

아연과 Phytic Acid 수준별 식이가 흰쥐의 효소활성 및 지질대사에 미치는 영향

최 도 점^{*} · 최 미 숙

대구한의대학교 한방피부미용학과^{*} · 충청대학 다이어트건강관리과

Effects of Dietary Zinc and Phytic Acid Levels on Enzyme Activity and Lipid Metabolism of Rats

Choi, Do Jeom^{*} · Choi, Mee Sook

Dept. of Herbal Skin Care, Daegu Haany University, Gyeongsan, Korea^{*}

Dept. of Diet and Health Management, Chung Cheong University, Cheongwon, Korea

ABSTRACT

In order to investigate the effect of dietary zinc and phytic acid levels on enzyme activity and lipid metabolism in rats, male Sprague-Dawley rats, weighing approximately 60-74g, were fed different diets which contained 0, 0.35 or 1.05% phytic acid each at 3 levels of zinc (0, 30 and 1500ppm zinc) for 28 days. Body weight gain, food consumption, and food efficiency ratio were lower in the rats fed a zinc deficient diet (0ppm zinc) than those consuming 30 or 1500ppm dietary zinc. The activities of GOT, GPT and alkaline phosphatase were lower in the rats consuming 30ppm zinc than those fed 0 or 1500ppm zinc diet. The activity of GOT was increased in rats consuming 0.35% phytic acid, whereas that of alkaline phosphatase was decreased in the rats fed phytic acid-containing diet. The concentration of phospholipid in serum was higher in rats fed 0.35% dietary phytic acid, whereas that of liver phospholipid was higher in zinc deficient groups, and increased by addition of dietary phytic acid. The concentration of triglyceride in serum from rats fed 30ppm zinc was lower than those fed 0 or 1500ppm zinc. On the other hand, liver triglyceride was higher in both the rats fed 30ppm zinc and 0.35% phytic acid. The concentration of serum total cholesterol was lower in the rats fed 30ppm zinc diet, and it was increased by addition of dietary phytic acid. But liver total cholesterol was higher in 30ppm zinc group. HDL-cholesterol in serum was the highest in both rats consuming 30ppm zinc and 0.35% dietary phytic acid, and the ratio of HDL-cholesterol to total cholesterol was higher in rats consuming 30ppm zinc diet. In conclusion, we suggest that coronary heart disease or liver disease can be prevented with phytic acid in rats which are fed the high zinc diet.

Key words: phytic acid, alkaline phosphatase, phospholipid, HDL-cholesterol

접수일: 2005년 9월 18일 채택일: 2005년 10월 15일

Corresponding Author: Choi, Do Jeom Tel: 82-43-231-5661

E-mail: dojeomi@naver.com

I. 서론

아연은 고등동물의 성장에 필수적인 영양소로서 고등동물에서는 정상적인 세포분열과 단백질 합성을 위해 필요하며 수많은 metalloenzyme의 활성을 조절하는 보조인자로도 중요하다(Reinhold et al. 1970). 따라서 세포 내 Zn 수준은 많은 대사과정 특히 Zn-dependent enzyme의 활성화 또는 조절을 통하여 혼산의 합성이거나 분해, 지질, 단백질 및 당질대사에 관여한다고 보고 된 바 있다(Underwood 1977).

Phytic acid는 식품 중에 존재하는 Ca, Cu, Fe, Mg과 Zn 등을 비롯한 다가 양이온(무기질)과 강력한 결합체를 형성하여 장관 내에서 이들 무기질의 흡수를 저하시켜 생체이용율을 감소시키는 반영양인자(antinutrient)로 알려져 왔다(Harland & Morris 1995). 또한 phytic acid는 곡류, 두류, 종실류 및 견과류 등의 식물성 식품 중에 1~5%정도 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며(Leonnerdal et al. 1989) 우리나라의 경우 phytic acid의 섭취량은 0.4 ~ 2% 정도로 추정하고 있다(이종호 등 1993). 또한 우리의 식생활은 밥이 주식이며 쌀의 경우 도정의 정도에 따라서 phytic acid의 함량은 달라질 수 있으며, 식물성 식품의 섭취가 서구의 식생활에 비해 높은 편이다.

Helwig 등(1978)은 여러 수준의 Zn/Cu 비율을 달리하여 닭에게 급여한 결과 난황과 혈청중의 cholesterol 농도 간에는 차이가 없다고 하였다. Kashiwabara 등(1982)은 이유한 쥐에게 Zn 결핍식 이를 급여한 결과 혈청 중 Zn 농도, glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) 및 glutamic pyruvic transaminase (GPT)의 활성은 증가하는 반면, alkaline phosphatase의 활성과 total protein의 농도는 감소하며 urea nitrogen, total cholesterol 및 triglyceride의 농도는 변화되지 않는다고 하였다. 특히 효소 중 alkaline phosphatase는 Zn 결핍을 생화학적으로 잘 규명해주는 Zn metallalloenzyme이며 Zn 결핍시 그 활성이 감소하게 된다(승정자 1984). Oberleas 등(1966)에 의하면 phytic acid를 많이 함유한 식이에서 Zn의 생체 이용율은 phytic acid와 Zn의 mole 비에 따라 달라지는데

식이 중 phytic acid/Zn mole 비가 3~6 사이에서는 쥐의 성장을 크게 감소시키지 않는다고 하였다. Klevay 등(1975)은 식이 중 Zn/Cu 비율이 높으면 판상 동맥질환의 위험한 인자가 된다고 하였으며, 쥐에게 Zn/Cu 비율을 달리하여 각각 2% sodium phytate를 첨가한 식이로 급여한 결과 Zn/Cu 비율이 높은 군에서 혈청 중 total cholesterol 농도가 감소된다고 하였다. 이혁화(1999)는 쥐에 있어서 식이 phytic acid는 Zn 결핍을 초래하여 혈청 콜레스테롤의 농도를 현저한 감소를 유발할 수 있다고 보고하였다. Rao 등(1991)은 phytic acid의 식이 급여가 혈청 중 콜레스테롤과 중성지방의 농도를 현저히 낮추었다고 보고했다.

Zn 과량에 의한 독성 효과도 식이 단백질원과 수준에 따라 달라서 20%와 30% casein 및 20% soybean oil meal에서는 2500ppm 이상에서, 30% soybean oil meal에서는 5000ppm 이상에서 사육한 쥐에게 독성효과가 나타났으며, 20% casein에 Zn 첨가량이 2500ppm 이상에서는 Zn 무첨가군보다 중체량이 더 감소된다고 하였다(McCall et al. 1961). Hooper 등(1980)은 건강한 성인남자에게 1일 440mg의 Zn을 5주간 투여한 결과 high-density lipoprotein(HDL)-cholesterol 함량이 25% 감소되나, total cholesterol, triglyceride 및 low-density lipoprotein(LDL)-cholesterol의 함량은 변화되지 않았다고 보고함으로써 Zn이 사람에게 있어서 과량으로 섭취될 경우 "atherogenic"하다는 것을 확인했다.

