키토산 올리고당이 고콜레스테롤혈증 흰쥐의 혈청 지질농도 개선에 미치는 영향

김한수* · 윤호동¹

부산대학교 식품공학과, ¹국립수산물과학원 식품안전연구팀

Received August 25, 2008 / Accepted December 8, 2008

Effects of the Chitosan Oligosaccharide Intake on the Improvement of Serum Lipid Level in Hypercholesterolemic Rats. Han-Soo Kim* and Ho-Dong Yoon¹. Dept. of Food Science & Technology, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea, ¹Food Safety Research Team, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-902, Korea - This study was performed to investigate the effects of the chitosan oligosaccharide administration on the improvement of the lipid compositions, blood glucose and enzyme activities in the serum of hypercholesterolemic rats fed the experimental diets for 5 weeks. Concentrations of total cholesterol, atherosclerotic index, LDL, LDL-cholesterol, free cholesterol, cholesteryl ester ratio, triglyceride (TG), phospholipid (PL) and blood glucose in serum were higher in the hypercholesterolemic group (group CW) and cholesterol+chitosan oligosaccharide administration group (group CCW) than those in the control group (group BW, basal diet+water). But the concentrations of total cholesterol, atherosclerotic index, LDL, LDL-cholesterol, free cholesterol, cholesteryl ester ratio, TG, PL and blood glucose in serum were lower in the group CCW than those in the CW, whereas the ratio of HDL-cholesterol concentration to total cholesterol and HDL-cholesterol concentration in the group CCW were higher than in the group CW. The activities of alkaline phosphatase (ALP) and aminotransferase (AST, ALT) in serum were lower in the group CCW than in the hypercholesterolemic group CW. From the above results, it was suggested that chitosan oligosaccharide administration was effective in the prevention and improvement of the lipid level, blood glucose and enzyme activities in serum of hypercholesterolemic rats.

Key words : Hypercholesterolemia, chitosan oligosaccharide, lipid level, blood glucose, enzyme activity

서 론

키토산(chitosan)의 원료가 되는 키틴(chitin)은 N-acetyl-D-glucosamine이 β -1,4 결합한 다당류로 게, 새우 등 갑각류의 외골격과 조류나 균류의 세포벽에 함유되어 있는 천연 고분자물질로 D-glucose가 β -1,4 결합한 셀룰로오스와 유사한 구조를 가지고 있으며, 자연계에 풍부하게 존재하고 있다 [1,19,29]. 전 세계적으로 키틴의 원료인 갑각류의 폐기물 발생량은 매년 증가되고 있으며 [11], 갑각류의 종류와 계절에 따라 그 성분 조성은 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다 [9]. 키틴을 탈아세틸화시켜 제조한 고품질의 키토산 또는 그 유도 물질들은 금속 이온과 배위결합에 의한 착염을 형성하여 납, 철, 카드뮴, 아연, 수은 등의 중금속 흡착작용 [13,23]을 가지며, cytochrome P450 1A1 효소활성 억제 작용에 의한 유방암 유발 억제 [20] 등 면역 증강 및 항암 [5,26], 항균 [22,28], 항산화 작용 [7], 체내 지질성분 감소 [15,16,21], 식후 혈당 감소 효과 [6] 등이 있는 것으로 알려져 있다.

최근, 생활 습관의 변화와 다양한 식생활로 동물성 식품 및 지방 함유 가공식품 등의 섭취량이 증가함에 따라 고콜레스테

롤혈증(hypercholesterolemia) 등 생활습관병이 급속하게 증가되고 있다. 보건복지부가 발표한 2006년 6월 기준 '국민 건강영양조사' 결과에 의하면 우리나라 30대 이상 중 3분의 1 가량이 심·뇌혈관계 질환의 위험군에 속해 있으며, 이 중 비만 34%, 고혈압 27.9%, 고콜레스테롤혈증이 8.2%, 당뇨병은 8.1%인 것으로 조사되었으며, 이들은 식사 조절 등이 필요하다고 하였다. 고콜레스테롤혈증 발생의 위험 인자는 이상지질혈증으로 [17] 혈액 중의 콜레스테롤 농도와 중성지질 및 지단백, 혈장 thromboxane A₂의 형성 등이 지적되고 있다 [3]. 이에, 본 실험은 붉은 대게 껍질을 탈아세틸화시켜 제조된 저분자 키토산 올리고당을 추출하여 고콜레스테롤혈증을 유도한 흰쥐의 지질농도 개선과 지질대사 이상 등에 의해서 발생하는 생활습관병 예방과 개선 방안을 검토한 후, 기능성 소재 등의 자원으로 제조 가공할 목적으로 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험 동물

