

Chitin · Chitosan이 흰쥐의 콜레스테롤 대사에 미치는 영향

박정로[†] · 문일식* · 최성희** · 손미에***

순천대학교 식품영양학과, *순천대학교 화학공학과
충남대학교 농업과학연구소, *경상대학교 식품영양학과

Effects of Chitin and Chitosan on Lipid Metabolism in Rats

Jeong-Ro Park[†], Il-Shik Moon*, Seong-Hee Choi** and Mi-Yae Shon***

Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

*Dept. of Chemical Engineering, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

**Inst. of Agric. Sci. and Tech., Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

***Dept. of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Abstract

The effects of chitin and chitosan on the contents of plasma and liver lipids and the fecal excretion of neutral and acidic steroids were investigated in rats fed with atherogenic diet. Dietary chitin did not affect plasma total cholesterol, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol, while chitosan diet decreased total cholesterol and LDL-cholesterol. Plasma content of triglyceride was reduced significantly by chitin diet but not by chitosan. Increases in fecal weight were observed in rats fed with either chitin or chitosan, and the increase was greater with chitosan than with chitin. Dietary chitosan resulted in an increase of fecal excretion of neutral steroids without any changes in the excretion of acidic sterols. Putting the results together, dietary chitosan reduces plasma cholesterol probably due to the reduction of cholesterol absorption. The decrease in plasma triglyceride level by dietary chitin requires further research to understand the mechanism.

Key words: chitin, chitosan, cholesterol, triglyceride, fecal excretion of steroids

서 론

최근 식생활의 서구화와 더불어 우리 나라에서도 심근경색, 뇌혈전 및 동맥경화 등과 같은 순환기계 성인 질환과 이로 인한 사망율이 증가하고 있다. 또한 이러한 만성 퇴행성 질환 발생의 주요 위험 인자(1)의 하나로 지적되는 혈장 cholesterol 농도가 200mg/dl 이상으로서 식이요법 등 생활치료 및 약물치료대상이 우리나라 전체 성인의 30% 정도를 차지하여 혈장 cholesterol 수준을 정상으로 유지하기 위한 많은 노력과 연구가 필요하다.

Chitin은 N-acetyl-D-glucosamine의 고분자 다당체로서 갑각류와 곤충의 외피, 버섯과 균류의 세포벽 성분으로서 cellulose 다음으로 지구상에 풍부하게 존재하는 유용천연자원이다. Chitin은 강알칼리에 의하여 탈아세틸화 되어 chitosan(deacetylated chitin)을

만들며, chitin과 chitosan 그리고 그 유도체들은 생물학, 의학 및 여러 산업분야에서 다양한 기능성이 이해되면서 고부가가치의 생물신소재로서 주목을 받고 있다(2-4). 특히 최근에는 항암활성, 면역활성, 항균활성 등 chitosan의 생리적 기능성이 확인되면서 식품, 의약품 등 여러 분야에서 연구·응용이 활발하다(5).

Chitosan은 고지방, 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 혈장 cholesterol을 낮추며, 그 효과는 pectin이나 cholestyramine에 뒤지지 않는다는 여러 연구보고가 있으나(6,7) chitin에 관한 연구는 매우 드물다. 그러나 최근의 *in vitro* 실험 결과(8)에 의하면 chitin도 chitosan이나 pectin과 같이 보수력 및 glucose와 bile acid (taurocholic acid)를 흡수하는 성질을 가지고 있어 이의 혈당감소 및 혈장 콜레스테롤 저하효과 가능성을 시사해주고 있다.

본 연구에서는 계집질로부터 분리한 chitin과 ch-

[†]To whom all correspondence should be addressed

itosan이 식이성 고지혈증 흰쥐의 혈장 및 간장 지질 함량에 미치는 영향을 측정·비교하고, 배변을 통한 중성 steroid 및 담즙산의 배설을 측정하여 이들 생체고분자 화합물의 *in vivo* 기능을 비교하였다.

재료 및 방법

Chitin과 chitosan의 제조

Cho 등(4)의 방법에 준하여 계집질 분말을 2N HCl로 회분을 제거하여 물로 세척한 후 5% NaOH를 가하여 100°C에서 1시간 가열하여 단백질을 제거하였다. 색소 및 기타 불순물을 제거하기 위하여 5배량의 96% ethanol 및 ether로 각각 세척하여 24시간 실온에 방치한 후 여과하여 60°C에서 건조시켜 chitin 분말을 제조하였다. Chitosan은 chitin에 10배의 50% NaOH를 가하여 100°C에서 5시간 탈아세틸화한 후 물로 여과 세척한 다음 60°C에서 건조시켜 chitosan 분말시료로 사용하였다.

