생명과학
Life Science 3(2), 91-114, 1993

유용한 생체고분자 키틴

안창범 · 김세권* · 이응호**

여수 수산대학 식품영양학과 · *부산 수산대학교 화학과 · **부산 수산대학교 식품공학과

Available Biopolymer Chitin

Chang-Bum Ahn · Se-Kwon Kim* · Eung-Ho Lee**

Dept. of Food Science and Nutrition, National Fisheries University of Yosu,
Yosu 550-749, Korea
*Dept. of Chemistry, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea
**Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

1. 서 론

키틴(chitin)은 1811년에 프랑스의 자연과학자 Braconnot에 의해 버섯에서 분리되어 fungine이라 불려졌다. 그후 1823년 Ordier가 이것을 생물의 외피를 이루고 있는 물질이라 하여 그리이스어의 외피, 봉투란 뜻으로 키틴이라 명명한 후 지금에 이르고 있으며, 키토산(chitosan)은 Rought에 의해 보고되어 1894년에 Hopper-Seyler가 이를 키토산이라 명명하였다.[1]

키틴은 *N*-아세틸-*D*-글루코사민 잔기가 다수 β-(1, 4) 결합하고 있는 다당류(poly-β-1,4-*N*-acetyl-*D*-glucosamine)이고, 그 탈아세틸화물을 키토산이라 한다. 이들의 기본구조는 그림 1과 같다. 그러나 천연에 존재하는 키틴은 부분적으로 탈아세틸화되어 있는 것이 보통이다.[20] 그리고 키토산도 *D*-글루코사민의 β-(1, 4) 중합체이지만 보통 약간의 아세틸기를 가지고 있는 것을 키토산이라 부르고 있다.

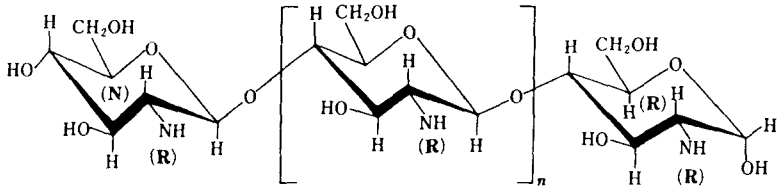


그림 1. 키틴과 키토산의 분자화학 구조.
(N) : 비환원말단기, (R) : 환원말단기.

지구상에서 가장 풍부한 생물자원인 셀룰로오스는 D-글루코오스가 β-(1, 4) 결합한 키틴과 유사한 구조를 가진 물질로 연간 1×10^{11}t이 생산된다고 추정되고 있고,[3] 키틴의 연간 생산량은 1×10^{9}t[4] 정도이거나 셀룰로오스와 거의 같은 양인 1×10^{11}t[5]으로 추정되고 있다. 이렇듯 키틴은 양적으로 풍부하지만 대부분이 폐기되고 있는 실정이고 그 실제 이용범위는 한정되어 있다. 현재로는 제조 키틴의 대부분이 키토산으로 변환되어 응집제로서 폐수처리에 이용되고 있고, 기타 많은 용도가 개발되어 있지만 아직 연구단계에 있다. 따라서 키틴이나 키토산 분자의 잠재적 기능을 개발하여 인간생활에 유효하게 이용하도록 한다는 것은 폐기물 처리나 미이용 자원의 개발이라는 측면에서 볼 때 중요한 문제라고 볼 수 있다.

따라서 본고에서는 키틴의 생물계에서의 분포, 입체배좌(conformation), 제조법, 물성 및 기능성 그리고 그 용도에 대해 간추려 보았다.

2. 생물계에서의 분포

키틴은 균계, 식물계 및 동물계에 걸쳐 널리 존재하고 있다. 균계, 식물계에서 키틴은 주로 곰팡이, 효모, 버섯 등 소위 균류의 세포벽에 다량으로 존재하고 일부 조류에서도 발견된다. 이보다 하등인 세균류에서는 세포벽의 구성다당은 키틴이 아니고 펩티드글리칸이고, 보다 고등인 식물에서는 셀룰로오스로 대체되어 있다. 또, 접합균류의 세포벽에는 키틴 외에 키토산도 함유되어 있다.[6]

동물계에서 키틴은 원생동물(原生動物)에서 유수동물(有鬚動物)까지 널리 분포하고 있다. 진화의 초기단계에서 확립된 키틴의 생합성 능력은 다수의 2배엽 동물 및 대부분의 3배엽 구구동물(舊口動物)에서 유지되어 왔지만 신구동물(新口動物)의 진화 초기단계에서 일부 예외를 제외하고는 사라졌다고 생각된다.[7]

키틴을 생체성분으로 함유하고 있는 동물중 현재 키틴의 공업적 원료로 이용되고 있는 것은 게나 새우와 같은 갑각류이지만 키틴을 함유하고 있는 생물은 이외에도 여러 종류가 있어 다량으로 키틴을 얻을 수 있다. 키틴이 함유된 가공 부산물들은 현재 대부분 폐기되고 있지만 이것을 잠재적 키틴원료로 보았을 경우 입수가능한 키틴량을 Allan 등[8]은 연간 1.5×10^{5}t 정도로 추정하고 있다.

3. 키틴과 키토산의 입체배좌

1) 키 틴

키틴에는 3종류의 입체배좌(conformation)가 있다.[9] 다당사슬이 서로 역방향으로 배향하는 것이 α-키틴, 같은 방향의 것이 β-키틴, αβ-혼합배향이 γ-키틴이다(그림 2 a, b). β-키틴은 α-키틴에 비해 그 존재량이 매우 적다.

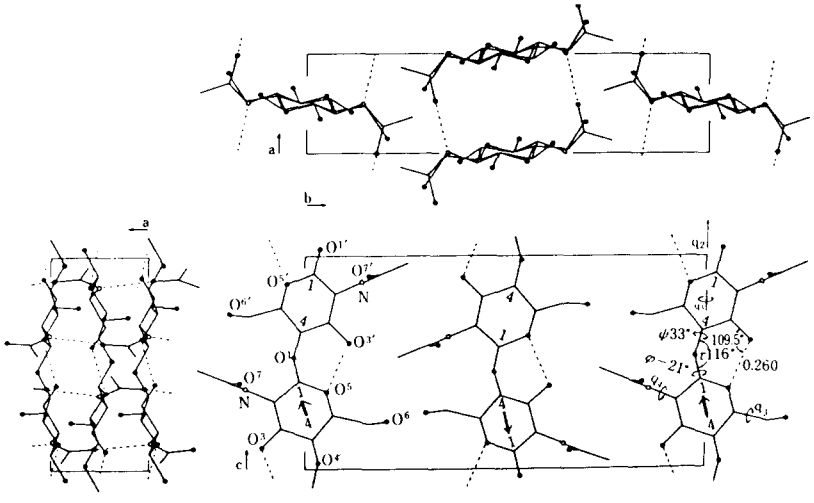


그림 2(a). α-키틴분자의 입체배좌(점선은 수소결합).

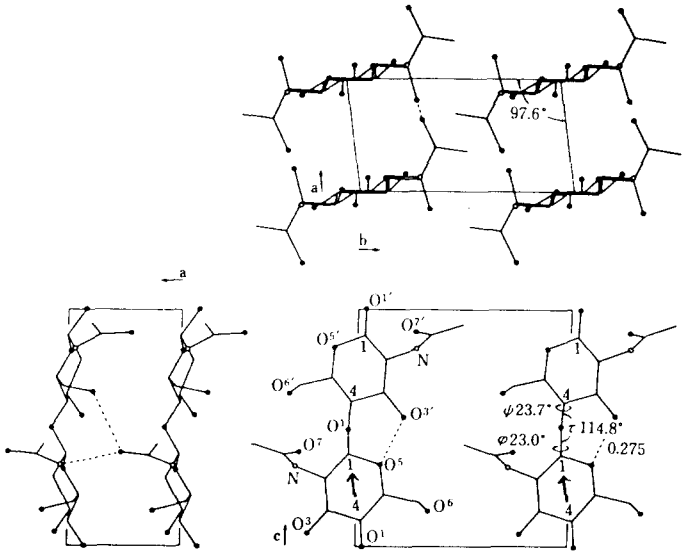


그림 2(b). β-키틴분자의 입체배좌(점선은 수소결합).

모두 분자사슬내의 인접기인 C_3-OH···O_5사이의 수소결합(α-키틴의 경우는 0.260nm, β-키틴의 경우는 0.275nm)으로 안정화되어 있고, 또한 분자사슬 사이에서의 아세트아미드기 간의 수소결합(NH···O=C) 및 C_6-OH와 아세트아미드기 사이의 수소결합(C_6-OH···O=C)으로 안정화되어 있다. α-키틴은 β-키틴보다 에너지적으로 안정한 입체배좌를 취하고 있고, β-키틴은 α-키틴으로 전이한다. 둘다 c섬유축은 2분자의 일중회전 대칭축을 형성하고 있다.[1,4] 결합한 β-D-글루코피라노시드 분자의 단위길이는 $^4C_1$ 입체배좌에서 5.5Å, $^1C_4$입체배좌에서 2.9Å이다. 글리코시드 결합각(C_1-O_1-C_4)인 114.8~116°를 고려하면 키틴과 키토산의 2분자 단위(c축 섬유)의 길이는 구성단의 $^4C_1$ 입체배좌의 1분자 단위길이의 실측값(5.1~5.2Å)과 잘 일치하고 있다. 또 헥사플루오로-2-프로파놀 용액에서 키틴의 원자외 원편광이색성 스펙트럼은 분자내 트랜스아미드 배좌와 분자간 수소결합의 존재를 시사하고 있다.[10]

2) 키토산

키틴을 탈아세틸화해서 얻은 키토산은 키틴과는 달리 묽은 염산, 유기산 수용액 등에 용해하고, 또한 그 분자사슬을 구성하는 글루코사민 잔기가 유리의 일급 아미노기(-NH_2)를 가지고 있는 고분자 전해질이어서 생물자원으로서는 키틴보다 유망시되고 있다.

키토산의 결정성은 키틴보다 약하고 다양한 입체배좌를 가지고 있다. 1937년 Clark와 Smith[11]가 최초로 섬유도형을 얻었는데 펄닭새우(lobster)의 건(tendon) 키틴을 탈아세틸화하여 조제한 키토산 시료에서 X선도형을 얻었기 때문에 그 결정형을 tendon chitosan이라 부르고 있다. 그 후 Form I과 Form II chitosan,[12] annealed chitosan[13] 및 1-2와 L-2[14]의 총 5종의 섬유도형이 보고되어 있지만 Form I은 키토산의 개미산염이고, Form II는 L-2와 같다. 따라서 현재 4종(tendon, annealed, L-2 및 1-2)의 결정형이 발견되고 있는 셈이다. Tendon, L-2 및 1-2가 키토산 분자사슬간에 물분자가 들어있는 수화형인 것에 반해 annealed chitosan은 무수형이며 에너지적으로 가장 안정한 구조이다.[13] 4종류의 결정형의 단위격자 파라메타 중에서 c축(섬유축)이 서로 닮아 있다는 점과 그 값이 키틴과 거의 동일하다는 점으로 보아 어떤 종류의 결정에 있어서도 키토산 분자사슬은 키틴과 같이 잘 뻗은 2회 나선구조를 취하고 있지만 분자 사슬간의 상대적 위치관계와 물분자의 유무가 다르다.

4. 키틴 및 키토산의 제법

1) 실험실적인 방법

① **화학적 키틴의 제법** : 키틴의 원료로 많이 이용되고 있는 갑각류 껍질중의 키틴은 $CaCO_3$를 주성분으로 하는 무기염, 단백질 및 색소를 함유하는 지질 등과 공존하고 있다. 껍질중의 키틴을 분리하기 위해서는 각각의 공존물질을 묽은 염산(무기염 제거), 묽은 수산화나트륨(단백질 제거) 및 유기용제(색소 및 지질제거)로 처리하여 순차적으로 제거해 나가는 것이 보통이다. 단백질을 먼저 제거하기 위해 묽은 수산화나트륨 처리를 먼저 할 수도 있고, 색소 등은 이 수산화나트륨 처리로 대부분 제거되기 때문에 유기용제 처리는 생략하는 경우가 많다. 많이 이용되는 분리법으로는 Hackman의 방법[15]이 있다. 즉, 건조한 갑각류의 껍질 220g을 실온에서 2N 염산 2ℓ에 5시간 침지한 후 수세, 건조, 마쇄하고 다시 냉염산 500mℓ에 48시간 처리하여 무기염을 제거하고 침전물을 모아 수세한다. 이어서 1N 수산화나트륨 500mℓ로 100℃에서 12시간 가열하는 조작을 4회 반복하여 단백질을 제거하고 마지막으로 물, 에탄올, 에테르로 순차적으로 세정한 후 P_2O_5 상에서 건조한다. 그리고 Hackman의 방법을 약간 간략화하여 0.5㎠ 정도의 크기로 마쇄한 갑각류 껍질 100g을 2N 염산 5ℓ에 첨가하고 실온에서 48시간 침지한 후(염산은 도중에 1회 교환한다) 수세하고 1N 수산화나트륨 3ℓ을 가하여 36시간 자비(6시간째 일단 수산화나트륨 용액을 교환한다)하여 수세한 다음 95% 에탄올로 6시간 환류함으로써 키틴을 분리하는 방법도 많이 이용하고 있다. 이같은 Hackman의 방법 또는 그 변법은 키틴 자체의 해중합 및 탈아세틸화를 불러 일으킨다. 이를 방지하는 방법으로 묽은 염산 대신에 EDTA를 이용한 무기염의 제거, 그리고 묽은 수산화나트륨 대신에 단백질 분해효소 또는 단백질 분해효소 생산균을 이용하는 방법이 있다. EDTA를 이용하는 방법에 관해 Foster와 Hackman[16]은 직경 1~10μm로 마쇄한 게(*Cancer pagurus*)껍질을 처음에는 pH 9.0, 나중에는 pH 3.0의 EDTA 용액으로 처리했더니 무기염 함량은 최초 45%에서 2.6%로 감소했다(1㎠의 크기로 껍질을 마쇄하면 무기염의 50%가 제거되는데 2주일이 걸렸다)고 보고하고 있다. 그리고 Shimahara 등[17]은 새우(*Penaeus japonicus*)의 복절껍질을 원료로 EDTA에 의한 무기염의 제거를 시도한 결과, 껍질을 마쇄하지 않은 채로 pH 7.5의 0.1M 용액에서 실온에서 6일간 침지(2일마다 용액을 교환)했더니 무기염 함량은 21.0%에서 0.5%로 감소했다고 보고했다. 갑각류 껍질 키틴의 분리에는 이외에도 묽은 염산 대신에 초산 혹은 아황산을 사용하는 방법,[18] 탈단백질을 위해 Na_2CO_3로 처리하는 방법[19]과 10% 수산화나트륨으로 실온에서 3일 침지하는 방법[20] 그리고 유기용제 대신에 90% 개미산으로 실온에서 18시간 진탕하는 방법[21] 등이 있다.

