

# 식이 아연 결핍과 나이가 흰쥐 혈액과 간의 지질과산화물 수준과 아연 함량에 미치는 영향\*

최 윤 진 · 천 종 희<sup>§</sup>

인하대학교 식품영양학과

## Effect of Dietary Zinc Deficiency and Age on Lipid Peroxides and Zinc Levels in Rat Blood and Liver

Choi, Yun Jin · Chyun, Jong Hee<sup>§</sup>

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

### ABSTRACT

The effect of dietary zinc deficiency and age on lipid peroxide levels was investigated in rats. Zinc levels in serum and liver were also measured. Fifty Sprague-Dawley male rats aging 8 months(older rats) and 2 months(younger rats) were used as experimental animal. Zinc deficient diet(1.1ppm) and normal zinc diet(36.5ppm) were used as experimental diets. Rats in each age group were divided into zinc deficient(ZnDF), zinc pair-fed(ZnPF) and zinc ad-libitum(ZnAL) to remove the variances of food intake. After 4 weeks of experimental period, rats were sacrificed. Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) levels in plasma and liver, lipofuscin and conjugated diene levels in liver were measured as lipid peroxide index. Food intakes of all groups were not different because zinc deficiency did not reduce food intake in ZnDF group. Younger rats gained weight continuously, while older rats lost weight in the beginning of experiment and regained afterwards. In older rats, serum zinc level was decreased while plasma TBARS level was increased in ZnDF group. In younger rats, plasma TBARS concentration was increased in dietary zinc deficient rats although serum zinc concentration was not reduced. Liver zinc concentration was significantly higher in older rats comparing to younger rats. However, there was no difference among the three dietary groups. Liver TBARS level was not different by age or dietary zinc level. However it was tended to be higher in older rats comparing to younger rats. Lipofuscin and conjugated diene concentration in liver were significantly higher in older rats. However there was no difference by the dietary zinc level. In both age groups, ZnDF group significantly increased plasma TBARS levels, which suggested dietary zinc deficiency could increase lipid peroxidation in part. Significantly higher levels of lipofuscin and conjugated diene in older rats suggested lipid peroxidation was accelerated by aging. (*Korean J Nutrition* 33(5) : 517~523, 2000)

KEY WORDS: zinc, aging, TBARS, lipofuscin, conjugated diene.

### 서 론

아연(zinc)은 모든 생물세포에 존재하며 생체내에서 구조 유지, 촉매 기능, 조절 메커니즘 등의 역할을 하는 미량 원소이다.<sup>1)</sup> 1960년대 초 이란 사람에게 발생된 왜소발육증(dwarfism)과 저생식선증(hypogonadism)이 아연 결핍에 의한 것이라고 제안된 후 아연의 임상적인 결핍증에 대한 중요성이 인식되기 시작하였고,<sup>2)</sup> 우리나라에서도 제 6 차

채택일 : 2000년 6월 28일

\*This research was supported by 1998 grants from Inha University.

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

영양 권장량에 처음으로 아연권장량이 설정되었다.

세포내 아연의 대부분은 막결합성 아연(membrane-bound zinc)으로서 막 내에 있는 황화수소(sulfhydryl) 그룹과 결합하여 막의 산화를 막고 막체제가 정상으로 유지될 수 있도록 하며 결합부위에 대해 산화촉진 금속(Fe, Cu)과 경쟁하여 전자 이동능력을 감소시킴으로써 막의 기능과 막의 안정화 역할을 하고 있다.<sup>1)3)</sup> 이와 같이 아연은 RNA, DNA, ribosome의 구조 안정화에 필요하고 많은 transcription(전사) 인자의 결합에 참여하며, 몇몇 hormone-receptor complex를 안정화하고 중합을 규제하는 역할을 한다. 또한 아연은 carbonic anhydrase, Cu/Zn-superoxide dismutase(SOD), fructose biphosphatase 등에서

각각 촉매의 역할, 구조적 그리고 조절적 역할을 하는 등 200개 이상 효소의 보조인자로 작용하는 것으로 알려져 있다.<sup>215)</sup>

한편 아연 결핍 동물들에게서 분리된 막과 조직에서 free radical의 생성이 증가된다는 연구는 아연의 항산화 역할을 암시하고 있다.<sup>310)</sup> 식이아연 결핍시 폐 microsome에서 free radical 생성이 증가 되었고,<sup>9)</sup> 간의 Cu/Zn-SOD, catalase 활성이 감소되었으며,<sup>9)</sup> 아연이 결핍된 쥐와 macaque(머카크 원숭이)에서도 혈장 아연농도와 extracellular SOD 활성이 감소되었음이 보고되었다.<sup>10)</sup> 또한 식이 아연이 결핍된 쥐에서 폐와 간의 비타민 E 농도는 감소되지 않았으나<sup>9)</sup> 혈장 비타민 E 농도는 감소되었고<sup>11)</sup> 아연이 결핍된 동물에게 비타민 E를 공급하였을 때 부분적으로 아연의 결핍장애가 완화되는 사실은 아연의 항산화 역할을 뒷받침하고 있다.<sup>9)</sup>