실험동물

평균체중이 약 70g 되는 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐를 1주일 간 예비사육하여 적응시킨 후 6마리씩 4개의 실험식이군(Table 1)으로 나누어 4주간 사육하였다. 실험동물은 stainless steel cage에 개별 수용하여 21 ± 2°C에서 12시간의 명암 주기(07:00~19:00) 아래 사육하였다. 사육기간 중 물과 사료는 자유로이 섭취시켰으며, 식이섭취량은 매일 아침 식이잔량을 측정하여 산출하였고 체중은 매주 한번씩 측정하였다.

사육 종료시의 채혈은 12시간 절식시킨 뒤 에테르로 마취시켜 심장으로부터 채혈하였다. 혈액은 EDTA(1

mg/ml)로 처리하여 1시간 빙수 중에 방치시킨 후 500 × g에서 15분간 원심분리하여 혈장을 얻어 즉시 HDL-cholesterol을 측정한다 다음 -20°C에 보관하며 지질함량을 측정하였다. 간은 혈액채취 후 즉시 적출하여 4°C 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 물기를 제거하여 무게를 측정한다 후 -20°C에 보관하여 사용하였다. 분은 실험 종료전 3일간 채취하여 무게를 측정한다 후 냉동건조하여 분으로 배설되는 담즙산 및 중성 스테롤을 측정하였다.

지질성분 분석

혈장 및 간의 총 cholesterol, 유리 cholesterol, 중성 지질 및 인지질 함량은 효소법에 의해 kit시약(Eiken Chemical Co., LTD., Tokyo, Japan)으로 분석하였다. Cholesteryl ester 함량은 총 cholesterol 함량에서 유리 cholesterol 함량을 감하여 산출하였다. 혈장 high density lipoprotein(HDL)-cholesterol은 phosphotungstate-MgCl₂(9)에 의해 β-lipoprotein을 침전시킨 후 효소법(10)으로 측정하였다. 혈장 및 간의 지방산 조성은 Folch 등(11)의 방법에 따라 지질을 추출한 후 5% sulfuric acid/methanol로 methylation하여 flame ionization detector(FID)와 integrator(HP 3890A)가 부착된 gas liquid chromatograph(HP Series II 5890)을 이용하여 분석하였다. 이때 column은 HP-INNO Wax capillary column(30m length, 0.25mm id, 0.25μm film thickness)을 사용하였으며, carrier gas(helium) 유속은 200°C에서 1.0ml/min, column 온도는 200°C부터 230°C까지 2°C/min으로 승온한 후 25분간 유지하였다. Injector와 detector의 온도는 각각 220°C와 250°C이었으며, FID의 air, hydrogen, helium의 유속은 각각 300, 35, 30ml/min이었다. 각각의 지방산 methyl ester는 표준품(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 동정하였다.

분 중 중성 스테로이드 및 담즙산 분석

분 중 중성 스테로이드 및 담즙산은 Miettinen 등(12)과 Grundy 등(13)의 방법에 의해 추출하여 methylation과 silylation 과정을 거쳐 gas chromatography에 의해 측정하였다. 이때 column은 HP-1(cross-linked methyl silicone, 25m length, 0.32mm id, 0.17μm film thickness)을 사용하였으며, carrier gas(helium) 유속은 180°C에서 1.6ml/min, column 온도는 180°C에서 5분간 정체후 10°C/min으로 250°C까지 승온하여 다시 2°C/min으로 280°C까지 승온하였다. Injector와 detector의 온도는 각각 250°C와 300°C이었으며, FID의 air, hydrogen, helium의 유속은 각각 300, 35, 30ml/min이었다.

Table 1. Compositions of experimental diet (%)

Ingredient	Basal	Control	Chitin	Chitosan
Sucrose	49	48	43	43
Starch	15	15	15	15
Casein	20	20	20	20
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Corn oil	1	1	1	1
Lard	10	10	10	10
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
Mineral ¹⁾	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin ²⁾	1	1	1	1
Cholesterol	-	1	1	1
Chitin	-	-	5	-
Chitosan	-	-	-	5

¹⁾AIN76TM mineral mix

²⁾AIN76TM vitamin mix

Table 2. Food intake, weight gain, food efficiency ratio and liver weight of rats fed the experimental diets for 4 weeks

Group	Food intake(g/day)	Weight gain(g/day)	FER ¹⁾	Liver weight(g%)
Basal	15.4±0.3 ^{2)bc3)}	6.30±0.15 ^a	0.41±0.01 ^a	4.43±0.16 ^b
Control	15.0±0.4 ^b	5.75±0.27 ^a	0.38±0.01 ^{ab}	5.21±0.00 ^a
Chitin	16.2±0.1 ^a	6.13±0.06 ^a	0.38±0.00 ^b	4.27±0.00 ^b
Chitosan	14.1±0.3 ^c	5.15±0.24 ^b	0.37±0.01 ^b	4.42±0.00 ^b

¹⁾FER: food efficiency ratio(weight gain/food intake)

²⁾Numbers are mean±SE, n=6.

