

## 비타민 E 첨가가 아연이 결핍된 흰쥐의 혈액과 간의 지질과산화물 수준에 미치는 영향\*

이경진 · 이은희 · 천종희<sup>§</sup>

인하대학교 생활과학대학 식품영양학과

### Effect of Vitamin E Supplementation on Lipid Peroxide Levels of Blood and Liver in Zinc Deficient Rats\*

Lee, Kyung-Jin · Lee, Eun-Hee · Chyun, Jong-Hee<sup>§</sup>

Department of Food & Nutrition, Inha University, Incheon 402-751, Korea

#### ABSTRACT

To study antioxidant role of zinc, the effects of dietary zinc deficiency and vitamin E supplementation on lipid peroxidation were studied. Levels of zinc and vitamin E in blood and liver were also measured. Forty Sprague-Dawley male rats aging 8 weeks old were used as experimental animals. Zinc deficient diet (Zn, 0 ppm), zinc normal diet (Zn, 36.5 ppm), and vitamin E supplemented diet (1,000 IU  $\alpha$ -tocopherol/kg of diet) were used as experimental diet. During the first three weeks, rats were divided into zinc normal (ZnN, 8 animals) and zinc deficient (ZnD, 32 animals) group. Eight rats from each group were sacrificed to get blood and liver after 3 weeks of experiment. The remaining 24 zinc deficient rat were then divided into zinc normal (ZnDN), zinc deficient (ZnDD), vitamin E supplemented (ZnDE) diet groups. After another 3 weeks of experiment, all animals were sacrificed as well. Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels in plasma and liver, conjugated diene levels in liver were measured as lipid peroxidation index. There were no significant differences in food intake, body weight gain, and food efficiency ratio among groups. Weights of liver per 100 g body weight were not significantly different. There were no significant differences in Zn levels in serum. Plasma and liver TBARS level, and liver conjugated diene level were significantly lower in ZnDE than in ZnDN or ZnDD, and significantly higher in ZnDD than in ZnDN. Therefore, it seems that lipid peroxidation is accelerated by dietary zinc deficiency and recovered partly by vitamin E supplementation. (*Korean J Nutr* 2008; 41(4): 291~298)

**KEY WORDS:** Zn deficient rat, vit E supplementation, lipid peroxides.

## 서 론

인체의 노화와 각종 퇴행성질환의 발병에 자유 라디칼이 관련되어 있음이 주목을 받고 있다. 자유 라디칼이란 짝지워지지 않은 전자를 가진 원자와 분자로서 화학반응에 있어 반응성이 큰 특징을 가지고 있으며 외생성 물질의 대사과정이나 세포내 호기성 대사과정 모두에서 생길 수 있다.<sup>1)</sup>

생체내의 자유라디칼은 생체막의 불포화지방산을 공격하여 지질과산화를 일으키고, 대사과정을 통하여 생성되는

DNA분절 그리고 단백질의 불활성화를 통하여 노화, 암, 당뇨병 및 동맥경화 등 광범위한 질병과 밀접한 것으로 보고되고 있다.<sup>2)</sup>

생체를 자유라디칼로부터 보호하기 위한 세포 손상의 방어기전은 효소계인 superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, catalase와 비효소계인 glutathione, 비타민 E, 비타민 A, 비타민 C,  $\beta$ -carotene등이 보고되고 있다.<sup>3)</sup> 그러나 생체의 항산화 방어기전은 자유 라디칼의 생성을 최소화 할 수는 있으나 완전히 방어해주지는 못하므로 식사로 섭취하는 항산화 영양소가 생체의 산화적 손상을 감소시켜 주는 데 있어 중요한 역할을 하게 된다.<sup>4)</sup> 항산화 기능을 가지고 있는 것으로 알려진 Zn, Se, Mn과 같은 미량 원소의 식사내 함량은 이들의 혈중 농도와 항산화 기능에 관여하는 금속 함유 효소의 활성에 영향을 미친다. 따라서 Zn나 Se의 결핍은 자유 라

접수일 : 2008년 3월 26일 / 수정일 : 2008년 4월 18일

채택일 : 2008년 5월 8일

\*This research was supported by 2008 research grant from Inha University

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

E-mail : jhchyun@inha.ac.kr

디칼에 대항하는 생체 방어 능력을 저하시키고 생체막의 지질과산화를 초래하여 노화와 질병에 대한 예민도를 증가시킨다.<sup>1)</sup>

아연은 모든 생물 세포에 존재하며 금속 함유 효소와 관련되어 carbonic anhydrase, Cu, Zn-superoxide dismutase, fructose biphosphatase 등에서 각각 촉매의 역할, 구조유지 역할 그리고 조절적 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>5)</sup>

아연은 생체막에서 thiol이나 인지질을 안정화시키고, 산화 촉진 금속 (Fe, Cu)의 결합 부위를 차지하여 전자 이동 능력을 감소시키며, 금속 함유 효소와 공동으로 자유 라디칼을 제거 하므로써 생체막의 구조와 기능에 영향을 미친다. 또한 아연은 단백질 결합부위에 대해 구리와 경쟁하여 구리의 흡수와 대사를 변화시키는 antagonistic 효과를 가진다.<sup>6)</sup> 최근 아연은 로돕신의 재생과 관련한 효소의 활성을 촉진하며,<sup>7)</sup> 비만환자에서는 낮은 혈중 아연 농도를 보이는 것으로 보고 되었다.<sup>8)</sup> 또한 척추동물의 선천적 기형<sup>9)</sup> 그리고 세포분열과 단백질 합성등과 관련하여 임신중 태아 발달, 재태기간, 분만시 자궁수축 및 출생 후 영아의 성장을 조절하는 역할등이 다양하게 연구되고 있다.<sup>10)</sup>

