

## 게껍질 Chitin 및 Chitosan의 소화관내 기능성에 관한 *in vitro* 연구

장현주 · 전동원\* · 이서래

이화여자대학교 식품영양학과, \*의류직물학과

### *In vitro* Study on the Functionality in Digestive Tract of Chitin and Chitosan from Crab Shell

Hyun-Joo Chang, Dong-Won Jeon\* and Su-Rae Lee

Department of Food & Nutrition, and of Clothing & Textiles\*, Ewha Woman's University

#### Abstract

Chitin and chitosan samples prepared from crab's shells under different conditions were compared for their physicochemical properties and functionality in gastrointestinal tract by *in vitro* test. Their bulk density was in the range of 127~208 mg/ml, and their viscosity was 80~581 cP in 0.1% chitin and 80~3,670 cP in 0.5% chitosan solution, showing a wide variation. The degree of deacetylation in chitosan samples as determined by IR spectral analysis was relatively high, showing 81~93%. At the same alkali concentration and reaction temperature, a longer reaction period gave an increased degree of deacetylation and lower viscosity. The water holding capacity of chitic substance became greater at higher soaking temperature; chitosan D at 37°C showed the greatest value. Chitic substance with lower bulk density showed the higher water holding capacity. The retardation effect toward glucose absorption was higher in chitic substances of lower density and higher water holding capacity; chitosan D showed the highest value of 38%. The retardation index toward bile acid absorption after 1 hour dialysis was 15~34% in chitic substances, 39% in pectin and 9% in cellulose. The retarding effect showed the highest value of 34% in chitosan D at 3% concentration.

Key words: chitin, chitosan, crab's shell, glucose, bile acid, *in vitro* absorption

## 서 론

최근 산업계에서는 식품 신소재 및 기능성 식품에 대한 관심이 고조되고 있고 이에 관련된 연구가 활발히 진행되고 있다. 탄수화물에서 유래되는 신소재중 하나인 chitin은 과거에는 천연물로부터의 추출 또는 분리가 용이하지 않아 어패류 가공에서 폐기물로 버려졌으나 이제는 식품을 비롯하여 의약품, 화장품, 섬유 등 여러 분야에서 응용되고 있다<sup>(1)</sup>. 특히 일본에서는 chitin과 chitosan이 기능성 식품으로 이미 제품화되어있는 상태이다<sup>(2)</sup>.

Chitin은 새우, 게등 갑각류의 껍질, 곤충의 표피, 버섯, 균류의 세포벽 구성성분으로 N-acetyl-D-glucosamine이  $\beta$ ,1-4 결합을 한 biopolymer이며 특수한 용매에만 용해되는 것으로 알려져 있다<sup>(3)</sup>. 한편 chitin을 뜨거운 강알칼리로 처리하면 70~95%가 탈아세틸화되어 chitosan이 만들어지는데 이 성분은 chitin보다 분자량이 약간 적고, 묽은 산에 녹는 성질을 지니며, 기능적 특성인 water

holding capacity, fat binding capacity, dye binding property, bioactivity, biodegradability 등이 달라져 식품에 이용될 수 있는 기회가 증대된다<sup>(4)</sup>.

식이 섬유가 지방질 대사에 미치는 영향에 대해서는 많은 보고가 있으나 성분에 따라 생리적 효과는 반드시 일치되지는 않고 있다<sup>(5)</sup>. Chitosan은 *in vivo* 실험 결과, 혈청 cholesterol과 지방질 수준을 낮추는 효과가 있는데 pectin보다 효과가 컸고, 지방질의 lymphatic absorption을 저해하는 효과가 있다고 한다. 일반적으로 chitosan이 chitin보다 생리적 효과가 더 좋은 것으로 알려졌으며 chitin질의 생리적 기능에 대한 *in vivo* 실험은 비교적 많이 행해졌으나 국내에서는 보고된 바가 거의 없고 그의 작용 메커니즘을 설명하는 데에는 미흡한 점이 많이 남아 있다.

식이 섬유는 water holding capacity, cation exchange capacity, particle size, viscosity, 그리고 bile acid, cholesterol, 의약품, carcinogen, 유독물질 등과의 결합 등 다양한 물리, 화학적 특성을 지니는데<sup>(6,7)</sup> 이러한 효과를 규명하려면 *in vitro* 실험이 매우 효과적인 연구 수단이 된다. 따라서 본 연구에서는 반응 조건을 달리하여 만든 chitin과 chitosan이 소화관내에서의 기능성, 특히 glucose 및 bile acid의 흡수 억제에 미치는 영향을 반투막을

Corresponding author: Su-Rae Lee, Department of Food and Nutrition, Ewha Woman's University, Seodaemun-gu, Seoul 120-750, Korea

이용한 *in vitro* 실험을 통하여 비교, 고찰하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료 및 시약

Chitin질로는 3종류의 chitin과 7종류의 chitosan을 사용하였는 바 표준 물질로는 미국 Sigma사의 chitin(C-4666, practical grade from crab shells)(chitin A)과 chitosan(C-0792, practical grade from crab shells)(chitosan A)을, 식물성 식이섬유로는  $\alpha$ -cellulose(C-8002, Sigma Chemical Co.), pectin(Junsei Chemical Co., Japan)을 사용하였다.

