

분자량에 따른 키토산 필름의 특성

임종환 · 함경식 · 박선영
목포대학교 식품공학과 및 식품산업기술연구센터

Molecular weight of chitosan affect characteristics of chitosan films

Jong Whan Rhim, Kyung Sik Ham and Sun Young Park
Dept. of Food Engineering and Food Industrial Technology Research Center, Mokpo National University

Abstract

Chitosan films were prepared using four types of chitosans with different molecular weight and the effect of molecular weight of chitosan on selected film properties such as color, water vapor permeability (WVP), water solubility (WS), tensile strength (TS), and elongation at break (E) was investigated. Generally, the total color difference (ΔE) and WS of the films decreased, while TS and E of the films increased as molecular weight of chitosan increased. WVP of the films did not show any significant relationship with molecular weight of chitosan.

Key words : biodegradable films, chitosan, molecular weight

서론

최근 플라스틱 폐기물에 의한 환경오염 문제가 심각하게 대두되면서 플라스틱 포장재의 사용 및 폐기에 대한 법적인 규제가 강화되면서 각 분야에서 자연환경의 오염을 최소화하기 위한 연구에 관심이 높아지고 있으며, 이러한 플라스틱 폐기물에 의한 환경오염 문제를 해결하기 위한 방법의 일환으로서 생분해성 필름의 개발에 관한 연구가 활발하게 이루어져 왔다⁽¹⁻⁶⁾. 생분해성 필름의 소재로는 미생물이 생산하는 생고분자, 동식물에서 유래하는 생고분자 및 분해성의 합성고분자가 있는데⁽⁷⁾, 특히 동식물에서 유래하는 천연 생고분자를 이용하여 제조하는 필름을 가식성필름이라 하며, 새로운

식품포장재로서의 이용 가능성에 대하여 많은 기대를 모으고 있다.

생고분자 필름의 새로운 소재 중의 하나인 키토산 (poly- β -1,4-N-D-glucosamine)은 갑각류나 곤충의 껍질에 풍부하게 존재하는 천연고분자 다당류로서 N-acetylglucosamine이 β -1,4 결합하고 있는 키토산을 탈아세틸화시킨 것으로 여러 가지 기능을 갖고 있어 최근에 크게 주목을 받고 있다⁽⁸⁻¹²⁾. 키토산은 초기에는 폐수처리분야에서 응집제나 중금속 흡착제 등으로 주로 사용되었으나 최근에는 키토산이 독성이 없고, 흡착성, 보습성, 유화성, 생분해성을 갖을 뿐만 아니라 항균작용, 제산작용, 콜레스테롤 저하작용, 장내 유용세균의 성장 촉진, 항종양활성 및 면역부활능력 등 다양한 기능을 나타내는 것으로 알려지면서 현재는 식품, 의료, 환경, 주류사업 등 다양한 분야에서 이용되고 있다⁽¹³⁻²¹⁾. 이외에도 키토산은 분자량이 약 1×10^7 Dalton의 고분자로서 고도의 결정구조를 갖고있어 일반적인 유기용매나

Corresponding author: Jong Whan Rhim, Department of Food Engineering, Mokpo National University, Chungkye, Muan, Chonnam 534-729, Korea, phone: 061-450-2423
e-mail: jwrhim@chungkye.mokpo.ac.kr

알칼리용액에는 잘 용해되지 않으나 pH 6 이하의 유기산에는 용해되어 점도가 높은 용액을 형성하므로 이러한 성질을 이용하여 생분해성 필름을 제조하는 연구가 수행되고 있다. Kienzle-Sterzer 등⁽²²⁾은 키토산의 농도와 용매의 종류에 따른 키토산 필름의 기계적 물성에 미치는 영향을 조사하였으며, Muzarrelli 등⁽²³⁾은 용매로 포름산을 사용하여 키토산 필름을 제조하고, 필름의 투습특성과 기체투과특성을 조사하였고, Caner 등⁽²⁴⁾은 용매로 사용한 산의 농도와 가소제의 농도에 따른 키토산 필름의 특성을 조사한 바 있다. 또한 키토산 필름에 sorbic acid나 benzoic acid와 같은 보존료를 첨가하여 키토산 필름을 활성포장재로 사용하고자 하는 연구도 수행된 바 있다^(25, 26). 이외에도 키토산 필름의 물성을 개선하기 위해 다른 고분자와 함께 혼합하여 복합 필름을 제조하고자한 시도도 있었는데, 키토산 필름의 수분에 대한 저항특성을 개선하기 위하여 Wong 등⁽²⁷⁾은 키토산/유지 복합필름을 개발하였으며, Hogland와 Parris⁽²⁸⁾는 키토산/펙틴 적층필름을 개발하였다.

