

## 급원과 분자량이 다른 Chitosan과 N,O-Carboxymethyl Chitosan이 Cadmium중독에 미치는 영향\*

배 계 현 · 김 미 경

이화여자대학교 식품영양학과

### Effect of Chitosan and N,O-Carboxymethyl Chitosan of Different Sources and Molecular Weights on Cadmium Toxicity

Bae, Kye Hyun · Kim, Mi Kyung

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

#### ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of chitosan and NOCC from different sources and of different molecular weights on cadmium toxicity. Sprague-Dawley rats were blocked into 26 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. Various forms of chitosan and NOCC were given at the level of 0 or 4%(w/w) of diet. Cd toxicity was alleviated by various chitosan and NOCC supplements. However the alleviating effects were different with fiber source(crab and shrimp), type(chitosan and NOCC), and molecular weight(low, medium, and high). Molecular weight had no significant effect. Compared with shrimp-source-fiber-fed groups, crab-source-fiber-fed groups showed lower Cd concentrations in blood and kidney, lower kidney metallothionein concentration, and lower liver and kidney MT-Cd contents. Compared with NOCC-fed groups, chitosan-fed groups showed lower intestine and liver Cd concentrations, lower liver and kidney MT concentrations and MT-Cd content, and higher fecal Cd excretion. Among cadmium-exposed group, low molecular weight shrimp chitosan group showed low Cd concentrations of liver and kidney, high fecal Cd excretions, and the lowest intestine and liver MT concentrations and liver MT-Cd content. In summary, a crab source fiber was more effective than shrimp source fiber, chitosan was more effective than NOCC, and the most effective one in alleviating Cd toxicity was low molecular weight shrimp chitosan. (*Korean J Nutrition* 30(7) : 751~769, 1997)

KEY WORDS : chitosan · NOCC · Cd toxicity.

#### 서 론

Cadmium(Cd)은 지난 수십년간 환경오염을 일으키

채택일 : 1997년 6월 11일

\*본 연구는 1994~1996년도 (주)미원부설 한국음식문화 연구원 지원에 의하여 이루어졌음.

는 가장 유독한 미량 원소로 인식되어 왔다<sup>1)2)</sup>. Friberg<sup>3)</sup>가 1950년에 Cd의 만성중독을 직업병으로 보고한 이래 Cd중독에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 카드뮴은 공업적으로 전기도금, 배터리, 합금, 염료, 안정제 등의 생산에 이용되기 때문에<sup>4)5)</sup> 산업이 발달할수록 공장 근로자들은 Cd노출로 인한 만성 중독증세를 나타내게 된다. 카드뮴에 중독되면 성장지연, 빈혈, 고혈압, 고혈당

이 나타나고<sup>67)</sup> 조직의 형태를 변화시켜 심장, 신장, 간, 골격 등에 질환을 유발한다<sup>68)</sup>. Cd이 체내로 들어와서 조직에 축적된후에는 쉽게 배설되지 않을 뿐 아니라 생물학적 반감기가 길기 때문에 체내에 들어오지 않도록 예방하는 것이 더 중요하다. 요즘은 우리나라에서도 납, 수은, 카드뮴에 중독된 근로자의 숫자가 늘어나고 있지만 적절한 예방과 대책이 이루어지지 않고있는 실정이다.

산업화로 인하여 Cd가 배출되면 토양, 공기, 물이 오염되어 농작물과 식수가 오염되고<sup>9)</sup> 일반인들은 이 오염된 음식을 섭취함으로써 Cd에 노출된다<sup>10)</sup>. 경구로 체내에 들어온 Cd는 장에서 흡수가 일어나는데 이 과정에서 많은 식이인자가 영향을 미친다. 특히 단백질<sup>11)</sup>, Ca, Zn, Cu, Fe, Ni 등의 2가 금속<sup>12,13)</sup>, 식이 섬유<sup>14-16)</sup> 등이 Cd의 흡수에 영향을 준다고 한다. Rose와 Quarterman<sup>14)15)</sup>은 phytic acid와 alginic acid가 간과 신장내 Cd축적량을 증가시키지만 pectin, agar, glucuronic acid는 신장내 Cd 축적량에 큰 변화를 주지 않았다고 하였다. 또한 Kiyozumi등<sup>16)</sup>은 cellulose는 조직과 사체의 Cd 보유량에 영향을 미치지 않았지만 lignin과 carboxymethylcellulose는 체내 Cd 보유량을 반으로 감소시켰다고 보고하였다.

Chitin은 aminopolysaccharide로서 cellulose와 비슷한 고분자 물질이고 새우, 게와 같은 갑각류의 껍질, 곤충의 표피, 조개류와 오징어 등의 연체동물의 기관에 존재한다<sup>17)</sup>. Chitin은 소화되지 않고 중합성이 있으므로 Godding의 정의에 따라 동물성 섬유에 해당된다<sup>18)</sup>. Chitin의 구조(Fig. 1)를 보면 glucose의 2-amino 유도체인 D-glucosamine이 β-1,4결합을 하고 있고 2-amino기에 N-acetyl기를 가지고 있다<sup>17)</sup>. Chitin을 고온에서 강염기로 처리하면 70~95%의 acetyl기가 떨어져지고 free amino group을 가진 chitosan(Fig. 1)이 만들어진다<sup>19)20)</sup>. Chitosan은 free amino group이 존재하여 polycationic property, chelating, dispersion을 형성하는 성질이 있고<sup>19)</sup> 흡습제, 점증제, 금속이온의 선택적인 흡착제로 기능할 수 있다<sup>17)</sup>. Chitosan은 물에서는 녹지 않지만 산성에서 용해되어 free amino group(-NH<sub>2</sub>)이 protonation이 된 cationic amine group(-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)을 형성한다. 또한 chitosan은 pH 6.5이하에서 용해되어 점액성 용액으로 변하고 단백질, anionic polysaccharide, 핵산과 같은 polyanion과 결합하여 gel을 형성한다<sup>19)</sup>. Chitosan의 중요한 성질중의 하나는 전이금속과 결합할 수 있다는 것이다. Chitosan은 금속이온과 배위결합을 하여 complex(착물)를 형성하기 때문에 Fe, Cu, Mg와 같은 유용한 이온

을 흡착할 뿐 아니라 Cd, Hg, Pb, Ni, Cr과 같은 유독한 금속이온을 제거하는데 사용된다<sup>21)</sup>. Chitosan의 이러한 성질을 이용하여 방사성 원소를 함유한 물, 산업화에 의해 방출된 유독한 금속으로 오염된 하천등의 폐수를 처리하는데에 사용할 수 있는 가능성에 관한 연구가 계속되고 있다. Muzzarelli<sup>22)</sup>는 chitosan이 금속용액내(pH 6.0) 수은을 100%, 납을 95%나 collection하였다고 하였고 Lasco등<sup>23)</sup>은 chitosan이 Cu, Cd, Pb ion과 결합한다고 보고하였다. 또한 김 등<sup>24)</sup>은 chitosan의 금속흡착성질을 이용하여 환경의 Cd중독완화효과를 연구한 결과 chitosan은 상당한 Cd중독완화효과가 있음을 증명하였다.

한편 Muzzarelli등<sup>25)</sup>은 chitosan과 glyoxylic acid를 반응시켜 soluble gel forming imine을 만든 후 이를 다시 환원시켜 생성된 N-atom이 carboxymethyl기로 치환된 N-carboxymethyl chitosan이 chelating agent로 잘 알려진 EDTA(ethylene diamino te-

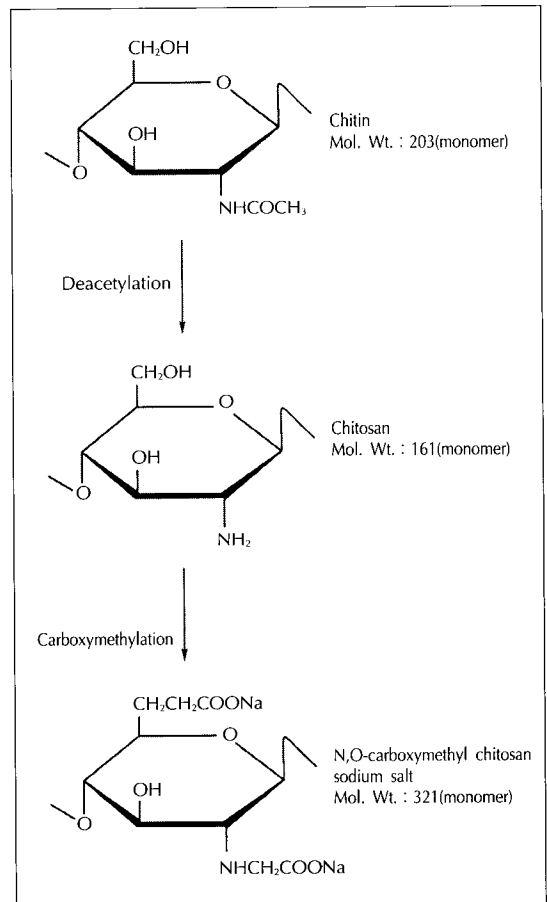


Fig. 1. Chemical structure of chitin, chitosan and N,O-carboxymethyl chitosan.

traacetic acid)와 비슷한 구조를 가지고 있어서 금속이온의 흡착능력이 있다고 하였다. 그 후 Hayes<sup>26)</sup>는 N-carboxymethyl chitosan의 금속흡착기능을 근거로, -OH(C<sub>6</sub>)기와 glucosamine ring의 amine기의 H가 carboxymethyl기로 각각 치환된 N,O-carboxymethyl chitosan(NOCC)을 제조하였다. Fig. 1에서와 같이 NOCC는 carboxymethyl기로 치환되지 않은 primary amine(-NH<sub>2</sub>)과 carboxymethyl기로 치환된 secondary amine(-NHCH<sub>2</sub>COOH)을 가지고 있어서 chitosan과 유사한 성질이 있지만 pH 2-6에서 gel을 형성하고 물에 녹으며 선택적으로 투과성이 있는 film이나 membrane을 형성할 수 있는 독특한 성질도 있다<sup>26)</sup>. Chitosan은 짙은 맛이 있으며, 약산에서만 용해되고 물에서는 침전되기 때문에 사용상의 제한점이 있지만 NOCC는 물에서 녹고 chitosan보다 짙은 맛이 약하여 chitosan보다 활용범위가 확대될 수 있고 요즘 사람들의 관심을 끌고 있는 기능성 음료에 사용할 수 있는 가능성이 있다. 배 등<sup>27)</sup>은 NOCC도 chitosan과 거의 비슷한 정도의 Cd중독완화효과가 있음을 보고 하였다. 전술한 바와 같이 chitosan과 NOCC는 동물성 섬유로서 Cd, Hg, Pb, Ni, Cr과 같은 유독한 금속이온과 결합할 수 있는데<sup>17)26)</sup> 이러한 식이 섬유 특유의 기능은 섬유의 구조와 물리화학적성질에 의해 많이 좌우된다<sup>28)</sup>. Chitosan의 물리적 성질과 기능성을 크게 좌우하는 요인은 점도(viscosity)와 탈아세틸화(deacetylation)이다<sup>17)</sup>. Chitosan의 분자량은 대개 1×10<sup>5</sup>-3×10<sup>5</sup> 정도이고 묽은 산 용매에서 다양한 점도를 나타내는데 주로 분자량에 따라 좌우된다<sup>29)</sup>. 분자량이 다른 chitosan과 NOCC의 제조시에는 분자량이 큰 섬유를 제조한후 다시 처리하여 분자량이 작은 섬유를 만들기 때문에 반응시의 조건에 따라 분자량이 다른 섬유가 나오게 된다. 그렇기 때문에 분자량의 크기에 따라 점도에 차이가 있고 분자량이 비슷하다 하더라도 섬유의 급원과 종류에 따라서 점도가 달라지게 된다. 그러므로 chitosan의 분자량과 탈아세틸화도에 따라 물리화학적 및 기능적 성질이 달라질 것으로 예상되고<sup>17)</sup> 또한 같은 chitosan이나 NOCC라 하더라도 급원에 따라 구조에 차이가 있어서 물리화학적, 기능적 성질의 차이가 있을것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 새우와 게에서 추출된 분자량이 저, 중, 고인 chitosan 6가지와 NOCC 6가지로 총 12가지 섬유(새우 chitosan 저분자, 중분자, 고분자; 새우 NOCC저, 중, 고분자; 게 chitosan 저, 중, 고분자; 게 NOCC 저, 중, 고분자)가 섬유의 급원(새우, 게), 섬유의 종류(chitosan, NOCC), 분자량(저, 중, 고)에 따라 Cd대사 및 중독에 미치는 영

향과 이러한 영향의 차이가 chitosan과 NOCC의 물리화학적 성질에 의한 것인지 알아보려고 하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. Chitosan과 NOCC의 제조 및 분석

#### 1) Chitosan과 NOCC의 제조

Chitosan과 NOCC는 본교 전통원 교수 실험실에서 제조하여 공급된 것을 사용하였다. 우리나라산 중하와 홍계로부터 chitin을 분리한후 강알칼리로 탈아세틸화 과정을 거쳐 chitosan을 얻었으며 이 chitosan을 다시 Hayes의 방법<sup>26)</sup>으로 N,O-carboxymethylchitosan을 제조하였다. 점도를 근거로 Mark-Howink식을 사용하여 Lee의 방법<sup>30)</sup>으로 산출한 chitosan의 평균분자량은 새우 chitosan 저분자는 10,000, 중분자는 79,000, 고분자는 172,000이었고 게 chitosan 저분자는 10,000, 중분자는 90,000, 고분자는 230,000이었다.

#### 2) Chitosan과 NOCC의 점도

Chitosan의 점도는 1.0% 초산용액으로 0.5% chitosan solution을 만들어 24시간 방치후, NOCC는 증류수로 0.5% NOCC solution을 만들어 24시간 방치 후 30℃에서 NV sensor를 사용하여 Haake viscometer(Rotovisco RV20 Serial No.930059, HAAKE Co. : Germany)로 측정하였다<sup>31)</sup>.