생체에서 지질과산화 반응은 불포화 지방산이 풍부한 생체막에서 free radical 반응에 의해 발생하는데 그 결과 thiobarbituric acid reactive substance(TBARS)와 conjugated diene, ethane, pentane 등이 생성된다. Lipofuscin은 free radical에 의해 생긴 과산화지질이 단백질과 결합된 중합체를 포함하는 형광성 색소로서 생물의 연령이 증가함에 따라 축적량이 많아지는 것으로 알려져 있다. 산화 촉진제를 첨가한 아연 결핍 동물들에서 thiobarbituric acid reactive substance(TBARS), conjugated diene, lipid hydroperoxide 같은 지질과산화물들이 증가되었고,<sup>9)</sup> 아연이 결핍된 쥐의 간 microsome이나 mitochondria 등에서 지질의 과산화작용이 진행되었다고 보고되고 있다.<sup>12),13)</sup>

따라서 본 연구에서는 식이아연 결핍과 나이가 혈액과 간의 지질과산화물 생성량과 아연 함량에 주는 영향을 살펴보고자 시도하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 실험식이

나이가 많은 군으로는 3개월된 Sprague-Dawley계 숫쥐 25마리를 인하대학교 실험동물 사육실로부터 구입하여 그 후 5개월간 계속 일반고형사료를 먹이면서 사육하여 8개월이 되어 체중이 450~550g이 되었을 때 실험에 사용하였다.

나이가 적은 군으로는 나이가 많은 쥐와 같은 종의 숫쥐와 암쥐를 같은 사육실에서 구입하여 mating 시켜서 태어난 25마리의 숫쥐를 2개월간 일반고형사료로 사육하여 체중이 200~300g이 되었을 때 실험에 사용하였다.

실험식은 아연 결핍식이고 정상아연식으로 구성하였

다. 두 식이 모두 Table 1과 같이 기본 식이조성에는 차이가 없었고 단지 mineral mixture에서 아연의 양만 차이를 두기 위하여 흰쥐의 정상 아연 요구량인 30ppm<sup>14)</sup>을 기준으로 아연결핍군은 3mg ZnCO<sub>3</sub>/kg diet(1.1ppm), 정상아연군은 100mg ZnCO<sub>3</sub>/kg diet(36.5ppm)를 포함시켰다.

### 2. 실험설계 및 시료수집

두 연령군(8개월과 2개월)의 쥐를 각각 3개의 식이군으로 분류하여 Table 2와 같이 아연결핍군(ZnDF) 9마리씩, 아연 pair-fed군(ZnPF) 8마리씩, 아연 ad-libitum군(ZnAL) 8마리씩으로 나누어 ZnDF군에게는 아연 결핍식이를, ZnPF군과 ZnAL군은 정상아연 식이를 공급하여 4주간 사육하였다. 아연이 결핍되면 식이 섭취가 감소된다는 보고<sup>3)</sup>가 있으므로 식이섭취량의 차이를 배제하기 위하여 ZnDF군의 식이섭취량을 매일 조사하여 그 양을 다음날의 ZnPF

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients	Diet(g/100g 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

1) Composition of vitamin mixture : 1.0% in diet provide the following vitamins(mg/kg diet). ThiaminHCl 6mg, riboflavin 6mg, nicotinic acid 30mg, calcium pantothenate 16mg, folic acid 2mg, cyanocobalamine 10μg, biotin 0.2mg, vitamin A 4000 I.U., vitamin D 1000I.U., vitamin E 50I.U., vitamin K 50μg, pyridoxineHCl 7mg.

2) Composition of mineral mixture : 3.5% in diet provided the following minerals(mg/kg diet). Calcium(as calcium phosphate, dibasic) 5200, phosphorus(as calcium phosphate, dibasic) 4000, sodium(as sodium chloride) 1020, potassium(as potassium citrate, H<sub>2</sub>O) 3600, magnesium(as magnesium oxide) 500, manganese(as manganese carbonate) 54, iron(as ferric chloride) 35, copper(as cupric carbonate) 6, zinc(as zinc carbonate)\*, iodine(as potassium iodine) 0.2, selenium(as sodium selenite · 5H<sub>2</sub>O) 0.1, chromium(as chrome potassium sulfate · 12H<sub>2</sub>O) 2.0, chloride(as sodium chloride) 1560, sulfate(as potassium sulfate) 1000

\* Zn deficient diet : 3mg ZnCO<sub>3</sub>/kg diet  
 Zn pair-fed diet : 100mg ZnCO<sub>3</sub>/kg diet  
 Zn ad-libitum diet : 100mg ZnCO<sub>3</sub>/kg diet

Table 2. Experimental Groups and Zn level

Group <sup>1)</sup>	Zn level	No. of animals	
		ZnDF	ZnPF
older rats	ZnDF	9	1.1
	ZnPF	8	36.5
	ZnAL	8	36.5
younger rats	ZnDF	9	1.1
	ZnPF	8	36.5
	ZnAL	8	36.5

1) ZnDF : Zn deficient, ZnPF : Zn pair-fed, ZnAL : Zn ad-libitum

군의 식이공급량으로 하였으며, ZnAL군은 식이를 마음껏 섭취하도록 하였다. 모든 군에 있어서 물은 자유로이 마시도록 하였다.

