

미세결정화키틴과 팜유의 수준을 달리한 식이가 흰쥐의 지방대사에 미치는 영향

이 중 미 · 이 지 연

이화여자대학교 식품영양학과

The Effects of Micro Crystalline Chitin and Palm Oil on the Lipid Metabolism in the Rat

Lee, Jong-Mee · Lee, Ji-Yeon

Department of Foods & Nutrition, Ewha Womans University, Seoul, Korea

ABSTRACT

The effects of MCC and palm oil at different levels on lipid metabolism were assessed in adolescent rat. Dietary fat levels were 20% and 40%(kcal/kcal) and MCC level were 0%, 2%, and 4%(wt/wt). The experimental period took 8 weeks. During the experiment, weight gain and food efficiency ratio were not affected by dietary factors. The weight of thymus however, was lower in high fat groups than in middle fat groups. The contents of total lipid and total cholesterol in plasma and HDL-cholesterol were significantly affected by dietary factors. The concentrations of cholesterol in LDL and VLDL, and the triglyceride content of VLDL was higher in high fat groups than in middle fat groups. Adding MCC lowered the LDL triglyceride in the high fat groups. The analysis of plasma fatty acids generally reflected the composition of the dietary palm oil. MCC had significant effects on total lipid and triglyceride of feces, but not on total cholesterol. In conclusion, the level of MCC had little hypolipidemic effects on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. The middle fat group that contained 4% MCC showed increased contents of fecal triglyceride than the others, indicating that MCC had an effect on lipid absorption. Therefore, the other physiological functions of MCC need to be tested for their useful applications. (*Korean J Nutrition* 30(7) : 789~796, 1997)

KEY WORD : MCC(Micro Crystalline Chitin).

서 론

키틴(Chitin : poly- β -(1,4)-N-acetyl-D-glucosamine)은 게, 새우와 같은 갑각류 껍질의 cuticle층, 곤충의 표피 및 버섯, 균류의 세포벽에 존재하는 물질이다. 최근 이것을 채취하고 분리하여 폐수처리 응집제, 직물, 의약품, 화장품 및 식품첨가제등의 신소재로 유용하게 사용할 수 있다는 연구들이 보고되고있다¹⁻⁴⁾.

채택일 : 1997년 6월 9일

그러나, 키틴은 물이나 일반적인 유기용매에 용해되지 않고 특수한 용매에서 용해되며 용해시에도 그 용해정도가 일정치 않아서 직접 식품 첨가제로 이용하기에는 제한점이 있다¹⁴⁾.

물리적이고 화학적인 방법을 통해 초기물질인 보통 키틴으로부터 비결정성 부분(non-crystalline region)을 제거해 버린 후에 응집, 침전 및 결정화를 거쳐 제조된 미세결정화키틴(MCC)은 미세결정성 고분자의 일종으로 낮은 결정성을 가지며 아세틸기가 떨어져 나간 유리 아미노기에 인산기가 일부 도입되어 인산염(Phosph-

oric salt)의 형태를 이루는 것으로 콜로이드 분산이 용이하다²⁾. 또한 pH 4.0~10.0의 medium에 분산되는 경우 안정하므로¹⁹⁾, 식품에의 적용이 용이하리라 사료되나 이에 대한 연구는 미흡한 실정이다. Austin등²⁰⁾은 미세결정화키틴을 약품의 결합제와 화장품의 점증제로 이용할 수 있을 뿐 아니라, 저열량 식품(low calorie diet food)에 식이섬유로 첨가하는 것이 가능하다고 보고하였고, Knorr¹⁵⁾는 미세결정화키틴에는 키틴 및 키토산의 능력에 필적하는 수분 결합 능력 및 지방 결합 능력이 있을 뿐 아니라, 키틴, 키토산에 없는 유화 능력도 있다는 보고가 있어 다양한 기능적 특성을 가진 식품 첨가제로의 개발 가능성을 제시하였다.

우리 나라 국민들의 지방섭취량은 1993년도에 총에너지 섭취량의 20%로²¹⁾ 하루 36.9g을 섭취하며, 이중 식물성 지방은 20.3g으로 지방섭취량의 55.1%를 차지하고 있다. 식물성 유지 중에는 대두유가 20만 1천톤으로 가장 많이 공급되었고, 다음이 팜유로써 17만톤이 공급되었는데, 대두유와 팜유를 합한 양은 37만 1천톤으로 전체 공급량의 62.1%를 차지하고 있다²²⁾. 팜유는 높은 안정성과 양호한 가공 적성으로 인해 산업용, 특히 라면이나 스낵의 튀김용이나 마가린, 쇼트닝 제조, 그 밖에 2차 가공을 통한 초코렛 대용지 및 고안정성 유지 용도로 쓰이고 있다²²⁾. 그러나, 팜유는 식물성 유지이면서도 다른 식물성 유지인 대두유나 들기름등과는 달리 hypercholesterolemic effect가 있다고 알려진 포화지방산인 palmitic acid의 함량이 42%나 된다²⁰⁾. 이는 동물성 지방인 우지의 palmitic acid 함량이 20.4%²¹⁾인데

비해 2배 이상 높은 수치로써, 현재 팜유가 식품 가공용으로 많이 사용되는 것을 볼 때 주목할 사실이다. 우리나라 국민의 지방섭취량은 총열량의 10%미만인 가구 전체의 15.6%이기도 하나 30%이상 섭취하는 가구가 5.1%에 달하고 있다²⁰⁾. 최근 우리 나라 국민의 주요 사망 원인을 살펴보면 1992년에 고혈압 및 뇌혈관 질환 등 순환 기계 질환이 29.5%로 1위를 차지하고¹⁸⁾ 고지방섭취자가 늘어나는 추세에 있어 공급량이 늘어나고 있는 팜유와 식품첨가제로서의 기능성과 지방결합능력이 있다고 알려진 미세결정화키틴의 지방대사에 관한 연구가 필요하리라 생각된다. 선행 연구들중 키틴과 키토산의 hypolipidemic effect에 대한 연구가 일부 이루어지고 있으나 아직까지 미세결정화키틴에 대한 연구는 거의 전무한 실정이다.