아연 결핍의 많은 증상들은 생체내에서 생성된 자유 라디칼의 공격에 의해 생체막내 지질의 과산화 작용에 의한 것이 대부분으로 아연은 유리된 세포에서 지질 과산화 작용이 개시된 후 자유 라디칼의 생성을 억제하는 작용이 있으며 아연에 의해 유도되는 metallothionein에 의해 hydroxy기가 제거 되었다고 한다.<sup>11)</sup>

아연 결핍 동물들에서 자유 라디칼의 제거가 감소된다는 사실은 아연의 항산화 역할을 암시하고 있으며,<sup>12)</sup> 아연 결핍은 여러 조직의 지질조성과 막과 결합하는 효소의 활성에 다양한 영향을 주는 것으로 보고되고 있다.<sup>13,14)</sup> 따라서 약리적인 양의 아연 섭취는 인지질의 생합성과 같은 다양한 생화학적 경로를 변화 시키고, metallothionein이나 Cu, Zn-SOD와 같은 단백질이나 효소의 합성을 유도하며 구리나 철분과 같은 다른 무기질의 대사를 바꿈으로써 간접적인 항산화 효과를 가진다고 할 수 있다.<sup>15,16)</sup>

비타민 E는 세포막의 microsomes과 mitochondria에 많이 분포되어 있는 불포화 지방산의 과산화작용 과정에서 연쇄반응의 자동산화를 차단하여 과산화물의 생성을 억제해 주므로써 궁극적으로 생체막을 보호해주고 세포의 정상 기능을 유지 시킨다.<sup>17)</sup> Bray 등은 아연이 결핍된 닭에게 고 비타민 E 첨가식을 공급하였을 때 아연 결핍 닭의 피부에서 malondialdehyde (MDA)의 생성을 감소시켰다고 보고 하였다.<sup>12)</sup> 또한 식이 아연이 결핍된 쥐에서 혈장 비타민

E 농도는 감소되었으나<sup>18)</sup> 폐와 간의 비타민 E 농도는 감소되지 않았다는 보고도 있다.<sup>19)</sup> 이와 같이 아연이 결핍된 동물에서 비타민 E 대사가 변화되는 것으로 보아 아연이 결핍된 동물에게 비타민 E의 공급은 부분적으로 아연의 결핍장애를 완화시키는데 유용할 것으로 보인다.

본 연구에서는 식이 아연 결핍이 혈청과 간의 아연함량에 미치는 영향과, 지질 과산화물 수준을 측정하여 항산화제로서 아연의 역할을 규명해 보며, 아연이 결핍된 식이에 비타민 E를 첨가함으로써 지질과산화의 개선 여부를 알아 보고자 하였다.

## 연구방법

### 실험동물 및 실험식이

실험동물로는 생후 8주된 Sprague-Dawley계 수컷 흰 쥐 40마리를 구입하여 표준사료를 일주일간 공급하여 환경에 적응시킨 뒤 동물의 평균 체중이 300 g 내외일 때 실험식이 공급을 시작하였다.

실험 식이는 아연결핍식이 (Zn deficient diet)와 아연정상식이 (Zn normal diet) 그리고 비타민 E 첨가식이 (Vitamin E supplemented diet)로 구성하였으며 식이의 조성은 Table 1, 2와 같다. 아연결핍식이와 아연정상식이의 차이는 mineral mixture에 있어 아연결핍식이는 아연을 전혀 함유하지 않은 반면 아연정상식이는 흰쥐의 아연 요구량인 30 ppm<sup>20)</sup>과 비슷한 양으로 사료 kg당 100 mg의 ZnCO<sub>3</sub> (Zn 36.5 ppm)를 포함시켰다. 비타민 E 첨가식은 1,000 IU의 비타민 E 투여시에도 독성을 보이지 않았다는 Dimitrov 등<sup>21)</sup>의 연구결과에 근거하여 본 연구에서도 아연결핍식이에 사료 kg당 1,000 IU의  $\alpha$ -tocopherol을 공급하였다.

본 연구의 실험설계는 실험동물의 적응기간이 끝난 후 난괴법으로 처음 3주 동안은 정상군 (ZnN) 8마리와 아연결핍군 (ZnD) 32마리로 각각 나누어 실험식이를 공급하였다. 3주째 되는날 두 군에서 각각 8마리의 동물을 희생시키고 아연결핍군 (ZnD)의 나머지 24마리를 다시 난괴법으로 아연정상식이군 (ZnDN), 아연결핍식이군 (ZnDD), 비타민 E 첨가군 (ZnDE)으로 나누어 각각 8마리씩을 배치하고 실험식이를 3주 동안 더 공급한 후 모든 동물을 희생시켰다.

### 시료수집 및 전처리

실험동물은 희생시키기 전 12시간동안 금식을 시킨 후 Avertin (1 ml/100 g체중)을 복강 주사하여 마취시키고

**Table 1.** Composition of basic experimental diets

Ingredients	Diet (g/100 g diet)
Corn starch	17.0
Sucrose	48.0
Casein	20.0
Corn oil	5.0
α-cellulose	5.0
Vitamin mixture <sup>1)</sup>	1.0
Mineral mixture <sup>2)</sup>	3.5
DL-methionine	0.3
Choline bitartrate	0.2

<sup>1)</sup> Composition of vitamin mixture (AIN-76)  
: The 1 kg diet provided the following vitamins  
Thiamin · HCl 6 mg, Riboflavin 6 mg, Nicotinic acid 30 mg, Calcium pantothenate 16 mg, Folic acid 2 mg, Cyanocobalamin 10 µg, Biotin 0.2 mg, Vitamin A 4,000 I.U., Vitamin D 1,000 I.U., Vitamin E (α-Tocopherol), Vitamin K 50 µg, Pyridoxine · HCl 7 mg