Bile acid로는 taurocholic acid의 sodium 염(T-4009, Sigma Chemical Co.)을, glucose(Duksan Pharmaceutical Co., Korea), cholesterol(Yakuri Pure Chemicals Co., Japan), oleic acid(Showa Chemicals Inc., Japan), mono-stearin은 시약급을 사용하였다. 투석막(dialysis sack, M. W. cutoff>12,000)은 미국 Sigma사로부터 구입하였다.

#### 계 Chitin의 준비

동해안산 홍게(*Chionoectes opilio*)로부터 No 등<sup>(8)</sup>의 방법을 변형하여 2종류의 chitin을 제조하였다. 즉 수집된 계껍질을 부유물이 없어질 때까지 수세한 다음 진공 오븐으로 50°C에서 48시간 건조시켜 일정한 크기로 분쇄하였다. 이와 같이 얻은 계껍질 분말 60g에 1N HCl 1600 ml를 첨가하고 10°C에서 24시간 유지하면서 석회질을 용해시킨 다음 중성이 될때까지 물로 세척하였다. 수세한 후의 고형물은 ethanol 1L에 30분간 침지하고 다시 여과하여 진공 오븐에서 40°C에서 건조시켰다. 이와 같이 석회질(CaCO<sub>3</sub>)을 제거한 crude chitin은 10% NaOH용액속에서 20시간 처리후(refluxing) 중화시키고, chitin의 백색도 상승을 위해 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>용액에 4시간동안 침지후 여과하여 물로 충분히 세척한 다음 건조시켰다(chitin B).

다른 한 종류의 chitin C는 석회질 제거시 10°C 대신에 0°C를 유지하면서 24시간 처리하였고, 석회질 및 단백질을 제거한 crude chitin은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>포백 처리를 하지 않았으며 나머지 과정은 위와 동일하게 처리하였다.

#### Chitosan의 제조

No 등<sup>(9)</sup>의 방법에 따라 chitin을 강알칼리로 처리하는 탈아세틸화 과정을 거쳐 chitosan을 제조하였다(chitosan D, E, F, G). 즉 삼구 플라스크(three-neck flask, 500 ml)에 chitin A(Sigma Chemical Co.) 30g을 넣고, 375 ml의 50% NaOH용액(w/w)을 첨가하였다. 이것을 oil bath에서 계속 교반하면서 60°C에서 6시간(D), 100°C에서 30분(E), 2시간(F), 또는 6시간(G) 동안 반응시켰다. 탈아세틸화 후에는 얼음물에서 급히 냉각시킨 다음 수세와 원심분리(Sorvall RT 6000B Refrigerated centrifuge)를 실시하여 제거된 상정액이 중성이 될때까지 반복하였다. 마지막

단계에는 알콜로 탈수하고, 아세톤으로 건조한 후 실온에서 건조시켜 20 mesh로 분쇄하였다.

다른 2종류의 chitosan B, C는 동해안산 홍게에서 추출한 chitin B, C로부터 각각 아래와 같이 제조하였다. 즉 2종류의 chitin 30g씩을 1L의 50% NaOH용액에서 100°C를 유지하면서 10시간 동안 처리하였다. 처리 후 중성이 될때까지 물로 세척한 다음 2일간 물에 침지시켰으며 그 다음 ethanol속에서 2일간 침지후 건조시켰다.

#### 화학성분 분석

수분 함량은 상압 가열 건조법으로 105°C에서 측정하였고, 질소 함량은 micro-Kjeldahl법을 이용하여 측정하였으며, glucose 함량은 Somogyi-Nelson법에 따라 측정하였다. Bile acid 함량은 Gregory and Pascoe test<sup>(10)</sup>를 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 즉 bile acid 용액 2 ml에 45% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 12 ml와 0.3% furfural 용액 2 ml를 첨가하여 65°C에서 30분동안 반응시킬 때 생성된 발색된 것을 spectrophotometer(Spectronic 21, Bausch & Lomb, Germany)로 680 nm에서의 흡광도를 측정하였다. Taurocholic acid에 대한 표준 곡선은 1 mmole/L 농도까지 비례관계를 나타내었다.

#### Bulk density 및 점도 측정

Chitin 및 chitosan의 bulk density는 Parrot 등<sup>(11)</sup>의 방법에 따라 눈금이 매겨진 실린더에 일정량의 시료를 채운 후 내용물의 부피를 측정하였으며, mg/ml로 표시하였다. 점도는 Brookfield Viscometer(model DV-II)를 이용하여 측정하였다. 이 때 chitin은 N,N-dimethylacetamide/N-methyl-pyrrolidone/lithium chloride용액에 녹인 0.1% 용액을 사용하였고, chitosan은 1% acetic acid에 녹인 0.5% 용액을 사용하였다. 각각의 용액을 Brookfield Viscometer, spindle No.4를 이용하여 shear rate 0.63~12.54 s<sup>-1</sup>의 범위에서 겔보기 점도를 측정하였고, power-law식에 대입하여 점조도 지수와 유동지수를 구하였으며, 시료간에는 shear rate 6.27 s<sup>-1</sup>에서의 겔보기 점도 수치를 비교하였다.

