

## Chitin과 Chitosan이 환주의 Cadmium 중독과 지방대사에 미치는 영향\*

김 미 경 · 설 은 영

이화여자대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Chitin and Chitosan on Cadmium Toxicity and Lipid Metabolism in Rats

Kim, Mi-Kyung · Seol, Eun-Young

Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul Korea

### ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of dietary chitin & chitosan on cadmium (Cd) toxicity and lipid metabolism in rats.

Forty-two male rats of Sprague-Dawley strain weighing  $137 \pm 2$  g were blocked into 6 groups according to body weight, and were raised for 4 weeks. Cadmium chloride was given at the level of 0 or 400 ppm in diet and chitin and chitosan were given at the level of 0 or 4% (w/w) of diet.

The results are summarized as follow.

Chitosan decreased the toxicity of Cd on liver, kidney and femur and increase the Cd content of fecal excretion. Chitosan increased the lipid & cholesterol content of fecal excretion by combining with lipid and bile acid. Chitosan decreased lipid, cholesterol and TG content in serum and liver by combining with lipid and bile acid. Chitin was less effective than chitosan in decreasing of Cd toxicity and lipid content of rat.

KEY WORDS : chitin · chitosan · Cd toxicity.

### 서 론

물질 문명과 경제수준이 발달함에 따라 최근 우리나라에서도 증금속으로 인한 환경오염이 심화

채택일자 : 1994년 10월 15일

\*본 연구는 1992~1994년도 동양제과 학술연구비에 의하여 이루어졌음.

되고 있다. 그중 Cd(Cadmium)은 환경에 존재하는 유독한 미량원소들중 하나로 공업적으로 전기도금, 건전지, 염료, 안정제등의 사용과정을 통하여 오염된다<sup>1)</sup>. 이러한 과정에서 공기, 토양, 하천, 해양이 오염되어 인체로 들어올 수 있으며, 장기간 노출시 체내에 축적되므로써 문제가 되고 있다<sup>2)</sup>. Cd 중독에 의해 나타나는 중독증상으로는 체중감소, 빈

혈, 간과 신장등 조직의 형태학적 변화, 고혈압, 단백뇨, 골연화증, 증추신경계이상과 내분비 장애 등이 있다. 따라서 Cd 중독의 예방및 치료에 관한 연구가 관심의 대상이 되고 있다. Cd의 체내흡수에 영향을 미치는 식이인자들에 대한 연구가 관심을 끌고 있는 가운데 단백질, calcium, 섬유질들이 Cd 흡수를 억제시키고, 간과 식장조직내의 Cd 축적을 감소시킨다는 보고들이 있다<sup>3-7)</sup>. 그러나 대부분의 선행연구에서 사용한 섬유질은 pectin, guar gum 등의 식물성섬유질이었으며 최근 chitin, chitosan과 같은 동물성섬유질의 이용에 관한 논문이 관심을 끌고 있다.

Chiitin은 캐, 새우와 같은 갑각류, 메뚜기, 바퀴벌레와 같은 곤충류의 cuticle, 곤팡이의 균사, 조개류, 오징어등 연체동물의 기관에 존재하며 그 함량은 각각의 종에 따라 매우 다양하다<sup>8)</sup>. Chitin의 구조는(Fig. 1)  $\beta(1 \rightarrow 4)$  2-acetamido 2-deoxy D-glucos의 반복되는 linear polymer인데 물, 각종 유기용매, 산, 알카리에 불용성인 천연 고분자이다<sup>9)10)</sup>. 현재 chitin은 여러가지 유기산을 흡착하는 성질을 이용한 제산제(deacidifying agent), 색소에 대한 흡착제, 과자를 이용한 식품임료등의 식품첨가제로서의 이용가능성이 보고되고 있다<sup>11)12)</sup>. 이외에도 900°C 이상으로 열분해를 시키면 식품의 flavor인 여러가지 pyranzine이 생성되어 향강화제로서의 이용이 가능하며 인체에 무해할뿐 아니라 antibody가 형성되지 않아 의료용 신소재로서의 이용에 대한 연구가 진행되고 있다<sup>11)13)</sup>. 따라서 chitin의 사용 가능성이 점차 높아져가고 있다. 또한 chitin이 deacetyl화된 chitosan은  $\beta(1 \rightarrow 4)$  2-amino 2-deoxy D-glucos의 반복되는 구조(Fig. 2)를 하는데 일반적으로 acetyl기의 80%가 deacetyl화되어 있고 그 값은

chitin의 원료와 alkali처리 방법에 따라 다양하다<sup>14)</sup>. 이 deacetyl화된 chitosan은 hypolipidemic, hypocholesterolemic한 효과가 보고되고 있다<sup>36-43)</sup>. 그리고 chitin, chitosan은 금속이온을 흡착하는 성질이 있어 특성 금속이온을 제거하는데 있어서도 이용가능성이 제시되고 있다<sup>31-35)</sup>.

따라서 본 연구에서는 흰쥐를 이용하여 동물성 섬유질인 chitin, chitosan이 Cd 중독에 예방 효과가 있는지를 알아보는 동시에 지방대사에 미치는 영향을 조사하여 보고자 실시하였다.

## 연구 방법

### 1. 실험 동물의 사육

Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 42마리를 실험 시작전 3일간 stock diet(삼양)으로 적응시킨뒤, 체중이  $137 \pm 2g$  된 쥐들을 체중에 따라 randomized-block design에 의하여 7마리씩 6군으로 나누어 28일간 Table 1과 같은 내용으로 사육하였다.

실험동물은 한마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였으며, 물은 탈이온 증류수를 제한없이 먹도록 하였다.

