

## *Escherichia coli* O157 : H7, *Staphylococcus aureus* 및 *Candida albicans*에 대한 키토산의 항균 효과

오세욱 · 홍상필 · 김현정 · 최용진\*  
한국식품개발연구원, \*고려대학교 생명공학원

### Antimicrobial Effects of Chitosans on *Escherichia coli* O157 : H7, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*

Se-Wook Oh, Sang-Pill Hong, Hyun-Jung Kim and Yong-Jin Choi\*  
Korea Food Research Institute,  
\*Graduate School of Biotechnology, Korea University

#### Abstracts

The antimicrobial activities of chitosan oligosaccharide(chitohexaose) and two types of chitosans(M.W. 10,000 and M.W. 100,000) were examined against *Escherichia coli* O157 : H7(ATCC 43894), *Staphylococcus aureus*(ATCC 144458) and *Candida albicans*(KFRI 432). Chitosan with molecular weight of 10,000 showed the strongest antimicrobial activities to *E. coli* O157 : H7 and *S. aureus*, whereas chitohexaose acted most strongly against *C. albicans*. The most effective concentration of chitosan was measured to be 0.1 mg/mL for *E. coli* O157 : H7 and *S. aureus*, and that of chitohexaose to be 1 mg/mL for *C. albicans*. Antimicrobial activities of chitosans and chitohexaose were maintained for 60 min after their treatment. They were found to induce leakage of intracellular proteins and nucleic acids from treated microorganisms. The efflux determined by assaying the  $\beta$ -galactosidase leaked from the lactose-induced *E. coli* O157 : H7 cells was observed to reach the highest level within 60 min after treatment with the antimicrobial agents and chitosan with 10,000 molecular weight gave the highest  $\beta$ -galactosidase activity. Therefore, it is supposed that the antimicrobial activity of chitosan with its unique polycationic nature might be caused by its binding to anionic component(s) of the cell envelope and thereby inhibiting the membrane metabolism and/or leaking intracellular materials.

key words : antimicrobial activity, chitosan oligosaccharide, chitosan

#### 서 론

생활수준이 향상됨에 따라 보다 신선하며 방부제가 함유되어 있지 않는 식품에 대한 소비자의 선호도가 증가함으로써 최소 가공된 냉장식품의 유통이 증가하고 있으며 유통중 미생물적 안전성을 확보하기 위한 수단으로 천연항균물질에 대한 관심이 높아지고 있다<sup>(1)</sup>.

키토산(poly- $\beta$ -D-glucosamine)은 자연계에 풍부하게 존재하는 천연고분자인 키틴(poly- $\beta$ -D-acetylglucosamine)을 탈아세틸화하여 얻을 수 있는 biopolymer로서 고밀도의 양전하를 띤 선형의 polyelectrolyte 구조를 이루고 있으며 그 물리화학적 특성에 의하여 항종양활성,

면역부활작용, 항암작용, 항콜레스테롤작용, 항고혈압 작용, 항균활성 등 매우 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다<sup>(2-6)</sup>.

특히, 키토산의 항균활성은, 다양한 균주에 대하여 항균 활성을 나타내며 또한 인체에 무해하기 때문에 식품에 사용가능한 항미생물제제로서의 이용가치가 클 것으로 평가되고 있으며 실제로 키토산을 식품에 적용하여 저장성 연장 효과를 얻고 있다<sup>(7-9)</sup>.

Kendra 등<sup>(10)</sup>은 키토산이 0.1% 범위의 농도에서 *Fusarium solani*과 *Fusarium oxysporum* 등 식물병원균에 대하여 항균력을 보이며 또한 항균력은 탈아세틸화도가 높을수록 강하다고 하였으며, 또한 조<sup>(11)</sup>는 대장균에 대한 키토산의 항균실험 결과 분자량 10,000~40,000 범위의 저분자 키토산의 항균활성이 가장 강하였다고 하여 키토산의 탈아세틸화도 및 분자량이 항

Corresponding author : Se-Wook Oh, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Kyonggi-do 463-420, Korea

균활성과 밀접한 관계가 있음을 시사하였다.

한편, 키토산의 항균 작용은 세포표면의 음전하를 띠고 있는 macromolecule과 chitosan이 결합하여 세포의 막활성을 저해하여 미생물을 사멸시킨다는 주장<sup>(12)</sup>과 키토산이 미생물의 DNA와 결합하여 mRNA 형성과 단백질 형성을 저해한다는 주장<sup>(13)</sup>이 있으나 두 가지 가설 모두 키토산의 양이온성 성질에 의한 물리적인 결합을 그 기반으로 하고 있다. 그러나, 균종에 따라 다양한 세포벽의 물리화학적 구조를 가지는 미생물의 특성과 분자량에 따라 항균력이 다른 키토산의 특성을 접목한 연구는 보고 되어 있지 않았다.

