

碩士學位論文

# 돼지혈액에서 비타민 C의 항산화작용



濟州大學校 大學院  
제주대학교 중앙도서관  
獸醫學科  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

임 동 주

110-781

2001年 6月

# 돼지혈액에서 비타민 C의 항산화작용




指導教授 박 전 홍

임 동 주

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함.



임동주의 獸醫學 碩士學位 論文을 認准함.

審査委員長	이 영 재	
委 員	위 명 복	
委 員	백 전 홍	

濟州大學校 大學院

2001年 6月

## 초 록

### 돼지혈액에서 비타민 C의 항산화작용

(지도교수: 박전홍)

임 동 주

제주대학교 대학원

수의학과

어린 돼지의 철결핍성 빈혈을 예방하기 위하여 철을 주사하고 있다. 과량의 철은 세포막 인지질을 산화시켜 malondialdehyde (MDA)를 증가시키는 등 지질과산화작용이 있다. 돼지혈액에서 비타민 C가 철의 투여로 유도되는 지질과산화를 억제하는지 조사하였다. 돼지 혈액 대조군과 철 (0~1 mg/dl)과 함께 비타민 C(0~10mg/dl)를 투여한 군에서 적혈구취약성, MDA, 글루타치온, 비타민 A, 비타민 E를 측정하였다. 적혈구취약성은 철농도가 증가함에 따라 8%에서 45%로 증가하였으며, 비타민 C 농도가 증가함에 따라 57%에서 43%로 감소하였다. MDA는 어린 돼지와 성돈에서 각각  $0.94 \pm 0.05$ ,  $1.86 \pm 0.10$  nmole/ml로 성돈이 어린 돼지보다 높은 수준이었다 ( $p < 0.05$ ). 철은 성돈의 MDA를  $1.86 \pm 0.10$ 에서  $9.46 \pm 0.04$  nmol/ml로 증가시켰으나( $p < 0.05$ ), 어린 돼지의

MDA는 변화가 없었다. 철의 투여로 증가된 성돈의 MDA는 비타민 C의 투여로  $9.46 \pm 0.04$ 에서  $4.80 \pm 0.10$ nmol/ml로 감소하였다( $p < 0.05$ ). 철은 성돈의 글루타치온을  $90.12 \pm 0.10$ 에서  $108.52 \pm 5.29$ mg/dl로 증가시켰으나, 비타민 C의 투여로  $93.52 \pm 2.44$ mg/dl로 감소하였다( $p < 0.05$ ). 철 투여시 성돈 혈액 중 비타민 A와 E는 각각  $24.86 \pm 2.70$ 과  $138.29 \pm 6.70$ μg/dl이며, 비타민 C 투여 시 각각  $35.76 \pm 0.60$ 와  $177.21 \pm 2.95$ μg/dl로 증가되었다 ( $p < 0.05$ ). 본 실험에서 철은 돼지 혈액의 지질과산화를 일으켰으며, 비타민 C는 철의 지질과산화 작용을 감소시키고 혈액 중 비타민 A와 E를 증가시켰다.

---

중심어 : 철, malondialdehyde, 글루타치온, 비타민C, 돼지



# 목 차

I. 서	론	-----	1
II. 재료 및 방법		-----	3
III. 결	과	-----	6
IV. 고	찰	-----	12
V. 참 고 문 헌		-----	17
영 문 초 록		-----	21



제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

## I. 서 론

돼지는 생후 6일에서 8일경 증체량이 2배에 가까우나 돈사에서 사육되는 어린 돼지는 모유를 통해서만 철 공급이 이루어지기 때문에 철 결핍성 빈혈증이 쉽게 발생된다. 어린 돼지의 철 결핍성 빈혈증을 예방 및 치료하기 위해 어린 돼지에 직접 철 제제를 투여하고 있으나, 철을 과량 투여하면 평균 혈색소, 혈장과 적혈구막 비타민 E와 인지질 농도가 떨어진다고 (Braugher *et al*, 1987, Sheard, 1994, Livrea *et al*, 1996, 김 등, 1985). 철 이온은 체내에서 아주 짧은 시간에 과산화수소를 OH로 분해시킬 수 있으며 철의 투여로 비타민 E가 결핍되고 인지질 농도가 감소되고 (McCord, 1996), 세포막 인지질에 결합된 긴 사슬의 불포화지방산이 비효소성 과산화작용을 받아 2중 결합부분이 절단되어 짧은 사슬의 MDA 등의 산화적 분해산물이 생긴다 (김 등, 1985).