#### 3) Chitosan의 탈아세틸화도

탈아세틸화도가 80%이상인 chitosan은 IR spectro-photometer로 분석하면 chitosan의 N-H stretching에 해당하는  $\nu_{3450\text{cm}^{-1}}$  부분이 분명해지고 chitin의 amide I에 해당하는  $\nu_{c=0,1650\text{cm}^{-1}}$  peak가 급격히 감소된다. 또한 상대적으로 chitosan의 -NH<sub>2</sub>기 말단의 deformation( $1590\text{cm}^{-1}$ ) peak가 sharp해진다. 따라서  $4000\text{cm}^{-1}\sim 500\text{cm}^{-1}$ 의 peak를 얻고  $1800\text{cm}^{-1}\sim 1400\text{cm}^{-1}$ 의 peak를 확대해서 얻은 다음 아래의 공식으로 탈아세틸화도를 계산하였다<sup>32)</sup>.

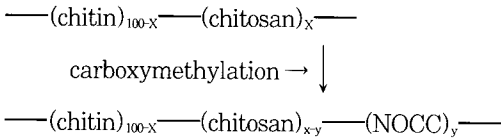
% Deacetylation =

$$\left( 1 - \frac{A_{1655\text{cm}^{-1}}}{A_{3450\text{cm}^{-1}}} \times \frac{1}{1.33} \right) \times 100$$

#### 4) NOCC의 치환도

Chitin, chitosan, NOCC의 구조(Fig. 1)에서 보는 바와 같이 chitin의 acetylation 정도가 100%라고 하면 탈아세틸화(X)가 되었을때 chitin은 100-X가 된다. 또한 carboxymethylation(Y)은 chitosan에서 일어

나므로 chitosan은 X-Y가 되고 분자량이 증가하게 된다. Chitosan monomer의 분자량이 161이고 carboxymethylation이 일어나면 NOCC monomer의 분자량이 321로 증가되므로 chitosan과 NOCC의 무게를 서로 비교함으로써 치환도를 계산하였다.



$$203(100 - X) + 161(X - Y) + 321 Y$$

$$= [203(100 - X) + 161X] \times \text{무게증가율}$$

단 X : 탈아세틸화도

Y : 치환도

### 2. 실험동물의 사육 및 식이

Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 156마리를 실험 시작한 1주일간 고형배합사료(삼양사료)로 적응시킨뒤 체중이 163.6±12.4 g된 쥐들을 체중에 따라 난괴법에 의하여 6마리씩 26군으로 나누어 4주간 Table 1과 같은 내용으로 사육하였다.

실험동물은 한마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였고 무기질의 오염을 방지하기 위하여 0.4% EDTA(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid)용액으로 쥐장, 식이그릇, 물병 등을 세척한후 탈이온 증류수로 행구어 사용하였다.

본 실험에서 사용한 식이의 구성성분은 Table 2와 같다. 실험식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수전분(풍진)을 사용하였고 지방급원으로는 옥수수유(동방유량)을 사용하였으며 단백질 급원으로는 casein(Port Curtis Dairy, Co)을 사용하였고 cholesterol과 비타민, 무기질류를 첨가하였다. 또한 카드뮴은 cadmium chloride(CdCl<sub>2</sub>)로 식이무게의 0.04%(400ppm, Cd으로는 245ppm) 수준으로 식이에 섞어 공급하였고 총 12가지의 chitosan과 N,O-carboxymethylchitosan은 식이무게의 4% 수준으로 식이내에 섞어 공급하였다. 물은 탈이온 증류수를 제한없이 먹게 하였다.

식이 섭취량은 식이를 무제한 자유급식시킨후 일주일에 3번 일정한 시간에 측정하였고 체중은 매주 1회 같은 시각에 측정하였는데 갑작스런 체중의 변화를 막기 위해서 체중 측정 2시간전에 식이그릇을 빼 주었다.

### 3. 시료의 수집 및 분석

#### 1) 시료의 채취

Cadmium군의 Cd보유율 측정을 위해 실험 종료전 5일동안 1%의 CdCl<sub>2</sub>용액 0.4ml를 하루에 한번 일정

한 시간에 tube feeding하였으며, tube feeding으로 인한 stress를 고려하여 Cd비공급군에도 탈이온 증류수 0.4ml를 tube feeding하였다. Tube feeding solution에 변 marker로 Brilliant Blue G를 0.1% 농도로 첨가하여 사용하였고 이 기간 동안 뇨와 변을 채취하였다. Cd보유율은 1일 중금속 투여량과 1일 뇨와 변의 중금속 배설량을 이용하여 계산하였다. 채취한 뇨는 7,000rpm에서 10분간 원심분리시켜 상층액만을 냉동 보관하였다. 변은 젖은 상태로 냉동 보관하였다가 동결 건조기(IL-SHIN Engineering)로 10℃에서 24시간 건조시켜 Cd 분석전까지 냉동 보관하였다.

실험기간이 끝난 후 12시간 동안 굶긴 동물을 ethyl ether로 마취시켜서 단두에 의해 희생시키고 혈액을 채취하였다. 혈액을 heparin 처리를 한 시험관에 받아 냉동 보관하였다. 혈액 채취 즉시 실험동물을 해부하여 간과 신장, 소장을 떼어 내어 무게를 측정후 Cd과 metallothionein(MT)을 분석할 때까지 -70℃의 deep freezer에 보관하였다.

#### 2) 생화학적 분석

혈액과 뇨의 Cd농도는 Zinterhofer 법<sup>39)</sup>으로, 간과 신장, 소장, 변의 Cd농도는 Yeager법<sup>40)</sup>에 의하여 AAS(atomic absorption spectrophotometer, Perkin-Elmer Co., Model 2380)를 이용하여 파장 228.8nm에서 측정하였다.

간과 신장, 소장의 MT농도는 Cadmium/hemoglobin affinity assay방법<sup>35-37)</sup>을 이용하여 측정하였다.

간과 신장의 MT fraction내 Cd함량은 Lehman & Klaassen의 방법<sup>38)</sup>에 따라 HPLC(Perkin Elmer)를 사용하여 분석하였다. Column은 anion exchange column(TSK DEAE-5PW, 7.5cm×7.5mm, Pharmacia LKB Biotechnology)을 사용하였고 Tris-HCl buffer(pH 7.4) 10mM(A)과 200mM(B)을 mobile phase로 하여 12분간 0~40% linear gradient로 elute 하였다. Buffer의 flow rate는 1ml/min으로 하고 cytosol 100μl을 주입한후 파장 214nm에서 MT fraction을 검출하였다. 검출한 MT fraction내의 Cd농도는 파장 228.8nm에서 AAS로 측정하였다. 각 군의 pooled sample을 3회 반복하여 측정하였다.

혈청의 urea nitrogen 함량은 urease 효소법에 의해 urea를 urease로 분해시킨후 salicylate와 HClO<sub>3</sub>를 가하여 570nm에서 비색정량하여 측정하였다. 혈청과 뇨의 creatinine 농도 측정은 Jaffe 반응의 변형법<sup>39)</sup>을 이용한 kit(영동제약)을 사용하였으며 이로부터 creatinine clearance(glomerular filtration rate, GFR,

ml/min)를 계산하였다.

4. 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 실험군당 평균치와 표준

오차를 계산하여  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test로 각 실험군의 평균치간의 유의성을 검정하였다. 식이인자에 따른 차이를 알아보기 위하여

Table 1. Classification of experimental groups

Experimental group <sup>1)</sup>	Cd	Fiber							
		Source Shrimp Crab	Type Chitosan	NOCC	Mol. Wt. Low Medium High				
Cd(-) F(-)									
Cd(-) SCL		+		+		+			
Cd(-) SCM		+		+			+		
Cd(-) SCH		+		+					+
Cd(-) SNL		+			+	+			
Cd(-) SNM		+			+		+		
Cd(-) SNH		+			+				+
Cd(-) CCL			+	+		+			
Cd(-) CCM			+	+			+		
Cd(-) CCH			+	+					+
Cd(-) CNL			+		+	+			
Cd(-) CNM			+		+		+		
Cd(-) CNH			+		+				+
Cd(+) F(-)	+								
Cd(+) SCL	+	+		+		+			
Cd(+) SCM	+	+		+			+		
Cd(+) SCH	+	+		+					+
Cd(+) SNL	+	+			+	+			
Cd(+) SNM	+	+			+		+		
Cd(+) SNH	+	+			+				+
Cd(+) CCL	+		+	+		+			
Cd(+) CCM	+		+	+			+		
Cd(+) CCH	+		+	+					+
Cd(+) CNL	+		+		+	+			
Cd(+) CNM	+		+		+		+		
Cd(+) CNH	+		+		+				+

1) Cd(-)F(-) : No Cd+No fiber

Cd(-)SCL : No Cd+Shrimp

Cd(-)SCM : No Cd+Shrimp

Cd(-)SCH : No Cd+Shrimp

Cd(-)SNL : No Cd+Shrimp

Cd(-)SNM : No Cd+Shrimp

Cd(-)SNH : No Cd+Shrimp

Cd(-)CCL : No Cd+Crab

Cd(-)CCM : No Cd+Crab

Cd(-)CCH : No Cd+Crab

Cd(-)CNL : No Cd+Crab

Cd(-)CNM : No Cd+Crab

Cd(-)CNH : No Cd+Crab

Cd(+)F(-) : Cd added+No fiber

Cd(+)SCL : Cd added+Shrimp

Cd(+)SCM : Cd added+Shrimp

Cd(+)SCH : Cd added+Shrimp

Cd(+)SNL : Cd added+Shrimp

Cd(+)SNM : Cd added+Shrimp

Cd(+)SNH : Cd added+Shrimp

Cd(+)CCL : Cd added+Crab

Cd(+)CCM : Cd added+Crab

Cd(+)CCH : Cd added+Crab

Cd(+)CNL : Cd added+Crab

Cd(+)CNM : Cd added+Crab

Cd(+)CNH : Cd added+Crab

Chitosan, Low molecular weight

Chitosan, Medium molecular weight

Chitosan, High molecular weight

NOCC, Low molecular weight

NOCC, Medium molecular weight

NOCC, High molecular weight

Chitosan, Low molecular weight

Chitosan, Medium molecular weight

Chitosan, High molecular weight

NOCC, Low molecular weight

NOCC, Medium molecular weight

NOCC, High molecular weight

Chitosan, Low molecular weight

Chitosan, Medium molecular weight

Chitosan, High molecular weight

NOCC, Low molecular weight

NOCC, Medium molecular weight

NOCC, High molecular weight

Chitosan, Low molecular weight

Chitosan, Medium molecular weight

Chitosan, High molecular weight

NOCC, Low molecular weight

NOCC, Medium molecular weight

NOCC, High molecular weight

2) CdCl<sub>2</sub> level in diet is 0.04%(w/w)

3) Existing fiber source(or type, molecular weight) in diet



**Table 3.** Viscosity, deacetylation and carboxymethylation of chitosan and NOCC

Fiber		Viscosity (cps)	Deacetylation (%)	Carboxymethylation (%)
Shrimp Chitosan,	Low Mol. Wt.	2.32	87	-
Shrimp Chitosan,	Med. Mol. Wt.	12.25	88	-
Shrimp Chitosan,	High Mol. Wt.	103.9	90	-
Shrimp NOCC,	Low Mol. Wt.	0.67	-	77.64
Shrimp NOCC,	Med. Mol. Wt.	3.59	-	57.70
Shrimp NOCC,	High Mol. Wt.	17.23	-	45.12
Crab Chitosan,	Low Mol. Wt.	2.35	88	-
Crab Chitosan,	Med. Mol. Wt.	17.77	90	-
Crab Chitosan,	High Mol. Wt.	212.5	93	-
Crab NOCC,	Low Mol. Wt.	1.13	-	88.89
Crab NOCC,	Med. Mol. Wt.	6.40	-	59.16
Crab NOCC,	High Mol. Wt.	65.46	-	59.74

Cd(-)F(-)군과 Cd(+ )F(-)군을 제외한 모든 실험군을 CdCl<sub>2</sub> 수준(0, 0.04%), 섬유의 급원(새우, 게), 섬유의 종류(chitosan, NOCC), 섬유의 분자량(저, 중, 고) 별로 통합하여  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test로 평균치간의 유의성을 검정하였다<sup>40)</sup>. 또한 각 식이인자에 의한 영향은  $\alpha=0.05$  수준에서 사원배치 분산분석(four-way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다. 그러나 난이도를 높이기 위해 두 요인간에 상호작용만을 계산하였다. 또한 Cd보유율과 간과 신장 MT내 Cd농도는 삼원배치 분산분석(three-way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. Chitosan과 NOCC의 점도, 탈아세틸화도, 치환도

각각 6종류의 chitosan과 NOCC의 점도, chitosan 6종류의 탈아세틸화도, NOCC 6종류의 치환도는 Table 3과 같았다. Viscometer로 측정된 섬유의 점도는 분자량이 클수록 높았는데 chitosan이 NOCC보다 더 높았고 chitosan의 경우 중분자와 고분자의 점도차이가 상당히 크게 나타났다. 또한 전체적으로 게 chitosan이 새우 chitosan보다 더 높은 경향이었는데 특히 게 chitosan 고분자의 점도는 새우 chitosan 고분자보다 2배정도 높았다.

Chitosan의 탈아세틸화도는 계급원 chitosan들이 88~93%로 87~90%인 새우급원 chitosan들보다 약간 높았지만 거의 비슷한 수준이었다.

NOCC의 치환도는 계급원 NOCC가 새우급원 NOCC보다 높은 경향이었고 분자량이 작을수록 치환도가 높았는데 새우 NOCC 저분자와 게 NOCC 저분자가

77.6%와 88.9%로서 45~59% 범위인 중분자와 고분자보다 훨씬 높았다. 그러나 중분자와 고분자 NOCC의 치환도의 차이는 크지 않았다.