② **생물화학적 키틴의 제조법** : 묽은 알칼리 처리에 의한 키틴 자체의 변성을 막기 위해 단백질을 단백질 분해효소로 분해, 제거하는 방법이 몇가지 있다.[22~24] 이들 방법은 처리시간, 처리온도 등의 조건이 달라 단순히 비교할 수는 없지만 전체적으로 공존 단백질의 완전한 제거는 단백질 분해효소 처리만으로는 곤란하고 단백질 제거율은 원료껍질의 종류와 단백질 분해효소의 종류 및 조합에 따라 크게 다르다는 것이 공통점이다. 그리고 단백질 분해효소 표품에 키틴 분해효소가 혼입해 있는 까닭에 단백질의 제거와 동시에 키틴의 분자량이 저하한 예도 보고되고 있다.[25] 단백질 분해효소 생산균을 이용한 제단백질도 검토되고 있다.[24,26] 즉, 단백질은 분해하지만 키틴은 분해할 수 없는 미생물이 무기염이 제거된 껍질을 유일한 탄소 및 질소원으로 한 배지에서 배양될 때 분비되는 단백질 분해효소에 의해 껍질중의 단백질을 제거하고자 하는 시도이다.

③ **화학적 키토산의 제법** : 키토산은 통상 정제키틴을 원료로 해서 30~60%의 진한 알칼리 용액에서 가열함으로써 조제된다. 예를 들면 Moorjani 등[27]은 새우류의 껍질을 순차적으로 5% 염산(실온)에서 1시간, 5% 수산화나트륨(100℃)에서 30분, 0.5% H_2O_2에서 하룻밤, 60% 수산화칼륨(100℃)에서 1시간 처리하여 키토산을 얻었다고 했다. Kurita 등[28]은 키틴분말(100~200mesh)을 40% 수산화나트륨으로 환류 가열했을 경우, 반응은 서서히 진행하여 3시간만에 탈아세틸화도 95%의 키틴을 얻었다. 이같은 진한 알칼리를 이용한 탈아세틸화의 경우 동시에 글루코시드 결합도 부분적으로 절단되어 생성 키토산의 분자량 저하를 초래한다. 또 키토산의 분자량은 원료 키틴의 제조시 염산처리 조건에도 영향을 받는다. Lusena 등[29]에 의하면 5℃, pH 3.0의 염산을 처리하여 얻은 키틴으로

%의 염산으로 처리하여 얻은 키틴으로 제조한 키토산의 고유점도는 4였다고 한다. 키토산의 분자량 저하는 탈아세틸화 반응을 질소치환 하에서 행하면 어느정도 완화시킬 수 있다.[25,29] 또 같은 농도의 수산화나트륨을 사용했을 경우를 비교하면 저온에서 장시간 처리하는 것이 고온에서 단시간 처리했을 때보다도 분자량이 큰 키토산이 얻어진다.[30] 키토산의 제조방법으로 이상과 같은 진한 알칼리 수용액에서 키틴을 가열하는 방법 외에 180℃의 용융 수산화칼륨 중에서 30분 처리해서 탈아세틸화도 95%의 키토산을 얻는 방법[21]과 수산화칼륨 50g, 에탄올 25g, 에틸렌글리콜 25g의 혼합물 중에서 탈아세틸화하는 방법[31]도 있다.

4 **생물화학적인 키토산의 제법** : 고농도 알칼리를 이용한 키토산 제조시 탈아세틸화와 동시에 진행하는 주사슬의 해중합을 피하기 위한 한가지 해결책으로 키틴 디아세틸라제 혹은 이 효소를 생산하는 미생물을 이용하는 방법이 고려되고 있다. 키틴분말과 무기염으로 된 배지에서 *Aeromonas* sp. H32를 진탕배양했을 때 8일 후 키틴분말의 탈아세틸화도가 약 50%에 달했다는 보고[32]가 있지만 이 방면의 연구는 거의 이루어져 있지 않다.

2) 공업적인 방법[33]

1 **원료** : 가장 경제적인 자원은 식용으로 대규모 어획되는 게의 껍질이 적절하며 게가공 공장에서 년간 연속적으로 껍질이 공급될 수 있는 여건을 조성하는 것이 바람직하다. 연속적으로 원료공급이 이루어진다는 것은 매우 중요한 일이다. 게껍질은 부패하기 쉽기 때문에 껍질이 나오는 즉시 처리해야 할 필요가 있다. 하루정도 쌓아두어도 부패하기 때문에 즉시 처리하지 않을 경우 건조시켜 두어야 한다. 부패된 것을 원료로 사용하면 키틴, 키토산의 품질이 떨어진다. 건조하게 되면 생산비가 증가할 뿐만아니라 약간의 분자량 저하가 일어나므로 신선한 생껍질을 연속적으로 처리하는 것이 품질면이나 생산면에서 바람직하다고 생각된다.

2 **마쇄** : 탈육한 껍질 자체를 이용하면 손실이 적어서 좋지만 대량 처리할 경우 가동이나 효율을 위해 마쇄할 필요가 있다. 마쇄는 잘게 할수록 처리시약의 침투가 용이해서 좋지만 이에 상응하는 설비를 갖추어야 한다. 실제 껍질을 0.5~3㎝ 정도의 박편으로 해서 사용하는 경우가 많다. 절단할 때 생기는 아주 작은 박편은 반응조의 금속망(그림 3)을 통해 유실되기 쉽다. 그림 3의 (a)는 게껍질을 그대로 폴리에틸렌 어망에 넣고 반응조에 올렸다 내렸다 하면서 반응시약과 반응시키거나 수세하는 형이고, (b)는 박편을 금속망이 부착된 반응조에서 교반 혹은 재순환시키는 형이다. 그리고 (c)는 아주 가늘게 마쇄한 껍질에 시약을 가해 화학반응을 시키면서 전체를 유동시키는 형이다. 어떤 경우에도 망목보다 가는 것이 있으면 손실이 생기고 망목 막힘의 원인이 된다.

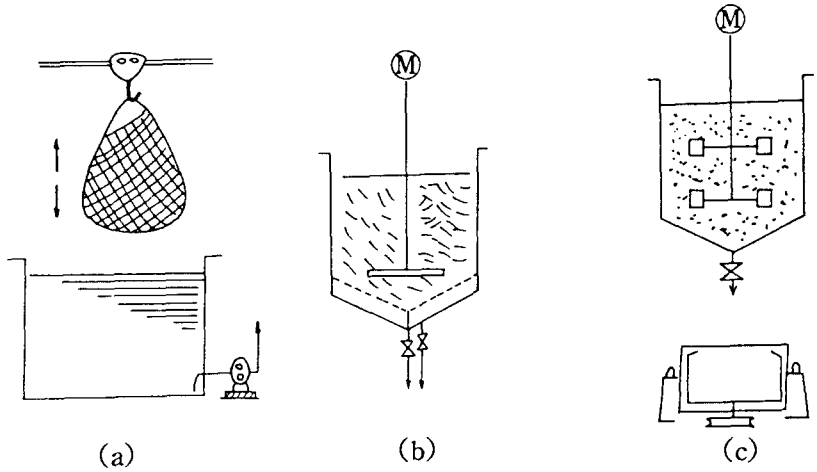


그림 3. 수세 및 반응조의 3가지 형태.

③ **탈단백질** : 키틴은 알칼리에 대해 안정하기 때문에 생게껍질은 가능한한 빨리 알칼리용액에 침지하는 것이 좋다. 가능하면 폐알칼리조를 만들어 껍질을 그곳에 넣어두면 부패를 방지할 수 있다. 탈단백질용 시약은 통상 3~4 % 농도의 수산화나트륨 용액을 이용한다. 액량은 최저 게껍질이 충분히 침지될 수 있을 만큼 필요하고 입도에 따라 약간의 차이가 있지만 건조물의 10배 정도이다. 100℃에서 2시간 교반하면서 가열하면 단백질이 거의 용해되기 때문에 액을 빼내고 수세한다. 수세는 페놀프탈레인 지시약이 미홍색을 띨 때까지 수세한다. 잔존 단백질이 많으면 키토산으로 했을 경우에 착색되거나 점도저하를 일으킨다. 단백질 분해효소나 미생물을 이용해 단백질을 제거하는 연구가 이루어지고 있지만 현재 알칼리법에 비해 품질 혹은 경제적인 면에서 이점이 없다.

④ **탈회** : 탈단백질이 된 껍질이 잠기도록 물을 가하고 여기에 진한 염산(35%)을 가한다. 전체 염산농도가 약 10 % 정도되게 염산을 가할 필요가 있고, 원료껍질의 칼슘함량에 따라 약간의 차이는 있으나 대개 껍질의 건조중량과 동량이다. 처음에는 거품이 심하게 나므로 필요하면 소포제를 첨가한다. 교반이 충분히 이루어지면 실온에서 2시간으로 탈회가 끝난다. 반응 후 온도를 올려 일정시간 두면 글루코시드 사슬의 절단이 일어나 분자량이 점차 적어진다. 따라서 이 온도의 선택에 따라 원하는 분자량의 키틴을 얻을 수 있다. 반응후 수세는 회분식에서는 3~4회로 충분하다. 단 박편내부에 침투해 있는 칼슘염을 씻어 내려면 어느 정도 침지시간이 필요하고 이것은 탈단백질이나 탈아세틸의 경우도 마찬가지다. 키틴으로 이용할 경우에는 이 단계에서 건조, 마쇄하여 제품으로 한다.

⑤ **탈아세틸** : 껍질의 두께나 크기에 따라 수산화나트륨 용액의 침투 정도가 다르기 때문에 원료의 입도분포가 클수록 제품의 분자량 분포도 크다. 원료 마쇄시 가능한한 입도를 고르게 하는 것이 좋다. 반응에 이용하는 50% 수산화나트륨 용액의 양은 키틴이 충분히 잠기도록 할 필요가 있고 키틴의 약 20배 정도이다. 반응 후 고형물과 수산화나트륨 용액을 분리하면 고형물에 약 4배 중량의 액이 부착되어 있다. 따라서 액을 다음 반응에 재사용할 때는 그 양과 같은 양의 50% 수산화나트륨을 추가해 주어야 한다. 또 반응으로 생긴 초산소다는 반응액의 반복사용으로 점점 그 농도가 진해지지만 발생량과 부착량(폐기량)이 같아지는 시점에서는 일정하다. 계산하면 그 농도는 약 10 % 정도이고 실제 반응저해의 염려는 없다. 오히려 문제는 수세로 제거되는 많은 양의 수산화나트륨 용액의 처리이다. 상당량의 초산소다나 유기물을 함유한 폐기성 수산화나트륨 용액을 어떻게 처리하느냐가 중대한 관건이다.

5. 키틴의 물성 및 기능

키틴은 셀룰로오스와 매우 유사한 화학구조 및 결정구조를 하고 있지만 반응성과 용해성 면에서 큰 차이점이 있다. 그것은 구성단위인 *N*-아세틸글루코사민(GlcNAc) 잔기상 C-2위치에 아세트아미드기, C-3위치에 2급 수산기 그리고 C-6위치에 1급 수산기를 가지는 즉, 3종의 반응성이 다른 관능기를 가지고 있기 때문이다. 우선 C-3위치의 수산기와 C-2위치의 아세트아미드기 사이에 수소결합이 형성되어 있고, 또한 이 수소결합에 다른 잔기 C-6위치의 수산기가 물분자를 개입시켜 수소결합을 하고 있다.[34] 이 때문에 키틴분자 전체가 매우 견고한 결정구조를 형성하여 불용, 불활성인 뮤코다당으로 이루어 진 것 같다.