체내에서 만들어지는 과산화물은 거대분자의 단백질인 효소 (superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase)나 작은 분자량 물질 (비타민 C, 비타민 E, 글루타치온)의 항산화물질에 의해 조절된다. 비타민 C는 지질과산화를 막아주고 세포막내 비타민 E 라디칼을 재생시키지만 (Berger *et al*, 1997), 철 킬레이터가 결합된 철 과다증 환자에게 비타민 C는 과산화제로 작용하기 때문에 투여가 금지된다 (Halliwell, 1994). 기니픽은 철을 투여하여 생성되는 MDA로 인한 산화 스트레스에 아주 민감하며 이 때 비타민 C를 경구투여 함으로 산화

스트레스를 완화시켜 줄 수 있다 (Collis *et al*, 1997). 사람의 적혈구 막 등에서 철기인성 지질과산화는 비타민 E와 C를 동시에 처리한 경우에 감소하였다 (Glascott *et al*, 1996, Vatassery, 1996, Rifici *et al*, 1996, Barroso *et al*, 1997). 그러나 생체실험에서 비타민 C 가 적은 농도로 투입되는 경우 산화제로서 역할을 하기도 한다(Chen *et al* 2000).

본 연구는 비타민 C가 철 투여로 인한 지질과산화 작용을 억제하는지를 조사하여, 돼지에서 비타민 C의 항산화작용을 관찰하였다.



## II. 재료 및 방법

돼지 혈액은 건강한 어린 돼지 (15일령, 수컷, 제주 축산진흥원) 5마리와 성돈 (도축장) 20마리에서 헤파린 튜브(Becton Dickinson Vacutainer Systems)로 채혈하였다. 혈액을 4℃에서 1,000g로 5분간 원심분리하여 (VS-5500CF, Vision Scientific Ltd.) -20℃에 분석시까지 보관하였다. 실험에 사용한 철은 프로롱갈 ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , 바이엘 코리아, 100mgFe/ml)을 사용하였고 비타민 C는 비타민 C 주사액 (제일제약, 50mg/ml)을 이용하였다. 비타민 A와 E 표준품과 다른 시약은 Sigma제품을 사용하였다. 이동상 용매는 HPLC분석용 시약을 사용하였다.

돼지 혈액상은 자동 혈구계산기 (h5 · m/hema1, SEAC)를 이용하여 적혈구수, 혈색소량, 백혈구수, 평균적혈구혈색소량을 분석하였다. 적혈구 취약성검사는 흡광도법으로 측정하였다 (Bauer, 1982). 잘 혼합된 혈액 20 $\mu\text{l}$ 를 10가지 다른 농도의 식염수에 희석한 후 (0.85, 0.65, 0.60, 0.55, 0.50, 0.45, 0.40, 0.35, 0.30 and 0% NaCl) 실온에 20분간 정치하였다. 원심 후 (2,000rpm, 5분간) 540nm에서 흡광도를 측정하였다 (HP8453, Hewlett Packard).

돼지 혈액 1ml에 철 제제와 비타민 C를 농도별로 각각 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{l}$ 씩 투여한 후 37℃에서 4시간 반응시켰다. 혈액중 malondialdehyde (MDA) 농도는 Yagi (1976)의 방법으로 측정하였다. MDA의 표준시약으로 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 이용하였다. 전혈



100 $\mu$ l를 1/12N 황산 4ml와 반응시키고 10% phosphotungstic acid 0.5ml를 첨가시켰다. 5분간 실온에서 반응시킨 후 원심 (4,000rpm, 10min)시키고 침전물에 1/12N 황산 2ml를 첨가시키고 10% phosphotungstic acid 0.3ml를 다시 첨가시켰다. 원심 (4,000rpm, 10min)시키고 침전물에 증류수 4ml를 혼합 후 thiobarbituric acid용액 (0.67% thiobarbituric acid 수용액 + 차가운 아세트산, 1:1 v/v) 1ml와 혼합 후 끓은 물에서 60분 동안 반응시켰다. 흐르는 물에서 식힌 후 n-부탄올 5ml로 색소를 추출했다. 515nm로 여과시킨후 553nm의 발산파장으로 흡광도를 측정하였다 (LS-5, Perkin-Elmer).