본 실험에 사용한 식이의 구성 성분은 Table 2와 같다. 탄수화물 균원으로는 옥수수 전분(corn starch, 두산 곡산)을 사용하였고, 지방 균원으로는 옥수수유(corn oil, 두산식품)를 사용하였으며, 단백질 균원으로는 casein(풍원)을 사용하였고, 무기질과 비타민류를 첨가하였다.

Cd은 배등의 연구<sup>5)7)</sup>를 참고로하여 cadmium chloride(CdCl<sub>2</sub>)로 식이무게의 0.04%(400ppm)수준으로 식이내에 섞어 공급하였고, chitin과 chitosan도 식이부계의 4% 수준으로 식이내에 섞어 공급하였

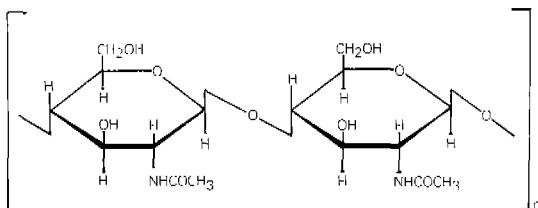


Fig. 1. Structure of chitin.

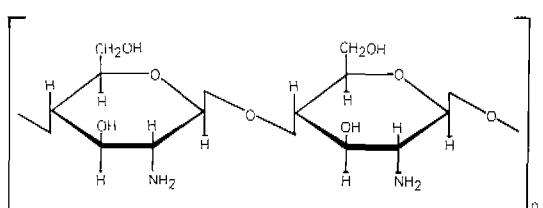


Fig. 2. Structure of chitosan.

Chitin과 Chitosan이 환경의 Cadmium 중독과 지방대사에 미치는 영향

다. Chitin은 우리나라 동해안에서 얻은 홍게(*Chionoecetes opilio*)로부터 본실험실에서 직접 추출하였으며 chitosan은 chitin의 deacetylation 과정을 거쳐 준비하였다<sup>15)</sup>.

본실험에서 사용한 chitosan의 deacetylation 정도는 IR방법을 이용하여 측정한 결과 85~87%였고

viscosity는 1% 초산용액을 이용하여 0.5% chitosan 용액을 제조하여 완전히 용해시킨 후 측정한 결과 (Brookfield viscometer, spindle #4, 60rpm) 520cps (centipoise)였다.

실험기간 동안 식이 섭취량은 일주일에 3번 일정한 시간에 측정하였고 체중은 매주 1회 같은

**Table 1.** Experimental design

Experimental groups <sup>1)</sup>	Experimental diet		
	Cadmium level(%) <sup>2)</sup>	Chitin level(%)	Chitosan level(%)
N-N	0	0	0
N-CS	0	0	4
N-C	0	4	0
Cd-N	0.04	0	0
Cd-CS	0.04	0	4
Cd-C	0.04	4	0

1) N-N : none Cd-none chitin & chitosan group(control)

N-CS : none Cd-4% chitosan added group

N-C : none Cd-4% chitin added group

Cd-N : Cd added-none chitin & chitosan group

Cd-CS : Cd added-4% chitosan added group

Cd-C : Cd added-4% chitin added group

2) Percentage(w/w) of total diet

**Table 2.** Compositions of experimental diets(per kg diet)

Exp. groups Ingredients	N-N	N-CS	N-C	Cd-N	Cd-CS	Cd-C
Corn starch(g)	703.14	663.14	663.14	702.74	662.74	662.74
Casein(g)	150	150	150	150	150	150
Corn oil(g)	100	100	100	100	100	100
Cadmium chloride(g)	—	—	—	0.4	0.4	0.4
Chitin(g)	—	—	40	—	—	40
Chitosan(g)	—	40	—	—	40	—
Salt mixture(g)*	40	40	40	40	40	40
Vitamin mixture**						

\*Composition of salt mixture(g/kg diet) : Calcium phosphate, dibasic 20g, Sodium chloride 2.96g, Potassium citrate monohydrate 8.8g, Potassium sulfate 2.08g, Magnesium oxide 0.96g, Manganese carbonate 0.14g, Ferric citrate 6H<sub>2</sub>O 0.24g, Zinc carbonate 0.064g, Cupric carbonate 0.012g, Potassium iodate 0.0004g, Sodium selenite 0.0004g, Chromium potassium sulfate 0.0002g, Sucrose to make 40.0g

\*\*Composition of vitamin mixture :

- 1) Vitamin A, D mixture(/kg diet) : Vitamin A 0.1mg & Vitamin D 0.01mg/ml Corn oil
- 2) Vitamin E, K mixture(/kg diet) : α-Tocopherol acetate 0.5g & Menadion 2mg/2ml Corn oil
- 3) Water soluble vitamin mixture(/kg diet) : Choline chloride 2000mg, Thiamin Hydrochloride 10mg, Riboflavin 20mg, Nicotinic acid 120mg, Pyridoxine 10mg, Calcium pantothenate 100mg, Biotin 0.5mg, Folic acid 4mg, Inositol 500mg, Para-amino benzoic acid 100mg
- 4) Vitamin B<sub>12</sub>(/kg diet) : 0.01mg B<sub>12</sub>/ml Distilled water

시각에 측정하였으며, 식이효율을 계산하였다.

## 2. 각종 장기, 혈액, 뇨, 변의 채취

실험종료전 실험동물을 stainless steel로된 대사장으로 옮겨 48시간동안의 뇨와 변을 채취하였다.

혈액은 실험기간 종료전 12시간 끊긴 동물을 ethyl ether로 마취시켜 단두하여 혈액채취직후 hemoglobin농도와 hematocrit을 측정하였고, 혈액일부는 heparin으로 처리된 시험관에 받아 Cd 분석을 위해 냉동보관하였으며, 나머지는 시험관에 받아 2000rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 냉동보관하였다. Hemoglobin은 혈액 채취 직후 Sahli씨 혈액 색소계를 사용하여 hemometer로 측정하였고<sup>16)</sup>, hematocrit은 heparin으로 처리된 모세관에 혈액을 빨아 올려 원심 분리시킨 다음 packed red cell volume의 백분율로 측정하였다.

