

## Nano-Selenium Microcapsule의 항산화에 관한 연구

정훈 · #유일수 · 김경선 · 이순영 · 문연자\* · 전병국\* · 류문희\*\* · †최경순\*\*\*

전북대학교 공과대학 고분자나노공학과, \*원광대학교 한의과대학 해부학교실,

\*\*전북대학교 환경생명자원대학 생명공학부, \*\*\*삼육대학교 식품영양학과

### Study on the Antioxidant Effects of Nano-Selenium Microcapsule

Hun Jeong, #Il Su Yoo, Kyung Sun Kim, Soon-Young Lee, Yeun-Ja Mun\*, Byoung-Kook Jeon\*,  
Moon-Hee Ryu\*\* and †Kyung-soon Choi\*\*\*

*Dept. of Polymer-Nano Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea*

*\*Dept. of Anatomy, College of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea*

*\*\*Division of Biotechnology, College of Environmental & Bioresource Sciences, Chonbuk National University, Iksan 570-752, Korea*

*\*\*\*Dept. of Food & Nutrition, Shamyook University, Seoul 139-742, Korea*

### Abstract

Selenium was initially considered toxic to humans, but it was then discovered that selenium is essential for normal life processes. Selenium plays important roles in antioxidants. It is expected that chitosan microcapsules containing nano-selenium will be able to be used as a key material in bio-medical and cosmetic applications. The high concentration of chitosan derivatives guarantees increased antioxidative activity. Both inorganic and organic forms of selenium can be nutritional sources. The antioxidant properties of selenoproteins help prevent cellular damage from free radicals. The objective of this experiment was to study the antioxidative activity of chitosan nano-selenium. Our experiments were divided into five groups, in the presence of various concentrations (0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7%, and 0.9%) of chitosan. We performed an assessment of the antioxidant properties and cytotoxicity of respective concentrations of chitosan nano-selenium. The antioxidant activity was examined by the free radical scavenging activity on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay. The cytotoxicity effect was measured by means of 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. As a result, the electron donating abilities of 0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7%, and 0.9% of chitosan nano-selenium exhibited effective antioxidant scavenging activity at 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  against DPPH radicals. 0.3% chitosan nano-selenium did not show cytotoxicity on human keratinocytes. In general, the cytotoxicity of 0.1% and 0.9% chitosan nano-selenium showed the lowest effects. Though low cytotoxicity of 0.5% and 0.7% chitosan nano-selenium exhibited 29.67% and 38.4% against human keratinocytes on adding 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively, cell vitality was recovered with 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . These findings support the notion that chitosan nano-selenium may be useful as a new active ingredient source for bioactive compounds.

Key words: selenium, liposome, microcapsule, antioxidant, nano-selenium

### 서 론

오늘날 생활습관과 식생활 방식의 변화에 따라 당뇨, 고혈압, 암 등의 각종 질병들의 발생이 급격히 증가하고 있는 추

세이며, 이들 발생 원인의 대부분은 과도한 스트레스와 이를 방어하는 항산화성 물질의 불균형에 의한 것으로 알려지고 있다(Camara 등 1995). 따라서 최근에는 건강에 대한 사람들의 관심이 높아져 강한 항산화 작용을 보이는 셀레늄(Se)을

† Corresponding author: Kyung Soon Choi, Dept. of Food & Nutrition, Shamyook University, Seoul 139-742, Korea. Tel: +82-2-3399-1652, Fax: +82-2-3399-1655, E-mail. choiks@syu.ac.kr

함유한 기능성 식품에 관심이 높아지고 있다(Robberecht & Grieken 1982). 일반적으로 셀레늄은 70~80% 정도를 식물로부터 섭취되고, 식물의 셀레늄 함량은 토양의 조건에 따라 다양하게 나타난다(Kos 등 1998).

