

## 급원과 분자량이 다른 Chitosan과 N,O-Carboxymethyl Chitosan이 지방대사에 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 Lipid Metabolism

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 lipid metabolism. 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 chitosan and NOCC sources were given at the level of 0 or 4%(w/w) of diet. Total serum cholesterol and serum triglyceride concentrations were little affected by chitosan and NOCC supplements. However HDL-cholesterol concentration and HDL : total cholesterol ratio were increased, and liver lipid, cholesterol, and triglyceride concentrations were decreased by chitosan and NOCC supplements. The cholesterol and lipid lowering activity depends on fiber source(crab and shrimp), type (chitosan and NOCC), and molecular weight(low, medium, and high). Among cadmium-free groups, chitosan-fed groups showed greater activity than NOCC-fed groups in lowering cholesterol and lipid levels, and greater fecal excretion of lipids and bile acids. Crab chitosans were more effective in cholesterol and lipid lowering activity than shrimp chitosans. The group fed high molecular weight crab chitosan showed the highest fecal excretion of lipids and bile acids. This indicated that high molecular weight crab chitosan was most effective in interfering with cholesterol and lipid absorption. (*Korean J Nutrition* 30(7) : 770~780, 1997)

**KEY WORDS** : chitosan · NOCC · lipid metabolism.

#### 서 론

식이섬유(dietary fiber)는 다양한 화학적 그리고 형태적 구조를 가진 물질의 복합체로 식이섬유와 건강과의 관련성은 20세기 중반까지만 해도 큰 관심의 대상이

채택일 : 1997년 6월 11일

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

아니었다. 그러다가 1960년대 말 아프리카 지역의 역학 조사를 통하여 아프리카인과 유럽인의 식이섬유량의 차이가 여러 퇴행성 질환의 유발율의 차이를 나타내는 한 요인임이 밝혀지면서 fiber hypothesis를 생각하게 되었다<sup>1)</sup>. 그 후 식이섬유가 서구사회에서 많이 발병되는 동맥경화증과 심장질환의 유발을 방지할 수 있다고 알려지면서<sup>2,4)</sup> 여러 연구자들의 연구대상이 되어왔다. 많은 연구에서 식이섬유는 고지혈증과 허혈성 심장질환을 방지하고 식이섬유의 부족은 비만이나 당뇨병등

심장병의 위험요소와 관련이 있다고 제시되었다<sup>5)</sup>. 요즘 우리나라 사람들의 식습관이 서구화되면서 개발국에서 만연하던 영양과잉과 만성성인질환의 발병율이 증가하고 있고 사람들은 건강유지와 질병예방에 대한 관심이 커져가고 있다. 이러한 추세에 발맞추어 최근에는 제과제빵류와 아침식사용 씨리얼제품에 식이섬유가 첨가되고 있고 여러 기능성 식품이나 음료에 기능성분으로 식이섬유가 인기를 끌고 있다.

Trowell<sup>6)</sup>은 1976년 식이섬유(dietary fiber)란 사람의 소화효소에 의해 가수분해되지 않는 식물성 다당류와 lignin이라고 정의하였다. 그러나 이 정의에는 동물성 급원과 인공적으로 합성한 gum류나 polydextrose는 포함되지 않는 제한점이 있다. 이 제한점을 인식한 Godding<sup>7)</sup>은 식용섬유(edible fiber)란 사람의 소화효소에 의해 가수분해되지 않는 polysaccharide, related polymer와 lignin이라고 주장하였다. 그러므로 급원에 상관없이 중합성(polymeric nature)과 사람의 소화효소에 의해 가수분해되지 않는 성질을 가진 물질은 식이섬유에 해당된다. Godding의 정의에 의해 갑각류의 껍질과 곤충의 표피에 존재하는 chitin은 동물성 섬유에 해당된다<sup>8)</sup>. Chitin이 어떤 용매에도 용해되지 않는 불용성 고분자 물질인 것에 반하여 chitin의 유도체인 chitosan은 free amino기가 있어 pH 6.5이하의 약산성 용액에 녹을수 있는 점액성 섬유이다<sup>9)</sup>. 또한 chitosan에서 유도된 NOCC는 carboxymethyl기로 치환되지 않은 primary amine(-NH<sub>2</sub>)과 carboxymethyl기로 치환된 secondary amine(-NHCH<sub>2</sub>COOH)을 가지고 있는 heterogenous한 물질로 pH 2~6에서 gel을 형성하고 수용액에서 용해되는 성질이 있다<sup>10)</sup>. 식이섬유중 guar gum과 pectin과 같은 수용성 식이섬유는 혈당을 강하시키고 혈중 cholesterol을 낮추기 때문에<sup>11)</sup> chitosan과 NOCC가 각각 약산과 물에 녹을수 있는 성질은 생리적으로 매우 중요한 점이라 할 수 있다. 많은 식물성 섬유가 1960년대 이후로 고유의 특성과 기능성으로 주목을 받아온 가운데 chitosan은 1978년 Sugano<sup>12)</sup>에 의해 chitosan이 hypocholesterolemic effect가 있다고 알려지면서 부터 chitosan의 작용에 관심을 갖고 지방대사와 chitosan을 관련지어 활발히 연구되고 있다. 동물실험에서 chitosan은 혈청 cholesterol과 지방수준을 저하시키는 효과가 있는데 식물성 섬유에서 효과가 있다고 알려진 pectin보다 효과가 컸고 림프에서 지방질의 흡수를 저해한다고 보고되었다<sup>12)</sup>. 또한 chitosan은 장내에서 cholesterol이 coprostanol로 전환되는 것을 감소시키고 변으로 중성 sterol의 배설을 증가시키며<sup>12)14)</sup> in vitro 실험에서 bile ac-

id나 fatty acid와 같은 anion과 결합한다고 보고되었다<sup>8)</sup>. Chitosan에 관한 연구가 계속되고 있는것에 반하여 NOCC의 생리적 기능에 관한 보고는 거의 없는 실정이다. NOCC의 제조법을 고안한 Davis 등<sup>15)</sup>은 NOCC도 chitosan과 유사한 성질을 갖고 있기 때문에 cholesterol 저하기능과 상처회복에 효과가 있을것 이라고 제안하였다. 배 등<sup>16)</sup>은 chitosan과 NOCC가 지방대사에 미치는 생리적 활성을 비교하였는데 NOCC도 chitosan과 비슷한 정도의 hypocholesterolemic, hypolipidemic effect가 있음을 보고하였다.

식이 섬유가 지방대사에 영향을 주는 특성으로 섬유의 수분보유력, gel 형성능력, 흡착능 등을 일컫는다. 수분보유력은 섬유의 물리화학적 구조와 입자크기의 영향을 받는다. Pectin이나 guar gum과 같은 수용성이고 수화능력이 있으며 점성이 있는 다당류는 장에서 영양소의 확산에 영향을 주고 장세포의 흡수 표면으로 빨리 접근하는것을 방지한다<sup>17)</sup>. 식이 섬유의 conjugated나 unconjugated bile acid를 격리(sequesterant)하는 능력은 흡착성질과 관계가 있고 섬유의 물리적, 화학적 형태, bile acid의 종류, bile acid의 micellar form, pH등의 영향을 받는다<sup>18)</sup>. 이와같이 식이섬유의 다양한 물리화학적 특성은 소화기관내에서 서로 다르게 작용하여 다른 생리적 기능을 나타내게 된다. 그중에서 식이섬유의 점도는 중요한 인자로 손꼽히고 있다. Chitosan의 물리적 성질과 기능성을 크게 좌우하는 요인은 점도(viscosity)와 탈아세틸화도(deacetylation)이다<sup>19)</sup>. 그런데 chitosan의 점도는 chitosan의 분자량에 따라 좌우되는 경향을 나타낸다. 몇몇 연구에서 chitosan의 분자량(viscosity)이나 탈아세틸화도에 따른 cholesterol과 지방저하 효과를 비교하였는데 그 연구 결과들은 일치하고 있지 않다. Sugano<sup>20)</sup>은 점도가 다양한(17-1620 cps) chitosan으로 연구한 결과 점도에 따른 cholesterol 저하효과에 차이가 없었다고 하였으나 Lehoux와 Grondin<sup>21)</sup>은 저분자의 chitosan이 고분자의 chitosan보다 hypocholesterolemic effect가 더 크다고 하였다. 또한 Ishii<sup>22)</sup>은 점도가 비슷할때 탈아세틸화도가 큰것이 혈청 cholesterol 저하효과가 컸다고 보고하였다. 이와 같은 연구 결과들을 볼때 chitosan의 분자량과 탈아세틸화도에 따라 물리화학적 및 기능적 성질이 달라지고<sup>19)</sup> 또한 식이섬유의 급원에 따라 chitosan이나 NOCC의 물리화학적, 기능적 성질의 차이가 있으리라고 예상된다.

