

흡착조건이 키토산의 지방질 흡착 특성에 미치는 영향

이근태* · 송호수 · 박성민¹ · 강옥주² · 정효숙²
 부경대학교 식품생명공학부, ¹부경대학교 공동실험실습관, ²경남대학교 생명과학부

Effects of Adsorption Condition on Fat-binding Characteristics of Chitosan

Keun-Tai LEE*, Ho-Su SONG, Seong-Min PARK¹, Ok-Ju KANG² and Hyo-Sook CHEONG²
 Division of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
¹Cooperative Laboratory Center of Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
²Division of Life science of Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

To study the lipid adsorption characteristic of chitosans with different molecular weights and the degrees of deacetylation, *in vitro* test and near-infrared (NIR) spectroscopic analysis have been performed for the measurement of lipid adsorption characteristics of chitosan. The degrees of deacetylation in chitosans were 70%, 85%, and 92% at different deacetylation times (1 hr, 2 hrs, 3 hrs), respectively. The molecular weight of each chitosan was controlled by enzymatic hydrolysis, and then the molecular weight of the chitosan was 4 kDa. The bulk density, water holding capacity and fat binding capacity of each chitosan powder were 96.2-504.0%, 374.4-1217.9%, and 307.0-659.3%, respectively. The higher molecular weight of chitosan was exhibited the lower bulk density and the higher water and fat binding capacities. Binding capacities of chitosan powders to bile salts, cholesterol and linoleic acid were 41.2-63.3%, 40.8-67.4%, 42.6-72.6%, respectively. In NIR spectrum of lipid adsorbed chitosan the occurrence static electronic binding between chitosan and lipid was identified by NIR spectrum peak induced from combination of carboxylic group in lipid and amino group in chitosan. In conclusion, the higher degree of deacetylation and molecular weight of chitosan showed the higher lipid binding capacity and the lipid adsorption of chitosan were occurred by combination of carboxylic group in lipids and amino group in chitosan

Key words: Bulk density, Chitosan, Lipid adsorption, NIR (near-infrared) spectra, Water holding capacity

서 론

Chitosan은 용액상태에서 거대한 양이온성 분자로 작용하기 때문에 여러 가지 음이온 형태의 분자 또는 물질을 흡착할 수 있는 능력이 있다 (Knorr, 1984). 특히 키토산은 fat-binding 능력이 뛰어난 것으로 알려져 있는데 동물실험을 통해 장내 지방흡수를 줄이고, 혈중콜레스테롤 수준을 감소시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 특성은 요즘 현대인들에게 많은 문제가 되고 있는 고지혈증, 고콜레스테롤혈증 및 동맥경화증의 예방과 치료에 효과가 있을 것으로 예상된다. 또한 anti-lactose intolerance (Austic et al., 1982; Knorr, 1991), 항균작용, 보습성, 유효안정성 및 식이 섬유기능 등도 있어 이를 고부가 가치성 제품개발에 응용할 수 있을 것으로 예상된다.

키토산을 각종 식품에 응용하기 위해서는 식품에 사용 가능한 형태의 키토산을 제조해야 하며 생리활성을 가지며 독성이 없고 수용성이며, 이미·이취가 없고 저점성의 조건을 갖추어야 한다. 그러므로 키토산의 분자량을 낮추어 저분자 키토산 또는 키토산 올리고머를 제조하는 것이 우선적으로 이루어져야 할 것이다.

현재 키토산과 키토산 분해물질의 제조법으로는 화학적 방법과 효소적 방법 등이 보고되고 있으며 화학적 방법으로는 진한 염산, 불화수소, 과산화수소 및 과산화붕소에 의한 가수분해법이 행해지고 있지만, 반응조건이 과격하기 때문에 반응의 제어가 어렵고 Maillard 반응으로 인한 부생성물이 식품의 품질을 해칠 우려가 있다.

따라서 키토산을 이용한 기능성 식품을 개발하기 위해서는 효소적 방법으로 저분자 키토산을 생산하는 것이 바람직할 것 생각되어 진다. 체내의 지방질 대사에 대한 식이섬유의 영향에 대해서는 많은 보고가 있으나 성분에 따른 생리적 효과는 반드시 일치하고 있지는 않다. 키토산의 *in vitro* 실험 결과, 혈청 콜레스테롤과 지방질 수준을 감소시키는데 효과가 큰 pectin 보다도 그 효과가 뛰어났고, 또한 지방질의 lymphatic adsorption을 저해하는 효과가 있다고 보고되어 있다 (Sugano et al., 1978). 일반적으로 키토산이 키토산보다 생리적 효과가 더 뛰어난 것으로 알려져 있으며 키토산질의 생리적 기능에 대한 *in vitro* 실험은 비교적 많이 행해졌으나 국내에서는 보고된 바가 거의 없고, 그 작용 메커니즘을 설명하는 데에는 미흡한 점이 많이 남아 있다. 이를 보완하기 위해서는 체내 소화기관과 같은 환경조건을 모델링하여 각 요인별로 조사하는 것이 효과적인 방법으로 사료된다.