혈액 채취직후 실험동물을 해부하여 간과 신장, 부고환조직등을 떼어내어 무게를 측정하였고, 오른쪽 다리에서 대퇴골을 떼어내어 무게, 길이를 측정한 후 냉동 보관하였다.

## 3. 혈액과 간, 신장, 대퇴골, 변, 뇌내의 Cd 농도측정

혈액과 뇨의 Cd 농도는 Zinterhofer법<sup>21)</sup>에 의하여 수포화 MIBK(methyl isobutyl ketone)로 Cd을 추출한후 atomic absorption spectrophotometer(Perkin-Elmer CO, Model 2380)로 파장 228.8nm에서 측정하였다.

간, 신장, 대퇴골, 변의 Cd 농도는 sample을 dry-ing oven(150°C)에서 황량이 될때까지 건조시킨후, 550°C muffle furnace에서 회화시켜 Yeager법<sup>22)</sup>을 이용하여 atomic absorption spectrophotometer(Perkin-Elmer co, Model 2380)로 228.8nm에서 측정하였다.

## 4. 혈청, 간, 변의 총 지방(Total lipid), 총 cholesterol(total cholesterol), 중성지방(triglyceride) 함량 측정

혈청내 총 지방함량은 Frings법<sup>17)</sup>에 의하여 총 cholesterol함량은 Zak법<sup>19)</sup>에 의하여 측정하였으며 spectrophotometer(Milton Roy, spectronic 601)로 540nm, 560nm에서 각각 흡광도를 측정하여 비색정량하였다. 중성지방은 Felchler의 방법을 변형한 Neri등의 방법<sup>20)</sup>을 이용하여 spectrophotometer로 405nm에서 비색 정량하였다.

간과 변의 총 지방함량은 Folch법<sup>18)</sup>에 의하여 정량하였으며, Folch법으로 추출한 총 지방을 chloroform용매에 녹여 총 cholesterol함량은 Zak법<sup>19)</sup>을 이용하여 중성지방은 Neri법<sup>20)</sup>을 이용하여 비색정량하였다.

## 5. 통계 처리

본 연구의 모든 실험 결과는 실험군당 평균치와 표준 오차를 계산하였고,  $\alpha=0.05$ 수준에서 Scheffé test에 의해 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다.

**Table 3.** Food intake, weight gain, FER of experimental rats

Exp. groups	Food intake (g/day)	Weight gain (g/28 days)	F.E.R
N-N	1) 19.80± 0.56 <sup>ab2)</sup>	144.43± 9.41 <sup>a</sup>	0.251± 0.015 <sup>a</sup>
N-CS	22.90± 1.22 <sup>a</sup>	149.71± 10.37 <sup>a</sup>	0.227± 0.013 <sup>a</sup>
N-C	21.27± 0.72 <sup>ab</sup>	166.86± 9.40 <sup>a</sup>	0.270± 0.010 <sup>a</sup>
Cd-N	12.81± 2.02 <sup>c</sup>	-6.17± 11.74 <sup>c</sup>	-0.002± 0.347 <sup>b</sup>
Cd-CS	16.26± 0.97 <sup>bc</sup>	77.71± 9.15 <sup>b</sup>	0.164± 0.019 <sup>a</sup>
Cd-C	11.75± 0.49 <sup>c</sup>	13.14± 11.10 <sup>c</sup>	0.084± 0.031 <sup>b</sup>

1) Mean± SE

2) Values with same alphabet within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

3) N.S : Not significant at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

## 결과 및 고찰

식이 섭취량, 체중증가량, 식이효율은 Table 3에서와 같이 Cd 공급군에서 비공급군보다 낮은 경향을 보였는데 이는 Cd 공급이 직접적으로 식이 섭취량 감소에 영향을 미치거나 Cd 공급으로 체내 영양소의 흡수및 대사에 변화가 생겨 식이효율이 감소됨으로써 체중감소 현상이 나타난 것으로 보인다. 그러나 Cd 공급군중 chitin, chitosan 공급군의 체중증가량, 식이효율이 Cd-N군에 비하여 높은 수치를 보인 것은 chitin, chitosan은 Hg, Cd, Cr, Ni, Fe, Cu와 같은 금속이온을 흡착하여 제거하는 성질이 있는데<sup>23)</sup> 이성질에 의해서 Cd이 제거되어서 이와 같은 결과가 나타난 것이 아닌가 생각된다.

Hemoglobin 농도와 hematocrit 값(Table 4)은 Cd 공급시 모두 감소되는 경향을 나타내었는데 Cd 공급시 Cd와 Fe이 장내흡수단계에서 서로 경쟁적으로 작용하여 장에서의 Fe의 흡수를 낮추며 혈장의

transferrin 수준과 TIBC(Total Iron Binding Capacity)가 감소되고 체내 Fe 보유량도 감소되었다는 보고들이 있으며<sup>25)26)</sup> Cd 중독으로 인한 전반적인 영양 불량상태가 간접적인 Fe 결핍을 유발할 수 있다는 보고<sup>25)</sup>와도 일치한다.

동물체내에서 Cd 축적량의 50~80%가 간과 신장조직에 분포되어<sup>1)</sup> Cd 중독에 가장 영향을 받는 기관이라 할 수 있는 간과 신장의 무게는 Cd 공급후 감소되었으나 신장의 무게를 체중으로 나눈값(Table 5)을 살펴보면 Cd-N군과 Cd-C군이 N-N군과 N-C군에 비하여 높은 수치를 나타냈다. 이는 Cd 중독시 장기조직의 괴사현상이 나타나고 비대해진다는 보고와 일치하는 것이다<sup>27)</sup>. 그러나 Cd-CS군은 N-CS군과 비교하여 신장의 무게를 체중으로 나눈값이 유의적인 차이가 없었는데 이는 chitosan이 chitin에 비해 Cd의 흡착제거력이 더 큰데 기인하는 것으로 보인다<sup>24)</sup>.