따라서, 본 실험에서는 분자량이 확연히 다른 3종의 키토산을 이용하여 식중독 유발세균중 Gram negative인 *Escherichia coli* O157:H7과 Gram positive인 *Staphylococcus aureus*, 그리고 candidiasis를 발병시키는 균으로 알려져 있는 진균류의 일종인 *Candida albicans*에 대한 항균 효과를 분석하여 키토산이 미생물의 세포벽에 미치는 영향을 검토하여 항균기작을 고찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 키토산 올리고당은 키토산 6량체(chitohexaose hydrochloride)를 일본의 Wako chemical에서 구입하여 사용하였으며 그 이외의 키토산은 Hackman 방법<sup>(14)</sup>을 부분 수정하여 제조하였다. 즉, 홍게다리부의 껍질을 분쇄한 후 이를 3% 염산으로 처리하여 키토산을 얻었고 이를 50% NaOH로 처리, 탈아세틸화하여 키토산을 얻었다. 탈아세틸화도는 99% 이상 이 될 때까지 공정을 반복하여 조정하였다.

항균활성을 측정하기 위한 균주로는 *E. coli* O157:H7(ATCC 43894), *S. aureus*(ATCC 144458)와 *C. albicans*(KFRI 432)를 대상균주로 하였으며 균체의 생육배지로는 Nutrient broth, Tryptic soy broth와 YM broth를 각각 사용하였다.

### 항균력 측정

각각의 생육배지를 이용하여 균주를 배양한 후 원심분리(3,000×g, 10분)하여 균체를 회수하였으며 여기에 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)를 이용하여 colony수가 mL당 10<sup>8</sup> 정도가 되게 희석하였다. 균수 희석액 10 mL에 0.02 mg/mL, 0.2 mg/mL 및 2 mg/mL의 농도로 조정된 키토산 용액을 10 mL 첨가한 후 30°C에서 orbital shaker(200 rpm)을 이용하여 진탕

하였으며 일정시간 마다 시료를 취하여 poured plate method에 의하여 생존균수를 측정하였다. 키토산을 첨가하지 않은 대조군도 동시에 실험을 실시하여 측정된 데이터를 보정하였다.

### 단백질과 핵산의 유출량 측정

항균력 측정시 취한 시료를 원심분리(12,000×g, 20분)하여 키토산 처리에 의해 사멸되었거나 세포막이 파괴된 미생물에서 유래한 단백질 및 핵산이 포함된 상등액을 얻었으며 단백질과 핵산의 농도는 각각 280 nm와 260 nm에서 흡광도로 측정하였다. 단백질 농도의 경우 bovine serum albumin을 표준단백질로 하여 환산하였다.

### β-galactosidase 활성 측정

*E. coli* O157:H7을 Lactose media(Difco)에 배양하였으며 배양후 원심분리(3,000×g, 10분)하여 균체를 회수한 다음 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 5.8)를 이용하여 희석한 후 키토산 용액에 혼합하여 일정시간 반응시킨 후 원심분리(12,000×g, 20분)하여 상등액을 취하였으며 1 mM O-nitrophenol-β-D-galactopyranoside(ONPG) 용액을 사용하여 측정하였다.

### Damaged(leaked) cell number 측정

*S. aureus*의 damaged(leaked) cell number는 Tryptic soy agar(TSA) 및 NaCl이 7.5% 함유된 Tryptic soy agar(TSAS)에 동시에 분주하여 배양후 형성되는 colony 수의 차이로 측정하였다.

### Ca<sup>2+</sup> 측정

*E. coli* O157:H7, *S. aureus*와 *C. albicans*의 배양액에 키토산(M.W. 10,000)을 1 mg/mL의 농도가 되도록 하여 일정시간 진탕 후 원심분리(12,000×g, 10분)하고 상등액을 취하여 0.45 μm membrane filter를 이용하여 여과하였다. 여과한 액을 ICP-AES(Inductively coupled plasma atomic emission spectrophotometer, Jovin Yvon JY 138 Plus, France)로 분석하였다. 표준 물질로는 ICP-AES용 Ca를 0.1, 1, 10 ppm으로 조제하여 3점을 이용한 검량곡선을 작성하였으며 393.366 nm에서 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 실험에 사용된 키토산의 특성

본 실험에 사용된 키토산에 대한 특성을 Table 1에

**Table 1. Characterization of chitosan samples and chitosan oligosaccharide**

Samples	Molecular weight <sup>1)</sup>	DA <sup>2)</sup>
Chitosan oligosaccharide	1,000 dalton	100
Low molecular weight Chitosan	10,000 dalton	99
High molecular weight Chitosan	100,000 dalton	99

<sup>1)</sup>Measured by Gel Permeation Chromatography

<sup>2)</sup>Degree of deacetylation(%)

나타내었다. 키토산 올리고당은 glucosamine 6량체를 구입하여 사용하였으며, 분자량 10,000, 100,000인 키토산은 실험실에서 제조하여 사용하였다.

