



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0084027
(43) 공개일자 2010년07월23일

(51) Int. Cl.

A61K 31/722 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0003417

(22) 출원일자 2009년01월15일

심사청구일자 2009년01월15일

(71) 출원인

세종대학교산학협력단

서울 광진구 군자동 98 세종대학교

(72) 발명자

곽해수

서울특별시 강동구 둔촌동 현대2차 아파트 101동 601호

박주현

강원도 춘천시 석사동 퇴계주공 5단지 517동 140 4호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

황이남

전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용 나노키토산 조성물

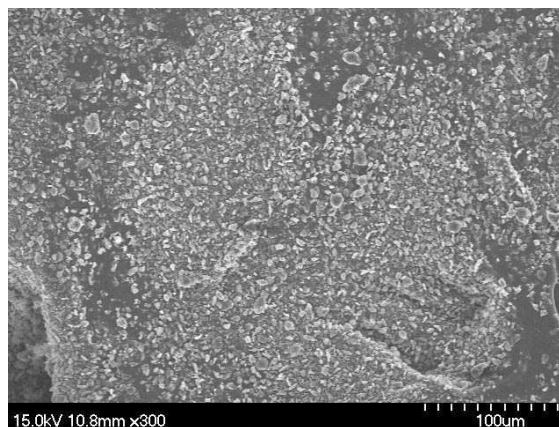
(57) 요약

본 발명은 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용 나노키토산 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는 나노키토산 분말의 이화학적 특성을 규명하고, 키토산의 낮은 생체 내 흡수율을 보완하고 키토산 입자의 표면적을 증가시키기 위하여 키토산을 나노수준으로 분말화하여, 동물실험을 통하여 나노키토산 분말의 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하 효과를 측정하는 단계로 구성된다.

본 발명의 나노키토산 분말은 입도가 평균 600nm로서 일반 키토산 분말 입도 150 μ m에 비하여 생체 내 흡수율이 우수하여 혈중 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 그리고 중성지방의 수치가 유의적으로 감소되고, HDL-콜레스테롤의 수치는 유의적으로 증가되었다. 그 밖에 나노키토산 분말은 간 중의 총콜레스테롤과 중성지방의 수치도 유의적으로 감소시키고, 체중변화율이 가장 적게 나타나며 식이효율을 저하시키므로 비만억제에 효과가 있다. 또한, 분변에서도 콜레스테롤과 담즙산의 수치가 유의적으로 높게 나타났다.

본 발명의 나노키토산 분말은 의약품 또는 건강기능식품으로 제공하면 혈중 콜레스테롤과 중성지방의 저하, 담즙산 및 비만 억제에 효과적이다.

대표도 - 도1b



(72) 발명자

홍은경

서울특별시 강남구 도곡1동 역삼로 아파트 101동
503호

서미화

경기도 부천시 원미구 심곡2동 삼용아파트 102동
903호

특허청구의 범위

청구항 1

혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용의 나노키토산 조성물

청구항 2

제1항에 있어서, 나노키토산을 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 약품 조성물

청구항 3

제1항에 있어서, 나노키토산을 식품학적으로 허용되는 부형제와 함께 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 건강기능식품 조성물

청구항 4

제 2항 또는 제 3항에 있어서, 나노키토산을 전체 중량 대비 약품 또는 건강기능식품에서 허용하는 범위내에서 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 조성물

청구항 5

제 1항에 있어서, 나노키토산 입자의 직경은 100~1000nm인 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용 조성물

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 나노키토산 분말을 이용하여 혈중 콜레스테롤과 중성지방을 저하시키는 나노키토산 조성물에 관한 것으로서 본 발명의 나노키토산 조성물은 의약품 또는 건강기능성식품의 조성물로 사용할 수 있다.

배경기술

[0002] 최근 식품 신소재의 개발 및 기능성 식품에 대한 관심이 고조되면서 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 이의 일환으로 다당류인 탄수화물에서 유래된 키틴(chitin)과 키토산(chitosan)에 대한 관심이 고조되어 왔다.