### 2. 식이섭취량과 체중증가량

식이섭취량과 체중증가량은 모두 유사한 경향을 보여서 Table 4에서 보듯이 Cd공급의 영향만 나타났다. 식이섭취량은 Cd공급군이 비공급군에 비해 식이섭취량과 체중증가량이 모두 유의적으로 낮게 나타났고 특히 섬유를 공급하지 않은 Cd(+ )F(-)군은 섬유를 첨가한 다른 군들보다 유의적으로 낮았다. Cadmium을 동물에게 경구투여하거나 피하주사한 많은 연구<sup>41-43)</sup>에서 식이섭취량과 체중증가량의 감소는 거의 공통적인 증상으로 나타난다. 본 연구에서도 식이섭취량과 체중증가량이 Cd공급군이 비공급군에 비해 낮았던 것으로 볼때 Cd공급이 흰쥐의 성장에 영향을 주었고 특히 섬유를 첨가하지 않은 Cd(+ )F(-)군은 성장발달이 가장 저조한 것으로 나타났다. 그러나 Cd과 섬유를 같이 공급받은 군들은 Cd(+ )F(-)군보다 체중증가량이 높았던 점으로 볼때 chitosan이나 NOCC가 Cd으로 인한 성장저하의 효과를 어느정도 방지하는것으로 생각된다. Cadmium이 성장을 저해하는 원인에 대해서는 식욕부진으로 인한 식이섭취량의 감소<sup>41)</sup>, 혹은 식이섭취량의 감소외에 직접적으로 Cd이 성장에 독성효과가 있을 수 있고<sup>42)</sup> 또는 Cd이 mitochondria에서 산화과정에 영향을 준다는 주장들<sup>43)</sup>이 있으나 아직 분명하게 밝혀지지 않고 있다. 한편 본 연구에서 Cd을 공급하지 않은 군에서는 섬유를 넣지 않은 Cd(-)F(-)군이 섬유 첨가군들에 비해서 체중증가량이 높은 경향이었으나 유의적 차이가 없었고 chitosan과 NOCC군들간에는 유의적 차이가 나지 않았다. 이런 결과는 여러 연구

**Table 4.** Food intake and body weight gain

Cd	Group		Food intake (g/day)	Body weight gain (g/4weeks)	
	Source	Type			M.W.
Cd(-) <sup>1)</sup>	Fiber(-) <sup>2)</sup>		19.0±1.20 <sup>abcde(3,4)</sup>	124.7±16.0 <sup>a</sup>	
Cd(+)	Fiber(-)		13.1±0.58 <sup>h</sup>	21.7±7.51 <sup>e</sup>	
Cd(-)	Shrimp	Chitosan	Low	19.9±1.03 <sup>abcd</sup>	99.4±10.2 <sup>abcd</sup>
			Med.	20.3±0.53 <sup>ab</sup>	110.6±9.95 <sup>abc</sup>
			High	18.1±0.79 <sup>abcdefg</sup>	82.1±12.9 <sup>abcd</sup>
Cd(-)	Shrimp	NOCC	Low	17.5±1.52 <sup>abcdefg</sup>	102.9±17.5 <sup>abcd</sup>
			Med.	18.9±0.92 <sup>abcdef</sup>	102.0±18.7 <sup>abcd</sup>
			High	16.1±1.37 <sup>fg</sup>	76.4±22.3 <sup>bcd</sup>
Cd(-)	Crab	Chitosan	Low	18.7±1.25 <sup>abcdefg</sup>	91.5±9.74 <sup>abcd</sup>
			Med.	18.6±1.27 <sup>abcdefg</sup>	85.0±11.7 <sup>abcd</sup>
			High	20.1±0.48 <sup>abc</sup>	89.7±16.6 <sup>abcd</sup>
Cd(-)	Crab	NOCC	Low	20.3±0.50 <sup>a</sup>	118.6±4.97 <sup>ab</sup>
			Med.	18.7±0.63 <sup>abcdefg</sup>	112.4±15.6 <sup>abc</sup>
			High	19.4±0.89 <sup>abcde</sup>	101.7±13.1 <sup>abcd</sup>
Cd(+)	Shrimp	Chitosan	Low	16.7±1.47 <sup>defg</sup>	73.8±17.5 <sup>bcd</sup>
			Med.	16.8±0.67 <sup>defg</sup>	62.5±6.90 <sup>de</sup>
			High	17.0±0.24 <sup>bcddefg</sup>	60.2±2.69 <sup>de</sup>
Cd(+)	Shrimp	NOCC	Low	15.6±0.16 <sup>gh</sup>	61.8±8.40 <sup>de</sup>
			Med.	16.2±1.18 <sup>efg</sup>	65.3±15.1 <sup>de</sup>
			High	18.1±0.55 <sup>abcdefg</sup>	58.6±9.04 <sup>de</sup>
Cd(+)	Crab	Chitosan	Low	16.6±1.08 <sup>efg</sup>	68.6±13.5 <sup>cd</sup>
			Med.	16.3±1.05 <sup>efg</sup>	62.7±17.1 <sup>de</sup>
			High	17.7±1.16 <sup>abcdefg</sup>	85.9±7.49 <sup>abcd</sup>
Cd(+)	Crab	NOCC	Low	16.9±0.40 <sup>cdefg</sup>	64.4±7.09 <sup>de</sup>
			Med.	16.8±1.18 <sup>defg</sup>	60.6±13.3 <sup>de</sup>
			High	18.3±0.70 <sup>abcdefg</sup>	81.7±15.4 <sup>abcd</sup>
CdCl <sub>2</sub>	0		18.9 <sup>a</sup>	97.9 <sup>a</sup>	
	0.04		16.9 <sup>b</sup>	67.2 <sup>b</sup>	
Source	Shrimp		17.6 <sup>a</sup>	80.0 <sup>a</sup>	
	Crab		18.2 <sup>a</sup>	85.5 <sup>a</sup>	
Type	Chitosan		18.1 <sup>a</sup>	81.6 <sup>a</sup>	
	NOCC		17.7 <sup>a</sup>	83.9 <sup>a</sup>	
Mol. Wt	Low		17.8 <sup>a</sup>	85.7 <sup>a</sup>	
	Medium		17.8 <sup>a</sup>	82.6 <sup>a</sup>	
	High		18.1 <sup>a</sup>	79.9 <sup>a</sup>	
Significant Factor <sup>5)</sup>			A	A	

1) Cd(-) means no Cd. Cd(+) means that Cd is added

2) Fiber(-) means no fiber

3) Mean±Standard Error(n=6)

4) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test

5) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 4-way ANOVA. Significant factor notations used for 3 or 4-way ANOVA mean as follows :

A : Cadmium effect was significant at α=0.05

B : Fiber source was significant at α=0.05

C : Fiber type was significant at α=0.05

D : Molecular weight was significant at α=0.05

AB : Effect of Cadmium×fiber source was significant at α=0.05

AC : Effect of Cadmium×fiber type was significant at α=0.05

AD : Effect of Cadmium×molecular weight was significant at α=0.05

BC : Effect of fiber source×fiber type was significant at α=0.05

BD : Effect of fiber source×molecular weight was significant at α=0.05

CD : Effect of fiber type×molecular weight was significant at α=0.05

BCD : Effect of fiber source×fiber type×molecular weight was significant at α=0.05



에서 chitosan을 식이내 2~5%공급시 체중증가량과 식이효율이 약간 증가하거나 큰 변화가 없었다는 결과<sup>44)45)</sup>와 일치하는 것으로 Cd를 공급하지 않은 군들에서는 chitosan이나 NOCC가 흰쥐의 성장에 큰 영향을 미치지 않았다고 생각된다. 그러나 Cd공급군들중 Cd(+) SCL, Cd(+)CCL, Cd(+)CCH, Cd(+)CNH군의 체중증가율이 Cd(+)F(-)군보다 높게 나타난 것으로 볼때 이 실험군들은 섬유 첨가로 인하여 Cd으로 인한 성장저하의 효과가 상쇄된 것으로 간주된다.

**3. 간과 신장의 무게**

Cd의 주요 대사기관은 간과 신장으로서 Cd중독으로 가장 큰 영향을 받는 기관이다<sup>46)</sup>. Cd공급시 간과 신장의 무게가 감소하고 만성적인 Cd중독시 조직의 괴사를 초래한다<sup>47)</sup>. 본 연구에서 간과 신장의 무게(Table 5)는 Cd공급의 영향을 받아 Cd공급군들의 간과 신장의 무게가 감소하였는데 이것은 Cd중독의 영향도 있지만 Cd공급군들이 비공급군들보다 체중증가량이 낮게 나타난 점으로 미루어 전체적인 성장저하에 따라 비례적으로 기관의 무게가 낮았던 것 같다. 또한 NOCC군들이 chitosan군들에 비해 간무게가 증가하였는데 NOCC군들이 chitosan군들보다 체중증가량이 높은 경향이었던 점을 고려해 볼때 체중증가량에 비례한 간무게의 증가로 판단된다.

**4. 혈액과 소장, 간, 신장의 Cd농도**

Cadmium에 중독된 정도를 비교하기 위하여 혈액등 각 조직의 Cd농도를 측정 한 결과는 Table 6과 같았다. Cd공급군의 혈액과 소장, 간, 신장의 Cd농도는 섬유 첨가군들이 Cd(+)F(-)군에 비해 유의적으로 낮게 나타난 것을 볼때 섬유 첨가로 인해 조직내 Cd축적이 상당히 감소하였음을 증명하였다. 섬유 급원과 종류별로 보면 혈액과 신장의 Cd농도는 계급원 섬유군들이 새우급원 섬유군들에 비해 낮았고 NOCC군들이 chitosan군들에 비해 낮은 경향을 보였다. 혈액의 Cd농도는 분자량의 영향이 나타나지 않았으나 신장의 Cd농도는 섬유 급원과 분자량의 상호작용으로 Cd공급군에서 새우급원 섬유군들중 고분자 섬유군들[Cd(+)SCH, Cd(+)SNH]이 높게 나타났다. 소장과 간의 Cd농도는 계급원 섬유군들이 새우급원 섬유군들보다 낮은 경향이었고 chitosan군들이 NOCC군들보다 낮았으나 분자량에 따른 차이는 없었다. 소장과 간의 Cd농도는 공통적으로 Cd(+)SCL, Cd(+)SCM, Cd(+)CCM, Cd(+)CCH군이 낮았는데 신장의 Cd농도에서 보면 Cd(+)SCL, Cd(+)CCH군이 낮게 나타났다.

이와같이 전반적인 조직내 Cd농도로 판단해 볼때 소

**Table 5.** Liver and kidney weights

Group	Liver weight (g)	Kidney weight (g)
Cd(-) F(-)	11.48±1.29 <sup>a1)2)</sup>	2.11±0.11 <sup>a</sup>
Cd(+) F(-)	5.38±0.42 <sup>h</sup>	1.35±0.07 <sup>f</sup>
Cd(-) SCL	9.18±1.05 <sup>bcd</sup>	1.83±0.14 <sup>abcde</sup>
Cd(-) SCM	8.51±0.55 <sup>bcd</sup>	1.76±0.06 <sup>bcd</sup>
Cd(-) SCH	7.77±0.61 <sup>cdefg</sup>	1.59±0.09 <sup>cdef</sup>
Cd(-) SNL	10.23±0.67 <sup>ab</sup>	1.95±0.17 <sup>ab</sup>
Cd(-) SNM	9.91±0.98 <sup>abc</sup>	1.85±0.15 <sup>abcd</sup>
Cd(-) SNH	7.86±0.65 <sup>cdefg</sup>	1.66±0.12 <sup>bcd</sup>
Cd(-) CCL	8.35±0.43 <sup>bcd</sup>	1.73±0.11 <sup>bcd</sup>
Cd(-) CCM	7.77±0.62 <sup>cdefg</sup>	1.72±0.14 <sup>bcd</sup>
Cd(-) CCH	8.07±0.64 <sup>cdefg</sup>	1.70±0.06 <sup>bcd</sup>
Cd(-) CNL	8.53±0.51 <sup>bcd</sup>	1.81±0.10 <sup>abcde</sup>
Cd(-) CNM	9.76±0.70 <sup>abc</sup>	1.95±0.12 <sup>ab</sup>
Cd(-) CNH	9.29±0.93 <sup>bcd</sup>	1.88±0.08 <sup>abc</sup>
Cd(+) SCL	6.41±0.79 <sup>efgh</sup>	1.63±0.13 <sup>bcd</sup>
Cd(+) SCM	6.43±0.31 <sup>efgh</sup>	1.59±0.05 <sup>cdef</sup>
Cd(+) SCH	6.25±0.25 <sup>fgh</sup>	1.52±0.08 <sup>def</sup>
Cd(+) SNL	6.52±0.35 <sup>efgh</sup>	1.51±0.06 <sup>def</sup>
Cd(+) SNM	6.61±0.54 <sup>efgh</sup>	1.52±0.06 <sup>def</sup>
Cd(+) SNH	7.24±0.42 <sup>degh</sup>	1.64±0.11 <sup>bcd</sup>
Cd(+) CCL	6.12±0.49 <sup>gh</sup>	1.49±0.06 <sup>ef</sup>
Cd(+) CCM	6.23±0.44 <sup>fgh</sup>	1.62±0.10 <sup>bcd</sup>
Cd(+) CCH	6.97±0.49 <sup>efgh</sup>	1.69±0.08 <sup>bcd</sup>
Cd(+) CNL	6.70±0.27 <sup>efgh</sup>	1.63±0.06 <sup>bcd</sup>
Cd(+) CNM	7.01±0.56 <sup>efgh</sup>	1.65±0.11 <sup>bcd</sup>
Cd(+) CNH	7.00±0.38 <sup>efgh</sup>	1.65±0.08 <sup>bcd</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0	8.78 <sup>a</sup>	1.79 <sup>a</sup>
0.04	6.64 <sup>b</sup>	1.60 <sup>b</sup>
Shrimp	7.80 <sup>a</sup>	1.67 <sup>a</sup>
Crab	7.67 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>
Type Chitosan	7.38 <sup>b</sup>	1.66 <sup>a</sup>
NOCC	8.08 <sup>a</sup>	1.73 <sup>a</sup>
M.W. Low	7.82 <sup>a</sup>	1.70 <sup>a</sup>
Medium	7.80 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>
High	7.58 <sup>a</sup>	1.67 <sup>a</sup>
Significant Factor <sup>3)</sup>	A, C	A

