

키틴, 키토산 및 그 올리고당의 생리활성 및 안전성

김 세 권

부경대학교 화학과

Bioactivities and Safety of Chitin, Chitosan and Their Oligosaccharides

Se-Kwon Kim

Dept. of Chemistry, Pukyong National University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

Chitin is the second most plentiful natural polymer. Currently, chitin and chitosan are manufactured commercially in large scale from crab and shrimp shell as fish processing waste. They is being used in many commercial application because of their various functional properties. Chitosan, in particular, is being evaluated as biomedical materials in a number of food and pharmaceutical industries. Despite their potential abilities, the perfect safety had been demonstrated until now. However, the long-term feeding with chitin was not any negative effect the body weights and serum enzymatic activities in mice. And, in rats supplied with 5% of chitosan diet for 450 days, there was no changes of Ca concentration in blood, bone and other organs except for in muscle. Consequently, there was no direct toxicity of chitin and chitosan against some animals such as rat and mouse by recently reports.

서 론

키틴은 N-acetyl-D-glucosamine이 β -1,4 결합한 뮤코다당류(mucopolysaccharide)로서 새우, 게 등 갑각류의 껍질, 곤충류의 표피, 버섯이나 균류의 세포벽의 구성성분으로 함유되어 있고, 식물계에 있어서는 셀룰로오스와 같이 생물의 지지체와 보호역할을 하는 천연 고분자물질이다. 키토산은 키틴만큼 생물생산이 많다고는 볼 수 없지만 일부 곰팡이의 세포벽에 존재하고 있으며 2-amino-2-deoxy-D-glucose가 β -1,4 결합한 다당류로서 키틴을 탈아세틸화하여 제조되기 때문에 분자량은 키틴보다 약간 작다¹⁾.

키틴은 게와 새우의 가공폐기물 중 건물량 기준으로 각각 13~15%, 14~17% 함유되어 있고, 또한 크릴에는 약 1.0%~1.7% 정도 함유되어 있다. 수산 갑각류의 평균 고형물 폐기량은 50~90%인 것을 고려하면 연간 이용 가능한 키틴량은 1.5×10^8 톤이다. 이와 같이 양적으로 매우 풍부한 키틴은 대부분 폐기되어 일부 제한적으로 이용되어져 왔으나 최근 일본을 비롯한 각국의 연구가 활발히 진행되어 그 기능성이 밝혀짐으로써 매우 다양하게 응용되고

있다¹⁾.

키틴·키토산에 관한 최근의 연구는 주로 항균작용²⁻⁴⁾, 고혈압 조절작용^{5,6)} 및 콜레스테롤 개선작용⁷⁻⁹⁾과 같은 기능성 식품으로서의 이용, 그리고 면역활성의 부활 내지는 증강작용에 의한 항암제로서의 이용¹⁰⁻¹⁵⁾ 등이며, 이러한 효과를 개선하고자 키틴·키토산 유도체의 제조나 올리고당의 생산에 관한 연구가 초점이 모아지고 있다. 또한 키토산의 유리 아미노기에 의한 강력한 chelating property를 이용하여 체내 방사능 오염물질이나 중금속을 체외로 배출시키는 기능에 관한 연구¹⁶⁾도 진행되고 있다.

이러한 키틴·키토산의 다종다양한 기능성에도 불구하고 현재까지 어떠한 특이적인 독성에 관해서는 보고된 바가 없다. 그 이유는 키틴·키토산이 biodegradation이 가능하며, 또한 그것들의 기본 단위구조인 N-acetyl-D-glucosamine이나 D-glucosamine이 체내와의 우수한 친화성을 보이고 있기 때문으로 판단된다. 하지만, 키토산의 금속에 대한 non-specific absorption을 고려해 볼 때, 장기 섭취에 의한 체내 미네랄의 감소를 가져올 수 있는 가능성이 시사되고 있다.

여기에서는 키틴·키토산의 이용 중 특히 생리기능성에 관한 연구와 이에 따르는 안전성을 검토하고자 한다.

1. 키틴·키토산 및 그 올리고당의 제조

새우나 게의 가공공장에서 폐기되고 있는 갑각류 껍질로부터 키틴의 추출은 먼저, 약 1~10%의 NaOH 용액으로 갑각류 껍질로부터 단백질을 제거한 후, 약 5~10%의 HCl 용액으로 calcium carbonate 및 calcium phosphate와 같은 미네랄을 제거하여 세정한다. 이것을 건조시키면 불용물질의 키틴을 얻을 수 있다. 키틴을 40~50% NaOH 용액에 첨가하여 80~120°C에서 반응시켜 N-acetyl linkage를 분해한 후, 세정한다. pH를 중성으로 맞추고 건조시키면 키토산이 얻어진다.