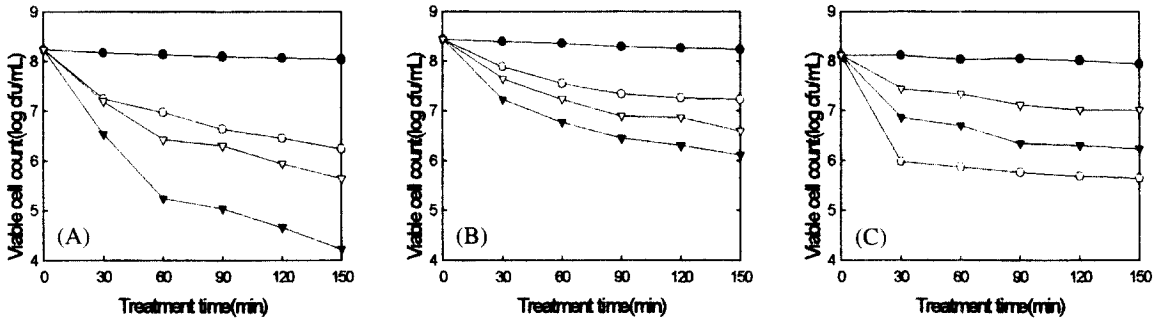
**분자량에 따른 키토산의 항균력**

키토산 분자량에 따른 *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *C. albicans*에 대한 항균특성을 고찰하기 위하여 키토산 올리고당 및 분자량이 10,000과 100,000인 두 종류의 키토산을 0.1 mg/mL의 농도로 첨가하여 시간 경과에 따른 생존균수를 측정하였다(Fig. 1). 처리구중 분

자량이 10,000인 키토산 처리구에서 4 log cycle의 균수가 감소하여 가장 높은 항균활성을 나타내었으며, 키토산 올리고당은 2 log 정도의 균수 감소가 있는 것으로 측정되어 처리구중 가장 낮은 항균활성을 보였다.

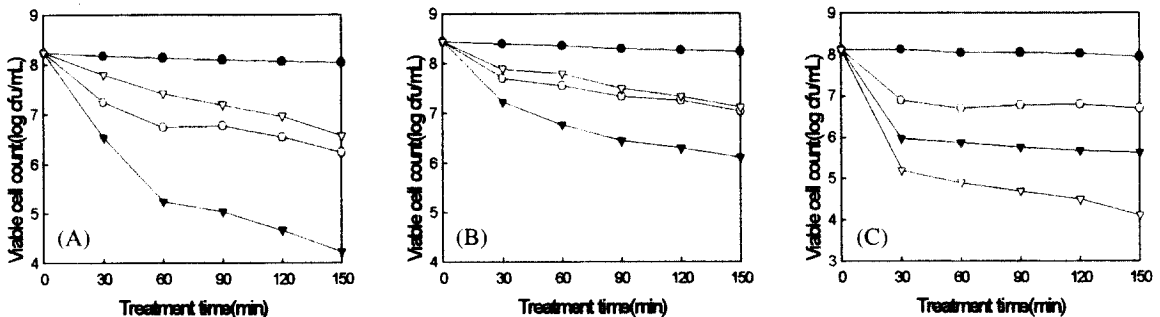
*S. aureus*의 경우도 *E. coli* O157:H7와 거의 유사한 경향을 나타내어 분자량이 10,000인 키토산이 가장 높은 항균활성을 나타내는 것으로 측정되었다. 그러나 *S. aureus*에 대한 키토산의 항균활성은 *E. coli* O157:H7에 비하여 전반적으로 낮게 나타났으며 가장 항균활성이 우수하다고 판단된 분자량 10,000인 키토산의 경우 2 log 정도로 균수가 감소하는 것으로 나타났다.

