

키토산 및 키토산올리고당의 생리 활성 기능

박헌국

동남보건대학 식품영양과

Heon Kuk Park

Department of Food & Nutrition, Dongnam Health College

Chitin은 새우나 게 등을 비롯한 해산 갑각류의 가공 폐기물로 버려지는 부패, 악취발생 등의 환경공해를 일으키며 처리비용 등 여러 가지 문제를 야기하던 물질이지만 최근에는 부가가치가 높은 chitosan 및 chitooligosaccharides로 가공되기 때문에 폐기물의 자원화와 미이용 자원의 개발 등 여러 가지 측면에서 기대가 모아지고 있는 다당류이다. 더욱이 chitin의 탈아세틸화로 얻어지는 chitosan은 polycation의 성질을 가지고 있어서 현재 응집제로서 각종 공업 분야에 널리 이용되고 있으며 최근에는 그 외에도 다양한 생리적 기능성을 가지고 있다는 사실이 밝혀지면서 의료, 생화학, 화장품, 식품, 화학 공업 및 농업용 등 다양한 분야에 응용 가능한 신소재로서 기대가 높아지고 있다.

그러나, chitosan은 생리적 기능은 우수하지만 물에 용해되지 않고 점도가 높으며 짙은맛이 나기 때문에 식품을 비롯한 기타 응용분야에의 이용이 제한되고 있다. 따라서 많은 연구자들은 이와 같은 물리적인 장애를 개선함으로써 chitosan 자체가 갖는 우수한 생리적 기능을 이용할 뿐만 아니라 항종양성을 비롯한 새로운 생리적 기능을 갖는 chitosan 유도체의 개발을 시도하고 있다. Chitosan 유도체 중에서도 chitooligosaccharides는 chitosan의 가수분해로 얻어지는 저분자 화합물이므로 물에 잘 용해되며 점도가 낮고 용액이 단맛을 낼 뿐만 아니라 chitosan이 갖지 않는 새로운 생리적 기능성을 갖는 것으로 알려지면서 관심이 집중되기 시작하였다.

본고에서는 chitosan과 chitooligosaccharides의 생리 활성 기능에 대한 지금까지의 연구결과를 소개하고자 한다.

1. Chitosan의 생리 활성 기능

(1) 난소화성

Chitosan 분말을 Prosky법¹⁾에 기초하여 식이 섬유량을 측정하면 chitosan은 거의 식이 섬유

유로서 정량된다. 또한, chitosan을 사람에게 섭취시켜 그 분변을 분석하였을 때 사람에게서는 chitosan이 거의 소화되지 않았다. 따라서 chitosan은 난소화성이며, 가소화 에너지는 0 Kcal/g 이라고 할 수 있다.

(2) 물질 흡착성

Chitosan은 I₂, Br₂ 등 할로젠 분자와 복합체를 형성한다. Shigeno 등²⁾은 chitosan-I₂ 복합체에 대하여 조사한 결과, 이 복합체가 헥소사비닐 2잔기당 1분자의 Br₂가 결합한 일종의 전하이동 복합체라 하였다. Chitosan은 슬폰기를 갖는 산성 색소와도 결합한다. Knorr³⁾는 식용색소인 적색 40호가 chitosan에 흡착하며, 흡착된 색소는 pH 2.0~6.0 범위에서는 이탈되지 않는다고 보고하였다. 따라서 chitosan은 여러 물질의 비소화성 운반체로서의 이용이 기대된다.

(3) 방사성 스트론튬의 체외 배출 효과

김 등⁴⁾은 마우스에 칼슘과 키토산을 투여하여 이들의 방사성 스트론튬의 체외 배출 효과를 조사하였다. ⁸⁵Sr만 처리한 대조군에서 7일간 투여량의 61.1% 정도가 변을 통해 체외로 배출되었고, 키토산 및 칼슘 1% 분말을 각각 30일간 구강섭취시킨 후 ⁸⁵Sr를 투여한 경우는 80.6%와 82.8%가 체외로 배출되었다. 키토산과 칼슘을 1% 용액상태로 처치한 군에서는 73.5%와 79.4%가 체외로 배출되었으며, 키토산과 칼슘을 혼합하여 1% 수용액 상태로 공급한 군은 87.9%가 체외로 배출되었다. 이는 방사성 스트론튬이 위장관을 통해 골에 침착되기도 전에 키토산과 칼슘 혼합 용액이 강력한 착화제로 작용하여 방사성 스트론튬을 체외로 배출시키는 것으로 판단하였다.

Table. Cumulative fecal and urinary excretion and bony retention of ⁸⁵Sr in mice.

Groups	Fecal and urinary excretion	Bony retention
Control (n=10)	64.8±2.4	9.5±2.3
Group1 (n=10)	80.6±3.4	3.1±1.0
Group2 (n=10)	82.8±2.4	3.9±2.1
Group3 (n=10)	87.9±2.9	2.5±0.8
Group4 (n=10)	73.5±1.9	3.6±0.6
Group5 (n=10)	79.4±3.8	2.6±0.3

(4) 혈압 조절 작용

加藤 등⁵⁾은 chitosan의 투여가 정상 쥐 및 자연 발증 고혈압 쥐의 어느 것에 있어서도 고염식에 의한 혈압 상승을 억제한다고 보고하였다. 더욱이 田口 등⁶⁾에 의하면 보통사람들에게 고염식(식염13g, 1,100Kcal/meal)을 섭취시켰을 때 1시간 후에 유의적으로 혈압이 상승하였으나 1주일 후의 동시각에 고염식과 함께 약 4g의 chitosan을 섭취시키면 혈압 상승이 소실되었다고 보고하였다.