[0003] 키토산은 자연계에 풍부하게 존재하는 천연고분자인 chitin을 탈아세틸화하여 얻을 수 있는 생체고분자(biopolymer)로서 고밀도의 양전하를 띤 선형의 폴리전해질(polyelectrolyte) 구조를 이루고 있으며, 키토산 분자량의 크기와 탈아세틸화 정도에 따라 기능적 특성에 의하여 키토산의 산업적 이용에 대한 연구가 많이 행해지고 있다. 크노르(Knorr, D. 1982. Dye binding properties of chitin and chitosan. J. Food Sci. 48:(1) 36~37)에 의하면, 키토산의 수분흡수성, 지방흡수성, 색소흡착력 등은 기능성 식품첨가물로써 이용이 가능하다고 한다. 특히, 키토산은 항암작용, 항콜레스테롤 작용, 항고혈압 작용, 항균활성 등 매우 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되어 있으며, 이에 대한 응용분야도 매우 다양하다. 최근 들어 키토산의 생리기능성에 대한 연구가 활발해지면서 키토산이 혈청 중 콜레스테롤 수준을 감소시켜 고콜레스테롤 혈증 및 동맥경화증의 예방과 치료에 효과(Vahouny GV, Satchihanandam S, Cassidy MM, Lightfoot FB, Furda I. 1983. Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. Am J Clin Nutr. 38 : 278)가 있다고 알려졌다.

[0004] 본 발명과 관련된 종래기술은 없으나, 키토산을 이용한 유사한 기술로는 한국특허공개 10-2006-115793(키토산 미립자 및 그 제조방법)은 키토산용액을 황산기를 함유한 계면활성제를 첨가하여 나노크기의 미립자를 형성시킨 후 중화하여 50nm 내지 30 μ m 크기의 나노입자를 만들어 식품, 의약품, 기능성식품, 화장품의 첨가제로 사용한

다.

[0005] 한국특허공개 10-2007-78196(항암제가 봉입된 소수성 담즙산이 결합된 친수성 키토산올리고당 나노입자 및 그 제조방법)과 한국특허공개 10-2008-43638(표적 리간드로서 폴릭산이 도입된 유전자 전달체용저분자량 수용성 키토산 나노입자 및 이의 제조방법) 등이 있으나, 본 발명과는 기술적구성이 다른 것이다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0006] 키토산은 이와 같은 생리적 기능성이 있음에도 불구하고, 식품 또는 의약품으로서 기능성 물질 내지 치료제로서 이용이 제한되고 있는 이유는 키토산의 낮은 체내 흡수율 때문인 것으로 알려져 있다.

과제 해결수단

[0007] 본 발명은 분자량이 다른 나노키토산 분말과 일반키토산 분말의 이화학적 특성을 규명하고, 키토산의 낮은 생체 내 흡수율을 보완하기 위한 방법으로 나노 분말화를 통해 입자의 표면적을 증가시켜 섭취시 흡수율을 향상시키는 방법을 채택하고, 동물실험을 통하여 나노키토산 분말의 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하 효과를 규명하는데 목적을 두었다.

효 과

[0008] 나노키토산 분말은 동물실험에서 혈중 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 그리고 중성지방의 수치가 유의적으로 감소되었고, HDL-콜레스테롤의 수치는 유의적으로 증가되었다. 그리고 간 중의 총콜레스테롤과 중성지방의 수치도 유의적으로 감소시켰다. 또한, 분변을 수집하여 콜레스테롤과 담즙산의 농도를 확인한 바, 콜레스테롤과 담즙산의 수치가 유의적으로 높았다. 이는 간에서 콜레스테롤과 담즙산이 합성하여 변으로 배출됨으로써 체내 콜레스테롤 수치를 낮추는 것으로 사료된다. 또한, 체중변화량과식이섭취량의 수치에서도 나노키토산 분말군의 경우 체중변화율이 가장 적게 나타났고, 식이효율도 저하시켜 비만억제의 효과에도 영향이 있는 것으로 사료된다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0009] 본 발명은 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용의 나노키토산 조성물을 나타낸다.

[0010] 본 발명의 나노키토산 조성물은 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 약품 조성물로 사용될 수 있다.

[0011] 본 발명의 나노키토산 조성물은 식품학적으로 허용되는 부형제와 함께 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 건강기능식품 조성물로 사용될 수 있다.

