

돼지고기가 生體內 重金屬의 蓄積抑制에
미치는 영향

한찬규, 이남형, 노정해, 성기승, 채찬희**
(한국식품개발연구원 · **서울대학교 수의학과)

돼지고기가 生體內 重金屬의 蓄積抑制에 미치는 영향*

한찬규, 이남형, 노정해, 성기승, 채찬희**

한국식품개발연구원 **서울대학교 수의학과

Abstract

This study was performed to investigate the effect of pork on the cadmium detoxification in rats. Ninety male Sprague-Dawley rats weighing 125.3 ± 1.4 g were divided into five groups based on cadmium treatment(0, 25, 50, 100, 250ppm) and five levels of Cd in AIN-76 purified diet had been fed for 8 weeks. Cadmium was supplemented with a form of CdCl₂. During following 8 weeks of intoxication, casein was replaced by pork and the effect of pork on cadmium- detoxification was compared with casein. After 8 weeks of Cd intake had resulted in apparent cadmium intoxication; reduced growth rate, enlarged kidney and testis, decreased hematocrit value and hemoglobin content in response to the supplemented Cd levels in the diets. Discontinuing cadmium feeding, the body weights were relieved. Pork-fed groups seemed to have higher body weight than casein-fed groups. Hemoglobin content and hematocrit value became normal range at detoxification stage. The weights of liver, kidney, and testis were decreased along with cadmium intake. However, organ weight ratio was not affected by cadmium. Cadmium accumulation in liver and kidney showed a tendency to increase in the cadmium-exposed groups. The levels of metallothionein were also significantly elevated in the tissues of liver in response to the levels of Cd supplemented($p<0.05$). Cadmium concentration in kidney was two times higher than that in liver. Cadmium removal rate of liver was higher than that of kidney. Cadmium accumulation of the pork-fed group was lower than that of casein. Especially, the factors which affected the cadmium contents in kidney were Cd*** and Cd × pork**. Metallothionein(MT) was increased with cadmium, and MT was not likely to be affected by pork. Based on the findings from gross lesion, rats fed 250ppm of Cd were externally emaciated, had exposed penis and observed atrophies of kidney and testis. Histopathological observation seemed that the liver of groups feeding Cd supplemented diets showed cellular degeneration and accumulation of eosinophilic materials in the capillaries. In kidney, rats fed Cd diets had shown tubular epithelium degeneration and lesions of basophilic materials, while testis were weakened in numbers of spermatid and sporadically enlarged of giant cells. But the rats administered cadmium-detoxified diet supplemented pork for 7 weeks were shown individually decreased lesions compared with the rats supplied with casein diet.

Key words : cadmium, pork, rats, cadmium detoxification, histopathologic lesion

* 본 연구는 농림부에서 주관하는 농림수산 특정연구과제의 현장예로기술 개발사업으로서 ARPC 와 사단법인 대한양돈협회의 지원 연구비로 수행된 과제이며 이에 감사드린다.

緒論

환경오염성 중금속 가운데, Itai-Itai병의 원인물질(Clausen과 Rastolgi, 1977)로 밝혀진 카드뮴(Cd)은 변질되지 않는 성질을 가지고 있어 합금, 도금, 축전지 및 도료 등의 공업에서 널리 사용되고 있다. 오염된 식품이나 대기를 통해 체내에 침입되는 Cd은 총蓄적량의 약 50 ~ 80%가 간과 신장에 분포하고 그 독성이 강하여 미량이라도 체내에 축적될 경우 여러 가지 猛毒性의 臨床 症狀이 나타난다(Clausen과 Rastolgi, 1977 ; 정 등, 1988 ; 이와 김, 1988). 카드뮴의 중독에 의한 증상은 체중감소, 빈혈, 간과 신장 등의 조직형태학적 변화, 고혈압, 단백뇨, 골연화증, 종추신경계 이상과 내분비 장애 등이 있다(Page와 Chang, 1986). FAO/WHO 전문가위원회에서는 성인의 경우 카드뮴의 섭취허용범위를 1인당 57-71 $\mu\text{l}/\text{day}$ 로 설정하였으며(FAO, 1972), 우리나라에서의 카드뮴의 전국적인 식이섭취량에 대한 보고는 아직 없으나 1980-1990년 사이 지역별 카드뮴 섭취 실태 조사에 따르면 1인당 평균 55-84 $\mu\text{l}/\text{day}$ 로 보고되고 있다(김 등, 1989; 송과 이, 1986).

카드뮴은 인체내에 흡수된 후 metallothionein 단백질과 결합되어 주로 간과 신장에 축적되고 그외 갑상선, 헤장, 부신등에도 소량 축적되어 체내 호르몬 대사에 영향을 미치는 것으로 알려져있는데 카드뮴 독성과 중금속 이온운반 단백질인 metallothionein(MT)의 관계에 대한 보고(Revis와 Osborne, 1984)에서는 Cd에 장기간 노출될 경우 주로 간과 신장조직에서 MT합성이 증가되어 free Cd과 결합하게 되는데 이 MT가 조직내에서 Cd와 결합하여 無毒化시킬 뿐아니라 신장을 통한 Cd배설을 돋는 등 전반적인 체내 Cd 대사 및 중독에 대해 보호적 효과를 나타내는 것으로 알려졌다. 카드뮴은 금속을 필요로 하는 효소의 활성을 저해하거나 조직의 형태를 변화시킴으로서 독성을 나타내는데 효소의 활성을 저해하여 나타나는 증상으로는 hyperglycemia, dyslipidemia, hypoproteinemia, 성장장애등이 있고, 조직의 형태를 변화시킴으로서 나타나는 증상으로는 nephropathy, hepatopathy, cardiovascular disease, osteopathy, gonadal lesion 등이 있다. 따라서 카드뮴은 질병의 権患率과 死亡率을 증가시켜서 수명을 감소시키는 요인으로 작용한다(Friberg, 1950).

돼지고기는 예로부터 여러가지 질병치료를 위한 民間療法으로 다양하게 활용되어 왔다. 특히 폐병이나 기관지 계통의 질병치료 시, 수은이나 유황 등에 중독되었을 때, 대기오염이 심한 도심의 거리에서 근무하는 운전기사나 교통경찰관, 탄광촌 광부의 진폐증 예방에도 돼지고기가 효과가 있다고 알려져 있다. 이와같이 돼지고기가 민간요법으로는 중금속 제거와 관련되어 식용되어 왔지만 이에 대한 과학적인 조사연구가 거의 이루어지지 않았다. 따라서 돼지고기 섭취가 과연 카드뮴에 의한 중독을 해독시키는지의 여부와 그 기작을 규명하고자 본 연구를 실시하였다.

