

# 포도의 부위별 섭취가 흰쥐의 노화 과정 중 Cadmium의 대사 및 중독에 미치는 영향\*

최 서 진<sup>§</sup> · 김 미 경

이화여자대학교 식품영양학과

## Effect of Grape Intake on Cadmium Metabolism of Rats during Aging\*

Choi, Seo Jin<sup>§</sup> · Kim, Mi Kyung

Department of Food & Nutritional Sciences, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

### ABSTRACT

This study was carried out to investigate the effect of whole grape, grape pomace and grape juice intake on cadmium (Cd) metabolism during aging in thirteen-month-old Sprague-Dawley male rats. One hundred and twenty rats weighing  $548.8 \pm 4.3$  g were assigned to eight groups according to body weight and were raised for 3, 5 or 7 months on diets containing 2 % (w/w) dried powders of three different parts of the grape (Campbell Early) and 0.02 % (w/w) CdCl<sub>2</sub>. Food intake tended to decrease with aging, and body weight and epididymal fat pad (EFP) weights of Cd-exposed groups were lower than those of Cd-free groups. Cadmium accumulated in the blood and tissues and Cd concentration was the lowest in the pomace group among Cd-exposed animals. Metallothionein (MT) concentration in the tissues increased through Cd administration. Grape diets, especially grape pomace diets, were effective in decreasing Cd absorption in the tissues by increasing Cd excretion through feces. The intake of grape pomace alleviated the decrease in bone density caused by Cd administration and prevented a decrease in glomerular filtration rates (GFR) with aging. Among the parts of grape, grape pomace, which had highest content of dietary fiber and flavonoids, was the most effective. The results of this study suggest the possibility of using grape pomace as a functional food material, a prospect that previously has been discarded. (*Korean J Nutrition* 36(10): 997~1012, 2003)

**KEY WORDS** : aging, grape, grape pomace, cadmium metabolism.

### 서 론

Cadmium (Cd)은 환경 전체에 널리 분포되어 있는 독성 무기 물질로서 인체에 가장 해로운 중금속 공해 물질의 하나이며, 토양, 물, 공기 등에 오염되어 있다.<sup>1)</sup> 따라서 Cd은 오염된 농작물이나 식수를 섭취하거나 호흡기를 통해 주로 인체 내로 들어오게 되는데, 조직 내에 축적되는 경우 성장 지연, 빈혈, 고혈압 등이 나타나고,<sup>2,3)</sup> 조직 형태의 변화<sup>4)</sup>가 일어나 심장, 신장, 간, 골격, 고환 등에 질환을 유발하게 되며, 만성적으로 노출이 되는 경우 골질량 (bone mass)의 감소와 골절 및 골연화증을 야기 시키기도 한다.<sup>5)</sup>

우리 나라에서 전국적으로 조사된 Cd 섭취량에 대한 보

고는 아직 없으나 1980~1990년 사이의 지역별 Cd 섭취 실태 조사에 의하면 일인당 평균 섭취량이 55~84  $\mu\text{g/day}$ <sup>6)</sup>로, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives<sup>7)</sup>에서 허용한 Cd에 대한 식이 섭취 잠정 기준인 57~71  $\mu\text{g/day}$ 를 상회하고 있어 경계해야 할 단계에 진입했다고 볼 수 있겠다. 한편 이러한 Cd의 흡수에 영향을 미치는 식이 인자로서는 Zn, Ca, Fe 등의 2가 금속, polyphenols 등과 같은 chelators, 우유, 고기, 식이 섬유, 단백질 등이 있는데, 이들은 Cd 흡수를 억제시키고 간과 신장 조직 내의 Cd 축적을 감소시키는 역할을 한다고 알려져 있다.<sup>8-13)</sup>

최근 들어서 국내외를 막론하고 건강에 대한 관심이 높아져 건강을 위한 기능성 식품은 물론 식물 자원 내 신소재 물질의 탐색 및 생리활성에 대한 연구가 많이 행해지고 있다.<sup>14)</sup> 포도는 갈대나무목 (*Rhamnales*), 포도과 (*Vitaceae*)에 속하여 약 700여 종이 있는데, 우리 나라에서는 조생종인 캠벨 얼리, 설러 등의 재배가 전체 포도 재배 면적의

접수일 : 2003년 8월 14일

채택일 : 2003년 12월 2일

\*This research was supported by grants from Jiwon Co., Ltd.

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

69.9%를 차지하고 있다.<sup>15)</sup> 또한 국민 소득의 향상으로 식생활 패턴이 고급화되어 포도 등의 과일 소비량이 증가하고 있으며 포도의 생산량 역시 증가하여 1991년 포도의 총 생산량은 14.7만 톤이었으나 2001년에는 45.3만 톤으로 증가 추세를 보이고 있다.<sup>16,17)</sup>

포도에는 flavonoids를 비롯한 다량의 polyphenol이 함유되어 있는 것으로 보고되었는데, 자몽, 오렌지, 복숭아, 배, 딸기 등에 비하여 높다.<sup>18)</sup> Flavonoids는 지질의 산화억제 효과, 항염증, 항바이러스, 항혈액응고, 항암, 항알레르기 등의 다양한 생리 활성 기능을 가지고 있으며,<sup>19,20)</sup> 체내에 유입된 중금속들을 착염하여 중금속의 산화촉진제로의 작용을 방지함은 물론 스스로가 자유 유리기를 제거하는 작용을 한다고 알려져 있다.<sup>21)</sup> 또한 세계보건기구 (WHO)의 주관으로 행해진 심장질환에 대한 전세계적인 조사 (MONICA project)에서도 포도주의 소비가 높은 프랑스는 영국이나 미국과 같은 다른 선진국에 비해 심장질환 (coronary heart disease)으로 인한 사망률이 낮다고 보고되었다.<sup>22)</sup>

이에 본 연구에서는 polyphenol이 다량 함유되어있는 국내산 Campbell Early (*Vitis labruscana Bailey*)종의 포도를 선택하여 노령 흰쥐의 체내 Cd 대사 및 중독에 미치는 영향을 다음과 같이 알아보려고 하였다. 식이 내 Cd 수준과 포도를 총포도, 포도박, 포도즙의 세 부분으로 달리한 식이로 생후 13개월 된 흰쥐를 각각 3개월, 5개월, 7개월씩 사육한 후, 혈액 및 간, 신장의 Cd 농도와 뇨, 변으로의 Cd 배설량 및 Cd 보유율과 간·신장의 MT 농도, 골밀도와 사구체 여과율 등을 분석하였다. 이들 결과로부터 먼저 가령에 따른 흰쥐의 Cd의 대사 및 중독을 살펴보고, 포도의 부위가 다른 식이를 섭취할 때 Cd의 대사 및 체독에 미치는 영향을 비교하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 실험동물의 사육 및 식이

#### 1) 실험동물의 사육

본 연구의 실험 동물은 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐로서, 생후 12개월 2주령의 120마리를 구입하여 실험 시작 전 2주일간 고형배합사료 ((주)삼육실험동물연구소)로 적응시켰다. 적응 기간 후의 쥐들 ( $548.8 \pm 4.3$  g)을 체중에 따라 난괴법 (randomized complete block design)에 의해 cadmium (Cd) 공급 여부와 포도 시료의 종류에 따라 15마리씩 8군으로 분류하고, 이를 다시 각 군 내에서

체중에 따라 난괴법에 의해 희생 시기별로 3군으로 나누어 3개월, 5개월, 7개월 동안 사육하였다.

동물 사육실의 온도는 22~24°C, 습도 45% 내외로 유지시켰으며, lighting cycle은 12시간으로 일정하게 하였다. 실험 동물은 각각 한 마리씩 분리하여 stainless steel 사육장에서 사육하였고, 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다. 실험에 사용된 사육장, 식이 그릇, 물병 등 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 0.4% EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic acid) 용액으로 세척한 다음 3차 증류수로 행구고 건조한 후 사용하였다.

#### 2) 실험 동물의 식이

본 실험에 사용된 포도 시료는 국내에서 가장 많이 재배되어 소비되고 있는 Campbell Early (*Vitis labruscana Bailey*) 종으로, 경북 영동에서 2000년 8월에 다량 구입하였다. 시료 전처리 과정에 있어서, 우선 포도를 알알이 따서 흐르는 물에 수세하여 식초 물에 1시간 정도 담근 후 다시 흐르는 물에 2~3회 수세 후 채반에 담아두어 물기를 제거하였다. 이를 분쇄기 (단상유도 전동기, 명진 기업)에 통과 시켜 일부는 통과시킨 그대로 (whole grape)를, 나머지는 40 mesh의 가는 망으로 걸러 포도즙 (grape juice)과 포도박 (포도즙을 짜고 난 후의 찌꺼기, grape pomace)으로 분리하여 동결 건조하고, 40 mesh의 fitz mill (The Fitz Patrick Company, No. DASO6)를 통과할 수 있도록 분말화 하여 식이 시료로 이용하였다.

실험에 사용한 식이의 구성 성분은 Table 1에 제시하였다. 식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수 전분 (corn starch, 대상(주))을, 지방 급원으로는 옥수수유 (corn oil, 제일제당)와 대두유 (soybean oil, 제일제당)를 3 : 2 (w : w)의 비율로 섞어 실험 식이에 10% (w/w) 수준으로 사용하였으며, 단백질 급원으로는 casein (edible acid casein, Murry Goulburn Co-operative Co., Australia)을 식이 무게의 15% 수준으로 사용하였다. 무기질과 비타민의 혼합물은 시약급의 무기질과 비타민들을 사용하여 혼합한 것 (AIN-93)<sup>23)</sup>을 각각 식이 무게의 3.5%와 1% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다. 또한 포도 시료의 건분은 각각 식이 무게의 2% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다. 이 수준은 본 연구실에서<sup>24,25)</sup> 수행된 국내산 식물 자원 생리 활성 탐구에 관한 연구들에서의 시료첨가 수준인 4~5%보다 낮은 수준으로, 이는 본 연구가 7개월 간 장기간 수행된다는 것을 감안하여 채택한 것이다. Cadmium은 CdCl<sub>2</sub>를 이용하여 식이에 0.02% (200 ppm, Cd으로는 122.5 ppm) 수준으로 섞어서 공급하였다. 이 수준 또한 본 연구실에서<sup>26,27)</sup> 수년

간 수행된 Cd 관련 연구들에서 사용된 식이 무게의 0.04% 수준보다 낮은 것으로서, 이 역시 본 연구가 늙은 쥐를 대상으로 총 7개월에 걸친 장기간에 걸친 실험이라는 점을 감안하여 첨가한 것이다. 포도 식이 내의 total flavonoids, vitamin 및 식이 섬유 함량은 Table 1과 같으며, 이는 본 연구와 함께 병행된 Um의 연구<sup>28)</sup>에서 분석되었다.

실험 기간 동안 실험 동물의 식이 섭취량은 일주일에 3회 일정한 시각에 측정하였고, 체중은 2주일에 1회 같은 시각에 측정하였다. 체중 측정 시에는 식이 섭취에서 오는 갑작스러운 체중 변화를 막기 위하여 측정하기 2시간 전에 식이 그릇을 빼주었다. 사육 기간 동안의 하루 평균 식이 섭취량과 그 동안의 체중 증가량을 계산하였다.

**2. 흰쥐의 각종 장기, 혈액, 뇨, 변의 채취**

Cadmium 공급군들의 Cd 보유율 측정을 위하여 실험 종료전 5일 동안 10,000 ppm의 cadmium chloride 용액 (Cd으로는 6,125 ppm) 0.2 ml 를 하루에 한번 일정한 시

각에 tube feeding 하였고 이 기간에는 Cd을 뺀 식이를 공급하여 주었다(투여한 Cd양 : 1.225 µg/day). 또한 tube feeding으로 인한 stress를 고려하여 Cd 비공급군에게도 동량의 탈 이온 증류수를 tube feeding 하였다.

