

수용성 Chitosan의 이화학적 및 관능적특성

김동호·이 찬·김광옥*·이영춘

중앙대학교 식품공학과, *이화여자대학교 식품영양학과

Physicochemical and Sensory Properties of Water Soluble Chitosan

Dong-Ho Kim, Chan Lee, Kwang-Ok Kim* and Young-Chun Lee

Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University,

*Department of Food and Nutrition, Ewha Woman's University

Abstract

Although the chitosan has many functional properties due to its cationic amino groups, the application of chitosan in foods is limited by its poor water solubility, bitter taste and astringency. This study was conducted to investigate physicochemical and sensory properties of chitosan hydrolysates in various molecular weights obtained by ultrafiltration after enzymatic hydrolysis. As molecular weight decreased, the solubility of chitosan hydrolysates increased, while the viscosity and emulsion stability decreased. High molecular weight chitosan hydrolysates (>30 kDa) exhibited 800% of fat binding capacity, while low molecular weight ones (3~30 kDa) showed 500% of fat binding capacity. Water soluble chitosan hydrolysates exhibited no color differences. Freeze-thaw stability of chitosan hydrolysates was good, without variations among fractions. Cholesterol binding capacity of chitosan hydrolysates was changed from 24% to 36% with increasing molecular weights. From sensory evaluation of chitosan hydrolysates, it was found that bitterness, astringency, chemical flavor and fish flavor of chitosan hydrolysates were very weak.

Key words: chitosan, water soluble chitosan, physicochemical & sensory properties

서 론

Chitosan의 제조원료가 되는 chitin은 N-acetyl-D-glucosamine이 β (1,4) 결합한 다당류(poly- β -1,4-N-acetyl-D-glucosamine)로 계, 새우등의 갑각류의 껍질이나 곤충류의 표피, 버섯, 균류의 세포벽 등에 널리 분포되어 있는 천연고분자 물질이며, 함유 생물체의 지지와 방호 역할을 담당하는 다당류이다⁽¹⁾. Chitin은 cellulose와 유사한 구조를 가진 결사율이 없는 매우 긴 사슬구조의 고분자 물질로 2번탄소에 수산기(-OH)대신에 아세틸아미노기(-NHCOCH₃)가 치환되어 있다⁽²⁾. Chitosan은 chitin에서 2번 탄소 아미노기에 연결된 아세틸기를 탈아세틸하여 얻어지므로 많은 유리 양이온을 지닐 수 있기 때문에 여러 생리 활성을 가지고 있다⁽³⁾.

근래에 와서 고품질의 chitosan 또는 그 유도물질들이 개발되어 식품, 화장품, 의약품 및 흡착제, 식물체

포의 활성화제, 폐수처리용집제 등 여러 분야에서 다양하게 이용되고 있다. 특히 식품분야에서는 콜레스테롤조절효과 및 지방결합능력, 유당소화불량억제작용^(2,3), 항균작용⁽⁴⁾, 보습성 및 유허안정성, 식이섬유가 갖는 생리적 기능성 등이 있어 이를 고부가 제품개발에 응용하려는 연구가 시도되고 있다⁽⁵⁾. 특히 최근에는 glucosamine의 일부 oligomer가 항암작용이 있다는 연구 보고⁽⁶⁾가 발표되어 관심을 끌고 있으며, 중금속의 제독 효과도 보고되었다⁽⁷⁾. 또한 chitosan은 지방결합력이 식물성 섬유소보다 훨씬 효과가 뛰어나며, 림프에서 지방질의 흡수를 저해한다고 보고되었다⁽⁸⁾.

Chitosan은 물이나 알콜에는 용해되지 않고 포름산, 젖산, 아코르브산, 초산 등 유기산의 수용액, 묽은 염산과 같은 무기산에만 용해되므로 pH 6.0 이하인 식품에만 첨가가 가능하며⁽⁹⁾, 그 용액은 수용액상에서 불용성이며, 높은 점성을 나타낼뿐만 아니라 쓴맛과 떼은맛이 강해 사용가능한 식품의 수가 제한되어 있다. 따라서 chitosan의 생리적기능을 식품에 적용하여 기능성식품으로 개발하려면 생리활성을 가지는 수용성

Corresponding author: Young-Chun Lee, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung, Kyungki 456-756, Korea

chitosan의 개발이 선행되어야 한다.

불용성 chitosan을 수용성으로 만드는 방법으로는 산을 첨가하여 가열하는 화학적 가수분해 방법과 미생물이나 효소를 이용하여 β -1,4-linkages를 절단하는 방법이 있다⁹⁾. 화학적 방법은 진한 염산, 불화수소, 과산화수소, 과산화붕소 및 아질산에 의한 가수분해법이 행해지고 있다. 또한 효소적인 방법으로는 β -1,4-glycoside 절합을 가수분해하는 chitosanase를 분비할 수 있는 미생물(*Aspergillus* sp., *Bacillus* sp. 등)을 chitosan이 함유된 배지에서 배양하여 분해산물을 얻는 방법과 미생물로부터 chitosanase를 추출, 정제하여 chitosan을 분해시키는 방법이 있다¹⁰⁾. Pantaleone 등¹¹⁾은 chitosan에 대한 여러 가지 효소의 가수분해성을 조사한 결과, cellulase, pectinase, papain 등과 같은 산업용 food-grade 효소들도 chitosan을 가수분해할 수 있는 능력이 있음을 보고하였다.