그러나 선택적인 반응을 고려해 보면 C-3위치의 수산기가 2중으로 봉쇄되어 있는 구조여서 C-6위치의 수산기의 반응성이 우선한다고 예상할 수 있다. 실제 알킬화반응 등에서 C-6위치의 치환이 우선적이라는 것이 IR 스펙트럼이나 NMR 스펙트럼으로 확인되고 있다[35](그림 4). 또 키틴의 특성의 하나는 생체내 소화성 때문인지 키틴을 동물체내에 침투시켜도 거의 부반응을 나타내지 않는다. 키틴은 키틴 가수분해 효소(EC 3.2.1.14)에 의해 가수분해되어 키토비오스 등의 올리고당으로 되지만 리소짐(EC 3.2.1.17)에 의해서도 서서히 가수분해된다.[36] 리소짐은 뮤라미다제(muramidase)라고도 하고 뮤라민산 분해효소여서 비교적 특이성이 넓은 효소라 할 수 있다. 동물의 소화계 이외에서의 생체내 소화성을 리소짐 수용성으로 조사해 보면 천연의 키틴보다 결정구조가 붕괴되어 용해된 후 재생된 키틴이 리소짐 수용성이 높다.[37]

한편 C-3위치 수산기와 C-6위치 수산기의 치환과 리소짐 수용성의 관계를 보면 C-6위치 치환일 경우는 치환도가 높을수록 수용성이 높지만 C-3위치 치환일 경우는 수용성이 확실히 저하되기 때문에 C-3위치 수산기를 치환하거나 C-2위치의 아세트아미드기의 탈아세틸화를 행

하면 생체내 소화성은 저하한다고 생각된다. 생체내 소화성이 저하하면 바로 면역반응이 야기되는 것은 명백하다. 그러나 면역반응도 제어할 수만 있다면 의료용 재료나 의약으로 사용할 수 있을 가능성도 있다. 이러한 면에서 키틴은 의료용 재료로서 적절하다고 볼 수 있다. 이외에 고분자 염료, 이온교환수지 및 효소고정화 담체 등의 많은 용도가 있다.

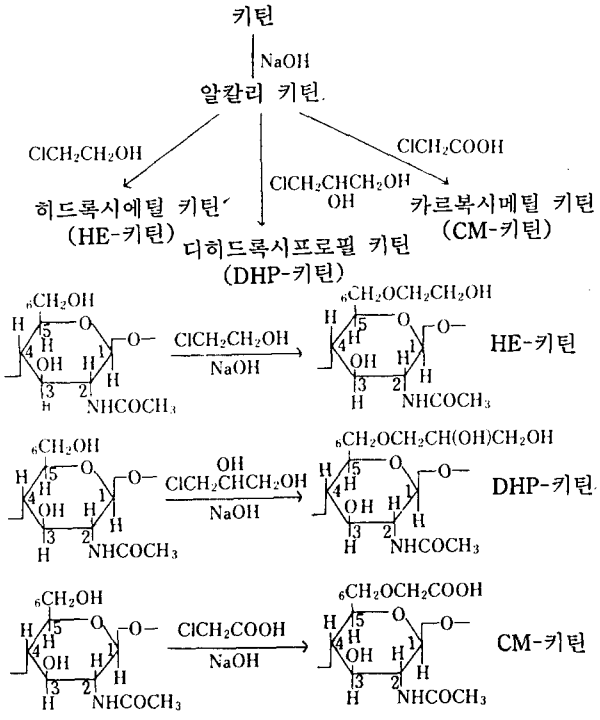


그림 4. 키틴의 알킬화 반응도.

1) 용해성

키틴은 전술한 바와 같이 분자가 2종류의 수소결합으로 강한 결정구조를 유지하기 때문에 거의 불용성이다. 그러나 수소결합을 파괴하는 조건으로 해주면 셀룰로오스계 용매에 녹는다. 예를 들어 DM-L_i^+(디메틸포름아미드-리튬), DMA-L_i^+(디메틸아세트아미드－리튬), 개미산(99%) 및 핵사플루오로프로파놀 등이다.[38]

또 키틴분말을 저온에서 진한 알칼리 중에서 현탁시켜 1시간 정도 잘 교반한 후 키틴의 3배 중량까지 압축하여 해동하고, 이를 쇄빙을 가해 잘 교반하면 단시간이지만 알칼리 키틴이 잘 분산된 점성이 높은 수용액이 얻어진다.[39] 이 알칼리 키틴은 수소결합이 개열되어 있기 때문에 물에 대한 친화력이 변하게 된다. 이는 키틴을 알킬화할 경우 알칼리 키틴 물분산액을 알킬화제 함유용액 중에 가하면 GlcNAc(*N*-아세틸글루코사민) 잔기의 C-6 및 C-3 위치의 수산기가 같이 치환되지만 동결 알칼리 키틴을 이소프로파놀 중에서 현탁시키고 여기에 알킬화제를 가하는 불균일계에서는 C-6위치 치환이 우선적으로 일어나기 때문이다.[40]

그리고 키틴을 화학수식하면 용해성이 현저하게 개선된다. 예를 들어 C-6위치의 치환반응이 40% 정도만 일어나도 용해성은 크게 변한다. 탈아세틸화 키틴(키토산)은 유

기산과 염을 형성해서 높은 수용성을 나타내게 된다. 이 경우 탈아세틸화도가 40~60% 정도까지는 디클로로초산($Cl_2CHCOOH$)과 같은 수소결합 개열제의 도움으로 초산염은 수용액으로 되지만 60%를 넘으면 초산염만으로 높은 수용성을 나타낸다. 모노클로로초산($ClCH_2COOH$)과 알칼리 키틴을 이소프로파놀 중에서 반응시켜 얻어진 카르복시메틸화 키틴(CM-키틴)도 치환도가 60% 전후에서 수용성이 된다.[41] 키틴을 저온하에서 메탄술폰산으로 용해하고 여기에 오산화인을 첨가하면 C-3 및 C-6위치가 인산화되어 수용성의 유도체가 얻어진다.[42] 아실화 키틴의 제조시 이 메탄술폰산을 용매겸 촉매로 사용하면 아실화율은 높아지지만 분자량의 저하를 어떻게 억제할 것인가가 문제이다. 아실화의 경우 과염소산법도 높은 치환도의 유도체가 얻어진다.[43] 아실화 키틴도 개미산 등에 대한 용해성이 높지만 물이나 알코올류의 극성용매에는 일반적으로 불용성이다.

메탄올 가용성 키틴유도체로서는 아릴화 CM-키틴이 있다.[44] 키틴을 직접 아릴화해도 메탄올 가용성이 되지 않지만 CM-키틴 등 알킬화 키틴유도체를 알칼리 중에서 브롬화 아릴과 반응시키면 C-6 및 C-3 아릴화가 일어나고 메탄올 가용성이 된다. CM-키틴은 전술한 바와 같이 수용성이지만 아릴화에 의해 물불용성이 되기 때문에 메탄올용액을 수중으로 적하, 침전시킬 수 있어 탈염조작은 매우 쉽다. 에탄올에도 가용성이지만 프로파놀, 부탄올로 메틸렌수가 증가할수록 용해성은 매우 저하한다. 이 아릴화 CM-키틴 메탄올 용액으로 필름을 만들 때 건조시킨 후에는 완전히 불용성으로 되는 것으로 보아 수소결합의 재생을 생각할 수 있다. 이 경우는 탈아세틸화도는 7~8%이기 때문에 아미노기의 관여는 거의 무시할 수 있다.

2) 섬유 및 필름의 제조 및 그 물성

이 성질을 이용하면 키토산의 재생(섬유나 필름)이 용이하다. Cu^{2+}-진한암모니아수계에서도 키토산 초산염수용액의 재생이 가능하다. EDTA-4Na 처리로 탈동(脫銅)한 키토산 섬유에 효소 및 기타 고정화량을 산성조건이나 NaOH-에탄올계에서 재생한 키토산 섬유와 비교해 보면 Cu^{2+}-진한암모니아계에서 재생한 섬유가 고정화량이 많다.[45] 이것은 키토산의 아미노기의 섬유표면에로의 배치 때문으로 생각된다. 키토산 초산염수용액을 재생할 때(그림 5) 고화속도를 빨리하면 다공성으로 되는데 비즈(beads)로 재생할 경우, 비표면적인 120㎡/g 이상에도 다공성으로 된다.[46,47] 따라서 효소의 불용화나 저분자화합물을 흡착시킬 때에는 유용하다.

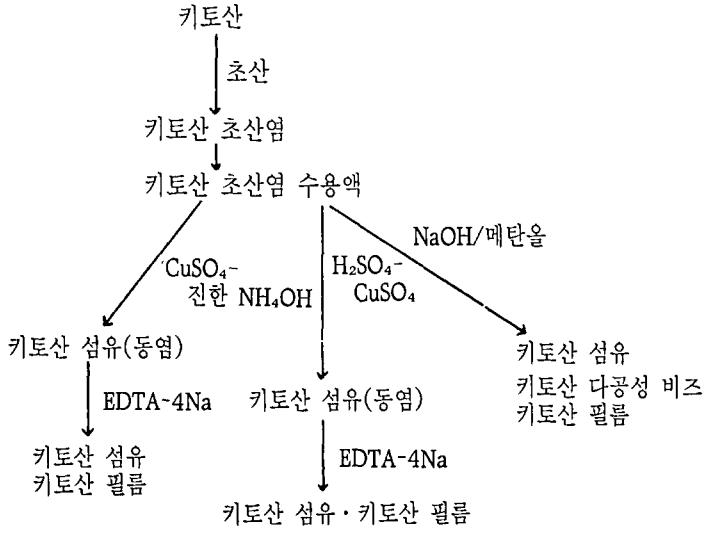


그림 5. 키토산의 재생법.

표 1. 키틴 및 키틴유도체 섬유의 특성

시료	섬도	강도(g/d)		신도(%)		결절강도	영율(g/d)		흡습도	밀도
	(d)	건조	습윤	건조	습윤	(g/d)	건조	습윤	(%)	(g/㎤)
키틴	8.54	1.28	0.23	8.4	15.6	0.15	74.54	3.96	25.83	1.40
키틴	4.16	1.39	0.33	3.6	10.1	0.64	88.42	19.42	18.72	1.40
메틸-	3.73	0.60	0.06	4.2	3.5	0.20	46.80	-	11.90	1.37
에틸-	2.99	1.25	0.33	3.5	13.2	0.32	86.12	3.40	16.95	1.39
n-부틸-	4.15	0.79	0.10	1.0	7.1	0.11	108.26	-	19.14	1.43
i-부틸-	5.58	1.42	-	4.6	-	0.12	92.72	-	19.22	1.44
t-부틸-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.03	1.41
n-아밀-	4.23	0.92	-	3.5	-	0.38	88.70	-	17.62	1.46
i-아밀-	3.69	1.20	-	3.5	-	0.13	102.79	-	19.03	1.41
2-펜틸-	4.15	1.40	-	5.0	-	0.42	84.99	-	18.75	1.43
t-아밀-	2.53	0.82	0.09	2.5	17.3	0.48	39.57	-	19.80	1.42

건조 : 65% RH(20℃), 습윤 : 100% RH(20℃).

표 2. 탈아세틸화도 및 방사법에 의한 섬유물성 변화

시 료	섬도	강도(g/d)		신도(%)		결절강도(g/d)		건습강도비
	(d)	건조[a]	습윤[b]	건조[a]	습윤[b]	건조[a]	습윤[b]	건조/습윤
키틴섬유	8.5	1.28	0.23	8.4	15.6	0.45	-	0.18
	4.2	1.39	0.33	3.6	10.1	-	-	0.24
탈아세틸화								
키틴섬유 (DAC-45)	7.5	1.74	0.98	11.3	10.3	0.81	-	0.56
(Cu ads) (DAC-51)	3.0	2.80	1.23	6.6	6.1	미 측 정		0.44
(DAC-51)	3.5	2.26	1.09	9.6	9.3	-	-	0.48
(DAC-54)	4.7	2.41	1.32	9.3	7.1	-	-	0.55
(DAC-67)	4.4	1.95	0.67	14.2	11.3	1.36	-	0.34
(DAC-70)	7.0	1.55	1.28	8.8	7.7	-	-	0.83
(DAC-70)	6.4	1.28	0.68	18.9	14.2	1.17	-	0.53
(DAC-77)*	8.4	2.30	0.94	13.4	21.6	1.06	-	0.42
(DAC-77)*	11.5	1.90	0.69	13.8	27.2	1.33	-	0.36
(DAC-80)**	3.2	1.70	-	6.9	-	-	-	-
(DAC-80)	6.4	1.28	0.86	17.8	14.2	-	-	0.62
(DAC-84)	10.9	1.10	0.90	9.7	8.4	1.17	-	0.82
(DAC-84)	8.7	1.49	1.18	13.0	10.4	1.56	-	0.79
(DAC-90)	6.2	1.95	1.15	12.7	11.5	-	-	0.59
(DAC-90)[c]	7.1	2.56	1.13	37.3	21.0	2.06	3.33	0.44
(DAC-90)[c]	5.9	1.67	0.86	26.9	20.2	1.42	7.42	0.52
(DAC-90)[c]	10.0	0.77	0.64	41.4	58.1	0.77	5.84	0.83
(DAC-90)[c]	5.4	2.21	-	12.7	-	1.86	-	-

[a] 65% RH(20℃), [b] 100% RH(20℃), (Cu ads) : $CuSO_4$-NH_4OH계 방사직후(EDTA 미처리),

[c] $CuSO_4$, * : H_2SO_4계에서 방사, **NaOH-에탄올계에서 방사

DSC : 탈아세틸 키틴.

