

카드뮴 수준별 투여 흰쥐의 혈액과 조직의 카드뮴 함량과 키토산 섭취 효과

이 연 숙 · 김 윤 아 · 박 미 나 · 장 수 정
서울대학교 식품영양학과, 생활과학연구소

Effects of Chitosan on Cadmium Contents of Blood and Tissues in Rats Exposed to Various Levels of Cadmium

Lee, Yeon Sook · Kim, Yun Ah · Park, Mi Na · Jang, Soo Jung

Dept. of Food and Nutrition, Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul, Korea

ABSTRACT

This study investigated the effects of chitosan on cadmium(Cd) toxicity and mineral metabolism in rats exposed to cadmium by oral administration. Six week-old Sprague-Dawley rats were divided into eight groups. Four groups were fed AIN-93G based 3% α -cellulose diets while the others were fed 3% chitosan diets for four weeks with oral administration of 0, 0.5, 1.0, 2.0 mg Cd/2ml distilled water three times a week, respectively. Cd contents in the serum, liver, kidney, testis and bone, and the excretion of cadmium in feces were determined. There was no significant difference in weight gain and food intake among groups. Cadmium contents in the serum, liver, kidney, testis, femur and lumbar were significantly increased in proportion to the administration level of Cd ($p < 0.05$). A protective effect of chitosan on cadmium toxicity in tissue was shown only in the high level cadmium-intake group. The fecal excretion, absorption of Cd were increased by the administration levels of cadmium. These results suggest that Cd administration may facilitate the accumulation of Cd in the blood and tissue in proportion to the amount of administration, and also, that chitosan may be effective in lowering the accumulation of cadmium.

Key words: cadmium, chitosan, oral administration, toxicity, protective effect

I. 서론

카드뮴(Cd)은 환경에 존재하는 인체에 유독한

미량 원소들 중 하나이다. 일단 체내로 들어온
카드뮴은 쉽게 배설되지 않으며, 생물학적 반감
기가 약 16년으로 나이가 들수록 카드뮴의 체내

This research was supported by grant R01-2002-000-00321-0 from the Basic Research Program of the Korea Science & Engineering Foundation.

접수일: 2007년 10월 8일 채택일: 2007년 10월 29일

Corresponding Author: Lee, Yeon-Sook Tel: 82-2-880-6832 Fax: 82-2-884-0305

e-mail: lysook@snu.ac.kr

축적은 증가하게 되고, 일단 중독이 되면 완치가 불가능하기 때문에 특히 문제가 되고 있다. 카드뮴은 오염된 농작물과 식수를 섭취하거나 호흡기를 통하여 인체 내로 들어와서 조직에 축적되고 급·만성 중독증을 유발한다(Webb 1972).

카드뮴의 급성 중독은 소화기를 통해서 섭취하거나 또는 호흡기를 통해서 흡입함으로써 발생하는데, 소화기를 통한 카드뮴 섭취는 설사와 급성위장염, 두통, 근육통 그리고 간 및 신장의 기능장애를 유발할 수 있다. 호흡기를 통한 카드뮴 섭취는 인두부의 통증, 기침, 두통, 흉부 압박감, 점액성 가래, 호흡곤란, 신장의 부종 등을 나타낼 수 있다. 또한 저농도의 카드뮴일지라도 장기적으로 체내에 흡수될 경우, 신장장애, 만성호흡기 질환, 골격계 장애 및 심혈관계 장애 등의 중독 증상이 일어날 수 있다고 알려져 있다(Choi et al. 2003; Hunder et al. 2001; Brzoska et al. 2001).

카드뮴은 생체 반감기가 길어 체내에 일단 들어오면 배설되기 어렵기 때문에 무엇보다 체내로의 카드뮴 흡수를 억제하는 것이 중요하다. 이에 카드뮴의 중독을 완화하고자 하는 연구들은 크게 세 가지 접근 방법으로 이루어져 왔다. 첫째, 녹차의 카테킨, 식물성식이섬유소인 알긴산, 또는 동물성 식이 섬유인 키토산의 킬레이트 작용을 통한 중금속의 흡수 억제 및 배출에 대한 연구들이다(Choi et al. 2003; Sankararmakrishnan et al. 2007; Luisa et al. 2003). 둘째, 비타민 E 등의 항산화 물질을 투여하여 중독을 억제한다는 연구들이다(Yang et al. 2006; El-sharakly et al. 2007). 셋째, 카드뮴과 같은 2가 이온인 Ca, Zn, Cu, Fe, Ni 등을 식이 내 공급함으로써, 카드뮴과 경쟁흡수를 통해 흡수를 억제한다는 연구가 이루어져 왔다(Sankararmakrishnan et al. 2007; Brzoska et al. 2007; Bergeron & Jumarie 2006).

