J. Fd Hyg. Safety 14(3), 255–258 (1999)

Xylooligosaccharide의 랫트에 대한 급성 경구독성

박윤제† · 오화균 · 이운택 · 이지완 · 이창승 · 류보경 · 양창근 · 윤세왕 · 강부현*
대한제당(주) 중앙연구소, *한국화학연구소 안전성연구센터

Acute Oral Toxicity of Xylooligosaccharide in Rats

Park Youn-Je†, Oh Hwa Gyun, Lee Un Taek, Lee Ji Wan, Lee Chang Seung, Rhew Bo Kyoung, Yang Chang Kun, Yoon Se Wang and Kang Bu Hyun*
Dept. of Fermentation, R&D Center, TS Corp., Inchon 400-201, Korea
**Toxicology Research Center, KRICT, Taejon 305-600, Korea*

ABSTRACT – The acute toxicity of xylooligosaccharide(XO) was evaluated in SD rats. Groups of 15 male and 15 female rats were orally administered XO (0, 5000 or 10000 mg/kg). The changes of body weight and clinical signs were investigated for 14 days after treatments. No death and toxic effects were observed for 14 days. Soft stool and diarrhea appeared right after treatment for over dose and non-digestive feature of XO but these clinical signs disappeared on the next day. No significant changes in body weight and abnormal gross findings were observed in relation to XO. According to the results, XO has no special toxic effects and LD50 values of XO are above 10000 mg/kg in male and female rats.

Key words □ Xylooligosaccharide, Acute oral toxicity, Rats, LD_{50}.

Xylooligosaccharide는 corncob와 같은 천연 식물체로부터 효소분해에 의해 생산되는 bifidus 활성을 가진 올리고당의 일종이며 주성분으로는 xylose가 2개 결합된 xylobiose와 3개 결합된 xylotriose이다.[5] Xylooligosaccharide는 xylose가 β-1,4 결합된 구조로 이루어져 있으며 pH 및 열에 안정성을 지니고 있다.[5] 또한 장기 보존에 우수하며 bifidus 활성이 높아 일일 유효 섭취량이 소량으로도 충분하다는 장점이 있다.[2-3] Xylooligosaccharide는 그 우수성에도 불구하고 현재 일본내에만 고가로 시판 중에 있으며 국내에서는 아직 개발단계에 있고 시제품 정도가 본 연구진에 의해 생산되는 단계에 있다.[4]

본 연구에 사용된 xylooligosaccharide는 자연계에 존재하는 corncob로부터 xylan을 얻어 이를 원료로 효소반응을 통해 제조된 물질이며 유사한 공정을 이용한 일본 제품의 급성경구독성 결과를 보면 설탕이나 포도당과 유사한 안전성이 확보된 것으로 보고되고 있다.[7] 그러나 국내에서는 전술한 바와 같이 xylooligosaccharide 생산 초기단계에 있기 때문에 이들에 대한 독성시험은 아직까지 보고되어 있지 않다.

†Author to whom correspondence should be addressed.

이에 본 연구는 국내에서 개발된 xylooligosaccharide의 안전성 평가를 위하여 랫트에 xylooligosaccharide를 단회 경구투여 한 후 14일간의 사망율, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하고 LD_{50}치를 구하여 급성경구독성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

시험물질

본 시험에 사용한 시험물질은 대한제당(주) 중앙연구소에서 corncob xylan을[8] xylanase를[1] 이용하여 효소전환한 후 생산된 xylooligosaccharide를[4] 정제하여 70 Brix로 농축한 후 4°C 냉장보관하며 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

실험동물은 독성시험에 널리 사용되고 있고 풍부하게 기초시험자료가 확보되어 있는 한국화학연구소 안전성연구센터 실험동물육종실에서 생산된 4주령 SPF SD계 랫트 암수 각각 20두를 1주간 순화시킨 후 이중 암수 각각 15두를 선발하여 5주령 때부터 시험에 사용하였다. 시험물질 투여 개시시 암수의 체중은 각각 98.6~112.7 g 및 126.0~

Table 1. Mortality of rats treated orally with xylooligosaccharide[a]

Dose (mg/kg)	Days after treatment 0	1	···	13	14	Final Mortality	LD_{50} (mg/kg)	Days after treatment 0	1	···	13	14	Final Mortality	LD_{50} (mg/kg)
	Male							Female						
0	0/5	0/5		0/5	0/5	0/5		0/5	0/5		0/5	0/5	0/5	
5000	0/5	0/5		0/5	0/5	0/5	>10000	0/5	0/5		0/5	0/5	0/5	>10000
10000	0/5	0/5		0/5	0/5	0/5		0/5	0/5		0/5	0/5	0/5	

[a]Values are expressed as number of dead animals/total animals.