키틴과 키토산섬유를 비교해 보면 큰 차이가 나는 것은 습강도 및 결절강도(건·습)이다. 키틴섬유는 습강도가 매우 적지만 탈아세틸화가 진행됨에 따라 개선되는 경향이다. 결정강도의 경우도 같은 경향이다. 따라서 키틴섬유는 쉽게 부서지는 성질을 가지고 있다. 이같은 현상은 알킬 키틴 유도체의 경우는 더욱 명확하다(표 1, 2). 이것은 GlcNAc잔기내 또는 잔기간의 수소결합 재생이 저해되기 때문에 일어난다. 표 1에서 알 수 있는 치환기 효과중에서도 물과의 친화성을 보면 메틸렌사슬이 긴 치환기 쪽이 잘 흡수하고 가지가 많은 치환기쪽이 더욱 잘 흡수하는 것을 알 수 있다(그림 6).

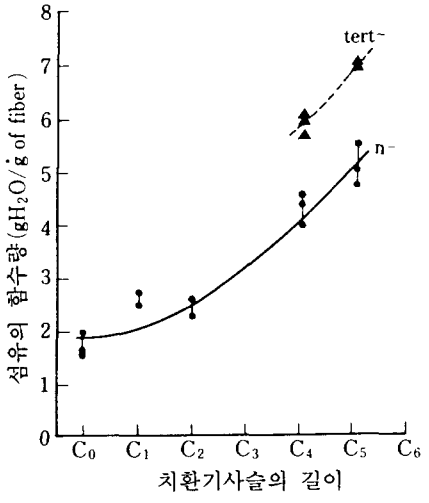


그림 6. 알킬키틴 유도체 섬유의 흡수성과 알킬사슬의 길이 및 다분자와의 관련성
(함수량은 20℃에서 측정).

키틴 및 키틴유도체 섬유는 건조할 때 수세한 후에 바로 건조하면 필라멘트가 서로 융착하는 현상이 일어나지만 알콜 등의 유기용매로 탈수한 후에 건조하면 이 현상은 일어나지 않는다. 이 융착은 일단 건조가 되면 일어나지 않기 때문에 역시 수소결합의 재생과 관련된 현상이라 생각된다. 이들 융착을 "자기접착성"으로 볼 수도 있기 때문에 키틴섬유의 초지성(抄紙性)으로 이 성질을 확일할 수 있다.[48] 건조 전에는 키틴 및 키틴유도체 섬유 모두 종이형성능이 있고 특히 키틴유도체는 필름상으로 된다. 또한 펄프와 이들 섬유를 혼합 초지하면 특별한 바인더 없이도 충분히 종이의 강도를 확보할 수 있다. 이같은 현상은 전술한 알칼리 키틴을 사용해 제조한 키틴 비스코스와 셀룰로오스 비스코스의 혼합방사시에도 나타나고,[39] 셀룰로오스와 키틴은 서로 높은 친화성을 보여 양 비스코스간에 분리층이 전혀 생기지 않는다.

바인더의 특성은 표 1에 나타낸 바와 같이 키틴유도체 특히 가지가 많은 알킬유도체 쪽이 우수하다. 이처럼 키틴유도체는 수산기와 특히 높은 친화성을 가지고 있다는 것이 시사되고 있고, 물분자가 필름투과성이 있어서 이 투과성은 키토산 필름을 이용한 수알코올계로부터 알코올 농축을 목표로 한 연구에 이용하고 있다.[49]

이들 키틴유도체의 재생에서의 문제점은 물분자가 증발할 때의 수축현상이다. 초지(抄紙)시에도 그렇지만 셀룰로오스에 비해 수축율이 매우 높기 때문에 필름과 같이 투과성을 중요시할 경우에는 신중할 필요가 있다.

3) 리소짐(lysozyme) 수용성

키틴이 생체내 소화성이 있다는 것은 앞서 언급했지만 재생 성형하기 위해서는 용해도를 높일 필요가 있다. 금속착체 용매계의 경우는 성형 후 어떻게 해서든지 금속이나 용매를 제거할 수 있을 것인가가 문제이고, 화학수식을 하면 물 등의 무해용매에의 용해도는 증가하지만 키틴 본래의 생체내 소화성이 사라져 면역원성을 나타내게 된다. 용매의 제거는 그때 그때 경우에 따라 다르겠지만 화학수식에 의한 치환기의 도입위치와 생체내 소화성에 대해서는 미리 조사할 필요가 있다.

일반적으로 재생섬유는 재생 전보다도 리소짐 수용성(생체내 소화성을 목표로 해서)은 증대된다. 특히 알킬화 키틴은 결정구조 재생의 불완전성 때문인지 키틴보다도 상당히 높은 리소짐 수용성을 나타내고 있다. 또 CM-키틴은 다양한 수용성을 나타내고 있다. 이들 섬유의 치환도 GlcNAc 잔기상 C-6위치 수산기만 40%이하이다. 따라서 대부분이 키틴임에도 불구하고 소화성은 현저하게 향상된다. 그러나 CM-키틴의 경우 치환이 진행되어 GlcNAc 잔기상의 C-3위치 수산기가 치환되면 급격히 소화성이 떨어진다. 또 탈아세틸화해서 C-2위치 아세트아미드기가 없어지면 소화성도 잃을 것으로 생각되지만 실제로는 상당

히 다른 결과를 낳는다. 리소짐에 의한 소화성은 탈아세틸화도가 70% 정도까지는 역으로 상승하고 그 이후로는 하강하는 종형곡선이 얻어진다.[49] 이것도 수소결합에 기인하는 결정구조와 리소짐 수용성의 관계를 시사하는 좋은 예라 할 수 있다. 70% 탈아세틸화 키틴(DAC-70)은 면역아쥬번트(adjuvant) 활성에서도 최대의 활성을 가지고 있기 때문에 이 구조해석이 현재 큰 문제로 되어 있다. 이 DAC-70 분자상의 아미노기와 아세트아미드기의 분포도 중요한 인자라 생각되지만 리소짐으로 철저히 가수분해해서 그 생성물 중의 올리고당 조성을 겔여과법(Sephadex G-25)으로 조사하면 8잔기 이하의 단당류로 구성된 올리고머가 전체의 90%이상을 차지하고 있다. 따라서 양잔기는 비교적 균일하게 분포(아미노기와 아세트아미드기의 분포가 무작위 분포)하고 있다.[50] 탈아세틸화 반응이 진한 알칼리중에서의 현탁계에서 이루어지는 것을 보면 키틴분자 중의 결정구조의 균일성이 매우 좋은 것으로 생각된다.

앞으로 탈아세틸화도와 리소짐 소화생성물의 크기와 연관성에 대해 키틴분자의 결정구조 해석면에서 상세히 검토할 필요가 있다. 이처럼 리소짐 소화성 면에서만 보면 GlcNAc 잔기의 C-2 및 C-3 위치가 치환되지 않는 한 C-6 위치 치환으로는 영향을 받지 않을 것 같다.

4) 임파구와 키틴유도체와의 상호작용

키틴을 카르복시메틸(CM)화 하면 산성 폴리머 그리고 탈아세틸화하면 염기성 폴리머로 바꿀 수 있기 때문에 40% CM화 키틴을 99% 개미산에 용해한 후 아세톤 중에서 압출, 고화한 CM-키틴섬유, 70% 탈아세틸화 키틴(DAC-70)섬유, DHP(디히드록시프로필)-키틴섬유(40% 치환으로 CM-키틴과 똑같이 방사) 및 아세틸-키틴섬유를 칼럼에 충진하고 여기에 실험쥐의 비장 임파구를 유출시키고 유출액중의 각 세포를 형광표지해서 낙사형광 현미경으로 조사하여 칼럼내에 유지된 각 세포수를 계산한 결과를 표 3에 나타내었다. 임파구 중의 B세포에 대한 친화성이 가

표 3. 키틴 및 키틴유도체 섬유에의 흰쥐 임파구의 점착거동

폴리머	치환도	점착총수(%)	B세포(%)[a]	T세포(%)[b]	B / T
키 틴	−	69.1± 4.3	70.6± 2.5	66.3± 6.6	1.1
DAC−70	84%	69.2± 5.0	93.8± 6.2	57.5± 4.3	1.6
DHP−키틴	0.4	54.3± 9.7	76.4± 5.1	40.6± 1.6	1.9
CM−키틴	0.4	27.7± 6.7	64.7± 8.0	20.0± 7.4	3.2
아세틸−키틴	2.0	47.4± 9.3	77.8± 12.2	34.0± 9.4	2.3

[a] (칼럼내 유지된 B세포의 수/칼럼내에 주입한 B세포의 수)×100

[b] (칼럼내 유지된 T세포의 수/칼럼내에 주입한 T세포의 수)×100

장 높은 것은 CM-키틴이고 다음으로 아세틸-키틴, DHP-키틴, DAC-70, 키틴의 순인 것을 알 수 있다.[51] 단 CM-키틴섬유에의 점착총수가 가장 작은 것으로 보아 오히려 CM화에 의한 음전하가 점착거동을 제한하고 있는 것으로 생각된다. 실제 혈액단백질 중에서도 피브리노겐은 CM화가 진행되면 그 흡착량이 극단적으로 적어지지만 BSA(소혈청 알부민) 등은 CM화도와는 거의 관계가 없다는 보고[37]도 있는 것으로 보아 음전하에 의한 반발로 흡착량이 저하하는 것도 생각할 수 있다.

5) 키틴 헤파리노이드(heparinoids)으로의 전환

항응혈성 다당인 헤파린의 합성이 시도되고 있지만[52] 키틴, 키토산의 화학구조를 보면 헤파린 유사물질로 전환할 수 있는 조건을 갖추고 있다. 우선 키틴의 C-2위치의 아세트아미드기의 화학처리로 *O*-황산기와 *N*-황산기의 함량을 임의로 바꿀 수 있다. 생체내 소화성도 조절가능하다. 실제 키토산으로부터 헤파리노이드를 합성한 예도 있다.[53] 그러나 독성과 관능기와의 관계가 확실히 밝혀져 있지 않다. 키틴에서 단계적으로 헤파리노이드를 합성해 가면 이 관계가 명확하게 밝혀질 수 있고 동시에 항응혈성 발현기구

도 해명될 가능성이 높다. 전술한 바와 같이 키틴을 CM화하면 80% CM화로 피브리노겐이 거의 흡착되지 않게 되므로 CM-키틴을 출발물질로 해서 단계적으로 반응을 시키면서 항응혈 활성을 조사한 보고가 있다.[54] CM-키틴의 *O*-황산화물의 경우 황산화도를 여러단계로 변화시켜도 항트롬빈-III(AT-III)과 우선적으로 반응하는 화합물은 발견되지 않았다.[55] 오히려 트롬빈과 반응해서 비경쟁적 저해를 하는 것 같다.

그러나 CM화도와 항트롬빈 활성, 탈아세틸화도(-황산화도)와 항트롬빈 활성과의 관련성을 AT-III 공존하에서 조사하던 중 CM화도가 약 60%, 탈아세틸화도가 70% 정도의 유도체를 *O*-, *N*-황산화하면 헤파린과 거의 비슷한 항응혈 활성을 가진 헤파리노이드가 된다는 것으로 밝혀졌는데, 이 헤파리노이드 합성경로는 그림 7과 같다.[54]

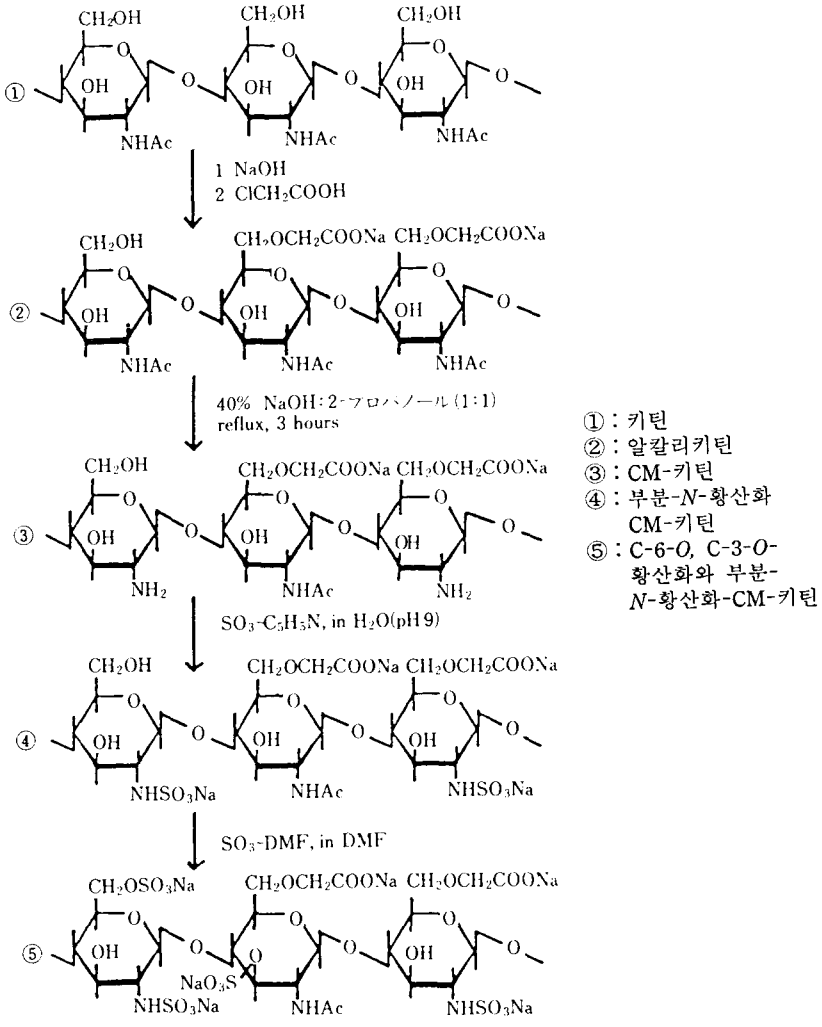


그림 7. 키틴 헤파리노이드 합성경로의 예.