따라서 본 연구에서는 새우와 계에서 추출된 분자량이 저, 중, 고인 chitosan 6가지와 NOCC 6가지로 총 12가지 섬유가 섬유의 급원(새우, 계), 섬유의 종류(ch-

itosan, NOCC). 분자량(저, 중, 고)에 따라 지방대사에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고, 이러한 영향의 차이가 chitosan과 NOCC의 물리화학적 성질에 의한 것인지 알아보려고 하였다.

## 연구방법

### 1. 실험동물의 사육 및 식이

본 연구의 실험동물과 실험식은 이미 보고<sup>41)</sup>된 바와 같다. 즉 Sprague Dawley 종 수컷 흰쥐를 6마리씩 26군으로 나누어 4주간 사육하였다. 실험군은 13군의 Cd비공급군과 13군의 Cd공급군이었는데 각각 대조군과 12군의 식이섭유 첨가군으로 구성되었다. 13군의 Cd공급군은 급원과 분자량이 다른 chitosan과 NOCC가 Cd와 지방대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 설정되었는데 Cd대사에 관한 연구는 이미 보고<sup>41)</sup>하였고 본보에서는 지방대사에 국한하여 보고하였다. 식이섭유 첨가군에는 각각 새우와 게에서 추출한 분자량이 저, 중, 고인 12가지의 chitosan이나 NOCC를 식이내 4% 수준으로 첨가하였고 Cd공급군은 CdCl<sub>2</sub>를 식이무게의 0.04% 수준으로 식이에 첨가하였다.

본 연구에서 사용한 chitosan과 NOCC는 우리나라 산 중하와 홍계로 부터 제조하였으며 점도와 chitosan의 분자량, 탈아세틸화도, NOCC의 치환도는 이미 보고<sup>16)</sup>된 바와 같다.

## 2. 시료의 수집 및 분석

### 1) 시료의 채취

실험종료전 5일동안 이미 보고<sup>41)</sup>된 바와 같이 변을 채취하여 동결건조시켜 냉동보관 하였다. 또한 단두로 희생시켜 채취된 혈액은 2000rpm에서 원심분리하여 혈청을 얻은후 냉동보관하였고 실험동물을 해부하여 얻은 간은 무게 측정후 -70℃의 deep freezer에 보관하였다.

### 2) 생화학적 분석

혈청의 총 cholesterol과 HDL-cholesterol은 cholesterol esterase를 이용한 효소법 kit(국제시약, 일본)으로 520nm에서 비색정량 하였고 중성지방은 lipoprotein lipase를 포함하는 효소법 kit로 550nm에서 비색정량하였다. 간과 변의 총지방량은 Bligh & Dyer법<sup>23)</sup>을 이용하여 정량하였고 간과 변의 총 cholesterol과 중성지방은 Bligh & Dyer법<sup>23)</sup>에 의해 추출된 총지방을 chloroform에 녹여 각각 Zak법<sup>24)</sup>과 Biggs법<sup>25)</sup>에 의해 측정하였다. 변의 총 bile acid는 Hagerma-

nn과 Schneider의 방법<sup>26)</sup>에 따라 변 0.5g에 0.1N HCl을 포함한 80% ethanol 10ml을 넣고 vortex에서 간헐적으로 1시간동안 흔들어서 bile acid를 추출한다음 2500×g에서 10분간 원심분리후 상층액 2ml을 screw cap tube에 옮겨 담는다. 여기에 petroleum ether 2 vol을 넣어 비극성지방을 제거한후 bile acid 측정에 사용하였다. Bile acid의 분석은 3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase가 NAD 존재하에서 3 $\alpha$ -hydroxy bile acid를 산화시키는 원리<sup>27)</sup>를 이용하여 파장 340 nm(Spectronic 301, Milton Roy)에서 흡광도를 측정하였다.

### 3. 통계처리

본 연구의 모든 실험결과를 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하여  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test로 각 실험군의 평균치간의 유의성을 검정하였다. 식이인자에 따른 차이를 알아보기 위하여 Cd(-)F(-)군과 Cd(+)F(-)군을 제외한 모든 실험군을 CdCl<sub>2</sub> 수준(0, 0.04%), 섭취의 급원(새우, 게), 섭취의 종류(chitosan, NOCC), 섭취의 분자량(저, 중, 고) 별로 통합하여  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test로 평균치간의 유의성을 검정하였다<sup>28)</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.

## 결과 및 고찰

### 1. 혈청과 간의 지질

Chitosan과 NOCC의 체내 총지방, cholesterol, 중성지방의 저하효과를 알아보기 위하여 혈청과 간의 지질분석을 한 결과(Table 1, 2)는 혈청과 간에서의 경향이 다르고 같은 섬유를 공급하였어도 Cd공급군과 비공급군에서의 효과가 다르게 나타났다. 혈청 cholesterol 수준은 전반적으로 Cd를 공급하지 않은군에서는 chitosan과 NOCC첨가군들이 대조군인 Cd(-)F(-)군과 거의 비슷하거나 높은 경향을 나타내서 chitosan과 NOCC의 hypocholesterolemic effect가 나타나지 않았다. Cd공급군에서는 chitosan과 NOCC의 첨가로 혈청 cholesterol 수준이 감소하였는데 게보다는 새우급원이, NOCC보다는 chitosan의 cholesterol 저하효과가 더 크게 나타났다. 그러나 게 NOCC군들은 가장 효과가 적었다. 한편 분자량의 영향이 유의적이어서 평균적으로 중분자 섬유가 저분자나 고분자 섬유보

**Table 1.** Serum total cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol concentrations, and HDL : total cholesterol ratio