³⁾Means sharing a common superscript letter(s) in the same column are not significantly different(p>0.05) on Fisher's Least Significant Difference test.

통계처리

각 실험군 간의 유의성은 p<0.05 수준에서 Fisher's Least Significant Difference test(14)를 통하여 검정하였다.

결 과

식이섭취, 체중증가, 식이효율 및 간 중량

실험기간 4주 동안의 식이섭취, 체중증가, 식이효율 및 실험 종료시 간 중량을 Table 2에 나타내었다. Cholesterol 1% 식이군(control군)은 식이섭취량, 체중증가 및 식이효율에 있어 basal군과 다른지 않았다. Chitin 5% 식이군은 control군에 비하여 식이섭취량이 유의하게 높았으나 체중증가와 식이효율은 차이를 보이지 않았다. Chitosan 5% 식이군은 control군에 비하여 식이섭취량과 체중증가량이 유의하게 낮았으나 식이효율은 차이가 나지 않았다.

체중 100g당 g수로 나타낸 간 중량은 식이 cholesterol에 의하여 유의하게 증가하였으나 식이 chitin과 chitosan 섭취에 의하여 감소되어 basal군과 유사한 중량을 보였다.

혈장 지질

Control군은 basal군에 비하여 혈장 free cholesterol은 차이를 보이지 않으면서 cholesteryl ester를 증가시켜 전체적으로 혈장 총 cholesterol 함량을 현저히 증가시켰다(Table 3). Cholesterol 식이는 또한 HDL-cholesterol을 감소시키는 반면 큰 폭의 LDL-cholesterol 상승을 가져와 LDL-cholesterol/HDL-cholesterol 비율로 표시되는 동맥경화 지수를 현저히 높였다(Table 4).

Chitin군은 control군에 비하여 혈장 총 cholesterol 및 free cholesterol/cholesteryl ester 비율에 있어서 큰 차이를 보이지 않았으나, chitosan군은 혈장 총 chole-

sterol 농도와 cholesteryl ester 함량을 감소시켰다(Table 3). Chitosan에 의한 혈장 총 cholesterol의 감소는 주로 LDL-cholesterol의 감소에 의한 것이었으며, HDL-cholesterol은 control군과 유사한 값을 보였다(Table 4).

Control 식이는 basal 식이에 비하여 혈장 cholesterol 뿐만 아니라 중성지질 농도도 현저히 증가시킨 반면(157.0 vs 241.1mg/dl), 인지질 농도에는 영향을 미치지 않았다(Table 5). Chitin과 chitosan의 식이섭취에 의한 혈장 중성지질 농도 변화는 혈장 cholesterol 농도와는 전혀 다른 양상을 보였다. 즉, 혈장 중성지질 농도는 chitosan 급여에 의하여 영향을 받지 않는 반면 chitin 식이에 의하여 크게 감소하였다(241.1 vs 140.5 mg/dl)(Table 5).

Table 3. Effects of chitin/chitosan on plasma contents of total cholesterol, free cholesterol and cholesteryl ester in rats (mg/dl)

Group	TC ¹⁾	FC ¹⁾	CE ¹⁾
Basal	88.4±2.2 ^{2)bc3)}	14.2±2.6 ^a	74.1±3.5 ^b
Control	118.8±6.9 ^a	13.8±2.5 ^a	105.0±6.1 ^a
Chitin	111.6±4.7 ^{ab}	13.1±1.6 ^a	98.5±4.2 ^a
Chitosan	98.3±6.2 ^{bc}	18.2±1.4 ^a	80.1±5.5 ^b

¹⁾TC: total cholesterol, FC: free cholesterol, CE: cholesteryl ester

^{2,3)}The same as in Table 2

Table 4. Effects of chitin/chitosan on plasma HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and atherosclerotic index in rats

Group	HDL-C ¹⁾ (mg/dl)	LDL-C ¹⁾ (mg/dl)	AI ¹⁾
Basal	59.3±1.8 ^{2)ac3)}	29.1±1.2 ^c	0.49±0.03 ^c
Control	45.0±3.3 ^b	73.8±6.2 ^a	1.69±0.20 ^{ab}
Chitin	39.8±2.2 ^b	71.8±5.0 ^a	1.84±0.19 ^a
Chitosan	43.1±2.3 ^b	55.2±5.4 ^b	1.29±0.12 ^b

¹⁾HDL-C: HDL cholesterol, LDL-C: LDL cholesterol(total cholesterol-HDL-C), AI: atherogenic index

^{2,3)}The same as in Table 2

간 지질

간장의 cholesterol과 중성지질 함량은 cholesterol 식이에 의하여 현저히 증가되었다(Table 6). Chitin 식이는 간장 cholesterol을 증가시키는 반면 중성지질과 인지질 함량에는 영향을 주지 않았다. Chitosan 식이는 cholesterol 식이에 의한 cholesterol과 중성지질 함량의 증가를 억제시키는 효과를 나타내었다.

