

카드뮴 투여 흰쥐에서 키토산 섭취가 무기질 대사에 미치는 효과

이연숙·김윤아·장수정·박미나
서울대학교 식품영양학과, 생활과학연구소

Effects of Chitosan on Mineral Metabolism in Rats Exposed to Cadmium

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

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

ABSTRACT

This study investigated the effects of chitosan on 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 and the other four groups were fed 3% chitosan diets for four weeks with the oral administration of 0, 0.5, 1.0, 2.0 mg Cd/2ml distilled water three times per week, respectively. The essential mineral contents of serum, liver, kidney and bone (femur and lumbar), and the excretion of calcium in feces and urine were determined. There was no significant difference in weight gain and food intake among groups. The cadmium administration significantly decreased calcium in serum, iron in blood, calcium and iron in liver and iron contents in kidney. In contrast, calcium and zinc contents in kidney increased by the administration of cadmium. The weight, length and breaking forces of the femur and lumbar were not significantly different due to cadmium administration and chitosan among the groups. The fecal excretion of calcium was increased by the administration of cadmium. On the other hand, calcium absorption and the absorption rate were decreased by Cd administration. In the groups without Cd administered (N, N-Chi groups), chitosan significantly decreased the absorption rate of calcium by increasing the excretion in feces ($p < 0.05$). These results suggest that cadmium administration may facilitate the decline of essential minerals in rats and also, chitosan may have a conflicting effect between cadmium and the essential minerals of tissues.

Key words: cadmium, chitosan, mineral metabolism, calcium absorption, calcium retention

I. 서론

2000년도 WHO (World Health Organization) 는,

산업화 과정에서 사용량이 감소하지 않고 오히려 증가하는 중금속 중 하나로 카드뮴을 꼽았다. 또한 WHO 산하 기구인 IARC (International Agency

접수일: 2008년 1월 30일 채택일: 2008년 3월 6일

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

e-mail: lysook@snu.ac.kr

for Research on Cancer, 1993)에서는 카드뮴을 발암 물질로 규정하였다. 카드뮴은 독성이 가장 높은 것으로, 인체에 흡수되면 미량으로도 생체 내의 대사 장애를 일으킬 뿐 아니라 구토, 두통, 발열, 호흡 곤란, 폐기종 및 신장의 세뇨관 장애 등과 장기간 섭취시에는 신장과 뼈의 손상, 골연화증 등을 일으킬 수 있다. 또한 DNA를 손상시키고, DNA repair 방해 작용을 하며, apoptosis를 증가시키는 등 세포에 독성 작용을 나타낸다(Dally & Hartwig 1997; Hunder et al. 2001; Waalkes 2003).

카드뮴은 생체 반감기가 15년 이상으로 길어 체내에 한 번 들어오면 배설되기 어렵기 때문에 무엇보다 체내로의 카드뮴 흡수를 억제하는 것이 중요하다. 이에 카드뮴의 중독을 완화하고자 하는 연구들은 크게 다음과 같이 세 가지 접근 방법으로 이루어져 왔다. 첫째, 녹차의 카테킨, 식물성 식이섬유소인 알긴산, 또는 동물성 식이 섬유인 키토산의 킬레이트 작용을 통한 중금속의 흡수 억제 및 배출에 대한 연구이다(배계현 & 김미경 1997; 최정화 & 이순재 2001). 둘째, 비타민 E 등의 항산화 물질을 투여하여 중독을 억제한다는 연구(김관유 & 이순재 2000)이다. 셋째, 카드뮴과 같은 2가 이온인 Ca, Zn, Cu, Fe, Ni 등을 식이 내 공급함으로써, 카드뮴과 경쟁흡수를 통한 흡수 억제에 대한 연구(Brzoska et al. 2001; Sankararmakrishnan et al. 2007)가 있다.

키토산은 새우, 게 등 갑각류의 껍질과 동물성 플랑크톤인 크릴에 많이 함유되어 있으며, 셀룰로오스 다음으로 자연계에 많이 존재하는 다당류이다. 동물성 식이 섬유소인 키토산은 천연 킬레이트로 free amino group이 존재하여 중금속 이온과 배위 결합하여 흡착하기 쉽고, 흡습제, 점결제, 흡착제 기능을 할 수 있다(Sankararmakrishnan et al. 2007). 따라서 키토산은 체외 배설을 증가시킬 수 있을 것이라는 기대 하에 수행한 선행연구(이연숙 등 2007) 결과, 분을 통한 카드뮴 배설을 증가시켜 카드뮴의 흡수 및 체내 카드뮴 축적을 감소시키는 효과를 확인하였다. 한편 차월석 등(1998)의 *in vitro* 연구에서 키토산에 의한 중금속들의 흡착된 양의 정도는 $Fe^{2+} > Cu^{2+} > Pb^{2+}$

$Zn^{2+} > Cd^{2+} > Mn^{2+} > Ni^{2+} > Cr^{2+}$ 순으로 나타났다. 따라서 키토산은 중금속뿐만 아니라 철, 구리, 아연과 같은 필수 무기질도 흡착 가능성이 클 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는 수준을 달리한 카드뮴 투여 흰쥐에서 키토산 식이를 공급했을 때, 카드뮴과 경쟁적으로 키토산에 흡착되리라 여겨지는 칼슘, 철분, 아연 등 2가 양이온 무기질들의 조직과 골격에서의 함량 변화 및 칼슘의 배설과 흡수량을 관찰함으로써, 카드뮴과 키토산에 의한 체내 조직의 무기질 대사를 평가하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험설계

