

Chitin, Chitosan 및 수용성 Chitosan 유도체가 흰쥐의 Cadmium 중독과 지방대사에 미치는 영향*

배계현 · 김호정 · 김미경

이화여자대학교 식품영양학과

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

Bae, Kye Hyun · Kim, Ho Jung · Kim, Mi Kyung

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

ABSTRACT

This study was to investigate the effects of chitin, chitosan, NOCC and cellulose on cadmium toxicity and lipid metabolism in rats. Fifty male rats of Sprague-Dawley strain weighing 155 ± 17g were divided into 10 groups according to body weight, and were raised for 5 weeks. Levels of 0 and 400 ppm of cadmium chloride were in the diets. And chitin, chitosan, NOCC and cellulose were given at the level of 0 and 4% (w/w) of the diets. Chitosan and NOCC decreased Cd concentration of liver and kidney, and increased the fecal excretion of Cd. Although cellulose was less effective, cellulose also decreased Cd concentration of liver and increased fecal Cd excretion. However chitin had little effect on alleviating Cd toxicity. In addition, chitosan and NOCC lowered total lipid, cholesterol and triglyceride contents in serum and liver by decreasing the lipid absorption. The lowering of cholesterol especially had a remarkable effect. Although it was less effective than chitosan and NOCC, chitin decreased the lipid absorption ratio and lowered cholesterol contents in serum and liver. In conclusion, chitosan and NOCC showed effects of decreasing the absorption of Cd and lipid. (*Korean J Nutrition* 30(6) : 622~633, 1997)

KEY WORDS : chitin · chitosan · N,O-CarboxymethylChitosan · Cd Toxicity.

서 론

최근 납, 카드뮴, 수은등의 중금속 오염으로 인한 사회문제가 많이 발생하고 있다. Cadmium (Cd)은 공업적으로 전기도금, 배터리, 합금, 연료등의 생산에 이용되어 왔고 이러한 물질의 생산증가로 점점 광범위하게 사용되고 있어¹⁾²⁾ 이로 인해 토양, 공기, 물이 오염되고 인산비료와 하수, Cd를 함유한 살균제의 이용등을 통

해 상당량이 토양에 축적되고 있다³⁾. Cd섭취의 주요 급원은 음식물이며 신장, 간, 어패류를 많이 먹는 특별한 식습관을 가진 사람을 제외하고는 보통사람들이 식사를 통해 섭취하는 Cd는 주로 곡류와 채소류라고 한다⁴⁾. 우리나라 사람들의 하루 Cd섭취량은 1980~1990년 사이의 지역별 Cd섭취 실태조사에 의하면 1인당 평균 55~84g/day로 보고되고 있다⁵⁻⁷⁾.

소화관을 통한 Cd의 흡수율은 4.7~7% 정도이며⁸⁾ 단백질, Ca, P, 섬유질 등 여러 영양소의 영향을 받는다⁹⁾. 체내로 들어온 Cd는 생물학적 반감기가 길어서 체내축적이 용이하고¹⁰⁾ 만성적으로 흡수된 Cd는 금속을 필요로 하는 효소의 활성을 저해하거나 조직의 형태

채택일 : 1997년 5월 2일

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

를 변화시켜서 질병의 이환율과 사망율을 증가시킨다¹¹⁾.

Godding의 정의¹²⁾에 의하면 식이 섬유질은 장내에서 분비되는 소화효소에 의해 분해되지 않는 polysaccharides와 lignin을 통칭하는데 구조 및 물리적 성질에 따라 장내에서의 효과도 다르게 나타난다¹³⁾. 일반적으로 수용성 섬유질이 불수용성 섬유질에 비해 gelling effect, viscosity, 수분결합력이 더 크며, 따라서 지방 및 단백질, 무기질 등의 체내 영양소 대사에 미치는 영향도 식이섬유질에 따라 다르다¹³⁻¹⁵⁾. 식이섬유질은 서구사회에 만연되어 있는 동맥경화증, 고혈압, 순환기질환의 주요 요인인 cholesterol의 대사에 영향을 준다고 알려져 이에 대하여 많은 연구가 이루어져 왔다. 한편 동물성 섬유질인 chitin과 chitosan은 독성이 거의 없어 식이의 10% 수준까지 공급하였을 때도 안전하다고 보고되었다¹⁶⁾. 특히 chitosan은 혈청 cholesterol과 지방질 수준을 낮추고¹⁷⁾¹⁸⁾ lymphatic absorption을 저해하는 효과가 있다고 한다¹⁹⁾. 또한 강력한 anion exchanger로 알려진 cholestyramine과 비슷한 정도의 hypocholester-olemic effect가 있음이 보고 되었다¹⁷⁾.

Chitin은 게, 새우와 같은 갑각류 껍질, 곤충의 표피 및 버섯, 균류의 세포벽에 존재하는 물질로서 cellulose와 유사한 골격구조를 가져 glucose의 2-amino 유도체인 D-glucosamine이, 1~4결합을 한 biopolymer이며 2-amino기에 N-acetyl group을 가지고 있다²⁰⁾. Chitin은 물, 각종 유기용매, 산, 알칼리에 불용성인 천연 고분자인데 뜨거운 강알칼리로 처리하면 70~95%가 deacetylation 되어 chitosan이 만들어 진다²¹⁾. Chitosan은 chitin보다 분자량이 약간 작고 초산등 묽은 산에 녹는 성질을 지니며 free amino group이 polycation을 형성하거나 chelate, dispersion을 이루는 특성이 있어 chitin보다 이용가능성이 크다²²⁾²³⁾. 또한 chitosan은 해수(sea water)에서 미량금속이온을 chelate하여 수집하는데 적절한 polymer로 알려져 있다²⁴⁾. 그러나 chitosan은 물에 녹지 않고 짙은 맛이 있어 관능성이 좋지 않은 단점을 가지고 있다. N,O-carboxymethylchitosan(NOCC)은 glucosamine 단위의 N분자와 hydroxyloxygen 분자에 carboxymethyl 치환기가 있는 chitosan의 유도체로서 물에 녹으며 짙은 맛이 약하고 수용액에서 여러 중금속 이온과 화학적 결합을 하여 중금속을 격리(sequestering)한다²⁵⁾. Chitin과 chitosan의 물리화학적 특성에 의해 나타나는 수분결합능, 지방결합능, 염료결합성질등을 식품산업에 이용하기 위한 연구가 진행되고 있으며²⁶⁾ 물의 정화 및 산업폐기물 처리과정중 중금속제거제로서의 사용에 대해서는 이미 많은 연구가 이루어졌다²³⁾²⁷⁾.

식물성 섬유질이 Cd의 흡수 및 조직내 농도를 감소시켰다는 보고들²⁸⁾²⁹⁾과 chitosan이 Cd의 흡수와 혈중 콜레스테롤 농도를 감소시켰다는 보고³⁰⁾는 있지만 식물성 섬유질과 이들 동물성 섬유질 유도체의 중금속 해독에 관한 비교연구는 미흡한 상태이다. 특히 수용성 NOCC가 중금속 또는 지방대사에 미치는 영향에 대해서는 연구된 바가 없다. 만일 수용성인 NOCC가 chitosan과 같은 중금속 제거 및 혈중 콜레스테롤 저하효과가 있다면 기능성 식품에의 활용도가 높은 신소재로서 각광받을 수 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는 기본 골격이 탄소 6개로 같지만 side chain이 서로 다른 식물성 섬유질인 α -cellulose와 게 껍질에서 추출한 동물성 섬유질인 chitin, chitosan, NOCC가 Cd중독과 지방대사에 미치는 영향을 비교하여 보고자 하였다.