대퇴골의 길이와 무게(Table 6)도 Cd 공급시 감소되었는데 이것은 Cd와 Ca의 흡수와 배설, 뼈

**Table 4.** Hemoglobin content and hematocrit value of experimental rats

Exp. groups	Hemoglobin (g/100ml)	Hematocrit (%)
N-N	<sup>1)</sup> 18.21± 1.07 <sup>a2)</sup>	37.94± 2.76 <sup>ab</sup>
N-CS	17.90± 0.46 <sup>ab</sup>	38.01± 1.97 <sup>ab</sup>
N-C	17.59± 0.53 <sup>ab</sup>	42.44± 0.76 <sup>a</sup>
Cd-N	15.17± 0.48 <sup>ab</sup>	34.42± 2.29 <sup>ab</sup>
Cd-CS	14.79± 0.34 <sup>b</sup>	30.21± 2.90 <sup>b</sup>
Cd-C	15.27± 0.52 <sup>ab</sup>	37.29± 2.29 <sup>ab</sup>

1) Mean± SE

2) Values with same letter within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé' test.

**Table 5.** Liver and kidney weights, liver and kidney indexes of experimental rats

Exp. groups	Liver weight (g)	Liver index (mg/g body wt)	Kidney weight (g)	Kidney index (mg/g body wt)
N-N	<sup>1)</sup> 9.05± 0.18 <sup>a2)</sup>	31.88± 0.83 <sup>NS</sup>	1.88± 0.06 <sup>a</sup>	6.62± 0.17 <sup>b</sup>
N-CS	8.68± 0.15 <sup>a</sup>	30.56± 1.25	1.83± 0.06 <sup>a</sup>	6.40± 0.11 <sup>b</sup>
N-C	8.47± 0.43 <sup>a</sup>	27.89± 0.59	1.87± 0.09 <sup>a</sup>	6.20± 0.20 <sup>b</sup>
Cd-N	4.14± 0.25 <sup>c</sup>	32.70± 2.94	1.07± 0.04 <sup>c</sup>	8.41± 0.49 <sup>a</sup>
Cd-CS	6.25± 0.12 <sup>b</sup>	29.55± 0.96	1.44± 0.05 <sup>b</sup>	6.87± 0.52 <sup>b</sup>
Cd-C	4.50± 0.40 <sup>c</sup>	29.84± 1.04	1.19± 0.05 <sup>bc</sup>	8.08± 0.26 <sup>a</sup>

1) Mean± SE

2) Values with same letter within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé' test.

로의 이동등에서 서로 경쟁적으로 작용하기 때문에 Cd이 Ca대사에 장애를 일으켜 뼈의 성장이 억제된 것으로 보인다. 또한 Cd이 장세포에서 1,25-dihydroxycholecalciferol의 작용을 방해하여 Ca흡수를 감소시키고, Cd 중독시 신장기능의 장애로 인해 체외로의 Ca배설량이 증가되고 이는 bone resorption을 더욱 증가시켜 골다공증과 골연화증을 유발하게 된다고 한다<sup>29,31)</sup>. 실제로 이를 증세는 Itai-Itai 환자들에게서 나타났다고 한다. 이와 같은 뼈에

대한 Cd의 영향은 식이 섭취 감소로 인한 영양불량의 결과 더 악화될 수 있겠다.

혈액과 간, 신장, 대퇴골의 Cd 함량(Table 7)은 Cd 공급군이 비공급군보다 현저하게 높은 수치를 나타냈으며, Cd 공급군들중에서 chitosan군이 다른 두군보다 Cd 함량이 낮았다. 이는 Table 8에서 볼 수 있는 바와 같이 chitosan의 Cd 흡착제거력 때문으로 보인다.

뇨와 변으로 배설되는 Cd의 함량(Table 8)은 Cd

**Table 6.** Femur length and weight of experimental rats

Exp. groups	Femur weight (g)	Femur lenght (cm)
N-N	<sup>1)</sup> 0.51±0.01 <sup>a2)</sup>	3.24±0.06 <sup>abc</sup>
N-CS	0.46±0.01 <sup>a</sup>	3.34±0.06 <sup>ab</sup>
N-C	0.47±0.02 <sup>a</sup>	3.43±0.05 <sup>a</sup>
Cd-N	0.31±0.01 <sup>b</sup>	2.83±0.05 <sup>d</sup>
Cd-CS	0.34±0.01 <sup>b</sup>	3.11±0.08 <sup>bcd</sup>
Cd-C	0.30±0.02 <sup>b</sup>	2.99±0.06 <sup>cd</sup>

1) Mean±SE

2) Values with same letter within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

**Table 7.** Cd contents in blood, liver, kidney and femur of experimental rats

Exp. groups	Blood ( $\mu\text{g}/100\text{ml}$ blood)	Liver ( $\mu\text{g/g}$ dry liver)	Kidney ( $\mu\text{g/g}$ dry kidney)	Femur ( $\mu\text{g/g}$ dry femur)
N-N	<sup>1)</sup> 0.25±0.04 <sup>c2)</sup>	0.94±0.12 <sup>d</sup>	0.81±0.17 <sup>c</sup>	0.74±0.07 <sup>c</sup>
N-CS	0.49±0.07 <sup>c</sup>	1.00±0.20 <sup>d</sup>	1.04±0.15 <sup>c</sup>	0.90±0.08 <sup>c</sup>
N-C	0.87±0.15 <sup>c</sup>	1.46±0.09 <sup>d</sup>	1.06±0.10 <sup>c</sup>	1.32±0.08 <sup>c</sup>
Cd-N	8.47±0.30 <sup>a</sup>	66.66±6.44 <sup>b</sup>	159.23±3.24 <sup>a</sup>	4.63±0.19 <sup>a</sup>
Cd-CS	2.43±0.08 <sup>b</sup>	42.27±1.29 <sup>c</sup>	78.37±4.14 <sup>b</sup>	3.55±0.28 <sup>b</sup>
Cd-C	2.88±0.13 <sup>a</sup>	86.10±2.96 <sup>a</sup>	155.61±9.22 <sup>a</sup>	5.28±0.42 <sup>a</sup>