材料 및 方法

1. 공시동물과 실험식이

공시동물은 약 4주령된 Sprague-Dawley계 융성 흰쥐로서 90수를 구입하여 7일간 사육실 환경에 적응시켰다. 실험 동물은 완전임의배치법으로 체중이 균일하게 처리구당 18수씩 배치하였고 8주간 중독 실험을 실시하였다. 실험 처리구는 다섯 종류로서 Cd 농도가 각각 0, 25, 50, 100 및 250ppm이 되도록 하였다. 시험 개시일의 평균체중은 $125.7 \pm 1.6\text{g}$ 이었고, 개시체중은 분산분석하여 처리구간에 차이유무를 확인하였다. 실험배치는 Table 1과 같다.

Table 1. Experimental design for intoxication and detoxification of cadmium

Intoxication (8 weeks)			Detoxification (7 weeks)	
Treatment	Cd (ppm)	Total no. of rats	Treatment	Protein source
A	0	18	6	sacrificed
			6	
			6	
B	25	18	6	sacrificed
			6	
			6	
C	50	18	6	sacrificed
			6	
			6	
D	100	18	6	sacrificed
			6	
			6	
E	250	18	6	sacrificed
			6	
			6	
			AC (6)	casein diet
			AP (6)	pork diet
			BC (6)	casein diet
			BP (6)	pork diet
			CC (6)	casein diet
			CP (6)	pork diet
			DC (6)	casein diet
			DP (6)	pork diet
			EC (6)	casein diet
			EP (6)	pork diet

실험식이의 단백질 급원은 카제인을 이용하였고 탄수화물 급원은 옥수수 전분과 설탕을 사용하였으며, 지방급원은 옥수수 기름을 사용하였다. 실험식이는 AIN-76 purified diet (AIN, 1977) 배합표를 기준으로 하되 흰쥐 식이중의 sucrose 양을 10%로 줄이고 옥수수 전분으로 대체하였으며 카드뮴은 CdCl_2 를 이용하여 Cd농도가 각각 0, 25, 50, 100 및 250ppm이 되도록 첨가하였다. 실험식이의 일반조성분은 A.O.A.C(1980) 방법으로 분석하였다. 시험기간 중 체중은 1주일 간격으로, 사료 섭취량 및 음수량은 2~3일 간격으로 조사하였다.

8주 후 카드뮴 중독 효과를 확인하기 위하여 각 처리군에서 임의로 6수씩 회생시킨 후 생화학적 측정을 실시하였으며 나머지 12수를 임의로 두 처리군으로 나누어 모두 10처리군을 대상으로 해독 시험을 7주간 실시하였다. 해독 시험 기간에는 카드뮴은 더 이상 첨가하지 않았으며, 실험식이의 단백질 급원은 카제인 처리군(AC, BC, CC, DC, EC)과 돼지고기 처리군으로 하였다(AP, BP, CP, DP, EP). 돼지고기는 카제인을 대체하기 위해 삶은 뒷다리 부위를 하루 저녁 실온에서 방치한 후 이용하였는데 그 첨가량은 카제인을 사용하였을 때와 동일한 단백질 함량이 나오도록 고려하였다. 즉 삶은 돼지고기의 수분(55.9%) 및 단백질 함량(35.9%)을 고려하여 단백질 급원으로서의 카제인 20%를 모두 돼지고기로 대체한 실험식이에서는 삶은 돼지고기 55.7g을 첨가하였다.

2. 채혈 및 분석시료 준비

혈액의 채취는 시험 종료전일에 쥐를 12시간 절식시킨 후 에테르로 마취시켜 복부 대동맥으로부터 혜파린이 처리된 주사기($22\text{G}\times 1\frac{1}{4}$)로 약 10ml 정도 채혈한 다음 혼모글로빈과 혼마토크립치 측정에 사용하였다. 장기의 채취는 간장과 신장을 적출하여 0.9% 생리식염수로 혈액을 씻어내고 장기의 무게를 측정한 후 냉동보관하였다.

3. Hemoglobin과 hematocrit 측정

혼모글로빈 함량은 Cyanmethemoglobin법(백 등, 1984)으로 측정하였다. 혼마토크립치는 혈액을 채취한 후 heparin이 처리된 capillary tube에서 모세관의 원리를 이용하여 2/3 정도 채운 다음 원심분리($11,000\text{rpm}$, 5분) 시킨 후 packed red cell volume의 백분율을 측정하였다.

4. 장기의 카드뮴 함량측정

간장과 신장의 카드뮴 함량은 시료를 회화시킨 후 50% HCl 10ml를 가하여 hot plate에서 거의 마를 때 까지 증발건조 시킨다. 이 과정을 반복한 후 냉각시킨다. 0.1N HCl로 적당부피까지 회석하여준다. 회석된 시료는 여과지를 이용하여 여과하고 원자흡광계(Atomic Absorption Spectrometer, Perkin-Elmen Co.)를 이용하여 228.8nm에서 측정하였다.

5. 간의 metallothionein 함량측정

조직중의 metallothionein (MT) 측정은 Eaton과 Toal(1982)의 방법을 이용하였다. 간 조직 일정량을 취해 4배(v/w)의 10mM Tris-HCl로 homogenize한다. $10,000\times g$ 에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 끓는 수조에서 2분간 가열한다. $10,000\times g$ 에서 2분간 원심분리한 후 상층액을 얻어낸다. 상층액을 적당비율(10배-50배)로 회석하여 이중 $400\mu\text{l}$ 를 1.5ml microcentrifuge tube에 취한다. CdCl_2 -Tris buffer용액 $400\mu\text{l}$ 를 섞어 이때의 Cd 농도가 $2.0\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되게 한 다음 10분간 방치하여 MT가 Cd에 포획되도록 한다. MT와 결합하지 않은 Cd를 제거하기 위해 Onosaka와 Cherian(1982)의 Cd/Hb affinity assay 방법을 따랐다. 2% hemoglobin용액 $200\mu\text{l}$ 를 넣고 끓는 수조에서 2분간 가열한 후 냉각시키고 원심분리하여 침전물을 제거한다. 이 과정을 2번쯤 더 반복한 후 상층액에서의 Cd양을 AAS로 측정한다. 1 mole의 MT(MW 6050으로 가정)에 7 mole의 Cd가 붙는다는 가정하에서 MT의 양을 산출하였다(김파 서, 1996).

