

## 키토산-아스코베이트의 용해성, 항산화성 및 항균성

이승배 · 이에경 · 김순동<sup>†</sup>

대구가톨릭대학교 식품외식산업학부 식품공학전공

## Solubility, Antioxidative and Antimicrobial Activity of Chitosan-Ascorbate

Seung-Bae Lee, Ye-Kyung Lee and Soon-Dong Kim<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Technology, Food Industrial Technology, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

### Abstract

This study was conducted to investigate the solubility, antioxidative and antimicrobial activity of the freeze dried chitosan-ascorbate (CAs) and chitosan-acetate (CAc). In the results of solubility, CAs was soluble over 0.5% in distilled water, vinegar, green tea, soju (distilled liquor), beer and red wine, while it was not soluble in soy sauce, soy milk, milk, orange juice, coffee, sesame oil, soy milk and soybean oil. The solubility of CAc in the liquid foods was similar to those of CAs, but it was soluble less than 0.1% in beer, and formed curd in red wine. Electron donating activity, antioxidative activity and SOD activity of CAs were 48.2, 90.6 and 67.5%, respectively, while the activities of the CAc were 0, 40.0 and 10.0%, respectively. The minimal inhibitory concentrations of CAs and CAc were 200 µg/disc against *Bacillus circulans*, *Bacillus brevis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus arabitane* and *Bacillus sterothermophilus*, 400 µg/disc against *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. There was no significant difference in Hunter's L\* value between CAs and CAc (81.95~82.97), but Hunter's a\* and b\* values of the CAs was higher than those of CAc. While sour and bitter tastes of CAs were lower than those of CAc, there was no significant difference in astringent taste. From these results, it suggested that CAs has more extensive utility in liquid foods with antimicrobial and antioxidant activity as well as sensory quality compared to CAc.

**Key words:** chitosan-ascorbate, solubility, antioxidant, antimicrobial activity

### 서 론

키토산은 (1-4)-linked 2-amino-2-deoxy-β-D-glucan으로 된 일종의 식이섬유로 식이내의 에너지 밀도감소, 변비 개선, 콜레스테롤 저하, 종양억제, 항균 등의 다양한 생리활성을 가지며(1), 약물전달체(2), 혈액응고방지(3), 인공피부(4), 중금속 흡착(5) 등 많은 분야에서 연구가 진행되고 있다. 키토산의 기능성은 2번 탄소에 결합된 -NHCOCH<sub>3</sub>기를 탈아세틸화시킴으로써 생성되는 유리의 양이온에 기인하는 것으로 알려져 있다(6). 키토산은 물이나 알코올에는 용해되지 않으며, 유·무기산과 염을 형성하여 용해(7)되나 높은 점성과 신맛 또는 떼은맛이 강하여 사용 가능한 식품의 수가 제한되어 있다. 키토산의 수용화법으로는 산이나 효소로 분해하여 저분자화시킴으로써 가용화하는 방법(8)과 키토산 염을 만드는 방법이 알려져 있다(7). 산분해법에서는 주로 염산, 불화수소, 과산화수소, 과산화붕소 및 아질산 등이 이용되고 있으며, 효소법으로는 *Aspergillus* sp., *Bacillus* sp. 등이 분비하는 β-1,4-glycoside 결합을 가수분해하는 chi-

tosanase가 이용되고 있다(9). 또, 키토산 염은 키토산을 염산, 초산 및 포름산 등과 반응시킴으로써 얻어지나 현재로서는 키토산의 가용화 수단으로 acetic acid가 가장 많이 사용되고 있다(1). 그러나 키토산을 ascorbic acid와 반응시킨 chitosan-ascorbate(CAs)는 키토산의 amino기와 ascorbic acid가 Schiff 반응에 의하여 생성된 염(10)으로 키토산의 기능성과 ascorbic acid의 기능성이 접목됨으로써 새로운 기능성이 나타날 가능성이 높으나, 이에 관한 연구는 부분적으로 이루어지고 있으며, 체내에서 단백질 대사에는 영향을 주지 않으면서 지질을 흡착하여 배설됨으로써 비만예방(11)과 지방의 과다섭취로 나타나는 Crohn's 병의 치유 및 예방에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(1). 또, 키토산은 ascorbic acid의 안정성을 향상시키는 작용(12)이 있으나 이의 활용에 관한 연구는 매우 부족한 실정이다.

