

나노키토산의 식품분야에서의 이용

Application of nanochitosan in food industry: a review

유지영¹ · 고정아¹ · 박현진¹ · 김현우^{1*}

Ji Young Yu¹, Jung A Ko¹, Hyun Jin Park¹, Hyun Woo Kim^{1*}

¹고려대학교 일반대학원 생명공학과

¹Department of Biotechnology, College of Life Science and Biotechnology, Korea University

Abstract

Recently, chitosan has increased attention in commercial applications in the food industry in terms of its biocompatibility and nontoxicity. In particular, chitosan has been used as a good hosting material for producing nanoparticles due to its unique property of ionic gelation. Chitosan has disadvantages such as low solubility at physiological pH, causing the metabolism of core material in the intestine and gastric juice. To overcome these limitations, various chitosan derivatives such as carboxylated, thiolated, and acylated chitosan have been studied. This review focuses on the changes in the physicochemical properties of

chitosan nanoparticles with the introduction of hydrophobic groups, the application of functional nanocapsules as coatings, and their applicability in the food sector. The physicochemical modification of chitosan is expected to be an attractive research field for the development of chitosan applications for food as well as for improving bioavailability in functional food.

Keywords: chitosan, nano chitosan, chitosan-based nanocarriers, chitosan coating, functional food

*Corresponding author: Hyun Woo Kim
Department of Biotechnology, College of Life Science and Biotechnology,
Korea University, Anam-dong, Seongbuk-gu, Seoul, 02841, Republic of Korea
Tel: +82-2-3290-4149
Fax: +82-2-953-5892
Email: mn4012@korea.ac.kr

Received November 28, 2019; revised December 18, 2019; accepted January 29, 2020

서론

키토산(chitosan)은 갑각류나 연체류 등에 분포되어 있는 천연 고분자인 키틴을 탈아세틸화(deacetylation)하여 얻어지는 고분자물질로서, 탁월한 생체적합성, 생분해성, 항미생물활성 등을 갖고 있는 대표적인 양이온성 다당류이다(Ali과 Ahmed, 2018). 특히, 키토산은 트리폴리인산나트륨(sodium tripolyphosphate)과 같이 음전하를 나타내는 성분과 정전기적 작용에 의한 이온겔화(ionic gelation)가 가능하다는 특징이 있다(Jang과 Lee, 2008). 이러한 이유로 키토산 관련기술은, 식품 산업, 의학, 생명 공학, 농업, 화장품, 섬유, 환경 보호 등을 포함한 여러 분야에서 새로운 관심 분야로 부상하고 있다(De Azeredo, 2009; Rhim 등, 2013).

키토산은 생물학적 및 물리 화학적 특성으로 인해 지난 몇 년간 기능성물질 전달체로 주목을 받아왔으며, 키토산-기반 전달 시스템의 활용은 미세 입자에서 나노복합체 및 필름에 이르기까지 다양하다. 키토산 나노 복합체는 일반적으로 100 nm 미만의 평균 입자 크기를 갖는 나노 키토산 중합체를 지칭하는데, 지속성, 친환경성 및 무독성으로 인해 나노 입자를 제조하는데 우수한 호스팅 물질로 사용되고 있다(Bowman과 Leong, 2006). 키토산 나노 복합물은 우수한 기계적 성질 및 열 안정성을 나타내며 이들 복합체는 사용되는 용도에 따라 분말, 필름, 섬유 비드 및 하이드로 겔 등의 형태로 만들어 질 수 있다.

그러나 이러한 전달 시스템에 키토산을 사용하는 데는 몇 가지 단점이 있다. 주요 단점은 아미노 그룹의 부분 양성자 때문에 생리적 pH에서의 용해도가 낮아서, 단백질 분해 효소의 존재 하에 장 및 위액에서 포집물질(core material)의 대사를 유발한다는 것이다. 이러한 단점을 극복하기 위해, 카르복실화, 티올화 및 아실화 키토산과 같은 다양한 키토산 유도체가 키토산 나노입자 시스템에 연구되고 있

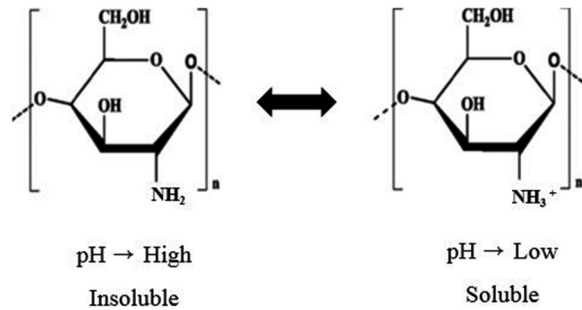


그림 1. pH 변화에 따른 키토산의 구조 (Ali과 Ahmed, 2018)

다(Elgadir 등, 2015). 이같이 사용목적에 따라 계량된 키토산 나노 복합체는 기능성 식품 제조분야에서 다양한 응용가능성을 내포하고 있다. 그러므로 본 총설에서는 소수성기 도입에 따른 키토산 나노 입자의 물리화학적 특성 변화와 기능성 나노캡슐의 코팅물질로서의 활용, 그리고 식품 분야에 이용 가능성에 관하여 논의하고자 한다.

1. 키토산의 물리화학적 특성

키토산의 구조는 셀룰로오스의 구조와 매우 유사하며 셀룰로오스 다음으로 풍부한 천연 중합체이다. 키토산은 D-glucosamine과 N-acetyl-D-glucosamine의 두 단위체가 β -(1,4)-glycosidic 결합으로 연결된 구조로, 낮은 pH에서 아미노기의 양성자화(protonation)를 통해 키토산 분자를 전기적으로 양성을 띄게 만들며, 이러한 특성이 키토산의 수용성을 증가시켜 물에 잘 녹게 한다(그림 1).

키토산의 용해도, 생분해성 및 반응성, 기질의 흡착성 등은 중합체 사슬에서 양성자화 된 아미노기의 정도에 의해 영향을 받는다. 키토산의 아미노기는 알칼리성 또는 중성 매질에서 양성자화되지 않으므로 물, 유기 용매 및 염기성 용액에서 불용성이지만 아세트산, 질산, 염산등의 산성 용액에서는 양성자화 되어 교반 후 용해된다. 또한, 키토산은 공급원과 제조공정에 따라 분자량 및 탈아세틸화정도

표 1. 키틴, 키토산의 생물학적 특성과 구조적 특징과의 관계 (Aranaz 등, 2009)

Property	Influence factors
Biodegradability	DD, distribution of acetyl groups, Mw
Biocompatibility	DD
Mucoadhesion	DD, Mw (only chitosan)
Hemostatic	DD, Mw
Analgesic	DD
Adsorption enhancer	DD (only chitosan)
Antimicrobial	Mw
Anticholesterolemic	DD, Mw, viscosity
Antioxidant	DD, Mw

DD (Degree of Deacetylation): 탈아세틸화 정도.
Mw (Molecular weight): 분자량.

(degree of deacetylation)가 다양하게 나타날 수 있으며, 이들은 키토산의 물리적 성질과 기능성에 크게 영향을 미친다(표 1).