비가식부위인 갑각류 껍질에 다량(25~35%) 함유되어 있는 키틴, 키토산은 자원은 풍부하나 거의 이용되지 못하였다. 키틴은 aminopolysaccharide로서 cellulose와 비슷한 고분자 물질이고 새우, 게와 같은 갑각류의 껍질, 곤충의 표피, 조개류와 오징어 등의 연체동물의 기관에 존재한다. 키틴을 고온에서 강염기로 처리하면 70~95%의 acetyl

기가 떨어지고 free amino group을 가진 키토산이 만들어진다. 키토산은 독성이 없고 미생물에 의해서 분해가 가능하기 때문에 의약품분야에서도 활용되는데, 상처치유, 약물수송, 지질 및 콜레스테롤 배설 등의 생리적 효과가 보고되어 있다(Jung et al. 2006). 또한 최근에는 키토산유도체인 키토올리고당(chitooligosaccharides)의 항산화, 항암 및 항염증 효과가 보고되고 있다(Jung et al. 2006; Yoon et al. 2007; 이준호 등 2005). 한편 키토산에 존재하는 free amino group은 polycationic property, chelating, dispersion을 형성하는 능력이 있어 흡습제, 점결제, 금속이온의 선택적인 흡착제로서 활용할 수 있다(Sankararmakrishnan et al. 2007). 따라서 키토산은 금속이온과 배위결합을 하여 착물을 형성하기 때문에 카드뮴, 수은, 납과 같은 유독한 금속이온을 제거하는 데 사용된다(Sankararmakrishnan et al. 2007; Luisa et al. 2003). 그러나 키토산은 중금속뿐만 아니라 철, 구리, 마그네슘과 같은 필수 무기질도 흡착할 수 있는 가능성이 클 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는 수컷 흰쥐에서 수준별로 카드뮴을 투여한 후 4주 후에 성장 및 식이섭취량과 혈액, 간, 신장, 고환 및 뼈 조직에서 카드뮴 함량을 측정하여 흰쥐의 카드뮴 중독 상태를 평가하였다. 또한 식이에 키토산을 혼합하여 공급한 후, 키토산의 섭취 효과를 검토하였다.

II. 연구방법

1. 실험설계

서울대 실험동물자원관리원으로부터 분양받은 6주령의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 64마리를 체중에 따라 난괴법에 의해 8마리씩 8군으로 나누었다. 즉, 카드뮴을 투여하지 않은 정상군(normal, N)과 카드뮴을 1일 0.5mg 씩 투여한 저투여군(LCd), 1.0mg씩 투여한 중투여군(MCd), 2.0mg씩 투여한 고투여군(HCd)으로 나누었으며, 이상의 4군에게 각각 3% 키토산을 식이로 섭취시킨 정상-키토산군(N-Chi), 저카드뮴-키토산군(LCd-Chi), 중카드뮴-키토산군(MCd-Chi), 고카드뮴-키토산군(HCd-Chi)으로 실험군을 나누었다. 각 실험군에

게 실험 식이를 4주간 공급하였으며, 실험 종료 전 4일간 대사실험을 실시하였다. 실험식이와 식수는 완전자유급여법으로 급여하였다. 사육환경은 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 5\%$ 로 유지하였고, 명암은 12시간 주기(6:00 a.m.-6:00 p.m.)로 조절하였다.

2. 실험식이

식이 조성은 AIN-93G 식이 패턴(Reeves et al. 1993)을 따랐다(Table 1). 카드뮴의 투여는 CdCl_2 (cadmium chloride, sigma, USA)를 0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/2ml distilled water 수준으로 이들에 한 번씩, 1주일에 3회 금속제 경구투여용 존대를 이용하여 경구투여 하였다. 키토산 섭취군들에게는 AIN-93G 기본식이의 섬유소 급원인 셀룰로오스(α -cellulose) 3% 대신, 키토산 (분자량 30만, 탈아세틸화도 95%, 점도 25cps; 영덕키토(주)) 3%를 실험 식이에 혼합하여 공급하였다. 키토산 수준(3%)은 체내 카드뮴 축적효과를 보고한 선행연구(배계현 · 김미경 1997)를 참조하여 설정하였다.

Table 1. Composition of experimental diets¹⁾

Ingredients	(g/kg)	
	N ⁴⁾	N-Chi ⁵⁾
Cornstarch	549.5	549.5
Casein	200	200
Sucrose	100	100
Soy oil	70	70
Cellulose	30	-
Chitosan	-	30
Min.mix ²⁾	35	35
Vit.mix ³⁾	10	10
Methionine	3	3
Choline	2.5	2.5
TBHQ	0.014	0.014
Total	1,000	1,000

1) Experimental diets were prepared according to AIN-93G composition

2) Mineral mix; AIN-93G-MX

3) Vitamin mix; AIN-93-VX

4) N: α -cellulose 3% without Cd administered(normal)

5) N-Chi: Chitosan 3% without Cd administered

3. 시료수집

희생시키기 전 하룻밤 절식(overnight-fasting) 후, 염산케타민(케타라, 유한양행(주))으로 복강 마취시켜 개복한 후 복대 동맥에서 혈액을 채취하였다. 혈액의 일부는 heparin 처리된 시험관에 받아 전혈 상태로 냉동보관 하였고, 나머지는 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 얻어 분석 전까지 -70°C 에서 냉동보관 하였다. 혈액 채취 후 간과 양쪽 신장 및 고환을 적출하여 장기에 부착되어 있는 지방과 근육을 깨끗이 제거한 후 냉장 생리식염수(0.9% NaCl 용액)로 세척하여 혈액을 제거한 다음, 여과지로 물기를 닦아 전자천평으로 생조직의 무게를 측정하였다. 양쪽 대퇴골과 요추는 적출한 후 부착되어 있는 근육, 지방, 인대 등 부착물을 모두 제거한 다음 무게를 측정하였다. 모든 시료는 분석할 때까지 -70°C 에서 보관하였다.