평균 체중이 60±5 g인 4주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐(충북 음성군 DAE HAN BIOLINK Co., LTD)를 구입하여, 5% 옥수수유(신동방(주), pure refined corn salad oil)를 함유하는 기초식으로 9일간 예비사육하여 적응시킨 후 난과

*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5351, Fax : +82-55-350-5359

E-mail : kimhs777@pusan.ac.kr

법(Randomized Complete Block Design)에 의해서 6마리씩 3군으로 metabolic cage(JD-C-71, 정도산업, 한국)에 나누어 5주간 실험 사육하였다. 예비 사육 및 실험 사육 기간 중 물은 자유로이 섭취시켰으며, 사육실의 온도는 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 $50 \pm 10\%$ 로 유지시켰고, 명암은 12시간(07:00~19:00)주기로 조정하였다.

키틴, 키토산 및 키토산 올리고당의 제조

경상북도 영덕군에서 붉은 대게(*Chinonectes japonicus*) 껍질을 수집하여 이물질을 제거하고, 수세한 후 40°C 에서 12시간 열풍 건조시켜 분쇄한 다음 키토산 올리고당 제조용 시료로 사용하였다. Muzzarelli의 방법[18,19]에 준하여 분쇄한 시료에 10배 중량의 2 N HCl을 서서히 가하여 탄산가스가 더 이상 발생하지 않았을 때부터 실온에서 48시간 방치하여 최분을 제거한 후, 수세액이 중성에 달할때까지 충분히 수세하였다. 이어 단백질을 제거하기 위하여 1 N 수산화나트륨 용액을 시료 중량의 10배로 가하고 $95 \sim 100^\circ\text{C}$ 에서 48시간 동안 처리하였다. 이를 중성이 될 때까지 수세한 후 40°C 에서 열풍 건조하여 키틴을 얻었다. 제조된 키틴에 47% 수산화나트륨 용액을 10배 가하고 $100 \sim 110^\circ\text{C}$ 에서 2시간 처리하여 탈아세틸화한 후 충분히 수세하고 열풍 건조시켜 키토산을 제조하였다. 이렇게 얻은 키토산 1 M에 대하여 물 200~2,000 ml, 초산 1~4 M, 황산 0.01~0.1 M을 혼합한 혼합액에 과산화수소 1~7 M을 첨가하여 가수분해한 후, 원심분리하여 잔사를 제거하고 한외여과막(ultrafiltration)을 이용하여 잔사와 불순물을 제거하였으며, 탈염과 농축을 위하여 다시 nano membrane filtration을 사용하여 여과한 후, 동결 건조하여 최종적으로 키토산 올리고당을 제조하였다.

키토산 올리고당의 분자량 분포 분석

표준시약(polyethylene glycol kit, type PEG-10) 및 제조한 키토산 올리고당 시료 0.01 g을 정확하게 달아서 증류수(DW), 아세트니트릴(ACN) 및 트리플루오로초산(TFA)의 혼합 용매(DW:ACN:TFA=55:45:0.1, v/v/v)에 용해시켜 실온에서 하룻밤 방치한 후, $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter로 여과한 것을 표준 및 시험용액으로 사용하였다. 표준시약을 HPLC에 주입하여 검량선을 작성한 다음, 검체에 대하여 ultrahydrogel™ 120 ($7.8 \times 300 \text{ mm}$) column을 사용하여 size exclusion chromatography (SEC) 방법에 따라 시료의 분자량 분포를 GPC system Water 510을 이용하여 분석하였다.

식이 및 실험군

식이조성 및 실험군은 Table 1과 같다. 기본식이에 물만 섭취시킨 BW군(대조군), 고콜레스테롤혈증 유도를 위해 돼지 기름 및 cholesterol 7.5 g/kg diet를 함유한 식이를 급여하여 실험사육시킨 실험군에 물 급여군(CW군)과 CCW군은

Table 1. Composition of experimental diet (g/kg diet)

Ingredient	Basal diet	Cholesterol diet	Experimental diet
Casein	200	200	200
DL-methionine	3	3	3
Corn starch	150	150	150
Sucrose	500	490	390
Cellulose powder	50	50	50
Mineral mixture ¹⁾	35	35	35
Vitamin mixture ²⁾	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2
Corn oil	50	-	-
Lard	-	50	50
Cholesterol	-	7.5	7.5
Sodium cholate	-	2.5	2.5
Chitosan oligosaccharide	-	-	100

Group BW: Basal diet+Water (control group), CW: Cholesterol diet+Water, CCW: Cholesterol diet+Chitosan oligosaccharide 10%+Water.

