Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 22, No. 6, 643-645 (1994)

천연자원에서 추출한 키틴함량과 키토산의 항균활성

김기은[1] · 조문구*
[1]강원대학교 축산대학 사료생산공학과, *전주우석대학교 공학부 생물공학과

Chitin Contents and Antibacterial Activity of Chitosan Extracted from Biomass

Kim, Gi-Eun[1] and Moon-Gu Cho*
[1]*Department of Feed Science and Technology, Kangweon National University*
**Department of Biotechnology, Chonju Woosuk University, Chonju 565-800*

Abstract — Chitin and chitosan has been almost neglected until 1960s, although they are the second largest biomass on earth. Their major use were as a natural flocculant for waste-water treatment, and partially used in the areas of food, feed industry, cosmetics and medicine. Possible sources of chitin among biomass were tested, and antibacterial activity and viscosity-concentration relationship of diluted acidic solution were examined.

키틴은 갑각류의 주요 성분이며, 지구생물자원중에서 섬유소 다음으로 풍부한 물질이나, 사료에 첨가하는 것외에는 오랫 동안 쓸모 없는 것으로 버려져 왔다. 그러나, 1970년대부터 시작된 새로운 생리활성 물질을 찾는 과정에서 키틴의 다양한 용도가 밝혀지면서 외과용 인공피부, 생분해성필름, 수처리용 응집제 및 화장품 원료 등에 활용하기 위한 실용화연구가 미국, 일본 및 유럽에서 활발하게 진행되고 있다.

키틴을 제조할 수 있는 원료(2)로서 게와 새우같은 갑각류에서만 연간 약 4만톤을 생산할 수 있고, 새우의 연간 어획량이 5~6만톤인 것을 고려하면 연간 6만톤 이상의 키틴을 생산할 수 있다. 한편, 게와 새우의 수확시기가 서로 다르므로 작업성에서도 연중작업이 가능한 천연자원이다.

키틴은 섬유소와 마찬가지로 β-(1→4)방식으로 결합한 glycan 화합물(2-acetamido-2-deoxy-D-glucose, N-glucosamine)로서, N-acetyl-β-D-glucosamine 단위가 5,000 이상 1→4 결합한 상태이므로 분자량이 10만을 초과하는 천연다당계열의 고분자이다. 키토산은 키틴의 구조중에서 N-acetyl 기를 일부 또는 완전히 제거한 물질을 통털어 가르키는 복합적인 명칭이므로, 탈아세틸화 정도에 따라 여러 가지 특성을 발휘하는 키토산을 만들 수 있다.

Key words: Chitin, chitosan, production, antibacterial activity, biomass, bioindustry
*Corresponding author

키틴과 키토산은 게, 새우같은 갑각류, 오징어같은 연체동물, 조개류등의 골격성분을 이루고 있으며, 지구상에서 연간 대략 1,000억톤 정도 생산되는 생물자원이다(3). 즉, 이들은 인간이 이용가능한 금세기에 남은 몇 안되는 미개척 천연자원이며, 가까운 미래에 다양한 활용가치를 갖고 있는 재생가능한 귀중한 생물자원이다(1).

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 갑각류를 비롯한 시료는 노량진 수산시장에서 93년 8월경에 구입하였다. 영덕대게는 강구에 소재한 세웅수산에서 건조한 상태로 제공받아 실험에 사용하였다. 이 외의 재료는 경동시장에서 구입하였다.

키틴 추출

시료를 물로 세척한 다음, 묽은(10% 이내) 산용액을 가해 탄산가스가 발생하지 않을 때까지 실온에 방치하여 칼슘과 마그네슘같은 무기성분을 제거한다. 이것에 다시 묽은(10% 이내) 알카리를 가하여 단백질을 제거하고 남는 성분이 키틴이다.