연구방법

1. 실험동물의 사육

Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 50마리를 실험 시작 전 1주일간 고형사료(삼양사)로 적응시킨뒤 체중이 155 ± 17g된 쥐들을 체중에 따라 난괴법에 의하여 5마리씩 10군으로 나누어 5주간 Table 1과 같은 내용으로 사육하였다. 본 실험에서 사용한 식이의 구성성분은 Table 2와 같다. 카드뮴의 공급은 cadmium chloride(CdCl₂)로 식이무게의 0.04%(Cd로 245 ppm)수준으로 식이내에 섞어 공급하였고 α -cellulose(Sigma)와 chitin, ch-

Table 1. Classification of experimental animals

Exp. groups ¹⁾	Dietary fiber level(%) ²⁾	CdCl ₂ level(ppm)
N N	0	0
N C	Cellulose, 4	0
N T	Chitin, 4	0
N S	Chitosan, 4	0
N W	NOCC, 4	0
C N	0	400
C C	Cellulose, 4	400
C T	Chitin, 4	400
C S	Chitosan, 4	400
C W	NOCC, 4	400

- 1) N N : No Cd no fiber group
- N C : No Cd cellulose group
- N T : No Cd chitin group
- N S : No Cd chitosan group
- N W : No Cd water soluble NOCC group
- C N : 0.04% CdCl₂ - no fiber group
- C C : 0.04% CdCl₂ - 4% cellulose group
- C T : 0.04% CdCl₂ - 4% chitin group
- C S : 0.04% CdCl₂ - 4% chitosan group
- C W : 0.04% CdCl₂ - 4% water soluble NOCC group
- 2) Percentage(w/w) of total diet

itosan, NOCC도 식이무게의 4% 수준으로 식이내에 섞어 공급하였다. 물은 탈이온 증류수를 제한없이 먹게 하였다(Table 1, 2).

Chitin과 chitosan, NOCC는 본교 실험실에서 제조하여 사용하였다. 우리나라 동해안에서 얻은 홍게 (*Chionoecetes opilio*)로 부터 chitin을 추출한후 강알칼리로 탈아세틸화 과정을 거쳐 chitosan을 얻었다³⁰⁾³¹⁾. 이 chitosan을 다시 Hayes의 방법²⁵⁾으로 N,O-carboxymethylchitosan을 제조하였다. Chitosan의 점도는 1.0% 초산용액으로 0.5% chitosan solution을 만들어 측정(Haake RV 20 type, sensor SV₂)하였을때 323~325cps이었고 탈아세틸화도는 90~93%이며 NOCC는 0.5% 수용액을 chitosan과 같은 조건에서 측정하였는데 11~12cps이었다.

식이 섭취량은 식이를 무제한 자유급식시킨후 일주일에 3번 일정한 시간에 측정하였고, 체중은 매주 1회 같은 시각에 측정하였으며 식이효율을 계산하였다.

2. 뇨와 변 혈액, 각종 장기의 채취

실험종료전 실험동물들을 stainless steel로 된 대사장으로 옮겨 48시간 동안의 뇨와 변을 채취하였다. 혈액은 실험기간 종료전 12시간 굶긴 동물을 ethyl ether로 마취시켜 단두하여 희생시킨후 채취하였다. 혈액의 일부는 heparin으로 처리된 시험관에 받아 Cd분석을

위해 냉동보관하였으며 나머지는 시험관에 받아 2000 rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청을 얻은후 지방분석을 위해 냉동보관하였다. 혈액채취후 간과 소장, 신장을 떼어내어 무게를 측정후 냉동보관하였고 뼈는 오른쪽 뒷다리에서 대퇴골을 떼어내어 drying oven에서 건조하여 무게를 측정후 냉동보관하였다.

3. 시료의 분석

혈액과 뇨의 Cd농도는 Zinterhofer법³²⁾에 의해 원자흡광계(Atomic Absorption Spectro photometer, Perkin-Elmer Model 2380) 228.8nm에서 측정하였다. 간과 신장, 소장, 대퇴골, 변의 Cd농도는 시료를 drying oven(110°C)에서 향량이 될 때까지 건조시킨후 600°C 전기회화로에서 24시간 회화시켜 농질산으로 녹인후 1N HCl로 희석하여 Yeager법³³⁾에 의해 원자흡광계 228.8nm에서 측정하였다.

혈청의 총지방은 Frings법³⁴⁾에 의해 분광광도계 540 nm에서 비색정량하였고, 혈청의 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤(국제시약, 일본)은 cholesterol esterase를 이용한 효소법 kit으로 측정하였고 혈청의 중성지방은 lipoprotein lipase를 포함하는 효소법 kit로 550nm에서 비색정량하였다. 간과 변의 총지방은 Bligh & Dyer법³⁵⁾을 이용하여 측정하였고, 간과 변의 총 콜레스테롤은 Bligh & Dyer법으로 추출한 총지방을

Table 2. Composition of experimental diets/(kg diet)

Exp. groups ingredients	N N	N C	N T	N S	N W	C N	C C	C T	C S	C W
Corn starch(g)	703.14	663.14	663.14	663.14	663.14	702.74	662.74	662.74	662.74	662.74
CdCl ₂ (g)	-	-	-	-	-	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Cellulose(g)	-	40	-	-	-	-	40	-	-	-
Chitin(g)	-	-	40	-	-	-	-	40	-	-
Chitosan(g)	-	-	-	40	-	-	-	-	40	-
NOCC ¹⁾ (g)	-	-	-	-	40	-	-	-	-	40
Casein(g)	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150
Corn oil(g)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Salt mix. ²⁾ (g)	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Vit A.D mix, ³⁾ (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vit E.K mix, ⁴⁾ (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Water sol.vits ⁵⁾	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Vit B ₁₂ , ⁶⁾ ml	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

1) N,O-Carboxymethyl Chitosan

2) Salt mix(g/kg diet) : Calcium phosphate,dibasic 20 ; Sodium chloride 2.96 ; Potassium citrate monohydrate 8.8 ; Potassium sulphate 2.08 ; Magnesium oxide 0.96 ; Magnous carbonate 0.14 ; Ferric citrate. 6H₂O 0.24 ; Zinc carbonate 0.064 ; Cupric carbonate 0.012 ; Potassium iodate 0.0004 ; Sodium selenite 0.0004 ; Chromium potassium sulphate 0.0002 ; Sucrose to make 40.0g

3) Vitamin A,D mixture(mg/ml corn oil) : Vit.A 0.1 ; Vit.D 0.01

4) Vitamin E,K mixture(mg/ml corn oil) : α-Tocopherol acetate 0.025 ; Menadion 1

5) Water soluble vitamin mixture(mg/kg diet) : Choline chloride 2000 ; Thiamine hydrochloride 10 ; Riboflavin 20 ; Nicotinic acid 120 ; Pyridoxine 10 ; Calcium pantothenate 100 ; Biotin 0.05 ; Folic acid 4 ; Inositol 500 ; Para-aminobenzoic acid 100

6) Vitamin B₁₂ solution(mg/ml distilled water) : Vit B₁₂ 0.01

chloroform용매에 녹여 Zak법³⁶⁾을 이용하여 비색정량하였다. 또 간과 변의 중성지방은 Neri법³⁷⁾을 이용하여 비색정량하였다.

4. 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였고, $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan법³⁸⁾에 의해 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다. 각 식이인자(A : Cd공급유무에 의한 영향 B : 섬유질종류에 의한 영향, AB : Cd공급유무와 섬유질종류의 상호작용에 의한 영향)의 영향은 $\alpha=0.05$ 수준에서 F-test에 의하여 유의성을 검정하였다.

실험결과

1. 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

실험기간 5주 동안의 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율은 Table 3과 같다. 식이섭취량은 Cd공급유무, Cd공급유무와 섬유질종류의 상호작용에 의한 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군보다 낮았고 Cd공급군중에서는 chitosan(CS)과 NOCC(CW)군이, Cd비공급군에서는 cellulose군(CC)이 약간 높은 경향이었다. 체중증가량과 식이효율은 비슷한 경향을 보여 체중증가량은 Cd공급군이 비공급군보다 유의적으로 낮았고 Cd공급군중 CN군은 음의 수치를 나타내고 NOCC군(CW)이 다른 군에 비해 유의적으로 높았으나 Cd비공급군들간에서는 군들간의 유의적인 차이가 없었다. 식이효율도 Cd공급군들중에서는 NOCC군이 CN군에 비해 유의적으로 높았고 Cd비공급군들간에는 유의적인 차이가 없었다.