반면에 Yoshida 등(1983)에 의하면 phytic acid는 무기질의 생체이용율에 저해효과를 갖지 않는다고 하였다. 특히 돼지와 가금류에서는 phytate-p를 이용하는 능력이 나이를 먹음에 따라 증가된다고 하였으나, 성숙한 쥐에게서는 오히려 phytic acid의 가수분해가 현저히 감소된다고 하였으며 이러한 실험결과의 차이는 동물의 종, 연령에 의한 장내 phytic acid의 분해능력이 다르고 또 phytic acid 섭취에 대한 그들의 적응성이 다르기 때문에 생긴다고 하였다.

이상의 연구에서 보면 일반적으로 고 cholesterol 혈증을 유발하는 것으로 알려진 Zn/Cu의 증가된 비율이 phytic acid의 처리에 의해 낮아질 수 있기 때문에 phytic acid는 심장질환의 유발 위험성

을 낮추어 줄 수 있다는 보고도 있지만 연구자나 실험동물에 따라 서로 상충된 결과들을 보이고 있음을 알 수 있다.

따라서 본 연구에서는 우리나라에서 대량적으로 섭취하고 있는 식물성 식품중의 phytic acid의 함량과 섭취량을 토대로 흰 쥐에게 식이로 첨가하였을 때 Zn과 관련하여 그의 성장률, 효소활성 및 지질대사를 측정하고 이들의 상호관계를 비교 검토함으로써 심장질환 예방을 위한 기초자료를 제시하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물의 사육

Sprague-Dawley 종 수컷 흰 쥐 54마리를 실험 시작 전 1주일간 환경에 적응시킨 다음, 체중이 60~74g인 쥐들을 실험군 별로 평균체중이 비슷하도록 6마리씩 9군으로 나누어 스테인레스 스틸 사육장에서 28일간 사육하였다.

무기질 오염을 방지하기 위하여 사육장 및 사육에 사용되는 모든 기구는 ethylene-diamine-tetra acetate(EDTA, 4g/l) 용액으로 세척한 후, 탈이온수로 충분히 헹구어 사용하였다. 식이와 물(탈이온수)은 자유로이 섭취하도록 하였고, 사육실 온도는 18~23°C, 습도는 60%(RH)로 조절하였으며, 점등관리는 낮과 밤으로 12시간 주기로 조절하였다.

2. 실험동물의 식이

본 실험에 사용된 기본식이는 Table 1과 같다. 성장기의 Zn 최소요구량은 단백질원을 casein으로 하였을 때 12ppm이라고 보고 되어있으며 (American Institute of Nutrition 1977) 본 실험에서는 AIN-76TM mineral mixture(Forbes & Yohe 1960)에 준하여 Zn을 0ppm(결핍군), 30ppm(정상군) 및 1500ppm(과량군) 수준으로 ZnSO₄ · 7H₂O를 기본 식이에 첨가하였으며, 이를 Zn 각 수준에 phytic acid를 0, 0.35 및 1.05%가 되도록 sodium phytate (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)를 각각 첨가하였다. 1g의 sodium phytate 중 sodium을 제외한 phytic acid의 양은 0.7g이었다. 따라서 기본

식이 중 phytic acid의 함량을 0%(무첨가), 0.35% phytic acid군은 0.7g의 1/2로 산출하였으며, 1.05%의 phytic acid는 0.35% phytic acid의 3배로 설정 하여 첨가하였으며, 각 해당식에서 Zn과 phytic acid가 첨가된 양만큼 sucrose를 감하였다.

단백질원으로는 casein(Yakuri Pure Chemicals Co., Ltd., Japan)을 사용하였으며, casein 속에 함유되어 있는 Zn 및 기타 무기질을 제거하기 위하여 0.15% EDTA용액에 씻고 탈이온수로 충분히 헹군 뒤 40°C의 열풍 건조기에서 건조시켜 마쇄하여 사용하였다. 이때 기본 식이 중에 잔존하는 Zn 함량은 2.3ppm이었다.

Table 1. Composition of basal diet

Ingredient	Composition(%)
Casein	20.0
DL-Methionine	0.3
Cornstarch	15.0
Sucrose	50.0
Cellulose*	5.0
Corn oil	5.0
AIN mineral mixture**	3.5
AIN vitamin mixture***	1.0
Choline bitartrate	0.2

* Ethyl cellulose: Junsei chemical Co., Ltd., Japan.

** Zinc free mineral mixture, sucrose was added at 1.6g/kg in place of ZnO.

Calcium phosphate, dibasic 500.0, Sodium chloride 74.0, Potassium citrate, monohydrate 220.0, Potassium sulfate 52.0, Magnesium oxide 24.0, Manganous carbonate 3.5, Ferric citrate 6.0, Cupric carbonate 0.3, Potassium iodate 0.01, Sodium selenite 0.01, Chromium potassium sulfate 0.55, Sucrose, finely powdered to make 1000.0g

*** Vitamin mixture(/kg), Thiamin. HCl 600mg, Riboflavin 600mg, Pyridoxine. HCl 700mg, Nicotinic acid 3g, D-calcium pantothenate 1.6g, Folic acid 200mg, D-Biotin 20mg, Cyanocobalamin 1mg, Vitamin A 400,000 I.U., dl-a-Tocopheryl acetate 5,000 I.U., Cholecalciferol(vitamin D) 2.5mg, Menaquinone 5.0mg, Sucrose, finely powdered to make 1000.0g

그 외 사용된 식이는 시판되고 있는 DL-Methionine, 옥수수 전분, glucose, corn oil, choline bitartrate와 실험실에서 혼합한 vitamin과 mineral mixture를 사용했다. 본 실험에 사용된 기본식이는 Table 1과 같다.

3. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 측정

- (1) 체중증가량; 체중은 매주 1번씩 일정한 시간에 측정하였으며, 증체량은 실험종료 체중에서 실험개시 체중을 감하여 총체중증가량을 구하고 실험일수로 나누어 1일 평균 증체량으로 하였다.
- (2) 식이섭취량; 매일 일정한 시간에 측정하여 1일 평균 식이섭취량을 구하였다.
- (3) 식이효율(Food Efficiency Ratio ; FER); 실험기간 중 증체량을 식이섭취량으로 나누어 산출하였다.

$$\text{FER} = \frac{\text{증체량(g)}}{\text{섭취된 식이량(g)}}$$

4. 시료의 채취

혈액은 실험식이로 28일간 사육한 쥐를 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취하여 cardiac puncture로 채혈하여 일부는 EDTA-2K 항응고제가 든 병에 넣어 전혈로 사용하였고, 나머지는 원심분리관에 넣어 응고시킨 후 3000rpm에서 30분간 원심하여 혈청을 분리하여 즉시 혈액분석에 사용하였다. 채혈이 끝난 쥐는 개복하고 간을 절취하여 생리식염수로 표면에 묻은 혈액을 씻어내리고 여과지로 물기를 닦아낸 후 무게를 측정하였고, 알루미늄포일에 싸서 냉동보관하면서 시료로 사용하였다.

