이를 보이지만 반응 시간에 따라서는 거의 차이가 없음을 알 수 있다. 또한 5N에서 잔류량이 많이 감소한 것은 탈단백질 뿐만 아니라 탈아세틸화 반응이 일어난 영향으로 생각되어진다. 5N의 결과를 제외하면 0.2N과 1N의 잔류량이 거의 비슷하므로 1N에서 탈단백질 과정이 거의 완결되었고, 그 이상의 농도는 단백질을 녹여내는 것 이외에 탈아세틸 반응을 일으키는 것으로 생각되어진다. 시간에 따라

서는 2시간 반응과 5시간 반응의 잔류량이 거의 같았다. 그러므로 탈단백질 과정에서 2시간 이상의 반응은 반응 결과에 아무런 영향을 미치지 않는다는 결론을 내렸다.

마이크로파로 30분 동안 반응시켰을 때는 기존의 Hackman방법보다 단백질이 약간 덜 제거되는 양상을 보이지만 그 차이는 아주 적어서 거의 무시할 수 있다. 이 실험에서도 저 농도의 마이크로파 추출 효과(저 농도에서 Hackman방법보다 더 많은 단백질의 제거)는 없었지만 그 반응시간이 약 1/4로 줄어드는 효과를 보였다. 0.01N, 0.2N, 1N 및 5N의 여러 농도의 NaOH용액을 이용하여 탈단백질 반응을 시행한 후 얻어진 고형잔류물의 IR 스펙트럼을 비교하여 보았는데, 각각의 스펙트럼과 키틴의 스펙트럼의 비교에서 관찰할 수 있듯이 반응농도 뿐 아니라 반응시간에 따라 IR 스펙트럼 피크 분포가 매우 유사함을 알 수 있다. 이것은 IR 스펙트럼에서 단백질을 구분해 낼 수 있는 아미드 기인 C=O 기의 $1670\text{-}1640\text{cm}^{-1}$, N-H 의 3500 과 3100cm^{-1} , 그리고 N-H 의 약 $1640\text{-}1550\text{cm}^{-1}$ 에서 나타나는 피크가 단백질 뿐 아니라 키틴자체 내에도 존재하기 때문이다. 그러므로 IR에서 나타나는 아미드 피크로는 탈단백질의 상태를 알아 볼 수 없었다. 따라서 IR분석결과로는 반응농도 및 반응시간에 따른 탈단백질 공정의 차이를 비교할 수 없었다.

계검질로부터 키틴 추출에 마이크로파를 이용하여, 기존에 사용하고 있는 방법보다 저 농도의 염산 용액과 수산화나트륨 용액에서 짧은 시간 동안에 추출이 가능한지 실험하였다. 탈탄산칼슘 과정에서 농도에 따른 마이크로파의 추출효과는 없었으나, 그 반응 시간이 1시간에서 7분으로 줄어들어 반응 시간이 약 90% 단축되는 효과를 보였다. 또한 탈단백질 과정에서도 농도에 따른 마이크로파의 추출효과는 기존의 Hackman방법보다 약간 떨어졌으나, 반응시간이 2시간에서 30분으로 약 75% 단축되었다. 이 결과로부터 고 농도의 산, 염기 용액에서 장기간 반응으로 인한 키틴의 변성 문제는 마이크로파를 이용한 짧은 시간 반응으로 어느 정도 해결이 될 수 있을 것이라 기대된다. 또한 기존의 고정 주파수인 2.45 GHz가 아닌, 가변 주파수를 생성할 수 있는 마이크

로파 generator를 이용하여 반응에 이용한다면 다른 결과를 얻을 수도 있을 것이다.