혈액중 글루타치온은 흡광도법을 이용하여 분석하였다 (Beutler *et al*, 1963). 전혈 30 $\mu$ l를 270 $\mu$ l의 증류수와 혼합한 후 450 $\mu$ l의 메타인산 용액을 첨가하여 원심시켰다 (9,000rpm, 10분간). 상층액 500 $\mu$ l에 0.3M의 인산완충액 2,000 $\mu$ l와 250 $\mu$ l의 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)용액을 혼합하고 1분 후 412nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈액중 비타민 A와 E의 농도는 역상 크로마토그래피법으로 분석하였다 (Catignani, 1983). 지용성 비타민을 산화방지제인 butylated hydroxytoluene 1.5g/l가 첨가된 에탄올과 메탄올 (1:10)의 혼합용액으로 5분간 추출하였다. 차광시험관에 100 $\mu$ l혈청, 700 $\mu$ l추출용액을 넣고 5분간 혼합한 후 2.5mlhex산을 추가로 넣고 초음파발생기 (Ohtake Works)로 30 watts에서 2분간 혼합하였다. 원심분리 (3,000rpm, 3분) 후 상층액을 새로운 차광시험관에 옮겨 질소가스를 이용하여 hex산을 기화시키고 건조물만 남은 차광시험관에 1.3ml 메탄올을 넣어 추출물을 녹였다. 원심분리후 0.45 $\mu$ m의 필터로 여과한 시료 50 $\mu$ l를

자동주입기(AS3500, SpectraPhysics, USA)로 HPLC (TSP, SpectraPhysics)에 주입하였다. 크로마토그래피 분석조건은 다음과 같다. 이동상은 7.5mM NaHPO<sub>4</sub>을 함유하는 메탄올:물 (95:5)이고, 유속은 2.5ml/min이다. 칼럼은 C<sub>18</sub> (Symmetry, 10 $\mu$ m)을 사용하였다. 내부 표준물질은 tochopheryl acetate를 사용하였다. 비타민 A는 295nm에서 비타민 E는 325nm에서 측정하였다.

분석된 자료는 SAS (SAS Institute Inc.) 프로그램을 이용하여 ANOVA분석과 Duncan 다중검정으로 분석하였으며 5%에서 통계적 유의성을 검정하였다.



### III. 결 과

어린 돼지(15일령)와 성돈의 혈액상은 크게 다르다. 어린 돼지의 백혈구, 적혈구, 혈색소량은 각각  $7.24 \pm 0.85$  ( $10^3/\mu\text{l}$ ),  $4.42 \pm 0.54$  ( $10^6/\mu\text{l}$ ),  $10.50 \pm 0.60$  (g/dl)이고, 성돈의 혈액상은 각각  $28.48 \pm 5.42$  ( $10^3/\mu\text{l}$ ),  $9.01 \pm 0.77$  ( $10^6/\mu\text{l}$ ),  $15.72 \pm 0.49$  (g/dl)이다 ( $p < 0.05$ ) (Table 1). 적혈구 취약성은 대조군, 비타민 C 0.5 mg/dl, 5 mg/dl 군에서 각각  $57 \pm 4$ ,  $65 \pm 3$ ,  $43 \pm 1\%$ 의 용혈률을 보였다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 1).