본 연구에서는 키토산의 수용화와 기능성 향상, 음료 및 청국장 등의 보존성 증진에 활용하는 등 그 활용성의 증진을 목적으로 키토산의 acetic acid 염(CAc)과 ascorbic acid 염(CAs)의 용해성과 항산화성 및 항균성을 비교하였다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: kimsd@cu.ac.kr  
Phone: 82-53-850-3216, Fax: 82-53-850-3216

## 재료 및 방법

### 재료

실험용 재료는 분자량 746 kDa의 키토산(Keumho Chem. Co., Korea)과 ascorbic acid(Sigma Co., USA) 및 acetic acid(Oriental Chem. Ind., Korea)를 사용하였다.

### CAs 및 CAc의 제조

Chitosan-ascorbate(CAs) 및 chitosan-acetate(CAc)의 제조는 No 등(13)의 방법에 따라 0.5% ascorbic acid 및 0.5% acetic acid 용액에 키토산을 각각 0.5%(w/v) 농도로 가한 후 상온에서 magnetic stirrer를 사용하여 1시간동안 녹인 후 동결건조하여 분말을 제조하였다.

### 용해성

CAs 및 CAc의 시판 액상식품류에 대한 용해성은 실용적인 측면을 고려하여 최대 0.5%이내에서 검토하였다. 사용된 액상식품류로는 50% 오렌지주스(Lotte Chilsung Beverage Co., Ltd., Korea), 두유(Sahmyook Foods, Korea), 우유(Maell Dairy Industry Co., Ltd., Korea), 커피(Dongsuh Co., Ltd., Korea), 녹차(Amorepacific Co., Ltd., Korea), 진간장(Sempio Foods Co., Korea), 사과식초(CJ Co., Ltd., Korea), 대두유(CJ Co., Ltd., Korea), 소주(Kumbokju Co., Ltd., Korea), 참기름(Shindongbang Co., Ltd., Korea), 맥주(Hite Co., Ltd., Korea) 및 포도주(Doosan Co., Ltd., Korea)를 사용하였으며 Lee 등(14)의 방법을 참고하여 시액 각 10 mL에 CAs 및 CAc 분말을 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 및 0.5%의 비율로 혼합하여 20°C에서 1시간 방치한 후 5,000×g로 10분간 원심분리하여 잔사를 얻은 후 105°C에서 건조하여 첨가한 양과 잔사 양의 차이로부터 용해된 양을 구하여 용해율을 산출하였다. 각 시료는 5,000×g에서 침전되는 물질을 제거한 후 공시하였다.

### 항산화능, 전자공여능 및 SOD 활성

항산화능은 Seo 등(15)의 방법에 따라 soybean oil(CJ Co., Ltd., Korea) 100 µL에 에탄올(Duksan Pure Chem., Co., Ltd., Korea) 800 µL, CAs 또는 CAc 수용액(0, 0.1, 0.3, 0.4 및 0.5%) 100 µL, glycine-HCl buffer(pH 3.6) 100 µL, 10 mM FeCl<sub>3</sub> 용액 100 µL, 0.5% TBA(thiobarbituric acid) 용액 1.5 mL을 각각 vortex상에서 가한 후 끓는 water bath에서 15분간 가열하였다. 냉각한 후는 n-butanol 4 mL을 가하여 잘 혼합한 다음 3,000×g에서 원심분리한 상정액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. 항산화능은  $[1 - (\text{시료첨가구의 흡광도}/\text{대조구의 흡광도})] \times 100$ 의 식에 의하여 대조구에 대한 %로 나타내었다.

전자공여능은 Blois(16)의 방법에 따라 시액 0.2 mL에  $4 \times 10^{-4}$  M의 DPPH(1,1-diphenyl-1,2-picryl-hydrazyl) 0.8 mL을 가하여 10초간 진탕하고, 상온에서 10분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성도(%)는  $[1 - (\text{시료}$

첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)]×100으로 나타내었다.

SOD 활성은 Marklund와 Marklund의 방법(17)에 따라 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer[50 mM tris(hydroxymethyl)amino-methane+10 mM EDTA] 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여  $100 - [(\text{시료첨가구의 흡광도}/\text{무첨가구의 흡광도}) \times 100]$ 으로 나타내었다.