셀레늄은 유기결합 셀레늄과 무기결합 셀레늄으로 구분할 수 있는데, 무기결합 셀레늄은 화학적 형태에 따라 selenite, selenate, selenide로 나누어지고, 유기결합 셀레늄은 식물체에서의 단백질 성분 중 합황아미노산의 황과 치환된 selenocysteine 또는 selenomethionine의 형태로 존재한다. 셀레늄은 인체 내에서 세포질의 항산화 역할을 하는 글루타치온 과산화효소(GSH-Px)의 구성성분이며, 인체에 유익한 셀레늄은 유기결합 셀레늄으로 무기결합 셀레늄에 비해 인체 이용률 및 지속성이 더 크고, selenomethionine이 물질대사와 인체에 더 효과적인 것으로 나타났다(Surai PF 2002).

초기에는 셀레늄의 생리적 기능 중 독성에 관심을 가졌으며, 세계보건기구의 일일 권장섭취량은 50~200  $\mu\text{g}$ 이고, 상한 섭취량은 400  $\mu\text{g}$ 으로, 셀레늄이 과다할 경우에는 소화불량, 간 기능 및 신경이상 등이 발생할 수 있다고 보고되었다(Levander OA 1987; Huttunen JK 1997; Shisler 등 1998). 그러나 최근 다양한 동물 실험 결과, 셀레늄은 여러 동물에서 영양적으로 중요한 원소임이 증명되었고, 인간에게 필수 영양소임이 밝혀졌다(Kim 등 1969; KDRG 1979; Hilton 등 1980; Greger 등 1987; Jennings 등 2001; Choi 등 2006). 또한 최근 연구에 의하면 셀레늄은 암 예방 효과가 있어 매일 셀레늄을 200  $\mu\text{g}$  섭취하면 암으로 인한 사망률을 50% 감소할 수 있다는 보고가 있으며(Finley JW 1998; Ip C 1998a; Ip C 1996b; Kim 등 2007), 중금속 독성을 감소시킨다고 보고되어 있다(Hu 등 2000).

셀레늄의 결핍은 낮은 셀레늄 상태에서 화학물질에 노출되는 스트레스나 비타민 E 결핍에 기인하여 증가된 산화 스트레스와 관련이 있다(Jim 등 2002). 셀레늄은 GSH-Px 같은 항산화작용에 관여하는 효소 활성화에 영양을 주기 때문에 결핍 시 GSH-Px의 활성을 떨어뜨려서 세포의 기능장애 또는 세포의 파괴를 유발하며(Shi 등 2010), 비타민 E의 산화 촉진으로 인한 비타민 E의 손실로 심장근육과 골격근육에 영향을 준다(Na 등; Hill & Burk 1984). 이 외에도 피부노화와 모발의 성장과정에서도 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(Lee 등 2003; Son 등 2008).

키토산은 생체적합성이 우수하여 식품, 의약, 화장품 등 다양하게 이용되는 천연고분자로 수나노 메타에서 수백 나노메타의 키토산 소구체를 만들어 의약품으로 응용되고 있으며, 마이크로 캡슐의 피막제로 사용되어 약물전달을 용이하게 하는데 사용된다. 또한 키토산은 셀레늄의 독성을 감소할 수 있는 물질 중 생체 친화성이 뛰어나며, 체내에서 생체 안정성이 우수한 고분자 물질이다(Jeon 등 1996; Lee 등 2003).

본 실험에서는 항산화 기능이 있는 것으로 알려진 셀레늄의 약물전달 효율을 높이기 위하여 마이크로 캡슐 피막제로 키토산을 사용하여 chitosan nano-selenium을 제조하였으며, chitosan nano-selenium의 항산화 효능과 세포독성에 미치는 효과를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

Human epithelial keratinocyte는 일본 고베 의과대학 피부과 학 교실에서 분양 받았으며, chitosan, sodium selenite, methanol, acetic acid, ascorbic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 및 DMSO는 Sigma Chemical Co.(USA)에서 구입하여 사용하였고, 실험에 사용된 증류수는 3차로 정제한 정제수를 사용하였으며, 그 외의 시약은 특급시약을 사용하였다.