키토산 추출

키틴을 진한(50% 이내) 알카리용액에 넣고, 60~

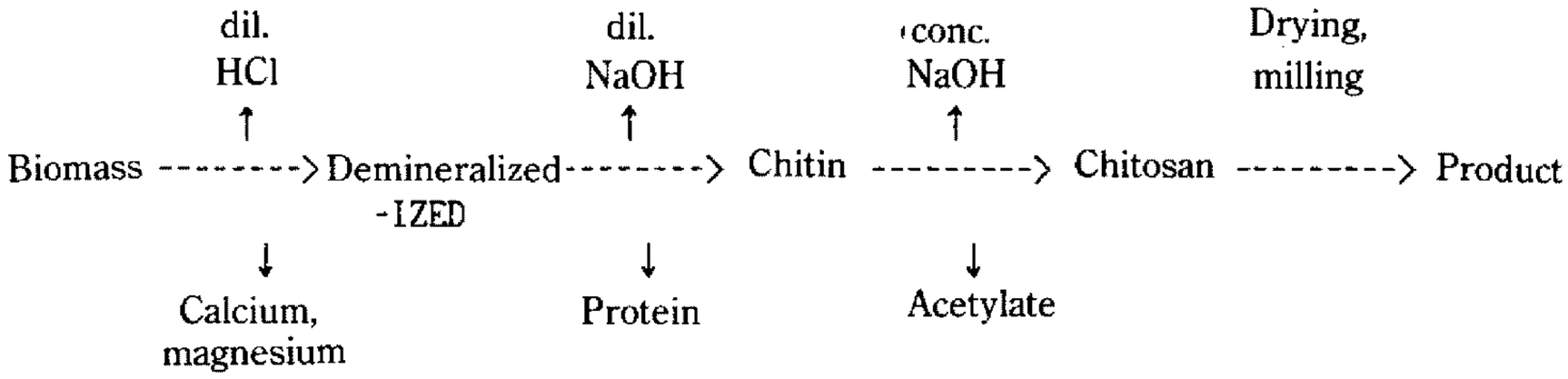

Fig. 1. Chitin and chitosan extraction procedures from biomass.

120℃에서 처리하여 아세틸기를 제거하고 키토산을 얻였다. 키틴과 키토산의 추출과정은 Fig. 1에 정리하였다.

키토산 정량

시료를 5% 초산용액에 녹인 다음, 상등액을 1 N NaOH 용액을 가해 생성된 응고침전물의 중량을 측정하여 원시료의 무게와 비교하여 계산하였다.

점도 측정

키토산 분말을 5% 초산용액에 1~5% 되게 조정하여 녹인 다음, 실온에서 용액의 점도를 회전점도계로 20℃, 20 rpm에서 측정하였다.

항균력 측정

키토산을 0, 100, 200 및 300 ppm 되게 첨가한 nutrient 배지에 하루밤 동안 35℃, 120회/분 진탕배양기에서 배양한 *Escherichia coli* 배양액을 0.1 m*l* 씩 가하고, 4일간 24시간마다 배지의 OD_{660} 값을 측정하였다.

결과 및 고찰

키틴 및 키토산 추출

키틴과 키토산을 추출하는 과정에서 추출효율을 증가시키기 위해 몇 가지 유기산을 적용한 결과, 키틴은 formic acid나 초산에 녹지 않고, 키토산은 황산과 인산에 녹지 않았다. 키토산은 염산, 초산, 구연산, formic acid, 젖산, 주석산 등에는 용해되지 않았다. 그리고, 알카리용액에는 둘 다 용해되지 않았다.

키틴질을 함유하고 있는 것으로 알려진 여러가지 생물재료에서 키틴질을 추출한 결과는 Table 1과 같다. 한편, 게껍질과 새우껍질에서 키토산추출수율을 계산한 결과 14~65%였으며, 원료와 부위에 따라 수율에 큰 차이가 인정된다.

산알카리를 이용하는 방법외에 최근에 개발된 방법으로 생물재료에 효소를 작용시켜 직접 키틴과 키토산 및 이들의 유도체를 추출하는 방식도 알려져 있으나, 여기서는 검토하지 않았다.

Table 1. Chitin contents of tested biomass*

Material	Chitin content (%)
Crab	14~40
King crab	65
Beetle	15
Locust	7
Cuttlefish bone	40
Oyster	4
Shrimp	22
Lobster	13
Aspergillus niger	40
Mucor rouxii	45
Penicillium chrysogenum	19
Saccharomyces cerevisiae	3

*Microbes and insects were dry weight base, and the others were dried shell-weight.

키토산 정량방법

아직까지는 키틴과 키토산의 제품규격이 특별하게 정해지지 않았으며(5), 폐수처리 및 농업용, 화장품용, 식품용, 의료용 등 용도에 따라 분류하고 있다. 이 논문에서 이용한 정량방법은 키토산의 산알카리용해도를 근거로 임의결정한 방법이다. 즉, 원료에서 1차 추출해 낸 키토산을 몇 번 반복추출정제하여 산불용물을 제거할수록 정제도가 높아진다. 이 실험에서 얻어진 키토산의 함량은 1차 추출에서 약 90%, 2차 정제에서 95%, 3차 정제시는 97% 이상이었다.