5. 시료의 분석

식이와 혈청중의 Zn은 Thompson-Blanchflower method(1971)에 준한 습식분해를 하여 Atomic Absorption Spectrophotometer(Shimadzu AA646)로 213.9nm에서 측정하였다.

혈청중 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) 및 glutamic pyruvic transaminase(GPT)는 Reitman-Frankel method(1957)로 alkaline phosphatase는

Kind-King method(1954)로 측정하였다.

혈청중의 phospholipid, triglyceride, total cholesterol 및 high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-cholesterol)은 효소법에 의한 측정용 kit(IATRON Co., Ltd., Japan)시약으로 측정하였다. 간 지질은 Zak 등 (1954) 방법에 준하여 다음과 같이 지질을 추출하여 측정하였다. 즉 간 조직 0.2g에 중류수 9.8ml를 가해 마쇄한 후, 그 중 1ml를 취하여 acetone:alcohol 혼합액(1:1) 9ml를 가하여 끓기 시작한 즉시 냉각시켜 원심하고 그 상층액을 취하여 용매를 휘발시킨 후 phospholipid, triglyceride 및 total cholesterol의 함량을 효소법에 의한 측정용 kit(IATRON Co., Ltd., Japan)시약으로 측정하였다.

6. 자료의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과의 통계처리는 SPSS for windows(version 10.0) Program으로 전산처리하였다. 실험군당 평균치와 표준편차를 구하였고 이를 평균치간의 차이에 대한 유의성 검정은 처치변인별로 Scheffe(1954)에 의한 변량분석(Analysis of variance)을 하였으며, 이에 따른 주효과와 상호작용효과를 분석하기 위하여 Scheffe검정으로 처리하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

이유한 Sprague Dawley종 수컷 환 쥐에게 Zn과 phytic acid 수준을 달리하여 28일간 자유급식한 후의 증체량, 식이섭취량 및 식이효율을 측정하여 얻은 결과는 Table 2와 같다.

체중증가량은 식이 중 Zn 함량에 의해서 영향을 받았으며($p<0.01$), phytic acid 함량에 의해서는 영향을 받지 않았고, Zn과 phytic acid 상호작용효과도 없었다. Zn 수준에 따라서는 Zn 결핍군이 30과 1500ppm Zn군에 비해 유의하게 증체량이 낮았으며($p<0.01$), 30과 1500ppm Zn군 간에는 비슷하였다.

식이섭취량은 Zn 함량에 의해 영향을 받았으며($p<0.01$), Zn 수준에 따라서는 Zn 결핍군이 30

및 1500ppm Zn군에 비해 유의하게 낮게 나타났다($p<0.01$). Phytic acid 함량은 식이섭취량에 영향을 미치지 않았으며, Zn과 phytic acid 상호작용 효과도 없었다.

식이효율은 Zn 함량에 의해 영향을 받았으며 ($p<0.01$), Zn 수준에 따라서는 Zn 결핍군이 30 및 1500ppm Zn군에 비해 뚜렷하게 감소되었으며 ($p<0.01$), 30과 1500ppm Zn군간에서는 유사하였다.

Table 2. Weight gain, rate of weight gain, food consumption, food efficiency ratio for rats fed diets containing 0, 30 and 1500ppm zinc at three different levels of phytic acid for 28days^{1,2}

Dietary composition	Initial weight(g)	Weight gain(g)	Rate of weight gain (g/day)	Food consumption (g/day)	Food efficiency ratio
0 ppm Zn					
0.00% Phytic acid	65.75± 9.22	68.75±31.28	2.54±1.16	8.70±0.33	0.29±0.01
0.35% Phytic acid	67.14±10.15	62.57±12.06	2.32±0.45	8.26±0.28	0.29±0.01
1.05% Phytic acid	69.29± 8.50	76.29±16.63	2.83±0.62	9.09±0.15	0.31±0.02
30 ppm Zn					
0.00% Phytic acid	65.00± 9.23	144.14±30.30	5.34±1.12	13.09±0.53	0.40±0.01
0.35% Phytic acid	65.14± 7.57	146.29±22.30	5.42±0.83	13.79±0.01	0.40±0.01
1.05% Phytic acid	65.86± 8.87	157.14±13.85	5.82±0.51	14.21±0.52	0.48±0.01
1500 ppm Zn					
0.00% Phytic acid	68.82± 9.06	135.53±25.28	5.02±0.93	12.82±0.63	0.39±0.01
0.35% Phytic acid	64.17± 8.07	134.83±24.30	5.00±0.90	12.54±0.69	0.40±0.01
1.05% Phytic acid	67.00± 7.92	141.67±24.26	5.25±0.90	13.30±0.55	0.40±0.02
0 ppm Zn³					
0.00% Phytic acid ⁴	67.32± 9.41	69.18±22.81 ^b	2.56±0.85 ^b	8.68±0.49 ^b	0.30±0.01 ^b
0.35% Phytic acid	65.33± 8.62	149.19±23.84 ^a	5.53±0.88 ^a	13.70±0.51 ^a	0.42±0.06 ^a
1.05% Phytic acid	68.82± 9.06	135.53±25.28 ^a	5.02±0.93 ^a	12.82±0.63 ^a	0.39±0.01 ^a
Analysis of variance(P-values)					
Zinc effect		0.01	0.01	0.01	0.01
Phytic acid effect		NS ⁵	NS	NS	NS
Zinc x phytic acid		NS	NS	NS	NS

1 Values are means±SD(n=6).

2 Means within columns not sharing a common superscript letter are significantly different($p<0.01$) by Scheffe' contrasts.

3 Zinc groups 0, 30 and 1500ppm represent rats fed those different zinc contents for all levels of phytic acid intake.

4 Phytic acid groups 0, 0.35 and 1.05% represent rats fed diets having those different phytic acid contents for all levels of zinc intake.

5 NS means not significant.

다. Phytic acid 함량은 식이효율에 영향을 주지 않았으며 Zn과 phytic acid 상호작용에 의한 영향도 없었다.

본 실험의 Zn 결핍군에서 나타난 증상인 성장지연, 목·배 주위의 심한 탈모, 안염 및 식욕부진 등이 여러 연구보고와 유사하게 나타났다. 특히 Zn 결핍군 중에서 phytic acid 수준에 따라 결핍 증상의 정도가 다르게 나타났는데, 1.05% phytic acid군이 0.35 및 0% phytic acid 첨가군보다 결핍 증상이 심하게 나타나지 않았다. 이것은 Ott 등(1964)이 Zn 결핍식이에 0.61% phytic acid를 첨가시켜 양에게 급여한 결과, 첨가하지 않은 군보다 결핍증상이 심하게 나타나지 않았다고 한 보고와 유사하였다.