### 2. Chitosan Nano-Selenium의 제조 및 특성

1% acetic acid의 용액에 0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9% chitosan 용액을 가하여 4시간 가량 교반하고, 환원제인 ascorbic acid 60 mM을 넣은 후 5분 동안 교반한 다음 sodium selenite 30 mM을 혼합하여, 그 혼합용액을 ultrasonic probe type (150 W, 40 kHz, fisher scientific. mexico)으로 5분간 초음파 처리한 후에 4°C 증류수에서 하룻 동안 투석을 하고 동결건조하여 시료로 사용하였다.

제조한 chitosan nano-selenium의 모양과 형태는 주사전자 현미경(scanning electron microscope, SEM JEOL, JSM-5400, japan)을 이용하여 관찰하였고, 또한 입자의 크기는 제조된 chitosan nano-selenium을 정제수에 희석하여 3 ml 취하여 ELS-8000으로 측정하였다.

### 3. DPPH Radical Scavenging Method에 의한 Antioxidant Activity 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, Sigma, USA) 라디칼 소거능은 Blois(Blois 1958)의 방법으로 측정하였다. 시료를 MeOH로 녹여 500  $\mu\text{l}$ 를 1.5 ml tube에 넣고 0.3 mM DPPH 500  $\mu\text{l}$ 를 넣어 총량이 1 ml가 되도록 하였다. 실온에서 30분간 반응시킨 후 ELISA reader(Bio-Tek, USA)로 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능} = 100 - \left\{ \left( \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구 흡광도}} \right) \times 100 \right\}$$

#### 4. MTT 실험

세포 증식률 측정은 Mosmann T(1983)의 방법을 변형하여 실시하였다. 24-well 배양 용기에 인체 피부각질세포주(Human epithelial keratinocyte, HaCaT)를  $3 \times 10^4$ 개씩 분주하고, 24시간 배양 후 시료를 여러 농도로 처리한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 하에서 1일간 배양하였다. 배양 후 최종 농도 0.5 mg/ml로 MTT 용액을 넣어 3시간 배양한 다음 상층액을 제거하고, 형성된 formazan을 DMSO(1 ml)로 녹여서 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 5. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였으며, 분석 수치는 mean±S.D.로 나타내었고, 통계분석은 ANOVA test에 의해 분석되었다. 통계적 유의성은  $p \leq 0.05$ 를 \*,  $p \leq 0.01$ 를 \*\*로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