6. 병리조직학적 검사

장기를 절제한 다음 즉시 조직을 2.5% glutaraldehyde-1%, paraform-aldehyde 혼합고정액 (phosphate buffer, pH7.3)에 1일간 전 고정한 후, 4% sucrose(0.1M phosphate buffer)로 쟁어 1% osmium tetroxide (phosphate buffer, pH7.3)에서 2시간 동안 후 고정하고 다시 4% sucrose(0.1M phosphate buffer)로 2회 세척하였다. 세척된 조직은 ethyl alcohol series(60%~100%) 및 acetone(100% 2회)의 탈수과정을 거친 다음 epon 812 수지에 포매하고 40°C 오븐에서 1일간 그리고 60°C오븐에서 2일간 중합시켰다. 수지에 포매된 조직은 ultramicrotome(Sorvall MT-5000)으로 1 μ m 두께의 절편을 만들 어서 0.5% toluidine blue로 염색한 다음 광학현미경(LM)으로 각 조직을 확인하였고, 확인된 조직은 다시 50nm 두께의 초박절편으로 만든 다음 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과 전자현미경(Hitachi H-600)으로 관찰하고 사진 촬영하였다.

7. 통계처리

측정된 자료는 SAS 통계 package program을 이용하여 분석하였다. 실험 식이의 처리에 의한 실험 결과는 각 군의 평균과 표준오차를 계산하였고, 각 군의 평균치의 비교는 분산 분석을 한 후 처리구 간의 유의성을 Duncan's multiple range test로 검정하였다. 또한 실험인자(Cd:중독 시의 Cd 수준, Pork:해독 시의 단백질 급원)의 영향과 이들의 상호작용(Cd×Pork)에 의한 영향은 $\alpha=0.05$ 수준에서 이원배치 분산분석(two-way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다.

結果 및 考察

1. 실험식이, 성장률, 식이효율

카드뮴 중독용실험식이 조성은 카드뮴 함량을 제외하고는 처리구간에 차이가 없었다.

카드뮴 해독용 실험식이의 돼지고기 첨가량은 카제인을 사용하였을 때와 동일한 단백질 함량이 나오도록 고려하여 삶은 돼지고기 55.7g 을 첨가하였는데 이를 건물기준(DM basis)으로 환산하면 삶은 돼지고기 중량은 24.5g이 된다. 이와 같은 산출로 조성된 식이는 조단백이 각각 18%, 열량은 3,900 cal 내외로 차이가 없었다. 카제인 첨가 해독식이와 돼지고기 첨가 해독식이 간에는 회분, 지방, 수분 등에 서 유의적인 차이는 없었다.

실험 동물의 체중 증가와 식이 효율은 Table 2와 같다. 실험식이를 급여하기 전 분산분석을 통하여 각 처리구 간에 체중 차이가 없음을 확인하였다. 8주 동안 카드뮴 중독용 실험 식이를 급여한 결과 최종 체중은 각 처리구 간에 유의적인 차이가 있었다. 이러한 카드뮴 중독에 의한 체중 감소는 다른 연구에서도 보고되었다(권과 김, 1992).

식이 효율 (FER=weight gain/feed)도 각 처리군마다 유의적인 차이를 보였는데 카드뮴의 투여수준이 높을수록 식이효율은 유의적으로 낮아져 25ppm 카드뮴 첨가군의 경우는 대조군과 유의적인 차이가 없었으나 50ppm 카드뮴 첨가군부터는 식이효율이 급격히 저하되어 250ppm(E) 경우에는 식이효율이

0.064로 나와 대조군의 0.254에 비해 4배 이상 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과들은 모두 카드뮴 공급이 직접적으로 식이 섭취량 감소에 영향을 미치거나, 카드뮴의 공급으로 체내 영양소의 흡수 및 대사에 변화가 생겨 식이효율이 감소됨으로써 성장률이 감소되었기 때문으로 생각된다.

Table 2. Body weight, and FER of cadmium-exposed rats for 8 weeks

Treatment Cd (ppm)	Initial weight (g)	Final weight (g)	FER (gain/feed)
A (0)	126.5±12.6 ^{ns}	384.8±44.1 ^a	0.254±0.043 ^a
B (25)	124.6±17.2	340.4±50.2 ^b	0.242±0.054 ^a
C (50)	125.4±16.1	299.8±32.7 ^c	0.216±0.031 ^{ab}
D (100)	126.8±18.8	243.6±54.0 ^d	0.173±0.069 ^b
E (250)	123.5±11.2	155.3±41.6 ^e	0.064±0.113 ^c

Mean±SE with different superscript in the same column differ significantly($p<0.05$).

NS : not significant

해독에 의한 체중변화는 Table 3과 같다. 카드뮴 급여를 중단하고 난 후 체중회복은 급속히 이루어졌으며 돼지고기 급여군(AP, BP, CP, EP)의 경우 DP를 제외하고 카제인 급여군에 비해 평균체중이 약간 높았으나 유의적인 차이는 없었다. 카드뮴에 의한 중독이 심한 것으로 나타난 D처리군(100ppm)과 E처리군(250 ppm)에서는 식이효율이 매우 높았다. 식이효율(FER)에서도 돼지고기 급여군의 경우 DP를 제외하고 카제인 급여군에 비해 약간 높은 수치를 나타내었으나 다른 처리구에서는 유의적인 차이를 보이지 않았고, BP와 BC에서만 *t*-test 결과에서 유의적인 차이를 보였다.

전체적인 경향을 종합하면 일단 카드뮴에 중독된 쥐는 카드뮴을 더 이상 섭취하지 않으면 체중회복이 이루어졌다. 그러나 50ppm 이상의 높은 농도로 중독되었던 쥐는 카드뮴 섭취를 중단하면 정상체중을 회복하기 위해 식이효율이 매우 높았고 해독시험기간 동안 돼지고기를 단백질 급원으로 한 쥐는 카제인 급원의 쥐보다 체중증가가 더 높은 경향을 보였다.