1.1. 분자량

일반적으로 키토산의 분자량은 매우 커서 체내 흡수와 용해도가 낮아 우수한 생리활성을 가지고 있음에도 불구하고 그 응용의 폭이 제한되고 있다. 따라서 키토산 올리고당 또는 나노키토산을 제조하여 흡수율과 용해도를 높이고자 하는 연구가 진행되고 있다(Muanprasat과 Chatsudthipong, 2017).

키토산은 분자량에 따라 친수성, 점성, 수분흡수 능력, 생분해성 등과 같은 특성이 달라진다(Aranaz 등, 2009). 특히, 키토산의 항균성은 키토산의 분자량과 상관관계가 있다고 알려져있다. 저분자 키토산은 박테리아의 세포벽을 관통하여 DNA와 결합하여 mRNA와 DNA 전사의 합성을 억제하고, 고분자 키토산은 세포 표면과 상호 작용하여 결과적으로 세포 투과성을 변경하거나 세포 주위에 층을 형성하여 세포로 필수 물질의 수송을 차단하는 기능을 한다(Leuba과 Stossel, 1986; Choi 등, 2001; Ea-

ton 등, 2008). 이 등(2013)은 수용성 키토산의 분자량에 따른 항산화 및 항암 활성을 조사한 결과 저분자의 효과가 우수한 것을 확인하였고 다양한 기능성 식품 소재로 활용 가능성을 확인하였다.

1.2. 탈아세틸화 정도

아세틸화 정도는 2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose 대 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose structural units의 비율이다. 이 비율은 키토산의 용해도 및 용액 특성에 현저한 영향을 미친다. 키토산의 항균성은 박테리아 표면에 음전하를 띠는 구성분과 키토산의 양이온(NH₃⁺)이 결합함으로써 나타나므로, 키토산의 양전하 밀도가 높을수록 항균 활성이 강해진다(Raafat과 Sahl, 2009). 또한, 양전하의 밀도는 키토산의 탈아세틸화 수준과 양의 상관관계가 있다(Kong 등, 2010). 탈아세틸화 정도가 높을수록 더 많은 아민기를 갖게 되며 이로 인해 양전하를 더 많이 띠게 된다. 동일한 분자량의 키토산에서 탈아세틸화 정도가 높은 키토산(97.5%)이 더 낮은 키토산(83.7%)보다 *S. aureus*를 억제하는 데 더 효과적이라는 것이 입증 되었다(Kong 등, 2008a, 2008b). Chung 등(2004)은 탈아세틸화 정도가 높을수록 박테리아 병원체에 의한 키토산의 흡수가 증가하고 항균 활성이 높아짐을 보여주었다.

1.3. 용해도

키토산은 강한 양전하와 인체 내 낮은 독성으로 인해 기능성 소재 전달체로서 많은 관심을 불러일으키고 있으나 증류수에 대한 용해도가 낮아 산을 포함한 수용액에 녹여야 한다는 문제로 인해 그 실제 응용에는 한계를 나타내었다. 키토산의 분자량 및 탈아세틸화 정도는 키토산의 용해도에 영향을 미친다. 따라서, 이러한 키토산의 용해도를 증가시키기 위하여 산이나, 효소 분해를 이용함으로써 저분자화하거나, 키토산에 작용기를 치환함으로써 용해성을 높이려는 연구가 수행되어오고 있다(Kurita 등, 1991;

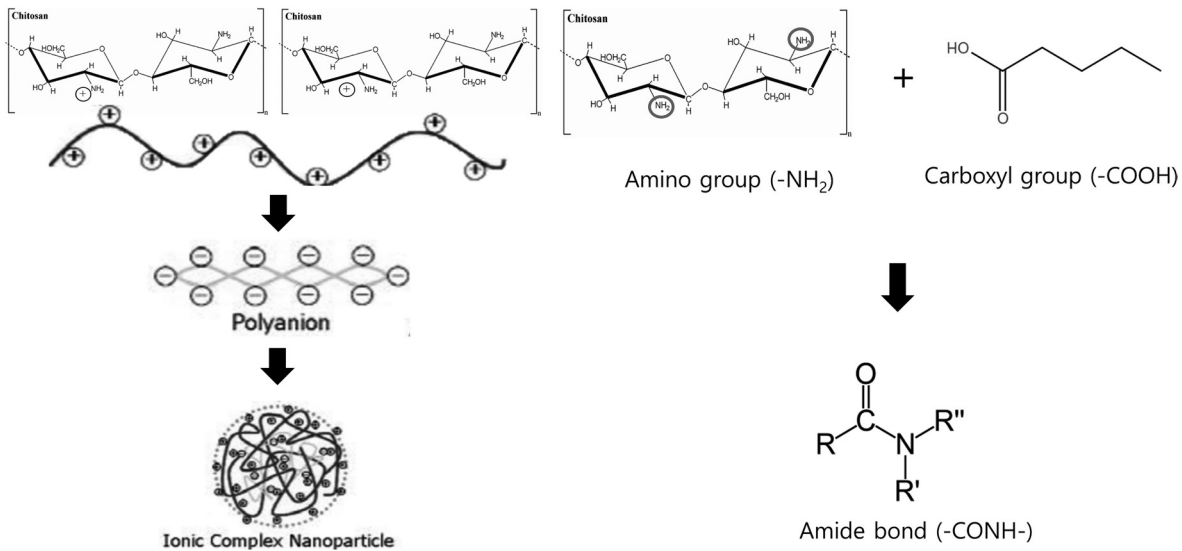


그림 2. 키토산을 이용한 나노입자 제조 방법(권 등, 2004). (A) 정전기적 복합체, (B) 소수성기가 도입된 양친매성 중합체.

Kubota와 Eguchi, 1997; Philippova 등, 2012).

2. 다양한 소수성기가 결합된 나노캡슐

키토산은 항암효과, 면역 강화, 항균성, 콜레스테롤 감소 등의 다양한 생리활성을 가지고 있기 때문에 의약품, 식품, 바이오산업, 의료용 분야에서 많이 사용되고 있다(Li 등, 2007). 또한 양전하, 생분해성, 생체적합성, 비독성, 단단한 선형 분자 구조를 포함한 독특한 특성으로 약물전달시스템으로도 적합하다(Chen 등, 2003). 키토산 나노캡슐은 키토산의 용해도, 흡수율, 생체이용률을 향상시켜주며, 약물전달시스템 분야에서의 나노캡슐은 지속성 약물방출시스템, 제어방출 시스템, 표적 지향적 약물 전달시스템으로서 다양한 분야에서 활발하게 응용된다(정 등, 2017).