Group <sup>1)</sup>	Serum cholesterol (mg/100ml)	Serum triglycerides (mg/100ml)	Serum HDL-cholesterol (mg/100ml)	HDL : total cholesterol ratio
Cd(-) F(-)	99.8 ± 4.50 <sup>fg23i</sup>	88.5 ± 12.7 <sup>abx</sup>	22.0 ± 3.76 <sup>efgh</sup>	0.21 ± 0.03 <sup>cd</sup>
Cd(+) F(-)	121.5 ± 6.82 <sup>abc</sup>	47.1 ± 9.13 <sup>defg</sup>	24.6 ± 2.41 <sup>defgh</sup>	0.20 ± 0.02 <sup>de</sup>
Cd(-) S C L	89.7 ± 1.71 <sup>ghi</sup>	93.8 ± 17.0 <sup>ab</sup>	22.2 ± 2.59 <sup>efgh</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>abcde</sup>
Cd(-) S C M	111.7 ± 5.14 <sup>bcdef</sup>	99.5 ± 13.0 <sup>a</sup>	28.7 ± 3.04 <sup>bcdefg</sup>	0.25 ± 0.02 <sup>abcde</sup>
Cd(-) S C H	122.2 ± 4.55 <sup>ab</sup>	99.6 ± 16.5 <sup>a</sup>	31.6 ± 3.43 <sup>abcd</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>abcde</sup>
Cd(-) S N L	112.2 ± 4.57 <sup>bcdef</sup>	85.3 ± 14.7 <sup>abx</sup>	35.0 ± 4.02 <sup>abc</sup>	0.30 ± 0.02 <sup>ab</sup>
Cd(-) S N M	118.9 ± 4.72 <sup>abc</sup>	72.1 ± 10.5 <sup>abx</sup>	25.9 ± 2.26 <sup>defgh</sup>	0.22 ± 0.02 <sup>bcde</sup>
Cd(-) S N H	106.9 ± 4.06 <sup>bcdef</sup>	66.0 ± 8.83 <sup>bcdef</sup>	31.0 ± 3.74 <sup>abcde</sup>	0.28 ± 0.03 <sup>abx</sup>
Cd(-) C C L	97.5 ± 2.32 <sup>fgh</sup>	85.1 ± 12.1 <sup>abx</sup>	24.1 ± 2.01 <sup>defgh</sup>	0.25 ± 0.02 <sup>abcde</sup>
Cd(-) C C M	116.7 ± 3.34 <sup>abcde</sup>	102.1 ± 14.3 <sup>a</sup>	36.1 ± 1.94 <sup>ab</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>a</sup>
Cd(-) C C H	106.4 ± 2.28 <sup>cdef</sup>	86.9 ± 4.85 <sup>abc</sup>	26.9 ± 2.98 <sup>cdefgh</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>abcde</sup>
Cd(-) C N L	101.0 ± 4.54 <sup>efg</sup>	58.1 ± 5.09 <sup>cdefg</sup>	37.8 ± 4.09 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.03 <sup>ab</sup>
Cd(-) C N M	116.5 ± 5.43 <sup>abcde</sup>	67.0 ± 5.40 <sup>bcdef</sup>	29.1 ± 2.68 <sup>bcdef</sup>	0.24 ± 0.02 <sup>abcde</sup>
Cd(-) C N H	96.4 ± 1.83 <sup>fgh</sup>	70.8 ± 8.23 <sup>abcde</sup>	27.8 ± 1.85 <sup>bcdefgh</sup>	0.28 ± 0.01 <sup>abcde</sup>
Cd(+) S C L	74.5 ± 2.54 <sup>ij</sup>	42.2 ± 4.58 <sup>defg</sup>	24.2 ± 2.08 <sup>defgh</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>a</sup>
Cd(+) S C M	81.3 ± 2.22 <sup>ij</sup>	56.4 ± 7.02 <sup>defg</sup>	26.4 ± 2.35 <sup>cdefgh</sup>	0.32 ± 0.03 <sup>a</sup>
Cd(+) S C H	74.5 ± 3.14 <sup>ij</sup>	37.6 ± 5.01 <sup>bc</sup>	23.4 ± 1.61 <sup>defgh</sup>	0.30 ± 0.02 <sup>ab</sup>
Cd(+) S N L	98.8 ± 4.05 <sup>bc</sup>	64.2 ± 7.45 <sup>bcdefg</sup>	19.4 ± 3.06 <sup>h</sup>	0.20 ± 0.03 <sup>de</sup>
Cd(+) S N M	101.6 ± 3.56 <sup>defg</sup>	38.5 ± 2.25 <sup>cfi</sup>	19.1 ± 1.35 <sup>h</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>de</sup>
Cd(+) S N H	69.9 ± 5.82 <sup>i</sup>	60.3 ± 4.48 <sup>cdefg</sup>	21.2 ± 3.21 <sup>fgh</sup>	0.29 ± 0.03 <sup>abc</sup>
Cd(+) C C L	80.8 ± 3.77 <sup>ij</sup>	32.9 ± 5.08 <sup>ij</sup>	24.2 ± 1.30 <sup>defgh</sup>	0.30 ± 0.02 <sup>ab</sup>
Cd(+) C C M	83.5 ± 5.68 <sup>hij</sup>	40.3 ± 2.06 <sup>defg</sup>	24.0 ± 2.03 <sup>defgh</sup>	0.29 ± 0.02 <sup>abc</sup>
Cd(+) C C H	76.8 ± 5.67 <sup>ij</sup>	55.8 ± 11.5 <sup>acdefg</sup>	24.5 ± 0.87 <sup>defgh</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>a</sup>
Cd(+) C N L	115.4 ± 4.26 <sup>abcde</sup>	52.3 ± 8.89 <sup>defg</sup>	19.9 ± 2.77 <sup>gh</sup>	0.18 ± 0.02 <sup>c</sup>
Cd(+) C N M	101.5 ± 4.06 <sup>cdefg</sup>	48.6 ± 7.16 <sup>defg</sup>	19.9 ± 1.70 <sup>gh</sup>	0.20 ± 0.02 <sup>de</sup>
Cd(+) C N H	128.0 ± 10.5 <sup>a</sup>	49.0 ± 5.41 <sup>defg</sup>	22.0 ± 2.07 <sup>efgh</sup>	0.18 ± 0.02 <sup>c</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0	107.8 <sup>a</sup>	81.9 <sup>a</sup>	29.6 <sup>a</sup>	0.27 <sup>a</sup>
0.04	91.0 <sup>b</sup>	48.8 <sup>b</sup>	22.4 <sup>b</sup>	0.25 <sup>a</sup>
Source Shrimp	97.1 <sup>b</sup>	68.7 <sup>a</sup>	25.6 <sup>a</sup>	0.26 <sup>a</sup>
Crab	102.0 <sup>a</sup>	62.8 <sup>a</sup>	26.4 <sup>a</sup>	0.26 <sup>a</sup>
Type Chitosan	93.3 <sup>b</sup>	70.3 <sup>a</sup>	26.3 <sup>a</sup>	0.28 <sup>a</sup>
NOCC	105.7 <sup>a</sup>	61.3 <sup>b</sup>	25.7 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>
M.W. Low	97.0 <sup>b</sup>	65.4 <sup>a</sup>	25.8 <sup>a</sup>	0.26 <sup>a</sup>
Medium	104.0 <sup>a</sup>	66.1 <sup>a</sup>	26.2 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>
High	97.6 <sup>b</sup>	65.6 <sup>a</sup>	25.9 <sup>a</sup>	0.27 <sup>a</sup>
Significant Factor <sup>4)</sup>	A, B, C, D, AB, AC, AD, CD	A, C, AC	A, AC, Cd	C, AC

1) Classification of experimental groups are listed on the table 1 of the preceding paper.

2) Mean ± Standard Error(n=6)

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

4) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 4-way ANOVA. Significant factor notations used for 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.