Cadmium을 tube feeding 한지 3일째부터 대사장 (metabolic cage)에서 12시간씩 2회에 걸쳐 24시간 동안 뇨와 변을 채취하였다. 이 때 식이에 의하여 시료의 성분이 오염되는 것을 방지하기 위해 식이 그릇을 대사장에 넣어 주지 않았으며 물은 이 기간 중에 제한없이 먹게 하였다. 이 때 뇨와 변을 채취하지 않는 동안에는 원래의 사육장에 넣어 Cd을 뺀 식이를 공급하였다. Cadmium 보유율은 1일 동안의 Cd 경구투여량과 1일 뇨와 변의 배설량을 이용하여 계산하였다. 채취한 뇨는 100 ml가 되도록 탈 이온 증류수로 희석하여 7,000 rpm에서 10분간 원심분리시켜 상층액만을 냉동보관 하여 Cd 및 creatinine 분석에 이용하였으며, 변은 무게를 측정 후 -20°C에서 냉동보관 하였

**Table 1.** Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Group <sup>1)</sup> C (-)	W (-)	P (-)	J (-)	C (+)	W (+)	P (+)	J (+)
Corn starch	700.7	680.7	680.7	680.7	700.5	680.5	680.5	680.5
Casein	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0
Corn oil	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0
Soybean oil	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Mineral mixture <sup>2)</sup>	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Choline chloride	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
L-Cystine	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Grape Powder <sup>4)</sup>	0	20.0	20.0	20.0	0	20.0	20.0	20.0
Cadmium chloride	0	0	0	0	0.2	0.2	0.2	0.2
Total	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

1) C (-): Control diet (Grape-free diet), W (-): Experimental diet containing whole grape powder, P (-): Experimental diet containing grape pomace powder, J (-): Experimental diet containing grape juice powder, C (+): Control diet containing 0.02% cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>) (Grape-free diet), W (+): Experimental diet containing whole grape powder and 0.02% CdCl<sub>2</sub>, P (+): Experimental diet containing grape pomace powder and 0.02% CdCl<sub>2</sub>, J (+): Experimental diet containing grape juice powder and 0.02% CdCl<sub>2</sub>

2) AIN-93M mineral mixture (g/kg mixture)<sup>35)</sup>: Calcium carbonate, anhydrous 357, Potassium phosphate, monobasic 250, Sodium chloride 74, Potassium sulfate 46.6, Potassium citrate, tri-potassium, monohydrate 28, Magnesium oxide 24, Ferric citrate 6.06, Zinc carbonate 1.65, Manganous carbonate 0.63, Cupric carbonate 0.3, Potassium iodate 0.01, Sodium selenate, anhydrous 0.01025, Ammonium paramolybdate, 4 hydrate 0.00795, Sodium meta-silicate, 9 hydrate 1.45, Chromium potassium sulfate, 12 hydrate 0.275, Boric acid 0.0815, Sodium fluoride 0.0635, Nickel carbonate 0.0318, Lithium chloride 0.0174, Ammonium vanadate 0.0066, Powdered sucrose 209.806,

3) AIN-93M vitamin mixture (mg/kg mixture)<sup>35)</sup>: Nicotinic acid 3,000, Calcium Pantothenate 1,600, Pyridoxine-HCl 700, Thiamin-HCl 600, Riboflavin 600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Cyanocobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) 2,500, Vitamin A (all-trans-retinyl palmitate) (500,000 I.U./g) 800, Vitamin D<sub>3</sub> (Cholecalciferol) (400,000 I.U./G) 250, Vitamin E (all-rac-α-tocopheryl acetate) (500 I.U./G) 1,500, Vitamin K (phyll-quinone) 75, Powdered sucrose 974.655 g

4) Contents of total flavonoids, beta-carotene, vitamin C, vitamin E and dietary fiber in grape powders (/kg diet)<sup>36)</sup>

- Total flavonoids (mg) W: 72.6 P: 110.4 J: 52.2
- Beta-carotene (µg) W: 152.8 P: 265.8 J: 34.0
- Vitamin C (mg) W: 12.0 P: 10.0 J: 11.8
- Vitamin E (α-T.E. µg) W: 1451.6 P: 2766.8 J: 358.4
- Total dietary fiber (mg) W: 3875.6 P: 6474.6 J: 864.6
- Soluble dietary fiber (mg) W: 411.2 P: 682.8 J: 630.4
- Insoluble dietary fiber (mg) W: 3464.4 P: 5791.6 J: 234.2

다가 Cd 분석에 이용하였다.

사육 기간이 종료된 실험 동물을 12시간 동안 절식시킨 뒤, diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 10 ml 주사기를 이용하여 heart puncture에 의해 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액 중 일부는 heparin (25000 IU/5 ml)이 들어있는 vial에 담아 -20°C에서 냉동 보관하였다가 Cd 분석에 이용하였고, 나머지는 heparin (25000 IU/5 ml)이 들어있는 원심분리관에 담아 ice bath에 20분간 방치시켰다가 2,800 rpm, 4°C에서 30분간 원심분리하여 혈장을 얻은 후 creatinine 분석 시까지 -70°C deep freezer에 보관하였다.

혈액 채취 즉시 실험 동물을 해부하여 간을 떼어내어 무게를 측정하고 바로 -70°C deep freezer에 보관하여 Cd과 metallothionein (MT) 측정에 사용하였다. 신장 역시 적출하여 무게를 측정하고 -70°C deep freezer에 보관하여 Cd과 MT 측정 시 이용하였다. 그밖에 비장, 부고환지방, 대퇴골을 떼어내어 무게를 측정하였으며, 대퇴골의 경우 오른쪽 뒷다리의 것을 적출하여 무게와 길이를 측정하고 -20°C에서 냉동 보관하였다.

시료 채취에 사용된 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 0.4% EDTA 용액으로 처리한 후에 탈 이온 증류수로 씻어서 사용하였다.

### 3. 골격의 밀도 측정

골격의 밀도를 측정하기 위하여 대퇴골을 적출하여 부피를 측정하였다. 뼈의 부피는 Archimedes의 원리에 의해 측정하였는데, 증류수가 담긴 비이커를 Mettler balance의 weighing pan 위에 놓고 한쪽 끝이 구부러진 철사를 천정으로부터 매달았다. 그리고 물이 담긴 비이커에 철사가 잠긴 상태에서 뼈를 얹고 물 속에서의 뼈의 무게를 재었다. 그 후 뼈의 물기를 티슈로 빨아들여 weighing pan 위에 놓고 1분 후에 무게를 재어 공기 중에서의 무게로 사용하였다. 뼈의 부피 (cm<sup>3</sup>)는 뼈의 공기 중의 무게 (mg)에서 물 속에서의 무게 (mg)를 뺀 값을 실온에서의 물의 밀도 (1)로 나누어서 계산하였고, 뼈의 밀도 (mg/cm<sup>3</sup>)는 뼈의 공기 중의 무게 (mg)를 뼈의 부피 (cm<sup>3</sup>)로 나눈 값으로 하였다.<sup>29)</sup>

### 4. 시료 중 Cd 농도, metallothionein, creatinine 농도 분석

혈액 내 Cd 농도는 냉동 보관하였던 혈액을 취하여 Zinterhofer법<sup>30)</sup>에 의해 atomic absorption spectro-photometer (AAS, Perkin-Elmer Co. Model 2380)로 측정하였다.

뇨의 Cd 농도는 냉동 보관하였던 뇨를 3N HCl과 3N NaOH를 사용하여 pH를 5.5로 맞춘 뒤, Zinterhofer법에

의하여 측정하였다.

간, 신장, 변의 Cd 농도는 냉동 보관하였던 시료를 취하여 110°C drying oven에서 향량이 될 때까지 건조시켜서 550°C muffle furnace에서 24시간 동안 회화시켜, 온도를 약간 높인 (50~60°C) hot plate 위에서 농질산 1 ml로 녹인 후 1N HCl 15 ml로 희석하여 Yeager법<sup>31)</sup>에 의하여 농도를 측정하였다.

간, 신장의 MT 농도는 Cadmium/hemoglobin affinity assay 방법<sup>32-34)</sup>을 이용하여 측정하였다. 먼저 간은 1 g, 신장은 0.5 g을 취하여 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4, 4°C)로 균질화한 후 4°C를 유지하며 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이를 boiling water bath에서 2분간 가열하고 식힌 후 다시 4°C를 유지하며 10,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 cytosol을 얻었다. 여기에 0.26 mM의 CdCl<sub>2</sub> 용액을 0.2 ml 첨가하고 수분간 방치시켜 MT를 Cd으로 saturation 시킨 후, 여기에 RBC hemolysate를 첨가하였다. 이를 boiling water bath에서 2분간 가열하여 식히고 10,000 rpm에서 2분간 원심분리한 후, 반복하여 열처리와 원심분리를 행하였다. 이 과정에 의하여 과량의 Cd과 MT 이외의 기타 단백질에 붙은 Cd을 제거한 후, AAS로 cytosol 내의 Cd 농도를 측정하였다. 각 조직의 MT 농도는 7 atoms의 Cd이 분자량이 6050인 thionein 1 mole에 결합한다는 가정 하에 계산하였다.<sup>35)</sup>

혈청과 뇨의 creatinine 농도 측정은 Jaffe 반응의 변형법<sup>36)</sup>을 이용한 kit (영동제약)을 사용하였다. Creatinine clearance (glomerular filtration rate, ml/min)는 뇨와 혈청의 creatinine 농도로부터 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$Ccr \text{ (ml/min)} = \frac{Ucr \text{ (mg/day)}}{Pcr \text{ (mg/ml)} \times 1440 \text{ (min/day)}}$$

단, Ccr : Creatinine clearance (ml/min)

Ucr : 하루 소변 내 creatinine 배설량 (mg/day)

Pcr : 혈청 내 creatinine 농도 (mg/ml)

1440 = 24 hr × 60 min (min/day)

### 5. 통계 처리

본 연구의 동물사육 실험결과는 각각의 실험군당 평균과 표준 오차를 계산하였고, 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance)을 한 후 Duncan's multiple range test에 의하여  $\alpha = 0.05$  수준에서 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다. 또한 각 실험인자인 포도 식이의 종류와 Cd의 공급 여부의 영향과 이 두 가지 인자들의 상호 작용에 의한 영향은  $\alpha = 0.05$  수준에서 이원배치 분산분석 (two-

way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다. 또한 포도 식이의 종류, Cd 공급 여부, 연령이 미치는 영향과 각각의 상호 작용은 삼원배치 분산분석 (three-way analysis of variance)으로 유의성을 검정하였다.

## 실험결과

### 1. 실험 동물의 성장

#### 1) 식이 섭취량 및 체중 증가량

실험 동물의 하루평균 식이섭취량은 Table 2와 같았다. 이를 월령별로 살펴보면, 16 월령군에서는 포도 식이나 cadmium (Cd) 공급에 의한 유의적 차이가 나타나지 않았지

만 18 월령군에서 식이 효과가 나타나 포도 식이 섭취군이 각각의 대조군에 비하여 섭취량이 높았다. 한편 20 월령군에서는 포도 식이나 Cd 공급에 의한 유의적 차이는 보이지 않았다. 전체적으로 보았을 때 포도 식이나 Cd 공급으로 인한 유의적 차이는 볼 수 없었으나, 가령에 따라 점차 식이 섭취량이 감소되는 경향이 나타남을 알 수 있었다.