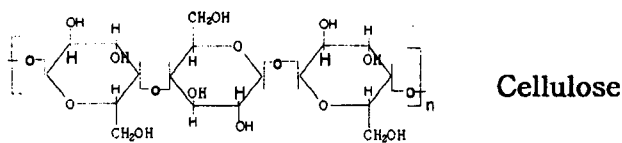
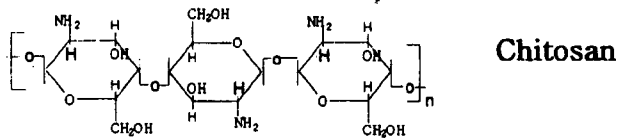
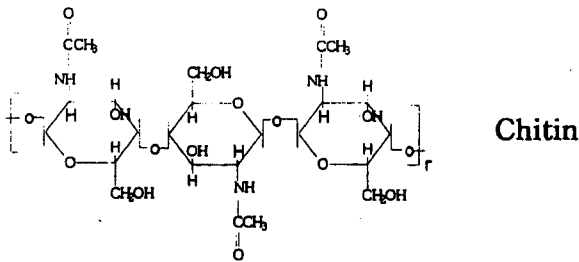
키토산은 키틴으로부터 N-acetyl group을 분해하여 deacetylation된 것으로서, 일반적으로 DP(degree of deacetylation)가 70% 이상인 것을 키토산이라 부른다. 키토산은 pH 6 이하의 저농도 유기산에 용해하지만 분자량이 대개 100~300KDa이기 때문에, 체내에 섭취하여도 일부만 흡수되고 나머지 대부분은 소장에서 체외로 배출되어 버린다. 따라서 체내 흡수를 증가시키기 위해서는 키토산을 가수분해하여 올리고당으로 제조하여야 되는데, 현재까지는 강한 산성용액(conc. HCl)에 의한 화학적 제조방법이 널리 사용되고 있다. 그러나 이러한 방법은 기능이 낮은 저분자량의 올리고당 생산비율이 높고 인체에 유해할 수 있는 가능성이 있을 뿐만 아니라 새로운 환경오염을 일으키는 요인이 된다. 생물학적인 방법에 의한 효소적 올리고당의 생산은 이러한 단점을 개선시킬 수 있으나, 사용되는 효소가 너무 비싸기 때문에 생산비가 높다는 단점을 가지고 있다. 김¹⁷⁾은 한외여과막 반응기를 이용하여 효소를 반응기 내에서 재순환시켜 반복적으로 이용함으로써 생산비를 크게 절감하는 시스템을 개발하였다.

2. 키틴·키토산의 구조 및 화학적 성질

키틴은 지구상에서 셀룰로오스 다음으로 풍부한 천연 고분자물질이다. 키틴의 구조는 셀룰로오스와 유사하며 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose (N-acetyl-D-glucosamine) 성분이 반

복단위로 $\beta 1 \rightarrow 4$ glucosidic linkage를 하고 있으며 분자량은 수십~수백만 daltons이다. 키틴이 천연적으로 매우 풍부함에도 불구하고 제대로 이용되지 못한 이유는 대부분의 용매에 불용성이며 반응성이 약하다는 것이다. 현재 키틴은 그 자체로서의 이용보다는 대부분 키토산으로 이용되고 있다.

키토산은 키틴의 기본단위인 N-acetyl-D-glucosamine 중 N-acetyl group이 분해된 2-deoxy-2-amino glucose (D-glucosamine)가 $\beta 1 \rightarrow 4$ 결합으로 반복된 구조를 가지고 있다. 키토산은 반응성이 높은 2개의 hydroxyl group과 1개의 free amino group으로 되어 있으며, 특히 amino group에 의해서 산성용액에서 polycationic properties을 가진다. 이것에 의해서 키토산에는 직쇄상의 다중전해질, 높은 전하밀도, 음전하로 하전된 표면과의 우수한 결합성, 금속이온과의 킬레이트 결합 등과 같은 몇가지 성질이 유발된다.