### 항균성

Kirby-Bauer disk법(18)에 준하여 측정하였다. 시험균주로는 *Escherichia coli* O157(ATCC 11775), *Listeria monocytogenes*(KCCM 11341) 및 *Bacillus cereus*(KCCM 11341)와 재래 청국장으로부터 분리, 동정한 *Bacillus*속 균주(19) *B. circulans*, *B. brevis*, *B. licheniformis*, *B. arabitanane*, *B. sterothermophilus*, *B. subtilis*를 사용하였다. 각 균주는 3% Bacto™ tryptic soy agar(Beton, Dickson & Co., Sparks, MD, USA) 배지에 접종한 후 CAs 또는 CAc 수용액을 100~800 µg/disc 농도로 점적한 직경 8 mm의 paper disc(Advantec Toyo Roshi Kaishi, Ltd., Tokyo, Japan)를 얹은 후 37°C에서 48시간 배양하여 나타난 clear zone의 직경을 측정하였으며 MIC(minimal inhibitory concentration)는 clear zone이 나타나는 최저농도로 하였다.

### 색상

색상은 색차계(Chromameter CR-200 Minolta, Japan)를 이용하여 명도(L\*값), 적색도(a\*값), 황색도(b\*값)를 측정하였다.

### 관능검사

식품공학을 전공하는 대학원생과 학부생 25명으로 구성된 관능요원에 의하여 신맛, 쓴맛 및 떫은맛을 9점 scale법(20)으로, 전혀 없다(1점), 아주 약하다(2점), 보통 약하다(3점), 약간 약하다(4점), 약하지도 강하지도 않다(5점), 약간 강하다(6점), 보통 강하다(7점), 강하다(8점), 아주 강하다(9점)로 평가하였다.

### 통계처리

모든 측정결과는 2~3회 반복으로 행하여 평균치로 나타내었으며 관능요원 25명의 평균치와 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 version 12의 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package를 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

## 결과 및 고찰

### 용해성

CAs와 CAc 및 그 제조에 사용된 키토산(746 kDa)의 여러

**Table 1. Solubility<sup>1)</sup> properties of freeze dried chitosan-ascorbate and chitosan-acetate in various liquid samples (%)**

| Samples             | Chitosan <sup>2)</sup> | CAs <sup>3)</sup> | CAC <sup>4)</sup> |
|---------------------|------------------------|-------------------|-------------------|
| Distilled water     | x <sup>5)</sup>        | >0.5              | >0.5              |
| Vinegar (apple, 5%) | >0.5                   | >0.5              | >0.5              |
| Soy sauce           | x                      | x                 | x                 |
| Milk                | x                      | x                 | c <sup>6)</sup>   |
| Soy milk            | x                      | x                 | c                 |
| Orange juice        | x                      | x                 | c                 |
| Coffee              | x                      | x                 | c                 |
| Green tea           | x                      | >0.5              | >0.5              |
| Sesame oil          | x                      | x                 | x                 |
| Soybean oil         | x                      | x                 | x                 |
| Soju                | x                      | >0.5              | >0.5              |
| Beer                | x                      | >0.5              | <0.1              |
| Red wine            | x                      | >0.5              | c                 |

<sup>1)</sup>Solubility (%)=[added CA (g)-insoluble CA (g)]×100/added CA (g).

<sup>2)</sup>Chitosan powder (746 kDa).

<sup>3)</sup>Chitosan-ascorbate powder. <sup>4)</sup>Chitosan-acetate powder.

<sup>5)</sup>Non-soluble. <sup>6)</sup>Curd formation.

가지 액상식품에 대한 용해성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 키토산은 식초에서는 0.5%이상으로 용해되었으나 물을 비롯한 여타 액상식품에 용해되지 않았다. CAs와 CAC의 경우는 증류수, 식초, 녹차 및 소주에서 모두 0.5%이상의 농도로 용해되었고 간장에서는 모두 녹지 않았다. 우유, 두유, 오렌지주스 및 커피에서는 CAs는 녹지 않았으나 CAC는 커드를 형성하였다. 참기름과 대두유에서는 CAs와 CAC 모두 녹지 않았다. 소주는 CAs, CAC에서 0.5%이상 용해되었으며 맥주와 포도주에서는 CAs는 0.5%이상 용해되는 반면 CAC는 각각 0.1%이하에서 용해, 또는 커드를 형성하였다. 키토산은 ascorbic acid의 안정성을 향상시키는 작용(12)이 있으며, Nishihara 등(21)은 CAs를 fruit juice나 wine에 첨가함으로써 ascorbic acid의 안정성을 높일 수 있다고 하였다. 이상의 결과 CAs는 CAC에 비하여 특히 맥주와 포도주에서 용해성이 클 뿐만 아니라 ascorbic acid의 항산화 기능성을 고려할 때 그 활용성이 기대된다.