#### 탈아세틸화도 측정

Chitosan film을 제조하여 FT-IR spectroscope(model Alpha-Centauri, Mattson Instrument Co.)로 스펙트럼을 얻은 후 아래의 공식에 의해 탈아세틸화도(% degree of deacetylation)를 계산하였다<sup>(12)</sup>.

$$\% \text{ Deacetylation} = \left( 1 - \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{1}{1.33} \right) \times 100$$

#### 보수력(water holding capacity)

McConnell 등<sup>(13)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 즉 건조 시료 0.1g을 25 ml용량의 plastic centrifuge tube에 넣고 증류수 10 ml를 가한 후 잘 흔들어 주고, 24시간 동안 3, 25, 37°C로 유지하면서 평형에 도달하도록 방치하였다.

그 후 Sorvall OTD-Combi Ultracentrifuge를 이용하여 14,000 rpm에서 1시간 동안 원심 분리하고 상정액을 따라낸 후 남은 pellet의 무게를 측정하였다. 보수력 (g water/g dry material)은 처음 넣은 시료의 양과 남은 pellet의 양의 차이로부터 계산하였다.

**Glucose 흡수 억제 실험**

Adiotomre 등<sup>(14)</sup>의 방법에 따라 반투막(M.W. cutoff> 12,000) 내부에 식이섬유와 흡수되어야 할 영양성분을 넣고 투석을 계속하면서 섬유 물질에 흡착되지 않고 투석막을 통과하는 성분을 분석하는 방식으로 실험하였다. 즉 9 mg의 glucose를 용해시킨 0.1% sodium azide 용액 15 ml를 투석막 안에 넣고 chitin질, cellulose 및 pectin 0.5 g을 각각 첨가하였다. 투석막은 양끝을 단단히 묶어 18시간 동안 수화시킨 다음 100 ml의 0.1% sodium azide 용액이 들어있는 300 ml 용량의 tube에 넣었다. 이것을 water bath에서 37°C를 유지시키면서 60 rpm으로 shaking해주었고, 30, 60, 120분 후에 투석 외액을 1 ml씩 취하여 glucose함량을 분석하였다. Glucose 흡수 억제 지수는 아래와 같이 계산하였고, 투석 시간과 chitosan, cellulose 및 pectin의 농도에 따른 효과를 비교하였다.

$$\text{Glucose retardation index}(\%) = 100 - \frac{\text{total glucose diffused from sack containing fiber}}{\text{total glucose diffused from sack without fiber}} \times 100$$

**Bile acid 흡수 억제 실험**

Adiotomre 등<sup>(14)</sup>의 방법에 따라 glucose 흡수 억제 실험에서와 같이 실험하였다. 즉 투석막 내부에는 0.1% sodium azide와 0.1 M phosphate buffer(pH 7)에 5 mM의 sodium taurocholic acid를 녹인 용액 15 ml와 chitin질, cellulose 및 pectin을 각각 0.5 g씩 첨가하고 18 시간 동안 미리 수화시켰다. 이것을 100 ml의 0.1 M phosphate buffer(pH 7)가 담긴 tube에 37°C water bath에서 60 rpm으로 shaking하였다. 이 때 투석이 시작된 지 1시간과 2시간 후에 투석 외액을 2 ml씩 취하여 taurocholic acid 함량을 정량하였으며, bile acid 흡수 억제 지수는 아래와 같이 계산하였다. 투석을 시작한 지 30분, 1, 2, 4, 6, 24시간 후에 투석외액을 취하여 분석하였고, 투석 시간에 따른 영향을 살펴보았으며, chitosan, cellulose 및 pectin의 농도를 0.7%, 2%, 3%, 5%로 하여 농도에 따른 효과를 실험하였다.

$$\text{Bile acid retardation index}(\%) = 100 - \frac{\text{total bile acid diffused from sack containing fiber}}{\text{total bile acid diffused from sack without fiber}} \times 100$$

**결과 및 고찰**

**Chitin 및 chitosan의 이화학적 특성**

홍계로부터 제조한 chitin의 평균 수율은 약 25%였고, chitin으로부터 chitosan의 평균 수율은 약 80%를 나타냈다. 홍계의 문헌상 chitin함량인 27.6%와 비교할 때 본 실험에서의 chitin수율은 매우 높았다.

본 실험에 사용한 chitin질의 수분 및 질소 함량은 Table 1과 같다. 수분 함량을 보면 chitin이 7.1~7.2%, chitosan이 11.2~11.8%로서, chitin보다 chitosan에서 더 높았는데 그 이유는 평형 수분의 차이 때문이라 생각된다. 한편 질소함량은 chitin이 6.6~6.8%, chitosan이 7.7~8.1%로서 chitin이 탈아세틸화되어 chitosan이 되면 상대적으로 질소함량이 높아진다. Chitosan은 이론적으로 탈아세틸화도에 따라 질소함량에 차이가 생길 것으로 예상되나 분석치의 약간의 차이에 의하여 탈아세틸화도를 정확히 계산하는 데에는 무리가 있을 것으로 생각된다. 상업적 제품의 질소 함량은 chitin이 6~7%, chitosan이 7~9.5%라고 보고된 바 있으며, 본 실험에 사용한 제품은 모두 이러한 범위에 해당하였다.