지방산 조성

혈장 지질의 지방산 조성을 분석한 결과를 Table 7에 나타내었다. Cholesterol 식이는 oleic acid(18:1 ω 9)를 증가시키는 반면 arachidonic acid(20:4 ω 6)와 docosahexaenoic acid(DHA, 22:6 ω 3)를 감소시켜, 전체적으로 단일불포화지방산(monoene) 함량을 증가시키고 다불포화지방산(PUFA) 함량을 감소시켰다. Chitin과 chitosan 식이에 의한 혈장지방산의 변화는 서로 유사한 점이 많아 palmitic acid(16:0)와 palmitoleic acid(16:1 ω 7) 함량은 감소시키고 arachidonic acid 함량을 증가시켰으나, 전반적인 PUFA 함량은 chitin 식이에 의해서는 증가되었지만 chitosan 식이에 의해서는 영향을 받지 않았다.

간장 지질의 지방산 조성은 혈장 지질의 지방산 조성과의 비교할 때 cholesterol 식이에 의하여 더욱 많은 변화를 보여, palmitoleic acid와 oleic acid가 증가하고 stearic acid(18:0), arachidonic acid 및 DHA가 감소하였으며, 전체적으로 monoene과 불포화지방산(USF)의 증가와 더불어 포화지방산(SF)과 PUFA가 감소하였

Table 5. Effects of chitin/chitosan on plasma contents of triglyceride and phospholipid (mg/dl)

Group	TG ¹⁾	PL ¹⁾
Basal	157.0 \pm 17.4 ^{2)bc3)}	183.1 \pm 8.1 ^{ab}
Control	241.1 \pm 39.4 ^a	191.9 \pm 11.7 ^{ab}
Chitin	140.5 \pm 11.7 ^c	165.0 \pm 5.6 ^b
Chitosan	211.3 \pm 13.6 ^{ab}	218.7 \pm 19.5 ^a

¹⁾TG: triglyceride, PL: phospholipid

^{2,3)}The same as in Table 2

Table 6. Liver lipid contents of rats fed the experimental diets

Group	TC ¹⁾	FC ¹⁾	CE ¹⁾	TG ¹⁾	PL ¹⁾
Basal	3.72 \pm 0.46 ^{2)cd3)}	2.79 \pm 0.24 ^c	0.93 \pm 0.59 ^c	25.5 \pm 2.4 ^b	21.9 \pm 0.8 ^a
Control	9.46 \pm 0.31 ^b	6.78 \pm 0.31 ^a	2.68 \pm 0.43 ^b	53.7 \pm 5.3 ^a	23.2 \pm 0.8 ^a
Chitin	11.96 \pm 1.06 ^a	7.62 \pm 0.47 ^a	4.35 \pm 0.81 ^a	48.1 \pm 3.8 ^a	24.5 \pm 1.0 ^a
Chitosan	7.05 \pm 0.56 ^c	4.87 \pm 0.54 ^b	2.18 \pm 0.17 ^{bc}	34.2 \pm 3.6 ^b	23.8 \pm 1.2 ^a

¹⁾TC: total cholesterol, FC: free cholesterol, CE: cholesteryl ester, TG: triglyceride, PL: phospholipid

^{2,3)}The same as in Table 2

다(Table 8). Chitin 식이는 간지질의 불포화 지방산 함량을 증가시킨 반면 chitosan 식이는 간지질의 monoene 함량을 감소시켰으나 PUFA 함량은 증가시켰다.

중성 steroid 및 담즙산 배설

Table 9는 실험식이 종료 전 3일간 변으로 배설된 중성 및 산성 steroid를 측정된 결과이다. Chitin과 chitosan 식이는 control 식이에 비하여 배변량을 현저히 증가시켰으며, chitin보다 chitosan에 의한 배변량의 증가가 더욱 컸다. Chitosan은 중성 steroid의 배설을 증가시켰으나 산성 steroid의 배설에는 영향을 주지 않았다. 한편 chitin은 이들 중성 및 산성 steroid 배설에 큰 영향을 주지 않았다.