141.0 g 이었다.

사육환경은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시), 환기횟수 10~20회/hr. 및 조도 150~300 Lux로 설정하였으며 시험자들은 모두 고압증기멸균(121℃, 20분)된 작업복, 두건, 마스크 및 장갑 등을 착용하고 시험을 실시하였다. 시험기간 중 동물실들의 온습도는 자동온습도측정기에 의하여 매시간마다 측정되었으며, 조도 등의 환경조건은 정기적으로 측정되었다. 환경측정의 결과, 시험에 영향을 미칠 것으로 생각되는 변화는 없었다.

순화 및 투여 후 관찰의 전 시험기간 동안 스테인레스제 망사육상자(220W×410L×200H mm)에서 5마리씩을 사육하였으며 시험기간 중 사육상자에는 시험번호 및 동물번호를 기입한 개체식별카드를 붙였다. 사료는 실험동물용 고형사료(제일사료(주)를 방사선(2.0 Mrad) 멸균하여 자유 섭취시켰으며 물은 상수도수를 자외선살균기로 소독시킨 후 자유 섭취시켰다.

투여용량의 설정 및 군분리

본 시험물질은 식품첨가물로 사용하고자 하는 올리고당류로서 수분이 30% 함유되어 있고 제조과정 중에 독성이 발생할 기회가 거의 없었기 때문에 일반적으로 경구독성시험의 한계량으로 사용되는 5000 mg/kg 투여군을 낮은 용량군으로 하고 공비 2로 하여 10000 mg/kg 투여군을 추가하였다. 또한 시험물질을 용해할 때 사용한 주사용 증류수를 투여하는 매체대조군을 설정하였다.

동물의 군분리는 순화기간 중 건강한 동물의 체중을 측정한 후 5 g 간격으로 구분하여 각각의 평균체중에 가까운 동물들을 암수 15마리씩을 선발하였다. 선발된 암수 각 15마리는 각 군에 5마리씩 균등한 체중으로 분배되도록 하기 위해 순위화한 체중과 난수를 이용한 무작위법으로 분배하였다. 동물의 개체식별은 피모색소마킹법 및 개체식별카드 표시법으로 실시하였다.

시험물질의 조제 및 투여

시험물질은 투여용량에 맞게 측량하여 주사용 증류수에 용해하여 조제하였으며 실험동물을 투여 전에 하룻밤 절식시킨 후 경구투여용 금속제 주사침(sonde)을 이용하여 위내에 강제 경구투여하였다. 투여액량은 투여당일 측정된 체중을 기준으로하여 10 ml/kg로 하였으며 투여횟수 및 투여기간은 투여당일 오전에 개체별로 단회 투여하였다.

관찰 및 검사항목

일반증상 및 사망동물의 관찰은, 투여당일은 투여 후 1시간에서 6시간까지는 매시간마다, 투여익일부터 14일까지는 매일 1회 이상씩 일반증상의 변화, 중독증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다. 체중측정은 시험에 사용된 모든 동물에 대하여 투여개시전과 투여 후 1, 3, 7 및 14일에 측정하였다. 시험 종료 후 모든 생존동물을 CO_2 가스를 이용하여 마취한 후 개복하여 복대동맥 절단으로 방혈 치사시킨 다음 이상유무를 모든 내부장기를 대상으로 육안적으로 상세히 관찰하였다.

통계학적 분석

통계학적 분석은 Labcat module(ver 4.26)을 이용하였으며 체중은 평균과 표준편차로 나타내었다.