이중에서 CM-키틴을 70% 탈아세틸화하고 *N*-황산화한 *N*-SCM-DAC-70과 C-3, C-6, *O*-황산화한 *N*-*O*-SCM-DAC-70과는 큰 차이가 있는데 후자는 AT-III의 공존하에서 헤파린과 거의 동등한 거동을 하는데 비해 전자는 저농도 영역에서는 헤파린보다 훨씬 낮은 항트롬빈 활성을 나타낸다(그림 8). 이들 저해반응을 다시 추적해 보면 AT-III가 공존하지 않은 계에서는 헤파린과 같은 비경쟁적 저해로 트롬빈 활성을 저해하지만 AT-III 공존하에서는 *N*-황산화 CM-키틴(*N*-SCM-DAC-70)도 *N*-*O*-황산화 CM-키틴(*N*-*O*-SCM-DAC-70)과 같이 경쟁적으로 트롬빈 활성을 저해하고 있는 것이 시사되고 있다. 그러나 그림 9에서 알 수 있듯이 항트롬빈 활성이 가장 높은 *N*-*O*-SCM-DAC-70 조차도 헤파린의 1/2 이하인 것을 알 수 있다.

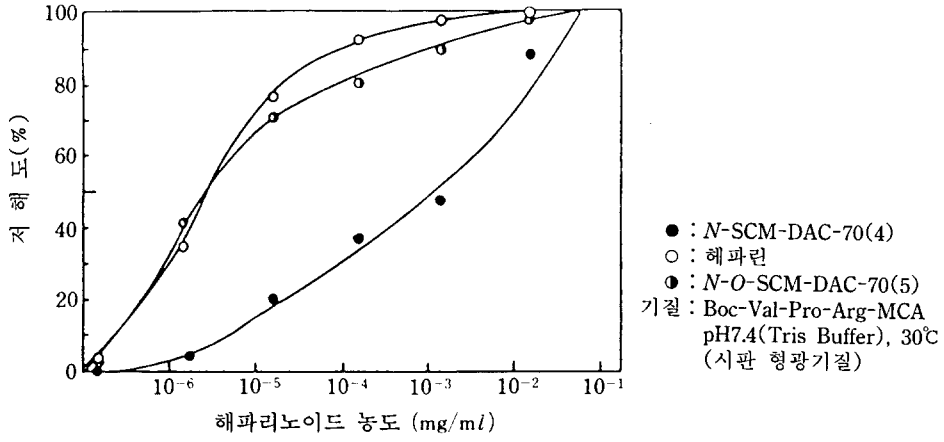


그림 8. 키틴 헤라리노이드에 의한 항트롬빈 활성(AT-III 공존하).

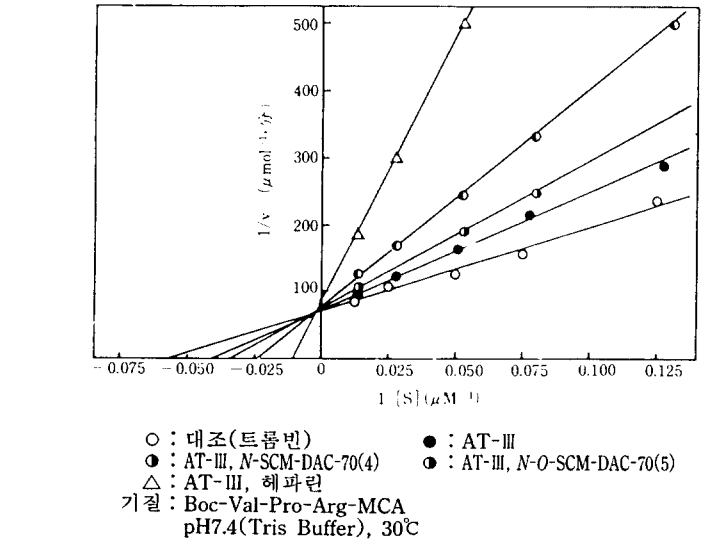


그림 9. 각종 헤파리노이드에 의한 트롬빈 활성저해(AT-III 공존하).

한편 AT-III-*N*-*O*-SCM-DAC-70 복합체를 여러 단계의 몰비로 혼합해서 만들고 Sephadex G-100으로 겔여과한 결과(그림 10)를 보면 AT-III의 분자량이 60K, 헤파리노이드가 거의 12K이기 때문에 74K의 피크는 양자가 1 : 1

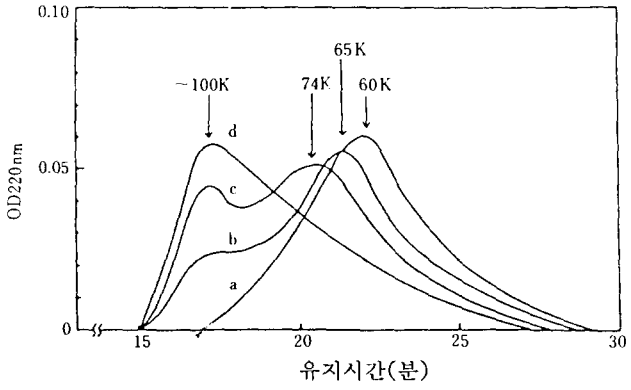


그림 10. AT-III와 *N*-*O*-SCM-DAC-70 복합체의 겔여과.

의 몰비로 흡착하고 있는 것이 된다. 혼합비를 바꾸어도 100K가 최대로 이 이상의 분자량 증대는 없었다. 따라서 AT-III 한 분자에 헤파리노이드 약 3분자가 결합 가능하게 된다. 그러면 AT-III 한 분자에 몇 분자의 헤파리노이드가 결합하면 항트롬빈 활성은 최대로 될 것인가? 그림 11을 살펴보면 74K의 분획에서 이미 거의 최대활성을 나타내고 있다. 따라서 몰비 1 : 1에서 AT-III의 저해활성을 최대한 끌어낼 수 있다. 트롬빈과의 직접결합에서

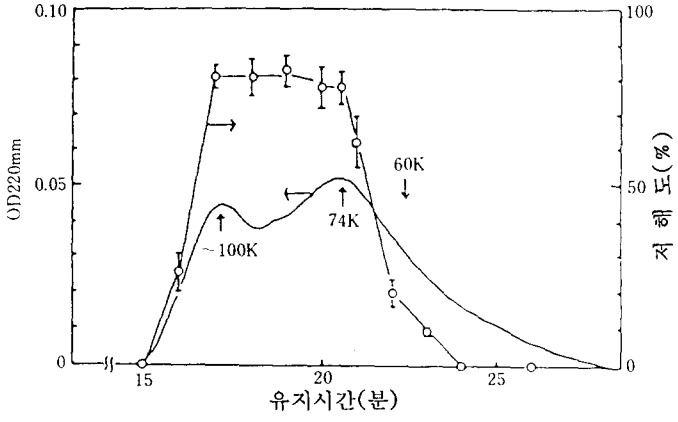


그림 11. 복합체 각 획분의 항트롬빈활성

는 AT-III의 경우보다도 훨씬 고농도의 헤파리노이드를 투입해야 겨우 복합체가 형성되고 게다가 복합체의 분자량은 무제한으로 크게 되는 경향이 있다.[56]

6) 면역 아쥬번트(adjuvant) 활성

키틴 및 C-6치환체는 리소짐 수용성이 높고 생체내 소화성이 우수하다는 것은 예상되고 있지만 키틴의 탈아미노화가 진행됨에 따라 면역원성이 높아지는 것도 예상할

수 있다. 부분 탈아세틸화 키틴의 잔기간 혹은 분자간 수소결합 형성능을 고려하여 분자자체는 직쇄상이지만 실제는 이 분자간 수소결합에 의해 분지분자와 같은 거동을 한다고 생각된다. 렌티난(lentinan)이나 시조피란(schizophyllan) 등 분지 호모다당이 면역 아쥬번트 활성을 가진 항종양 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이같은 사실을 기초로 하여 키틴 및 키틴유도체에 대해 면역 아쥬번트 활성을 조사한 것을 살펴보면, 실험쥐 복강 대식세포(macrophage)의 활성화 시험을 한 결과, CM-키틴[57]과 일련의 탈아세틸화 키틴에 대식세포 활성화능[58]이 발견되었다. 특히 80% CM화 키틴과 DAC-70이 높은 활성화능이 있고, 독성은 높지만 대식세포 활성화능도 높은 것으로 알려져 있는 피란 공중합체와 거의 같은 활성화능이 나타났다(표 4). CM-키토산(약 70% 탈아세틸화 CM-키틴)이 인산화 키틴(P-키틴)이나 *O*-황산화 키틴(S-키틴)과 같은 수준까지 활성화능이 저하하는 것으로 보아 카르복실기와 아미노기가 동시에 활성화능의 중요한 인자라는 것을 알 수 있다. 그래서 탈아세틸화도와 대식세포 활성화능의 관계를 조사한 결과(표 5), DAC-70이 가장 높은 대식세포 활

표 4. *in vivo*에서의 대식세포 활성화에 미치는 키틴유도체의 효과

화 합 물	세포장해(%)
키틴	2.5± 3.0
CM-키틴	53.0± 4.0
P-키틴	3.4± 4.2
S-키틴	2.8± 6.6
아세틸 키틴	0.3± 2.6
HE-키틴	22.2± 4.8
DHP-키틴	15.3± 3.2
CM-키토산	3.9± 3.7
DHP-키토산	18.6± 7.2
DAC-70	55.9± 4.3
피란 공중합체	66.4± 3.0
대조구	1.0± 5.6

표 5. *in vivo*에서의 대식세포 활성화에 미치는 키틴유도체의 효과

화합물[a]	투여시기 (일)	투여량 (μg)	세포장해(%)[b] (mean± S.E.)	생장억제(%)[b] (mean± S.E.)	H_2O_2방출[c] (nmol/mg단백질)
키 틴	− 5	500	9.8± 3.9	98.0± 0.2	25.8± 3.4
DAC-30	− 5	500	55.0± 6.2	98.6± 0.1	37.0± 1.2
	−10	500	37.6± 7.1	97.5± 0.5	16.9± 0.8
	−10	500	34.5± 5.2	98.0± 0.1	24.9± 3.4
DAC-70	−10	500	56.8± 4.7	98.5± 0.1	59.3± 2.6
	−10	500	33.5± 4.1	97.5± 0.3	62.6± 4.2
	−15	500	31.9± 7.7	95.7± 0.3	53.7± 5.3
DAC-95	− 5	500	19.2± 3.9	88.3± 3.7	40.1± 2.2
	−10	500	19.2± 5.0	62.1± 1.9	24.6± 2.2
	−15	500	22.4± 5.5	73.2± 3.5	17.9± 1.4
대 조 구	−	−	-1.8± 4.1	40.0± 7.0	3.1± 1.3

[a] 대식세포 채취 전에 생쥐 복강내에 투여

[b] 각 값은 6회 실험한 평균값

[c] 20nm의 PMA에서 대식세포를 30분 자극(결과는 30분 후에 생산된 H_aO_2량)