서울대 실험동물자원관리원으로부터 분양받은 6주령의 Sprague-Dawley종 숫컷 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 실험군에게 실험 식이를 4주간 공급하였으며, 실험 종료 전 4일간 대사실험을 실시하였다. 실험식이와 식수는 완전자유급여법으로 급여하였다. 사육환경은 온도 $22 \pm 2^\circ C$, 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 공급원인 셀룰로오스(α -

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	1000	1000

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

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(베계현 & 김미경 1997)를 참조하여 설정하였다.

3. 시료수집

희생시키기 전 하룻밤 절식(overnight-fasting)후, 염산케타민(케타라, 유한양행(주))으로 복강 마취시켜 회복한 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°C에서 냉동보관 하였다. 혈액 채취 후 간과 양쪽 신장을 적출하여 장기에 부착되어 있는 지방과 근육을 깨끗이 제거한 후 냉장 생리식염수(0.9% NaCl 용액)로 세척하여 혈액을 제거한 다음, 여과지로 물기를 닦아 전자 천평으로 생조직의 무게를 측정하였다. 양쪽 대퇴골과 요추는 적출한 후 부착되어 있는 근육, 지방, 인대 등 부

착물을 모두 제거한 다음 무게를 측정하였다. 모든 시료는 분석할 때까지 -70°C에서 보관하였다.

실험 종료 전 4일간 매일 동일한 시간에 24시간 동안 수집된 뇨와 분을 수거하였으며, 뇨는 부피를 측정하고 35% 염산을 한두 방울 떨어뜨린 후, 분은 중량을 측정한 후 냉동 보관하였다.

4. 시료분석

혈액 내의 무기질(철, 아연)의 농도는 전혈을 이용하였으며, 칼슘은 혈청을 이용하여 혈액자동 분석기(Spotchem; Daiichi Kagaku Co., Japan)로 측정하였다. 혈액, 간, 신장 및 대퇴골, 요추, 뇨 및 분은 65% HNO₃와 30% H₂O₂를 넣어 극초단파 습식분해장치(Microwave Digestion methods touch control, Mileston, USA)를 이용하여 습식 회화하였다. 이후 칼슘은 2% LaCl₃·7H₂O로, 철과 아연은 1% HNO₃ 용액으로, 각각 습식분해시킨 전처리 용액을 희석한 다음, 원자흡광 광도계(Atomic Absorption Spectrometer; GBC 904AA, USA)를 이용하여 칼슘(422.7nm), 철(248.3nm), 아연(213.9nm)을 측정하였다. 무기질 분석에 사용한 모든 초자기구는 10% HCl 용액에 12시간 이상 담갔다 3차 증류수로 헹구어 건조시킨 후 사용하였다.

5. 통계분석

실험결과는 SAS version 8 을 이용하여 평균과 표준오차(mean±SE)로 제시하였고 각 처리별 유의성 및 카드뮴, 키토산의 영향은 ANOVA test후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다. 또한 카드뮴의 투여 수준과 키토산 섭취의 영향 및 이들의 상호작용에 의한 영향은 p<0.05 수준에서 이원배치 분산분석(two-way analysis of variance)으로 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중 및 식이 섭취량

실험 시작 및 종료기 체중, 체중 증가량 및 식이 섭취량은 Table 2에 제시하였다. 체중 증가량과 식이 섭취량은 실험 군 간에 유의적인 차이가 없었으나, 카드뮴의 투여 수준이 증가함에 따라

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.

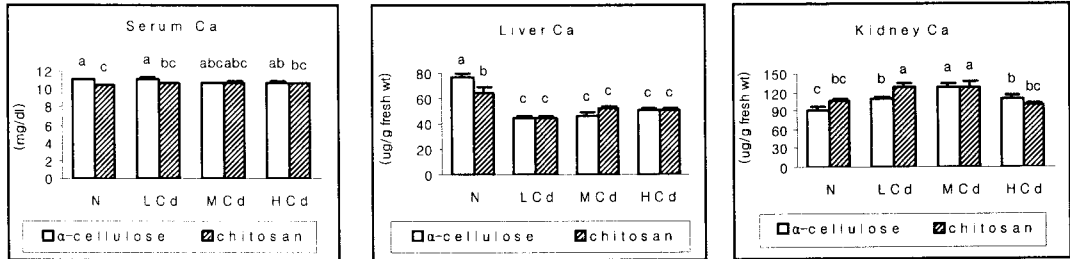
정상군(N)에 비하여 체중 증가량이 감소하는 경향을 나타내었다. 키토산의 섭취효과를 살펴보면, 체중 증가량은 키토산의 섭취에 따른 차이가 없었다. 식이 섭취량의 경우, 키토산을 섭취한 군(N-Chi, LCd-Chi, MCd-Chi, HCd-Chi)에서 키토산을 섭취하지 않은 군(N, LCd, MCd, HCd)에 비해 증가하는 경향을 나타냈으나 유의적인 차이는 없었다. 이는 10주령 Wistar rat에게 각각 5mg/l, 50mg/l 의 카드뮴을 경구투여 했을 때 체중변화가 없었다고 보고한 Brzoska 등(2007)의 연구결과와 일치하였다. 한편 본 연구에서 체중증가량은 키토산 섭취의 영향을 받지 않았는데, Kanauchi 등(1995)과 Razdan 등(1994)의 보고에 의하면 키토산 5% 이하 식이는 동물의 체중에 영향을 미치지 않았으며, Gallaher 등(2000)의 연구에서도 식이 내 키토산 함량이 7.5% 이상 되었을 때 체중 증가율이 저하되었다고 하였다. 또한 3% 키토산 식이를 공급한 선행연구(박주란 등 2005)에서도 키토산 섭취로 인한 체중 증가량 및 식이 섭취량의 유의적인 저하는 나타나지 않았다.

