

저장기간에 따른 키토산 급여 돈육의 지방 산화, 지방산 조성 및 혈액성상에 미치는 영향

이재룡 · 주선태 · 이정일 · 하경희 · 박구부
경상대학교 축산학과

Effects of Dietary Chitosan on Lipid Oxidation, Fatty Acid Composition, Blood Profile of Pork Meat during Storage Periods

J. R. Lee, S. T. Joo, J. I. Lee, K. H. Hah and G. B. Park

Department of Animal Science, Gyeongsang National University

Abstract

The effects of dietary chitosan on lipid oxidation, fatty acid composition and blood profile of porks were investigated. A total 24 pigs(55 ± 5kg) were fed a control diet (a commercial diet) or chitosan-supplemented diets (T1; 0.2% chitosan, T2; 0.4% chitosan, T3; 0.6% chitosan) for 6 weeks. After six weeks, pigs were slaughtered and bellies were collected from each treatment group. Samples were stored at 0±1°C for 14 days. The thiobarbituric acid reaction substance(TBARS) values of all the treatments increased until 7days of storage. The fatty acid and crude fat composition of all the treatments were not changed during storage significantly. The total cholesterol and triglyceride in blood chemistry tend to lower chitosan supplemented groups then control group

Key words : chitosan, TBARS, fatty acid, HDL-cholesterol, triglyceride.

서 론

세계무역이 WTO의 체제로 이행됨에 따라 급증하는 농축산물의 수입에 대응하기 위해서는 고품질 고부가가치를 갖는 농·축·수산물의 생산이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 또한 건강에 대한 국민의 관심이 증가되므로 고혈압, 심장병, 당뇨병과 같은 만성 퇴행성 성인 질환에 대한 위험 인식의 확산으로 육류 식품의 소비를 줄이는 대신에 식품의 생체 기능성을 강조한 건강식품의 소비가 증대되고 있는 실정이다.

근래에 들어와 식품신소재로 관심이 집중되고 있는 키토산은 2-amino-2-deoxy-D-glucose가 β-1,4 결합을 한 다당류로서 키틴을 탈아세틸화하여 얻게 되는 동물성 식이 섬유질 일종이다. 키토산은 키틴과 미이용 천연자원으로

주목받아 의약품, 화장품, 공업용 및 식품용 소재로 이용하고자 하는 연구가 시도되어 왔다. 식품분야에서는 키토산이 항암성⁽¹⁾, 보수성⁽²⁾, 유화안정성⁽³⁾, 콜레스테롤 저하⁽⁴⁾ 등 다양한 생리활성을 가진다는 연구 결과들이 보고되면서 그 이용 가능성에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 또한 키토산의 급여가 혈장 콜레스테롤의 농도를 감소시키는 물론, 간 속의 콜레스테롤 및 중성지방의 농도를 유의하게 감소시키는 보고하였다⁽⁵⁾.

최근 김 등⁽⁶⁾은 키토산을 분말형태로 사료에 첨가 급여하였을 때 육의 연도가 개선된다고 보고하였으나 육품질에 미치는 효과에 종합적인 연구는 아직 미흡한 실정므로 본 연구에서는 돼지에게 키토산을 급여한 후 저장기간에 따른 지방 산화, 지방산 조성, 혈액 성상에 미치는 영향을 구명함으로써 기능성 돈육 생산 가능성을 알아보려고 한다.

Corresponding author : Jae-Ryung Lee, Dept. of Animal Science, Gyeongsang National Uni., Chinju 660-701, Korea.

재료 및 방법

공시동물, 급여사료 및 사양방법

3월 교잡종(Landrace × Yorkshire × Duroc)인 90일령(생체중 55kg 전후) 전후의 비육돈 24두를 시험동물로 하였으며, 실험돈에 급여된 사료는 비육후기 사료로써 시중에서 구입하여 급여하였다.

키토산은 K(주)에서 구입하였으며, 사료배합은 농장에서 자체 혼합하여 사용하였다.