<sup>2)</sup> Composition of mineral mixture (AIN-76)  
: The 1 kg diet provided the following minerals  
Calcium (as calcium phosphate, dibasic) 5,200 mg, Phosphorus (as calcium phosphate, dibasic) 4,000 mg, Sodium (as sodium chloride) 1,020 mg, Potassium (as potassium citrate, H<sub>2</sub>O) 3,600 mg, Magnesium (as magnesium oxide) 500 mg, Manganese (as manganese carbonate) 54 mg, Iron (as ferric chloride) 35 mg, Copper (as cupric carbonate) 6 mg, Zinc (as zinc carbonate), Iodine (as potassium iodine) 0.2 mg, Selenium (as sodium selenite · 5H<sub>2</sub>O) 0.1 mg, Chromium (as chrome potassium sulfate · 12H<sub>2</sub>O) 2.0 mg, Chloride (as sodium chloride) 1,560 mg, Sulfate (as potassium sulfate) 1,000 mg

**Table 2.** Zn and Vitamin E levels of experimental diets

Group <sup>1)</sup>	Zn Level (ppm)		Vit E level (IU/kg)	
	1-3 wks	4-6 wks	1-3 wks	4-6 wks
ZnN (n = 8)	36.5	-	50	-
ZnD (n = 8)	0.0	-	50	-
ZnDN (n = 8)	0.0	36.5	50	50
ZnDD (n = 8)	0.0	0.0	50	50
ZnDE (n = 8)	0.0	0.0	50	1,000

<sup>1)</sup> ZnN: Zn normal group (1-3 weeks)  
ZnD: Zn deficient group (1-3 weeks)  
ZnDN: Zn normal group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
ZnDD: Zn deficient group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
ZnDE: Vitamin E supplementation group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)

개복하여 심장으로부터 10 ml 정도의 혈액을 채취하였다. 혈장을 얻기 위하여 20 ml conical tube에 500 IU heparin 2 ml을 넣은 후 채취한 혈액을 혈구가 파괴되지 않도록 넣고 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하였으며 분리된 혈장은 즉시 TBARS 분석에 사용하였다. 혈청은 혈액을 채취하여 응고시킨 뒤 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 만들었고, 분석전까지 -70℃에 냉동 보관하였다가 아연과 비타민 E의 함량 측정에 사용하였다.

혈액을 채취한 즉시 간을 적출하여 차가운 생리식염수로

세척한 후 여과지로 여분의 물기를 제거하고 무게를 측정 한 후 -70℃에서 냉동 보관하였다가 아연과 비타민 E의 함량 및 TBARS, conjugated diene 측정에 사용하였다.

**분석 방법**

**식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이 효율**

실험기간 동안 식이 섭취량은 매일 측정하였으며 체중은 동물 체중계를 사용하여 1주일 간격으로 측정하였고 이로부터 식이 효율을 다음과 같은 계산식에 의해 산출하였다.

$$\text{식이효율} = \frac{\text{실험 기간 동안 체중 증가량 (g)}}{\text{실험 기간 동안 사료 섭취량 (g)}}$$

**아 연**

냉동 보관 (-70℃)한 혈청을 냉장고에서 서서히 녹인 뒤 탈이온수를 가하여 5배로 희석하여 여과지 (Whatman No.40, Ashless)로 거른 후 ICP (JoBinYvon, Japan)로 아연을 213.86 nm에서 argon fuel을 사용하여 농도를 측정하였다.<sup>22)</sup>

조직 중 아연함량은 냉동 보관한 간을 냉장고에서 해동 시킨 뒤 1 g을 취하고 황산-질산법을 이용하여 분해시킨 뒤 탈 이온수를 가하여 25배로 희석하고 여과하여 거른 후 ICP를 이용해 혈청과 동일한 조건으로 농도를 측정 하였다.<sup>23)</sup>

**TBARS**

혈장 TBARS는 2-thiobarbituric acid 방법으로 spectrophotometer를 사용하여 531 nm에서 흡광도를 측정하였고 결과는 plasma 1 g 당 TBARS의 nM로 표현하였다.<sup>24)</sup> 간 TBARS 측정도 2-Thiobarbituric acid (TBA)법을 이용하여 측정하였으며<sup>25)</sup> 결과는 protein 1 mg 당 TBARS의 nM로 표현하였다. 간의 단백질 정량은 bovine serum albumin 표준 단백질 용액을 사용하여 Lowry 등의 방법으로 측정하였다.<sup>26)</sup>

**간 Conjugated diene과 총지방**

Lipid peroxidation의 결과로 생성되는 conjugated diene의 측정은 Recknagel & Glende의 방법으로<sup>25)</sup> UV spectrophotometer를 사용하여 234 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 lipid 1 mg 당 conjugated diene의 흡광도로 표현하였다. 간의 총지방 농도는 Frings과 Dunn의 sulfophosphovanillin 방법<sup>27)</sup>으로 측정하여 conjugated diene 계산에 사용하였다.

**비타민 E**

혈청 0.5 ml에 5 ml의 2% pyrogallol을 서서히 가하면

서 섞은 후, 70°C의 증탕기에서 2분간 가온하였다. 포화 KOH 용액을 0.3 ml 가하고 완전히 섞은 뒤에 30분간 70°C의 증탕기에서 가열한다음 얼음 속에서 냉각시킨 후, 증류수 4 ml과 hexane 10 ml을 가하고 2분간 세계 흔들어 1,500 rpm에서 원심 분리하였다. 상층액 (hexane phase)을 7 ml 취하여 30°C 정도의 증탕기에서 질소가스로 건조시켜 비타민 E 정량의 시료로 사용하였다.