키토산은 반응성 아미노 그룹과 하이드록실 그룹을 모두 가지고 있기 때문에 다양한 키토산 유도체를 형성한다(Desai와 Park, 2006). 변형된 키토산 나노캡슐은 크게 두 가지 방법으로 제조할 수 있다. 첫 번째 방법은 양이온성을 가지는 키토산의 아

미노 그룹과 음이온을 가지는 생체 고분자가 서로 정전기적 복합체(polyion complex)를 형성하여 변형된 키토산 나노캡슐을 제조한다(권 등, 2004)(그림 2(A)). 하지만 전달 시스템으로서 이러한 키토산 나노캡슐은 몇 가지 단점을 가지고 있다. 키토산 나노캡슐은 친수성 성질을 나타내고, 산성 조건에서 높은 용해도를 가진다. 이는 위장의 산성 조건에서 분해가 빨리 되기 때문에 물질을 전달하는데 제한적이다. 또한, 만약 나노캡슐 안에 단백질 물질을 로딩하고자 한다면, 단백질 농도가 높을수록 단백질 로딩 효율이 낮아지는 단점을 가진다(Cho 등, 2012a). 이러한 단점들을 개선하기 위해서 두 번째 키토산 나노캡슐 제조 방법이 이용된다(그림 2(B)). 두 번째 방법은 친수성 성질을 가지는 키토산의 아미노 그룹에 소수성기 물질을 결합하여 양친매성 키토산을 제조하고, 자가응집(self-assembly)으로 나노입자를 형성한다(권 등, 2004). 키토산의 양이온성 free 아미노(-NH₂) 그룹이 소수성 물질에 존재하는 카르복실기(-COOH) 그룹과 함께 결합해서 아마이드(-CONH-) 결합을 형성하기 때문에 물리적, 화학적 개질이 가능하다(정 등, 2017). 소수성

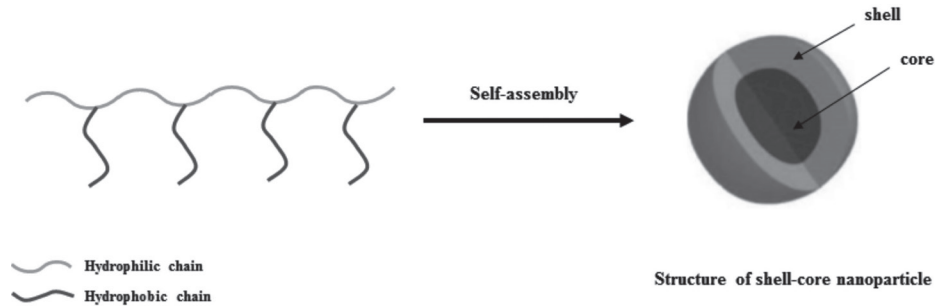


그림 3. 소수성기가 도입된 양친매성 키토산의 자가 응집 (정 등, 2017).

기가 도입된 양친매성 키토산이 형성되고, 주쇄에 연결되어있는 소수성 측쇄들의 분자 간 소수성 결합에 의해서 자가응집이 발생하여 나노입자를 만들게 된다(권 등, 2004)(그림 3). 소수성기인 linolenic acid, oleoyl, N-acyl기 도입에 따른 변형된 키토산 나노캡슐의 특성을 비교해보면 다음과 같다.

2.1 리놀렌산(Linolenic acid)이 도입된 나노키토산

팔미트산(Palmitic acid)처럼 긴 선형을 가지는 물질과 결합한 키토산은 자가응집이 일어나는 과정 동안 가교로 인해서 과도한 겔형 구조가 형성되는 문제점을 가진다. 이러한 문제점을 개선하고

양친매성을 강화시키기 위해서 리놀렌산(Linolenic acid)을 키토산에 도입하였다(Chen 등, 2003). 리놀렌산이 도입된 나노키토산을 형성하기 위해서 “zero-length”인 EDC(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide)를 가교제로 사용하였다. EDC는 키토산의 아미노 그룹과 리놀렌산의 카르복실기 그룹을 아마이드 결합을 통해 두 분자를 연결해주는 역할을 한다. 먼저, 리놀렌산의 카르복실기가 EDC로 인해서 활성화되고, 이는 활성화된 O-acyl-isourea 유도체를 형성한다. 형성된 O-acyl-isourea 유도체는 키토산의 아미노 그룹과 반응하여 아마이드 결합으로 리놀렌산이 도입된 나노키토산

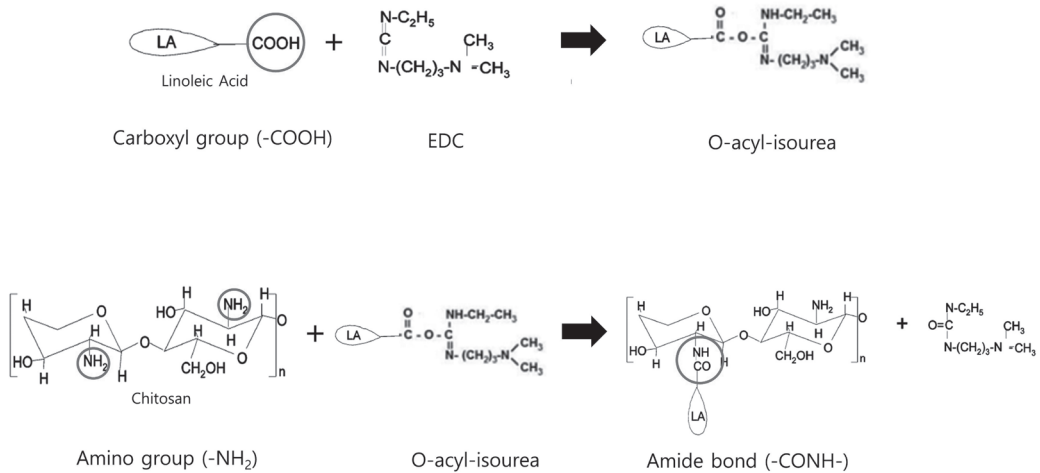


그림 4. 리놀렌산(Linolenic acid)이 도입된 나노키토산 제조 (Liu 등, 2005).

을 형성한다(Liu 등, 2005)(그림 4). Liu 등(2005)은 리놀렌산이 도입된 나노키토산 캡슐에 효소인 트립신을 로딩하기 위해서 GA(glutaraldehyde)를 가교제로 사용하였다. GA 농도가 높을수록 트립신의 활성이 증가하였고 고농도의 GA는 효소를 지지해주는 결합이 고밀도로 형성되기 때문에 효소의 활성이 더 좋아졌다. 또한, GA 양이 많을수록 입자 크기가 증가하고 입자 간의 가교 가능성이 증가하였다. 이는 GA의 양이 증가함에 따라 가교된 키토산 겔이 강해지면서 고밀도 3차원 네트워크 구조가 형성되기 때문이다. 이와 같이 로딩하는 물질에 따라서 적절한 가교제를 이용해주면 물질의 활성을 조절할 수 있으며, 크기 조절이 가능하다. 또한, 키토산 나노입자 크기는 가교제뿐만 아니라 지방산의 종류에 따라서도 조절될 수 있다. 탄소수가 많은 지방산과 키토산이 결합될수록 소수성-소수성 간의 상호작용이 증가한다. 이로 인해서 나노입자의 core 부분의 소수성 밀도가 증가하기 때문에 지방산의 탄소수에 따라 크기를 조절할 수 있으며, core의 소수성 증가로 인해서 물에 대한 용해도가 낮은 난용성 물질의 용해도를 향상시킬 수 있다. 따라서, 다양한 탄소수를 가지는 지방산을 적절하게 배합한다면 약물 방출 시간을 조절할 수 있기 때문에 다양한 질병 치료에 응용이 가능하다(정 등, 2017). 이처럼 사용하는 가교제 또는 지방산 종류에 따라서 다양한 특성을 가지는 키토산 나노캡슐을 형성할 수 있다.

