

食餌亞鉛이 흰쥐의 組織中 微量金屬에 미치는 影響

서울大學校 醫科大學 生化學教室

石 英 鍵

(指導 蔡 範 錫 助教授)

Studies on Effect of Dietary Zinc on Tissue Trace Elements in the Rat.

Young Gun, Suk

*Department of Biochemistry, College of Medicine Seoul National University,
Seoul. Korea*

(Director: Assit Prof. Bum Suk Tchai.)

=Abstract=

Zinc is one of the essential trace elements in the living organism for growth and health. The first identified metalloenzyme, carbonic anhydrase, is a zinc compound and several others have been described since. Among zinc deficiency syndromes in animals porcine parakeratosis has been successfully treated with zinc supplements, and in man a syndrome of anemia, hypogonadism, hepatosplenomegaly, and dwarfism, prevalent in parts of Iran and Egypt, has been ascribed to lack of zinc in the diet.

Dietary zinc excess in the rat is manifested by a hypochromic, microcytic anemia, poor growth, reduction in liver catalase and cytochrome oxidase.

The present study is an attempt to delineate the changes of tissue contents of trace elements, especially of iron, copper and zinc in liver and kidneys of the rats.

Weanling albino rats, weighing 60 to 80gm. were used in this experiments. The rats were housed in cages with aluminum floors and received feed and distilled water ad libitum. Animals were divided into three groups, control, low zinc diet and high zinc diet groups. The high zinc diet group was subdivided into 0.5% Zn and 0.7%Zn groups. The supplementary copper or iron was added to the high dietary zinc groups.

The animals were sacrificed and the tissues were washed several times with deionized water. The wet digested samples were analyzed by Hitachi Model 207 atomic absorption spectro-photometer for the determination of iron, copper and zinc in the liver and kidney. Hemoglobin level in the blood was measured by cyanmethemoglobin method.

The results of this study are as follows:

- 1) All rats fed high zinc diets and low zinc diets gained less weight than control. Weight gain was not improved by the supplementary copper or iron and both.
- 2) Hemoglobin concentration was decreased significantly in the rats fed high zinc diets and less in the low zinc diets. Supplementary copper and iron to the higher zinc diet appeared to give some improvement of anemia.
- 3) The iron contents of the liver and kidneys were significantly decreased in the high zinc groups and

the reduction was more significantly in the rats receiving higher zinc diet (0.7%). The supplementary copper caused a further depression of liver iron. On the other hand, the iron, added to the high zinc diet lessened the severity of the decrease in liver iron and caused kidney iron to be maintained almost at the level found in the rats fed by zinc and supplementary copper diet.

- 4) High zinc diets did not change copper content of the liver and kidney. Supplementary copper elevated the concentration in the liver and kidney and added iron had no effect on the accumulation of copper in the liver and kidneys.
- 5) The high zinc diets caused marked increases of zinc content in the liver and kidney. Supplementary iron to the high zinc diet caused increases of zinc contents of liver and kidneys.

序 論

亞鉛은 銅, 鐵과 함께 生體를 構成하고 있는 必須의 인 微量重金屬元素이다.

生體內 亞鉛에 關한 研究는 1877年 Lechartier¹⁾ 및 1877年 Raoult²⁾等에 依해서 처음으로 始作되었으며 1934年 Todd³⁾는 쥐의, 1934年 Bertrand⁴⁾는 마우스의 成長과 發育에 있어서 必須의인 要素라고 報告하였다.

1940年 Keilin & Mann⁵⁾은 牛赤血球內의 炭酸脫水 酵素로부터 亞鉛을 發見, 分離하고, 主要한 構成成分 으로서 存在한다고 報告하였으며, 이같은 亞鉛元素의 生體內 機能을 說明하는 첫 研究가 된다.

炭酸脫水 酵素는 金屬含有 酵素로서 처음 알려진 것이며 그後 脾臟의 Carboxypeptidase⁶⁾, 酵母^{7, 8)} 肝臟^{9, 10)}의 alcohol 脫水素 酵素, 骨 骼筋의 乳酸脫水素 酵素¹¹⁾ 肝臟의 Glutamic dehydrogenase¹²⁾ 腎臟¹³⁾의 Alkaline phosphatase, malic dehydrogenase¹⁴⁾ 등 여러가지 亞鉛含有 酵素가 發見됨에 따라서, 亞鉛과 生體內 物質代謝, 生殖作用 및 內分泌機能과의 關聯이 注目을 끌게 되어 生體內 亞鉛의 重要性이 漸次 認識되게 되었다.

이렇게 亞鉛은 生體內 代謝過程에서 大端히 重要한 役割을 하고 있음에도 不拘하고 亞鉛代謝에 關한 研究가 늦어진것은 亞鉛이 生體組織中에 微量으로 存在하고 있을뿐 아니라 亞鉛의 分析法의 困難성과 汚染等, 여러가지 測定法上의 問題 때문이며 亞鉛의 生化學的, 生理的 및 臨床的 意義에 關한 研究가 本格的으로 始作된 것은 極히 最近의 일이다.

1955年 Walsh¹⁵⁾에 依해서 開發된 原子吸光分光分析法(Atomic Absorption Spectroscopy, A. A. S)의 導入으로 微量金屬元素의 分析은 더욱 正確, 精密, 迅速하게 되었다.

原子吸光分析法¹⁶⁻¹⁸⁾은 基底狀態의 原子吸收 spectrum 測定에 依한 것으로 干涉이 적고 分光比色法이나 焰光光度計法에 比하여 特異성이 높기 때문에 生體內 亞鉛

의 追求에 있어서 有力한 手段이 되며 最近 亞鉛에 關한 研究¹⁹⁾는 다시 脚光을 받게 되었다.

亞鉛은 一般的으로 食餌中에 充分히 있으나 어떤 原因으로 그 攝取가 制限되면 亞鉛缺乏症이 생긴다.

動物의 亞鉛缺乏症에 關한 研究는 많으며 Todd³⁾, Follis²⁰⁾는 쥐, Tucker²¹⁾는 돼지, Miller²²⁾는 새끼양, 그리고 Ott²³⁾는 개의 亞鉛缺乏症을 報告하였다. 亞鉛缺乏症時에 動物은 發育이 遲延되며 脫毛症이 생기고 皮膚, 食道, 角膜이 損傷되며 骨, 軟骨 및 精管의 發育異常이 생긴다.

이들 動物의 缺乏症中에서 돼지의 亞鉛缺乏症0.02% ZnCO₃을 飼料中에 섞어줌으로서 成功的으로 治療되었다.

Forbes²⁴⁾는 쥐의 食餌中의 亞鉛含量이 12 ppm 以下가 되면 成長이 阻止된다고 報告하였으며 動物의 심각한 缺乏症은 만들기 힘들다고 하나 Swenerton²⁵⁾과 Williams²⁶⁾는 흰쥐의 심각한 亞鉛缺乏症에 關하여 報告하였다.

사람에서의 亞鉛缺乏症에 關해서는 1963年 Prasad²⁷⁾와 1965年 Sanstead²⁸⁾等이 이집트와 이란의 어떤 地方에서 빵과 콩단을 主食으로 하는 11名의 男子에서 貧血, 生殖器發育不全, 肝脾臟肥大 및 侏儒症等の 臨床症勢를 나타내는 症例를 報告하였고 이들은 또한 血清亞鉛과 alkaline phosphatase 活性이 낮았으며, 尿中亞鉛量의 排泄이 減少되고 注射한 放射性亞鉛(⁶⁵Zn)의 turnover rate가 빨랐다고 한다.