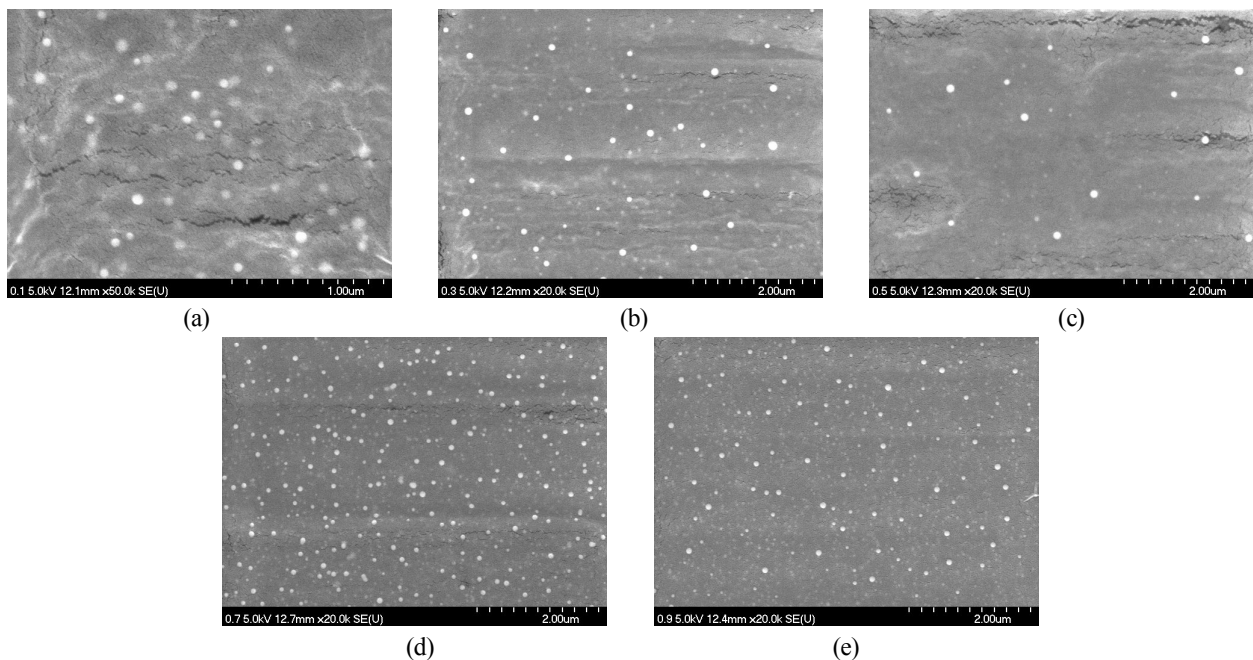
#### 1. Chitosan Nano-Selenium 제조

셀레늄은 생체 내에 SH기를 가지고 있는 것으로 알려져 있는 GSH-PH, GSH 등에 SH기가 셀레늄으로 치환되면 생리적 활성이 증가되는 것으로 보고되고 있으며, 셀레늄은 항산화 효소의 활성을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Rhee 등 1993). 키토산은 수소결합을 가지고 있어서 산에만 용해되는 제한성을 가지고 있으며, 이것을 보완하기 위하여 키토산을

산분해하여 수용성 키토산화하여 목초액을 첨가하면 항산화 능력이 증가하는 것으로 보고되고 있고(Oh 등 2007), 특히 키토산은 생분해성이 우수하며 독성 및 부작용이 거의 없고 생체 적합성이 우수한 것으로 알려져 약물 전달체로 널리 사용되고 있다(Ha 등 1998). 키토산을 이용한 나노화 기술은 일반적으로 사용되는 기술로 나노 크기의 셀레늄은 셀레늄이 가지고 있는 독성을 낮추어 주는 것으로 알려져 있다(Wang 등 2007). 본 실험에서는 경피를 통하여 피부에 흡수되는 능력을 증가시키기 위하여 입자의 크기를 감소하는 방법으로 chitosan nano-selenium을 제조하였고, 마이크로캡슐화 하여 그 형태를 관찰하였다. 셀레늄 양은 동일하게 하고 다양한 농도의 키토산에서 제조한 chitosan nano-selenium의 모양과 형태를 관찰하기 위해 SEM(scanning electron microscope, JEOL, JSM-5400, Japan)을 이용하여 관찰한 결과, 구형을 이루고 있어 마이크로캡슐을 형성한 것을 알 수가 있다(Fig. 1). 0.1% chitosan nano-selenium은 검정에 가까운 붉은 색을 보였고, 0.9% chitosan nano-selenium은 밝은 주황색을 나타냈으며, 키토산의 농도가 높을수록 주황색 쪽에 가깝고, 농도가 낮을수록 검정색 쪽에 가까운 것을 알 수 있었다.

#### 2. Chitosan Nano-Selenium의 입자크기

계로부터 얻어지는 키틴은 탈아세틸화하여 키토산을 얻는데, 이것은 독성이 거의 없고 성형 가공성과 화학적 변형이 유리하기 때문에 산업에 널리 사용되고 있다(Park 등 2005).



**Fig. 1.** SEM images of nano-selenium chitosan solutions. (a) 0.1% chitosan nano-selenium, (b) 0.3% chitosan nano-selenium, (c) 0.5% chitosan nano-selenium, (d) 0.7% chitosan nano-selenium, and (e) 0.9% chitosan nano-selenium.