실험 종료 전 4일간 매일 동일한 시간에 24시간 동안 수집된 분을 수거하였으며, 분은 중량을 측정 후 냉동보관 하였다. 분을 수집한 기간 동안에도 이들에 한 번씩 카드뮴을 경구투여 하였다.

4. 시료분석

혈액, 간, 신장, 고환, 대퇴골, 요추 및 분을 극초단파 습식분해장치(Microwave Digestion methods touch control, Mileston, USA)를 이용하여 원소상으로 분해하였다. 각 조직의 카드뮴 농도는 습식회화시킨 시료를 시료자동주입기가 부착된 탄소로 원자 흡수 분광 광도계(Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer; Buck Scientific Model 220-AS, USA)를 이용하여 파장 228.8nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

5. 통계분석

실험결과는 SAS version 8 을 이용하여 평균과 표준오차(mean \pm SE)로 제시하였고 각 처리별 유의성 및 카드뮴, 키토산의 영향은 ANOVA test 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다. 또한 카드뮴의 투여 수준과 키토산 섭취의 영향 및 이들의 상호작용에 의한 영향은

Table 2. Body weight, weight gain and food intake in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks.

Groups ⁴⁾	Body weight (g)		Daily weight gain (g/d)	Daily food intake (g/d)
	Initial	Final		
N	156.4±4.2 ^{1)NS2)}	326.7±11.3 ^{NS}	5.7±0.3 ^{NS}	15.8±0.5 ^{NS}
N-Chi	156.6±4.1	321.5± 6.3	5.5±0.2	16.4±0.5
LCd	156.8±4.1	309.4± 5.4	5.1±0.2	15.6±0.3
LCd-Chi	157.3±4.0	318.9± 6.2	5.4±0.2	16.5±0.3
MCd	157.1±3.8	316.7± 6.0	5.3±0.2	15.6±0.3
MCd-Chi	157.3±3.7	316.3± 5.1	5.3±0.2	15.9±0.2
HCd	157.4±3.7	300.7± 7.6	4.8±0.2	15.2±0.3
HCd-Chi	157.2±3.7	307.9±10.6	5.0±0.3	16.3±0.5
ANOVA ³⁾	NS	NS	NS	NS

1) Values are mean±SE of 8 rats per group

2) NS: not significantly different at p<0.05 ANOVA test followed by Duncan's multiple test

3) ANOVA ; NS: not significantly at p<0.05 by Cd level and Chitosan.

4) N: α-cellulose 3% without Cd administered(normal) ; N-Chi: Chitosan 3% without Cd administered ; LCd: α-cellulose 3% with Cd 0.5mg/d administered ; LCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 0.5mg/d administered ; MCd: α-cellulose 3% with Cd 1.0mg/d administered ; MCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 1.0mg/d administered ; HCd: α-cellulose 3% with Cd 2.0mg/d administered ; HCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 2.0mg/d administered

Table 3. Organ weights in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks.

Groups ⁵⁾	Liver	Kidney	Testis	Femur	Lumbar
	fresh wt(g)	fresh wt(g)	fresh wt(g)	fresh wt(g)	fresh wt(g)
N	9.4±0.5 ^{1)NS2)}	2.2±0.1 ^{a3)}	3.7±0.2 ^{NS}	0.86±0.03 ^{NS}	1.32±0.05 ^{NS}
N-Chi	9.1±0.3	2.2±0.1 ^a	3.6±0.1	0.85±0.01	1.27±0.02
LCd	9.1±0.3	2.0±0.1 ^{ab}	3.5±0.1	0.78±0.02	1.20±0.03
LCd-Chi	9.3±0.2	2.2±0.1 ^a	3.9±0.1	0.83±0.02	1.18±0.04
MCd	10.1±0.3	2.1±0.1 ^a	3.4±0.3	0.83±0.02	1.23±0.04
MCd-Chi	9.8±0.2	2.1±0.1 ^a	3.5±0.2	0.81±0.01	1.25±0.02
HCd	9.4±0.3	2.0±0.1 ^{ab}	3.8±0.1	0.81±0.01	1.22±0.03
HCd-Chi	9.0±0.1	1.9±0.1 ^b	3.6±0.1	0.79±0.03	1.23±0.04
ANOVA ⁴⁾	NS	Cd*	NS	NS	NS

1) Values are mean±SE of 8 rats per group

2) NS: not significantly different at p<0.05 ANOVA test followed by Duncan's multiple test

3) Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

4) ANOVA; Cd*: a significant effect of Cd level at p<0.05; NS: not significantly at p<0.05 by Cd level and Chitosan.