이러한 결과를 전체적으로 고려해 볼 때, 기존의 HCl과 NaOH를 사용하는 경우 마이크로파의 부가효과로서 산과 염기의 농도를 저감시키는 기대효과는 관찰하기가 매우 어려웠다. 이 외에도 문헌에서 보고된 바 있는 Ba(OH)₂를 산 용액으로 사용하는 실험을 수행하였으나 BaCO₃ 등의 비수용해성 물질이 형성되는 등 바람직한 결과를 얻지 못하였다. 제거된 단백질의 양을 정량적으로 측정하기 위하여 NaOH를 이용한 탈단백질 반응후 여과지를 통과한 용해 단백질 함유 여과액을 UV Spectrometer를 이용하여 분석하려 했으나, 여과액의 가변적인 pH범위와 단백질을 구성하는 아미노산의 종류를 알 수 없는 등의 문제 때문에 정량분석을 위한 calibration과정에서 매우 불안정성을 보여 주어서 효과적인 분석방법으로 사용하기 어려웠다. 단, 같은 농도에서 반응시킨 여과액을 중성화 시켜 UV를 쬐었을 때 그 값이 어느 정도 타당하게 나왔으나 보다 정확한 단백질 분석방법이 요구되어진다.

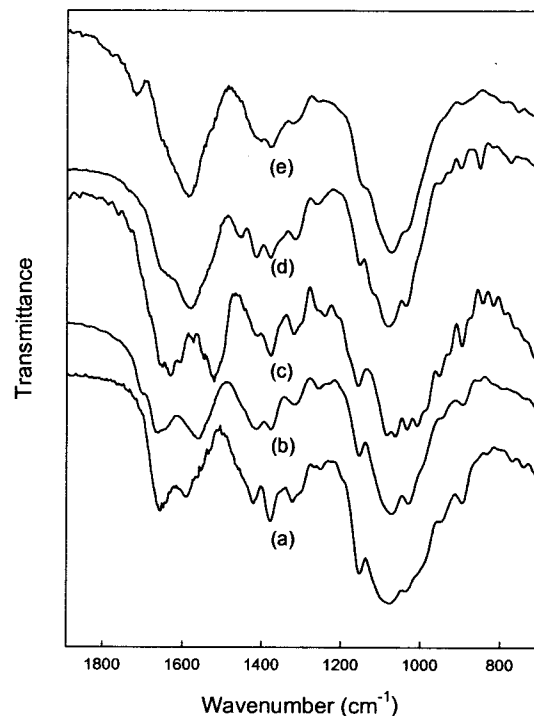
키토산 가수분해반응

가. 마이크로파 반응

키토산의 가수분해 반응에는 주로 강산(예를 들면, 6-12N HCl)이 사용되어 왔는데, 본 연구에서는 마이크로파를 이용하면 산의 소요량을 크게 저감할 수 있는지를 연구하였다. 이를 위하여 HCl 뿐 아니라, 다른 여러 산을 사용하여 그들의 가치를 탐색하는 실험을 수행하였다. 무기산으로는 염산, 황산, 인산, 질산 등이 사용되었고 유기산 중에서는 초산 이외에도 인체에 유익하다고 판단되는 여러 유기산의 가수분해능을 시험하였다. 황산과 인산은 키토산의 용해도가 매우 낮아서 실용성이 있는 결과를 얻기 어려웠고, 염산, 질산, 초산 등은 기존의 농도보다는 크게 저감된 수치를 가져왔으나, 현재 시장에서 판매되고 있는 제품보다는 높은 올리고당 정도를 나타내었다.

본 연구에 앞선 예비실험으로서 빙초산, 염산 및 여러 유기산의 키토산 가수분해반응 특성이 비교

되었다. [Figure-4]는 반응전 키토산 분말과 여러 산에 의해 가수분해된 키토산 분말의 FT-IR 스펙트럼을 비교한 것이다. 이 결과에서 주목할만한 사항은 유기산에 의한 가수분해반응은 탈아세틸화 반응과 병행해서 일어난다는 것이다. 스펙트럼에서 볼 수 있듯이, 키토산 고분자 분말은 강한 1650-1750 cm⁻¹의 케톤(C=O)피크로 특정 지어지는 아세틸기를 많이 포함하고 있고 이는 빙초산이나 염산에 의한 가수분해반응후에는 크게 감소되지 않는다. 그러나 lactic acid나 ascorbic acid에 의해 가수분해된 키토산 분말에서는 이 피크가 크게 감소됨을 관찰할 수 있다. 이러한 특성은 높은 탈아세틸 정도가 요구되는 고순도 키토산 제조에 매우 바람직한 것으로 사료된다.