철과 비타민 C를 투여하지 않은 대조군의 MDA는 어린 돼지와 성돈에서 각각  $0.94 \pm 0.05$ 와  $1.86 \pm 0.10$  nmol/ml로 성돈이 어린 돼지보다 높은 값을 나타냈다 ( $p < 0.05$ ). 철을 ( $0.1\text{mg Fe(OH)}_3/\text{ml}$ ) 투여하면 MDA는 어린 돼지와 성돈에서 각각  $0.68 \pm 0.04$ 와  $9.46 \pm 0.34$  nmol/ml로 철을 투여하지 않은 군과 비교하여 어린 돼지는 큰 차이가 없으나 성돈은 5배 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). 본 시험에 사용된 비타민 C의 농도는 MDA를 증가시키지 않았다. 철과 비타민 C 0.5mg/dl을 동시에 투여하면 MDA는 어린 돼지와 성돈에서 각각  $0.70 \pm 0.06$ 과  $6.74 \pm 0.16$  nmol/ml로 철만을 투여한 군과 비교하여 어린 돼지는 큰 차이가 없으나 성돈은 23.84% 감소하였으며 (Fig. 2), 비타민 C의 농도가 증가할수록  $4.8 \pm 0.50$  nmol/ml까지 감소하였다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3).

혈액중 글루타치온은 철을 투여한 대조군과 철과 비타민 C를 투

여한 군에서 각각  $108.52 \pm 5.29$ 와  $93.52 \pm 2.44$ mg/dl cells이며 비타민 C의 농도가 증가할수록  $77.83 \pm 11.06$ mg/dl cells까지 감소하였다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 4).

혈액중 비타민 A는 철을 투여한 대조군과 철과 비타민 C 0.5mg/dl을 투여한 군에서 각각  $30.26 \pm 1.28$ 과  $26.33 \pm 0.67$ μg/dl이며 비타민 C의 농도가 증가할수록 비타민 A도 증가해 비타민 C 10mg/dl에서 비타민 A는  $37.93 \pm 1.45$ μg/dl까지 증가하였다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 5). 혈액중 비타민 E의 농도는 철을 투여한 대조군과 철과 비타민 C 0.5mg/dl을 투여한 군에서 각각  $101.53 \pm 10.26$ 과  $170.07 \pm 0.83$ μg/dl이며 비타민 C의 농도가 증가할수록 비타민 E도 증가해 비타민 C 10mg/dl에서 비타민 E는  $193.01 \pm 11.14$ μg/dl까지 증가하였다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 6).



Table 1. Blood parameters of piglet and pig

	RBC ( $\times 10^6 \mu\text{l}$ )	WBC ( $\times 10^3 \mu\text{l}$ )	Hb (g/dl)	MCH (pg)
Piglet* (n=5)	4.42 $\pm$ 0.54	7.24 $\pm$ 0.85	10.5 $\pm$ 0.6	23.93 $\pm$ 1.86
Pig (n=20)	9.01 $\pm$ 0.77	28.48 $\pm$ 5.42	15.72 $\pm$ 0.49	17.54 $\pm$ 1.35

\* p < 0.05

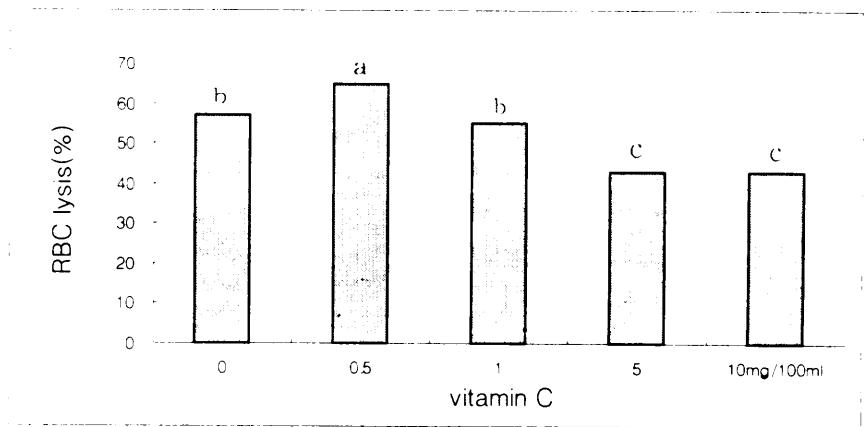


Fig. 1. Effects of vitamin C on the erythrocyte fragility.

\* Different alphabet indicates significant difference ( $p < 0.05$ ).