2.2 올레오일(Oleoyl)기가 도입된 나노키토산

일반 나노키토산은 수용액 상태에서 잘 분포되지 않고, 용액의 pH에 영향을 많이 받는다는 단점을 가진다. Xing 등(2009)은 O/W 유화법을 사용하여 키토산에 올레오일(Oleoyl)기를 도입시킨 나노키토산을 제조하여 이러한 단점을 보완하였다. 올레오일키토산은 pH 영향을 적게 받기 때문에 항균 활성 분야에서도 많이 응용된다(Datta 등, 2017). Li 등(2007)은 Oleoyl chloride의 염화아실기와 키토산의

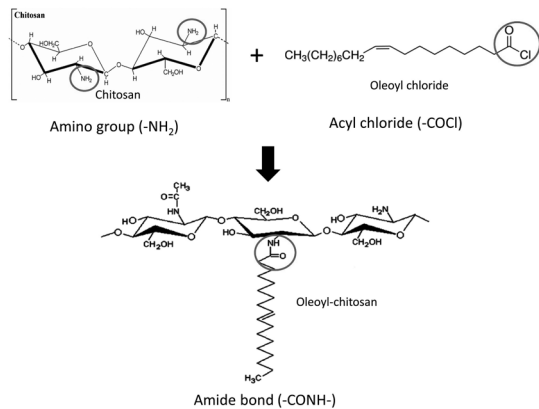


그림 5. 올레오일(Oleoyl)기가 도입된 나노키토산 제조 (Li 등, 2007).

아미노 그룹이 반응하여 아마이드 결합으로 올레오일키토산(Oleoyl-chitosan)을 형성하였다(그림 5). 올레오일키토산 분자량은 키토산의 분자량과 치환되는 정도(치환도, degree of substitution)에 따라서 다양하게 조절할 수 있으며, 이에 따라 나노 입자의 크기 및 특성이 다르게 나타난다. 모든 올레오일키토산은 일반 키토산보다 높은 점도를 가지며, 농도와 치환도에 비례하여 점도가 증가하였다. 소수성 도메인이 형성될 때, 중합체 수용액의 점도가 동반됐다. 중합체의 농도가 증가할수록 응집체 사이에서 브릿지를 형성하려는 결합이 발생하였고, 형성되는 이 브릿지는 연결 네트워크로서 점도를 크게 증가시키는 결정적인 요인이다. 즉, 형성되는 소수성 도메인은 분자간 응집체에서 다량의 중합체 분자를 함께 연결시키는 접합영역 역할을 하기 때문에 치환도가 높을수록 점도는 증가하였다. 또한, 중합체의 농도에 따라서도 점도가 증가한다. 중합체 사슬, 수소결합, 정전기 결합, 소수성 상호작용 등 다양한 반응이 존재하지만, 분자량은 올레오일키토산 점도에 영향을 미치는 주요 요인이다. 올레오일키토산은 양친매성 구조를 가지고 있기 때문에 표면장력과 계면 특성도 가지고 있다. 치환도에 있어서 표면장력은 치환도가 증가할수록 감소하였다.

표 2. N-아실 키토산을 생성하는 무수물 및 할로겐화물 유형.

	Name	Chemical structure
Alkyl anhydrides	Propionic anhydride	
	Hexanoic anhydride	
Acyl halides	Nonanoyl chloride	
	Lauroyl chloride	
	Pentadecanoyl chloride	
	Stearoyl chloride	

소수성 그룹의 치환도가 증가함에 따라 용액의 표면에 더 많은 양친매성 중합체가 생기기 때문에 표면장력이 감소하였다. 또한, 다량의 소수성 그룹이 계면에 고밀도로 밀집되어 있어서 알킬 측쇄를 흡착할 수 있는 가능성이 더 높아졌다. 반면, 키토산은 표면장력을 감소시키는 능력이 미미하기 때문에 키토산의 분자량에 따른 표면장력은 유의적 차이가 나타나지 않았다. 자가응집의 크기는 치환도가 증가할수록 감소하고, 용해도와 점도에 영향을 주지는 않았다. 또한, 분자량이 증가하면 점도가 높아져서 나노 입자 형성이 어렵기 때문에 분자량이 낮을수록 나노 입자 형성을 촉진했다(Li 등, 2007). 도입하는 소수성기의 분자량과 치환도에 따라서 변형된 키토산의 점도, 표면장력, 나노 입자와 같은 특성들을 조절할 수 있다. 사용하고자하는 목적에 따라서 최적의 비율 조건으로 키토산을 제조한다면, 다양한 산업 분야에서 적절하게 응용 가능할 것이다.

2.3 아실(N-Acyl)기가 도입된 나노키토산

일반적으로 키토산은 친수성을 띄고 산성 조건에서 높은 용해도를 가지기 때문에 캡슐 안에 있는 코어 물질의 방출 제어 적용이 제한적이다. Cho

등(2012a)은 키토산에 N-아실(N-Acyl)을 도입함으로써 무수물(anhydrides)이나 할라이드(halides)로 화학적 변형을 시켜, 소수성을 띄며 산성 조건에서도 낮은 용해도 특성을 가지는 N-아실 키토산을 제조하였다. N-아실 키토산은 유도체화가 용이하고 혈액 친화성이 우수하다는 장점을 가진다. 프로피온산 무수물(Propionic anhydride), 헥사노익 무수물(hexanoic anhydride), 노난오일 클로라이드(nonanoyl chloride), 도데칸오일 클로라이드(lauroyl chloride), 펜타데칸오일 클로라이드(pentadecanoyl chloride), 염화스테아로일(stearoyl chloride)을 도입해서 각각 propionyl chitosan, hexanoyl chitosan, nonanoyl chitosan, lauroyl chitosan, pentadecanoyl chitosan, stearoyl chitosan을 제조하였다(표 2). N-아실 키토산 나노 입자는 가교제 없이 자가 응집법에 의해서 만들어지며, 키토산의 아미노 그룹이 alkyl anhydrides의 무수물이나 acyl halides와 반응하여 아마이드 결합을 통해서 제조된다(Desai와 Park, 2006)(그림 6).

N-헥사노일 키토산(N-hexanoyl chitosan)은 다른 변형된 키토산과 비교했을 때 혈액 상용성이 가장 좋은 것으로 알려져 있다(Desai와 Park, 2006).