Table 3. Body weight, and feed efficiency ratio of rats administered detoxication diet for 7 weeks

Treatment	Initial wt. (g)	t test	Final wt. (g)	t test	FER (gain/feed)	t test
AC	405.7±49.9 ^a		517.4±61.2 ^{ab}		0.09±0.02 ^a	
AP	403.4±18.3 ^a		520.0±45.3 ^a		0.09±0.02 ^a	
BC	368.3±36.0 ^a		501.3±45.3 ^{ab}		0.11±0.02 ^a	
BP	354.7±42.6 ^{ab}		525.8±54.7 ^a		0.14±0.07 ^{cd}	*
CC	312.5±40.5 ^b		477.2±96.4 ^{abc}		0.13±0.06 ^{cd}	
CP	306.8±20.3 ^b		483.4±53.2 ^{abc}		0.14±0.03 ^{cd}	
DC	249.0±76.3 ^c		469.1±56.6 ^{abc}		0.18±0.03 ^{abc}	
DP	246.6±35.5 ^c		442.4±39.3 ^{bc}		0.16±0.04 ^{bc}	
EC	172.0±54.6 ^d		363.5±39.7 ^d		0.19±0.04 ^{ab}	
EP	154.2±17.3 ^d		415.5±46.8 ^{cd}		0.23±0.04 ^a	
Significant factors	Cd***		Cd***		Cd***	

2. 혈모글로빈 함량과 혈마토크릿치

카드뮴 중독에 의해 혈모글로빈 함량과 혈마토크릿치는 모두 카드뮴 농도에 비례하는 변화를 보였 다(Table 4). 카드뮴 투여로 인한 혈모글로빈 함량과 혈마토크릿치 감소는 이와 김(1988), 전과 이 (1993)의 연구에서도 나타나는데, 이는 장기 내에서 철분의 흡수가 카드뮴에 의해 저해를 받은 것으로 해석되었다. 한편 이러한 현상은 해독 실험식이를 급여한 결과 상당히 다른 현상이 나타났다.

즉 카드뮴의 중독정도와 상관없이 모든 처리군에서 혈모글로빈은 완전히 정상수준으로 증가되어 처리군 간에 아무런 차이를 보이지 않았는데 이는 장기 내에서 철분과 카드뮴이 장내 흡수단계에서 서로 경쟁적으로 작용하여 체내 Fe 보유량이 감소된다는 설명과 일치하는 것으로 더 이상 카드뮴에 의한 철분 흡수 저해 작용이 없어지면서 혈모글로빈이 정상수치를 회복한 것으로 볼 수 있다.

혈마토크릿치도 같은 경향으로서 카드뮴 중독 시에는 36.6~13.0%에 이르는 넓은 범위를 나타냈으나, 해독 후에는 39.2~33.2%로서 모든 처리군에서 회복된 것으로 나타났으며 카제인 처리군(AC, BC, CC, DC, EC)에서 보다 돼지고기 처리군(AP, BP, CP, DP, EP)에서 혈마토크릿치가 유의적으로 높아진 것으로 나타났다. 혈마토크릿치는 다른 실험 항목들과는 달리 해독 후에는 중독에 의한 영향이 전혀 나타나지 않았다.

3. 장기의 무게

장기의 무게는 Table 5과 같다. 간의 total weight는 카드뮴 투여에 따라 점차로 낮아졌지만 체중에 따른 간의 비율, 즉 쥐의 체중 100g으로 나눈 값은 카드뮴 투여에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 신장의 경우 카드뮴 투여에 따른 신장 무게의 차이는 처리군 별로 현저하게 나타났지만 체중

100g 당 무게는 250ppm 처리군(E)를 제외하고는 처리군간에 차이가 나타나지 않았다. 즉, 카드뮴 투여에 의해 신장의 total weight는 줄어들었으나 체중 100g 당 무게는 250ppm 처리군(E)의 경우 카드뮴에 의해 증가되었다. 정소의 무게는 카드뮴 투여에 의해 점점 작아져서, 카드뮴을 250ppm 투여군(E)에서는 다른 처리군에 비해 유의적인 차이를 보여주었으나 체중 100g당 무게는 100ppm 투여군(D)에서 가장 높게 나타났다.

Table 4. Hemoglobin content and hematocrit value of cadmium-exposed rats and cadmium-detoxified rats

Intoxication			Detoxification				
Treatment Cd (ppm)	Hb (g/dl)	Hct (%)	Treatment	Hb (g/dl)	t test	Hct (%)	t test
A (0)	23.2±4.23 ^a	36.6±5.17 ^a	AC	15.6±4.97 ^{ns}		34.8±4.91 ^{abc}	
			AP	15.2±7.15		39.2±3.42 ^a	
B (25)	15.3±3.20 ^b	27.1±3.80 ^b	BC	16.8±5.16		33.2±4.01 ^c	
			BP	17.4±2.89		38.2±2.18 ^{ab}	
C (50)	12.3±3.96 ^{bc}	20.7±2.34 ^c	CC	15.4±4.29		34.4±3.65 ^{ab}	
			CP	14.8±3.77		37.0±3.52 ^{abc}	
D (100)	9.17±3.28 ^{cd}	11.9±4.20 ^d	DC	17.1±3.45		34.8±4.27 ^{abc}	
			DP	13.8±2.68		34.1±2.01 ^{bc}	
E (250)	7.26±2.18 ^d	13.0±4.27 ^d	EC	13.8±2.96		33.7±1.55 ^{bc}	
			EP	16.2±2.99		36.3±1.92 ^{abc}	
Mean±SE with different superscript in the same column differ significantly (p<0.05).			Significant factors			Pork*	

Table 5. Organ weight of cadmium-exposed rats for 8 weeks

Treatment Cd (ppm)	Liver		Kidney		Testis	
	g/100g bw	total wt. (g)	g/100g bw	total wt. (g)	g/100g bw	total wt. (g)
A (0)	3.55±0.21 ^{ns}	11.98±0.55 ^a	0.67±0.02 ^a	2.26±0.04 ^a	0.84±0.27 ^a	3.17±0.23 ^a
B (25)	3.83±0.13	11.40±1.76 ^a	0.68±0.06 ^a	2.01±0.25 ^{ab}	0.82±0.23 ^a	2.91±0.25 ^a
C (50)	3.61±0.29	10.13±1.51 ^{ab}	0.66±0.05 ^a	1.86±0.24 ^b	0.85±0.41 ^a	3.07±0.29 ^a
D (100)	3.70±0.22	8.79±2.32 ^b	0.76±0.07 ^a	1.76±0.29 ^b	1.46±0.34 ^b	3.30±0.14 ^a
E (250)	3.90±0.48	4.09±1.43 ^c	1.12±0.16 ^b	1.14±0.25 ^c	1.01±0.48 ^a	1.17±0.84 ^b

Mean±SE with different superscript in the same column differ significantly($p<0.05$).