활성화능을 나타내었으며, 탈아세틸화도가 95%인 DAC-95가 대식세포 활성화능이 상당히 낮은 것은 아미노기 뿐만 아니라 분자형태 자체도 중요한 인자라는 것을 시사하고 있다. 그리고 아미노기의 해리정수가 pK=6.4~6.5로 낮기 때문에 아미노기를 4급화하거나 아미노산을 결합시켜 pKa를 변화시켜 보아도 대식세포 활성화능은 거의 영향을 받지 않았다.[59] 한편 CM-키틴은 80% CM화 키틴이 가장 높은 활성화능을 나타내었고 CM화도가 이보다 낮거나 높아도 활성화능은 낮은 값을 나타내었다. 이같은 경향은 DAC-70의 경우와 거의 비슷하지만 CM-키틴이 높은 생체내 소화성, DAC-70이 낮은 생체내 소화성을 나타내기 때문에 대식세포 활성화능의 지속시간을 조사한 결과, CM-키틴이 최대 3일인 것에 비해 DAC-70의 경우는 7에서 10일까지 지속되어 복강내 체류시간과의 연관성이 고려되었다. 특히 생체내 소화성이 현저히 저하하는 고 CM화 키틴에 대식세포 활성화능이 거의 없는 것은 매우 흥미있는 현상으로 앞으로 면역원성과 함께 상세한 연구가 기대된다. 복강투여량과 대식세포 활성화능과의 관계에서는 DAC-70이 세포장해 활성이 20μg의 투여량에도 상당한 수준을 유지하였는데 CM-키틴의 경우는 100μg이 되어야 겨우 세포장해 활성이 나타났고 20μg에서는 거의 활성을 유지하지 않았다(표 6). CM화 위치를 GlcNAc 잔기의 C-2

표 6. 대식세포 활성화와 투여량의 관계

화 합 물	투여량 (μg)	세포장해(%) (mean± S.E)	생장억제(%) (mean± S.E.)
70%-DA-키틴	2500	34.4± 3.6	84.2± 1.8
	500	39.3± 3.1	81.2± 0.9
	100	38.9± 3.5	81.7± 1.9
	20	29.5± 2.8	79.4± 1.0
CM-키틴	2500	25.5± 3.4	87.0± 0.5
	500	30.8± 3.2	80.1± 1.9
	100	22.8± 3.6	87.0± 1.0
	20	9.3± 3.3	77.9± 1.6
피란공중합체	500	47.6± 3.0	81.2± 1.6
대 조 구	–	2.1± 3.4	41.1± 4.3

아미노기로 한 *N*-CM-키틴(탈아세틸화도 70%)에 대해서도 대식세포 활성화능을 조사했지만 DAC-70보다도 CM-키틴에 더 가까운 경향을 나타내었다. 전체적으로 CM-키틴보다 약하였지만 높은 활성능을 나타내었다. 이것은 분자형태 뿐만아니라 관능기의 치환위치도 대식세포 활성화능에 영향을 미친다는 것을 시사하고 있다. 이처럼 종양세포 장해활성을 나타내거나 생장억제를 하는 것으로 보아 면역 아쥬번트 활성이 있는 것으로 시사되고 있지만 이를 확인하기 위해 Nishimura 등[60]은 시토카인류(cytokines)·모노카인류(monokines) 생성능에 대해서도 조사했다. 그 결과 모르모토(marmotte)에서의 혈중 항체생산, 지연형 과민증의 유도 그리고 생쥐에서의 NK세포(natural killer cell) 활성화, 헬퍼 T세포(helper T cell) 및 동종세포 상해성 T세포(CTL) 활성화에 대해 증강능이 있다는 것이 밝혀졌다. 그러나 DAC-70은 시험관내에서 대식세포 및 CTL을 활성화하지 않고 흰쥐 비장세포의 증식을 촉진하지 않는 것으로 보아 세포유래의 리포(LPS) 및 BCG세포벽 골격과는 다른 기구로 면역증강 활성을 나타낸다고 생각된다. 시토카인 생산에 대한 DAC-70의 효과를 보기 위해 DAC-70을 흰쥐 복강내에 주입하자 6~12시간 후 혈청중의 콜로니형성 자극인자(CSF) 활성이, 24시간 후에는 인터페론(IFN) 활성이 현저히 상승했다. 한편 DAC-70은 시험관내에서 흰쥐 복강 대식세포에 의한 CSF, 인터로이킨 1(IL-1) 및 CSF 생성을 촉진했지만 흰쥐 비장세포에 의한 CSF, 인터로이킨 2(IL-2), IFN, 대식세포 활성화인자(MAF) 생산 및 대식세포에 의한 IFN 생산은 촉진하지 않았다.

7) 합텐(hapten) 특이항체 생산능

CM-키틴의 생체내 소화성은 CM화로의 진행과 함께 증가하지만 *N*-아세틸글루코사민 잔기(GlcNAc)의 C-3 수산기가 CM화되면 역으로 저하하는 특성을 가진다. 한편 CM-키틴은 가벼운 미토겐(mitogen) 활성을 나타낸다. 또 흰쥐의 비장임파구 중의 B세포에의 친화성을 나타내기 때문에 생체내 주입했을 경우 B세포계 항체생산능을 약간 자극하지만 CM-키틴의 소화속도가 높기 때문에 CM-키틴 자체로는 항체생산능이 없다고 생각된다. Tokura 등[61]은 이러한 사실에 주목해서 합텐 특이항체 생산능에 대해 조사했다. 이들은 CM-키틴-hapten으로 이루어진 항원을 합성하여 이를 Freund의 완전 아쥬번트와 함께 토끼의 피부내에 2주마다 주사했더니 그림 12에 나타낸 바와 같

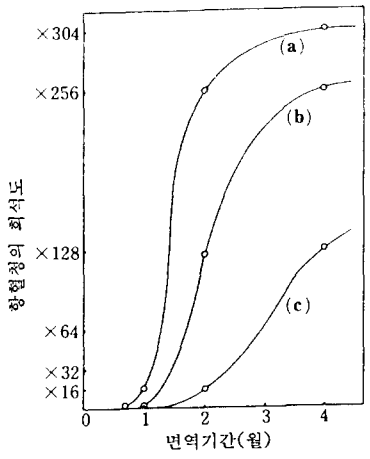
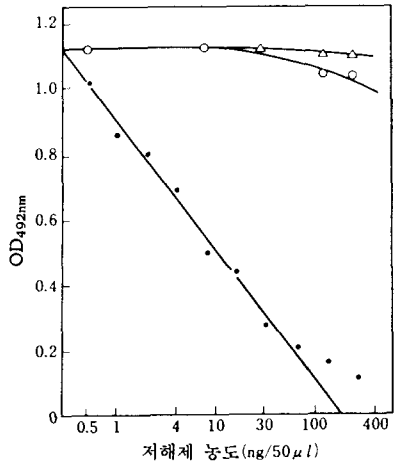


그림 12. 시간변화에 따른 항체생산
(A, B, C 3마리의 토끼를 사용. Freund의 완전 아쥬번트와 함께 2주마다 피부내에 주사해서 면역).

이 시간경과에 따라 항체가 생산되었다. 항원의 역가는 ELISA법(효소면역 표시법 : avidin-biotin peroxidase 복합체를 이용한 고감도 항원-항체반응 분석법)으로 검토한 결과(그림 13), CM-키틴 및 CM-키틴 올리고머(당잔기



● : methamphetamine 공존하(검량선)
△ : CM-키틴(담체) 공존하
○ : CM-키틴 올리고머 공존하

그림 13. 저해제에 의한 과산화효소 발색저해.

4~5의 올리고머)의 경우는 methamphetamine처럼 peroxidase 활성감소를 나타내지 않는 것으로 보아 합텐 특이적 항체라는 것이 시사되었다. Freund의 완전 아쥬번트를 가하지 않은 계에서는 면역개시 1개월내에 매우 약하게 항체가 생성되었지만 곧 소실되었다.

8) 금속흡착능

CM-키틴[62] 및 탈아세틸화 키틴[63]은 이온교환수지로서 이용이 가능하다는 것이 알려져 있고 탈아세틸유도체의 금속흡착능도 잘 연구되어 있다. CM-키틴의 금속흡착능을 보면 CM화도가 증가할수록 흡착능도 상승하는데, 특히 Ca^{2+}와의 흡착은 다른 이온과 완전히 다르다. 다른 흡착이온들은 pH를 산성쪽으로 하든지 이온강도를 높히면 이탈됨으로 이온결합이라고 여겨지지만 Ca^{2+}만은 쉽게 이탈되지 않고 EDTA와 같은 킬레이트제에 의해서만 이탈이 가능하였다. 또 Mg^{2+}흡착 CM-키틴에 Ca^{2+}를 첨가하자마자 교환반응이 일어나 Mg^{2+}가 유리되었다. 또 저치환 CM-키틴(물불용성)을 섬유화하면 모든 이온흡착능은 상승하지만 Ca^{2+}흡착 특이성은 소실됨으로 GlcNAc 잔기상의 각 관능기의 입체배치가 관여하는 특이 흡착능이라고 생각된다. 이를 증명하는 것으로 Ca^{2+}흡착 CM-키틴에의 아미노산 흡착능이 시사되고 있다(표 7).[64] 분말상 CM-키틴(저치환물불용성)의 경우 D, L-리진이 가장 흡착능이 높다. 그러나 Ca^{2+} 공존계에서는 리진의 흡착이 1/10로

표 7. Ca^{2+}흡착 CM-키틴에의 아미노산 흡착

아미노산	Ca^{2+}킬레이트	비교환 용량[a] (mmol/g)	비교환 용량[b] (mmol/g)
CL-페닐알라닌	−	6.5×10^{-4}	0.2×10^{-2}
	+	3.3×10^{-2}	0.2×10^{-2}
D,L-리진·염산염	−	2.0	7.3×10^{-2}
	+	0.3	6.5×10^{-2}
D,L-글루탐산	−	2.2×10^{-4}	0
	+	0.4×10^{-4}	2.0×10^{-4}

[a] 분말상 CM-키틴 [b] 섬유화 CM-키틴
D,L-리진은 0.5M NaCl로 유리,
다른 것은 0.1M EDTA·2Na로 유리.

떨어진 것에 비해 오히려 D, L-페닐알라닌은 50배로 증가했다. 그런데 섬유화로 분자를 배향시킨 CM-키틴에서는 아미노산 흡착에 대한 Ca^{2+}의 영향은 전혀 없었다. 고치환 CM-키틴(수용성)에도 Ca^{2+} 특이흡착능 및 D, L-페닐알라닌 흡착특성은 남아 있기 때문에 분자배향으로 이 성질은 소실시킬 수 있을 것이다.

9) 식품산업에 응용 가능한 기능성

① **흡수성과 계면활성** : 키틴, 미세결정화 키틴(microcrystalline chitin) 및 키토산의 흡수력은 미세결정화 셀룰로오스보다 높고 결정화도의 차이에 따라 다르지만 키틴의 흡수율은 325~440%(w/w)이다.[65] 한편 키틴, 미세결정화 키틴 및 키토산은 유지를 170~215% 흡수하는 성질도 있고, 미세결정화 키틴도 초음파 처리하면 키틴 1g중 900㎖의 기름을 유화할 수 있다.[66]

이같은 기능을 가진 키틴의 활용방안의 하나는 빵제조시 증량제이다. 즉, 소맥분 빵이나 단백질강화 빵(단백질을 소맥분에 8% 첨가한 것)의 경우 미세결정화 키틴을 가하면 미세결정화 키틴의 첨가량 증가에 따라 빵의 용량이 증가한다.[66] 이때 최적 가수량은 소맥분에 대해 65%였고, 특히 단백질강화 빵의 경우는 유화제나 쇼트닝을 가하지 않아도 용적을 증가시킬 수 있다. 이는 키틴이 가지고 있는 계면활성 작용에 의해 단백질첨가시에 일어나는 빵의 용적감소를 막아주기 때문이다.

② **분자간 특성 및 흡착특성** : Dunn과 Farr[67]는 식품을 실온에서 저장할 경우, 레토르트 살균을 또는 동결해동을 반복할 경우 미세결정화 키틴이 미세결정화 셀룰로오스보다도 우수한 분산성을 나타낸다고 하였고, 미세결정화 키틴을 식품의 증점안정제로서 이용할 수 있다고 했다. 또 키토산은 음이온에 의해 겔을 형성하고 그 기계적 안정성은 알긴산칼슘의 겔과 동등하다는 보고도 있다.[68] 한편 Knorr[66]는 키틴과 키토산의 식용색소 흡착능 시험에서 1g의 키틴 혹은 키토산에 적색 40호 색소가 0.2~1.6g이 흡착되고 키틴에 흡착된 색소는 pH 2.0~6.0 범위에서는 거의 이탈되지 않는다고 하였다. 그리고 키틴 1g에 적색 40호 0.74㎎을 가한 것을 사료에 첨가하여 실험쥐에 투여했을 경우 체중증가 또는 내장기관 등에 어떤한 이상도 나타나지 않았다.[69]

③ **장내 유용세균 생육인자** : 우유로 치즈를 제조할 때 생기는 부산물인 유장은 질이 좋은 단백질을 많이 함유하고 있지만 70% 가까운 락토오스를 함유하고 있어 일부 성인과 많은 포유동물은 락토오스를 소화하지 못하는 것으로 알려져 있다. Austin 등[70]은 유장의 유효이용을 목적으로 키틴분해물이나 미세결정화 키틴을 유장과 함께 동물의 사료 중에 가해 동물의 성장을 보는 실험을 행했다. 먼저 실험쥐를 이용해 보통의 사료에 30%의 유장과 키틴의 분해물인 *N*-아세틸글루코사민의 프로필글루코시드 1.2%를 가한 군(NAG 첨가군)과 유장만을 가한 군(NAG 무첨가군)에 대해 8주간의 공여시험을 행한 결과, NAG 첨가군은 NAG 무첨가군에 비해 높은 성장을 나타낸 반면 NAG 무첨가군에서는 심한 설사증상을 일으켜 죽음에 이르렀다. 다음에 미세결정화 키틴과 유장을 각각 단독 혹은 혼합해서 보통의 사료에 첨가하고 이들을 영계에 투여한 결과, 표 8에 나타낸 바와 같이 미세결정화 키틴 혹은 유