한편 Sutton²⁹⁾은 쥐에게 過剩의 亞鉛을 投與하면 低色素性, 小球性貧血이 생긴다고 하고, Smith³⁰⁾는 發育이 低下된다고 하며, Van Reen³¹⁾, Duncan³²⁾ 및 Sadasivan³³⁾ 등은 臟器組織中의 여러가지 酵素活性이 低下된다고 한다.

食餌亞鉛과 組織中의 亞鉛의 變化에 關해서는 아직 論議가 많으며, Turk³⁴⁾는 低亞鉛食은 組織亞鉛量을 低下시키지 않는다고 말하고 Kienholtz³⁵⁾는 닭의 15個組

織中 14 個組織에서 低下되지 않았다고 하나, Hoekstra³⁶⁾는 亞鉛缺乏症의 動物에서 脾, 肝, 腎, 脾臟의 順序로 組織亞鉛含量이 減少되었다고 報告하였다.

Hoekstra³⁷⁾는 亞鉛代謝와 칼슘, 銅, 鐵 및 其他 微量金屬은 서로 密接한 關係가 있다고 하였으며 Prasad³⁸⁾ 등은 사람에서의 亞鉛缺乏症에서 血清亞鉛 및 血清鐵量은 低下되고 血清銅量은 上昇되었다고 한다.

Moses & Parker³⁹⁾는 또한 低亞鉛食으로 飼育한 쥐는 銅과 鐵을 組織中에 蓄積시킨다고 報告하였다.

Smith³⁰⁾는 亞鉛過剩症에 銅을 食餌에 添加하면 貧血을 防止할 수 있었다고 하며 肝臟의 catalase 肝臟 및 心臟의 cytochrome oxidase 活性值를 正常 또는 그 以上으로 增加시킬 수 있다는 事實로부터 亞鉛過剩은 一般의 銅缺乏症을 誘發시킨다고 하였다.

Davis⁴⁰⁾는 食餌中の 亞鉛含量이 많아지면 肝臟의 銅濃度は 낮아진다고 한다. 또한 Duncan³²⁾ 등은 1%의 高亞鉛飼料로 쥐를 5週間 飼育한 鼠 心臟의 銅濃度は 對照群의 40%로 減少되었다고 한다.

以上과 같은 事實로 미루어 보아 亞鉛은 生體內 微量金屬과 密接한 關係가 있다고 생각되며 이를 明確하게 하기爲해서 著者は 食餌中에 亞鉛(Zn)이 肝臟과 腎臟組織中の 鐵(Fe), 銅(Cu) 및 亞鉛(Zn) 含量에 미치는 影響에 關하여 調査하여 亞鉛代謝와 生體內 微量金屬 相互間的 關係를 알아보고자 본 實驗을 하였다.

實驗方法

1. 實驗動物

生後 3~4 週齡의 離乳 豚仔로서 體重이 60~80 gm 인 것을 實驗에 使用하였으며 基本飼料로 1週間 飼育한 後에 各實驗群으로 나누었다.

各群의 動物은 바닥을 알미늄으로 간 鐵網動物飼育箱에 넣어 飼育하였으며, 水(脫이온水)와 飼料는 自由攝取케 하였다.

實驗動物은 對照群(20匹) 低 Zn 食群(10匹) 高 Zn 食群 및 Cu 와 Fe 添加食群으로 區分하였으며, 高 Zn 食群은 다시 食餌中の Zn 量에 따라서 0.5% Zn 食群(16匹)과, 0.7% Zn 食群(16匹)으로 細分하였다.

添加食群은 0.5% Zn 食에 0.03% Cu 를 添加한 群(8匹)과 0.03% Fe 添加群(8匹) 그리고 0.7% Zn 食에 0.03% Cu 와 0.03% Fe 를 同時에 添加한 群(8匹)으로 細分하였다.

低 Zn 食群은 基本飼料中 casein 을 脫鹽하여 5 ppm Zn 含有飼料로 飼育하였다.

2. 飼料

基本飼料의 組成은 tab. 1 과 같고 對照群의 飼料로 使用하였으며 低 Zn 食은 casein 을 EDTA 로 脫鹽處理⁴³⁾하여 Zn 을 除去한 後 配合하여 低 Zn 食飼料를 만들었으며 飼料中の Zn 量을 定量하여 그 含量이 5ppm 이 되도록 하였다.

高 Zn 食飼料는 Zn O 를 基本飼料에 0.5% 및 0.7% 로 添加하였으며 Fe 와 Cu 의 添加는 Fe SO₄ 7H₂O 및 Cu SO₄ 를 各各 0.03%씩 基本飼料에 混合하여 주었다

3. 體重 및 血色素量 測定法

體重은 torsion balance 로 正確하게 秤量하였으며 實驗始作時의 各各 다른 飼料로 5週間 飼育後 實驗終了時에 體重의 增量을 測定하였다.

血色素量은 cyanmethemoglobin^{41, 42)}法으로 測定하였으며 心臟천자로 얻은 血液 0.02 ml 를 Drabkin 溶液 5 ml 에 稀釋하여 잠시 放置하였다가 波長 540 mm 에서 分光光度計로 比色定量하였다.

4. 組織中 Cu, Fe 및 Zn 測定法

肝臟과 腎臟中の Fe, Cu 및 Zn 量은 組織을 濕性灰化法⁴⁴⁾으로 分解한 後 原子吸光分光分析法으로 測定하였다.

實驗動物은 各種飼料로 5週間 飼育한 後에 에틸麻酔後 解剖하여 肝臟과 腎臟을 摘出하였다.

이들 臟器組織은 脫이온水로 數回 洗滌한 後 濾紙로 充分히 吸濕한 後에 깨끗한 비커에 담아 化學天秤으로 秤量하였으며 眞空乾燥器(110°C)中에서 24 時間 乾燥시켰다.

究全히 乾燥된 組織은 다시 秤量하고 이에 濃硝酸 4 ml 를 加한 後 過鹽素酸 2 ml 를 注入하고 200°C 程度에서 徐徐히 加熱한다. 組織이 究全히 液化되면 脫이온水로 50 倍 稀釋하여 原子吸光分光分析에 使用^{45, 46)}한다.

組織中の Fe, Cu 및 Zn 의 測定條件은 다음과 같다.