2. 혈액, 간 및 신장의 무기질 함량

1) 칼슘

혈청, 간 및 신장에서의 칼슘 함량을 Fig. 1에 나타내었다. 혈청 칼슘 농도는 카드뮴 투여에 따라 감소하는 경향을 보였다. 키토산 섭취효과를 살펴보면, 카드뮴 비투여군과 저투여군에서는 키토산을 섭취함에 따라 혈청 칼슘 농도가 감소하였다. 간의 칼슘 함량은 카드뮴의 영향으로, 카드뮴 투여군(수준별로 각각 44.2ug/g, 46.2ug/g, 51.4ug/g)에서 정상군(76.6ug/g)에 비해 유의적으로 감소하였다(p<0.01). 또한 카드뮴 비투여군(N, N-Chi)에서는 키토산 섭취로 인해 간의 칼슘 함량이 유의적으로 감소하였다. 신장의 칼슘 함량은 카드뮴을 투여한 군들에서 카드뮴 비투여군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 또한 카드뮴 저투여군(108.6ug/g)에서는 키토산 섭취시(128.4ug/g) 신장의 칼슘 함량이 유의적으로 높아졌다.

이상의 결과에서, 혈청과 간 조직의 칼슘 함량은 카드뮴 투여에 따라 감소하였으나, 신장 조직



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

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

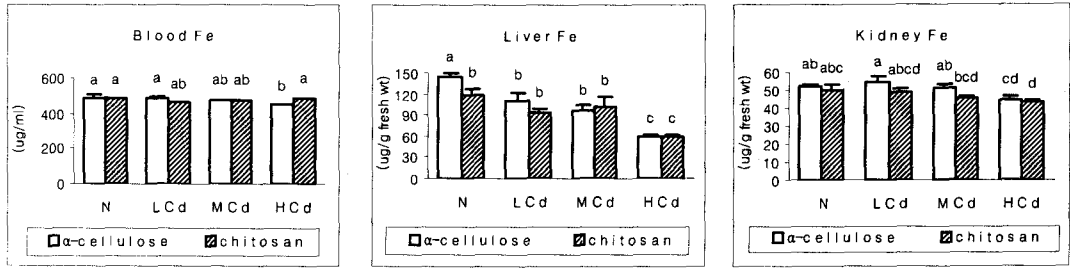
에서는 증가하는 것으로 나타났다. 한편 정상군에서 키토산의 섭취는 혈청의 칼슘 농도와 간의 칼슘 함량을 유의적으로 감소시켰는데, 이는 키토산이 칼슘의 흡수를 저해한 결과 나타난 현상으로 해석된다. 카드뮴 섭취는 칼슘의 생체 반감기를 감소시키고 소장에서 혈액으로 칼슘의 흡수를 방해하여 혈액 내 칼슘 농도를 저하시킨다 (Ando & Sayato 1978). 카드뮴은 소장의 상피세포에 존재하는 결합 부위에 칼슘 이온과 경쟁함으로써 직접적으로 칼슘의 흡수를 방해하며, 간접적으로는 비타민 D₃의 대사를 방해하여 칼슘의 흡수를 방해한다. 반대로 식이 내 칼슘의 섭취량은 카드뮴의 흡수에 영향을 미친다 (Washiko & Cousins 1977). 따라서 카드뮴 투여로 인하여 카드뮴이 칼슘의 흡수를 방해함으로써 혈액 내의 칼슘 농도와 간 조직의 칼슘함량이 감소했다고 사료된다. 본 연구에서 간과는 달리 신장의 칼슘 함량은 정상군에 비해 카드뮴 투여시 증가하는 경향을 보였다, 이는 Pettersen 등(2002)의 연구에서도 나타났다. 마우스를 대상으로 카드뮴을 식수에 300mg/l, 600mg/l 의 농도로 녹여서 3주간 공급하였을 때, 간이나 심장에서는 칼슘의 함량이 감소하였으나 신장의 칼슘 함량은 오히려 1.5-2배 증가하였다. 이러한 칼슘 함량의 증가는 칼슘이 신장의 세뇨관 세포로 분비되기 때문인 것으로 사료된다.