사양은 비육돈 24두를 동일한 환경조건에서 비육후기 6주간 대조구(비육후기사료)와 시험구(키토산 첨가 : 0.2, 0.4, 0.6%)로 나누어 각 처리구당 6두씩 일반개방돈사에서 사양하였으며, 사료급여는 자유급식하였다.

시험방법

1) 시험구 설정

대조구와 처리구는 B등급을 판정 받은 개체를 각각 공시하였으며, sampling은 2분 도체로 나눈 후 삼겹살 부위를 500g씩 합기포장(wrap)하여 냉장온도(0±1°C)에서 1, 7, 14일 저장하면서 지방산화, 지방산 조성 및 혈액성상의 변화를 조사하였다.

2) 조사항목

(1) 지방산패도(TBARS)

신선육의 산화 정도는 시료 5g에 butylated hydroxytoluene (BHT) 50 µl와 증류수 15ml를 가해 polytron homogenizer(MSE, U. S. A)로 14,000 rpm에서 30초간 균질화시킨 후 균질액 1ml를 시험관에 넣고 여기에 2ml thiobarbituric acid(TBA)/trichloroacetic acid(TCA) 혼합용액(100ml에 0.2883g의 TBA와 750ml에 150g의 TCA)을 넣어 완전히 혼합한 다음, 90°C의 항온수조에서 15분간 열처리한 후 냉각시켜 3,000rpm에서 10분간 원심분리시켰다. 원심분리한 sample의 상층액을 회수한 후 spectrophotometer를 이용하여 531nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$TBARS = \text{흡광도 수치} \times 5.88$$

(2) 조지방(Crude lipid)

조지방 함량은 Folch 등⁽⁷⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 2g을 50ml test tube에 넣고 Folch I (chloroform : methanol = 2 : 1) 용액을 20ml 넣고 homogenizer에서 14,000rpm으로 30초간 균질화 한 다음 15ml로 homogenizer(polytron) 균질봉을 세척하여 뚜껑을 막고, 4°C 냉장고에서 20분 간격으로 흔들며, 2시간 동안 방치하였다.

균질화된 시료는 Whatman No. 1 filter paper를 이용하여 100ml mass cylinder에 여과한다. Mass cylinder의 눈금을 읽고 여액의 25%에 해당하는 0.88% NaCl을 첨가하여 격렬히 흔들어진 후 1시간 방치한다. 이때 Folch II (chloroform : methanol : H₂O = 3 : 47 : 48) 용액 10ml로 mass cylinder 벽면을 세척한 후 눈금을 읽는다(a). 상층을 aspirator를 이용해서 제거하고 하층을 10ml를 무게를 측정할 수기(b)에 넣고 건조한 후 무게(c)를 측정한다. 계산식은 다음과 같다.

$$\text{Crude fat}(\%) = \frac{(c-b) \times 10/a}{\text{Sample}(g)} \times 100$$

(3) 지방산

지질추출은 Folch 등⁽⁷⁾의 방법으로 chloroform과 methanol로 추출하였다. 시료 25g에 Folch 용액(CHCl₃ : CH₃OH = 2 : 1) 180 ml와 BHT 500 µl를 넣고 균질기(2,500rpm)로 1분간 균질화시킨 다음 0.08% NaCl 50ml를 첨가하여 30초간 흔들며 혼합한 후 3,000rpm에서 10분간 원심분리시켰다. 상층은 aspiration을 통하여 제거하고 하층은 funnel filter paper에 sodium anhydrous sulfate를 첨가하여 filtering 하였다. 추출물은 rotary evaporator에서 농축시키고 N₂하에서 남은 용매를 제거하였다.

메틸레이션은 Folch 방법으로 추출한 지질 80mg과 0.4mg의 tricosanoic acid methyl esters (0.4mg/ml hexane, internal standard)를 screw-capped test tube에 넣고 질소충전 하에서 용매를 제거한 후 0.5N NaOH(in methanol) 1ml를 넣고 90°C에서 7분 동안 가수분해시킨 다음 실온(22°C)에서 5분 동안 냉각시켰다. 유

리 지방산은 14% boron trifluoride(in methanol) 1ml을 첨가하여 90°C에서 10분간 methylation 시킨 후 30분간 실온에서 냉각시켰다. Hexane 2ml과 증류수 2ml을 넣고 GLC (gas-liquid chromatography) 분석을 위하여 상층에서 1ml을 회수하여 GLC로 분석전까지 냉동고에서 보관하였다.