2. 장기무게 및 대퇴골의 건조무게와 회분무게

간과 신장의 무게와 간 index, 신장 index는 Table 4와 같다. 간무게는 식이내 Cd공급유무, Cd와 섬유질 두 식이인자의 상호작용에 의한 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮았으며 Cd비공급군들중에서는 cellulose군(NC)이 다소 높았고 Cd공급군들 중에서는 CW군이 높게 나타났다. 간무게를 체중으로 나눈 간 index는 식이내용에 따른 차이를 보이지 않아서 각군들사이에 유의적인 차이가 없었다. 신장의 무게는 Cd공급유무의 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮았으나 섬유질종류에 따른 차이는 없었다. 신장무게를 체중으로 나눈 신장 index도 Cd공급유무의 영향이 나타났으나 신장의 무게와는 반대로 Cd공급군이 비공급군에 비해 높았다. 대퇴골의 건조무게와 회분무게(Table 5)는 Cd공급의 영향으로 Cd공급군들이 비공급군들에 비해 유의적으로 낮았다. 그리고 회분무게는 Cd와 섬유질종류의 상호작용의 영향을 받아 Cd비공급군에서는 섬유질종류에 따른 차이가 없었으나 Cd공급군에서는 CW군이 CN군에 비해 높게 나타났다.

3. 혈액과 소장, 간, 신장, 대퇴골의 Cd농도

혈액과 소장, 간, 신장, 대퇴골의 Cd농도는 Table 6에 제시하였다. 혈액의 Cd농도는 Cd공급군이 비공급군보다 유의적으로 높았으며 Cd공급군들중에서는 cellulose(CC)군과 NOCC(CW)군이 다소 낮은 경향을 보였으나 유의적 차이는 없었다. 소장의 Cd농도는 Cd공급군들이 비공급군에 비해 유의적으로 높았으며 Cd공급군중에서 chitosan군(CS)이 다른군보다 유의적으로 낮았다. 간과 신장의 Cd농도는 비슷한 경향을 나타내어서 식이내 Cd공급유무, 섬유질의 종류, Cd과 섬유

Table 3. Food intake, weight gain and FER

Exp. groups	Food intake(g/day)	Wt gain(g/5week)	F.E.R
N N	17.6 ± 1.17 ^{1) a²⁾}	150.2 ± 24.9a	0.26 ± 0.04a
N C	19.2 ± 1.38a	163.7 ± 28.3a	0.25 ± 0.03ab
N T	16.8 ± 2.91a	125.2 ± 22.5a	0.23 ± 0.03abc
N S	17.8 ± 1.78a	128.7 ± 28.2a	0.21 ± 0.03abc
N W	17.1 ± 2.54a	120.4 ± 60.9ab	0.19 ± 0.07abc
C N	10.2 ± 1.50b	-0.25 ± 37.9c	-0.03 ± 0.10d
C C	10.9 ± 2.00b	18.2 ± 16.2c	0.05 ± 0.04cd
C T	10.9 ± 1.73b	15.9 ± 10.2c	0.07 ± 0.07abcd
C S	13.9 ± 4.19ab	33.6 ± 37.5c	0.07 ± 0.08bcd
C W	14.1 ± 0.61ab	79.0 ± 43.3b	0.16 ± 0.09abc
S.F ³⁾	A, AB	A, AB	A, AB

1) Mean ± SE(n=5)

2) Values with same alphabet within the column are not significantly different at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test

3) A : Effect of Cd addition is significant at $\alpha=0.05$ level by F-test

B : Effect of dietary fiber type is significant at $\alpha=0.05$ level by F-test

AB : Effect of interaction between Cd and dietary fiber type is significant at $\alpha=0.05$ level by F-test

Table 4. Liver and kidney weights, and liver and kidney indices

Exp. groups	Liver wt(g)	Kidney wt(g)	Liver index	Kidney index
N N	8.69±1.25 ^{1)ab2)}	0.98±0.10a	27.9±1.62n.s ⁴⁾	3.14±0.09d
N C	9.93±1.04a	0.97±0.08a	31.7±6.49	3.11±0.24d
N T	7.87±0.89bc	0.93±0.11ab	28.3±0.96	3.32±0.10bcd
N S	8.24±1.06b	0.91±0.14ab	29.2±3.70	3.22±0.14cd
N W	7.87±1.62bc	0.88±0.14ab	28.9±2.79	3.28±0.47bcd
C N	4.78±1.41e	0.57±0.21d	32.4±2.38	3.87±0.51a
C C	5.52±0.94de	0.66±0.08cd	31.1±3.44	3.76±0.38ab
C T	5.40±0.46de	0.66±0.06cd	31.9±2.83	3.89±0.40a
C S	5.44±1.04de	0.69±0.11cd	28.9±3.17	3.69±0.25abc
C W	6.57±1.50cd	0.76±0.09bc	28.7±2.43	3.40±0.53abcd
S.F ³⁾	A, AB	A		A

1)-3) see Table 3

4) Not significant $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test**Table 5.** Femur and ash weight

Exp. groups	Femur dry wt(g)	Femur ash wt(g)
N N	0.49±0.04 ^{1)a2)}	0.26±0.02a
N C	0.49±0.04a	0.27±0.02a
N T	0.47±0.06a	0.25±0.03a
N S	0.45±0.04a	0.23±0.02a
N W	0.46±0.07a	0.24±0.04a
C N	0.32±0.06b	0.14±0.04c
C C	0.34±0.05b	0.16±0.03bc
C T	0.33±0.03b	0.15±0.02bc
C S	0.33±0.06b	0.17±0.02bc
C W	0.38±0.04b	0.19±0.03b
S.F ³⁾	A	A, AB

1)-3) see Table 3

질의 상호작용에 의해 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 유의적으로 높았으며 Cd공급군들중에서 CS군과 CW군이 다른 군에 비해 유의적으로 낮았다. 대퇴골의 Cd농도는 식이내 Cd공급유무에 의한 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군보다 유의적으로 높았고 섬유질 종류에 의한 차이는 볼 수 없었다.

4. 뇨액 변종의 Cd배설량

뇨종의 Cd배설량은 Table 7에서와 같이 식이내 Cd

공급유무의 영향을 받아 Cd공급군들이 비공급군에 비해 유의적으로 높았고 Cd공급군들중에서 CW군이 CC, CT군보다 낮았다. 변을 통한 Cd배설량은 식이내 Cd공급유무, 섬유질 종류, Cd과 섬유질종류의 상호작용에 의해 영향을 받아 Cd공급군이 비공급군에 비해 유의적으로 높았고 Cd공급군들중에서는 CC군이 다른군에 비해 유의적으로 높았고 CS, CW군은 높게 나타났다.

5. 혈청내 지질농도

혈청내 총지질과 총콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤 농도는 Table 8에 제시되었다. 혈청내 총지질은 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮은 경향을 보였고 Cd공급군들중에서는 유의적은 아니나 CT군이 가장 낮았고 Cd비공급군들중에서는 NS, NW군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 혈청내 총콜레스테롤은 Cd공급군에서는 섬유질 종류에 의한 차이가 거의 없었으나 Cd비공급군에서는 동물성 섬유질군(NT, NS, NW)이 NN, NC군보다 유의적으로 낮았다. 혈청내 중성지방은 Cd비공급군들중에서는 chitosan(NS), NOCC(NW)군이 대조군(NN)에 비해 유의적으로 낮았으며 이와는 대조적으로 Cd공급군들중에서는 군들간에 유

Table 6. Cd concentrations in whole blood, femur, intestine, liver and kidney

Exp. groups	Blood Cd($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	Intestine Cd($\mu\text{g/g}$)	Liver Cd($\mu\text{g/g}$)	Kidney Cd($\mu\text{g/g}$)	Femur Cd($\mu\text{g/g}$)
N N	2.84±0.90 ^{1)a2)}	0.46±0.40c	1.97±0.98d	1.80±0.98d	0.80±0.21a
N C	2.71±0.97a	0.75±0.33c	1.99±0.76d	2.13±0.77d	0.65±0.39a
N T	2.18±0.82a	0.69±0.31c	1.81±1.37d	1.69±0.97d	0.72±0.39a
N S	2.20±0.54a	0.70±0.42c	1.93±1.46d	2.02±1.22d	0.70±0.30a
N W	2.67±1.00a	0.64±0.41c	2.00±1.28d	1.67±0.53d	0.81±0.21a
C N	218.6±40.1b	37.9±12.9a	55.4±8.70a	44.9±14.3ab	6.31±1.92b
C C	168.7±43.9b	26.5±12.5a	43.9±8.89b	39.6±18.3b	5.39±2.24b
C T	219.9±84.3b	35.3±14.8a	49.7±8.99ab	53.6±13.5a	5.40±3.46b
C S	183.4±25.4b	12.7±4.84b	22.5±6.11c	17.1±5.90c	5.50±1.33b
C W	169.7±59.8b	29.8±12.4a	18.0±2.73c	18.5±1.90c	6.51±1.09b
S.F ³⁾	A	A, B, AB	A, B, AB	A, B, AB	A