¹⁾AIN-76™ mineral mixture contained (in g/kg mixture) calcium phosphate, dibasic, 500.0; sodium chloride, 74.0; potassium citrate, monohydrate, 220.0; potassium sulfate, 52.0; magnesium oxide, 24.0; maganous carbonate, 3.5; ferric citrate, 6.0; zinc carbonate, 1.6; cupric carbonate, 0.3; potassium iodate, 0.01; sodium selenite, 0.01; chromium potassium sulfate, 0.55; sucrose, 118.03.

²⁾AIN-76™ vitamin mixture contained (in g/kg mixture) thiamine Hcl, 0.6; riboflavin, 0.6; pyridoxine Hcl, 0.7; niacin, 3.0; D-calcium pantothenate, 1.6; folic acid, 0.2; biotin, 0.02; vitamin B₁₂, 1.0; vitamin A palmitate, 0.8; vitamin E acetate, 10.0; vitamin D₃, 0.25; menadione sodium bisulfite, 0.15; sucrose, 981.08.

콜레스테롤 급여군에 키토산 올리고당 10% (100 g/kg diet)를 첨가 조제하였으며, 실험 전 기간 동안 물은 자유로이 섭취시켰다.

실험 동물의 처리

실험 사육 5주간의 최종일에는 7시간 단식시킨 후 에테르 마취 하에 심장채혈법으로 채혈하였으며, 혈액은 약 1시간 정도 빙수 중에 방치한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 취하여 실험에 사용하였다. 실험 사육 시작과 최종일에 체중을 측정하였으며, 사료 섭취량은 매일 사료 잔량을 측정하여 식이 효율을 산출하였다. 간 및 뇌와 심장, 폐장, 신장, 비장 등은 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하고 중량을 측정한 후 체중에 대한 상대 중량비(%)를 구하였다.

혈청 중의 지질 성분 및 혈당 정량

혈청 중의 총 콜레스테롤 농도는 총 콜레스테롤 측정용 kit 시약(Cholestezyme-V, Eiken, Tokyo, Japan), HDL-콜레스테

를 농도는 HDL-콜레스테롤 측정용 kit 시약(HDL-C555, Eiken, Tokyo, Japan), 혈청 LDL의 농도는 LDL 측정용 kit 시약(β -lipoprotein C-Test, Wako, Osaka, Japan)으로 측정하였으며, LDL-콜레스테롤 농도는 LDL농도에 0.35를 곱한 값으로 표시하였다. 유리 콜레스테롤 농도는 유리 콜레스테롤 측정용 kit 시약(Free-cholestezyme-V555, Eiken, Tokyo, Japan)으로 측정하였으며, 콜레스테롤 에스테르 농도는 총 콜레스테롤 농도에서 유리 콜레스테롤 농도를 뺀 평균값으로 표시하였다. 혈청 중의 중성지질 농도는 중성지질 측정용 kit 시약(Triglyzyme-V, Eiken, Tokyo, Japan)으로 측정하였으며, 인지질 농도는 인지질 측정용 kit 시약(PLzyme, Eiken, Tokyo, Japan)으로 측정하였다. 혈당 농도는 혈당 측정용 kit 시약(GLzyme, Eiken, Tokyo, Japan)으로 측정하였다.

혈청 중의 효소 활성 측정

혈청 중 alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) 활성은 혈청 ALP측정용 kit 시약(NEW-K-PHOS, Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정하였으며, 혈청 1 ml당 Unit로 표시하였다. aminotransferase의 활성은 Reitman과 Frankel의 방법[25]에 준해 조제된 kit 시약(혈청 transaminase 측정시약, Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 혈청 중 aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1) 및 alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2) 활성을 측정하였으며 단위는 혈청 1 ml당 Unit로 표시 하였다.