이에 본 연구는 우리 나라에서 다량 소비되고 있으면서 포화지방산의 함량이 높은 식물성 유인 팜유와 지방결합 능력이 있다고 알려진 미세결정화키틴의 수준을 달리하여 흰 쥐에게 섭취시켰을 때 지방 대사에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 동물 사육 및 식이

생후 6주 정도의 Sparague-Dawley종 수컷 흰쥐 60마리(149±4.5g)를 체중에 따라 난피법으로 10마리씩 6군으로 나누어 실험 계획에 따라 8주간 사육하였다. 실험 동물은 한 마리씩 나누어 cage에서 사육하였으며 물

Table 1. Composition of experimental diets

(per kg diet)

Ingredient	Dietary groups ¹⁾					
	0HP	OMP	2HP	2MP	4HP	4MP
Corn starch(g)	584	706	584	706	584	706
Casein(g)	150	150	150	150	150	150
Palm oil(g) ²⁾	216	94	216	94	216	94
Salt mixture(g) ³⁾	35	35	35	35	35	35
Vit mixture(g) ⁴⁾	10	10	10	10	10	10
Methionine(g)	3	3	3	3	3	3
Choline chloride(g)	2	2	2	2	2	2
MCC(g)	0	0	20	20	40	40

1) 0HP : none MCC+High palm oil 40%, OMP : none MCC+Middle palm oil 20%, 2HP : MCC 2% added+High palm oil 40%, 2MP : MCC 2% added+Middle palm oil 20%, 4HP : MCC 4% added+High palm oil 40%, 4MP : MCC 4% added+Middle palm oil 20%.

2) Fatty acid composition of palm oil(%) : C12 : 0 1.2, C14 : 0 1.3, C16 : 0 42.0, C18 : 0 0.1, C18 : 1(n-9) 38.4, C18 : 2(n-6) 16.9, C18 : 3(n-3) 0.1⁵⁰⁾

3) 1kg of mineral mixture contained the following : CaHPO₄ 500g, NaCl 74.0g, K₂C₆H₅O₇·H₂O 220.0g, K₂SO₄ 52.0g, MgO 24.0g, Manganese carbonate 3.5g, Ferric citrate 6.0g, Zinc carbonate 1.6g, Cupric carbonate 0.3g, KIO₃, 0.01g, Na₂SeO₃·5H₂O 0.01g, [Crk(SO₄)₂ 12H₂O] 0.55g⁴⁹⁾.

4) 1kg of vitamin mixture contained the following : Thiamin.HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxine.HCl 700mg, Nicotinic acid 3g, D-Biotin 20mg, Cyanocobalamin 1mg, Vitamin A acetate 400,000 IU, Vitamin E acetate 5,000 IU, Vitamin D 2.5mg, Vitamin K 5.0mg, Calcium pantothenate 1.6g, Folic acid 200mg⁴⁹⁾.

과 식이는 제한 없이 먹게 하였다.

실험식이의 구성성분은 Table 1과 같다. 즉 MCC 수준을 식이무게의 0, 2, 4%로 지방 수준을 열량의 20%, 40%로 총 6군을 설정하였다.

체중은 일주일에 한 번 일정한 시간에 측정하였고, 식이섭취량은 매주 3회 일정한 시간에 측정하였으며 식이 효율(Food Efficiency Ratio, F.E.R.)을 산출하였다.

2. 미세결정화키틴(Micro Crystalline Chitin : MCC)의 제조

본 실험에 사용된 미세결정화키틴의 제조절차는 다음과 같다³⁶⁾. 건조 상태의 키틴 25g(Sigma chemical Co.)을 삼구 플라스크에 넣고 키틴의 가수분해와 탈아세틸화 및 인산화를 일으키는 인산을 60ml, 키틴을 팽윤(swelling)시키는 효과가 있는 85% isobutyl alcohol을 190 ml 혼합하여 첨가한 다음 80℃에서 끓는 상태를 유지하면서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 수세와 전단 과정, 그리고 중화과정을 거쳐 냉동 건조된 cake상태의 미세 결정화 키틴을 분쇄한 다음 45 mesh screen을 통과시켜서 0.15~0.35mm인 것만을 취하였다.

3. 실험 방법

1) 시료의 수집

실험 동물을 희생하기 3일전에 대사장(metabolic cage)에서 24시간 동안 변을 채취하였다.