건조시켜 얻은 시료를 Emmerie-Engel reaction을 이용하는 ferric chloride dipyrindyl method에 의하여 분석하였다.<sup>28)</sup>

간의 비타민 E 측정은 간조직 0.4 g 정도를 정확히 평량하여 3 ml의 saline 용액에 넣은 후 조직 균질기로 균질화하여 용액으로 만들었다. 이 용액 1 ml을 취하여 혈청에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

**통계처리**

실험의 결과는 SAS version 9.1 program을 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였고 ANOVA test 후에 Duncan's multiple range test에 의해 p < 0.05 수준에서 각 실험군간의 유의성을 검증하였다.

**결 과**

**식이섭취량, 체중증가량 및 식이 섭취효율**

식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이 섭취효율은 Table 3에서 보듯이 모두 각 식이군간 유의한 차이를 나타내지 않았다.

**Liver index**

체중으로 인한 간 무게의 차이를 최소화하기 위해 간의 무게를 체중 100 g당 무게로 환산한 Liver index (LI)는

**Table 3.** Food intakes, body weight gains and food efficiency ratios

Group <sup>1)</sup>	Food intake (g/day)		Body weight gain (g/3 wks)		Food efficiency ratio	
	1-3 wks	4-6 wks	1-3 wks	4-6 wks	1-3 wks	4-6 wks
ZnD (n = 8)	15.89 ± 1.30 <sup>2)</sup>	—	46.63 ± 8.62	—	0.140 ± 0.03	—
ZnN (n = 8)	16.48 ± 1.55	—	47.75 ± 7.70	—	0.139 ± 0.03	—
ZnDN (n = 8)	15.35 ± 1.33	14.39 ± 1.08	51.00 ± 9.89	21.13 ± 5.49	0.159 ± 0.03	0.070 ± 0.02
ZnDD (n = 8)	15.80 ± 1.01	15.21 ± 1.09	55.38 ± 12.33	16.25 ± 20.73	0.168 ± 0.04	0.049 ± 0.07
ZnDE (n = 8)	15.58 ± 1.67	14.68 ± 1.77	51.25 ± 12.02	13.00 ± 13.79	0.155 ± 0.03	0.039 ± 0.04
	NS <sup>3)</sup>	NS	NS	NS	NS	NS

<sup>1)</sup>ZnN: Zn normal group (1-3 weeks)  
 ZnD: Zn deficient group (1-3 weeks)  
 ZnDN: Zn normal group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
 ZnDD: Zn deficient group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
 ZnDE: Vitamin E supplementation group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)

<sup>2)</sup>Values are mean ± SD

<sup>3)</sup>NS: Not significant among groups at p < 0.05 by ANOVA

Table 4에 나타내었다.

간의 무게는 각 식이군간 유의적이지는 않았으나 3주째에는 아연결핍군 (ZnD)이 정상군 (ZnN)보다 약간 더 높았으며 아연결핍 후 각 실험식이를 공급한 6주째에 있어서도 아연이 결핍된군 (ZnDD, ZnDE)이 아연정상식이군 (ZnDN)보다 높은 경향을 나타내었다.

**혈청과 간의 아연농도**

각 식이군의 혈청과 간의 아연농도를 측정한 결과는 Table 4에 나타내었다.

혈청 아연의 농도는 유의적인 차이는 없었으나 아연결핍군 (ZnD)이 정상군 (ZnN)보다 낮은 경향이였다. 아연결핍 후 각 식이를 공급한 6주째에도 아연결핍식이군 (ZnDD)이 아연정상식이군 (ZnDN)보다 낮은 경향을 나타내었다. 비타민 E 첨가군 (ZnDE)은 아연결핍식이군 (ZnD)의 혈

**Table 4.** Liver index and Zn concentrations in serum and liver

Group <sup>1)</sup>	Liver index (g/100 g body weight)	Zn concentrations (ppm)	
		Serum	Liver
ZnN (n = 8)	2.33 ± 0.18 <sup>2)</sup>	1.14 ± 0.39	3.00 ± 0.40
ZnD (n = 8)	2.48 ± 0.42	1.01 ± 0.18	2.99 ± 0.92
ZnDN (n = 8)	2.43 ± 0.15	1.15 ± 0.10	2.65 ± 0.31
ZnDD (n = 8)	2.59 ± 0.43	1.07 ± 0.17	2.77 ± 0.49
ZnDE (n = 8)	2.50 ± 0.13	1.01 ± 0.27	2.69 ± 0.45
	NS <sup>3)</sup>	NS	NS

<sup>1)</sup>ZnN: Zn normal group (1-3 weeks)  
 ZnD: Zn deficient group (1-3 weeks)  
 ZnDN: Zn normal group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
 ZnDD: Zn deficient group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
 ZnDE: Vitamin E supplementation group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)

<sup>2)</sup>Values are mean ± SD

<sup>3)</sup>NS: Not significant among groups at p < 0.05 by ANOVA

**Table 5.** TBARS and conjugated diene contents in plasma and liver

Group <sup>1)</sup>	TBARS (nM/mg protein)		Conjugated diene (O.D./mg lipid)
	Plasma	Liver	Liver
ZnN (n = 8)	1.27 ± 0.42 <sup>2)b</sup>	0.008 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.89 ± 0.18 <sup>b</sup>
ZnD (n = 8)	1.11 ± 0.23 <sup>b3)</sup>	0.014 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.18 <sup>b</sup>
ZnDN (n = 8)	0.99 ± 0.28 <sup>b</sup>	0.012 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.93 ± 0.13 <sup>b</sup>
ZnDD (n = 8)	1.81 ± 0.68 <sup>a</sup>	0.014 ± 0.004 <sup>a</sup>	1.13 ± 0.20 <sup>a</sup>
ZnDE (n = 8)	1.22 ± 0.53 <sup>b</sup>	0.007 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.15 <sup>b</sup>
	p < 0.05	p < 0.05	p < 0.05