2) 철

혈청, 간 및 신장에서의 철 함량은 Fig. 2에 나

타내었다. 철 농도는 카드뮴 투여수준이 증가함에 따라 감소하여, 카드뮴 고투여군(HCd)의 철 농도가 451.6ug/ml로 가장 낮았다($p < 0.01$). 키토산에 의한 철분 감소 억제효과는 카드뮴 고투여군에서만 나타났다. 즉 고카드뮴군에서는 키토산 첨가시 철 농도(482.6ug/ml)가 유의적으로 증가(6%)하여 정상군의 철 농도(486ug/ml)에 가까웠다. 간의 철 함량은 카드뮴 투여로 인하여 정상군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 카드뮴 고투여군(58.9ug/g)에서 특히 감소현상이 두드러졌다($p < 0.01$). 이 때 카드뮴 투여군에서는 키토산의 섭취로 인한 무기질 감소 억제효과가 나타나지 않은 반면, 카드뮴 비투여군에서는 키토산 섭취로 인해 간의 철 함량이 유의적으로 감소하였다. 신장의 철 함량은 카드뮴 고투여군에서만 유의적으로 감소하였고($p < 0.05$), 키토산 섭취에 의한 차이는 모든 군에서 나타나지 않았다.

동물에게 카드뮴을 경구로 투여했을 경우, 철의 소장 내 흡수를 감소시키며 간이나 다른 기관의 철의 수준이 감소한다는 것이 알려졌으며, 철이 결핍된 상태에서는 카드뮴의 흡수나 축적이 증가한다는 보고가 있었다(Crowe & Morgan 1997; Tandon et al. 1994). 식이 중의 철은 십이지장에서 흡수되며, 소장에서의 흡수가 체내의 철 상태를 좌우한다. 2가 이온의 소장세포 내 운반단백질인 divalent metal transporter-1(DMT-1)은 철, 아연, 카드뮴, 코발트, 구리 등의 2가 이온과 결합하므로 철의 흡수에 있어서 중요한 물질이다. 그런데 카드뮴이 장내에 존재하면 카드뮴이 이



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

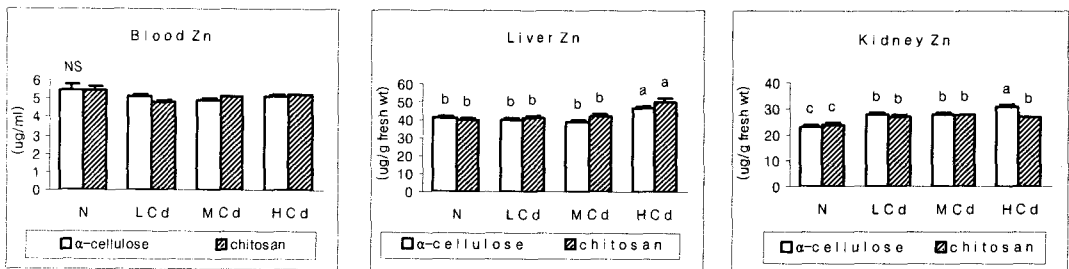
Fig. 2. Iron concentrations in blood, liver and kidney in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks

DMT-1에 결합하려 하므로 철 등의 다른 무기질의 흡수를 방해하게 된다(Leazer et al. 2002). 또한 Crowe와 Morgan(1997)의 연구에서는 86ug/l의 카드뮴을 식수에 녹여 Wistar rats에게 63일 동안 투여한 결과, 혈액의 철 농도가 유의적으로 감소하고 간과 신장의 철 함량이 감소했다고 하였다. 본 연구에서도 1일 2.0mg 씩의 카드뮴 투여로 인하여 혈액, 간 및 신장의 철 함량이 감소하였으며, 그 중 간의 철 함량 감소정도가 가장 뚜렷하였다. 또한 카드뮴 고투여군에서 혈액의 철 농도가 키토산 섭취로 인하여 정상수준으로 높아진 점으로 보아, 키토산이 혈액의 철 농도는 효과적으로 회복시켰다고 사료된다. 그러나 다른 조직에서는 키토산 섭취가 긍정적인 효과를 보이지 않아서 정상 상태의 쥐에게는 키토산이 체내 철 영양상태에 부정적인 영향을 미칠 수 있음을 시사하였다.