실험 기간이 끝난 후 12시간 동안 굶긴 동물을 ethyl ether로 마취시켜 개복한 다음 3.8% sodium citrate 0.1ml정도로 미리 coating시킨 10ml 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 2000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 분리된 혈장의 일부는 지단백분석을 위한 시료로 사용되었고, 나머지 혈장은 지방 대사 측정을 위하여 냉동 보관하였다. 혈액 채취 즉시 실험 동물들을 해부하여 간, 흉선의 무게를 측정한 후, 간을 지방 대사 측정 때까지 냉동 보관하였다.

Lipoprotein fraction은 KBr과 NaCl로 만든 density solution을 이용하여 분리하고자 하는 lipoprotein과 혈장의 밀도를 맞추고 원심 분리하면 상층에 lipoprotein이 분리되는 원리를 이용한 ultracentrifugation²⁵⁾²⁷⁾에 의해 Very Low Density Lipoprotein (VLDL, $d < 1.006\text{g/ml}$)과 Low Density Lipoprotein(LDL, $1.006\text{g} < d < 1.050\text{g/ml}$)을 분리하였다.

2) 생화학분석

혈장의 총지방량은 Frings²⁶⁾법에 의해, 총 콜레스테롤량은 Zak²⁸⁾법에 의해 측정하였으며, 혈장의 HDL, VLDL, LDL 콜레스테롤량은 cholesterol hydrolase

를 이용한 효소 시약 kit(영동 제약)로 측정하였다. 혈장, VLDL 및 LDL의 중성지방량은 lipoprotein lipase와 glycerokinase를 포함하는 효소 시약 kit(영동 제약)로 측정하였다. 간의 총지방량은 Bligh와 Dyer법²⁹⁾과 Folch법³⁴⁾을 이용하여 정량하였고, 콜레스테롤량은 추출한 총지방을 methanol에 녹여 Zak²⁸⁾법에 의해 비색정량하였다. 중성지방량은 lipase와 glycerokinase를 포함한 kit(영동 제약)로 측정하였다. 변의 지질분석도 간의 지질 분석 방법과 동일한 방법으로 분석하였다. 혈장 중의 지방산 조성 분석은 변형된 Bligh와 Dyer법²⁹⁾과 Folch법³⁵⁾을 이용하여 총지질을 추출한 후, 지방산 메틸 에스테르화 반응을 일으켜 기체 크로마토그래피(Gas Chromatography)로 분석하였다³⁰⁾⁴⁴⁾. GC(Shimadzu GC-14A, column temp. : 140~240, 2℃/min, Inj. Temp : 270℃, Det. Temp. : 270℃, Carrier gas : He, 60ml, split ratio : 1/100)의 column은 All tech AT-silica capillary column(30cm×0.32mm×0.25μ)을, detector로는 F.I.D.를 사용하였다. 표준 지방산과 각 지방산의 chromatogram peak의 면적을 계산한 후, 표준 지방산에 대한 각 지방산의 면적비를 구하였다. 이 수치에 사용된 표준 지방산의 양을 곱해주어 지방산을 정량하였다.

3) 자료 처리 및 분석

모든 실험 분석의 결과는 평균치와 표준 오차로 계산하였고 각 실험군의 평균치간의 유의성은 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다. 또한 식이 지방(A)과 첨가된 미세 결정화 키틴(B)의 영향을 $\alpha=0.05$ 수준에서 2요인 분산 분석으로 분석하였다. 모든 통계적 분석은 SAS program을 사용하였다.

실험 결과 및 고찰

1. 체중 변화, 식이효율 및 장기의 무게

본 실험결과 Table 2에서 알 수 있듯이 체중증가량은 식이에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다. 식이효율은 식이요인에 의해 영향받지 않아서 식이내 지방수준이 증가하였을때 동물의 성장에는 영향을 미치지 않은 것으로 보인다. 키틴이나 키토산을 식이무게의 5% 이하로 급여했을때 흰쥐의 성장에 영향을 미치지 않았다는 Varhouny¹⁷⁾와 Sugano등²⁴⁾과 Fukada³⁴⁾의 보고와 마찬가지로 본 실험결과에서도 MCC 수준이 체중증가와 식이 효율에 아무 영향을 미치지 않았다.

간의 무게는 식이요인에 의해 아무 영향을 받지 않아 여러연구²³⁻²⁴⁾³³⁾³⁷⁾에서 키틴류를 식이에 5% 이하로 첨가

Table 2. Effect of MCC, Palm oil level on growth and organ weights of rats

Group	Weight gain(g/day)	Food efficiency ratio	Liver(g)	Thymus(g)
0MP	¹⁾ 4.95±0.47 ^{N.S.2)}	0.23±0.02 ^{N.S.}	13.33±0.59	0.45±0.06 ^{ab3)}
2MP	5.13±0.28	0.24±0.01	14.43±0.64	0.43±0.06 ^{ab}
4MP	5.17±0.49	0.25±0.02	12.96±0.99	0.42±0.03 ^{ab}
0HP	4.72±0.31	0.25±0.02	13.96±1.03	0.46±0.05 ^a
2HP	4.83±0.59	0.27±0.03	14.19±1.30	0.36±0.04 ^{ab}
4HP	4.92±0.21	0.25±0.01	12.97±0.71	0.31±0.03 ^b
Significant factor ⁴⁾				AB

1) Mean±S.E.

2) Not significant at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.3) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

4) Statistical significance of A and B factors was calculated by 2-way ANOVA

AB : There was interaction between fat and MCC at $\alpha=0.05$.