*C. albicans*에 대한 키토산의 항균력은 위에 기술한 두 종의 균에 비하여 다소 다른 양상을 나타내었다. 분자량이 10,000인 키토산 보다 분자량이 약 10배 작은 키토산 올리고당이 가장 강한 활성을 나타내었다. 이는 *C. albicans*의 경우 진균류에 속하므로 *E. coli*나 *S. aureus*와는 서로 다른 세포벽 구조를 가지기 때문으로 생각되었다. 또한 본 결과는 7개 이상의



**Fig. 1. Antimicrobial activities of chitosans(0.1 mg/mL) and chitosan oligosaccharide(0.1 mg/mL) on *E. coli* O157:H7, *S. aureus* and *C. albicans* according to molecular weight.**

(A) *E. coli* O157:H7, (B) *S. aureus*, (C) *C. albicans*. ● - ●: Control, ○ - ○: chitosan oligosaccharide(6 mer), ▼ - ▼: M.W. 10,000 chitosan, ▽ - ▽: M.W. 100,000 chitosan



**Fig. 2. Antimicrobial activities of chitosan and chitosan oligosaccharide on *E. coli* O157:H7, *S. aureus* and *C. albicans* according to concentration.**

(A) *E. coli* O157:H7 with M.W. 10,000 chitosan, (B) *S. aureus* with M.W. 12,000 chitosan (C) *C. albicans* with chitosan oligosaccharide. ● - ●: Control, ○ - ○: 0.01 mg/mL, ▼ - ▼: 0.1 mg/mL, ▽ - ▽: 1 mg/mL

glucosamine으로 이루어진 키토산 올리고당이 가장 높은 항진균활성과 pisatin 유도활성을 나타내었다는 Kendra 등<sup>(10)</sup>의 보고와 유사하였다. 한편, Sudarshan 등<sup>(15)</sup>은 키토산의 양이온성 아미노기가 미생물 세포벽과 결합함으로써 세포막의 투과성을 증대시켜 항균활성이 나타난다고 보고하여 본 실험에서 나타나는 키토산 분자량에 따른 서로 다른 항균활성은 미생물의 고유의 세포벽의 구조 및 음이온성 성분의 특성 차이에서 기인하였다고 사료되었다.

키토산 첨가농도에 따른 항균력

키토산 첨가농도에 따른 *E. coli* O157:H7, *S. aureus*와 *C. albicans*에 대한 항균활성을 파악하기 위하여 *E. coli* O157:H7과 *S. aureus*의 경우 가장 항균활성이 높게 나타난 분자량 10,000인 키토산을, *C. albicans*의 경우에는 키토산 올리고당(분자량 1,000)을 0.01, 0.1 및 1 mg/mL의 수준으로 첨가하여 시간에 따른 미생물의 생존균수를 측정하였다(Fig. 2).

*E. coli* O157:H7 및 *S. aureus*에 대한 항균력은 첨가된 키토산 농도가 0.1 mg/mL일 경우 가장 높은 항균활성을 나타내었으며 키토산 농도 1 mg/mL로 10배 증가시켰을 경우에는 오히려 감소하는 특성을 나타내었다. Sudarshan 등<sup>(15)</sup>은 첨가되는 키토산에 의해 균주의 응집이 많이 발생할수록 항균력이 크게 나타난다고 하였는데 1 mg/mL 키토산 처리구의 경우 미생물 세포벽과 결합한 키토산 농도가 증가함으로 인해 미생물 사이의 반발력이 발생하여 균주의 응집현상이 방해되었기 때문으로 생각되었다.

반면, *C. albicans*의 경우는 키토산 농도가 증가할수록 항균활성이 우수한 것으로 나타났으며 키토산 올리고당의 경우 균수 감소 1 log 수준의 미약한 항균활성을 나타내었다. 키토산 처리후 60분을 기준으로 균

**Table 2. Velocity of viable cell count reduction by chitosan(M.W. 10,000, *E. coli* O157:H7 and *S. aureus*) and chitosan oligosaccharide(M.W. 1,000, *C. albicans*)**

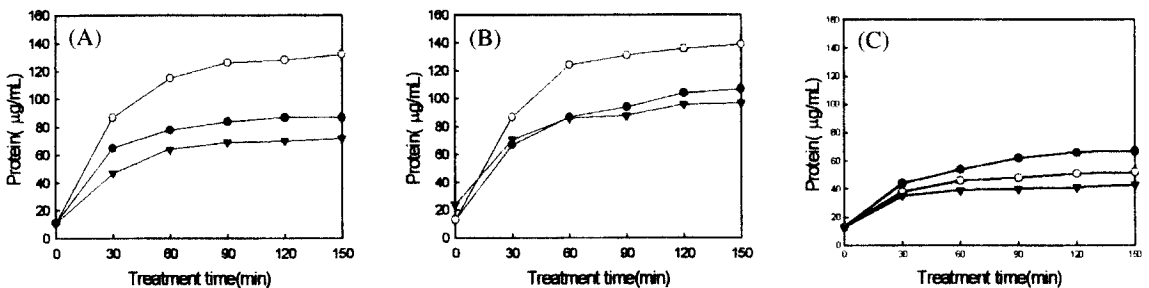
Sample	<i>M/O E. coli</i> O157:H7		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
	0~60	60~150	0~60	60~150	0~60	60~150
Control	-0.055 <sup>1)</sup>	-0.033	-0.045	-0.039	-0.032	-0.045
0.01 mg/mL	-0.745	-0.176	-0.445	-0.164	0.002	-0.712
0.1 mg/mL	-1.540	-0.354	-0.835	-0.213	-0.077	-1.125
1 mg/mL	-0.421	-0.278	-0.325	-0.220	-0.254	-1.614