실험 동물의 실험기간 동안의 체중 변화는 Table 3과 같았다. 각 월령별로 살펴보면, 16 월령군에서는 Cd 비공급 군들의 경우 포도준군을 제외한 실험군들이 대조군에 비하여 체중 증가량이 유의적으로 낮게 나타났으며, 한편 Cd 공급에 의한 영향을 받아 포도박군을 제외한 Cd 공급군들은 체중이 감소된 것을 볼 수 있었다. 18 월령군의 경우 포도 식

**Table 2.** Food intake in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>

Group <sup>2)</sup> \ Age	16 month (g/day)	18 month (g/day)	20 month (g/day)
C (-)	22.8 ± 0.91 <sup>a3)</sup>	19.3 ± 0.65 <sup>bc</sup>	17.6 ± 0.58 <sup>45,6)</sup>
W (-)	20.1 ± 0.48 <sup>ab</sup>	23.1 ± 1.17 <sup>a</sup>	18.3 ± 0.95
P (-)	19.3 ± 1.88 <sup>ab</sup>	20.0 ± 0.48 <sup>abc</sup>	18.1 ± 0.64
J (-)	21.2 ± 1.36 <sup>ab</sup>	17.3 ± 1.04 <sup>c</sup>	19.4 ± 0.89
C (+)	19.7 ± 0.56 <sup>ab</sup>	18.4 ± 1.17 <sup>c</sup>	17.7 ± 0.51
W (+)	18.4 ± 1.06 <sup>b</sup>	19.1 ± 0.81 <sup>bc</sup>	17.9 ± 1.49
P (+)	20.9 ± 1.54 <sup>ab</sup>	22.1 ± 1.03 <sup>ab</sup>	17.8 ± 1.37
J (+)	23.0 ± 1.52 <sup>a</sup>	20.1 ± 1.73 <sup>abc</sup>	18.8 ± 1.92
Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>	-	A, A*B	-
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>		C, A*B, A*C	

1) Mean ± Standard Error (n = 5)

2) See table 1.

3) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

4) Statistical significance of experimental factors was calculated based on 2-way ANOVA. A: Effect of Grapes was significant at α = 0.05, B: Effect of Cd was significant at α=0.05, A\*B: Interaction of Grapes and Cd was significant at α = 0.05

5) Statistical significance of dietary factors was calculated based on 3-way ANOVA.

Significant factor notations used for 3-way ANOVA means as follows: A: Effect of Grapes was significant at α=0.05, B: Effect of Cd was significant at α = 0.05, C: Effect of Age was significant at α = 0.05, A\*B: Interaction of Grapes and Cd was significant at α = 0.05, A\*C: Interaction of Grapes and Age was significant at α = 0.05, B\*C: Interaction of Cd and Age was significant at α = 0.05, A\*B\*C: Interaction of Grapes, Cd and Age was significant at α = 0.05

6) Not significant at α = 0.05 by Duncan's multiple range test

**Table 3.** Body weight change in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>

Group <sup>2)</sup> \ Age	16 month (g/month)	18 month (g/month)	20 month (g/month)
C (-)	19.3 ± 7.30 <sup>a,3)</sup>	4.6 ± 2.95 <sup>ab</sup>	12.9 ± 3.24 <sup>ab</sup>
W (-)	2.5 ± 4.12 <sup>bc</sup>	24.4 ± 11.32 <sup>a</sup>	20.9 ± 9.64 <sup>a</sup>
P (-)	3.0 ± 5.42 <sup>bc</sup>	1.6 ± 8.93 <sup>ab</sup>	11.2 ± 7.74 <sup>ab</sup>
J (-)	14.6 ± 3.18 <sup>ab</sup>	-4.5 ± 8.35 <sup>bc</sup>	9.2 ± 8.27 <sup>bc</sup>
C (+)	-4.1 ± 3.33 <sup>c</sup>	-10.0 ± 5.14 <sup>bc</sup>	-10.7 ± 8.99 <sup>b</sup>
W (+)	-0.6 ± 3.74 <sup>c</sup>	-10.6 ± 1.97 <sup>bc</sup>	-13.5 ± 11.33 <sup>b</sup>
P (+)	2.1 ± 4.84 <sup>bc</sup>	-5.0 ± 12.30 <sup>bc</sup>	-12.1 ± 4.02 <sup>b</sup>
J (+)	-7.2 ± 2.59 <sup>c</sup>	-28.8 ± 6.67 <sup>c</sup>	-14.7 ± 5.94 <sup>b</sup>
Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>	B, A*B	B	B
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>		B	

1-5) See Table 2

이 효과는 유의적으로 나타나지 않았지만, 16 월령군과 마찬가지로 Cd 공급에 의한 영향을 받아 Cd 공급군들의 경우 음의 체중 증가율을 보였다. 20 월령군에서도 마찬가지로 포도 식이에 의한 영향은 유의적으로 나타나지 않았으나 Cd 공급으로 인한 영향은 드러나, 모든 실험군이 양의 체중 증가율을 보인 Cd 비공급군들에 비해 Cd 공급군들은 모두 음의 체중 증가율을 보였다.

2) 장기 무게

실험 동물의 간, 신장, 비장, 부고환 지방의 무게는 Table 4 와 같았다. 간의 무게는 포도 식이 섭취군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 Cd 공급 유무의 영향을 받아 Cd 공급군이 Cd 비공급군에 비해 낮은 경향을 나타내었다. 비장, 신장의 경우에는 전반적으로 월령이 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었으나 각각의 월령군에서 포도 식이나,

Cd 공급 유무에 따른 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 한편 부고환 지방은 20 월령군의 경우 포도 식이 공급의 영향을 받아 포도 식이 실험군들이 대조군보다 대체적으로 낮은 경향을 나타내었으며, Cd 공급 유무의 영향으로 인해 모든 월령군에 걸쳐 Cd 공급군들이 Cd 비공급군들보다 낮음을 볼 수 있었다.

2. Cadmium의 중독과 대사

1) 혈액과 간, 신장의 cadmium 농도

혈액 등 각 조직의 Cd 농도를 측정할 결과는 Table 5, 6 및 Table 7에 제시하였다.

혈액의 Cd 농도는 Cd 공급으로 유의적으로 증가하였으며 포도 식이 종류에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았으나 대체로 포도 식이 섭취군들에서 대조군에 비해 Cd 수

Table 4. Organ and tissue weights in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup> (unit: g)

Age	Group <sup>2)</sup>	Liver	Kidney	Spleen	EFP	
16 month	C (-)	13.5 ± 0.83 <sup>ab,3)</sup>	3.3 ± 0.15 <sup>NS,6)</sup>	1.0 ± 0.10 <sup>ab</sup>	12.1 ± 2.42 <sup>a</sup>	
	W (-)	13.0 ± 0.41 <sup>ab</sup>	3.3 ± 0.09	0.8 ± 0.04 <sup>b</sup>	7.5 ± 0.60 <sup>b</sup>	
	P (-)	12.8 ± 0.70 <sup>ab</sup>	3.1 ± 0.23	0.9 ± 0.08 <sup>ab</sup>	9.4 ± 1.71 <sup>ab</sup>	
	J (-)	14.6 ± 0.84 <sup>a</sup>	3.6 ± 0.14	1.0 ± 0.07 <sup>a</sup>	8.8 ± 1.42 <sup>ab</sup>	
	C (+)	12.2 ± 0.84 <sup>b</sup>	3.3 ± 0.23	0.8 ± 0.03 <sup>ab</sup>	6.8 ± 0.81 <sup>b</sup>	
	W (+)	13.3 ± 0.43 <sup>ab</sup>	3.3 ± 0.15	0.9 ± 0.05 <sup>ab</sup>	7.9 ± 0.52 <sup>b</sup>	
	P (+)	12.7 ± 0.88 <sup>ab</sup>	3.3 ± 0.23	0.9 ± 0.07 <sup>ab</sup>	6.9 ± 1.10 <sup>b</sup>	
	J (+)	14.4 ± 0.39 <sup>ab</sup>	3.2 ± 0.27	0.9 ± 0.08 <sup>ab</sup>	5.7 ± 1.03 <sup>b</sup>	
	Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>		-	-	-	B
	18 month	C (-)	14.2 ± 0.58 <sup>ab</sup>	3.4 ± 0.26 <sup>NS</sup>	1.3 ± 0.20 <sup>a</sup>	14.0 ± 1.43 <sup>a</sup>
W (-)		14.6 ± 0.56 <sup>a</sup>	3.6 ± 0.09	1.0 ± 0.10 <sup>ab</sup>	14.9 ± 1.22 <sup>a</sup>	
P (-)		14.1 ± 0.84 <sup>ab</sup>	3.4 ± 0.23	1.0 ± 0.10 <sup>ab</sup>	12.3 ± 1.00 <sup>a</sup>	
J (-)		12.8 ± 0.88 <sup>ab</sup>	3.4 ± 0.21	1.0 ± 0.04 <sup>ab</sup>	11.5 ± 0.85 <sup>ab</sup>	
C (+)		12.5 ± 0.60 <sup>ab</sup>	3.3 ± 0.21	1.0 ± 0.08 <sup>ab</sup>	8.6 ± 1.30 <sup>bc</sup>	
W (+)		12.2 ± 1.02 <sup>b</sup>	3.2 ± 0.23	1.0 ± 0.03 <sup>ab</sup>	8.5 ± 1.19 <sup>bc</sup>	
P (+)		12.9 ± 0.35 <sup>ab</sup>	3.6 ± 0.12	1.0 ± 0.04 <sup>b</sup>	7.4 ± 1.01 <sup>c</sup>	
J (+)		12.3 ± 0.82 <sup>ab</sup>	3.1 ± 0.20	0.9 ± 0.10 <sup>b</sup>	7.9 ± 1.26 <sup>bc</sup>	
Significant factor (2-way)		-	-	-	B	
20 month		C (-)	13.4 ± 0.95 <sup>NS</sup>	3.7 ± 0.11 <sup>NS</sup>	0.9 ± 0.09 <sup>NS</sup>	12.8 ± 3.04 <sup>ab</sup>
	W (-)	14.2 ± 1.03	3.4 ± 0.28	1.2 ± 0.09	8.3 ± 1.31 <sup>bc</sup>	
	P (-)	15.1 ± 0.34	4.0 ± 0.25	1.3 ± 0.16	11.5 ± 0.77 <sup>abc</sup>	
	J (-)	14.8 ± 1.05	3.5 ± 0.31	1.0 ± 0.08	15.1 ± 1.96 <sup>a</sup>	
	C (+)	12.6 ± 0.82	3.5 ± 0.20	0.9 ± 0.08	9.3 ± 1.42 <sup>bc</sup>	
	W (+)	13.9 ± 0.51	3.6 ± 0.29	1.2 ± 0.17	7.0 ± 0.92 <sup>bc</sup>	
	P (+)	13.5 ± 0.82	3.4 ± 0.28	1.0 ± 0.10	8.7 ± 1.20 <sup>c</sup>	
	J (+)	13.2 ± 0.45	3.5 ± 0.15	1.0 ± 0.13	7.5 ± 1.03 <sup>bc</sup>	
	Significant factor (2-way)		-	-	-	A, B, A*B
	Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>		B	C	C	B, C, A*C, A*B*C

1-5) See Table 2

6) Not significant at a = 0.05 by Duncan's multiple range test

준이 낮았는데, 특히 포도박을 섭취한 군들의 Cd 수준이 가장 낮았다. 또한 Cd 공급군들에서 실험동물의 월령이 증가함에 따라 혈액 내 Cd 수준이 증가하였다.