한편 해독시험 후 장기무게의 변화를 보면(Table 6) 간, 신장, 정소 등의 무게에 영향을 주는 인자가 카드뮴이었으나 장기 무게를 체중으로 나눈 수치는 카드뮴에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 간의 경우 체중 100g 당 무게는 250ppm 처리군(EP, EC)에서 높았는데 특히 250ppm 카드뮴 중독 후 해독식이로서 돼지고기를 섭취한 EP 처리군에서 가장 높았다. 신장의 무게 역시 체중 100g당 무게는 250ppm 처리구(EP, EC)가 다른 처리구에 비해 높은 것으로 나타났다.

Table 6. Organ weight of rats administered detoxication diet for 7 weeks

Treatment	Liver		Kidney		Testis	
	g/100g bw	t-test	g/100g bw	t-test	g/100g bw	t-test
AC	3.30±0.20 ^{bc}		0.59±0.05 ^{bc}		0.34±0.03 ^{bc}	*
AP	3.15±0.15 ^{bc}		0.55±0.10 ^c		0.37±0.10 ^{bc}	
BC	3.08±0.26 ^c		0.57±0.03 ^c		0.35±0.01 ^{bc}	*
BP	3.17±0.21 ^{bc}		0.56±0.02 ^c		0.33±0.04 ^c	
CC	3.30±0.25 ^{bc}		0.61±0.05 ^{bc}		0.37±0.06 ^{bc}	
CP	3.15±0.15 ^{bc}		0.60±0.03 ^{bc}		0.35±0.05 ^{bc}	
DC	3.32±0.25 ^{bc}		0.63±0.07 ^{bc}		0.36±0.04 ^{bc}	
DP	3.30±0.39 ^{bc}		0.66±0.04 ^{ab}		0.41±0.04 ^{ab}	
EC	3.46±0.23 ^b		0.71±0.05 ^a		0.46±0.08 ^a	
EP	3.80±0.33 ^a		0.72±0.07 ^a		0.42±0.05 ^{ab}	
Significant factors	Cd*		Cd*		Cd**	

4. 장기조직의 카드뮴 축적농도

카드뮴 중독 및 해독 후의 간과 신장 조직 중의 카드뮴 함량은 Table 7과 같다. 카드뮴 섭취량이 높을수록 신장에서의 축적량은 통계적으로 유의하게 차이가 있었다.

Table 7. Cadmium accumulation in liver and kidney of cadmium-exposed rats and cadmium-detoxified rats

Intoxication			Detoxification				
Treatment	Liver (ppm)	Kidney (ppm)	Treatment	Liver (ppm)	t test	Kidney (ppm)	t test
A (0)	0.11 ± 0.06^a	0.22 ± 0.15^a	AC	0.04 ± 0.04^f		0.14 ± 0.09^g	
			AP	0.05 ± 0.06^f		0.32 ± 0.55^g	**
B (25)	10.1 ± 2.37^a	18.2 ± 4.45^b	BC	6.64 ± 1.27^{de}		14.41 ± 1.66^{ef}	
			BP	4.83 ± 1.01^e		10.60 ± 1.83^f	
C (50)	15.5 ± 5.30^a	31.1 ± 11.2^c	CC	9.39 ± 2.48^d		21.32 ± 7.37^{cd}	*
			CP	7.75 ± 2.21^{de}		16.37 ± 2.33^{de}	*
D (100)	37.5 ± 9.81^b	52.1 ± 9.17^d	DC	13.00 ± 2.22^c		30.40 ± 6.51^b	*
			DP	16.14 ± 3.10^b		25.04 ± 1.99^c	
E (250)	91.3 ± 31.8^c	95.6 ± 19.1^e	EC	19.51 ± 5.07^a		40.36 ± 6.64^a	
			EP	20.89 ± 4.24^a		30.88 ± 5.33^b	

Mean \pm SE with different superscript in the same column differ significantly ($p < 0.05$).

Significant factors	Cd***	Cd***, Cd \times Pork**
---------------------	-------	------------------------------

그러나 간의 경우 25ppm(B)과 50ppm(C) 처리군은 대조군에 비해 높은 카드뮴 함량을 보였지만 통계적인 유의차는 없었다. 각 조직에서의 축적 농도를 보면 신장은 간에서 보다 약 2배 정도 높은 것으로 나타났다. 그러나 250ppm 처리군(E)의 경우 신장과 간에서의 축적 농도가 비슷한 수준으로 나타났다. 해독 시의 간과 신장 중의 카드뮴 함량은 중독 시에 비해서는 상당히 낮아진 것으로 나타났다. 특히 간에서의 축적 농도는 신장에서의 축적 농도의 절반보다도 낮은 것으로 나타나 간에서의 중금속 제거 속도가 신장에서 보다 빠른 것으로 보여졌다. 즉, 카제인 섭취군보다 돼지고기 섭취군에서 카드뮴의 축적이 더 낮게 나타났으며 특히 신장에서의 카드뮴 축적에 영향을 미치는 인자로서는 카드뮴 뿐만 아니라 카드뮴과 돼지고기 섭취여부의 교호작용(Cd***, Cd \times Pork**)이 나타난 것으로 볼 때 해독시 신장에서의 카드뮴 해독은 돼지고기 처리군에서 더 효과적으로 이루어짐을 알 수 있다.

5. 간 조직의 metallothionein(MT) 함량

카드뮴중독 및 해독실험에서 나타난 간 조직의 MT 측정결과는 Table 8과 같다.

대조군(A)의 카드뮴 함량은 $23.3\mu\text{g/g}$ 이었고 카드뮴 25ppm과 50ppm 투여군에서는 각각 51.6 , $57.3\mu\text{g/g}$ 로 차이가 없었으며, 100ppm과 250ppm 투여군에서는 각각 88.5 , $182.0\mu\text{g/g}$ 로서 카드뮴 투여수준에 따라 MT합성에 유의한 영향을 미친 것으로 나타났다($p<0.05$). 이는 MT가 카드뮴에 의한 중독을 완화시키기 위한 길항작용으로 나타난 것으로 볼수 있는데 중금속에 대한 MT의 해독작용의 기작은 (Nordberg 등, 1975; Squibb과 Cousin, 1974) 체내로 중금속이 흡수되면 주로 간장과 신장에서 MT 합성이 크게 증가되고 이 MT가 조직내에서 독성이 강한 유리중금속과 결합하여 무독화 상태로 전환시킬 뿐 아니라 간장조직에서 신장조직으로의 운반 및 뇨를 통한 배설을 도와서 유독성 중금속 이온의 체내 대사에 관여하는 것으로 알려져 있다(Garvey, 1984).