1)-3) see Table 3

Table 7. Urinary and fecal Cd excretions

Exp. groups	Urine Cd($\mu\text{g/day}$)	Fecal Cd($\mu\text{g/day}$)
N N	1.20 \pm 0.63 ^{1)c2)}	2.20 \pm 1.24d
N C	1.19 \pm 1.37c	2.55 \pm 2.27d
N T	0.90 \pm 0.79c	2.64 \pm 1.46d
N S	0.52 \pm 0.44c	2.43 \pm 0.99d
N W	0.72 \pm 0.73c	2.54 \pm 1.58d
C N	112.2 \pm 12.9ab	119.0 \pm 12.8c
C C	140.6 \pm 35.3a	197.9 \pm 19.2a
C T	129.9 \pm 46.8a	124.8 \pm 21.2c
C S	111.9 \pm 19.5ab	168.7 \pm 56.0b
C W	99.5 \pm 13.4b	163.4 \pm 14.5b
S.F ³⁾	A	A, B, AB

1)-3) see Table 3

의적 차이는 없었으나 CN군이 다른군에 비해 가장 낮은 경향을 나타냈다. 혈청내 HDL-콜레스테롤은 Cd공급유무에 의한 영향만 나타나 Cd공급군이 비공급군에 비해 약간 낮은 경향을 보였고 NS, NW군이 다른군에 비해 가장 높은 경향을 보였으나 전체적으로 섬유질 종류에 따른 유의적 차이는 없었다.

6. 간내의 지질농도

간내의 총지질, 총콜레스테롤, 중성지방의 농도는

Table 8. Total lipid, cholesterol, triglyceride, and HDL-cholesterol concentrations in serum

Exp. groups	Serum lipid(mg/100ml)	Serum cholesterol(mg/100ml)	Serum TG(mg/100ml)	Serum HDL-cho(mg/100ml)
N N	376.0 \pm 103.3 ^{1)a2)}	92.8 \pm 7.75a	102.1 \pm 25.2a	39.3 \pm 2.61ab
N C	280.0 \pm 21.6abc	86.1 \pm 4.17a	70.8 \pm 20.4abc	38.5 \pm 4.3ab
N T	329.8 \pm 98.4ab	67.4 \pm 7.35bc	96.3 \pm 35.9ab	39.9 \pm 8.6ab
N S	255.6 \pm 61.9bc	59.8 \pm 6.57bc	62.7 \pm 9.8bc	44.6 \pm 4.09a
N W	270.0 \pm 59.1bc	56.3 \pm 5.54c	64.8 \pm 1.7bc	44.2 \pm 4.15a
C N	305.5 \pm 19.2abc	70.8 \pm 1.6b	56.4 \pm 9.4c	26.9 \pm 8.80b
C C	281.2 \pm 45.7abc	63.1 \pm 20.4bc	65.0 \pm 22.4bc	36.7 \pm 8.45ab
C T	222.2 \pm 26.8c	61.4 \pm 3.64bc	75.5 \pm 23.5abc	34.6 \pm 4.13ab
C S	234.8 \pm 22.3bc	65.8 \pm 3.34bc	72.1 \pm 7.3abc	34.7 \pm 3.78ab
C W	261.8 \pm 56.9bc	63.9 \pm 8.57bc	70.6 \pm 4.1abc	36.1 \pm 8.92ab
S.F ³⁾	A	A, B, AB		A

1)-3) see Table 3

Table 9. Total lipid, cholesterol and triglyceride concentrations in liver

Exp. groups	Liver lipid(mg/g liver)	Liver cholesterol(mg/g liver)	Liver TG(mg/g liver)
N N	20.8 \pm 5.61 ^{1)a2)}	21.7 \pm 1.55a	30.2 \pm 13.2ab
N C	19.4 \pm 1.13ab	18.9 \pm 1.29b	24.0 \pm 1.50abc
N T	18.7 \pm 2.45ab	16.4 \pm 1.85cd	34.8 \pm 22.3a
N S	17.2 \pm 1.16bcd	15.2 \pm 1.51d	30.5 \pm 7.72ab
N W	18.4 \pm 1.54abcd	17.0 \pm 1.13c	29.1 \pm 16.9abc
C N	15.1 \pm 2.37d	9.13 \pm 0.84e	13.9 \pm 2.69bc
C C	15.8 \pm 1.55cd	8.60 \pm 0.32e	16.6 \pm 4.99bc
C T	15.6 \pm 1.37cd	8.58 \pm 0.34e	13.3 \pm 1.75c
C S	17.5 \pm 1.08abcd	8.05 \pm 0.81e	21.3 \pm 1.71abc
C W	17.7 \pm 1.45abcd	8.12 \pm 0.75e	17.5 \pm 5.49bc
S.F ³⁾	A	A, B, AB	A

1)-3) see Table 3

Table 9와 같다. 간내의 총지질농도는 Cd공급에 의한 영향이 유의적이어서 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮은 경향을 보였고 Cd비공급군들중에서는 chitosan군(NS)이 가장 낮았으며 Cd공급군들중에서는 chitosan(CS), NOCC군(CW)이 다른군에 비해 약간 높은 경향을 나타냈다. 간내의 총콜레스테롤 농도를 보면 Cd공급군들은 비공급군들에 비해 유의적으로 낮은 수치를 보였으나 Cd공급군들간에 차이는 거의 볼 수 없었고 Cd비공급군들에서는 NN군에 비해 나머지군들이 유의적으로 낮았는데 특히 chitosan군(NS)이 가장 낮았다. 간내의 중성지방 농도는 Cd공급유무에 의한 영향만 나타나 Cd공급군들이 비공급군들에 비해 낮은 경향을 보였으며, 섬유질 종류에 따른 뚜렷한 차이는 없었으나 NT군이 가장 높았고 OT군이 가장 낮았다.

7. 변종의 배설량과 지방흡수율

변종의 총지질, 총콜레스테롤, 중성지방의 배설량과 지방흡수율은 Table 10과 같다. 변종의 총지질은 섬유질 종류에 의한 영향만 나타났는데 섬유질 첨가에 의해 총지질 배설량은 증가하였고 Cd공급군들이나 비공급군들 모두 chitosan군(NS, CS)이 가장 높았다. 변종

의 총콜레스테롤은 Cd공급유무, 섬유질종류, Cd과 섬유질에 의한 상호작용의 영향이 유의적이었는데 Cd비공급군에서는 동물성 섬유질군에서 높은 경향이 나타났고 Cd공급군에서는 섬유질을 넣지 않은 대조군(CN)에 비해 섬유질 첨가군이 유의적으로 총콜레스테롤 배설량이 높았고 Cd공급군들이나 비공급군들 모두 chitosan군(NS, CS)이 가장 높은 수치를 보였다. 변중의 중성지방은 섬유질 종류의 영향만 유의적으로 나타나 Cd공급군과 비공급군들간에 거의 차이가 없었으며 chitosan군(NS, CS)이 대조군에 비해 유의적으로 높았다.

지방흡수율은 Cd공급유무와 섬유질종류, Cd과 섬유질에 의한 상호작용의 영향을 받아 대체적으로 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮은 경향이었고 Cd공급유무에 관계없이 cellulose>chitin=NOCC>chitosan 순서로 높게 나타났다.

고찰 및 결론

본 연구는 cellulose와 chitin, chitosan, 수용성인 NOCC 공급이 흰쥐의 Cd중독과 지방대사에 미치는 영향을 비교하여 보고자 수행되었다.

1. 식이섬유질 종류에 따른 Cd대사

식이섭취량과 체중증가를 및 식이효율은 Cd공급에 의한 영향이 뚜렷이 나타나 Cd공급군들은 비공급군에 비해 성장상태가 저조하였다. 특히 CN군은 체중증가와 식이효율에서 음의 결과를 나타내었다. Cd공급으로 인한 성장저하는 여러 연구³⁹⁻⁴¹⁾에서 공통적으로 나타나는데 대부분은 Cd이 열량대사에 영향을 준다기보다는 식이섭취량이 감소하는 것이 직접적인 원인이라고 설명하고 있다⁹⁾³⁹⁻⁴¹⁾.