<sup>1)</sup>Δ(log CFU/mL)/Δtime

사멸 속도를 측정하여 Table 2에 나타내었다. *E. coli* O157:H7의 경우 키토산 올리고당 처리구는 -0.745에서 -0.176으로, 분자량 10,000인 키토산 처리구는 -1.540에서 -0.354로, 분자량 100,000인 키토산 처리구는 -0.421에서 -0.278로 급격히 둔화되는 경향을 나타내었고 이 경향은 *S. aureus*과 *C. albicans*에서도 유사하였다. 이상의 결과는 키토산의 항균활성 발현이 양이온성 성질에 기인하기 때문에 키토산 첨가 초기에 결합된 키토산이 세포사멸 후에도 계속적으로 세포벽에 결합되어 있어 항균활성 반응에 참여할 수 있는 키토산 분자수가 감소하기 때문으로 추정되었다.

키토산 처리에 따른 단백질 및 핵산의 균체외 유출 효과

*E. coli* O157:H7, *S. aureus*와 *C. albicans*에 대하여 분자량 10,000인 키토산을 0.1 mg/mL 농도로 첨가하여 280 nm에서 시간에 따라 흡광도를 측정하였으며, 이를 bovine serum albumin을 표준단백질로 하여 단백질 농도를 계산하였으며 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 세가지 처리구 모두 키토산에 대한 반응시간이 길어짐에 따라 세포 밖으로 유출된 단백질 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 모든 처리구에서 반



**Fig. 3. Concentration of proteins in supernatant from chitosan or chitosan oligosaccharide treated *E. coli* O157:H7, *S. aureus* and *C. albicans*.**

(A) *E. coli* O157:H7, (B) *S. aureus*, (C) *C. albicans*. ● - ● : chitosan oligosaccharide, ○ - ○ : M.W. 10,000 chitosan, ▼ - ▼ : M.W. 100,000 chitosan

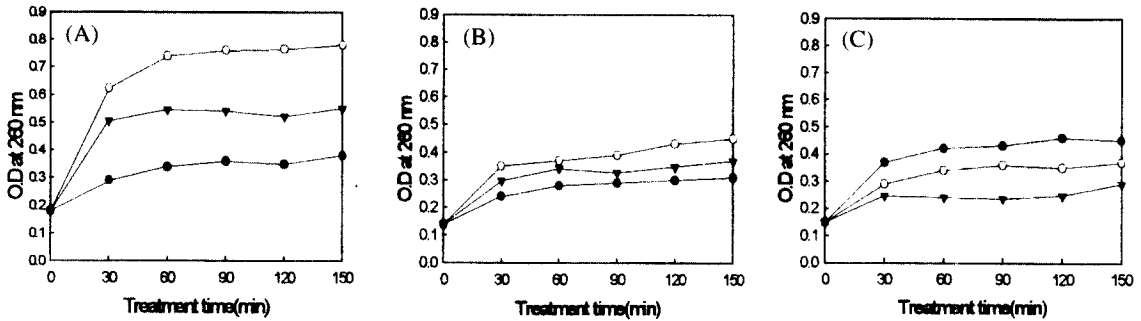


Fig. 4. Concentration of UV adsorbing materials at 260 nm in supernatant from chitosan or chitosan oligosaccharide treated *E. coli* O157 : H7, *S. aureus* and *C. albicans*.

(A) *E. coli* O157 : H7, (B) *S. aureus*, (C) *C. albicans*. ● - ● : chitosan oligosaccharide, ○ - ○ : M.W. 10,000 chitosan, ▼ - ▼ : M.W. 100,000 chitosan

응 1시간 까지의 유출된 단백질량이 가장 많은 것으로 측정되었다.

*E. coli* O157 : H7 및 *S. aureus*에 대한 단백질 유출량은 분자량이 10,000인 키토산을 처리하였을 경우 가장 높은 단백질 유출량을 나타내었으며 분자량이 100,000인 키토산이 그 다음으로 높은 단백질 유출량을 나타내었다. 그러나 *C. albicans*의 경우 키토산 올리고당을 처리하였을 경우 가장 높은 단백질 유출량을 나타내어 *E. coli* O157 : H7와 *S. aureus*의 경우와는 상이한 결과를 나타내었다.