**항산화능, 전자공여능 및 SOD 활성**

Table 2는 항산화능, 전자공여능 및 SOD 활성을 측정된 결과이다. CAC와 CAs 제조시에 사용된 0.5% acetic acid는 항산화능, 전자공여능 및 SOD의 활성이 없는 것으로 나타났으나 이와 반응시켜 얻은 CAC의 경우는 전자공여능은 나타나지 않았으나 항산화능과 SOD 활성은 각각 40.02% 및 9.96%이었다.

반면, CAs의 경우 항산화능, 전자공여능 및 SOD 활성은 48.19%, 90.62% 및 67.46%로 동일농도의 ascorbic acid에 비하여 항산화능은 91.8%, SOD 활성은 6.8%가 높았으며 CAC보다 높은 활성을 나타내었다. 이러한 현상은 키토산이 ascorbic acid가 가지는 항산화능, 전자공여능 및 SOD 활성을 상승시키는 효과가 있음을 나타내며 이러한 결과는

**Table 2. Activity of hydroxy radical scavenging, electron donating and superoxide dismutase (SOD) of freeze dried chitosan-ascorbate and chitosan-acetate (%)**

| Samples                | Antioxidant activity     | Electron donating activity | SOD activity            |
|------------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|
| 0.5% acetic acid       | -                        | -                          | -                       |
| 0.5% CAC <sup>1)</sup> | 40.0±0.81 <sup>b3)</sup> | -                          | 9.96±4.22 <sup>c</sup>  |
| 0.5% ascorbic acid     | 25.0±0.25 <sup>c</sup>   | 89.64±2.68 <sup>a</sup>    | 63.16±0.63 <sup>b</sup> |
| 0.5% CAs <sup>2)</sup> | 48.0±0.72 <sup>a</sup>   | 90.62±1.57 <sup>a</sup>    | 67.46±0.61 <sup>a</sup> |

<sup>1,2)</sup>See Table 1.

<sup>3)</sup>Values are mean±standard deviations of triplicate determinations, different superscripts within a column indicate significant differences at p<0.05.

키토산이 ascorbic acid의 synergists로서 작용한다는 보고(11)와 일치한다. 또한 Jung 등(22)에 의하면 분자량 100 kDa 이하의 키토산에서는 항산화활성이 거의 없으나 고분자의 수용성 키토산은 높은 항산화활성을 나타낸다는 보고와 일맥상통한다 하겠다.

**항균성**

CAs와 CAC가 *E. coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* 및 청국장으로부터 분리한 *Bacillus* sp.에 대한 항균성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3과 같다.

CAs와 CAC의 항균력은 다같이 100 µg/disc의 농도에서는 clear zone을 나타내지 않았으나 *B. circulans*, *B. brevis*, *B. licheniformis*, *B. arabitane* 및 *B. sterothermophilus*는 200 µg/disc에서 clear zone을 나타내었고, *B. licheniformis*와 *B. arabitane*에서는 CAs가 CAC보다 유의적으로 높은 항균력을 나타내었다. 또, 정도의 차이는 있으나 CAs 및 CAC의 농도가 증가함에 따라 비례적으로 clear zone의 크기가 커지는 경향을 보였다.

CAs와 CAC의 minimal inhibitory concentration(MIC)는 뚜렷한 차이를 보이지 않았으며, *B. arabitane*, *B. brevis*, *B. circulans*, *B. licheniformis* 및 *B. sterothermophilus*는 200 µg/disc이었으나 *B. cereus*, *E. coli* O157, *Listeria monocytogenes* 및 *B. subtilis*은 400 µg/disc이었다.