카드뮴 공급이 골격성장에 미친 영향은 섬유질 종류

에 따른 차이는 없었고 Cd공급군이 비공급군에 비해 대퇴골의 건조중량과 회분무게가 적었다. 카드뮴이 신장에서 25-hydroxy cholecalciferol-1-hydroxylase를 방해하여 뼈의 mineralization이 감소된다는 설⁴²⁾이 있지만 식이섭취의 감소나 전반적 영양상태의 불량도 그 원인이라 할 수 있겠다⁴³⁾.

카드뮴 대사는 주로 간과 신장에서 일어나기 때문에 만성적인 Cd중독시 조직의 피사와 비대를 초래한다⁴⁴⁾. 간과 신장의 무게는 Cd공급군이 비공급군에 비해 적었는데 총장기무게를 체중으로 나눈 간 index는 모든 군간에 유의적 차이가 없고 신장 index는 Cd공급군들이 비공급군들보다 높은 경향인 것을 볼 때 다른 연구³⁰⁾⁴⁵⁻⁴⁷⁾에서와 마찬가지로 Cd중독시간보다는 신장이 더 큰 영향을 받아 신장조직의 비대가 일어난 것으로 생각된다. 그러나 섬유질 종류에 따른 차이는 나타나지 않았다.

일반적으로 경구투여된 Cd은 흡수율이 매우 낮고⁸⁾ 소화기관내에서 흡수된 Cd은 albumin과 같은 고분자 단백질과 결합된 다음 주로 간으로 이동된다⁴⁵⁾⁴⁸⁾. 간으로 Cd이 들어오면 metallothionein(MT)의 de novo 합성이 일어나 Cd와 MT가 결합하여 non-toxic한 형태로 전환되고 이 Cd-MT complex는 간에 머물러 있지 않고 혈액으로 방출되어 신장의 사구체막을 선택적으로 통과할 수 있어 빠르게 신장으로 이동된 후 서서히 뇨로 배설된다⁴⁹⁾. 따라서 장기간의 Cd공급시 신장의 MT농도와 Cd농도는 증가하게 된다. 본 연구에서 간과 신장의 Cd농도가 CS군과 CW군이 Cd공급군중 다른 군에 비해 유의적으로 낮았기 때문에 Cd중독에 대한 영향이 가장 적었다고 볼 수 있으며 대조군 CN군과 유의적 차이는 없었으나 cellulose군(CC)이 그 다음으로 낮은 경향을 나타내었다.

Chitin과 chitosan은 amino기의 N이 금속이온과 배위결합을 하여 금속이온을 chelating하고 또 부분적

Table 10. Fecal total lipid, cholesterol, triglyceride excretions and lipid absorption ratio

Exp. groups	Fecal lipid(mg/day)	Fecal cholesterol(mg/day)	Fecal TG(mg/day)	Lipid absorption ratio(%)
N N	27.0±21.3 ^{1)d²⁾}	3.19±1.70c	0.83±0.54c	98.5±1.10a
N C	92.6±72.6bcd	4.81±1.34cd	1.41±0.79c	95.2±1.39bc
N T	89.4±12.9bcd	6.40±1.35abc	2.26±1.19bc	93.9±0.51cd
N S	195.4±63.3a	7.61±0.59a	4.22±2.23a	89.0±1.53g
N W	112.7±90.6bc	6.32±0.84abc	2.55±0.61abc	93.9±1.28cd
C N	43.0±20.9cd	0.86±0.28f	0.76±0.31c	95.7±1.90b
C C	125.4±66.7ab	3.60±1.54de	2.31±1.41bc	93.2±0.81d
C T	89.5±30.3bcd	2.85±1.15e	1.73±1.72bc	91.6±0.61ef
C S	134.1±48.1ab	7.17±0.54ab	3.44±1.39ab	90.4±1.03fg
C W	97.5±42.3bcd	5.89±1.28bc	1.91±0.61bc	92.7±0.47de
S,F ³⁾	B	A, B, AB	B	A, B, AB

1)-3) see Table 3

으로 hydroxyl기도 금속이온을 흡착한다⁵⁰⁾. Chitosan은 free amino기의 함량이 높아서 금속이온의 흡착능력이 강하고 chitin의 acetamino기는 금속이온의 흡착에 크게 작용할 수 없어 chitosan이 chitin에 비해 금속이온의 흡착능이 뛰어나다⁵¹⁾. 그러므로 chitin과 chitosan의 화학적 성질중 금속 흡수를 저해시키는 능력에 차이를 주게 된다. 또한 chitosan은 chitin과 달리 free amino group이 있어서 pH 6.0이하에서 용해된다¹⁶⁾. 따라서 체내의 위산에 의해 chitosan은 부분적으로 용해될 수 있어 장 내용물이 점액성이 되어 금속이온을 trapping할 것이라고 제안되었다⁵²⁾. Chitosan을 carboxymethylation하면 수용성 성질을 가지는 chitosan이 되는데 carboxymethyl기의 결합위치에 따라 N-carboxy methylchitosan(NCC), O-carboxymethylchitosan(OCC), N,O-carboxy methylchitosan(NOCC)이 형성된다. 이들 carboxymethylchitosan은 secondary amine을 가지고 있는데 이 secondary amine은 금속이온의 흡착에 매우 효과적인 구조이다⁵³⁾. N,O-carboxymethylchitosan은 수용액내 중금속 농도가 매우 낮더라도 금속이온과 화학적 결합을 하여 격리시키고 철, 구리, 수은, 니켈, 아연 등의 이온이 N,O-carboxymethylchitosan solution과 gel을 형성한다²⁵⁾. 본 연구에서 장조직내 Cd농도는 Cd공급군들 중에서 CS군만이 유의적으로 낮았고 유의적차이는 없었으나 CW군과 CC군이 CN군과 CT군에 비해 낮은 경향이였다. 또한 변으로 배설된 Cd량은 CC군>CS군>CW순으로 많았다. Kiyozumi등²⁸⁾은 in vitro에서 여러 종류의 섬유질을 이용하여 Cd와의 결합을 비교하였는데 cellulose는 Na-carboxymethyl cellulose나 lignin에 비해 Cd결합능이 현저하게 낮았고 Cd결합과 장내 Cd흡수와의 상관계수는 -0.746(P<0.001)이고 섬유질의 점도와 장내 Cd흡수와의 상관계수는 -0.705(P<0.01)라고 하였다. 그리고 여러 실험⁵⁴⁾⁵⁵⁾에서 cellulose는 식이내 4~5% 수준에서 변을 통한 Pb나 Cd의 배설을 약간 증가시키지만 중금속 중독 완화효과가 미약하였다. 본 연구에서 CC군의 변을 통한 Cd배설량이 가장 많은 것을 고려한다면 Cd중독완화능력이 크게 나타났어야 했지만 예상과 달리 대조군(CN)보다 간의 Cd농도가 유의적으로 낮은 것을 제외하고는 대조군과 별 차이가 없었다. 이와 같은 결과는 장조직내 Cd농도는 전실험기간동안 축적된 Cd의 양이지만 변을 통한 Cd배설량은 이틀동안 측정된 양이기 때문에 장조직내 Cd농도와 변을 통한 Cd배설량이 완전히 일치하는 경향을 나타내지 않은 것으로 생각된다. 그러나 chitosan과 NOCC군은 변으로의 Cd배설량이

높은 것과 장내 Cd농도가 비교적 낮은것으로 볼때 Cd흡수가 감소된 것으로 생각된다. 또한 chitosan, NOCC의 점도는 1.0% 용액에서 각각 750 cps, 11~12 cps로 chitosan의 점도가 크지만 Cd중독정도에서는 차이가 없었다. 이런 점으로 볼 때 위와 같은 chitosan의 점도 차이는 크게 영향을 미치지 않는것 같다.

혈액에 존재하는 Cd은 소장에서 흡수된것과 간 및 기타조직으로부터 유래된것으로 구성된다⁴⁷⁾. 혈액내 Cd농도와 뇨중의 Cd농도사이에 상관관계가 낮고 많은 양의 Cd에 노출되었을 때 뇨중의 Cd농도는 급격히 증가하다가 곧 안정된 plateau를 이루기 때문에 뇨의 Cd배설량은 현재나 과거의 Cd노출수준을 추정하는 적절한 지표가 되지 못한다고 한다⁵⁶⁾. 본 연구에서 각군의 혈액과 뇨의 Cd농도는 개체간의 차이가 커서 유의적 차이를 보이지 않았지만 CN군과 CT군의 혈액내 Cd농도가 다른군에 비해 높은 경향이었고 뇨를 통한 Cd배설량에서는 CW군이 약간 낮은 경향을 나타냈을 뿐 군들간의 차이가 별로 없었다.