본 연구에서는 고분자 chitosan을 lipase로 분해하여 쓴맛과 떼은맛이 없으며, 점성이 높지않은 수용성 chitosan을 제조하고, 이 수용성 chitosan이 갖는 이화학적 특성 및 관능적 특성을 조사하여 식품첨가물로 이용 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 chitosan은 일본 Tokyo Kimitsu 회사(탈아세틸화도: 69%)에서 구입하여 사용하였다. Chitosan 분해물질은 chitosan을 Novo Nordisk Ferment (Switzerland) 회사의 food grade lipase로 가수분해(chitosan : enzyme=1 : 0.3, 40°C)¹²⁾시켜, 한의여과를 거쳐 분자량별로 회수하고, 감압농축과 냉동건조를 거쳐 분말형태로 제조하여 사용하였다.

수용성 chitosan의 제조

수용성 chitosan의 각 분자량별 효소 분해물 분획 A (M.W. \geq 100 kDa), B (M.W. 100~30 kDa), C (M.W. 30~10 kDa), D (M.W. 10~3 kDa), E (M.W. 3~0.2 kDa)는 Fig. 1과 같이 제조하였다.

용해성

20°C에서 각 분획별 수용성 chitosan sample 1.0 g 이상을 25 mL 시험관에 넣고 0.01 M-phosphate buffer로 pH를 5.0, 7.0, 9.0로 조절한 용매 10 mL를 가한 다음

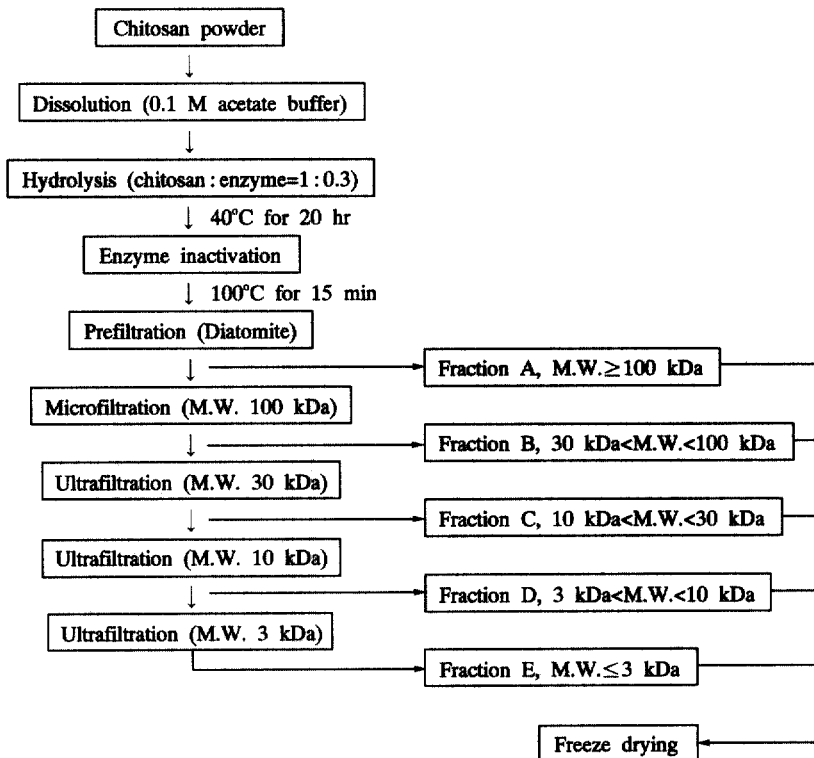


Fig. 1. Schematic diagram for producing water soluble chitosan.

vortex mixer (KMC-1300V Vision Co., LTD, Korea)에서 1시간 동안 15분 간격으로 교반하면서 용해도(% w/v)를 측정하였다.

점 도

각 분획별 chitosan 분해물(5, 10, 20%)의 점도를 Brookfield Viscometer (Model LVT, Brookfield Engineering Laboratories, USA)를 이용하여 25°C, 30 rpm으로 측정후 cps 환산하여 표기하였다.