통계 처리

분석 결과의 통계 처리는 실험군 당 평균치와 표준편차를 계산하였고 군간의 차이는 One-way ANOVA 분석 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

키토산 올리고당의 분자량 분포

붉은 대게(*Chinonectes japonicus*) 껍질을 이용하여 키토산을 제조한 다음, 가수분해하여 저분자화한 수용성 키토산 올리고당의 분자량 분포를 측정한 것은 Table 2와 같다. 분자

Table 2. Molecular weight distribution of chitosan oligosaccharide treated by enzyme

Range of molecular weight (MW)	Distribution ratio (%)
More than 800	1.9
700-800	22.6
600-700	74.4
500-600	1.1
Less than 500	0
Average molecular weight	674.0

량의 범위는 대부분 600~800 정도의 분포를 보였으며, 분자량 700~800은 22.6%, 분자량 600~700의 분포가 74.4%로 분석되었고 평균 분자량은 674로 나타났다. 최근, 당질이 갖는 유용한 기능이나 생리적 특성이 밝혀짐에 따라 수개의 단당이 배당체 결합된 수용성의 결정성 물질의 올리고당에 대한 관심이 높아지고 있으며, 키토산을 저분자화하여 수용성인 저분자 키토산 또는 키토산 올리고머가 생리적 활용에 더욱 효능이 있는 것으로 보고되어 있다[7,14].

체중 증가량 및 식이 효율

기본식이에 물만을 급여한 대조군인 BW군, 돼지 기름 및 cholesterol 7.5 g/kg diet를 함유한 식이를 급여하여 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 CW군과 고콜레스테롤혈증을 유발하여 키토산 올리고당 10%를 첨가한 CCW군에 있어서 5주간 실험 사육한 흰쥐의 체중 증가량 및 식이 섭취량, 식이 효율은 Table 3과 같다. 체중 증가량은 BW군의 138.5 g에 비하여 고콜레스테롤혈증 유발군인 CW군이 152.1 g으로 높았으며 키토산 올리고당 10%를 첨가한 군(CCW군)이 144.0 g으로 나타났다. CW군의 체중 증가는 고콜레스테롤혈증 유발과 식이 섭취량에 따른 현상으로 사료되며, 유의적인 변화는 관찰할 수 없었다. 식이 섭취량 및 식이 효율은 BW군에 비해 CW군과 CCW군이 약간 높았으나 CW군에 비하여 CCW군의 체중 증가량 및 식이 섭취량과 식이 효율은 약간 감소하는 것으로 나타났다. Landes 등[12]에 의하면 식이내의 키토산 함량이 5%를 초과할 때 체중 증가량 및 식이 효율이 유의적으로 감소된다고 하였으나, 본 실험에서는 세 군 간에 유의적인 차이는 없었다.

간장 및 뇌, 심장, 폐, 신장, 비장의 중량

실험 사육 5주간의 최종일 7시간 단식시킨 후 측정된 각 장기 및 조직의 중량은 Table 4와 같이, 간장의 중량은 BW군에 비해 콜레스테롤 식이를 급여한 CW군에서 유의하게 높게 나타났으며, CW군에 비하여 키토산 올리고당 급여군인 CCW군은 감소하는 것으로 나타났다. 뇌 및 심장, 비장의 중

Table 3. Body weight gain, food intake and FER in rats given experimental diets

Group*	Body weight gain (g)	Food intake (g)	FER**
BW	138.5±14.2 ^{***}	456.0±16.7 ^a	0.30
CW	152.1±15.4 ^a	464.8±17.2 ^a	0.33
CCW	144.0±14.0 ^a	460.2±17.3 ^a	0.31

*Group BW: Basal diet+Water (control group), CW: Cholesterol diet+Water, CCW: Cholesterol diet+Chitosan oligosaccharide 10%+Water.

FER: food efficiency ratio. *Mean±SD ($n=6$). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

Table 4. Liver, brain, heart, lung, kidney and spleen weight in rats given experimental diets (g/100 g body weight)

Group [*]	Liver	Brain	Heart	Lung	Kidney	Spleen
BW	3.12±0.06 ^{a**}	0.51±0.01 ^a	0.37±0.01 ^a	0.55±0.01 ^b	0.60±0.02 ^a	0.25±0.01 ^a
CW	3.67±0.10 ^b	0.56±0.01 ^b	0.36±0.02 ^a	0.47±0.01 ^a	0.61±0.02 ^a	0.23±0.01 ^a
CCW	3.29±0.12 ^a	0.60±0.03 ^b	0.34±0.02 ^a	0.57±0.02 ^b	0.68±0.01 ^b	0.21±0.03 ^a

^{*}Group BW: Basal diet+Water (control group), CW: Cholesterol diet+Water, CCW: Cholesterol diet+Chitosan oligosaccharide 10%+Water.