**Table 2.** Liver total lipid, cholesterol and triglycerides concentrations

Group	Liver lipid(mg/g wet wt)	Liver cholesterol(mg/g wet wt)	Liver TG(mg/g wet wt)
Cd(-) F(-)	85.8± 4.89 <sup>a1)2)</sup>	9.35±0.50 <sup>bc</sup>	16.95±1.22 <sup>a</sup>
Cd(+) F(-)	33.1± 4.77 <sup>efg</sup>	8.07±0.30 <sup>defg</sup>	9.39±1.79 <sup>bcd</sup>
Cd(-) S C L	58.8± 4.61 <sup>cd</sup>	4.90±0.24 <sup>j</sup>	12.29±1.97 <sup>b</sup>
Cd(-) S C M	65.0± 5.90 <sup>bc</sup>	6.35±0.37 <sup>hi</sup>	16.85±2.53 <sup>a</sup>
Cd(-) S C H	60.2± 7.31 <sup>cd</sup>	6.52±0.52 <sup>hi</sup>	9.13±1.25 <sup>bcd</sup>
Cd(-) S N L	64.7±10.7 <sup>bc</sup>	6.91±0.35 <sup>dhi</sup>	8.42±1.00 <sup>bcd</sup>
Cd(-) S N M	78.0± 9.89 <sup>ab</sup>	8.50±0.76 <sup>cdef</sup>	9.12±1.16 <sup>bcd</sup>
Cd(-) S N H	68.1± 7.19 <sup>bc</sup>	3.71±0.24 <sup>kl</sup>	7.53±0.97 <sup>bcd</sup>
Cd(-) C C L	58.4± 5.52 <sup>cd</sup>	3.58±0.17 <sup>kl</sup>	8.88±0.64 <sup>bcd</sup>
Cd(-) C C M	64.5± 1.92 <sup>bc</sup>	2.87±0.29 <sup>j</sup>	7.70±0.48 <sup>bcd</sup>
Cd(-) C C H	66.8± 2.81 <sup>bc</sup>	4.47±0.51 <sup>ik</sup>	9.05±0.60 <sup>bcd</sup>
Cd(-) C N L	64.0± 3.05 <sup>bc</sup>	11.15±0.60 <sup>j</sup>	11.15±1.87 <sup>bcd</sup>
Cd(-) C N M	88.8± 8.81 <sup>a</sup>	7.52±0.29 <sup>efgh</sup>	11.30±0.75 <sup>bcd</sup>
Cd(-) C N H	69.5± 3.08 <sup>bc</sup>	6.22±0.42 <sup>i</sup>	11.53±0.77 <sup>bcd</sup>
Cd(+) S C L	25.6± 2.44 <sup>h</sup>	5.08±0.27 <sup>j</sup>	7.95±0.73 <sup>bcd</sup>
Cd(+) S C M	29.2± 3.04 <sup>efgh</sup>	6.18±0.38 <sup>i</sup>	9.60±1.64 <sup>bcd</sup>
Cd(+) S C H	38.1± 2.94 <sup>cdefgh</sup>	7.48±0.34 <sup>efgh</sup>	12.24±2.16 <sup>b</sup>
Cd(+) S N L	36.1± 4.17 <sup>efgh</sup>	8.12±0.39 <sup>defg</sup>	10.75±1.87 <sup>bcd</sup>
Cd(+) S N M	28.0± 1.74 <sup>gh</sup>	9.80±0.39 <sup>i</sup>	7.13±0.61 <sup>cde</sup>
Cd(+) S N H	33.5± 2.65 <sup>efgh</sup>	6.93±0.35 <sup>dhi</sup>	7.92±0.88 <sup>bcd</sup>
Cd(+) C C L	28.3± 1.96 <sup>gh</sup>	5.00±0.25 <sup>j</sup>	6.43±1.49 <sup>de</sup>
Cd(+) C C M	46.2± 3.84 <sup>defi</sup>	6.52±0.26 <sup>hi</sup>	6.65±1.07 <sup>cde</sup>
Cd(+) C C H	38.5± 6.03 <sup>efgh</sup>	4.49±0.22 <sup>ik</sup>	4.71±0.88 <sup>e</sup>
Cd(+) C N L	53.5± 5.21 <sup>cde</sup>	8.69±0.30 <sup>bcd</sup>	10.58±1.79 <sup>bcd</sup>
Cd(+) C N M	45.7± 5.30 <sup>defg</sup>	8.99±0.43 <sup>bcd</sup>	8.33±1.61 <sup>bcd</sup>
Cd(+) C N H	40.7± 4.20 <sup>efgh</sup>	6.93±0.22 <sup>dhi</sup>	7.77±2.37 <sup>bcd</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0	67.5 <sup>a</sup>	6.10 <sup>b</sup>	10.30 <sup>a</sup>
0.04	36.9 <sup>b</sup>	6.95 <sup>a</sup>	8.35 <sup>b</sup>
Source Shrimp	49.1 <sup>b</sup>	6.66 <sup>a</sup>	9.96 <sup>a</sup>
Crab	55.4 <sup>a</sup>	6.38 <sup>a</sup>	8.69 <sup>b</sup>
Type Chitosan	47.9 <sup>b</sup>	5.30 <sup>b</sup>	9.32 <sup>a</sup>
NOCC	56.6 <sup>a</sup>	7.74 <sup>a</sup>	9.34 <sup>a</sup>
M.W. Low	48.7 <sup>b</sup>	6.68 <sup>a</sup>	9.56 <sup>a</sup>
Medium	56.6 <sup>a</sup>	7.08 <sup>a</sup>	9.71 <sup>a</sup>
High	51.7 <sup>ab</sup>	5.83 <sup>b</sup>	8.73 <sup>a</sup>
Significant Factor <sup>3)</sup>	A, B, C, D	A, C, D, AD, BC, BD, CD	A, B, BC

1) Mean±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 1).

다 높은 경향이었지만 Cd를 공급하지 않은 새우 chitosan군(Cd(-)SC-)과 Cd를 공급한 계 NOCC군(Cd(+)CN-)에서는 고분자 섬유군이 가장 높았다.

Chitosan과 NOCC가 혈청 cholesterol 수준을 저하시키는 효과는 미약하였지만 HDL-cholesterol과 HDL-cholesterol : Total cholesterol ratio는 chitosan의 첨가로 증가하는것으로 나타났다. HDL-cholesterol은 간으로 cholesterol을 운반하는 lipoprotein이기 때문에 cholesterol 대사에 중요한 역할을 한다. 여러 연구에서 chitosan을 실험동물에게 공급하였을때

LDL, VLDL-cholesterol은 감소하고<sup>28)</sup> HDL-cholesterol은 증가한다고 보고되었다<sup>30)</sup>. 본 연구에서 Cd를 공급하지 않은군에서는 chitosan과 NOCC공급으로 HDL-cholesterol 수준과 HDL-cholesterol : Total cholesterol ratio의 증가가 나타났으나 Cd공급군에서는 Cd(+)SCM군을 제외하고 나머지 섬유군들이 Cd(+)F(-)군보다 HDL-cholesterol 수준이 낮았고 HDL-cholesterol : Total cholesterol ratio의 증가는 chitosan 첨가군에서만 나타나 NOCC는 효과가 없었음을 확인할수 있었다.

혈청의 중성지방도 혈청 cholesterol과 마찬가지로 chitosan이나 NOCC의 hypotriglyceridemic effect가 크게 나타나지는 않았다. Cd를 공급하지 않은 군에서는 급원에 상관없이 NOCC만 효과가 있는것으로 나타나 [Cd(-)SN-], [Cd(-)CN-]군들이 Cd(-)F(-)군보다 낮았다. 그러나 Cd공급군에서는 NOCC의 효과는 없었고 오히려 chitosan이 효과적이어서 Cd(+)-CCL, Cd(+)-CCM, Cd(+)-SCL, Cd(+)-SCH 군이 Cd(+)-F(-)군보다 낮게 나타났다.

간의 총지방 농도는 Cd를 공급하지 않은군에서는 Cd(-)SNM군과 Cd(-)CNM군을 제외한 섬유군들이 Cd(-)F(-)군보다 낮았고 chitosan군들이 NOCC군들보다 낮았으며 저분자 섬유군들이 중분자나 고분자보다 낮게 나타나 Cd(-)CCL군과 Cd(-)SCL군의 간의 총지방 농도가 낮게 나타났다. 또한 Cd공급군들에서 보면 대조군인 Cd(+)-F(-)군보다 섬유첨가군들의 간의 총지방 농도가 유의적으로 감소하지 않아 간의 총지방 저하효과가 나타나지 않았다.

식물성 섬유에서 cholesterol 저하작용이 있는 섬유는 혈청보다는 간 cholesterol 수준을 감소시키는데 더 효과적이라고 보고되었다<sup>31)</sup>. Lehoux와 Grondin<sup>21)</sup>은 cholesterol 1%와 cholic acid 0.2%를 함유한 식이에 chitosan을 5% 수준으로 첨가하였을때 혈청 cholesterol은 54%, 간 cholesterol은 64%가 감소하여 혈청보다는 간 cholesterol 수준을 저하시키는 효과가 두드러졌다고 하였다. 이와 같은 경향은 본 연구에서도 관찰되어 Cd를 공급하지 않은군에서 Cd(-)CNL군을 제외한 모든 섬유군들이 Cd(-)F(-)군보다 간 cholesterol 수준이 낮았고 특히 계 chitosan군이 다른군들보다 간 cholesterol 농도가 낮게 나타나 cholesterol 저하 효과가 컸음을 알수 있었다. 그러나 Cd공급군들에서는 새우 chitosan군중의 Cd(+)-SCL, Cd(+)-SCM군과 계 chitosan군들[Cd(+)-CC-]이 간 cholesterol 농도가 낮게 나타나 새우 chitosan 저, 중분자와 계 chitosan만 간 cholesterol 수준을 감소시키는 효과가 있었다.