1) Mean±SE

2) Values with same letter within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

**Table 8.** Urinary and fecal Cd excretions

Exp. groups	Urinary Cd ( $\mu\text{g}/\text{day}$ )	Fecal Cd ( $\mu\text{g}/\text{day}$ )
N-N	<sup>1)</sup> 0.05±0.01 <sup>c</sup>	2.68±0.19 <sup>d</sup>
N-CS	0.06±0.01 <sup>c</sup>	10.94±0.70 <sup>d</sup>
N-C	0.12±0.01 <sup>c</sup>	8.27±0.43 <sup>d</sup>
Cd-N	1.20±0.10 <sup>b</sup>	198.15±11.27 <sup>a</sup>
Cd-CS	1.29±0.25 <sup>b</sup>	577.87±27.57 <sup>b</sup>
Cd-C	2.32±0.23 <sup>a</sup>	334.33±22.83 <sup>c</sup>

1) Mean±SE

2) Values with same letter within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

## Chitin과 Chitosan이 흰쥐의 Cadmium증독과 지방대사에 미치는 영향

공급군이 비공급군보다 높았으며, Cd 공급군들중에서 chitosan, chitin군이 Cd-N군에 비하여 높았다. 앞에서 잠깐 언급한 것처럼 chitin, chitosan은 금속이온을 흡착하는데 chitin, chitosan의 amino기중의 N이 금속이온과 배위(coordination)결합을 형성하여 금속이온을 chelating한다고 한다<sup>34)</sup>. 또한 chitosan이 chitin보다 금속이온을 흡착하는 성질이 더 강하다고 하는데 이것은 높은 amino기 함량때문이라고 한다<sup>24)(32)(33)</sup>. Eiden등의 연구<sup>35)</sup>에 의하면 chitin이 Pb를 흡수하는 것은 chitosan의 흡수능에 비해 약 21% 라고 하며 Hg는 Cu보다 먼저 흡착된다고 하며 특히 낮은 amino기 함량에서도 Hg는 흡착된다고 한다. Chitin에 존재하고 있는 acetamido기와 hydroxyl기는 금속이온의 흡착에 거의 기여하지 않는다고 한다<sup>34)</sup>. 따라서 Cd 공급군중 chitosan을 공급한 군은 Cd 체내흡수의 중요한 route인 gastrointestinal system에서 chitosan이 Cd를 흡착하여 장점막에서의 흡수를 저하함으로써 변으로의 Cd 배설이 높아지고 혈액과 간, 신장, 대퇴

골의 Cd 함량이 감소된것으로 생각된다. Cd 공급군중 chitin을 공급한 군에서도 뇨와 변의 Cd 배설량이 Cd-N군보다 높았지만 조직내 Cd 함량이 Cd-N보다 낮아지지않은 것은 amino기의 함량이 적어서 조직내 Cd 함량을 낮출만큼 충분한 양이 변으로 배설되지 않은 것으로 생각되며, 지방과 결합하는데도 chitin의 일부 amino기가 사용되었기 때문으로 생각된다.

Cd 공급시 혈청과 간의 총 지방, 총 cholesterol, 중성지방수준(Table 10, 11)이 감소하였는데 이것은 Cd증독으로 인한 체내대사의 변화로 식이섭취량이 감소하여 생긴 영양불량때문으로 생각된다. N-CS군에서 혈청과 간의 총 지방, 총 cholesterol, 중성지방농도와 체내 지방함량의 추정을 위한 epididymal fat pad의 무게(Table 9)가 N-N군보다 낮게 나타났고, 변의 총 지방, 총 cholesterol, 중성지방농도(Table 12)는 높게 나타났는데 이는 다른 여러보고들<sup>36-43)</sup>과 일치하는 결과로 chitosan의 viscosity와 cationic한 성질때문으로 생각된다. Chitosan

**Table 9.** Epididymal fat pad weight and index of experimental rats

Exp. groups	Epididymal fat pad (g)	E.F.P index (mg/g body wt)
N-N	<sup>1)</sup> 4.13± 0.47 <sup>a2)</sup>	14.41± 1.44 <sup>a</sup>
N-CS	3.08± 0.40 <sup>ab</sup>	10.69± 1.27 <sup>abc</sup>
N-C	3.99± 0.62 <sup>a</sup>	13.86± 2.36 <sup>ab</sup>
Cd-N	0.68± 0.19 <sup>c</sup>	4.78± 1.15 <sup>c</sup>
Cd-CS	1.68± 0.14 <sup>bc</sup>	7.86± 0.48 <sup>abc</sup>
Cd-C	0.96± 0.22 <sup>c</sup>	6.23± 1.30 <sup>bc</sup>

1) Mean± SE

2) Values with same letter within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