^{**}Mean±SD (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

량은 실험군 간에 유의적인 변화는 발견할 수가 없었으나, 폐와 신장의 중량은 CW군에 비해 CCW군이 증가되는 것으로 나타났다. 키틴 25%를 함유하는 게 껍질 분말이나 키토산을 고지혈증 흰쥐에게 급여하면 간장 및 심장, 비장의 중량 감소와 함께 각 종 장기 무게의 변화에 식이 섭취량에 따른 체중 증가량의 변화 등 여러 복합 요인이 영향을 미친다고 한다[2,16].

총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수

혈청 중의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도와 그 비율 및 동맥경화지수는 Table 5와 같다.

혈청 중 총 콜레스테롤 농도는 기본식이만 급여한 BW군의 86.4 mg/dl에 비하여 전 실험군에서 높게 나타났지만, 콜레스테롤로 유발된 고콜레스테롤혈증 실험군(CW군)의 133.8 mg/dl에 비해 키토산 올리고당을 급여한 CCW군이 114.8 mg/dl로 혈청 중의 총 콜레스테롤 농도가 유의적으로 감소하였다. 한편, HDL-콜레스테롤 농도는 CW군(23.8 mg/dl)에 비해 키토산 올리고당을 섭취함으로써 CCW군이 22.9 mg/dl로 증가를 하였다. 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도 비는 CW군(15.2%)보다 키토산 올리고당 급여군인 CCW

군(20.0%)에서 높은 비율을 나타내었고, 동맥경화지수는 CW군(5.6)에 비해 CCW군(4.0)이 낮게 나타났으나, 대조군인 BW군(2.5)의 수준에는 미치지 못하였다. 고콜레스테롤 식이에 의한 지질대사 장애에 따라 총 콜레스테롤 농도는 증가하고, HDL-콜레스테롤 농도는 저하되는 것으로 알려져 있다[7,21]. 또한, 키토산의 콜레스테롤 농도 저하 효과는 장내에서 내인성 및 외인성 sterol의 흡수를 저해함으로써 일어난다고 한다[4,24]. 따라서 본 실험 결과, 고콜레스테롤 흰쥐에 대한 키토산 올리고당의 섭취로 인한 혈청 총 콜레스테롤 농도의 저하, HDL-콜레스테롤 농도의 상승 및 동맥경화지수의 저하 등으로 미루어 보아 혈청 지질 개선 효과가 있는 것으로 생각된다.

Low density lipoprotein (LDL) 및 LDL-콜레스테롤 농도

혈청 중의 LDL 및 LDL-콜레스테롤 농도는 Table 5에서와 같이, LDL 농도는 콜레스테롤 급여군(CW군)의 233.4 mg/dl보다 키토산 올리고당 섭취군인 CCW군(200.6 mg/dl)에서 유의적인 감소를 보였으나, BW군의 124.6 mg/dl의 수준에는 미치지 못하였다. LDL-콜레스테롤 농도는 각 군간에 있어서 LDL 농도와 같은 경향을 나타내었다. LDL-콜레스테롤

Table 5. Serum lipids and blood glucose concentration in rats given experimental diets

(mg/dl)

Group [*]	BW	CW	CCW
Total cholesterol (A)	84.6±3.2 ^{a****}	133.8±4.2 ^c	114.8±3.2 ^b
HDL-cholesterol (B)	23.8±1.2 ^b	20.4±0.8 ^a	22.9±1.6 ^{ab}
(B)/(A)×100(%)	28.1	15.2	20.0
AI ^{**}	2.5	5.6	4.0
Low density lipoprotein	124.6±8.0 ^a	233.4±5.7 ^c	200.6±5.1 ^b
LDL-cholesterol	43.6±2.8 ^a	81.7±2.0 ^c	70.2±1.8 ^b
Free cholesterol	17.2±1.0 ^a	27.5±1.0 ^b	25.3±0.7 ^b
Cholesteryl ester	67.4±2.2 ^a	106.3±3.2 ^c	89.5±2.5 ^b
Cholesteryl ester ratio (%) ^{***}	79.7	79.4	77.9
Triglyceride	75.4±2.2 ^a	117.7±2.1 ^c	97.4±3.0 ^b
Phospholipid	98.9±1.7 ^a	131.1±2.0 ^c	125.5±1.8 ^b
Blood glucose	118.6±5.2 ^a	167.3±3.1 ^c	138.4±4.1 ^b

^{*}Group BW: Basal diet+Water (control group), CW: Cholesterol diet+Water, CCW: Cholesterol diet+Chitosan oligosaccharide 10%+Water.