Table. Content of Na⁺ and Cl⁻ in the excrement of rat.

	Content (mg/day/rat)	
	Na ⁺	Cl ⁻
Alginic acid	7.00±1.38	1.20±0.40
Chitosan	1.38±0.18	9.60±2.08
	p<0.01	p<0.02

(5) 혈중 cholesterol 저하 작용

Sugano 등^{7,8)}은 쥐를 사용하여 chitosan에 의한 혈중 및 간장중의 cholesterol 개선 작용을 보고하였다. 즉, 고 cholesterol을 함유한 사료에 chitosan을 2~5% 첨가하여 쥐를 20일간 사육하면 사료 섭취량과 발육에 그다지 영향을 주지 않고 혈중 및 간장 중의 cholesterol치가 현저히 감소하였다. 이러한 chitosan의 cholesterol 개선 작용은 Jennings 등⁹⁾, Kobayashi 등¹⁰⁾과 Nagivary 등¹¹⁾에 의해서도 동물을 사용하여 동일한 결과를 얻었다.

한편 Maezaki 등¹²⁾은 사람을 대상으로 한 chitosan 섭취 실험을 행하여 chitosan에 의한 혈중 cholesterol 개선 작용을 발힘과 아울러 그 작용 메카니즘에 대하여 보고하였다. 즉, 시험전 대조기 1주간은 chitosan 무첨가 비스킷을 3개/일, 시험기 전반 1주간은 0.5g의 유효 chitosan을 함유하는 비스킷을 3개/일(chitosan 1.5g/일), 후반 1주간은 6개/일 (chitosan 3g/일), 시험 종료 후의 대조기 1주간은 chitosan 무첨가 비스킷을 3개/일, 각각 섭취시켜 chitosan 섭취 전후의 혈중 지질 및 분변 중의 담즙산 배설량을 조사하였다. 그 결과 chitosan 섭취에 의해 혈중 총 cholesterol치가 유의적으로 감소하였고 HDL-cholesterol은 유의적으로 상승하였으나 chitosan의 섭취를 중지하면 원래대로 환원되는 경향을 보였다. 또 chitosan의 섭취에 의해 1차 담즙산의 cholic acid와 chenodeoxycholic acid의 분변중의 배설량이 유의적으로 증가하였고 섭취를 중지하면 감소하였다. 이러한 결과들을 종합하면 chitosan은 소화관내에서 담즙산과 결합하여 변중으로 배설시킴으로써 담즙산의 장관 순환

을 막고 그 결과 체내 cholesterol이 감소하고 혈중 cholesterol치를 저하시키는 것이라고 생각된다.

Table. Effect of chitosan intake on the content of human serum cholesterol.

Lipid in serum	Content		
	Control I	Chitosan intake	Control II
Total cholesterol (mg/dl)	189± 3	177± 4	182± 6
HDL-cholesterol (mg/dl)	51± 3	56± 3	54± 4
Triglyceride (mg/dl)	127±13	128±11	131±12
Phospholipid (mg/dl)	229± 7	235± 5	231± 5
Free fatty acid (μEq/l)	394±61	451±42	539±78
Arteriosclerosis index	2.78±0.20	2.18±0.13	2.48±0.25

Table. Effect of chitosan intake on fecal bile acids.

Bile acid	Fecal excretion of bile acid(μmol/day)			
	Control I	Chitosan intake		Control II
		First half	Last half	
Cholic acid(A)	53±33	134±49**	156±63**	52±18
Deoxycholic acid(B)	170±44	152±53	109±22	114±26
Chenodeoxycholic acid(C)	55±33	141±73*	95±22	44±14
Lithocholic acid(D)	188±49	108±47†	107±35*	101±32*
(A+B)	223±46	286±74	264±70	166±23
(C+D)	243±43	249±65	202±30	146±34**
(A+B)/(C+D)	0.97±0.18	1.32±0.25	1.35±0.34	1.36±0.25
Primary bile acid(A+C)	108±65	275±121*	251±79	96±29
Secondary bile acid(B+D)	358±87	260±88	216±53*	216±57*
Total bile acid	499±95	594±152	539±113	366±70*

(6) 장내 대사에 대한 작용

Tarada 등은 Maezaki 등의 보고와 동일한 사람에 대하여 chitosan 섭취 시험에 있어서 각 시험기의 최종일에 그날에 배설한 모든 분변을 채취하였고 그 중에 함유된 장내 균총 및 장내 세균에 의하여 생성된 부패 물질 및 휘발성 지방산의 양을 조사하였다. 그 결과 장내 균총의 큰 변화는 보이지 않았으나 lecithinase negative *Clostridia*가 유의적으로 감소하였

다. Lecithinase negative *Clostridia*는 섭취한 전구 물질을 장내에서 발암 물질로 전환한다고 보고된 β -glucuronidase를 생산하는 것으로 알려져 있으며 이 균의 감소가 요망되고 있는 균이다.