裝 置	Hitachi Model 207 原子吸光分光光度計			
	Fe	Cu	Zn	
金 屬				
燥 作 條 件	λ (Å)	2483	3247	2139
	電流(mA)	20	10	10
	Slit (mm)		0.18 mm	
條 件	Air	13l/min		
	Acetylene	3l/min		

標準液: 化學적으로 純醉한 金屬을 濃鹽酸에 녹인 Fe, Cu, Zn 의 標準液을 使用하여 各各 標準曲線을 作

成하였으며 計算은 다음과 같이하였다.

$$\frac{E_{unk}}{E_{std}} \times std \times \text{회석배수} \times \frac{1}{\text{組織重量(乾燥)}}$$

實驗成績

著者は 흰쥐에게 여러가지 食餌 即 基本飼料(對照群), 低 Zn(5 ppm) 食(I群), 0.5% Zn 食(II群), 0.5% Zn 食+0.03% Cu 食(III群), 0.5% Zn 食+0.03% Fe 食(IV群), 0.7% Zn 食(V群) 및 0.7% Zn 食+0.03% Cu+0.03% Fe 食(VI群)으로 5 週間 飼育하여, 體重增加 및 血色素量의 變化를 그리고 肝臟 및 腎臟中の Fe, Cu 및 Zn 量을 原子吸光分析法으로 測定하여, 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 體重增加量(Weight gain)

對照群의 體重增加量(Weight gain)은 tab. 2와 같으며 153±9gm 이다. I群의 體重增加量(tab. 3)은 112±4gm 이며 對照群보다 顯著하게 減少되었다. 高 Zn 食만으로 飼育한 II群과 V群의 體重增加量(tab. 4 및 tab. 6)은 各各 119±6gm 및 105±6gm 이고 對照群보다 대단히 낮았으며 V群은 II群보다 더 甚하게 낮았다.

Cu 및 Fe 添加群인 III群과 IV群(tab 5)은 各各 112±6gm 및 126±7gm 이고 VI群(tab 7)의 體重增加量은 120±8gm 이다.

高 Zn 食에 Cu 및 Fe를 各各 添加한 群은 高 Zn 食群보다 若干 높았으나 體重은 全體的으로 對照群에 比하여 모든 群에서 減少되었으며 特히 高 Zn 食群에서 甚하였고 高 Zn 食에 Cu와 Fe를 同時 添加한 群은 그것으로 體重增加量이 크게 영향받지 않았다.

2) 血色素量

對照群 및 I~VI群의 血色素量은 tab 2 및 tab 3~7과 같으며, I群은 11.48±0.76gm/100ml, II群은 9.12±0.31gm/100ml, III群은 12.01±0.60gm/100ml, IV群은 11.48±0.36gm/100ml, V群은 8.01±0.42gm/100ml 및 VI群은 13.01±0.45gm/100ml로서 I~V群에서는 對照群의 13.41±0.46gm/100ml 보다 모두 減少하였고 特히 高 Zn 食群인 II群과 V群의 血色素量은 對照群보다 顯著하게 減少되었으며 VI群에 있어서만 對照群과 비슷하였다.

高 Zn 食에 Cu와 Fe를 各各 添加한것 보다 Cu와 Fe를 同時添加한것은 貧血을 어느程度 막을 수 있다고 생각한다.

3) 對照群 및 各群의 肝臟과 腎臟의 Fe, Cu 그리고 Zn 量은 tab. 8 및 tab. 9~12와 같다.

對照群의 肝臟 및 腎臟 Fe 量은 各各 351.46±61.0μg

및 227.11±62.41μg이며 I群은 342.56±52.47μg 및 236.18±58.72μg 으로 對照群의 Fe 量과 비슷하였다.

II群의 肝臟 및 腎臟 Fe 量은 228.40±41.61μg 및 126.23±62.51μg 이고, III群은 178.70±51.41μg 및 17.7.23±32.61μg 이고 IV群은 271.92±80.70μg 및 179.87±45.60μg 이며 II~V群에서는 肝臟 및 腎臟의 Fe 量은 모두 減少되었다.

V群과 VI群의 肝臟 Fe 量은 各各 137.78±46.77μg 및 203.56±52.60μg 이며 對照群보다 모두 減少되었다.

特히 V群의 肝臟 Fe 量은 II群보다 顯著하게 減少되었으며 食餌中の 亞鉛濃度는 臟器組織中の Fe 量을 크게 減少시켰다.

4) 肝臟 및 腎臟 Cu 量은 各各 對照群에서 18.16±2.61μg, 및 26.32±9.69μg 이며 I群은 20.10±3.16μg 및 22.42±6.72μg, II群은 11.67±1.51μg 및 20.12±8.62μg, III群은 16.26±1.76μg 및 32.28±9.60μg 이며 IV群은 各各 10.89±1.70μg 및 18.67±7.81μg 이었다.

V群과 VI群의 肝臟 Cu 量은 各各 13.47±1.28μg 및 19.42±1.26μg 으로 肝臟의 Cu 量은 低 Zn 食群인 I群

Table 1. Basal diet composition

Glucose	62.8%
Vitamin-free casein	15
Cornoil	10
Cellulose	3
Vitamin mixture*	5
Mineral mixture**	3.7
Vitamin A and D***	0.5
Concentrate	

* Vitamin mixture; mg/kg. of mix; thiamine HCl, 200 riboflavin, 120; Pyridoxine HCl, 80; Ca pantothenate, 320; biotin, 4; nicotinic acid, 500; folic acid, 10; vitamin B₁₂, 0.4; choline chloride, 30,000; menadione, 6.6; chlorotetracycline, 1,100; cerelese added to make 1000gm

** Mineral mix composition by parts:

CaHPO ₄	708	MnSO ₄ H ₂ O	3.266
NaCl	101	COCl ₂ 6H ₂ O	1.080
K ₂ CO ₃	136.3	CuSO ₄ 5H ₂ O	1.633
MgCO ₃	37.4	NaF	0.216
FeSO ₄ 7H ₂ O	10.8	KI	0.108

*** Vitamin A and D concentrate: 2000 i.u. vitamin A and 250 i.u. vitamin D per gram.

에 있어서는 對照群과 거의 差異가 없었고 II~V群에서는 若干 減少되었으며 VI群은 對照群과 거의 같았다.

腎臟의 Cu 量은 I群이 있어서는 對照群과 거의 差異가 없었고 II群과 IV群에서는 若干 減少되었으며, III群에서는 增加되었다. 肝臟 및 腎臟 Cu 量은 高 Zn 食 및 Fe 添加로 因해서 더 甚하게 減少되었으며 Cu 添加群의 腎臟 Cu 量은 對照群이나 高 Zn 食群보다 增加되었다.

5) 對照群의 肝臟 및 腎臟의 Zn 量은 各各 58.45±5.72μg 및 81.68±6.20μg 이며 各群의 肝臟 및 腎臟 Zn 量은 I群 46.42±6.26μg, 78.78±7.20μg, II群 310.86±48.21μg, 496.28±46.62μg III群 301.68±68.67μg, 467.86±86.06μg, IV群 427.36±86.69μg, 464.56±64.87μg 이며 V群과 VI群의 肝臟 Zn 量은 各各 587.76±38.68μg 및 484.70±35.62μg 으로 I群에서는 對照群과 거의 差異가 없었으나 II~IV群에서는 肝臟 및 腎

Table 2. Weight Gain and Hemoglobin Concentration of Control Rats.

Animal	Weight Gain(gm)	Hemoglobin (gm/100ml)
1	138	13.55
2	155	12.87
3	139	13.12
4	148	13.97
5	148	14.11
6	139	13.14
7	147	13.24
8	148	13.97
9	146	13.88
10	151	12.71
11	154	12.60
12	165	12.80
13	152	13.48
14	155	13.53
15	164	13.18
16	166	13.62
17	158	14.02
18	164	13.46
19	154	13.79
20	168	13.17
Mean	153	Mean 13.41
S.D.	9	S.D. 0.46
N.	20	N. 20

臟의 Zn 量, V群 및 VI群의 肝臟 Zn 量은 顯著히 增加되었다.