고 찰

Chitin은 cellulose와 유사한 구조이나 분자내에 아세틸아미노기를 가지고 있고 이 아세틸아미노기의 분자간 수소결합이 매우 강하여 물과 일반적인 유기용매에는 녹지 않는다. 그러나 chitin의 탈아세틸화물인 chitosan은 물과 알코올류를 비롯한 유기용매에는 녹지 않지만 낮은 농도의 유기산과 무기산에 용해되어 그 용액은 고점도를 나타낸다. 본 실험에서 chitosan을 섭취한 흰쥐의 사료 섭취량과 체중증가량이 control군에 비하여 유의하게 낮았다. Chitosan이 이처럼 식이 섭취량을 감소시킨 것은 약산에서의 용해특성으로 인하여 chitosan이 동물의 장관 내에서 매우 점도가 높은 용액을 형성하여(15) 십이지장 부위의 팽창을 가져와 동물의 포만감을 유발한 때문인 것으로 생각된다(16). 반면 chitin 식이는 사료 섭취량과 체중증가량을 오히려 증가시켰는데 이는 불용성인 chitin에 의하여 장내 미생의 점성이 낮아진 때문으로 생각된다.

혈장 총 cholesterol 농도 특히 LDL-cholesterol의 증가는 동맥경화를 비롯한 심혈관계 질환의 주요한 위험인자로 알려져 있으나, 역학조사 결과들의 보고에 의하면 HDL-cholesterol 수준의 증가는 이들 만성 퇴행성 질환으로부터 보호한다고 한다(17). 사람과 실험동

Table 7. Effects of chitin/chitosan on fatty acid composition of plasma lipid

Fatty acid \ Group	Basal	Control	Chitin	Chitosan
16:0	26.08±1.95 ^{1)a2)}	26.31±1.52 ^a	20.77±0.79 ^b	20.62±0.64 ^b
16:1ω7	4.12±0.80 ^{ab}	7.54±1.08 ^a	3.26±0.90 ^b	5.35±1.83 ^{ab}
18:0	12.25±0.44 ^{ab}	10.71±0.69 ^b	12.72±1.04 ^{ab}	14.42±0.53 ^a
18:1ω9	19.85±1.13 ^b	26.74±2.39 ^a	26.47±1.93 ^a	28.00±1.81 ^a
18:1ω7	2.74±0.20 ^a	2.29±0.82 ^a	3.36±0.98 ^a	2.70±1.37 ^a
18:2ω6	16.34±2.69 ^a	13.67±1.47 ^a	17.00±2.49 ^a	13.92±0.32 ^a
18:3ω3	2.29±0.35 ^a	1.95±0.26 ^a	2.34±0.42 ^a	2.20±0.54 ^a
18:4ω3	1.47±0.16 ^a	1.22±0.12 ^a	1.43±0.40 ^a	1.23±0.62 ^a
20:0	0.07±0.07 ^a	0.03±0.03 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
20:1ω9	0.43±0.10 ^a	0.81±0.33 ^a	0.26±0.12 ^a	0.36±0.18 ^a
20:4ω6	13.22±1.00 ^a	7.19±0.79 ^b	11.65±0.98 ^a	10.84±0.79 ^a
20:5ω3	0.16±0.08 ^a	0.97±0.52 ^a	0.23±0.12 ^a	0.09±0.09 ^a
22:1ω9	0.00±0.00 ^a	0.04±0.04 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
22:6ω3	0.97±0.09 ^a	0.54±0.11 ^{bc}	0.78±0.08 ^{ab}	0.27±0.27 ^c
SFA ³⁾	38.41±2.20 ^a	37.05±2.03 ^a	33.40±1.49 ^a	35.04±0.74 ^a
PUFA	34.44±2.37 ^a	25.54±1.95 ^b	33.33±2.48 ^a	28.55±1.69 ^{ab}
PUFA/SFA	0.93±0.13 ^a	0.70±0.06 ^a	1.03±0.12 ^a	0.81±0.04 ^a
USFA	61.59±2.20 ^a	62.95±2.03 ^a	66.69±1.49 ^a	64.96±0.74 ^a
MONOENE	27.15±0.73 ^b	37.41±2.74 ^a	33.26±1.94 ^a	36.41±2.14 ^a

¹⁾Numbers are mean±SE, n=6. ²⁾Means sharing a common superscript letter(s) in the same row are not significantly different(p>0.05) on Fisher's Least Significant Difference test.