3) 아연

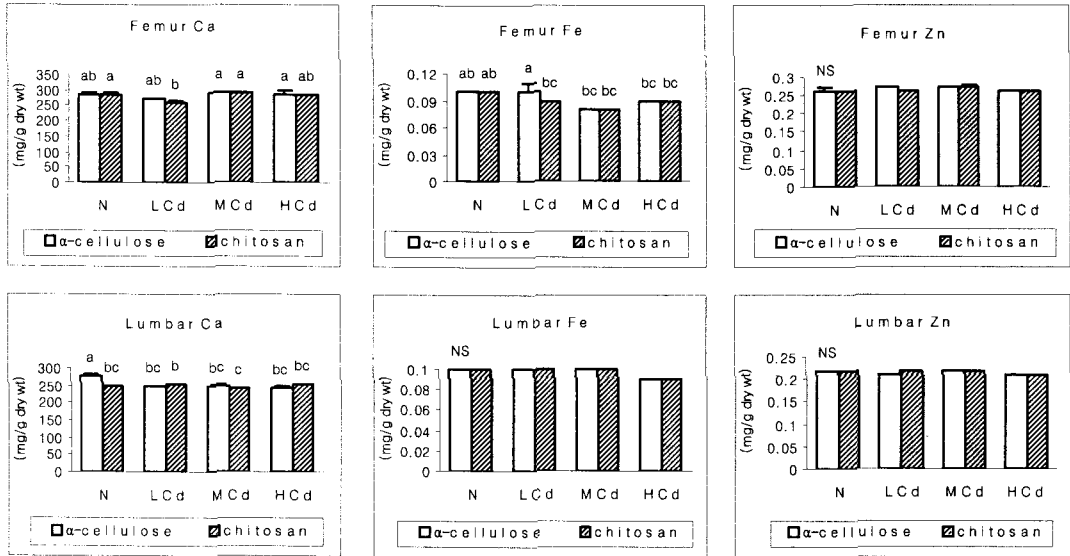
혈액의 아연 농도는 실험 군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 3). 간의 아연 함량은 카드뮴 고투여군이 비투여군에 비하여 유의적으로 증가하였으며($p < 0.01$), 키토산 섭취로 인한 차이는 나타나지 않았다. 신장의 아연 함량도 카드뮴 투여수준에 따라 각각 27.5ug/g, 27.8ug/g, 31.0ug/g로 나타나, 정상군(23.0ug/g)에 비해 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 키토산 섭취효과는 카드뮴 고투여군에서만 나타나, 키토산을 섭취한 군이 키토산을 섭취하지 않은 군에 비하여 14% 유의적으로 감소하였다.

카드뮴과 아연 이온은 비슷한 전자구조를 가졌으며, 둘 다 알부민이나 metallothionein(MT) 혹은 조직의 기타 다른 단백질들과 생체 내에서 결합한다. 따라서 이들 무기질은 서로 다른 무기질의 흡수와 작용에 영향을 미칠 수 있다. 최근 간과 신장에서 카드뮴과 아연 함량 사이에 서로 양



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

Fig. 3. Zinc concentrations in blood, liver and kidney in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks



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

Fig. 4. Mineral concentrations in femur and lumbar in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks

의 상관관계가 있음이 보고되었다(Oishi et al. 2001). 또한 카드뮴으로 인해 간과 신장에서 아연의 보유율이 증가하는 이유는 카드뮴 축적과 metallothionein의 합성 때문이라고 하였다(Brzoska et al. 2007). 즉 카드뮴은 metallothionein의 합성을 증가시키고 그에 결합하는데, 동시에 증가된 metallothionein에 아연도 결합하므로 카드뮴이 간과 신장에 축적되면 아연의 축적도 같이 일어난다고 하였다. 본 연구에서도 혈액의 아연 농도에 있어서 유의적인 차이는 없었으나, 간과 신장의 아연 함량은 카드뮴 투여에 의해 증가하는 것을 볼 수 있었다. Metallothionein은 주로 소장, 간, 신장에서 합성되기 때문에 혈액의 아연농도가 증가하지는 않은 것으로 생각된다.

3. 대퇴골 및 요추의 무기질 함량

대퇴골과 요추의 무기질 함량은 Fig. 4에 나타내었다. 대퇴골의 칼슘 함량은 카드뮴 투여에 의한 유의적인 차이가 없었으며, 이 때 키토산 섭취에 의한 함량 변화도 나타나지 않았다. 대퇴골의 철 함량은 카드뮴 중투여군과 고투여군에서 정상군에 비해 낮은 경향을 보였다. 이때 키토산

의 섭취효과는 저투여군에서 나타나, 키토산 섭취군(0.09mg)에서 키토산 비섭취군(0.10mg)에 비해 철 함량이 10% 감소하였다. 대퇴골의 아연 함량은 실험 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 한편 본 연구에서 대퇴골과 요추의 중량과 길이는 실험 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 파단력으로 측정된 대퇴골의 강도 역시 6.5~7.0 kg/g 범위 내에서 군 간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다(자료 미제시).

요추의 칼슘 함량은 카드뮴 투여와 키토산 섭취의 영향 및 두 인자간의 상호작용으로 인해 카드뮴 투여군에서 각각 246.2mg/g, 250.5mg/g, 242.1mg/g으로 나타나, 비투여군(276.4mg/g)에 비해 유의적으로 감소하였고($p < 0.01$), 카드뮴 비투여군에서는 키토산 섭취로 인해 칼슘 함량이 유의적으로 감소하였다($p < 0.01$). 한편 요추의 철 및 아연 함량은 카드뮴과 키토산의 섭취에 의한 효과가 없었다.