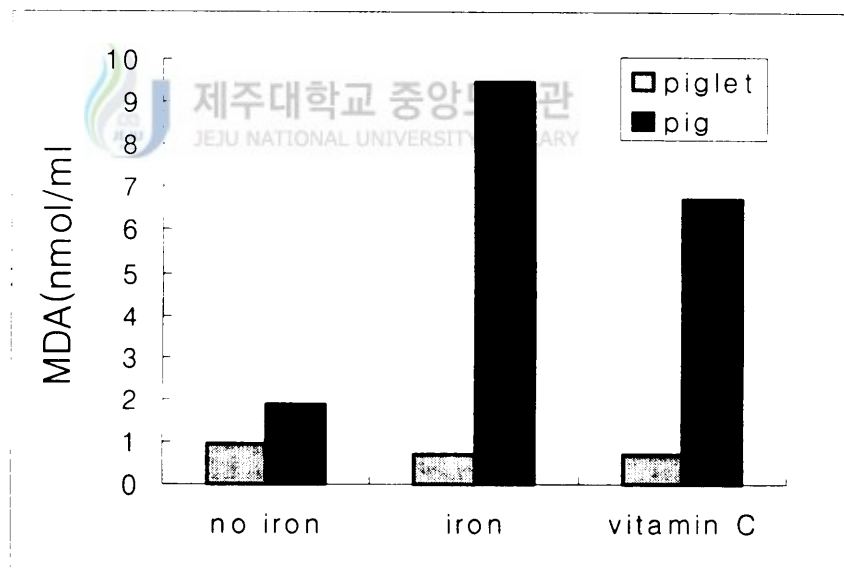


Fig. 2. Effects of vitamin C on the whole blood malondialdehyde in piglet and pig dosed with iron.

\* iron : 0.1mg  $\text{Fe}(\text{OH})_3/\text{ml}$

vitamin C : 0.1mg  $\text{Fe}(\text{OH})_3/\text{ml}$  + 0.5mg/100ml

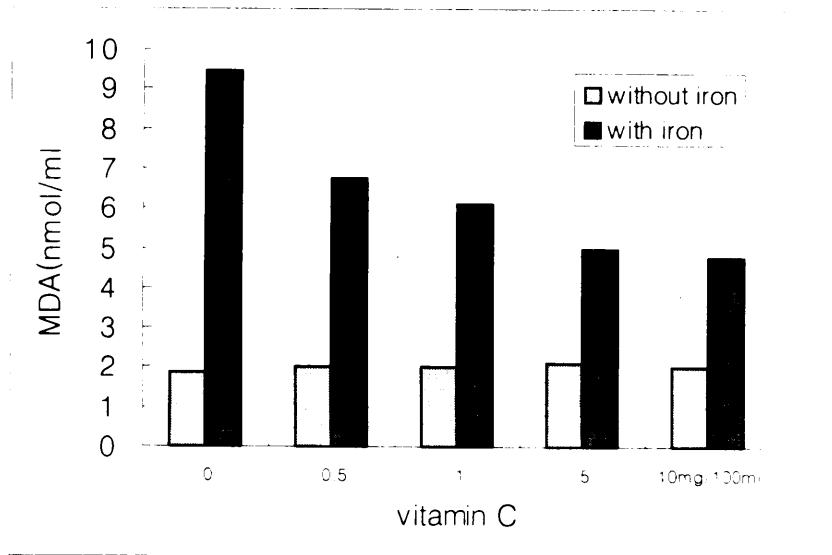


Fig. 3. Effects of vitamin C on the whole blood malondialdehyde in pig dosed with iron (0.1mgFe(OH)<sub>3</sub>/ml).