지방결합능력

Lin 등⁽¹³⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 30 mesh를 통과한 각 분획별 chitosan sample 2.0 g의 시료를 플라스틱 원심분리관에 넣은 다음, 20 g의 대두유(동방유량)를 첨가하여 1분간 혼합한 후 30분간 방치하였다. 3000 rpm에서 25분간 원심분리(VS-6000 CF centrifuge, Vision Scientific Co., Ltd, Korea)하여 분리된 대두유를 제거시킨 다음 원심분리관을 45° 기울여 30분 동안 방치하여 pellet의 무게를 정평하였다. 지방 결합력은 건조시료의 무게와 상정액을 제거하고 남은 pellet 무게와의 차이를 계산하여 건조시료 1 g당 보유한 지방의 무게의 비율(%)로 표현하였다.

$$\text{지방결합능력(\%)} = \frac{\text{흡수후 무게(g)}}{\text{건조시료 무게(g)}} \times 100$$

유화안정성

수용성 chitosan의 유화안정성을 측정하기 위하여 수용성 chitosan을 model system(대두유:중류수=25:75)에 적용하여 Inklaa 등⁽¹⁴⁾의 방법을 수정하여 측정하였다. 탈이온수 56.25 g을 시험관에 담고 각 fraction별 chitosan sample 0.45 g을 분산시킨 다음 60°C로 가열하면서 18.75 g의 대두유를 첨가하였다. 시험관 혼합액을 10,000 rpm에서 2분간 유화(high power homogenizer, Janke & Kunkel, USA)시킨 다음 실온에 1시간 방치하면서 분리되는 중류수 층의 부피를 5분간격으로 80분간 측정하였다. 유화 안정성은 system내에 함유된 중류수의 양(mL)과 분리된 중류수의 양(mL)의 차를 계산하여 system 내에 함유된 중류수의 양(mL)에 대한 %로 표현하였다.

표면색도의 변화

색도측정은 Hunter 색차계를 사용하여 transmittance mode에서 L, a, b values를 5회 반복 측정하였다.

냉동-해동 안정성

각 분획별 chitosan sample을 20% 용액으로 제조하여 -20°C에서 24시간 동안 냉동 후 실온에서 24시간 해동시켜 그 반복횟수를 15회 반복하여 냉동-해동중의 chitosan 분해물의 침전물과 물층과의 분리정도를 측정하였다.

콜레스테롤 결합능력

Bile acid가 cholesterol과 micelle을 형성하였을 때 micelle 구성성분이 chitosan 분해물질과 결합하는 정도를 Eastwood 등⁽¹⁵⁾과 Vahouny 등⁽¹⁶⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. Bile acid-cholesterol의 mixed micelle 제조시 각 구성성분의 농도는 생리적 조건을 고려하여 bile acid와 cholesterol의 수준을 각각 5 mM과 0.25 mM로 하였다. Saline 용액(0.9%)에 용해시킨 5 mM bile acid 용액 40 mL에 cholesterol을 ethyl ether에 녹인 용액을 0.25 mM의 농도가 되도록 혼합하고, high power homogenizer를 이용하여 1분동안 균질화하였다. 이것을 37°C에서 2시간 진탕하여 ethyl ether를 휘발시킨 후 다시 균질화 하였다. 생성된 유화액 40 mL를 1.2 g의 시료가 담긴 cap tube에 넣고 밀폐하여 충분히 흔든 후 shaking water bath (37°C)에서 100 rpm으로 2시간 동안 반응시켰다. 대조구의 경우는 유화액만 넣고 동일한 조건으로 하였다. 반응액은 원심분리기(Model VS-6000 CF centrifuge, Vision Scientific Co., Ltd, Korea)를 사용하여 25°C에서 3000 rpm으로 15분간 원심분리하고, 일정량의 상정액을 취해 cholesterol을 정량하였다. Micellar component와의 결합력(binding capacity, BC)은 시료에 첨가한 단위 cholesterol 무게에 대해 결합한 cholesterol의 무게의 비율(%)로 표현하였다.

수용성 chitosan 분해물의 관능적 특성 연구

Chitosan 수용액의 관능적 특성을 평가하기 위하여 각 분획별 분획물질 2.5 g(건물기준)을 중류수 500 mL에 용해시켜(0.5%(w/w)), 평가할 때까지 냉장(4°C) 보관하였다. 관능검사에 경험이 있는 대학원생 8명을 관능검사원으로 선정하여 1회 1시간씩 총 2회에 걸쳐 시료와 평가방법 및 평가 특성에 익숙해지도록 훈련시켰다. Chitosan 분해물질의 수용액은 쓴맛, 떫은 감촉, 화학적 이취, 비린내의 순서로 10점 척도법으로 평가하도록 하였다. 검사물은 실온에서 1시간동안 방치한 후, 20 mL씩 투명한 유리잔에 담아 뚜껑을 덮어 관능검사원에게 제시하였다. 시료에는 난수표를 이용하여 얻은 3자리 숫자를 표시하였고 각 시료 사이에 입을 행글수 있도록 탈이온 중류수를 함께 제시하였

다. 사용된 척도는 10개 항목으로 나누어졌으며, 모든 특성은 0에서 9로 갈수록 강도가 강해지는 것을 나타내었다. 관능검사는 반복 차이를 무시한 랜덤화 완전 블록 계획(randomized complete block design, RCBD)으로 검사원 1인이 한번에 무작위로 배치된 시료를 평가하도록 하였으며, 8명의 패널을 8개의 블록으로 취급하였다. 3회 반복한 관능검사 결과에 대해 분산분석을 한 후 시료간의 유의적인 차이를 조사하기 위해 최소유의차 검증⁽¹⁷⁾을 실시하였다.