본 연구에서는 키토산의 분자량이 키토산 필름의 특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 분자량이 다른 네 종류의 키토산을 사용하여 필름을 제조하고 그 특성을 비교하였다.

재료 및 방법

재 료

분자량이 다른 네 종류의 키토산을 전남 목포에 소재하는 (주)바이오테크로부터 구입하여 사용하였다. 제조원에서는 이들 키토산의 분자량을 키토산용액의 점도를 사용하여 10, 30, 50, 400 cP 키토산으로 구분하고 있는데, 제조원에 의하면 이들 키토산의 분자량은 각각 37,000, 76,000, 89,000 및 178,000 이다. 본 고에서는 이들 네 종류의 키토산을 'Chitosan 10', 'Chitosan 30', 'Chitosan 50' 및 'Chitosan 400'으로 표시하였다.

키토산의 분자량 측정

키토산의 분자량은 박과 박⁽²⁹⁾의 방법에 따라 광산란기 (Dynamic light scattering-7000 DH, Osaka Co., Japan)을 이용하여 488 nm의 입사광에 대한 환

원 산란강도를 25°에서 135°까지 5°간격으로 측정하여 각 시료의 각도 의존성을 조사하고, 결과를 Zimm plot에 따라 해석하여 겔보기 평균분자량 (Mw)과 겔보기 관성반경 (Rg; Radius of gyration)을 결정하였다.

키토산 필름의 제조

분자량에 따른 네 종의 키토산 필름을 Rhim 등⁽²³⁾의 방법에 따라 제조하였다. 키토산 분말 3 g을 가소제로서 0.75 g의 glycerin을 첨가한 150 mL의 1% formic acid에 천천히 섞어주면서 혼합한다. 키토산을 용해시키기 위하여 hot plate 상에서 교반을 하면서 약 100°C까지 가온을 하여 용액이 투명해지면 가열을 멈추고, 8 겹의 cheese cloth (grade 40, Fisher Scientific Co., Pittsburgh, PA, USA)를 사용하여 거품과 비용해된 물질 및 기타 불순물을 제거한다. 필름용액 120 mL를 미리 수평을 잡은 Teflon이 코팅된 유리판 (21cm × 35cm)에 붓고 두께를 일정하게 조절한 후 상온에서 약 24시간 건조한다. 건조가 끝나면 유리판으로부터 떼어 내어 인장강도 및 연신율 측정용은 2.54cm × 10cm, 투습도 측정용과 필름의 표면색 측정용은 7cm × 7cm, 수분용해도 측정용은 2cm × 2cm의 크기로 절단하여 측정용 시료로 사용한다.

필름의 두께

각 필름의 두께는 0.01 mm의 정밀도를 갖는 마이크로미터 (Mitutoyo Co., Japan)를 사용하여 측정하였다. 투습도 측정용 시료는 중심부와 주변 네 부위의 두께를 측정하고 그 평균값을 사용하여 투습계수의 계산에 사용하였으며, 인장강도 측정용 시료 역시 길이 방향으로 다섯 부위의 두께를 측정하여 그 평균값을 사용하여 필름의 인장강도 계산에 사용하였다.

Conditioning

모든 필름 시료는 사용하기 전에 25°C, 50% RH로 조절된 항온항습기 (Model FX 1077, (주)제이오텍, Korea)에서 48시간 이상 수분함량을 조절한 후 필름의 특성 측정에 사용하였다.

