

철분이 사료내의 Vitamin E 와 유리 불포화 지방산 함량에 미치는 영향

모기철 · 허린수 · 김성훈 * · 도재철 · 이영호

경북대학교 농과대학 수의학과 * 한국 화학연구소

Effect of Iron on the Tocopherol and Free Unsaturated Fatty Acid Concentrations in Common Feed

Mo, Ki Chul, Huh, Rhin Sou, Kim, Sung Hoon* Do, Jae Cheul.

Lee, Young Ho

Dept. of Veterinary Medicine, Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

* Korea Research Institute of Chemical Technology

Summary

In order to know the effects of iron the lipid characteristics in common feed, vitamin E and free unsaturated fatty acid concentrations were determined using feeds with(uncommon) and without(common) water added. The vitamin E concentrations in common feed ($P < .05$) and uncommon one ($P < .01$) showed statistically continuous decreasing figure from 1.75mg/g(1 day) to 0.25mg/g(11 days). The free unsaturated fatty acid concentrations in common feed showed also statistically continuous decreasing figure from 23.8mg/g (control group) to 17.6mg/g(20% ferrous sulfate group) ($p < .01$). On the mean time, quantitative values in uncommon feed have shown statistically continuous decreasing figure from 23.9mg/g(control group) to 17.4mg/g(20% ferrous sulfate group) ($P < .01$).

The concentrations of vitamin E and free unsaturated fatty acid in common feed was higher than those in uncommon one, but significant difference was not recognized. The interactions between time lapse and ferrous sulfate were recognized in respect to the vitamine E and free unsaturated fatty acid in common and uncommon feed.

緒 論

철분은 동물의 호흡작용에서 매우 중요한 hemoglobin과 heme enzyme인 catalase, peroxidase, cytochrome 등 색소 화합물의 주요 구성 성분이다. 비록 철분이 자연계에 가장 풍부한 원소로서 혈구생성에 없어서는 안되는 요소이지만 사람 및 가축의 빈혈 발생에 중요한 원인이 되기도 한다. 특히 급속한 성장상태에 있는 어린 동물에서는 정상적으로 완숙한 동물에 비해서 혈액과 hemoglobin형성이 급격히 증가하여 체내 철분의 요구량이 증가하게 된다.^{1,2,3,4}

한편 산화제인 철분이 체내에 과잉 존재하게 되면 적혈구 막지질에 산화 작용을 일으켜 적혈구 막의 취약성이 증가하여 용혈성 빈혈을 일으키게 된다.⁵ 1971년 Melhorn 등⁶은 186명의 미숙한 영아에서 Vitamin E 및 철분의 투여량을 달리하는 치료 실험에서 철분 농도가 높을 경우 혈청내 Vitamin E 및 hemoglobin 농도 감소와 Reticulocyte의 증가 및 적혈구막에 대한 과산화수소(H_2O_2) 취약성이 증가함을 보고하였으며 1967년 OsKi 및 Barness⁷는 Reticulocytosis, 적혈구 변형, 혈청내 Vitamin E 함량 저하, 과산화수소에 대한 적혈구 막의 취약성 증가 등의 용혈성 빈혈 증세를 보이는 미숙영아에게 Vita-

min E를 투여하여 용혈성 빈혈이 치료되었으며 이러한 Vitamin E 결핍성 빈혈은 출생시 Vitamin E 저장량 저하, 식이성 Vitamin E 공급 부족으로부터 발생한다고 보고하였다. 또한 1965년 Jacob⁴도 Vitamin E는 항산화제로 작용하며 만일 Vitamin E가 결핍되면 체내의 RBC를 과산화수소에 노출시켰을 때, 적혈구 막의 지질이 급속한 변성을 일으켜 용혈을 일으키게 된다고 보고하였고, Golberg 및 Smith⁵는 흰쥐에게 인공적으로 조제한 사료로서 실험한 결과 철분 투여에 의해서 Vitamin A 및 E의 결핍을 초래하였으며 동시에 Ceroid 색소 형성이 증가하였다고 보고한 바 있다.