물리적 특성중의 하나인 bulk density의 측정 결과는 Table 2와 같다. Chitin은 127~153 mg/ml의 수준이었고, chitosan은 128~208 mg/ml의 다양한 결과를 나타냈다. Chitin 및 chitosan의 bulk density는 제품입자의 compactness를 표현하는 것이므로 소화관내 기능과 상관 관계를 가질 것으로 보이며, 반드시 일치하지는 않지만 생리적 효과가 큰 chitin질은 대체로 낮은 밀도를 나타냈다. Parrot 등<sup>(11)</sup>에 따르면 식물성 식이섬유의 밀도를 직접법(direct measure)으로 측정된 결과 79~560 mg/ml의 큰 차이를 보였으며 식이 섬유의 급원과 종류에 따라 밀도의 차이가 큼을 알 수 있었다.

Chitin질의 유동 특성을 보기 위하여 chitosan C 용액에 대한 결과를 plotting하면 Fig. 1과 같다. 즉 shear rate가 증가함에 따라 shear stress가 증가하였고, power-

**Table 1. Moisture and nitrogen content of chitin and chitosan**

Sample	Source	Treatment	Moisture (%)	Nitrogen (%)
Chitin A	Sigma product		7.2	6.7
Chitin B		Demineralization at 10°C	7.2	6.6
Chitin C		Demineralization at 0°C	7.1	6.8
Chitosan A	Sigma product		11.5	7.7
Chitosan B		chitin B 100°C, 10 hours	11.2	8.1
Chitosan C		chitin C 100°C, 10 hours	11.6	8.1
Chitosan D		chitin A 60°C, 6 hours	11.8	7.8
Chitosan E		chitin A 100°C, 30 min	11.4	7.7
Chitosan F		chitin A 100°C, 2 hours	11.6	8.0
Chitosan G		chitin A 100°C, 6 hours	11.3	7.9

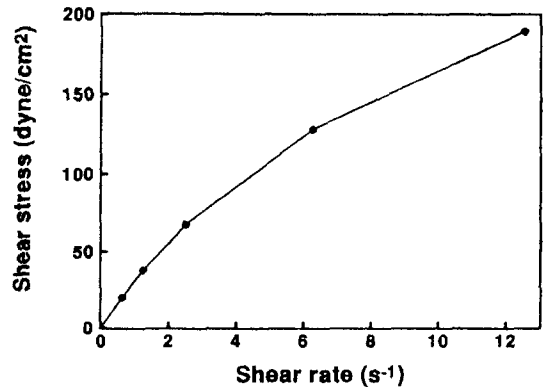
law식에서 구한 유동지수(flow behavior index)가 0.7564였으므로, 의사 가소성 유체(pseudoplastic fluid) 특징을 나타내었으며, 이것은 조<sup>(15)</sup> 등과 같은 결과를 보였다. 또한, 점조도 지수(consistency index)는 30.61 MPa·s<sup>0</sup>이었고, 상관계수는 0.9955로 power-law식에 잘 적용됨을 알 수 있었다. Shear rate 6.27 s<sup>-1</sup>에서의 겔보기 점도 측정 결과는 Table 2와 같다. Chitin 0.1% 용액의 점도는 80~581 cP로서 chitin추출 조건에 따라 큰 차이를 보임을 알 수 있었다. 초산에 녹인 0.5% chitosan 용액의 점도도 시료간의 차이가 커서 80~3670 cP였다. Chitosan B, C는 모두 제조시의 반응 시간이 길었고, 탈아세틸화도가 93%로 같을지라도 점도는 각각 80 cP, 3670 cP의 현저한 차이를 나타냈다. Chitosan B를 제외하고는 모두 Sigma사 chitosan A보다 점도가 높았으며 탈아세틸화 과정에서 알칼리 용액의 농도, 반응 온도가 일정할 때 반응 시간이 길어질수록 점도는 감소하는 경향을 보였다. 즉 chitosan E, F, G의 점도는 421, 319, 140 cP로 점차 감소하였다. 60℃에서 반응시킨 chitosan D는 온화한 조건이었으므로 100℃에서 같은 시간 반응시킨 것보다 점도가 훨씬 높은 결과를 나타냈다. 결과적으로 chitin질의 처리 조건에 따라 점도, 즉 분자량 또는 중합도가 다양한 수치를 보였다.

본 실험에서 사용한 chitosan을 IR 분석하여 탈아세틸화도(%)를 계산한 결과는 Table 2와 같이 81~93%의 범위였다. Sigma사 chitosan A는 88%로 중간 정도였으며, 동해안산 홍계로부터 제조한 chitosan B, C는 반응 시간이 길었으므로 모두 93%로 탈아세틸화도가 가장 높았다. 온화한 조건으로 제조한 chitosan D, E, F, G는 예상한 것보다 탈아세틸화도가 높았는데 특히 chitosan D는 85%로서 100℃에서 30분 반응시킨 chitosan E보다 더 높았다. 또한 chitosan E, F, G를 보면 제조시의 반응 시간이 길어질수록 탈아세틸화도는 증가하였다.

