



랫드에 있어서 키토산이 납중독의 대사에 미치는 영향

권오덕¹ · 정규용²

¹경북대학교 수의과대학, ²원광대학교 의과대학

Effects of Dietary Supplementation of Chitosan on the Metabolism of Lead in Rats

Oh-Deog Kwon¹ and Kyu-Yong Jung²

¹College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²School of Medicine, Wonkwang University, Jeonbuk 570-749, Korea

Received November 13, 2003; Accepted December 9, 2003

ABSTRACT. This study was carried out to investigate the effect of chitosan on lead metabolism in SD rats. Ten male rats were divided into a experimental group and a control group. Each experimental and control rats were administered by water contaminated with 100 mg/l of lead for 4 weeks, respectively. Experimental group received diets supplemented artificially with 5% of chitosan for 4 weeks. Body weight change, food and water consumption, fecal and urinary excretion, and fecal and urinary lead excretion were measured. There were no significant differences in body weight gain, food and water consumption, and fecal and urinary excretion between the two groups. However, fecal lead excretion of rats fed the diet containing 5% of chitosan were higher than the control group. Whereas urinary lead excretion of rats fed the diet containing 5% of chitosan were lower than the control group. The results suggested that the oral administration of chitosan prevents the gastrointestinal lead absorption in rats.

Keywords: Chitosan, Lead metabolism, Rat.

서 론

근년 각종 산업의 발달로 인류사회가 고도로 도시화되고 기계화됨에 따라 환경에 오염된 중금속 유해성분이 대기, 하천수, 토양 등을 매개로 하여 농산물이나 사료에 오염되며, 이것이 사람과 동물의 체내에 흡수되게 된다(Hankin 등, 1975; Koller, 1980). 이렇게 흡수된 중금속은 체내에 축적되어 급·만성 중독을 일으킬 뿐만 아니라(Radostits 등, 1994), 털줄을 통한 태아로의 이행(Thompson 등, 1985) 및 유즙내로도 일부분이 배설된다(Hallen과 Oskarsson, 1993)는 것이 밝혀짐으로서 공중위생상 중요한 문제로 대두되고 있다.

체내에 흡수된 중금속은 부분적으로 뇨, 담즙, 머리카락 등을 통해 배설될 수 있지만(Gruden과 Stantic, 1975; Radostits 등, 1994), 항상성을 유지하지 못하고 나머지는 체내에 축적되어 신경조직에 피해를 주는 등 건강에 나쁜 영향을 끼친다는 것은 잘 알려진 사실이며(Lansdown과 Yule, 1986; Radostits 등, 1994), 최근에는 이러한 중금속을 체외로 배출시키는 방법으로 키토산이 주목을 받고 있다.

키토산은 새우, 게, 곤충의 껍질, 오징어 뼈 등의 갑각류에 많이 함유되어 있는 키틴을 탈아세틸화하여 만든 것으로서(Chu, 2002; Dambies 등, 2001), 그 분자구조가 체조직과 매우 유사한 구조를 이루고 있어 면역반응이 거의 일어나지 않기 때문에 최근에는 식품 및 의약품에 매우 귀중한 생체재료로 이용되고 있다(Borchard와 Junginger, 2001; Ito 등 2000; Muzzarelli와 Muzzarelli, 2002). 특히, 고분자 수용성 키토산은 체내에 유용한 칼슘이나 마

Correspondence to: Oh-Deog Kwon, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, 1370 Sangyeok-dong, Buk-gu, Daegu 702-701, Korea
E-mail: odkwon@knu.ac.kr

그네슘 등과 같은 무기질과 산소, 아미노산, 비타민 등은 흡착하지 않고(Kas, 1997), 수은이나 카드뮴 같은 원자량이 비교적 큰 유해한 중금속과 결합력이 커 이들 금속만을 선별해서 흡착한다는 것이 밝혀지고 있다(Cardenas, 등, 2001; Chu, 2002; Ishii 등, 1995). 이와 같이 키토산이 중금속을 흡착한다는 것은 잘 알려져 있으나, 이러한 결과들은 주로 시험관내에서의 실험결과에 의한 것으로 생체 내에서의 흡수, 배설에 관한 연구자료는 많지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 키토산이 유해한 중금속 중의 하나인 납의 대사에 미치는 영향을 밝힘으로써 체내에서 키토산의 중금속 해독기전을 밝히는데 도움이 되고자 한다.