高 Zn 食에 Cu 를 添加한 III群의 肝臟 및 腎臟 Zn 量은 高 Zn 食群과 큰 差異가 없으나 Fe 를 添加한 群은 高 Zn 食群보다 肝臟의 Zn 量이 더 增加되었다.

Table 3. Effect of Low Zinc Diet on Weight Gain and Hemoglobin Concentrations.

Animal	Weight Gain(gm)	Hemoglobin (gm/100ml)
Control	153	13.41
	99	0.46
Low Zn		
1	110	11.21
2	118	12.30
3	113	11.81
4	106	10.25
5	114	12.01
6	108	10.28
7	112	11.95
8	117	12.16
9	114	11.82
10	108	11.01
Mean	112	Mean 11.48
S.D.	4	S.D. 0.76
N.	10	N. 10

Table 4. Effect of 0.5% Zinc Diet on Weight Gain and Hemoglobin Concentrations.

Animal	Weight Gain(gm)	Hemoglobin (gm/100ml)
Control	153	13.41
	9	0.46
0.5% Zn		
1	108	8.18
2	126	10.23
3	112	8.27
4	116	8.26
5	128	10.01
6	122	9.99
7	116	8.78
8	132	9.33

9	106	8.27
10	122	8.18
11	118	10.23
12	112	10.02
13	126	9.98
14	124	8.76
15	108	9.31
16	128	8.26

Mean	119	Mean	9.12
S.D.	6	S.D.	0.31
N.	16	N.	16

Table 5. Effect of 0.5% Zinc, and Added Iron and Copper on Weight Gain and Hemoglobin Concentrations.

Animal	Weight Gain(gm)	Hemoglobin (gm/100ml)
Control	153	13.41
	9	0.46
0.5% Zn	119	8.67
	6	0.39

0.03% Cu

1	115	12.07
2	106	11.81
3	114	11.38
4	119	12.71
5	114	11.61
6	118	12.65
7	108	11.12
8	102	12.10

Mean	112	Mean	12.01
S.D.	6	S.D.	0.60
N.	8	N.	8

0.03% Fe

1	118	11.71
2	128	11.13
3	115	11.46
4	127	11.42
5	132	12.26
6	122	11.14
7	131	11.46
8	135	11.26

Mean	126	Mean	11.48
S.D.	7	S.D.	0.36
N.	8	N.	8

Table 6. Effect of 0.7% Zinc Diet on Weight Gain and Hemoglobin Concentrations.

Animal	Weight Gain(gm)	Hemoglobin (gm/100ml)
Control	153	13.41
	9	0.46

0.7% Zn

1	114	8.44
2	108	7.59
3	112	7.84
4	109	8.26
5	104	7.61
6	98	7.78
7	112	7.84
8	99	8.72
9	98	7.59
10	110	8.26
11	116	8.44
12	103	7.84
13	107	7.84
14	92	7.78
15	98	7.61
16	108	8.72

Mean	105.6	Mean	8.01
S.D.	7	S.D.	0.42
N.	16	N.	16

Table 7. Effect of 0.7% Zinc and Added Iron and Copper on Weight Gain and Hemoglobin Concentrations.

Animal	Weight Gain(gm)	Hemoglobin (gm/100ml)
Control	153	13.41
	9	0.46
0.7% Zn	10.55	7.77
	7	0.47

0.03% Cu
0.03% Fe

1	113	13.64
---	-----	-------

2	110	13.54
3	116	12.60
4	119	12.85
5	132	12.95
6	124	12.35
7	130	13.35
8	116	12.80

Mean	120	Mean	13.01
S.D.	8	S.D.	0.45
N.	8	N.	8

Table 8. Iron, Copper and Zinc Concentration of Liver and Kidney of Control Rats.

Diet	Liver ($\mu\text{g/day weight}$)			Kidney ($\mu\text{g/day weight}$)		
	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu	Zn
Control						
1	351.35	20.18	56.44	302.56	31.49	89.29
2	381.00	20.60	57.54	186.42	23.29	75.88
3	352.28	20.20	60.75	172.86	27.33	90.88
4	255.92	18.63	64.39	279.55	22.01	88.84
5	348.46	14.98	54.55	278.96	24.20	76.94
6	243.95	21.53	54.62	308.54	28.85	76.59
7	356.90	15.39	52.56	165.03	27.76	83.85
8	456.93	19.10	50.25	251.64	28.49	82.57
9	379.99	16.39	64.91	158.98	26.53	75.64
10	387.82	14.52	64.49	166.56	23.25	76.32
11	393.00	19.12	54.62	224.40	18.20	76.76
12	345.92	14.96	60.76	247.91	31.32	84.44
13	303.06	20.20	52.55	210.06	25.60	81.52
14	399.82	15.39	64.91	218.57	30.62	80.52
15	306.00	16.39	64.39	243.66	25.86	81.03
16	307.92	14.51	54.55			
17	387.65	18.64	57.54			
18	309.78	20.60	56.44			
19	303.64	20.18	64.45			
20	388.81	21.55	50.26			
Mean	348.01	18.16	58.45	227.71	26.32	81.68
S.D.	52.19	2.61	5.72	62.42	9.69	6.20
N.	20	20	20	15	15	15

Table 9. Effect of Low Dietary Zinc on Tissue Iron, Copper and Zinc.

Diet	Liver ($\mu\text{g/dry weight}$)			Kidney ($\mu\text{g/dry weight}$)		
	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu	Zn
Control	348.01	15.77	71.80	227.71	25.21	83.27
	52.19	3.29	4.27	50.87	4.88	5.99
Low Zn						
1	357.65	19.66	45.23	224.65	28.92	94.59
2	337.63	24.54	55.18	232.48	19.88	76.43
3	366.38	23.30	48.33	251.55	19.63	70.79
4	266.96	18.66	45.56	227.08	20.22	78.82
5	337.65	21.48	39.58	255.07	20.32	85.30
6	297.48	18.30	55.74	278.63	16.42	78.53
7	377.86	23.44	49.24	227.95	18.82	77.42
8	299.45	14.23	38.52	299.11	15.11	69.24
9	455.88	19.74	38.44	220.56	29.60	75.93
10	328.66	17.65	48.36	214.72	35.59	80.75
Mean	342.56	20.10	46.42	236.18	22.42	78.78
S.D.	52.47	3.16	6.26	58.72	6.72	7.20
N.	10	10	10	10	10	10

Table 10. Effect of 0.5% Zinc Diet on Tissue Iron, Copper and Zinc.

Diet	Liver ($\mu\text{g/dry weight}$)			Kidney ($\mu\text{g/dry weight}$)		
	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu	Zn
0.5% Zn						
1	267.87	13.57	329.56	75.41	28.34	449.56
2	293.78	13.54	406.04	62.78	12.03	448.84
3	268.79	13.37	306.47	227.62	25.99	458.74
4	217.10	10.95	330.14	86.42	13.67	555.92
5	193.58	10.38	296.88	84.82	12.08	584.45
6	198.55	10.88	240.72	220.74	29.65	472.76
7	190.13	10.37	301.89	122.63	28.85	444.72
8	197.40	10.30	275.18	41.88	10.33	554.20
Mean	228.40	11.67	310.86	126.23	20.12	496.28
S.D.	41.61	1.51	48.21	62.51	8.62	46.62
N.	8	8	8	8	8	8

Table 11. Effect of 0.5% Zinc Diet and Added Iron and Copper on Tissue Iron, Copper and Zinc.