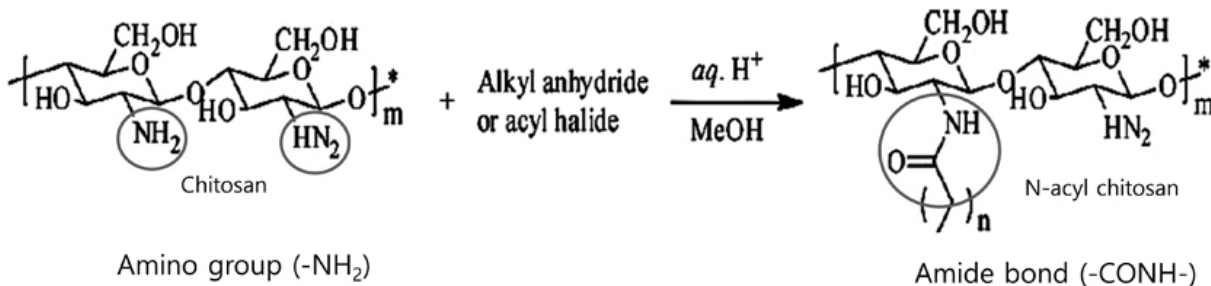


그림 6. 아실(N-Acyl)기가 도입된 나노키토산 제조 (Cho 등, 2012).

N-헥사노일 키토산 제조시 트리폴리포스페이트 (tripolyphosphate, TPP)를 첨가하면 가교제 역할을 하기 때문에 나노 입자가 더 잘 형성되었다. 키토산은 음으로 하전되어 있는 TPP 이온과 반응하고 이온결합에 의해서 겔화 될 수 있기 때문에 일반적인 외부 환경 조건에서도 나노 입자를 잘 형성하였다. 키토산의 유리 아미노기와 TPP 음이온 사이에서 생성된 이온결합은 분자간 연결과 분자내 연결을 통해서 나노 입자를 형성한다(Desai와 Park, 2006). TPP와 이온적으로 가교된 나노 입자는 단백질을 코어 물질로 로딩했을 때 나노 입자 형성과 관련된 물리적 포획 이외에도 소수성 상호 작용, 수소결합, 기타 물리 화학적 힘이 발생하기 때문에 변형된 다른 키토산보다 단백질이 잘 로딩되었다. Desai와 Park(2006)에 따르면 단백질 농도가 낮을수록 단백질 캡슐화 효율이 증가하지만, 단백질 로딩은 단백질 농도에 비례해서 증가하였다.

Cho 등(2012a)은 다양한 N-아실 키토산의 특성을 비교했다. N-아실 농도가 높을수록 자가응집이 잘 일어나는 반면, N-아실 알킬 사슬의 길이는 키토산 길이에 비해 훨씬 짧기 때문에 N-아실 종류에 따른 유의적 차이는 없었다. 소수성 side chain이 소수성 코어를 증가시키기 때문에 소수성 알킬 사슬 길이에 비례해서 나노 입자 크기가 증가하였다. 하지만 단백질 물질을 로딩하는 경우, lauroyl chitosan과 pentadecanoyl chitosan의 경우 N-아실 키토산이 단백질과 매우 밀접하게 상호작용하기 때문에

이들의 side chain은 nonanoyl chitosan보다 길지만 훨씬 더 작은 나노 입자 크기를 가졌다. 또한 고농도로 로딩할수록 코어의 크기가 커지기 때문에 입자 크기가 증가하였다. 마지막으로 단백질이 로딩되는 양은 단백질의 농도가 증가함에 따라 크게 증가하지만, 로딩 효율은 반대로 농도가 증가할수록 감소하였다.

Cho 등(2012b)은 N-아실 키토산에 비타민 C를 포집하였다. 비타민 C는 N-아실 키토산을 가교시키는 역할을 하고, N-아실 키토산의 매트릭스를 잡아당겨서 나노 입자의 크기를 약 50% 감소시켰다. 아실 side chain이 증가할수록 소수성 상호작용이 강화되기 때문에 비타민 C 방출 속도가 감소하지만, 로딩 효율에는 영향을 미치지 않았다.

이와 같이 나노 키토산은 도입되는 무수물이나 acyl halides의 종류에 따라서 기존의 나노 키토산의 단점을 개선시킬 뿐만 아니라 각각의 특성들이 달라진다. 또한 제조시 첨가하는 가교제 종류와 캡슐에 로딩하는 코어 물질에 따라서도 키토산의 특징과 나노 입자 크기가 달라진다. 즉, 키토산에 도입하는 물질, 가교제, 코어 물질을 적합하게 선택하여 키토산을 변형한다면 원하는 특징을 가지는 키토산을 제조할 수 있으며, 산성 조건에서 안정적이고 쉽게 변형 가능한 N-아실 키토산 나노캡슐은 전달 시스템으로서 식품산업과 제약산업의 발전에 큰 도움이 될 것이라고 생각한다.

3. 난용성 생리활성 물질의 키토산 코팅 나노캡슐

앞서 말했듯이, 키토산은 양전하 띠는 천연 다당류로 음전하를 나타내는 폴리머와의 이온 겹화를 통해 안정되고 균일한 입자의 나노캡슐을 형성할 수 있는 특성이 있다(Lee 등, 2016). 이러한 특성 때문에 기능성식품 분야에서 생리활성 나노캡슐의 생체적합성 향상을 위한 피복물질로써 키토산의 활용이 활발하게 연구되었다. 특히, 키토산이 코팅된 나노캡슐은 우수한 생분해성과 점막접착성, 생체적합성 및 비독성 특성으로 인해 생리활성물질 전달 시스템으로 널리 사용되는데, 다른 전달 시스템과 비교하여 특별한 성질을 가지고 있다. 키토산 코팅에 의해 양전하로 하전된 나노캡슐은 점막 표면에 접착되어 상피세포 사이이 단단한 접합부를 일시적으로 개방한다는 것이다(Wu 등, 2005; Lehr 등, 1992). 이러한 원리로 키토산 코팅 나노캡슐이 생체 내에서 막투과성을 높이고 흡수율을 증가시킬 수 있다는 연구가 다수 소개되고 있다. 나노캡슐의 종류와 코팅방식에 따른 특성을 살펴보면 다음과 같다.

3.1 키토산 코팅 나노 리포솜

리포솜은 수성매질을 둘러싸는 인지질 이중층으로 구성된 미세한 소포체이다(Parmar 등, 1999). 리포솜 시스템은 기능성식품, 제약 및 화장품 분야에서 널리사용되어 왔으며, 다양한 생리활성 제제의 캡슐화에 성공적으로 이용되고 있다(Liu 등, 2010; Erjavec 등, 2006). 하지만, 단순히 양친매성 포스파티딜콜린으로 구성된 리포솜은 주로 소수성 상호작용에 의해 그 형태를 유지하는데 한계가 있다(Osanai와 Nakamura, 2000). 때문에, 시간이 지남에 따라 캡슐화된 활성물질이 누출되고 손실되는 경향이 있다. 뿐만 아니라, 리포솜은 점진적인 유착이 일어날 수 있는데, 이러한 현상은 표면 전하가 감소되는 낮은 pH환경에서 더욱 두드러지게 나타난다