재료 및 방법

실험동물

생후 6주령의 Sprague-Dawley 랫드 수컷 10마리를 2주간 적응사육을 실시한 후 대조군과 실험군으로 각각 5마리씩 분군하였다.

실험사료

마우스(쥐)용 배합사료를 구입하여 납함량을 측정된 후 이것을 기초사료로 이용(대조군용)하였으며, 이 기초사료에 고효율 수용성 키토산(분자량 20만~30만, Jakwang, Korea)이 5% 되도록 첨가·배합하여 실험사료로 사용하였다(실험군용). 음수는 수도물을 이용하여 대조군과 실험군 모두 납(Lead acetate, Kanto Chemical, Japan)을 첨가하여 납의 실험량이 100 mg/l가 되도록 조절하여 급여하였다.

실험기간

모든 실험동물은 대사상자에 개별 수용하면서 기초사료 또는 실험사료와 음수를 4주간 자유급여 하였다.

검사항목 및 방법

체중측정: 모든 실험동물은 2일 간격으로 일정시간에 체중을 측정하였다.

사료섭취량 및 음수량 측정: 모든 실험동물은 2일 간격으로 일정시간에 사료섭취량 및 음수량을 측정하였다.

분 배설량 측정: 모든 실험동물은 2일 간격으로 일정시간에 분을 회수하여, 70~80°C에서 충분히 건조시킨 후 유발내에서 마쇄하여 polypropylene cornical tube (Falcon, USA)에 넣어 4°C에 보관하였다가 납함량 분석에 이용하였다.

노 배설량 측정: 모든 실험동물은 2일 간격으로 일정

시간에 노 배설량을 측정된 후 polypropylene cornical tube(Falcon, USA)에 넣어 4°C에 보관하였다가 납함량 분석에 이용하였다.

분 및 노내 납함량 분석: 4°C에 보관된 시료는 일정량을 평량하여 450~470°C의 회화로 내에서 24시간 회화를 실시하였다. 회분은 1:1 회염산액으로 용해하고 재증류수를 사용하여 적당한 농도로 희석한 후 원자흡수분광광도계(ANALAB 9100A, 선일기기진흥(주), Wave length: 283.3 nm, Slit: 0.4 nm, HCL: 2 mA, Flame type: Air/C₂H₂)를 이용하여 납함량을 측정하였다(Muzzarelli와 Rocchetti, 1974). 모든 분석치는 1일 총 배설량으로 환산하였다.

통계처리

본 실험에서 얻은 체중, 사료섭취량, 음수량, 분 및 노내 납함량, 그리고 3회 반복 분석하여 평균치를 취한 분 및 노내 납함량 등 모든 자료는 평균±표준편차로 나타내었으며, 각 실험성적은 군별로 *t*-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결 과

체중변화

실험시작 후 4주 동안 체중의 변화를 관찰하였던 바, 대조군 및 실험군에서 시간이 경과함에 따라 체중이 증가하였으며, 양 군간에 유의할 만한 체중의 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

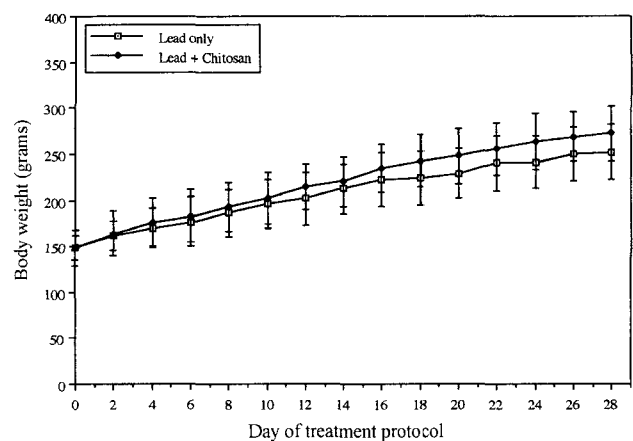


Fig. 1. Body weight change of rats was evaluated to establish the effect of chitosan on lead metabolism. Two experimental groups (untreated control and dietary supplemented with 5% chitosan groups) of five SD rats were established in rat metabolic cages. All rats were administered by water contaminated with 100 mg/l of lead for 28 days, respectively. The results are expressed mean±SD.