결 과

LD_{50}치와 임상증상

Xylooligosaccharide를 랫트에 경구투여시 암수 모든 시험

Table 2. Clinical signs in rats treated orally with xylooligosaccharide

Dose (mg/kg)	Male Ovservation	Male Incident Time	Female Ovservation	Female Incident Time
0	Normal	Day 0-Day 14	Normal	Day 0-Day 14
5000	Normal	Day 0-Day 14	Normal	Day 0-Day 14
	Soft Stool	Day 0(3hr*)		
	Diarrhea	Day 0(4-5hr*)		
10000	Normal	Day 0-Day 14	Normal	Day 0-Day 14
	Diarrhea	Day 0(2-5hr*)	Soft Stool	Day 0(5hr*)
			Diarrhea	Day 0(2-5hr*)

*Clinical signs appeared at 2~5 hr after treatment.

Table 3. Body weight changes in rats treated orally with xylooligosaccharide[a]

Sex	Dose(mg/kg)	No. of animals	Days after treatment					Gain(g)
			0	1	3	7	14	
Male	0	5	134.3±5.7	154.3±7.8	175.8±7.9	193.3±7.6	274.6±10.7	140.3±5.5
	5000	5	133.4±4.5	153.0±7.3	176.7±7.3	198.5±8.3	272.0±14.8	138.6±12.3
	10000	5	133.3±5.3	153.9±5.5	177.5±7.6	193.4±6.3	273.7±8.6	140.4±3.7
Female	0	5	106.3±5.0	126.5±6.7	142.2±5.4	154.1±6.4	182.5±6.1	76.2±5.2
	5000	5	105.2±4.3	123.7±5.1	140.3±7.2	148.2±6.7	172.8±8.7	67.6±7.3
	10000	5	107.6±4.3	126.2±3.1	137.1±4.4	149.0±3.5	167.0±3.8	59.5±2.4

[a]Values are expressed as mean±S.D.

군에서 시험기간을 통하여 사망동물은 관찰되지 않았다 (Table 1). 따라서 본 시험물질의 LD_{50} 값은 암수동물 모두 10000 mg/kg을 상회할 것이라고 판단되었다. 시험물질로 인한 임상증상으로는 투여당일 수컷 5000 및 10000 mg/kg 투여군과 암컷 10000 mg/kg 투여군에서 투여 후 2시간째부터 시험물질의 과다투여로 연변과 설사가 관찰되었으나 투여 후 1일째부터는 모두 정상으로 관찰되었다(Table 2).

체중변화 및 부검소견

체중의 측정 결과, 체중변화는 암수의 모든 시험군에서 시험기간 동안 정상적인 체중증가가 관찰되었다(Table 3). 생존동물의 부검시 암수 모든 시험군에서 육안적으로 xylooligosaccharide에 의한 이상이 있는 부검소견은 관찰되지 않았다.

고 찰

시험물질 xylooligosaccharide의 단회투여 경구독성시험을 SD 계통 랫트의 암수를 이용하여 실시하였다. 시험물질은 각각 0, 5000 및 10000 mg/kg의 용량으로 경구투여하고 14일간의 사망율, 일반증상, 체중의 변화 및 부검소견을 관찰하여 독성의 발현 여부를 관찰하였다. 본 시험에서 시험물질의 투여에 기인한 것으로 생각되는 사망동물, 체중의 변화 및 육안적 부검소견의 이상은 암수의 모든 시험군에서 관찰되지 않았다. 다만 투여당일에 관찰된 연변과 설사는 본 시험물질이 올리고당으로서 체내로 흡수되지 않고 그대로 배설되면서 관찰된 것으로 독성증상으로 보기는 어렵다고 판단되며 xylooligosaccharide가 사람의 분변에 미치는 영향을 관찰한 보고에서도 투여 후 설사가 관찰되었다고 하였다.[6] 따라서 본 시험물질은 랫트에서 급성경구독성이 낮은 것으로 보인다. 일반적으로 경구독성시험의 한계량으로 사용되는 5000 mg/kg의 2배에 해당하는 용량을 실험동물에게 투여했음에도 불구하고 본 연구에서는 모든 시험군에서 사망동물이 발생하지 않은 것으로 보아 xylooligosaccharide는 독성을 유발하지 않는 매우 안전한 물질로 사료되었다.