이상의 보고들은 임상에서 철분 결핍성 빈혈을 예방하고 치료하기 위하여 철분을 공급하거나 또는 미리 사료에 혼합하여 무절제하게 공급함으로써 과잉 공급된 철분에 의하여 Vitamin E가 산화되어 적혈구의 수명을 감소시키는 현상을 초래하고 있음을 알 수 있다.

일반적으로 광물질은 동물 체내에서 흡수 조절기전이 있으므로 경구적으로는 필요량 이상이 흡수되어 체내 과잉 상태에 도달하기에는 어려울 것이다. 저자 등은 사료에 임의로 혼합한 철분이 사료내 Vitamin E 및 불포화 지방산에 어떠한 영향을 주는가를 관찰하기 위하여 본 실험을 수행하였다.

材料 및 方法

1. 실험재료

본 실험에서 이용한 시험사료는 시판 비육우용 사료(우성사료 주식회사 제)을 사용하였으며 산화제로는 황산 제일철($FeSO_4$, 일본 Osaka 제약회사 제)을 사용하였다.

2. 실험방법

정상사료와 물 10%로 혼합한 사료에 각각 1% 황산 제일철(이하 철분이라 칭함) 혼합군, 5% 철분 혼합군, 10% 철분 혼합군 및 20% 철분 혼합군의 4개의 혼합사료로 나누어 실온에서 11일간 방치하면서 날자 경과별로 각군에 대해 Vitamin E와 유리 불포화 지방산의 함량을 정량하였다.

3. 분석방법

가. 사료내 Vitamin E 함량분석: 각 실험군의 사

료 0.1g을 시험관에 취하고 Nair 및 Magar⁶의 방법에 따라 0.5ml의 5% NaOH를 첨가하여 잘 혼든 후 6시간 방치하였다. 증류수 5ml를 첨가하고 잘 혼든 후 석유 Ether 3ml로 두 번 추출하였다. 이 추출액의 phenolphthalein 2~3 방울을 가하고 알칼리 성분이 없도록 세척한 다음 증발시켜서 여기에 phosphomolybdic acid 1ml를 첨가하고 발색시켰다. 5분 후에 Ethanol 3ml를 가하여 흡광도를 725nm에서 Hitachi Model 200-20 double beam spectrophotometer로 측정하였다.

나. 사료내 유리 불포화 지방산 함량 분석: 각 실험군의 사료 0.1g을 시험관에 취하고 허 등⁷의 방법에 따라 지질 추출 용매로 사료내의 지질을 추출한 후 증발시키고 냉각 Acetone으로 발색에 대한 간섭물질인 인지질을 제거하였다. 이를 Heptane에 이행시킨 후 Copper Reagent로서 구리염을 형성시켜 상층액을 분리하고 0.1% Sodiumdiethyldithiocarbamate 0.2ml로 발색시킨 후 흡광도를 440nm에서 Hitachi Model 200-20 double beam spectrophotometer로 측정하였다.

4. 처 리

일차 경과 6단계, 철분 5수준을 조합하여 6×5 요인 시험을 실시하였다. 동 요인시험은 정상사료와 이에 물을 10% 혼합한 비정상 사료에 대하여 각각 실시되었다.

結果 및 考察

정상 사료내에 여러 농도의 철분을 혼합하여 실온에 방치한 후 날자 경과별로 분석한 사료내 Vitamin E 함량 변화는 Table 1에서 보는바와 같이 실험 1일째 1.47mg/g에서 실험 마지막날인 11일이 지났을 때 0.50mg/g으로 날짜 경과에 따라 감소되었다 ($P < .05$). 그리고 실험 1일째에서 실험 7일째까지는 뚜렷하게 감소되었으나 실험 7일째에서 실험 마지막날인 11일째까지는 완만하게 감소되었다. 또한 철분 혼합군별 Vitamin E 함량은 대조군의 1.64mg/g에서 20% 철분 투여군에서는 0.66mg/g으로 철분 혼합수준에 따라 감소되었고 대조군으로부터 1% 철분 투여군으로 감소되는 것은 급격하였으나 ($P < .05$) 1% 철분 투여군에서 20% 철분 투여군까지는 완

Table 1. Effect of iron on vitamin E concentration in common feed (mg/g)