해독시의 결과를 보면 카드뮴 25ppm과 50ppm 중독군의 경우 각각의 t-test 결과에서 카제인과 돼지고기에 의한 차이가 있는 것으로 나타났으나 100ppm과 250ppm 투여군의 결과와 비교할 때 다소 일관성이 결여된 것으로 보인다.

Table 8. Metallothionein(MT) contents in liver of cadmium-exposed rats and cadmium-detoxified rats

Intoxification		Detoxification		
Treatment	MT ($\mu\text{g/g}$)	Treatment	MT ($\mu\text{g/g}$)	t-test
A (0)	$23.3 \pm 14.1^{\text{a}}$	AC	$25.04 \pm 10.59^{\text{f}}$	
		AP	$21.27 \pm 8.66^{\text{f}}$	
B (25)	$51.6 \pm 40.0^{\text{a}}$	BC	$64.73 \pm 17.51^{\text{de}}$	*
		BP	$60.68 \pm 6.12^{\text{e}}$	
C (50)	$57.3 \pm 45.9^{\text{a}}$	CC	$85.57 \pm 31.71^{\text{cde}}$	
		CP	$87.84 \pm 6.24^{\text{cd}}$	**
D (100)	$88.5 \pm 39.5^{\text{a}}$	DC	$90.58 \pm 41.52^{\text{bcd}}$	
		DP	$106.76 \pm 15.83^{\text{bc}}$	
E (250)	$182.0 \pm 131.9^{\text{b}}$	EC	$150.82 \pm 6.33^{\text{a}}$	
		EP	$115.38 \pm 18.55^{\text{b}}$	
Mean \pm SE with different superscript in the same column differ significantly ($p<0.05$).		Significant factors	Cd***	

6. 병리조직학적 검사

카드뮴 중독식이를 8주간 흰쥐에게 투여한 결과 카드뮴 투여농도와 육안병변간에는 상관관계가 관

찰되었다(Table 9). 즉 카드뮴 농도가 증가될수록 흰쥐의 전반적인 상태는 수척해지고 신장과 간장의 위축이 관찰되었다. 간장의 경우 카드뮴 무처리 대조군에서는 미약한 국소 염증세포의 침윤을 제외하고는 특이한 병변을 관찰할 수 없었다(Fig. 1). 카드뮴 투여군에서는 정도의 차이는 있지만 대조군과 비교하여 보면 카드뮴에 의한 병리조직학적인 병변이 관찰되고 있다(Table 10). 신장의 경우 Cd 무처리 대조군에서는 카드뮴에 의해 유발되는 병변은 관찰할 수가 없었으나 (Fig. 2). 카드뮴 투여군에서는 Cd 투여농도에 의해서 근위 곡세뇨관 상피세포의 변성 및 호염성 병변이 관찰되고 있으며 근위곡세뇨관 내강에서 초자양물질이 축적되었다(Fig. 5, Table 10). 고환의 경우 카드뮴 투여군에서는 세포변성, 정자 세포수의 감소 및 거핵세포의 출현이 관찰되었다(Fig. 6, Table 10).

전자현미경적 관찰(EM)에서는 카드뮴을 투여하지 않은 대조군의 간장은 정상적인 mitochondria, ribosome 및 rough endoplasmic reticulum 등이 관찰되었다(Fig. 16). 8주간 카드뮴 투여군의 간장에서는 mitochondria에서 공포가 관찰되었으며, 세포질의 세망 내피계에서 유래된 것으로 추정되는 많은 수의 비교적 큰 공포(vacuole)가 관찰되었다(Fig. 17). 카드뮴 무투여군의 근위곡세뇨관 상피세포에서는 정상적인 미세구조가 관찰된 반면, 카드뮴 투여군의 세포질에서는 공포가 관찰되었다(Fig. 17).

한편 카드뮴 해독식이로서 casein과 돼지고기 함유식이를 급여한 흰쥐에서 육안 병변은 뚜렷한 유의 차가 없었다(Table 11). 해독에 따른 병리조직학적 관찰결과는 Table 12와 같다. 카드뮴 무첨가식이를 8주간 급여하고 해독식이로서 7주간 돼지고기 함유식이를 급여한 대조군 흰쥐에서는 중심정맥을 중심으로 간세포가 일렬로 정렬되어 있으며, 뚜렷한 병변이 관찰되지 않았다(Fig. 7). 25ppm과 50ppm의 카드뮴 투여군에서는 돼지고기 급여군이나 카제인 급여군에서 뚜렷한 차이를 관찰할 수 없었다. 그러나 100ppm과 250ppm의 카드뮴 투여군의 경우 카제인 급여군의 간장에서는 간세포의 변성과 간문맥 주위의 염증세포 침윤이 관찰된 반면 (Fig. 8), 돼지고기 급여군의 간장에서는 대조군의 흰쥐 간장에서 관찰되는 것처럼 중심 정맥을 중심으로 간세포가 일렬로 정렬되어 있다(Fig. 9). 신장의 경우 해독식이로서 돼지고기 함유식이를 급여한 대조군 흰쥐에서는 신장의 사구체와 근위 곡세뇨관에서 뚜렷한 병변을 관찰할 수가 없었다. 100ppm의 카드뮴 투여군에서 카제인 급여군의 신장에서는 근위 곡세뇨관 상피세포의 재생과 내강에서 원형의 초자적 물질이 관찰된(Fig. 10) 반면 돼지고기 급여군에서는 대조군의 신장과 동일하게 뚜렷한 병변이 나타나지 않았다(Fig. 11). 고환의 경우 돼지고기 함유식이를 급여한 대조군 흰쥐에서는 뚜렷한 병변을 관찰할 수가 없었다. 250ppm 카드뮴 투여군의 카제인 급여군의 고환에서는 곡세뇨관 중앙에서 정자형성이 나타나지 않고 있으나(Fig. 12) 반면에 돼지고기 급여군에서는 뚜렷한 병변을 관찰할 수가 없었다(Fig. 13).