1) Mean ± Standard Error(n=6)

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 4-way ANOVA(See Table 4)

장과 간에서는 새우 chitosan군들이 비교적 낮은 Cd 농도를 보였으나 신장의 Cd농도는 Cd(+)SCL군만 낮게 나타났다. 소화기관에서 Cd의 흡수는 노출수준에 따라 좌우되는데 노출수준이 낮을수록 흡수율은 증가하게 된다<sup>48)</sup>. 경구를 통해 Cd이 체내로 들어오면 처음에는 소화기관의 proximal part에 보유되어 주로 십이

**Table 6.** Cadmium concentrations in blood, small intestine, liver and kidney

Group	Blood Cd ( $\mu\text{g}/100\text{ml}$ )	Intestine Cd ( $\mu\text{g}/\text{g}$ wet wt)	Liver Cd ( $\mu\text{g}/\text{g}$ wet wt)	Kidney Cd ( $\mu\text{g}/\text{g}$ wet wt)
Cd(-) F(-)	2.39 $\pm$ 0.55 <sup>(1)2)</sup>	4.68 $\pm$ 0.94 <sup>c</sup>	18.2 $\pm$ 2.45 <sup>f</sup>	19.3 $\pm$ 2.29 <sup>e</sup>
Cd(+) F(-)	40.12 $\pm$ 2.69 <sup>a</sup>	69.48 $\pm$ 10.2 <sup>a</sup>	119.9 $\pm$ 18.2 <sup>a</sup>	156.3 $\pm$ 11.3 <sup>a</sup>
Cd(-) SCL	1.89 $\pm$ 0.49 <sup>f</sup>	5.99 $\pm$ 1.73 <sup>e</sup>	18.1 $\pm$ 3.32 <sup>f</sup>	21.0 $\pm$ 3.18 <sup>c</sup>
Cd(-) SCM	2.27 $\pm$ 0.35 <sup>f</sup>	3.63 $\pm$ 0.92 <sup>e</sup>	18.2 $\pm$ 2.74 <sup>f</sup>	24.5 $\pm$ 4.50 <sup>e</sup>
Cd(-) SCH	1.91 $\pm$ 0.46 <sup>f</sup>	3.55 $\pm$ 0.92 <sup>e</sup>	19.5 $\pm$ 4.53 <sup>ef</sup>	23.1 $\pm$ 4.06 <sup>e</sup>
Cd(-) SNL	2.08 $\pm$ 0.47 <sup>f</sup>	4.93 $\pm$ 1.29 <sup>e</sup>	15.5 $\pm$ 3.85 <sup>f</sup>	20.9 $\pm$ 4.58 <sup>e</sup>
Cd(-) SNM	2.38 $\pm$ 0.60 <sup>f</sup>	4.33 $\pm$ 1.06 <sup>e</sup>	20.6 $\pm$ 3.15 <sup>ef</sup>	20.9 $\pm$ 5.63 <sup>e</sup>
Cd(-) SNH	2.16 $\pm$ 0.62 <sup>f</sup>	4.03 $\pm$ 1.05 <sup>e</sup>	21.1 $\pm$ 4.16 <sup>ef</sup>	22.7 $\pm$ 4.01 <sup>e</sup>
Cd(-) CCL	2.34 $\pm$ 0.37 <sup>f</sup>	3.26 $\pm$ 0.55 <sup>e</sup>	17.2 $\pm$ 5.24 <sup>f</sup>	20.7 $\pm$ 5.05 <sup>e</sup>
Cd(-) CCM	2.17 $\pm$ 0.54 <sup>f</sup>	3.48 $\pm$ 0.62 <sup>e</sup>	19.4 $\pm$ 2.93 <sup>ef</sup>	20.2 $\pm$ 3.60 <sup>e</sup>
Cd(-) CCH	2.45 $\pm$ 0.30 <sup>f</sup>	4.02 $\pm$ 0.49 <sup>e</sup>	18.5 $\pm$ 3.76 <sup>f</sup>	22.5 $\pm$ 4.99 <sup>e</sup>
Cd(-) CNL	2.19 $\pm$ 0.40 <sup>f</sup>	3.69 $\pm$ 0.52 <sup>e</sup>	19.4 $\pm$ 4.17 <sup>ef</sup>	21.8 $\pm$ 4.98 <sup>e</sup>
Cd(-) CNM	1.96 $\pm$ 0.47 <sup>f</sup>	3.67 $\pm$ 0.50 <sup>e</sup>	18.1 $\pm$ 3.25 <sup>f</sup>	22.0 $\pm$ 4.90 <sup>e</sup>
Cd(-) CNH	1.89 $\pm$ 0.40 <sup>f</sup>	3.24 $\pm$ 0.74 <sup>e</sup>	17.9 $\pm$ 4.60 <sup>f</sup>	23.4 $\pm$ 5.76 <sup>e</sup>
Cd(+) SCL	26.96 $\pm$ 3.16 <sup>bcdde</sup>	44.20 $\pm$ 4.20 <sup>bcd</sup>	31.1 $\pm$ 9.00 <sup>def</sup>	80.8 $\pm$ 15.9 <sup>d</sup>
Cd(+) SCM	30.60 $\pm$ 1.90 <sup>b</sup>	37.73 $\pm$ 2.08 <sup>d</sup>	39.3 $\pm$ 6.78 <sup>cde</sup>	128.8 $\pm$ 13.9 <sup>ab</sup>
Cd(+) SCH	27.10 $\pm$ 1.12 <sup>bcdde</sup>	48.40 $\pm$ 7.31 <sup>bcd</sup>	32.0 $\pm$ 5.08 <sup>def</sup>	146.0 $\pm$ 11.8 <sup>ab</sup>
Cd(+) SNL	27.82 $\pm$ 0.85 <sup>bcd</sup>	39.30 $\pm$ 4.08 <sup>cd</sup>	68.7 $\pm$ 8.54 <sup>b</sup>	94.0 $\pm$ 9.96 <sup>cd</sup>
Cd(+) SNM	25.62 $\pm$ 1.06 <sup>cde</sup>	52.02 $\pm$ 8.13 <sup>bc</sup>	43.2 $\pm$ 5.16 <sup>cd</sup>	96.4 $\pm$ 7.50 <sup>cd</sup>
Cd(+) SNH	28.68 $\pm$ 1.85 <sup>bc</sup>	47.53 $\pm$ 4.99 <sup>bcd</sup>	41.6 $\pm$ 2.75 <sup>cd</sup>	120.5 $\pm$ 16.5 <sup>bc</sup>
Cd(+) CCL	22.90 $\pm$ 1.22 <sup>e</sup>	46.94 $\pm$ 8.51 <sup>bcd</sup>	48.9 $\pm$ 5.84 <sup>cd</sup>	95.2 $\pm$ 7.50 <sup>cd</sup>
Cd(+) CCM	23.75 $\pm$ 2.36 <sup>de</sup>	38.37 $\pm$ 3.38 <sup>d</sup>	41.3 $\pm$ 1.55 <sup>cd</sup>	90.5 $\pm$ 16.2 <sup>cd</sup>
Cd(+) CCH	28.68 $\pm$ 1.05 <sup>bc</sup>	42.57 $\pm$ 2.92 <sup>bcd</sup>	39.2 $\pm$ 4.13 <sup>cde</sup>	82.0 $\pm$ 5.84 <sup>d</sup>
Cd(+) CNL	24.62 $\pm$ 2.75 <sup>cde</sup>	52.33 $\pm$ 4.70 <sup>bc</sup>	50.8 $\pm$ 8.86 <sup>bcd</sup>	87.5 $\pm$ 16.7 <sup>d</sup>
Cd(+) CNM	24.05 $\pm$ 2.16 <sup>cde</sup>	51.80 $\pm$ 2.89 <sup>bc</sup>	44.5 $\pm$ 6.04 <sup>cd</sup>	80.9 $\pm$ 7.52 <sup>d</sup>
Cd(+) CNH	25.22 $\pm$ 2.27 <sup>cde</sup>	53.55 $\pm$ 5.62 <sup>b</sup>	55.5 $\pm$ 4.84 <sup>bc</sup>	88.1 $\pm$ 17.1 <sup>d</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0	2.14 <sup>b</sup>	3.98 <sup>b</sup>	18.7 <sup>b</sup>	21.9 <sup>b</sup>
0.04	26.37 <sup>a</sup>	46.19 <sup>a</sup>	44.4 <sup>a</sup>	99.3 <sup>a</sup>
Source Shrimp	14.64 <sup>a</sup>	24.88 <sup>a</sup>	30.4 <sup>a</sup>	67.2 <sup>a</sup>
Crab	13.39 <sup>b</sup>	25.27 <sup>a</sup>	32.5 <sup>a</sup>	54.0 <sup>b</sup>
Type Chitosan	14.11 <sup>a</sup>	23.10 <sup>b</sup>	28.5 <sup>b</sup>	63.0 <sup>a</sup>
NOCC	13.89 <sup>a</sup>	27.01 <sup>a</sup>	34.4 <sup>a</sup>	58.2 <sup>a</sup>
M.W. Low	13.37 <sup>a</sup>	25.04 <sup>a</sup>	33.3 <sup>a</sup>	54.4 <sup>b</sup>
Medium	13.86 <sup>a</sup>	24.38 <sup>a</sup>	30.3 <sup>a</sup>	60.5 <sup>ab</sup>
High	14.77 <sup>a</sup>	25.86 <sup>a</sup>	30.7 <sup>a</sup>	66.9 <sup>a</sup>
Significant Factor <sup>3)</sup>	A, B, AB	A, C, AC	A, AC	A, B, AB, BD

1) Mean $\pm$ Standard Error( $n=6$ )2) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 4-way ANOVA(See Table 4)

지장에 가장 많이 축적된다<sup>49)</sup>. 공장에서는 intestinal lumen에서 mucosal cell로 빠르게 흡수되나 체순환계(systemic circulation)로의 운반은 1/100 정도 느리기 때문에 Cd의 흡수는 공장보다는 주로 소장 윗부분에서 일어난다<sup>50)</sup>. 흡수된 Cd는 일차적으로 간으로 운반되어 축적되기 때문에 간의 Cd함량이 증가한다. 그러나 Cd는 계속 간에만 머무르는 것이 아니고 신장으로 운반되어 축적되기 시작한다<sup>51)</sup>. 따라서 Cd중독 초기에

는 간Cd농도 : 신장Cd농도의 비율이 높다가 점점 감소하고 장기간 경구적으로 Cd를 공급하게 되면 신장에 더 많이 축적된다<sup>52)</sup>. 이러한 대사과정으로 볼 때 본 연구에서 Cd(+)SCM, Cd(+)SCH군은 Cd의 중독정도가 높다고 판단되어진다. 이와 유사한 이유로 NOCC(Cd(+)CN-)군들은 신장의 Cd농도는 낮았으나 소장과 간의 Cd농도가 높았으므로 시간이 지남에 따라 소장과 간의 Cd이 신장으로 이동할 것이라고 예상된

다. 새우 NOCC군들(Cd(+)-SN-)은 소장과 간, 신장의 Cd농도가 대체적으로 모두 높게 나타난점으로 미루어 다른 섬유군들보다 Cd중독완화효과가 적었다고 볼 수 있고 게 chitosan군들중에서 Cd(+)-CCL과 Cd(+)-CCM군은 간과 신장내 Cd농도가 Cd(+)-CCH군보다 높은 경향을 보여 게 chitosan중에서 고분자가 중분자나 저분자보다 조직내 Cd축적을 감소시킴을 알 수 있었다.

이와 같이 Cd공급군들에서 Cd(+)-SCL군의 간과 신

장내 Cd농도가 가장 낮았고 Cd(+)-CCH군은 간의 Cd농도가 Cd(+)-SCL, Cd(+)-SCH군 다음으로 낮았으며 신장의 Cd농도는 Cd(+)-SCL군 다음으로 낮게 나타나 새우 chitosan 저분자와 게 chitosan 고분자는 간과 신장에 Cd축적을 감소시켜 Cd중독을 완화시키는 효과가 컸다고 간주된다. 본 연구에서 사용한 새우 chitosan 저분자와 게 chitosan 고분자의 점도와 탈아세틸화도는 2.319 cps, 87%와 212.5 cps, 93%로 두 섬유류의 점도의 차이는 매우 크고 탈아세틸화도는 별로 차