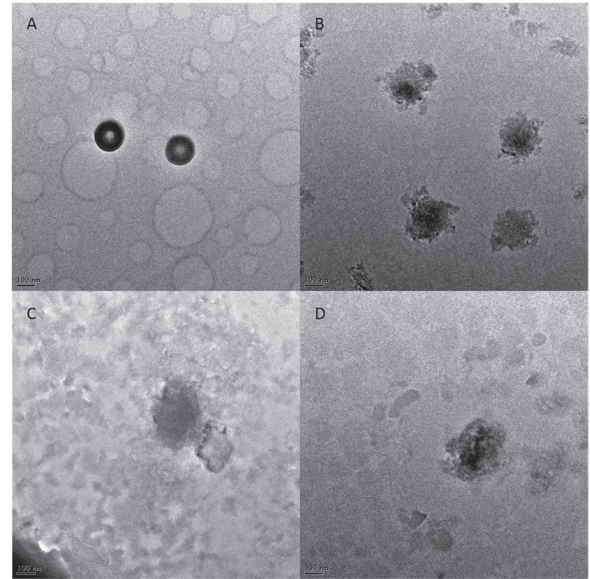


그림 7. 키토산 코팅된 커큐민 나노리포솜의 개략도와 투과 전자 현미경 이미지 (Shin 등, 2013).

(Benech 등, 2002). 이에 리포솜의 안정성을 향상시키는데 많은 연구가 집중되었고, 키토산과 같은 천연 고분자로 리포솜을 코팅하여 복합화하는 기술이 조명을 받고있다.

Shin 등(2013)은 커큐민 함유 나노 리포솜의 점막 접착성을 개선하기 위해 키토산 코팅을 이용하였다. 피막코팅은 키토산의 아민기(NH_3^+)와 리포솜의 인산기(PO_4^{3-})의 상호작용에 의해 유도되고, 코팅된 표면은 양전하로 하전되었다(그림 7). 이때, 키토산 코팅된 리포솜의 표면은 강한 친수성 특성을 나타내고, 이를 통해 상피 세포에 대한 흡착성을 크게 향상시킬 수 있다는 결과가 도출되었다(Takeuchi 등, 1996). 한편, 대사반응에 필수적 영양소인 비타민은 식품첨가제 및 보조제 형태로 공급되는데, 식품환경 및 위장관내에서 쉽게 생리활성이 저해되어 안정성과 저장성 확보가 주요 이슈였다. 이때, 키토산 코팅은 캡슐화된 생리활성 성분의 저장성 향상에도 크게 기여하는데, 비타민 C의 경우 최소 15주 동안의 저장기간동안 산화에 대한 안정성이 확보될



수 있다고 보고된 바 있다(Liu와 Park, 2009). 뿐만 아니라, 기계적 응력에 대한 리포좀의 감수성과 포집된 생리활성 물질의 누출 경향을 제어할 수 있는 효율적인 수단이 될 수 있다(Laye 등, 2008). 이러한 특성을 갖는 키토산 코팅 나노 리포좀은 건강기능식품용 생리활성물질 전달체로써 다양한 응용이 가능할 것으로 사료된다.

3.2. 키토산 코팅 나노 에멀전

나노 에멀전은 친수성 또는 소수성 매질 내에 분산된 50-200 nm 범위의 작은 소포체로 구성된 콜로이드 분산 시스템이다(Izquierdo 등, 2002). 특히, 나노 에멀전은 친수성과 소수성 모두에 대해 목표로 하는 표적전달 방출 시스템으로 작용할 수 있는 가능성으로 인해 식품 및 농업 산업에서 상당한 관심을 끌고 있다. 하지만, 나노 에멀전은 열역학적으로 매우 불안정하기 때문에 콜로이드 시스템을 안정화 시키기 위해 특정 유화제의 사용 또는 고분자 코팅 공정을 필요로 한다.

키토산은 나노 에멀전의 안정성과 흡수 속도를 높이고 방출 패턴을 조절하는 피복제로 널리 이용되고 있다. 특히, 코팅 과정에서 키토산의 분자량은 나노 에멀전의 물리화학적 안정성과 생체적합성을 결정하는데 중요한 요소로 보고되어 있다(Li 등, 2016). 피복되는 키토산의 분자량과 농도가 증가할수록 나노 에멀전의 표면에 보다 두꺼운 코팅층을 형성하는데, 이는 콜로이드의 안정성과 흡수율, 체류시간에 영향을 미치게 된다(그림 8). 따라서, 키토산 분자량 조절을 통해 코팅된 에멀전이 소화효소에 의해 분해되는 시간과 위치를 제어할 수 있게 되었다. 이러한 원리로 생리활성 물질의 특성과 작용 부위에 따른 방출거동 제어와 표적전달을 가능하게 하여 다양한 기능성 식품 제조에 응용이 가능할 것으로 기대되고 있다. 하지만, 키토산 코팅의 경우 산성조건이 아닌 중성 또는 알칼리 식품에서의 용해도가 감소되기 때문에, 위장관 내에서 흡수

거동이 불분명 할 수 있다는 우려가 또한 적지 않았다(No 등, 2007). 반면, n-3 지방산이 포집된 에멀전에 대한 키토산 코팅의 영향을 조사하였을 때, 장관 내 지방소화 효소에 의해 충분히 소화될 수 있다고 보고된 바 있어(Klinkesorn과 McClements, 2009), 키토산 코팅이 생리활성 화합물을 전달하는데 상당히 유용하다는 의견에 무게가 실리고 있다.

4. 나노키토산의 식품 응용

키토산은 보존제(선도유지), 항균/항곰팡이제, 콜레스테롤 조절, 지방 흡수 저해, 장대사 개선, 혈압 조절, 미네랄 흡수 및 배설 조절 기능으로 식품 산업에서 활용된다. 키토산을 활용하여 고부가가치 제품으로 응용하는데 가장 중요한 요소는 탈아세트화, 분자량, 순도이다. 탈아세트화가 높을수록 키토산 특성이 증가하고, 고유 기능 발현이 가능하도록 분자량의 크기가 일정하게 유지되어야 한다. 또한, 적은 잔류 불순물 함량일수록 인체 안정성이 우수하기 때문에 순도가 높아야 한다. 키토산은 식품산업 소재로서 다양하게 사용된 보고가 있지만, 나노 키토산은 현재 건강기능식품과 다이어트 보조제로 가장 많이 이용되고 있다.

나노키토산은 면역증진 효과, 항종양 효과, 항미생물 효과, 혈압조절 효과, 세포자극 효과, 혈액의 항응고 효과와 같이 다양한 생리기능을 가지고 있기 때문에 건강기능식품 제품으로 많이 제조된다. Suzuki 등(1986)은 일정량의 키토산을 정맥으로 투여한 결과 종양 성장이 85-93% 감소되었다고 보고하였다. 양이온을 띠는 키토산은 염소이온과 결합해서 체외 배설이 유도되어 혈압을 조절하고, 중금속과 다이옥신을 배설시키는 기능도 있다(테라시이사오, 1995). 인체에 유해한 수은이나 카드뮴 같은 중금속은 소화 기관에서 키토산의 3차 구조와 아미노기로 인해 함께 결합하지만 인체에 유용한 칼슘이나 마그네슘 등과 같은 미네랄, 산소, 아미노산,

비타민 등은 흡착하지 않는다. 다이옥신과 키토산의 헬릭스 구조 내부는 모두 소수성을 띄기 때문에 서로 쉽게 결합하여 흡착 및 배설이 이루어진다. 이러한 성질로 인해서 키토산은 신부전증 환자에게 결구 흡착제로 주목받고 있다. 키토산은 소화기관에서 혈액으로 이행되는 물질들을 흡착 및 배설해서 인공 투석 시간을 단축시키고 투석 주기를 늘려주는 장점을 가지고 있다(김, 2003). 키토산은 이러한 다양한 생리기능 효과를 가지고 있기 때문에 건강기능식품 분야에서 각광받고 있다.