Ferrous sulfate (%)	Time lapse (Day)						Mean
	1	3	5	7	9	11	
0	1.75	1.52	1.52	1.75	1.75	1.52	1.64 ^{m*}
1	1.37	0.88	0.64	0.50	0.25	0.25	0.65 ⁿ
5	1.37	0.88	0.50	0.32	0.32	0.25	0.61 ⁿ
10	1.50	1.00	0.64	0.32	0.25	0.25	0.67 ⁿ
20	1.37	1.14	0.64	0.32	0.25	0.25	0.66 ⁿ
Mean	1.47 ^{a*}	1.08 ^b	0.78 ^c	0.64 ^d	0.56 ^d	0.50 ^d	0.84 [#]

*: Different superscripts mean significant difference ($P < .05$)

: Interaction in significant at 1 % level.

만하게 감소되었으며 통계학적인 유의차는 인정되지 않았다. 낱자 경과별 및 철분 수준간에 상호작용이 인정되었다($P < .01$).

Table 2. Effect of iron on vitamin E concentrations in common feed mixed with water (mg/g)

Ferrous sulfate (%)	Time lapse (Day)						Mean
	1	3	5	7	9	11	
0	1.75	1.52	1.75	1.52	1.52	1.75	1.64 ^m
1	1.37	1.00	0.64	0.32	0.25	0.25	0.64 ⁿ
5	1.25	0.88	0.64	0.32	0.25	0.25	0.43 ⁿ
10	1.50	1.14	0.50	0.32	0.25	0.25	0.66 ⁿ
20	1.37	1.14	0.50	0.32	0.32	0.25	0.65 ⁿ
Mean	1.24 ^{a*}	1.13 ^a	0.81 ^b	0.56 ^c	0.52 ^c	0.55 ^c	0.80 [#]

*: Different superscripts mean significant difference ($P < .01$)

: Interaction is significant at 1 % level

한편 하절기 장마철의 평균습도와 비슷하게 물 10%로 혼합한 사료 내에서의 낱자 경과별 Vitamin E 함량의 변화는 Table 2에서 보는바와 같이 실험 1일의 1.24mg/g에서 실험 마지막 날인 11일이 지났을 때 0.55mg/g으로 낱자 경과에 따라 감소되었다($P < .01$). 그리고 실험 1일에서 실험 3일째까지는

Table 3. Effect of iron on free unsaturated fatty acid concentrations in common feed (mg/g)

Ferrous sulfate (%)	Time lapse (Day)						Mean
	1	3	5	7	9	11	
0	23.9	24.0	23.6	23.7	24.0	23.9	23.8 ^{m*}
1	23.5	23.3	22.2	19.4	15.3	14.8	19.8 ⁿ
5	24.1	22.4	21.1	18.6	14.9	14.4	19.2 ^{no}
10	23.0	22.2	21.1	18.2	14.4	11.6	18.4 ^o
20	21.8	21.5	20.5	17.6	13.6	10.3	17.6 ^p
Mean	23.3 ^{a*}	22.7 ^a	21.7 ^b	19.5 ^c	16.5 ^d	15.0 ^e	19.8 [#]

*: Different superscripts mean significant difference ($P < .01$)

: Interaction is significant at 1 % level

완만하게 감소되었으나 실험 5일째는 매우 급격하게 감소되었으며 실험 7일째에서 실험 11일째까지는 다시 완만하게 감소되었다. 또한 철분 혼합수준별 Vitamin E 함량은 대조군의 1.64mg/g에서 20% 철분 투여군 0.65mg/g으로 철분 혼합수준별에 따라 뚜렷하게 감소되었다 ($P < .01$). 그리고 대조군에서 1% 철분 투여군 사이에는 매우 급격하게 감소되었으나 다른 철분 투여수준별은 완만하게 감소되었다. 낱자 경과별 및 철분 혼합수준별 간에 상호작용이 인정되었다 ($P < .01$).