<sup>1)</sup>ZnN: Zn normal group (1-3 weeks)  
<sup>2)</sup>ZnD: Zn deficient group (1-3 weeks)  
<sup>3)</sup>ZnDN: Zn normal group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
<sup>4)</sup>ZnDD: Zn deficient group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
<sup>5)</sup>ZnDE: Vitamin E supplementation group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)

<sup>2)</sup>Values are mean ± SD

<sup>3)</sup>Means with the different superscript letter are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple test

장아연 농도를 증가 시키는 데는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

간 조직 1 g당 아연 함량은 각 식이군간 유의한 차이를 나타내지 않아 식이 아연의 결핍에 의한 간조직의 아연 농도는 크게 변하지 않았으며 비타민 E 첨가도 큰 영향을 주지 않은 것으로 사료된다.

**혈장과 간의 TBARS 함량**

혈장과 간의 TBARS 함량은 Table 5에 나타내었다.

혈장 TBARS 함량은 3주째에는 아연결핍군 (ZnD)과 정상군 (ZnN)간에 유의적인 차이가 없었다. 아연결핍 후 각 식이를 공급한 6주째에는 아연정상식이군 (ZnDN)보다 아연결핍식이군 (ZnDD)이 유의적으로 높게 나타났다 (p < 0.05).

간의 TBARS 함량은 3주째에 아연결핍군 (ZnD)이 정상군 (ZnN)보다 유의적으로 높게 나타났다 (p < 0.05). 아연결핍 후 각 식이를 공급한 6주째에는 비타민 E 첨가군 (ZnDE)이 아연정상식이군 (ZnDN)과 아연결핍식이군 (ZnDD)보다 간 TBARS 함량이 유의적으로 낮았다 (p < 0.05).

**간 Conjugated diene 함량**

자유 라디칼에 의해 생성되는 지질 과산화물의 지표로 간에서 conjugated diene의 함량을 측정한 결과는 Table 5에 나타내었다.

간의 conjugated diene 함량은 3주째에 아연결핍군 (ZnD)과 정상군 (ZnN)간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 아연결핍 후 각 식이를 공급한 6주째에는 아연결핍식이군 (ZnDD)이 아연정상식이군 (ZnDN)과 비타민E첨가군 (ZnDE)보다 간의 conjugated diene 함량이 유의적으로 높게 나타났다 (p < 0.05).

**Table 6.** Vitamin E levels in serum and liver

Group <sup>1)</sup>	Vitamin E	
	Serum	Liver
ZnN (n = 8)	20.28 ± 4.67 <sup>2)b</sup>	26.78 ± 3.73 <sup>b</sup>
ZnD (n = 8)	17.26 ± 2.51 <sup>b3)</sup>	21.74 ± 1.26 <sup>c</sup>
ZnDN (n = 8)	19.73 ± 1.34 <sup>b</sup>	23.71 ± 0.81 <sup>c</sup>
ZnDD (n = 8)	13.06 ± 1.51 <sup>c</sup>	18.80 ± 2.40 <sup>d</sup>
ZnDE (n = 8)	25.09 ± 4.15 <sup>a</sup>	32.06 ± 2.28 <sup>a</sup>
	p < 0.05	p < 0.05

<sup>1)</sup>ZnN: Zn normal group (1-3 weeks)  
<sup>2)</sup>ZnD: Zn deficient group (1-3 weeks)  
<sup>3)</sup>ZnDN: Zn normal group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
<sup>4)</sup>ZnDD: Zn deficient group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)  
<sup>5)</sup>ZnDE: Vitamin E supplementation group (4-6 weeks) after Zn deficient (1-3 weeks)

<sup>2)</sup>Values are mean ± SD

<sup>3)</sup>Means with the different superscript letter are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple test

**혈청과 간의 비타민 E 함량**

혈청과 간에서 비타민 E 함량을 측정한 결과는 Table 6에 나타내었다.

혈청 비타민 E 함량은 3주째에 비타민 E 섭취수준이 동일하였던 아연결핍군 (ZnD)과 정상군 (ZnN)간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나 아연결핍 후 각 식이를 공급한 6주째에는 아연결핍식이군 (ZnDD)이 아연정상식이군 (ZnDN)보다 비타민 E 공급량은 같았으나 혈청 비타민 E의 양이 유의적으로 낮게 나타났다 (p < 0.05). 비타민 E 첨가군 (ZnDE)은 비타민 E를 추가 공급하지 않은 아연정상식이군 (ZnDN)과 아연결핍식이군 (ZnDD)보다 혈청 비타민 E 함량이 유의적으로 높게 나타났다 (p < 0.05).

간의 비타민 E 함량은 비타민 E 섭취수준이 동일하였음에도 불구하고 아연결핍군 (ZnD)이 정상군 (ZnN)보다 유

의적으로 낮게 나타났다 ( $p < 0.05$ ). 아연결핍 후 각 식이를 공급한 6주째에도 아연결핍식이군 (ZnDD)이 아연정상식이군 (ZnDN)보다 유의적으로 낮았으며 ( $p < 0.05$ ), 비타민 E 첨가군 (ZnDE)은 비타민 E를 추가 공급하지 않은 아연정상식이군 (ZnDN)과 아연결핍식이군 (ZnDD)보다 간의 비타민 E 함량이 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.05$ ).