*Corresponding author: ktlee@pknu.ac.kr

본 연구에서는 탈아세틸화도를 달리한 고분자 키토산과 효소적 방법으로 제조한 저분자 키토산을 제조하여 동물성 및 식품성 유지에 대한 흡착특성을 조사하고, *in vitro* 실험과 근적외선 분광분석법을 이용하여 키토산의 지방흡착 특성을 규명하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

구입한 키토산을 정제하여 chitosan의 원료로 사용하였으며, 키토산 분해용 효소는 lipase를 사용하였다. 지방질은 bile salts와 콜레스테롤, linoleic acid를 사용하였으며, 그 외 다른 시약들은 특급시약을 사용하였다.

실험방법

키토산 및 키토산 제조

키토산을 구입하여 탈회와 탈단백의 정제 공정을 거친 후 키토산의 원료로 사용하였다. 탈회는 2 N HCl 용액을 서서히 가한 후 실온에서 1시간 동안 교반하고, 교반이 끝난 다음 수세액이 중성에 이를 때까지 충분히 수세한 후 1 N NaOH 용액을 가하여 heating mantle에서 100°C로 1-3시간 동안 교반하면서 단백질을 제거하였다. 탈단백 공정이 끝난 후 충분히 수세한 다음 50°C에서 열풍건조하여 키토산을 얻었다. 그리고 키토산은 위의 방법으로 제조한 정제 키토산에 47% NaOH 용액을 가하여 130°C에서 가열시간을 1-3시간으로 달리한 후 중성이 될 때까지 수세하여 탈아세틸화도를 70-92%로 조절하였으며 50°C에서 건조하여 잘게 분쇄한 후 상온에 보관하면서 실험에 사용하였다.

키토산 분자량 조절

탈아세틸화도별로 제조된 키토산을 저분자화 시키기 위해 0.1 M acetate-0.1 M sodium acetate buffer (pH 4.0) 용액에 1% 용해시킨 뒤 lipase와 키토산의 비율을 1:0.3으로 조절하여 40°C에서 24시간 동안 incubation한 후, 반응을 정지하기 위해 100°C에서 15분간 autoclaving 하였다. Incubation 된 효소 가수분해물을 glass filter로 효소와 키토산 효소분해물로 분리하고, 키토산 효소분해물에 0.1 M NaOH를 첨가하여 생성된 백색 침전물을 원심분리 (5,000 rpm, 10 min)를 통하여 증류수 수세한 뒤 동결건조 (SFDSM 12, Samwon freezing engineering Co.) 시키고 분쇄하여 키토산을 저분자화 시켰다.

지방 흡착 키토산 제조

Lin et al. (1974)의 방법을 변형하여 키토산 5 g을 0.1 M acetate-0.1 M sodium acetate buffer (pH 4.0) 용액 500 mL에 용해시킨 1% 키토산 (w/v) 용액에 50 g의 대두유를 첨가하여 교반한 후 0.1 N NaOH 용액으로 pH를 7.4로 조절하였다. 3,000 rpm에서 25분간 원심분리한 후 분리된 대두유를 제거하고 원심분리 관을 45도 기울여 30분 동안 방치한 후 제조된 지방 흡착 키토산 pellet을 동결건조하여 근적외선분광분석용 시료로 사용하였다.

일반성분의 분석

AOAC (1990)에 따라 수분은 상압가열건조법으로, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법으로 측정하였다. 그리고 회분은 건식회화법에 따라 측정하였다.

키토산의 탈아세틸화도 측정

Sannan et al. (1978)의 방법에 따라 시료 2 mg (200 mesh)과 KBr 100 mg을 완전히 혼합한 후 마쇄하여 시료 pellet을 만들어 FT-IR (Spectrum GX, Perkin Elmer, USA)로 4,000 cm⁻¹ - 500 cm⁻¹ 영역에서 측정하였다. IR spectrum의 2,878 cm⁻¹과 1,550 cm⁻¹에서의 흡광도의 비 (A_{1550}/A_{2878})를 구한 다음 Sannan 등 (1978)이 구한 검량선을 이용하여 탈아세틸화도를 계산하였다.

고유점도와 분자량 측정

키토산의 고유점도와 분자량 측정을 위해 Ubbelode형 모세관 점도계를 사용하였다. 0.1 M acetic acid-0.02 M NaCl 용액을 용매로 하여 0.01%, 0.03%, 0.05%, 0.08%, 0.1% chitosan 용액을 조제한 후, 각 chitosan 용액의 상대점도를 측정하고 비점도와 환원점도를 구한 다음 고유점도를 구하였다.