키토산은 체중 감소 효과와 콜레스테롤 감소 효과를 가지고 있기 때문에 다이어트 보조제로 이용된다. 키토산과 키토산은 식이에 함유되어있는 지방을 장에서 잘 흡수되지 않도록 제한함으로써 체중 증가, 고지혈증, 지방간을 예방한다. 하지만 지방 흡수를 제한한다는 의미가 체중 감소 효과에 도움이 된다는 것은 아니다. Pittler등(1999)에 따르면 키토산 섭취만으로는 과체중이 감소되지 않고, 체중 증가를 예방해줄 뿐 체중 감소효과는 사람의 상태, 식이 구성에 따라 결과가 다르다고 보고하였다. 키토산의 아미노 그룹은 산성 조건에서 양전하를 띄기 때문에 음전하를 가지는 유리지방산, 담즙산과 결합하여 장관에서 흡수되지 않고 변으로 배설되는 복합체를 형성한다. 위산은 이 복합체를 가수분해하지 못하므로 장관을 지나면서 다른 지질들과 계속 결합하여 점점 크기가 증가한다. 이 과정 속에서 콜레스테롤, 스테롤, 중성지질을 포함한 지질들은 변으로 배설된다. 이후, 담즙산 재흡수가 감소하여 간 콜레스테롤 농도를 유지하기 위해서 LDL 콜레스테롤 분해가 촉진되고 이를 통해서 혈중 콜레스테롤 함량이 감소된다(Zacour 등, 1992). 이러한 특성들로 키토산은 다이어트 보조제로 사용되고 있으며 다양한 제품들이 출시되어 있다.

결론

키토산은 새우, 가재, 게와 같은 갑각류 껍질의 주요 성분인 키토인의 탈아세틸화에 의해 유도된 천연 다당류이다. 약물 및 기능성 물질을 캡슐화하여 생체 이용률을 증가시키는 나노키토산은 다양한 소수성기 도입과 키토산 분자량 제어, 나노캡슐 코팅 등 물리화학적 개질이 가능하다. 이를 통해 활성성분의 방출속도 제어와 작용부위를 제어할 수 있는 표적전달이 가능하여 기능성 성분 및 약물전달 시스템과 같은 다양한 산업분야에 응용되고 있다. 하지만, 나노키토산의 식품산업 이용에 있어서는 음료나 타블렛 형태의 건강기능성 제품 정도의 제한적인 수준에 머물러있다. 이를 극복하고 나노키토산의 활용범위를 확대하기 위해 단순히 액상형 제형이 아닌 일반식품으로 섭취패턴을 다양화하는 노력이 필요할 것이다. 키토산 기반 나노기술이 갖는 범용성과 응용가능성으로 미루어볼 때 기능성 식품 분야에서의 생체이용률 향상뿐만 아니라 향미물질의 강화, 맞춤형 영양소 제어 시스템 등 다양한 관점의 활용이 가능할 것이며, 식품 응용을 목적으로 한 키토산 제재의 개발을 매력있는 연구분야가 될 것으로 기대된다.

참고문헌

- Ali A, Ahmed S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. *Int. J. Biol. Macromol.*, 109: 273-286 (2018)
- Aranaz I, Mengibar M, Harris R, Paños I, Miralles B, Acosta N, Galed G, Heras Á. Functional characterization of chitin and chitosan. *Curr Chem Biol.* 3(2): 203-230 (2009)
- Benech RO, Kheadr EE, Laridi R, Lacroix C, Fliss I. Inhibition of *Listeria innocua* in cheddar cheese by addition of nisin Z in liposomes or by in situ production in mixed culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(8): 3683-3690 (2002)
- Bowman K, Leong KW. Chitosan nanoparticles for oral drug and gene delivery. *Int. J. Nanomed.* 1(2): 117 (2006)
- Chen XG, Lee CM, Park HJ. O/W emulsification for the self-aggregation and nanoparticle formation of linoleic acid modified chitosan in the aqueous system. *J. Agric. Food. Chem.* 51(10): 3135-3139 (2003)
- Cho Y, Kim JT, Park HJ. Preparation, characterization, and protein loading properties of N₁-acyl chitosan nanoparticles. *J. Appl.*