³⁾SFA: saturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids, USFA: unsaturated fatty acids

Table 8. Effects of chitin/chitosan on fatty acid composition of liver lipid¹⁾

Fatty acid \ Group	Basal	Control	Chitin	Chitosan
16:0	22.60±0.67 ^{1)a2)}	22.56±1.11 ^a	18.80±0.22 ^b	21.20±0.54 ^a
16:1ω7	2.96±0.42 ^c	8.00±0.87 ^a	6.13±0.24 ^b	4.28±0.42 ^c
18:0	17.85±0.81 ^a	9.32±0.69 ^c	10.30±0.47 ^c	13.99±0.83 ^b
18:1ω9	23.43±1.11 ^c	39.12±0.80 ^a	39.90±1.70 ^a	32.72±1.86 ^b
18:1ω7	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.06±0.05 ^a
18:2ω6	8.05±0.48 ^{ab}	6.93±0.78 ^b	8.17±0.23 ^{ab}	8.98±0.64 ^a
18:3ω3	0.00±0.00 ^a	0.01±0.01 ^a	0.11±0.03 ^a	0.19±0.14 ^a
18:4ω3	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
20:0	0.06±0.04 ^a	0.14±0.14 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
20:1ω9	0.22±0.01 ^b	0.61±0.17 ^a	0.33±0.03 ^b	0.31±0.04 ^b
20:4ω6	20.59±1.01 ^a	10.29±0.92 ^c	12.26±0.86 ^c	15.77±0.94 ^b
20:5ω3	0.74±0.36 ^a	1.64±0.79 ^a	1.69±0.72 ^a	0.16±0.04 ^a
22:1ω9	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
22:6ω3	3.50±0.41 ^a	1.38±0.13 ^b	2.32±0.51 ^b	2.35±0.19 ^b
SF ³⁾	40.51±0.38 ^a	32.02±0.83 ^c	29.10±0.36 ^d	35.19±0.80 ^b
PUFA	32.88±1.44 ^a	20.25±1.46 ^c	24.53±1.51 ^{bc}	27.45±1.58 ^b
PUFA/SF	0.81±0.04 ^a	0.64±0.06 ^b	0.84±0.04 ^a	0.78±0.04 ^a
USF	59.49±0.38 ^d	67.98±0.83 ^b	70.90±0.36 ^a	64.81±0.80 ^c
MONOENE	26.61±1.54 ^c	47.73±1.14 ^a	46.36±1.84 ^a	37.36±2.09 ^b

¹⁻³⁾The same as in Table 7

물들에 있어서 cholesterol 식이섭취는 일반적으로 혈장 총 cholesterol과 LDL-cholesterol을 증가 및 HDL-cholesterol의 감소를 수반한다(18,19). 본 실험에서도 control군은 basal군에 비하여 혈장 총 cholesterol과 LDL-cholesterol 함량이 높은 반면, HDL-cholesterol이 낮아 LDL-cholesterol/HDL-cholesterol 비율로 표

시된 동맥경화 지수가 현저히 높았다. Chitin 식이는 혈장 총 cholesterol에 큰 영향을 미치지 않았으나, chitosan 식이는 혈장 총 cholesterol 농도를 감소시켰다. Chitosan 식이에 의한 혈장 총 cholesterol의 감소는 주로 LDL-cholesterol의 감소에 의한 것이었으며, HDL-cholesterol은 control 식이군과 유사한 값을 보였다.

Table 9. Effects of chitin/chitosan on fecal excretion of steroids

Group	Fecal weight (g/kg body wt/day)	Neutral Steroid (mg/kg body wt/day)	Bile Acid (mg/kg body wt/day)
Basal	8.74 ± 1.67 ¹⁾²⁾	24.04 ± 2.67 ^a	14.68 ± 1.43 ^a
Control	13.37 ± 1.86 ^a	154.07 ± 16.3 ^b	78.73 ± 3.88 ^b
Chitin	29.24 ± 2.32 ^b	202.48 ± 18.5 ^b	78.12 ± 3.13 ^b
Chitosan	39.41 ± 2.69 ^c	308.47 ± 24.1 ^c	86.29 ± 6.17 ^b

¹⁾²⁾The same as in Table 7

Chitosan은 식이성 고지혈증 흰쥐의 혈장 cholesterol의 수준을 감소시켰는데 이는 다른 보고들(20-22)과 일치하는 결과로 chitosan이 중성 steroid의 배설을 증가시키기 때문인 것으로 생각된다(23). 식이섬유질의 생리적 중요성의 하나는 소장에서 지방질을 비롯한 각종 영양소의 흡수를 억제하는 것이다. 식이섬유질의 지방질 흡수 억제작용의 기전은 아직 명확하지 않지만 소장 상피의 경계액층을 두껍게 함으로써 영양소의 흡수를 저해하는 것으로 여겨진다(24). 이와 마찬가지로 chitosan이 중성 steroid의 배설을 촉진하는 것도 위산에 의해 chitosan이 용해되어 장내 음식물 미즙의 점성이 매우 높아짐에 기인하는 것으로 생각된다.