^{**}Atherosclerotic index: (Total chol. - HDL-chol.) / HDL-chol.

^{***}Cholesteryl ester/Total cholesterol×100.

^{****}Mean±SD (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

은 콜레스테롤의 주된 운반형으로 동맥벽이나 말초조직에 콜레스테롤을 운반, 축적시킴으로써 동맥경화를 촉진시키는 인자라고 보고된 바 있다[27]. 따라서 키토산 올리고당을 섭취시킴으로써 LDL-콜레스테롤 농도를 저하시킨 것으로 미루어 보아, 고콜레스테롤혈증으로 유발될 수 있는 동맥경화 등의 예방 및 개선에 효과가 있을 것으로 추정된다.

유리 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르, 콜레스테롤 에스테르 비

혈청 중의 유리 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 및 총 콜레스테롤에 대한 콜레스테롤 에스테르의 비는 Table 5에 나타난 바와 같다. 유리 콜레스테롤과 콜레스테롤 에스테르는 고콜레스테롤 실험동물군(CW군)에 비하여 키토산 올리고당 섭취군인 CCW군에서 낮은 경향을 보였고, 콜레스테롤 에스테르 비 또한, 키토산 올리고당 급여군(CCW군)에서 낮은 비율의 범위를 관찰할 수 있었다. 콜레스테롤 에스테르 비는 고지혈증 및 그로 인한 합병증일 때 상승되며, 간 질환의 진단 지표로 사용되기도 한다[8]. 따라서 본 실험 결과 고콜레스테롤혈증 흰쥐에 대한 키토산 올리고당 섭취는 혈청 지질 개선 작용이 있는 것으로 나타났다.

중성지질 및 인지질 농도

혈청 중 중성지질과 인지질 농도는 Table 5에서와 같이, 고콜레스테롤혈증 흰쥐 실험군(CW군, CCW군)에 있어서, 대조군인 BW군에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나, 실험군 간에 있어서는 고콜레스테롤혈증 유발 실험군인 CW군에 비해 키토산 올리고당 섭취군인 CCW군의 농도가 감소되는 경향을 보였다. 특히, 혈청 중성지질 농도의 감소는 키토산 올리고당 급여로 흰쥐 체내의 lipoprotein lipase에 의한 chylomicron 및 VLDL의 분해에 의한 것으로 생각된다[10].

혈당 농도

키토산 올리고당의 고콜레스테롤혈증 흰쥐에 대한 혈당 농도에 미치는 영향은 Table 5와 같다.

콜레스테롤을 급여한 군들에서 키토산 올리고당 섭취군은 혈당 농도가 감소되는 경향으로 미루어 보아, 키토산 올리고당의 급여로 인해 혈당 수준을 저하시킨 것으로 나타났다. 사람에게 있어서 키토산 올리고당을 섭취하였을 때 혈당농도가 유의하게 감소한다는 보고가 있다[6].

Alkaline phosphatase (ALP)의 활성

혈청 ALP의 활성 변화는 Table 6과 같다. 기본식이와 물만을 급여한 대조군인 BW군(18.8 Unit/ml)에 비해 전 실험군에서 유의성 있게 높게 나타났으나, 콜레스테롤로 유도된 고콜레스테롤혈증 흰쥐 실험군인 CW군(29.4 Unit/ml)에 비하여 키토산 올리고당을 섭취시킨 CCW군(27.2 Unit/ml)에

Table 6. Alkaline phosphatase activities in rats given experimental diets

Group [*]	Alkaline phosphatase Activity (unit/ml of serum)
BW	18.8±0.9 ^{a**}
CW	29.4±0.8 ^c
CCW	27.2±0.9 ^b

^{*}Group BW: Basal diet+Water (control group), CW: Cholesterol diet+Water, CCW: Cholesterol diet+Chitosan oligosaccharide 10%+Water.