간 중성지방의 농도는 Cd를 공급하지 않은군에서는 전반적으로 Cd(-)F(-)군보다 섬유군들이 낮았고 계 chitosan과 새우 NOCC이 간 중성지방 저하에 효과적이었으며 분자량에 따른 영향은 나타나지 않았다. 그러나 Cd공급군들에서는 모든 섬유군에서 Cd(+)-F(-)군에 비해 유의적으로 저하되지 않았다. Chitosan이 cholesterol과 지방 저하효과가 있음을 증명한 연구에서 chitosan이 혈장과 간에서 cholesterol 수준을 크게 감소시키는 반면 중성지방수준에 미치는 영향은 cho-

lesterol 수준에 보다는 적은것으로 나타났다. Suga-no등<sup>12)</sup>은 chitosan을 식이에 10%까지 첨가하였을때에도 간 중성지방은 감소하였으나 혈장 중성지방의 감소효과는 볼수 없었고 식이에 2%로 첨가하였을때 간 중성지방의 감소현상은 나타나지 않았다고 하였다. 본 연구에서도 간 cholesterol과 중성지방 저하에 효과가 크게 나타난 계 chitosan 저, 중, 고분자는 Cd(-)F(-)군에 비해 간 cholesterol 농도는 62%, 69%, 52%나 감소하였고 간 중성지방의 농도는 48%, 55%, 47%가 감소하여 중성지방의 저하효과가 cholesterol 저하효과 보다 다소 적었다고 간주된다.

전반적으로 Cd공급군들은 비공급군들에 비해 간의 총지방, cholesterol 저하효과에서 섬유의 효과가 적었는데 그 원인은 chitosan과 NOCC의 관능기가 중금속 흡착과 지방성분과의 결합에 경쟁적으로 작용하기 때문에 Cd공급군들은 chitosan과 NOCC가 중금속과의 결합에 우선적으로 작용했기 때문이라고 볼수 있다. 본 연구에서와 같이 Cd이나 납중독시 섬유의 혈청과 간의 총지방, cholesterol, 중성지방 저하효과가 적거나 나타나지 않는 것은 다른 연구들에서도 보고되었다. 김등<sup>32)</sup>은 납을 함유한 식이에 cellulose와 guar gum을 10% 수준으로 첨가하였을때 섬유를 첨가하지 않은 대조군보다 혈청의 총지방과 간 cholesterol 농도가 높은 경향을 보였고 김 등<sup>33)</sup>의 연구에서는 chitosan 첨가군(4%)의 간 중성지방 수준이 섬유를 넣지 않은 대조군보다 높게 나타났다.

식이섬유의 hypocholesterolemic, hypolipidemic effect는 잘 알려진 사실이지만 그 작용 메카니즘은 공통적인 것이 아니고 섬유에 따라 다르다. 천연 다당류중에서 검류(guar gum, locust bean gum)와 oat β-glucan, konjak mannan, pectin, chitosan이 체내 cholesterol과 지방을 저하시키는 기능이 있다. 이들은 화학적 구조가 다르지만 상부 소화기관에서 비소화성, in vitro에서 높은 점도, 중합성(polymeric nature), 높은 수분 보유력과 하부 소화기관에서 낮은 수분결합력등의 공통점이 있다. 이중에서 상부소화기관에서의 비소화성과 높은 점도가 주요인인것으로 추측하고 있다. 점도가 높은 비소화성의 중합체는 소화기관에서 diffusion을 감소시키고 소화기관의 벽을 둘러싸서 영양소의 흡수가 지연될수 있다<sup>34)</sup>. 점도가 cholesterol 저하작용과 지방흡수에 영향을 주지만 그 효과가 항상 같지는 않다고 한다<sup>31)</sup>. Superko등<sup>34)</sup>은 높은 점도의 guar gum이 낮은 점도의 guar gum보다 LDL-cholesterol을 더 많이 감소시켰다고 하였다. Evans등<sup>35)</sup>은 높은 점도인 gum보다 가장 낮은 점도를 나타낸 gum이 가장 큰 hypochole-

erolemic effect를 나타냈다고 하였다. 이러한 경향은 chitosan에서도 보고되고 있다. Sugano등<sup>36)</sup>은 점도가 다양한(17-1620 cps) chitosan으로 연구한 결과 점도가 높은 chitosan이 cholesterol 저하효과가 더 컸으나 큰 차이가 없었음을 보고하였고 Lehoux와 Grondin<sup>21)</sup>은 저분자의 chitosan이 고분자의 chitosan보다 hypocholesterolemic effect가 더 크다고 하였다. Ikeda등<sup>36)</sup>은 점도가 1.3~1.19 cps인 분자량 5000~20000 chitosan hydrolysate가 11.0 cps의 점도를 나타내는 분자량 50000인 chitosan hydrolysate보다 cholesterol 저하효과가 크게 나타났다고 보고하였다. 또한 Sugano등<sup>37)</sup>은 분자량이 300,000인 chitosan(parent chitosan)을 chemical hydrolysis하여 분자량이 20,000과 8,000인 chitosan을 만들고 enzymatic hydrolysis로 600의 glucosamine oligomer를 제조하여 cholesterol을 함유한 식이에 2%로 첨가하였다. 분자량이 600인 chitosan을 제외한 나머지 3종류의 chitosan은 cellulose군에 비해 cholesterol 저하효과가 있었는데 분자량 8,000인 chitosan군은 혈청 cholesterol 수준이 cellulose군보다 유의적으로 낮았고 분자량 20,000와 300,000 chitosan은 간 cholesterol 수준이 cellulose군보다 유의적으로 낮게 나타났으며 분자량이 가장 적었던 glucosamine oligomer는 hypocholesterolemic effect가 없었음을 관찰하였다. 이런 결과를 토대로 cholesterol 저하작용에 필요한 분자량은 7,000 이상이 되어야 한다고 제안하였다.

본 연구에서 새우 chitosan군들의 간 cholesterol 농도는 게 chitosan군들보다 높게 나타나 게 chitosan보다는 cholesterol 저하효과가 적었고 게 chitosan군들은 간의 총지방, cholesterol, 중성지방의 농도가 낮았기 때문에 게 chitosan이 간의 총지방, cholesterol, 중성지방수준의 저하효과가 가장 큰것으로 나타났는데 저, 중, 고분자 간에 유의적인 차이는 없었다. 게 chitosan 저, 중, 고 다음으로는 혈청 cholesterol 수준이 가장 낮았고 간의 총지방이 게 chitosan 저분자(Cd(-)CCL)군 다음으로 낮았으며 간 cholesterol 수준이 낮았던 새우 chitosan 저분자(Cd(-)SCL)군이 효과적이었다. Sugano등<sup>37)</sup>의 연구 결과를 고려한다면 본 연구에서 사용한 새우와 게 chitosan 저, 중, 고분자의 분자량은 10,000~230,000 정도로 모두 cholesterol 저하효과가 있는 분자량 범위에 속하지만 새우 chitosan보다 게 chitosan의 효과가 크게 나타난 것은 급원의 차이에 따른 물리화학적, 기능적 성질이 달라서 소화기관에서의 작용이 달라졌을 가능성이 있다고 생각되어진다.

## 2. 변의 총지방, cholesterol, 중성지방, bile acid 배설량

본 연구에서 변으로의 총지방, cholesterol, 중성지방의 배설량을 측정해 본 결과는 Table 3과 같았다. 변의 총지방은 Cd공급유무에 관계없이 chitosan군들은 대조군(Cd(-)F(-), Cd(+))F(-))보다 증가하였으나 NOCC군들은 거의 비슷한 수준이어서 지방흡수 저해효과가 크지 않은것으로 나타났다. 변의 cholesterol 배설량은 Cd를 공급하지 않은군에서는 Cd(-)SNH군만 제외하고 chitosan과 NOCC의 효과가 모두 나타났는데 새우 NOCC의 효과가 약하게 나타났고 Cd공급군에서는 새우 chitosan이 효과가 커서 다른군들보다 변으로의 cholesterol 배설량이 많았지만 다른 섬유소의 효과는 미약하였다. 변의 총지방이나 cholesterol과는 달리 중성지방의 배설량은 섬유 공급군이 대조군보다 약간 낮거나 높은 경향을 나타냈는데 Cd를 공급하지 않은군들중 Cd(-)SCM, Cd(-)SCH, Cd(-)CCH, Cd(-)CNH군들만 Cd(-)F(-)군보다 변으로 중성지방 배설량이 많았고 Cd공급군에서는 chitosan과 NOCC가 변을 통한 중성지방 배설에 영향을 미치지 않았다.