색 도

필름의 표면색은 색차계 (CR-300 Minolta Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 사

용하여 Hunter L, a, b 값을 측정하였다. 여기에서 L 값은 색의 밝기를 나타내는 것으로 L = 0(black)에서 L = 100(white)을 나타내고, a값은 색의 초록과 적색도를 나타내는 것으로 a = -80(greenness)에서 a = 100(redness)을 나타내고, b값은 청색과 황색도를 나타내는 것으로 b = -80(blueness)에서 b = 70 (yellowness)을 나타낸다. 색도 측정은 필름 시료를 색좌표값이 L=96.86, a=-0.02 및 b=1.99인 표준백색판(Calibration Plate CR-143) 위에 놓고 필름의 중심과 주변 네 부위를 포함하여 다섯 부위의 색도를 측정하여 평균값으로 표시하였다. 이들 Hunter L, a, b 값으로부터 색차(Total Color Difference; ΔE)를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\Delta E = [(L_{\text{film}} - L_{\text{standard}})^2 + (a_{\text{film}} - a_{\text{standard}})^2 + (b_{\text{film}} - b_{\text{standard}})^2]^{0.5}$$

수증기투과도

필름의 수증기투과도 (Water Vapor Permeability; WVP)는 25℃와 50% RH 구배 하에서 측정하였다^(23, 31). 투습컵을 사용하여 상부까지 약 1 cm의 공간이 생길도록 약 18 mL의 증류수를 넣고, 수증기투과도 측정용 필름을 투습컵의 입구 (지름 4.6 cm)에 밀착시켜 밀봉한 후 무게를 측정하여 25℃와 50% RH로 조절되고 198 m/min의 속도로 공기가 순환되는 항온항습기 (Model FX 1077, (주) 제이오텍, Korea)에 넣고 8시간 동안 매 1시간 간격으로 투습컵의 무게를 0.0001 g의 정밀도로 측정하였다. 시간변화에 따른 투습컵의 무게 감소값으로부터 필름의 투습율(water vapor transmission rate: WVTR)을 구한 후, 다음 식에 따라 수증기투과도를 결정하였다.

$$WVP = (WVTR \times L) / \Delta p$$

여기서 WVTR은 필름의 투습율 ($\text{g/m}^2 \cdot \text{s}$), L은 필름의 평균 두께(m), p는 필름 양쪽의 수증기압차 (Pa)를 나타낸다. 이때 필름하부의 수증기압은 필름의 하부와 증류수의 표면 사이에 있는 공기의 저항에 의한 영향을 McHugh 등⁽³⁰⁾과 Gennadios 등⁽³¹⁾의 방법에 따라 보정하였다. 초기의 공기층의 간격 (1cm)과 최종 공기층의 간격을 수증기투과도의 계산에 사용하였으며, 각 필

름의 수증기투과도는 3회 반복실험을 실시하여 평균값으로 나타냈다.

수분용해도

필름의 수분용해도 (Water Solubility; WS)는 Rhim 등⁽²³⁾의 방법에 따라 측정하였는데, 먼저 수분용해도측정용 필름 3매를 취하여 105℃의 건조기에서 24시간 건조하여 초기의 건물함량을 측정하고, 수분용해도 측정용 필름 3매를 따로 취하여 50 mL용량의 비이커에 증류수 약 30 mL와 함께 넣고 입구를 parafilm으로 밀봉한 후 25℃의 정온기에 넣고 가끔 흔들어 주면서 24시간 동안 저장하였다. 24시간 후에 물에 용해되지 않은 필름을 꺼내어 105℃의 건조기에서 24시간 동안 건조시켜 건물함량을 측정하였다. 필름의 용해도는 초기의 건물에 대한 물에 용해된 양의 백분율로 나타냈다. 각 필름의 용해도는 3회 반복실험을 실시하여 평균값으로 나타냈다.

인장강도 및 연신율

필름의 인장강도 (Tensile Strength; TS)와 연신율 (Elongation at Break; E)은 Instron Universal Testing Machine (Model 4465, Instron Corp., Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다. 이 때 초기의 grip간의 거리는 5cm이고, cross-head의 속도는 500mm/min의 표준방법을 사용하였다. 필름의 인장강도는 필름이 끊어질 때까지 기록된 최대의 장력을 필름의 초기의 단면적으로 나누어 계산하였으며, 필름의 연신율은 필름이 끊어질 때까지 늘어난 길이를 초기의 grip 간 거리 (5cm)에 대한 백분율로 나타냈다.

통계처리

각 필름의 색도, 인장강도 및 연신율, 투습도, 수분용해도는 각각 따로 제조한 필름을 실험단위로 하여 3회 반복 측정하였다. 각 필름의 특성치의 평균값과 표준편차를 SAS의 General Linear Model을 사용하여 계산하였으며, 각 평균값의 유의적인 차이 검정은 Duncan's multiple range test를 사용하여 조사하였다⁽³²⁾.