Williams 등(1970)은 식이 중 Zn 함량이 12ppm 이상에서는 증체량에 거의 영향을 미치지 않는다고 하였고, Wallwork 등(1983)도 15% 단백질 수준에서 Zn 함량이 6, 12 및 18ppm이 되도록 급여 수준을 달리하여 29일간 사육한 결과 6ppm Zn군이 12 및 18ppm Zn군에 비해 증체량이 유의하게 낮았고 12와 18ppm Zn군 간에는 차이가 없다고 하였다.

Zn 과량군(1500ppm)에서는 30ppm Zn군에 비해 증체량이 다소 낮았지만 외관상으로 Zn 과량 급여에 의한 독성현상이 나타나지 않았다. Cox 등(1960)의 보고에 의하면 이유한 흰 쥐에게 4000~6000ppm Zn을 첨가시킨 식이로 8주간 사육한 결과 대조군에 비해 증체량이 유의하게 감소된다고 했으며, Magee 등(1960)은 4~6주된 흰 쥐에게 5주간 5000~10000ppm Zn을 첨가시킨 식이로 사육한 결과 Zn 수준이 높을수록 증체량이 감소된다고 보고하였다. 본 실험의 Zn 과량군인 1500ppm Zn 수준으로는 다른 연구보고(Cox et al. 1960, Magee et al. 1960)에서의 Zn 함량보다는 낮은 수준이기 때문에 정상군인 30ppm Zn군에 비해 증체량이 다소 떨어졌으나 통계적으로 유의한 정도는 아니었고, 외관상의 차이도 나타나지 않았다.

Likuski 등(1964)은 단백질원으로 아미노산과 casein을 사용한 병아리의 식이에 1.8% phytate를 첨가하면 Zn 생체이용율이 저하되어 체중감소가

50%나 되며, 체중 당 식이섭취량(feed/gain)은 증가되었다고 하였는데 본 실험결과에서는 phytate 효과가 인정되지 않았다.

2. 혈청중 GOT, GPT 및 Alkaline phosphatase 활성

Zn과 phytic acid 수준을 달리한 식이로 사육한 쥐의 혈청중 GOT, GPT 및 alkaline phosphatase의 활성은 Table 3과 같다.

GOT의 활성은 식이중 Zn 및 phytic acid 함량에 의해 각각 영향을 받았으며($p<0.01$), Zn과 phytic acid 상호작용효과도 인정되었다($p<0.01$).

Zn 수준별로 보면 30ppm Zn군에서 GOT의 활성은 1500ppm Zn군에 비해 유의하게 감소되었으며($p<0.01$), Zn 결핍군보다는 유의성은 없었으나 약간 낮았다. Phytic acid 수준별로 보면 GOT의 활성은 0.35% phytic acid군이 0 및 1.05% phytic acid군보다 높았으며 ($p<0.01$), 0과 1.05% phytic acid군 간에는 큰 차이가 없었다.

Zn과 phytic acid 상호작용효과를 보면, 1500ppm Zn 수준에서는 phytic acid의 첨가량이 높을수록 GOT의 활성이 계속 감소되는 경향으로 Zn의 생체내 흡수에 phytic acid가 저해인자로 작용하여 과량의 Zn 섭취 시에는 일정량의 phytic acid가 Zn의 독성을 감소시켜 간의 부담을 경감시켜 주는 것으로 사료된다.

Murthy 등(1967)에 의하면 Zn/Cu ratio를 달리 하여 사육한 쥐의 GOT의 활성은 혈청 중 Zn 농도가 높을수록 정의 상관관계가 있으며, Zn이 amino acid 전이작용에 관여한다고 보고하였는데 간조직에 주로 발견되는 효소의 활성에 Zn 농도가 영향을 미침을 알 수 있다.

GPT의 활성은 식이 중의 Zn 함량에 의해 영향을 받았으나($p<0.01$), phytic acid 함량에 의해서는 영향을 받지 않았고, Zn과 phytic acid 상호작용효과도 없었다.

Zn 수준별로 보면 GPT의 활성이 30ppm Zn군에서 가장 낮았으며($p<0.01$), Zn 결핍군에서 가장 높았다($p<0.01$).

Kashiwabara 등(1983)도 Zn 결핍에 의해 GPT의 활성이 증가된다고 하여 본 실험결과와 일치

Table 3. The activities of glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT) and alkaline phosphatase in serum from rats which were fed diets containing 0, 30 and 1500 ppm zinc at three different levels of phytic acid for 28 days^{1,2}

Dietary composition	GOT	GPT	Alkaline phosphatase
	IU/ml	IU/ml	mU/ml
0 ppm Zn			
0.00% Phytic acid	84.52± 9.25 ^{c'}	25.95±5.12	268.89±15.69
0.35% Phytic acid	101.37± 7.23 ^{a'b'}	25.76±3.72	247.66± 9.86
1.05% Phytic acid	95.92± 9.29 ^{b'}	28.71±3.75	242.23±39.75
30 ppm Zn			
0.00% Phytic acid	81.94± 6.15 ^{c'}	19.14±2.71	241.06±21.49
0.35% Phytic acid	97.23±11.50 ^{b'}	20.59±3.37	232.32±22.30
1.05% Phytic acid	88.54±10.70 ^{b'c'}	18.33±3.03	216.67±12.23
1500 ppm Zn			
0.00% Phytic acid	112.98±12.77 ^{a'}	25.40±3.98	275.75±25.68
0.35% Phytic acid	109.30±10.85 ^{a'}	22.50±2.73	275.55±19.90
1.05% Phytic acid	83.85± 6.13 ^{c'}	20.32±3.51	204.30± 8.77
0 ppm Zn³	93.93±11.16^{bc}	26.85±4.41^a	253.46±26.97^a
30 ppm Zn	89.24±11.56^c	19.35±3.20^c	229.90±21.67^b
1500 ppm Zn	100.91±16.67^b	22.73±4.07^b	251.78±38.94^a
Analysis of variance(P-values)			
Zinc effect	0.01	0.01	0.01
Phytic acid effect	0.01	NS	0.01
Zinc x phytic acid	0.01	NS ⁵	NS

1 Values are means±SD (n=6).

2 Means within columns not sharing a common superscript letter or with prime are different at P<0.05 and without prime at P<0.01 by Scheffe' contrasts.

3 Zinc groups 0, 30 and 1500 ppm represent rats fed those different zinc contents for all levels of phytic acid intake.

4 Phytic acid groups 0, 0.35 and 1.05% represent rats fed diets having those different phytic acid contents for all levels of zinc intake.

5 NS means not significant.

하였다.

Alkaline phosphatase의 활성은 쇠이 중 Zn 및 phytic acid 함량에 의해서 각각 영향을 받았으나 ($p<0.01$), Zn과 phytic acid 상호작용효과는 인정되지 않았다.