[Figure-4] 키토산 분말의 IR 스펙트럼; (a) 키토산 고분자, (b) 1% 빙초산 처리후, (c) 0.5% 염산 처리후, (d) 1% lactic acid 처리후, (e) 2% ascorbic acid 처리후

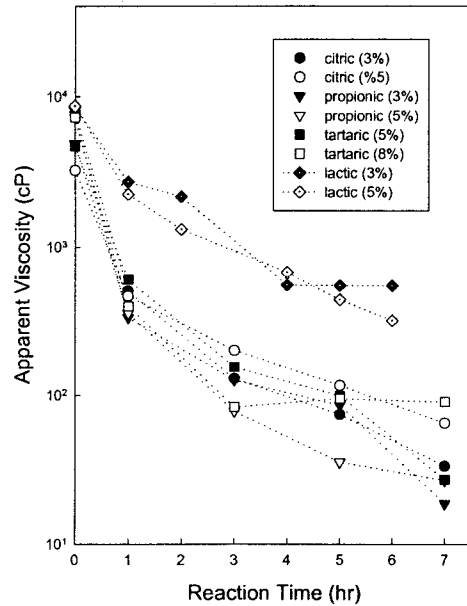
여러 유기산을 사용하여 마이크로파 반응을 시행한 결과, 초산이나 염산에 못지 않은 키토산 고분자의 가수분해의 효율을 얻을 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과가 마이크로파의 영향인지를 시험하

기 위하여 각각의 변수를 분리하여, 환류반응과 고압 반응을 시행한 결과, 가압상태인 후자의 경우에서 큰 효과가 있다는 것을 관찰하였다. 아직도 마이크로파의 반응 증진효과는 충분히 설명된 것은 아니지만, 현재까지로는 가압효과가 우세한 것으로 판단된다. 마이크로파 반응메커니즘에 관한 자세한 검토는 본 논문에서는 생략하기로 한다.

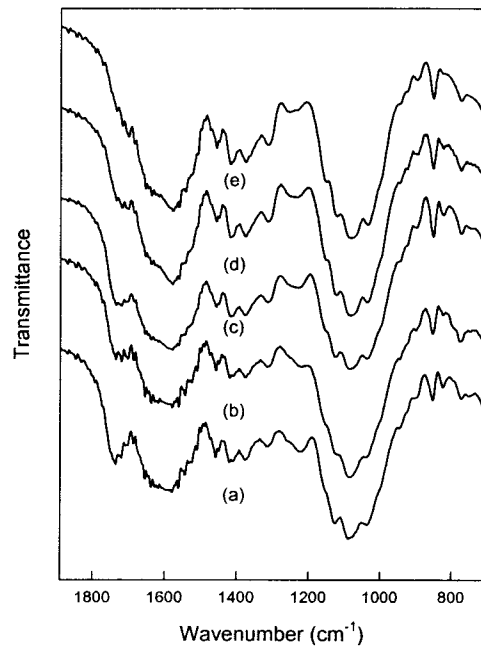
나. 환류반응

[Figure-5]는 여러 유기산의 두 농도에서 환류반응 시간에 따른 apparent viscosity의 변화를 보여준 것이다. 우선 관찰할 수 있는 것은 산의 농도에 따른 가수분해 정도의 차이는 매우 작다는 것이다. 이는 키토산 고분자의 용해도를 넘어서 첨가되는 유기산의 역할은 미미하다는 것을 의미한다. 국내에서 시판되는 키토산 올리고당 제품의 점도를 측정된 결과(동등한 수용액 농도일 때) 1.5 cP인 것에 비하면 환류반응후 얻어진 용액의 점도는(10 cP 이상임) 다소 높음을 알 수 있다. 반응시간이 증가함에 따라 용액의 점도는 초기 10,000 cP 정도의 값에서 시작하여 점차적으로 감소하는 경향을 보여주지만, 반응초기에 비하여 시간이 5시간 이상일수록 점도의 감소추세는 더욱 미약해진다. 따라서 시중 제품의 점도에 이르기에는 매우 긴 반응시간이 필요할 것이어서 바람직하지 못하다. 전술하였듯이 점도의 차이는 크지 않지만, tartaric acid의 효과가 가장 좋음을 관찰할 수 있었다.