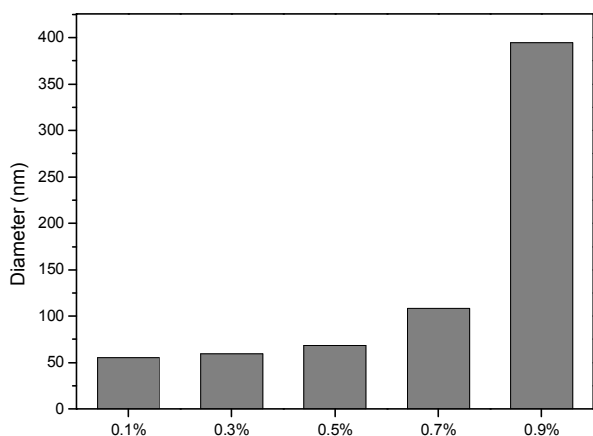


Fig. 2. Graph of selenium coated various chitosan molecule size.

본 제조된 chitosan nano-selenium의 입자의 크기를 ELS-8000으로 측정된 결과, 입자 크기는 대략 50~500 nm로 분포되었으며, chitosan nano-selenium의 chitosan 농도가 높을수록 입자의 크기도 커지는 것을 알 수가 있었다. 입자 크기는 0.1% chitosan nano-selenium은 55±5 nm가 많이 분포가 되어 있고, 0.3%는 60±5 nm가 많이 분포되어 있고, 0.5%는 70±5 nm, 0.7%는 100±5 nm, 0.9%는 450±5 nm가 많이 분포되어 있는 것을 확인할 수가 있다(Fig. 2). 이것은 심물질인 셀레늄에 벽물질 키토산의 농도가 증가할수록 입자의 크기가 증가하는 것으로 사료된다.

### 3. DPPH 라디칼 소거능

셀레늄은 혈중에 너무 많으면 위장장애 신경손상 등 독성 작용을 하는 것으로 보고되고 있으나, 또한 셀레늄은 단백질 합성을 억제하고 NK-KB와 같은 전사조절인자에 영향을 주는 것으로 알려져 항암작용을 하며, 셀레늄은 인체 내에서 생리적으로 세포질의 항산화 역할을 하는 글루타치온 과산화효소(GSH-Px)의 구성성분이며, 항산화효소를 생성시키어 항산화작용을 하는 것으로 알려져 있다(Dungeng 등 2007; Liguang 등 2011; Jadwiga 등 2010). 또한 키토산은 셀룰로오스와 유사한 화학 구조를 가진 천연 고분자로 키토산 분자 구조 내에 존재하는 -OH기와 -NH<sub>2</sub>기는 친수성 극성 잔기로 극성밀도가 크기 때문에 보습작용이 큰 것으로 알려져 있다. 널리 보습제로 사용하고 있는 히아론산과 유사한 구조를 가지고 있는 키토산을 이용하여 유도체를 개발하면 보습력을 증가시킬 수 있다고 하며, 특히 수용성 키토산을 만들면 광범위하게 사용할 수 있다고 한다(Kim 등 1997). 따라서 본 실험에서 chitosan nano-selenium의 입자의 항산화 효과를 조사한 시료의 항산화능은 DPPH 라디칼을 이용하여 전자공여능을 측정

