

飲水中 銅의 水準에 따른 흰쥐臟器內 銅, 鐵 및 亞鉛의 濃度에 미치는 영향

高鎮福 · 鄭福美 · 金載營* · 崔到点** · 梁且範**

釜山女子大學 食品營養學科

* 智山看護保健專門大學 臨床病理科

** 漢陽大學校 大學院 食品營養學科

(1987년 2월 12일 접수)

Effects of Drinking Water Supplemented with Copper on Tissue Concentrations of Copper, Iron and Zinc in Rats

Jin-Bog Koh, Bok-Mi Jeung, Jae-Young Kim*,
Do-Jeom Choi** and Cha-Bum Yang**

Dept. of Food and Nutrition, Pusan Women's University, Dong Re-gu Pusan 607, Korea

* Dept. of Clinical Pathology, Jisan Junior College

** Dept. of Food and Nutrition, Graduate School, Hanyang University

(Received February, 2. 1987)

Abstract

The effects of various levels of copper(Cu) intake on the concentrations of copper, iron (Fe) and zinc(Zn) in rat tissues were studied in growing rats. For different groups the drinking water was supplemented with 0(control), 25, 50, 100 and 200ppm Cu(as copper sulphate) for 1 day respectively. All animal groups were fed with the control diet (Cu contents, 12.8mg/kg diet) during the experiment.

At the end of the 4 week experiment, body weight gain was slightly lower in the Cu supply groups than in control group. Liver and serum Cu were significantly higher in 50, 100 and 200ppm Cu of male and in 200ppm Cu of female than in control groups. Spleen Cu was significantly increased by the supplementation of Cu.

Liver and heart Fe of male and heart Fe of female were increased by increasing supplementary Cu levels. In 50ppm Cu group, liver, spleen and kidney Fe of female increased but the others did not. Fe of tissues was different in male and female rats according to Cu levels supplied.

Serum Zn of male and female was significantly lower in 50, 100 and 200ppm Cu groups than in control and 25ppm Cu groups. When supplemented with Cu levels there were no significant differences among groups for liver, kidney, spleen and heart Zn as well as heart and kidney Cu.

緒 論

銅(구리)은 人間과 動物營養의 中요한 微量元素의 하나로서,¹⁾ 철의 體內利用에 관여하여 hemoglobin 形成^{2,3,4)}과 끌격 및 결체조직유지 등에 관여하는 것으로 알려졌다.⁵⁾ 한편 여러 동물에서는 銅이 缺乏되면 ceruroplasmin의 活性이 감소되어 hemoglobin 形成이 되지 않아서 빈혈을 일으킨다고 하였다.^{6~10)}

미국에서는 成人 1日 2~3mg의 銅을 권장하고 있다.¹¹⁾ 그러나 銅의 과다한 섭취시에는 毒性을 일으킨다. 급성중독으로는 銅의 용기에 장기간 넣었던 清涼飲料水(酸性)를 마신 경우에는 구토, 복통, 설사 등의 증세가 나타난다고 하였고,¹²⁾ 飲食中 銅보다 飲料水 銅의 毒性이 더 強하다고 하였다.¹³⁾ 만성중독으로는 7ppm의 銅이 含有된 물을 장기간 섭취하면 中毒증세를 나타낸다고 보고 된 바 있다.¹⁴⁾

本研究는 食餌組成을 一定하게 하고 飲料水中 銅의 水準을 25ppm, 50ppm, 100ppm 및 200ppm으로 각각 다르게 하여 4주간 훈취에 鍔식하였을 때 훈취의 각 조작중 銅, 鐵 및 亞鉛의 농도를 측정하여 銅攝取에 따른 영향을 조사하고자 시도하였다.

實驗材料 및 方法

實驗動物은 離乳後 폐레트 사료(삼양유지사료회사제품인 마우스류 실험사료)로 사육한 Sprague Dawley系 훈취를 사용하였다. 훈취의 平均體重은 ♂ 150±15g, ♀ 130±10g이고, 각 實驗動物群은 비슷한 體重끼리 한군을 6마리씩 암·수 각각 5群으로 나누어 스테인레스 스틸 사육장에서 4주간 사육하였다.

본 실험에 사용한 폐레트 사료(삼양유지사료회사제품)의 成分은 粗蛋白 20%, 粗脂肪 4%, 粗纖維 4%, 粗灰分 8%이고, 사료 g당 無機物含量은 Ca 8.8mg, Zn 116.2μg, Fe 456.8μg 및 Cu 12.8μg이다.