결과 및 고찰

키토산의 분자량

광산란법을 이용하여 측정된 키토산의 겔보기 평균분자량과 겔보기 관성반경은 Table 1에 나타난 바와 같다.

Table 1. Apparent molecular weights and radii of gyration of various chitosans determined by the light-scattering method

Chitosans	Molecular Weights ($\times 10^5$)	Radius of Gyration ($\times 10^3 \text{ \AA}$)
Chitosan10	3.72	3.72
Chitosan30	15.1	1.65
Chitosan50	17.1	1.96
Chitosan400	ND ¹⁾	ND

¹⁾ Not determined.

예비실험결과에 의하면 광산란에 의한 분자량 측정법은 키토산 용액의 점도가 높아질수록 신뢰성이 떨어져 점도 120cP 이상의 경우 분자량 측정의 의미가 없는 것으로 판단되어 'Chitosan 400'의 경우 광산란법을 이용한 분자량 측정을 수행하지 않았다. 광산란법에 의해 측정된 키토산의 겔보기 평균분자량과 겔보기 관성반경은 키토산의 점도가 증가할수록 증가하는 것을 알 수 있었다. 본 실험용 키토산을 제공해준 제조원에서 1%의 초산용액에 1%의 키토산을 용해하여 20℃에서 회전형 점도계를 사용하여 점도를 측정하여 이로부터 분자량을 결정하는 점도측정법⁽³³⁾으로 측정된 각 키토산의 분자량의 경우도 점도가 증가함에 따라 분자량이 증가하는 경향을 보였다. 그러나 광산란법에 의해 조사된 키토산의 분자량은 점도측정법에 의해 결정된 키토산의 분자량에 비해 10배 이상 높은 값을 나타냈다. 점도측정법에 의해 키토산의 분자량을 조사하는 방법은 오래 전부터 일반적으로 널리 사용되어 왔으나, 1990년대 이후에는 광산란기가 개발되어 고분자의 분자량 측정에 광범위하게 사용되고 있다. 박과 박⁽²⁹⁾은 광산란법을 이용하여 10cP의 키토산의 분자량이 약 3.7×10^6 임을 보고하여, 본 연구 결과와 잘 일치하고 있어 광산란법의 유용성을 밝히고 있으나, 광산란법에 의한 결과와 전통적으로 사용해진 점도측정법과 큰 차이가 있어 이에 대한 보다 전문적

인 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

필름의 색도

분자량이 다른 네 종류의 키토산을 사용하여 필름을 제조한 결과 이들 모두 투명한 free standing 필름이 만들어졌으며, 이들 키토산 필름의 색도는 Table 2에 나타난 바와 같다.

Table 2. Color values of chitosan films¹⁾

Chitosan films	L	a	b	ΔE
Chitosan10	94.5 \pm 0.3 ^a	-0.19 \pm 0.04 ^a	10.3 \pm 0.6 ^b	8.6 \pm 0.7 ^b
Chitosan30	95.1 \pm 0.2 ^a	-1.26 \pm 0.02 ^a	11.5 \pm 0.4 ^a	9.8 \pm 0.4 ^a
Chitosan50	94.4 \pm 0.2 ^b	-0.56 \pm 0.03 ^b	8.5 \pm 0.3 ^c	7.0 \pm 0.3 ^c
Chitosan400	94.9 \pm 0.0 ^a	-0.69 \pm 0.03 ^b	8.0 \pm 0.4 ^c	6.4 \pm 0.4 ^c

1) Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($P > 0.05$) different by Duncan's multiple range test.

네 종류의 필름은 사용한 키토산의 종류에 따라 총색차가 다소 차이가 있는데, 일반적으로 키토산의 분자량이 적을수록 필름의 총색차가 커지는 것으로 나타났다. 필름의 총색차의 변화는 주로 Hunter-b 값의 차에 기인하는데, 이는 키토산 제조시 분자량이 작은 키토산일수록 키토산의 제조시 가수분해시간이 길어지면서 황색도가 증가했기 때문으로 판단된다. 또한 필름의 색깔은 필름제조에 사용된 키토산의 제조원료의 차이에 따라 서로 달라질 수 있다. Rhim 등⁽²³⁾은 Sigma사로부터 게 겔질을 원료로 제조된 분자량이 알려지지 않은 키토산 (minimum 85% deacetylated)을 사용하여 제조한 필름의 Hunter L, a, b 값 및 총색차가 95.6 \pm 0.2, -0.15 \pm 0.02, 3.72 \pm 0.16 및 2.15 \pm 0.22임을 보고하였다. 일반적으로 본 연구에서 사용된 키토산으로 제조된 필름의 총색가가 Rhim 등⁽²³⁾의 결과 보다 높은 값을 보인 것은 키토산의 제조원에 따라 키토산 본래의 색깔이 차이 나기 때문인 것으로 생각된다.