실험동물은 각각 1마리씩 stainless steel cage에 넣어 사육하였고, 사육환경은 실내온도 20~25℃, 명암주기 12시간 cycle(light 6 : 00~18 : 00)으로 유지하였다. 식이는 매일 새로운 것을 공급하면서 전날의 식이섭취량을 측정하였고 채증은 실험식이 공급직전과 2주, 4주 후에 측정하였다.

4주간 사육후 모든 실험동물을 12시간 금식 시키고 ethylether로 마취시킨 뒤 개복하여 심장에서부터 혈액을 채취하여 혈장과 혈청을 분리하였다.

혈액을 채취한 즉시 간을 적출하여 차가운 생리식염수로 세척한 후 무게를 측정하고 혈청과 간은 - 85℃에서 냉동시켰다.

### 3. 실험방법

#### 1) 혈청과 간의 아연 함량

냉동보관(- 85℃)한 혈청을 냉장고에서 서서히 녹인 후 탈이온수를 가하여 5배로 희석하여 여과지(Whatman No 40, Ashless)로 거른 후 atomic absorption spectro-photometer(AAS, Jarrel-Ash, U.S.A.)로 농도를 측정하였다.<sup>15)</sup> AAS의 사용조건은 Table 3에 나타내었다

냉동보관(- 85℃)한 간은 냉장고에서 해동시킨 뒤 1g씩 취하여 질산과 과염소산으로 산분해한 후 탈이온수를 가하여 50배로 희석하여 여과지로 거른 후 AAS를 이용해 혈청과 동일한 조건으로 농도를 측정하였다.<sup>16)</sup>

#### 2) TBARS

##### (1) 혈장 TBARS

혈장 TBARS는 2-thiobarbituric acid 방법<sup>17-19)</sup>으로 spectrophotometer를 사용하여 531nm에서 흡광도를 측정하였

고, plasma 1g당 TBARS  $\mu$ M로 표시하였다

##### (2) 간 TBARS와 단백질

간은 냉장고에서 해동시켜 가위로 잘게 자른 후 4배 용량의 냉각된 tris buffer를 넣어 조직균질기로 간조직을 균질화하고, 이 균질액을 1000 × g에서 10분간 원심분리하여 그 상층액에서 Thiobarbituric acid(TBA)법<sup>19)</sup>을 이용하여 생성된 TBARS의 양을 측정하였고, protein 1mg당 TBARS nM로 표현하였다.

단백질 정량은 bovine serum albumin 표준 단백질 용액을 사용하여 Lowry 등의 방법<sup>20,21)</sup>으로 측정하였다.

##### 3) Lipofuscin

간 균질액에서 지방을 추출한 후 그 추출액에서 spectrofluorometer를 사용하여 excitation wavelength 380nm, emission wavelength 480nm로 형광도를 측정함으로써 lipofuscin을 정량하였고 protein 10mg당 lipofuscin의 fluorescence로 표시하였다.<sup>22-24)</sup>

##### 4) Conjugated diene과 중지방

간 균질액에서 Lipid peroxidation의 결과로 생성된 conjugated diene의 정량은 Recknagel & Glende의 방법<sup>19)</sup>을 이용하여 234nm에서 흡광도를 측정하였고 lipid 1mg당 conjugated diene 흡광도로 표시하였다. 지방 추출액의 총지방 농도는 Frings과 Dunn의 sulfophosphovanillin 방법<sup>25)</sup>으로 측정하였다.

Table 3. Atomic absorption working conditions

	Zn
Wave length	213.9nm
Spectral band pass	0.1nm
Fuel	Acetylene
Support	Nitrous oxide
Lamp current	5.0mA

Table 4. Food intakes, body weight gains and food efficiency ratios

Group <sup>1)</sup>	Food intake(g/day)	Body weight gain(g)		Food efficiency ratio <sup>4)</sup>	
		2 weeks	4 weeks		
Older rats	ZnDF	24.60 ± 0.87 <sup>2)3)</sup>	- 21.75 ± 5.40	4.86 ± 5.89	- 0.013 ± 0.06
	ZnPF	24.08 ± 0.80	- 15.13 ± 8.40	2.14 ± 1.38	- 0.015 ± 0.13
	ZnAL	25.96 ± 1.11	- 26.67 ± 0.62	8.57 ± 3.67	- 0.020 ± 0.03
	Average	24.88 ± 0.93	- 21.18 ± 4.81 <sup>4)5)</sup>	5.19 ± 3.65 <sup>4)5)</sup>	- 0.016 ± 0.06*
Younger rats	ZnDF	24.32 ± 0.83	42.11 ± 3.90	33.50 ± 3.52	0.108 ± 0.07
	ZnPF	22.44 ± 0.85	33.86 ± 9.08	35.75 ± 4.98	0.124 ± 0.12
	ZnAL	24.04 ± 0.86	29.63 ± 4.93	32.38 ± 2.93	0.092 ± 0.08
	Average	23.60 ± 0.85	35.20 ± 5.97 <sup>4)5)</sup>	33.88 ± 3.81 <sup>4)5)</sup>	0.108 ± 0.09*

1) ZnDF : Zn deficient, ZnPF : Zn pair-fed, ZnAL : Zn ad-libitum

2) Values are mean ± S.E

3) Not significant among 3 groups by Duncan's multiple range test.