간의 Cd 농도는 Cd 공급여부와 포도 식이의 종류의 영향이 유의적인 것으로 나타났다. Cadmium 공급군들이 비공급군들보다 유의적으로 높았으며, Cd 비공급군들에게서

**Table 5.** Blood cadmium concentrations in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>  
(unit:  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ )

Group <sup>2)</sup>	Age		
	16 month	18 month	20 month
C (-)	3.77 $\pm$ 0.21 <sup>c,3)</sup>	3.83 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	4.28 $\pm$ 0.24 <sup>c</sup>
W (-)	2.97 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	3.13 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	2.86 $\pm$ 0.18 <sup>c</sup>
P (-)	1.41 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	1.82 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	1.97 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>
J (-)	2.44 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	2.85 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	2.49 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
C (+)	26.19 $\pm$ 6.94 <sup>a</sup>	34.86 $\pm$ 4.06 <sup>a</sup>	38.64 $\pm$ 2.75 <sup>a</sup>
W (+)	21.35 $\pm$ 1.38 <sup>ab</sup>	30.58 $\pm$ 2.82 <sup>ab</sup>	41.29 $\pm$ 5.18 <sup>a</sup>
P (+)	18.08 $\pm$ 2.16 <sup>b</sup>	26.87 $\pm$ 2.50 <sup>b</sup>	33.39 $\pm$ 3.91 <sup>b</sup>
J (+)	23.67 $\pm$ 3.48 <sup>a</sup>	31.44 $\pm$ 7.66 <sup>A</sup>	36.91 $\pm$ 6.15 <sup>b</sup>
Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>			
	B	B	B
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>			
		B, C, A*B, B*C	

1-5) See Table 2

**Table 6.** Liver cadmium concentrations in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>  
(unit:  $\mu\text{g}/\text{g wet wt.}$ )

Group <sup>2)</sup>	Age		
	16 month	18 month	20 month
C (-)	0.65 $\pm$ 0.04 <sup>c,3)</sup>	0.82 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	1.08 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
W (-)	0.57 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	0.64 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.73 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
P (-)	0.48 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	0.51 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>
J (-)	0.63 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	0.78 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.81 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>
C (+)	59.95 $\pm$ 3.60 <sup>a</sup>	70.91 $\pm$ 4.09 <sup>a</sup>	78.83 $\pm$ 6.18 <sup>a</sup>
W (+)	52.38 $\pm$ 5.13 <sup>a</sup>	62.19 $\pm$ 5.43 <sup>b</sup>	67.21 $\pm$ 4.88 <sup>ab</sup>
P (+)	42.36 $\pm$ 4.60 <sup>b</sup>	45.17 $\pm$ 8.66 <sup>bc</sup>	50.84 $\pm$ 6.07 <sup>b</sup>
J (+)	47.67 $\pm$ 5.02 <sup>b</sup>	51.64 $\pm$ 4.61 <sup>b</sup>	69.38 $\pm$ 5.97 <sup>bc</sup>
Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>			
	B	A, B, A*B	A, B, A*B
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>			
		B, C, A*B, B*C	

1-5) See Table 2

**Table 7.** Renal cadmium concentrations in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>  
(unit:  $\mu\text{g}/\text{g wet wt.}$ )

Group <sup>2)</sup>	Age		
	16 month	18 month	20 month
C (-)	1.98 $\pm$ 0.10 <sup>d,3)</sup>	1.59 $\pm$ 0.16 <sup>d</sup>	2.27 $\pm$ 0.52 <sup>c</sup>
W (-)	1.04 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	1.26 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>	1.32 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>
P (-)	0.87 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	0.75 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	0.99 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
J (-)	0.97 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	1.21 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	1.18 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>
C (+)	57.23 $\pm$ 7.06 <sup>a</sup>	71.38 $\pm$ 4.64 <sup>a</sup>	79.62 $\pm$ 7.09 <sup>a</sup>
W (+)	49.39 $\pm$ 1.94 <sup>b</sup>	58.26 $\pm$ 8.53 <sup>b</sup>	70.84 $\pm$ 5.22 <sup>a</sup>
P (+)	40.31 $\pm$ 8.42 <sup>c</sup>	43.07 $\pm$ 4.60 <sup>bc</sup>	46.21 $\pm$ 8.18 <sup>b</sup>
J (+)	48.39 $\pm$ 3.18 <sup>b</sup>	47.74 $\pm$ 6.79 <sup>bc</sup>	65.66 $\pm$ 7.95 <sup>ab</sup>
Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>			
	B	B	A, B
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>			
		A, B, C, A*C, B*C	

1-5) See Table 2

는 포도 식이 종류에 따른 유의적인 차이는 없었으나 Cd 공급군들에서는 다른 군들에 비해 포도박군의 Cd 농도가 낮았다. 또한 Cd 공급군들에서 실험동물의 월령이 증가함에 따라 Cd 수준이 증가하였다.

신장의 Cd 농도 역시 Cd 공급으로 인하여 유의적으로 증가하였고 포도식이 종류의 효과가 유의적으로 나타나서 대조군의 Cd 농도값에 비하여 포도 식이 섭취군들이 낮았으며, 특히 포도박군에게서 Cd 농도 수치가 대조군의 63%로 가장 낮게 나타났다. 혈액과 간에서와 같이 신장에서도 Cd 공급군들의 경우 Cd의 농도가 월령이 증가함에 따라 증가하였다.

## 2) 변의 무게, 뇨와 변의 cadmium 배설량과 cadmium 보유율

Tube feeding에 의해 동량의 Cd를 공급하는 동안 채취한 뇨와 변 중의 Cd 배설량 및 변의 무게는 Table 8에 제

시하였다. 변의 무게는 Cd 공급 유무와 포도 식이에 따른 아무런 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

뇨를 통한 Cd 배설량은 Cd 공급의 영향으로 Cd 공급군들이 비공급군들보다 유의적으로 높았고, 특히 Cd 공급군들에서 대조군이 포도 식이 섭취군들보다 낮았으며, 월령이 증가할수록 뇨의 Cd 농도도 증가하는 경향을 나타내었다.

변의 Cd 배설량은 식이 내 Cd 공급의 영향을 받아 Cd 공급군들이 비공급군들보다 현저하게 높았는데, Cd 공급군들 중 포도박군이 가장 높은 경향을 보였고 그 다음으로 총포도군이 높았다.

뇨와 변으로의 Cd 배설량으로부터 구한 Cd 보유율은 포도 식이 종류의 영향을 받아 포도 식이 섭취군들이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았고 그중 포도박군의 Cd 보유율이 가장 낮았으며 다음으로 총포도군, 포도즙군의 순이었다.

**Table 8.** Feces weight, urinary and fecal Cd excretions, and Cd retention ratio in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>

Age	Group <sup>2)</sup>	Feces weight (g dry wt/2 days)	Urinary Cd ( $\mu$ g/day)	Fecal Cd ( $\mu$ g/day)	Cd retention ratio (%)
16 mo	C (-)	1.2 $\pm$ 1.24 <sup>ns</sup>	0.09 $\pm$ 0.02 <sup>b3)</sup>	1.37 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	- <sup>7)</sup>
	W (-)	1.3 $\pm$ 0.28	0.08 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	1.50 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	-
	P (-)	1.5 $\pm$ 0.20	0.06 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.98 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	-
	J (-)	1.0 $\pm$ 0.14	0.08 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.14 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	-
	C (+)	1.1 $\pm$ 0.09	5.83 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	296 $\pm$ 5.49 <sup>b</sup>	75.12 $\pm$ 1.51 <sup>a</sup>
	W (+)	1.3 $\pm$ 0.13	5.98 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	518 $\pm$ 14.27 <sup>a</sup>	57.23 $\pm$ 0.94 <sup>b</sup>
	P (+)	1.1 $\pm$ 0.12	8.30 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	534 $\pm$ 13.94 <sup>a</sup>	55.89 $\pm$ 0.69 <sup>b</sup>
	J (+)	0.9 $\pm$ 0.07	8.29 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	493 $\pm$ 10.27 <sup>a</sup>	59.08 $\pm$ 0.72 <sup>b</sup>
	Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>		-	B	B
18 mo	C (-)	1.2 $\pm$ 0.27 <sup>ns</sup>	0.11 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	1.24 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	-
	W (-)	0.9 $\pm$ 0.14	0.06 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.39 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	-
	P (-)	0.9 $\pm$ 0.23	0.07 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	2.06 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	-
	J (-)	0.8 $\pm$ 0.21	0.06 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.07 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	-
	C (+)	1.0 $\pm$ 0.27	10.42 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>	350 $\pm$ 8.19 <sup>bc</sup>	70.25 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>
	W (+)	1.2 $\pm$ 0.08	11.12 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup>	498 $\pm$ 12.41 <sup>b</sup>	58.44 $\pm$ 1.06 <sup>b</sup>
	P (+)	1.0 $\pm$ 0.21	14.83 $\pm$ 0.59 <sup>ab</sup>	617 $\pm$ 16.10 <sup>a</sup>	48.75 $\pm$ 0.95 <sup>b</sup>
	J (+)	0.9 $\pm$ 0.32	12.37 $\pm$ 1.28 <sup>a</sup>	482 $\pm$ 9.27 <sup>b</sup>	59.64 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>
	Significant factor (2-way)		-	B	B
20 mo	C (-)	1.3 $\pm$ 0.23 <sup>ns</sup>	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.67 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	-
	W (-)	1.3 $\pm$ 0.37	0.08 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.34 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	-
	P (-)	1.5 $\pm$ 0.25	0.05 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.87 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	-
	J (-)	1.6 $\pm$ 0.29	0.07 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	1.20 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	-
	C (+)	1.3 $\pm$ 0.15	12.96 $\pm$ 1.34 <sup>a</sup>	324 $\pm$ 5.18 <sup>ab</sup>	72.00 $\pm$ 1.34 <sup>a</sup>
	W (+)	1.5 $\pm$ 0.19	14.89 $\pm$ 1.08 <sup>ab</sup>	483 $\pm$ 14.97 <sup>a</sup>	59.36 $\pm$ 0.57 <sup>b</sup>
	P (+)	1.3 $\pm$ 0.16	18.35 $\pm$ 0.64 <sup>ab</sup>	512 $\pm$ 8.34 <sup>a</sup>	57.19 $\pm$ 0.91 <sup>b</sup>
	J (+)	1.1 $\pm$ 0.12	13.80 $\pm$ 1.46 <sup>ab</sup>	470 $\pm$ 11.08 <sup>a</sup>	60.51 $\pm$ 0.83 <sup>b</sup>
	Significant factor (2-way)		-	B	B
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>		-	B, C, B*C	B	A

1-5) See Table 2

6) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test. 7) Cadmium-non-exposed group



3) 간, 신장의 metallothionein 농도

간과 신장의 MT 농도는 Table 9와 Table 10에 제시하였다.

전체적으로 보았을 때 간의 MT 농도는 Cd를 공급한 군들에서 유의적으로 높았고, 16 월령군의 경우 포도 식이 공급에 따른 유의적인 차이는 없었으나 18 월령군에서 유의적인 차이를 보여 총포도군이 대조군에 비하여 18% 낮았다. 20 월령군에서는 포도 식이 공급과 Cd 공급 유무에 의한 상호작용이 나타나서 Cd 비공급군에서는 포도 식이 섭취군들이 높았으며 Cd 공급군들에서는 포도 식이 섭취군들이 낮게 나타났다. Cadmium 공급군의 경우 동물의 월령이 높아지면서 MT의 수준이 높아지는 경향을 나타내었고, 대조군이 포도 식이 섭취군들에 비해 대체적으로 높은 경향을 보였다.

신장의 MT 농도는 Cd를 공급한 군들에서 유의적으로 높은 수준을 보였고 포도 식이 종류에 따른 차이는 16 월령군에서 나타나 포도박 군의 경우 다른 포도 식이 섭취군들에 비하여 높게 나타나는 경향을 볼 수 있었다. 월령의

증가에 따른 영향을 보면 16 월령군에 비하여 18 월령군에서 증가되었으나 18 월령군과 20 월령군 간에는 차이가 나타나지 않았다.