Diet	Liver ($\mu\text{g}/\text{dry weight}$)			Kidney ($\mu\text{g}/\text{dry weight}$)		
	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu	Zn
0.5%Zn	228.40	11.67	310.86	126.23	20.12	496.28
	41.61	1.51	48.21	62.51	8.62	46.62
0.03% Cu						
1	124.29	14.63	371.46	146.45	22.68	522.02
2	173.94	15.16	224.11	218.18	48.35	475.53
3	229.56	14.22	375.76	140.84	34.95	585.43
4	131.47	14.84	281.68	148.67	27.29	403.85
5	257.12	18.16	227.36	199.87	19.33	370.84
6	201.45	16.65	269.67	202.28	41.75	485.02
7	120.87	18.07	294.75	552.65	33.57	366.83
8	190.90	18.35	268.65	208.90	30.37	533.36
Mean	178.70	16.26	301.68	177.23	32.28	467.86
S.D.	51.41	1.76	68.67	32.61	9.60	86.06
N.	8	8	8	8	8	8

Diet	Liver ($\mu\text{g}/\text{dry weight}$)			Kidney ($\mu\text{g}/\text{dry weight}$)		
	Fe	Cu	Zu	Fe	Cu	Zn
0.5%Zn	191.22	9.60	530.50			
0.03% Fe						
1	191.22	9.60	530.05	215.50	27.68	549.43
2	236.58	9.71	417.23	177.24	28.55	425.12
3	352.44	13.65	325.56	154.26	10.76	359.66
4	228.92	11.69	496.26	264.55	16.55	507.23
5	327.65	8.76	329.29	138.86	12.73	530.68
6	177.63	12.84	541.47	124.77	10.62	407.36
7	403.54	10.16	447.36	162.83	27.04	496.78
8	297.78	10.71	323.66	200.95	15.43	440.22
Mean	271.92	10.89	427.36	179.87	18.67	464.56
S.D.	80.70	1.70	86.69	45.60	7.81	64.87
N.	8	8	8	8	8	8

考 按

最近 微量金屬元素는 生體의 代謝面에서 重要視되며 生理的 및 臨床的 意義가 漸次 뚜렷하게 됨에 따라 生體內 微量金屬의 새로운 여러가지 分析法이 考案되었 다. 그러나 이들 여러가지 金屬中에서도 Fe, Cu 및 Zn

Table 12. Effect of 0.7% Zinc Diet and Added Copper and Iron on Liver Iron, Copper and Zinc.

	0.7% Zn		0.7% Zn		0.03% Cu		0.03% Fe	
	Liver							
	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu
1	184.55	14.55	625.44	268.16	20.63	520.32		
2	91.01	12.29	550.06	160.96	19.27	526.92		
3	96.23	13.28	563.73	235.82	21.20	527.40		
4	188.75	11.79	538.49	169.87	18.26	487.76		
5	185.63	13.54	655.85	184.29	17.40	450.08		
6	98.44	12.61	547.76	168.34	18.69	462.23		
7	163.87	13.49	581.97	153.28	19.88	457.87		
8	93.92	16.21	634.78	287.76	20.03	526.92		
Mean	137.78	13.47	587.76	203.56	19.42	484.70		
S.D.	46.77	1.28	38.68	52.60	1.26	35.62		
N.	8	8	8	8	8	8		

은 超微量으로서 그 測定法도 正確性, 迅速性 및 再現性 등의 여러가지 難點이 있다.

分光比色法은 操作手技가 煩雜하고 汚染等 誤差의 要因이 많으며, 焰光光度計法에 依한 發光分析法은 勵起狀態의 原子測定에 依한 것으로서 共存原子의 干涉 및 機械의 感度上, 微量金屬의 測定은 困難하다.

한편 著者가 本實驗에 使用한 原子吸光分析法^{45,46)}은 基底狀態의 原子스펙트럼 測定에 依한 것으로 干涉이 적고 他法에 比하여 高度의 特異性을 갖고 있다.

生體를 構成하고 있는 여러가지 必須元素中에서 亞鉛은 生體의 成長과 健康에 있어서 必要不可缺의 微量元素이며 亞鉛은 鐵 銅과 함께 自然界의 여러가지 食品中에 널리 分布되어 있으므로 比較的 多量攝取하고 있으며 1日 普通食事에서 10~15mg 가량 攝取한다.¹⁷⁾

成人의 全身 亞鉛含量은 約 2~4gm 가량 되며 血液內의 亞鉛은 全血에 있어서 700~800 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 이며 이中 75~85%는 赤血球內에 12~22%는 血清中에 그리고 나머지는 白血球內에 存在하고 있다.⁴⁷⁾

健康한 正常成人의 血清亞鉛濃度는 報告書에 따라서 다르며, 또한 報告年代에 따라 差異가 있으나 一般的으로 100~140 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 로 報告되고 있다.

著者等⁴⁸⁾이 原子吸光分析法으로 測定한 韓國人 正常成人의 血清亞鉛濃度는 109.1 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 이며, 姜等⁴⁹⁾이 Witsizone 法으로 測定報告한것과 비슷하다.

亞鉛의 生體內 代謝에 있어서의 生化學的 作用은 아

직 명확하게 밝혀지지 않았으나 亞鉛은 辜丸, 卵巢, 前立腺, 脾臟, 腦下垂體, 骨, 毛髮, 爪, 胃粘膜, 그리고 各種酵素 即 炭酸脫水酵素, 脾臟의 carboxypeptidase, 酵母, 肝의 alcohol dehydrogenase 骨格筋의 乳酸脫水酵素, 肝의 glutamic dehydrogenase, 腎의 alkaline phosphatase, tryptophan desmolase, malic dehydrogenase, 等 數種의 pyridine dependant metallenzyme의 重要한 構成成分으로 되고 있어서 亞鉛은 이들 臟器組織의 機能과 密接한 關聯을 갖고 있으며 生體의 生化學的 代謝過程에 있어서 대단히 重要한 役割을 하는 것 같다.

亞鉛이 造血機能에 있어서 어떠한 役割을 하는지는 아직 잘 알려져 있지 않으나 食餌中の 亞鉛과 貧血과의 關係는 興味있는 事實이다.

序論에서 言及한 바와 같이 人에서 亞鉛缺乏症^{27, 28} 時에 貧血, 生殖器發育不全, 肝脾臟 肥大 및 侏儒症이 생긴다고 報告되었으며 血清亞鉛 및 血清鐵濃度は 低下되고 血清銅濃度は 上昇된다고 한다.

그러나 成長發育이 좋은 이 地方의 住民도 亞鉛代謝의 異常을 볼 수 있었으며 또한 이 地方은 鐵缺乏性貧血이 蔓延되고 있어 Coble⁵⁰은 亞鉛代謝의 異常은 鐵缺乏으로 惹起되지 않는다고 추측하였다. Spry⁵¹ 等은 쥐에 鐵缺乏性貧血을 일으켜서 亞鉛代謝를 研究하여 鐵缺乏만으로 亞鉛의 turnover를 促進시켰으며 鐵과 亞鉛은 腸管에서 各各 다른 機轉으로 吸收된다고 한다.