결과 및 고찰

수용성 chitosan의 분자량별 수율

Food-grade의 lipase를 이용한 분해반응시 생성되는 분해물들의 분자량별 수율은 Table 1에서 보듯이 분자량 30 kDa 이상의 분해물을 가장 많이 얻을 수 있었으

Table 1. The yield of chitosan hydrolysate by lipase at 40°C

Molecular weight	Yield (%)
over 100 kDa	22.3
100~30 kDa	24.6
30~10 kDa	18.9
10~3 kDa	12.5
3~0.2 kDa	21.5
less than 0.2 kDa	0.2
Total (%)	100

며, 분자량 30~100 kDa은 24.6%, 10~30 kDa은 18.9%, 3~10 kDa은 12.5%, 3 kDa 이하는 21.7%의 분해물을 얻을 수 있었다. 이 조건에서는 분자량 3~100 kDa사이의 chitosan가수 분해물이 다량 생산되었다.

용해성

수용성 chitosan의 분자량별 용해성을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 용해성은 분자량이 작을수록 증가하였으며, 가장 작은 분자의 chitosan (<3 kDa)은 44% 이상 용해되어 gel과 같은 강한 점성을 갖는 물질로 변했다. 그리고 분자량이 가장 큰 분획(>100 kDa)도 물에 22% 이상 용해되어 다양한 식품에 응용가능성을 보여준다. 수용성 chitosan의 용해도는 pH의 영향을 받지 않았으며, 이는 불용성 chitosan의 경우 묽은 질산과 0.5% H₃PO₄에만 용해하며, 실온에서는 황산의

Table 2. Solubility of water soluble chitosan with different molecular weights at 23°C

Molecular weights	Solubility ¹⁾ (%)		
	pH 5.0	pH 7.0	pH 9.0
over 100 kDa	23±0.17 ²⁾	23±0.02	22±0.12
100~30 kDa	28±0.06	28±0.56	28±0.02
30~10 kDa	43±0.17	43±0.07	40±0.15
10~3 kDa	52±0.13	44±1.51	45±0.09
3~0.2 kDa	66±0.02	66±0.09	65±0.11

¹⁾It was difficult to measure solubility above these concentrations due to gelation.

²⁾Mean ± S.D.

Table 3. Viscosity of water soluble chitosan with different molecular weights

pH	Molecular weights	Viscosity (cps)		
		20% soln. ¹⁾	10% soln. ²⁾	5% soln. ³⁾
5.0	over 100 kDa	2500±264.57 ⁴⁾	240±18.02	30±5.00
	100~30 kDa	3100±200.00	240±5.00	34±5.29
	30~10 kDa	600±45.82	30±5.00	11±6.55
	10~3 kDa	40±13.22	12±7.21	3±4.58
	3~0.2 kDa	7±2.64	40±2.64	2±1.00
7.0	over 100 kDa	3900±360.55	270±17.32	21±5.29
	100~40 kDa	1200±264.57	80±26.45	23±8.18
	30~10 kDa	200±86.60	30±8.66	7±2.64
	10~3 kDa	35±18.02	13±2.64	4±1.73
	3~0.2 kDa	11±3.60	3±2.64	0±0.00
9.0	over 100 kDa	7200±435.88	295±40.92	32±7.54
	100~30 kDa	110±36.05	80±26.45	18±7.54
	30~10 kDa	130±34.64	20±10.00	7±1.73
	10~3 kDa	45±10.00	9±5.29	4±4.35
	3~0.2 kDa	7±1.00	2±2.00	0±0.00

¹⁾Brookfield viscometer with spindle No. 4 at 30 rpm.

²⁾Brookfield viscometer with spindle No. 2 at 30 rpm.

³⁾Brookfield viscometer with spindle No. 1 at 30 rpm.

⁴⁾Mean ± S.D.

농도에 관계없이 불용성이고 일반적인 유기용매에는 녹지 않는다는 Filar 등⁽¹⁶⁾의 보고와 현저히 다른 성질이다.

점 도

수용성 chitosan의 분자량별 점도는 Table 3과 같다. 특히 분자량 30 kDa 이상의 분획에서 점도가 높았다. 고분자 chitosan에서 pH가 높을수록 점도가 증가하는 경향을 보였으며, 이런 현상은 특히 분자량 100 kDa 이상의 분획에서 뚜렷하게 나타났다. 그러나 pH의 영향은 농도나 분자량의 영향에 비해 작았으며, 1000 cps 이상을 고점도 chitosan이라고 생각한다면 10% 이하의 용액에서는 점도가 낮으므로 사용에 문제가 없을 것으로 사료되었다. 또한 본 실험의 결과는 효소에 의해서 chitosan의 주사슬이 random하게 분해되어 저분자화하여 점도가 떨어진다는 Akira 등⁽¹⁹⁾의 보고와 일치하였다.