5) N: α-cellulose 3% without Cd administered(normal) ; N-Chi: Chitosan 3% without Cd administered ; LCd: α-cellulose 3% with Cd 0.5mg/d administered ; LCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 0.5mg/d administered ; MCd: α-cellulose 3% with Cd 1.0mg/d administered ; MCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 1.0mg/d administered ; HCd: α-cellulose 3% with Cd 2.0mg/d administered ; HCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 2.0mg/d administered

p<0.05 수준에서 이원배치 분산분석(two-way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중 및 식이 섭취량

실험 시작 및 종료기 체중, 체중 증가량 및 식

이 섭취량은 Table 2에 제시하였다. 체중 증가량과 식이 섭취량은 실험 기간에 유의적인 차이가 없었으나, 카드뮴의 투여 수준이 증가함에 따라 정상군(N)에 비하여 체중 증가량이 감소하는 경향을 나타내었다. 체중 증가량은 키토산의 섭취에 따른 차이는 없었다. 식이 섭취량의 경우, 키토산을 섭취한 군(N-Chi, LCd-Chi, MCd-Chi, Hcd-Chi)에서 키토산을 섭취하지 않은 군(N, LCd, MCd, Hcd)에 비해 증가하는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다. 카드뮴을 실험동물에게 경구투여나 피하 주사한 연구들(김남송 1997; Itokawa et al. 1974)에서는 식이 섭취량과 체중 증가량 감소가 나타났다. 본 연구에서도 카드뮴 섭취에 따른 식이 섭취량과 체중 증가량이 유의적이지는 않았지만 낮아지는 경향이 나타났다. Kanauchi 등(1995)과 Razdan 등(1994)의 보고에 의하면 키토산 5% 이하 식이는 동물의 체중에 영향을 미치지 않았으며, Sugano 등(1980)과 Gallaher 등(2000)의 보고에 의하면 식이 내 키토산 함량이 7.5% 이상이 되었을 때 체중 증가율이 저하되었다고 하였다. 3% 키토산 식이를 공급한 선행연구(박주란 등 2005)에서도 키토산 섭취로 인한 체중 증가량 및 식이 섭취량의 유의적인 저하는 나타나지 않았다.

2. 조직무게

간, 신장, 고환, 대퇴골 및 요추의 무게는 Table 3에 제시하였다. 간 조직 무게는 실험 기간에 차이를 보이지 않았으나, 신장 무게는 카드뮴의 투여량이 증가함에 따라 다소 감소하는 경향을 보였다. 고환, 대퇴골 및 요추무게도 실험 기간에 차이가 없었다.

체내로 흡수된 카드뮴은 주로 간과 신장에 축적되므로 이 조직들이 카드뮴의 영향을 가장 크게 받으며(Haouem et al. 2007), 카드뮴 투여시 간과 신장의 기능이 감소하고 만성적인 카드뮴 중독시 조직의 피사가 초래되었다(Faeder et al. 1977)고 한다. 또한 심각한 장기 피사에 의해 조직 무게가 감소하였다는 보고도 있으나(최정화·이순재 2001), 본 연구의 투여량과 실험 기간으로는 카드뮴으로 인한 간, 신장, 고환의 심각한

무게 감소는 나타나지 않았다.

3. 혈액, 간, 신장 및 고환의 카드뮴 함량

혈액과 간, 신장, 고환에서 측정된 카드뮴 함량은 Fig. 1에 제시하였다. 관찰한 모든 조직에서 카드뮴 투여량의 증가에 따라 조직 카드뮴 함량이 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$).

혈액의 카드뮴 농도는 카드뮴 투여군이 카드뮴 비투여군에 비해 유의적으로 높았으며(약 20ug/L; $p < 0.05$), 카드뮴 투여량이 증가할수록 혈액의 카드뮴 농도는 비례적으로 증가하였다. 특히 고농도의 카드뮴 투여군에서는 혈중 농도가 60ug/L를 초과하였다. 키토산을 섭취한 군에서 섭취하지 않은 군에 비해 혈중 카드뮴 농도가 저하하는 경향을 보였다. 이러한 키토산의 카드뮴 저감효과는 특히 카드뮴 고투여군에서 유의적으로 나타났으며($p < 0.05$), Hcd-Chi군에서 Hcd군에 비하여 32% 정도 감소하였다.

간의 카드뮴 함량도 카드뮴 투여량이 높아짐에 따라 유의적으로 증가하였다($p < 0.01$). 키토산에 의한 카드뮴 저감효과는 혈액과 동일한 양상으로 카드뮴 고투여군에서만 나타났으며, Hcd-Chi군의 카드뮴 함량이 Hcd군에 비하여 30% 감소하였다.