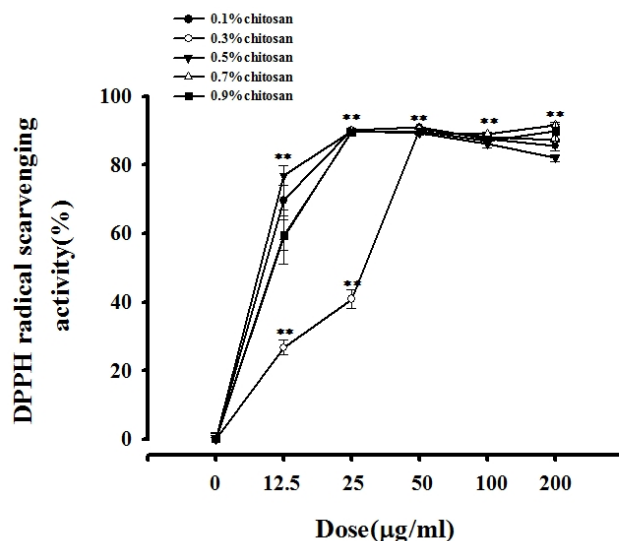


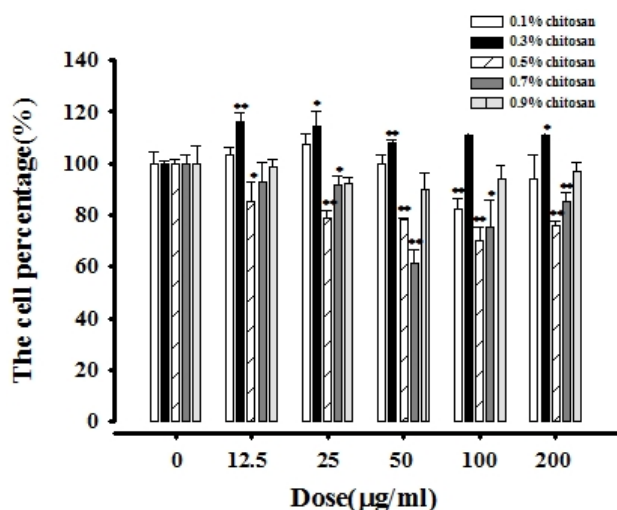
Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9% chitosan nano-selenium. Results are expressed as mean values±S.D. of 5 replicates. 0.1% chitosan nano selenium (●), 0.3% chitosan nano selenium (○), 0.5% chitosan nano selenium (▼), 0.7% chitosan nano selenium (△), 0.9% chitosan nano selenium (■). The experiments were performed in triplicate. Data presented as means±S.D. of three independent experiments. \*\* $p < 0.01$  compared with non-treated control.

한 결과, 0.1% chitosan nano-selenium 전자공여능은 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/ml 농도에서 69.7%, 90.2%, 90.9%, 87.6%, 87.6%였다. 0.3% chitosan nano-selenium 경우 26.7%, 40.9%, 90.4%, 88.1%, 87.4%였고, 0.5% chitosan-nano selenium은 76.8%, 90.0%, 89.3%, 86.1%, 82.1%였다. 0.7% chitosan nano-selenium은 59.0%, 90.0%, 89.3%, 89.2%, 91.7%였으며, 0.9% chitosan nano-selenium은 59.5%, 89.5%, 89.8%, 87.1%, 89.8%로 나타났다(Fig. 3). 이상의 결과, chitosan nano-selenium은 0.3% 균을 제외한 나머지 균의 12.5 µg/ml 농도에서 높은 항산화 효과가 있음을 확인하였다.

### 4. 세포독성에 미치는 영향

본 실험에서 제조한 chitosan nano-selenium의 입자가 피부 세포에 독성을 나타내는지 조사하였다. MTT 분석은 탈수소 효소 작용에 의해 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 청자색의 formazan으로 환원시키는 미토콘드리아의 활성을 이용하는 검사법으로 세포의 증식과 성장 및 세포독성을 측정하는 대표적인 실험 방법이다.

Chitosan nano-selenium이 인체 각질형성세포주(HaCaT cell)의 증식에 미치는 영향을 조사하기 위하여 배양액에 각각의 chitosan nano-selenium을 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/ml 농도로



**Fig. 4.** MTT assay of 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9% chitosan nano-selenium on the cell viability of HaCaT cells. HaCaT cells were treated with respective chitosan nano-selenium at 37°C for 24 hr. The proportion of survival cells was measured by MTT assay. The experiments were performed in triplicate. Data presented as means±S.D. of three independent experiments. \* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01 compared with non-treated control.