[0012] 상기에서 나노키토산 분말이 약품 조성물로 사용시 나노키토산 분말은 약품 조성물 전체 중량 대비 허용하는 범위내에서 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 조성물을 나타낸다.

[0013] 상기에서 나노키토산 분말이 약품 조성물로 사용시 나노키토산 분말은 약품 조성물 전체 중량 대비 0.1~10%, 바람직하게는 0.1~5%, 보다 바람직하게는 0.1~1.0%의 범위 내에서 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 조성물을 나타낸다.

[0014] 상기에서 나노키토산 분말이 건강기능식품 조성물로 사용시 나노키토산 분말은 건강기능식품 조성물 전체 중량 대비 허용하는 범위내에서 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 조성물을 나타낸다.

[0015] 상기에서 나노키토산 분말이 건강기능식품 조성물로 사용시 나노키토산 분말은 건강기능식품 조성물 전체 중량 대비 0.1~10%, 바람직하게는 0.1~5%, 보다 바람직하게는 0.1~1.0%의 범위 내에서 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용으로 사용하는 조성물을 나타낸다.

[0016] 상기에서 나노키토산 입자의 직경은 100~1000nm인 것을 사용할 수 있다.

[0017] 본 발명은 분자량이 다른 나노키토산 분말과 일반키토산 분말의 이화학적 특성을 규명하고, 키토산의 낮은 생체 내 흡수율을 보완하기 위하여 키토산 입자의 표면적을 증가시키기 위하여 나노수준으로 분말화하여, 동물실험을 통하여 나노키토산 분말의 혈중 콜레스테롤 저하 효과를 측정하는 단계로 구성된다.

[0018] <실험예>

[0019] 본 발명은 다음의 재료 및 방법에 의하여 수행되었다.

[0020] 1) 키토산 분말; (주)삼성키토피아에서 제공받았고, (주)나노테크월드에서 키토산 분말을 나노 사이즈로 분쇄한 것을 제공받아 저온에 보존하면서 사용하였다. 나노키토산의 색소흡착력을 측정하기 위하여 사용한 적색 40호 (FD&C Red No.40)은 (주)대양푸드에서 구입하였다.

[0021] 2) 입자 크기; 일반키토산 분말과 나노키토산 분말의 입자 크기를 관찰하기 위하여 SEM(Scanning Electron Microscope, HITACHI S-4700, JAPAN)으로 측정하였다. 일반키토산 분말과 나노키토산 분말의 입자 크기 측정 결과를 각각 도 1a, 도 1b의 사진에 나타내었다. 일반 키토산 분말(도 1a)은 입자가 불균일한 크기로 흩어져 있는 반면, 키토산 분말을 분쇄하여 나노화 시킨 나노키토산 분말(도 1b)은 비교적 균일한 크기로 잘 분산되어 있었다. 일반키토산 분말은 직경이 평균 $150\mu\text{m}$ 였고, 나노키토산 분말은 평균 600nm 정도로 나타나 키토산 분말의 크기가 마이크론 크기에서 나노크기로 감소한 것을 알 수 있었다. 나노키토산의 전체적인 평균이 분말 사이즈의 크기가 100nm 이하로 줄어들면 그 기능성을 잃게 되는 반면, $1,000\text{nm}$ 이상이 되면 체내흡수율이 크게 떨어지게 되므로 키토산 나노입자 사이즈를 $100\sim1,000\text{nm}$ 범위로 한정하는 것이 효과적이다.