^{**}Mean±SD (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

Table 7. Aspartate and alanine aminotransferase activities in rats given experimental diets

Group [*]	AST	ALT
	Activity (unit/ml of serum)	
BW	64.5±1.9 ^{a**}	21.4±0.9 ^a
CW	81.4±1.8 ^c	29.5±0.8 ^b
CCW	77.5±1.1 ^b	28.9±0.5 ^b

^{*}Group BW: Basal diet+Water (control group), CW: Cholesterol diet+Water, CCW: Cholesterol diet+Chitosan oligosaccharide 10%+Water.

^{**}Mean±SD (n=6). Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (p<0.05).

서 유의적인 감소 효과를 나타내었다. 고콜레스테롤혈증과 합병증 및 간 조직이나 담관의 폐쇄에 의해서 ALP의 활성이 증가되며, 간장에서 담즙산 배설에 장애가 발생함으로써 혈청 콜레스테롤 농도가 상승하는 것으로 알려져 있다[8].

Aminotransferase (AST, ALT)의 활성

고콜레스테롤혈증 흰쥐에 대한 키토산 올리고당의 혈청 중 AST 및 ALT 활성은 Table 7과 같다. 혈청 AST 활성은 콜레스테롤을 급여한 CW군(81.4 Unit/ml)이 대조군인 BW군(64.5 Unit/ml)에 비하여 유의적으로 높게 나타났으나, 키토산 올리고당 급여(CCW군 77.5 Unit/ml)로 인하여 감소되는 것으로 나타났다. 한편, 혈청 ALT 활성은 BW군(21.4 Unit/ml)에 비해 CW군(29.5 Unit/ml) 및 CCW군(28.9 Unit/ml)에서 증가 된 것으로 나타났으나, 키토산 올리고당 식이로 인하여 유의적인 변화는 보이지 않았다. AST 및 ALT 활성의 증가는 간 실질세포의 장애와 각종 간 질환, 심근경색, 황달 등에 의해 혈 중으로 방출되어 나타나는 것으로 알려져 있다[30].

요 약

고콜레스테롤혈증 흰쥐에 있어서, 붉은 대게(*Chinonectes*

japonicus) 껍질에서 추출 제조된 키토산 올리고당의 급여가 혈청 지질개선효과 및 지질대사 이상 등에 관여하는 지질성분 및 효소의 활성 변동을 검토하기 위하여 SD계 흰쥐 수컷을 사용하여 본 실험을 행하였다. 기본식이만을 급여한 대조군인 BW군을 비롯한 고콜레스테롤혈증 유발군(CW군), 고콜레스테롤혈증 유발에 키토산 올리고당을 섭취시킨 군(CCW군)을 5주간 실험 사육하였다. 혈청 총 콜레스테롤, 동맥경화지수, LDL, LDL-콜레스테롤, 유리 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 비, 중성지방 및 인지질 농도 및 혈당 농도 등은 키토산 올리고당을 섭취시킨 군(CCW군)에서 농도가 감소되는 것으로 나타났다. 또한, HDL-콜레스테롤 및 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 비 등은 키토산 올리고당 급여(CCW군)에 의해서 증가되는 것으로 나타났다. 혈청 중 alkaline phosphatase (ALP) 및 aminotransferase (AST, ALT)의 활성은 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 후 키토산 올리고당을 급여시킴으로써 감소되는 것으로 나타났다. 이상과 같은 결과들을 미루어 볼 때, 키토산 올리고당이 고콜레스테롤혈증 유발 흰쥐의 지질성분 조절 및 혈청 지질대사 이상 등에서 오는 고콜레스테롤혈증의 예방 및 개선에 효과가 있을 것으로 사료된다.