한편 장내 세균에 의하여 생산된 부패성 물질에 대하여는 chitosan 섭취에 따라 분변 중의 ammonia, phenol, *p*-cresol, indole이 각각 유의적으로 감소하였다. 이들의 부패성 물질은 동물 시험에 있어서 간장암, 방광암, 피부암 등의 promoter인 것으로 보고되어 있는데 chitosan을 섭취하면 이들 부패성 물질들이 감소하여 장내 대사에도 좋은 작용을 나타내는 것으로 판단된다.

(7) 항균 작용

内田 등¹³⁾은 chitosan 농도와 *Fusarium*속의 곰팡이에 대한 항곰팡이 활성의 관계에 대하여 조사하여 *Fusarium*속의 곰팡이는 chitosan 0.1% 농도에서 8일간 완전히 증식이 저해되었다고 보고하였다. 또 内田 등은 대장균의 증식에 미치는 chitosan 농도의 영향에 대해서도 조사하였으며 chitosan 0.015% 이상을 함유하는 배지에서는 대장균의 증식이 완전히 저지된다고 보고하였다.

Table. Effect of chitosan concentration on the growth of *Fusarium solani*.

Treatment	Growth ratio (%)		
	3 day	4 day	6 day
Control	100	100	100
Chitosan 0.025%	84	87	92
0.050%	17	35	54
0.100%	0	0	0

Table. Effect of the degree of deacetylation (DDA) of chitosan on the growth of *Fusarium solani*.

DDA	Growth ratio (%)		
	3 day	5 day	8 day
Control	100	100	100
66%	82	88	93
79%	63	76	85
90%	50	70	81

Table. Antifungal activity of chitosan.

Fungi	66% deacetylated chitosan			91% deacetylated chitosan		
	1mg/ml	5mg/ml	10mg/ml	1mg/ml	5mg/ml	10mg/ml
<i>Aphanomyces euteiches</i>	96± 7	91± 6	74±4	109± 9	80± 4	80± 8
<i>Phytophthora megasperma</i>	NT	42±13	33±7	132±11	32± 3	25±10
<i>Phythium paroecandrum</i>	93±10	89± 5	16±4	99± 2	19± 9	15± 5
<i>Collectotrichum phaseoli</i>	109± 7	86±20	7±2	94± 3	32±13	11± 2
<i>Fusarium oxysporum</i>	98± 3	98± 3	15±1	99± 5	40± 2	15± 1
<i>Fusarium solani</i>	97± 3	83± 9	46±3	71±12	48±15	43± 7
<i>Rhizoctonia solani</i>	81± 2	68± 4	64±5	82± 7	70± 4	60± 6

Table. Minimal inhibition concentration(MIC) of chitosan.

Strain	MIC (%)	
	Chitosan	Chitosan hydrolyzates (50mg reducing sugar/g)
<i>E. coli</i>	0.025	0.025
<i>P. aeruginosa</i>	0.040	0.020
<i>B. subtilis</i>	0.050	0.020
<i>S. aureus</i>	0.050	0.025

(8) 식물의 생장 촉진 작용

福井 등^{14,15)}은 chitosan을 각종 작물에 종자 피복, 토양 혼화, 주입 등의 다양한 방법을 통하여 처리하였을 때 근경의 비대 및 수확 개체수의 증가 등이 일어난다고 보고하였다. 또한 chitosan을 사용하는 다양한 방법이 알려져 있으나 경제성과 실용성을 고려할 때 chitosan 용액에 의한 침지, 종자 피복, 주입 등 chitosan 용액으로 사용하는 방법이 가장 유효하다고 생각된다.

Table. 2nd investigation of expected rice yield.

Kinds	Spike/m ² (No.)	Flower/m ² (No.)	Ripening ratio (%)	Weight of 1,000 grains (g)	Production (kg/10a)	Plant height (cm)
Control	424.8	34238.9	90.1	29.8	618.3	60.7
Seed	479.0	44355.4	88.5	29.4	766.7	62.3
Raising seedling	436.6	33923.8	93.1	29.5	633.6	61.6
Seed+raising seedling	413.0	33246.5	91.7	30.2	626.1	62.3
Ripening	448.4	33271.3	87.1	30.4	599.0	60.4
Seed+ripening	377.6	34625.9	92.7	29.3	639.5	66.3
Raising seedling +ripening	424.8	27866.9	88.5	29.9	502.5	61.3
Seed+raising seedling +ripening	495.6	41977.3	91.4	29.7	774.9	63.5
500times, seed+ripening	460.0	35742.0	89.5	29.5	641.7	62.3
200times, seed+ripening	342.2	42261.0	94.0	29.2	788.7	63.0
100times, seed+ripening	413.0	40061.0	91.4	30.3	754.5	64.1

Table. Effect of chitosan on the productivity of potato.