[0022] 3) 일반 성분 분석; AOAC 방법에 따라 수분함량은 105°C 상압가열건조법으로, 회분함량은 550°C 회화법으로 측정하였으며 질소함량은 micro-kjeldhal 방법으로 정량 하였다. 나노키토산 분말과 대조군인 일반키토산 분말의 일반성분 함량은 표 1과 같다. 나노키토산 분말은 수분이 $8.82\pm0.05\%$, 일반키토산 분말은 $6.44\pm0.09\%$ 를 나타내어 나노키토산 분말의 수분함량이 일반키토산 분말보다 높았으며, 회분함량은 나노키토산 분말이 $0.25\pm0.02\%$, 키토산 분말은 $0.29\pm0.02\%$ 으로 시료간의 회분함량은 큰 차이가 없었다. 질소함량은 나노키토산 분말이 $6.66\pm0.01\%$, 일반키토산 분말이 $6.75\pm0.08\%$ 로 이론적인 질소함량인 6.8% 와 유사한 경향을 보였다. 나노키토산 분말과 일반키토산 분말의 분자량과 탈아세틸화도를 측정한 결과, $500\sim600\text{nm}$ 로 분쇄된 나노키토산 분말의 분자량은 $16,500\pm12.70$ 이고, 탈아세틸화도는 $92.71\pm0.28\%$ 이었다. 그리고 일반키토산 분말의 분자량은 $90,900\pm33.23$ 이며, 탈아세틸화도는 $93.00\pm0.17\%$ 으로 측정되었다. 그러므로 나노 크기로 분쇄함에 따라 분자량은 1/5로 감소되었고, 탈아세틸화도는 거의 유사한 경향을 보여 유의적($P<0.05$)인 차이가 없었다.

[0023] 표 1. 일반키토산 분말과 나노키토산 분말의 성분 비교

조성	일반키토산 분말	나노키토산 분말
수분(%)	6.44 ± 0.09^a	8.82 ± 0.05^b
회분(%)	0.29 ± 0.02^a	0.25 ± 0.02^b
질소(%)	6.75 ± 0.08^a	6.66 ± 0.01^b
분자량	$90,900\pm33.23^a$	$16,500\pm12.70^b$
탈아세틸화도(%)	93.00 ± 0.17^a	92.71 ± 0.28^a

[0025] 4) 점도 및 분자량 측정; 점도는 Ubbelohde형 점도계를 이용하여 25°C 항온수조에서 측정하였으며, 용액의 낙하 시간을 용매의 낙하시간으로 나눈 상대점도로 표기하였다. 분자량 측정은 극한점도로부터 분자량을 추정할 수 있는 Sakuraada-Houinkts식에 의하여 계산하였다. 극한점도의 추정을 위한 키토산의 용매계는 0.2M acetic acid + 0.1M NaCl + 4.0M urea 수용액을 사용하였으며, 본 용매계에 각 농도별로 용해시킨 나노키토산 분말의 상대점도로부터 비점도 및 환원점도를 구한다음 환원점도와 농도간의 곡선에서 포외법으로 극한점도를 구하였다.

[0026] 5) 탈아세틸화도 측정; Sannan 등의 방법에 따라 1.0% KBr pellet을 만들고 FT-IR(infrared spectroscopy)로 분석하여 IR spectrum을 측정하였다. 범위는 $400\text{cm}^{-1}\sim4000\text{cm}^{-1}$ 로 하였으며 2878cm^{-1} 에서의 흡광도와 1550cm^{-1} 에서의 흡광도의 비(A_{1550}/A_{2878})를 구하여 탈아세틸화도를 계산하였다.

[0027] 6) 나노키토산과 일반키토산의 기능적 특성

[0028] (1) 수분 및 지방흡수성 측정은 시료 0.5g을 원심분리관에 넣고 전체무게를 잰 후 수분흡수량의 경우 증류수 30ml를, 지방흡수량의 경우에는 대두유 20ml가하고 실온에서 1시간동안 15분 간격으로 교반한 뒤에 1,600×g에서 25분간 원심분리 한 후, 상등액을 제거하고 무게를 측정하여 건조시료 100g에 대한 수분흡수량(g)으로 나타내었다.

[0029] (2) 색소흡착력은 시료 0.1g에 식용색소인 적색40호(FD&C Red No.40)를 일정농도(5~20mg dye/1 H₂O)가 되도록 증류수에 녹인 용액 10ml를 가하여 10초간 교반하였다. 1시간 동안 20분 간격으로 5초씩 교반하고 1,600g에서 5분간 원심분리하여 상등액을 505nm에서 측정하여 검량선과 비교한 후 농도를 계산하였다.