카드뮴을 지속적으로 경구 투여할 경우 골 대사에 심각한 장애를 일으킬 수 있으며, 대퇴골의 화학 조성이 변하고 골 무기질 밀도를 감소시킬 수 있다. 카드뮴은 필수 무기질의 대사, 특히 칼슘과 아연의 대사를 방해함으로써 골 대사에 이

상을 초래할 수 있다(Brzoska & Moniuszko- Jakoniuk 1998). 또한 카드뮴을 50ug Cd/ml 의 농도로 식수를 통해 12주 동안 공급하였을 때, 경골의 칼슘, 아연, 철 함량이 감소한다는 보고가 있었다(Brzoska et al. 2001). 본 연구에서 대퇴골과 요추의 칼슘 및 철 함량은 카드뮴 투여에 따라 감소하는 경향을 보였고, 아연 함량은 유의적인 차이가 없었다. 본 연구에서는 대퇴골보다는 요추에서 카드뮴 투여와 키토산 섭취에 의한 칼슘 함량 감소 결과를 보였다. 이 결과는 카드뮴을 투여하지 않은 정상 상태에서 과량의 키토산은 부정적인 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다. 따라서 키토산의 섭취는 카드뮴이 일으키는 골 무기질 함량의 변화를 경감시켜주지 못하며 오히려 무기질 손실을 가속화시킬 수 있다고 사료된다.

4. 칼슘의 배설과 흡수

칼슘의 섭취량, 배설량, 흡수량 및 흡수율, 보유량 및 보유율은 Table 3에 제시하였다. 본 중 칼슘 배설량은 카드뮴 투여와 키토산 섭취의 영향을 받아, 카드뮴 투여군이 비투여군에 비해 칼슘 배설량이 유의적으로 증가하였으며($p<0.01$), 키토산의 섭취는 칼슘 배설량을 더욱 증가시키는 것으로 나타났다($p<0.05$). 뇨 중의 칼슘 배설량은 카드뮴 투여에 의해서만 증가한 결과를 보였다. 결론적으로 칼슘의 흡수율과 보유율은 카드뮴 투여로 인해 유의적으로 감소하였다($p<0.01$). 한편 키토산 섭취효과를 보면, 카드뮴 비투여군에서 칼슘의 흡수율과 보유율 감소가 현저하게 나타났다.

카드뮴 섭취는 소장에서 혈액으로 칼슘의 흡수를 방해하여 혈액 내 칼슘 농도를 저하시키고 뇨와 변으로의 칼슘 배설량을 증가시키는 등 칼슘대사에 영향을 미친다(차월석 등 1998). 본 연구에서도 뇨와 변의 칼슘 배설량이 카드뮴 투여에 따라 유의적으로 증가하였고, 칼슘의 흡수율 및 보유율은 카드뮴 투여에 따라 감소하였다. 그러나 카드뮴 투여군에서는 키토산 섭취로 인한 칼슘 배설량의 감소 효과가 없었다. 반면, 카드뮴 비투여군에서는 키토산의 섭취로 인해 변의 칼슘 배설량이 유의적으로 증가하였으며, 카드뮴 투여군에서도 1.0mg/d 투여 이상에서는 칼슘의 분 배

설량을 증가시키는 결과를 보였다. 일반적으로 카드뮴과 칼슘은 함께 소장 내에서 흡수되는데, 저농도의 카드뮴에 노출되면 소장에서 카드뮴 이온과 칼슘 이온이 CaBP(Calcium binding protein)에 존재하는 결합부위를 두고 서로 경쟁하게 된다. 또한 고농도의 카드뮴에 노출되면 소장에서 카드뮴 이온과 칼슘 이온의 경쟁이 일어나고, 신장에 이상을 초래하여 비타민 D₃의 합성을 저해하며 이는 소장 내의 CaBP의 수준을 감소시킨다. 이러한 결과로 소장 내에서 칼슘의 흡수는 감소하게 된다(Ohta et al. 2002). 본 연구에서도 본으로의 칼슘의 배설량은 카드뮴 투여에 따라 증가하였고 흡수량 및 흡수율은 카드뮴의 투여에 따라 감소하는 결과를 보였다. 따라서 경구를 통한 카드뮴의 투여는 소장 내에서 칼슘의 흡수를 저해하여 배설을 증가시키고 흡수율을 감소시킨 것으로 사료된다. 카드뮴 투여는 칼슘의 생물학적 반감기를 감소시키고 소장에서 혈액으로 칼슘의 흡수를 방해하여 혈액 내 칼슘 농도를 저하시키며, 뇨와 변으로의 칼슘 배설량을 증가시킨다고 하였다(Ando & Sayato 1978). 본 연구에서도 뇨를 통한 카드뮴의 배설량은 카드뮴 투여농도에 따라 증가하여, 카드뮴의 투여가 칼슘의 대사 장애를 유발한 것으로 사료된다. 카드뮴을 투여한 군의 뇨 중 카드뮴 배설량이 증가함에 따라, 칼슘 보유량 및 보유율은 감소하였다. 키토산의 섭취가 칼슘의 배설량에 미친 영향을 살펴보면, 카드뮴 비투여군에서만 흡수량과 보유량이 감소하였다. 키토산은 여러 금속 이온들에 대한 우수한 킬레이트 결합을 형성할 수 있고 특히 중금속 이온에 대한 흡착능이 우수하여 중금속 흡착제로 쓰이고 있다. 그러나 키토산의 이러한 특성은 카드뮴의 흡착에만 기여하는 것이 아니라, 다른 금속 이온들 역시 흡착할 수 있음이 본 연구 결과에서도 나타났다. 따라서 카드뮴 비투여군에서 키토산 섭취에 의한 칼슘 배설량의 증가는 키토산이 카드뮴만을 특이적으로 흡착하지 않고 칼슘 역시 흡착하였기 때문인 것으로 사료된다. 또한 이로써 키토산은 칼슘뿐만 아니라 다른 필수 무기질의 흡수를 방해할 수 있을 것으로 예상된다.