Treatment	No. of plants	Total weight of potatoes (kg) (Ratio)	Total number of potatoes (Ratio)
Control	54	8.1(100)	109(100)
Chitosan powder	54	13.1(161)	164(150)
Chitosan solution	54	12.9(158)	160(147)

Table. Effect of chitosan on the quality of carrot.

Treatment	No. of plants	Average length (cm) (Ratio)	Average diameter (cm) (Ratio)	Average weight (kg) (Ratio)
Control	67	32.6 (100)	40.7 (100)	122.3 (100)
Chitosan powder	61	32.3 (99)	45.0 (111)	166.8 (136)
Chitosan solution	53	30.1 (92)	46.2 (114)	164.1 (134)

(9) 면역 부활 효과

Suzuki 등¹⁶⁾은 chitosan을 이용, ddY 마우스에 이식한 Ehrlich adenocarcinoma와 Sarcoma 180 복수형 종양에 대한 증식 억제 효과, chitosan을 복강내 투여한 마우스의 복강 macrophage의 lysozyme 효소 활성과 *Staphylococcus aureus* β H248 세균에 대한 식균능의 변화 등을 조사하였다. 즉, chitosan을 멸균 생리식염수로 현탁하여 각각 1~50mg/kg의 양으로 ddY 마우스의 복강 내로 1일 3회씩 투여하고 2일 후에 암세포 1×10^5 개를 복강 내에 이식한 후 60일간 생존 마우스의 수를 관찰한 결과 50mg/kg을 투여한 경우 월등한 종양 증식 억제 효과를 보였다. 또한 미리 chitosan을 투여한 마우스의 복강 내에 *Staphylococcus aureus*를 이식하고 복강 내 다핵형 백혈구(PMN)의 식균능을 조사한 결과 1~50mg/kg을 투여하였을 때에 현저하게 생존율이 증가되었다. 또 chitosan을 50mg/kg씩 적 일 3회 복강 내에 투여하고 2일 후에 복강 내 부착성 세포를 수집하여 복강 macrophage의 lysozyme 활성을 조사한 결과 현저한 면역 부활 효과를 나타낸다는 것이 확인되었다.

大川 등¹⁷⁾은 황색포도상구균의 감염에 대한 chitosan의 방어효과를 조사한 결과, 미처리군의 생존률이 5%인데 반하여 50mg/kg 투여군의 생존률은 약 80%로 BCG와 동등한 효과를 보였다고 보고하였으며, chitosan 투여 마우스 복강식세포의 *in vitro* 황색포도상구균 식균능을 조사한 결과, chitosan을 투여한 마우스의 식균능이 증대되었다고 보고하였다.

국내에서는 류¹⁸⁾가 새우 껍질로부터 추출한 chitosan의 항암 및 면역 활성화에 대해서 조사하여 보고하였다. 류는 chitosan이 ICR 마우스에 이식한 고형종양 Sarcoma-180에 대해 항종양 활성을 나타내지만 *in vitro* 실험을 수행한 결과 Sarcoma-180에 대해 직접적인 세포독성작용은 보이지 않았으므로 chitosan이 나타내는 항종양작용이 종양세포에 대한 직접적인 세포독성에 기인하지 않고 간접적인 세포독성 또는 체내의 면역반응을 자극하므로써 나타나는 효과일 것이라고 주장하였다.

한편, 戶倉¹⁹⁾은 chitin 및 chitosan 유도체를 대상으로 BALB/c 계 마우스의 동일계 종양 Meth-A에 대한 종양생육저지활성을 조사한 결과 70% deacetylated chitin인 DAC-70이 매우 강한 생육저지효과를 보인다는 사실을 보고하였다.

Table. Effects of chitosan extracted from *Solenocera promineta* on the number of circulating leucocytes in ICR mice.

Treatment	Dose (mg/kg)	Day1	Day2	Day4	Day7
Control	0	7,323 ± 640	7,360 ± 322	7,554 ± 630	7,600 ± 440
Chitosan	30	10,429 ± 453	10,110 ± 360	9,820 ± 240	8,160 ± 550
	40	10,600 ± 531	10,219 ± 530	9,990 ± 586	8,400 ± 340

Table. Effects of chitosan extracted from *Solenocera promineta* on the number of peritoneal exudate cells in ICR mice.

Treatment	Dose (mg/kg)	Day1	Day2	Day4
Control	0	2.90±0.24	2.80±0.26	2.70±0.50
Chitosan	30	3.50±0.58	3.01±0.60	2.89±0.47
	40	3.63±0.62	3.21±0.33	3.06±0.70

Table. Effects of chitosan extracted from *Solenocera promineta* on the immunoorgan weight of ICR mice.

Treatment	Dose (mg/kg)	Liver weight (mg)	Weight increase (%)	Spleen weight (mg)	Weight increase (%)	Thymus weight (mg)	Weight increase (%)
Control	0	1,323±204	-	214±23.65	-	87.2± 8.36	-
Chitosan	30	1,502±246	13.53	248±50.43	15.88	93.3±22.68	12.72
	40	1,621±214	22.52	263±43.62	22.89	104.4±40.13	19.72

Table. Effects of chitosan extracted from *Solenocera promineta* on the phagocytic activity of macrophage in ICR mice.