## 고 찰

실험기간 동안 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이 섭취 효율은 모두 각 식이군간 유의한 차이를 나타내지 않았다. 각 식이군간 유의적인 차이는 없었지만 아연 결핍 식이를 급여한 후 정상 식이를 공급한군 (ZnDN)이 계속 아연이 결핍된군 (ZnDD)보다 체중증가량이 약간 높은 결과를 보인 것은 아연 결핍에 의한 체중 감소가 아연 첨가에 의해 보상된 것으로 사료된다. Choi와 Chyun<sup>29)</sup>은 나이가 다른 흰쥐에게 아연정상식이와 아연결핍식이를 4주간 공급하여 식이 아연이 혈액과 간의 지질과산화물 수준과 아연 함량에 미치는 영향에 대해 연구한 결과 아연결핍군과 아연정상군 사이에 식이 섭취량이나 체중 증가에 있어 유의한 차이가 없었다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다.

Sullivan 등<sup>30)</sup>은 아연 결핍이 혈장 아연 농도뿐 아니라 간의 무게를 현저하게 감소시켰다고 보고하였다. 그러나 Choi<sup>31)</sup>는 아연의 섭취수준을 달리하여 흰쥐에게 아연결핍식이와 정상식이를 28일간 급여하였을 때 아연결핍식이군의 간 중량이 정상식이군보다 유의하게 증가하였다고 보고하였고, Shannon 등<sup>32)</sup>도 아연결핍에 의해 간의 무게가 유의하게 증가하였다고 보고하였다. 또한 아연 결핍시 체중이 유의적으로 감소되었고 폐와 간의 무게도 유의적이지는 않으나 감소하는 경향이었으며 3일 동안 충분한 양 (100 ppm)의 아연을 다시 공급했을 때 체중과 간 무게가 정상으로 돌아왔다는 Bray 등<sup>33)</sup>의 보고도 있어 아연의 결핍이 간의 무게에 주는 영향은 일정하지 않은 것으로 사료된다.

식이 아연이 결핍되면 혈장 아연의 농도와 세포 외액의 SOD (EC-SOD) 활성이 감소한다고 알려져 있으며,<sup>34)</sup> 간의 Zn-SOD 활성도 감소되었다고 보고되고 있다.<sup>19)</sup> 본 연구에서도 아연 결핍군에서 유의하지는 않았으나 혈장 아연의 농도가 낮은 경향이였다. 아연과 구리는 장점막에 있는 단백질인 metallothionein과 결합하여 흡수되는 데, 흡수를 돕는 metallothionein에 대해 서로 경쟁적으로 결합하기 때문에 아연이 결핍되면 구리의 흡수가 증가하여 체내 보유량이 많아지고 반대로 아연을 과량으로 복용하면 체내 구리 보유량이 감소 된다.<sup>35)</sup> 아연의 과잉에 의한 독성은

약리학적수준인 100~300 mg 정도의 아연 섭취시 나타나며 구토, 위장의 통증, 무기력증, 피로 등의 증세를 보이는 것으로 보고되고 있다.<sup>36)</sup>

본 연구에서 간의 아연농도는 아연섭취량에 따라 유의적인 차이가 없었다. Bray 등<sup>33)</sup>은 아연결핍이 간 조직의 아연 농도에 유의적인 변화를 보여주지 않았다고 보고하였고, Taylor 등<sup>19)</sup>도 아연 결핍시 간에서의 아연 농도는 영향이 없었다고 보고하고 있어 아연 결핍시 간 조직의 아연농도는 영향을 받지 않는 것으로 사료된다. 그러나 식이 아연은 고환의 발달과 밀접한 관계를 갖고 있으며, 아연 결핍시 고환 조직내 아연 농도 저하가 정자수의 감소와 같은 고환의 장애를 유발시키는 것으로도 보고되고 있다.<sup>37)</sup> 또한 식이로 공급된 아연이 간에서는 항산화 효과를 가진다고 알려져 있으나 뇌, 고환, 폐, 신장에서는 지질과산화에 대한 보호 효과가 없음이 보고되었는데<sup>38)</sup> 이는 간이 주로 Zn metallothionein으로서 아연을 축적하는 아연 대사의 중심적 역할을 하기 때문인 것으로 사료 된다.<sup>39)</sup>

Choi와 Chyun<sup>29)</sup>은 식이아연의 결핍에 따른 흰쥐의 혈액과 간의 지질과산화물 수준에 대해 연구한 결과 아연결핍군이 정상아연군보다 TBARS의 함량이 유의적으로 높게 나타났다고 보고하였고, Patricia 등<sup>40)</sup>도 아연결핍식이군의 TBARS의 함량이 정상식이군보다 유의하게 높았다고 보고하였다. 본 연구에서도 아연이 결핍된 군에서 TBARS의 함량이 유의적으로 높은 것은 아연 결핍시 자유 라디칼의 제거가 감소되어 지질과산화물이 증가되었기 때문으로 사료되며 비타민 E 첨가에 의하여 지질 과산화 작용이 억제되는 것으로 보인다.

대표적인 지질 과산화물의 지표인 TBARS는 불포화 지방산이 많은 세포막에서 자유 라디칼에 의한 연쇄반응으로 생성된다. Bray 등<sup>33)</sup>은 식이 아연 결핍시 폐와 간의 microsome에서 자유 라디칼 생성이 증가되었다고 보고하였고, Burke 등<sup>41)</sup>은 식이 아연 결핍에 의해 mitochondria와 microsome 막의 과산화가 일어났다고 보고하였다. 본 연구에서 아연의 결핍에 의해 진행된 간의 지질과산화물 축적이 3주간의 정상수준의 아연 공급에 의하여 크게 개선되지 못한 반면 비타민 E 첨가에 의해서는 억제됨을 보여 아연 결핍 동물에 있어 다량의 비타민 E 첨가가 아연 결핍 증상을 개선하는데 매우 효과가 있는 것으로 사료된다.