銅 級與는 飲料水(재증류수)에 CuSO₄·5H₂O(島久藥品會社)를 녹여서 1日 각각 25ppm, 50ppm, 100ppm 및 200ppm 水準으로 하여 飲用시켰고, 대조군은 재증류수를 섭여하였다. 사료와 물은

자유로이 섭취하도록 하였다. 사육실 온도는 22±2°C, 습도는 60% 정도로 조절하였다.

試料採取는 각 實驗군을 4주간 사육 후 12시간 切食시킨 다음 ethyl ether로 마취하고 심장에서 採血하였다. 血液은 실온에서 30분간 두었다가 원심분리하여 血清을 얻은 후 냉동 보관하여 시료로 사용하였다.

採血후 즉시 動物을 해부하여 肝, 腎臟, 脾臟 및 心臟을 떼어서 무게를 측정한 뒤 냉동 보관하여 시료로 사용하였다.

無機元素測定은 各 試料를 Thompson-Blanchflower 方法¹⁵⁾으로 濕式分解하여 원자흡광기(Shimadzu AA 646)로 Cu는 324.8nm, Fe는 248.3nm, Zn 213.9nm에서 측정하였다. 實驗에 사용된 모든 기구는 0.4% EDTA 용액으로 처리하여 사용하였다.

모든 實驗결과는 平均值와 標準誤差로 나타내었고, 各 群間에有意性 檢定을 하여 表示하였다.

結果 및 考察

1. 體重 및 臟器重量

本 實驗에 사용된 食餌의 成分組成은 一定하게 하고 飲料水中 銅(CuSO₄·5H₂O)의 水準을 각각 25, 50, 100 및 200ppm으로 달리하여 4주간 사육한 動物의 體重 및 各 臟器重量은 Table 1과 같다.

♂의 體重은 對照群에 比하여 飲料水中 銅(Cu)첨가군이 다소 낮은 重量을 보였으며 特히 100ppm Cu군이 유의하게 낮은($p<0.05$) 重量을 보였다. 肝重量은 體重과 유사한 경향을 보였고, 腎臟重量은 대조군에 比하여 50 및 100ppm Cu군에서 낮았으며($p<0.05$), 脾臟은 25ppm Cu군에서 가장 높은 重量을 보였으나($p<0.05$), 100ppm Cu 군에서는 오히려 낮은 重量을 보여 Cu수준에 따라서 일정한 경향을 보이지 않았다. 그리고 心臟은 대조군에 比하여 100ppm Cu군이 가장 낮은 重量을 보였다($p<0.05$).

♀의 體重 및 肝과 心臟重量은 各 群간에 큰 差異를 보이지 않았으나, 腎臟은 50 및 100ppm Cu군에서 脾臟은 50ppm Cu군에서 대조군보다 낮은($p<0.05$) 重量을 보였으나 Cu 첨가수준에 따른 一定한 重量變化는 보이지 않았다.

쥐¹⁶⁾와 犬¹⁷⁾의 사료에 過量의 Cu를 첨가하면

Table 1. Body weights and organ weights of rats fed drinking water supplemented with various levels of copper for 4 weeks.

Weight(g)	Various levels of copper				
	Control	25ppm	50ppm	100ppm	200ppm
Male					
Body wt	260.0±10.4 ^a	247.5±12.4 ^{a,b}	237.5±7.7 ^{a,b}	215.8±10.5 ^b	246.6±13.6 ^{a,b}
Liver wt	7.57±0.45	6.96±0.21	6.40±0.31	6.32±0.37	6.50±0.41
Kidney wt	1.93±0.14 ^{a,b}	1.92±0.03 ^a	1.81±0.07 ^b	1.66±0.05 ^b	1.92±0.13 ^{a,b}
Spleen wt	0.66±0.05 ^{a,b}	0.98±0.05 ^c	0.71±0.05 ^b	0.57±0.02 ^a	0.75±0.06 ^b
Heart wt	0.70±0.05 ^a	0.65±0.03 ^{a,b}	0.69±0.03 ^a	0.57±0.02 ^b	0.65±0.03 ^{a,b}
Female					
Body wt	191.0±12.5	175.2±6.4	188.0±6.7	180.0±7.8	178.0±9.1
Liver wt	6.05±0.31	5.34±0.28	5.42±0.30	5.97±0.34	5.82±0.31
Kidney wt	1.59±0.09 ^a	1.29±0.06 ^b	1.49±0.04 ^a	1.35±0.05 ^{a,b}	1.47±0.10 ^{a,b}
Spleen wt	0.74±0.07 ^a	0.57±0.03 ^b	0.62±0.04 ^{a,b}	0.62±0.04 ^{a,b}	0.71±0.11 ^{a,b}
Heart wt	0.59±0.04	0.49±0.03	0.57±0.07	0.50±0.03	0.55±0.03