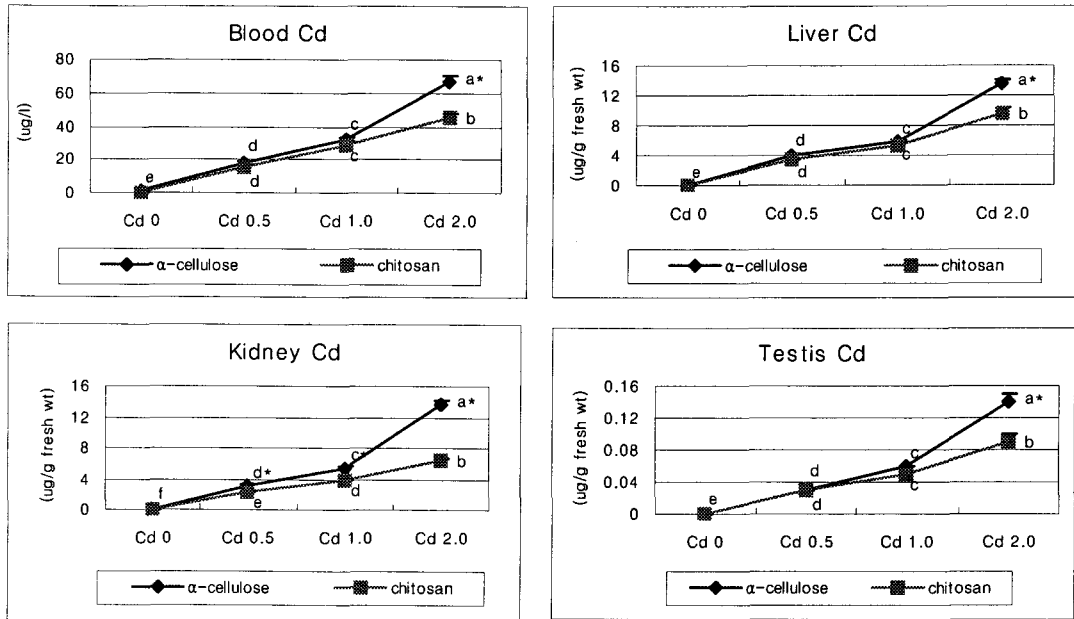
신장의 카드뮴 함량도 카드뮴 투여량 증가에 따라 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 또한 키토산 섭취의 영향을 받은 것으로 나타났다. 즉, 신장의 카드뮴 함량은 카드뮴 수준별 투여에 따라 키토산 섭취군(LCd-Chi, MCd-Chi, Hcd-Chi)에서 키토산 비섭취군(LCd, MCd, Hcd)에 비해 각각 29%, 32%, 52%씩 감소하였다.

고환의 카드뮴 함량 역시 카드뮴 투여량이 높아짐에 따라 유의적으로 증가하였으며($p < 0.01$), 키토산 섭취에 의한 카드뮴 저감 효과는 카드뮴 고투여군에서만 나타나, Hcd-Chi군의 카드뮴 농도는 Hcd군에 비하여 36% 감소하였다.

본 연구에서 각 장기에 축적된 카드뮴 함량은 카드뮴의 투여량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. 그 중에서도 혈액, 간, 신장의 카드뮴 함량이 높았다. 간은 카드뮴 노출 경로에 관계없이 인체 내에서 카드뮴 축적이 가장 높은 기관으

로서, 카드뮴에 의한 독성을 나타내기 쉽다. 또한 다른 연구들에서도 동물에게 카드뮴을 투여했을 때, 간과 신장의 카드뮴 함량이 카드뮴 섭취에 따라 증가하였다(Haouem et al. 2007; 최정화 · 이

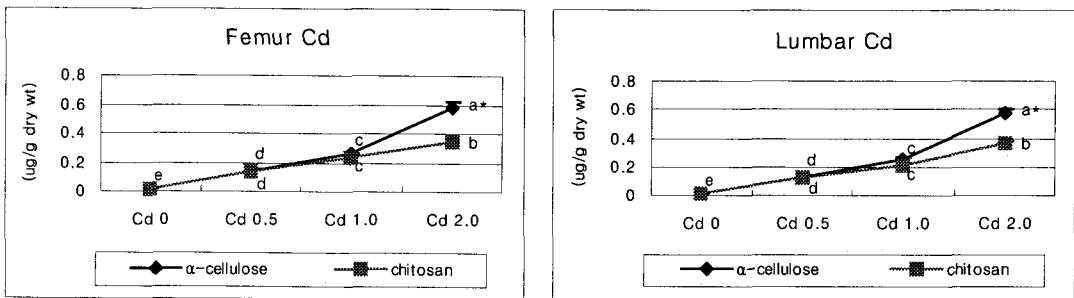
순재 2001). Frazier 등(1978)의 연구에서는 8주 동안 일주일에 세 번 정맥주사로 0, 0.25, 0.50, 0.75mg Cd/kg BW의 양을 투여했을 때, 간과 신장의 카드뮴 함량이 카드뮴 투여량과 기간에 따



Values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ ANOVA test followed by Duncan's multiple range test

*: significant effect of chitosan intake by two-way ANOVA

Fig. 1. Cadmium concentration of blood, liver, kidney and testis in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks



Values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ ANOVA test followed by Duncan's multiple range test

*: significant effect of chitosan intake by two-way ANOVA

Fig. 2. Cadmium concentration of femur and lumbar in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks

라 증가함을 보고하였다. 본 연구에서도 간과 신장의 카드뮴 함량이 카드뮴 투여수준에 따라 유의적으로 증가하였으며, 간의 카드뮴 함량이 가장 높았다.