[0030] 나노키토산 분말과 대조군인 일반키토산 분말의 수분흡착력 실험결과는 표 2와 같다. 나노키토산 분말이 565.4±26.4g/100g로 일반키토산 분말보다 많은 양을 흡착하였다. 지방흡착력 실험결과는 나노키토산 분말이 776.3±35.9g/100g로 일반키토산 분말보다는 많은 양의 지방을 흡착한 것을 보였다. 이 결과는 흡수하는 표면적이 넓어졌기 때문에 차이가 있다고 사료된다. 다음으로 색소흡착력을 측정하기 위해 적색색소 농도를 5~20mgdye/1로 하여 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였는데, 검량선의 회귀선식은 $Y=0.44x+0.032(r^2=0.998)$ 이었으며, 이를 이용한 색소흡착력을 비교한 결과 나노키토산 분말은 시료 1g 당 약 2.9±0.1mg의 색소를 흡착하였고, 일반키토산 분말은 약 9.6±0.4mg으로 많은 양의 색소를 흡착하였다.

[0031] 표 2. 나노키토산분말과 일반키토산의 흡착능력 비교(단위:g)

[0032]

흡착력	일반키토산분말	나노키토산분말
수분	473.2±0.6 ^a	565.4±26.4 ^b
오일	703.0±28.1 ^a	776.3±35.9 ^b
색소	9.6±0.4 ^a	2.9±0.1 ^b

[0033] <적용예>; 실험동물 및 식이

[0034] 실험동물은 체중이 175±10g인 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 24마리를 (주중앙실험동물로부터 구입하여 일주일간 적응기간을 거쳐 난괴법으로 8마리씩 3군으로 나누어 stainless steel wire cage에서 개별 사육하였다. 사육환경은 항온 22±3℃, 항습 50±10%를 유지하였고, 명암은 12시간 마다 주기적으로 반복하였으며, 물은 제한 없이 공급하였다. 모든 군에 고콜레스테롤 식이(AIN-93G Purified Diet with 1% cholesterol & 0.5% cholic acid)를 공급하였고(표 3), 일반키토산 분말군의 식이에는 2%의 일반키토산 분말을 첨가하여 공급하고, 나노키토산 분말군의 식이에는 2%의 나노키토산 분말을 첨가하여 공급하였다. 체중증가량 및 식이효율은 실험 첫 주부터 매주 혈액을 채취한 후 무게를 측정하고, 일일 체중증가량은 8주 후 측정된 체중에서 실험 첫 주 체중을 뺀 체중 증가량을 기간으로 나누었다. 식이효율(FER:Food efficiency ratio)은 실험기간 동안의 총 체중 증가량을 섭취한 총 식이섭취량으로 나누어 산출하였다.

[0035] 표 3. 흰쥐의 고콜레스테롤 식이 조성비

[0036]

성분(ingredients)			
Casein(high nitrogen)	200	Cellulose	50
L-Cystine	3	Mineral mix ¹⁾	35
Sucrose	85	Vitamin mix ²⁾	10
Corn starch	397	Choline bitartrate	2.5
Dyetrose	132	Cholesterol	10
Soybean oil	70	Cholic acid	5
t-Butylhydroquinone	0.014	-	-

[0037] ¹⁾ AIN-93G Mineral 혼합물(g/kg) : CaCO₃ 357, K₂HPO₄ 196, C₆H₅K₃O₇xH₂O 70, NaCl 74, K₂SO₄ 46, MgO 24, 구연산 철 6, ZnCO₃ 1.7, MgCO₃ 0.63, Cu(CO₃)₂ 0.3, 요드화인 0.01, 셀렌산나트륨 0.01, 파라몰리브덴산 암모늄4H₂O

0.008, 메타실리케이트나트륨9H₂O 1.45, 크롬인황산12H₂O 0.28, LiCl 0.02, 담즙산 0.08, 불화나트륨 0.06, Ni(CO₃)₂ 0.03, 바나덴산암모늄 0.007, 미세분말 설탕 221.

²⁾ AIN-93G 비타민 혼합물(g/kg) : 나이아신 3, 판토텐산칼슘 1.6, 피리독신염산 0.7, 티아민염산 0.6, 리보플라빈 0.6, 엽산 0.2, 비오틴 0.02, 비타민E초산(500 IU/g) 15, 비타민B12 (0.1%) 2.5, 비타민A팔미틴산(500,000 IU/g) 0.8, 비타민D3(400,000 IU/g) 0.25, 비타민K1/Dextrose Mix (10 mg/g) 7.5, 설탕 967.