키토산의 항균력은 분자량이 높을수록 높은 것으로 알려져 있으며(23), 세균 및 곰팡이에 대한 선택적 항균력이 있는 것으로 보고되어 있다(24). Darmadji와 Lzumimoto(25)는 키토산이 *Psuedomonas*, *Staphylococci*속의 경우에는 그 효과가 높았으나 coliform의 경우에는 그 효과가 낮았다고 하였으나 Wang(26)은 5가지 대표적 식중독 균에 대한 키토산의 항균활성을 조사한 결과 *S. aureus*>*S. Typhimurium*>*E. coli*>*Y. enterocolitica* 순으로 효과가 높았다고 하였다. 키토산의 항균력은 구조가 가지는 폴리양이온성과 단백질과의 친화성에 유래하며, 소수성기가 많을수록 항균성이 증가하는 것으로 알려져 있다(27).

**색상**

CAs, CAC 및 재료로 사용한 키토산의 색상을 비교한

**Table 3. Antibacterial activity of freeze dried chitosan-ascorbate and chitosan-acetate against some pathogenic bacteria and various *Bacillus* sp. isolated from Korean traditional chungkukjang** (clear zone: diameter, mm)

| Strains                           | Chitosans <sup>1)</sup> | Concentration (µg/disc) |                              |                            |                             |                            |
|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|                                   |                         | 100                     | 200                          | 400                        | 600                         | 800                        |
| <i>Bacillus cereus</i>            | CAs                     | -                       | -                            | 14.63 ± 0.36 <sup>cA</sup> | 18.05 ± 0.26 <sup>bA</sup>  | 21.28 ± 0.44 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | -                            | 14.24 ± 0.30 <sup>cA</sup> | 18.21 ± 0.24 <sup>bA</sup>  | 21.02 ± 0.36 <sup>aA</sup> |
| <i>E. coli</i> O157               | CAs                     | -                       | -                            | 17.41 ± 0.26 <sup>cA</sup> | 19.83 ± 0.28 <sup>bA</sup>  | 23.23 ± 0.24 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | -                            | 17.03 ± 0.30 <sup>cA</sup> | 19.22 ± 0.34 <sup>bA</sup>  | 23.02 ± 0.26 <sup>aA</sup> |
| <i>Listeria monocytogenes</i>     | CAs                     | -                       | -                            | 13.61 ± 0.04 <sup>cA</sup> | 16.23 ± 0.16 <sup>bA</sup>  | 18.85 ± 0.24 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | -                            | 13.83 ± 0.26 <sup>cA</sup> | 16.02 ± 0.14 <sup>bA</sup>  | 19.07 ± 0.30 <sup>aA</sup> |
| <i>Bacillus arabitane</i>         | CAs                     | -                       | 12.36 ± 0.26 <sup>dA2)</sup> | 13.73 ± 0.21 <sup>cA</sup> | 16.74 ± 0.16 <sup>bA</sup>  | 17.65 ± 0.35 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | 11.74 ± 0.14 <sup>dB</sup>   | 12.82 ± 0.32 <sup>cB</sup> | 15.35 ± 0.36 <sup>bB</sup>  | 16.57 ± 0.34 <sup>aB</sup> |
| <i>Bacillus brevis</i>            | CAs                     | -                       | 16.43 ± 0.20 <sup>dA</sup>   | 19.73 ± 0.22 <sup>cA</sup> | 24.12 ± 0.26 <sup>bA</sup>  | 26.55 ± 0.21 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | 16.15 ± 0.24 <sup>dA</sup>   | 19.67 ± 0.21 <sup>cA</sup> | 23.85 ± 0.20 <sup>bA</sup>  | 26.37 ± 0.30 <sup>aA</sup> |
| <i>Bacillus circulans</i>         | CAs                     | -                       | 11.03 ± 0.35 <sup>dA</sup>   | 20.83 ± 0.27 <sup>cA</sup> | 22.46 ± 0.35 <sup>bA</sup>  | 23.77 ± 0.38 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | 10.54 ± 0.29 <sup>dA</sup>   | 20.46 ± 0.22 <sup>cA</sup> | 21.75 ± 0.31 <sup>baA</sup> | 23.29 ± 0.30 <sup>aA</sup> |
| <i>Bacillus licheniformis</i>     | CAs                     | -                       | 17.82 ± 0.22 <sup>dA</sup>   | 18.72 ± 0.19 <sup>cA</sup> | 20.17 ± 0.17 <sup>bA</sup>  | 23.35 ± 0.23 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | 15.77 ± 0.22 <sup>dB</sup>   | 17.51 ± 0.15 <sup>cB</sup> | 18.92 ± 0.14 <sup>bB</sup>  | 21.07 ± 0.26 <sup>aB</sup> |
| <i>Bacillus sterothempophilus</i> | CAs                     | -                       | 18.45 ± 0.26 <sup>dA</sup>   | 21.16 ± 0.39 <sup>cA</sup> | 25.38 ± 0.45 <sup>bA</sup>  | 26.65 ± 0.39 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | 18.12 ± 0.27 <sup>dA</sup>   | 20.42 ± 0.35 <sup>cA</sup> | 24.50 ± 0.41 <sup>bA</sup>  | 25.28 ± 0.46 <sup>aB</sup> |
| <i>Bacillus subtilis</i>          | CAs                     | -                       | -                            | 12.09 ± 0.55 <sup>cA</sup> | 14.35 ± 0.27 <sup>bA</sup>  | 17.40 ± 0.31 <sup>aA</sup> |
|                                   | CAC                     | -                       | -                            | 11.14 ± 0.50 <sup>cA</sup> | 14.08 ± 0.19 <sup>bA</sup>  | 16.71 ± 0.39 <sup>aA</sup> |