전자현미경적 관찰(EM) 결과 250 ppm 카드뮴 투여군에서 카제인 급여군의 간장에서는 간세포질 내에서 무과립 세망내피계로 부터 유래된 것으로 추정되는 크기가 다양한 공포가 관찰된(Fig. 17) 반면 돼지고기 급여군에서는 뚜렷한 병변이 나타나지 않았다(Fig. 16). 250ppm 카드뮴 투여군에서 카제인 급여군의 신장의 근위 곡세뇨관 상피세포에서는 크기가 다양한 공포가 세포질에서 관찰된(Fig. 19) 반면 돼지고기 급여군의 근위 곡세뇨관 상피세포에서는 뚜렷한 병변이 관찰되지 않았다(Fig. 18).

이상의 병리조직학적 관찰 결과에서 카드뮴의 농도가 낮을 경우에는 간세포가 자체적 해독능을 가지지만 카드뮴의 농도가 높아져서 간세포 스스로의 해독능력을 초과하는 경우 돼지고기가 체내의 카드뮴을 해독하는 것으로 추정된다. 신장에서도 간장과 비슷한 경향이 나타나고 있으나 신장은 간장보다 자체 카드뮴 해독능이 낮아서 50ppm 카드뮴 투여군에서 부터 그 차이가 나타나고 있다. 카드뮴에 의

해 손상된 세포를 의미하는 세뇨관의 호염성은 50ppm 투여군에서부터 카드뮴 급여군에서 현저하게 관찰되고 있다. 고환에서는 신장과 간장과 같은 투여용량에 따른 효과가 나타나고 있지는 않지만 250ppm 투여군에서는 카제인 급여군에서 현저히 많은 세뇨관의 괴사가 관찰되고 있다. 따라서 고환이 신장이나 간장과 같이 카드뮴에 민감하지 않거나 또는 돼지고기의 해독능이 우수하여 250ppm의 고 용량에서만 병변의 차이가 있는지의 여부는 좀 더 연구해야 될 것으로 사료된다.

Table 9. Gross findings of rats administered with Cd for 8 weeks

Treatment	Cd (ppm)	Rat (n)	Findings (N)
A	0	6	NGL ^a (6)
B	25	6	NGL ^a (6)
C	50	6	NGL ^a (6)
D	100	6	NGL ^a (6) Emaciation (6)
E	250	6	Emaciation (6) Exposed penis (6) Atrophy of kidney (6) Atrophy of testis (6)

a : No gross findings

Table 10. Histopathological lesions of rats administered with cadmium for 8 weeks

Organ (Histopathologic)	Treatment (No. of rat)		A (6)			B (6)			C (6)			D (6)			E (6)		
	-	±	+	-	±	+	++	-	±	+	++	++	-	±	+	++	++
Liver : Cellular Degeneration	6	0	0	2	0	3	1	0	0	3	3	0	2	0	4	0	0
Focal Cellular Infiltration	5	1	0	2	2	2	0	5	0	0	0	1	2	2	2	0	0
Eosinophilic Material in Sinusoid	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	5
Kupffer Cell Hyperplasia	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	5
Kidney : Proximal Tubular Degeneration	6	0	0	5	0	1	0	5	0	1	0	0	3	0	2	1	0
Proximal Tubular Regeneration	6	0	0	1	2	3	0	5	0	1	0	0	3	0	3	0	4
Proximal Tubular Dilation	5	1	0	5	0	1	0	2	0	3	1	0	4	0	2	0	4
Focal Cellular Infiltration	6	0	0	5	0	1	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	6
Fibrosis	6	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	5
Testis : Spermatids Degeneration	6	0	0	3	0	3	0	2	0	3	1	0	1	0	2	3	0
Decreased Spermatogenesis	6	0	0	6	0	0	0	4	0	1	1	0	5	0	1	0	1
Giant Cell	6	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	2
																	3
																	1

* - : no lesion, ± : slight lesion, + : mild lesion, ++ : moderate lesion, +++ : severe lesion

Table 11. Gross findings of liver in rats administered detoxication diet for 7 weeks

Group	Protein source	Rat (n)	Findings (N)
A	Casein	6	yellowish, swelling (1)
	Pork	6	yellowish, swelling (5)
B	Casein	6	yellowish, swelling (3)
	Pork	6	yellowish, swelling (4)
C	Casein	6	yellowish, swelling (3)
	Pork	6	yellowish, swelling (4)
D	Casein	6	yellowish, swelling (3)
	Pork	6	yellowish, swelling (3)
E	Casein	6	white cyst (1~2cm) yellowish, swelling (2)
	Pork	6	yellowish, swelling (4)

Table 12. Histopathological lesions of rats administered cadmium detoxified diet for 7 weeks

Organ (Microscopic lesion)	Group	A		B		C		D		E	
	Treated pork(%)	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Liver	-	6	6	6	5	6	6	6	6	6	6
Cellular Swelling	+	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Fatty Change	-	6	6	6	5	6	6	6	6	6	6
Cellular Degeneration	++	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Abscess	-	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6
Focal Necrosis	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	-	6	6	6	6	5	6	4	6	5	6
	\pm	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	+	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0
	++	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Focal Cellular Infiltration	-	5	6	6	6	4	3	3	6	3	6
Kupffer Cell Hyperplasia	\pm	1	0	0	0	1	2	3	0	0	0
	+	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	++	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0
Kidney	-	5	6	4	5	4	6	5	2	2	2
Focal Cellular Infiltration	\pm	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
	+	0	0	2	0	1	0	1	2	3	2
Tubular Regeneration	++	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0
	-	6	6	5	4	2	4	1	5	4	6
	\pm	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
	+	0	0	1	2	2	1	2	0	2	0
	++	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0
Testis	-	6	6	4	6	6	6	6	6	6	6
Spermatids Degeneration	\pm	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	+	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Tubular Necrosis	-	6	6	6	6	6	6	6	4	6	6
	\pm	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0

- : no lesion, \pm : slight lesion, + : mild lesion, ++: moderate lesion, +++: severe lesion