4) 대퇴골의 무게, 길이 및 골밀도

사육 기간이 끝난 후에 채취한 대퇴골의 무게, 길이 및 골밀도에 대한 결과를 Table 11에 제시하였다.

대퇴골의 무게는 16 월령군의 경우 군간에 유의적인 차이를 볼 수 없었으나 18 월령군 및 20 월령군들은 Cd의 공급에 의한 영향을 받아 Cd 공급군들이 비공급군에 비하여 감소되었다. 20 월령군에서는 포도섭취의 영향이 있어 포도박을 섭취한 군이 다른 포도 식이 섭취군들에 비하여 무게가 낮은 경향을 보였으며, 월령 증가에 따라서는 감소되는 경향이 있었다. 대퇴골 길이의 경우에는 포도 식이의 공급 및 Cd 공급 유무에 따른 아무런 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

골밀도는 16 월령군에서 총포도를 섭취한 군에서 유의적으로 높게 나타났으며, Cd 공급 유무에 따른 차이는 18 월

Table 9. Liver metallothionein concentrations in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>

Group <sup>2)</sup> \ Age	16 month (μg/g wet wt.)	18 month (μg/g wet wt.)	20 month (μg/g wet wt.)
C (-)	5.8 ± 1.41 <sup>c,3)</sup>	8.9 ± 2.39 <sup>c</sup>	5.31 ± 0.95 <sup>b</sup>
W (-)	7.3 ± 1.64 <sup>c</sup>	10.2 ± 0.57 <sup>c</sup>	9.15 ± 2.01 <sup>b</sup>
P (-)	8.8 ± 1.15 <sup>c</sup>	16.9 ± 1.71 <sup>c</sup>	9.8 ± 3.85 <sup>b</sup>
J (-)	5.2 ± 0.99 <sup>c</sup>	12.3 ± 2.51 <sup>c</sup>	6.4 ± 0.12 <sup>b</sup>
C (+)	87.1 ± 2.36 <sup>ab</sup>	117.7 ± 1.72 <sup>a</sup>	123.2 ± 2.20 <sup>a</sup>
W (+)	91.9 ± 5.02 <sup>a</sup>	95.3 ± 11.20 <sup>b</sup>	118.9 ± 2.38 <sup>a</sup>
P (+)	83.1 ± 2.93 <sup>b</sup>	104.9 ± 1.44 <sup>ab</sup>	117.5 ± 3.32 <sup>a</sup>
J (+)	86.9 ± 4.28 <sup>ab</sup>	110.1 ± 4.01 <sup>a</sup>	116.6 ± 1.97 <sup>a</sup>
Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>	B	A, B	B, A*B
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>		B, C, A*C, B*C, A*B	

1-5) See Table 2

Table 10. Renal metallothionein concentrations in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>

Group <sup>2)</sup> \ Age	16 month (μg/g wet wt.)	18 month (μg/g wet wt.)	20 month (μg/g wet wt.)
C (-)	4.3 ± 2.24 <sup>b,3)</sup>	4.4 ± 0.53 <sup>b</sup>	4.2 ± 0.15 <sup>b</sup>
W (-)	5.2 ± 0.31 <sup>b</sup>	5.6 ± 0.89 <sup>b</sup>	4.8 ± 0.19 <sup>b</sup>
P (-)	5.9 ± 0.22 <sup>b</sup>	5.6 ± 0.42 <sup>b</sup>	4.9 ± 0.35 <sup>b</sup>
J (-)	5.8 ± 0.43 <sup>b</sup>	4.4 ± 0.30 <sup>b</sup>	6.7 ± 0.88 <sup>b</sup>
C (+)	29.7 ± 1.13 <sup>a</sup>	41.8 ± 0.33 <sup>a</sup>	40.7 ± 2.88 <sup>a</sup>
W (+)	33.2 ± 2.01 <sup>a</sup>	41.3 ± 0.82 <sup>a</sup>	42.0 ± 1.67 <sup>a</sup>
P (+)	38.3 ± 2.48 <sup>a</sup>	43.4 ± 1.55 <sup>a</sup>	42.2 ± 0.79 <sup>a</sup>
J (+)	31.1 ± 2.40 <sup>a</sup>	42.4 ± 2.24 <sup>a</sup>	42.1 ± 1.84 <sup>a</sup>
Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>	A, B, A*B	B	B
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>		A, B, C, A*C, B*C, A*B*C	

1-5) See Table 2

**Table 11.** Bone weight, density and length of femur in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>

Age	Group <sup>2)</sup>	Wet weight (mg)	Length (mm)	Density
16 month	C (-)	1104.0 ± 0.03 <sup>b,3)</sup>	42.4 ± 0.52 <sup>NS,6)</sup>	50.9 ± 13.60 <sup>bc</sup>
	W (-)	1188.0 ± 0.03 <sup>ab</sup>	43.0 ± 0.42	90.7 ± 10.19 <sup>a</sup>
	P (-)	1054.0 ± 0.02 <sup>b</sup>	42.3 ± 0.14	49.1 ± 10.62 <sup>bc</sup>
	J (-)	1130.0 ± 0.05 <sup>b</sup>	42.9 ± 0.24	50.8 ± 13.83 <sup>bc</sup>
	C (+)	1095.0 ± 0.08 <sup>b</sup>	42.5 ± 0.76	43.3 ± 5.99 <sup>bc</sup>
	W (+)	1082.0 ± 0.06 <sup>b</sup>	42.8 ± 0.41	83.1 ± 10.46 <sup>ab</sup>
	P (+)	1088.0 ± 0.06 <sup>b</sup>	42.3 ± 0.41	53.0 ± 10.39 <sup>bc</sup>
	J (+)	1367.5 ± 0.21 <sup>a</sup>	41.6 ± 1.38	66.8 ± 18.34 <sup>abc</sup>
	Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>		-	-
18 month	C (-)	991.7 ± 0.06 <sup>ab</sup>	42.8 ± 0.59 <sup>NS</sup>	72.5 ± 13.19 <sup>ab</sup>
	W (-)	1010.0 ± 0.05 <sup>ab</sup>	43.1 ± 0.86	78.4 ± 16.35 <sup>a</sup>
	P (-)	1036.0 ± 0.03 <sup>a</sup>	43.2 ± 0.21	61.9 ± 16.06 <sup>abc</sup>
	J (-)	944.0 ± 0.03 <sup>abc</sup>	42.6 ± 0.40	51.5 ± 3.95 <sup>abc</sup>
	C (+)	892.5 ± 0.02 <sup>bc</sup>	42.5 ± 0.44	33.7 ± 10.82 <sup>bc</sup>
	W (+)	940.0 ± 0.02 <sup>abc</sup>	42.7 ± 0.50	51.5 ± 9.53 <sup>abc</sup>
	P (+)	915.0 ± 0.02 <sup>abc</sup>	41.7 ± 0.38	48.6 ± 10.82 <sup>abc</sup>
	J (+)	836.0 ± 0.04 <sup>c</sup>	42.2 ± 0.71	31.5 ± 8.99 <sup>c</sup>
	Significant factor (2-way)		B	-
20 month	C (-)	1016.0 ± 0.04 <sup>a</sup>	42.5 ± 0.31 <sup>NS</sup>	81.1 ± 9.58 <sup>a</sup>
	W (-)	962.0 ± 0.04 <sup>ab</sup>	43.1 ± 0.54	64.1 ± 12.31 <sup>abc</sup>
	P (-)	901.6 ± 0.03 <sup>ab</sup>	42.5 ± 0.51	61.2 ± 11.39 <sup>abc</sup>
	J (-)	1026.0 ± 0.06 <sup>a</sup>	42.1 ± 0.88	73.1 ± 12.40 <sup>ab</sup>
	C (+)	976.0 ± 0.04 <sup>ab</sup>	42.8 ± 0.37	31.9 ± 12.66 <sup>cd</sup>
	W (+)	890.0 ± 0.05 <sup>ab</sup>	42.7 ± 0.50	24.3 ± 1.61 <sup>d</sup>
	P (+)	866.7 ± 0.03 <sup>b</sup>	41.7 ± 0.57	47.3 ± 11.57 <sup>abcd</sup>
	J (+)	924.0 ± 0.04 <sup>ab</sup>	41.8 ± 0.80	31.4 ± 3.17 <sup>cd</sup>
	Significant factor (2-way)		A, B	-
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>		A, C, A*C, B*C	-	A, B, B*C

1-5) See Table 2

6) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test

령군과 20 월령군에서 나타나 Cd 공급군이 비공급군에 비하여 유의적으로 낮았다.

전반적으로 월령이 증가할수록 무게 및 골밀도는 감소하는 경향을 나타내었으며, 특히 Cd 공급군에게서 그 성향을 뚜렷하게 볼 수 있었는데, 이중 포도박 섭취군의 경우 다른 군들에 비하여 골밀도의 감소폭이 1/6로 비교적 적게 나타났다.

### 5) 사구체 여과율

본 연구에서는 혈청의 creatinine 농도, 뇨 creatinine 배설량을 측정해서 사구체 여과율을 계산하여 신장 기능의 변화여부를 알아보고 그 결과를 Table 12에 제시하였다.

뇨 creatinine을 살펴보면, 월령이 증가할수록 Cd 공급 여부에 영향을 받아 Cd 공급군의 뇨 creatinine이 점차 감소하는 경향을 나타내었으며, 이에 반해 혈청 creatinine은

월령이 증가할수록 Cd 공급 여부에 영향을 받아 Cd 공급군의 혈청 creatinine은 증가하는 경향을 보였다.

사구체 여과율(creatinine clearance, glomerular filtration rate, ml/min)은 16 월령군들의 경우 군간에 유의적인 차이를 볼 수 없었으나, 18 월령군에서는 Cd 공급의 영향이 있어 Cd 공급군들에서 낮아졌으며 이중 총포도군과 포도박군이 가장 낮았고 포도즙군이 높았다. 또한 20 월령군에서는 Cd 공급군들 중 대조군은 포도 식이 섭취군들에 비하여 낮았으며 포도 식이 섭취군들 중에는 포도즙군이 높았다. Cadmium 비공급군들에서 대조군은 월령에 따라 사구체 여과율이 감소되었다. 그러나 포도 식이 섭취군들은 대조군에 비해 뚜렷한 감소가 나타나지 않았으며 특히 포도박군은 사구체 여과율이 그대로 유지되는 것을 볼 수 있었다. Cadmium 공급군들에서는 대조군은 차츰 감소되었

**Table 12.** Urinary creatinine excretion, serum creatinine concentration and creatinine clearance in rats fed diets containing different parts of grapes with or without cadmium<sup>1)</sup>