Bulk density 측정

Parrot et al. (1978)의 방법으로 bulk density를 측정하였다. 즉 눈금이 매겨진 실린더에 일정량의 시료를 채운 후 내용물의 부피를 측정하였으며, mg/mL로 표시하였다.

보수력 (Water holding capacity)

McConnell et al. (1974)의 방법에 따라 각각의 건조시료 0.1 g을 원심관 (15 mm×100 mm)에 넣고 정평한 후 증류수 10 mL를 넣고 vortex mixer에서 1분간 교반한 다음 실온에서 1시간 방치하면서 15분마다 5초 동안 교반한 후 원심분리하여 상층액을 제거한 다음 여지상에서 45도로 기울여 30분간 방치한 후 무게를 정평하였다.

지방흡착력 (Fat binding capacity)

Lin et al. (1974)의 방법에 따라 각각의 시료 0.2 g을 원심관 (15 mm×100 mm)에 넣고 정평한 후 대두유 10 mL를 넣고 vortex mixer에서 1분간 교반한 다음 실온에서 1시간 방치하면서 15분마다 5초 동안 교반한 후 원심분리하여 상층액을 제거한 다음 여지상에서 45도로 기울여 30분간 방치한 후 무게를 정평하였다.

키토산의 근적외선 분광분석

키토산의 탈아세틸화도 측정과 지방질 흡착특성 확인을 위해 제조한 각각의 시료를 근적외선 분광분석기로 분석하였으며, 각 시료의 spectrum은 1,100-2,400 nm 영역에서 adsorbance mode로 측정하였다. 근적외선 분광분석으로 얻어진 스펙트럼 결과의 통계적 분석은 near infrared spectral analysis software (QUANT C+, Perkin Elmer, USA)를 사용하여 principal component regression (PCR)법으로 행하였다.

결과 및 고찰

키토산 및 키토산의 일반성분

구입한 키토산의 경우 조단백질과 조회분 함량이 각각 39.23%, 3.57%로 비교적 높았다. 구입한 키토산을 재탈회 및 재탈단백한 후 일반성분을 측정된 결과 조단백질 함량은 5.53%이었고, 조회분 함량은 1.18%이었다. 또 수분 함량은 5.65-6.20%이었으며, 지방의 함량은 미량 검출되었다 (Table 1).

Table 1. Ingredients of commercial chitin and partially purified chitin used in the study (dry basis)

| Composition | Content (%) | |
|---------------|-------------------|---------------------|
| | Commercial chitin | Chitin ¹ |
| Moisture | 6.20 | 5.65 |
| Crude protein | 39.23 | 5.53 |
| Crude ash | 3.57 | 1.18 |
| Crude fat | ND ² | ND ² |

¹Demineralization: addition of 1 L of 2 N HCl to commercial chitin (100 g) and agitation for 1 hr at 25°C.

Demineralization: addition of 1 L of 1 N NaOH to material and agitation for 3 hrs at 25°C.

²ND: Not detected.

키토산의 탈아세틸화도와 분자량

키토산의 특성에 따른 지방질 흡착 특성을 조사하기 위하여 키토산의 탈아세틸화도와 분자량을 조절하였고, 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 재탈회 및 재탈단백 한 키토산에 47% NaOH 용액을 가하여 130°C에서 반응시간을 달리하여 제조한 키토산의 IR spectrum으로부터 2,878 cm⁻¹과 1,550 cm⁻¹에서의 흡광도 비 (A₁₅₅₀/A₂₈₇₈)를 구한 다음 Sannan et al. (1978)이 구한 검량선을 이용하여 탈아세틸화도를 계산한 결과 탈아세틸화도는 각각 70%, 85%, 92%이었다. 탈아세틸화도가 70%, 85%, 92%인 키토산의 고유점도를 측정하여 분자량을 계산한 결과 분자량은 24 kDa-28 kDa이었고, 각각의 키토산을 효소 가수분해한 결과 분자량은 4 kDa 이하였다.

Table 2. Degrees of deacetylation and molecular weights of different chitosans

| | Degree of Deacetylation (%) | Molecular weight |
|-----------------------|-----------------------------|------------------|
| | | |
| Chitosan ² | 85 H 85 L | 26 kDa 4 kDa |
| Chitosan ³ | 92 H 92 L | 24 kDa 4 kDa |

¹Deacetylation: addition 47% NaOH to chitin for 1 hr at 130°C.

²Deacetylation: addition 47% NaOH to chitin for 2 hr at 130°C.

³Deacetylation: addition 47% NaOH to chitin for 3 hr at 130°C.