要 約

돼지고기 섭취가 카드뮴(Cd)에 중독된 흰쥐의 카드뮴 배설에 미치는 영향을 규명하고자 본 연구를 수행하였다. CdCl₂를 카드뮴 기준으로 AIN-76 purified diet에 다섯 수준(0, 25, 50, 100, 250 ppm)으로 혼합한 Cd 중독식이를 8주 동안 급여하여 임상적인 중독을 유발시킨 다음 다시 7주 동안 단백질 급원인 카제인을 돼지고기로 대체시킨 해독식이를 7주간 급여하여 돼지고기에 의한 해독효과를 대조구와 비교하였다. 8주 동안 Cd 중독 실험식이를 급여한 결과, 카드뮴 중독과 관련한 성장지연, 카드뮴의 표적장기인 신장무게의 증가와 혜마토크릿치(Ht)와 혈액글로빈 함량(Hb)이 감소하였다. 병리조직학적 검사 결과 육안병변에서 뚜렷한 임상적인 관찰 예가 나타났다. 카드뮴 급여를 중단하고 해독 실험사료 급여 후 흰쥐의 체중은 급속하게 회복되었다. 즉 돼지고기 급여구의 흰쥐는 카제인 급여구의 흰쥐에 비해 평균체중이 약간 높았으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 카드뮴 중독 시 Hb 함량과 Ht치는 카드뮴 농도에 상관하였으나 해독시에 모든 처리군에서 Hb 함량과 Ht치는 정상 범위의 수준으로 증가하여 처리군간에 차이가 나타나지 않았다. 간, 신장, 정소의 무게는 카드뮴 투여에 따라 점차로 낮아졌지만 체중에 따른 간의 비율과 신장의 비율은 카드뮴 투여에 의해 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 체중 100g 당 간의 무게는 250ppm 카드뮴 중독 후 해독 실험사료 급여시 돼지고기를 섭취한 처리군에서 가장 높았다. 카드뮴 섭취량이 높을수록 간과 신장에서의 축적량은 통계적으로 유의하게 차이가 있었고 신장에서의 축적 농도가 간에서 보다 약 2배 정도 높았다. 해독 시에는 간과 신장 중의 카드뮴 함량이 감소하였으며 간에서의 Cd 제거 속도가 신장에서 보다 빠른 것으로 보여졌다. 카제인 섭취군보다 돼지고기 섭취군에서 카드뮴의 축적이 더 낮았고 특히 신장에서의 카드뮴 축적 농도에 영향을 미치는 인자로서 카드뮴 뿐만 아니라 카드뮴과 돼지고기 섭취여부의 교호작용(Cd***, Cd×Pork**) 등이 나타났다. 카드뮴 중독시에 metallothionein(MT)은 Cd의 섭취량이 늘어남에 따라 증가하였지만 해독 시의 결과를 보면 MT합성은 돼지고기에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

이상의 결과에서 카드뮴의 해독과 관련하여 단백질 급원으로서 카제인을 돼지고기로 대체한 실험식이를 급여하였을 때 돼지고기 첨가군의 성장률이 높았고 Ht치 역시 정상범위로 회복되었다. 신장 조직의 병리조직학적 검사 결과 Cd 50ppm 투여군에서부터 돼지고기 첨가군이 돼지고기 무첨가군에 비해 Cd에 의해 손상된 세포를 의미하는 세뇨관의 호염성이 현저하게 감소된 것으로 관찰됨으로서 돼지고기의 Cd 해독능이 유효한 것으로 평가되었다.

参考文獻

1. American Institute of Nutrition. 1977. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. J. Nutr., 107:1340~1348.
2. A.O.A.C. 1980. Official Method of Analysis(13th), Association of official analytical chemists. Washington, D.C.

3. Clausen, J. and S. C. Rastogi. 1977. Heavy metal pollution among autoworkers : Lead. Brit. J. Ind. Med., 34:208~215.
4. Eaton, D. L. and B. F. Toal. 1982. Evaluation of the Cd/hemoglobin affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissues. Toxicol. Appl. Pharmacol., 66:134.
5. FAO/WHO. 1972. Sixteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Tech. Rep. Ser., No 505 : 20~24. WHO/Geneva.
6. Friberg, L. 1950. Health hazards in the manufacture of alkaline accumulation with special reference to chronic cadmium poisoning. Acta Med. Scand., 138(Suppl. 240):1~124.
7. Garvey, J. S. 1984. Metallothionein : Structure/Antigenicity and Detection/ Auantitation in normal physiological fluids. Environ. Health Perspect., 54:117~127.
8. Kim MK, Seol EY. Effect of dietary chitin and chitosan on cadmium toxicity and lipid metabolism in rats. Korean J. Nutr. 27(10) : 996-1006. 1994
9. Kwan OR, Kim MK. The effect of dietary protein and calcium levels on metallothionein and histopathological changes during cadmium intoxication in rats. Korean J. Nutr. 25(5) : 360-378. 1992
10. Lee HY, Kim MK. Effects of dietary cadmium and protein levels on the body protein metabolism and cadmium toxicity in growing rats. Korean J. Nutr. 21(6) : 410~420. 1988
11. Mayer, D. T., D. Squires and R. Bogart. 1947. In "An Investigation of the Staining Principle & Background stain in the Differentiation of Live from Dead Spermatozoa", Abst. J. of Animal Sci., 6:499.
12. Onosaka, S. and M. G. Cherian. 1982. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods. Toxicol. Appl. Pharmacol., 63:270.
13. Page, A. L. and A. C. Chang. 1986. Cadmium, Springer-Verlag, pp 33~75, Berlin Heidelberg Germany.
14. Nordberg, G. F., M. Goyer and M. Nordberg. 1975. Comparative toxicity of cadmium-metallthionein and cadmium chloride on mouse kidney. Arch. Pathol., 99:192~197.
15. Revis, N. W. and T. R. Osborne. 1984. Dietary protein effects on Cd and metallothionein accumulation in the liver and kidney of rats. Environ. Health Perspect, 54:83~91.
16. Squibb, K. S. and R. J. Cousin. 1974. Control of cadmium binding protein synthesis in rat liver. Environ. Physiol. Biochem., 4:24~30.
17. 김정현, 조남준, 박성배. 1989. 대중음식 중 중금속 함량. 한국영양식량학회지, 18:316~320.
18. 백태홍, 김천호, 전세열. 1984. 영양학실험, 수학사, pp 35~36.
19. 송미란, 이서래. 1986. 서울시내 대중식사로 부터 중금속의 총섭취량 평가. 한국식품과학회지, 18:45 8~467.
20. 이혜영, 김미경. 1988. 식이내 cadmium과 단백질 수준이 흰쥐의 체내 단백질대사 및 cadmium 중독에 미치는 영향. 한국영양학회지, 21(6):410~420.

21. 전수영, 이순재. 1993. 카드뮴으로 중독된 환자의 간장 및 위장에서의 Metallothionein 함성에 관한 연구. *한국영양학회지*, 26:156~163.
22. 정규철, 박정덕, 조병희. 1988. 급성카드뮴 중독의 치사량과 혈액 및 간조직에 미치는 영향. *중앙대학교 의대지*. 13(1):31~43.