Age	Group <sup>2)</sup>	Urinary creatinine (mg/day)	Serum creatinine (mg/100 ml)	Creatinine clearance (ml /min)
16 mo	C (-)	8.8 ± 0.68 <sup>a3)</sup>	0.50 ± 0.13 <sup>ab</sup>	1.48 ± 0.33 <sup>NSa)</sup>
	W (-)	8.2 ± 0.41 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.01 ± 0.05
	P (-)	8.6 ± 0.23 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.08 ± 0.09
	J (-)	9.3 ± 1.01 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.11
	C (+)	7.9 ± 0.82 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.59 ± 0.18
	W (+)	7.7 ± 0.59 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.04 <sup>ab</sup>	1.31 ± 0.15
	P (+)	8.3 ± 0.51 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.28 ± 0.09
	J (+)	3.8 ± 0.99 <sup>b</sup>	0.39 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.01 ± 0.24
	Significant factor (2-way) <sup>4)</sup>		A, B, A*B	B
18 mo	C (-)	7.1 ± 0.68 <sup>ab</sup>	0.53 ± 0.04 <sup>NS</sup>	0.97 ± 0.09 <sup>a</sup>
	W (-)	7.6 ± 0.42 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.05	0.99 ± 0.10 <sup>a</sup>
	P (-)	7.0 ± 0.25 <sup>ab</sup>	0.49 ± 0.04	1.03 ± 0.12 <sup>a</sup>
	J (-)	5.5 ± 1.01 <sup>b</sup>	0.46 ± 0.03	0.83 ± 0.08 <sup>a</sup>
	C (+)	5.9 ± 0.82 <sup>b</sup>	0.42 ± 0.05	1.03 ± 0.14 <sup>a</sup>
	W (+)	2.9 ± 0.59 <sup>c</sup>	0.52 ± 0.06	0.42 ± 0.11 <sup>b</sup>
	P (+)	3.2 ± 0.52 <sup>c</sup>	0.46 ± 0.03	0.49 ± 0.12 <sup>b</sup>
	J (+)	6.4 ± 0.79 <sup>ab</sup>	0.48 ± 0.03	0.96 ± 0.07 <sup>a</sup>
	Significant factor (2-way)		A, B, A*B	-
20 mo	C (-)	7.3 ± 0.42 <sup>ab</sup>	0.61 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.84 ± 0.11 <sup>abc</sup>
	W (-)	7.8 ± 0.33 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.85 ± 0.06 <sup>abc</sup>
	P (-)	7.9 ± 0.56 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.04 <sup>bc</sup>	1.19 ± 0.15 <sup>a</sup>
	J (-)	6.7 ± 0.55 <sup>ab</sup>	0.54 ± 0.04 <sup>abc</sup>	0.92 ± 0.08 <sup>abc</sup>
	C (+)	3.3 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.75 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.09 <sup>d</sup>
	W (+)	5.6 ± 0.49 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.11 <sup>ab</sup>	0.58 ± 0.07 <sup>cd</sup>
	P (+)	3.7 ± 0.57 <sup>c</sup>	0.55 ± 0.08 <sup>bc</sup>	0.79 ± 0.08 <sup>bc</sup>
	J (+)	3.3 ± 0.69 <sup>c</sup>	0.56 ± 0.05 <sup>bc</sup>	1.01 ± 0.16 <sup>ab</sup>
	Significant factor (2-way)		B	A, A*B
Significant factor (3-way) <sup>5)</sup>		A, C, A*B, A*C, A*B*C	A, B, C, A*C, B*C, A*B*C	A, B, A*C

1-5) See Table 2

6) Not significant at a = 0.05 by Duncan's multiple range test

으나, 포도 식이 섭취군들은 18 월령군에서 감소되었으나 20 월령군에서는 18 월령군들에 비해 큰 차이가 없었고 오히려 사구체 여과율이 완화되는 경향을 나타내었다.

## 고 찰

본 연구에서는 실험 동물의 가령에 따른 cadmium (Cd) 의 대사 및 증독현상을 살펴보고 포도의 부위별 섭취로 어떻게 달라질 수 있는지를 알아보기 위하여 생후 1년이 지난 흰쥐를 대상으로 포도 식이의 종류와 Cd 공급 여부를 달리하여 3, 5, 7개월 동안 사육하였다. 그리고 식이 섭취량, 체중 변화량 및 장기 무게, 대퇴골의 골밀도를 측정하였다. 또한 혈액 및 간, 신장의 Cd 농도와 뇨, 변으로의 Cd

배설량 및 Cd 보유율, 간·신장의 metallothionein (MT) 농도를 측정하였고, 신장 기능의 변화를 판단하기 위하여 사구체 여과율을 알아보았다.

식이 섭취량은 가령에 따라 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 Cd 공급과 포도 식이 섭취에 따른 식이 섭취의 변화는 뚜렷하게 보이지 않았다. 실험동물의 사육 기간 중 체중 변화는 실험 기간에 따른 차이는 없었으나 Cd 공급 여부에 따라 차이가 현저하게 나타나 Cd 공급군에서 체중 감소를 보였는데 이는 Cd를 동물에게 경구 투여하거나 피하 주사한 많은 연구에서 공통적으로 나타나는 증상이다.<sup>37,38)</sup> Cadmium이 성장을 저해하는 것은 Cd이 직접적으로 식이 섭취량을 감소시키거나 체내 영양소의 흡수 및 대사에 영향을 주어 식이 효율을 감소시키는 것으로 생각해

볼 수 있는데 본 연구의 경우에는 식이 섭취량에 차이가 없는 것으로 미루어 보아 후자인 영양소의 흡수 및 대사에 영향을 미친 결과로 판단된다.

장기와 조직의 무게를 살펴보면 Cd의 주요 대사 기관인 간의 경우 여러 연구<sup>39)</sup>에서와 같이 Cd 공급에 영향을 받아 각 월령에서 Cd 공급군들이 Cd 비공급군들 보다 다소 낮은 경향을 나타내었는데 이는 Cd 공급으로 인해 조직이 손상되었거나 실험 동물의 체중 감소에 따라 간 무게 역시 감소하였기 때문으로 보인다. 반면 비장과 신장의 무게는 Cd 공급 유무와 포도 식이 섭취에 따른 차이는 나타나지 않았으나 사육 기간에 따라 증가하는 경향이 있었다. 부고환 지방의 무게 역시 Cd 공급군들에서 낮게 나타났는데 이것은 Cd으로 인한 체중 감소에 따른 결과로 생각된다. 또한 Cd 공급군 중 대조군은 월령이 증가함에 따라 부고환 지방 무게가 증가하는 경향을 보였으나 포도 식이 섭취군은 각 월령군들 간에 큰 변화가 없어 포도 식이가 가령에 의한 부고환 지방의 축적을 억제하는 것으로 보인다.

식이 섬유는 Cd 등의 중금속 흡수를 억제하는 효과<sup>40-43)</sup>가 있는데, 여러 연구<sup>43,41,43)</sup>에서 식이 섬유의 Cd 흡수 억제 작용은 Cd과 결합하는 능력, 흡수 과정시 점도 등의 물리적 성질에 의한 저해 정도에 따라 그 효과가 달라진다고 보고하였다. 변으로의 Cd 배설량은 Cd을 첨가한 군들이 첨가하지 않은 군에 비하여 유의적으로 높았으며, 특히 soluble dietary fiber (SDF)를 포함한 식이 섬유의 함량이 가장 높은 포도박군이 높은 경향을 보였다. 포도즙의 경우 총포도보다 SDF 함량이 높았으나 포도 식이 섭취군들 중 가장 낮은 Cd 배설량을 보였는데, 이는 포도즙의 SDF 함량은 높지만 다른 포도 식이와 비교하였을 때 식이 섬유의 양이 워낙 적기 때문인 것으로 사료된다. 한편 변의 무게는 포도 식이를 섭취한 군들 중에서 특히 총포도군 및 포도박군이 비교적 높게 나타났는데, 이는 총포도와 포도박에 식이 섬유가 많이 함유되어 배변을 촉진시킨 것으로 생각된다. Cadmium 농도의 경우, 혈액, 간 및 신장의 Cd 농도는 Cd을 공급한 군들 중 대조군에서 가장 높게 나타났으며, 포도박 섭취군이 가장 낮게 나타났는데 이는 식이 섬유 함량이 가장 많은 포도박을 섭취한 군이 변을 통한 배설량을 높여 Cd 보유율이 낮아졌기 때문인 것으로 사료된다.

Cadmium은 체내에 들어와서 조직에 축적된 후에는 쉽게 배설되지 않을 뿐 아니라 생물학적 반감기가 길며 체내에서 free 상태의 reactive Cd이 sensitive site에 결합하여 독성을 일으키게 되는데, Cd을 non-toxic한 형태로 만드는 해독기전이 반드시 필요하다. 중금속이 체내에 유입되

었을 때 생리적 해독 작용을 담당한다고 알려진 metallothionein (MT)은 금속결합 단백질로서, 이는 7~12개의 금속 결합 부위를 가져서 여러 금속 이온의 대사를 조절한다. 이는 체내 Cd 양 자체를 감소시키는 것이 아니라 Cd과 결합하여 reactive intracellular Cd을 감소시킴으로 Cd의 해독작용을 한다고 한다.<sup>44-46)</sup> Metallothionein은 정상조건에서는 매우 낮은 농도로 존재하다가 Cd, Pb, Hg 등에 의해 합성이 촉진되어 여러 장기에서의 함량이 높아진다.<sup>9,47,48)</sup> 이때 MT-bound 형태의 Cd은 분해되지 않는 한 독성이 없으나 non-MT-bound 형태는 독성이 있다고 밝혀져 있다.<sup>47-49)</sup> Non-MT-bound 형태는 Cd이 세포 내로 유입되었으나 아직 MT가 유도 합성되지 못한 경우나, 유도될 수 있는 MT 양 이상의 Cd이 유입된 경우에 존재한다.

Cadmium은 소장에서 수동적으로 흡수되어 Cd에 의하여 유도합성된 MT와 결합하여 Cd-MT 형태로 장 세포 내에 격리되어 존재하다가 세포 교체 시 lumen으로 배설되거나 Cd-MT 형태 또는 Cd-albumin 형태로 혈액으로 방출되어 Cd-MT의 경우는 주로 신장으로 이동되고 Cd-albumin은 주로 간으로 이동된다.<sup>50)</sup> 간은 Cd의 영향을 받는 첫 번째 기관으로, 간세포는 MT 합성을 유도하는 혈중 glucocorticoid, cytokine, metal 등에 노출되어 있기 때문에 basal MT level이 높다. 한편, 간이나 소장으로부터 혈액으로 방출된 Cd-MT는 신장으로 이동하여 사구체에서 여과된 후 그 자체가 pinocytosis에 의해 세포 내로 들어 가는데 이때 세포 내 lysosome의 cysteine protease에 의해서 MT와 Cd으로 분해된다.<sup>51)</sup> 분해된 free ion 상태의 Cd은 신장의 새로운 MT 합성을 유도하여 재 합성된 MT와 결합하는데 효소에 의한 분해 속도보다 합성 속도가 늦기 때문에 Cd 농도가 높을 경우 tubular cell에서 free Cd과 결합할 MT를 충분히 생성하지 못하면 free Cd으로 인해 신장 조직에 손상을 일으키게 된다.<sup>52)</sup> 그러므로 간과 신장 조직의 basal MT level은 Cd의 독성을 막는 중요한 역할을 담당한다고 여겨지고 있다.

Gunn 등<sup>53)</sup>에 의하면 신장의 Cd은 cortex에 선택적으로 축적되며 그 축적 정도가 단백질 수준이 높을수록, 연령이 증가할수록 크다고 하였다. 신장 내의 Cd-MT 양이 많을 경우 혈중 Cd-MT는 신장으로 재 흡수되지 못하고 뇨로 배설되어 뇨로의 Cd 배설량이 증가하게 된다. 본 연구의 간과 신장에서 Cd을 공급받은 MT 농도가 포도 식이를 첨가한 군에서 대조군보다 높게 나타났는데, 이는 basal MT level을 증가시켜 Cd에 노출되었을 때 신속히 Cd과 합성되어 MT 합성 전에 생길 수 있는 Cd의 독성을 어느 정도 줄일 수 있을 것으로 사료된다. 한편 신장의 MT 측정 결

과 Cd를 공급한 군들 중 포도박을 섭취한 군에서 가장 높게 나타나, 가장 효과적으로 Cd를 제독할 수 있었다고 볼 수 있다. 이와 같은 결과로 미루어볼 때, 포도박의 경우 신장의 basal MT level을 증가시켜서 Cd의 독성을 완화시키고 Cd에 장기적으로 노출되었을 때 지속적으로 많은 양의 MT 생성을 가능하게 하여 Cd의 제독에 효과적인 것으로 여겨진다. 또한 Kuo 등<sup>54-57)</sup>은 quercetin 및 genestein 등과 같은 flavonoids가 장 세포에서 MT의 생성을 증가시킨다고 보고하였는데, 아직 간이나 신장에서의 MT 생성에 영향을 미친다는 연구에 대해서는 보고된바 없으나, 이로써 flavonoids가 체내 MT 합성에 어느 정도 영향을 미친다는 사실에 대하여 생각해 볼 수 있겠다.