70 H: D.D. 70%, M.W. 28 kDa chitosan; 70 L: D.D. 70% M.W. 4 kDa chitosan; 85 H: D.D. 85%, M.W. 26 kDa chitosan; 85 L: D.D. 85% M.W. 4 kDa chitosan; 92 H: D.D. 92%, M.W. 24 kDa chitosan; 92 L: D.D. 92% M.W. 4 kDa chitosan. D.D: Degree of deacetylation (%); M.W: Molecular weight

키토산 분말의 bulk density 및 수분과 지방에 대한 흡착력

키토산 입자의 compactness를 표현하는 bulk density (mg/mL)를 측정하여 Table 3에 나타내었다. 분자량에 따른 차이를 살펴보면 분자량이 작을수록 높은 bulk density를 나타내었으며 동일한 분자량을 가진 키토산의 경우 탈아세틸화도가 높아짐에 따라 bulk density도 증가하는 결과를 나타내었으나 키토산 분말의 보수력과 지방흡착력을 측정된 결과, Fig. 1과 Fig. 2를 살펴보면 수분과 지방에 대한 흡착력은 분자량이 상대적으로 크고 탈아세틸화도가 높을수록 증가하는 결과를 나타내었다. Knorr (1982)와 Austin et al. (1981)은 키토산 및 키토산의 보수력은 키토산질의 결정화도와 단백질 함량에 따라 차이가 나며, 또 McConnell et al. (1974)은 식이 섬유류의 보수력은 측정 온도, 침지시간 원심분리 속도 등에 따라 달라진다고 보고하였다. Knorr (1982)에 의하면 분자량과 결정성이 큰 키토산의 지방 흡착력이 높게 나타났다고 보고하였다.

Table 3. Bulk densities of different chitosans

| Chitosan | Bulk density (mg/mL) |
|----------|----------------------|
| 70 H | 96.2 ± 6.5 |
| 70 L | 477.1 ± 6.9 |
| 85 H | 106.8 ± 7.5 |
| 85 L | 489.3 ± 7.3 |
| 92 H | 111.1 ± 6.8 |
| 92 L | 504.0 ± 8.3 |

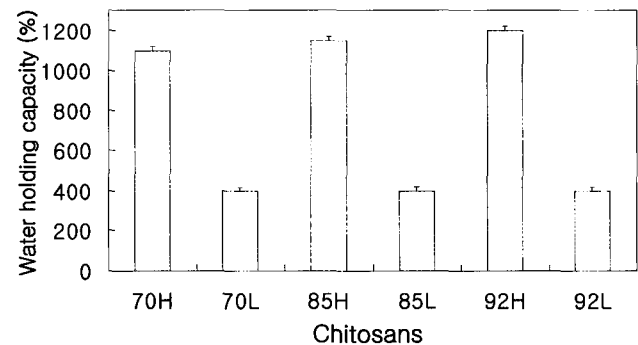


Fig. 1. Water holding capacities of different chitosans.

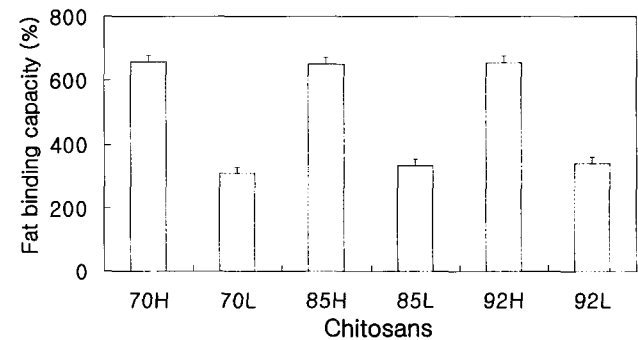


Fig. 2. Fat binding capacities of different chitosans.

지방질 종류에 따른 키토산 분말의 흡착특성

키토산 분말의 담즙산, 콜레스테롤, linoleic acid 흡착력을 측정하여 Fig. 3에 나타내었다. 키토산 분말의 담즙산, 콜레스테롤, linoleic acid에 대한 흡착력은 MW 24 kDa 키토산이 MW 4 kDa 키토산보다 다소 높은 것으로 나타났으며 동일한 분자량을 가진 키토산의 탈아세틸화도에 따른 흡착능은 탈아세틸화도가 높은 키토산분말의 흡착력이 높게 나타났다. 세 종류의 지방질 중에서는 리놀레산에 대한 키토산의 흡착력이 42.6-72.6%로 가장 높게 나타났다. 식이섬유의 담즙산과 지방산에 대한 흡착은 혈청 콜레스테롤 저하효과 등 생리적으로 중요한 의미를 지니며 이에 대한 많은 연구가 이루어져 있다. 특히 Eastwood et al. (1968)은 담즙산과 식이섬유의 결합은 hydrophobic bond에 의한 소수성 상호작용이 관여한다고 보고하였으며 소장내에서 식이섬유는 선택적 이온교환 반응을 통하여 담즙산을 흡착하고, 이를 제외로 배설시킴으로서 담즙산의 체내이용성 (bioavailability)을 저하시키고 지방산 중에서 linoleic acid과의 결합력이 가장 크게 나타났다고 보고하였다.