**Chitin 및 chitosan의 보수력(water holding capacity)**

Chitin 및 chitosan을 3℃, 25℃, 37℃로 침지 온도를 달리하여 보수력을 측정된 결과, 온도가 상승함에 따라 점차적으로 보수력이 증가하였다(Table 3). 온도에 따라 개개의 시료를 살펴보면, 3℃에서 chitin이 6.6~9.9 g water/g, chitosan이 7.9~13.5 g water/g으로서 전반적으로 chitin보다 chitosan이 더 보수력을 나타내었으며, Sigma사 chitin에서 제조한 chitosan D, E, F, G가 다른 chitosan보다 더 큰 경향이었다. 25℃에서는 3℃에서 보다 보수력이 모든 시료에서 약간씩 상승되었다. Knorr<sup>(4)</sup>의 결과에 따르면, chitosan의 보수력이 440%로 가장 컸고, chitin, microcrystalline chitin, cellulose의 순서였다.

한편, 생리적 조건인 체온을 고려하여 37℃에서 수화시킨 결과, 모든 시료의 보수력이 3℃나 25℃보다 약간 상승했으나, chitosan D는 현저하게 증가하여 19 g water/g이었다. Cellulose는 모든 온도에서 낮은 보수력



**Fig. 1.** Plot of shear stress vs shear rate for chitosan C solution at 14°C

**Table 2.** Physical and chemical properties of chitin and chitosan

Sample	Bulk density (mg/ml)	Viscosity <sup>1)</sup> (cP)	Degree of deacetylation(%)
Chitin A	129	401	—
Chitin B	127	80	—
Chitin C	153	581	—
Chitosan A	168	100	88
Chitosan B	145	80	93
Chitosan C	208	3670	93
Chitosan D	128	918	85
Chitosan E	129	421	81
Chitosan F	136	319	87
Chitosan G	130	140	90

<sup>1)</sup>Measured by Brookfield viscometer at 0.1% chitin or 0.5% chitosan solution at 14℃, shear rate 6.27 s<sup>-1</sup>

을 나타냈다. 37℃에서의 보수력은 생리적으로 중요한 의미를 가지며 식이 섬유가 위장관(gastrointestinal tract)을 통과할 때 수화된 스폰지와 같은 작용을 하고, 보수력이 커질수록 stool weight는 증가하며, 그 외에 intraluminal transit, 영양소의 흡수, fecal electrolytes와도 관련이 있다고 한다<sup>(16)</sup>. 37℃에서 보수력이 큰 chitosan D, E의 제조 조건을 살펴보면 온화한 조건이므로 탈아세틸화도도 다른 chitosan에 비해 약간 낮았고 분자량도 너무 크거나 너무 작지 않으며 결정상태도 적당히 깨진 상태인데 이러한 요인이 복합적으로 작용하여 큰 보수력을 나타내는 것으로 사료된다. McConnell 등<sup>(13)</sup>은 식이섬유의 보수력은 측정시의 온도, 침지 시간, 원심 분리 속도 등에 따라 달라지고, 급원에 따라 1.5~23.7 g water/g의 큰 차이를 나타낸다고 하였다.

결과적으로 chitin질은 식물성 식이 섬유의 대표적인 cellulose와 비슷하거나 훨씬 높은 보수력을 나타냈고, chitin보다는 chitosan이 더 효과가 컸다. 반드시 일치하지는 않지만 bulk density가 낮은 chitin 및 chitosan은 입자의 상태가 bulky하므로 수분이 침투되기 쉽기 때문

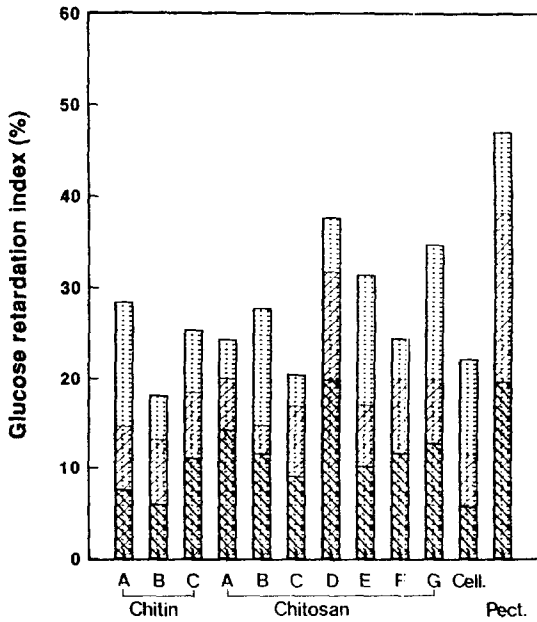


Fig. 2. Retarding effect of chitin, chitosan and other fibers on the passive transport of glucose *in vitro* test within 30, 60 and 120 min

에 그렇지 않은 것에 비해 수분을 보유하는 능력이 더 컸다. 그러므로 chitin질의 보수력은 탈아세틸화도, 분자량의 영향보다 bulk density 즉 crystallinity의 영향을 가장 크게 받는 것으로 사료된다.