지방결합능력

수용성 chitosan의 지방결합능력을 측정한 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 분자량 100 kDa 이상의 chitosan에서 약 800%로 가장 큰 결합력을 보였으며, 3~0.2 kDa인 chitosan 분해 물질은 약 200%의 지방결합력을 보여 가장 작은 값을 보였다. 이는 분자량과 결정성을 모두 크게 한 chitosan 분해물질이 향상된 지방결합력을 나타내었으며⁽²⁰⁾, 이러한 결과는 같은 원료로 제조한 chitin이 미세결정화 chitin보다 높은 지방 흡착 능력을 가진다고 보고한 Knorr⁽²¹⁾에 의해서도 뒷받침된다. 이런 chitosan 분해물질을 식품에 첨가하여 고지방 식

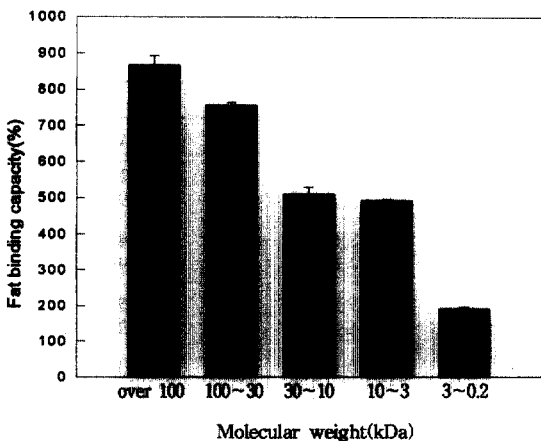


Fig. 2. Fat binding capacity of water soluble chitosan with different molecular weights.

품의 지방흡수를 감소시킬 목적으로 사용할 경우 분자량 30 kDa 이상의 것이 적합할 것으로 평가되었다.

유화 안정성

수용성 chitosan의 유화안정능력을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 각 분자량별로 30분이 경과하면서 유화안정능력은 거의 일정하게 되었다. 즉, 분자량이 클수록 유화안정능력은 크게 나타났으나, 분자량 3 kDa 이하인 chitosan은 유화안정능력이 낮게 나타났다. 이러한 원리는 microcrystalline chitin이 제한적인 가수분해를 통해 기름 방울을 둘러싸기에 적당한 분자길이를 갖도록 해서 전기적 반발력을 높임으로써 지방입자의 분산에 기여하여, 미세입자로서 계면에 흡착하여 계면 장력을 낮춰줌으로써 유화액을 안정시킬 수 있다는 Chobert 등⁽²²⁾의 보고에서도 찾아볼 수 있다. 본 실험의 결과 수용성 chitosan의 유화안정성은 변⁽²³⁾이 측정한 microcrystalline chitin의 유화안정성(30.3%)보다 낮았다. 이는 미세결정화 키틴은 인산기의 도입으로 전기적 반발력을 높임으로써 둘러싸고 있는 지방 입자의 분산에 기여한 것으로 사료된다. 그러나 분자량 100 kDa 이상의 수용성 chitosan에서도 약 15% 이상의 유화안정성을 나타내었다.

표면색도의 변화

5, 10% 수용성 chitosan 용액의 표면색도는 Table

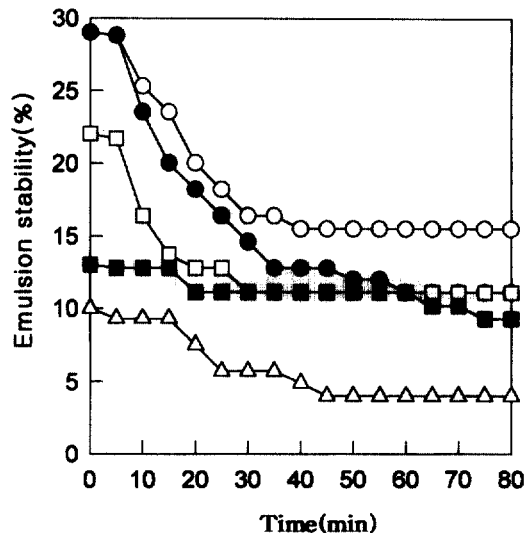


Fig. 3. Emulsion stability of water soluble chitosan with different molecular weights. ○—○: over 100 kDa, ●—●: 100~30 kDa, □—□: 30~10 kDa, ■—■: 10~3 kDa, △—△: 3~0.2 kDa.