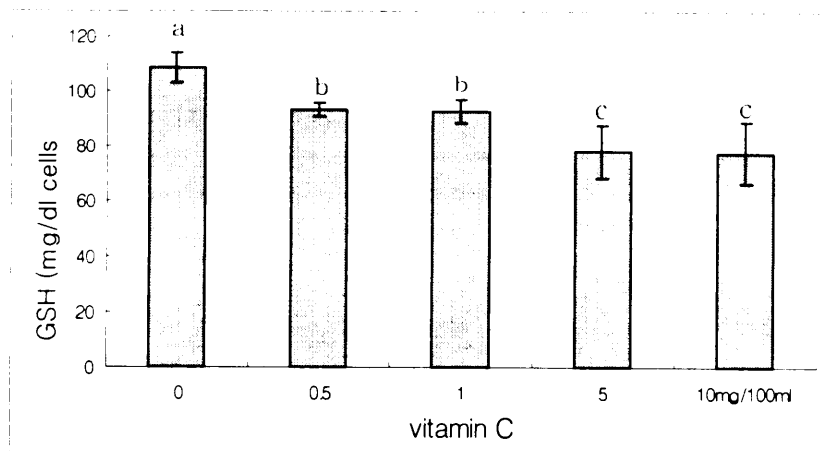


Fig. 4. Effect of vitamin C on the whole blood glutathion.

\* Different alphabet indicates significant difference ( $p < 0.05$ ).

\*\* Iron(0.1mg/ml) was added to all treatment.

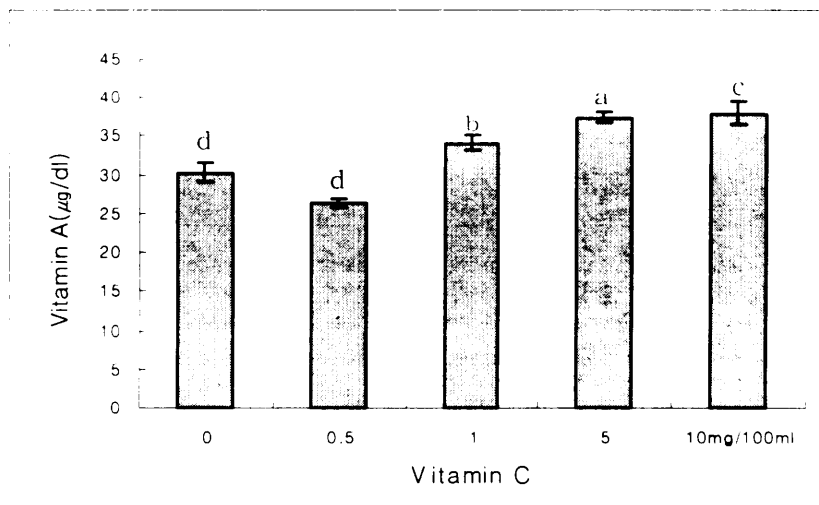


Fig. 5. Effects of vitamin C on the whole blood vitamin A.

\* Different alphabet indicates significant difference ( $p < 0.05$ ).

\*\* Iron(0.1mg/ml) was added to all treatment.

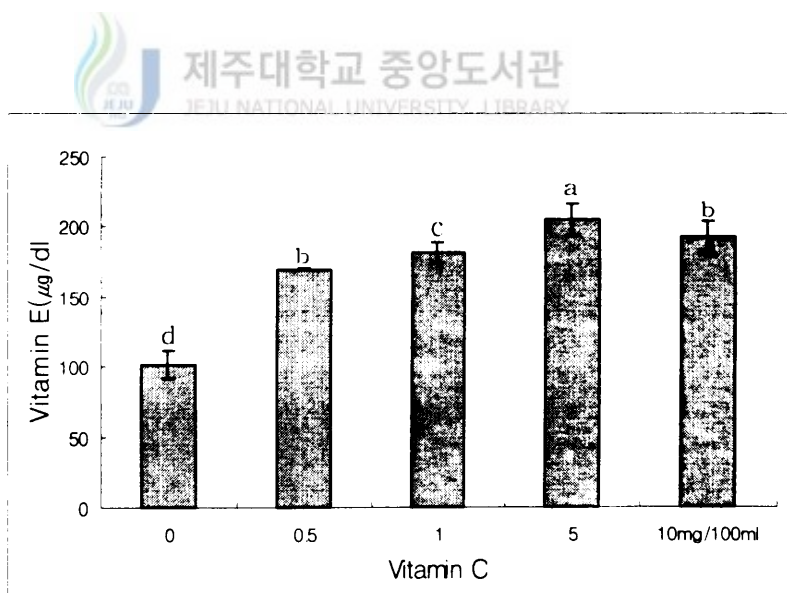


Fig. 6. Effects of vitamin C on the whole blood vitamin E.