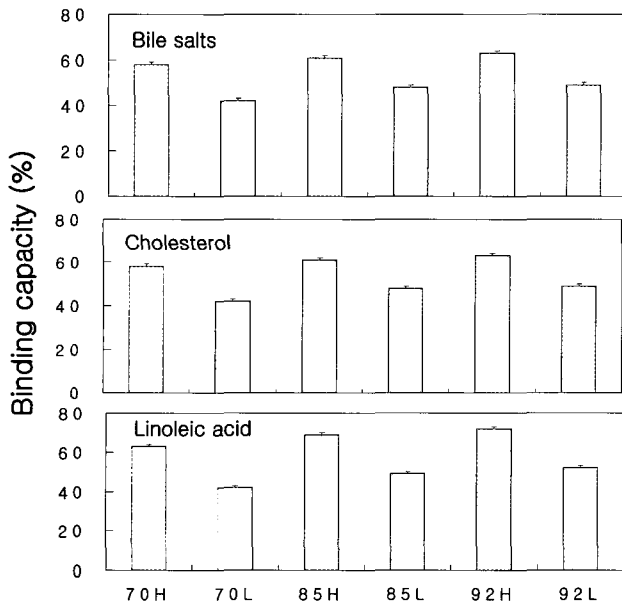


Fig. 3. Binding capacities of different chitosans to bile salts, cholesterol and linoleic acid.

소장내 pH 조건에서의 키토산의 지방질 흡착특성

소화관의 pH 변화에 따른 키토산의 지방질 흡착특성을 살펴보면 위에서는 pH 2 부근의 위산에 의해 키토산은 용해되고, 이 키토산 용액은 주위의 기름방울 표면을 둘러싼 후 장으로 이동하게 된다. 분비되는 소화효소에 의해 소장내의 pH는 7.4 이상으로 증가하게 되고, 이로 인하여 키토산과 기름 혼합물은 pH 변화에 의해 응집을 일으키며 침전하게 된다. 소화기관의 pH 변화에 따른 키토산의 물성변화가 체내 지방질 흡착의 주된 요인으로 보여지며 이런 이론적인 키토산의 지방질

흡착 원리를 규명하기 위해 온도와 pH를 소장의 조건으로 조절하고, bile salts와 각각의 micelle을 만들어 콜레스테롤과 linoleic acid에 대한 흡착력을 *in vitro* test로 조사하였다. Bile salts와 콜레스테롤을 혼합한 micelle의 흡착능을 Table 4에 나타내었다. pH 조절 키토산의 bile salts와 콜레스테롤에 대한 흡착력은 MW 24 kDa 키토산이 각각 84.8-92.0%, 63.3-74.4%이었고, MW 4 kDa 키토산이 각각 69.6-77.9%, 47.8-56.8%이었다. pH 조절 키토산의 탈아세틸화도에 따른 bile salts와 콜레스테롤 흡착력은 D.D. 70% 키토산이 각각 69.6-84.8, 47.8-63.6%이었고, D.D. 92% 키토산이 각각 77.9-92.0%, 56.8-74.4%이었다.

Table 4. Binding capacities of different chitosans to bile salts and cholesterol in bile salts-cholesterol mixed micelle

| Chitosan | Binding capacity (%) | |
|----------|----------------------|-------------|
| | Bile salts | Cholesterol |
| 70 H | 84.8 ± 0.9 | 63.6 ± 1.4 |
| 70 L | 69.6 ± 1.1 | 47.8 ± 1.1 |
| 85 H | 89.8 ± 0.6 | 71.4 ± 0.5 |
| 85 L | 73.6 ± 1.0 | 54.0 ± 0.9 |
| 92 H | 92.0 ± 0.8 | 74.4 ± 0.8 |
| 92 L | 77.9 ± 0.9 | 56.8 ± 0.7 |

Eastwood et al. (1968)은 콜레스테롤 대사에서 지방질의 소화 및 흡수를 위해서 지방질은 bile acid와 micelle을 형성해야만 하며, 소장내에서 micelle 내의 bile acid가 식이 섬유소와 흡착하면 micelle의 안정성 저하로 인하여 micelle의 분리가 일어나고, 지방질의 용해도에 영향을 주어 체외 배설 효과를 가진다고 보고하였다. Bile salts와 linoleic acid를 혼합한 micelle의 흡착능을 Table 5에 나타내었다. 결과를 살펴보면 MW 24 kDa 키토산이 MW 4 kDa 키토산 보다 높은 흡착능을 나타내었다. Bile salts 뿐만 아니라 콜레스테롤과 linoleic acid 모두 키토산의 분자량이 상대적으로 크고 탈아세틸화도가 높을수록 지방질에 대한 흡착력이 높게 나타났으며 키토산 용액의 pH를 소장의 조건으로 조절하고 bile salts와 혼합하여 micelle을 형성하였을 때 키토산의 지방질 흡착력이 증가하는 경향을 나타내었다. Razdan et al. (1994)과 Fukada et al. (1991)은 키토산은 산성인 위에서 수화되고 부분적으로 이온화되어 polyglucosamine chain을 형성한다고 하였다. 이 polyglucosamine chain의 polyelectrolyte cation은 지방질의 음이온을 둘러싸서 흡수를 방해함으로써 hypocholesterolemic effect를 나타낸다