수증기투과도와 수분용해도

키토산 필름의 수증기투과도는 사용한 키토산의 종류에 따라 Table 3에 표시한 바와 같이 1.84 - 2.17 \times

$10^{-9} \text{ g} \cdot \text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa}$ 로서 Rhim 등⁽²³⁾이 포름산을 용매로 제조한 키토산 필름의 수증기투과도 ($1.81 \pm 0.12 \times 10^{-9} \text{ g} \cdot \text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa}$)와 비슷한 값을 나타냈다.

Table 3. Water vapor permeability (WVP) and water solubility (WS) of chitosan films¹⁾

Chitosans	MC (%)	WVP ($\times 10^9 \text{ g} \cdot \text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa}$)	WS (%)
Chitosan10	29.0 \pm 0.5 ^a	21.3 \pm 0.15 ^{ab}	16.9 \pm 0.1 ^b
Chitosan30	28.3 \pm 0.2 ^a	1.84 \pm 0.05 ^b	18.8 \pm 0.2 ^a
Chitosan50	26.9 \pm 0.9 ^b	2.07 \pm 0.25 ^{ab}	16.7 \pm 0.2 ^b
Chitosan400	26.5 \pm 0.3 ^b	2.17 \pm 0.13 ^a	16.6 \pm 0.3 ^b

1) Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($P > 0.05$) different by Duncan's multiple range test.

Table 2에서 보는 바와 같이 키토산 필름의 수증기투과도는 사용한 키토산의 종류에 따라 큰 차이는 없었으나 'Chitosan 30'으로 제조한 필름의 수증기투과도가 가장 낮았으며, 'Chitosan 400'으로 제조한 필름의 수증기투과도가 가장 높아 일반적으로 키토산의 분자량이 증가함에 따라 필름의 수증기투과도가 높아짐을 알 수 있었다. 이러한 현상은 Kim 등⁽³²⁾이 분자량을 달리하여 제조한 hydroxypropyl cellulose (HPC) 필름에서도 밝혀진 바 있는데, 이들은 HPC의 분자량이 100,000, 370,000 및 1,000,000으로 증가함에 따라 HPC 필름의 수증기투과도가 1.16, 2.49 및 $3.76 \times 10^{-10} \text{ g} \cdot \text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa}$ 으로 증가한다고 보고하였다.

키토산 필름의 수분함량은 분자량이 큰 'Chitosan 50'과 'Chitosan 400'으로 제조한 필름이 분자량이 낮은 'Chitosan 10'과 'Chitosan 30'으로 제조한 필름에 비해 낮은 값을 나타내서 분자량이 높을수록 필름의 수분함량이 낮아지는 경향을 보였다. 키토산 필름의 수분용해도는 수증기투과도가 가장 낮은 'Chitosan 30'으로 제조한 필름이 가장 높았으며, 다른 필름들 사이에는 유의적인 차이($P < 0.05$)를 나타내지 않았다. 이 결과는 필름의 수분용해도는 필름의 수증기투과도와는 상관관계가 없는 필름의 고유특성이며, 키토산의 분자량도 필름의 수분용해도와는 일정한 관계가 없음을 시사한다. 대체적으로 키토산 필름의 수분용해도 값이 Rhim

등⁽²³⁾이 보고한 같은 종류의 키토산 필름의 수분용해도 값 ($15.2 \pm 0.4 \%$)에 비해 다소 높은 값을 나타냈는데, 이는 필름의 수분함량이 Rhim 등이 보고한 필름의 수분함량 ($22.3 \pm 0.1 \%$)보다 높았기 때문인 것으로 생각된다.

인장강도와 연신율

키토산 필름의 인장강도는 17.9 - 31.3 MPa로서 사용한 키토산의 분자량이 증가함에 따라 유의적인 차이 ($P < 0.05$)를 보이며 증가하였다 (Table 4).