Chitin 및 chitosan의 glucose 흡수 억제 효과

투석 시간에 따른 영향: 투석을 이용한 glucose 흡수 억제(지연) 효과에 대한 chitin 및 chitosan의 영향을 실험한 결과는 Fig. 2와 같다. Glucose retardation index(%)를 살펴보았을 때, 투석 시간이 경과할수록 전체적인 흡수 억제 효과가 감소하였는데 그 효과는 투석 시작 후 처음 30분간의 결과가 가장 큰 의미를 지닐 것이라고 생각된다. 왜냐하면 glucose의 흡수는 소장내에서 30분 이내에 이루어질 것으로 예상되기 때문이다.

Chitin의 경우 18~29%의 지연 효과가 있었고, Sigma사 chitin A가 29%로서 가장 높은 값을 보였다. Chitosan은 chitin보다 지연 효과가 더 큰 것이 많았고 20~38%의 범위에서 억제 효과를 나타냈으며 chitosan D는 38%로서 가장 큰 효과를 나타냈다. Pectin은 모든 시료중 가장 높은 47%의 지연 효과를 나타냈는데 그 이유는 pectin이 용액 중에 분산되어 매우 viscous하게 되므로 glucose의 흡수를 지연시키는 것으로 생각된다.

식이 섬유가 glucose 흡수에 영향을 미치는 메커니즘으로는 gastric emptying rate를 감소시키고, 소장에서의 흡수 표면으로 glucose가 확산되는 것을 감소시키기 때

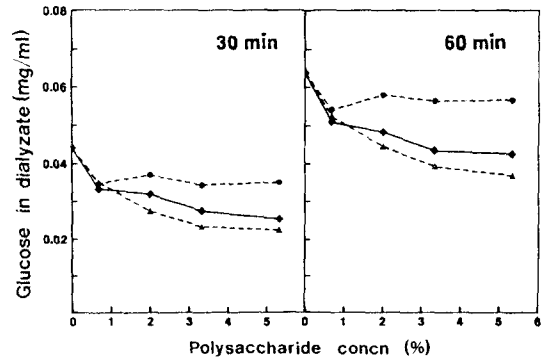


Fig. 3. Effect of polysaccharide concentration on the passive transport of glucose *in vitro* test within 30 and 60 min

◆-◆: chitosan, ▲-▲: pectin ●-●: cellulose

문이라고 알려져 있다. 이러한 효과는 당뇨병 환자에서 혈당이 급격히 상승하는 것을 억제하며 점성이 큰 식이 섬유가 영양소 흡수를 지연시키는데 더 효과적이라고 보고되고 있다(17). Chitin질 중에서 효과가 가장 큰 chitosan D는 보수력이 매우 컸지만 보수력의 순서에 따라 glucose 흡수 지연 효과가 결정되는 것은 아니다. 이러한 지연 효과는 화학 결합이나 흡착 현상이라기 보다 용액 자체의 점성이나 bulky한 특성에 영향을 받거나, 고분자인 chitin, chitosan의 matrix에 분자량이 작은 glucose가 단순하게 entrap되는 것으로 생각된다. Cellulose는 glucose 흡수 억제 효과가 낮았다.

투석 60분 후에는 전반적으로 지연 효과가 30분보다 감소하였고 chitosan D와 pectin의 효과가 두드러져 각각 32%, 38%수준이었다. 투석 120분 후에는 chitosan D와 pectin이 비슷한 지연 효과를 나타냈다.

Chitosan 농도에 따른 영향: Glucose 흡수 지연 효과가 가장 큰 chitosan D를 택하여 투석 내액중 glucose 농도는 일정하게 하고 chitosan의 농도를 다르게 하여 pectin 및 cellulose와 비교 고찰한 결과는 Fig. 3과 같다. Chitosan과 pectin은 그 농도가 3% 수준이 될때까지 점차 투석 외액중 glucose농도가 감소하였고 그 이상의 수준에서는 거의 일정한 수준을 나타냈다. 한편 cellulose는 약간의 굴곡은 있으나 모든 농도에서 일정한 경향이었고 glucose 흡수 지연 효과에 대해서 시료의 농도가 영향을 미치지 않는 것으로 보인다. Glucose 흡수 억제 효과는 pectin이 거의 모든 농도에서 가장 높았고, chitosan, cellulose의 순으로 낮았다.

Chitin 및 chitosan의 bile acid 흡수 억제 효과

투석 시간에 따른 영향: Chitin 및 chitosan이 bile acid를 흡착하여 장내 흡수를 억제하는 효과를 투석막을 이용하여 *in vitro*로 실험한 결과는 Fig. 4와 같다. 투석 1시간 후 투석 외액을 취해 bile acid를 분석한 결과, chi-