4. 뼈 조직의 카드뮴 함량

대퇴골과 요추의 카드뮴 함량을 Fig. 2에 제시하였다. 카드뮴 함량은 카드뮴 투여량 증가에 따라 모두 유의적으로 증가하였다(p<0.01). 대퇴골과 요추의 경우 역시 카드뮴 고투여군에서만 키토산 섭취에 따른 카드뮴 함량에서 차이가 나타났다. 즉, HCd-Chi군의 카드뮴 함량이 HCd군에 비하여 대퇴골과 요추에서 각각 40%, 38%씩 감소양상을 보였다.

Bonner(1980)의 연구에서는 수컷 흰쥐에게 48주 동안 75ppm의 카드뮴 식이를 섭취시켰을 때, 기간에 따라 대퇴골의 카드뮴 함량이 증가하였

다. 본 연구에서도 대퇴골 및 요추의 카드뮴 함량은 기간이 증가함에 따라 증가하는 것으로 나타났다. 앞에서 혈액, 간, 고환조직에서와 마찬가지로 대퇴골 및 요추에서도 키토산이 카드뮴 함량을 감소시키는 효과는 카드뮴 고투여군에서만 나타났다. 이러한 결과는 장내의 카드뮴 농도가 어느 정도 이상일 때에 키토산이 카드뮴의 흡수를 저해할 수 있는 것으로 해석된다.

5. 카드뮴 배설과 흡수

본 중의 카드뮴 배설량과 흡수량은 Table 4에 제시하였다.

분으로 배설된 카드뮴 함량은 카드뮴의 영향으로, 카드뮴 투여수준이 높을수록 유의적으로 증가하였다(p<0.01). 키토산 섭취의 영향은 고카드뮴군에서만 나타나, 키토산 섭취군(HCd-Chi)의 카드뮴 배설량이 키토산 비섭취군(HCd)의 배설

Table 4. Fecal cadmium concentrations excretion and apparent absorption in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks.

Groups ⁴⁾	Intake (ug/2d)	Fecal Cd excretion (ug/2d)	Cd absorption ⁵⁾ (ug/2d)	Cd absorption rate ⁶⁾ (%)
N	-	-	-	-
N-Chi	-	-	-	-
LCd	500	324.4±14.4 ¹⁾⁽²⁾	175.6±11.0 ^d	35.12±2.21 ^{bc}
LCd-Chi		344.0±16.4 ^d	156.0±13.6 ^d	31.20±2.72 ^c
MCd	1000	616.6±37.0 ^c	383.4±33.6 ^c	38.34±3.36 ^{ab}
MCd-Chi		571.4±27.4 ^c	428.6±25.8 ^c	42.86±2.58 ^{ab}
HCd	2000	1130.2±61.2 ^b	869.8±55.4 ^a	43.49±2.77 ^a
HCd-Chi		1283.2±61.4 ^a	716.8±63.4 ^b	35.84±3.17 ^b
ANOVA ³⁾		Cd ^{**} Cd*Chi [*]	Cd ^{**} , Chi [*] Cd*Chi ^{**}	Cd ^{**} Cd*chi [*]

1) Values are mean±SE of 8 rats per group
 2) Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 ANOVA test followed by Duncan's multiple range test
 3) ANOVA; Cd: Effect of Cd level, Chi: Effect of chitosan, Cd*Chi: interaction between Cd level and chitosan(*, **: significant effects at p<0.05, 0.01, respectively)
 4) N: α-cellulose 3% without Cd administered(normal) ; N-Chi: Chitosan 3% without Cd administered ; LCd: α-cellulose 3% with Cd 0.5mg/d administered ; LCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 0.5mg/d administered ; MCd: α-cellulose 3% with Cd 1.0mg/d administered ; MCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 1.0mg/d administered ; HCd: α-cellulose 3% with Cd 2.0mg/d administered ; HCd-Chi: Chitosan 3% with Cd 2.0mg/d administered
 5) Absorption(mg) = Intake(mg) - Fecal excretion(mg)
 6) Absorption rate(%) = [Absorption(ug/2d)/Intake(ug/2d)] x 100

량에 비해 14%정도 유의적으로 증가하였다. 카드뮴 저투여군, 중투여군들에서는 키토산 섭취로 인한 카드뮴 배설량의 증가는 나타나지 않았다. 카드뮴의 흡수량 및 흡수율은 카드뮴과 키토산의 영향을 받았다. 즉 카드뮴 투여수준에 따라 비례적으로 증가하였으며, 카드뮴 고투여군에서는 키토산 섭취군의 카드뮴 흡수율이 34.3%로 비섭취군의 46.8%에 비해 유의적으로 낮았다($p < 0.05$).