현재 일본 내에서는 xylooligosaccharide를 첨가한 기능성 식품들이 시판되고 있으며 냉동식품에는 10%, 음료에는 1.5%, 쿠키류에는 1%, 젤리에는 3%, 동물용 사료에는 3% 정도를 사용하고 있어,[7] 본 시험물질을 식품 및 사료에 첨가하여 사용할 경우 사람이나 동물이 이들 첨가물들을 섭취하여도 xylooligosaccharide에 의한 독성은 나타나지 않을 것으로 판단되었다.

이상의 결과로 보아 xylooligosaccharide의 암수 랫트에 대한 단회 경구독성시험에서는 과량의 시험물질이 흡수되지 않고 그대로 배설되어 연변과 설사가 관찰되었으나 시험물질 투여와 관련한 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았으며, LD_{50}값은 암수 모두 10000 mg/kg을 상회할 것으로 평가되었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 특정연구개발사업 중 선도기술개발사업(G7; #98-G-08-03-A-06) 연구비의 지원을 받아 수행된 연구의 일부로서 이에 감사드립니다.

국문요약

시험물질 xylooligosaccharide의 급성경구독성을 조사하기 위하여 SD 계통의 랫트에 암수 각각 0, 5000 및 10000 mg/kg의 용량으로 5마리씩 단회 경구투여하여 14일간의 사망율, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다. 시험기간 중 암수의 모든 시험군에서 시험물질의 투여에 기인한 사망동물은 관찰되지 않았으며 일반증상의 경우 수컷

의 5000 mg/kg 이상 투여군과 암컷 10000 mg/kg 투여군에서 과량의 시험물질 투여와 시험물질의 난소화성 특성으로 인한 연변과 설사가 투여 당일에 관찰되었다. 체중변화의 경우 암수의 모든 시험군에서 정상적인 체중증가가 관찰되었으며 부검소견 또한 암수의 모든 시험군에서 이상소견은 관찰되지 않았다. Xylooligosaccharide의 암수 랫트에 대한 급성경구독성시험에서 사망동물, 독성증상, 체중변화 및 부검소견에서 이상이 관찰되지 않았으며, 본 시험물질의 LD_{50}값은 암수 공히 10000 mg/kg을 상회할 것으로 평가되었다.

참고문헌

1. Koo, B.J., Oh, H.G., Cho, K.H., Yang, C.K., Jung, K.H., and Ryu, D.Y.: Purification and Characterization of *Clostridium thermocellum* Xylanase from Recombinant *Escherichia coli*. *J. Microbiol. Biotechnol*, **6**, 414-419 (1996).
2. Masako, O., Hirofumi, K., Reiko, I., Shigeaki, F., and Nobuya, M.: *In vitro* Digestibility and *in vivo* Utilization of Xylobiose.. 日本榮養・食糧學會誌, **44**, 41-44 (1991).
3. Masako, O., Shigeaki, F., and Nobuya, M.: Effect of Xylooligosaccharide on the Growth of Bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora* **9**, 77-86 (1990).
4. Oh, H.G., Lee, J.W., Lee, C.S., Park, Y.J. Lee, U.T., Yang, C.K., and Yoon, S.W.: Production of Xylooligosaccharide from the Corncob Xylan using the *Clostridium thermocellum* Xylanase from Recombinant *Bacillus subtilis*. *KSAM Fall Scientific Meeting, Oct.*, p. 332 (1998).
5. Shigeaki, F., Masako, O., Nobuya, M., and Kunimasa, K.: Properties and Production of Xylooligosaccharide. 澱粉科學 **37**, 69-77 (1990).
6. Takumi, K., Masako, O., Shigeaki, F., and Kunimasa, K.: Effect of Xylooligosaccharides on Feces of Men. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **65**, 1651-1653 (1991).
7. 菓子總合技術センター: 飮食料品機能性素材有效利用技術シリーズ, No.12, 三勇社, 東京, pp.1-11 (1992).
8. 이지완, 박윤제, 오화균, 이창승, 이운택, 양창근, 윤세왕 : 옥수수심(Corncob)으로부터 Xylan 추출, 한국생물공학회 춘계학술 *Proceeding, April*, pp.466-469 (1999).