했을 때는 간의 무게가 차이가 없었다는 보고와 일치한다. 식이에 따라 유의성을 보인 흉선의 무게는 고지방군에서 MCC 수준이 높았을 때 무게가 감소하는 경향을 보여 고지방 섭취시 MCC가 흉선의 무게에 영향을 미친 것으로 보인다. 흉선은 비장과 함께 면역기관으로써 그 무게가 감소했다는 것은 MCC가 고지방 섭취시 면역기능에 영향을 미친 것은 아닌가 추측된다. 그러나, 면역기관의 무게만을 가지고 면역기능을 판단 할 수는 없고, T-cell의 분화와 성숙 정도 등을 조사해야 할 것으로 보인다. 따라서, 이에 대한 연구가 더 필요하리라고 본다.⁵¹⁾

2. 체내지방대사에 미치는 영향

혈장의 총지방량은 Table 3에서 알 수 있듯이 식이요인 중 지방수준에 의한 영향을 받아 고지방군이 중지방군에 비해 총지방량이 많은 경향을 보여서 고지방 섭취시 혈장의 총지방량량이 증가한다는 앞서의 보고들³¹⁾³²⁾³⁸⁾과 일치한다. 그러나, 첨가된 MCC에 의한 영향은 보이지 않았다. 혈장의 중성지방량은 식이에 의한 유의적 차이는 없으나, 고지방군이 중지방군보다 높은 경향을 보여 고지방 섭취시 혈장의 중성지방량을 증가시킨다는 Droubay³⁹⁾와 Kay⁴⁰⁾의 보고와 일치한 경향을 보였다.

Table 3. Lipid contents of plasma

Group	Total lipid(mg/dl)	Triglyceride(mg/dl)	Total cholesterol(mg/dl)
0MP	¹⁾ 237.82±30.39 ^{ab2)}	85.59±9.32 ^{N.S.3)}	107.02±8.80 ^{ab 2)}
2MP	250.23±26.04 ^{ab}	113.31±16.18	97.41±8.42 ^b
4MP	193.71±25.14 ^b	77.79±8.28	110.98±5.85 ^{ab}
0HP	326.52±32.30 ^a	113.89±18.21	128.56±16.03 ^a
2HP	230.47±34.42 ^{ab}	107.87±17.53	107.66±8.25 ^{ab}
4HP	273.67±27.88 ^a	89.78±10.34	103.44±7.34 ^{ab}
Significant factor ⁴⁾	A		AB

1) Mean±S.E.

2) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.3) Not significant at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

4) Statistical significance of A and B factors was calculated by 2-way ANOVA

A : Fat effect was significant at $\alpha=0.05$.AB : There was interaction between fat and MCC at $\alpha=0.05$.

혈장내 총 콜레스테롤 수준은 지방수준과 MCC 수준의 상호 효과에 의해 유의적인 차이가 있었다. 고지방 섭취시 유의성은 없으나 MCC 첨가가 혈장 콜레스테롤을 낮추는 경향을 보이고 있다. 이러한 경향은 키틴산은 콜레스테롤이 통합되는 micelle을 방해함으로써 hypocholesterolemic activity를 수행한다고 알려져 있는 선행 연구¹⁶⁾³⁷⁾로 미루어 볼때 MCC도 혈장의 콜레스테롤에 다소의 hypocholesterolemic effect를 미친 것으로 추측된다. 유의적인 차이는 없으나 고지방군들의 혈장 총 콜레스테롤량이 중지방군들보다 높은 경향을 보여 지방 섭취량이 증가함에 따라 혈장 콜레스테롤이 증가된다고 한 여러 연구자들의 보고⁴⁵⁻⁴⁷⁾와 일치한 경향을 보였다. Table 4와 같이 지단백 분석의 결과에 의하면 혈장 콜레스테롤이 가장 높았던 0HP군이 VLDL을 제외한 지단백 분석에서 콜레스테롤 수준이 높았다. HDL 콜레스테롤의 경우 고지방에서 MCC 무첨가군의 양이 가장 많아 다른 군들과 유의적인 차이를 보였다. 팜유에 함유된 vitamin E는 LDL 콜레스테롤을 감소시키고 HDL 콜레스테롤을 증가시킨다고 하였다⁵²⁾. 그러나, 본 연구에서는 고지방 섭취시 첨가된 MCC가 오히려 HDL 콜레

Table 4. Cholesterol contents of lipoprotein fractions

Group	HDL-Cholesterol (mg/dl serum)	LDL-Cholesterol (mg/dl LDL fraction)	VLDL-Cholesterol (mg/dl VLDL fraction)	LDL-Triglyceride (mg/dl LDL fraction)	VLDL-Triglyceride (mg/dl VLDL fraction)
OMP	¹⁾ 36.01 ± 1.39 ^{b2)}	12.45 ± 2.33 ^b	14.55 ± 1.46 ^{bc}	9.19 ± 1.98 ^b	129.84 ± 26.51 ^b
2MP	34.29 ± 2.29 ^b	17.26 ± 4.79 ^b	10.56 ± 1.90 ^c	8.44 ± 1.32 ^b	137.12 ± 7.94 ^{ab}
4MP	32.63 ± 2.62 ^b	12.73 ± 3.11 ^b	15.06 ± 1.68 ^{bc}	11.51 ± 0.50 ^b	131.05 ± 24.30 ^b
0HP	49.05 ± 5.87 ^a	26.19 ± 6.59 ^a	18.30 ± 3.24 ^{ab}	21.92 ± 3.62 ^a	188.34 ± 35.87 ^{ab}
2HP	31.69 ± 2.96 ^b	22.07 ± 3.06 ^a	24.21 ± 2.15 ^a	12.30 ± 2.19 ^b	221.71 ± 31.16 ^a
4HP	33.58 ± 1.99 ^b	23.29 ± 6.39 ^a	13.02 ± 1.71 ^b	2.82 ± 2.06 ^b	140.15 ± 23.87 ^{ab}
Significant factor ³⁾	B, AB	A	A, AB	A, B, AB	A

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column were significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

3) Statistical significance of A and B factors was calculated by 2-way ANOVA

A : Fat effect was significant at α=0.05.