\* Different alphabet indicates significant difference ( $p < 0.05$ ).

\*\* Iron(0.1mg/ml) was added to all treatment.



#### IV. 고 찰

체내에 철이 부족하면 혈색소 농도가 감소하여 소구성 저혈색소성 빈혈이 발생되며 특히 임신부나 성장기의 어린 돼지에서 자주 발생될 수 있다. 철은 혈색소의 구성 이외에도 호흡연쇄반응에 관여하는 cytochrome의 구성에 관여하며 peroxidase, dehydrogenase, xanthine oxidase, aconitase 등과 같은 여러 가지 효소의 활성제로 이용된다. 성장기 동물에서 철결핍은 성장장애는 물론 심한 경우 폐사시킬 수 있다.

철은 지구상에 가장 많은 원소들 중 하나이지만 70kg의 성인에는 단지 3-4g만이 함유되어있다. 그 중 거의 65%가 혈색소에 들어있고 3%가 근색소에 그리고 30%가 저장형으로 ferritin철이다 (May *et al*, 1996). 철의 흡수는 철 결핍성 빈혈이나 갑작스런 출혈이 있는 경우 조혈인자가 자극되어 증가되고, 일반적으로는 체내의 요구에 의해 거의 정량적으로 이루어지고 흡수된 철은 transferrin에 의해 혈청 내로 이동된다. 만약 transferrin의 결합능력을 초과한 용량의 철이 투여되면 혈청내 철 농도가 급격히 상승하고, 간은 비장처럼 많은 양의 철을 저장하게 된다 (Beard, 1996). 사람의 경우 일일 철 소실량은 소변으로 약 0.1mg, 피부로 0.2-0.3mg 그리고 변으로 0.6mg정도 이루어지고, 변으로 소실되는 철의 대부분은 출혈로 해석되며 그중 0.14mg정도가 담즙과 탈락된 세포에 의한 것이다 (Bothwell *et al*, 1995, May *et al*, 1996).

혈색소량과 적혈구용적비는 철의 체내 상태를 나타내는 요소이며 나

이, 성별, 개인별, 지역별로 그 정상범위의 차이가 있으므로 고려해야 한다 (Beard *et al*, 1996). 과량의 철이 투여되면 용혈성 빈혈과 수종이 일어나며 평균 적혈구 혈색소량은 낮아진다 (Braugler *et al*, 1987, Sheard, 1994, Livrea *et al*, 1996, 김 등, 1985). 어린 돼지와 성돈의 혈액상은 표 1에 나와 있다. 철에 대한 어린 돼지의 혈액상에서의 비타민 변화를 측정하는 실험에서 비타민 E의 주목할만한 변화가 없다는 것은 철이 비타민 C를 먼저 감소시킨다는 것을 가리키며 결론적으로 비타민 C는 철에 의한 지질과산화물을 억제시킨다는 것을 증명해 준다 (Schweigetr *et al*, 2000). 평균적혈구혈색소농도의 감소는 적혈구 용적의 평균에 대해 상대적으로 혈색소가 감소된 경우를 의미하고 평균적혈구용적의 증가는 급성 출혈이나 용혈같은 정구성 빈혈에서 나타난다. 즉 철 과량 투여시 정구성 빈혈이 유발될 수 있으며 평균적혈구혈색소량 및 평균적혈구혈색소농도는 떨어지는 양상을 보였다.

적혈구 취약성 검사는 정상 적혈구와 비정상 적혈구의 용량과 표면적의 관계를 평가하는 요인으로 많이 사용된다. 적혈구의 표면적이 증가하거나 적혈구막 인지질이 감소하게 되면 적혈구막은 취약해 지고, 과량의 철에 의해 비타민 E가 결핍되면 적혈구 막 인지질 중 다불포화 지방산이 소실되어 dialuric acid와 과산화수소에 의한 산화작용에 민감해진 결과 적혈구막이 약화되어 용혈이 잘 생긴다 (김 등, 1985). 본 실험에서는 비타민 C의 첨가량이 0.5mg/100ml인 경우 용혈률이 증가했으나 비타민 C의 첨가량이 늘어날수록 용혈률이 57에서 43%로 감소되었다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 1).