<sup>1)</sup>See Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean ± standard deviations of triplicate determinations, different superscripts within a same row (a~d) and a same column (A~B) indicate significant differences at p<0.05.

**Table 4. Color of the freeze dried chitosan-ascorbate and chitosan-acetate**

| Samples <sup>1)</sup> | L* <sup>2)</sup>            | a* <sup>3)</sup>          | b* <sup>4)</sup>          |
|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Chitosan              | 89.18 ± 0.90 <sup>a5)</sup> | -0.34 ± 0.02 <sup>b</sup> | 9.89 ± 0.18 <sup>b</sup>  |
| CAC                   | 81.95 ± 3.55 <sup>b</sup>   | -1.00 ± 0.16 <sup>c</sup> | 5.83 ± 0.81 <sup>c</sup>  |
| CAs                   | 82.97 ± 1.51 <sup>b</sup>   | 0.01 ± 0.00 <sup>a</sup>  | 12.40 ± 0.25 <sup>a</sup> |

<sup>1)</sup>See Table 1.

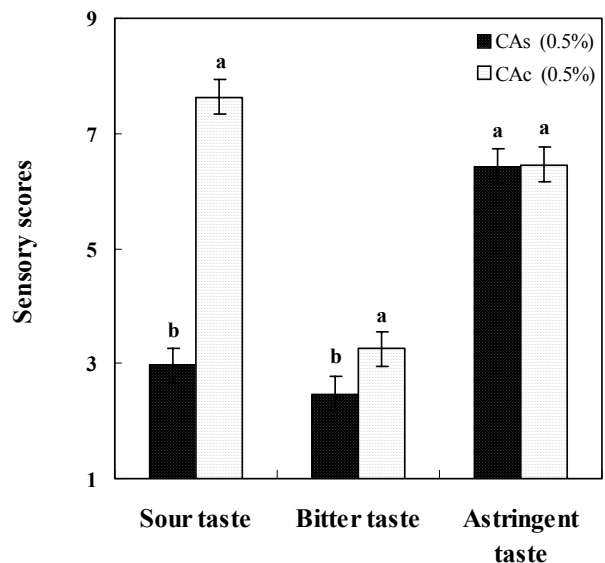
<sup>2)</sup>Lightness. <sup>3)</sup>Redness. <sup>4)</sup>Yellowness.

<sup>5)</sup>Values are mean ± standard deviations of triplicate determinations, different superscripts within a column indicate significant differences at p<0.05.