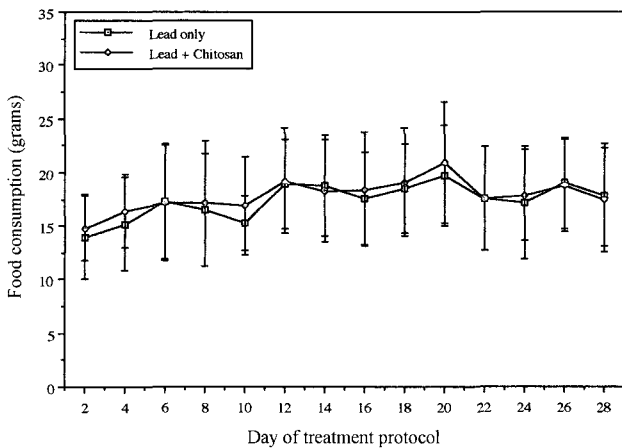


Fig. 2. Food consumption of rats was evaluated to establish the effect of chitosan on lead metabolism. Two experimental groups (untreated control and dietary supplemented with 5% chitosan groups) of five SD rats were established in rat metabolic cages. All rats were administered by water contaminated with 100 mg/l of lead for 28 days, respectively. The results are expressed mean \pm SD.

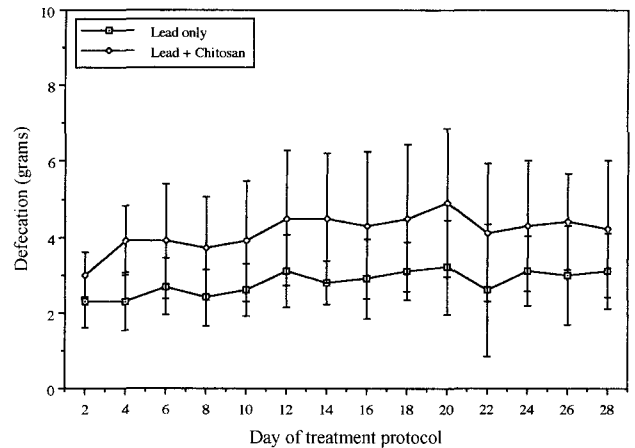


Fig. 4. Defecation of rats was evaluated to establish the effect of chitosan on lead metabolism. Two experimental groups (untreated control and dietary supplemented with 5% chitosan groups) of five SD rats were established in rat metabolic cages. All rats were administered by water contaminated with 100 mg/l of lead for 28 days, respectively. The results are expressed mean \pm SD.

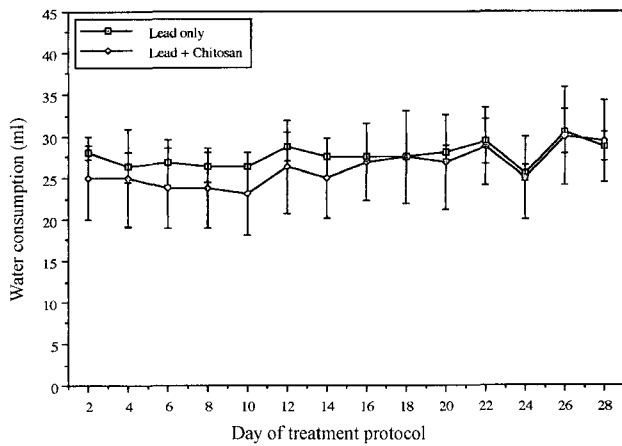


Fig. 3. Water consumption of rats was evaluated to establish the effect of chitosan on lead metabolism. Two experimental groups (untreated control and dietary supplemented with 5% chitosan groups) of five SD rats were established in rat metabolic cages. All rats were administered by water contaminated with 100 mg/l of lead for 28 days, respectively. The results are expressed mean \pm SD.