Table 4. Tensile strength (TS) and elongation at break (E) of chitosan films¹⁾

Chitosan films	Thickness (μm)	TS (MPa)	E (%)
Chitosan10	44.1 \pm 3.7 ^b	17.9 \pm 0.3 ^c	49.3 \pm 1.0 ^c
Chitosan30	46.5 \pm 1.7 ^b	26.3 \pm 1.5 ^b	83.4 \pm 8.7 ^b
Chitosan50	51.4 \pm 2.4 ^a	30.9 \pm 0.6 ^a	89.7 \pm 4.4 ^b
Chitosan400	51.9 \pm 1.9 ^a	31.3 \pm 3.5 ^a	103.3 \pm 7.5 ^a

¹⁾ Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($P > 0.05$) different by Duncan's multiple range test.

네 종류의 키토산 필름 중 'Chitosan 10'으로 제조한 필름을 제외하고는 Rhim 등⁽²³⁾이 보고한 키토산 필름의 인장강도 $27.7 \pm 1.8 \text{ MPa}$ 과 같은 수준이거나 높은 값을 나타냈다. 이들 키토산 필름의 인장강도는 Rhim 등이 지적한 바와 같이 범용성 플라스틱 중의 하나인 HDPE의 인장강도 (28 MPa)와 유사한 수준이다. 키토산 필름의 연신율 역시 사용한 키토산의 분자량에 따라 변화하였다. 일반적으로 필름의 연신율은 필름의 인장강도에 반비례하여 변화하는 것으로 알려져 있는데, 키토산 필름의 연신율은 사용한 키토산의 분자량이 증가함에 따라 연신율이 증가하여, 필름의 인장강도가 증가하는데도 불구하고 연신율이 증가하는 특이한 경향을 보였다.

결론적으로 키토산의 분자량에 따라 키토산 필름의 특성이 달라지므로 이를 이용하여 이들 필름이 응용되는 분야에 따라 적절한 분자량을 갖는 키토산을 선정하여 필름을 제조하는 것이 바람직한 것으로 생각된다.

요약

분자량이 다른 네 종류의 키토산으로 제조한 필름의 색깔, 수증기투과도, 수분용해도, 인장강도 및 연신율을 측정하여 키토산 필름의 특성에 미치는 키토산의 분자량의 영향에 대해 조사하였다. 일반적으로 키토산 필름의 총색차와 수분용해도는 키토산의 분자량이 증가할수록 감소하였으며, 반면에 인장강도와 연신율은 키토산의 분자량이 증가할수록 증가하는 경향을 나타냈다. 키토산 필름의 수증기투과도는 키토산의 분자량과 뚜렷한 상관관계를 보이지 않았다.

문헌

1. Kester, J.J. and Fennema, O.R.: Edible films and coatings: a review. *Food Technol.* 40(12), 47 (1986)
2. Gennadios, A and Weller, C.L.: Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food technol.* 44(10), 63 (1990)
3. Gontard, M. and Guilbert, S.: Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In *Food Packaging and Preservation*, Mathlouti, M. (ed.), Blackie Academic & Professional, London, pp. 159-181 (1994)
4. Guilbert, S., Gontard, N. and Gorris, L.G.M.: Prolonging the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensm.-Wiss -Technol.* 29, 10 (1996)
5. Krochta, J.M. and Mulder-Johnston, C.D.: Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.*, 51(2), 61 (1997)
6. Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. and Voilley, A.: Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38, 299 (1998)
7. Kaplan, D.L., Mayer, J.M., McCassie, J., Allen, A.L. and Stenhouse, P.S.: Fundamentals of biodegradable polymers. In *Biodegradable Polymers and Packaging*, Ching, C., Kaplan, D.L. and Thomas, E.L. (eds), Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, pp. 1-42 (1993)
8. Knorr, D.: Use of chitinous polymers in food. *Food Technol.* 38, 85 (1984)
9. Kaplan, D.L., Mayer, J., Lombardi, S., Wiley, B. and Arcidiacono, S.: Biodegradable polymers for material applications chitosan and pullulan. *Polymer Preprints* 30, 509 (1989)
10. Li, Q., Dunn, E.T., Grandmaison, E.W. and Goosen, M.F.A.: Applications and properties of chitosan, In *Applications of Chitin and Chitosan*, Goosen, M.F.A. (ed.), Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, pp. 3-29 (1997)
11. Knorr, D.: Recovering and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol.* 45: 114 (1991)
12. Austin, P.R., Brine, C.J., Castle, J.E. and Zikakis, J.P.: Chitin: New facets of research. *Science* 212: 749 (1981)
13. Thanoo, C.B., Sunny, M.C. and Jayakrishnan, A.: Cross-linked chitosan microspheres: preparation and evaluation as a matrix for the controlled release of pharmaceuticals. *J. Pharm. Pharmacol.* 44: 283 (1992)
14. Upadrashta, S.M., Katikaneni, P.R. and Nuessle, N.O.: Chitosan as a tablet binder. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18:1701 (1992)
15. Suzuki, K., Mikami, T., Okawa, Y.A., Suzuki, S. and Susuki, M.: Antitumor effect of hexa-N-acetyl chitohexaose and chitohexaose. *Carbohydr. Res.*, 151, 403 (1986)
16. Papineau, A.M., Hoover, D.G., Knorr, D. and Farkas, D.F.: Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydrostatic pressure. *Food Biotechnol.* 5:45 (1991)
17. Sudarshan, N.R., Hoover, D.G. and Knorr, D.: Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnol.* 6: 257 (1992)
18. Darvill, A., Augur, C., Bergmann, C., Carlson,