한편, Fig. 4에는 세 종류의 미생물에 대하여 키토산(분자량 10,000)을 0.1 mg/mL의 농도로 처리한 후 핵산관련물질으로 추정되는 260 nm에서의 흡광도를 측정된 결과로 세 종류 미생물 모두 반응 1시간 이내에 가장 많은 핵산관련물질 유출량을 나타내었으며 이 결과는 Fig. 3의 단백질 유출 경향과 거의 유사하므로 키토산에 의하여 세포내 단백질 및 핵산물질의 유출이 동시에 일어났음을 알 수 있었다. 한편, 젖산균에서 생산되는 bacteriocin 및 자연계에 존재하는 colicins, defensins 등의 항균단백질은 보편적으로 cationic 한 성질 및 amphiphilic한 성질을 가지고 있어 cell membrane에 binding/penetration 되어 항균활성을 나타내는 것으로 보고하고 있다<sup>(16)</sup>. 키토산도 상기의 항균물질과 유사한 cationic 성질을 가지고 있으므로 키토산의 항균활성 역시 이들의 항균 기작과 유사할 것으로 추정되었다.

한편, lactose 배지를 이용하여  $\beta$ -galactose를 induction 시킨 *E. coli* O157 : H7에 대하여 분자량이 다른 키토산을 0.1 mg/mL의 농도로 첨가한 후 30분, 60분 경과후의  $\beta$ -galactosidase 함량을 측정된 결과, 분자량 10,000인 키토산을 처리하였을 경우 가장 높은

$\beta$ -galactosidase 활성을 나타내고 있어 키토산 처리에 의한 항균활성의 크기나 강도는 단백질의 유출량과 깊은 관련이 있음을 확인 할 수 있었다(Fig. 5).

#### 키토산의 세포막 손상 효과

본 실험에서 사용된 키토산 중 가장 항균활성이 우수하다고 판단된 분자량 10,000인 키토산의 세포 손상 효과를 파악하기 위하여 0.1 mg/mL의 농도로 처리한 후 세포벽(세포막)에 damage가 발생한 *S. aureus*의 생존균수를 측정하였다(Fig. 6). 그 결과, NaCl을 첨가하지 않은 배지(TSA)에서 측정된 균수에 비하여 NaCl을 첨가하여 제조된 배지(TSAS)에서 측정된 균수가 대조구 대비 1/10 이하를 나타내었다. 이로써, 키토산이 세포막의 damage를 유발시켜 세포 내부 물질의 efflux가

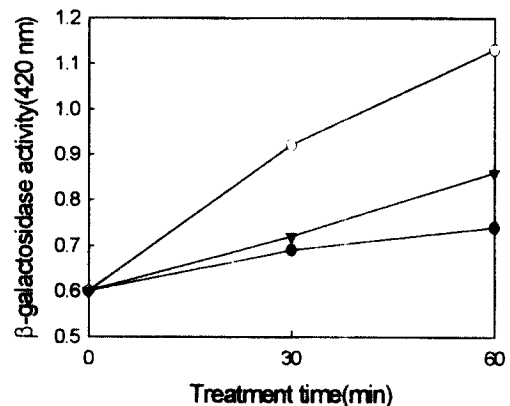


Fig. 5.  $\beta$ -galactosidase activities from supernatant of lactose-induced *E. coli* O157 : H7 cell suspensions treated with chitosan oligosaccharide and chitosans.

● - ● : chitosan oligosaccharide, ○ - ○ : M.W. 10,000 chitosan, ▼ - ▼ : M.W. 100,000 chitosan

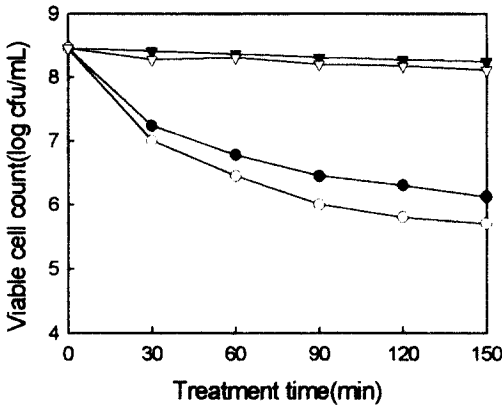


Fig. 6. Assessment of injury to *S. aureus* treated with chitosan(M.W. 10,000) by plate counting on Tryptic soy agar(TSA) and Tryptic soy agar with 7.5% sodium chloride(TSAS).

● - ● : plate count on Tryptic soy agar(chitosan treated), ○ - ○ : plate count on Tryptic soy agar with 7.0% sodium chloride(chitosan treated), ▼ - ▼ : control on Tryptic soy agar, ▽ - ▽ : control on Tryptic soy agar with 7.0% sodium chloride.