카드뮴 투여시 뇨와 분의 카드뮴 배설량은 현저히 증가하며, 키토산 섭취시 배설량이 증가하고 보유율은 감소한다는 보고가 있었다(김미경·백주는 1997). 본 연구에서도 카드뮴의 투여량이 증가함에 따라 분의 카드뮴 배설량이 현저히 증가함을 볼 수 있었다. 키토산의 섭취로 인해 분 중 카드뮴 배설량이 유의적으로 증가하는 것은 고카드뮴군에서만 나타났다. 따라서 고카드뮴군에서 키토산 섭취군의 카드뮴 흡수율은 키토산 비섭취군보다 유의적으로 낮았다. 키토산은 여러 금속 이온들과 착물을 형성할 수 있고 중금속 이온에 대한 흡착능이 우수하여 중금속 흡착제로 쓰이고 있다. Vold 등(2003)에 따르면 키토산은 이온에 대한 선택적인 결합력을 보여주지는 않았으며, pH에 따라 금속 이온의 결합이 증가하는 것은 단지 수소를 내어준 아미노 그룹이 이온과 잘 결합할 수 있다는 것을 나타낸다고 하였다. 반면 차월석 등(1998)의 연구에서는 새우껍질로부터 얻은 키토산을 이용하여 중금속의 흡착상태를 알아보았다. 그 결과 키토산에 의한 중금속들의 흡착된 양의 정도는 $Fe^{2+} > Cu^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+} > Mn^{2+} > Ni^{2+} > Cr^{2+}$ 순으로 나타났다. 본 연구 결과에서 키토산에 의해서 카드뮴의 배설량이 늘어난 것은 카드뮴 고투여군에서였으며, 이는 카드뮴의 농도가 일정 농도 이상이 되었을 때 키토산에 의한 카드뮴 흡착 효과가 나타난다는 것을 의미한다. 이러한 결과에서 볼 때, 키토산은 일정 농도 이상의 카드뮴 농도에서, 분을 통한 카드뮴 배설을 증가시켜 카드뮴의 흡수를 감소시키고, 따라서 체내 카드뮴 축적을 감소시킴으로써 카드뮴 중독을 완화하는데 효과가 있는 것으로 사료된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 카드뮴 투여에 따른 흰쥐의 체내 카드뮴 상태를 검토하고, 키토산이 카드뮴의 중독 증세를 완화할 수 있는지를 알아보기 위하여 동물실험을 수행하였다. 즉, 흰쥐에게 카드뮴을 수준별로(0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/2ml DW) 1주일에 3회 경구투여하고 식이에 키토산을 첨가(3%) 하여 4주간 공급하여 실험한 결과는 다음과 같다.

1. 체중 증가량과 식이 섭취량은 실험 군 간에 유의적인 차이가 없었다.

2. 혈액, 간, 신장, 고환, 대퇴골, 요추의 카드뮴 농도는 카드뮴 투여 수준이 증가함에 따라 비례적으로 증가하였고 특히 혈액, 간, 신장의 카드뮴 함량이 높게 나타났다. 키토산에 의한 카드뮴 저감효과는 공통적으로 카드뮴 고투여군(Cd 2mg/d)에서만 나타났다.

3. 분 중의 카드뮴 배설량, 흡수량 및 흡수율은 카드뮴 투여증가에 따라 증가하였다. 또한 카드뮴 고투여군에서는 키토산의 섭취효과가 나타나, 키토산을 섭취한 군의 흡수율은 정상 수준으로까지 낮아졌다.

이상의 결과에서, 카드뮴 투여는 흰쥐의 혈액 및 각 장기내의 카드뮴 축적량을 증가시켜 카드뮴 중독을 초래하는 것으로 나타났다. 또한 키토산의 섭취는 카드뮴 고투여군에서 카드뮴의 축적을 저감시키는 긍정적인 영향을 보여서 과량의 카드뮴에 노출된 경우에 키토산을 섭취하는 것은 카드뮴의 독성작용을 완화시키는 효과가 있을 것으로 사료된다. 그러나 본 연구에서는 성장 저하나 조직의 무게 감소 등의 변화는 크게 나타나지 않았는데 이는 비교적 짧은 실험기간 때문인 것으로 보인다. 만약 실험 기간을 더 늘린다면 위와 같은 변화가 더욱 뚜렷하게 나타날 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- 김남승(1997) 전 처치 기간에 따른 흰쥐의 조직 내 카드뮴 및 metallothionein 생성에 관한 연구. 한국독성학회지 13(1), 103-110.