3. 키틴·키토산의 이용

키틴·키토산은 천연에 존재하는 고분자 물질 중 가장 다양하게 이용할 수 있는 biomaterials이다. 수산가공공장에서 연간 약 1.5×10^8 톤 정도 폐기되고 있는 갑각류 껍질로부터 추출한 키틴은 그 양적으로 대단히 풍부하지만, 용해성이 대단히 약하여 널리 이용되지 못하였으나 생체친화성이 우수하여 인공피부나 수술용 봉합사 등 의료용 재료로서 일부 이용되어 왔다. 키틴이 탈아세틸화되어 키토산으로 제조된 후 그 이용범위는 매우 다양화되었다. 초기에는 주로 키토산의 강력한 흡착력을 이용한 폐수처리제나 중금속 흡착제 및 고정화 효소용 담체와 같은 고분자 소재로서 널리 이용되었으나, 키토산의 여러 가지 생리기능성들이 알려지면서 현재는 항균작용, 항암작용 및 면역활성 증강작용과 같은 식품 및 의학

품 소재로서의 용도개발이 활발히 연구되고 있다. 또한 농업용으로서 씨앗을 코팅시킴으로써 병충해를 예방하고 수확을 증가시킨다든지 혹은 동물의 사료로서 이용되고 있다. 키틴·키토산의 대표적인 응용분야에 대해서 아래의 Table 1에 그 예를 나타내었다¹⁸⁾.

Table 1. Chemical properties and their applications of chitin and chitosan

Item	Chitin	Chitosan
Chemical properties	N-acetyl glucosamine	Glucosamine
	Many H-bond	Linear polycation
	Insolubility	Reactive amino group
	Lower reactivity	Reactive hydroxy group
		Soluble in acidic solutions
Medical materials	Artificial skin absorbable surgical suture	
Polymer materials		Heavy metal absorption agent
Biotechnology	Enzyme immobilization	Immobilization of enzyme and cell
Food		Antimicrobial agent
		Antifungal agent
		Dietary fiber
		Film
Pharmaceutical	Immune system stimulant	Wound healing accelerator
	Antitumor agent	Drug delivery vehicle
		Cholesterol reducing agent
		Immune system stimulant
		Antitumor agent
Agriculture		Coating seeds
		Animal feed
The others	Preparing to chitosan	Excellent flocculent
		Substantive to hair, skin
		Moisture retention

4. 키틴·키토산의 생리활성

(1) 키토산의 항균활성

키토산 및 그 염산 가수분해물이 식물병원성 곰팡이에 대하여 생육저지효과를 나타내는 것이 1979년 Allan and Hadwiger¹⁹⁾에 의해서 처음으로 보고된 이래로 1984년 Kendra and Hadwiger³⁾에 의해 더욱 명확하게 밝혀졌다. 内田²⁾은 키토산의 농도변화에 따른 *Escherichia coli*의 증식에 미치는 영향을 bouillon배지에서 검토한 결과, 키토산을 0.02% 이상 첨가하였을 때 *E. coli*의 생육을 완전히 저지하였으며, 0.1% 첨가하였을 때 식물병원성 곰팡이인

*Fusarium solani*의 생육을 6일동안 완전히 억제하였다고 보고하였다. 이와 같이 키토산의 항균작용 메카니즘은 양전하를 가진 키토산의 amino group이 세균 세포벽의 음전하와 이온결합을 형성하여 세포분열을 저해함으로써 세균의 성장을 억제하는 것으로 키토산의 탈아세틸화 실험에서 밝혀졌다. 한편, 키토산은 대부분의 종류의 세균 및 곰팡이의 증식을 억제하는 것으로 알려져 있지만, 서로 다른 중합도를 가진 키토산 가수분해물의 항균성을 조사하는 것은 키토산의 항균성 메카니즘을 추정할 수 있다. 井爪²⁰⁾은 키토산 분해물의 *E. coli*에 대한 작용과 식물성 병원균인 *Fusarium solani* 및 *F. oxysporum*에 대한 작용을 검토한 결과, 적당한 크기로 분해된 키토산분해물에서 항균효과가 더 강하게 나타났다. 이와 같은 결과는 키토산의 항균성은 그 분자량에 영향을 받는다고 판단된다.