발생했음을 시사하고 있으며 또한 단백질과 핵산의 유출량이 반응 1 시간 이내에 최대로 측정된 Fig. 3과 Fig. 4 결과와 함께 고찰해 볼 때 키토산의 항균력은 미생물의 세포막 손상에 의한 것으로 생각되었다.

키토산 처리에 따른 세포벽의 Ca<sup>2+</sup> 유리 효과

키토산을 1 mg/mL 농도로 *S. aureus*에 대하여 처리하고 30분, 60분 경과시의 칼슘 함량을 ICP로 측정하여 그 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 키토산 처리 직후의 칼슘은 25.08 ng/mL로 측정되었으며 시간이 경과함에 따라 급속히 증가하는 경향이었고 분자량 10,000인 키토산을 처리한 처리구의 칼슘 농도가 가장 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 세포벽에 주요 구성 성분인 teichoic acid와 키토산이 결합함으로써 Ca<sup>2+</sup>의 해리를 유발한다는 황 등<sup>(17)</sup>의 결과와 유사한 경향이 있었다. 한편, Inukai 등<sup>(18)</sup>은 *Bacillus* spore에 존재하는 Ca<sup>2+</sup>와 Mg<sup>2+</sup>를 chelating agent로 처리하였을 경우 해리되었다고 하였다. 따라서 키토산은 미생물 세포벽에 물리적으로 결합하여 세포벽 구조를 변형, 손상시켜 항균력이 나타나는 것으로 생각되었다.

이상과 같이, 균종에 따라 항균활성이 강하게 나타나는 키토산 분자량 및 첨가량이 서로 상이한 것은 미생물에 따라 서로 다른 세포벽의 물리화학적 구조를 가지고 있기 때문으로 생각되었다. 키토산 처리 후 세포로부터 단백질, 핵산관련 물질 및 Ca<sup>2+</sup>이 유출되었

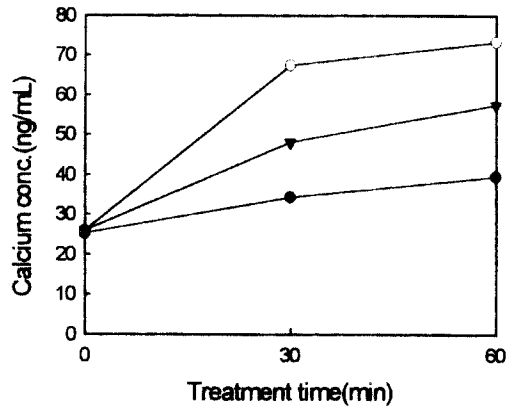


Fig. 7. Concentration of Ca<sup>2+</sup> ions from the supernatant of chitosan treated *S. aureus* cell suspensions for 30 and 60 min.

● - ● : chitosan oligosaccharide ○ - ○ : M.W. 10,000 chitosan, ▼ - ▼ : M.W. 100,000 chitosan

으며 또한 NaCl이 첨가된 배지에서 생존하지 못하는 균주가 존재한다는 사실은 키토산의 항균작용은 미생물의 세포벽 및 세포막의 rigidity와 stability를 낮춰서 결과적으로 bacteriocidal한 효과가 나타나는 것으로 생각되었다. 또한 항균활성이 60분 이내에 높게 나타난 것은 키토산이 항균작용을 일으킨 물질에 계속적으로 결합되어 있음을 시사해 준다. 따라서 키토산의 항균 효과는 생화학적 기작 이라기 보다는 분자고유의 cationic한 특성에 의한 흡착, 결합 등 물리적인 방법에 의하여 세포벽에 결합, damage를 유발하여 세포내 물질의 유출, 세포막 대사저해 등의 기작으로 항균활성을 나타내는 것으로 사료되었다.

요 약

분자량이 상이한 세 종류의 키토산의 항균활성을 *E. coli* O157:H7, *S. aureus* 및 *C. albicans* 균주를 이용하여 측정, 분석하였다. *E. coli* O157:H7와 *S. aureus*에 대해서는 분자량 10,000인 키토산이 가장 강한 항균활성을 보였으며 *C. albicans*에 대해서는 6량체의 키토산 올리고당이 가장 강한 활성을 나타내었다. 키토산 첨가농도는 *E. coli* O157:H7와 *S. aureus*의 경우 0.1 mg/mL의 농도에서, *C. albicans*의 경우는 chito-hexaose 1 mg/mL의 농도에서 항균활성이 가장 높았다. 모든 키토산 처리구에서 미생물 사멸 속도는 키토산 처리 1시간 이내에 가장 높게 나타났으며 그 이후로는 점차 낮은 속도를 보였다. 사멸되었거나 파손된 미생물 세포로부터 유래되는 단백질, 핵산물질 및

Ca<sup>2+</sup>의량은 키토산 처리 1시간 이내에 가장 많았으며 β-galactosidase 활성도 같은 시간대에서 가장 빠른 속도로 증대되는 것으로 나타났다.