결과는 Table 4와 같다. CAs 및 CAC의 L\*값은 81.95~82.97로 차이를 보이지 않았으며 재료로 사용한 키토산(89.18)보다는 유의적으로 낮은 값을 보였다. 적색도를 나타내는 a\*값은 CAs가 0.01로 CAC와 키토산의 -0.34~-1.00보다 높았으며 b\*값도 CAs는 12.40로 CAC 및 키토산의 5.83~9.89에 비하여 높았다. Kim 등(28)은 pH를 달리한 acetate buffer에 키토산을 녹여 동결건조한 CAC의 색상을 측정된 결과 pH 7에서 L\*값이 가장 높았고, 옅은 갈색을 띠며, 음료나 백색의 식품에 첨가할 경우 약간의 착색효과를 나타낸다고 하였으며 분자량, 용매, 농도, 건조방법 등에 따라서 색상의 차이가 있다고 하였다. 특히, CAs의 경우는 키토산에 결합된 ascorbic acid의 산화가 색상에 영향을 미친 것으로 생각되나 식품에 첨가하였을 경우 식품의 색상에 뚜렷한 변화를 미칠 정도는 아닌 것으로 사료된다.

**관능검사**

CAs와 CAC를 증류수에 0.5% 농도로 용해시켜 관능검사를 행한 결과는 Fig. 1과 같다. 일반적으로 제조하고 있는



**Fig. 1. Sensory evaluation of chitosan-ascorbate and chitosan-acetate.**

Abbreviations: See Table 1.

Sensory scores of all attributes were evaluated from non at all (1 point) to very strong (9 points). Values are mean ± standard deviations of 25 panels, different superscripts within a column indicate significant differences at p<0.05.

시판 수용성 키토산은 초산에 키토산을 녹인 CAC로 신맛과 떼은맛이 강하고 약간의 쓴맛이 있다. 본 실험의 결과, CAs는 신맛이 2.97점으로 “대단히 낮다”로 평가되었으나 CAC는 7.63점으로 “강하다”로 평가되었다. 쓴맛은 CAs, CAC 모두 2.47~3.26점으로 “아주 약하다”에서 “보통 약하다”로 평가되었으나 CAs가 CAC보다 낮은 값을 보였다. 떼은맛은 CAs

와 CAc가 뚜렷한 차이 없이 6.43~6.46점의 높은 강도를 나타내었다. 일반적으로 수용성 키토산은 분자량이 작을수록 쓴맛이 약해지는 반면 클수록 떫은맛은 강해지는 것(28)으로 알려져 있다. 따라서 식품에 적용할 경우는 사용하는 농도나 식품의 종류 등을 감안하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

### 요 약

동결건조한 chitosan-ascorbate(CAs)와 chitosan-acetate(CAc)의 용해성, 항균성, 항산화성을 비교하였다. 용해성을 조사한 결과 CAs는 증류수, 식초, 녹차, 소주, 맥주, 적포도주에 0.5%이상의 농도로 용해되었으나 간장, 두유, 우유, 오렌지주스, 커피, 참기름, 대두유에는 녹지 않았다. CAc도 CAs의 경우와 비슷하나 맥주에서는 0.1%이하의 농도에서 용해되었으며 적포도주에서는 커드를 형성하였다. CAc의 전자공여능, 항산화능 및 SOD활성은 CAc에서는 각각 0, 40.0 및 10.0%였으나 CAs의 경우는 48.2, 90.6 및 67.5%로 CAc보다 높은 활성을 나타내었다. *B. circulans*, *B. brevis*, *B. licheniformis*, *B. arabitane*, *B. sterothermophilus*에 대한 CAs와 CAc의 최소저해농도(MIC)는 다같이 200 µg/disc이었으며, *E. coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *B. cereus*, *B. subtilis*에 대한 MIC는 다같이 400 µg/disc으로 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. CAs와 CAc의 Hunter's L\*값은 81.95~82.97로 뚜렷한 차이가 없었으나 Hunter's a\* 및 b\*값은 CAs가 높았다. 관능검사 결과, CAs는 CAc에 비하여 신맛과 쓴맛은 낮았으나 떫은맛은 뚜렷한 차이가 없었다. 결론적으로 CAs는 CAc에 비하여 항균성, 항산화성 및 기호도 측면에서 우수하여 식품에의 활용이 기대된다.