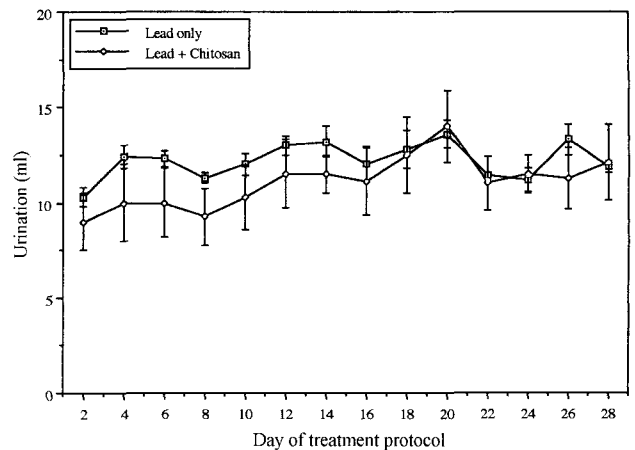


Fig. 5. Urination of rats was evaluated to establish the effect of chitosan on lead metabolism. Two experimental groups (untreated control and dietary supplemented with 5% chitosan groups) of five SD rats were established in rat metabolic cages. All rats were administered by water contaminated with 100 mg/l of lead for 28 days, respectively. The results are expressed mean \pm SD.

사료섭취량 및 음수량

전실험기간 동안 사료섭취량 및 음수량의 변화를 측정 한 결과 대조군과 실험군 사이에 유의한 변화는 인정되지 않았다(Fig. 2 및 Fig. 3).

분 및 뇨 배설량

실험시작 후 4주 동안 분 및 뇨 배설량을 측정한 결과 대조군과 실험군 사이에 유의한 변화는 인정되지 않았다

(Fig. 4 및 Fig. 5).

분내 납 배설량

원자흡수분광광도계를 이용하여 측정한 분내 납의 농도를 1일 총 배설량으로 환산하여 계산한 결과, 실험군에 있어서 실험 6일째에 1399 ± 159 , 10일째에 1478 ± 160 , 18일째에 1721 ± 151 , 20일째에 1595 ± 165 , 24일째에 1593 ± 170 및 26일째에 $1552 \pm 140 \mu\text{g/day}$ 로서 각각

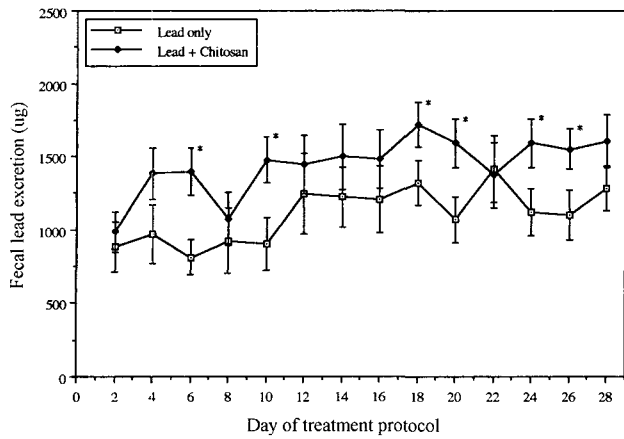


Fig. 6. Fecal lead excretion was evaluated to establish the effect of chitosan on lead metabolism. Two experimental groups (untreated control and dietary supplemented with 5% chitosan groups) of five SD rats were established in rat metabolic cages. All rats were administered by water contaminated with 100 mg/l of lead for 28 days, respectively. The results are expressed mean±SD. * : Significant (p<0.05) difference between control and chitosan treated group.

대조군의 810±119, 904±179, 1319±150, 1070±161, 1123±165 및 1103±172 µg/day와 비교하여 납의 배설량이 유의성 있게 증가(p<0.05) 하였다(Fig. 6).

뇨내 납 배설량

원자흡수분광광도계를 이용하여 측정한 뇨내 납의 농도를 1일 총 배설량으로 환산하여 계산한 결과, 실험군에

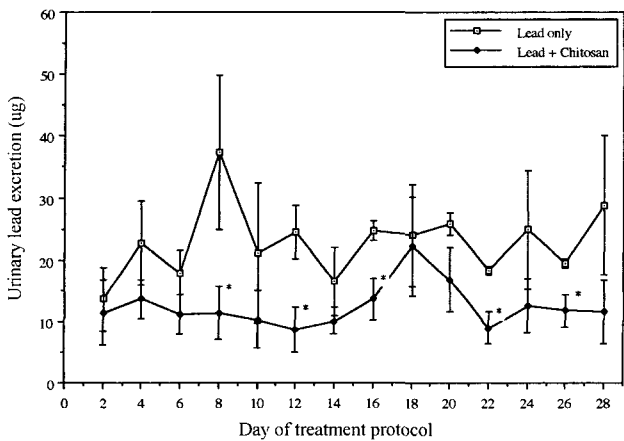


Fig. 7. Urinary lead excretion was evaluated to establish the effect of chitosan on lead metabolism. Two experimental groups (untreated control and dietary supplemented with 5% chitosan groups) of five SD rats were established in rat metabolic cages. All rats were administered by water contaminated with 100 mg/l of lead for 28 days, respectively. The results are expressed mean±SD. * : Significant (p<0.05) difference between control and chitosan treated group.