4~6과 같다. "L" 값은 chitosan 농도가 높으면 낮은 값을 나타냈으며, pH나 분자량의 크기는 별 영향을 주지 않았다(Table 4). "a"와 "b" 값은 분자량이 증가할수록, 그리고 농도가 높아질수록 증가하였다(Table 5,

6). 이는 chitosan 용액의 적갈색이 진해짐을 의미한다. 그러나 pH에 의한 영향은 적은 것으로 관찰되었다. 이 결과로 보아 수용성 chitosan 용액은 약간 갈색을 띠며, 투명한 음료나 백색식품에 적용시 약간의 착색

Table 4. Hunter's L-value of water soluble chitosan with different molecular weights

Molecular weights	Conc. of chitosan (%)	L-value		
		pH 5.0	pH 7.0	pH 9.0
over 100 kDa	10	62.14±0.21 ¹⁾	64.13±0.09	66.81±0.15
	5	77.17±0.02	77.58±0.13	76.96±0.20
100~30 kDa	10	72.30±0.56	74.30±0.07	75.59±0.09
	5	82.39±0.01	84.32±0.20	84.80±0.09
30~10 kDa	10	82.73±0.02	85.46±1.54	84.60±0.01
	5	88.45±0.17	89.36±0.09	89.31±0.13
10~3 kDa	10	82.14±0.02	79.76±0.01	80.09±0.02
	5	88.19±0.16	86.76±0.13	87.00±0.12
3~0.2 kDa	10	75.91±0.05	75.77±0.09	75.88±0.11
	5	86.38±0.02	86.19±0.02	86.25±0.03

¹⁾Mean±S.D.

Table 5. Hunter's a-value of water soluble chitosan with different molecular weights

Molecular weights	Conc. of chitosan (%)	a-value		
		pH 5.0	pH 7.0	pH 9.0
over 100 kDa	10	13.33±0.01 ¹⁾	11.92±0.01	9.83±0.01
	5	2.85±0.01	2.50±0.05	2.77±0.04
100~30 kDa	10	6.89±0.44	5.64±0.06	4.93±0.06
	5	0.39±0.01	-0.83±0.03	-1.05±0.01
30~10 kDa	10	-0.72±0.01	6.37±0.01	1.62±0.01
	5	-3.31±0.02	-3.23±0.01	-3.41±0.03
10~3 kDa	10	0.03±0.01	2.66±0.01	2.17±0.01
	5	-2.95±0.01	-1.93±0.03	-2.45±0.02
3~0.2 kDa	10	3.14±0.01	3.23±0.08	3.18±0.05
	5	-1.91±0.01	-1.90±0.01	-1.94±0.01

¹⁾Mean±S.D.

Table 6. Hunter's b-value of water soluble chitosan with different molecular weights

Molecular weights	Conc. of chitosan (%)	b-value		
		pH 5.0	pH 7.0	pH 9.0
over 100 kDa	10	80.00±0.01 ¹⁾	74.07±0.04	68.01±0.04
	5	46.22±0.01	44.93±0.09	46.29±0.06
100~30 kDa	10	62.11±1.26	57.82±0.18	56.64±0.28
	5	39.88±0.01	32.94±0.01	32.39±0.02
30~10 kDa	10	48.52±0.03	41.69±0.35	42.35±0.01
	5	28.05±0.01	23.56±0.04	24.03±0.02
10~3 kDa	10	49.04±0.01	54.20±0.01	53.50±0.04
	5	27.99±0.01	31.50±0.01	31.00±0.04
3~0.2 kDa	10	52.72±0.01	53.23±0.24	53.10±0.17
	5	28.47±0.01	28.79±0.01	28.67±0.03

¹⁾Mean±S.D.

효과가 나타날 것으로 평가된다.

냉동-해동 안정성

각각의 분자량별 chitosan의 냉동-해동 안정성을 측정해 본 결과, 분자량별 chitosan에서 층의 분리는 나타나지 않았다. 이상의 결과로 lipase로 가수분해시킨 chitosan 분해물질은 저온에서도 안정성을 나타내어, 냉동-냉장식품의 식품첨가물로의 이용 가능성을 보여 준다.

콜레스테롤 결합능력

Bile acid-cholesterol micelle이 chitosan 분해물질과 결합하는 정도는 Fig. 4와 같다. Chitosan 분해물질의 분자량별로 결합비율은 24~36%로 나타났으며, 분자량 100~30 kDa사이의 chitosan 분해물질에서 36%, 3~0.2 kDa의 chitosan 분해물에서 24%의 결합력을 보였고 나머지 chitosan 분해물질들은 비슷한 결합력을 보였다. 콜레스테롤 대사에서 지방질의 소화 및 흡수를 위해서는 지방질은 bile acid와 micelle를 형성해야만 하며 소장내에서 micelle내의 bile acid가 식이섬유소에 흡착되면 micelle의 안정성에 영향을 미쳐 분리되기 쉬워지고, 다른 micellar lipid의 용해도를 감소시켜 배설시킨다고 한다⁽²⁴⁾. 또한 chitosan은 산성인 위와 pH 6정도의 산성환경에서 수화되고 부분적으로 이온화되어 polyglucosamine chain으로서 molecular solution을 형성한다. 이 polyglucosamine chain의 polyelectrolyte cation은 지방질의 micelle과 음이온을 둘러싸서 흡수를 방해함으로써 hypocholesterolemic 활성을 보인다