식이 섬유는 소장에서 지방과 상호작용하여 림프로의 cholesterol과 중성지방의 흡수속도를 늦춘다고 알려져 있다. Ikeda 등<sup>38)</sup>은 흰쥐에서 chitosan, guar gum, cellulose를 taurocholic acid, fatte acid, cholesterol, [4-<sup>14</sup>C] cholesterol, fat을 함유한 test emulsion에 첨가하여 흰쥐에게 공급한후 thoratic lymphatic channel에 삽입한 관을 통하여 림프액을 받아서 cholesterol과 중성지방이 림프로 흡수되는 정도를 연구하였다. 그 결과 chitosan이 guar gum이나 cellulose보다 cholesterol과 중성지방의 흡수를 더 많이 저해하였음을 증명하였다. 또한 Nauss등<sup>39)</sup>은 vitro 실험을 통하여 chitosan이 micellar lipid와 결합하여 중성지방의 흡수를 감소시킨다고 설명하였다. 이러한 연구보고들에 비추어 볼때 본 연구에서 chitosan과 NOCC는 소장에서 지방의 흡수를 저해하여 변으로의 지질 배설을 증가시킨것으로 생각된다.

Bile salts와 식이 섬유간의 상호작용은 hypocholesterolemic effect를 나타내는 메카니즘중의 하나이다. 대부분의 식품에서 유래된 식이 섬유는 bile acid를 흡착하지만 식이 섬유의 종류에 따라 흡착정도는 상당히 달라진다. Chitosan은 amino기를 가지고 있는 구조적인 특성때문에 산성조건에서 bile acid나 free fatty acid와 같은 anion과 이온결합을 할수있고<sup>40)</sup> 이런 기능이 체내 지방이나 cholesterol 저하의 한 요인이

**Table 3.** Fecal total lipid, cholesterol, triglycerides and bile acid excretions

Group	Fecal lipid (mg/day)	Fecal cholesterol (mg/day)	Fecal triglycerides (mg/day)	Fecal bile acid ( $\mu$ mol/day)
Cd(-) F(-)	106.7 $\pm$ 8.58 <sup>de(112)</sup>	8.2 $\pm$ 0.69 <sup>k</sup>	3.40 $\pm$ 0.32 <sup>cdet</sup>	3.58 $\pm$ 0.27 <sup>klm</sup>
Cd(+) F(-)	67.2 $\pm$ 4.27 <sup>b</sup>	17.5 $\pm$ 0.56 <sup>cdi</sup>	4.11 $\pm$ 0.51 <sup>cd</sup>	2.71 $\pm$ 0.36 <sup>lmn</sup>
Cd(-) S C L	138.2 $\pm$ 11.1 <sup>bccl</sup>	18.4 $\pm$ 0.96 <sup>cdhp</sup>	2.97 $\pm$ 0.34 <sup>defgh</sup>	5.84 $\pm$ 0.32 <sup>deq</sup>
Cd(-) S C M	159.2 $\pm$ 9.24 <sup>ab</sup>	20.4 $\pm$ 1.12 <sup>ib</sup>	5.67 $\pm$ 0.43 <sup>d</sup>	7.21 $\pm$ 0.31 <sup>abc</sup>
Cd(-) S C H	147.7 $\pm$ 11.8 <sup>abx</sup>	19.7 $\pm$ 1.53 <sup>idh</sup>	5.66 $\pm$ 0.17 <sup>d</sup>	5.31 $\pm$ 0.29 <sup>efgh</sup>
Cd(-) S N L	114.8 $\pm$ 16.1 <sup>cdkq</sup>	13.8 $\pm$ 0.91 <sup>i</sup>	3.62 $\pm$ 0.21 <sup>cdet</sup>	3.65 $\pm$ 0.14 <sup>klm</sup>
Cd(-) S N M	99.8 $\pm$ 11.0 <sup>efgh</sup>	11.0 $\pm$ 1.00 <sup>j</sup>	3.61 $\pm$ 0.20 <sup>cdet</sup>	3.63 $\pm$ 0.22 <sup>klm</sup>
Cd(-) S N H	85.8 $\pm$ 6.92 <sup>gh</sup>	10.8 $\pm$ 0.47 <sup>jk</sup>	3.68 $\pm$ 0.29 <sup>cdet</sup>	2.12 $\pm$ 0.18 <sup>n</sup>
Cd(-) C C L	123.9 $\pm$ 11.4 <sup>bcdeq</sup>	17.7 $\pm$ 0.49 <sup>cdgh</sup>	3.33 $\pm$ 0.33 <sup>cdq</sup>	5.72 $\pm$ 0.19 <sup>defgh</sup>
Cd(-) C C M	147.1 $\pm$ 8.07 <sup>abc</sup>	25.9 $\pm$ 1.11 <sup>c</sup>	3.98 $\pm$ 0.27 <sup>cd</sup>	7.17 $\pm$ 0.48 <sup>abc</sup>
Cd(-) C C H	181.4 $\pm$ 6.11 <sup>a</sup>	36.2 $\pm$ 0.74 <sup>b</sup>	5.32 $\pm$ 0.45 <sup>ab</sup>	8.04 $\pm$ 0.20 <sup>d</sup>
Cd(-) C N L	94.7 $\pm$ 9.82 <sup>gh</sup>	20.5 $\pm$ 0.61 <sup>dk</sup>	4.53 $\pm$ 0.18 <sup>bc</sup>	2.51 $\pm$ 0.30 <sup>nm</sup>
Cd(-) C N M	108.0 $\pm$ 11.7 <sup>cdq</sup>	24.8 $\pm$ 0.81 <sup>i</sup>	3.00 $\pm$ 0.30 <sup>defgh</sup>	2.81 $\pm$ 0.50 <sup>klmn</sup>
Cd(-) C N H	104.4 $\pm$ 6.84 <sup>defgh</sup>	31.0 $\pm$ 0.74 <sup>d</sup>	5.47 $\pm$ 0.34 <sup>ab</sup>	3.02 $\pm$ 0.24 <sup>klmn</sup>
Cd(+) S C L	135.2 $\pm$ 16.5 <sup>cdk</sup>	31.0 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	4.44 $\pm$ 0.65 <sup>bc</sup>	7.85 $\pm$ 0.44 <sup>ab</sup>
Cd(+) S C M	152.9 $\pm$ 11.0 <sup>ab</sup>	23.4 $\pm$ 1.36 <sup>e</sup>	4.07 $\pm$ 0.37 <sup>cd</sup>	6.44 $\pm$ 0.59 <sup>cd</sup>
Cd(+) S C H	155.0 $\pm$ 7.54 <sup>ab</sup>	20.6 $\pm$ 0.83 <sup>d</sup>	3.71 $\pm$ 0.58 <sup>cd</sup>	6.71 $\pm$ 0.45 <sup>bcd</sup>
Cd(+) S N L	87.3 $\pm$ 10.8 <sup>gh</sup>	15.8 $\pm$ 0.94 <sup>gh</sup>	1.94 $\pm$ 0.49 <sup>hi</sup>	2.36 $\pm$ 0.19 <sup>n</sup>
Cd(+) S N M	68.6 $\pm$ 7.78 <sup>b</sup>	17.1 $\pm$ 0.66 <sup>fd</sup>	1.35 $\pm$ 0.16 <sup>j</sup>	2.21 $\pm$ 0.26 <sup>n</sup>
Cd(+) S N H	111.0 $\pm$ 9.52 <sup>cdkq</sup>	14.7 $\pm$ 1.24 <sup>hi</sup>	2.15 $\pm$ 0.40 <sup>gh</sup>	3.84 $\pm$ 0.15 <sup>ijkl</sup>
Cd(+) C C L	128.5 $\pm$ 21.3 <sup>bcdef</sup>	16.0 $\pm$ 0.86 <sup>ghi</sup>	2.90 $\pm$ 0.35 <sup>defgh</sup>	4.66 $\pm$ 0.57 <sup>hi</sup>
Cd(+) C C M	156.6 $\pm$ 21.4 <sup>ab</sup>	20.5 $\pm$ 0.78 <sup>bc</sup>	2.46 $\pm$ 0.39 <sup>ghi</sup>	6.33 $\pm$ 0.36 <sup>cdet</sup>
Cd(+) C C H	161.3 $\pm$ 14.3 <sup>ab</sup>	19.8 $\pm$ 1.29 <sup>bc</sup>	2.06 $\pm$ 0.36 <sup>hi</sup>	7.32 $\pm$ 0.50 <sup>abc</sup>
Cd(+) C N L	97.9 $\pm$ 10.4 <sup>efgh</sup>	15.4 $\pm$ 0.80 <sup>gh</sup>	2.59 $\pm$ 0.56 <sup>efgh</sup>	5.25 $\pm$ 0.39 <sup>fgh</sup>
Cd(+) C N M	88.4 $\pm$ 6.07 <sup>gh</sup>	15.7 $\pm$ 1.18 <sup>gh</sup>	1.97 $\pm$ 0.18 <sup>hi</sup>	3.92 $\pm$ 0.37 <sup>ijk</sup>
Cd(+) C N H	138.8 $\pm$ 12.9 <sup>bccl</sup>	18.3 $\pm$ 0.75 <sup>cdq</sup>	3.81 $\pm$ 0.38 <sup>cd</sup>	4.86 $\pm$ 0.69 <sup>ghi</sup>
CdCl <sub>2</sub> 0	125.1 <sup>a</sup>	20.9 <sup>a</sup>	4.21 <sup>a</sup>	4.75 <sup>b</sup>
0.04	122.3 <sup>a</sup>	18.9 <sup>b</sup>	2.75 <sup>a</sup>	5.13 <sup>a</sup>
Source Shrimp	120.2 <sup>a</sup>	17.8 <sup>b</sup>	3.53 <sup>a</sup>	4.72 <sup>b</sup>
Crab	127.2 <sup>a</sup>	21.9 <sup>d</sup>	3.47 <sup>a</sup>	5.14 <sup>a</sup>
Type Chitosan	149.2 <sup>a</sup>	22.5	3.86	6.58 <sup>a</sup>
NOCC	99.9 <sup>b</sup>	17.4 <sup>b</sup>	3.15 <sup>b</sup>	3.36 <sup>b</sup>
M.W. Low	114.3 <sup>b</sup>	18.3 <sup>c</sup>	3.29 <sup>b</sup>	4.67 <sup>a</sup>
Medium	121.8 <sup>b</sup>	19.9 <sup>b</sup>	3.26 <sup>b</sup>	5.02 <sup>a</sup>
High	135.0 <sup>a</sup>	21.5 <sup>c</sup>	3.95 <sup>a</sup>	5.12 <sup>a</sup>
Significant Factor <sup>3)</sup>	C, D, BD, CD	A, B, C, D, AB, AD, BC, BD	A, C, D, AD, BC, BD, CD	A, B, C, AC, AD, 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 factories was calculated based on 4-way ANOVA.(See Table 1).