4) Food efficiency ratio = weight gain(g)/food intake(g)

5) \*p < 0.05, \*\*\*p < 0.001 by t-Test in average of 3 dietary groups between two age groups.

4 통계처리

각 실험의 결과는 SAS program을 이용하여 실험군마다 평균 ± 표준오차를 계산하였고 연령군간의 차이는 t-Test로 검증하였다. 각 연령군내 ZnDF, ZnPF, ZnAL의 식이군간에는 ANOVA test 후  $p < 0.05$  수준에서 Duncans multiple range test로 각 군간의 차이에 대해 유의성을 검증하였다.<sup>26)</sup>

결과 및 고찰

1. 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율

실험기간 동안 매일 측정된 식이섭취량과, 실험식이 공급 직전과 2주, 4주째의 체중 측정을 통한 체중증가량, 그리고 이를 이용해 계산한 식이효율은 Table 4에 나타내었고, 4주간의 체중변화는 Fig 1에 표시하였다.

식이섭취량은 두 연령군 모두 식이 아연 함량에 따라 유의적인 차이가 나지 않았고 나이가 많은 쥐와 나이가 적은 쥐의 평균 식이섭취량도 유의적인 차이가 없었다.

체중증가량은 두 연령군내에서 식이군에 따른 유의적인 차이는 없었으나 나이에 따른 차이는 현저하게 나타났다. 나이가 적은 쥐는 체중이 꾸준히 증가하는 경향이었으나 나이가 많은 쥐의 체중은 실험초기에 감소했다가 그 후 회복되는 경향을 보였는데, 이는 나이가 많은 쥐는 나이가 적은 쥐에 비해 새로운 식이내용과 일반고형식이에서 분말실험 식이로의 변화된 새로운 식이형태에 초기에는 적응하지 못해 일시적으로 체중감소가 일어난 듯하며 나이가 적은 쥐보다 적응기간이 더 필요한 것으로 사료된다.

아연 결핍쥐의 경우 표준식이의 쥐보다 식이 효율이 낮았다는 보고가 있으나<sup>27)</sup> 본 실험에서의 식이효율은 두 연령군

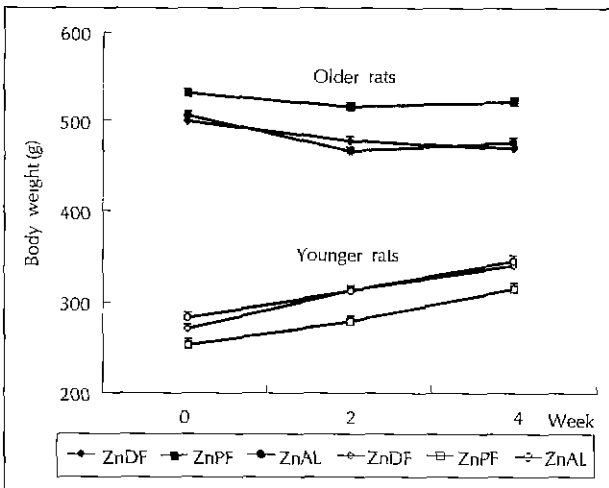


Fig. 1. Effects of dietary Zn levels on body weight. Values are mean ± S.E.

모두 식이 아연 함량에 따른 유의적인 차이가 없었다. 그러나 나이가 많은 쥐는 체중의 감소로 인해 나이가 적은 쥐보다 평균 식이효율이 유의하게 낮았다.

본 실험에서는 아연의 과량 복용시의 독성을 우려해 식이 아연의 수준을 결핍과 정상수준으로 설정하였다. 실제로 실험동물들이 섭취한 아연의 양은 아연결핍군의 쥐는 평균 27µg/day, 정상아연군의 쥐는 평균 881µg/day로 독성을 일으키지는 않는 수준이었고, 아연결핍군은 정상군의 약 3% 정도로 낮은 아연 섭취를 보였다. 아연 결핍시에는 일반적으로 식이섭취량의 감소가 일어나므로 본 실험에서는 식이섭취량의 차이에 의한 영향을 최소화하기 위하여 아연 pair-fed군을 설정했으나 아연결핍군에서 기대했던 식이섭취 감소가 일어나지 않아 ZnPF군과 ZnAL군에 유의한 차이가 없었다. 이는 6주간 아연 결핍식을 주었을 때 총식이 섭취량에 거의 차이가 없었던 Hwang and Kim<sup>28)</sup>의 연구와 같은 결과를 보인다.

2. 혈청과 간의 아연 함량

혈청과 간의 아연 함량을 측정한 결과는 Table 5와 같다.