- 김미경, 백주은(1997) 쌀과 보리의 식이 섬유가 흰 쥐의 지방 및 Cadmium 대사에 미치는 영향. 한국영양학회지 30(3), 252-265.
- 박주란, 김미혜, 이연숙(2005) 납에 노출된 흰쥐의 혈액과 조직의 납 함량 및 병변에 대한 키토산의 섭취효과. 한국영양학회지 38(1), 48-55.
- 배계현, 김미경(1997) 급원과 분자량이 다른 Chitosan 과 N, O - Carboxymethyl Chitosan 이 Cadmium 중독에 미치는 영향. 한국영양학회지 30(7), 751-769
- 이준호, 황석연, 이연숙(2005) 다이옥신계 TCDD(2,3, 7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)에 노출된 흰쥐의 지질대사 및 간 독성물질대사에 관한 키토산의 예방효과. 한국영양학회지 38(9), 689-697.
- 차월석, 김종수, 조배식, 김종균(1998) 새우껍질로부터 얻어진 키토산을 이용한 증감속 흡착에 관한 연구. 한국공업화학학회지 9(4), 504-508.
- 최정화, 이순재(2001) 만성 카드뮴 중독 쥐에서 카드뮴 축적에 미치는 녹차 catechin의 영향. 한국영양학회지 34(4), 384-392.
- Bergeron PM, Jumarie C(2006) Reciprocal inhibition of Cd²⁺ and Ca²⁺ uptake in human intestinal crypt cells for voltage-independent Zn-activated pathways. *Biochimica et Biophysica Acta* 1758, 702-712.
- Bonner FW, King LJ, Parke DV(1980) Cadmium-induced reduction of bone alkaline phosphatase and its prevention by zinc. *Chemico- Biological Interactions* 29, 369-372.
- Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J, Jurczuk MM, Galazyn-Sidorczuk JR(2001) The effect of zinc supply on cadmium-induced changes in the tibia of rats. *Food and Chemical Toxicology* 39, 729-737.
- Brzoska MM, Rogalska J, Galazyn-Sidorczuk M, Moniuszko-Jakoniuk J, Jurczuk M, Roszczenko A, Kulikowska-Karpinska E, Moniuszko-Jakoniuk J (2007) Effect of zinc supplementation on bone metabolism in male rats chronically exposed to cadmium. *Toxicology* 237, 89-103.
- Choi JH, Rhee IK, Park KY, Kim JK, Rhee SJ(2003) Action of green tea catechin on bone metabolic disorder in chronic cadmium-poisoned rats. *Life Sciences* 73, 1479-1489.
- El-sharaky AS, Newairy AA, Badredeen MM, Eweda SM, Sheweita SA(2007) Protective role of selenium against renal toxicity induced by cadmium in rats. *Toxicology* 235, 185-193.
- Faeder EJ, Chaney SQ, King LC, Hinners TA, Bruce R, Fowler BA(1977) Biochemical and ultrastructural change in livers of cadmium-administered rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 39, 473-487.
- Frazier JM, Puglese J(1978) Dose dependence of cadmium kinetics in the rat liver following intravenous injection. *Toxicology and Applied Pharmacology* 43, 461-474.
- Gallagher CM, Munion J, Hesslink R, Wise J, Gallaher DD(2000) Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *J Nutr* 130, 2753-2759.
- Hauoem S, Hmad N, Najjar MF, Hani AE, Sakly R(2007) Accumulation of cadmium and its effects on liver and kidney functions in rats given diet containing cadmium-polluted radish bulb. *Experimental and Toxicologic Pathology* 59, 77-80.
- Hunder G, Javdani J, Eisenhans B, Schumann K(2001) ¹⁰⁹Cd accumulation in the calcified parts of rat bones. *Toxicology* 159, 1-10.
- Itokawa Y, Abe T, Tabei R, Tanaka S(1974) Renal and skeletal lesions in experimental cadmium poisoning: Histological and biological approaches. *Archives of Environmental Health* 28, 149-154.
- Jung WK, Moon SH, Kim SK(2006) Effect of chitoooligosaccharides on calcium bioavailability and bone strength in ovariectomized rats. *Life Sciences* 78, 970-976.
- Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Shizukuishi M, Kobayashi E(1995) Mechanism for inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 59, 786-790.
- Luisa CM, Carmen AM, de la Guardia M(2003) Removal of heavy metals by using absorption on alumina or chitosan. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 375, 820-825.
- Razdan A, Pettersson D(1994) Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. *Br J Nutr* 72, 277-288.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr(1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nur* 123(11), 1939-1951.
- Sankaramakrishnan N, Sharma AK, Sanghi R(2007) Novel chitosan derivative for the removal of cadmium in the presence of cyanide from electroplating wastewater. *J Hazard Mater* in press.
- Sugano M, Fugikawa T, Hiratsuji Y, Nakashima K, Fukuda N, Hasegawa Y(1980) A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am J Clin Nutr* 33, 787-793.
- Vold IMN, Varum KM, Guibal E, Smidsrod O(2003) Binding of ions to chitosan-selectivity studies. *Carbohydrate Polymers* 54, 471-477.
- Webb M(1972) Binding of cadmium ions by rat liver and kidney. *Biochemical Pharmacology* 21, 2751-2765.
- Yang HS, Han DK, Kim JR, Sim JC(2006) Effects of

α -Tocopherol on cadmium-induced toxicity in rat testis and spermatogenesis. J Korean Med Sci 21, 445-451.

Yoon HJ, Moon ME, Park HS, Im SY, Kim YH(2007) Chitosan oligosacchride(COS) inhibits LPS-induced inflammatory effects in RAW 264.7 macrophage cells. Biochemical and Biophysical Research Communications 358, 954-959.