**Table 10.** Total lipid, total cholesterol and triglyceride contents in serum of experimental rats

Exp. groups	Total lipid (mg/100ml serum)	Total cholesterol (mg/100ml serum)	Triglyceride (mg/100ml serum)
N-N	<sup>1)</sup> 864.29± 15.28 <sup>a2)</sup>	274.29± 29.93 <sup>a</sup>	154.29± 14.34 <sup>a</sup>
N-CS	604.29± 40.05 <sup>b</sup>	175.71± 25.99 <sup>ab</sup>	139.53± 9.07 <sup>a</sup>
N-C	682.86± 28.34 <sup>b</sup>	235.00± 21.07 <sup>ab</sup>	160.00± 10.74 <sup>a</sup>
Cd-N	410.00± 35.40 <sup>c</sup>	198.33± 10.78 <sup>ab</sup>	56.67± 3.34 <sup>b</sup>
Cd-CS	437.14± 12.48 <sup>c</sup>	83.57± 7.92 <sup>b</sup>	40.56± 2.34 <sup>b</sup>
Cd-C	370.00± 17.46 <sup>c</sup>	127.86± 15.11 <sup>ab</sup>	81.91± 3.90 <sup>b</sup>

1) Mean± SE

2) Values with same letter within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

**Table 11.** Total lipid, total cholesterol, triglyceride contents in liver of experimental rats

Exp. groups	Total lipid		Total cholesterol		Triglyceride	
	g/g wet liver	g/total liver	mg/g wet liver	mg/g wet liver	mg/g wet liver	mg/g wet liver
N-N	0.057±0.005 <sup>NS</sup>	0.519±0.05 <sup>a2)</sup>	17.75±0.63 <sup>a</sup>	157.63±4.90 <sup>a</sup>	26.07±1.35 <sup>a</sup>	236.79±15.87 <sup>a</sup>
N-CS	0.053±0.009	0.460±0.038 <sup>ab</sup>	11.07±0.62 <sup>bc</sup>	96.37±6.25 <sup>bc</sup>	25.12±1.62 <sup>a</sup>	209.97±8.83 <sup>a</sup>
N-C	0.043±0.004	0.371±0.026 <sup>bc</sup>	13.14±0.77 <sup>b</sup>	111.19±8.95 <sup>b</sup>	19.17±0.73 <sup>b</sup>	161.53±7.88 <sup>b</sup>
Cd-N	0.043±0.002	0.178±0.014 <sup>d</sup>	11.25±1.09 <sup>bc</sup>	45.85±4.15 <sup>dc</sup>	11.09±0.42 <sup>d</sup>	45.85±3.17 <sup>d</sup>
Cd-CS	0.040±0.004	0.251±0.031 <sup>cd</sup>	11.71±0.78 <sup>bc</sup>	73.24±5.04 <sup>cd</sup>	17.72±0.76 <sup>bc</sup>	110.59±4.69 <sup>c</sup>
Cd-C	0.051±0.006	0.229±0.017 <sup>d</sup>	8.26±0.51 <sup>c</sup>	37.61±4.68 <sup>c</sup>	13.53±0.95 <sup>cd</sup>	60.76±7.05 <sup>d</sup>

1) Mean±SE

2) Values with same alphabet within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.  
3) NS : Not significant at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

• 比重 · 密度

**Table 12.** Total lipid, total cholesterol, triglyceride contents in fecal excretions of experimental rats

Exp. groups	Total lipid		Total cholesterol		Triglyceride	
	g/g wet feces	g/day	mg/g wet feces	mg/day	mg/g wet feces	mg/day
N-N	0.051±0.007 <sup>1a2)</sup>	0.018±0.001 <sup>c</sup>	15.92±1.11 <sup>ab</sup>	5.44±0.50 <sup>c</sup>	1.07±0.20 <sup>c</sup>	0.42±0.06 <sup>d</sup>
N-CS	0.069±0.006 <sup>ab</sup>	0.157±0.013 <sup>a</sup>	18.60±1.37 <sup>a</sup>	43.40±5.67 <sup>a</sup>	2.42±0.15 <sup>a</sup>	5.67±0.54 <sup>a</sup>
N-C	0.086±0.005 <sup>a</sup>	0.103±0.011 <sup>b</sup>	15.86±0.86 <sup>ab</sup>	19.20±1.35 <sup>b</sup>	1.39±0.15 <sup>bc</sup>	1.74±0.13 <sup>bc</sup>
Cd-N	0.055±0.006 <sup>bc</sup>	0.013±0.002 <sup>c</sup>	16.74±0.90 <sup>ab</sup>	3.93±0.50 <sup>c</sup>	0.88±0.09 <sup>c</sup>	0.22±0.02 <sup>d</sup>
Cd-CS	0.040±0.005 <sup>c</sup>	0.050±0.005 <sup>c</sup>	10.86±1.24 <sup>b</sup>	14.77±1.73 <sup>bc</sup>	1.93±0.23 <sup>b</sup>	2.77±0.25 <sup>b</sup>
Cd-C	0.057±0.005 <sup>bc</sup>	0.031±0.002 <sup>c</sup>	17.57±1.33 <sup>a</sup>	9.71±0.71 <sup>bc</sup>	1.29±0.18 <sup>bc</sup>	0.70±0.09 <sup>cd</sup>

1) Mean±SE

2) Values with same alphabet within the column are not significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffé test.