표 8. 미세결정화 키틴과 유장 첨가사료 투여에 의한 영계의 성장률

투여시기(일)	영계의 평균체중(g)			
	그룹 1	그룹 2	그룹 3	그룹 4
0	50± 1.2	49± 2.0	50± 2.2	51± 1.9
4	69± 2.6	66± 2.4	76± 3.0	78± 2.8
8	109± 4.9	116± 6.1	133± 5.6	133± 4.8
10	154± 7.1	156± 9.1	184± 6.1	190± 7.2
18	289± 16.2	292± 13.1	304± 14.6	360± 12.7
25	501± 24.6	523± 22.3	541± 20.4	615± 19.4
33	677± 26.3	586± 27.1	635± 24.3	825± 25.2
40	1087± 40.2	783± 31.0	1033± 32.6	1222± 38.9
46	1378± 82.1	1077± 37.9	1178± 39.7	1556± 58.8

장을 단독으로 첨가한 군(그룹 2 및 3)에서는 보통사료군(그룹 1)에 비해 확실히 성장율이 저하되었다. 여기에 대해 20%의 유장과 2%의 미세결정화 키틴을 첨가한 군(그룹 4)에서는 성장촉진 인자가 인정되었다.[71]

4. **콜레스테롤 저하능** : 현재 식생활 중에서 고콜레스테롤 혈증의 예방과 개선은 중요한 문제이다. 이와 관련하여 천연에 존재하는 양이온성 섬유인 키토산의 콜레스테롤 저하효과에 관한 Sugano(菅野) 등의 연구가 있다.[72,73] Sugano 등은 키토산의 소장내에서 담즙산과의 어떤 상호작용을 검토하기 위해 시험관내에서 키토산과 담즙산과의 결합성을 조사한 결과, 산성영역에서의 결합능은 종래부터 알려져 있는 펙틴보다 강하였고 담즙산포착제로서 범용되고 있는 콜레스티라민과 동등하였지만 중성영역에서의 결합능은 약했다. 이러한 사실로부터 위내에서 가용화한 키토산이 소장상부에서 어떤 기능을 발휘할 것으로 추측되어 여러 수준의 키토산을 함유한 콜레스테롤식을 실험쥐에 약 20일 투여하여 혈장 및 간장중의 콜레스테롤과 트리글리세리드에 미치는 영향을 조사했다. 그 결과 혈장 콜레스테롤 농도상승의 억제작용은 키토산 2~5% 수준에서 콜레스티라민의 그것과 비슷한 정도인 것으로 나타났다. 간장중의 콜레스테롤 및 트리글리세리드에 대해서도 유의적인 감소가 인정되었다. 그리고 0.5% 이하의 키토산을 함유한 콜레스테롤식을 장기간(80일) 투여했을 경우, 혈장중의 총콜레스테롤에 뚜렷한 영향은 없었지만 LDL-콜레스테롤의 경우는 저하하였고 HDL-콜레스테롤은 상승했다. 이처럼 저수준의 키토산 투여에서도 흥미있는 결과가 얻어졌다.

한편 고콜레스테롤 혈증에 걸린 실험쥐에 탈아세틸화도와 점도(분자량)가 다른 4종의 키토산을 각각 40% 첨가한 사료를 투여한 실험결과를 보면,[74] 사용한 키토산중에는 탈아세틸화도 90%이상의 키토산이 혈청 콜레스테롤 저하작용, HDL-콜레스테롤 상승작용을 나타내고 분변으로의 콜레스테롤 및 담즙산 배출효과도 인정되었다.

이상은 모두 실험쥐를 대상으로 한 것이지만 平野 등[75]은 5% 키토산 첨가사료로 닭을 사육해서 혈액중 콜레스테롤 등의 변화를 조사한 결과, 키토산 첨가구는 대조구에 비해 일주일 이내에 혈청 콜레스테롤 함량이 3/5으로, 혈청 아실글리세롤 함량이 1/10로 저하했다. 또 사료중에 키토산의 첨가를 중지하자 일주일 이내에 혈청 콜레스테롤 및 아실글리세롤 함량이 대조구의 수준으로 되돌아 왔다. 그리고 키토산 첨가구와 대조구의 시험닭을 병리해부한 결과, 양자간에 특별한 차이는 없고 간장의 크기나 중량도 거의 같았다.

이들 실험결과에서도 알 수 있듯이 탈아세틸화도가 어느정도 이상의 키토산에는 확실히 콜레스테롤 저하효과가 있었고, 더구나 그 안전성도 상당히 높은 것으로 시사된다. 앞으로 이들 자료를 기초로 사람에 대해서도 각종 실험을 행함으로써 키토산을 건강식품 소재로서 또는 콜레스테롤 저하제로서 활용될 것으로 기대된다.

5. **항균성** : 키토산 및 그 분해물이 식물병원성의 곰팡이 생육에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.[76,77] 이와 관련한 内戰 등[78]의 보고를 살펴보면, 키토산 0.1% 첨가로 곰팡이인 *Fusarium solani*의 증식이 완전히 억제되었고, 키토산 0.02%에서 *E. coli*는 완전히 증식이 저지되었다. 그리고 키토산 뿐만아니라 키토산을 키토산 분해효소로 약 5% 정도 가수분해한 가수분해물 및 키토산 올리고당에 대해 몇종의 미생물에 대한 최소 증식저지 농도(MIC)를 구한 결과, 표 9에 나타낸 바와 같이 그람 양성, 음성의 세균에 대해 현저한 증식억제 작용을 나타내었고, 항균활성의 강도는 키토산 분해물, 키토산, 키토산 올리고당의 순이었다. 이처럼 키토산 및 그 분해물에는 항균활성이 있기 때문에 안전성이 확인된다면 이들을 항균제로서 식품에 응용도 가능할 것이다.

표 9. 몇종의 미생물에 대한 키토산, 키토산 분해물 및 키토산 올리고당의 최소증식 저지농도

세 균	최소증식 저지농도(MIC), %		
	키토산	가수분해물 (50㎎ TRS/㎖)	올리고머 (508㎎ TRS/㎖)
E. coli	0.025	0.025	0.500
P. aeruginosa	0.040	0.020	0.600
B. subtilis	0.050	0.020	0.600
S. aureus	0.050	0.025	0.600

6. **키틴 및 키토산 유도체의 기능성** : 변 등[79]은 키틴과 키토산으로부터 카르복시메틸 키틴, 아세틸 키틴, 에틸 키토산, *N*-아세틸 키토산 및 키토산 황산염을 합성하여 그 기능특성을 키틴 및 키토산과 비교한 결과, 보수력은 *N*-아세틸 키토산이 1,194%로 키틴에 비해 약 2배 정도 높

았으며, 지방흡수력은 카르복시메틸 키틴이 1,800%로 키틴 511%에 비해 월등히 높았고, 유화성도 카르복시메틸 키틴이 75.9%로 가장 높았으며 그 다음이 미세결정화 키틴으로 57.0%였다. 그리고 색소흡착능은 아세틸 키틴이 0.93㎎ dye/g sample(Blue R-250), 0.96㎎ dye/g sample (Red-2)이었다. 이같은 결과로 보아 카르복시메틸 키틴은 유화제로, 아세틸 키틴은 색소흡착제로서 이용이 가능할 것이다.

⑦ **키토산 필름의 식품포장성** : 안과 이[80]는 키토산 필름의 식품포장 재료로서의 이용 가능성을 살펴보기 위해 키토산 필름을 제조하고 그 필름을 반염건 전갱이 제조에 응용했다. 이들은 제조된 키토산 필름이 투습성이 있다는 것에 착안하여 원료를 건조하기 전에 키토산 필름으로 미리 포장한 다음 건조시켜 본 결과 건조가 가능하였다고 했고, 이같은 방법으로 제조한 제품이 이화학적 및 관능적으로 대조제품에 비해 품질유지면에서 우수하였다고 했다. 이처럼 키토산 필름도 그 특성을 잘 이용한다면 식품산업에 유효하게 이용할 수 있을 것이다.

6. 용 도

키틴은 화학수식되어 다양한 기능을 발휘하기 때문에 앞으로 그 기능이 확대될 것이다. 그러나 현시점에서 생각되는 금속 흡착제, 고정화 담체, 의약 서방성(徐放性) 담체, 의료용 재료, 종자 전처리제(감염방지용), 화장품 등이지만 현재 시판되고 있는 제품으로는 인공피부, 봉합사, 삼푸, 린스, 키토산 비즈(beads), 키토산 섬유, 고분자 응집제 등이다. 이외 정발제(整髮劑)와 같은 화장품으로서의 응용연구도 진행되고 있지만 아직 개발의 여지가 남아있다.

이 중에서 다공성의 입경을 넓은 범위로 변환이 가능하기 때문에 용도개발이 급진전되고 있는 키토산 비즈에 대한 몇가지 예와 산업적으로 비교적 많이 이용되고 있는 고분자 응집제로서의 키토산에 대해 간단히 살펴보면, 우선 키토산 비즈는 대식세포 활성화능이 있는데 표 10에 나타낸 바

표 10. 키토산 비즈(beads)에 의한 흰쥐 대식세포 활성화

시 료[a]	세포장해활성(%)[b]		세포생장 억제효과(%)[b]
	3LL	FBL-3	FBL-3
실험 1			
DAC-비즈 07	12.5± 1.4	22.9± 1.6	89.8± 1.5
DAC-비즈 05	10.2± 0.8	10.5± 1.4	84.9± 1.3
DAC-비즈 02	0.9± 2.1	6.2± 1.6	74.3± 1.5
DAC-70	21.3± 1.3	28.2± 2.0	97.6± 1.1
대 조	-0.2± 1.1	0.1± 1.7	58.6± 1.6
실험 2			
DAC-비즈 07-S	33.2± 3.4	45.4± 5.4	97.3± 1.3
DAC-비즈 05-S	31.8± 1.8	46.7± 5.5	98.1± 0.2
DAC-비즈 02-S	25.3± 1.0	35.2± 5.3	84.1± 1.6
DAC-70	22.1± 3.0	39.1± 3.5	98.1± 0.2
대 조 구	-0.6± 1.9	-1.1± 3.9	20.1± 1.2

[a] 각 시료를 대식세포 채취 5일 전에 복강내에 500μg씩 투여. 실험 1의 경우는 1%, 실험 2의 경우는 50% 초산-에탄올에서 30분간 처리.

[b] 각 값은 6회 실험한 평균값.

와 같이 성형전과 큰 차이가 없는 활성화능을 가지고 있다. 특히 미소입경 비즈(입경 2.5μm)는 전처리 없이 직접 주입해도 대식세포 활성화능이 있다. 따라서 면역 증강능을 가진 서방성 약물담체로서 장래성이 있다고 생각된다. 또

표 11. β-갈락토시드 가수분해 효소의 키토산 비즈(beads)에의 고정화량

담 체	효소 희석배율	흡착율(%)	고정화 활성(U)
지방족형 가교	5배	62.3	48,000
	10배	67.2	38,000
	25배	67.7	10,000
	50배	71.4	59,000
	100배	76.4	2,900

이들 비즈는 정제(錠劑) 성형능을 가지고 있기 때문에 이 방면에서의 개발도 유망하다. 그리고 키토산 비즈의 내약품성 때문에 효소나 단백질 고정화 담체로서 이용할 수 있다. 예로서 β-갈락토시드 가수분해 효소를 고정화한 결과를 표 11에 나타내었다. 조작도 용이하고 고정화량의 조절도 간단하다. 일련의 고정화 β-갈락토시드 가수분해 효소의 안정성에 대해 조사해 본 결과, 고희석시의 안정성이 다소 떨어졌지만 이것도 축합시약의 선택으로 개선시킬 수 있을 것으로 본다. 다공성 비즈라는 점에서 HPLC에의 응용도 생각할 수 있는데 가교한 비즈(입경 0.1㎜와 0.7㎜)를 칼럼에 충진하고 각 점도의 액체를 통과시켰을 때의 압력손실을 그림 14에 나타내었다. 0.1㎜ 입경의 비즈는 20 kg/㎠의 압력에 견딜 수 있다. 한편 0.7㎜ 입경의 비즈는 점도가 10cp로 공간속도가 30일때 압력손실이 1.4kg/㎠였고 다소 점도가 높은 액체라도 고유속으로 사용이 가능하리라 생각된다.[81]