Table 5. Binding capacities of chitosans to bile salts and linoleic acid in bile salts-linoleic acid mixed micelle

| Chitosan | Binding capacity (%) | |
|----------|----------------------|-------------|
| | Bile salts | Cholesterol |
| 70 H | 82.3 ± 1.0 | 74.1 ± 1.3 |
| 70 L | 66.1 ± 1.1 | 52.4 ± 0.9 |
| 85 H | 85.5 ± 0.7 | 84.8 ± 1.1 |
| 85 L | 71.4 ± 0.9 | 59.8 ± 0.7 |
| 92 H | 88.0 ± 0.6 | 87.0 ± 1.0 |
| 92 L | 74.5 ± 1.0 | 63.8 ± 0.6 |

고 보고하였으며, 이러한 작용에 의해 혈청 콜레스테롤이 낮아진다고 보고하였다. 이런 이론적인 키토산의 지방흡착 메카니즘을 규명하기 위해 본 실험에서는 키토산의 지방 흡착조건을 달리한 *in vitro* tests로 비교실험하였고, 그 결과 소화관에서의 pH 변화가 키토산의 지방질 흡착특성에 큰 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다.

흡착조건에 따른 키토산의 지방질 흡착특성

키토산의 특성 및 지방질 종류에 따른 흡착특성을 조사하기 위하여 흡착 실험 후 흡착력이 가장 높았던 MW 24 kDa, DD 92% 키토산의 지방질 흡착 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 키토산 분말과 pH 조절 키토산의 콜레스테롤 흡착력은 67.4%, 74.4%이었고 linoleic acid의 흡착력은 각각 72.6%, 87.0%로 키토산 분말의 경우 linoleic acid에 대한 흡착력이 가장 높게 나타났다. Bile salts의 경우 키토산 분말의 흡착력은 63.3%이었고, 콜레스테롤과 혼합한 micelle의 흡착력은 92.0%이었으며 linoleic acid와 혼합한 micelle의 흡착력은 88.0%로 pH를 소장의 조건으로 조절하고, bile salts와 지방질을 혼합하여 micelle을 만든 경우 키토산 분말에 비해 높은 지방질 흡착력을 나타내었으며 흡착조건을 달리한 실험을 통해 키토산의 지방질 흡착력에 영향을 끼치는 주된 요인이 소화관 내의 pH 변화라는 것을 알 수 있었다.

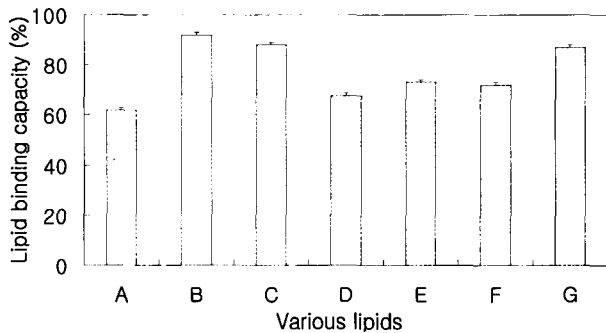


Fig. 4. Lipids binding capacity of chitosan. A: bile salts binding capacity (%); B: biles salts binding capacity (%), in bile salts-cholesterol mixed micelle; C: bile salts binding capacity (%), in bile salts-linoleic mixed micelle; D: cholesterol binding capacity (%); E: cholesterol binding capacity (%), in bile salts-cholesterol mixed micelle; F: linoleic acid binding capacity (%); G: linoleic acid binding capacity (%), in bile salts-cholesterol mixed micelle.

키토산의 지방흡착 기구

In vitro 실험을 통한 키토산의 지방질 흡착특성을 구조적으로 알아보기 위해 근적외선 분광분석법을 적용하여 알아보았다. 전보에서 발표된 것처럼 근적외선 분광분석법을 통한 키토산의 분석시 근적외선 영역 1,530 nm와 2,030 nm에서 아미노기의 peak를 확인할 수 있었으며 탈아세틸화도의 차이에 따라서 두 영역의 peak의 차이를 확인할 수 있었다. 키토산의 지방결합 특성을 근적외선 스펙트럼으로 분석한 결과 (Fig.