## Chitin과 Chitosan이 흰쥐의 Cadmium중독과 지방대사에 미치는 영향

은 chitin에서 deacetylated되어 amino기( $-NH_2$ )를 가지게 되며 pH6이하에서 anion exchanger가 된다<sup>44)</sup>. Chitosan이  $-NH^3+$ 가 되면 polyanions과 gel을 형성하고, pectin, guar gum 같은 viscous dietary fiber보다 더 viscous한 성질을 가지게 된다고 한다<sup>38)</sup>. In vitro 실험에 의하면 산성상태에서 chitosan은 부분적으로 이온화된 polyglucosamine chain을 형성하여 이를 polyelectrolyte cation이 지방질의 micelle 주위를 둘러싸서 micelle 구성분들을 trapping한다고 한다<sup>39)</sup>. 즉 chitosan은 장내에서 bile acid와 cholesterol과 결합하여 micelle 형성을 억제하는 것이다. 본연구에서도 이와 같은 mechanism을 거쳐 N-CS군의 혈청과 간의 cholesterol이 낮아진 것으로 생각되며 특히 간내 cholesterol의 두드러진 감소는 chitosan이 cholesterol흡수를 효과적으로 막는다는 것을 나타내는 것으로 bile acid의 enterohepatic circulation을 감소시키기 때문으로 생각된다. Chitosan을 섭취할때 지방질 배설이 증가하는것은 장에서의 transit time이 짧아짐에 따라<sup>41)</sup> bile acid와 cholesterol을 재흡수하여 이용할 수 있는 시간이 감소되기 때문으로 생각된다. 또한 chitosan은 viscosity와 deacetylation정도에 따라 지방과 결합하는 능력이 다르다고 하는데 Watanabe등에<sup>43)</sup> 의하면 낮은 viscosity의 chitosan보다 높은 viscosity의 chitosan이 다소 높은 효능을 나타냈고, serum cholesterol을 낮추는 효과는 deacetylation 정도가 매우 높은 chitosan의 효과가 더 크다고 하였다. 본 실험에서 사용한 chitosan의 viscosity와 deacetylation정도는 각각 520cps, 85~87%이므로 viscosity는 Watanabe 등의 실험에서 사용한 높은 viscosity인 1620cps에 비해 낮은편이며, deacetylation정도도 매우 높은 상태는 아니었다. 또한 Cd-CS군의 혈청내 총 cholesterol등도는 낮추었으나 혈청의 총 지방, 간의 총 지방, 총 cholesterol 및 중성지방의 농도가 높은 것은 chitosan의 functional기인  $-NH_2$ 가 Cd을 우선적으로 흡착하여 제거하는데 사용되어 지방과 결합하는데 효과적으로 사용할수 없었던 것으로 생각된다.

Sugano등<sup>36)</sup>의 연구와 다르게 본실험에서는 N-C군에서 혈청의 총 지방, 총 cholesterol과 간의

총 성지방의 수치는 낮았고 변의 총지방, 총 cholesterol 및 중성지방의 수치가 높았는데 이것은 chitin이 모두 acetyl화된 것은 아니고 약 16%가 free amino group을 가지고 있으므로 장에서 부분적으로  $-NH_2$ 가 이온화되어 지방과 결합할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 chitin의 amino기와 지방이 주로 결합하기는 하나 chitin의 hydroxyl기와 amine기도 지방과 결합하기도 한다고 하므로<sup>38)</sup> chitin의 hydroxyl기와 amine기도 지방결합에 사용된 것으로 생각된다.

## 결 론

이상의 결과를 종합하여 볼때 chitosan은  $-NH_2$  기증의 N의 배위결합능에 의해서 Cd이온을 chelating하므로써 조직내 Cd의 중독을 완화시켰으며 또한 anion exchanger로서 작용하며 viscosity가 있어 지방의 흡수를 낮추었다. 그러나 chitin은 chitosan에 비해 amino기 함량이 적고 viscosity가 낮으므로 Cd중독의 완화와 지방의 흡수를 낮추는데 chitosan만큼 효과가 없었다.

또한 chitin과 chitosan은 인체에 대한 녹성은 거의 없다고 하며<sup>45)</sup> 주로 계, 새우등에서 균육총을 채취한뒤에 얻어지는 폐기물로부터 추출하므로 폐기물의 재활용이라는 측면에서도 중요한 의미가 있다. 따라서 앞으로 그의 사용범위가 넓어지리라 생각되며 최근과 같이 중금속 오염문제가 심각한때 chitin, chitosan이 중금속이나 지방을 제거하는 능력을 식물성 심유질과 비교하여 연구하거나, Cd 이외의 다른 중금속 제거효과는 어느정도인지등의 여러 각도의 연구가 필요하리라 생각된다.

## Literature cited

- 1) Page AL, Chang AC. Cadmium Springer-Verlag Berlin Heidelberg Germany p33-75, 1986
- 2) Piscator M. Dietary exposure to Cd and health effects : Impact of environmental changes. *Environ Health Perspect* 63 : 127-132, 1985
- 3) Omori M, Muto Y. Effects of dietary protein, Ca, P, fiber on renal accumulation of exogenous Cd