B : MCC effect was significant at α=0.05.

AB : There was interaction between fat and MCC at α=0.05.

스테롤의 수준을 감소시켜서 총 콜레스테롤 양이 MCC 첨가시 다소 감소한 원인이 HDL 콜레스테롤의 감소로 인한 것이 아닌가 추측된다. HDL 콜레스테롤의 양은 심혈관계 질병과 높은 상관 관계를 보여주기 때문에 본 연구만을 볼 때 MCC가 고지방 섭취시 유해한 영향을 미치는 것으로 생각된다. 그러나, Hamsten 등은 HDL 콜레스테롤은 밀도(density)에 따라 HDL₂(density [d] 1.063~1.125gm/ml)와 HDL₃(d 1.125~1.21gm/ml)로 나뉘며 심혈관계 질병과 상관성이 높은 것은 HDL₂라고 하였다⁵³⁾. 따라서, HDL 콜레스테롤 양만을 가지고서 MCC의 유해 여부를 판단할 수 없기 때문에 이에 대한 연구가 더 필요하리라고 생각된다. LDL과 VLDL의 콜레스테롤은 MCC에 의한 영향이 거의 없고 식이 지방

의 수준에 의한 영향을 받았다. 따라서, MCC에 의해 HDL과 LDL, VLDL의 콜레스테롤 수준은 어떤 일관된 경향을 보이지 않았다. LDL 중성지방의 경우 지방수준과 첨가된 MCC 수준 그리고, 지방수준과 MCC수준의 상호 영향을 받아 고지방 MCC 무첨가군이 다른 군들에 비해 유의적으로 그 수준이 높았다. 특히, 고지방군의 경우 MCC 첨가군이 무첨가군에 비해 중성지방량이 적어 MCC의 첨가가 고지방의 경우 다소의 hypolipidemic effect를 보인 것으로 추측된다. 내인성 지방이 주구성분인 VLDL의 중성지방함량은 지방수준의 영향을 받아 고지방군이 중지방군에 비하여 높았다. 그러나, 식이에 첨가된 MCC는 VLDL의 중성지방량에 별다른 영향을 끼치지 못한 것으로 보인다.

Table 5. Fatty acid composition of serum lipid(μg/ml serum)

Group	OMP	2MP	4MP	0HP	2HP	4HP
12 : 0	-	-	-	-	-	6.00
14 : 0	3.75	4.50	14.00	0.75	8.25	12.25
16 : 0	¹⁾ 93.50 ± 0.11	103.50 ± 1.02	199.50 ± 1.57	130.75 ± 1.15	160.00 ± 1.57	169.75 ± 1.85 ^{NS,3)}
18 : 0	38.50 ± 0.59	47.25 ± 0.31	95.75 ± 1.35	68.50 ± 0.66	60.75 ± 0.44	64.50 ± 0.49 ^{NS,3)}
1(n-9)	214.75 ± 0.59	282.00 ± 3.66	376.25 ± 6.49	291.25 ± 3.69	423.50 ± 3.99	407.00 ± 5.49 ^{NS}
2(n-6)	75.00 ± 0.26	94.50 ± 0.67	112.75 ± 1.42	169.75 ± 0.99	144.00 ± 1.69	154.75 ± 1.97 ^{NS}
3(n-3)	73.50 ± 0.98 ^{ab}	38.25 ± 0.60 ^b	131.50 ± 1.49 ^a	43.75 ± 0.61 ^{ab}	17.50 ± 0.47 ^b	97.25 ± 1.91 ^{ab2)}
20 : 0	1.00	15.25	2.50	2.50	0.75	1.00
3(n-6)	53.75 ± 0.64	34.00 ± 0.79	122.25 ± 1.56	70.25 ± 1.26	85.00 ± 0.85	87.25 ± 0.71 ^{NS}
4(n-6)	-	14.00	2.00	20.00	-	25.00
5(n-3)	4.00 ± 0.09 ^b	2.25 ± 0.09 ^b	19.00 ± 0.24 ^a	4.75 ± 0.14 ^b	2.25 ± 0.09 ^b	6.50 ± 0.13 ^b
Σ SFA	136.50 ± 0.76	170.25 ± 1.56	311.50 ± 2.96	240.00 ± 1.17	229.50 ± 2.18	253.25 ± 2.41 ^{NS}
Σ PUFA	423.75 ± 0.86 ^b	481.50 ± 3.21 ^b	762.00 ± 3.66 ^a	599.75 ± 2.16 ^{ab}	672.25 ± 4.82 ^{ab}	754.75 ± 3.52 ^a
Σ P/Σ S	3.10 ± 0.63	2.83 ± 0.63	2.45 ± 1.02	2.49 ± 0.68	2.93 ± 0.41	2.98 ± 1.50 ^{NS}
Σ n-3	77.50 ± 1.07 ^{ab}	40.25 ± 0.67 ^b	150.75 ± 1.60 ^a	48.50 ± 0.65 ^b	19.75 ± 0.55 ^b	103.75 ± 2.03 ^{ab}
Σ n-6	128.75 ± 0.79	142.50 ± 1.41	237.00 ± 2.98	260.00 ± 2.24	229.00 ± 2.54	244.25 ± 2.54 ^{NS}
Σ n-3/Σ n-6	0.60 ± 0.30	0.28 ± 0.36	0.64 ± 0.37	0.19 ± 0.13	0.09 ± 0.09	0.42 ± 0.20 ^{NS}