분주하고 24시간 배양하였다. 배양 후 MTT 용액을 3시간 처리하였으며, 세포내에 형성된 formazan은 DMSO로 용해하여 측정하였다. 실험 결과, 0.1%, 0.3%, 0.9% chitosan nano-selenium에서의 독성은 강하게 나타나지 않았다. 0.5% chitosan nano-selenium에서는 100 µg/ml의 농도에서 70.33% 정도의 생존율을 나타냈지만, 200 µg/ml의 농도에서 75.85%로 회복되는 경향을 보였으며, 0.7% chitosan nano-selenium에서는 50 µg/ml 농도에서 61.60% 생존율을 보여 약간의 독성이 있었지만 100, 200 µg/ml에서 각각 75.49%, 85.44%로 회복되는 경향을 나타내었다(Fig. 4).

## 요 약

항산화 기능이 있는 것으로 알려진 셀레늄의 약물전달 효율을 높이기 위하여 마이크로 캡슐 피막제로 키토산(0.1~0.9%)을 사용하여 chitosan nano-selenium을 제조하여 chitosan nano-selenium의 모양과 형태는 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 관찰하였고, 입자의 크기는 ELS-8000으로 측정하였으며, chitosan nano-selenium의 항산화 효능과 세포독성을 조사하였다. Chitosan nano-selenium의 모양과 형태를 SEM(JSM-5400, Japan)으로 관찰한 결과 구형을 이루고 있어 마이크로 캡슐을 형성한 것을 알 수가 있었고, chitosan nano-selenium의 입자의 크기를

ELS-8000으로 측정한 결과, 입자 크기는 대략 50~500 nm로 분포되었으며, chitosan nano-selenium은 chitosan 농도가 높을수록 입자의 크기도 커지는 것을 알 수가 있었다. 입자 크기는 0.1% chitosan nano-selenium은 55±5 nm가 많이 분포가 되어 있고, 0.3%는 60±5 nm가 많이 분포되어 있고, 0.5%는 70±5 nm, 0.7%는 100±5 nm, 0.9%는 450±5 nm가 많이 분포되어 있는 것을 확인하였다. 0.1% chitosan nano selenium 전자공여능은 50 µg/ml 농도에서 0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7% 및 0.9% chitosan nano selenium은 90.28.0%, 90.36%, 89.34%, 89.33% 및 89.49%로 나타나 항산화효능의 높은 값을 보였으나, chitosan 함량에 따른 항산화 효능의 차이는 볼 수 없었다. Chitosan nano-selenium은 0.1%, 0.3%, 0.9% chitosan nano-selenium에서의 독성이 강하게 나타나지 않았으며, 0.7% chitosan nano-selenium에서는 50 µg/ml 농도에서 61.60% 생존율을 보여 약간의 독성이 있었지만 200 µg/ml에서 85.44%로 생존율이 증가하였고, 0.9% chitosan nano-selenium에서 생존율이 90.08~98.71%로 가장 높은 값을 보였다.

## 감사의 글

이 논문은 삼육대학교 학술연구비 지원에 의해 쓰여진 것입니다.

## 참고문헌

- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Camara C, Cobo MG, Palacios MA, Munoz R, Donard OFX. 1995. Selenium speciation analyses in water and sediment matrices. In Quevauviller Ph, Majer E, Griepink B(Eds.). *Quality Assurance for Environmental Analysis* 235-261
- Choi YS, Jonhn E. 2006. Hesketh. Nutritional biochemistry of selenium. *Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition* 35:661-670
- Finley JW. 1998. The absorption and tissue distribution of selenium from high-selenium broccoli are different from selenium from sodium selenite, sodium selenate, and selenomethionine as determined in selenium-deficient rats. *J Agric Food Chem* 46:3702-3707
- Greger JN, Helen WL. 1987. The toxicology of dietary selenium. In "Nutritional Toxicology II", Academic Press 234
- Hill KE, Burk RF. 1984. Influence of vitamin E and selenium on glutathione-dependent protection against microsomal lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology* 33:1065-1068