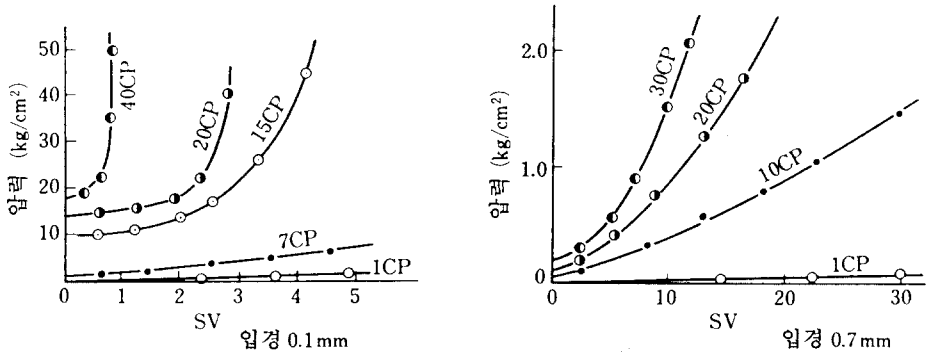


그림 14. 키토산 비즈 충진칼럼에서의 통액시 압력손실
(칼럼 내용적 250㎖, 글리세린 수용액)

그리고 키토산은 현재 고분자 응집제로서 폐수처리에 많이 이용되고 있는데, 일반적으로 키토산은 생활폐수중의 여러종류의 현탁액의 응집에 이용 가능하다는 보고가 많지만 일반적으로 DAM(dimethyl aminoethyl methacrylate)계 고분자 응집제의 효과보다 떨어지는 경우가 많다. 실제 키토산의 블록은 작아서 필요 첨가량이 많아 단순히 현탁물질의 응집에 키토산을 적용하는 것은 응집성 및 경제성 면에서 적절하지 않다고 할 수 있다. 키토산의 특징은 천연고분자 유도체이고 생분해되기 때문에 안전성 면에서 취급이 용이하다는 점과 그 화학구조가 다른 고분자 응집제와는 크게 다른 점이라 할 수 있는데 이들의 특징을 살려서 사용하는 것이 가장 바람직하다고 본다. 그러나 1980년에 키토산과 음이온성 고분자 응집제인 폴리아크릴산나트륨을 조합해서 사용하는 오니의 탈수법이 개발되어 그 적용범위가 확대되었다.[82]

7. 결 론

지금까지 기술한 바와 같이 키틴은 양적으로는 풍부하지만 그 이용범위는 한정되어 있고 여러가지 가능한 용도가 보고되고 있지만 아직까지는 연구단계에 있는 것이 대부분이다. 키틴, 키토산의 연구개발 방향으로서는 키틴, 키토산이 가진 여러가지 기능을 유효하게 활용시킬 필요가 있고, 그러기 위해서는 제품의 품질특성이 중요하고 또

화학수식으로 새로운 유용한 기능을 부여함으로써 미지의 잠재기능을 찾아내어야 할 것이다. 일본이나 구미 선진국에서는 키틴의 유효이용을 위한 연구가 활발히 진행되고 있으나 우리나라에서는 아직 일부 연구자들에 의해서만 연구가 이루어지고 있고 이에 관한 연구보고 역시 매우 적다. 앞으로 우리나라에서도 키틴을 이용한 산업화가 가능한 제품개발에 관한 연구와 보다 창의성있는 연구가 많이 이루어져야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Muzzarelli, R. A. A., In *Chitin,* Pergamon Press, Oxford, P. 1(1977).
2. Muzzarelli, R. A. A., In *Natural Chealating Polymer,* Pergamon Press, New York, p. 85(1973).
3. 福井三郎, 齊藤日向 監修, バイオテクノロジー事典, シエムシー, p. 645(1986).
4. Tracey, M. V., *Rev. Pure Appl. Chem.,* **7**. 1(1957).
5. 平野茂博, キチソ, キトサソの利用, シエムシー, p. 201(1982).
6. Bartnicki-Garcia, S., *Ann. Rev. Microbiol.,* **22**, 87(1968).
7. Jeuniaux, Ch., *Bull. Soc. Chim. Biol.,* **47**, 2267(1965).
8. Allan, G. G., Fox, J. R., and Kong, N., In *Processing of the 1st International Conference on Chitin/Chitosan,* Ed. R. A. A. Muzzarelli and E. R. Pariser, MIT Sea Grant Program, Massachusetts, p. 64(1978).
9. Sundarajan, P. R., and Marchessault, R. H., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.,* **35**, 377(1978).
10. Buffington, L. A., and Stevense, E. S., *J. Am. Chem. Soc.,* **101**, 5159(1979).
11. Clark, G. L., and Smith, A. F., *J. Phys. Chem.,* **40**, 863(1937).
12. Samuels, R. J., *J. Polymer Sci. Polymer Physics Edition,* **19**, 1081(1981).
13. Ogawa, K., Hirano, S., Miyanishi, J., Yui, T., and Watanabe, T., *Macromolecules,* **17**, 973(1984).
14. Sakurai, K., Shibano, T., and Kimura, K., *Sen-i Gakkaishi,* **41**, T-361(1985).
15. Hackman, R. H., *Austr. J. Biol. Sci.,* **7**, 168(1954).
16. Foster, A. B., and Hackman, R. H., *Nature,* **180**, 40(1957).
17. Shimahara, K. Y., Takiguchi, K., Ohkouchi, K., Kitamura, K., and Okada, O., In *Chitin, Chitosan and Related Enzymes*, Ed. Zikakis, P. J., Academic Press, New York, P. 239(1984).
18. Brine, C. J., and Austin, P. R., *Comp. Biochem. Physiol.,* **69B**, 283(1983).
19. *US Patent*, 2,072, 771(1936).
20. BeMiller, J. N., and Whistler, R. L., *J. Org. Chem.,* **27**, 1161(1962).
21. Horowitz, S. T., Roseman, S., and Blumenthal, H. J., *J. Am. Chem. Soc.,* **79**, 5046(1957).
22. 武田道夫, 藤浦 洋, 水產大學研究報告, **13**, 109(1964).
23. Brine, C. J., and Austin, P. R., *Comp. Biochem. Physiol.,* **70B**, 173(1981).
24. 島原健三, 瀧口泰之, 大河内一弘, 第2回キチソ・キトサソシソポジウム講演要旨集(鳥取), p. 18(1985).
25. Bough, W. A., Salter, W. L., Wu, A. C. M., and Perkins, B. E., *Biotech. Bioeng.,* **20**, 1931(1978).
26. 池田正彦, 島原健三, 農化, **52**, 355(1978).
27. Moorjani, M. N., Achutha, V., and Khasim, D. I., *J. Food Sci. Technol.,* **12**, 187(1975).
28. Kurita, K., Sannan, T., and Iwakura, Y., *Makromol. Chem.,* **178**, 3197(1977).
29. Lusena, C. V., and Rose, R. C., *J. Fish. Res. Board Can.,* **10**, 521(1953).
30. 日本 公開特許公報, 50-126784(1975).
31. Broussignac, P., *Chim. Ind. Genie Chim.,* **99**, 1241(1968).
32. 島原健三, 巖崎浩吉, 旭硝子工業技術奬勵會研究報告, **41**, 299(1982).
33. 佐藤道惇, フードケミカル, **11**, 81(1986).
34. Carlstrom, D., *J. Biophys, Biochem. Cytol.,* **3**, 669(1957).
35. Tokura, S., Yoshida, J., Nishi, N., and Hiraoki, T., *Polym, J.,* **14**, 527(1982).

36. Nishi, N., Nishimura, S., and Somorin, O., *Sen-i Gakkaishi,* **39**, 45(1983).
37. Nishimura, S., Ikeuchi, Y., and Tokyra, S., *Carbohydr. Res.,* **134**, 305(1984).
38. Muzzarelli, R. A. A., In *Chitin,* Pergamon Press, p. 58(1977).
39. 野口順藏, 和田 理, 瀨尾 寬, 戶倉清一, 西則 雄, 高分子化學, **30**, 320(1973).
40. Trujillo, R., *Carbohydr. Res.,* **7**, 483(1986)
41. Tokura, S., Nishimura, S., and Nishi, N., *Polym. J.,* **15**, 597(1983).
42. Nishi, N., Ebina, A., Nishimura, S., Tsutsumi, A., Hasegawa, O., and Tokura, S., *Int. J. Biol. Macromol.,* **8**, 311(1986).
43. Nishi, N., Noguchi, J., Tokura, S., and Shiota, H., *Polym. J.,* **11**, 27(1979).
44. 大官可容子, 浦木康光, 西則 雄, 戶倉清一, 第35會高分子討論會, **35**, 1672(1986).
45. Tokura, S., Nishimura, S., Nishi, N., and Nakamura, K., *Sen-i Gakkaishi,* **43**, 288(1987).
46. 日本 特許出願公開, 昭61－40337(1986).
47. 日本 特許出願公開, 昭61－70504(1986).
48. Kobayashi, Y., Nishiyama, M., matsuo, R., Tokura, S., and Nishi, N., In *Pro. of The 2nd International Conference on Chitin and Chitosan,* Sapporo, p. 239(1982).
49. 工藤慶子, 西村紳一郎, 西則 雄, 戶倉清一, 北海道支部1986年夏季研究發表會(旭川), p. 32(1986).
50. 指輪仁之, 工藤慶子, 西村紳一郎, 西則 雄, 戶倉清一, 北海道支部1986年夏季研究發表會(北見), p. 32(1986).
51. Nishimura, S., Nishi, N., and Tokura, S., *Int. J. Biol. Macromol.,* **7**, 100(1985).
52. Nishimura, S., Nishi, N., and Tokura, S., *Carbohydr. Res.,* **156**, 286(1986).
53. Cushing, I. B., Davis, R. V., Kratovil, E. J., and McCorquodale, D. W., *J. Am. Chem. Soc.,* **76**, 4590(1954).
54. Kamid, K., Okajima, K., Matsui, T., Onishi, M., and Kobayashi, H., *Polym, J.,* **15**, 309(1983).
55. Wolfrom, M. L., and Shen-Han, T. M., *J. Am. Chem. Soc.,* **81**, 1764(1959).
56. Nishi, N., and Tokura, S., *Int. J. Biol. Macromol.,* **9**, 305(1987).
57. Nishimura, S., Nishi, N., and Tokura, S., *Carbohydr. Res.,* **146**, 251(1986).
58. Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Saiki, I., Tokura, S., and Azuma, I., *Vaccine,* **2**, 93(1984).
59. Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Numata, F., Tone, Y., Tokura, S., and Azuma, I., *Vaccine,* **3**, 397(1985).
60. Nishimura, K., Ishihara, C., Ukei, S., Tokura, S., and Azuma, I., *Vaccine,* **4**, 151(1986).
61. Tokura, S., Hasegawa, O., Nishimura, S., Nishi, N., and Takatori, T., *Anal. Biochem.,* **161**, 117(1987).
62. Tokura, S., Nishi, N., Nishimura, S., Ikeuchi, Y., Azuma, I., and Nishimura, K., In *Chitin, Chitosan and Related Enzymes*, Ed. Zikakis, J. P., Academic Press, P. 303(1984).
63. Muzzarelli, R. A. A., In *Chelating Ability of Chitin and Chitosan,* Pergamon Press, P. 139(1978).
64. Somorin, O., Nishimura, S., Uraki, Y., Nishi, N., and Tokyra, S., In *Abstracts of the XIIth International Carbohydrated Symposium,* Utrecht, p. 528(1984).
65. Knorr, D., *J. Food Sci.,* **48**, 36(1983).
66. Knorr, D., *J. Food Sci.,* **47**, 593(1982).
67. *US Patent* **3**, 847, 897(1971).
68. Vorlop, K. D., and Klein, J., *Biotechnol. Letters,* **3**. 9(1981).
69. Watkins, T. R., and Knorr, D., *Nutrition Reports Internat.,* **27**, 189(1983).
70. *US Patent Application,* Serial Number 051850(1979).
71. Austin, P. R. et al., *Science,* **212**, 749(1981).
72. 菅野ら, 昭和61年度 日本農藝化學會西日本支部大會及びシソポジウム講演要旨集(昭和61年10月18日 佐賀大學農學部), (1986).
73. Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., and Hasegawa, Y., *Am. J. Clim. Nutr.,* **33**, 787

(1980).
74. 石井孝彦ら, 第40回 日本榮養・食糧學會總會講演要旨集(昭和61年5月2～4日 名古屋大學), p. 112(1986).
75. 平野ら, 第2回キチソ・キトサソシソポジウム講演要旨集(昭和60年3月22～23日 鳥取), (1985).
76. Stoessel, P., and Leuba, J. L., *Phytopath. Z.*, **111**, 82 (1984).
77. Kendra, D. F., and Hudwiger, L. A., *Exp. Mycol.*, **8**, 276(1984).
78. 內田 泰, 井瓜正人, 昭和61年度 農藝化學會講演要旨集, p. 17(1986).
79. 변희국, 강옥주, 김세권, 한국농화학회지, **35**, 265 (1992).
80. 안창범, 이응호, 한국수산학회지, **25**, 51(1992).
81. 日本 特許出願公開, 昭62-62827(1987).
82. 橋本正憲, フードケミカル, **9**, 61(1986).

광고 모집

본 연구회에서 년간 4회 발행하는 생명과학지는 지역사회의 학문발전과 산업계의 발전을 동시에 촉진시킬 매체로 성장할 것으로 확신하고 있습니다.

또한 생명과학지는 부산지역의 관련분야에 종사하고 있는 모든 연구자들을 대상으로 배부될 예정이오니 광고효과도 지대할 것으로 생각됩니다. 회원여러분과 관련 기업체, 단체 및 연구소의 적극적인 협조를 바랍니다.