본 연구에서 Cd공급시 혈액내 Cd농도, 뇨를 통한 Cd배설량, 대퇴골의 Cd농도는 섬유질 종류에 따른 유의적 차이가 없었고 간과 신장의 Cd농도가 CS, CW군에서 낮았고 이 두군의 변으로의 Cd배설양도 높은 것을 종합해 볼때 chitosan, NOCC가 Cd중독 완화효과가 있다는 것을 알 수 있다. 설은영의 연구³⁰⁾에서도 chitosan은 조직내 Cd수준을 낮추고 변을 통한 Cd배설량을 증가시켰지만 chitin은 효과가 없었다. 따라서 같은 동물성섬유질이지만 chitin은 Cd중독 완화기능이 거의 없고 chitosan, NOCC는 각각 free amino기, carboxymethyl기가 장내에서 금속이온의 흡착에 관여하여 Cd흡수가 감소한 것으로 생각된다.

2. 식이 섬유질 종류에 따른 지방대사

불수용성 섬유질은 변부피를 증가시키고 변비를 완화시키는 기능이 있지만 plasma cholesterol 수준에는 거의 영향이 없다⁵⁷⁾. 다른 연구⁵⁸⁾에서도 wheat bran과 cellulose는 hypocholesterolemic effect가 거의 없다고 알려져 있다. Cellulose와 마찬가지로 동물성 섬유질인 chitin도 물과 각종 유기용매, 산, 알칼리에 녹지 않는 불용성 섬유질이지만 hypocholesterolemic effect가 있음이 보고되고 있다. Zacour등⁵⁹⁾은 5% chitin 식이를 흰쥐에게 공급하였을 때 대조군에 비해 혈청 콜레스테롤과 중성지방이 낮은 경향이었고 간의 총지질과 중성지방, 콜레스테롤이 낮았음을 보고하였다. 또한 장현주⁶⁰⁾의 in vitro실험에서 bile acid 흡착력은 chitosan>chitin>cellulose의 순서로 컸다고 보고하

였다. 일반적으로 chitosan이 chitin보다 생리적 효과가 더 좋은것으로 알려져 있는데 이는 chitin과 chitosan의 functional group이 다른 구조적 차이에 기인한다. 즉 chitin은 모두 acetylation 되어 있는 것이 아니고 대략 16% 정도의 free amino group이 있어서 16%의 chitosan을 가지고 있다고 말할수 있고 chitosan은 제조시 반응조건에 따라 탈아세틸화도가 달라지는데 대개 84~95%의 범위를 나타낸다⁶¹. 본 실험에서 사용한 chitosan의 탈아세틸화도는 90~93%로 높은편에 속한다. 이와 같이 chitosan은 탈아세틸화되어 있어 $-NH_2$ 기가 이온화되어 지방과 결합할 수 있다.

본 연구에서 Cd비공급군들의 혈청과 간의 콜레스테롤 수준을 보면 NN군과 NC군에 비해 동물성 섬유질 군들인 NT, NS, NW군이 유의적으로 낮았고 혈청 총지질과 중성지방 수준도 낮은 경향이었지만 군들간에 유의적 차이는 없었다. 따라서 동물성 섬유질은 주로 콜레스테롤 대사에 영향을 미치는 것으로 보이며 그 효과는 chitosan, NOCC가 chitin에 비해 큰 것으로 나타났다.

HDL-콜레스테롤의 증가는 coronary heart disease를 예방할 수 있으며 plasma cholesterol을 감소시키는 식이는 HDL-콜레스테롤을 증가시킨다고 한다⁶². 본 연구에서 혈청내 HDL-콜레스테롤은 NS, NW군이 다른군들에 비해 약간 높은 경향이였으나 큰 차이는 없었다. 이런 결과는 콜레스테롤을 공급하면 HDL-콜레스테롤수준이 감소하는데⁶² 본 연구에서는 콜레스테롤을 별도로 공급하지 않은 정상식이라는 점이 원인일 수도 있다. 그러나 Jennings등⁶³은 흰쥐에게 식이내 1% 수준으로 콜레스테롤을 공급하였을 때 chitosan군의 혈장 HDL-콜레스테롤 수준이 cellulose군에 비해 약간 높은 경향이였으나 유의적 차이가 없었다고 하였으며 Lehoux등⁶⁴도 대조군과 chitosan군의 plasma HDL-콜레스테롤 수준에 차이를 볼 수 없었다. 이러한 결과들로 부터 chitosan, 수용성 NOCC 공급으로는 HDL-콜레스테롤이 현저히 증가하지는 않는다고 생각된다.

Chitosan이 지방의 흡수를 저해하는 메카니즘에 대해서는 몇가지 설이 있다. 먼저 guar gum이나 pectin과 같이 높은 viscosity로 콜레스테롤과 지방산 흡수의 저해기전을 설명할 수 있겠다⁶⁵. 그러나 Ikeda등⁶⁶은 viscosity가 적은 chitosan hydrolysate가 콜레스테롤 흡수를 저해하였기 때문에⁶⁷ viscous fiber가 소장벽으로의 micellar lipid의 diffusion을 감소시킨다는 기전⁶⁸이 chitosan에도 적용되는지는 확실하지 않다고 하였다. 또한 cholestyramine과 같이 chito-

san의 anion exchange 성질이 hypocholesterolemic activity의 요인이 될 수 있다⁶⁹. Chitosan은 pH 6.0 이하에서 담즙산, 지방산과 이온결합을 하기 때문에 위나 십이지장에서 anion exchanger로서 작용할 수 있다^{52,69}. 따라서 chitosan은 콜레스테롤과 지방산의 micellar solubility를 방해하여 흡수를 저해한다고 할 수도 있겠다⁶⁶. Sugano등⁶⁷은 chitosan이 intestinal lumen에서 bile acid나 콜레스테롤과 상호작용하여 변으로 steroid를 배설시키므로써 흡수과정을 저해한다고 제안하였다. 또한 Furda⁵²는 lumen에서 chitosan의 작용에 관한 두가지 기전 - "polar entrapment"와 "disintegration" - 을 제안하였다. 즉 pH 6.0~6.5에서 chitosan의 precipitation과 aggregation이 whole micell의 entrapment와 관련되고 이온결합이 disintegration에 관련된다고 하였다.

본 연구에서 변으로 배설된 총지질, 콜레스테롤, 중성지방양은 NS군이 다른군들에 비해 유의적으로 많았으며 NW군은 그다음으로 많았지만 나머지군과는 큰 차이가 없었다. 또 지방흡수율도 NS군이 다른군에 비해 유의적으로 낮았고 NT, NW군도 대조군 NN군보다 낮았다. N,O-carboxymethylchitosan은 이론적으로는 N(C₂)와 2개의 OH(C₃, C₆)에 치환되어야 하지만 steric hindrance 때문에 주로 C₂의 NH₂기와 C₆의 OH 위치에 치환될것이라고 하였다. 또한 NOCC의 water solubility 정도는 분자량과 carboxymethyl기의 치환도에 따라 달라지고 water solubility는 점도에 영향을 준다고 한다²⁵. 본 연구에서 NW군이 NS군보다 변을 통한 총지질과 콜레스테롤, 중성지방의 배설량이 적었고 지방흡수율이 높게 나타난 것은 NOCC의 점도가 chitosan보다 훨씬 낮은것과 carboxymethyl기와 amino기의 기능상의 차이, NOCC의 carboxymethyl기의 치환위치와 치환도에 따른 물리화학적 성질로 인한 영향의 가능성을 생각해 볼 수 있다.

설은영의 연구³⁰에서도 chitin과 chitosan이 hypocholesterolemic effect가 있고 특히 chitosan의 효과가 크게 나타난 것은 본 연구결과와 일치하였다. 그러나 지방흡수율은 설은영의 연구에서는 chitin과 chitosan군간에 거의 차이가 없었지만 본 연구에서는 chitosan이 유의적으로 낮았다(93.9% vs 89%). 이런 차이의 원인은 설은영의 연구에 사용된 chitosan의 점도는 520cps, 탈아세틸화도는 85~87%였는데 본 연구의 chitosan의 점도는 설은영의 연구에서 사용한 조건 (Brookfield Viscometer, spindle #460 rpm)으로 측정하였을 때 750 cps로 본 연구에서 사용한 chitosan의 점도와 탈아세틸화도가 높은 것을 생각해 볼 수 있겠다.