*S. aureus*에 대한 세포막 손상 정도를 측정하여 본 결과 전체 미생물균체중 약 10%에 상당하는 균수가 막손상을 가져 왔다. 따라서, 키토산은 고유의 양이온성 성질을 이용하여 미생물의 세포벽과 세포막에 결합하여 그 결과로 세포 내 물질의 세포 외로의 유출 내지는 세포막 대사의 저해 등의 효과를 나타냄으로써 항균활성을 나타내는 것으로 추측되었다.

## 문 헌

- Harris, L.J., Daeschel, M.A., Stiles, M.E. and Klaenhammer, T.R. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 52: 384-387 (1989)
- Toroko, A., Tatewaki, N., Suzuki, K., Mikami, T., Suzuki, S. and Suzuki, M. Growth-inhibitory effect of hexa-N-acetylchitohexaose against Meth-A solid tumor. Chem. Pharm. Bull. 36: 784-790 (1988)
- Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Saiki, L., Tokura, S. and Azuma, I. Immunological activity of chitin and its derivatives. Vaccine 2: 93-99 (1984)
- Hong, S.P., Kim, M.H., Oh, S.W., Han, C.K. and Kim, Y.H. ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitosan oligosaccharides in SHR. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1476-1479 (1998)
- Kim, M. H., Oh, S.W., Hong, S.P. and Yoon, S.K. Antimicrobial characteristics of chitosan and chitosan oligosaccharides on the microorganisms related to *kimchi*. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1439-1447 (1998)
- Tokoro, A., Kobayashi, M., Tatewaki, N., Suzuki, K., Okawa, Y., Mikami, T., Suzuki, S. and Suzuki, M. Protective effect of N-acetyl chitohexaose on *Listeria monocytogenes* infection in mice. Microbiol. Immunol. 33: 357-367 (1989)
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V. and You, J.J. Food applications of chitin and chitosans. Trends Food Sci. Technol. 10: 37-51 (1999)
- Park, S.M., Youn, S.K., Kim, H.J. and Ahn, D.H. Studies on the improvement of storage property in meat sausage using chitosan. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 167-171 (1999)
- Chun, K.H., Kim, B.Y. and Hahm, Y.T. Extension of tofu shelf-life with water soluble degraded chitosan as a coagulant. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 161-166 (1999)
- Kendra, D.F., Christian, D. and Hadwiger, L.A. Chitosan oligomers from *Fusarium solani*/pea interactions. chitinase/β-glucanase digestion of sporelings and from fungal wall chitin activity inhibit fungal growth and enhance disease resistance. Physiol. Mol. Plant Pathol. 35: 215-230 (1989)
- Jo, H.L. Antimicrobial activity and food preservative function of a low molecular weight chitosan. Ph.D. thesis, Pusan National Fisheries Univ., Pusan, Korea (1989)
- Young, D.H., Kohle, H. and Kauss, H. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension-cultured *Glycine max* and *Phaseolus vulgaris* cells. Plant Physiol. 70: 1449-1454 (1982)
- Hadwiger, L.A., Kendra, D.F., Fristensky, B.W. and Wagoner, W. Chitosan both activates genes in plants and inhibits RNA synthesis in fungi. pp. 210. In: Chitin in nature and technology. Muzzarelli, R.A.A., Jeuniaux, C., Gooday, C. (eds). Academic Press, New York, USA (1985)
- Hackman, R.H. Studies on chitin 1. Enzymic degradation of chitin and chitosan esters. Austr. J. Biol. Sci. 1: 168-171 (1954)
- Sudarshan, N.R., Hoover, D.G. and Knorr, D. Antibacterial action of chitosan. Food Biotechnol. 6: 257-272 (1992)
- Montville, T.J. and Bruno, M.E.C. Evidence that dissipation of proton motive force is a common mechanism of action for bacteriocins and other antimicrobial proteins. Int J. Food Microbiol. 24: 53-74 (1994)
- Hwang, J.K., Kim, H.J., Shim, J.S. and Pyun, Y.R. Bacteriocidal activity of chitosan on *Streptococcus mutans*. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 522-526 (1999)
- Inukai, S., Kikuchi, J. and Watanabe, T. Release of divalent cations from *Bacillus* spores treated with sodium citrate. Food and Sanitation 25: 132-136 (1983)

(1999년 11월 10일 접수)