혈청 아연의 함량은 나이가 많은 쥐에 있어서는 아연결핍군이 정상아연군보다 유의하지는 않았으나 낮은 경향을 보였다. 나이가 적은 쥐의 경우는 실험식이 공급기간 동안 아연 결핍 식이에 의해 혈청 아연농도는 영향을 받지 않았다 즉 식이 아연 결핍에 대한 영향은 나이가 적은 쥐보다 나이가 많은 쥐가 더 영향을 많이 받는 경향이였다. 각 연령군내 세 식이군의 평균 혈청 아연 함량은 나이가 적은 쥐보다 나이가 많은 쥐가 유의하게 낮게 나타났다. 일반적으로 식이 아연이 결핍되면 혈장 아연의 농도와 세포 외액의 SOD (EC-SOD)의 활성이 낮아진다고 보고되어 있다.<sup>12)</sup>

간조직의 아연 함량은 두 연령군에서 모두 아연결핍군 (ZnDF)은 정상아연군(ZnAL)보다는 낮은 경향이였으나

Table 5. Effect of dietary Zn levels on serum and liver Zn concentrations (ppm)

Group <sup>1)</sup>		serum	liver
older rats	ZnDF	1.76 ± 0.08 <sup>2,3)</sup>	3.78 ± 0.09
	ZnPF	2.06 ± 0.11	3.66 ± 0.08
	ZnAL	2.04 ± 0.11	3.93 ± 0.07
	Average	1.96 ± 0.10***	3.80 ± 0.08*
younger rats	ZnDF	2.16 ± 0.04	3.34 ± 0.07
	ZnPF	2.13 ± 0.06	3.45 ± 0.07
	ZnAL	2.10 ± 0.07	3.79 ± 0.16
	Average	2.13 ± 0.06***	3.56 ± 1.10

1) ZnDF : Zn deficient, ZnPF : Zn pair-fed, ZnAL : Zn ad-libitum

2) Values are mean ± S.E

3) Not significant among 3 groups by Duncan's multiple range test

4) \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  by t-Test in average of 3 dietary groups between two age groups

유의한 차이를 보이지는 않았다. 이는 아연 결핍식이 혈장 아연 수준은 현저히 감소시켰으나 폐와 간 조직의 아연 농도에는 유의적인 변화를 보여주지 않았다는 보고<sup>10)</sup>와 일치하고 있다. 또한 아연 결핍시 혈장에서는 아연 농도가 현저히 떨어지나 대부분 연조직에서는 유의적으로 감소하지 않는다고 하며,<sup>20)</sup> 또한 아연의 체내 항상성은 성장과 배설 속도의 조절후에 재설정될 수 있어 기능적이나 생화학적 변화는 크게 일어나지 않는다고 한다.<sup>21)</sup> 각 연령군내 세 식이군의 평균 간 아연 함량은 나이가 적은 쥐보다 나이가 많은 쥐가 유의하게 높게 나타났다.

### 3. TBARS

#### 1) 혈장 TBARS

혈장 TBARS 함량은 Fig 2에서 볼 수 있는 바와 같이 두 연령군 모두 아연결핍군이 정상아연군(ZnAL)보다 유의하게 높은 것을 볼 수 있었다. ZnPF군과 ZnAL군의 혈장 TBARS 수준은 차이가 없이 나타났다. 아연이 결핍된 군에서 TBARS의 함량이 유의적으로 높은 것은 아연 결핍시 free radical 제거가 감소되어 지질과산화물이 증가되었기 때문으로 사료된다.<sup>22)</sup>

아연은 비효소적 항산화제와 산화촉진제의 대사, 기능, 상호작용 등에 직접 또는 간접적으로 영향을 미치고 free radical 생성을 감소시킨다고 알려져 있으며 과산화 손상이 일어난 적혈구 막을 아연 공급에 의해 안정화시켰다는 보고도 있다.<sup>20)</sup> 그러나 세 식이군의 평균 혈장 TBARS의 함량은 나이에 따라서는 유의한 차이를 보이지 않았다.

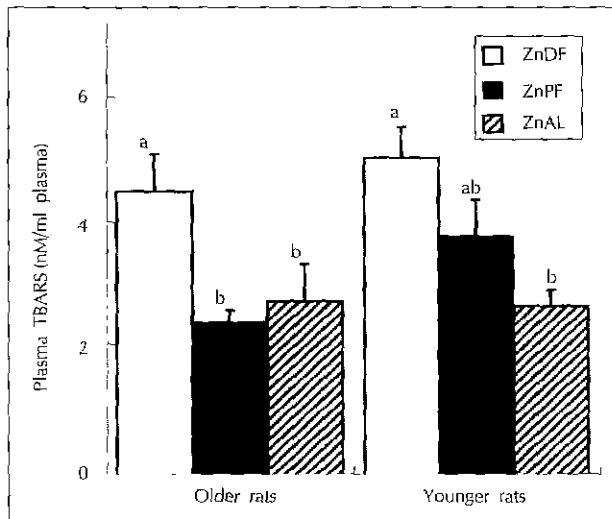


Fig. 2. Effects of dietary Zn levels on plasma TBARS concentration. ZnDF : Zn deficient, ZnPF : pair-fed, ZnAL : Zn ad-libitum. Values are mean  $\pm$  S.E. Means with the different letter are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Mean was not significantly different by t-Test between two age groups

#### 2) 간 TBARS

간의 TBARS 함량은 Fig 3에서 볼 수 있듯이 두 연령군에 있어서 모두 식이아연 함량에 따른 차이는 없었으며, 세 식이군의 평균 간 TBARS 함량도 나이에 따라 유의한 차이가 없었다.