- Polym. Sci. 124(2): 1366–1371 (2012a)
- Cho Y, Kim JT, Park HJ. Size-controlled self-aggregated N-acetyl chitosan nanoparticles as a vitamin C carrier. *Carbohydr. Polym.* 88(3): 1087–1092 (2012b)
- Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, Oh SJ, Choi JH, Kim CY. In vitro antimicrobial activity of a chitoooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 18(6): 553–557 (2001)
- Chung YC, Su YP, Chen CC, Jia G, Wang HL, Wu JG, Lin JG. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacol. Sin.* 25(7): 932–936 (2004)
- Datta S, Rameshbabu AP, Bankoti K, Maity PP, Das D, Pal S, Roy S, Sen R, Dhara S. Oleoyl-chitosan-based nanofiber mats impregnated with amniotic membrane derived stem cells for accelerated full-thickness excisional wound healing. *ACS Biomater. Sci. Eng.* 3(8): 1738–1749 (2017)
- De Azeredo HM. Nanocomposites for food packaging applications. *Food Res. Int.*, 42(9): 1240–1253 (2009)
- Desai KG, Park HJ. Preparation, characterization and protein loading of hexanoyl-modified chitosan nanoparticles. *Drug Deliv.* 13(5): 375–381 (2006)
- Eaton P, Fernandes JC, Pereira E, Pintado ME, Malcata FX. Atomic force microscopy study of the antibacterial effects of chitosans on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Ultramicroscopy* 108(10): 1128–1134 (2008)
- Elgadir MA, Uddin MS, Ferdosh S, Adam A, Chowdhury AJK, Sarker M ZI. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. *J. Food Drug Anal.*, 23(4): 619–629 (2015)
- Erjavec V, Pavlica Z, Sentjurc M, Petelin M. In vivo study of liposomes as drug carriers to oral mucosa using EPR oximetry. *Int. J. Pharm.*, 307(1): 1–8 (2006)
- Hasegawa H, Sung JH, Kitamura H, Matsumiya S, Uchiyama M, Lee MS, Yamaski K. International Symposium on the Recent Pharmacological Evaluations of Natural Medicines (April 21, 1995); Interactions of triterpenoids from *Panax* (Araliaceae) and *glycyrrhiza* (Leguminosae) spp. with Membrane Transporters. *생약학회지* 26(2): 204–221 (1995)
- Izquierdo P, Esquena J, Tadros TF, Dederen C, Garcia MJ, Azemar N, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. *Langmuir* 18(1): 26–30 (2002)
- Jang, K. I., & Lee, H. G. Stability of chitosan nanoparticles for L-ascorbic acid during heat treatment in aqueous solution. *J. Agric. Food. Chem.* 56(6): 1936–1941 (2008)
- Klinkesorn U, McClements DJ. Influence of chitosan on stability and lipase digestibility of lecithin-stabilized tuna oil-in-water emulsions. *Food Chem.* 114(4): 1308–1315 (2009)
- Kong M, Chen XG, Liu CS, Liu CG, Meng XH, Yu LJ. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli*. *Colloids Surf B Biointerfaces* 65(2): 197–202 (2008a)
- Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *Int. J. Food. Microbiol.* 144(1): 51–63 (2010)
- Kong M, Chen XG, Xue YP, Liu CS, Yu LJ, Ji Q.X, Cha DS, Park HJ. Preparation and antibacterial activity of chitosan microspheres in a solid dispersing system. *Front. Mater. Sci. China*, 2(2): 214–220 (2008b)
- Kubota N, Eguchi Y. Facile preparation of water-soluble N-acetylated chitosan and molecular weight dependence of its water-solubility. *Polym. J.* 29(2): 123 (1997)
- Kurita K, Kamiya M, Nishimura SI. Solubilization of a rigid polysaccharide: controlled partial N-acetylation of chitosan to develop solubility. *Carbohydr. Polym.* 16(1): 83–92 (1991)
- Laye C, McClements D. J, Weiss J. Formation of biopolymer-coated liposomes by electrostatic deposition of chitosan. *J. Food Sci.* 73(5): N7–N15 (2008)
- Lee J.S, Yoon HS, Kim ES, Nam HS, & Lee HG. Chitosan Nanoparticle System for Improving Blood Circulation. *Korean J. Food Sci. Tech.* 48(2) : 153–158 (2016)
- Lehr CM, Bouwstra JA, Schacht EH, Junginger HE. In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. *Int. J. Pharm.* 78(1–3): 43–48 (1992)
- Leuba JL, Stossel P. Chitosan and other polyamines: antifungal activity and interaction with biological membranes. Chitin in nature and technology, Springer, Boston, MA : 215–222 (1986)
- Li J, Hwang IC, Chen X, Park HJ. Effects of chitosan coating on curcumin loaded nano-emulsion: Study on stability and in vitro digestibility. *Food Hydrocoll.* 60: 138–147 (2016)
- Li YY, Chen XG, Liu CS, Cha DS, Park HJ, Lee C M. Effect of the molecular mass and degree of substitution of oleoylchitosan on the structure, rheological properties, and formation of nanoparticles. *J. Agric. Food. Chem.*, 55(12): 4842–4847 (2007)
- Liu CG, Desai KGH, Chen XG, Park HJ. Preparation and characterization of nanoparticles containing trypsin based on hydrophobically modified chitosan. *J. Agric. Food. Chem.*, 53(5): 1728–1733 (2005)
- Liu N, Park HJ. Chitosan-coated nanoliposome as vitamin E carrier. *J. Microencapsul.* 26(3): 235–242.
- Liu, N., & Park, H. J. (2010). Factors effect on the loading efficiency of Vitamin C loaded chitosan-coated nanoliposomes. *Colloids Surf B Biointerfaces* 76(1): 16–19 (2009)
- Muanprasat C, Chatsudthipong V. Chitosan oligosaccharide: Biological activities and potential therapeutic applications. *Pharmacol. Ther.* 170: 80–97 (2017)
- No HK, Meyers SP, Prinyawiwatkul W, Xu Z. Applications of

- chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *J. Food Sci.* 72(5): R87-R100 (2007)
- Osanai S, Nakamura K. Effects of complexation between liposome and poly (malic acid) on aggregation and leakage behaviour. *Biomaterials* 21(9): 867-876 (2000)
- Parmar MM, Edwards K, Madden TD. Incorporation of bacterial membrane proteins into liposomes: factors influencing protein reconstitution. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1421(1): 77-90 (1999)
- Philippova OE, Korchagina EV, Volkov EV, Smirnov VA, Khokhlov AR, Rinaudo M. Aggregation of some water-soluble derivatives of chitin in aqueous solutions: Role of the degree of acetylation and effect of hydrogen bond breaker. *Carbohydr. Polym.* 87(1): 687-694 (2012)
- Pittler MH, Abbot NC, Harkness EF, Ernst E. Randomized, double-blind trial of chitosan for body weight reduction. *Eur. J. Clin. Nutr.* 53(5): 379 (1999)
- Raafat D, Sahl HG. Chitosan and its antimicrobial potential—a critical literature survey. *Microb. Biotechnol.* 2(2): 186-201 (2009)
- Rhim JW, Park HM, Ha CS. Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Prog. Polym. Sci.* 38(10-11): 1629-1652 (2013)
- Shin GH, Chung SK, Kim JT, Joung HJ, Park HJ. Preparation of chitosan-coated nanoliposomes for improving the mucoadhesive property of curcumin using the ethanol injection method. *J. Agric. Food. Chem.*, 61(46): 11119-11126 (2013)
- Suzuki K, Mikami T, Okawa Y, Tokoro A, Suzuki S, Suzuki M.. Antitumor effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose. *Carbohydr. Res.* 151: 403-408 (1986)
- Takeuchi H, Yamamoto H, Niwa T, Hino T, Kawashima Y. Enteral absorption of insulin in rats from mucoadhesive chitosan-coated liposomes. *Pharm. Res.* 13(6): 896-901 (1996)
- Wu Y, Yang W, Wang C, Hu J, Fu S. Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. *Int. J. Pharm.*, 295(1-2): 235-245 (2005)
- Xing K, Chen XG, Kong M, Liu CS, Cha DS, Park HJ. Effect of oleoyl-chitosan nanoparticles as a novel antibacterial dispersion system on viability, membrane permeability and cell morphology of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Carbohydr. Polym.*, 76(1): 17-22 (2009)
- Zacour AC, SILVA ME, CECON PR, BAMBIRRA EA, VIEIRA EC. Effect of dietary chitin on cholesterol absorption and metabolism in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 38(6): 609-613 (1992)
- 권익찬, 김광명, 김성원, 정혜선, 정서영. 키토산 나노 입자를 이용한 약물전달시스템. *고분자 과학과 기술*15(4) : 396-401 (2004)
- 김양희. [특집-키토산] 키토산의 효능. *식품음료신문*, Available from: <https://www.thinkfood.co.kr/news/articleView.html?idxno=6011> (2003)
- 이대훈, 노홍균, 홍주현. 분자량에 따른 수용성 키토산의 생리 활성. *한국키토산학회지*, 18(2): 99-104 (2013)
- 정경원, 나재운, 박준규. 다양한 소수성 물질이 개질된 키토산 나노입자의 약물전달체로서 응용성 고찰. *공업화학*, 28(4): 404-409 (2017)