될수 있다<sup>13)</sup>. Chitosan이 변으로 neutral steroid의 배설을 증가시키는것은 여러 연구<sup>12),14),30),31)</sup>에서 거의 일치하는 결과이지만 acidic steroid배설에 관한 결과는 논쟁의 여지가 남아있다. In vitro실험에서 chitosan은 taurochoiate와 결합하고, 강한 anion exchanger이어서 hypocholesterolemic resin으로 알려진 cholestyramine과 결합정도가 비슷하다고 보고되었다<sup>13)</sup>. Ebihara와 Schneenan<sup>40)</sup>은 chitosan이 anion exchan-

ger로 작용하기 때문에 chitosan이 acidic steroid 배설을 증가시키는 것은 타당한것이라고 주장하였다. Ikeda등<sup>41)</sup>은 chitosan hydrolysate을 흰쥐에게 식이에 섞어서 공급하였을때 acidic steroid 배설이 증가하였다고 보고하였다. 그러나 Sugano등<sup>13)</sup>은 고분자의 chitosan 공급시 acidic steroid배설량에서 대조군과 차이가 없었음을 관찰하였다. 또한 Vahouny등<sup>38)</sup>도 cholestyramine과 chitosan의 변으로 bile acid배설 효과

를 측정할 결과 cholestyramine군에서는 변으로의 bile acid 배설량이 매우 높았지만 chitosan군에서는 효과가 없었다고 보고하였다. 본 연구에서도 변의 총 bile acid 배설량을 측정하였는데 전반적으로 변의 총 bile acid 배설량은 섬유 첨가로 증가하였는데 Cd공급군이 나 비공급군 모두에서 chitosan의 효과가 컸고 NOCC의 효과는 미약한것으로 드러났다. Furda<sup>9)</sup>에 의하면 chitosan은 십이지장(pH 6.0~6.5)에서 침전되어 linear chain이 aggregate하기 시작하여 whole micell을 포획하기 때문에 cholesterol, fatty acid, monoglyceride의 흡수가 저해되거나 chitosan이 침전하기 전에 free fatty acid와 bile acid가 chitosan의  $\text{NH}_3^+$ 와 이온결합을 함으로써 mixed micell로 부터 free fatty acid와 bile acid가 선택적으로 제거되어 micell 형성이 방해받을수 있다고 하였다. 이러한 점을 고려해 볼때 NOCC는 chitosan의  $\text{NH}_2$ 기가  $\text{NHCH}_2\text{COOH}$ 로 치환되었기 때문에  $\text{NH}_2$ 기와  $\text{NHCH}_2\text{COOH}$ 기의 차이로 다른 효과를 초래했다고 보여진다. Chitosan과 NOCC가 다른 효과를 내게 된 또다른 요인은 chitosan의 점도가 NOCC보다 훨씬 높기 때문에 소화기관에서 지방과 cholesterol의 흡수를 더 효과적으로 저해하였을 것으로 생각된다. 점도가 가장 높았던 게 chitosan 고분자는 변으로 지방과 cholesterol, bile acid의 배설을 가장 증가시키는 것으로 볼때 높은 점도는 지방 흡수를 저해하여 지방 배설에 영향을 주는 것으로 생각된다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 급원과 분자량이 각각 다른 6가지의 chitosan(새우 chitosan 저, 중, 고분자; 게 chitosan 저, 중, 고분자)와 6가지의 N,O-carboxymethyl chitosan(새우 NOCC 저, 중, 고분자; 게 NOCC 저, 중, 고분자) 이 지방 대사에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

Chitosan과 NOCC첨가가 혈청의 cholesterol과 중성지방수준에는 큰 영향을 미치지 않았지만 HDL-cholesterol과 HDL-cholesterol : Total cholesterol ratio를 증가시켰고 간의 총지방, cholesterol, 중성지방의 저하효과를 나타냈다. 또한 chitosan과 NOCC는 변으로 총지방, cholesterol, 중성지방의 배설을 증가시켰다.

위와 같은 결과를 섬유 급원에 따라 살펴보면 혈청 cholesterol 농도와 간의 총지방과 중성지방의 농도, 변의 cholesterol과 bile acid 배설량에서 급원에 따라 차이가 나타났다. 그러나 섬유 종류와 분자량의 영향에

따라 cholesterol, 지방저하 효과가 큰 섬유급원이 달랐다.

섬유 종류에 따른 영향을 보면 Cd비공급군에서는 chitosan이 NOCC보다 간의 총지방, cholesterol, 중성지방을 저하시키는 효과가 컸고 변의 총지방과 중성지방, bile acid 배설을 증가시키는 효과도 컸다. 또한 chitosan중에서도 게 chitosan이 새우 chitosan보다 간 cholesterol과 중성지방의 저하효과가 컸으며 특히 게 chitosan 고분자는 변으로의 지방과 bile acid 배설량을 현저하게 증가시켰다. NOCC는 chitosan에 비하여 혈청 중성지방 저하에 효과적이었고 새우 NOCC은 간 중성지방 저하효과도 게 chitosan과 같은 정도로 크게 나타났다. 한편 Cd공급군들은 혈청과 간내 총지방 및 중성지방 저하효과가 뚜렷하게 나타나지 않았으나 chitosan이 혈청과 간 cholesterol 수준을 저하시키는 데 효과적이었다.