Cd공급군들은 비공급군들에 비해 혈청과 간의 총지질과 콜레스테롤, 중성지방 수준이 낮은 경향을 나타냈으며 변으로의 콜레스테롤 배설이 CC, CT군에 비해 CS, CW군에서 높게 나타났다. 그러나 섬유질 첨가군들(CC, CT, CS, CW)이 대조군 CN에 비해 혈청의 총지질, 콜레스테롤과 간의 콜레스테롤 수준이 약간 낮았을 뿐 섬유질 종류에 의한 차이는 거의 나지 않았다. 이는 Cd공급으로 식이섭취량의 감소나 영양소의 흡수 및 대사의 변화로 군들간에 총지질과 콜레스테롤대사의 차이가 없었음수도 있고 설은영의 연구³⁰⁾에서의 견해와 마찬가지로 chitosan의 -NH₂ 기가 Cd 흡착에 우선적으로 작용하여 지방과의 결합에 효과적으로 사용될수 없었던 것으로도 생각해 볼 수 있겠다.

이러한 결과로 동물성 섬유질인 chitin, chitosan, NOCC는 hypolipidemic, hypocholesterolemic effect가 있었고 특히 hypocholesterolemic effect가 더 크다는 것을 알수 있었다. Chitin, chitosan, NOCC의 functional group의 작용으로 인해 장내에서 지방의 흡수가 감소하여 변을 통한 지방의 배설이 증가된 것으로 생각되나 그 정확한 메카니즘에 관해서는 본 연구에서는 알 수 없었고, 효과는 chitosan과 NOCC가 chitin에 비하여 크게 나타났다. 그러나 Cd공급시에는 chitosan과 NOCC의 뚜렷한 효과를 볼 수 없었다.

요 약

흰쥐에게 식이를 통해 cellulose, chitin, chitosan, 수용성 chitosan유도체인 NOCC를 Cd와 함께 공급하였을 때 Cd중독 및 지방대사에 미치는 영향은 다음과 같았다.

1. 식이 섬유질 종류에 따른 Cd대사

카드뮴 공급시 Cd비공급군들에 비해 식이섭취량과 체중증가량, 식이효율이 감소하였고 간과 신장, 대퇴골의 무게가 감소하였으며 신장 index는 증가하였다. 그리고 혈액의 Cd농도가 증가하였고 간과 신장, 대퇴골에 Cd가 축적되었으며 혈청과 간의 총지질과 콜레스테롤, 중성지방 수준이 감소하였다.

카드뮴과 함께 chitosan을 공급한 군은 Cd만 공급한 군에 비해 소장과 간, 신장의 Cd축적이 감소하였고 변으로의 Cd배설이 증가하였다. 카드뮴과 함께 NOCC 공급시 Cd만 공급한 군에 비해 체중증가량과 식이효율, 간과 신장의 무게가 증가하였고 간과 신장의 Cd축적이 감소하였으며 변으로의 Cd배설량이 증가하였다. Chitosan군의 소장 Cd농도가 NOCC군에 비해 낮았던 것을 제외하고는 chitosan군과 NOCC군의 Cd대사

에는 거의 차이가 없었다. Chitosan과 NOCC보다는 Cd중독 완화효과가 적었지만 cellulose공급군에서도 Cd만 공급한 군에 비해 간의 Cd축적이 감소하였고 변으로의 Cd배설량이 증가하였으나 chitin은 Cd중독 완화효과가 없어 Cd만 공급한 군과 별 차이가 없었다.

2. 식이 섬유질 종류에 따른 지방대사

카드뮴을 공급하지 않고 chitosan 또는 NOCC의 공급시 섬유질을 공급하지 않은군에 비해 혈청내 총지질, 콜레스테롤, 중성지방 수준과 간내 총지질, 콜레스테롤 수준이 감소하였고 변을 통한 총지질, 콜레스테롤, 중성지방의 배설이 증가하였다. Chitin공급군도 섬유질을 공급하지 않은군에 비해 혈청과 간의 콜레스테롤 수준이 감소하였고, cellulose공급군은 간내 콜레스테롤 수준만 감소하였다. 지방흡수율은 Cd공급유무에 관계없이 chitosan군 < chitin, NOCC군 < cellulose군 < 섬유질 비공급군 순서로 낮았다.

카드뮴과 함께 식이섬유질을 공급하였을 때 식이섬유질을 공급하지 않은군에 비해 변으로의 총지질, 콜레스테롤, 중성지방 배설은 증가하였지만 식이섬유질 종류에 따른 지방대사의 차이는 거의 볼 수 없었다.

이상의 결과를 종합해 보면 chitosan과 NOCC는 변으로의 Cd배설량을 증가시키고 간과 신장의 Cd수준을 감소시켜 Cd중독완화에 효과적이었으며, cellulose도 chitosan과 NOCC에 비해서는 효과가 훨씬 적었지만 변으로의 Cd배설량을 증가시켜 간의 Cd축적을 감소시켰다. 그러나 chitin은 Cd중독 완화에 거의 영향을 미치지 못하였다. 또한 chitosan과 NOCC는 지방의 흡수를 감소시켜 혈청과 간의 총지질, 콜레스테롤, 중성지방 수준을 낮추었고 특히 hypocholesterolemic effect가 크게 나타났다. Chitin도 chitosan과 NOCC보다는 효과가 적었지만 지방흡수율이 cellulose보다 낮았고 혈청과 간의 콜레스테롤 수준을 감소시켜 지방대사에 영향을 주었다.

Literature cited

- 1) Squibb KS, Fowler BA. Intracellular metabolism and effects of circulating cadmium-metallothionein in the kidney. *Environ Health Perspect* 54 : 31-35, 1984
- 2) Gontzea I, Popescu F. The effect of body protein supply on resistance to cadmium. *Br J Ind Med* 35 : 154-160, 1978
- 3) Ryan JA, Pahren HR, Lucas JB. Controlling cadmium in the human food chain : A review and rationale based on health effects. *Environ Res* 28 : 251-302, 1982
- 4) Anderson O, Nielson JB, Nordberg GF. Factors affecting