Table 7. Metallothionein concentrations in small intestine, liver and kidney

Group	Intestine MT (µg/g wet wt)	Liver MT (µg/g wet wt)	Kidney MT (µg/g wet wt)
Cd(-) F(-)	23.8±2.94 <sup>1)2)</sup>	35.5±1.68 <sup>b</sup>	41.4±1.88 <sup>b</sup>
Cd(+) F(-)	114.6±5.50 <sup>a</sup>	405.0±10.8 <sup>a</sup>	648.9±34.8 <sup>a</sup>
Cd(-) SCL	18.3±1.71 <sup>i</sup>	29.5±2.02 <sup>b</sup>	39.1±1.04 <sup>b</sup>
Cd(-) SCM	18.7±2.14 <sup>i</sup>	29.7±1.52 <sup>b</sup>	43.4±1.76 <sup>b</sup>
Cd(-) SCH	16.6±1.12 <sup>j</sup>	34.0±1.20 <sup>b</sup>	23.4±0.85 <sup>b</sup>
Cd(-) SNL	18.0±1.67 <sup>i</sup>	29.3±2.50 <sup>b</sup>	25.6±1.33 <sup>b</sup>
Cd(-) SNM	15.7±1.86 <sup>i</sup>	42.7±1.71 <sup>b</sup>	29.3±1.38 <sup>b</sup>
Cd(-) SNH	14.5±0.76 <sup>i</sup>	41.9±1.65 <sup>b</sup>	27.2±2.11 <sup>b</sup>
Cd(-) CCL	16.5±1.36 <sup>i</sup>	41.3±1.54 <sup>b</sup>	24.8±0.97 <sup>b</sup>
Cd(-) CCM	14.8±0.60 <sup>j</sup>	36.5±2.91 <sup>b</sup>	26.6±1.39 <sup>b</sup>
Cd(-) CCH	16.3±1.69 <sup>j</sup>	41.4±2.52 <sup>b</sup>	26.5±0.93 <sup>b</sup>
Cd(-) CNL	15.3±1.15 <sup>j</sup>	40.4±0.88 <sup>b</sup>	27.8±1.80 <sup>b</sup>
Cd(-) CNM	16.7±1.05 <sup>j</sup>	41.8±2.11 <sup>b</sup>	23.1±1.87 <sup>b</sup>
Cd(-) CNH	18.7±0.99 <sup>j</sup>	39.5±0.89 <sup>b</sup>	31.7±3.26 <sup>b</sup>
Cd(+) SCL	53.5±2.58 <sup>b</sup>	213.2±10.8 <sup>f</sup>	346.1±15.4 <sup>defg</sup>
Cd(+) SCM	82.5±2.24 <sup>efg</sup>	301.9±18.1 <sup>de</sup>	368.5±21.7 <sup>def</sup>
Cd(+) SCH	86.1±2.37 <sup>de</sup>	294.5±19.6 <sup>de</sup>	379.6±16.6 <sup>cd</sup>
Cd(+) SNL	106.7±5.11 <sup>ab</sup>	367.9±28.2 <sup>b</sup>	464.7±22.1 <sup>b</sup>
Cd(+) SNM	85.9±2.56 <sup>def</sup>	346.2±17.8 <sup>bc</sup>	407.5±17.1 <sup>c</sup>
Cd(+) SNH	99.6±3.26 <sup>bc</sup>	330.8±12.5 <sup>cd</sup>	374.0±10.1 <sup>cde</sup>
Cd(+) CCL	92.5±3.80 <sup>cd</sup>	328.6±24.1 <sup>cd</sup>	329.4±16.7 <sup>fg</sup>
Cd(+) CCM	76.7±1.67 <sup>fg</sup>	318.2±17.5 <sup>cde</sup>	315.4±10.3 <sup>g</sup>
Cd(+) CCH	80.9±4.90 <sup>efg</sup>	296.7±13.6 <sup>de</sup>	348.9±11.0 <sup>defg</sup>
Cd(+) CNL	93.4±5.03 <sup>cd</sup>	287.8±13.4 <sup>e</sup>	355.9±10.1 <sup>def</sup>
Cd(+) CNM	75.0±4.83 <sup>g</sup>	305.3±15.9 <sup>de</sup>	337.8±7.06 <sup>efg</sup>
Cd(+) CNH	75.9±4.41 <sup>g</sup>	286.3±12.3 <sup>e</sup>	354.5±14.0 <sup>defg</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0	16.7 <sup>b</sup>	37.3 <sup>b</sup>	29.1 <sup>b</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0.04	84.4 <sup>a</sup>	305.9 <sup>a</sup>	365.2 <sup>a</sup>
Source Shrimp	51.3 <sup>a</sup>	173.1 <sup>a</sup>	213.3 <sup>a</sup>
Source Crab	48.8 <sup>a</sup>	170.1 <sup>a</sup>	183.5 <sup>b</sup>
Type Chitosan	47.0 <sup>b</sup>	165.4 <sup>b</sup>	191.7 <sup>b</sup>
Type NOCC	53.0 <sup>a</sup>	178.0 <sup>a</sup>	204.9 <sup>a</sup>
M.W. Low	50.9 <sup>a</sup>	170.2 <sup>a</sup>	201.7 <sup>a</sup>
M.W. Medium	48.3 <sup>a</sup>	171.3 <sup>a</sup>	193.9 <sup>a</sup>
M.W. High	51.1 <sup>a</sup>	173.2 <sup>a</sup>	199.4 <sup>a</sup>
Significant Factor <sup>3)</sup>	A, C, AC, BC, BD, CD	A, C, AC, BC	A, B, C, AB, AC, CD

1) Mean±Standard Error(n=6)

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 4-way ANOVA(See Table 4)

이가 없었다. 게 chitosan 고분자는 점도가 가장 높았지만 변 Cd배설량은 게 chitosan 저분자군이 가장 많았다. 또한 Cd중독완화 효과는 새우 chitosan 저분자군이 게 chitosan 저분자군보다 높았다. 이와 같은 결과는 chitosan의 금속 흡착능이 매우 커서 상대적으로 점도의 영향이 잘 나타나지 않았을 수도 있지만 섬유 급원의 차이로 같은 chitosan 저분자라고 해도 분자의 구조나 중합도 등의 차이로 인하여 체내에서의 작용이 달라졌기 때문인 것으로 생각된다.

### 5. 소장과 간, 신장의 MT농도와 간과 신장의 MT-fraction내 Cd함량

Cd에 노출되면 MT의 합성이 증가하고<sup>53)</sup> 조직내에서 대부분의 Cd는 cytosol에 존재하는 MT와 결합하여 축적되기 때문에<sup>54)</sup> MT-Cd complex는 증가하게 된다<sup>55)</sup>. 본 연구에서 소장, 간, 신장의 MT농도는 Table 7에서 보듯이 모두 비슷한 경향으로 나타나 Cd공급군들에서 Cd(+) $F(-)$ 군이 다른 섬유 첨가군들보다 유의적으로 높았고 계급원 섬유군들이 새우급원 섬유군들보다, chitosan군들이 NOCC군들보다 낮게 나타났다. 조직내 Cd농도가 낮았던 Cd(+) $SCL$ 군은 소장과 간의 MT농도가 가장 낮게 나타나 다른 섬유군들보다 유의적으로 낮았고 전반적으로 조직내 Cd농도가 높았던 새우 NOCC군들[Cd(+) $SN(-)$ ]이 소장과 간, 신장 MT의 농도가 모두 높게 나타난 점을 발견할 수 있었다.

간과 신장의 MT fraction내 Cd함량(Table 8)은 섬유 급원, 종류, 분자량의 영향과 이들의 상호작용이 유의적으로 나타났다. Cd(-) $F(-)$ 군은 간과 신장 MT 모두에서 Cd이 검출되지 않았고 Cd(+) $F(-)$ 군은 가장 높은 Cd함량을 나타냈다. 평균적으로는 새우급원 섬유군들이 계급원 섬유군들보다 높았고 NOCC군들이 chitosan군들보다 높았으며 저분자군들이 중분자와 고분자군들보다 높은 결과를 나타냈다. 간 MT내 Cd함량은 Cd(+) $SCL$ 군이 가장 낮았고 Cd(+) $SNL$ 군이 가장 높았으며 신장 MT내 Cd함량은 Cd(+) $SCM$ 군이 가장 낮았고 새우 chitosan군들(Cd(+) $SC(-)$ )이 높게 나타났다. 따라서 전체적으로 새우 NOCC군>게 NOCC군>게 chitosan군=새우 chitosan군 순서로 높은 경향이였다.

앞에서 언급한 바와 같이 Cd이 intestinal lumen에서 mucosal cell로 빨리 흡수되는 반면 혈류(blood stream)로의 운반속도가 매우 느리기 때문에 소장조직에 Cd이 축적되고 이 Cd ion들은 mucosal cell내의 MT와 결합하여 존재한다. Metallothionein과 Cd이온의 결합과 Cd이온의 serosal fluid로의 운반사이에

경쟁이 공장에서 Cd의 전체 흡수율에 영향을 미치게 된다<sup>56,57)</sup>. 장에서 흡수된 Cd은 혈류로 나온후 albumin과 같은 고분자 단백질과 결합한 형태로 간으로 운반된다<sup>58)</sup>. 간에서는 Zn가 major metal로서 MT에 결합되어 있기 때문에 간으로 운반된 Cd은 우선 MT가

**Table 8.** Cadmium contents in MT-fractions of liver and kidney

Group	Liver MT-Cd ( $\mu\text{g}/\text{MT}$ fraction)	Kidney MT-Cd ( $\mu\text{g}/\text{MT}$ fraction)
Cd(-) F(-)	-	-
Cd(+) $F(-)$	$0.367 \pm 0.009^{a12)}$	$0.358 \pm 0.003^a$
Cd(-) SCL	-	-
Cd(-) SCM	-	-
Cd(-) SCH	-	-
Cd(-) SNL	-	-
Cd(-) SNM	-	-
Cd(-) SNH	-	-
Cd(-) CCL	-	-
Cd(-) CCM	-	-
Cd(-) CCH	-	-
Cd(-) CNL	-	-
Cd(-) CNM	-	-
Cd(-) CNH	-	-
Cd(+) $SCL$	$0.187 \pm 0.003^b$	$0.086 \pm 0.003^c$
Cd(+) $SCM$	$0.250 \pm 0.000^e$	$0.050 \pm 0.001^h$
Cd(+) $SCH$	$0.247 \pm 0.003^e$	$0.064 \pm 0.001^f$
Cd(+) $SNL$	$0.353 \pm 0.003^b$	$0.121 \pm 0.001^b$
Cd(+) $SNM$	$0.273 \pm 0.003^d$	$0.122 \pm 0.001^b$
Cd(+) $SNH$	$0.317 \pm 0.003^c$	$0.122 \pm 0.001^b$
Cd(+) $CCL$	$0.257 \pm 0.003^e$	$0.055 \pm 0.001^h$
Cd(+) $CCM$	$0.220 \pm 0.000^f$	$0.060 \pm 0.001^f$
Cd(+) $CCH$	$0.193 \pm 0.003^{gh}$	$0.071 \pm 0.001^e$
Cd(+) $CNL$	$0.203 \pm 0.003^g$	$0.089 \pm 0.001^c$
Cd(+) $CNM$	$0.227 \pm 0.003^f$	$0.090 \pm 0.001^c$
Cd(+) $CNH$	$0.197 \pm 0.003^{gh}$	$0.081 \pm 0.001^d$
CdCl <sub>2</sub> 0	-	-
0.04	-	-
Source Shrimp	$0.271^a$	$0.094^a$
Crab	$0.216^b$	$0.074^b$
Type Chitosan	$0.226^b$	$0.064^b$
NOCC	$0.262^a$	$0.104^a$
M.W. Low	$0.250^a$	$0.088^a$
Medium	$0.243^b$	$0.081^c$
High	$0.238^b$	$0.084^b$
Significant Factor <sup>3)</sup>	B, C, D, BC, BD, CD, BCD	B, C, D, BC, BD, CD, BCD

1) Mean  $\pm$  Standard Error of triplicate trials for pooled samples

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $\alpha=0.05$  by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA(See Table 4)

합성되기 전에는 Zn-MT의 Zn가 Cd으로 대체되어 결합되고 또 고분자량의 단백질에도 결합되어 있다가 반복된 Cd노출로 MT가 합성되면 새로 합성된 MT에 Cd이 결합하여 존재한다<sup>59)</sup>. 따라서 간에 Cd이 축적됨에 따라 MT내 Cd/Zn ratio는 증가하고 이것은 조직의 MT합성능력을 반영하는 지표가 되기 때문에 MT내 Cd/Zn, Cu비율이 증가하는것은 MT합성능력이 한계수준에 근접하다는 것을 나타낸다<sup>60)</sup>. 한편 신장에서는 계속되는 Cd노출로 MT에 Zn, Cu와 Cd이 결합하여 존재하는데 신장내 Cd농도가 100µg/g kidney에 도달하였을때 MT내 Cu함량이 갑자기 감소하여 Cd/Cu ratio가 증가하게 되는데 이것은 native에서 induced MT synthesis로 전환된 상태를 의미한다. 계속되는 Cd노출로 신장내 Cd농도가 200µg/g 수준이 되면 rat kidney에 MT와 결합된 Cd이 최대로 축적될 수 있는 한계이고 결국에는 유독한 non-MT-bound Cd가 증가하게 된다<sup>61)</sup>.

본 연구에서 신장의 Cd농도는 Cd(+)F(-)군이 156µg/g으로 가장 높았고 Cd(+)SCM, Cd(+)SCH, Cd(+)SNH군이 120-146µg/g 범위였고 Cd(+)SNL, Cd(+)SNM, Cd(+)CCL군은 90~100µg/g 범위에 있었으며 나머지 군들은 80~90µg/g에 속하였다. 단순히 신장의 Cd농도로만 판단하면 Cd(+)F(-), Cd(+)SCM, Cd(+)SCH, Cd(+)SNH군이 induced MT synthesis상태이고 Cd(+)SNL, Cd(+)SNM, Cd(+)CCL군이 induced MT synthesis상태에 근접했다고 볼 수 있지만 Cd(+)F(-)군과 섬유 첨가군들중 Cd(+)SNL, Cd(+)SNM, Cd(+)SNH군의 간과 신장의 MT농도가 높았고 또한 MT내 Cd함량이 높게 나타난 것으로 볼때 이들 군의 간과 신장은 induced MT synthesis상태라는 것을 증명해 주고 있다. 그러나 Cd(+)SCM군과 Cd(+)SCH군의 신장Cd농도는 100µg/g보다 높았고 Cd(+)CCL, Cd(+)CCM군이 100µg/g에 근접하지만 신장의 MT농도와 MT-Cd함량은 높게 나타나지 않았기 때문에 induced MT synthesis상태라고 단정하기는 어려운 것 같다.

**6. 혈청요소질소(BUN), 뇨 creatinine 배설량과 사구체여과율**

Cd중독으로 인한 신장기능의 변화를 알아보기 위하여 본 연구에서는 혈청요소질소와 사구체여과율(Table 9)을 측정하였다. 본 연구에서 혈청요소질소는 Cd공급의 영향이 나타나지 않아서 Cd공급군들과 비공급군들간에 차이가 없었다. 그러나 섬유 종류의 영향은 유의적으로 나타났는데 Cd공급군에서 chitosan군들이 NO-

CC군들보다 높은 경향을 보였고 Cd(+)SNH군과 Cd(+)CCH군이 Cd(+)F(-)군보다 유의적으로 낮았다. 혈청 creatinine 농도는 Cd공급과 급원의 영향을 받아 Cd공급군들이 비공급군들보다 높았고 새우급원 섬유군들이 계급원 섬유군들에 비해 높았으며 뇨 creatinine 농도는 섬유 종류의 영향을 받아 chitosan군들이 NOCC군들에 비해 낮았고 유의적 차이는 없었으나 Cd공급군들이 비공급군보다 낮은 경향이 있었다.