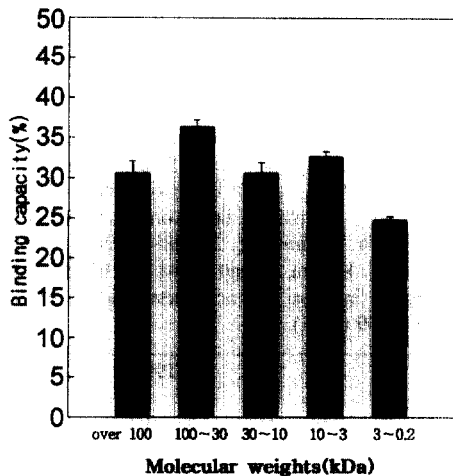


Fig. 4. Cholesterol binding by chitosan hydrolysate from bile acid-cholesterol mixed micelle.

Table 7. Sensory characteristics^{b)} of 0.5% water soluble chitosan with different molecular weights

Molecular weights	Bitterness	As-tringency	Chemical flavor	Fish flavor
over 100 kDa	2.1 ^b	6.3 ^b	1.7 ^a	6.6 ^b
100~30 kDa	1.5 ^a	4.2 ^a	1.6 ^a	0.5 ^a
30~10 kDa	1.2 ^a	4.2 ^a	1.5 ^a	0.6 ^a
10~3 kDa	1.0 ^a	3.6 ^a	1.3 ^a	0.6 ^a

^{b)}Average of three replication with 8 panelists (0-9 point scale); Means with the same letter in the same column are not significantly different (p < 0.05, LSD test).

고 한다⁽²⁵⁾. 이러한 작용은 chitosan이 혈청 콜레스테롤을 낮추며⁽²⁶⁾, chitosan oligomer가 혈중 콜레스테롤 함량을 감소시키는 것으로 볼 때 우수한 hypocholesterolemic effect를 가지는 것을 알 수 있다.

수용성 chitosan의 관능적 특성

수용성 chitosan의 분자량별 관능적 특성을 조사한 결과는 Table 7과 같다. 분자량이 작을수록 쓴맛의 강도가 유의성 있게 낮게 나타났으며, 옅은 감촉은 분자량이 증가할수록 증가하는 경향을 보였다. 분자량 100 kDa 이하의 것들은 약간 옅은 감촉이 감지되나 식품에 응용하는데는 별 문제가 없을 것으로 평가되었다. 비린내는 분자량 100 kDa 이상의 시료에서만 상당히 감지되었으나, 다른 시료에는 거의 감지되지 않았다.

고분자량 chitosan이나 시중에 유통되는 chitosan oligomer들이 관능적으로 쓴맛과 옅은맛이 강하기 때문에 기능성 식품소재로 이용이 어려운 실정을 감안할 때, 본 연구에 사용한 수용성 chitosan은 관능적 특성이 현격하게 향상되어 다양한 기능성 식품에 첨가물로 사용이 가능할 것으로 평가된다.

요 약

천연 고분자 물질인 chitosan을 효소 가수분해시켜 수용성이며, 이미·이취가 없고 점성이 낮은 chitosan 분해물을 제조하여 식품첨가물로서의 이용가능성을 평가하고자 하였다. Chitosan의 효소적 분해 반응조건을 chitosan : enzyme이 1 : 0.3, 40°C, 20 hr으로 정하였을 때 56%의 각 분획별(M.W. 3~100 kDa) 수율을 얻을 수 있었다. 수용성 chitosan의 용해도는 작은 분자량(3 kDa 이하)일수록 증가하였으며, 점도는 분자량이 클수록 증가 하였고, 고분자량(100 kDa 이상)에서는 pH가 높을수록 점도가 증가하였다. 지방 결합능력은 저분자(3~30 kDa) chitosan에서는 약 500%의 지방결합능력을 나타내었고, 30 kDa 이상의 고분자량에서는

약 800%의 지방결합능력을 나타내었다. 유화 안정성은 저분자의 수용성 chitosan일수록 낮은 유화안정성을 나타내었고, 냉동-해동 안정성은 분자량에 관계없이 안정적으로 나타났다. 표면색도는 각 분자량대별로 별 차이가 나타나지 않았다. Cholesterol 결합능력은 3~0.2 kDa의 chitosan 분해물질이 가장 작은 결합력(24.7%)을 보였고, 나머지 chitosan 분해물질은 비슷한 결합력을 보였다. 수용성 chitosan의 관능적 특성은 분자량(3~100 kDa)이 작을수록 쓴맛과 퉁은 맛의 강도가 현저히 낮게 나타났고, 큰 분자량(100 kDa 이상)에서는 비린내가 감지되었다.