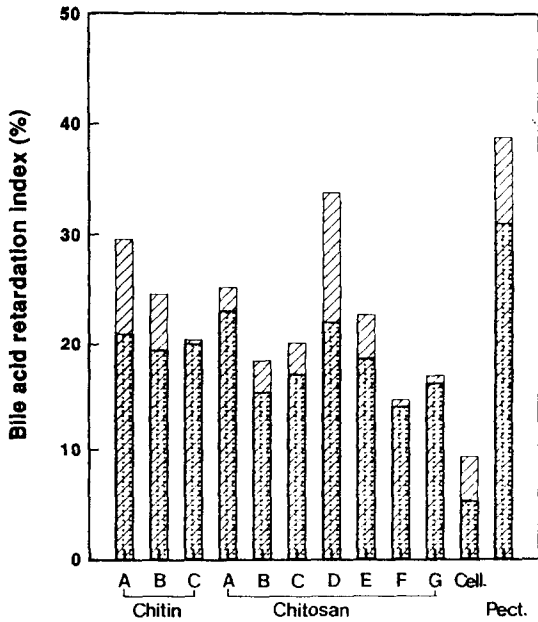


Fig. 4. Retarding effect of chitin, chitosan and other fibers on the passive transport of taurocholic acid *in vitro* test within 1 and 2 hours

tin의 경우 20~30%의 흡수 억제 효과를 보였고, chitosan은 15~34%로 다양했으며, pectin은 39% 수준으로 가장 높은 효과를, cellulose는 9%로서 가장 낮은 억제 효과를 나타냈다. Chitin질중에서는 chitosan D가 34%로서 가장 큰 값이었는데 이 제품은 보수력도 가장 큰 값을 나타냈다. 투석 2시간 후에도 비슷한 경향이었으나 시료간의 차이는 줄었고 chitin은 20% 내외, chitosan은 14~23%, pectin은 31%, cellulose는 5%를 보였으며, 투석 1시간 후보다 그 효과는 전체적으로 감소하였다. 투석시 평형에 도달하는 것을 확인하기 위해 24시간 동안 시간 경과에 따라 투석 외액중 bile acid를 분석한 결과 2시간까지는 bile acid의 농도가 급격히 증가하였으나 그 이후는 완만한 경사를 보였으며 2시간 투석에 의하여 최고치의 80% 수준에 도달하였다.

소화 기관내에서 bile acid의 흡착은 생리적으로 중요한 의미를 지닌다. 식물성 식이섬유의 bile acid 흡착에 관해서는 많은 *in vitro* 연구가 행해졌지만, chitin 및 chitosan에 대한 보고는 아직 없다. Anderson 등<sup>(17)</sup>에 의하면 식물성 섬유는 소장내에서 bile acid와 결합하여 fecal excretion을 증가시키고, cholesterol이 bile acid pool로 전환되어 결국 hypocholesterolemic effect를 가져온다고 한다. Adiotomre 등<sup>(14)</sup>의 연구 결과에서는 guar gum을 비롯한 soluble fiber가 흡수 억제 효과가 컸는데, chitosan D는 insoluble한 fiber지만 그 효과가 약 33%로서 pectin과 비슷한 지연 효과를 나타내어 다른 식이 섬유에

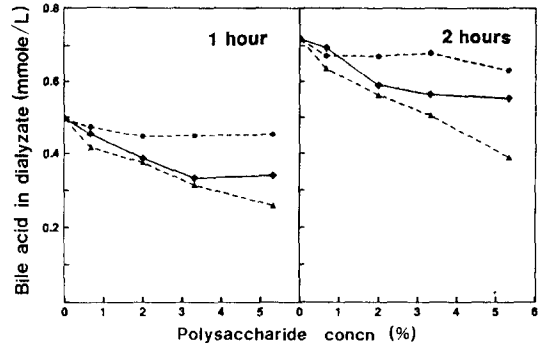


Fig. 5. Effect of polysaccharide concentration on the passive transport of taurocholic acid *in vitro* test within 1 and 2 hours

◆◆; chitosan, ▲—▲; pectin ●—●; cellulose

Table 3. Water holding capacity of chitin, chitosan and cellulose at different temperature

Sample	(g water/g dry material)		
	Temperature(°C)		
	3	25	37
Chitin A	9.9	11.2	12.6
Chitin B	7.1	7.2	7.6
Chitin C	6.6	7.0	7.1
Chitosan A	9.3	9.4	9.7
Chitosan B	7.9	8.6	9.0
Chitosan C	7.0	7.1	7.2
Chitosan D	12.8	13.7	19.4
Chitosan E	13.5	14.3	15.2
Chitosan F	11.3	12.2	12.6
Chitosan G	12.3	12.6	12.9
Cellulose	6.3	7.3	7.9

비해 효과가 큰 편이었다.

Chitosan 농도에 따른 영향: 투석 내액 중 bile acid 농도를 일정하게 하고 chitosan의 농도를 달리하였을 때의 결과는 Fig.5와 같다. 투석 1시간 후 투과된 bile acid 농도는 chitosan을 3% 수준까지 첨가했을 때 급격히 감소하다가 5% 수준에서는 거의 비슷한 수치를 나타낸 것으로 보아 3% 이상의 첨가 수준에서는 흡수 억제 효과가 증가하지 않았다. Pectin은 첨가 수준이 증가할수록 투과된 bile acid의 농도가 5% 수준까지 점차적으로 감소하여 흡수 억제 효과가 비례적으로 증가하였으나, cellulose는 첨가 수준을 달리하여도 흡수 억제 효과는 일정한 수준으로 매우 낮았다. 투석 2시간 후에는 chitosan의 농도가 2% 수준까지 투과된 bile acid 농도의 급격한 감소를 나타냈고 그 이상의 첨가 수준에서는 거의 변화가 없었으며, pectin과 cellulose는 투석후 1시간 일 때와 유사한 경향을 보였다. 결과적으로 시료의 농도를 달리하였을 때 bile acid 흡수 억제 효과는 pectin이 가장

켰고 그 다음이 chitosan이었으며 cellulose는 그 효과가 매우 낮았다.