- in young rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 23 : 361-366, 1978
- 4) Revis NW, Osborne TR. Dietary protein effects on Cd and metallothionein accumulation in the liver and kidney of rats. *Environ Health Perspect* 54 : 83-92, 1984
  - 5) 배재현. 식이내 Calcium 수준이 흰쥐의 Cd 중독에 미치는 영향. 이화여자대학교 대학원 석사학위 논문, 1989
  - 6) 권오란. 식이단백질과 Calcium 수준이 흰쥐의 Cd 중독에 미치는 영향. 이화여자대학교 대학원 박사학위 논문, 1991
  - 7) 김미경 · 이혜영. 식이내 Cd과 단백질 수준이 흰쥐의 체내 단백질 대사 및 Cd 중독에 미치는 영향. *한국영양학회지* 21 : 410, 1988
  - 8) Knorr D. Use of chitinous polymers in food. *Food Technol* 23 : 85-97, 1984
  - 9) Hackman RH, Retnakaran JE. Chitin and the fine structure of cuticle. Chitin and benzoylphenyl ureas, W Junk Press, 1987
  - 10) Bemiller JN. Chitin. Methods in Carbohydrate chemistry V, Academic Press, 1977
  - 11) 양 음 · 혁준호 · 황윤희. Chitin의 산업적 이용을 위한 기초연구. *Korean J Food Sci Technol* 24 : 14-20, 1992
  - 12) Watkins TR, Knorr D. In vivo dye-binding of chitin and its effect on gerbil growth and gut function. *Nutr Rept Int* 27 : 1161-1165, 1983
  - 13) Knorr D, Wampler TP, Teutunico RA. Formation of pyranzines by chitin pyrolysis. *J Food Sci* 50 : 1762-1769, 1985
  - 14) Hirano S. Production and application of chitin and chitosan. Proceedings from the 4th International Conference on chitin and chitosan held in Trondheim, Norway, 1988
  - 15) 설은영. Chitin, chitosan이 흰쥐의 Cd 중독과 지방대사에 미치는 영향. 이화여자대학교 대학원 석사학위 논문, 1992
  - 16) Pesce J, Kapla A. Methods In Clinical Chemistry. Mosby Company, 1987
  - 17) Frings CS, Dunn RT. Improved method for determination of Triglycerides in serum. *Am J Clin Pathol* 53 : 89-94, 1970
  - 18) Folch JM, Lees G, Staney HS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497-502, 1957
  - 19) Seligson B. Standard method of clinical chemistry, New York, Academic Press, Inc. 1968
  - 20) Neri BP, Frings CS. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Clin Chem* 19 : 1201-1208, 1973
  - 21) Zinterhofer LJM, Jatlow I, Fappiano A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78 : 664-670, 1971
  - 22) Yeager DW, Cholak J, Henderson EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometry. *Environ Sci Technol* 5 : 1020-1028, 1971
  - 23) Sakaguchi T, Horikoshi T, Nakajima A. Adsorption of heavy metal ions by chitin phosphate and chitosan phosphate. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 53 : 149-154, 1979
  - 24) Wightman JP, Maruca R, Sudder BJ. Interaction of heavy metals chitin and chitosan. III. chromium. *J Appl Poly Sci* 27 : 4827-4833, 1982
  - 25) Hamilton DL, Valverg LS. Relationship between Cd and Fe absorption. *Am J Physiol* 227 : 1033-1039, 1974
  - 26) Valverg LS, Sorbe DL, Hamilton DL. Gastrointestinal metabolism of Cd experimental iron deficiency. *Am J Physiol* 231 : 461-468, 1976
  - 27) Mahaffey KR. Nutritional factors in lead poisoning. *Nutr Rev* 39(10) : 353-360, 1981
  - 28) Fox MRS. Effects of essential minerals on Cd toxicity. *J Food Sci* 39 : 321-328, 1974
  - 29) Jones HS, Fowler BA. Biological interactions of Cd with Calcium. Annals New York Academy of Sciences 112 : 309-315, 1975
  - 30) Feldman SL, Cousin RJ. Influence of Cd on the metabolism of 25-hydroxycholecalciferol in chicks. *Nutr Rep Int* 8 : 251-258, 1975
  - 31) Koo SI. Intestinal absorption and retention of Cadmium : Effects of cholecalciferol, Ca status and other variables. *J Nutr* 128 : 1812-1817, 1978
  - 32) Sakaguchi T, Horikoshi T, Nakajima A. Adsorption

Chitin과 Chitosan<sup>◎</sup> 흰쥐의 Cadmium중독과 지방대사에 미치는 영향

- of uranium by chitin phosphate and chitosan phosphate. *Agric Biol Chem* 45(10) : 2191-2197, 1981
- 33) Riccardo A, Muzzarelli A. Chitosan for the collection from seawater of naturally occurring Zn, Cd, pb and Cu. *Talanta* 18 : 853-859, 1971
- 34) 배지현. Chitin과 chitosan의 발전과 응용. 이화여자대학교 대학원 석사학위논문, 1991
- 35) Eiden CA, wightman JP, Jewell CA. Interaction of lead and chromium with chitin and chitosan. *J Appl Poly Sci* 25 : 1587-1592, 1980
- 36) Sugano M, Fujikawa T, Hiratsuji Y, Nakashima K, Fukuda N, Hasegawa Y. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am J Clin Nutr* 33 : 787-793, 1980
- 37) Vahouny GV, Roy T, Gallo LL, Story JA, Kritchevsky D, Cassidy MM. Dietary fibers III effects of chronic intake on cholesterol absorption and metabolism in the rat. *Am J Clin Nutr* 33 : 2182-2189, 1980
- 38) Vahouny GV, Satchithanandam S, Cassidy MM, Lightfoot FB, Furda I. Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. *Am J Clin Nutr* 38 : 278-285, 1983
- 39) Fukada Y, Kimura K, Ayaki Y. Effect of chitosan Feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. *Lipids* 26 : 395-399, 1991
- 40) Kobayashi T, Otsuka S, Yugari Y, The hypolipidemic activity of chitosan and other polysaccharides in rats. *Nutr Rept Int* 19 : 327-334, 1979
- 41) Sugano M, Fujikawa T, Hiratsuji Y, Hasegawa Y. Hypocholesterolemic effects of chitosan in cholesterol-fed rats. *Nutr Rept Int* 18 : 531-537, 1978
- 42) Nagyvary JJ, Falk JD, Hill ML, Schmidt ML, Wilkins Ak, Bradbury EL. Effects of chitosan on serum and liver cholesterol level in cholesterol fed rats. *Nutr Rept Int* 20 : 677-682, 1978
- 43) Watanabe S, Sugano M, Kishi A, Izume M, Ohtakara A. Hypocholesterolemic effects of chitosan in cholesterol-fed rats. *Nutr Rept Int* 18 : 531-537, 1978
- 44) Sandford PA. Chitosan : Commercial uses and potential applications. Proceedings from the 4th International Conference on chitin and chitosan held in Trondheim, Norway, 1988
- 45) Arai K, kinumaki T, fujita T. Toxicity of chitosan. *Bull Tokai Regional Fisheries Lab* 56 : 889-896, 1968