점도

1차 추출에서 얻은 함량 약 90%인 키토산을 회전점도계(LVF type, Brookfield, USA)를 이용하여 20℃, 20 rpm에서 1%에서 5%까지의 초산용액을 만들어 점도를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 즉, 3%까지는 농도증가에 따라 거의 직선적으로 점도가 증가하나, 그 이상의 농도에서는 점도증가가 다소 둔화되었다.

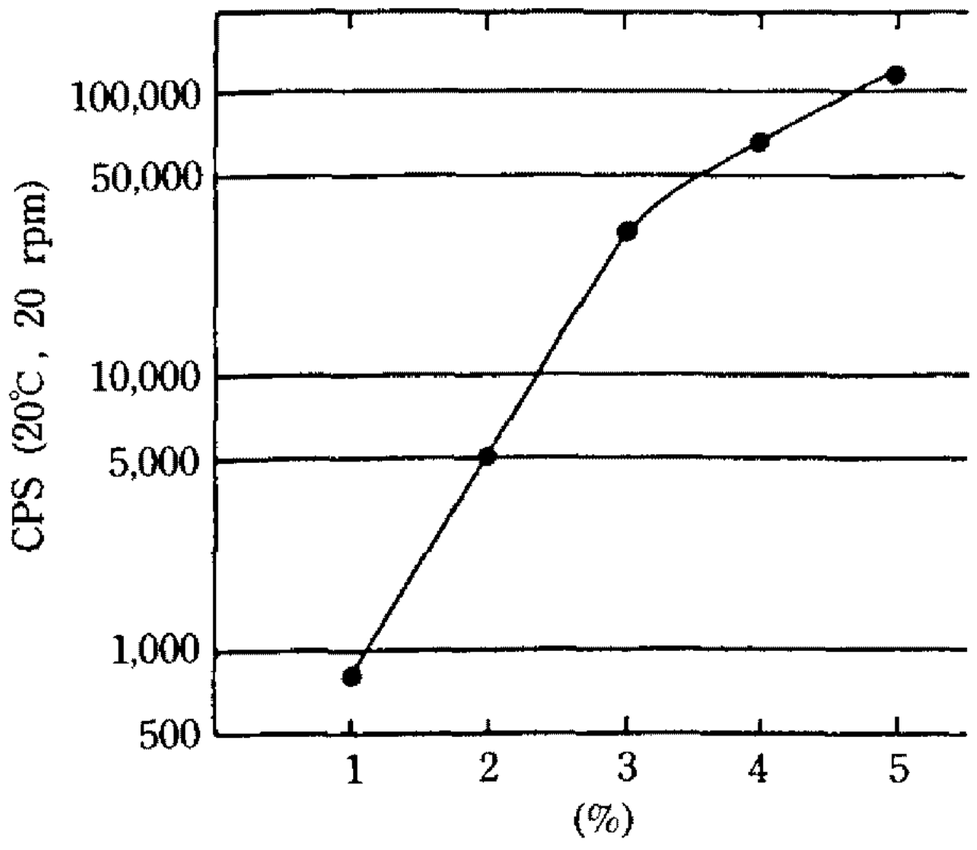

Fig. 2. Viscosity-concentration relationship of chitosan solution (20℃, 20 rpm, Brookfield viscometer).