Values are means±SEM(n=6) and are expressed on the basis of the fresh weight of samples. Means in a row not having a common superscript letter are significantly different at p<0.05.

Table 2. Copper concentrations in tissues of rats fed drinking water supplemented with various levels of copper for 4 weeks.

Tissues μg/g wet wt	Various levels of copper				
	Control	25ppm	50ppm	100ppm	200ppm
Male					
Liver	5.19±0.23 ^a	4.58±0.41 ^a	6.20±0.28 ^b	6.30±0.34 ^b	6.57±0.35 ^b
Kidney	7.49±0.77	7.90±1.15	9.40±0.90	9.95±0.99	8.41±0.90
Spleen	0.50±0.06 ^a	0.92±0.09 ^b	1.08±0.09 ^b	1.10±0.09 ^b	1.16±0.10 ^b
Heart	5.95±0.30	5.91±0.24	5.48±0.22	5.49±0.41	5.68±0.07
Serum μg/dl	130.0±10.8 ^a	129.6±8.7 ^a	160.4±7.5 ^b	174.0±10.3 ^{b,c}	191.0±10.1 ^c
Female					
Liver	5.51±0.41 ^a	5.48±0.41 ^a	6.23±0.42 ^{a,b}	6.35±0.34 ^{a,b}	7.18±0.35 ^b
Kidney	9.06±0.72	8.03±0.43	9.05±0.64	9.23±0.63	9.09±0.72
Spleen	0.51±0.06 ^a	0.74±0.06 ^b	1.03±0.09 ^c	1.29±0.10 ^c	1.30±0.12
Heart	5.73±0.29	6.85±0.50	5.94±0.58	5.86±0.39	6.44±0.43
Serum μg/dl	139.0±12.3 ^a	159.5±14.6 ^{a,b}	161.9±10.2 ^{a,b}	179.5±10.5 ^{b,c}	215.3±15.1 ^c

Values are means±SEM(n=6) and are expressed on the basis of the fresh weight of samples. Means in a row not having a common superscript letter are significantly different at p<0.05.

식이 섭취량이 감소하고 따라서 成長率이 低下된다는 보고는 본 실험의結果와一致되며, 飲水中 과량의 銅은 成長에 영향을 미침을 알 수 있었다.

各臟器의 重量은 Cu수준에 따라서는 一定한 경향을 보이지 않았으나 脖취에서는 100ppm Cu군이 낮은 重量을 보였음이 特異하다.

2. 臟器中 銅(Cu)의 濃度

各臟器의 g당 Cu의 농도는 Table 2와 같다. 암·수의 肝 및 脾臟中 Cu濃度는 對照群에 비하여 50, 100 및 200ppm Cu군이 높은($p<0.05$)濃度를 보였으나 飲水中 Cu水準과 比例하여 증가하지는 않았다. 饵^{18~20} 및 奶^{21,22}의 사료중 Cu수준을 증가시키면 比例的으로 肝 및 血清의 Cu濃度가 증가한다고 하였으나, 쥐^{16,23,24}를 대상으로 한 實驗에서는 肝中 Cu농도는 食餌中 Cu수준에 따라 증가되나 Cu수준과 비례적으로 증가되지 않는다는 報告와 本 實驗의 結果는一致되었다. 脾臟의 Cu농도는 肝과 유사한 경향으로 對照群에比하여 飲水中 Cu添加群이 Cu농도가 높았음을 肝과 같이 飲水中 Cu농도에 따른 영향이라고 생각된다.

그리고 血清中 Cu농도는 飲水中 Cu수준에 따라서 比例的으로 증가되었음은($p<0.05$) Milne¹⁶ 등, Gipp²¹ 등 및 金²⁵ 등의 報告와一致되며, 이

는 過量의 Cu를 섭취하면 肝과 기타 細胞에 일정 수준으로 축적되고 그 이상의 Cu는 血液中에 머무르기 때문이라고 생각된다. 腎臟과 心臟의 Cu농도는 飲水中 Cu수준에 따른 差異를 보이지 않았다.