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the row were significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

3) Not significant at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

혈장내 지방산 조성은 식이지방의 지방산 조성의 반영이라고 볼 수 있다⁴⁶⁾. 본 실험에서도 Table 5와 같이 식이 지방원인 팜유에 많은 palmitic acid(C16:0)와 oleic acid(C18:1)가 혈장내에서 가장 많이 발견되었고, linoleic acid(C18:2) 역시 혈장에서 많이 발견되었다. 그러나, 식이 지방에는 0.1%로 소량 검출된 stearic acid(C18:0)가 혈장내에서는 많이 발견되었고, 역시 식이지방에는 거의 함유되어 있지 않은 eicosatrienoic acid(20:3)가 많이 발견되었다. 불포화 지방산의 총량은 중지방, 고지방군 모두에서 MCC 첨가군이 높아서, MCC 수준이 혈장내 불포화 지방산의 총량에 영향을 미친 것으로 생각된다.

간은 비지방원으로부터 합성된 내인성 지방과 식이에 의한 외인성 지방을 지단백에 의해 hepatic vein을 통해 체순환에 보내게 된다⁴¹⁾. Table 6에서 보여주듯이 간내의 총지질함량은 MCC의 수준에 의해 유의적 차이가 나타났다. 즉, MCC 4%군의 총지방량이 중지방, 고지방군 모두에서 높아서 키토산은 간내 지질함량을 낮춘다고 한 Sugano등²⁴⁾의 보고와 일치하지 않았다. 오히려 MCC 첨가로 간내 지질 함량이 높아졌으나, 이러한 기전에 대해서는 밝혀진 바가 없어서 이에 대한 연구가 더 필요하

리라고 본다. 간내의 중성지방과 총콜레스테롤함량은 MCC가 별다른 영향을 미치지 못한 것으로 생각된다.

체내에서 식이지방이 간으로 흡수되어 각 기관에서 이용된 후 배설되는 주 경로가 변이다⁴¹⁾. Table 7과 같이 총지방배설량은 MCC 수준 그리고 지방수준과 MCC 수준의 상호 영향에 의해 MCC 4% 첨가가 총지질의 배설을 증가시킨 것으로 보인다. 중성지방의 배설량은 MCC 첨가수준에 의한 영향을 받아 중지방 MCC 4% 첨가군이 다른 중지방군들과 고지방 MCC 무첨가군에 비해 유의적으로 높았다. 따라서, 중지방군에서는 MCC 4% 첨가가 중성지방의 배설을 증가시킨 것으로 보여 중지방 섭취 시 키틴은 변으로의 중성지방 배설을 증가시킨다는 장⁴²⁾의 결과와 micellar lipid와 결합한 키토산은 중성지방의 흡수를 막는다고 한 Nauss등⁴³⁾의 보고와 일치하였다.

요약 및 결론

팜유의 수준과 계껍질에서 추출한 미세결정화키틴(MCC)의 수준을 달리했을 때 체내 지질대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 체중 149.9±4.5g인 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 6군으로 나누어 팜유수준을 열

Table 6. Lipid contents of liver

Group	Total lipid(mg/g)	Triglyceride(mg/g)	Total cholesterol(mg/g)
OMP	¹⁾ 43.21 ± 3.00 ^{b2)}	9.66 ± 1.79 ^{3)NS}	2.57 ± 0.28
2MP	42.53 ± 3.52 ^b	9.22 ± 1.97	2.58 ± 0.19
4MP	55.34 ± 5.78 ^{ab}	6.98 ± 1.32	2.69 ± 0.23
OHP	51.55 ± 5.95 ^{ab}	12.89 ± 2.19	3.09 ± 0.28
2HP	50.26 ± 3.48 ^{ab}	9.47 ± 2.14	2.84 ± 0.15
4HP	59.06 ± 4.74 ^a	10.33 ± 1.68	2.49 ± 0.13
Significant factor ⁴⁾	B		

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

3) Not significant at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

4) Statistical significance of A and B factors was calculated by 2-way ANOVA

B : MCC effect was significant at $\alpha=0.05$.

Table 7. Lipid contents of feces

Group	Total lipid(mg/day)	Triglyceride(mg/day)	Total cholesterol(mg/day)
OMP	¹⁾ 65.32 ± 7.30 ^{ab2)}	14.89 ± 5.35 ^b	10.00 ± 1.59 ^{NS3)}
2MP	50.38 ± 4.23 ^{ab}	20.42 ± 4.68 ^b	5.01 ± 0.47
4MP	76.82 ± 11.32 ^a	62.99 ± 24.34 ^a	7.64 ± 1.99
OHP	42.97 ± 5.31 ^b	10.57 ± 3.73 ^b	7.24 ± 1.68
2HP	76.29 ± 10.13 ^a	35.77 ± 2.84 ^{ab}	6.82 ± 0.72
4HP	77.35 ± 11.23 ^a	38.33 ± 10.94 ^{ab}	8.83 ± 1.41
Significant factor	B, AB ⁴⁾		B

1) Mean ± S.E.