Treatment	Dose (mg/kg)	Phagocytic index
Control	0	0.038±0.006
Chitosan	30	0.045±0.002
	40	0.041±0.010

Table. Interleukin-2 production by spleen cells of tumor bearing BALB/c mice injected with COS-6 and chitosan with different molecular weight.

Treatment	IL-2 concentration (pM/4×10 ⁵ cells)	Treatment	IL-2 concentration (pM/4×10 ⁵ cells)
Control	0 ^a	C-Control	1.37±3.16 ^c
Lentinan	1.27±2.29 ^b	C-Lentinan	43.22±34.46 ^b
COS-6	0.43±0.92 ^b	C-COS-6	6.57±9.01 ^c
CH-4	0.23±0.48 ^b	C-CH-4	3.76±5.69 ^c
CH-5	0.58±1.15 ^b	C-CH-5	47.49±47.90 ^b
CH-6	0.65±1.30 ^b	C-CH-6	45.30±32.30 ^b
Chitosan	4.82±6.40 ^a	C-Chitosan	95.03±46.24 ^a

Table. Effect of chitin and chitosan on survival of mice infected intravenously with *Staphylococcus aureus*.

Sample	Dose (mg/kg × 3)	Mortality (death/total mice)			Survival (%)
		Exp. 1	Exp. 2	Total	
Control		9/10	10/10	19/20	5
Chitin	5	2/10	10/10	12/20	40
	50	4/10	1/10	5/20	75
Chitosan	1	8/10	-	8/10	20
	5	5/10	-	5/10	50
	50	2/10	-	2/10	80
BCG	50	-	2/10	2/10	80

Table. Phagocytic activity of cells by the phagocytes from mice administered with chitin and chitosan.

Macrophage obtained from mice treated with :	Average number of bacteria incorporated to phagocytes	
	per phagocytes (5×10^3)	per mouse
Saline (Control)	250	1,250
Chitin	1,280	30,720
Chitosan	1,250	47,500

(10) 생체세포 친화성

① 조직반응

키토산 면을 소에 삽입시킨 경우, 삽입부위의 피부에서 종장, 열감, 동통, 파동과 같은 증세는 전혀 나타나지 않았다. 키토산 삽입 1주째에 피브린 망상구조가 형성되어 수많은 다핵형 백혈구가 집적되었으며, 인근 조직에서는 섬유아세포의 활성화가 나타났다. 2주째에는 다핵형 백혈구의 집적상은 소실되어 키토산 섬유 주위에는 이물거대세포가 관찰되었으며, 혈관을 수반하는 새로운 조직이 형성되었다.

② 생체내 분해성

키토산은 소의 체내에서는 1주째에 새로 형성된 육아조직의 중심에 점조한 농축같은 물질이 관찰되었지만 2주째에는 중심부까지 육아조직이 형성되어 그 물질은 소실되었다. 이때 키토산 섬유의 굵기는 1주째의 약 1/2로 감소되었다. 3주째에도 2주째의 결과와 거의 같은 현상을 볼 수 없었다.

③ 독성

키토산의 안전성에 대해서는 2~3개의 연구보고가 있으며, 이들 보고에서는 안전성에

문제가 되지 않는다고 하였다. Seo²⁰⁾는 탈아세틸화도가 80%인 키토산에 대하여 경구투여에 의한 독성을 검토한 결과 어느 것이나 안전하다고 보고하였다. 三田²¹⁾이 마우스와 쥐에 대하여 독성을 검토한 결과, 마우스와 쥐의 LD₅₀이 경구투여의 경우 1.5g/kg 이상, 피하투여의 경우 10g/kg 이상, 복강내 투여의 경우는 마우스가 5.2g/kg, 쥐가 3.0g/kg이었다고 보고하였다. 이상과 같이 키토산에 대하여 경구, 피하, 복강투여에 있어서는 설탕이 안전성에 문제가 되는 양보다도 더 많은 양에서도 안전한 것으로 밝혀졌다. 그러나 아직까지 개, 고양이 및 소와 같은 대형 동물에 대한 안전성에 대해서는 전혀 검토되지 않았다.

Table. Toxicity of chitosan(DDA 80%).

Item	Method	Result
Mutagenicity	Revert mutagenesis of <i>Sal. typhimurium</i>	negative
Acute toxicity	Orally uptake of 2000mg chitosan/kg weight	negative
Subacute toxicity	Orally uptake of 100, 400, 1000mg chitosan/kg weight during 28 days	negative
Chronic toxicity	Orally uptake of 50, 200, 500mg chitosan/kg weight during 6 months	negative
Hemolysis	Adding chitosan solution to rabbit blood	negative
Allergenicity	Orally uptake of 30mg chitosan/day during 2 weeks	negative

2. Chitooligosaccharides의 생리 활성 기능

Chitooligosaccharides는 현재 우리 나라에서 식품첨가물로 지정되어 있으며 여러 가지 가공식품에 기능성 식품소재로서 첨가되어 사용되고 있을 뿐만 아니라 chitooligosaccharides의 기능성을 이용한 건강식품으로도 개발되어 시판되고 있다. Chitooligosaccharides는 다수의 기업체로부터 많은 양이 생산되어 이용되고 있으며 자사 제품의 생리적 기능이 우수하다는 것을 내세워 광고하고 있다.