[Figure-6]은 lactic acid를 사용하는 환류반응에서 반응시간이 증가함에 따른 키토산 분말의 FT-IR 스펙트럼을 비교한 것이다. 이 결과에서 볼 수 있는 특이한 사항은, 키토산의 IR 스펙트럼은 단지 유기산에 용해된 상태에서부터 탈아세틸화가 진행된다는 것이다. 앞선 [Figure-4]의 (a)와 [Figure-6]의 (a)를 비교하면 1650-1750 cm⁻¹의 케톤 피크에 큰 차이가 있음을 알 수 있다. 그 이외의 피크에서는 큰 변화가 없는 것으로 보아, 반응시간이 증가함에 따라, 가수분해반응과 탈아세틸반응만이 병행해서 일어남을 알 수 있었다.

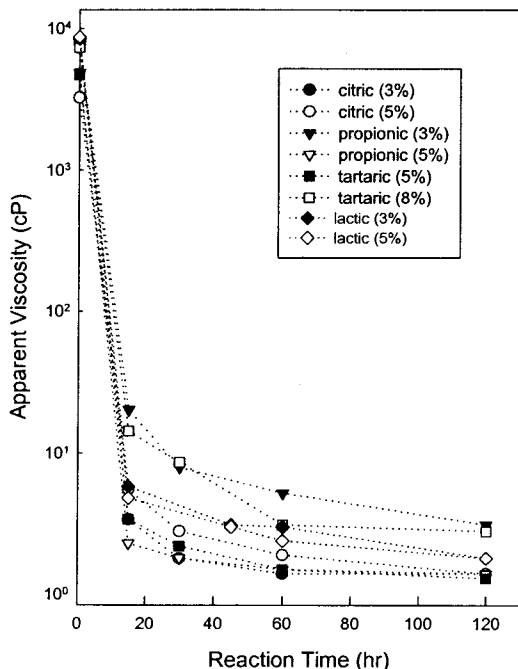


[Figure-5] 환류(Reflux)반응에서 유기산 종류, 산농도 및 반응시간에 따른 점도의 변화



[Figure-6] 키토산 분말의 IR 스펙트럼; (a) lactic acid(3%) 용해한 상태, (b) 1시간 반응후, (c) 3시간 반응후, (d) 5시간 반응후, (e) 7시간 반응후다. 고압반응

[Figure-7]은 120℃에서 시행된 고압반응의 결과를 유기산의 종류 및 반응시간에 따른 용액점도의 변화로 나타낸 것이다. 점도의 값에 다소간의 차이는 있으나 전체적으로 볼 때, 각각의 유기산은 반응시간에 대하여 비슷한 경향을 보여준다. 예를 들어, citric acid의 경우 10,000 cP에 근접한 용액의 초기점도는 반응이 시작하지 15분 정도 후에 10 cP이하로 감소됨을 보여주었다. 반응온도가 150℃일 경우에는 반응속도는 크게 증가하지만, 용액의 색깔이 짙은 황색으로 변화되는데, 이는 일부 분자가 탄화된 것으로 추측되므로 적절한 반응온도가 아니라고 판단되었다. 120℃에서는 용액의 점도가 처음 15분간의 반응후에는 5-9 cP 수준으로 감소한 후 서서히 감소하는 경향을 보여준다. 5w%의 산 용액 실험결과로는 약 1시간의 반응후에 1.5 cP로 접근함을 알 수 있었다. 용액의 색은 150℃의 경우와는 달리 매우 옅은 황색을 띄고 있어서, 바람직한 결과로 보여진다. 반응온도가 100℃인 경우에는 고압반응기 내의 반응압력이 충분하지 않아서 반응속도가 크게 감소됨을 관찰하였다.



[Figure-7] 고압반응에서 유기산 종류, 산농도 및 반응시간에 따른 키토산용액 점도의 변화

Citric acid는 농도의 변화에 반응정도가 크게 변하지는 않았으나, 반응온도는 커다란 변수임이 관찰되었다. 다만, 120℃의 온도에서의 반응결과는 앞서의 Citric acid에 비하여 조금 못한 것으로 보여진다. 색깔의 변화는 Citric acid의 경우와 유사하였다. Propionic acid와 Tartaric acid의 결과를 비교하면, 후자가 비록 농도는 약간 높다고는 하지만, 더욱 증가된 가수분해능을 보여준다. Tartaric acid는 30분의 반응후에도 매우 높은 올리고당화 정도를 가져온다. 이 두 유기산의 색깔변화도 전술한 바와 매우 유사하였다.