사구체여과율은 혈청 creatinine 농도와 뇨 creatinine 농도에서 얻어지므로 혈청 creatinine 농도가 증가하거나 뇨 creatinine 농도가 낮을때 감소하게 된다. 사구체 여과율은 평균적으로는 Cd공급군들이 비공급군들보다 낮았으나 유의적 차이는 거의 없었고 chitosan군들이 NOCC군들보다 낮았다. Cd공급군에서 Cd(+)CCH군을 제외한 실험군간에 유의적 차이가 없었고 Cd(+)CCH군과 Cd(+)CNL군은 Cd(-)F(-)군과 차이가 나지 않아서 정상 수준이었음을 알 수 있었다. Cd에 장기간 노출되면 Cd-MT에서 유출된 Cd에 의해서 신세뇨관의 기능부전이 일어난다<sup>62)</sup>. Metallothionein은 turnover rate가 빠르지만 간은 MT합성능력이 크기 때문에 Cd를 효율적으로 trap한다. Cd-MT는 간에서 서서히 방출되어 신장의 세뇨관에 도달한다<sup>63)</sup>. Metallothionein은 분자량이 적어서 사구체를 통과하기 때문에 Cd-MT로 재흡수되어 신장에 Cd이 축적된다. 재흡수된 Cd-MT complex는 빨리 분해되지만 신장도 MT를 합성할 능력이 있기 때문에 Cd은 신장에서 Cd-MT로 저장되어 있고 nontoxic하다<sup>64)</sup>. 그러나 신장은 MT를 합성할 능력이 제한되어 있어서<sup>65)</sup> 어느 수준 이상의 Cd농도에서 MT에 결합되지 못한 unbound Cd가 생기게 되고 이것이 toxic effect를 나타낸다<sup>66)</sup>. Cd중독으로 인하여 처음에는 세뇨관 세포의 퇴화(가역적)가 일어나고<sup>67)</sup> 세뇨관 위축과 간질의 섬유화(interstitial fibrosis)로 진행되고 단백뇨, 아미노산뇨, 당뇨, 인산뇨가 생기게 된다<sup>68)</sup>. 신장기능이 저하되면 뇨를 통한 요소질소의 배설이 감소되어 혈중요소질소의 농도가 증가하고 Cd에 만성적으로 노출되었을때 신장기능의 이상으로 사구체 여과율이 감소하여 혈액의 creatinine 농도가 증가하고 뇨의 creatinine 농도는 감소하게 된다<sup>69)</sup>.

신세뇨관의 손상을 일으키는 신장피질의 Cd농도는 소량의 Cd-MT injection을 하였을때는 10~20µg/g wet wt이지만 장기간의 inorganic Cd노출에 의해 가볍게 손상을 입은 경우는 200µg/g wet wt으로 보고되었다<sup>70)</sup>. 이러한 농도의 차이는 빠른 MT분해속도와 느

**Table 9.** Concentrations of blood urea nitrogen and serum creatinine, urinary creatinine excretion, and creatinine clearance rate

Group	Blood urea nitrogen (mg/100ml)	Serum creatinine (mg/100ml)	Urinary creatinine (mg/day)	Creatinine clearance (ml/min)
Cd(-) F(-)	17.9±1.01 <sup>abc1)2)</sup>	0.54±0.02 <sup>h</sup>	6.06±0.81 <sup>ab</sup>	0.76±0.06 <sup>a</sup>
Cd(+) F(-)	19.2±2.41 <sup>ab</sup>	0.66±0.03 <sup>efgh</sup>	4.12±0.51 <sup>abcde</sup>	0.44±0.05 <sup>cdef</sup>
Cd(-) SCL	16.7±1.98 <sup>abcde</sup>	0.64±0.02 <sup>abcdefg</sup>	5.50±0.91 <sup>abcd</sup>	0.62±0.05 <sup>abcde</sup>
Cd(-) SCM	15.0±0.96 <sup>abcde</sup>	0.59±0.02 <sup>fgh</sup>	3.91±0.65 <sup>bcde</sup>	0.46±0.08 <sup>cdef</sup>
Cd(-) SCH	15.1±0.47 <sup>abcde</sup>	0.59±0.03 <sup>fgh</sup>	3.42±0.54 <sup>cde</sup>	0.43±0.06 <sup>cdef</sup>
Cd(-) SNL	16.4±1.32 <sup>abcde</sup>	0.59±0.02 <sup>gh</sup>	5.51±0.83 <sup>abcd</sup>	0.65±0.10 <sup>abcd</sup>
Cd(-) SNM	13.5±1.01 <sup>cde</sup>	0.63±0.01 <sup>abcde</sup>	6.01±0.91 <sup>ab</sup>	0.66±0.10 <sup>abc</sup>
Cd(-) SNH	17.3±1.81 <sup>abcd</sup>	0.72±0.03 <sup>abc</sup>	4.40±0.83 <sup>abcde</sup>	0.41±0.07 <sup>cdef</sup>
Cd(-) CCL	18.0±0.77 <sup>abc</sup>	0.73±0.05 <sup>a</sup>	3.80±0.53 <sup>bcde</sup>	0.38±0.06 <sup>ef</sup>
Cd(-) CCM	16.7±1.40 <sup>abcde</sup>	0.60±0.03 <sup>efgh</sup>	2.73±0.62 <sup>e</sup>	0.37±0.08 <sup>f</sup>
Cd(-) CCH	14.8±1.01 <sup>abcde</sup>	0.62±0.01 <sup>cdefgh</sup>	4.66±0.85 <sup>abcde</sup>	0.53±0.10 <sup>abcde</sup>
Cd(-) CNL	15.9±1.41 <sup>abcde</sup>	0.63±0.02 <sup>bcdefgh</sup>	4.51±0.60 <sup>abcde</sup>	0.51±0.07 <sup>bcdef</sup>
Cd(-) CNM	14.1±0.92 <sup>cde</sup>	0.64±0.02 <sup>abcde</sup>	6.61±1.16 <sup>a</sup>	0.72±0.12 <sup>ab</sup>
Cd(-) CNH	14.3±1.16 <sup>bcde</sup>	0.61±0.03 <sup>defgh</sup>	5.28±1.42 <sup>abcde</sup>	0.63±0.05 <sup>abcd</sup>
Cd(+) SCL	19.6±1.29 <sup>a</sup>	0.70±0.04 <sup>a</sup>	3.55±0.74 <sup>bcde</sup>	0.35±0.07 <sup>f</sup>
Cd(+) SCM	16.0±1.67 <sup>abcde</sup>	0.69±0.02 <sup>abcd</sup>	3.31±0.37 <sup>de</sup>	0.33±0.04 <sup>f</sup>
Cd(+) SCH	17.7±1.57 <sup>abc</sup>	0.73±0.04 <sup>abcde</sup>	3.72±0.41 <sup>bcde</sup>	0.35±0.03 <sup>f</sup>
Cd(+) SNL	13.8±0.99 <sup>cde</sup>	0.69±0.03 <sup>ab</sup>	4.71±0.55 <sup>abcde</sup>	0.49±0.06 <sup>bcdef</sup>
Cd(+) SNM	15.5±1.24 <sup>abcde</sup>	0.69±0.02 <sup>abcde</sup>	4.15±0.64 <sup>abcde</sup>	0.50±0.03 <sup>bcdef</sup>
Cd(+) SNH	12.2±0.75 <sup>e</sup>	0.72±0.04 <sup>abcde</sup>	5.23±0.93 <sup>abcde</sup>	0.50±0.08 <sup>bcdef</sup>
Cd(+) CCL	17.9±2.27 <sup>abc</sup>	0.63±0.03 <sup>abcde</sup>	2.90±0.44 <sup>e</sup>	0.31±0.04 <sup>f</sup>
Cd(+) CCM	17.4±2.56 <sup>abcd</sup>	0.65±0.04 <sup>abcde</sup>	2.81±0.44 <sup>e</sup>	0.45±0.03 <sup>cdef</sup>
Cd(+) CCH	12.5±0.93 <sup>de</sup>	0.67±0.04 <sup>abcde</sup>	5.97±0.45 <sup>abc</sup>	0.63±0.07 <sup>abcd</sup>
Cd(+) CNL	15.3±1.14 <sup>abcde</sup>	0.57±0.02 <sup>abcde</sup>	4.83±0.47 <sup>abcde</sup>	0.53±0.05 <sup>abcde</sup>
Cd(+) CNM	14.7±1.48 <sup>abcde</sup>	0.60±0.03 <sup>gh</sup>	4.06±0.68 <sup>abcde</sup>	0.47±0.07 <sup>cdef</sup>
Cd(+) CNH	17.2±1.13 <sup>abcd</sup>	0.65±0.04 <sup>abcde</sup>	4.58±0.93 <sup>abcde</sup>	0.49±0.11 <sup>bcdef</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0	15.7 <sup>a</sup>	0.63 <sup>b</sup>	4.73 <sup>a</sup>	0.53 <sup>a</sup>
0.04	15.7 <sup>a</sup>	0.67 <sup>a</sup>	4.18 <sup>a</sup>	0.45 <sup>b</sup>
Source Shrimp	15.7 <sup>a</sup>	0.66 <sup>a</sup>	4.49 <sup>a</sup>	0.48 <sup>a</sup>
Crab	15.7 <sup>a</sup>	0.64 <sup>b</sup>	4.43 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>
Type Chitosan	16.4 <sup>a</sup>	0.65 <sup>a</sup>	3.90 <sup>b</sup>	0.44 <sup>b</sup>
NOCC	15.0 <sup>b</sup>	0.64 <sup>a</sup>	4.99 <sup>a</sup>	0.55 <sup>a</sup>
M.W. Low	16.6 <sup>a</sup>	0.65 <sup>a</sup>	4.46 <sup>a</sup>	0.49 <sup>a</sup>
Medium	15.4 <sup>ab</sup>	0.64 <sup>a</sup>	4.23 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>
High	15.1 <sup>b</sup>	0.66 <sup>a</sup>	4.69 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>
Significant Factor <sup>3)</sup>	C	A, AB, CD	C	A, C, BD

1) Mean ± Standard Error (n=6)

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 4-way ANOVA (See Table 4)

린 합성속도 때문이라고 한다. 장기간의 Cd 노출시 MT는 간에서 서서히 방출되기 때문에 MT를 합성할 충분한 시간이 있다. 따라서 독성은 매우 높은 Cd 농도에 도달하기 전까지는 나타나지 않는다<sup>7)</sup>. 이러한 점에 비추어 볼 때 본 연구에서 Cd 공급시 약간의 신장기능 저하를 나타냈지만 혈청요소질소농도와 사구체 여과율로 볼 때 현저한 신장손상을 입었다고 보기는 어려웠다. Cd의 만성중독에서 Cd 노출수준과 지속기간이 세뇨관 손상정도에 중

요한 요소라는 점에서 Cd 공급수준이 더 높거나 실험기간이 더 연장되었을 때 심한 신장기능의 이상이 나타날 것으로 생각된다.

## 7. 변의 무게, 뇨와 변의 Cd 배설량과 Cd 보유율

Tube feeding에 의해 동량의 Cd를 공급하는 동안 수거한 변의 무게와 뇨와 변중의 Cd 배설량과 Cd 보유율은 Table 10에 제시하였다. 이들동안 배설한 변의 무