(2) 키토산의 고혈압 조절작용

식염을 지나치게 많이 섭취하게 되면 체내의 혈압이 상승한다는 사실은 잘 알려져 있다. 혈압만 상승하고 신장(腎臟)이나 부신(副腎) 등에 장애가 없는 본태성 고혈압환자에 대해서 식염을 제한하게 되면 약 60% 정도의 혈압을 저하시킬 수 있다고 한다. 식사 중에 식염이 장에 흡입되면 Na^+ 와 Cl^- 로 해리되고 각각 독자적으로 경로에 따라 조절되고 있다. 따라서 식염이 혈압상승에 관여하고 있어도 Na^+ 나 Cl^- 중 어느 것이 혈압을 상승시키는 지는 지금까지 많은 논란이 되어 왔으나, 1954년 Dahl and Love²¹⁾가 제창한 Na^+ 에 의한 혈압상승설이 인정되어 왔다. 하지만 키토산을 이용한 이 분야에서의 연구로 통해 Cl^- 가 고혈압에 관여한다는 사실이 밝혀졌다. 즉, Na^+ 는 알긴산(alginic acid)의 카르복실 음이온에 이온결합을 형성할 수 있고, Cl^- 는 키토산의 유리 아미노 양이온에 특이적으로 이온결합을 할 수 있다는 사실을 토대로 奥田⁵⁾의 실험에서, 키토산과 알긴산의 두 식이섬유를 높은 함량의 식염과 함께 rat에 투여한 결과, 예상대로 알긴산이나 키토산에 각각 Na^+ 와 Cl^- 가 특이적으로 결합하여 체외로 배출되는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 결과를 종합해 보면, 키토산의 혈압저하작용에 의해서 Cl^- 가 혈압상승에 관여한다는 사실이 밝혀졌으며, 키토산을 섭취함으로써 고혈압이 어느 정도 개선할 수 있다는 것을 알 수 있다.

(3) 키토산의 콜레스테롤 개선작용

일반적으로 지방을 섭취하게 되면 지방은 그대로 흡수되는 것이 아니라 체장에서 분비되는 리파제(lipase)에 의해서 분해된 후 그 분해산물이 장에서 흡수하게 되는데, 이러한 lipase는 담즙산에 의하여 활성화된다. 담즙산은 분자내에 음이온의 전하를 가지고 있는 카르복실기를 함유하고 있기 때문에 여기에 키토산의 유리 아미노기가 이온결합을 형성하여 체외로 배출하게 되면 체내의 담즙산이 부족하여 lipase의 활성을 저하시키는 원인으로 작용한다.

Sugano 등²²⁾은 rat를 이용하여 키토산에 의한 혈액 및 간장 중의 콜레스테롤 개선작용에 대하여 검토한 결과, 고농도의 콜레스테롤을 함유한 키토산을 2~5% 첨가하여 rat를 20일간 사육하면 사료 섭취량이나 발육에는 전혀 영향을 미치지 않고 혈중 및 간장중의 콜레스테롤 값이 현저하게 저하하였다고 보고하였으며, Maezaki 등²³⁾도 사람을 대상으로 키토산에 의한 혈중 콜레스테롤 개선작용을 검토한 결과, 키토산 섭취에 의해서 혈중의 총콜레스테롤값은 유의적으로 감소하였으며, HDL-콜레스테롤은 유의적으로 상승하였고, 키토산 섭취를 중지하면 다시 원래대로 되돌아가는 경향을 보였다. 키토산은 고분자로서 이용될 때 체내에 흡수

되지 않고 체외로 배출되는 하나의 식이섬유로서 작용을 하며, 이때 키토산 자체에 함유되어 있는 양이온의 유리 아미노기 때문에 지방의 체내 흡수를 방지할 수 있어 건강식품으로서 이용을 기대할 수 있다.

(4) 면역활성 증강에 의한 항암작용

육상식물 유래의 많은 종류의 다당류들이 allogenic 및 syngeneic system을 가지고 있는 실험적 마우스 종양에 대하여 항종양활성을 가지고 있다는 사실이 보고되었다²⁴⁾. 이들의 작용은 면역시스템을 증가시켜서 이루어지는데, 특히 T-lymphocyte²⁵⁾, macrophage²⁶⁾ 및 natural killer(NK) cell²⁷⁾와 같은 tumoricidal immunocytes를 자극하여 항종양 활성을 나타내는 메커니즘으로 발현된다. Suzuki 연구팀²⁸⁻³⁰⁾은 키토산의 단당체인 D-glucosamine이 NK cell 활성을 증가시킨다는 사실에 기인하여 키틴·키토산 혹은 그 올리고당에도 이와 같은 효과가 발현될 가능성을 시사되어졌다. Nishimura 등¹⁰⁻¹²⁾은 키틴유도체의 면역활성 측면에서 macrophage activation(MA)에 관하여 검토한 결과, 70% deacetylated chitin(DAC-70), 키토산 및 carboxymethyl chitin(CM-chitin)에 강력한 MA능이 있었으며, 그 중에서도 DAC-70이 가장 강력한 것으로 보고하였다. 또한 그들은 이어서 DAC-70은 마우스 복강(腹腔) MA능 이외에, NK cell, helper T cell 및 cytotoxic T lymphocyte(CTL)에 대하여 효과적인 활성을 보여 면역증강활성이 있음을 증명하였다.