문 헌

- Weiner, M.L.: An overview of the regulation status and of the safety of chitin and chitosan as food and pharmaceutical ingredients. In *Advances in chitin and chitosan*, Elsevier Applied Science, London, p. 663-670 (1992).
- Knorr, D.: Use of chitinous polymers in food-A challenge for food research and development. *Food Technol.*, **38**, 85-97 (1984).
- Austin, P.R.: Lactose-rich animal feed formulations and method of feeding animals. *U.S. Patent*, **4**, 320, 150 (1982).
- Sanford, P.A.: Chitosan, commercial uses and potential applications. *Proc. the 4th Inter. Conf. on Chitin/chitosan held in Trondheim*, Norway, p. 51-69 (1988).
- Fang, S.W., Li, C.F. and Shih, Y.C.: Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low-sugar candied *Kumquat*. *J. Food Prot.*, **57**(2), 136-140 (1994).
- Lee, Y.C.: Production of bioactive chitosan hydrolysate and its use for the development of functional foods (in Korean). Final report of Good Health R&D Project, Ministry of Health and Welfare (1997).
- Kim, S.K.: Manufacturing technics and development trends of chitin, chitosan and their derivatives (in Korean), *Food Industry*, **106**, 63-73 (1992).
- Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K. and Hasegawa, Y.: Hypercholesterolemic effects of chitosan in cholesterol-fed rats. *Nutr. Rept. Int.*, **18**, 531-537 (1978).
- Hirano, S., Kondo Y. and Fujii, K.: Preparation of acetylated derivatives of modified chito-oligosaccharides by the depolymerization of partially N-acetyled chitosan with nitrous acid. *Carbohydr. Res.*, **163**, 338-341 (1985).
- Akiyama, K., Kawazu, K. and Kobayash, A.: A novel method for chemo-enzymatic synthesis of elicitor-action chitosan oligomers and partially N-deacetylated chitin oligomers using N-acetylated chitotrioses as substrates in a lysozyme-catalyzed transglycosylation reactionsystem. *Carbohydr. Res.* **279**, 151-160 (1995).
- Pantaleone, D., Yalpani, M. and Scollar, M.: *Proc. the 5th Inter. Conf. on Chitin/Chitosan*, 292 (1991).
- Shin, S.S.: The production of water soluble chitosan hydrolysate by enzymes. *M.S. Thesis*, Chung Ang Univ., Korea (1997).
- Lin, M.J.Y. and Humbert, E.S.: Certain functional properties of sunflower meal products. *J. Food Sci.*, **39**, 368-370 (1974).
- Inklaa, P. A. and Fortuin, J.: Determining the emulsifying and emulsion stabilizing capacity of protein meat additives. *Food Technol.*, **23**, 103-107 (1970).
- Eastwood, M. and Mowbray, L.: The binding of the components of mixed micelle to dietary fiber. *Am. J. Clin. Nutr.*, **29**, 1461-1467 (1976).
- Vahouny, G.V., Tombes, R., Cassidy, M.M., Kritchevsky, D. and Gallo, L.L.: Binding of bile salts, phospholipids and cholesterol from mixed micelles by bile acid sequestrants and dietary fibers. *Lipids*, **15**, 1012-1018 (1980).
- SAS: *SAS User's Guide: Statistics*, 6th ed., SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A. (1987).
- Filar, L.J. and Wirick, M.G.: Bulk solution properties of chitosan. *Proc. the 1st Inter. Conf. on Chitin/Chitosan*, Ed. R.A.A. Muzzarelli and E.R. Pariser. MIT Sea Grant Program, Cambridge, Mass (1978).
- Akira Ohtakar, Masaru Mitsutom: Enzymatic preparation of oligosaccharides from Chitin and Chitosan, Food and food ingredient of Japan, p. 164 (1995).
- Kim, J.H.: Functional properties of microcrystalline chitin produced from crab shell under different preparation condition (in Korean). *M.S. Thesis*, Ewha Womans Univ., Korea (1994).
- Knorr, D.: Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.*, **47**, 593-595 (1982).
- Chobert, J.M., Sitohy, M. and Whitaker, J.R.: Specific limited hydrolysis and phosphorylation of food proteins for improvement of functional and nutritional properties. *JAACS*, **64**, 1704-1711 (1987).
- Byun, H.G.: Syntheses of the derivatives of chitin and chitosan and their physicochemical properties (in Korean). *M.S. Thesis*, National Fisheries University of Pusan, Korea (1992).
- Eastwood, M.A. and Hamilton, D.: Studies on the adsorption of bile salts to non-absorbed components of diet. *Biochem. Biophys. Acta* **152**, 165-173 (1968).
- Razdan A., Pette, D.: Effect of chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. *Br. J. Nutr.*, **72**, 277-288 (1994).
- Fukada, Y., Kimura, K. and Ayaki, Y.: Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. *Lipids*, **26**, 395-399 (1991).

(1998년 8월 19일 접수)