Glucosamine의 중합체인 chitosan은 anion exchanger 성질을 가지고 있어 cholestyramine과 같이 *in vitro*에서 담즙산을 결합하는 능력이 있기 때문에(8, 25) *in vivo*에서도 담즙산 배설을 촉진할 것으로 기대된다. 그러나 chitosan을 섭취한 흰쥐에서 담즙산 배설의 증가는 발견되지 않았다. 이는 담즙산이 주로 흡수되는 회장(ileum) 부분의 pH에서는 chitosan의 용해성이 떨어져 담즙산 결합능력을 잃기 때문이라 사료된다.

Chitosan은 혈장 cholesterol을 낮추는 점에서는 식이섬유질이나 cholestyramine resin과 유사하지만 그 작용 기전은 이들과 다른 면을 보여주고 있다. 본 실험의 결과와 전에 발표된 결과들을 종합하여 볼 때 chitosan은 주로 cholesterol의 흡수를 저해함으로써 혈장 cholesterol을 낮추는 반면 cholestyramine은 주로 담즙산의 배설을 증가시킴으로써 이러한 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

Chitin은 chitosan보다는 약하지만 식이성 고지혈증 흰쥐의 중성 steroid의 배설을 유의하게 촉진시켰지만 혈장 cholesterol 수준에는 영향을 주지 못하였다. 혈장 cholesterol 농도는 cholesterol의 흡수, 생합성, 이화 및 배설, 조직으로의 분배 등 복합작용에 의해 결정된다. Chitin과 같이 체내에서 이용되지 못하는 식이섬유소 및 cholestyramine 등은 cholesterol의 흡수를 억제하고 이의 이화 및 배설을 촉진하는 효과가 있는 반면 cholesterol의 체내합성을 촉진시키는 보상기전을 활

성화시킨다(21,26). Chitin이 중성 steroid 배설을 증가시키면서도 혈장 cholesterol 수준에는 영향을 주지 못한 이번 결과는 chitin이 cholesterol 흡수를 감소시키고 동시에 체내 cholesterol 생합성의 촉진과 같은 보상기전을 활성화시키기 때문이라 추측되나 보다 명확한 이해를 위하여 좀더 연구가 필요하다.

혈장 중성지질 농도는 chitosan 섭취에 의하여는 영향을 받지 않은 반면 chitin 식이에 의하여 크게 감소되었다. 고중성지질혈증(hypertriglyceridemia)이 흡연, 당뇨, 비만, 고콜레스테롤혈증 등과 함께 동맥경화의 한 위험인자(1,27)라는 점을 볼 때 chitin이 동맥경화 지향성(atherogenic) 식이로 인한 hypertriglyceridemia를 개선시킨다는 것은 매우 흥미로운 결과이며, 이에 대한 기전 규명을 위한 연구가 요구된다.

요 약

계집질로부터 분리한 chitin과 chitosan이 식이성 고지혈증 흰쥐의 혈장과 간장 지질 및 중성 steroid와 담즙산의 배설에 미치는 영향을 측정하였다. Chitin 식이군은 control군에 비하여 식이섭취량이 유의하게 높았으나 체중증가와 식이효율은 차이를 보이지 않았다. Chitosan 식이군은 control군에 비하여 식이섭취량과 체중증가량이 낮았다. 간 중량은 식이 chitin과 chitosan 섭취에 의하여 감소되어 basal군과 유사한 중량을 보였다. Chitin 식이는 혈장 총 cholesterol, LDL-cholesterol 및 HDL-cholesterol에 큰 영향을 주지 않았으나 chitosan 식이는 혈장 총 cholesterol과 LDL-cholesterol을 감소시켰다. 혈장 중성지질 농도는 chitosan 급여에 의하여 영향을 받지 않은 반면 chitin 식이에 의하여 크게 감소하였다. Chitin 식이는 간장 cholesterol을 증가시킨 반면 중성지질과 인지질 함량에는 영향을 주지 않았으나, chitosan 식이는 간장 cholesterol과 중성지질 함량을 감소시켰다. Chitin과 chitosan 식이는 control 식이에 비하여 배변량을 현저히 증가시켰으며, chitin보다 chitosan에 의한 배변량의 증가가 더욱 컸다. Chitosan은 중성 steroid의 배설을 증가시켰으

나 산성 steroid의 배설에는 영향을 주지 않았고, chitin은 이들 중성 및 산성 steroid 배설에 큰 영향을 주지 않았다. 이상의 결과로 보아 chitosan은 cholesterol의 흡수를 저해함으로써 혈장 cholesterol을 감소시키는 것으로 사료되며, chitin에 의한 혈장 중성지질 감소는 그 원인 규명을 위해 앞으로 더 연구가 필요하다.