간의 conjugated diene 함량은 TBARS와 마찬가지로 아연 결핍에 의해 증가하는 것으로 나타났고, 아연의 공급과 비타민 E 첨가에 의해 감소되는 것으로 나타났다. 식이 아연 결핍 쥐에 있어서 간 microsome과 mitochondria 막에서 conjugated diene과 같은 지질 과산화물 생성의 증

가가 유의적이지 않았다는 보고도 있으나<sup>41)</sup> 간 microsome 에서 conjugated diene과 MDA같은 지질과산화물 생성이 증가되었다는 Sullivan 등<sup>30)</sup>의 보고와 본 연구의 결과는 일치하였다.

간내의 비타민 E 함량은 비타민 E 섭취수준이 동일하였 음에도 불구하고 아연결핍군 (ZnD)이 정상군 (ZnN)보다 유의적으로 낮게 나타났으며 ( $p < 0.05$ ), 계속적으로 아연결핍 후 각 식이를 공급한 6주째에는 아연결핍식이군 (ZnDD)이 아연정상식이군 (ZnDN)보다 유의적으로 낮게 나타나 ( $p < 0.05$ ) 아연이 결핍되면 항산화 역할을 하는 비타민 E의 필요량이 증가하여 혈청 비타민 E 수준이 낮아짐을 볼 수 있었다. 이는 혈청에서와 마찬가지로 아연결핍군에게서 부족된 항산화 작용에 비타민 E가 많이 사용되었기 때문으로 사료된다. 비타민 E 첨가군 (ZnDE)은 아연결핍식이군 (ZnDD)과 아연정상식이군 (ZnDN)보다 비타민 E 섭취량이 많아 간에서도 유의적으로 비타민 E 농도가 높게 나타났다.

지용성인 비타민 E는 식이를 통하여 공급되면 체내에 흡수되어 혈액과 간 모두에서 양호한 축적을 보였다. 비타민 E 첨가군 (ZnDE)은 아연이 결핍된 식이임에도 불구하고 아연 결핍으로 인하여 증가된 간의 TBARS나 conjugated diene을 저하시켜주므로 비타민 E는 지질과산화 작용을 억제하는 항산화 효과가 있으며 식이내 다량의 비타민 E 첨가는 아연 결핍 증상을 개선시키는데 효과가 있는 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구는 생후 8주된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 40마리를 처음 3주 동안은 아연결핍군 (ZnD)과 정상군 (ZnN)으로 각각 나누어 실험식이를 공급한 뒤 다시 ZnD군을 아연정상식이군 (ZnDN)군과 아연결핍식이군 (ZnDD) 그리고 비타민 E 첨가군 (ZnDE)으로 나누어 실험식이를 3주 동안 더 공급하고 실험 3주 후와 6주 후에 혈청과 간의 아연과 비타민 E, 지질과산화물 수준을 측정하여 비타민 E 첨가가 아연이 결핍된 흰쥐의 혈액과 간의 지질과산화물 생성에 미치는 영향을 살펴보았다.

ZnD군은 ZnN군보다 혈청과 간의 아연 농도에는 유의적 차이가 없었으나 간의 비타민 E 함량이 유의하게 낮았고 간 TBARS 함량은 유의하게 높았다. ZnDD군은 ZnDN군보다 혈청과 간의 비타민 E 함량이 유의하게 낮았고 혈청 TBARS 함량과 간 conjugated diene 수준은 유의하게 높았다. 또한 ZnDE군은 ZnDD군에 비해 혈청과 간의 아연

농도는 유의적인 차이가 없었으나 비타민 E 함량이 유의하게 높았으며 혈청과 간의 TBARS 수준과 간 conjugated diene 수준이 유의하게 낮아 아연 결핍이 지질과산화 작용을 높인 것으로 사료되고 아연 결핍 후 다량의 비타민 E를 식이에 첨가하거나 아연을 보충하면 지질과산화물 수준이 감소되는 것으로 사료된다.

## Literature cited

- 1) Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987; 1 (6): 441-445
- 2) Packer L, Glazer AN. Oxygen radicals in biological system Oxygen radicals and antioxidants. Academic press. New York; 1993. p.1-85
- 3) Packer L. Protective role of vitamin E in biological system. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1050s-1055s
- 4) Ito M, Ohishi K, Yokoi W, Sawada H. Antioxidative effects of lactic acid bacteria on the colonic mucosa of iron-over-loaded mice. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 4456-4460
- 5) Shils ME, Young VR. Modern nutrition in health and disease. 8th ed. Lea & Febiger. Philadelphia; 1995. p.214-230
- 6) Lee JH, Lee HJ, Lee IK, Yoon JS. Zinc and copper status of middle- and old-aged women in type 2 diabetes. *Korean J Nutr* 2005; 38 (1): 56-66
- 7) Park JS, Kim HJ, Jung H, Kim SG, Choi GH, Kim BA, Suh TS, Kim SK, Kim YY, Kim SY. Effects of Zinc and Hypothermic Process during the Light and Dark Adaptation of Vertebrate Retina. *J Korean Ophthalmol Soc* 2007; 48 (7): 969-979
- 8) Tungtrongchitr R, Pongpaew P, Phonrat B, Tungtrongchitr A, Viroonudophol D, Vudhiviva N, Schelp FP. Serum copper, zinc, ceruloplasmin and superoxide dismutase in Thai overweight and obese. *J Med Assoc Thai* 2003; 86 (6): 543-551
- 9) Yoon CS, Jin JH, Cheong SW. Embryotoxicity and teratogenicity of excess zinc on xenopus laevis. *Korean J Limnol* 2003; 36 (1): 83-94
- 10) Scholl TO, Reilly TM. Clinical nutrition of the essential trace elements and minerals. In: Trace element and mineral nutrition in human pregnancy. Human press; 2000. p.123-127
- 11) Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, Mahjoub S, Matheau JM, Kerkeni A. Antioxidant Effects of Zinc Supplementation in Tunisians with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Nutr* 2003; 22 (4): 316-321
- 12) Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radical Biol Med* 1990; 8 (3): 281-291
- 13) Cunnane SC. Evidence that adverse effects of zinc deficiency on essential fatty acid composition in rats are independent of food intake. *Br J Nutr* 1988; 59: 273-278
- 14) Hammermueller JD, Bray TM, Bettger WJ. Effect of zinc and copper deficiency on microsomal NADPH-dependent active oxygen generation in rat lung and liver. *J Nutr* 1987; 117: 894-901
- 15) L'Abbe MR, Fischer PWF. The effects of high dietary zinc and copper deficiency on the activity of copper-requiring metalloenzymes in the growing rat. *J Nutr* 1984; 114: 813-822
- 16) L'Abbe MR, Fischer PWF. The effects of dietary zinc on the