현재까지 보고된 chitooligosaccharides의 생리적 기능성에 대한 연구결과로는 chitooligosaccharides의 항균성, chitooligosaccharides의 면역부활작용, chitooligosaccharides의 항종양성, chitooligosaccharides의 식물세포 활성화 작용 등이 있다.

(1) Chitooligosaccharides의 항균성

Uchida 등²²⁾은 chitosan 및 chitooligosaccharides의 항균작용에 대한 실험에서 40~50mg 환원당/g chitosan 가수분해물이 chitosan보다 높은 항균성을 보였으며, 중합도 3~4를 주체

로 하는 가수분해물 보다는 중합도 5~6 이상의 것이 주성분인 가수분해물이 항균성이 강하였다고 보고하였다. 국내에서는 조²³⁾가 chitosan 및 그 부분가수분해물을 이용한 항균실험에서 분자량 280만의 고분자 chitosan보다는 분자량 수만의 저분자 chitosan이 높은 항균성을 갖는다고 보고하였다. 필자²⁴⁾는 chitosan에 cellulase와 chitosanase를 처리하여 chitooligosaccharides를 제조하였으며 이들의 식중독균에 대한 항균작용을 조사한 결과 높은 항균성과 콜로니형성 저해활성을 갖는다는 사실을 확인하였다.

Table. Antifungal activity of chitooligosaccharides.

Fungi	Radial growth (% of control)
<i>Rhizopus nigricans</i>	80±5
<i>Helminthosporium oryzae</i>	88±5
<i>Fusarium oxysporum</i>	82±4
<i>Alternaria alternata</i>	94±3
<i>Aspergillus niger</i>	116±8
<i>Cladosporium cucumerinum</i>	114±10
<i>Venturia inaequalis</i>	35±1

Table. MIC of chitooligosaccharides.

Strains	Minimum inhibitory concentration (%)	
	Chitooligosaccharide I	Chitooligosaccharide II
<i>Bacillus cereus</i>	1.5	1.0
<i>Bacillus subtilis</i>	1.5	1.0
<i>Candida albicans</i>	above 2.0	above 2.0
<i>E. coli</i>	1.5	1.0
<i>E. coli</i> O157:H7	1.5	1.0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	below 0.5	below 0.25
<i>Listeria monocytogenes</i>	2.0	1.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.5	1.0
<i>Salmonella enteritidis</i>	above 2.0	2.0
<i>Salmonella typhimurium</i>	1.0	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.5	1.0
<i>Streptococcus mutans</i>	1.0	0.5

Table. Colony forming inhibitory activity of chitoooligosaccharides.

Strains	Colony forming inhibitory activity (%)	
	Chitoooligosaccharide I	Chitoooligosaccharide II
<i>Bacillus cereus</i>	94.10	65.90
<i>Bacillus subtilis</i>	30.45	68.26
<i>Candida albicans</i>	99.99	99.97
<i>E. coli</i>	61.70	73.03
<i>E. coli</i> O157:H7	40.80	33.89
<i>Lactobacillus plantarum</i>	89.51	100.00
<i>Listeria monocytogenes</i>	98.35	98.87
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58.19	100.00
<i>Salmonella enteritidis</i>	89.62	79.51
<i>Salmonella typhimurium</i>	98.29	82.80
<i>Staphylococcus aureus</i>	98.61	90.03
<i>Streptococcus mutans</i>	76.37	97.62

(2) Chitoooligosaccharides의 항종양성

Chitoooligosaccharides는 종양생육저지효과가 있는 것으로 보고되고 있다. Tokoro 등²⁵⁾은 중합도 6인 chitoooligosaccharides가 BALB/c 계 마우스에 이식한 고형 종양 Meth-A에 대한 종양생육저지활성을 나타내었다고 보고하였다. 필자²⁴⁾는 국내인에서 기인한 종양세포에 대한 chitoooligosaccharides의 *in vitro* 항종양활성을 조사한 결과 폐암, 방광암, 대장암, 위암, 유방암 세포에 대한 항종양활성을 갖는다는 사실을 확인하였다.

Table. Effect of chitoooligosaccharides on tumor growth and immune organs of BALB/c mice implanted with sarcoma 180 tumor cell.

Sample	Number of mouse	Dose (mg/kg)	Tumor weight (mg)	Inhibition rate (%)	Spleen (mg/10g)	Thymus (mg/10g)
Exp. I						
Control	12	-	1038.4±534.9	-	112.7±20.3	29.1±7.3
COS	12	100	405.7±243.5	60.93	99.4±26.4	18.2±5.4
	12	50	398.8±263.7	61.60	117.2±21.3	37.0±10.51
Exp. II						
Control	12	-	1017.2±439.0	-	70.3±24.2	15.9±6.4
COS	12	50	393.4±267.3	61.3	84.2±22.3	23.2±8.0
	12	20	517.6±375.3	49.1	87.3±34.5	21.1±6.1
	12	10	374.7±312.7	63.2	84.2±15.5	23.6±6.3

Table. Effect of chitooligosaccharides on survival prolongation of BALB/c mice implanted with sarcoma 180 tumor cell.