식이 아연 결핍시 폐와 간의 microsome에서 free radical 생성이 증가되었으며,<sup>10)</sup> 식이 아연 결핍에 의해 mitochondria와 microsome 막의 과산화가 지방산 조성 관련되어 일어났으나 in vivo에서는 유의적이지 않았다는 보고도 있다.<sup>9)</sup> 따라서 아연 결핍에 의한 간의 free radical 증가와 그에 따른 TBARS 생성에 대해서는 잘 조절된 연구가 필요하다.

### 4. Lipofuscin

간에 축적된 lipofuscin 함량을 측정된 결과 Fig 4에서와 같이 두 연령군내에서 모두 식이 아연 함량에 따른 차이는 없었다. 따라서 본 실험의 조건에서는 아연 결핍이 free radical 제거를 감소시켜 lipofuscin의 생성량을 증가시키지는 않은 것으로 나타났다. 아연 결핍과 lipofuscin 생성량과의 관계에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

나이에 따른 세 식이군의 평균 lipofuscin 함량에 있어서는 현저한 차이를 보여 나이가 많은 쥐에서 유의적으로 높게 나타났다. Lipofuscin은 생물체의 연령이 증가함에 따라 점차 축적되는 세포노화 지표의 하나로 생각되며 본 실험

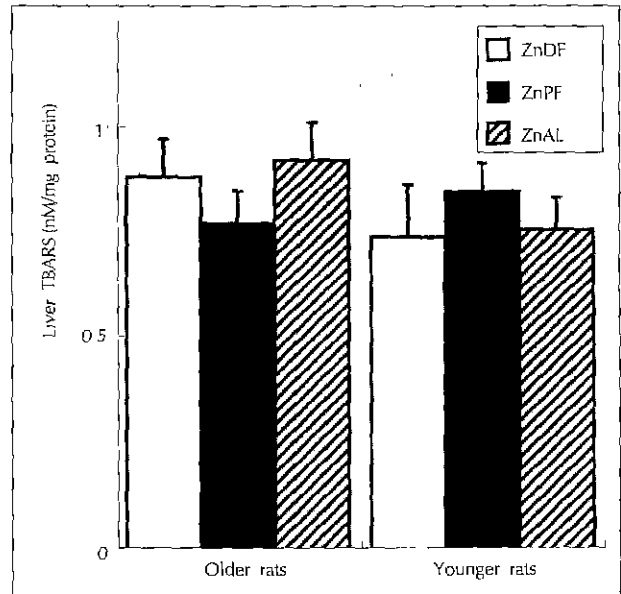
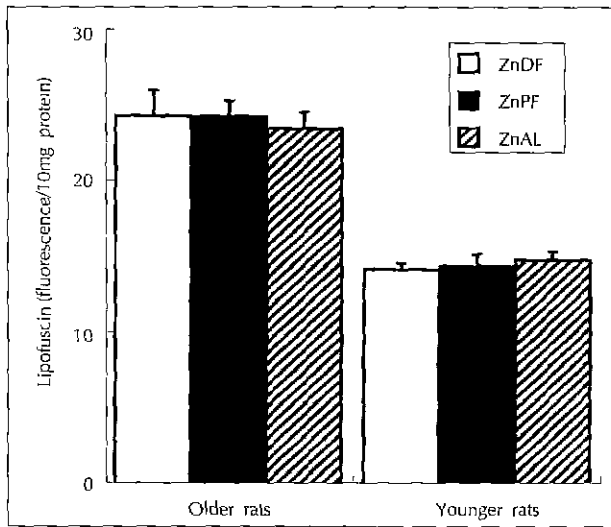
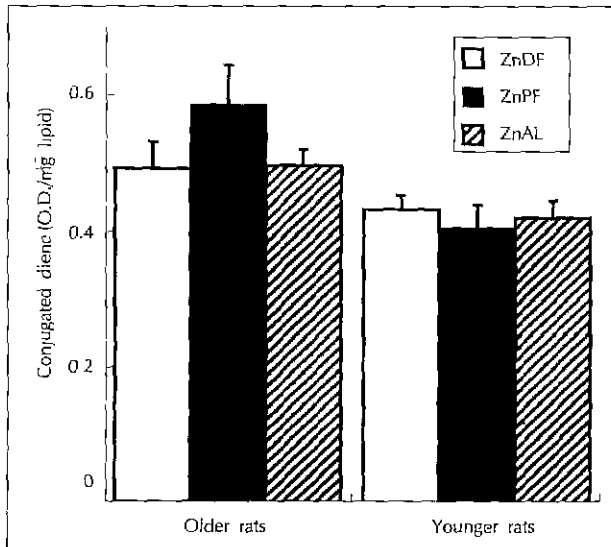


Fig. 3. Effects of dietary Zn levels on levels on liver TBARS concentration. ZnDF : Zn deficient, ZnPF : pair-fed, ZnAL : Zn ad-libitum. Values are mean  $\pm$  S.E. Not significant among 3 groups within each age at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Mean was not significantly different between two age groups.