체중증가량 및 식이효율은 실험 8주 동안 고콜레스테롤 식이와 일반키토산 분말 및 나노키토산 분말의 비율을 달리하여 급여한 흰쥐의 체중변화에 미친 영향은 표 4와 같다. 체중증가량은 세 군이 모두 유의적인 차이를 보였는데, 키토산을 섭취하지 않은 군이 146.6±9.0g으로 가장 높았고, 일반키토산 분말을 섭취한 군은 133.1±9.6g, 나노키토산 분말을 섭취한 군은 120.0±10.6g으로 가장 낮게 나타났다. 이에 따른 실제 식이효율(FER)도 대조군이 가장 높고, 나노키토산 분말군이 가장 낮았다(도 2). 이는 키토산이 지질의 체내 흡수를 막아 체중증가량이 낮을 것으로 사료된다.

표 4. 쥐의 체중증가량(단위:g)

구분	초기체중	최종체중	총증체량	일일증체량
대조군	227.1±10.1 ^a	371.3±16.6 ^a	146.6±9.0 ^a	3.49±0.22 ^a
일반키토산 분말	230.0±7.9 ^a	363.1±5.4 ^a	133.1±9.6 ^b	3.17±0.23 ^b
나노키토산 분말	237.2±10.3 ^a	357.3±13.3 ^a	120.0±10.6 ^c	2.86±0.25 ^c

이하 본 발명의 내용을 실시예를 통하여 구체적으로 설명한다. 그러나, 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것으로 본 발명의 권리범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1>; 혈중 콜레스테롤의 저하

혈 중 콜레스테롤 함량 측정은 콜레스테롤 대사의 지표로서 혈청 중의 총콜레스테롤(total-cholesterol), HDL-콜레스테롤(HDL-cholesterol), 중성지방(triglyceride)은 (쥘아산제약의 kit에 의해 각각의 효소법으로 비색 정량 하였으며, LDL-콜레스테롤(LDL-cholesterol)은 Friedewald식에 의해 계산하였다. 혈 중 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 그리고 중성지방의 수치를 표 5에 나타냈다. 대조군과 비교하여 실험군인 나노키토산 분말군의 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 그리고 중성지방의 수치가 각각 64.70, 45.42 그리고 68.60mg/dl 감소했다. 이는 대조군에 비교하여 나노키토산 분말군이 총콜레스테롤 수치를 46.7% 감소시키고, LDL-콜레스테롤의 수치를 55.7% 감소시키고, 중성지방의 수치도 42.8% 감소시키는 것으로 나타났다. 그리고 HDL-콜레스테롤의 경우 나노키토산 분말군이 4.1mg/dl를 증가시켜 대조군과 비교하여 약 16.5% 를 증가시키는 효과를 나타냈다. 결론적으로 키토산 분말을 나노화 함으로써 일반키토산 분말보다혈 중 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 그리고 중성지방을 2.5, 1.5 그리고 2배나 더 감소시키는 효과가 있는 것으로 관찰되었다.

표 5. 8주간 쥐 식이급여시 혈중 총콜레스테롤, HDL/LDL-콜레스테롤, 중성지방의 변화(단위:mg/dl)

구분	총콜레스테롤	HDL-콜레스테롤	LDL-콜레스테롤	중성지방
대조군	138.80±46.80 ^a	20.80±2.96 ^b	81.48±35.90 ^a	160.40±35.10 ^a
일반키토산 분말	113.00±20.10 ^a	23.00±1.20 ^{ab}	51.53±25.54 ^b	124.30±8.63 ^b
나노키토산 분말	74.10±11.40 ^b	24.90±0.90 ^a	36.06±15.54 ^b	91.80±18.20 ^c