3. 臟器中 鐵(Fe)의 濃度

各臟器의 g당 Fe濃度는 Table 3과 같다.

衲취의 肝中 Fe濃度는 飲水中 Cu수준이增加함에 따라서 比例的으로 높은($p<0.05$)濃度를 보였으나, 암취의 肝中 Fe濃度는 飲水中 50ppm Cu添加群에서만 높은($p<0.05$)濃度를 보였고 그 외 각 군은 對照群과 비슷한濃度를 보였음은 性別에의한 差異라고 생각된다.

食餌中 Cu와 Fe의相互作用에 대하여 Hart²³ 등은 젖먹이 쥐의 빈혈치료는 Fe와 함께 Cu가 供給되어졌을 때 치료가 된다고 하였고, Cu가 결핍된 사료를 섭취하면 Fe의 利用에 영향을 주어 빈혈을 일으킨다고 하였다.^{6~10}

한편, 過量의 Cu를 섭취시키면 Hemoglobin濃度가 減少되고 Fe의 결핍성 빈혈이 일어난다고 하였다.^{21,27~29} 奶²¹에 食餌中 120ppm의 Cu를 給食하였을 때 肝과 血漿中 Fe의濃度는 減少되었다고 하였으나,^{21,22} 饵^{18~20}을 대상으로 한 實驗에서는 사료중 Cu의 水準을 250, 500, 1,000 및 2,000

Table 3. Iron concentrations in tissues of rats fed drinking water supplemented with various levels of copper for 4 weeks.

Tissues	Various levels of copper				
	μg/g wet wt	Control	25ppm	50ppm	100ppm
Male					
Liver	156.7±10.3 ^a	163.0±14.4 ^{a,b}	195.8±13.6 ^{b,c}	234.3±13.1 ^c	213.6±13.0 ^c
Spleen	509.3±44.1	535.9±50.0	545.7±49.1	535.7±50.6	621.1±46.3
Kidney	52.2±3.53	49.2±6.65	57.9±5.71	61.5±3.52	49.8±4.73
Heart	18.8±1.72 ^a	26.4±1.47 ^b	25.2±1.80 ^b	34.9±1.63 ^c	36.3±3.00 ^c
Female					
Liver	305.8±20.1 ^a	330.6±22.6 ^a	413.8±10.4 ^b	299.1±14.0 ^a	311.4±13.7 ^a
Spleen	743.7±84.6 ^{a,b}	912.5±97.9 ^{a,b}	972.8±97.8 ^b	746.9±38.7 ^{a,b}	665.5±66.1 ^a
Kidney	58.8±4.90 ^{a,b}	62.3±5.05 ^b	62.1±4.72 ^b	53.2±2.80 ^{a,b}	49.7±2.38 ^a
Heart	19.3±1.33 ^a	23.4±2.09 ^{a,b}	26.5±2.91 ^b	22.1±1.47 ^{a,b}	28.3±2.40 ^b

Values are means±SEM($n=6$) and are expressed on the basis of the fresh weight of samples. Means in a row not having a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

ppm으로 增加시키면 肝中 Fe의 濃度가 增加된다고 하였다.^{19,20)} 이와 같이 動物의 種類에 따라서 差異를 보임을 알 수 있다.

本 實驗에서는 食餌中 Fe의 水準(456.8 $\mu\text{g/g}$ diet)을 一定하게 하고 飲水中 Cu의 水準을 增加시킴에 따라서 肝臟의 肝과 心臟中 Fe의 濃度가 增加되었음을 眼을 대상으로 한 實驗 결과와一致되었다.^{19,20)} 암취의 肝中 Fe의 濃度는 Cu 50ppm군이 가장 높은($p<0.05$) 水準으로 性別에 따른 差異를 보였다.

脾臟과 腎臟中 Fe의 濃度는 肝臟에서 飲水中

Cu水準에 따라서 增加되는 경향이 있으나 有意性 있는 差異는 아니었다(Cu 200ppm군의 腎臟은 제외). 암취에서는 Cu 200ppm군이 낮은 濃度를 보였고 Cu 50ppm군이 높은 濃度로 性別에 따라서 差異를 보였다. 이와 같이 飲水中 Cu의 水準에 따라서 성별 및 각 장기中 Fe의 濃度는 差異를 보였으나 Fe의 代謝에 영향을 주어 번철을 일으키는 현상은 나타나지 않았다.³⁰⁾

3. 臟器中 亞鉛(Zn)의 濃度

各 臟器의 g^{-1} Zn濃度는 Table 4와 같다.