**Table 10.** Feces weigh, urinary and fecal Cd excretions, and Cd retention ratio

Group	Feces weight (g dry wt/sdays)	Urinary Cd (µg/day)	Fecal Cd (µg/day)	Cd retention ratio(%)
Cd(-) F(-)	1.76±0.19 <sup>jk(1,2)</sup>	1.48±0.35 <sup>e</sup>	1.70±0.24 <sup>h</sup>	-
Cd(+) F(-)	1.19±0.10 <sup>k</sup>	58.08±13.7 <sup>b</sup>	458.74±16.9 <sup>f</sup>	78.9±0.97 <sup>a</sup>
Cd(-) SCL	4.02±0.17 <sup>abcd</sup>	1.87±0.44 <sup>e</sup>	1.55±0.53 <sup>g</sup>	-
Cd(-) SCM	4.20±0.32 <sup>abc</sup>	2.13±0.43 <sup>e</sup>	1.68±0.24 <sup>h</sup>	-
Cd(-) SCH	3.63±0.18 <sup>bcde</sup>	1.90±0.46 <sup>e</sup>	1.87±0.45 <sup>h</sup>	-
Cd(-) SNL	2.73±0.18 <sup>ghi</sup>	1.94±0.36 <sup>e</sup>	1.93±0.41 <sup>h</sup>	-
Cd(-) SNM	3.03±0.30 <sup>efgh</sup>	1.99±0.43 <sup>e</sup>	2.02±0.43 <sup>h</sup>	-
Cd(-) SNH	2.73±0.21 <sup>ghi</sup>	1.97±0.56 <sup>e</sup>	1.82±0.41 <sup>h</sup>	-
Cd(-) CCL	3.63±0.11 <sup>bcde</sup>	2.14±0.56 <sup>c</sup>	2.43±0.34 <sup>h</sup>	-
Cd(-) CCM	4.03±0.27 <sup>abcd</sup>	2.33±0.33 <sup>e</sup>	1.72±0.24 <sup>h</sup>	-
Cd(-) CCH	4.50±0.37 <sup>a</sup>	2.03±0.46 <sup>e</sup>	2.09±0.28 <sup>h</sup>	-
Cd(-) CNL	3.21±0.28 <sup>defg</sup>	2.05±0.41 <sup>e</sup>	2.25±0.27 <sup>h</sup>	-
Cd(-) CNM	2.42±0.23 <sup>ghij</sup>	1.90±0.41 <sup>e</sup>	1.97±0.34 <sup>h</sup>	-
Cd(-) CNH	3.10±0.28 <sup>efg</sup>	1.96±0.50 <sup>e</sup>	1.97±0.36 <sup>h</sup>	-
Cd(+) SCL	3.72±0.21 <sup>abcde</sup>	19.92±8.66 <sup>de</sup>	817.86±26.6 <sup>b</sup>	65.7±1.32 <sup>d</sup>
Cd(+) SCM	3.43±0.37 <sup>cdef</sup>	38.34±4.08 <sup>bcd</sup>	829.51±18.5 <sup>b</sup>	64.6±0.92 <sup>d</sup>
Cd(+) SCH	3.64±0.14 <sup>bcde</sup>	40.52±11.6 <sup>bcd</sup>	829.79±44.4 <sup>b</sup>	64.4±1.79 <sup>de</sup>
Cd(+) SNL	1.95±0.30 <sup>ij</sup>	88.37±17.9 <sup>a</sup>	636.72±30.3 <sup>d</sup>	70.4±1.21 <sup>c</sup>
Cd(+) SNM	2.29±0.12 <sup>hij</sup>	47.12±9.88 <sup>bc</sup>	558.39±17.7 <sup>e</sup>	75.2±0.78 <sup>b</sup>
Cd(+) SNH	3.14±0.26 <sup>efg</sup>	48.93±12.8 <sup>bc</sup>	703.93±31.4 <sup>c</sup>	69.2±1.28 <sup>c</sup>
Cd(+) CCL	3.33±0.33 <sup>def</sup>	40.08±9.84 <sup>bcd</sup>	927.38±41.9 <sup>a</sup>	60.7±1.55 <sup>f</sup>
Cd(+) CCM	3.53±0.39 <sup>bcdef</sup>	46.17±10.7 <sup>bc</sup>	598.04±30.1 <sup>de</sup>	71.4±1.83 <sup>bc</sup>
Cd(+) CCH	4.27±0.25 <sup>ab</sup>	46.72±12.6 <sup>bc</sup>	905.92±28.5 <sup>a</sup>	61.0±1.23 <sup>ef</sup>
Cd(+) CNL	3.30±0.22 <sup>def</sup>	44.55±5.15 <sup>bc</sup>	616.40±24.4 <sup>de</sup>	72.8±0.96 <sup>bc</sup>
Cd(+) CNM	2.15±0.23 <sup>ij</sup>	47.62±11.4 <sup>bc</sup>	619.34±30.4 <sup>de</sup>	72.1±0.86 <sup>bc</sup>
Cd(+) CNH	3.25±0.17 <sup>def</sup>	33.17±8.67 <sup>cd</sup>	573.49±26.2 <sup>e</sup>	74.9±1.02 <sup>b</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0	3.43 <sup>a</sup>	2.02 <sup>b</sup>	1.94 <sup>b</sup>	-
0.04	3.15 <sup>b</sup>	44.36 <sup>a</sup>	713.64 <sup>a</sup>	-
Source Shrimp	3.19 <sup>a</sup>	22.61 <sup>a</sup>	357.58 <sup>a</sup>	68.4 <sup>a</sup>
Crab	3.39 <sup>a</sup>	21.59 <sup>a</sup>	342.75 <sup>a</sup>	69.0 <sup>a</sup>
Type Chitosan	3.84 <sup>a</sup>	19.35 <sup>a</sup>	393.20 <sup>a</sup>	64.5 <sup>b</sup>
NOCC	2.78 <sup>b</sup>	24.71 <sup>a</sup>	310.02 <sup>b</sup>	72.4 <sup>a</sup>
M.W. Low	3.22 <sup>b</sup>	22.02 <sup>a</sup>	354.21 <sup>a</sup>	67.8 <sup>b</sup>
Medium	3.13 <sup>b</sup>	22.60 <sup>a</sup>	320.81 <sup>b</sup>	70.8 <sup>a</sup>
High	3.53 <sup>a</sup>	21.65 <sup>a</sup>	375.95 <sup>a</sup>	67.5 <sup>b</sup>
Significant Factor <sup>3)</sup>	A, C, D, BD	A, BC	A, C, D, AC, AD	B, C, D, BCD

1) Mean±Standard Error(n=6)

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test

3) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 4-way ANOVA except for Cd retention ratio based on 3-way ANOVA(See Table 4)

게는 Cd공급군이 비공급군보다 적었는데 이것은 Cd공급군의 식이섭취량이 낮았던 것을 고려해 볼때 식이 섭취량 감소에 따른 결과이다. 섭취는 장내에서 소화되지 않기 때문에 섬유 섭취시 변의 양은 증가한다. 그런데 수용성 섬유는 대장의 박테리아에 의해서 발효가 되기 때문에 불수용성 섬유만큼 변의 양이 많이 증가하지 않는다<sup>72)</sup>. 실제로 pectin과 gums 등은 대장에서 상당한 분해가 일어나는데 pectin과 gum arabic은 100%분해

가 되고 cellulose의 분해정도는 40%미만이다<sup>73)</sup>. 본 연구에서도 chitosan과 NOCC 첨가로 변 배설량이 증가하였고 chitosan군이 NOCC군보다 높게 나타나 수용성 섬유인 NOCC가 장내에서 분해되어 NOCC군들의 변의 무게가 적었던 것으로 생각된다.

Cd 노출수준이 높으면 노의 Cd수준은 빠르게 증가하였다가 곧 안정된 plateau를 이루고 노출수준이 낮으면 plateau에 늦게 도달하기 때문에 과거와 현재의 Cd 노

출수준을 측정하는 적절한 monitoring parameter가 되지 못한다<sup>74)</sup>. 본 연구에서 Cd공급군들중 섬유를 넣지 않은 Cd(+)F(-)군이 섬유군들에 비해 혈액의 Cd농도가 유의적으로 높았으나 섬유 첨가군들간의 차이는 거의 없었는데 뇨의 Cd배설량은 혈액의 Cd농도와 유사한 경향을 보여 Cd(+)SCL군이 가장 낮았고 Cd(+)S-NL군이 비정상적으로 높게 나타난 것을 제외하고는 Cd(+)F(-)군이 섬유 첨가군들보다 높았고 섬유 첨가군들 사이에는 큰 차이가 없었다. 이것은 뇨의 Cd배설량은 신장 Cd농도와 혈액 Cd농도의 영향을 받기 때문에 혈액의 Cd농도가 증가하면 뇨의 Cd배설량이 증가한다는 보고<sup>69)</sup>와 일치하는 것을 볼 수 있었다.

Cd공급군에서 변으로 배설된 Cd양은 chitosan군들이 NOCC군들에 비해 유의적으로 높았고 고분자 섬유군들이 중분자 섬유군들보다 높았는데 전 실험군에서 Cd(+)CCL과 Cd(+)CCH군이 두드러지게 높았고 그 다음으로 새우 chitosan군들(Cd(+)SC-)이 높게 나타났다. 이와 같은 결과로 Cd(+)SCL군과 Cd(+)CCH군은 변으로 Cd배설을 증가시킴으로써 간과 신장에 Cd축적이 감소된 것으로 생각된다. Cd보유율은 변의 Cd배설량의 영향을 많이 받기 때문에 변의 Cd배설량이 높았던 Cd(+)CCL과 Cd(+)CCH군이 가장 낮았고 그다음으로 변으로의 Cd배설량이 비교적 높았던 새우 chitosan군들이 낮게 나타났다.

Chitosan이 금속과 결합하는 것은 amine기(C<sub>2</sub>)의 nitrogen이 금속이온과 배위결합을 하여 금속이온을 chelate하고 부분적으로 C<sub>3</sub>나 C<sub>6</sub>의 hydroxyl기도 관련되는 것으로 보고 있다. 따라서 amine기의 함량은 금속 결합에서 중요한 요소가 된다<sup>23)</sup>. Chitosan은 free amino group이 있어서 pH 6이하에서 용해되기 때문에 체내의 위산에 의해 점액성의 장내용물을 형성하여 금속이온을 trapping할 것이라고 제안되었다<sup>75)</sup>. 한편 NOCC는 primary, secondary amine, carboxyl, hydroxyl group이 관능기이고 중금속이나 organic cation과 반응하여 침전이 되는 성질이 있다<sup>26)</sup>. Lasco 등<sup>23)</sup>은 pH 5.0(25°C)에서 2시간동안 100mg의 chitosan을 50ppm의 Cd solution에 첨가하였을때 22%의 Cd가 chitosan과 결합하였음을 보고하였고 Hayes 등<sup>26)</sup>은 NOCC가 금속이온과 화학적 결합을 하여 격리시키고 철, 구리, 수은, 니켈, 아연 등의 이온은 NOCC solution에 작용하여 gel을 형성한다고 하였다. 이와 같이 chitosan과 NOCC는 물리화학적으로 금속결합능력이 크지만 본 연구에서 chitosan군이 NOCC군보다 변으로 배설한 Cd양이 많았던 것은 chitosan이 NOCC보다 점도가 높아서 장내에서 흡수저해효과가 더 크게 나

타났거나 chitosan이 NOCC보다 금속 흡착력이 더 뛰어났기 때문으로 생각된다. Muzzarelli 등<sup>25)</sup>은 N-carboxymethyl chitosan과 여러 종류의 금속이온의 결합정도를 pH변화에 따라 측정하였는데 Co, Cu, Zn, Hg, Pb는 pH 6-7에서 최대치를 나타냈고 Cd는 pH 5.5에서 50%의 retention을 보이다가 점점 증가하여 pH 7.5에서 90%의 retention을 나타냈다고 보고하였다. 이러한 점에서 볼때 chitosan과 NOCC의 금속 흡착력의 차이는 각각의 관능기가 다른 데에서 올 수도 있고 chitosan과 NOCC의 작용은 pH변화에 따라 많이 좌우되기 때문에 소화기관의 환경조건에 따라 chitosan과 NOCC의 금속 흡착력이 변화되어 초래될 수 있다고 보여진다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 급원과 분자량이 각각 다른 6가지의 chitosan (새우 chitosan 저,중,고분자 : 계 chitosan 저,중,고분자)와 6가지의 N,O-carboxymethyl chitosan (새우NOCC 저,중,고분자 : 계 NOCC 저,중,고분자)이 Cd의 대사 및 중독에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

본 연구에서 사용한 chitosan의 평균분자량은 10,000~230,000 범위였다. Chitosan과 NOCC의 점도는 계급원 섬유가 새우급원섬유보다 높았고, chitosan이 NOCC보다 높았으며 분자량이 클수록 점도가 높았다. Chitosan의 탈아세틸화도는 모두 87~93%정도로 비슷한 수준이었고 NOCC의 치환도는 저분자가 중분자와 고분자보다 높았고 전반적으로 계 NOCC가 새우 NOCC보다 약간 높았다.

Cadmium 공급시 체중증가율이 감소되고 혈액과 조직에 Cd이 축적되었다. 또한 소장, 간, 신장에서 metallothionein의 합성이 증가하였다. 이와 같은 Cd의 중독은 chitosan과 NOCC의 첨가로 완화되었는데 섬유급원, 섬유 종류, 분자량에 따라 다르게 나타났다.

섬유 급원에 의한 영향을 보면 소장과 간내 Cd농도에서는 유의적 차이가 없었으나 계급원 섬유군들의 혈액과 신장내 Cd농도와 신장의 MT농도, 간과 신장 MT내 Cd함량이 새우급원 섬유보다 낮게 나타난 것으로 볼때 계급원 섬유군들이 새우급원 섬유군들보다 Cd중독이 낮았던 것으로 보인다.

섬유 종류에 의한 영향을 보면 chitosan군들이 NOCC군들보다 소장과 간의 Cd농도가 낮았고, 변으로의 Cd배설량이 많았으며, 간과 신장의 MT농도 및 MT내 Cd함량이 낮은 것으로 볼때 chitosan은 변을 통한



Cd배설을 증가시켜 Cd흡수를 감소시키고 따라서 체내 Cd축적을 감소시킴으로써 NOCC보다 Cd중독을 완화하는데 더 효과가 있었다.

분자량에 따른 영향을 보면 변 Cd 배설량, Cd보유율, 간과 신장의 MT내 Cd농도에서 유의성이 나타났다. 중분자군들이 저분자나 고분자에 비해 변 Cd배설량이 낮았고 Cd보유율이 높았으며, 간과 신장의 MT내 Cd함량은 저분자군들이 높게 나타났다. 그러나 혈액과 조직내 Cd농도와 소장과 간, 신장 MT농도에서는 분자량에 따른 유의적 차이가 없었기 때문에 Cd중독에서 섬유질 급원과 종류와 관계없는 분자량만의 영향은 크게 나타나지 않았다고 생각된다.

Cd공급군에서 12가지의 섬유질들중 새우 chitosan 저분자군의 간과 신장의 Cd농도가 가장 낮았고 변 Cd배설량이 높았으며 소장과 간의 MT농도와 간 MT내 Cd함량이 가장 낮은 것으로 볼때 새우로부터 추출한 저분자의 chitosan이 Cd중독을 완화시키는 효과가 가장 컸다. 게 chitosan 고분자군은 새우 chitosan 저분자 다음으로 Cd중독을 완화시키는 효과가 있어 간과 신장내 Cd농도가 낮았고 변을 통한 Cd배설량이 높았으며 소장과 간, 신장의 MT농도가 낮았고 사구체 여과율도 정상수준이었다.