Gas chromatographic analysis

Total fatty acid의 함량을 구하기 위해 회수한 sample 0.5 μl를 split injection port에 injection 하였고 이때의 GLC 조건은 Table 1과 같다.

(4) 혈액분석

도축전 시험동물로부터 혈액을 상차대에서 채취하여 혈청을 분리한 다음 Biochemical analyzer(TBA-20FR, Toshiba, Japan)자동분석기로 분석하였다.

통계분석

실험에서 얻어진 성적은 SAS/PC⁽⁸⁾을 이용하여 분산분석 및 Duncan의 다중검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

TBARS(지방산화)

Table 2는 첨가되는 키토산 수준을 달리하

Table 1. GLC conditions for analysis of fatty acids compositions

Item	Conditions
Instrument	Hewlett Packard 5890 Gas chromatography
Column	Supelcowax 10 fused silica capillary column 60m × 0.32 i.d
Temperature program	5°C/min
Detector	Flame Ionization Detector(FID)
Initial temperature	50°C
Initial time	1min
Final temperature	200°C
Final time	40 min
Injector temperature	270°C
Detector temperature	270°C
Carrier gas	He
Split ratio	90 : 1

여 비육시킨 돈육의 지방 산패도의 변화를 나타내었다. 전 저장기간동안의 TBARS값은 0.16 ~ 0.56mg MA/kg의 범위로 나타났으며, 대조구와 키토산 급여구 간에는 전 저장기간 동안

Table 2. Effect of the feeding of chitosan on the TBARS value of pork meat during storage at 0±1°C

Treatment ¹⁾	Storage days		
	1	7	14
		MAmg/kg	
Control	0.16±0.01 ^b	0.48±0.05 ^a	0.49±0.03 ^a
Treat 1	0.20±0.03 ^b	0.46±0.03 ^a	0.48±0.02 ^a
Treat 2	0.19±0.01 ^b	0.47±0.03 ^a	0.47±0.01 ^a
Treat 3	0.19±0.01 ^b	0.55±0.02 ^a	0.56±0.06 ^a

¹⁾ Control : The loin of pork fed on assorted feed(100%).

Treat 1 : The loin of pork fed on assorted feed(100%) and chitosan(0.2%)

Treat 2 : The loin of pork fed on assorted feed(100%) and chitosan(0.4%)

Treat 3 : The loin of pork fed on assorted feed(100%) and chitosan(0.6%)

^{a-b} : Mean ± SD with different superscripts in the same row significantly differ at P<0.05.

Table 3. Effect of the feeding of chitosan on the of crude fat of pork meat during storage at $0\pm 1^{\circ}\text{C}$

Treatment ¹⁾	Storage days		
	1	7	14
		(%)	
Control	21.80 \pm 2.81	20.33 \pm 1.76	20.97 \pm 3.75
Treat 1	18.31 \pm 1.25	24.53 \pm 3.63	23.28 \pm 2.29
Treat 2	25.36 \pm 2.86	29.06 \pm 5.90	27.99 \pm 5.20
Treat 3	25.34 \pm 2.74	29.98 \pm 3.13	22.27 \pm 2.06

Mean \pm SD¹⁾ See the Table 2.

유의한 차이가 없었고 저장기간이 경과함에 따라 저장 7일부터 유의하게 증가하였다($P < 0.05$). 키토산 급여군인 T3가 저장 14일에 0.56 mgMA/kg으로 가장 높은 TBARS값을 보였다. Purnama Darmadj과 Masatoshi Izumimoto⁽⁹⁾는 분쇄육에 키토산을 첨가했을 때 TBARS를 감소시킨다는 보고와 본 실험의 키토산을 급여한 돈육과는 다소 차이가 있었다.