Table 4. Zinc concentrations in tissues of rats fed drinking water supplemented with various levels of copper for 4 weeks.

Tissues $\mu\text{g/g}$ wet wt	Various levels of copper				
	Control	25ppm	50ppm	100ppm	200ppm
Male					
Liver	30.4 \pm 1.08	29.0 \pm 1.45	33.1 \pm 1.54	30.9 \pm 1.23	32.9 \pm 1.07
Kidney	20.3 \pm 1.22	22.0 \pm 0.74	24.3 \pm 1.53	23.3 \pm 1.37	23.0 \pm 1.43
Spleen	21.7 \pm 1.07	20.1 \pm 0.79	20.4 \pm 1.04	21.1 \pm 1.13	19.9 \pm 1.05
Heart	15.1 \pm 0.71	14.9 \pm 0.58	14.1 \pm 0.56	15.8 \pm 0.72	14.8 \pm 0.46
Serum $\mu\text{g/dl}$	221.5 \pm 12.9 ^a	242.1 \pm 15.1 ^a	182.9 \pm 9.14 ^b	168.0 \pm 10.6 ^b	165.5 \pm 10.8 ^b
Female					
Liver	30.0 \pm 1.68	30.5 \pm 0.98	32.8 \pm 1.06	29.2 \pm 1.28	29.7 \pm 0.95
Kidney	22.6 \pm 0.86	22.0 \pm 0.87	21.9 \pm 0.55	20.9 \pm 0.55	23.1 \pm 0.84
Spleen	17.9 \pm 0.50	19.3 \pm 0.96	17.5 \pm 0.96	19.0 \pm 0.97	19.4 \pm 0.96
Heart	14.4 \pm 0.51	15.6 \pm 0.82	14.4 \pm 0.65	13.5 \pm 0.60	13.6 \pm 0.71
Serum $\mu\text{g/dl}$	253.5 \pm 18.1 ^a	253.5 \pm 14.4 ^a	166.9 \pm 13.8 ^b	144.0 \pm 11.5 ^b	145.0 \pm 15.6 ^b

Values are means \pm SEM($n=6$) and are expressed on the basis of the fresh weight of samples. Means in a row not having a common superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

암·수의 肝, 腎臟, 脾臟 및 心臟中 Zn의 濃度는 飲水中 Cu의 水準에 따라서는 영향을 받지 않음으로 나타났다. 그러나 血清中 Zn의 濃度는 對照群에 比하여 飲水中 Cu水準이 50ppm 이상에서는 낮은($p<0.05$) 濃度를 보였다.

Van Campen³¹⁾은 Cu와 Zn는 서로 장내의 吸收를 방해한다고 하였다. 즉 십이지장내의 Zn의 과량투여는 Cu의 吸收를 매우 감소시키고 반대로 Cu의 과량투여는 Zn의 吸收를 감소시킨다고 하였고, Evans³²⁾ 등은 食餌中 Cu가 과량일 때 Zn의 吸收低下는 필요량만큼 Zn를 공급받는 쥐에서도 나타난다고 하였다. 이상의 報告들로 미루어 보아 本 實驗에서 飲水中 과량의 Cu가 Zn의 吸收를

방해한 결과로 血清中 Zn의 濃度가 낮아진 것으로 생각된다.

結論

飲水中 銅의 水準을 25, 50, 100 및 200ppm으로 다르게 하여 성장기 肝臟에 4週間 飲用시켰을 때 各 臟器의 Cu, Fe 및 Zn濃度에 미치는 영향을 조사한 바 다음과 같다.

體重은 對照群에 比하여 Cu給食群이 유의한 差異는 아니나 다소 낮았다.

암·수의 肝, 脾臟 및 血清中 Cu의 濃度는 飲水中 Cu의 水準이 높을수록 增加하였다. 그러나

腎臟과 心臟의 Cu의 濃度는 飲水中 Cu의 水準에 따라서는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

숫자의 肝 및 心臟中 Fe의濃度는 飲水中 Cu의 水準에 따라서 比例的으로 增加하였으나 腎臟 및 脾臟中 Fe의濃度는 유의한 差異를 보이지 않았다. 脏의 肝, 脾臟 및 腎臟中 Fe의濃度는 飲水中 Cu 50ppm群이 가장 높았고, Cu 200ppm群은 對照群과 비슷한 경향이었다.