### 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 대구가톨릭대학교 해양바이오산업연구센터의 지원에 의한 것입니다.

### 문 헌

1. Tsujikawa T, Kanauchi O, Andoh A, Saotome T, Sasaki M, Fujiyama Y, Bamba T. 2003. Supplement of a chitosan and ascorbic acid mixture for Crohn's disease. A pilot study. *Nutr* 19: 137-139.
2. Muzzarelli RAA. 1977. *Chitin*. Pergamon Press, Oxford, UK. p 5-9.
3. Nishimura K, Nishihara S, Nishi N, Tokura S, Azuma I. 1984. Immunological activity of chitin and its derivatives. *Vaccine* 2: 93-99.
4. Kojima K, Yoshikuni M, Suzuki T. 1979. Tributylborane-initiated grafting of methyl methacrylate onto chitin. *J Appl Polym Sci* 24: 1587-1593.
5. Jung BO, Chung TS. 1998. Studies on the development of

- polymeric flocculants of chitosan system. *J Korean Ind Eng Chem* 9: 451-456.
6. Knorr D. 1984. Use of chitinous polymers in food. A challenge for food research and development. *Food Technol* 38: 85-97.
7. Sanford PA. 1988. Chitosan, commercial uses and potential applications. Proc. the 4th International Conference on chito-chitosan held in Trondheim, Norway. p 51-69.
8. Hirano S, Kondo Y, Fujii K. 1985. Preparation of acetylated derivatives of modified chito-oligosaccharides by the depolymerization of partially N-acetylated chitosan with nitrous acid. *Carbohydr Res* 163: 338-341.
9. Akiyama K, Kawazu K, Kobayashi A. 1995. 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 reaction system. *Carbohydr Res* 279: 151-160.
10. Muzzarelli RAA, Tanfani F, Emanuelli M. 1984. Chelating derivatives of chitosan obtained by reaction with ascorbic acid. *Carbohydr Polym* 4: 137-151.
11. Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Shizukuishi M, Kobayashi E. 1994. Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect ascorbate. *Biosci Biotech Biochem* 59: 786-790.
12. Zoldners J, Kiseleva T, Kaiminsh I. 2005. Influence of ascorbic acid on the stability of chitosan solutions. *Carbohydr Polymer* 60: 215-218.
13. No HK, Lee KS, Kim ID, Park MJ, Kim SD, Meyer SP. 2005. Chitosan treatment affects yield, ascorbic acid content, and hardness of soybean sprouts. *J Food Sci* 68: 680-685.
14. Lee MY, Lee YK, Kim SD. 2004. Quality characteristics of calcium acetate prepared with vinegars and ash of black snail. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 593-597.
15. Seo SB, You HJ, Seo CS. 2003. Antibacterial and anti-inflammatory compositions with *Lnula helenium* L. extract and water soluble chitosan. *US Patent* 6521268.
16. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
17. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
18. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Pathol* 6: 493-496.
19. Lee MY, Park SY, Jung KO, Park KY, Kim SD. 2005. Quality and functional characteristics of chungkukjang prepared with various *Bacillus* sp. isolated from traditional chungkukjang. *J Food Sci* 70: 191-196.
20. Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. 1987. *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA. p 39-112.
21. Nishihara T, Kosugi M, Matsue Y, Nishikawa J, Takasaki A, Takubo Y. 1992. Antimicrobial activity of positive colloids against food poisoning bacteria. *J Antibacterial Antifungal Agents* 20: 241-245.
22. Jung BO, Chung SJ, Lee YM, Kim JJ. 2001. Antimicrobial activity and antioxidative activity of water soluble chitosan. *J Chitin Chitosan* 6: 12-17.
23. Hahn HG, Nam KD. 2004. Fungicidal activities of chitosan against plant pathogens. *J Chitin Chitosan* 9: 73-78.
24. Kendra DF, Hadwiger LA. 1984. Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to

- Fusarium solani* and elicits pisatin formation in *Pisum sativum*. *Exp Mycol* 8: 276-281.
25. Darmadji P, Lzumimoto M. 1994. Effect of chitosan in meat preservation. *Meat Sci* 38: 243-254.
  26. Wang SW. 1992. Inhibition and inactivation of five species of foodborn pathogens by chitosan. *J Food Prot* 55: 916-919.
  27. Kim CH, Choi JW, Chun HJ, Choi KS. 1997. Synthesis of chitosan derivatives with quaternary ammonium salt and their antibacterial activity. *Polym Bull* 38: 387-393.
  28. Kim DH, Lee C, Kim KO, Lee YC. 1999. Physicochemical and sensory properties of water soluble chitosan. *Korean J Food Sci Technol* 31: 83-90.

(2006년 6월 26일 접수; 2006년 7월 20일 채택)