또한 만성적인 Cd 중독자에게서 bone mass 감소가 관찰되는데, 이는 Cd의 직접적인 영향과 간접적인 영향으로 일어난다. Vitamin D는 신장에서 calcitriol(1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)로 활성화되어 Ca의 흡수, 신장에서의 Ca의 재 흡수 및 뼈의 calcification에 중요한 역할을 하는데, 장기적인 Cd 중독 시에 신장 기능에 장애가 나타나고 이로 인해 vitamin D의 active form인 calcitriol의 합성량이 감소된다고 보고되고 있다.<sup>58)</sup> 이 결과로 CaBP(calcium binding protein)의 합성량이 낮아져 장 내에서 Ca를 효과적으로 흡수할 수 없게 되며 신장에서의 Ca의 재 흡수가 낮아지고 뇨로의 Ca 배설량이 늘어나 bone mineral loss가 야기된다.<sup>59)</sup> 이러한 간접적인 Cd의 영향은 난소절제나 폐경으로 인한 estrogen 감소 시에 더욱 뚜렷하게 나타난다고 보고된 바 있다.<sup>60)</sup> 그리고 Cd은 bone marrow cell에 직접 작용하여 osteoclast의 분화를 유도하고, bone의 resorption을 증가시키며 Ca 대신 Cd이 뼈에 축적된다고 한다. 이밖에 Cd은 흡수 시 2가 양이온인 Ca과 흡수단계에서 receptor site를 두고 서로 경쟁하여 Cd 공급시 상대적으로 Ca 흡수 부족이 일어난다.<sup>11)</sup> 결과적으로 Cd은 bone matrix 형성과 mineralization에 영향을 주어 bone tissue의 growth와 maturation을 저해한다고 알려져 있다.

본 실험에서도 오른쪽 대퇴골의 무게 및 골밀도가 Cd 공급에 의해 감소되었는데 이것은 Cd 공급으로 인해 뼈에 Cd이 축적되고 뇨 및 변으로의 Ca 배설량이 늘어났기 때문으로 여겨진다. Cadmium에 의한 대퇴골의 골밀도 감소는 포도 시료의 섭취, 특히 포도박의 섭취로 완화되는 경향을 나타내었다. 대퇴골 길이의 경우 Cd 공급이나 포도 식이 섭취에 따른 유의적인 차이가 없었는데 이는 성장기가 이미 지난 쥐라 더 이상 뼈의 성장이 일어나지 않았기 때문으로 보인다.

한편 본 실험과 병행된 연구<sup>28)</sup>에서 본 실험의 포도분말

시료 내 총 flavonoids의 함량은 포도박 시료내 함량이 총 포도나 포도즙 시료보다 월등히 높았는데, 이는 포도박 시료 내에 flavonoids 함량이 높은 부위인 포도 껍질 및 포도 씨가 농축되어 다량 포함되기 때문인 것으로 사료된다. 포도에는 flavonol인 quercetin, myricetin, kaempferol 등이 존재하며 적포도주에는 myricetin, quercetin, kaempferol, isorhamnetin의 flavonols류 및 (+)-catechin, (-)-epicatechin, anthocyanins 등의 flavonoid family와 p-coumaric acid, caffeic acid, caftaric acid의 hydroxycinnamates 및 gallic acid, resveratrol 등의 non-flavonoid family가 함유되어있는 것으로 보고되고 있다.<sup>61-63)</sup> Flavonoid 중에서 골밀도가 줄어드는 것<sup>64)</sup>을 완화시켜 osteoporosis를 예방한다는 결과들이 보고된 바 있는데, Wattel 등<sup>65)</sup>은 flavonoids 중의 하나인 quercetin 및 kaempferol이 mature osteoclast의 apoptosis를 유도하여 bone resorption을 막아주는 역할을 하며, 특히 폐경 이후의 bone loss에 대하여 보호 효과를 나타낸다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서도 flavonoids 함량이 가장 높았던 포도박 군에서 골밀도 감소 보호 효과가 나타나 Cd 공급으로 인한 bone resorption이 완화되었기 때문이라고 생각해 볼 수 있다.

한편 Cd 중독시 신장의 손상이 일어날 수 있는데, 이는 주로 근위 세뇨관이 손상되며 2차적으로 주변의 조직괴사가 일어나면서 사구체의 손상이 나타나는 것으로 알려져 있다.<sup>66)</sup> 세뇨관이 손상되면 사구체를 통과한 저분자량의 단백질과 무기질 등을 재흡수하지 못하고 배설시키며, Cd에 만성적으로 노출되면 신장의 사구체가 손상되어 혈액의 creatinine 농도가 증가하고 뇨의 creatinine 농도가 감소하여 사구체 여과율이 감소하게 된다고 알려져 있다.<sup>67)</sup> 본 실험의 경우 Cd 공급군 중 대조군에서 월령이 증가할수록 혈액의 creatinine 농도가 증가하고 뇨의 creatinine 농도가 감소하여 사구체 여과율이 감소하는 경향을 보였는데 이는 위의 연구를 뒷받침하는 결과라 생각된다. 그러나 20 월령 군에서의 포도즙과 포도박 섭취군의 경우 사구체 여과율의 감소폭이 적고 다른 군들에 비하여 사구체 여과율이 높게 나타났는데, 이는 포도박이 변으로의 Cd 배설을 증가시켜 신장 내 Cd 축적을 억제시켜 신장의 손상을 다소 완화시키는 효과가 나타난 것으로 생각된다. 그러나 포도 중의 flavonoid가 Cd의 산화적 stress를 완화시켰을 가능성도 배제할 수는 없다. Igor 등<sup>21)</sup>의 연구에서는 rutin 및 quercetin이 체내에 유입되는 중금속을 착염(chelating)하여 중금속의 산화 촉진제로의 작용을 방지하며, 스스로가 자유 유리기를 제거하는 작용을 한다고 하였다. 그러므로

flavonoids 함량이 많은 포도박균에서 Cd과의 착염이 일어나서 신장의 손상을 억제시켰을 가능성도 생각할 수 있겠다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 cadmium (Cd)을 공급받은 흰쥐의 노화 과정 중에서 가령에 따른 Cd의 대사 및 중독의 변화를 관찰하고 부위가 다른 포도 식이의 섭취가 Cd의 제독에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

1) 식이 섭취량은 포도 식이나 Cd 공급으로 인하여 유의적인 차이는 나타나지 않았으나, 가령에 따라 점차 감소되는 경향을 보였다. 실험 동물의 체중 변화는, Cd 비공급군의 경우 양의 증가율을 보였으나 Cd 공급군의 경우에는 포도박균을 제외하고는 모두 음의 증가율을 보여, Cd 공급군중 유일하게 포도박균만이 양의 증가율을 나타내었다. 장기 무게를 살펴보았을 때, 간의 경우 Cd 공급 유무에 영향을 받아 Cd 공급군이 Cd 비공급군에 비하여 무게가 낮은 경향을 보였다. 비장과 신장의 경우는 월령이 증가할수록 무게가 증가하는 경향을 보였으며, 포도 식이나 Cd 공급 유무에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 부고환 지방의 경우에는 포도 식이 공급의 영향을 받아 포도 섭취군들이 대조군보다 대체적으로 낮은 경향을 나타내었으며, Cd 공급 유무의 영향으로 모든 월령군에 걸쳐 Cd 공급군이 낮은 결과를 보였다.

2) 혈액, 간, 신장 등의 조직 내의 Cd 함량은 전체적으로 Cd 공급군들 중 대조군들이 가장 높게 나타났으며, 이 중 혈액의 Cd 함량은 Cd 공급군들 중 포도박균이 가장 낮았다. 간의 Cd 함량은 Cd 공급군들 중 포도박균과 포도즙균이 낮게 나타났으며, 신장의 Cd 함량은 포도박균에게서 가장 낮게 나타났다. 포도 식이 섭취군들이 대조군에 비하여 낮았는데 그중 포도박균이 가장 낮았고, 전반적으로 Cd 농도는 월령이 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. Cadmium 공급군들 중 변을 통한 Cd의 배설량은 포도 식이 섭취군들이 대조군에 비하여 높았는데 그중 포도박균이 가장 높았고 따라서 Cd 보유율도 가장 낮게 나타났다. Metallothionein(MT) 농도를 측정한 결과는 20 월령군의 경우 간에서 포도 식이 공급과 Cd 공급 유무에 의한 상호작용으로 Cd 공급군들에서는 포도 섭취군들이 낮게 나타났으며 Cd 비공급군에서는 포도 식이 섭취군들이 높게 나타났다. 신장 MT의 경우에는 Cd을 공급한 군들에서 유의적으로 높은 수준을 보였고 포도 식이 종류에 따른 차이가 나타나 포도박균이 비교적 높게 나타났다.

3) 대퇴골의 길이는 군들간에 아무런 차이가 없었으며 무게와 골밀도의 경우 Cd 공급 유무의 영향을 받아 Cd 공급군들이 비공급군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 전반적으로 월령이 증가할수록 감소하는 경향을 보였는데, 포도박균에게서 감소폭이 비교적 적게 나타났다.

4) 월령이 증가함에 따라 혈청 creatinine은 증가하고 노 creatinine은 감소하여 사구체 여과율은 감소하는 경향을 나타내었다. 이때 포도 식이 섭취군들은 대조군에 비해 뚜렷한 감소가 나타나지 않았으며 특히 포도박균의 경우 사구체 여과율이 비교적 그대로 유지되는 것을 볼 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 포도 식이 특히 포도박을 섭취하였을 때 Cd 공급군의 변을 통한 Cd 배설량을 증가시켜 Cd 흡수를 감소시켰으며 간과 신장의 Cd 축적을 억제할 것을 볼 수 있다. 포도를 공급하지 않은 대조군들만 살펴보았을 때 월령이 증가할수록 골밀도는 증가하는 추세를 보였는데, Cd 공급군들에게서 나타나는 골밀도 감소 현상은 Cd 공급에 따른 대사변화 때문인 것으로 보인다. 반면 사구체 여과율이 월령이 증가함에 따라 감소하는 추세를 보이는데 이는 가령에 의한 노화현상인 것으로 생각되며, 특히 Cd을 공급하였을 경우 그 정도가 더욱 심하게 나타났다. 포도 식이는 대퇴골의 골밀도가 감소하는 것을 완화시켰으며 신장의 손상 또한 억제시켜서 사구체 여과율이 감소하는 것을 막아주는 효과를 나타내었는데, 이 중 flavonoid와 식이 섬유 함량이 가장 높은 포도박이 가장 크게 제독 효과를 나타내었다. 따라서 포도 식이가 흰쥐의 체내에서 Cd의 제독에 효과적이며, 그 효과는 포도의 부위에 따라 다르게 나타남을 알 수 있었다. 이 효과가 식이 섬유에 기인한 것인지 또는 flavonoids에 의한 것인지는 본 실험 결과로는 뚜렷하게 알 수 없었으나 이는 앞으로 연구해야 할 과제라 하겠다. 또한 폐기되고 있는 포도박을 새로운 기능성 식품의 소재로 활용할 수 있는 가능성을 보여주었다.