Table 4. Effect of iron on free unsaturated fatty acid concentrations in common feed mixed with water (mg/g)

Ferrous sulfate (%)	Time lapse (Day)						Mean
	1	3	5	7	9	11	
0	24.0	23.9	23.7	23.6	23.9	24.0	23.9 ^{m*}
1	23.4	23.0	21.6	19.1	15.2	14.9	19.5 ⁿ
5	23.5	20.5	19.4	17	14.6	14.1	18.3 ^o
10	22.7	22.2	21.0	17.7	14.1	12.1	18.3 ^o
20	22.5	21.1	20.9	17.2	12.8	10.1	17.4 ^p
Mean	23.2 ^{a*}	22.1 ^b	21.3 ^c	19.0 ^d	16.1 ^e	15.0 ^e	19.5 [#]

*: Different superscripts mean significant difference ($P < .01$)

: Interaction is significant at 1 % level

또한 사료내에 농도를 달리하는 철분을 혼합하여 방치하였을 때 낱자 경과별 유리 불포화 지방산 함량의 변화는 Table 3에서 보는바와 같이 실험 1일째 23.3mg/g에서 실험 11일째 15.0mg/g으로 감소되었다 ($P < .01$). 그리고 실험 1일째와 3일째까지는 완만하게 감소되었으나 실험 5일째에서 실험 11일째까지는 매우 급격하게 감소되었다. 또한 철분 혼합수준별 유리 불포화 지방산 변화는 대조군의 23.8 mg/g에서 20% 철분 혼합군 17.6mg/g으로 감소되었다 ($P < .01$). 대조군에서 1% 철분 혼합군까지는 매우 급격하게 감소되었으며 1% 철분 혼합군에서 10% 철분 혼합군까지 완만하게 감소되었다가 20% 철분 투여군에서 다시 매우 급격하게 감소되었다. 낱자 경과별 및 철분 혼합 수준별 간에 상호작용이 인정되었다. ($P < .01$)

한편 물 10%로 혼합한 사료내에 철분을 첨가하여 방치하였을 때 낱자 경과별 유리 불포화 지방산 함량의 변화는 Table 4에서 보는바와 같이 실험 1일째 23.2mg/g에서 실험 11일째 15.0mg/g으로 낱자 경과별에 따라 급격하게 감소되었다. 그리고 철

분 혼합 수준별 유리 불포화 지방산 함량의 변화는 대조군의 23.9mg/g에서 20% 철분 혼합군 17.4mg/g으로 감소되었고 ($P < .01$), 대조군 및 1% 철분 혼합군, 5% 철분 혼합군까지는 매우 급격하게 감소되었으며 10% 철분 혼합군에서는 완만하게 감소되었다가 20% 철분 혼합군에서는 다시 급격하게 감소되었다. 낱자 경과별 및 철분 혼합 수준별간의 상호작용이 인정되었다 ($P < .01$).

이와같이 정상사료와 물로 혼합한 사료내에 농도를 달리하는 철분을 첨가하여 낱자 경과별로 Vitamin E 농도의 변화를 살펴보면 낱자가 경과함에 따라 Vitamin E는 산화제인 철분에 의하여 산화작용을 받아 그 함량이 계속 감소되었다.

Deluca 등은 체내에 과잉의 철분을 투여하면 Vitamin E가 철분에 의하여 산화작용을 받아서 불활성체인 Tocopherylquinone으로 되어 Vitamin E의 농도가 감소한다는 보고와 비교해 보면 철분은 체내에서 뿐만 아니라 체외인 사료내에서도 Vitamin E에 산화작용을 미쳐 함량의 감소를 가져온다고 사료된다. 한편 정상사료와 물로 혼합한 사료내에 철분 첨가로 인한 유리 불포화 지방산의 함량의 변화는 낱자가 경과함에 따라 계속 감소되는데 이는 산화제인 철분이 직접 불포화 지방산의 이중결합을 파괴시키거나 또는 이를 불포화 지방산의 항산화제인 Vitamin E가 철분에 의하여 파괴되어 불포화 지방산의 산화가 증가되었기 때문에 사료내의 유리 불포화 지방산의 함량이 감소되는 것으로 사료된다. 체내의 철분은 위장점막에서 흡수되어 필요량만 이용하고 나머지는 간장, 비장, 골수의 망상내피계에서 저장하는 조절기능이 있으나 과잉의 철분은 중독작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.^{5,6} 그러나 최근 임상가 및 축산가에서는 철분 결핍을 보충할 목적으로 사료에 첨가하여 경구적으로 또는 근육주사 등의 방법으로 철분을 공급하고 있는바 이로 인해 종종 용혈성 빈혈이 나타나는 문제점으로 남아있다.^{4,7,11} Williams,¹² Ritchie 등¹⁰, Melhom 및 Gross,⁷ Oski