Zn 수준별로 보면 30ppm Zn군이 Zn 결핍군 및 1500ppm군에 비해 alkaline phosphatase의 활성이 감소되었으며($p<0.01$), Zn 결핍군과 1500ppm 군 간에는 차이가 없었다.

Phytic acid 수준별로는 phytic acid 함량이 높을 수록 감소되는 경향으로 1.05% phytic acid군에서 가장 효소활성이 낮았다($p<0.01$). Sandstead 등 (1980)은 건강한 남자에게 Zn을 1일 3mg씩 16주간 급여했을 때 혈청 중 alkaline phosphatase 활성은 변화되지 않았다고 하였으나, Miller 등(1968)은 돼지를 Zn 결핍식이로 사육할 때 돼지의 혈청 중 alkaline phosphatase의 활성은 감소되었다고 하여 이것은 본 실험의 Zn 결핍군에서의 증가추세와는 상반되었다. 한편 Huber 등(1973)은 이유한 어린 쥐의 쇠이에 1, 20 및 1200ppm의 Zn 수준으로 급여하였을 때 혈청 중 alkaline phosphatase의 활성은 Zn 결핍군과 20ppm Zn군에서는 유사하였고 1200ppm Zn군에서는 증가되었다고 보고하여 본 실험의 1500ppm Zn군에서 alkaline phosphatase 활성이 증가된 것과 일치하나, Zn 결핍군에서는 상이하게 나타났다. 임상적으로는 심근경색, 간 및 담도질환시 GOT 및 GPT의 활성이 상승되고, 동시에 alkaline phosphatase의 활성이 증가된다고 알려져 있다(김기홍 1980).

본 연구의 결과 phytic acid 첨가량이 많을수록 GOT 및 Alkaline phosphatase의 활성이 1500 ppm Zn군에서 현저히 감소되어 있음을 알 수 있는데 이는 간조직에서의 Zn 과량에 의한 독성이 phytic acid의 첨가량이 많을수록 경감되는 것으로 여겨진다. 또한 Zn 결핍군과 1500ppm Zn군에서 간기능 장애가 일어났는지 혹은 조직파괴에 의한 이들 효소의 활성이 증가되었는지에 대하여는 조직의 병리학적 검토 등으로 좀 더 연구되어 져야 할 것으로 사료된다.

3. 혈청 및 간 중 지질농도

Zn과 phytic acid 수준을 달리한 쇠이로 사육한 쥐의 혈청 중 지질농도는 Table 4와 같다.

혈청 중 phospholipid의 농도는 쇠이중 Zn 함량에 따른 영향은 받지 않았으나 phytic acid 함량에 의해서는 영향을 받았다($p<0.01$). 그리고 Zn과 phytic acid 상호작용효과는 없었다.

Phytic acid 수준별로 보면 혈청 중 phospholipid 농도는 0.35% phytic acid군이 0 및 1.05% phytic acid군에 비해 유의하게 증가되었으며($p<0.01$), 0 과 1.05% phytic acid군 간에는 비슷하였다.

Kashiwabara 등(1983)에 의하면 Zn 결핍식이를 급여한 쥐의 혈청 중 phospholipid 농도는 대조군에 비해 차이가 없었다고 보고하여 본 실험의 쇠이 중 Zn 함량에 따른 변화와는 유사한 경향이었다.

혈청 중 triglyceride 농도는 쇠이 중의 Zn 함량에 의해 영향을 받았으나($p<0.01$), phytic acid 함량에 의한 영향은 없었고, Zn과 phytic acid 상호작용효과는 인정되었다($p<0.01$).

Zn 수준별로 보면 30ppm Zn군이 Zn 결핍군 및 1500ppm Zn군에 비해서 감소되었으며 ($p<0.01$), Zn 결핍군과 1500ppm Zn군 간에는 차이가 없었다. Zn과 phytic acid 상호작용효과는 phytic acid 첨가량이 높을수록 Zn 결핍군에서는 혈청 중 triglyceride 농도가 증가되었고 1500ppm Zn군에서는 감소되었다.

Park 등(1986)은 이유한 쥐에게 Zn 결핍식이를 급여할 때 Zn 결핍군이 혈청 중 triglyceride 농도가 현저히 증가되었다고 보고하여 본 실험의 Zn 결핍군이 30ppm Zn군에 비해 증가된 경향과 비슷하였다. 이와 달리 Kashiwabara 등(1983)은 Zn 결핍군이 혈청 중 triglyceride 농도가 현저히 감소되었다고 보고하였으며, Hooper 등(1980)은 건강한 남자에게 1일 440mg의(Zn 과량) Zn을 5주간 급여한 결과 혈청 중 triglyceride 농도가 Zn 대조군에 비해 변화가 없었다고 보고하여 본 실험결과와는 상이하였다. Koo 등(1977)은 어린 쥐에서 Zn이 결핍되면 triglyceride의 흡수가 감소되었다고 보고하였는데, 이것은 Zn 결핍으로 인해 서장 점막 세포내 단백질 합성이 손상되고 따라서 단백질이 부족하여 triglyceride의 흡수 과정

중 chylomicron 형성이 잘 되지 않기 때문이라 하였다. 그러나 본 실험에서는 Zn 결핍군에서 혈청 중 triglyceride 농도가 30ppm Zn군에 비해 증가되어 Koo 등(1977)의 보고와는 상반되었으나, 이것은 phytic acid 첨가에 의한 상호작용효과로 인해서 혈청 중 triglyceride 농도에 영향을 미친 것으로 생각된다.

혈청 중 total cholesterol 농도는 식이 중의 Zn 및 phytic acid 함량에 의해 각각 영향을 받았다 ($p<0.01$). 그리고 Zn과 phytic acid 상호작용효과도 인정되었다($p<0.01$).

Zn 수준별로 보면 Zn 결핍군이 30 및 1500ppm Zn군에 비해 현저히 증가되었고($p<0.01$), 30과 1500ppm Zn군 간에는 비슷한 농도를 보였다. Phytic acid 수준별로는 phytic acid의 첨가량이 높을수록 증가되어 1.05% phytic acid군에서 가장 높아 phytic acid 첨가로 인한 total cholesterol의 감소는 나타나지 않았다.

Park 등(1986)은 혈청 중 total cholesterol 농도가 Zn 결핍군과 대조군 간에 차이가 없다고 하였으나, 본 실험에서는 30ppm Zn군이 Zn 결핍군에 비해 오히려 감소되었다. Hooper 등(1980)은 1일 440mg Zn(Zn과량)을 성인남자에게 5주간 급여시킨 결과 혈청 중 total cholesterol 농도는 대조군에 비해 차이가 없었다고 하였다.