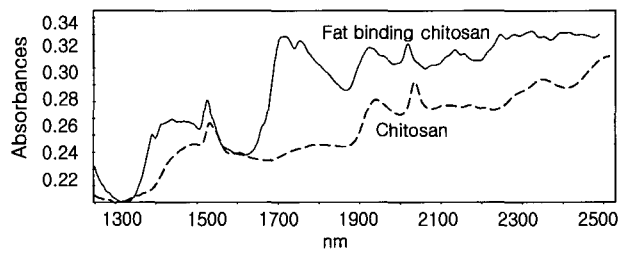


Fig. 5. Near infrared spectrum of chitosan and fat binding chitosan.

5), 지방흡착한 키토산의 경우 1,750 nm 영역에서 지방흡착하기 전의 키토산에 비해 특이적인 peak가 생성됨을 알 수 있었으며 이 영역은 주로 C-H에 의한 지방질의 흡수영역으로서 지방질 흡착에 따른 키토산의 아미노기를 살펴본 결과 2,030 nm 영역에서의 peak의 감소가 나타났고, 이 스펙트럼을 2차 미분한 결과 (Fig. 6)를 통해 키토산의 지방흡착에 따른 아미노기의 변화를 좀 더 명확히 확인할 수 있었다. 지방흡착 키토산의 근적외선 스펙트럼 분석결과를 토대로 키토산의 지방질 흡착은 키토산의 아미노기와 지방의 carboxyl기 (-COOH) 사이의 정전기적 결합에 의해 이루어 짐을 예측할 수 있었으며 지방질 흡착조건에 따른 변화를 살펴보았으나 bile salts, 콜레스테롤, linoleic acid를 흡착시킨 키토산의 근적외선 분석결과에서는 각각 1,750 nm 영역에서의 지질의 흡수 peak나 나타났을 뿐 지방질의 종류에 따른 차이는 근적외선 분광분석으로는 나타나지 않았다. 키토산의 분자량에 따른 지방흡착 특성을 조사하기 위해서 탈아세틸화도는 같고, 분자량을 달리한 지방흡착 키토산의 근적외선 스펙트럼 peak (Fig. 7)를 비교해 본 결과, MW 24 kDa 이상인 고분자 키토산이 MW 4 kDa 이하인 저분자 키토산에 비해 상대적으로 높은 지방의 peak가 나타남을 확인할 수 있었다. 키토산의 지방질 흡착능에 대해 *in vitro* 실험한 결과와 근적외선 분광분석 한 결과를 비교하여 Table 6에 나타내었다. *In vitro* 실험으로 키토산의 지방 흡착력은 각각 659.3%, 338.8%로 분자량이 상대적으로 높은 MW 24 kDa 키토산의 지방 흡착력이 두 배 정도 높게 나타났다. 근적외선 스펙트럼의 지질 흡수 peak 면적을 계산해 본 결과, MW 24 kDa 키토산과 MW 4 kDa 키토산이 각각 17.7과 12.8로 나타났고, 이 결과는 *in vitro*로 실험한 결과와 같은 경향을 나타내었다.

이상과 같은 결과를 살펴볼 때 근적외선 분광분석법을 이용한 키토산의 지방질 흡착특성에 대한 연구결과 *in vitro* 실험결과와 동일한 결과를 얻을 수 있었으며 키토산의 지방질 흡착시에 키토산의 아미노기와 지질의 결합에 의해서 지방질의 흡착이 진행됨을 근적외선 스펙트럼을 통해서 확인할 수 있었으며 키토산의 지방질 흡착특성에 관한 특성을 알아보기 위해 *in vitro* 실험과 근적외선 분광분석법을 통해 키토산의 종류와 지방질 종류를 달리하여 키토산의 지방질 흡착기구를 규명하고자 하였고 그 결과를 요약하면 다음과 같다. 먼저 키토산 분말의 소화관내 기능적 특성인 bulk density 및 수분과 지방

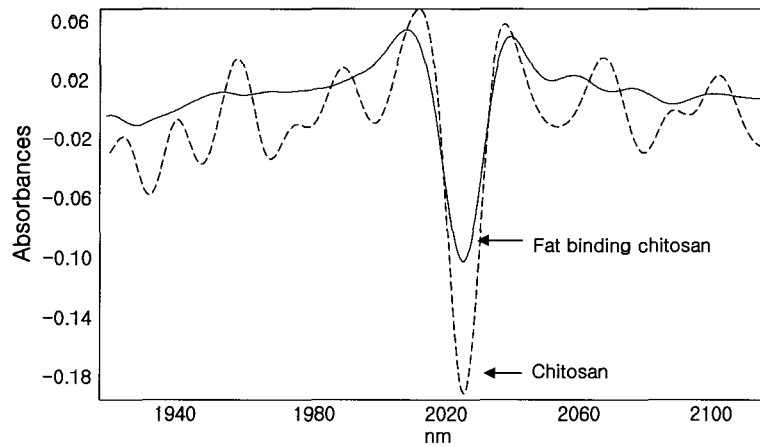


Fig. 6. Second derivative near-infrared (NIR) spectra of chitosan and fat binding chitosan.