결론적으로 chitin질의 소화관내 생리적 기능에 미치는 영향은 chitosan에만 국한되지 않음을 알 수 있었고, chitin 및 chitosan의 추출 제조시의 조건에 따라 탈아세틸화도, 분자량(중합도), 밀도(결정화도), 보수력 등의 특성이 달라지고 이것이 복합적으로 작용하여 소화관내 기능에 영향을 미치는 것으로 보인다. Chitin질은 실제 우리의 식생활에서 많이 섭취하고 있지는 않지만 자연계에 풍부하고 개발 가능성이 큰 식품 신소재이므로, 원하는 방향의 생리적 효과를 나타내게 하기 위해서는 반응 조건을 조절하여 최적의 chitin질을 제조함으로써 가공 식품, 특히 기능성 식품에 첨가물로서 응용할 수 있으리라 생각된다.

## 요 약

반응 조건을 달리하여 계집질에서 chitin을 추출하고 이를 탈아세틸화하여 chitosan을 제조하였으며, 이들의 물리, 화학적 특성과 소화관내 기능성을 *in vitro*법으로 실시하였다. 이들 chitin질의 bulk density는 127~208 mg/ml, 점도는 0.1% chitin의 경우 80~581 cP, 0.5% chitosan은 80~3,670 cP로 다양한 수치를 나타냈으며, chitosan의 탈아세틸화도는 81~93%로 비교적 높았다. Chitosan 제조시의 알칼리 농도와 반응 온도가 일정할 때 반응 시간이 경과할수록 탈아세틸화도는 증가하였고, 점도는 감소하는 경향을 보였다. Chitin질의 보수력은 온도 상승에 따라 약간 상승하였고, 37°C에서 chitosan D가 가장 높았으며, bulk density가 낮을수록 높은 보수력을 나타냈다. Glucose 흡수 억제 효과는 bulk density가 낮고 보수력이 큰 chitin질이 더 컸고 chitosan D가 가장 높은 38%를 나타냈다. Chitin질의 bile acid 흡수 억제 효과는 투석 1시간 후에 15~34%를 나타냈고, pectin은 39%, cellulose는 9%를 나타냈으며 chitosan D는 3% 농도에서 34%의 가장 높은 억제 효과를 나타냈다.

## 문 헌

- Knorr, D.: Use of chitinous polymers in food—a challenge for food research and development. *Food Technol.*, **38**, 85(1984)
- 천성조: 일본 건강식품시장의 동향. *식품공업*, **105**, 49 (1990)
- Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. and Sandford, P.: *Chitin and Chitosan*, Elsevier, New York, p.37(1989)
- Knorr, D.: Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.*, **47**, 593(1982)
- Dreher, M.L.: *Handbook of Dietary Fiber*, Marcel Dekker, New York, p.209(1987)
- Schneeman, B.O.: Dietary fiber and gastrointestinal function. *Nutrition Reviews*, **45**, 129(1987)
- Kritchevsky, D., Bonfield, C. and Anderson, J.W.: *Dietary Fiber-Chemistry, Physiology and Health Effect*, Plenum Press, New York and London, p.157(1990)
- No, H.K., Meyers, S.P. and Lee, K.S.: Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 575(1989)
- No, H.K. and Meyers, S.P.: Crawfish chitosan as a coagulant in recovery of organic compounds from seafood processing streams. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 580 (1989)
- Hawk, P.B., Oser, B.L. and Summerson, W.H.: *Practical Physiological Chemistry*, Mcgraw-Hill Book Co., New York, p.416(1954)
- Parrott, M.E. and Thrall, B.E.: Functional properties of various fibers: physical properties. *J. Food Sci.*, **43**, 759(1978)
- Blair, H.S., Guthrie, J., Law, T.K. and Turkington, P.: Chitosan and modified chitosan membranes. I. Preparation and characterization. *J. Appl. Polymer Sci.*, **33**, 641(1987)
- McConnell, A.A., Eastwood, M.A. and Mitchell, W.D.: Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function. *J. Sci. Food Agric.*, **25**, 1457(1974)
- Adiotomre, J., Eastwood, M.A., Edwards, C.A. and Brydon, W.G.: Dietary fiber: *in vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in human. *Am. J. Clin. Nutr.*, **52**, 128(1990)
- 조정숙, 한정준, 이철호: 꽃게 껍질에서 분리제한 키틴산 필름의 물성에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **24**, 574(1992)
- Robertson, J.A. and Eastwood, M.A.: An investigation of the experimental conditions which could affect water holding capacity of dietary fibre. *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 819(1981)
- Anderson, J.W. and Lin Chen, W.J.: Plant fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 346(1979)

(1993년 8월 1일 접수)