[0047] <실시예 2>; 간 조직의 콜레스테롤 저하

[0048] 간 조직의 콜레스테롤과 중성지방의 추출은 Folch법을 응용하였다. 간 시료 3g을 취해 30mL의 chloroform : methanol (2 : 1, v/v) 혼합액을 첨가하여 균질하고 1시간 동안 sonication 한 후, Whatman No.1 여과지로 여과하여 여액을 감압 건조하였다. 여기에 에탄올 5mL을 가하여 지질을 녹인 후, 혈청 콜레스테롤과 중성지방 분석과 동일한 방법으로 효소법에 따라 비색 정량하였다. 간장의 콜레스테롤과 중성지방 함량은 콜레스테롤 식이에 의하여 증가되었는데, 대조군에 비하여 실험군인 나노키토산 분말군이 총콜레스테롤 수치가 4.91mg/g 만큼 감소하여 대조군 보다 약 45.7% 줄어들었고, 중성지방은 13.87mg/g 만큼 감소하여 약 66.6% 줄어들었다(표 6). 이 실험결과 나노키토산 분말은 표면적이 넓어져 소화흡수율이 높아져서 총콜레스테롤과 중성지방의 저하에 효과가 있는 것으로 사료된다.

[0049] 표 6. 8주간 쥐 식이급여시 총콜레스테롤과 중성지방의 변화(단위:mg/g)

[0050]

구분	총콜레스테롤	중성지방
대조군	10.75±1.61 ^a	20.94±3.45 ^a
일반키토산 분말	7.77±0.76 ^b	12.22±2.57 ^b
나노키토산 분말	5.84±1.83 ^c	7.07±2.67 ^c

[0051] <실시예 3>; 분변의 콜레스테롤과 담즙산 저하

[0052] 실험 종료 3일전의 분변을 수집하여 Czubayko 등의 방법에 따라 콜레스테롤을 분리한 후, GC를 사용하여 콜레스테롤을 정량 분석 하였다. Bile acid의 함량은 Czubayko 등의 방법에 따라 콜레스테롤 추출과정에서 분리된 하층인 수용성 층을 취하여 Crowell 등의 방법에 따라 효소법으로 Rumpia bile acid kit(Japan, Tokyo)를 사용하여 비색 측정하였다. 변 중 콜레스테롤과 담즙산의 함량은 세 군 모두 유의적인 차이를 보였는데(표 7), 대조군과 비교하여 나노키토산 분말군의 경우, 콜레스테롤과 담즙산의 함량이 각각 40.86mg/day, 19.52 μmol/day증가하여 각각 29.2%, 36.8%의 증가율을 나타냈다. 이는 간에서 담즙산과 콜레스테롤이 합성하여 변으로 배출됨으로써 체내 콜레스테롤을 낮추는 것으로 사료된다.

[0053] 표 7. 8주간 쥐 식이급여시 총콜레스테롤과 담즙산(Bile acid)의 분변배출량

[0054]

구분	총콜레스테롤(mg/day)	담즙산(μmol/day)
대조군	98.81±16.05 ^c	33.56±7.26 ^c
일반키토산분말	114.77±7.02 ^b	42.34±1.16 ^b
나노키토산분말	139.67±13.04 ^a	53.08±4.65 ^a

[0055] 통계처리에 있어 모든 실험 분석 결과는 각 실험군마다 평균치와 표준편차를 계산하였고, 실험군 간의 유의성은 SAS program을 이용하여 분산분석(ANOVA)과 최소 유의차 검정으로 통계 처리하였으며, 유의수준은 P<0.05이다.

[0056] 상술한 바와 같이, 본 발명의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하였지만 해당 기술 분야의 숙련된 당업자라면 하기의 특허청구범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

산업이용 가능성

[0057] 본 발명의 나노키토산 분말은 수분과 유지의 흡착 능력이 높고, 동물실험에서 혈중 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 그리고 중성지방의 수치가 유의적으로 감소되었고, HDL-콜레스테롤의 수치는 유의적으로 증가되었다. 또한 간에서 콜레스테롤과 담즙산이 합성하여 변으로 배출됨으로써 체내 콜레스테롤 수치를 낮추고, 체중변화량과 식이섭취량의 수치에서도 나노키토산 분말군의 체중변화율이 적게 나타나므로 식이효율을 저하시켜 비만억제에도

효과가 있다. 따라서 나노키토산 분말은 혈중 콜레스테롤과 중성지방 저하용 의약품 또는 건강기능식품으로 용도를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0058]

도 1a는 일반 키토산 분말의 전자현미경사진이다.