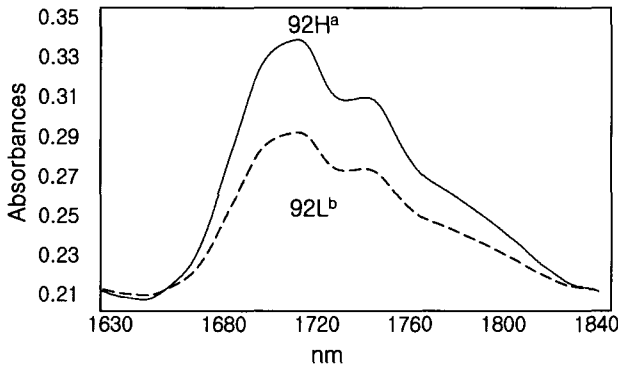


Fig. 7. Near-infrared spectra of fat binding chitosan. ^a92 H: deacetylation degree (%); 92 (%) Mw 24 kDa, ^b92 L: deacetylation degree (%); 92 (%) Mw 4 kDa.

Table 6. Differences between fat binding capacity and corrected area by near-infrared analysis

| Chitosan | Fat binding capacity (%) | Corrected area by NIR analysis |
|-------------------|--------------------------|--------------------------------|
| 92 H ^a | 659.3 ± 6.8 | 17.7 |
| 92 L ^b | 338.8 ± 8.5 | 12.8 |

에 대한 흡착력을 측정된 결과, 키토산의 탈아세틸화도가 높을수록 bulk density 및 수분과 지방에 대한 흡착력은 높게 나타났고 키토산의 분자량이 증가할수록 bulk density는 감소하였으나, 보수력과 지방 흡착력은 증가하였다. 키토산 분말의 bile salts, 콜레스테롤, linoleic acid에 대한 흡착력을 알아본 결과 세 종류의 지방질 중 linoleic acid에 대한 흡착력이 가장 높게 나타났다. 키토산의 분자량이 상대적으로 크고, 탈아세틸화도가 높을수록 지방질에 대한 흡착력이 높게 나타났고, 탈아세틸화도보다는 분자량이 키토산의 지방질 흡착력에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. *In vitro* 실험을 위해 소장 내의 조건으로 pH를 조절한 키토산 용액과 키토산 분말의 지방질 흡착력을 비교한 결과 pH를 조절한 키토산의 지방질 흡착력이 증가한 것으로 보아 키토산 지방질 흡착력에 있어서

의 소화관 내의 pH 변화가 중요한 요인으로 생각되어진다. 키토산의 지방결합 능력을 near-infrared spectra로 구조 분석한 결과 키토산의 지방질 흡착은 키토산의 아미노기와 지방의 carboxyl기 (-COOH) 사이의 정전기적 결합에 의해 이루어짐을 예측할 수 있었다.

사 사

본 연구는 부경대학교 2003년도 “학술연구비 지원사업” 과제에 일부로 지원에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, pp. 17-932.

Atustin, P.R., C.J. Brine and J.P. Zkakis. 1981. New facts of research. Science, 212, 749.

Atustin, P.R. 1982. Lactose-rich animal feed formulations and method of feeding animals. U.S. Patent, 4, 320, 150.

Eastwood, M.A. and D. Hamilton. 1968. studies on the adsorption of bile salts to non-absorbed components of diet. Biochem. Biophys. Acta, 152, 165-173.

Fukuda, Y., K. Kimura and Y. Ayki. 1991. Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. Lipids, 26, 395-399.

Knorr, D. 1982. Functional properties of chitin and chitosan. J. Food Sci., 47, 593-595.

Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food: a challenge for food research and development. Food Technol., 38, 85-97.

Lin, M.J.Y. and E.S. Hember. 1974. Certain functional properties of sunflower meal products, J. Food Sci., 39, 368-370.

- McConnell, A.A., M.A. Eastwood and W.D. Mitchell. 1974. Physical characteristics of vegetable food stuffs that could influence bowel function. *J. Sci. Food Agricult.*, 25, 1457.
- Parrot, M.E. and B.E. Thrall. 1978. Funtional properties of various fibers: physical properties. *J. Food Sci.*, 43, 759.
- Razdan, A. and D. Pette. 1994. Effect of chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. *Br. J. Nutr.*, 72, 277-288.
- Sannan, T., K. Kurita and K. Ogura. 1978. Studies on chitin: 7. IR spectroscopic determination of degree of deacetylation. *Polymer*, 19, 458-459.
- Sugano, M., T. Fujikawa and Y. Hasegawa. 1978. Hypercholesterolemic effects of chitosan in cholesterol-fed rats. *Nutr. Rep. Int.*, 18, 531.

2004년 8월 2일 접수

2004년 10월 22일 수리