혈청 중 HDL-cholesterol 농도는 식이 중 Zn 및 phytic acid 함량에 의해서 각각 영향을 받았다 ($p<0.01$). 그러나 Zn과 phytic acid 상호작용효과는 없었다. Zn 수준별로 보면 30ppm Zn군이 Zn 결핍군 및 1500ppm Zn군에 비해서 증가되었으며 ($p<0.01$), Zn 결핍군과 1500ppm Zn군 간에는 별 차이가 없었다. Phytic acid 수준별로는 0.35% phytic acid군이 0 및 1.05% phytic acid군에 비해 증가되었으며($p<0.01$), 0과 1.05% phytic acid군 간에는 비슷한 농도를 보여 Zn과 phytic acid 상호작용효과로 인한 변화는 볼 수 없었다.

Hooper 등(1980)은 성인 남자에게 1일 440mg의 Zn(Zn과량)을 5주간 급여시킨 결과 혈청 중 HDL-cholesterol 농도가 대조군(80mg)의 25% 이상으로 감소되었다고 하였다. 이것은 본 실험의 1500ppm Zn군이 혈청 중 HDL-cholesterol 농도가

30ppm Zn군에 비해 감소되었던 것과 일치하였다. Miller 등(1975)은 혈청 중 HDL-cholesterol 농도가 감소되면 말초조직으로부터 cholesterol이 유출되고 혈청의 cholesterol 농도가 증가되어 심장 질환의 위험한 인자가 된다고 하였다. 그러나 본 실험결과에서는 혈청 중 HDL-cholesterol 농도가 감소됨에 따라 total cholesterol 농도가 증가되는 않았고 Zn 결핍군의 경우에서만 이러한 현상이 나타났다.

HDL-cholesterol/total cholesterol ratio는 식이 중 Zn 함량에 의해서는 영향을 받았으나($p<0.01$), phytic acid 상호작용효과도 없었다. Zn 수준별로 보면 Zn 결핍군이 혈청중 HDL-cholesterol/total cholesterol ratio가 가장 낮았고($p<0.01$), 30ppm Zn 군에서 가장 높았는데($p<0.01$), 이는 주로 total cholesterol 농도에 좌우되었다.

이상의 결과에서 보면 혈청 중 triglyceride 함량은 Zn 고농도인 1500ppm군에서 phytic acid의 영향으로 Zn 결핍군의 수준으로 감소되었고, total cholesterol의 함량은 Zn 정상군인 30ppm 수준으로 감소되었음을 알 수 있었다.

Zn과 phytic acid 수준을 달리한 식이로 사육한 쥐의 간 중 지질농도는 Table 5와 같다.

간 중 phospholipid 농도는 식이 중 Zn 및 phytic acid 함량에 의해 각각 영향을 받았으며 ($p<0.01$), Zn과 phytic acid 상호작용효과도 인정되었다($p<0.01$).

Zn 수준별로 보면 간 중 phospholipid의 농도는 Zn 함량이 낮을수록 증가하는 경향으로 Zn 결핍군에서 가장 높았다($p<0.01$).

Phytic acid 수준별로는 phytic acid 첨가량이 많을수록 증가되어 1.05% phytic acid군에서 가장 높았다($p<0.01$).

Zn과 phytic acid 상호작용효과는 같은 Zn 수준에서 phytic acid 첨가량이 많을수록 phospholipid의 농도는 증가하는 경향이었고, 0ppm Zn 수준에서 그 효과가 더욱 현저하였다.

간 중 triglyceride 농도는 식이 중의 Zn 및 phytic acid 함량에 의해 각각 영향을 받았으며 ($p<0.01$), Zn과 phytic acid 상호작용효과도 인정되었다($p<0.01$).

Table 4. The contents of phospholipid, triglyceride, total cholesterol (T-ch) and high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-ch) and the ratio of high-density lipoprotein-cholesterol/total cholesterol (HDL-ch/T-ch) in serum of rats which were fed diets containing 0, 30 and 1500 ppm zinc at three different levels of phytic acid for 28 days^{1,2}

Dietary composition	Phospholipid mg/dl	Triglyceride mg/dl	T-ch mg/dl	HDL-ch mg/dl	HDL-ch/T-ch ratio
0 ppm Zn					
0.00% Phytic acid	96.33±10.19	55.51± 6.55 ^c	97.44±15.36 ^b	22.01± 2.10	0.23±0.05
0.35% Phytic acid	114.87±15.00	55.06± 4.16 ^b	117.33±16.11 ^a	24.05± 3.05	0.21±0.06
1.05% Phytic acid	98.60±12.90	65.74± 8.58 ^a	101.44± 8.19 ^{a,b}	24.90± 1.67	0.24±0.02
30 ppm Zn					
0.00% Phytic acid	95.68± 9.36	53.13± 7.76 ^{b,c}	56.02± 7.93 ^d	22.45± 2.30	0.40±0.06
0.35% Phytic acid	95.97± 9.15	46.16± 3.67 ^c	69.28± 8.80 ^c	28.50± 2.72	0.41±0.04
1.05% Phytic acid	97.40±14.36	54.45± 8.74 ^{a,b}	75.03±10.28 ^c	25.68± 3.13	0.35±0.07
1500 ppm Zn					
0.00% Phytic acid	102.66± 7.18	67.15± 5.80 ^a	59.92± 6.96 ^{c,d}	20.67± 2.97	0.35±0.07
0.35% Phytic acid	116.68± 9.99	63.88±13.47 ^{a,b}	62.52± 7.88 ^{c,d}	21.67± 2.63	0.35±0.04
1.05% Phytic acid	92.65±13.50	53.53± 2.41 ^b	89.93±15.04 ^b	20.89± 2.82	0.24±0.09
0 ppm Zn³					
30 ppm Zn	102.69±15.02	58.60± 8.24 ^a	104.81±15.94 ^a	23.63± 6.06 ^b	0.23±0.04 ^c
1500 ppm Zn	96.35±11.24	51.25± 7.92 ^b	66.78±12.05 ^b	25.54± 3.71 ^a	0.39±0.06 ^a
0.00% Phytic acid⁴					
0.35% Phytic acid	104.08±14.72	61.19±10.47 ^a	71.43±17.43 ^b	21.10± 2.84 ^b	0.31±0.08 ^b
1.05% Phytic acid	97.87± 9.66 ^b	57.95± 8.93	73.21±22.41 ^b	21.79± 2.50 ^b	0.32±0.09
Analysis of variance-(P-values)					
Zinc effect	NS ⁵	0.01	0.01	0.01	0.01
Phytic acid effect	0.01	NS	0.01	0.01	NS
Zinc x phytic acid	NS	0.01	0.01	NS	NS

1 Values are means±SD (n=6).

2 Means within columns not sharing a common superscript letter or with prime are different at P<0.05 and without prime at P<0.01 by Scheffe' contrasts.

3 Zinc groups 0, 30 and 1500 ppm represent rats fed those different zinc contents for all levels of phytic acid intake.

4 Phytic acid groups 0, 0.35 and 1.05% represent rats fed diets having those different phytic acid contents for all levels of zinc intake.