등⁸은 철분 투여로 인한 신생아와 어린 동물에서 용혈성 빈혈 및 기타 Vitamin E 결핍증 등을 임상적으로 또는 실험적으로 관찰하였다고 보고한 바있다. 이상의 결과를 종합적으로 고찰해 보면 강한 산화제인 철분은 체내에서 뿐만 아니라 체외인 정상사료내에서도 항산화제인 Vitamin E와 사료내의 불포화 지방산에 산화작용을 미치는 것을 알 수 있으며 과잉의 철분을 사료내에 혼합하면 Vitamin E와 불포화 지방산의 함량이 부족하게 되어 용혈성 빈혈 등의 증독증세를 가져올 수 있으므로 철분 결핍성 빈혈의 예방목적으로 공급사료에 일률적으로 철분을 첨가하여 배합하는 일은 시정해야할 문제라고 생각된다.

摘 要

정상사료내의 지질에 철분이 어떤 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 정상사료(Common feed)와 물을 혼합한 비정상 사료내에 Vitamin E와 유리 불포화 지방산 함량을 측정된 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 정상사료 ($P < .05$)와 비정상사료 ($P < .01$)내의 Vitamin E 함량은 1.75mg/g(실험 1일째)로부터 0.25mg/g(실험 11일째)로 지속적으로 감소되었다.
2. 정상사료내의 유리 불포화 지방산 함량은 23.8 mg/g(대조군)로부터 17.6mg/g(20% 철분 혼합군)로 역시 지속적으로 감소되었다 ($P < .01$).
3. 비정상사료내의 유리 불포화 지방산 함량은 23.9mg/g(대조군)로부터 17.4mg/g(20% 철분 혼합군)로 지속적으로 감소되었다 ($P < .01$).
4. 정상사료내의 Vitamin E와 유리 불포화 지방산 함량은 비정상사료내의 함량보다 다소 높았으나 유의차는 인정되지 않았다.
5. 정상사료와 비정상사료내의 Vitamin E와 유리 불포화 지방산에 있어서 낱자 경과별 및 철분 혼합 수준별 간의 상호작용이 인정되었다.

引用 文 獻

1. Deluca, H. F. 1978. Handbook of lipid research. 2. The fat-soluble vitamins, Plenum Press, New York, P. 141.
2. Golberg, L. and Smith, J.P. 1960. Vitamin

- A and E deficiencies in relation to iron overload in the rat. *J. Pathol. Bacteriol.* 80:173-180.
3. 허린수, 장인호. 1982. 불포화 지방산의 비색 정량법. *한국영양학회지.* 15: 4-9.
 4. Jacob, H. S. 1965. Hemolysis with vitamin E malabsorption. *New Engl. J. Med.* 273: 1339-1340.
 5. Kaneko, J. J. 1980. *Clinical Biochemistry of domestic animals*, 3rd ed. Academic Press pp. 649-669.
 6. Martin, D. W., Mates, P.A. and Rodwell, V. W. 1983. *Harpers review of biochemistry*, 18th ed., Lange Medical Pub., pp. 559-581.
 7. Melhorn, D.K. and Samuel Gross, M.A. 1971. Vitamin E dependent anemia in the premature infant. 1. Effect of large doses of medicinal iron. *J. Ped.*, 79:569-580.
 8. Nair, P.P. and Magar, N.G. 1965. Determination of vitamin E in blood. *J. Biol. Chem.*, 220:157-159.
 9. Oski, F.A. and Barness, L.A. 1967. Vitamin E deficiency: A previously unrecognized cause of hemolytic anemia in the premature infant. *J. Ped.*, 70:211-220.
 10. Ritchie, J.H., Fish, M.B., Mcmasters, V. and Grossman, M. 1968. Edema and hemolytic anemia in the premature infants. *New Engl. J. Med.*, 279:1185-1190.
 11. Williams, M.L., Shott, R.J., O Neal, P.L. and Oski, F.A. 1975. Role of dietary iron and fat on vitamin E deficiency anemia of infancy. *New Engl. J. Med.*, 292:887-890.