血清中 Zn의濃度는 飲水中 Cu의 水準이 높을수록 減少하여 對照群보다 낮았다. 그리고 肝, 腎臟, 脾臟 및 心臟中 Zn의濃度는 對照群과 비슷한 경향으로 飲水中 Cu에 의한 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

References

- Mason, K.E.: *J. Nutr.*, **109**: 1979(1979).
- Hart, E.B., Steenbock, H., Waddell, J. and Elvehjem, C.A.: *J. Biol. Chem.*, **77**: 797(1928).
- Wintrobe, M.M., Catwright, G.E. and Gubler, C.J.: *J. Nutr.*, **50**: 395(1953).
- Osaki, S.: *J. Biol. Chem.*, **241**: 2764(1966).
- Shield, G.S., Coulson, W.F. and Kimball, D.A.: *Am. J. Pathology*, **41**: 603(1962).
- Lahey, M.E., Gubler, C.J., Chase, M.S., Cartwright, G.E. and Wintrobe, M.M.: *J. Hematology*, **7**: 1053(1952).
- Roeser, H.P., Lee, G.R., Nacht, S. and Cartwright, G.E.: *J. Clin. Invest.*, **49**: 2408(1970).
- Evans, J.C. and Abraham, P.A.: *J. Nutr.*, **103**: 196(1973).
- Williams, D.M., Lee, G.R. and Cartwright, G.E.: *Am. J. Physiol.*, **227**: 1094(1974).
- Prohaska, J.R.: *Nutr. Res.*, **1**, 159(1981).
- Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, National Research Council, Washington, DC: Recommended Daily Allowances, revised(1980).
- Shrier, H.R.: CDC Morbid and Mort. Week Rep., March, p.99(1974).
- Hopper, S.H. and Adams, H.S.: *Public Health Rep.*, **73**: 910(1958).
- Walker-Smith, J.A.: *Arch. Dis. Child.*, **48**: 476(1973).
- Thompson, R.H. and Blanchflower, W.J.: *Lab. Pract.*, **20**: 859(1971).
- Milne, D.B. and Weswig, P.H.: *J. Nutr.*, **95**: 429(1968).
- Jackson, N.: *Br. J. Nutr.*, **38**: 93(1977).
- Kim, C.S. and Kang, Y.S.: *Korean J. Anim. Sci.*, **13**: 68(1971).
- Stevenson, M.H. and Jackson, N.: *Br. J. Nutr.*, **43**: 205(1980).
- Stevenson, M.H. and Jackson, N.: *Br. J. Nutr.*, **43**: 551(1980).
- Gipp, W.F., Pond, W.G., Tasker, J., Van Campen, D., Krook, L. and Visek, W.J.: *J. Nutr.*, **103**: 713(1973).
- Bradley, B.D., George G., Condon, R.J. and Frobish, L.T.: *J. Anim. Sci.*, **56**: 625(1983).
- Paynter, D.I., Moir, R.J. and Underwood, E.J.: *J. Nutr.*, **109**: 1570(1979).
- Abdel Rahim, A.G., Arthur, J.R. and Mills C.F.: *J. Nutr.*, **116**: 403(1986).
- Kim, K.S. and Kim, M.K.: *Korean J. Nutr.*, **17**: 185(1984).
- Matrone, G.: *Fed. Proc.*, **19**: 659(1960).
- Wallace, H.D., McCall, J.T., Bass, B. and Combs, G.E.: *J. Anim. Sci.*, **19**: 1153(1960).
- Gipp, W.F., Pond, W.G., Kallfelz, F.A., Taker, J.B., Krook, L. and Visek, W.J.: *J. Nutr.*, **104**: 532(1974).
- Underwood, E.J.: Trace Elements in human and Animal Nutrition (4th Ed.), Academic Press, Inc., New York, (1977).
- Kim, J.Y., Koh, Y.D. and Koh, J.B.: *Jisan Junior College Journal*, **5**: 151(1987).
- Van Campen, D.R.: *J. Nutr.*, **97**: 104(1969).
- Evans, G.W., Grace, C.I. and Hahn, C.: *Bioinorg. Chem.*, **3**: 115(1974).