있어서 실험 8일째에 11.3±4.3, 12일째에 8.7±3.6, 16일째에 13.6±3.4, 22일째에 8.9±2.6 및 26일째에 11.7±2.6 µg/day으로서 각각 대조군의 37.4±12.5, 24.4±4.3, 24.6±1.5, 18.3±0.7 및 19.6±0.7 µg/day와 비교하여 납의 배설량이 유의성 있게 감소(p<0.05) 하였다 (Fig. 7).

고찰

21세기 인류에게 남겨진 최대의 천연 자원으로 알려진 키틴이란 물질이 발견된지 200여년이라는 장구한 세월이 흘렀음에도 불구하고 아직도 생물계의 키틴분해 기전이 확실하게 밝혀지지 않은 상태이다(Park, 1999). 또한, 키틴을 탈아세틸화 시켜 얻은 키토산이 발견된지도 150년 가까이 되지만 이들에 대한 연구가 서행되어짐에 따라 몇몇 과학자들을 제외하고는 이들 물질이 주목의 대상으로 여겨지지 않았다(No 등, 2000; Park, 1999). 하지만, 유럽이나 일본 등 여러 나라에서는 오랜 연구를 거듭한 끝에 키틴/키토산이 다방면에서 그 기능을 발휘할 수 있음을 지적한 이후 의약품분야, 섬유분야, 화장품분야, 생화학분야, 환경분야, 식품분야, 농업분야, 그리고 제지분야 등 수많은 분야에서 활발한 연구가 진행되고 있다(Bernkop-Schnurch와 Kast, 2001; Borchard와 Junginger, 2001; Muzzarelli 등, 2001). 특히 최근에는 임상의학분야에서 탁월한 기능을 선보여 여러 과학자들의 관심을 집중시키고 있는 실정이다(Huang 등, 2001; Muzzarelli 등, 1994; Ylitalo 등, 2002). 이상에서와 같이 키토산의 작용에 관해 여러 분야에 걸쳐 많은 연구가 진행되어지고 있지만 이들의 작용기전에 관해서는 아직 불명한 점이 많은 실정이며, 특히 키토산이 중금속을 흡착하여 배설시키는 생체내에서의 기전에 관하여는 관련 문헌을 찾아보기 힘든 실정이다. 따라서 키토산이 유해한 중금속 중의 하나인 납의 대사에 미치는 영향에 관해 밝힌다는 것은 키토산을 의학분야에 이용할 수 있는 기초적 자료를 제시한다는 점에서 중요한 문제라 할 수 있다.

모든 동물에 있어서 체내에 영향을 미칠 수 있는 사료 또는 음수내 납의 농도는 100 mg/l로 알려져 있는(Bartik와 Piskac, 1981) 반면, 키토산의 경우 랫드에 있어서 사료내 5% 농도까지는 생체내에 아무런 영향을 미치지 않는다고 보고되고 있다(Kim 등, 2001). 따라서, 본 실험에서는 키토산이 납의 대사에 미치는 영향을 밝히고자 SD 랫드를 이용하여 음수내에 납이 100 mg/l되도록 첨가하여 급여하는 한편, 실험군에는 사료내에 고효율성 수용성 키토산이 5%가 되도록 첨가하여 4주간 급여하면서 체중 변화, 사료섭취량, 음수량, 분 및 뇨 배설량, 그리고 분 및

노내 납 배설량을 측정하여 평가하였다.