분자량의 영향을 보면 Cd공급유무에 상관없이 중분자 섬유군들의 혈청 cholesterol, 간의 총지방과 cholesterol 수준이 중분자 섬유군들이 높게 나타나 중분자 섬유가 저분자나 고분자 섬유보다 cholesterol과 지방저하 효과가 작았음을 알수 있었다.

이상의 결과로 chitosan이 NOCC보다 간조직내 cholesterol 및 지방의 저하효과가 큰것을 볼수 있는데 이 차이는 chitosan이 NOCC보다 점도가 컸고 chitosan의 free amine기가 NOCC의 primary, secondary amine기 보다 지방과의 이온결합을 통하여 흡수를 저해하는 효과가 컸기 때문으로 생각된다. Chitosan중에서는 점도가 가장 높았던 게 chitosan 고분자군의 변으로의 지방과 bile acid의 배설량이 가장 많았다. 따라서 지방배설에 점도의 영향이 크게 작용하고 부분적으로 지방과의 이온결합력도 영향을 미치는 것으로 생각된다.

## Literature cited

- 1) Ruth Mcperson. Dietary fiber-A Perspective. In : GA Spiller, ed. CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition, pp7-10, CRC Press, 1993
- 2) Burkitt DP, Walker ARP, Painter NS. Dietary fiber and tissue. *J Am Med Assoc* 229 : 1068-1074, 1974
- 3) Trowell H. Ischemic heart disease and dietary fiber. *Am J Clin Nutr* 25 : 926-932, 1972
- 4) Trowell H. Dietary fiber and coronary heart disease. *Rev Eur Etud Clin Biol Res* 17 : 345-349, 1972
- 5) Trowell H. Dietary fiber, ischemic heart disease and diabetes mellitus. *Proc Nutr Soc* 32 : 151-157, 1973

- 6) Trowell H. Dietary fiber redefined. *Lancet* 1 : 967, 1976
- 7) Godding EW. Dietary fiber redefined. *Lancet* 1 : 1129, 1976
- 8) Furda I. Aminopolysaccharides-Their potential as dietary fiber. In : Furda I, ed. *Unconventional Sources of Dietary Fiber*, pp.105-122, American Chemical Society, Washington DC, 1983
- 9) Muzzarrelli RAA. In : *Chitin*, pp 58, Pergamon Press, NY, 1977
- 10) 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
- 11) Topping DL. Soluble fiber polysaccharides : Effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. *Nutr Rev* 49 : 195-203, 1991
- 12) Sugano M, Fujikawa T, Hiratsuji Y, Hasegawa Y. Hypocholesterolemic effects of chitosan in cholesterol-fed rats. *Nutr Rept Int* 18 : 531-537, 1978
- 13) Sugano M, Fujikawa T, Hiratsuji Y, Nakashima K, Fukuda N, Hasegawa Y. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am J Clin Nutr* 33 : 787-793, 1980
- 14) Nagyvary JJ, Falk JD, Hill ML, Schmidt ML, Wilkins AK, Bradbury EL. Hypolipidemic activity of chitosan and other polysaccharides in rats. *Nutr Rept Int* 20 : 677-684, 1979
- 15) Davis DH, Elson CM, Hayes ER. N,O-carboxymethyl chitosan, a new water soluble chitin derivative. In : Brine CJ, Sandford PA, Zikakis JP, eds. *Advances in Chitin and Chitosan*, pp 467-472, Elsevier Applied Science, London, 1992
- 16) 배계현 · 김호정 · 김미경. Chitin, chitosan 및 chitosan 유도체가 흰쥐의 cadmium중 독과 지방대사에 미치는 영향. 논문 투고중
- 17) Vahouny GV. Dietary fiber, lipid metabolism, and atherosclerosis. *Fed Proc* 41 : 2801-2806, 1982
- 18) Eastwood MA, Mowbray L. The binding of the components of mixed micell to dietary fiber. *Am J Clin Nutr* 29 : 1461-1467, 1976
- 19) Knorr D. Use of chitinous polymers in food-A challenge for food research and development. *Food Technol* 23 : 85-97, 1984
- 20) Sugano M, Watanabe S, Kishi A, Izume M, Ohtakara A. Hypocholesterolemic action of chitosans with different viscosity in rats. *Lipids* 23 : 187-191, 1988
- 21) Lehoux JG, Grondin F. Some effects of chitosan on liver function in the rat. *Endocrinology* 132 : 1078-1084, 1993
- 22) Ishii T, Takeuchi S, Tsugita T. Proceedings of Annual Meeting of Japanese Society of Nutrition and Food Science Abstract. pp112, 1986
- 23) Bligh EC, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911-917, 1959
- 24) Zak B. Rapid estimation of free and total cholesterol. *Am J Clin Pathol* 24 : 1307-1315, 1954
- 25) Biggs HG, Erickson JM, Moorehead WR. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clin Chem* 21 : 437-447, 1975
- 26) Hagermann LM, Schneider DL. Effect of cholestyramine on fecal bile salt excretion in rats fed diets containing medium chain triglycerides or corn oil. *Proc Soc Exp Biol Med* 143 : 93-96, 1973
- 27) Fausa O, Skalhogg BA. Quantitative determination of bile acids and their conjugates using thin-layer chromatography and a purified 3 $\alpha$ -hydroxy steroid dehydrogenase. *Scand J Gastroent* 9 : 249-254, 1974
- 28) Steel RGD, Torrie JH. In : *Principels and Procedures of Statics*, pp481, Mc Graw-Hill Book Company, NY, 1960
- 29) Jennings CD, Boleyn K, Bridges SR, Wood PJ, Anderson JW. A comparison of the lipid lowering and intestinal morphological effects of cholestylamine, chitosan and oat gum in rats(42773). *Proc Soc Exp Biol Med* 189 : 13-20, 1988
- 30) Vahouny GV, Satchithanandam S, Cassidy MM, Lightfoot FB, Furda I. Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. *Am J Clin Nutr* 38 : 278-284, 1983
- 31) Kritchevsky D, Story JA. Influence of dietary fiber on cholesterol metabolism in experimental animals. In : Spiller GA, ed. *Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition*, CRC Press, 1986
- 32) 김미경 · 이혜영. 종류가 다른 고 섬유질식이 흰쥐의 남 흡수 및 체내 대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 23 : 492-503, 1990
- 33) 김미경 · 설은영. Chitin과 Chitosan이 흰쥐의 Cadmium중 독과 지방대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 27 : 996-1006, 1994
- 34) Superko HR, Haskell WL, Sawrey-Kubicek L, Faquhar, JW. Effects of solid and liquid guar gum on plasma cholesterol and triglyceride concentrations in moderate hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 62 : 51-55, 1988
- 35) Evans AJ, Hood RL, Oakenfull DC, Sidhu GS. Relationship between structure and function of dietary fibre : A comparative study on the effects of three galactomannans on cholesterol metabolism in the rat. *Br J Nutr* 68 : 217-229, 1992
- 36) Ikeda I, Sugano M, Yoshida K, Sasaki E, Iwamoto Y, Hatano 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
- 37) Sugano M, Yoshida K, Hashimoto M, Enomoto K, Hi-

- rano S. Hypocholesterolemic activity of partially hydrolyzed chitosans in rats. In : Brine CJ, Sandford PA, Zikakis JP, eds. *Advances in Chitin and Chitosan*, pp472-478, Elsevier Applied Science, London, 1992
- 38) Ikeda I, Tomori Y, Sugano M. Interrelated effects of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption in rats. *J Nutr* 119 : 1383-1387, 1989
- 39) Nauss JL, Thompson JL, Nagyvary JJ. The binding of micelle lipids to chitosan. *Lipids* 18 : 714-719, 1983
- 40) Ebihara K, Schneenan BO. Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in small intestine of rats. *J Nutr* 119 : 1100-1106, 1989
- 41) 배계현 · 김미경. 급원과 분자량이 다른 chitosan과 N,O-carboxymethyl chitosan이 cadmium 중독에 미치는 영향. *한국영양학회지* 30(7) : 751-769, 1997