조지방 함량

첨가되는 키토산 수준을 달리하여 비육시킨 돈육의 조지방 함량 분석 결과를 Table 3에 나

태내었다. 대조구와 키토산 급여구 간의 조지방 함량에는 유의적인 차이는 없었으나 키토산 급여구가 다소 높은 경향을 나타냈다. 저장기간에 따른 변화는 발견되지 않았다. 키토산 급여가 돈육의 조지방 함량에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다.

지방산

첨가되는 키토산 수준을 달리하여 비육시킨 돈육의 지방산 분석의 결과를 Table 4에 나타내었다. 일반적으로 돈육은 급여되는 사료에 영향을 많이 받기 때문에 다가불포화지방산의

Table 4. Effect of the feeding of chitosan on the fatty acids composition of pork meat during storage at $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ (%)

Fatty acid composition	1 ¹⁾							
	Treatment ²⁾				14			
	Control	Treat 1	Treat 2	Treat 3	Control	Treat 1	Treat 2	Treat 3
C14:00	1.51	1.61	1.61	1.75	1.68	1.74	1.71	1.75
C16:00	25.64	25.75	26.13	25.96	26.37	26.38	27.48	26.12
C16:01	3.55	3.79	3.56	3.55	3.82	4.02	3.72	3.89
C18:00	13.68	14.33	13.91	13.57	14.60	14.92	14.61	14.75
C18:01	41.25	40.34	40.91	40.61	41.15	40.56	39.50	40.58
C18:02	9.97	9.69	9.47	9.87	8.76	8.54	9.32	8.89
C18:03	4.17	4.24	4.21	4.46	3.42	3.65	3.34	3.72
C20:04	0.26	0.32	0.22	0.24	0.29	0.25	0.37	0.31
SFA	40.83	41.69	41.65	41.28	42.65	43.04	43.80	42.62
UFA	59.20	58.38	58.37	58.73	59.54	57.02	56.25	57.39
MUFA	44.80	44.13	44.47	44.16	44.98	44.58	43.22	44.47
PUFA	14.40	14.25	13.90	14.57	14.57	12.44	13.03	12.92

¹⁾ Storage days²⁾ See the Table 2.

Table 5. Effect of the feeding of chitosan on the values of total cholesterol, HDL cholesterol, and triglyceride in the serums of pigs

Treatment ¹⁾	Total cholesterol	HDL cholesterol	Triglyceride
		mg/dl	
Control	93.67±1.33	38.67±0.88	54.00± 5.13
Treat 1	91.33±1.20	40.67±0.88	36.00± 3.51
Treat 2	90.67±3.48	36.00±2.65	42.33± 8.17
Treat 3	91.00±7.94	40.33±1.45	43.33±16.95

Mean ± SD

¹⁾ See the Table 2.

함량이 높다고 보고되고 있다⁽¹⁰⁾. 가장 높은 지방산 함량을 나타낸 것은 oleic acid로서 차지하는 비율이 39.50~41.25% 이며, 다음이 palmitic acid인데 차지하는 비율이 25.64~27.48% 이고, stearic acid는 13.57~14.92%로서 이 세가지 지방산이 차지하는 비율은 70~85% 정도를 차지한다. 이와 같은 결과에 대해 Hilditch 등⁽¹¹⁾은 돈육 지질의 조성에 관한 연구에서 주요 지방산은 포화지방산에서는 palmitic acid, 불포화지방산에는 oleic acid 였다는 보고와 일치하는 경향이었다. 키토산 급여에 따른 지방산 조성의 변화는 관찰되지 않았다.

혈액성상

첨가되는 키토산 수준을 달리하여 비육시킨 돈육의 혈액성상 변화를 Table 5에 나타내었다. 총콜레스테롤 함량은 처리구간의 비교에서 키토산 급여구와 대조구간에는 유의적인 차이는 없었으나, 적게 추출되는 경향을 나타냈으며 처리 2구가 가장 적은 함량이 추출되었다.