본 실험결과 전 실험기간동안 실험군과 대조군 모두 치사된 동물은 한 마리도 발생하지 않았다. 모든 동물은 4주동안의 실험기간 중 지속적인 체중증가를 보였는데 이는 6주령에 가까운 동물이 해당되는 성장속도를 반영하고 있음이 확인되었으며(Song 등, 1990), 대조군과 실험군 사이에 유의한 변화는 인정되지 않았다. 키토산 투여에 따른 실험군과 대조군 사이의 사료섭취량과 음수량도 양군 사이에 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 또한 전 실험기간동안 분 및 노 배설량에 있어서도 실험군과 대조군 사이에 유의한 변화가 인정되지 않았다. 이러한 결과는 랫드에 키토산을 5% 농도로 투여하여도 체중이나 사료섭취량 등에는 영향을 미치지 않았다는 보고와 일치되는 소견으로 생각되지만(Kim 등, 2001; Jeon과 Kim, 1999), 체내에서 중금속의 대사와 관련된 보다 정확한 기전은 앞으로 더욱 규명되어야할 것으로 생각된다.

키토산에는 아민기라고 하는 활성물질이 붙어 있어 동물성 식이섬유 중 유일하게 양이온을 띠고 있기 때문에 납과 같은 음이온을 가진 인체에 유해한 중금속이나 독성 물질들과 결합하는 것으로 알려져 있으나(Ishii 등, 1995; Navarro 등, 2001; Piron과 Domard, 1998), 생체내에서의 실험에 관한 보고는 찾아보기 힘든 실정이다. 본 실험 결과 전 실험기간 동안 실험군이 대조군에 비해 분내 1일 총 납 배설량이 높게 나타났다. 특히, 실험군에 있어서 실험 6일째에 1399 ± 159 , 10일째에 1478 ± 160 , 18일째에 1721 ± 151 , 20일째에 1595 ± 165 , 24일째에 1593 ± 170 및 26일째에 $1552 \pm 140 \mu\text{g/day}$ 로서 각각 대조군의 810 ± 119 , 904 ± 179 , 1319 ± 150 , 1070 ± 161 , 1123 ± 165 및 $1103 \pm 172 \mu\text{g/day}$ 와 비교하여 납의 배설량이 유의성 있게 증가하였다. 반면, 노내 1일 총 납 배설량은 전 실험기간동안 실험군이 대조군과 비교하여 낮게 나타났다. 특히, 실험군에 있어서 실험 8일째에 11.3 ± 4.3 , 12일째에 8.7 ± 3.6 , 16일째에 13.6 ± 3.4 , 22일째에 8.9 ± 2.6 및 26일째에 $11.7 \pm 2.6 \mu\text{g/day}$ 으로서 각각 대조군의 37.4 ± 12.5 , 24.4 ± 4.3 , 24.6 ± 1.5 , 18.3 ± 0.7 및 $19.6 \pm 0.7 \mu\text{g/day}$ 와 비교하여 납의 배설량이 유의성 있게 감소하였다. 이러한 결과는 비록 전 실험기간동안 유의성 있는 결과를 나타낸 것은 아니라 할지라도, 대체로 키토산이 소화관내에서 납과 흡착하여 분내 배설을 증가시킨 것으로 생각되며, 그 결과 노내 납 배설량이 감소된 것으로 생각되나 보다 정확한 기전은 앞으로 더욱 규명되어야할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2003년도 경북대학교의 연구비에 의하여 연

구되었음. 본 연구를 위해 키토산을 제공해 주신 주식회사 자광의 유행자 대표이사님께 감사드립니다.