5 NS means not significant.

Table 5. Phospholipid, triglyceride and total cholesterol contents in the liver of rats fed diets containing 0, 30 and 1500 ppm zinc at three different levels of phytic acid for 28 days^{1,2}

Dietary composition	Phospholipid mg/g	Triglyceride mg/g	Total cholesterol mg/g
0 ppm Zn			
0.00% Phytic acid	19.20± 1.94 ^{a,b}	7.69±1.31 ^d	1.57±0.16
0.35% Phytic acid	20.21± 1.14 ^a	13.13±1.98 ^{a,b}	1.55±0.18
1.05% Phytic acid	21.40± 1.46 ^a	10.91±1.36 ^c	1.53±0.19
30 ppm Zn			
0.00% Phytic acid	17.81±1.45 ^b	13.94±1.41 ^a	1.99±0.18
0.35% Phytic acid	17.56±1.43 ^b	11.25±1.32 ^{b,c}	1.64±0.10
1.05% Phytic acid	20.93±1.18 ^a	12.66±0.88 ^b	2.20±0.21
1500 ppm Zn			
0.00% Phytic acid	15.48±0.54 ^c	8.86±1.43 ^{c,d}	1.53±0.10
0.35% Phytic acid	19.97±0.89 ^a	13.94±0.96 ^a	1.76±0.19
1.05% Phytic acid	17.63±1.02 ^b	10.05±1.25 ^c	1.74±0.09
0 ppm Zn³			
0 ppm Zn	20.33±1.78 ^a	10.59±2.69 ^b	1.63±0.01 ^b
30 ppm Zn	18.76±2.09 ^b	12.61±1.68 ^a	1.94±0.29 ^a
1500 ppm Zn	17.69±2.12 ^b	10.90±2.47 ^b	1.67±0.19 ^b
0.00% Phytic acid⁴			
0.00% Phytic acid	17.50±2.07 ^b	10.16±3.06 ^b	1.78±0.14
0.35% Phytic acid	19.25±1.64 ^a	12.77±1.87 ^a	1.65±0.16
1.05% Phytic acid	20.19±2.07 ^a	11.13±1.61 ^b	1.80±0.35
Analysis of variance(P-values)			
Zinc effect	0.01	0.01	0.01
Phytic acid effect	0.01	0.01	NS ⁵
Zinc x phytic acid	0.01	0.01	NS

1 Values are means±SD (n=6).

2 Means within columns not sharing a common superscript letter or with prime are different at P<0.05 and without prime at P<0.01 by Scheffe' contrasts.

3 Zinc groups 0, 30 and 1500 ppm represent rats fed those different zinc contents for all levels of phytic acid intake.

4 Phytic acid groups 0, 0.35 and 1.05% represent rats fed diets having those different phytic acid contents for all levels of zinc intake.

5 NS means not significant.

Zn 수준별로 보면 30ppm Zn군이 Zn 결핍군 및 1500ppm Zn군에 비해 증가되었으며 ($p<0.01$), Zn 결핍군과 1500ppm Zn군 간에는 유사하였다.

Phytic acid 수준별로 보면 0.35% phytic acid군이 0 및 1.05% phytic acid군에 비해 증가되었으며, 0과 1.05% phytic acid군간에는 비슷한 농도를 보였다. Zn과 phytic acid 상호작용효과는 Zn 결핍군과 Zn 과량군(1500ppm)에서는 0.35% phytic acid를 첨가할 때, 간 중 triglyceride 농도가 높았으며, Zn 정상군(30ppm)에서는 가장 낮았다.

간 중 total cholesterol 농도는 식이 중의 Zn 함량에 의해 영향을 받았지만($p<0.01$), phytic acid 함량에 의한 영향은 없었고, Zn과 phytic acid 상호작용효과도 없었다.

Zn 수준별로 보면 간 중 total cholesterol 농도가 30ppm Zn군에서 Zn 결핍군 및 1500ppm Zn군에 비해 현저히 증가되었으며($p<0.01$), Zn 결핍군과 1500ppm Zn군 간에는 별 차이가 없었다.

Hwang 등(1984)에 의하면 간 중 total cholesterol 농도는 식이 중 Zn 수준이 낮을 때(0ppm)는 증가되었고, 높을 때(300ppm)는 감소되었다고 하여 본 실험의 Zn 결핍군과는 다른 양상이었으나 Zn 과량군(1500ppm)에서는 같은 경향이었다.

이상의 간 중 phospholipid 농도와 triglyceride 농도는 phytic acid의 첨가의 상호작용효과로 고농도의 Zn군인 1500ppm 수준에서 1.05% phytic acid의 첨가로 감소되었음을 알 수 있었다.

IV. 결론

Zn의 생체 이용율에 미치는 phytic acid의 영향을 알아보기 위하여 Zn 수준(0, 30 및 1500ppm)에 따라 phytic acid의 첨가량(0, 0.35 및 1.05%)을 달리한 식이로 체중 60~74g인 Sprague-Dawley종 수컷 흰 쥐를 28일간 사육하여 성장을, 식이섭취량, 효소활성 그리고 혈청 및 간 중 지질성분을 측정하여 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 총체량, 식이섭취량 및 식이효율은 30 및 1500ppm Zn군에 비해 Zn 결핍군에서 감소되었고, 30과 1500ppm Zn군 간에서는 유사한 결과를 나타냈다.

2. 혈청 중 GOT의 활성은 1500ppm Zn군과 0.35% phytic acid군에서 가장 증가되었고, Zn과 phytic acid 상호작용효과도 인정되었으며, GPT의 활성은 30ppm Zn군에서 가장 감소되었다. Alkaline phosphatase의 활성은 30ppm Zn군과 1.05% phytic acid군에서 가장 감소되었다.

3. 혈청 중 phospholipid의 농도는 0.35% phytic acid군에서 가장 증가되었으며, triglyceride의 농도는 30ppm Zn군에서 가장 감소되었고, total cholesterol 농도는 Zn과 phytic acid 상호작용효과가 있어 Zn 결핍군에서 높았고, phytic acid 첨가군에서 증가되었다. HDL-cholesterol의 농도는 30ppm Zn군과 0.35% phytic acid군에서 가장 증가되었으며, HDL-cholesterol/total cholesterol ratio는 30ppm Zn군에서 가장 높게 나타났다.

4. 간 중 phospholipid의 농도는 Zn 결핍군에서 가장 증가되었으며, 0% phytic acid군에서 가장 감소되었고, triglyceride의 농도는 30ppm Zn군과 0.35% phytic acid군에서 가장 증가되었으며, 30ppm Zn 수준에 0% phytic acid군이 Zn과 phytic acid 상호작용효과가 뚜렷하였으며, total cholesterol의 농도는 30ppm Zn군에서 가장 증가되었다.