Table 3. Calcium excretion and absorption in rats exposed to various levels of cadmium and fed chitosan for 4 weeks

Groups ⁶⁾	Ca intake (mg/d)	Fecal Ca excretion (mg/d)	Urinary Ca excretion (mg/d)	Ca absorption ⁴⁾ (mg/d)	Ca absorption rate (%)	Ca retention ⁵⁾ (mg/d)	Ca retention rate (%)
N	93.8±2.3 ^{1)a2)}	16.9±1.8 ^{d)}	0.5±0.0 ^{d)}	73.3±2.9 ^{a)}	80.3±2.6 ^{a)}	72.7±3.4 ^{a)}	79.6±2.7 ^{a)}
N-Chi	87.9±2.5 ^{ab)}	31.8±1.9 ^{bc)}	0.7±0.1 ^{cd)}	54.8±3.7 ^{b)}	60.3±2.9 ^{b)}	58.1±3.3 ^{b)}	59.3±2.9 ^{b)}
LCd	89.5±2.4 ^{ab)}	39.7±5.2 ^{ab)}	1.0±0.1 ^{abc)}	49.2±5.7 ^{b)}	44.7±5.7 ^{c)}	48.2±5.6 ^{b)}	43.7±5.7 ^{c)}
LCd-Chi	82.5±3.8 ^{b)}	33.9±3.8 ^{abc)}	1.1±0.1 ^{ab)}	49.4±4.4 ^{b)}	58.2±3.9 ^{b)}	48.3±4.4 ^{b)}	56.8±3.8 ^{b)}
MCd	80.9±1.1 ^{b)}	25.1±2.7 ^{cd)}	1.3±0.2 ^{a)}	53.5±2.1 ^{b)}	65.6±3.0 ^{b)}	52.0±2.1 ^{b)}	64.0±2.9 ^{b)}
MCd-Chi	96.0±5.4 ^{a)}	32.1±4.6 ^{abc)}	0.8±0.1 ^{bcd)}	57.7±4.9 ^{b)}	64.0±4.2 ^{b)}	56.8±4.9 ^{b)}	63.0±4.2 ^{b)}
HCd	85.9±3.8 ^{ab)}	36.7±3.9 ^{abc)}	1.1±0.2 ^{ab)}	48.2±2.6 ^{b)}	56.1±3.9 ^{bc)}	46.9±2.6 ^{b)}	54.4±3.8 ^{bc)}
HCd-Chi	94.4±5.1 ^{a)}	44.2±5.6 ^{a)}	1.1±0.1 ^{ab)}	47.6±3.4 ^{b)}	54.5±6.7 ^{bc)}	46.5±3.3 ^{b)}	51.9±5.8 ^{bc)}
ANOVA ³⁾	Cd*Chi**	Cd***, Chi*	Cd*** Cd*Chi*	Cd** Cd*Chi*	Cd*** Cd*chi**	Cd***	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 by Duncan's multiple range test

3) ANOVA; Cd: Effect of Cd level, Chi: Effect of chitosan, Cd*Chi: interaction between Cd and chitosan(*, **): significantly at p<0.05, 0.01, respectively)

4) Apparent absorption(mg) = Intake(mg)-Fecal excretion(mg)

5) Retention(mg) = Intake(mg)-[Fecal excretion(mg) + urinary excretion(mg)]

6) 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

IV. 요약 및 결론

본 연구는 카드뮴 투여에 따른 흰쥐의 체내 무기질 상태를 검토하고, 카드뮴 투여에 따른 무기질 함량변화에 키토산이 어떤 영향을 미치는지 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. 혈청 칼슘 농도와 간의 칼슘 함량은 카드뮴 투여에 따라 감소하였다. 카드뮴 비투여군과 저투여군에서는 키토산 섭취에 의해 혈청 칼슘 농

도가 감소하였다. 신장의 칼슘 함량은 카드뮴 투여에 따라 증가하였다. 혈액, 간 및 신장의 철 농도는 카드뮴 고투여군에서 감소하였다. 또한 카드뮴 고투여군에서 혈액의 철 농도는 키토산 섭취로 인하여 정상수준으로 높아졌다. 혈액의 아연 농도는 군 간에 차이가 없었던 반면, 간과 신장에서의 아연 함량은 카드뮴 투여에 따라 증가하였다. 이 때 키토산 섭취는 신장의 아연 함량을 감소시켰다.

3. 대퇴골보다는 요추에서 카드뮴 투여와 키토산 섭취에 의한 칼슘 함량 감소 결과를 보였다. 대퇴골의 철 함량은 카드뮴 투여수준 증가에 따라 낮아지는 경향을 보였고, 카드뮴 저투여군에서는 키토산 섭취시 철 함량이 감소하였다. 요추의 칼슘 함량은 카드뮴 투여에 따라 감소하였으

며, 카드뮴 비투여군에서는 키토산 섭취로 인해 칼슘 함량이 유의적으로 낮았다.