Sample	Number of mouse	Dose (mg/kg)	Survival days (X±9, day)	Survival prolongation rate (%)
Control	12	-	16.17	-
COS	12	50	16.83	4.1
	12	20	17.33	7.2
	12	10	18.17	12.4

Table. Cytotoxic effect of chitooligosaccharides on various cell lines.

Cell lines	Characteristics	IC ₅₀ (μg/ml)	
		Chitooligosaccharide I	Chitooligosaccharide II
Vero E6	normal cell ¹	1,060.28	1,107.95
A549	human lung carcinoma	477.42	421.06
J 82	human bladder carcinoma	480.40	417.99
SNU-C4	human colon carcinoma	436.84	445.54
SNU-1	human stomach carcinoma	373.55	380.65
ZR75-1	human breast carcinoma	539.95	460.49

¹Africa green monkey kidney cell

(3) Chitooligosaccharides의 식물세포 활성화 기능

식물은 병원균에 감염되면 chitinase 및 β-1,3,-glucanase 등 병원균의 세포벽을 분해할 수 있는 효소와 병원균의 증식을 저해하는 작용을 갖는 phytoalexin 등의 생성을 유도, 분비하며 식물세포벽의 주성분인 cellulose와 결합하여 조직의 강도를 높이는 lignin 등의 생합성을 촉진하기도 하는 등 소위 자기방어능력이 있는 것으로 알려져 있다²⁶⁾. 그런데 6~7량체의 chitooligosaccharides는 병원균 세포벽의 특이한 부위에 결합하여 병원균의 생육을 저해함과 동시에 식물세포의 특이적인 부위를 인식하여 식물세포 DNA를 활성화하고 가수분해 효소 및 phytoalexin의 생합성 효소, protease 저해 물질, 항균 단백질 등 일반 단백질의 생합성을 높이는 등 식물의 자기방어기구의 발현에 있어서 방아쇠의 역할을 하는 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 따라서 chitooligosaccharides는 식물세포의 활성화를 통하여 인위적으로 식물의 생산성을 향상시키는데 응용될 수 있을 것으로 기대되고 있다.

(4) Chitooligosaccharides의 칼슘흡수 촉진작용

전 등²⁸⁾은 쥐에 칼슘결핍 식이를 급이하여 칼슘결핍을 시도한 뒤 3주간 칼슘이 첨가된 실험식이를 제공하면서 chitooligosaccharides의 칼슘흡수 촉진작용을 조사하였다. Chitooligosaccharides 1%를 굴껍질 유래의 염화칼슘과 함께 쥐에 섭취시켰을 경우 변으로 배출되는 칼슘량은 약 75% 감소하였으며, 대퇴골의 뼈골절강도는 대조군보다 약 20%, 올리고당 무첨가군보다 약 15% 증가하였다.

Table. Daily fecal and urinary Ca excretion in the addition of chitooligosaccharides.

	Fecal excretion (mg/d)	Urinary excretion (mg/d)
Ca-Deficient	14.16 ± 1.75	0.13 ± 0.01
Control	64.10 ± 2.12 ^a	0.89 ± 0.65
CaCl ₂	30.41 ± 3.31 ^b	1.37 ± 0.66
CaHPO ₄	32.13 ± 5.84 ^b	1.53 ± 1.18
CaCl ₂ + COS(1%)	14.41 ± 2.20 ^c	0.43 ± 0.21
CaHPO ₄ + COS(1%)	21.10 ± 4.41 ^{bc}	0.30 ± 0.02
CaCl ₂ + COS(3%)	29.97 ± 3.66 ^b	0.87 ± 0.36
CaHPO ₄ + COS(3%)	30.36 ± 4.11 ^b	0.47 ± 0.21

Table. Ash and Ca content, and breaking force of femur in the addition of chitooligosaccharides.

	Ash (mg)	Ca (mg)	Breaking force (kg)
Ca-Deficient	102.50 ± 2.61	29.03 ± 1.07	2.58 ± 0.60
Control	268.75 ± 10.24 ^{bc}	92.93 ± 4.45 ^{bc}	8.48 ± 0.48 ^{ab}
CaCl ₂	255.33 ± 4.73 ^c	89.41 ± 2.35 ^c	8.80 ± 0.54 ^{ab}
CaHPO ₄	267.97 ± 6.25 ^{bc}	92.29 ± 1.85 ^{bc}	9.25 ± 0.49 ^{ab}
CaCl ₂ + COS(1%)	299.65 ± 16.03 ^{ab}	107.76 ± 5.79 ^a	10.15 ± 0.53 ^a
CaHPO ₄ + COS(1%)	277.34 ± 10.55 ^{bc}	95.31 ± 2.84 ^{bc}	8.60 ± 0.66 ^{ab}
CaCl ₂ + COS(3%)	326.25 ± 10.30 ^a	103.55 ± 3.11 ^{ab}	9.15 ± 0.73 ^{ab}
CaHPO ₄ + COS(3%)	257.68 ± 10.95 ^c	97.47 ± 5.54 ^{abc}	8.12 ± 0.43 ^b