키틴·키토산의 생리활성 중 면역능을 증강시켜 항종양활성을 검토하려는 연구가 초기에는 다당류를 그대로 마우스 복강내 투여하여 그 효과를 관찰하였지만, 키틴 및 키토산은 모두 물에 불용성이기 때문에 재현성이 있는 결과를 얻기 힘들어서 그 효과를 평가하는데 많은 어려움이 있었다. 따라서 수용성 키틴·키토산 올리고당을 제조하여 그 활성을 검토하게 되었다. 그렇지만 일반적으로 항암성 다당류는 산분해 등에 의해서 분자량이 감소될 경우 예외 없이 활성을 잃어버리기 때문에 이들 키틴·키토산 올리고당도 다른 대부분의 다당류와 같이 면역활성이 발현할 것으로 기대하지 못했던 것이다. 그러나 Suzuki 등¹³⁾은 키틴 및 키토산을 저분자화하여 얻어진 중합도 6의 N-acetyl chitooligosaccharide-6(NACOS-6)과 chitooligosaccharide(COS-6)를 이용하여 Sarcoma 180, Meth A, Lewis lung carcinoma 종양계에서 뚜렷한 항암효과를 얻었다. 이들 NACOS-6과 COS-6에는 interleukin 1 및 2의 생산이나 T cell로부터의 macrophage activated factor(MAF)의 생산을 촉진시키는 등 면역활성 증가에 의한 항종양활성을 발현하였다.

5. 키틴·키토산의 안전성

(1) 키틴의 안전성

키틴 및 키틴 저분자 가용성 올리고당인 NACOS-6을 각각 마우스의 복강 및 정맥내 투여로 면역활성을 증가시킴으로써 Sarcoma 180, Meth A, Lewis lung carcinoma 등에 대한 항종양 효과가 보고되어 현재 건강식품으로서 시판되고 있다. 따라서 키틴을 경구투여하였을 경우 생체내 변화를 검토한 안전성 측면에서의 검증이 요구된다.

Wu 등³¹⁾은 rat에게 키틴을 90일간 장기적으로 섭취시킨 후 혈액중 생화학 지표로서 Al-P(alkaline phosphatase), GPT(glutamic-pyruvic transaminase), GOT(glutamic-oxaloacetic transaminase), TB(total bilirubin), BUN(blood urea nitrogen), Cr(creatinine), TP(total protein),

Alb(albumin), Glu(glucose), TCh(total cholestrol), TG(triglyceride) 등 11개 항목으로 측정하여 생체내 안전성을 검토하였다. 섭취량을 각각 임상에서 쓸 수 있는 용량의 10~20배(40mg/Kg · day)와 100~200배(400mg/Kg · day) 가량 투여하였으나, rat의 분변, 행위, 활동 및 모발 등 다방면에서 아무런 이상적인 증상을 보이지 않았고, 체중이 늘어나거나 음식물 소모량이 대조군과 비교하여 유의적인 차이가 없었다. 이것은 키틴이 rat의 체중과 음식량에 아무런 영향도 미치지 못하였다는 사실을 설명하고 있다. 혈액 중 11개 항목의 생화학 지표에서도 모두 정상적이었다. 따라서 이러한 결과는 키틴과 관련된 어떠한 독성적인 반응도 보이지 않는 것으로서 키틴을 의약품 및 식품으로서 사용에 안정하다는 사실을 제시해 준다.

渡部 등³²⁾은 키틴 및 저분자 키틴 두시료를 각기 장기간 경구투여하였을 때 노령 마우스의 면역세포에 미치는 영향에 대한 검토에서, 현저한 체중감소는 없었으며 효소활성 측정에 의한 생화학적 지표에서 특이적인 증가현상은 보이지 않아 생체에서의 영향은 거의 없는 것으로 나타났다. 노화에 수반하는 면역세포수의 변화에서 키틴을 섭취한 마우스의 T cell수가 어느 정도 일정한 값을 유지하는 것으로 보아 T cell의 분화와 유도를 담당하는 흉선의 기능이 노화에 의해서 저하하는 것을 억제하는 것으로 기대되었다.