- the international uptake of cadmium from the diet. In : Cadmium in the Human Environment IARC Scientific publications No. 118, 1992
- 5) 송미란 · 이서래. 서울시내 대중식사로부터 중금속의 총 섭취량 평가. *한국식품과학회지* 18 : 458-467, 1986
 - 6) 김정현 · 조남준 · 박성배. 대중음식중 중금속 함량. *한국 영양식량학회지* 18 : 316-320, 1989
 - 7) 조윤승 · 이방희 · 최광수 · 조태웅. 중금속의 생체독성 저감연구. 국립환경연구원보 12 : 163-179, 1990
 - 8) Foulkes EC. Absorption of Cadmium. In : Cadmium, pp 75-97, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1986
 - 9) 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 : 361-373, 1978
 - 10) Webb M. Binding of cadmium ions by rat liver and kidney. *Biochem Pharmacol* 21 : 2751-2765, 1972
 - 11) Friberg L. Health hazards in the manufacture of alkaline accumulators with special reference to chronic cadmium poisoning. *Acta Med Scand* 138 : 1-124, 1950
 - 12) Godding EW. Dietary fiber redefined(letter). *Lancet* 1 : 1129, 1976
 - 13) Southgate DAT. The relationship between composition and properties of dietary fiber and physiological effects. In : Dietary Fiber-Basic and Clinical Aspects, pp35, Plenum, NY, 1986
 - 14) Chen WJL, Anderson JW. Hypocholesterolemic effects of soluble fibers. In : Dietary Fiber-Basic and Clinical Aspects, pp275-286, Plenum, NY, 1986
 - 15) Hillman LC, Peters SG, Fisher CA. The effects of fiber components pectin, cellulose and lignin on serum cholesterol levels. *Am J Clin Nutr* 42 : 207-213, 1985
 - 16) Sandford PA. Chitosan : Commercial uses and potential applications. Pceedings from the 4th International Conference on Chitin and Chitosan, Norway, 1988
 - 17) Sugano M, Fujikawa T, Hirasuji Y, Nakashima K, Fukada N, Hasegawa Y. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am J Clin Nutr* 33 : 787-793, 1987
 - 18) Nagyvary JJ, Falk JD, Hill ML, Schmidt ML, Willkins AK, Bradbury EL. The hypolipidemic activity of chitosan and other polysaccharide in rats. *Nutr Rept Int* 20 : 677-684, 1979
 - 19) Vahouny GV. Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. *Am J Clin Nutr* 38 : 278-284, 1983
 - 20) Skjjaek-Braek G, Anthosen T, Sandford PA. In : Chitin and Chitosan, Elsevier, NY, 1989
 - 21) Muzzarelli RAA. In : Chitin, Pergamon Press, NY, 1977
 - 22) Knorr D. Use of chitinous polymers in food. *Food Technol* 23 : 85-97, 1984
 - 23) Muzzarelli RAA. Chitosan for the collection from sea water of naturally occurring Zn, Cd, Pb and Cu. *Talanta* 18 : 853-859, 1971
 - 24) Muzzarelli RAA, Tubertini O. Chitin and chitosan as chromatographic supports and adsorbents for collection of metal ions from organic and aqueous solutions and sea water. *Talanta* 16 : 1571-1577, 1969
 - 25) Hayes ER. N,O-carboxymethyl chitosan and preparative method therefor. US Patent No 4, 619, 995, 1986
 - 26) Knorr D. Functional properties of chitin and chitosan. *J Food Sci* 47 : 593-599, 1982
 - 27) Muzzarelli RAA. In : Natural chelating polymers, Pergamon, Oxford, 1973, In : Chitin, Pergamon, Oxford, 1977
 - 28) Kiyozumi M, Mishima M, Moda S. Studies on poisonous metals. IX Effects of dietary fibers on absorption of Cd in rats. *Chem Pharm Bull* 30 : 4494-4499, 1982
 - 29) Moberg A, Hallmans G. The effect of wheat bran on the absorption and accumulation of cadmium in rats. *Br J Nutr* 58 : 383-391, 1987
 - 30) 설은영. Chitin, chitosan이 흰쥐의 Cadmium중독과 지방대사에 미치는 영향. 이화여자대학교 석사학위논문, 1993
 - 31) Hirano S, Yamaguchi R. N-acetylchitosan gel : A polyhydrate of chitin. *Biopolymers* 15 : 1685-1691, 1976
 - 32) Zinterhofer LJM, Jatlow I, Fappino A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78 : 664-670, 1971
 - 33) Yeager DW, Cholak J, Hendersen EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometry. *Environ Sci Technol* 5 : 1020-1028, 1971
 - 34) Frings CS, Dunn RT. Improved method for determination of triglycerides in serum. *Am J Clin Pathol* 53 : 89-94, 1970
 - 35) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911-917, 1959
 - 36) Zak B. Rapid estimation of free and total cholesterol. *Am J Clin Pathol* 24 : 1307-1315, 1954
 - 37) Neri BP, Frings CS. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulpho-phospho-vanillin reaction. *Clin Chem* 19 : 1201-1208, 1973
 - 38) Steel RGD, Torrie JH. In : Principles and Procedures of Statistics, pp481, Mc Graw-Hill Book Company, NY, 1960
 - 39) Juhlshamn K, Utne F, Braccan OR. Interactions of cadmium with copper, zinc and iron in different organs and tissues of the rat. *Acta Pharmacol Toxicol* 41 : 515-524, 1977
 - 40) Toraason M, Foulkes EC. Interaction between calcium and cadmium in the 1,25 dihydroxy vitamine D₃ stimulated rat duodenum. *Toxicol Appl Pharmacol* 75 : 98-104,

1984

- 41) Cousins RJ, Barber AK, Trout JR. Cadmium toxicity in growing swine. *J Nutr* 103 : 964-972, 1973
- 42) Feldman SL, Cousins RJ. Influence of Cd on the metabolism of 25-hydroxy cholecalciferol in chicks. *Nutr Rep Int* 8 : 251-258, 1973
- 43) Washko PW, Cousins RJ. Role of dietary calcium and calcium binding protein in cadmium toxicity in rats. *J Nutr* 107 : 920-928, 1977
- 44) Mahaffey KR. Nutritional factors in lead poisoning. *Nutr Rev* 39 : 353-360, 1981
- 45) Nordberg M. Studies on metallothionein and cadmium. *Environ Res* 15 : 381-404, 1978
- 46) Elinder CG, Lundgren M, Nordberg B, Piscator M. Metallothionein in rabbit kidneys preserved for transplantation. *Environ Health Perspect* 54 : 275-280, 1984
- 47) 권오란. 식이단백질과 calcium수준이 흰쥐의 Cadmium중독 및 해독에 미치는 영향. 이화여자대학교 박사학위논문, 1992
- 48) Webb M. Role of metallothionein in cadmium metabolism. In : Cadmium, pp281-325, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1986
- 49) Suzuki Y. Cadmium, copper and zinc distribution in blood of rats after long term subcutaneous administration. *J Toxicol Environ Health* 7 : 251-262, 1981
- 50) Hall LD, Yalpani M. Enhancement of the metal chelating properties of chitosan. *Carbohydrate Res* S3 : C5, 1980
- 51) Wightman JP, Maruca R, Sudder BJ. Interaction of heavy metals chitin and chitosan. *J Appl Poly Sci* 27 : 4827-4833, 1982
- 52) Furda I. Aminopolysaccharides-their potential as dietary fiber. In : Unconventional Sources of Dietary Fiber, pp 105-122, American Chemical Society, Washington DC, 1983
- 53) Muzzarelli RAA. N-(carboxymethylidene)chitosan and N-(carboxymethyl)-chitosan : Novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate. *Carbohydrate Res* 107 : 199-214, 1982
- 54) Kim MK, Lee HY. Effect of dietary fiber on lead absorption and metabolic changes in growing rats. *Korean J Nutr* 22 : 485-496, 1989
- 55) 김지희. 식이단백질 및 식이섬유질이 납중독 흰쥐의 단백질과 납 대사에 미치는 영향. 이화여자대학교 석사학위논문, 1990
- 56) Nomiya K, Liu SJ, Nomiya H. Critical levels of blood and urinary β_2 -microglobulin and retinol-binding protein for monitoring cadmium health effects. In : Cadmium in the Human Environment, pp325-340, IARC Scientific Publications, 1992
- 57) Topping DL. Soluble fiber polysaccharides : Effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. *Nutr Rev* 49 : 195-203, 1991
- 58) Anderson JW, Chen WJL. Plant fiber : Carbohydrate and lipid metabolism. *Am J Clin Nutr* 32 : 346-355, 1979
- 59) Zacour AC, Silva ME, Cecon PR. Effect of dietary chitin on cholesterol absorption and metabolism in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 38 : 609-613, 1992
- 60) 장현주. 게껍질에서 추출된 chitin 및 chitosan의 소화관내 지방질 흡착에 관한 in vitro 연구. 이화여자대학교 석사학위논문, 1993
- 61) Hirano S. Production and application of chitin and chitosan. Proceedeings from the 4th International Conference on Chitin and Chitosan. Norway, 1988
- 62) Chen WJL, Anderson JW. Effects of plant fiber in decreasing plasma total cholesterol and increasing high-density lipoprotein cholesterol. *Proc Soc Exp Biol Med* 162 : 310-313, 1979
- 63) Jennings CD, Boleyn K, Bridges SR, Wood PJ, Anderson JW. A comparison of the lipid lowering and intestinal morphological effects of cholestyramine, chitosan and oat gum in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 189 : 13-20, 1988
- 64) Lehoux JG, Groundin F. Some effects of chitosan on liver function in the rat. *Endocrinology* 132 : 1078-1084, 1993
- 65) Ikeda L, Torami Y, Sugano M. Interrelated effects of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption in rats. *J Nutr* 119 : 1383-1387, 1990
- 66) Ikeda I, Sugano M, Yoshida K. Effects of chitosan hydrolysates on lipid absorption and on serum and liver lipid concentration in rats. *J Agric Food Chem* 41 : 431-435, 1993
- 67) Sugano M, Watanabe S, Kishi A, Izumi M, Ontakara A. Hypocholesterolemic action of chitosans with different viscosity in rats. *Lipids* 23 : 187-191, 1988
- 68) Vahouny GV. Dietary fiber, lipid metabolism and atherosclerosis. *Fed Proc* 41 : 2801-2896, 1982
- 69) Nauss JL, Thompson JL, Nagyvary J. The binding of micellar lipids to chitosan. *Lipids* 18 : 714-719, 1983