참 고 문 헌

1. Prosky, L., Asp, N. G., Furda, I., DeVries, J. W., Schweizer, T. F. and Harland, B. 1985. Determination of total dietary fiber in foods and food products : Collaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68** : 677
2. Shigeno Y., Kondo K. and Takemoto K. 1980. *Makom. Chem.* **91** : 55
3. Knorr D. 1983. *J. Food Sci.* **48** : 36
4. 김영호, 범희승, 김지열, 노영복. 1997. 마우스에서 칼슘 및 Chitosan Metabolism이 방사성 스트론튬의 체외배출 효과에 미치는 영향. 한국키티킨토산연구회지. **2(4)** : 37~42
5. 加藤秀夫, 田口智子, 近藤万里. 1993. 日本農藝化學會誌67(大會講演 要旨集). 315
6. 田口智子, 加藤秀夫, 奥門拓道, 多嘉良稔. 1993. 日本農藝化學會誌67(大會講演 要旨集). p.315
7. Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y. and Hasegawa, Y. 1978. *Nutr. Pept. Int.* **18** : 531
8. Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., Fukuda, N. and Hasegawa, Y. 1980. *Am. J. Clin. Nutr.* **33** : 787~793
9. Jennings, C. D., Boleyn, K., Bridges, S. R., Wood, P. J. and Anderson, J. W. 1988. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.* **189** : 13
10. Kobayashi, T., Otsuka, S. and Yugari, Y. 1979. *Nutr. Rept. Int.* **19** : 327
11. Nagivary, J. J., Falk, J. D., Mill, M. L., Schmidt, M. L., Wilkins, A. K. and Bradbury, E. L. 1980. *Nutr. Rept. Int.* **20** : 677
12. Maezaki, Y., Tsuji, K., Nakagawa, Y., Kawai, Y., Akimoto, M., Tsugita, T., Takekawa, W., Terada, A., Hara, T. and Mitsuoka, T. 1993. Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males. *Biosci. Biotech. Biochem.* **57(9)** : 1439~1444
13. 内田泰. 1988. キチン・キトサンの抗菌性. *フードケミカル*. **1988-2** : 22~29
14. 福井春雄, 藤原公, 村岡高志, 次田隆志. 1989a. キチン・キトサンによる作物の生長促進効果 第1報 生長促進とその作用性. *日作四國支紀*. **26** : 1~8
15. 福井春雄, 正田敏幸, 藤原公, 村岡高志, 次田隆志. 1989b. キチン・キトサンによる作物の生長促進効果 第2報 各種作物への栽培適用性. *日作四國支紀*. **26** : 9~16
16. Suzuki, S., Okawa, Y., Okura, Y., Hashimoto, K. and Suzuki, M. 1982. in *Chitin and Chitosan Proceedings of the Second International Conference on Chitin/Chitosan*, ed. by Hirano, S. and Tokura, S. The Japanese Society of Chitin and Chitosan. Tottori Univ. Tottori. p.210
17. 大川喜男, 鈴木光, 鈴木茂生, 鈴木益子. 1988. キチン,キトサンのマウス黄色ブドウ球菌感染に対する防御能とその作用機作について. *東北薬科大学研究年報*. **35** : 169~175.

18. 류병호. 1992. 새우 껍질에서 추출한 키토산의 항암 및 면역활성. 한국영양식량학회지. **21**(2) : 154~162
19. 戸倉清一. 1987. キチン,キトサンの生理活性について. 別冊フードケミカル-I. 食品化学新聞社. pp.5~11
20. Seo, H. 1990. *Sen-i Gakkaishi*, **46** : 564
21. 三田康歳. 1987. キチン,キトサンの開發と應用. p248. 工業技術院.
22. Uchida, Y., Izumi, M. and Ontakara, A. 1988. Preparation of chitosan oligomers with purified chitosanase and its application. *Annual Review of Japanese Society for Chitin and Chitosan*. pp. 93~102
23. 조학래. 1989. 저분자 chitosan의 항균성 및 식품보존효과에 관한 연구. 부산수산대학 박사학위논문
24. 박현국. 1999. *Rhizopus*가 생산하는 chitosan 및 chitooligosaccharides의 특성과 이용. 서울대학교 박사학위논문
25. Tokoro, A., Tatewaki, N., Suzuki, K., Mikami, T. and Suzuki, S. 1988. Growth-Inhibitory effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose against Meth-A solid tumor. *Chem. Pharm. Bull.* **36**(2) : 784~790
26. Hadwiger, L. A., Fristensky, B. and Riggleman, R. C. 1984. *In Chitin, chitosan and related enzymes*. Academic Press. Orlando, p.291
27. 欠吹念. 1988. 最後のバイオマスキチンキトサン. 枝報堂出版. p.1
28. 전유진, 김세권. 1997. 한외여과막 효소반응기에서 제조한 키토산 올리고당의 항암작용, 항균작용 및 칼슘흡수 촉진작용. 한국키티킨키토산연구회지. **2**(3) : 60~78