**Fig. 4.** Effects of dietary Zn levels on levels on liver lipofuscin concentration. ZnDF : Zn deficient, ZnPF : pair-fed, ZnAL : Zn ad-libitum. Values are mean  $\pm$  S.E. Not significant among 3 groups within each age at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Mean was significantly different at  $p < 0.01$  by t-Test between two age groups.



**Fig. 5.** Effects of dietary Zn levels on levels on liver conjugated diene concentration. ZnDF : Zn deficient, ZnPF : pair-fed, ZnAL : Zn ad-libitum. Values are mean  $\pm$  S.E. Not significant among 3 groups within each age at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Mean was significantly different at  $p < 0.01$  by t-Test between two age groups.

험에서도 나이가 적은 쥐보다 나이가 많은 쥐에서 lipofuscin이 유의적으로 많이 생성된 것을 볼 수 있었다.

많은 동물들의 심장 근육, 뇌, 망막과 같은 조직에서 나이에 따른 lipofuscin의 축적이 일어났고 vitamin E가 항산화제로 작용함이 보고되었으며,<sup>24-30,31</sup> 노화의 가설에 의해 식이 제한에 의해 lipofuscin 축적이 감소된다는 보고도 있

다.<sup>32</sup> 따라서 연령이 증가할수록 free radical에 의한 지질과산화 반응은 증가하는 것으로 보인다.

### 5. Conjugated diene

Free radical에 의한 지질과산화물 생성의 지표로 간의 conjugated diene의 함량을 측정된 결과는 Fig 5와 같다.

간의 conjugated diene 함량은 두 연령군에서 모두 식이 아연의 함량에 따른 유의적인 차이가 없었다. 식이 아연이 결핍된 쥐에 있어서 간 microsome과 mitochondria 막에서 conjugated diene과 같은 지질과산화물 생성의 증가가 유의적이지 않았다는 보고가 있으나<sup>33</sup> 간 microsome에서 conjugated diene과 MDA같은 지질과산화물 생성이 증가되었다는 보고도 있다.<sup>34</sup>

나이에 따라서는 나이가 많은 쥐가 나이가 적은 쥐보다 세 식이군의 평균 conjugated diene 함량이 유의적으로 높아 lipofuscin과 마찬가지로 연령증가에 따라 간에서의 축적량이 많아짐을 볼 수 있었다.

### 요약 및 결론

식이아연 결핍과 나이가 흰쥐의 혈청과 간의 아연 함량, 혈장과 간의 thiobarbituric acidreactive substance(TBARS) 및 간의 lipofuscin과 conjugated diene 농도에 미치는 영향을 살펴본 결과는 다음과 같다.

두 연령군 모두 아연 결핍군에서 식이섭취량의 감소를 예상하였으나 식이섭취량의 감소가 없었고 나이에 따른 평균 식이섭취량도 유의한 차이가 없었다.

혈청 아연 함량은 나이가 많은 쥐의 경우 아연결핍군에서 정상아연공급군보다 유의하지는 않았으나 낮은 경향을 보였고, 나이가 적은 쥐에서는 아연 함량에 따른 유의적인 차이가 없었다. 세 식이군의 평균 혈청 아연 함량은 나이가 적은 쥐가 나이가 많은 쥐보다 유의하게 높았다.

간의 아연 함량은 두 연령군내에서 모두 식이에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았으나 아연결핍군이 아연정상군(ZnAL)보다는 낮은 경향이였다. 나이가 많은 쥐는 세 식이군의 평균 간 아연 함량이 나이가 적은 쥐보다 유의적으로 높았다.

혈장 TBARS는 두 연령군 모두 식이 아연 결핍군에서 정상아연 식이군에서보다 유의적으로 많이 생성되었으며 나이에 따른 유의적인 차이는 없었다.

간 TBARS는 식이 아연 함량과 나이에 따라 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다.

간 lipofuscin과 conjugated diene 함량은 각 연령군내

에서 식이 아연 섭취량에 따라서 유의적인 차이가 없었다. 나이에 따라서는 나이가 많은 쥐에서 나이가 적은 쥐에서보다 유의적으로 많이 생성되었다.

결과적으로 지질과산화 지표의 하나인 혈장 TBARS 수준이 두 연령군에서 모두 식이 아연 결핍군에서 증가되는 것으로 보아 부분적으로나마 아연 결핍이 지질과산화를 증가시킴을 볼 수 있었다. Lipofuscin 함량과 conjugated diene의 함량은 식이 아연 결핍에 의한 영향은 없었으나 나이가 적은 쥐보다 나이가 많은 쥐에 있어서 유의하게 더 높은 것으로 보아 연령 증가에 따라 지질과산화가 더 많이 진행됨을 확인할 수 있었다.