감사의 글

이 논문은 1997년도 순천대학교 공보과제 학술연구비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Carlson, L. A., Böttiger, L. E. and Åhfeldt, P.-E. : Risk factors for myocardial infarction in the Stockholm prospective study. *Acta Med. Scand.*, **206**, 351-360 (1979)
- Bough, W. A. and Landes, D. R. : Recovery and nutritional evaluation of proteinacious solids separated from whey by coagulation with chitosan. *J. Dairy Sci.*, **59**, 1874-1880(1976)
- Ahn, C. B. : Preparation and utilization of chitosan from crustacean shells. *Ph.D. Thesis*, National Fisheries University of Pusan(1989)
- Cho, J. S., Han, J. J. and Lee, C. H. : Physical properties of chitosan film made from crab shell. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **24**, 574-580(1992)
- Ryu, B. H. : Antitumor and immunologic activity of chitosan extracted from shell of shrimp. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **21**, 154-162(1992)
- Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., Fukuda, N. and Hasegawa, Y. : A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 787-793(1980)
- Chung, G. H., Kim, B. S., Hur, J. W. and Chung, S. Y. : Effect of dietary lobster shrimp chitosan on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemic rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **25**, 384-391(1996)
- Chang, H. J., Jeon, D. W. and Lee, S. R. : *In vitro* study on the functionality in digestive tract of chitin and chitosan from crab shell. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **26**, 348-354(1994)
- Burstein, M., Scholnick, H. R. and Morfin, R. : Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J. Lipid Res.*, **11**, 583-595(1970)
- Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., Richmond, W. and Fu, P. C. : Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.*, **20**, 470-475(1974)
- Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S. : A simplified method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509(1957)
- Miettinen, T. A., Ahrens, E. H. Jr. and Grundy, S. M. : Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total dietary and fecal neutral steroids. *J. Lipid Res.*, **6**, 411-424(1965)
- Grundy, S. M., Ahrens, E. H. Jr. and Miettinen, T. A. : Quantitative isolation and gas liquid chromatographic analysis of total fecal bile acids. *J. Lipid Res.*, **6**, 397-410(1965)
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. : *Principles and procedures of statistics-A biometrical approach*. 2nd ed., McGraw-Hill Book Co., New York, p.187(1980)
- Sugano, M., Watanabe, S., Kishi, A., Izume, M. and Ohtakara, A. : Hypocholesterolemic action of chitosan with different viscosity in rats. *Lipids*, **23**, 187-191 (1988)
- Razdan, A. and Pettersson, D. : Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. *Br. J. Nutr.*, **72**, 277-288(1994)
- Roads, G. C., Gulbrandsen, C. L. and Kagan, A. : Serum lipoproteins and coronary heart disease in a population of Hawaii Japanese men. *N. Eng. J. Med.*, **294**, 293-298(1976)
- Chen, W. J. L. and Anderson, J. W. : Effects of plant fiber in decreasing plasma total cholesterol and increasing high-density lipoprotein cholesterol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **162**, 310-313(1979)
- Park, J. R., Park, S. K., Cho, Y. S., Chun, S. S., Choi, S. H. and Park, J. C. : Effects of *Angelica keiskei* on lipid metabolism in rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **26**, 308-313(1995)
- Jennings, C. D., Boley, K., Bridges, S. R., Wood, P. J. and Anderson, J. W. : A comparison of the lipid-lowering and intestinal morphological effects of cholestyramine, chitosan, and oat gum in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **189**, 13-20(1988)
- LeHoux, J. G. and Grondin, F. : Some effects of chitosan on liver function in the rat. *Endocrinology*, **132**, 1078-1084(1993)
- Miura, T., Usami, M., Tsuura, Y., Ishida, H. and Seino, Y. : Hypoglycemic and hypolipidemic effect of chitosan in normal and neonatal streptozotocin-induced diabetic mice. *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1623-1625(1995)
- Vahouny, G. V., Sarchithanandam, S., Cassidy, M. M., Lightfoot, F. B. and Furda, I. : Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. *Am. J. Clin. Nutr.*, **38**, 278-284 (1983)
- Flourie, B., Vidon, N., Florent, C. H. and Bernier, J. J. : Effect of pectin on jejunal glucose absorption and unstirred layer thickness in normal man. *Gutt.*, **25**, 936-941(1984)
- Story, J. A. and Kritchevsky, D. : Comparison of the binding of various bile acids and bile salts *in vitro* by several types of fiber. *J. Nutr.*, **106**, 1292-1294(1976)
- Endo, A. : The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J. Lipid Res.*, **33**, 1569-1582 (1992)
- Böttiger, L. E. and Carlson, L. A. : Risk factor for ischemic vascular death for men in the Stockholm prospective study. *Atherosclerosis*, **36**, 389-408(1980)