- activity of copper-requiring metalloenzymes in the rat. *J Nutr* 1984; 114: 823-828
- 17) Panganamala RV, Cornwell DG. The effect of vitamin E on arachidonic acid metabolism. *Ann NY Acad Sci* 1982; 393: 376-393
  - 18) Bunk MJ, Dnistrian AM, Schwartz MK, Rivlin RS. Dietary zinc deficiency decreases plasma concentrations of vitamin E. *Proc Soc Experi Biol Med* 1989; 190: 379-384
  - 19) Taylor CG, Bettger WJ, Bray TM. Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. *J Nutr* 1988; 118: 613-621
  - 20) AIN Standards for nutrition studies report. *J Nutr* 1977; 107: 1340-1348
  - 21) Dimitrova NV, Meyer C, Gilliland D, Ruppenihal M, Chenoweth W, Malone W. Plasma tocopherol concentration in response to supplemental vitamin E. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 723-729
  - 22) Fuwa KF, Pulido P, McKay R, Valle BL. Determination of zinc in biological materials by atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry* 1964; 36(13): 2407-2411
  - 23) Robert B, Dorothy DB. *Methods in Enzymology III*. Academic press. New York; 1971. p.1002-1004
  - 24) Dousset JC, Trouilh M, Foglietti MJ. Plasma malonaldehyde levels during myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta* 1983; 129: 319-322
  - 25) Choi EJ. A study in lipid peroxides and glycosylated serum proteins in KK mice fed vitamin E supplemented diet [MA Thesis]. Seoul: Seoul National University; 1994
  - 26) Peterson GL. Review of the Folin Phenol protein quantitation method of lowry, rosebrough, Farr and Randall. *Analytical Biochemistry* 1989; 100: 201-220
  - 27) John DB. *Clinical laboratory methods*. 9th ed. Mosby. Louise; 1982. p.552-553
  - 28) Hawk PB, Oser BL, Summerson WF. Ferric chloridedipyridyl method (Emmenrie-Engel reaction) Practical physiological chemistry. 13th ed. Churchill Ltd. London; 1956. p.1272-1273
  - 29) Choi YJ, Chyun JH. Effect of dietary Zinc and age on lipid peroxides and zinc levels in rat blood and liver. *Korean J Nutr* 2000; 33(5): 517-523
  - 30) Sullivan JF, Jetton MM, Hahn HKJ, Burch RE. Enhanced lipid peroxidation in liver microsomes of zinc-deficient rats. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 51-56
  - 31) Choi DJ. Effect of dietary zinc and phytic acid levels on protein metabolism in rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 2005; 15(6): 687-699
  - 32) Shannon L, Kelleher SL, Lonnerdal B. Marginal maternal Zn intake in rats alters mammary gland Cu transporter levels and milk Cu concentration and affects neonatal Cu metabolism. *J Nutr* 2003; 133: 2141-2148
  - 33) Bray TM, Kubow S, Bettger WJ. Effect of dietary zinc on endogenous free radical production in rat lung microsomes. *J Nutr* 1986; 116: 1054-1060
  - 34) Olin KL, Golub MS, Gershwin ME, Hendrickx AG, Lonnerdal B, Keen CL. Extracellular superoxide dismutase activity is affected by dietary zinc intake in nonhuman primate and rodent models. *Am J Clin Nutr* 1995; 61(6): 1263-1267
  - 35) Jung HR, Kim MK. Effect of different levels of dietary Protein and Iron on the Fe, Cu and Zn metabolism in rats. *Korean J Nutr* 1982; 15(4): 258-267
  - 36) Gary JF. Zinc toxicity. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 225-227
  - 37) Cho SY, Jeong JH, Park JM. Effects of dietary Zinc and Ethanol on the zinc content of serum and tissues in rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1990; 19(1): 80-86
  - 38) Chvapil M, Peng YM, Aronson AL, Zukoski C. Effect of zinc on lipid peroxidation and metal content in some tissues of rats. *J Nutr* 1974; 104: 434-443
  - 39) Cousins RJ. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc. *Physiol Rev* 1985; 65(2): 238-309
  - 40) Patricia IO, Katherine LO, Cesar GF, Carl LK. Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipid and DNA in rat testes. *J Nutr* 1995; 125: 823-829
  - 41) Burke JP, Fenton MR. Effect of a zinc-deficient diet on lipid peroxidation in liver and tumor subcellular membranes. *Proc Soc Experi Biol Med* 1985; 179: 187-191