- Hilton JW, Hodson PV, Slinger SJ. 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout(*Salmo gairdner*). *The Journal of Nutrition* 110:2527-2535
- Hu QH, Zhu JC. 2000. Biological geochemistry and selenium in food chain. *Rural Ecoenviron* 16:54-57
- Huttunen JK. 1997. Selenium and cardiovascular diseases-an update. *Biomed Environ Sci* 10:220
- Ip C, Lisk DJ, Thompson HJ. 1996. Selenium-enriched garlic inhibits the early stage but not the late stage of mammary carcinogenesis. *Carcinogenesis* 17:1979-1982
- Ip C. 1998. Lessons from basic research in selenium and cancer prevention. *J Nutr* 128:1845-1854
- Jenning V, Gohla SH. 2001. Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles. *Microencapsulation* 18:149-158
- Jeon YJ, Lee EH, Kim SK. 1996. Bioactivities of chitin and chitosan(1)-antimicrobial function, hypertension control function and cholesterol control function. *Korean Soc of Chitin and Chitosan* 1:4-13
- Jim M, Truswell AS. 2002. Essentials of Human Nutrition (2nd ed.). Oxford University Press ISBN 9780192627568
- Keshan Disease Research Group. 1979. Epidemiologic studies on the etiologic relationship of selenium and Keshan disease. *Chin Med J* 92:477-482
- Kim DK, Jung BJ, Son DM, Chon SU, Lee KD, Kim KS, Rim YS. 2007. Effects of selenium(Se) on growth and se content of mungbean. *Korean J Plant Res* 20:383-388
- Kim EM, McCoy, Paul HW. 1969. Some selenium responses in the rat not related to vitamin E. *J Nutrition* 98:383-389
- Kos V, Veber M, Hudnik V. 1998. Determination of selenium in soil by hydride generation AAS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 360:225-229
- Lee OH, Moon JW, Chung YS. 2003. Assessment of selenium status in adult females according to life cycle. *The Korean Journal of Nutrition* 36:491-499
- Lee SP, Kim SW, Sohn ES, Kang JS. 2003. Technology trend analysis of chitosan. *J Chitin Chitosan* 8:192-201
- Levander OA. 1987. A global view of human selenium nutrition. *Ann Rev Nutr* 7:227
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65:55-63
- Na JC, Kim JH, Yu Dj, Jang BG, Kang GH, Kim SH, Kang BS, Choi CH, Sub OS, Lee WJ, Lee JC. 2007. Effects of dietary organic selenium and vitamin E on performance, selenium retention and quality of egg in laying hens. *Korean J Poult Sci* 34:157-163
- Robberecht H, Grieken RV. 1982. Selenium in environmental waters: Determination, speciation and concentration levels. *Talanta* 29:823-844
- Shi LG, Yang RJ, Yue WB, Xun WJ, Zhang CX, Ren YS, Shi L, Lei FL. 2010. Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultra-structure in male Boer goats. *Animal Reproduction Science* 118:248-24
- Shisler JL, Senkevich TG, Berry MJ, Moss B. 1998. Ultraviolet-induced cell death blocked by a selenoprotein from a human dermatotropic poxvirus. *Science* 279:102
- Son YH, Yoo JE, Heo JY, Jang SP, Lee BS, Lee BR, Yun SG, Lee CH. 2008. A study of the efficacy of hair analysis relative to serum and organ analysis for assessing heavy metal reduction in living animals treated with an herbal medicine remnant and organic selenium. *Korean J Food Sci Ani Resour* 28:222-231
- Surai PF. 2002. Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. *World's Poultry Science Journal* 58:333
- Wang HL, Zhang JS, Yu HQ. 2007. Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzyme: Comparison with selenomethione in mice. *Free Radical Biology & Medicine* 42:1524-1533

---

접 수 : 2012년 8월 2일

최종수정 : 2012년 8월 20일

채 택 : 2012년 8월 21일