이상의 결과에서 식이 중의 Zn 함량은 성장을, 효소활성 및 지질대사에는 유의하게 영향을 미친 것으로 나타났으며, Zn 결핍으로 인해·혈청 중 GOT, GPT 및 alkaline phosphatase의 활성과 total cholesterol의 농도는 증가되는 반면에 Zn 고농도 군인 1500ppm군에서 1.05% phytic acid의 첨가로 alkaline phosphatase의 활성은 뚜렷하게 감소되었으나 cholesterol은 높아졌음을 알 수 있고 혈청 중 HDL-cholesterol의 농도는 1.05% phytic acid의 첨가군이 정상군인 30ppm Zn군보다 다소 낮은 농도를 보여 phytic acid 첨가량의 폭이 그다지 크지 않았기 때문에 뚜렷한 감소효과는 볼 수가 없었던 것으로 사료된다. 따라서 혈청이나 간 중의 지질 종류에 따라 고농도의 Zn 급여시 phytic acid의 첨가는 관상동맥질환이나 간질환의 예방에 기여할 수 있을 것으로 추측된다.

참고문헌

- 김기홍(1980) 검사성적의 임상적 활용. 고문사. p217.
- 승정자(1984) 극미량원소의 영향. 민음사. P155-182.
- 이혁화(1999) 흰쥐의 지질 및 무기질 대사에 미치는 Phytic acid의 투여 효과. 강원대학교 석사학위 논문.
- American Institute of Nutrition(1977) Report of the AIN Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107, 1340-1378.
- Cheryan M, Anderson FW, Grynspan F(1983) Magnesium phytate complexes. *Cereal Chemists* 60, 235-237.
- Cox DH, Harris DL(1960) Effect of excess dietary zinc on iron and copper in the rat. *J Nutr* 70, 514-520.
- Davies NT, Reid H(1979) An evaluation of the phytate, zinc, copper, iron and manganese contents of, and Zn availability from, soya-based textured-vegetable-protein meat-substitutes or meat-extenders. *Br J Nutr* 41, 579-589.
- Forbes RM, Yohe M(1960) Zinc requirement and balance studies with the rat. *J Nutr* 70, 53-57.
- Harland BF, Morris ER(1995) Phytate : A good or a bad food component. *Nutr Res* 15, 733.
- Helwig LR, Mulinix EJ, Regenstein JM(1978) Effects of varied zinc/copper ratios on egg and plasma cholesterol level in white leghorn hens. *J Food Sci* 43, 666-669.
- Hooper PL, Visconti L, Garry PJ, Johnson GE(1980) Zinc lowers high-density lipoprotein-cholesterol levels. *JAMA* 244, 1960-1961.
- Huber AM, Gershoff SN(1973) Effect of dietary zinc on zinc enzymes in the rat. *J Nutr* 103, 1175-1181.
- Hwang KS, Kim MK(1984) Effects of dietary Zn levels and kinds of lipid on the lipid metabolism in the rats. *Korean J Nutr* 17, 145-153.
- Kashiwabara N, Maruyama H, Yamashita Y, Kondo S(1982) Effect of zinc deficiency on growth, hematological values and tissues zinc content in rats. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 35, 281-290.
- Kashiwabara N, Maruyama H, Yamashita Y, Kondo S(1983) Effect of zinc deficiency on enzyme activities, hormones, glucose, lipids and nitrogen compounds contents in serum of rats. *J Jap Soc Nutr Food Sci* 36, 5-13.
- Kind PRN, King EJ(1954) Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine. *Am J Clin Pathol* 7, 322-326.
- Klevay LM, Evans GW, Sandstead HH(1975) Zinc/copper hypercholesterolemia: The effect of sodium phytate. *Am J Clin Nutr* 18, 426-430.
- Koo SI, Turk DE(1977) Effect of zinc deficiency on intestinal transport of triglyceride in the rat. *J Nutr* 107, 909-919.
- Likuski HJA, Forves RM(1964) Effect of phytic acid on the availability of zinc in amino acid and casein diets fed to chicks. *J Nutr* 84, 145-148.
- Magee AC, Matrone G(1960) Studies on growth, copper metabolism and iron metabolism of rats fed high levels of zinc. *J Nutr* 72, 233-242.
- McCall JT, Mason JV, Davis GK(1961) Effect of source and level of dietary protein on the toxicity of zinc to the rat. *J Nutr* 74, 51-57.
- Leonnerdal B, Sandberg AS, Sandstorm B, Kunz C(1989) Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. *J Nutr* 119, 211-214.
- Miller ER, Luecke RW, Ullrey DE, Baltzer BV, Bradley BL, Hoefer JA(1968) Biochemical, skeletal and allometric changes due to zinc deficiency in the baby pig. *J Nutr* 95, 278-286.
- Miller GL(1975) Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. *Lancet* 1, 16-19.
- Murthy L, Peterong HG(1967) Effect of dietary zinc and copper interrelationships on blood parameters of the rat. *J Agric Food Chem* 24, 808-811.
- NAS/NRC(1974) Proposed fortification policy for cereal-grain products. National Academy of Science, National Research Council, Washington DC.
- Park JHY, Grandjean CJ, Antonson DL, Vanderhoof JA(1986) Effects of isolated parameters of the composition of skeletal muscle, liver and bone during growth in rats. *J Nutr* 116, 610-617.
- Oberleas D, Muhrer ME, O'Dell, BL(1966) Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the rat. *J Nutr* 90, 56-62.
- Rao PS, Liu X, Das DK, Weinstein GS, Tras DH(1991) Protection of ischemic heart from reperfusion injury by myo-inositol hexaphosphate, a natural antioxidant. *Ann Thorac Surg* 52, 908-910.
- Reitman S, Frankel SA(1957) Calorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28, 56.
- Sandstead H, Klevay L, Mahalko J, Inman L, Bolonchuk W, Wallwork J(1980) Mineral Zn nutriture: Effects on lipid metabolism and plasma zinc. *Clinical Research* 28, 600A.
- Scheffe, H(1957) *The Analysis of Variance*. Wiley, New York, 90-137.
- Thompson RH, Blanchflower WJ(1971) Wet ashing apparatus to prepare biological materials for atomic absorption spectrophotometry. *Lab Prac* 20, 869-871.
- Underwood EJ(1977) *Trace elements in Human and Animal Nutrition*, 4th ed, Academic Press, Inc,

New York. 196-242.

Wallwork JC, Johnson LK, Milne DB, Sandstead HH(1983) The effect of interactions between dietary egg white protein and zinc body weight, bone growth and tissue trace metals in the 30-day-old rat. *J Nutr* 113, 1307-1320.

Williams RB, Mills CF(1970) The experimental production of zinc deficiency in the rat. *Br J Nutr* 24, 989-1003.

Zak B, Dickenman RC, White EG, Burnett H, Cheoney PJ(1954) The determination of cholesterol. *Am J Clin Pathol* 24, 1307.