참고문헌

- Bartik, M. and Piskac, A. (1981): Veterinary toxicology, Elsevier Scientific Publishing Company, New York, pp. 108-118.
- Bernkop-Schnurch, A. and Kast, C.E. (2001): Chemically modified chitosans as enzyme inhibitors. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **52**, 127-137.
- Borchard, G. and Junginger, H.E. (2001): Modern drug delivery applications of chitosan. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **52**, 103.
- Cardenas, G., Orlando, P. and Edelio, T. (2001): Synthesis and applications of chitosan mercaptanes as heavy metal retention agent. *Int. J. Biol. Macromol.*, **28**, 167-174.
- Chu, K.H. (2002): Removal of copper from aqueous solution by chitosan in prawn shell: adsorption equilibrium and kinetics. *J. Hazard Mater.*, **90**, 77-95.
- Dambies, L., Vincent, T., Domard, A. and Guibal, E. (2001): Preparation of chitosan gel beads by ionotropic molybdate gelation. *Biomacromolecules*, **2**, 1198-1205.
- Gruden, N. and Stantic, M. (1975): Transfer of lead through the rat's intestinal wall. *Sci. Total Environ.*, **3**, 288-292.
- Hallen, I.P. and Oskarsson, A. (1993): Dose dependent transfer of ^{203}Pb to milk and tissue uptake in suckling offspring studied in rats and mice. *Pharmacol. Toxicol.*, **73**, 174-179.
- Hankin, L., Heichel, G.H. and Botsford, R.A. (1975): Lead in pet foods and processed organ meats. *J. Am. Med. Assoc.*, **231**, 484-485.
- Huang, H., Tian, H., Li, X. and Zhao, G. (2001): Hypoglycemic effect of chitosan-microcapsulated insulin on the blood glucose level of streptozotocin-diabetic Wistar rats. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, **18**, 425-427, 460.
- Ishii, H., Minegishi, M., Lavitpichayawong, B. and Mitani, T. (1995): Synthesis of chitosan-amino acid conjugates and their use in heavy metal uptake. *Int. J. Biol. Macromol.*, **17**, 21-23.
- Ito, M., Ban, A. and Ishihara, M. (2000): Anti-ulcer effects of chitin and chitosan, healthy foods, in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, **82**, 218-225.
- Jeon, Y.J. and Kim, S.K. (1999): Effects of chitooligosaccharides on acute oral toxicity. *J. Chitin and Chitosan*, **4**, 115-120.
- Kas, H.S. (1997): Chitosan: Properties, preparations and application to microparticulate system. *J. Microencapsul.*, **14**, 689-711.
- Kim, S.K., Park, P.J., Yang, H.P. and Han, S.S. (2001): Subacute toxicity of chitosan oligosaccharide in Sprague-Dawley rats. *Arzneimittelforschung*, **51**, 769-774.
- Koller, L.D. (1980): Public health risks of environmental contaminants: Heavy metals and industrial chemicals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **176**, 525-529.
- Lansdown, R. and Yule, W. (1986): Lead toxicity: History and environmental impact, Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp. 1-286.
- Muzzarelli, C. and Muzzarelli, R.A. (2002): Natural and artifi-

- cial chitosan-inorganic composites. *J. Inorg. Biochem.*, **92**, 89-94.
- Muzzarelli, R.A., Mattioli-Belmonte, M., Tietz, C., Biagini, R., Ferioli, G., Brunelli, M.A., Fini, M., Giardino, R., Ilari, P. and Biagini, G. (1994): Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. *Biomaterials*, **15**, 1075-1081.
- Muzzarelli, R.A., Muzzarelli, C., Tarsi, R., Miliani, M., Gabbanelli, F. and Cartolari, M. (2001): Fungistatic activity of modified chitosans against *Saprolegnia parasitica*. *Biomacromolecules*, **2**, 165-169.
- Muzzarelli, R.A. and Rocchetti, R. (1974): The determination of copper in sea water by atomic absorption spectrometry with a graphite atomizer after elution from chitosan. *Anal. Chim. Acta.*, **69**, 35-42.
- Navarro, R.R., Tatsumi, K., Sumi, K. and Matsumura, M. (2001): Role of anions on heavy metal sorption of a cellulose modified with poly(glycidyl methacrylate) and polyethyleneimine. *Water Res.*, **35**, 2724-2730.
- No, H.K., Cho, Y.I., Kim, H.R. and Meyers, S.P. (2000): Effective deacetylation of chitin under conditions of 15 psi/121 degrees C. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 2625-2627.
- Park, J.K. (1999): The chitin catabolic cascade in microorganism. *J. Chitin and Chitosan*, **4**, 77-83.
- Piron, E. and Domard, A. (1998): Formation of a ternary complex between chitosan and ion pairs of strontium carbonate. *Int. J. Biol. Macromol.*, **23**, 113-120.
- Radostits, O.M., Blood, D.C. and Gay, C.C. (1994): *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses* (8th edition), Bailliere Tindall, London, pp. 1469-1480.
- Song, C.W., Hwang, H.S. and Han, H.S. (1990): Studies on the basic data of ktc: SD rats with age. *Kor. J. Anim. Sci.*, **6**, 33-43.
- Thompson, G.N., Robertson, E.F. and Fitzgerald, S. (1985): Lead mobilization during pregnancy. *Med. J. Aust.*, **143**, 131.
- Ylitalo, R., Lehtinen, S., Wuolijoki, E., Ylitalo, P. and Lehtimäki, T. (2002): Cholesterol-lowering properties and safety of chitosan. *Arzneimittelforschung*, **52**, 1-7.