[0059]

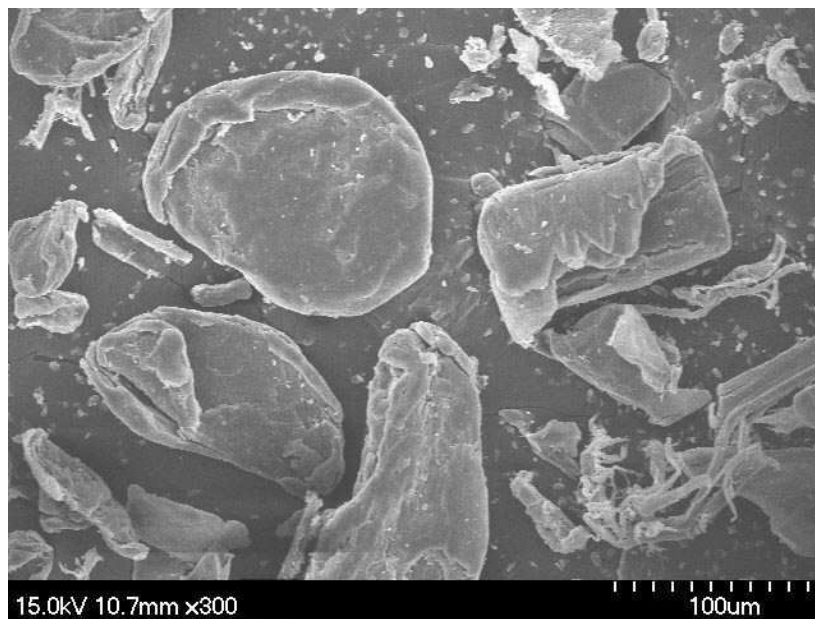
도 1b는 나노키토산 분말의 전자현미경사진이다.

[0060]

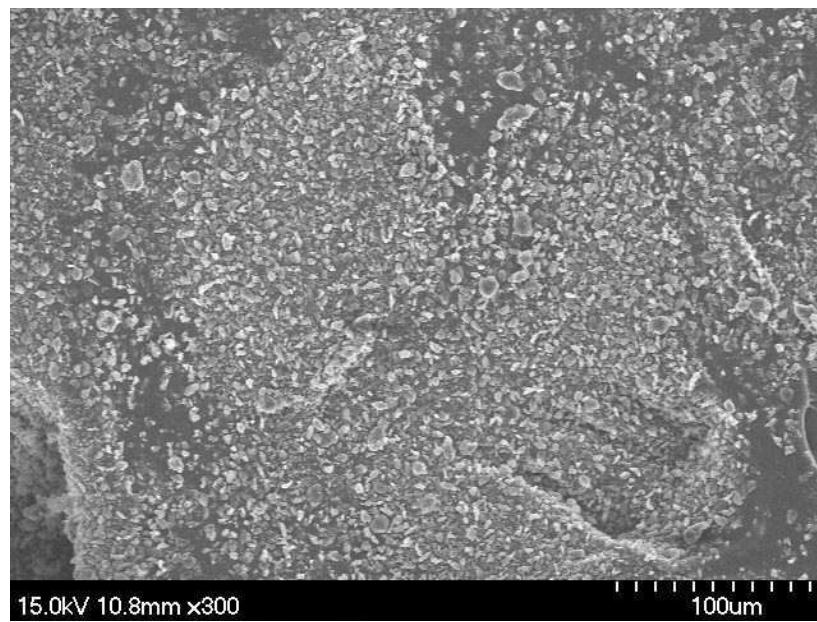
도 2는 8주 간 쥐의 식이효율을 나타낸 그래프이다(도 2에서 * :콜레스테롤 식이 + 무첨가, ** : 콜레스테롤 식이 + 2% 일반키토산분말, *** : 콜레스테롤 식이 + 2% 500~600nm 나노키토산분말)

도면

도면1a



도면1b



도면2