(2) 키토산의 안전성

키토산은 당분자 중에 amino group을 가지고 있는 수용성 식이섬유이며, 금소과 착체를 형성하는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 성질을 이용함으로써 키틴·키토산은 체내 방사선 물질의 제거에 이용되고 있다.

Nishimura 등¹⁶⁾은 rat에 수용성 키토산과 함께 ⁸⁵Sr을 1회 경구투여하여 체내 잔유율을 측정 한 결과, 위장에 있는 ⁸⁵Sr의 배출을 촉진시켰으며, 키토산의 분자량에 따른 종류, 농도 및 투여횟수에 따라서 차이가 있는 것으로 나타났다.

이러한 결과는 키토산은 중금속 뿐만 아니라 생체내 대사활성의 필수 성분인 미네랄에 대해서도 제거할 가능성이 있는 것으로 시사되고 있다.

渡辺 등³³⁾은 키토산을 450일간 장기섭취시킨 rat의 미량원소의 대사에 미치는 영향을 검토하였다. Rat의 혈액 중 P와 Na의 농도만 대조군에 비하여 약간 저하하였고 기타 원소에 대한 변화는 없는 것으로 보고하였다. Ca의 농도는 근육에서 약간 감소하였지만 뼈와 혈액 중에서는 변화가 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 키토산이 미량원소 대사에 미치는 영향이 크지 않다는 것을 추측케 한다.

6. 참고문헌

1. 김세권, 수산계, 6, 48(1990).
2. 内田, 月刊フードケミカル, No.2, 22(1988).
3. Kendra, D. F. and Hadwiger, L. A., Exp. Mycol., 8, 276(1984).
4. Amako, K., et al., Appl. Environ, Microbiol., 53, 608(1987).
5. 奥田拓道, 月刊フードケミカル, No.2, 33(1995).
6. 加藤秀夫, キチン・キトサン健康讀本1, No. 2, 46(1995).
7. Sugano, M., et al., Nutr. Rept. In, 18, 531(1978).

8. Sugano, M., et al., *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 787(1980).
9. Maezaki, Y. et al., *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 1439(1993).
10. 김세권, 전유진, 한국키티킨키토산연구회지, 2, 1(1997).
11. Nishimura, K., et al., *Vaccine*, 4, 151(1986).
12. Nishimura, K., et al., *Vaccine*, 2, 93(1984).
13. Suzuki, K., et al., *Carbohydr. Res.*, 151, 403(1986).
14. Tokoro, A., et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 784(1988).
15. Tokoro, A., et al., *Microbiol. Immunol.*, 33, 357(1989).
16. Nishimura, Y., et al., *Radiat. Protect. Dosim.*, 53, 331(1994).
17. 김세권, 한국키티킨키토산연구회지, 1, 57(1996).
18. Sandford, P. A., *The 4th international conference on chitin and chitosan, Vol. 4, Trondheim in Norway, 1988, pp. 51-69.*
19. Allan, C. R. and Hadwiger, L. A., *Exp. Mycol.*, 3, 285(1979).
20. 井爪正人, *キチン・キトサンハンドブック*, p. 307, 技報堂出版(1995).
21. Dahl, L. K. and Love, R. A., *Arch. Int. Med.*, 94, 525(1954).
22. Sugano, M., et al., *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 787(1980).
23. Maezaki, Y., et al., *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 1439(1993).
24. Akiyama, Y. and Hamuro, J., *Proteins, Nucleic Acid and Enzyme*, 26, 208-224(1981).
25. Truitt, G. A., et al., *Immunol.*, 123, 745-750(1979).
26. Nathan, C. F., et al., *Exp. Med.*, 149, 84-99(1979).
27. Minato, N., et al., *J. Exp. Med.*, 152, 124-137(1980).
28. Suzuki, S., *Fragrance J.*, 15, 61-68(1996).
29. Suzuki, K., et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 886-888(1985).
30. Suzuki, S., *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 62, 1241-1243(1988).
31. Wu Qingzhai, et al., *Chinese J. Biochem. Pharm.*, 16, 118(1995).
32. 渡部俊彦 等, *キチン・キトサン研究*, 3, 11(1997).
33. 渡辺嘉人 等, *キチン・キトサン研究*, 1, 86(1995).