## Literature cited

- 1) Ryan JA, Pahren HR, Lucas JB. Controlling cadmium in the human food chain: a review and rationale based in health effects. *Environ Res* 28: 251-302, 1982
- 2) Faeder EJ, King LC, Hinnens TA, Bruce R, Fower BA. Biochemical and ultrastructural changes in livers of cadmium treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 39: 473-487, 1977
- 3) Friberg L, Piscator M, Nordberg G. Cadmium in the environment. *CRC Press Cleveland Ohio*, pp.88-134, 1971
- 4) 4. Macdowell LR. Minerals in Animal and Human Nutrition. *Academic Press USA*, pp.359-361, 1992
- 5) Habeebu SS, Liu J, Liu Y, Klaassen CD. Metallothionein-null

- mice are more susceptible than wild-type mice to chronic CdCl<sub>2</sub>-induced bone injury. *Toxicol Sci* 56: 211-219, 2000
- 6) Lee SR. Research in Food Stability. *Ewha Womans University Academic Press*, 1993
  - 7) Joint FAO/WHO Expert committee on Food Additives. *WHO Tec Rep Ser* 505: 20-24, 1972
  - 8) Omori M, Muto Y. Effects of dietary protein, Ca, P, fiber on renal accumulation of exogenous Cd in young rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 23: 361, 1978
  - 9) Revis NW, Osborne TR. Dietary protein effect on cadmium and metallothionein accumulation in the liver and kidney of rats. *Environ Health Perspect* 54: 83-91, 1984
  - 10) Kwun OR. The Effect of Dietary Protein and Calcium Levels on the Cadmium Detoxication in Rats. *Ewha Womans University Doctoral Thesis*, 1991
  - 11) Bae KH. Effect of Dietary Chitin, Chitosan and NOCC on Cadmium Toxicity and Lipid Metabolism in Rats. *Ewha Womans University Master's Thesis*, 1997
  - 12) Rose HE, Quarterman J. Dietary fibers and heavy metal retention in the rat. *Environ Res* 42: 166-175, 1989
  - 13) Kiyozumi M, Mishima M, Moda S. Studies on poisonous metals IX. Effects of dietary fibers on absorption of Cd in rats. *Chem Pharm Bull* 30: 4494-4495, 1982
  - 14) Hwang JT, Kang HC, Kim TS, Park WJ. Lipid Component and Properties of Grape Seed Oils. *Korean J Food & Nutr* 12(2): 150-155, 1999
  - 15) Ko KH. Healthy Characteristics of Wine. *Food Industry & Nutr* 4(1): 20-25, 1999
  - 16) Korea National Statistical Office. Korea Statistical Yearbook, pp.126, 1991
  - 17) Korea National Statistical Office. Korea Statistical Yearbook, pp.198, 2001
  - 18) Laura B. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Review* 56(11): 317-333, 1998
  - 19) Prior RL, Cao G. Flavonoids: diet and health relationships. *Nutr Clin Care* 3: 279-288, 2000
  - 20) Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74: 418-425, 2001
  - 21) Afanas'ev IB, Dorozhko AI, Brodskii AV, Kostyuk VA, Potapovitch AI. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 38(11):1763-1769, 1989
  - 22) World Health Organization: World health statistical annual. Geneva, 1989
  - 23) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute Nutrition Ad Hoc Wrighting committee on the reformulation of the AIN-79A rodent diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 374-378, 1996
  - 24) Kim ES. Effect of dried leaf powders and ethanol extracts of persimmon, green tea and pine needle on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutrition* 32(4): 337-352, 1999
  - 25) Kim SK. Effect of water and ethanol extracts of persimmon leaf and green tea different conditions on lipid metabolism and antioxidative capacity in 12-month-old rats. *Korean J Nutrition* 34(5): 499-512, 2001
  - 26) Paek JE. Effect of dietary fibers in rice and barley on lipid and cadmium metabolism in the rat. *Korean J Nutrition* 30(3): 252-365, 1997
  - 27) Park JA. Effect of Korean native plant diet on lipid metabolism, antioxidative capacity and cadmium detoxification in rats. *Korean J Nutrition* 32(4): 353-368, 1999
  - 28) Um MY. Effect of grape intake on lipid metabolism of rats during aging. *Korean J Nutrition* 35(7): 713-728, 2002
  - 29) Bray DL, Briggs GM. Decrease in bone density in young male guinea pigs fed high levels of ascorbic acid. *J Nutr* 114: 920-928, 1984
  - 30) Zinterhofer LTM, Jotolow PT, Fappiano A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78: 664, 1971
  - 31) Yeager DW, Cholak J, Henderson EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrometry. *Environ Sci Technol* 5: 1020, 1971
  - 32) Onosaka S, Cherian MG. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods. *Toxicol Appl Pharmacol* 63: 270-274, 1982
  - 33) Eaton DL, Toal BF. Evaluation of the Cd/Hb affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissue. *Toxicol Appl Pharmacol* 66: 134-142, 1982
  - 34) Eaton DL, Cherian MG. Determination of metallothionein in tissue by cadmium-hemoglobin affinity assay. *Methods Enzymol* 205: 83-88, 1991
  - 35) Kagi JHR, Nordberg M. In *Metallothionein*, pp.56-65, Birkhauser Verlag, Basel/Boston/Stuttgart, 1979
  - 36) Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS. Kidneys and regulation of water inorganic ions. In *Human physiology*, McGraw-Hill, Inc, 1994
  - 37) Toraason M, Foulkes EC. Interaction between calcium and cadmium in the 1, 25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> stimulated rat deodenum. *Toxicol Appl Pharmacol* 75: 98-104, 1984
  - 38) Cousins RJ, Barber AK, Trout JR. Cadmium toxicity in growing swine. *J Nutr* 103: 964-972, 1973
  - 39) Meydani M, Natiello F, Goldin B, Free N, Woods M, Schaefer E, Blumberg JB, Gorbach SL. Effect of long-term fish oil supplementation on vitamin E status and lipid peroxidation in women. *J Nutr* 121: 484-491, 1991
  - 40) Os S, Gao K, Li Y. J An in vitro study of wheat bran binding capacity for Hg, Cd and Pb. *Agric Food Chem* 47(11): 4714-4717, 1999
  - 41) Berglund M, Akesson A, Nermell B, Vahter M. Intestinal absorption of dietary cadmium in women depends on body iron stores and fiber intake. *Environ Health Perspect* 102(12): 1058-1066, 1994
  - 42) Moberg Wing A, Wing K, Tholin K, Sjostrom R, Sandstrom B, Hallmans G. The relation of the accumulation of cadmium in human placenta to the intake of high-fibre grains and maternal iron status. *Eur J Clin Nutr* 46(8): 585-595, 1992
  - 43) Beltran Llerandi G, Abreu M, Garcia Roche MO, Symington R, Castillo A, Gonzalez L, Menendez R. The effect of wheat bran

- on the excretion of cadmium in rats. *Nahrung* 31 (10): 987-991, 1987
- 44) Cherian MG, Nordberg M. Cellular adaption in metal toxicology and metallothionein. *Toxicol* 28: 1-15, 1983
  - 45) Fowler BA, Nordberg GF. The renal toxicity of cadmium metallothionein: morphometric and X-ray microanalytical studies. *Toxicol Appl Pharmacol* 46: 609-623, 1978
  - 46) Din WS, Frazier JM. Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocyte. *Biochem J* 230: 395-402, 1985
  - 47) Nordberg M. General aspects of cadmium: Transport, uptake and metabolism by the kidney. *Environ Health Perspect* 54: 13-20, 1984
  - 48) Manuel Y, Thomas Y, Pellegrini. Metallothionein and tissue damage. In *Cadmium in health environment toxicity and carcinogenicity* (Nordberg GF, Herber RFM, Alssio L, Eds), IARC Scientific Publication Lyon, No.118, pp.231-238, 1992
  - 49) Wang XP, Chan HM, Goyer RA, Cherian MG. Nephrotoxicity of repeated injections of cadmium-metallothionein in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 119: 11-16, 1992
  - 50) Ohta H, Cherian M. Gastrointestinal absorption of cadmium and metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol* 107: 63-73, 1991
  - 51) Min KS, Nakatsubo T, Fujita Y, Onosaka S, Tanaka K. Degradation of cadmium metallothionein in Vitro by lysosomal proteases. *Toxicol Appl Pharmacol* 113: 299-305, 1992
  - 52) Dorian C, Gatto VH, Gattone 2, Klaassen CD. Accumulation and degradation of protein moiety of CdMT in the mouse kidney. *Toxicol Appl Pharmacol* 117: 242-248, 1992
  - 53) Gunn SA, Gould TC. Selective accumulation of Cd by cortex of rat kidney. *Proc Soc Exp Biol Med* 96: 820-823, 1957
  - 54) Kuo SM, Leavitt PS, Lin CP. Dietary flavonoids interact with trace metals and affect metallothionein level in human intestinal cells. *Biol Trace Res* 62 (3): 135-153, 1998
  - 55) Kameoka S, Leavitt P, Chang C, Kuo SM. Expression of antioxidant proteins in human intestinal Caco-2 cells treated with dietary flavonoids. *Cancer Lett* 146 (2): 161-167, 1999
  - 56) Kuo SM, Huang CT, Blum P, Chang C. Quercetin cumulatively enhances copper induction of metallothionein in intestinal cells. *Biol Trace Elem Res* 84 (1-3): 1-10, 2001
  - 57) Kuo SM. Flavonoids and gene expression in mammalian cells. *Adv Exp Med Biol* 505: 191-200, 2002
  - 58) Sacco-Gibson N, Chaudry S, Brock A, Sickles AB, Patel B, Hegstad R, Johnston S, Peterson D, Bhattacharyya M. Cadmium effect on bone metabolism: Accelerated resorption in ovariectomized, aged beagles. *Toxicol Appl Pharmacol* 113: 274-283, 1992
  - 59) Hunt SM, Groff JL. Advanced nutrition and human metabolism. West publishing Company New York, pp.264-348, 1990
  - 60) Katsusa O, Hiratsuka H, Matsumoto J, Tsuchitani M, Unemura T, Marumo F. Ovariectomy enhances cadmium-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 119: 267-274, 1993
  - 61) Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric Food Chem* 40: 2379-2383, 1992
  - 62) Burns J, Gardner PT, O'Neil J, Crawford S, Morecroft I, McPhail DB, Lister G, Matthews D, MacLean MR, Lean MEJ, Duthie GG, Crozier A. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. *J Agric Food Chem* 48: 220-230, 2000
  - 63) Brust JC. Wine, flavonoids, and the "water of life". *Neurology* 59 (9): 1300-1301, 2002
  - 64) Wang D, Li F, Jiang Z. Osteoblastic Proliferation stimulating activity of *Psoralea corylifolia* extracts and two of its flavonoids. *Planta Med* 67 (8): 748-749, 2001
  - 65) Wattel A, Kamel S, Mentaverri R, Lorget F, Prouillet C, Petit JP, Fardelonne P, Brazier M. Potent inhibitory effect of naturally occurring flavonoids Quercetin and kaempferol on in vitro osteoclastic bone resorption. *Biochem Pharmacol* 65 (1): 35-42, 2003
  - 66) Noriyama K, Sugata Y, Yamamoto A, Noriyama H. Effects of dietary cadmium on rabbits. I. Early signs of cadmium intoxicification. *Toxicol Appl Pharmacol* 31: 4-12, 1975
  - 67) Uriu K, Kaizu K, Aie YL, Ito A, Takagi I, Suzuka K, Inada Y, Hashimoto O, Eto S. Long-term oral intake of low-dose cadmium exacerbates age-related impairment of renal functional reserve in rats. *Toxicol App Pharmacol* 169: 151-158, 2000