4. 결 론

마이크로파를 이용하여 낮은 농도의 산 및 염기 용액에서 게겍질로부터 키틴을 분리하는 공정을 연구하였다. 그 결과, 마이크로파는 본 연구에서 사용되었던 장치 및 반응방법에서는 산 및 염기농도의 저감효과는 그다지 크지 않음이 관찰되었다. 그러나 마이크로파의 사용은 반응시간의 감소에 의한 키틴 분자의 변질 등을 방지할 수 있는 등의 부수적인 효과를 가져올 수 있으리라고 판단된다.

식용성 천연 유기산을 이용하는 키토산 올리고당의 제조공정은 간단한 장치를 이용한 마이크로파 반응연구를 통하여 연구되었는데, 그 결과는 매우 긍정적으로 나타났다. 본 연구에 이용된 유기산은 citric acid, lactic acid, propionic acid 및 tartaric acid이었으며, 이들은 인체내에 유용한 유기산이거나 인체 신진대사상에 생성 또는 소모되는 특성을 지니고 있다. 환류반응연구의 결과, lactic acid를 제외한 나머지 다른 산들은 환류반응 조건만으로도 7시간만에 20-30 cP까지 점도가 떨어지는 효과를 보였다. 고압반응연구에서는 유기산의 농도에 상관없이 10-15분의 반응으로 순수에 가까운 수준의 점도로 낮출 수 있음을 보여주었다. 이는 매우 작은 키토산 올리고당으로 가수분해되었음을 의미하는 것이다. 최적반응온도는 120℃로 판단되면, 이때의 압력이 약 4-5기압으로 측정되었다.

만일 상온에서 고압만으로 올리고당을 제조할 수 있다면 고온 반응에 의한 탄화나 색깔의 심한 변조 등을 막을 수 있어 같은 양의 키토산으로 더 많은 올리고당을 제조할 수 있을 뿐만 아니라 폐수에 의한 환경오염도 줄일 수 있어 청정기술로서의 적극 활용이 예상된다.

참 고 문 헌

1. P. R. Austin, C. J. Brine, J. E. Castle, and J. P. Zikakis, "Chitin : New facets of research". *Science*, 212, 749 (1981)
2. C. G. Anderson, N. DePablo, and C. R. Romo, Proc. of 1st International Conf. on Chitin/Chitosan, Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R. (eds.), MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA., p.54 (1978)
3. H. K. No, S. P. Meyers, and K. S. Lee, J. Agric. Food Chem., 37, 575 (1989)
4. D. Knorr, *Food Technol.*, 45, 114 (1991)
5. 한국수산회 : "수산연감". p. 99 (1992)
6. J. H. Green and A. Kramer, "Food Processing Waste Management". AVI Publishing Co., Westport, CT, p. 214 (1984)
7. C. J. Brine and P. R. Austin, "Chitin variability with species and method of preparation. *Comp. Biochem. Physiol.*, 69B, 283 (1981)
8. R. H. Hackman, *Australian J. Biol. Sci.* 7, 168 (1954)
9. R. S. Whistler and J. N. BeMiller, *J. Org. Chem.* 27, 1161 (1962)
10. S. T. Horowitz, S. Roseman and H. J. Blumenthal, *J. Am. Chem. Soc.* 79, 5046 (1957)
11. A. B. Foster and R. H. Hackman, *Nature*, London 180, 40 (1957)
12. M. Takeda and E. Abe, *Norin sho Suisan Koshuso Kenkyu Hokoku* 11, 399 (1962)
13. M. Takeda and H. Katsuura, *Suisan Daigaku Hokoku* 13, 109 (1964)
14. 노홍균, 이문이, *한국식품영양학회지*, 24[1], 105-113 (1995)
15. 김종준, 전동원, *한국섬유공학학회지*, 32[4], 309 (1995)
16. H. K. No and S. P. Meyers, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 21[3], pp. 319-326 (1992)
17. M. G. Peter, *A32*[4], 629-640 (1995)