References

- Arvanitoyamis, I. S., A. Nakayama and S. Aiba. 1998. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. *Carbohydr. Polymer* **37**, 371-382.
- Chung, G. H., B. S., Kim, J. W. Hur and S. Y. Chung. 1996. Effect of dietary lobster shrimp chitosan on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **25**, 384-391.
- Hsu, H. C., Y. T. Lee and M. F. Chen. 2000. Effect of n-3 fatty acids on the composition and binding properties of lipoproteins in hypertriglyceridemic patients. *Am. J. Clin. Nutr.* **71**, 28-35.
- Jeon, Y. J. and S. K. Kim. 2001. Effect of antimicrobial activity by chitosan oligosaccharides N-conjugated with asparagine. *J. Microbiol. Biotechnol.* **11**, 281-286.
- Jeon, Y. J. and S. K. Kim. 2002. Antitumor activity of chitosan oligosaccharides produced in ultrafiltration membrane reactor system. *J. Microbiol. Biotechnol.* **12**, 503-507.
- Kim, J. W., K. J. Lee and S. P. Yoon. 2007. Sexual comparison of decreased postprandial glucose concentration with chitosan-oligosaccharides. *J. Chitin Chitosan* **12**, 222-227.
- Kim, K. N., E. S. Joo, K. I. Kim, S. K. Kim, H. P. Yang and Y. J. Jeon. 2005. Effect of chitosan oligosaccharides on cholesterol level and antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic rat. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 36-41.
- Kim, K. H. 1980. A translation: The clinical application of the results of the test. pp. 164-209. Komoonsa, Seoul.
- Kim, S. K. and E. H. Lee. 1997. Biocompatibility and medical applications of chitin and chitosan. *J. Chitin Chitosan* **2**, 39-74.
- Kinnunen, P. K., J. J. A. Virtanen and P. Vainio. 1983. Lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase. *Atheroscler. Rev.* **11**, 65-99.
- Knorr, D. 1991. Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol.* **45**, 114-119.
- Landes, D. R. and W. A. Bough. 1976. Effects of chitosan a coagulating agent for food processing wastes in the diets of rats on growth and liver and blood composition. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **15**, 555-563.
- Lasko, C. L., B. H. Pesic and D. J. Oliver. 1993. Enhancement of the metal-binding properties of chitosan through synthetic addition of sulfur and nitrogen containing compounds. *J. Appl. Pol. Sci.* **48**, 1565-1570.
- Lee, J. M. and B. K. Son. 1998. Effects of chitosan of different molecular weights on lipid metabolism in rats. *J. Korean Nutr. Soc.* **31**, 143-152.
- Lee, J. M., W. K. Cho and H. J. Park. 1998. Effects of chitosan treated with enzymatic method on glucose and lipid metabolism in rats. *J. Korean Nutr. Soc.* **31**, 1112-1120.
- Lee, K. H., S. Y. Yoon and H. K. Kim. 2000. Effect of crab shell powder on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 453-459.
- Lind, L., B. Vessby and J. Sundstrom. 2006. The apolipoprotein B/AI ratio and the metabolic syndrome independently predict risk for myocardial infarction in middle-aged men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **26**, 406-410.
- Muzzarelli, R. A. A. 1977. *Chitin*. pp. 89. Pergamon Press Ltd, Oxford.
- Muzzarelli, R. A. A., M. Weeks and O. Filippini. 1989. Removal of trace metal ions from industrial waters, nuclear effluents and drinking water, with the aid of cross-linked N-carboxymethyl chitosan. *Carbohydr. Polymer* **11**, 293-306.
- Nam, K. S., O. L. Son, H. J. Cho, M. K. Kim and Y. H. Shon. 2005. Effect of chitosan oligosaccharides on chemopreventive enzymes of breast cancer. *J. Chitin Chitosan* **10**, 198-201.
- No, H. K., K. Y. Beik and S. J. Kim. 2002. Effect of chitosan-soybean curd on serum lipid metabolism in rats fed high-fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 1078-1083.
- No, H. K., N. Y. Park, S. H. Lee and S. P. Meyers. 2002. Antibacterial activity chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int. J. Food Microbiol.* **74**, 66-72.
- Park, J. R. and Y. S. Lee. 2005. Effects of dietary chitosan on blood and tissue levels of lead, iron, zinc and calcium in lead administered rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 336-341.
- Razdan, A. and D. Pettersson. 1994. Effect of chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentration in broiler chickens. *Br. J. Nutr.* **72**, 277-288.
- Reitman, S. and S. Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and

- glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**, 56.
26. Shon, Y. H. and K. S. Nam. 2003. Effect of chitosan oligosaccharides on cancer initiation stage. *J. Chitin Chitosan* **8**, 222-225.
27. Smith, E. B. 1974. The relationship between plasma and tissue lipid in human atherosclerosis. *Adv. Lipid Res.* **11**, 1-7.
28. Sudarshan, N. R., D. G. Hoover and D. Knorr. 1992. Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnol.* **6**, 257-272.
29. Weiner, M. L. 1992. An overview of the regulation status and of the safety of chitin and chitosan as food and pharmaceutical ingredients. In advances in chitin and chitosan, pp. 670-672. Elsevier Applied Science, London and New York.
30. Yi, K. N. and C. S. Rhee. 1996. *Clinical Pathology File*. pp. 101-283. Euihakmunwhasa, Soeul.