이상에서의 결과를 종합하여 보면 chitosan이 NOCC에 비하여 변으로의 Cd 배설량을 증가시켰고 chitosan 중에서 게 chitosan 중분자를 제외한 새우와 게 chitosan을 섭취한 동물에서 변 Cd 배설량이 높았다. Chitosan이 NOCC보다 Cd중독 완화 효과가 컸던 것은 chitosan이 NOCC보다 점도가 높아서 장내에서 Cd의 흡수억제 효과가 더 컸고 chitosan의  $-NH_2$ 기가 NOCC의  $-NHCH_2COOH$ 기 보다 Cd 이온과의 배위결합능이 컸기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 게 chitosan 중에서 저분자와 고분자의 점도의 차이는 매우 컸지만 게 chitosan 저분자와 고분자의 변을 통한 Cd 배설량은 차이가 없었고 새우 chitosan 저분자는 게 chitosan 고분자보다 변으로 Cd배설이 적었음에도 불구하고 Cd 중독완화효과가 가장 컸던 것으로 볼때 chitosan이 Cd 흡착능이 워낙 커서 점도에 따른 차이가 크게 나타나지 않았던 가능성을 생각해 볼 수 있지만 급원이 다른 데에서 기인하는 게와 새우 chitosan의 구조와 중합도 등의 차이가 Cd 흡착능에 영향을 주어 Cd중독 완화효과에서 차이가 난 것으로 생각된다.

### Literature cited

- 1) Friberg L, Elinder CG, Kijellstrom T, Nordberg GF. A toxicological and epidemiological appraisal. Vol. I, Exposure, Dose and Metabolism. In : Cadmium and Health, Boca Raton, FL, CRC Press, 1985
- 2) Friberg L, Elinder CG, Kijellstrom T, Nordberg GF. A toxicological and epidemiological appraisal. Vol II, Effects and responses. In : Cadmium and Health : Boca Raton, FL, CRC Press, 1986
- 3) Friberg L. Health hazards in the manufacture of alkaline accumulators with special reference to the chronic cadmium poisoning. *Acta Med Scand* 138(supple 240) : 1-124, 1950
- 4) Squibb KS, Fowler BA. Intracellular metabolism and effects of circulating cadmium-metallothionein in the kidney. *Environ Health Perspect* 54 : 31-35, 1984
- 5) Gontzea I, Popescu F. The effect of body protein supply on resistance to cadmium. *Br J Ind Med* 35 : 154-160, 1978
- 6) Faeder EJ, King LC, Hinners TA, Bruce R, Fower BA. Biochemical and ultrastructural changes in livers of cadmium treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 39 : 473-487, 1977
- 7) Friberg L, Piscator M, Nordberg G. In : Cadmium in the Environment, pp.88-134, CRC Press, Cleveland Ohio, 1971
- 8) Macdowell LR. In : Minerals in Animal and Human Nutrition, pp.359-361, Academic Press, USA, 1992
- 9) 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
- 10) Lawerys R. Criteria(Dose/Effect) Relationships for Cadmium. In : Commission of the European Communities, Oxford, Pergamon, 1979
- 11) Kojima S, Kiyozumi M, Mishima M, Honda T, Nakagawa M. Effects of three proteins on absorption of cadmium in rats. *Toxicology* 34 : 161-171, 1985
- 12) Bremner I. Heavy metal toxicities. *Q Rev Biophys* 7 : 75-124, 1974
- 13) Valberg LS, Sorbie J, Hamilton DL. Gastrointestinal metabolism of cadmium in experimental iron deficiency. *Am J Physiol* 231 : 462-467, 1976
- 14) Rose HE, Quarterman J. Effects of dietary phytic acid on lead cadmium uptake and depletion in rats. *Environ Res* 35 : 482-489, 1984
- 15) Rose HE, Quarterman J. Dietary fibers and heavy metal retention in the rat. *Environ Res* 42 : 166-175, 1989
- 16) 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 : 4494-4495, 1982
- 17) Knorr D. Use of chitinous polymers in food-A challenge for food research and development. *Food Technol* 23 : 85-97, 1984
- 18) Furda I. Aminopolysaccharides-Their potential as dietary fiber. In : Furda I, ed. Unconventional Sources of Dietary

- Fiber, American Chemical Society, pp.105-122, Washington DC, 1983
- 19) Austin PR, Brine CJ, Castle JE, Zikakis JP. Chitin : New facets of research. *Science* 212 : 749-753, 1981
  - 20) Muzzarrelli RAA. In : Chitin, pp.58, Pergamon Press, NY, 1977
  - 21) Skjak-Braek G, Anthonsen T, Sandford P. In : Chitin and Chitosan, Elsevier, New York, 1989
  - 22) Muzzarelli RAA, A Ferrero, M Pizzoli. Light-scattering, X-ray diffraction elemental analysis and infrared spectrophotometry characterization of chitosan, a chelating polymer. *Talanta* 19 : 1222-1226, 1972
  - 23) Lasko CL, Pesic BH, Oliver DJ. Enhancement of the metal-binding properties of chitosan through synthetic addition of sulfur- and nitrogen-containing compounds. *J Appl Pol Sci* 48 : 1565-1570, 1993
  - 24) 김미경 · 설은영. Chitin과 chitosan이 흰쥐의 Cd중독과 지방대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 27(10) : 996-1006, 1994
  - 25) Muzzarelli RAA, Tanfani F, Emanuelli M, Mariotti S. N-(carboxymethylidene) chitosan and N-(carboxymethyl)-chitosans : Novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate. *Carbohydrate Res* 107 : 199-214, 1982
  - 26) Hayes ER. N,O-carboxymethyl chitosan and preparative method therefor. U.S. Patent #4,619,995. Patents pending in Australia, Canada, France, Germany, Italy, Japan, the Netherlands and the United Kingdom, 1986
  - 27) 배계현 · 김호정 · 김미경. Chitin, chitosan 및 수용성 chitosan 유도체가 흰쥐의 cadmium중독과 지방대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 30(6) : 622-633, 1997
  - 28) Eastwood MA, Mowbray L. The binding of the components of mixed micell to dietary fiber. *Am J Clin Nutr* 29 : 1461-1467, 1976
  - 29) Filar LT, Wirick MG. In : Muzzarelli RAA, Pariser ER. eds. Proceedings of the first international conference on chitin and chitosan at MIT, pp.169-181, 1978
  - 30) Lee VF. *Diss Abstr Int* B35 : 3275, 1975
  - 31) 강현전. 새우껍질 chitosan의 물리화학적 성질 및 깎두기의 보존성에 미치는 영향. 이화여자대학교 석사학위논문, 1993
  - 32) Blair, HS, Guthrie J, Law TK, Turkington D. Chitosan and modified chitosan membranes. I. Preparation and characterization. *J Appl Pol Sci* 33 : 641-645, 1987
  - 33) Zinterhofer LTM, Jotolow PT, Fappiano A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78 : 664-670, 1971
  - 34) Yeager DW, Cholok J, Henderson EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrometry. *Environ Sci Technol* 5 : 1020-1028, 1971
  - 35) Onosaka S, Cherian MG. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods. *Toxicol Appl Pharmacol* 63 : 270-274, 1982
  - 36) Eaton DL, Toal BF. Evaluation of the Cd/Hb affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissue. *Toxicol Appl Pharmacol* 66 : 134-142, 1982
  - 37) Eaton DL, Cherian MG. Determination of metallothionein in tissue by cadmium-hemoglobin affinity assay. *Methods Enzymol* 205 : 83-88, 1991
  - 38) Lehman LD, Klaassen CD. Separation and quantitation of metallothioneins by high performance liquid chromatography coupled with atomic absorption spectrometry. *Anal Biochem* 153 : 305-315, 1986
  - 39) Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS. Kidneys and regulation of water inorganic ions. In : Human Physiology, McGraw-Hill, Inc, 1994
  - 40) Steel RGD, Torrie JH. In : Principles and Procedures of Statics, pp.481, Mc Graw-Hill Book Company, NY, 1960
  - 41) Itokawa Y, Abe T, Tabei R, Tanaka S. Renal and skeletal lesions in experimental cadmium poisoning : Histological and biological approaches. *Arch Environ Health* 28 : 149-154, 1974
  - 42) Takashima M, Nishro K, Itokawa Y. Effect of cadmium administration on growth, excretion and tissue accumulation of cadmium and historical alterations in calcium-sufficient and -deficient rats : An equalized feeding study. *Toxicol Appl Pharmacol* 45 : 591-598, 1978
  - 43) Powell GW, Miller WJ, Morton JD, Clifton CM. Influence of dietary cadmium level and supplemental zinc on cadmium toxicity in the bovine. *J Nutr* 84 : 205-207, 1964
  - 44) Sugano M, Fujikawa T, Hiratsuji Y, Hasegawa Y. Hypocholesterolemic effects of chitosan in cholesterol-fed rats. *Nutr Rept Int* 18 : 531-537, 1978
  - 45) Fukada Y, Kimura K, Ayaki Y. Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. *Lipids* 26 : 395-399, 1991
  - 46) Lucis OJ, Lynk ME, Lucis R. Turnover of cadmium 109 in rats. *Arch Environ Health* 18 : 307-310, 1969
  - 47) Washiko PW, Cousins RJ. Role of dietary calcium and calcium binding protein in cadmium toxicity in rats. *J Nutr* 107 : 920-928, 1977
  - 48) Lehman LD, Klaassen CD. Dosage-dependent deposition of cadmium administered orally to rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 84 : 159-167, 1986
  - 49) Phillpotts CJ. Retention of cadmium in the duodenum of the rat following oral administration. *Toxicology* 14 : 245-253, 1979
  - 50) Foulkes EC. Absorption of cadmium. In : Foulkes EC, ed. Handbook of Experimental Pharmacology : Cadmium, Vol. 80, Springer Verlag, New York, 1986

- 51) Cahill AL, Nyberg D, Ehret CF. Tissue distribution of cadmium and metallothioneins as a function of day and dosage. *Environ Res* 31 : 54-65, 1983
- 52) Bhatta Charyya MH, Sellers DA, Peterson DP. Postlactational changes in cadmium retention in mice orally exposed to cadmium during pregnancy and lactation. *Environ Res* 40 : 145-154, 1986
- 53) Onosaka S, Cherian MG. The induced synthesis of metallothionein in various tissue of rat in response to metals. I. Effects of repeated injection of cadmium salts. *Toxicology* 22 : 91-101, 1981
- 54) Shaikh ZA, Lucis OJ. Isolation of cadmium binding proteins. *Experientia* 27 : 1024-1025, 1971
- 55) Suzuki KT, Yamamura M. Isolation and characterization of metallothionein dimers. *Biochem Pharmacol* 29 : 689-692, 1979
- 56) Taguchi T. Observations on the distribution and the movement of cadmium in epithelial cells of rat small intestine by light- and electron microscope radio autography. *J Toxicol Environ Health* 15 : 509-520, 1985
- 57) Taguchi T, Nakamura K. Isolation and properties of cadmium binding protein induced in rat small intestinal mucosa of rats administered cadmium. *Jap J Hyg* 33 : 467-473, 1982
- 58) Nordberg M. Studies on metallothionein and cadmium. *Environ Res* 15 : 381-404, 1978
- 59) Sunaga H, Yamane Y, Aoki Y, Suzuki KT. Different distribution of cadmium in the liver supernatant between in vivo and in vitro. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 74 : 215-222, 1991
- 60) Suzuki KT, Yaguchi K, Ohnuki R, Nishikawa M, Yamada YK. Extent of cadmium accumulation and its effect on essential metals in liver, kidney and body fluids. *J Toxicol Environ Health* 11 : 713-726, 1983
- 61) Suzuki KT. Metallothionein : Analysis in tissue and toxicological significance. In : Nordberg GF, Herber RFM, Alessio L, eds. Cadmium in the Human Environment : Toxicity and Carcinogenicity, pp.211-217, IARC, Lyon, 1992
- 62) Dorian C, Gattone II VH, Klaassen CD. Discrepancy between the nephrotoxic potences of cadmium-metallothionein and cadmium chloride and renal concentration of cadmium in the proximal convoluted tubules. *Toxicol Appl Pharmacol* 130 : 161-168, 1995
- 63) Dudley RE, Gammal LM, Klaassen CD. Cadmium induced hepatic and renal injury in chronically exposed rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 77 : 414-426, 1985
- 64) Sato M, Nagai Y. Cadmium in rat kidney subcellular particles after injection of cadmium-metallothionein. *J Toxicol Sci* 11 : 29-39, 1986
- 65) Sendelbach LE, Klaassen CD. Kidney synthesizes less metallothionein than liver in response to cadmium chloride cadmium-metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol* 92 : 95-102, 1988
- 66) Nomiyama K, Nomiyama H. Critical concentration of 'unbound' cadmium in the rabbit renal cortex. *Experientia* 42 : 149, 1986
- 67) Goyer RA. Mechanism of lead and cadmium nephrotoxicity. *Toxicol Lett* 46 : 153-162, 1989
- 68) Piscator M. The nephropathy of chronic cadmium poisoning. In : Foulkes EC ed. Handbook of Experimental Pharmacology : Cadmium, Vol. 80, pp.180-194, Springer Verlag Press, New York, 1986
- 69) Fowler BA, Nordberg GF. The renal toxicity of cadmium metallothionein : Morphometric and X-ray microanalytical studies. *Toxicol Appl Pharmacol* 46 : 609-623, 1978
- 70) Waku K. The chemical form of cadmium in subcellular fractions following cadmium exposure. *Environ Health Perspect* 54 : 37-44, 1984
- 71) Nordberg M, Nordberg GF. On the role of metallothionein in cadmium induced renal toxicity. In : *Experientia supplementum* Vol. 52 Metallothionein II, Birkhuser Verlag Basal, 1987
- 72) Topping DL. Soluble fiber polysaccharides : Effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. *Nutr Rev* 49 : 195-203, 1991
- 73) Topping DL, Illman RJ. Bacterial fermentation in the human large bowel. Time to change from the roughage model of dietary fiber. *Med J Aust* 144 : 307-309, 1986
- 74) Nomiyama K, Liu SJ, Nimiyama H. Critical levels of blood and urinary cadmium, urinary  $\beta_2$ -microglobulin and retinol binding protein for monitoring cadmium health effects In : Nordberg GF, Herber RFM, Alessio L, eds. Cadmium in the Human Environment : Toxicity and Carcinogenicity, pp.325-340, Lyon, IARC, 1992
- 75) Gordon DJ. Chitin and chitosan : Influence on element absorption in rats. In : Furda I, ed. Unconventional Sources of Dietary Fiber, pp.155-184, American Chemical Society, Washington DC, 1983