Literature cited

- 1) Ziegler and Filer. Present knowledge in nutrition. 6th ed. ILSI, 1991
- 2) Maurice ES, Vernon RY. Modern Nutrition in Health and Disease. 8th ed. pp.214-230 Lea & Febiger, 1995
- 3) Tammy MB, William JB. The physiological role of zinc as an antioxidant. Free Radical Biology & Medicine 8. 281-291, 1990
- 4) 강경홍. 이주하 공역 영양성분으로 본 노화억제. pp.238-253 형설출판사, 1993
- 5) Eleanor DS. Nutrition in Aging. 2nd ed. Mosby, 1993
- 6) Stephen CC. Evidence that adverse effects of zinc deficiency on essential fatty acid composition in rats are independent of food intake Br. J Nutr 59. 273-278, 1988
- 7) Jutta DH, Tammy MB, William JB. Effect of zinc and copper deficiency on microsomal NADPH-dependent active oxygen generation in rat lung and liver. J Nutr 117. 894-901, 1987
- 8) Tammy MB, Stan K, William JB Effect of dietary zinc on endogenous free radical production in rat lung microsomes. J Nutr 116 1054-1060, 1986
- 9) Carla GT, William JB, Tammy MB. Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. J Nutr 118: 613-621, 1988
- 10) Katherine LO, Mari SG, Gershwin ME, Andrew GH, Bo L, Carl L. Extracellular superoxide dismutase activity is affected by dietary zinc intake in nonhuman primate and rodent models. Am J Clin Nutr 61 1263-1267, 1995
- 11) Bunk MJ, Dnistrian AM, Schwartz MK, Rivlin RS. Dietary zinc deficiency decreases plasma concentrations of vitamin E. Proc Soc Exp Biol Med 190. 379-384, 1989
- 12) Sullivan JF, Jetton MM, Hahn HKJ, Burch RE. Enhanced lipid perox-

- idation in liver microsomes of zinc-deficient rats. Am J Clin Nutr 33: 51-56, 1980
- 13) James PB, Marilyn RF. Effect of a zinc-deficient diet on lipid peroxidation in liver and tumor subcellular membranes. Proc Soc Exp Biol Med. 179 187-191, 1985
- 14) AIN Standards for nutrition studies report. J Nutr 107: 1340-1348, 1977
- 15) Keiichiro F, Pablo F, Robert M, Bert LV. Determination of zinc in biological materials by atomic absorption spectrophotometry. Anal Chem 36(13) 2407-2411, 1964
- 16) 임정남 식품의 무기성분 분석. 식품과 영양 17(1): 42-46, 1986
- 17) Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation(malonyl dialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem 16 359-364, 1966
- 18) Dousset JC, Trouilh M, Foglietti MJ. Plasma malonaldehyde levels during myocardial infarction. Clinica Chimica Acta 129. 319-322, 1983
- 19) Choi EJ. A study on lipid peroxides and glycosylated serum proteins in KK mice fed vitamin E supplemented diet Master's degree thesis, Graduate school. Seoul National Univ., 1994
- 20) Gary LP. Review of the Folin Phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. Anal Biochem 100 201-220, 1979
- 21) 실험 생화학 pp.14-16. 대한생화학회, 1989
- 22) Fletcher BL, Dillard CJ, Tapple AL. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. Anal Biochem 52. 1-9, 1973
- 23) Anthony DB, David AH. Tissue vitamin E levels and lipofuscin accumulation with age in the mouse Journal of Gerontology 36(5) 529-533, 1981
- 24) Reddy K, Fletcher B, Tapple A, Tapple AL. Measurement and spectral characteristics of fluorescent pigments in tissues of rats as a function of dietary polyunsaturated fats and vitamin E J Nutr 103: 908-915, 1973
- 25) Frings CS, Dunn RT Am J Clin Pathol 53. 89, 1970
- 26) 조인호. SAS 강좌와 통계 컨설팅. 제일 경제 연구소, 1993
- 27) Kim MH, Sung CJ. The effect of the levels of dietary zinc and alcohol consumption on lipid metabolism in the rats. Korean J Nutrition 24(2). 87-96, 1991
- 28) Hwang KS, Kim MK Effects of dietary zinc levels and kinds of lipid on the lipid metabolism in the rats. Korean J Nutrition 17(2). 145-153, 1984
- 29) Agnes MH, Stanley NG Effects of dietary zinc and calcium on the retention and distribution of zinc in rats fed semipurified diets. J Nutr 100. 949-954, 1970
- 30) Bettger WT, Fish TJ, O'Dell BL. Effects of copper and zinc status of rats on erythrocyte stability and superoxide dismutase activity. Proc Soc Exp Biol Med 158: 279-282, 1978
- 31) Misaghieh MM, Lucille SH Effect of large amounts of vitamin E during pregnancy and lactation. Am J Clin Nutr 30. 1629-1637, 1977
- 32) Lipofuscin, the age pigment Nutr Rev 51(7). 205-206, 1993