Myers⁵² 等은 쥐에게 亞鉛을 1日에 0.1mg씩 鐵과 같이 投與하면 血色素量이 增加되나 1日에 0.5mg 投與하면 도리어 血色素量은 減少된다고 하였으며 Sulton²⁷은 過剩亞鉛食으로 低色素性小球性貧血을 일으킨다고 報告하였다.

本實驗에서 高 Zn 食群의 血色素量은 對照群보다 顯著하게 減少되었으며 0.7% Zn 食群은 0.5% Zn 食群보다 血色素量의 減少가 더 甚하였다.

Guggenheim⁵³은 食餌中の 過剩亞鉛은 銅缺乏症을 誘發시키며 同時에 貧血을 일으킨다고 하였고, Grant Frost & Underwood⁵⁴는 高 Zn 食과 2.1ppm 銅이 含有된 飼料로 어린 쥐를 5週間 飼育하여 銅의 體內保留量의 減少를 볼 수 있었다.

이들은 또한 亞鉛은 血脈 및 組織中 銅濃度を 低下시킬뿐 아니라 細胞 Level에서의 銅의 吸收에 拮抗的으로 作用한다고 생각하고 있다.

高 Zn 食에 Cu 및 Fe를 添加한 群은 貧血을 어느 程度 막을 수 있음을 볼 수 있다. 高 Zn 食으로 因한 血

色素量의 減少는 그 原因을 說明하기 어려우나 過剩 Zn 量은 食餌中の 造血因子의 吸收利用을 妨害하지 않는가 생각된다.

또한 本實驗에서 高 Zn 食群은 血色素量의 減少뿐만 아니라 weight gain도 현저하게 떨어지며 食餌中の 亞鉛量에 따라서 成長의 變化를 볼 수 있었는데 高 Zn 食은 體重增加를 顯著하게 低下시켰으며 食餌中 亞鉛濃도가 높은 것은 成長이 더 甚하게 抑制되었다.

Grant-Frost⁵⁴는 高 Zn 食으로 飼育한 動物의 體重이 減少되는것은 주로 食餌中에 添加한 亞鉛이 맛이 없기 때문에 食餌攝取量이 減少되어 體重이 低下된다고 하였다.

本實驗에서 0.7% Zn 食群은 0.5% Zn 食群보다 體重增加가 더 低下된것은 食餌中亞鉛의 濃도가 높을수록 맛이 없기 때문이 아닌가 생각되나 0.7% Zn 食群이 0.5% Zn 食群보다 肝臟에 保留되는 Zn의 量이 더 많은것으로 미루어보아 食餌攝取 不足으로만 생각할 수는 없다.

高 Zn 食+Cu 添加食群의 體重增加는 낮아졌으나 Fe 添加群은 高 Zn 食群이나 Cu 添加群보다는 若干增加되었으며 0.7% Zn+Cu+Fe 群은 0.7% Zn 食群보다는 體重增加가 上昇되었으나 對照群보다는 低하되었다.

이와같은 事實로 Cu 및 Fe 添加는 高 Zn 食群의 成長抑制를 防止할 수 없다는 것을 알 수 있다.

低 Zn 食群의 體重도 대단히 減少되었다. 이것은 Zn 缺乏動物에서 흔히 볼 수 있는 食慾減退로 因한 食餌攝取 不足으로 體重增加가 되지 않는 것으로 생각된다.

低 Zn 食으로 因한 動物의 成長抑制에 關한 報告는 많으며 人體에 對해서는 Prasad¹⁷ 等이 Zn 缺乏으로 成長이 阻止된다(11名의 男子)고 報告하였다.

Duncan⁵² 等은 쥐를 1% Zn 食으로 飼育하면 心臟의 銅量은 對照群보다 約 40% 낮아졌다고 한다.

Davis⁴⁰는 또한 高 Zn 食으로 肝臟의 銅量은 낮아지나 이때 食餌中の 銅의 濃度は 5~10ppm 程度이었다고 한다.

Smith 等은 食餌中の 過剩亞鉛은 銅缺乏症을 誘發시킨다고 하며 亞鉛過剩症(中毒)時에 銅을 食餌中에 添加하면 貧血을 防止할 수 있다고 報告하였다.

한편 Van Campen⁵⁵은 쥐의 腸管分節을 使用하여 ⁶⁴Cu uptake는 Zn에 依해서 阻害된다고 報告하였다.

本實驗에서 高 Zn 食群의 肝臟 및 腎臟 Cu 量은 0.5% Zn 및 0.7% Zn 食群에서 모두 對照群보다 減少되었으며 Fe 添加食群에서는 高 Zn 食만을 준 群보다 더 減少되었다.

한편 Cu添加群의 Cu량은 肝臟 및 腎臟에서 모두 增加되었다. 이와같은 事實은 Cu와 Zn의 吸收는 서로 拮抗的으로 作用한다는 事實을 뒷받침해주며 高 Zn食은 우선 肝臟 Fe량을 減少시키고 그 다음에 Cu량을 減少시키는것 같다.

Williams & Chesters⁵⁶⁾ 등은 Zn 缺乏이 進行됨에 따라서 DNA로 thymidine incorporation이 減少된다고 報告하였으나, 아직 Zn 缺乏이 nucleotide 前驅體 合成 및 異化過程에 直接的으로 作用하는지 여부에 關係는 잘 알려지지 않고 있다. 그러나 Zn 缺乏이 DNA 合成에 部分的으로 影響을 미친다고 생각된다.

Hartmann⁵⁷⁾ 등은 食餌中의 過剩亞鉛이 肝臟 Fe량을 減少시키는 作用은 羊에 投與한 過剩망강(Mn)에 依한 肝臟 Fe량의 減少와 같다고 報告하였으며 이들은 또한 Mn은 造血機能에 作用한다고 생각하기보다는 Fe의 吸收를 妨害한다고 假定하고 있다.

本實驗에서 高 Zn食群에서 肝臟 Fe량이 減少되는 것은 過剩의 Zn이 體內에서 Mn와 같은 作用을 하기 때문이 아닌가 생각할 수 있으나 좀더 이에 關한 研究가 必要하다고 생각한다.

高 Zn食으로 因해 貧血이 생기는 機轉은 아직 確實하게 알 수 없으나 Hill⁵⁸⁾ 등은 高 Zn食 攝取로 赤血球의 壽命이 짧아진다고 하며 또한 赤血球 生合成時에 銅이 必須元素로서 作用한다는 事實로 미루어 보아 高 Zn食은 間接的으로 銅代謝 및 生體內 微量金屬의 代謝에 異狀을 招來하여 貧血과 成長이 抑制되지 않는가 생각된다.

亞鉛은 過量吸收되지도 않고 또한 肝臟에 貯藏되지도 않는다고 하나 本實驗에서 高 Zn食 投與로 肝臟 및 腎臟의 Zn량은 대단히 增加되었다.

高 Zn食의 濃도에 따라서 肝臟 및 腎臟 Zn량은 대단히 增加되며 또한 재미난 事實은 Fe량의 急激한 減少이다. 이와같은 事實은 餵飼의 肝臟 및 腎臟은 相當量的의 Zn을 貯藏할 수 있는 能力이 있음을 示唆한다.

食餌中의 高 Zn食 및 低 Zn食은 成長을 抑制하고 血色素량을 減少시키며, Cu 및 Fe添加는 血色素량의 減少를 어느程度 防止할 수 있었다.