2) Values with different alphabet within the column were significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

3) Not significant at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

4) Statistical significance of A and B factors was calculated by 2-way ANOVA

B : MCC effect was significant at $\alpha=0.05$.

AB : There was interaction between fat and MCC at $\alpha=0.05$.

량의 20%, 40%로, 미세결정화키틴의 첨가수준을 식이 무게의 0%, 2%, 4%로 급여하여 8주간 사육한 결과는 다음과 같다.

1) 실험기간동안 평균 식이섭취량, 체중증가를 및 식이효율은 실험기간 차이가 없었으나, 고지방 4% MCC 첨가시 흉선의 무게가 유의적으로 작았다.

2) 혈장내 총지방량은 식이지방수준의 영향으로 고지방군이 높은 경향을 보였으며, 통계적 유의성은 없었으나 고지방군에서 MCC의 첨가가 혈장내 총콜레스테롤을 감소시키는 효과를 보였다.

3) HDL-cholesterol함량은 고지방 MCC 무첨가군이 유의적으로 높았고, MCC 첨가로 감소되었으며, LDL과 VLDL의 콜레스테롤 함량은 고지방군이 유의적으로 높았고, LDL 중성지방은 MCC첨가로 고지방군에서 유의적으로 감소하였다.

4) 혈장의 지방산 조성은 식이지방인 팜유의 지방산 조성을 반영하였다.

5) 간에서의 총지질함량은 4% MCC 첨가시 유의적으로 높았다.

6) 변으로의 총지방 배설량은 MCC 첨가의 영향을 받아 4% 첨가시 유의적으로 배설량을 증가시켰으며 중성지방 배설량도 중지방, 고지방군 모두에서 MCC 첨가군이 무첨가군보다 높은 경향을 보였다.

계검질에서 추출한 키틴을 인산화한 미세결정화 키틴이 팜유를 먹인 흰쥐의 체내 지방대사에 있어서 고지방 섭취시 다소의 hypolipidemic effect를 미치는 것으로 생각된다. 또한, MCC 4%를 첨가했을때 변으로의 총지방과 중성지방의 배설이 증가되는 것으로 보아 지방의 흡수에도 영향을 주는 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) Knorr D. Use of chitinous polymers in food. *Food Technol* 38(1) : 85, 1984
- 2) Austin PR, Brine CJ, Castle JE, Zikakis JP. New facts of research. *Science* 212 : 749, 1981
- 3) Knorr D. Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol* 44(1) : 114, 1991
- 4) Cosio IG, Fisher RA, Carroad PA. Bioconversion of shellfish chitin waste : Waste pretreatment, enzyme production, process design and economic analysis. *J Food Sci* 47 : 901, 1982
- 5) Hirano S. Production and application of chitin and chitosan, proceedings from the 4th International Conference on chitin and chitosan held in Trondheim, Norway, 37, 1988
- 6) Sanford PS. Chitosan, commercial uses and potential application, Proceedings from the 4th International Conference on chitin and chitosan held in Trondheim, Norway, 51, 1988
- 7) Knorr D, Imeri AG. Effects of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. *J Food Sci* 53 : 1707, 1988
- 8) Soto-peralta NV, Muller HA, Knorr D. Effects of chitosan treatments on the clarity and color of apple juice. *J Food Sci* 54 : 495, 1989
- 9) Latlief SJ, Knorr D. Effect of chitin as coagulating aid on protein yield, composition and functionality of tomato seed protein concentrates. *J Food Sci* 48 : 1587, 1983
- 10) Knorr D. Dye binding properties of chitin and chitosan. *J Food Sci* 48 : 36, 1983
- 11) No HK, Meyers SD. Recovery of amino acids from seafood proceeding waste treatment with a dual chitosan-based ligand-exchange system. *J Food Sci* 54 : 60, 1989
- 12) 양 용 · 현준호 · 황윤희. Chitin의 산업적 이용을 위한 기초 연구. *한국식품과학회지* 24 : 14, 1992
- 13) 조정숙 · 한정준 · 이철호. 꽃게 껍질에서 분리제조한 키틴 산 필름의 물성에 관한 연구. *한국식품과학회지* 24 : 574, 1992
- 14) 김세권. 키틴, 키토산 및 그 유도체의 제조기술과 개발 동향. *식품공업* 106 : 63, 1992
- 15) Knorr D, Wampler TP, Teutunico RA. Formation of pyrazines by chitin pyrolysis. *J Food Sci* 50 : 1762, 1985
- 16) Takaaki Kobayashi T, Otsuka SI, Yugari Y. Effet of chitosan on serum and liver cholesterol levels in cholesterol-fed rats. *Nutr Rep Int* 19(3) : 327, 1979
- 17) Vabouny GV. Comparitive effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. *Am J Clin Nutr* 38 : 278, 1983
- 18) 보건 연감. 보건 신문사. 1995
- 19) Dunn HF, Farr ME, Pedro SC. Microcrystallinechitin. U.S. Patent 3,847,897, 1974
- 20) Denke MA, Grundy SM. Comparison of effects of lauric acid and palmitic acid on plasma lipids and lipoproteins. *Am J Clin Nutr* 56 : 895, 1991
- 21) 국민 영양 조사 보고서. 보건 복지부. 1995
- 22) 한국식품과학회 유지 분과위원회. 팜유의 영양과 이용 기술. 추계 식용유지 세미나. 1993
- 23) 김미경 · 설은영. Chitin, Chitosna이 흰쥐의 Cadmium중독과 지방대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 27(10) : 996, 1994
- 24) Sugano MT, Fujikawa Y, Hiratsuji K, Nakashima N, Fukuda Y, Hasegawa. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am J Clin Nutr* 33 : 787, 1980