- R.W., Cheong, J.-J., Eberhard, S., Hahn, M.G., Lo, V.-M., Marfa, V., Meyer, B., Mohnen, D., O'Neill, M.A., Spiro, M.D., van Halbeek, H., York, W.S. and Albersheim, P.: Oligosaccharins - oligosaccharides that regulate growth, development and defense responses in plants. *Glycobiology* 2: 181 (1992)
19. Cote, F., Ham, K.-S., Hahn, M.G. and Bergmann, C.: Oligosaccharide elicitors in host-pathogen interactions: Generation, perception, and signal transduction, Vol. 29, P.385. In: *Subcellular biochemistry: plant microbe interactions*. Biswas, B.B. and Das, H.K. (ed.). Plenum Publishing Co. London, UK (1998)
 20. El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. and Boulet, M.: Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *J. Food Sci.* 56: 1618 (1991a)
 21. El Ghaouth, A., Arul, J. and Ponnampalam, R.: Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *J. Food Proc. Preserv.* 15: 359 (1991b)
 22. Kienzle-Sterzer, C.A., Rodriguez-Sanchez, D. and Rha, C.: Mechanical properties of chitosan films: Effect of solvent acid. *Makromol. Chem.* 183: 1353 (1982)
 23. Rhim, J.W., Weller, C.L. and Ham, K.S.: Characteristics of chitosan films as affected by the type of solvent acid. *Food Sci. Biotechnol.* 7(4), 263 (1998)
 24. Caner, C., Vergano, P.J. and Wiles, J.L.: Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer and storage. *J. Food Sci.* 63(6): 1049 (1998)
 25. Vojdani, F. and Torres, J.A.: Potassium sorbate permeability of polysaccharide films: chitosan, methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *J. Food Proc. Engr.* 12: 33 (1989)
 26. Chen, M.C., Yeh, G.H.C. and Chiang, B.H.: Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative. *J. Food Proc. Preserv.* 20: 379 (1996)
 27. Wong, D.W.S., Gastineau, F.A., Gregorski, K.S., Tillin, S.J. and Pavlath, A.E.: Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. *J. Agric. Food Chem.* 40: 540 (1992)
 28. Hoagland, P.D. and Parris, N.: Chitosan/pectin laminated films. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1915 (1996)
 29. Park, S.Y. and Park, H.J. Mechanical properties of κ -carrageenan and chitosan film composite. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30:855 (1998)
 30. McHugh, T.H., Avena-Bustillos, R. and Krochta, J.M.: Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *J. Food Sci.* 58:899 (1993)
 31. Gennadios, A., Weller, C.L. and Gooding, C.H.: Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *J. Food Engr.* 2: 395 (1994)
 32. Little, R.C., Freund, R.J. and Spector, P.C.: *SAS Systems for Linear Models*, 3rd ed. SAS Institute, Inc., Cary, NC. pp. 137-153 (1991)
 33. Terbojevich, M. and Cosani, A. Molecular weight determination of chitin and chitosan. In *Chitin Handbook*, Muzzarelli, R.A.A. and Peter, M.G. (eds.) European Chitin Society, Atec, Italy, pp 88-101 (1997)
 34. Kim, Y.H., Park, H.J., Kim, D.M. and Kim, K.H.: Functional properties of cellulose-based films. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 133 (1994)