특히 高 Zn食群에서 肝臟 및 腎臟 Fe량은 甚하게 減少되고 肝臟 및 腎臟 Zn량은 增加된 것은 興味로운 事實이며, 高 Zn食은 間接的으로 組織中의 銅 및 鐵含量에 異常을 招來하여 貧血을 일으키게 하지 않는가 생각된다.

結 論

微量金屬中에서 亞鉛은 鐵 및 銅과 함께 生體의 成長과 健康에 必須要素이며 代謝過程에 있어서 亞鉛의 機能은 生化學的으로 대단히 重要的 것이다.

著者は 食餌亞鉛과 生體內 微量金屬과의 代謝關係를 明確하게 하고자 著者は 餵飼에게 여러가지 食餌即 基本飼料(對照群), 低 Zn(5ppm)食(I群), 0.5% Zn食(II群), 0.5% Zn食+0.3% Cu食(III群), 0.5% Zn食+0.03% Fe食(IV群), 0.7% Zn食(V群) 및 0.7% Zn食+0.03% Cu+0.03% Fe食(VI群)으로 5週間 飼育하여 體重增加 및 血色素量的 變化를 그리고 肝臟 및 腎臟中의 Fe, Cu 및 Zn량을 原子吸光分析法으로 測定하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) 體重은 對照群에 比하여 모든 群에서 減少하였으며 특히 高 Zn食群에서 甚하였다.

2) 血色素량은 I群 11.48%, II群 9.12%, III群 12.01%, IV群 11.48%, V群 8.01%, VI群 13.01%로서 I~V群에서는 對照群의 13.41%보다 모두 減少하였으며 VI群에 있어서만 對照群과 비슷하였다.

3) 肝臟 및 腎臟의 Fe량은 各各 I群 342.56 μ g, 236.18 μ g, II群 228.4 μ g, 126.23 μ g, III群 178.7 μ g, 177.23 μ g, IV群 271.92 μ g, 179.87 μ g 이고, V群과 VI群의 肝臟 Fe량은 各各 137.78 μ g 및 203.56 μ g으로 I群에서는 對照群의 Fe량 351.46 μ g, 227.11 μ g과 비슷하였으며 II~V群에서는 對照群보다 減少되었다.

4) 肝臟 및 腎臟 Cu량은 各各 對照群 18.16 μ g, 26.32 μ g; I群 20.10 μ g, 22.42 μ g; II群 11.67 μ g, 20.12 μ g; III群 16.26 μ g, 32.28 μ g; IV群 10.89 μ g, 18.67 μ g 이고 V群과 VI群의 肝臟 Cu량은 各各 13.47 μ g, 19.42 μ g으로 肝臟의 Cu량은 I群에 있어서는 對照群과 거의 差異가 없었고 II~VI群에서는 若干 減少되어 있다.

腎臟의 Cu량은 I群에 있어서는 對照群과 거의 差異가 없었고 II群과 IV群에서는 減少되었으며 III群에서는 增加되어 있다.

5) 肝臟 및 腎臟의 Zn량은 各各 對照群 58.45 μ g, 81.68 μ g; I群 46.42 μ g, 78.78 μ g; II群 310.86 μ g, 496.28 μ g; III群 301.68 μ g, 467.86 μ g; IV群 427.36 μ g, 464.56 μ g; V群 및 VI群의 肝臟 Zn량은 587.76 μ g 및 484.7 μ g으로 I群에서는 對照群과 거의 變化가 없었으나 II~VI群에서는 顯著히 增加되었다.

0.5% 및 0.7% Zn群에 各各 Cu를 添加하였을때는 肝臟과 腎臟 Zn량에는 큰 變動이 없으나 Fe를 添加하였을 때 肝臟 Zn량은 增加되었다.

以上の實驗成績은 食餌亞鉛이 肝臟 및 腎臟의 Fe 와 Zn 量에 미치는 影響을 究명한 것이다.

REFERENCES

- 1) Lechartier, G., and Bellany, F.: *Sur la presence du zinc dans les corps des animaux et dans les vegetaux. Compt. Rend.* 84, 687-690 (1877).
- 2) Raoult, F., and Breton, H.: *Sur la presence ordinaire du zinc et du zinc dans le corps de l'homme. Compt Rend.* 85, 40-42 (1877).
- 3) Todd, W.R., Evelhjem, C.A., and Hart, E.B.: *Zinc in the nutrition of the rat. Am. J. Physiol.* 107, 146-156 (1934).
- 4) Rertrand, G., and Bhattacharjee, R.C.: *L'action combinee du zinc et des vitamines dans l'alimentation des animaux. Compt. Rend.* 198, 1823-1827 (1934).
- 5) Keilin, D., and Mann, T.: *Carbonic anhydrase. Purification and nature of the enzyme. Biochem. J.* 34, 1163-1176 (1940).
- 6) Wintersberger, E., Neurath, H., Coombs, T.L., and Vallee, B.L.: *A zinc-binding thiol group in the active center of the bovine carboxypeptidase B. Biochemistry* 4, 1526-1532 (1965).
- 7) Hayes, J.E., and Velick, S.F.: *Yeast alcohol dehydrogenase: Molecular weight coenzyme binding and reaction equilibria. J. Biol. Chem.* 207, 225: 244 (1954).
- 8) Valle, B.L., and Hoch, F.L.: *Zinc, a component of yeast alcohol dehydrogenase Proc. Natl. Acad. Sci U.S.* 41, 327-338 (1955).
- 9) Akesson, A.: *On the zinc content of horse liver alcohol dehydrogenase. Biochem. Biophys. Res. Commun.* 17, 211-213 (1964).
- 10) Valle, B.L. and Hoch, F.L.: *Zinc in horse liver alcohol dehydrogenase. J. Biol. Chem.* 225, 185-195 (1957)
- 11) Beisenherz, G., Boltze, G., Boltze, H.J.: *Bucher, T., Czok, R., Garbade, K.H., Meyer-Arendt, E., and Pfeiderer, G. Diphosphofructose aldolase, phosphoglyceraldehyde dehydrogenase milchsäure-dehydrogenase, glycerphosphat dehydrogenase und pyruvat-kinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang. Z. Naturforsch.* 8b, 555-577 (1953).
- 12) Mallee, B.L.: *Biochemistry, physiology and pathology of zinc. Physiol. Rev.* 39, 443-490 (1959).
- 13) Mathies, J.C.: *Preparation and properties of highly purified alkaline phosphatase from swine kidneys. J. Biol. Chem.* 233, 1121-1127 (1958.)
- 14) Harrison, J.H.: *Participation of Zn²⁺ in mechanism of action of malic dehydrogenase. Federation Proc.* 22, 493 (1963).
- 15) Walsh, A.: *The application of atomic-absorption spectra to chemical analysis, Spectrochim. Acta* 7, 108-117 (1955)
- 16) Willis, J.B.: *Atomic absorption spectroscopy. Methods Biochem. Anal.* 11, 1-68 (1963).
- 17) Prasad, A.S., Oberleas, D., and Halsted, J.A.: *Determination of zinc in biological fluids by atomic absorption spectrophotometry in normal and cirrhotic subjects. J. Lab. Clin. Med.* 66, 508.
- 18) Zettner, A.: *Principles and Applications of Atomic Absorption Spectroscopy, Advanc. Clin. Chem.* 7: 1-62 (1964).
- 19) D. Mikac-Devic: *Methodology of zinc determinations and the role of zinc in biochemical processes, Advanc. clin. Chem.* 13:316, 1970.
- 20) Follis, R.H., Jr., H.G. Day, and E.V. McCollum.: *Histological studies of the tissues of rats fed a diet extremely low in zinc. J. Nutr.* 22:223, (1941).
- 21) Tucker, H.F., and Salmon, W.D.: *Parakeretosis of zinc deficiency disease in the pig. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 88, 613-616 (1955).
- 22) Miller, J.K., and W.J. Miller.: *Development of zinc deficiency in Holstein calves fed a Purified diet. J. Dairy. Sci,* 43:1854, (1960).
- 23) Ott, E.A., W.H. Smith, M. Stob and W.M. Beeson.: *Zinc deficiency syndrome in the young lamb. J. Nutr.* 82:41, (1964).
- 24) Forbes, R.M., and M. Tohe: *Zinc requirement and balance studies with the rat. J. Nutrition* 70:53, 1960.
- 25) Swenerton, H., and Hurley, L.S.: *Severe zinc*