- 25) Hatch FT, Lees RS. Practical methods for plasma lipoprotein analysis. *Adv in Lipid Res* 6 : 1, 1968
- 26) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfuric-phosphovanillin reaction. *Am J Clin Nutr* 53 : 89, 1970
- 27) Havel RJ, Eder HA, Bragdan JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 34 : 1345, 1955
- 28) Zak B. Total and free cholesterol. Standard method of clinical chemistry. 79, New York, Academic Press, Inc. 1968
- 29) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911, 1959
- 30) Ohta A, Mayo MC, Kramer N. Rapid analysis of fatty acids in plasma lipids. *Lipids* 25(11) : 742, 1990
- 31) 정조인. Coffee를 지방의 수준과 종류를 달리한 식이에 첨가하였을 때 흰 쥐의 지방대사에 미치는 영향. 이화여대 석사학위 논문, 1985
- 32) 정덕순. 식이내 함유된 동, 식물성 지방의 수준이 흰 쥐의 체내대사에 미치는 영향(Ⅰ). 이화여대 석사학위 논문, 1980
- 33) Yoshida A, Harper AE, Elvehjem CA. Effect of dietary level of fat and type of carbohydrate on growth and food intake. *J Nutr* 66 : 217, 1958
- 34) Fukada Y, Kimura K, Ayaki Y. Effect of chitosan feeding on Intestinal Bile Acid Metabolism in rats. *Lipids* 26 : 395, 1991
- 35) Folch J, Lees M, Stanley GSH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497, 1957
- 36) 김정현. 제조조건에 따른 계깍질 미세결정화키틴의 기능 특성평가. 이화여대 석사학위 논문, 1994
- 37) Michihiro S, Shuji W, Alkihiro K, Masata, Akira O. Hypocholesterolemic Action of Chitosans with Different Viscosity in Rats. *Lipids* 23(3) : 187, 1988
- 38) 이동희. 식이내 함유된 동, 식물성 지방의 수준이 흰쥐의 체내대사에 미치는 영향(Ⅱ). 이화여대 석사학위 논문, 1979
- 39) Droubay PE, Puppione DL. Dietary fat-induced postprandial lipemia : Effect on arterial oxygen saturation as plasma lactate, triglyceride, and cholesterol levels in subjects with angina pectoris. *Am J Clin Nutr* 33 : 1199, 1980
- 40) Kay RM, Sabry II, Csima A. Multivariate analysis of diet and serum lipids in normal men. *Am J Clin Nutr* 33 : 2566, 1980
- 41) Razdan A, Pettersson D. Effect of chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. *British J Nutr* 72 : 277, 1994
- 42) 장현주 · 전동원 · 이서래. 계깍질에서 추출된 Chitin 및 Chitosan의 소화관내 지방질 흡착에 관한 in vitro 연구. *한국식품과학회지* 26(4) : 348, 1994
- 43) Nauss JL, Thompson JL, Naajvary J. The binding of micellar lipids to chitosan. *Lipids* 18 : 714-719, 1983
- 44) Eder K, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M. Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters : Avoiding discrimination by programmed temperature vaporizing injection. *J Chromatography* 588 : 265, 1991
- 45) Ahrens EH, Insull WJ, Blomstrand R, Hirsh J, Tsaltas TT, Peterson MI. The influence of dietary fats on serum lipids levels in man. *Lancet* 1 : 943, 1957
- 46) Kim SH, Jo MJ. A study of metabolic effect in high and low fat diet on albino rat. *J Nutr* 5(4) : 169, 1972
- 47) Kim WY, Park HS. The effect of dietary fat levels and protein source in early life on the cholesterol and lipid metabolism in adult rats. *Korean J Nutr* 14(3) : 136, 1981
- 48) Purushothama S, Narasimhamurthy K. A study of plasma and liver lipid profile of rats fed palm oil or safflower oil along with cholesterol. *Nutr Res* 14(2) : 255, 1994
- 49) Report of the american institute of nutrition. Ad Hoc committee on standard for nutritional studies. *J Nutr* 107 : 1340, 1977
- 50) Sundram K, Knor HT, Ong A. Effect of dietary palm oil and its fractions on rat plasma and HDL lipids. *Lipids* 25(4) : 187, 1990
- 51) Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. 3rd ed. Mosby-year book europe limited, 1993
- 52) Elson OE, Qureshi AA, Peterson DM. Stimulation of a-vain cholesterol metabolism by α -tocopherol. *Nutr Rep Int* 40 : 993, 1990
- 53) Hamsten A, Walldius G, Dahlens G, Johansson B. Serum lipoproteins and apolipoproteins in young male survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 59 : 223, 1986