4. 노와 분의 칼슘 배설량은 카드뮴의 투여로 유의적으로 증가하였고, 카드뮴 비투여군에서는 키토산의 섭취시 유의적으로 분 중 칼슘 배설량이 증가함으로써 칼슘 흡수율과 보유율이 감소하였다.

이상의 결과에서 카드뮴 투여는 흰쥐의 혈액, 각 장기 및 뼈 조직의 칼슘, 철, 아연 함량을 감소시켰다. 따라서 카드뮴은 다른 무기질과 경쟁하여 무기질의 흡수를 방해함으로써 무기질의 체내 분포에 부정적인 영향을 미친다고 사료된다. 한편 키토산의 섭취는 필수 무기질의 흡수를 측면에서 부정적인 영향을 미치기도 하였는데, 주로 카드뮴 비투여군에서 키토산 섭취가 간의 철 함량, 칼슘의 흡수율, 요추의 칼슘 함량을 감소시켰다. 그러므로 정상 상태에서 키토산을 섭취하는 것은 체내 대사에 부정적인 영향을 끼칠 수 있음을 고려해야 한다. 또한 본 연구에서는 성장 저하나 대퇴골 및 요추의 무게, 강도, 무기질 함량의 감소가 크게 나타나지는 않았는데 이는 비교적 짧은 실험기간 때문인 것으로 보인다. 만약 실험 기간을 더 늘린다면 위와 같은 변화가 더욱 뚜렷하게 나타날 수 있을 것으로 생각된다. 키토산이 카드뮴의 흡수를 저해한다는 연구는 많았으나 무기질 흡수에 미치는 키토산의 부정적인 영향에 대한 연구는 많지 않다. 따라서 본 연구결과는 카드뮴 중독 완화 물질로서의 키토산과 관련하여, 키토산이 카드뮴 중독을 완화시킬 수 있는 긍정적인 측면뿐만 아니라 무기질 흡수에 미치는 부정적인 측면에 관한 향후 연구의 기초 자료로서 활용될 수 있을 것이다.

참고문헌

김관유 · 이순재(2000) 식이 Vitamin E가 급성 카드뮴 중독 흰쥐 간조직의 항산화계에 미치는 영향. 한국영양학회지 33(1), 33-41.
 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.

이연숙 · 김윤아 · 박미나 · 장수정(2007) 카드뮴 수준 별 투여 흰쥐의 혈액과 조직의 카드뮴 함량과 키토산 섭취 효과. 한국지역사회생활과학회지 18(4), 569-578.
 차월석 · 김중수 · 조배식 · 김종균(1998) 새우껍질로부터 얻어진 키토산을 이용한 중금속 흡착에 관한 연구. 한국공업화학회지 9(4), 504-508.
 최정화 · 이순재(2001) 만성 카드뮴 중독 쥐에서 카드뮴 축적에 미치는 녹차 catechin의 영향. 한국영양학회지 34(4), 384-392.
 Ando M, Sayato Y(1978) Studies of the disposition of Ca in bones of rats after continuous oral administration of Cd. Toxicology and Applied Pharmacology 46, 625-632
 Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J(1998) The influence of calcium content in diet on cumulation and toxicity of cadmium in the organism. Archives of Toxicology 72, 63-73.
 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.
 Crowe A, Morgan EH(1997) Effect of dietary cadmium on iron metabolism in growing rats. Toxicology and Applied Pharmacology 145, 136-146.
 Dally H, Hartwig A(1997) Induction and repair inhibition of oxidative DNA damage by nickel(II) and cadmium(II) in mammalian cells. Carcinogenesis 18, 1021-1026.
 Gallaher 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.
 Hunder G, Javdani J, Elsenhans 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.
 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.
 Leazer TM, Liu Y, Klaassen CD(2002) Cadmium absorption and its relationship to divalent metal

- transporter-1 in the pregnant rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 185, 1-24.
- Ohta H, Ichikawa M, Seki Y(2002) Effects of cadmium intake on bone metabolism of mothers during pregnancy and lactation. *Tohoku J Exp Med* 196, 33-42.
- Oishi S, Nakagawa JI, Ano M(2000) Effects of cadmium administration on the endogenous metal balance in rats. *Biological Trace Element Research* 76, 257-278.
- Pettersen AJ, Andersen RA, Zachariassen KE(2002) Effects of dietary intake of trace metals on tissue contents of sodium and calcium in mice (*Mus musculus*). *Comparative Biochemistry and Physiology(Part C)* 132, 53-60.
- 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 Nutr* 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.
- Tandon SK, Khandelwal S, Jain VK, Mathur N(1994) Influence of dietary iron deficiency on nickel, lead and cadmium intoxication. *Science of the Total Environment* 148, 167-173.
- Uriu K, Morimoto I, Kai K, Okazaki Y, Okada Y, Qie YL, Okimoto N, Kaizu K, Nakamura T, Eto S(2000) Uncoupling between bone formation and resorption in ovariectomized rats with chronic exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology* 164, 264-272.
- Waalkes MP(2003) Cadmium carcinogenesis. *Mutation Research* 533, 107-120.
- Washiko PW, Cousins RJ(1977) Role of dietary calcium and calcium binding protein in cadmium toxicity in rats. *J Nutr* 107, 920-928.