- deficiency in male and female rats. *J. Nutr.* 95: 8, 1968.
- 26) Williams, R.B., and Mills, C.F.: *The experimental production of zinc deficiency in the rat.* *Brit. J. Nutr.* 24, 989, 1970.
- 27) Prasad, A.S., Miale, A. Jr., Farid, Z., Sanstead, H.H., and Schulert, A.R.: *Zinc metabolism in patients with syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypoparathyroidism.* *J. Lab. Clin. Med.* 61, 537-549, (1963).
- 28) Sanstead, H.H., Shukry, A.S., Prasad, A.S., Prasad, A.S., Gab, M.K., El Hefney, A., Mokhtar, N., and Darby, W.J.: *Kwasiorkor in Egypt. 1. Clinical and biochemical studies with special reference to plasma zinc and serum lactic dehydrogenase.* *Am. J. Clin. Nutr.* 17, 15-26 (1965).
- 29) Sutton, W.R., and V.E. Nelson: *Studies on zinc.* *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 36:211, (1937).
- 30) Smith, S.E., and E.J. Larson: *Zinc Toxicity in rats. Antagonistic effects of copper and liver.* *J. Biol. Chem.* 163, 29, (1946).
- 31) Van Reen, R.: *Effects of excessive dietary zinc in the rat and its interrelationship with copper.* *Arch. Biochem. Biophys.*, 46:337, 1953.
- 32) Duncan, G.D., L.F. Gray and L.J. Laniel: *Effect of zinc on cytochrome oxidase Activity.* *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 88:625, (1953).
- 33) Sadasi Fan, V.: *Studies on the biochemistry of zinc.* *Biochem. J.*, 52:452, 1952.
- 34) Turk, D.E.: *Effects of diet on tissue zinc distribution and reproduction in the fowl.* *Poultry Sci.*, 44:122, 1965.
- 35) Kienholz, E.W., M.L. Sunde and W.G. Hoestra: *Influence of dietary zinc, calcium and vitamin D for hens on zinc content of tissues, eggs, and bone composition.* *Poultry Sch.*, 43:667, 1965.
- 36) Hoekstra, W.G. Cited by Underwood, E.J.: *Trace elements in human and animal nutrition*, ed. 2, Academic Press, New York, 1962.
- 37) Hoekstra, W.G.: *Recent observations on mineral inter relationship.* *Federation Proc.* 23:1068, 1964.
- 38) Prasad, A.S., Miale, Z., Sanstead, H.H., Schulert, A.R., and Darby, W.J.: *Biochemical Studies on dwarfism, hypoparathyroidism and anemia.* *Arch. Internal Med.* 111, 407-428, (1963).
- 39) Moses, H.A., and H.E. Parker: *Federation Proc.* 23:132, 1964. (abstract).
- 40) Davis, G.K.: *Mechanisms of trace element function.* *Soil. Sci.* 85:59, 1958.
- 41) *International Committee for Standardization in Haematology* (1967); *Brit. J. Haemat.*, 13 (Suppl.), 71.
- 42) Cannon, R.K.: *Hemoglobin Standard.* *Science* 127: 1376-1378, 1958.
- 43) Reinhold, J.G., Kloury, G.A., and Thomas, T.A.: *Zinc, copper and iron concentrations in hair and other tissues: effects of low zinc and low protein intakes in rats.* *J. Nutr.* 92, 173-182, (1967).
- 44) Harrison, W.W., Yurachek, J.P., and Benson, C. A.: *The determination of trace elements in human hair by atomic absorption spectroscopy.* *Clin. Chem. Acta* 23, 83-91, (1969).
- 45) Harrison, W.W., Netsky, M.G., and Brown, M. D.: *Trace elements in human brain: Copper, zinc, iron and magnesium.* *Clin. Chem. Acta* 21, 55-60, (1968).
- 46) Dawson, J.B., and Walker, B.E.: *Direct determination of zinc in whole blood, plasma and urine by Atomic Absorption Spectroscopy.* *Clin. Chem. Acta* 26, 465-475, (1969).
- 47) Valee, B.L.: *Biochemistry Physiology & Pathology of Zinc.* *Physiol. Rev.* 39:443, 1959.
- 48) 채법석, 석영진, 박동수: 원자흡광분석법에 의한 혈청 Zn의 측정, *한국영양학회지*, 4:216, 1971.
- 49) 姜信一, 李正相, 具寅書, 張錫柱, 尹祚段: 各種疾患에 있어서의 血清亞鉛量の 變動에 關한 研究, *大韓內科學會誌* 12:203, 1969.
- 50) Coble, J.D., Van Reen, R., Schulert, A.R.: *Doshakji K.P., Farid, Z., Davis, J.T., Zinc levels and blood enzyme activities in Egyptian male subjects with retarded growth and sexual development.* *Am. J. Clin. Nutr.* 19, 415, 1966.
- 51) Spry, C.J.F., K.G. Piper: *Increased retention of orally administered zinc and raised blood cell zinc concentrations in iron-deficient rats.* *Brit. J. Nutr.* 23:91, 1969.
- 52) Myers, V.C., & Beard, H.H.: *Influence of iron*

- plus supplements of other in organic elements upon blood regeneration. J. Biol. Chem. 94:89, 1931.*
- 53) Guggenheim, K.: *The role of zinc, cadmium and calcium in the etiology of 'Meatanemia' Blood 23:789, 1964.*
- 54) Grant-Frost, D.R., and E.J. Underwood: 1958, *Zinc toxicity in the rat and its interrelation with copper. Australian J. Exp. Biol. Med. Sci., 36: 339.*
- 55) Van Campen, D.R.: *Effects of zinc, cadmium, silver and mercury on the absorption and distribution of copper-64 in rats. J. Nutr. 88, 125, 1966.*
- 56) Williams, R.B., and J.K. Chesters: *The effects of early zinc deficiency on DNA and protein synthesis in the rat. Received 5 March 1970- Accepted 5 June 1970.*
- 57) Hartman, R.H., G. Matrone and G.H. Wise: *Effect of high dietary manganese on hemoglobin formation. J. Nutr. 57:429, 1955.*
- 58) Hill, C.H., Matrone, G., Payne, W.L., and Barber, C.W.: *In vivo interactions of cadmium with copper, zinc and iron. J. Nutr. 80, 227-235 (1963).*