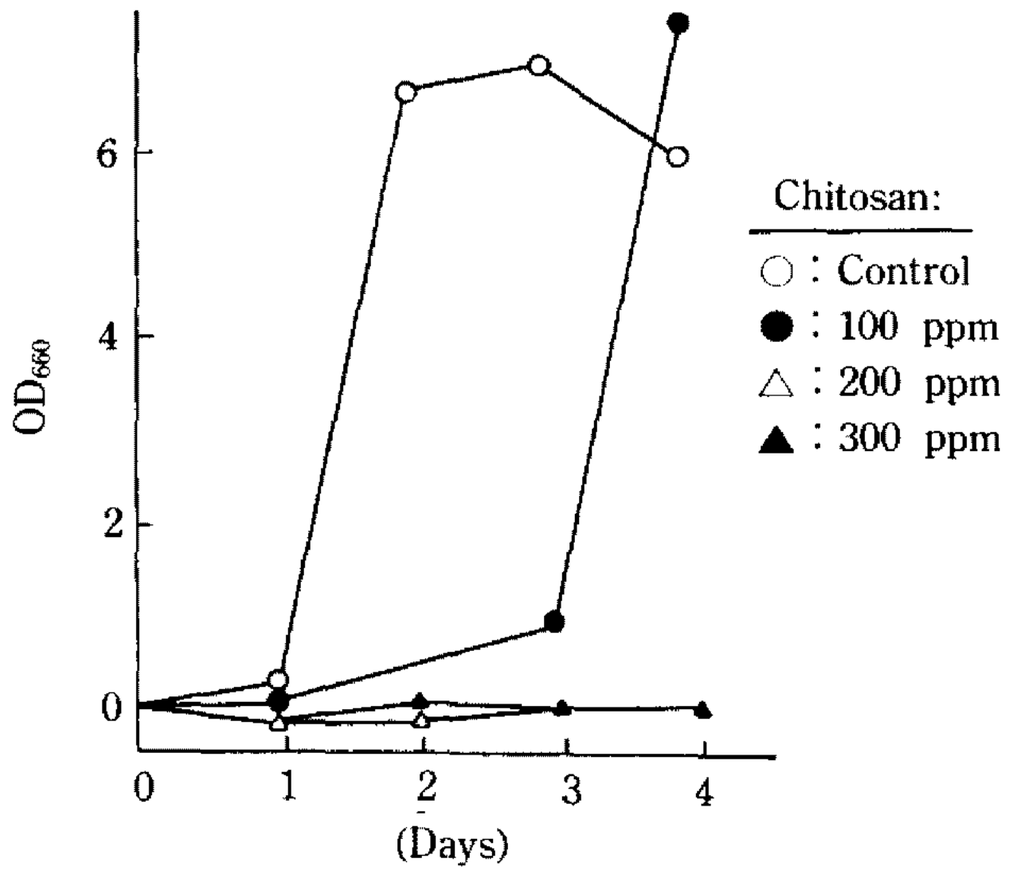

Fig. 3. Effect of chitisan concentrations to the growth of *E. coli* (35℃, 120 cycles/min).

항균력

키토산의 항균활성을 알아보기 위하여 실험실에 보관중이던 *Escherichia coli*를 대상으로 nutrient 배지에 함량이 97% 이상인 3차 정제한 키토산을 각각 100, 200, 300 ppm 씩 첨가하여 대장균의 성장에 미치는 영향을 검토하였다(Fig. 3). 키토산을 첨가하지 않은 대조구의 결과와 비교할 때, 키토산은 대장균의 성장을 억제하는 효과가 있으며, 200 ppm 정도의 농도에서 대장균에 대해 강력한 저해활성을 발휘한다. 이것은 키토산의 구조적 특성인 양이온에 하전된 아미노기가 미생물세포 외부에 결합하면서 형성하는 키토산의 특이적인 막활성저해로 인한 결과로 추측한다. 즉, 키토산은 산용액에서 염을 형성하면서 용해되며 점성이 있는 양이온성 고분자분산액이 되므로 음이온계열의 고분자와 전기적 결합을 통해 강력한 겔을 형성하는 성질이 있다.

키토산의 이와 같은 강력한 항균기능은 물론 더 많은 미생물을 대상으로 항균활성을 검토해야 하지만, 당유도체로서 발휘하는 면역활성 및 콜레스테롤 감소효과같은 다양한 키토산의 기능성(1, 4)을 고려한다면 현재 수처리용 응집제로 이용하는 것보다 훨씬 부가가치가 높은 새로운 기능성 및 건강식품소재로서 충분한 활용가능성이 있다.

요 약

키틴과 키토산은 지구상에서 섬유소 다음으로 많이 존재하는 천연물질임에도 불구하고 1960년대까지는 거의 무시되어 왔었다. 그러나, 이들 물질은 현재 폐수처리용 응집제, 식품 및 사료용 첨가제와 화장품 및 의약품원료로 다양하게 이용되고 있다. 이 논문은 천연물에서 키틴을 함유하고 있는 재료에서 추출하여 항균력과 산성용액에서의 점도와 농도의 상관관계를 시험하였다.

참고문헌

1. 김기은, 조문구. 1994. 한국영양식량학회지, 인쇄중.
2. Zikakis, J.P. 1984. *Chitin, Chitosan and Related Enzymes*, Academic Press, San Diego.
3. Muzzarelli, R.A.A. 1977. *Chitin*, Pergamon Press, New York.
4. Yamaguchi, H. 1986. Application of chitin-chitosan to food and medicine fields. *Shokuhin to Kaihatsu* **21**: 20-3.
5. Maezaki, Y., A. Yamazaki, K. Mizuochi, and K. Tsuji. 1993. Measurement of dietary fiber in chitin and chitosan by the enzymatic-gravimetric method. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **67**: 677-684.

(Received December 14, 1993)