콜레스테롤 억제인자라고 하고 LDL 콜레스테롤을 떼어내어 간장으로 운반하여 에너지로 사용하거나 체외 배설을 촉진하는 것으로 알려져 있는 HDL 콜레스테롤 함량은 대조구와 유의성은 없으나, 처리 1구, 처리 3구에서 많이 추출되는 것으로 보아 바람직한 것으로 사료된다. 중성지질 함량은 대조구와 키토산 급여구간에는 유의성은 없으나, 키토산 급여군에서 적게 추출되는 경향을 나타냈으며, 처리 1구가 가장 적은 함량이 추출되었다.

이에 대해 Shigehiro hirano 등⁽¹²⁾은 키토산을 급여했을 때 총콜레스테롤과 중성지질은 대조구에 비해 낮은 경향을 보였고, HDL-콜레스

테롤은 높게 나타났다는 보고와 유사한 경향을 보였다.

요 약

본 시험의 시험구 설정은 3원 교잡종(Landrace × Yorkshire × Duroc)인 90일령(생체중 55kg 전후) 전후의 비육돈 돼지를 이용하여 동일한 환경조건에서 비육후기 6주간 대조구(농후사료)와 시험구(키토산 : 0.2, 0.4, 0.6%첨가)로 각 처리구당 6두씩 사양한 후 도축하였다. 대조구와 처리구는 B등급을 판정 받은 개체를 각각 공시하였으며, sampling은 2분도체로 나눈 후 삼겹살부위를 500g 씩 합기포장(wrap)하여 냉장온도(0 ± 1°C)에서 1, 7, 14일 저장기간의 경과에 따른 TBARS, 조지방 함량, 지방산 조성 및 혈액분석에 대한 연구 결과를 요약하면 다음과 같다. TBARS는 대조구와 키토산 급여구간에는 유의한 차이가 없었으며, 저장기간이 경과함에 따라 저장 7일에 유의하게 증가하였다(P<0.05). 조지방 함량과 지방산 조성은 대조구와 키토산 급여구간에는 뚜렷한 변화가 없었으며, 혈액성상에서 총 콜레스테롤과 중성지질은 키토산 급여군에서 낮은 경향을 나타냈다.

이상의 연구결과 키토산을 사료에 첨가하여 급여함으로써 지방산화에 유해한 영향을 미치지 않으면서, 혈액성상에서 총 콜레스테롤과 중성지질이 낮아지는 경향으로 보아 기능성 돈육 생산 가능성을 보여주었다고 사료된다.

참고문헌

1. 류병호 : 새우 껍질에서 추출한 키토산의 항암 및 면역활성. 한국영양식량학회지, 21 (2), 154 (1992).
2. Knorr, D. : Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.*, 47, 593 (1982).
3. 변희국, 강옥주, 김세권 : 키틴 및 키토산 유도체의 합성과 물리화학적 특성. 한국농화학학회지, 35(4), 265 (1982).
4. Ikeda, I., Sugano, M., Yoshida, K., Sasaki, E., Iwamoto, Y. and Hatano, K. : Effects of chitosan hydrolysates on lipid absorption and on serum and liver lipid concentration in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 431 (1993).
5. Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., Fukada, N. and Hasegawa, Y. : A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 787 (1980).
6. 김언현, 박창일, 박영석 : 키토산 첨가 급여가 계육의 연도에 미치는 영향. 한국식품학회지, 16(1), 62 (1996).
7. Folch, H., Lees, M. and Sloane Stanley, G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497 (1957).
8. SAS. SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute, Cary, Nc, U.S.A., (1995).
9. Darmadji, P. and Izumimoto, M. : Effect of chitosan in meat preservation. *Meat Science*, 38, 243 (1994).
10. 양 용, 김기태, 신완철. Red Muscle과 White Muscle의 근섬유간 지방질의 조성비교. 한국식품과학회지, 21, 505 (1989).
11. Hilditch, T. P., Jones, E. C. and Rhead, A. J. : The body fats of the hen. *Biochem. J.* 28, 786 (1984).
12. Hirano, S., Itakura, C., Akiyama, H., Akiyama, Y., Nonaka, I., Kanbara, N. and Kawakami, T. : Chitosan as an Ingredient for Domestic Animal Feeds. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1214 (1990).

(2000년 1월 7일 접수)