MDA는 어린 돼지와 성돈에서 각각  $0.94 \pm 0.05$ ,  $1.86 \pm 0.10$ nmol/ml

로 성돈이 어린 돼지보다 높은 수준이었다 ( $p < 0.05$ ). 철은 성돈의 MDA를  $1.86 \pm 0.10$ 에서  $9.46 \pm 0.04 \text{ nmol/ml}$ 으로 증가시켰으나 ( $p < 0.05$ ), 어린 돼지의 MDA는 변화가 없었다. 철의 투여로 증가된 성돈의 MDA는 비타민 C의 투여로  $9.46 \pm 0.04$ 에서  $4.80 \pm 0.10 \text{ nmol/ml}$ 로 감소하였다 ( $p < 0.05$ )(Fig. 3).

철을 투여하면 MDA 생성시 나오는 산화 스트레스에 아주 민감해지며 이 때 비타민 C를 경구투여 함으로 완화시켜 줄 수 있다 (Collis *et al*, 1997). 혈액중 글루타치온은 대조군  $108.52 \pm 5.29$ , 비타민 C  $0.5 \text{ mg}/100 \text{ ml}$  투여군  $93.52 \pm 2.44 \text{ mg/dl}$ 로 비타민 C 투여는 글루타치온을 덜 발생시켰다 ( $p < 0.05$ )(Fig. 4). 글루타치온은 글라이신, 글루타믹산 그리고 시스테인으로 구성되어있고, 혈액에서 대부분의 환원성 글루타치온은 적혈구 내에서 발견되어진다. 글루타치온은 분자량이 작은 프리 라디칼들을 억제할수 있으며, 스스로 glutathione peroxidase 라는 효소의 기질이 되어 지방산 과산화물을 알콜로 변환시킴으로써 다양한 형태의 프리 라디칼을 제거할 수 있다 (Halliwell, 1994).

성돈에 철 투여후 비타민 C를 첨가한 실험에서 비타민 A는 30에서  $37.93 \mu\text{g/dl}$ 으로 증가하였으며, 비타민 E는 101.53에서  $193.00 \mu\text{g/dl}$ 으로 증가하였다. 비타민 C 첨가량이 증가할수록 비타민 A와 E 는 증가하였다 ( $p < 0.05$ ) (Fig. 5, 6). 비타민 C는 생리적 농도에서 비타민 E를 환원시키지 못하지만, 비타민 C농도가 감소하는 것과 세포가 죽는 속도는 상관관계가 있다 (Glasscott *et al*, 1996).

비타민 C의 추가투여 없이 기니픽에게 철을 많이 먹었을 때 비타민 E가 줄어든다는 생체실험보고가 있으며 이것은 철에 대해 비타민 C는

지질과산화 억제 효과가 있다고 볼 수 있다 (Chen *et al*, 2000). 철과 비타민 C를 같이 투여했을 때 산화적 DNA의 손상이 감소된다는 보고도 있다 (Rehman *et al*, 1998). 이것으로 비타민 C가 낮았을 경우 산화적 DNA손상이 나타나지만 철과 비타민 C를 같이 투여할 경우 이런 현상이 줄어든다는 것을 알 수 있다.

항산화 효과의 지표로 비타민 E, 비타민 A,  $\beta$ -carotene, transferrin 등이 있으며 지질과산화를 유도시키는 물질로는 철, 구리 등이 있는데 (Yang *et al*, 1999), 본 실험에서는 비타민 E와 A를 검사하였다. 이는 지질 라디칼을 환원시킴으로써 전자를 소요한 tocopheryl 라디칼에 비타민 C가 수소전자를 하나 전달하여 비타민 E로 다시 환원시켜 항산화제로서 역할을 충분히 하기 때문으로 생각된다. 비타민 E는 세포막에 주로 있으며 지질과산화 라디칼을 효과적으로 양적으로 억제하는 중요한 요소이다 (Brigelius-Flohe와 Traber, 1999). 비타민 E와 C의 항산화제로서 협동작용이 산화적 요인에 노출된 유전적으로 괴혈병을 일으킨 흰쥐의 조직 (Tanaka *et al*, 1997)과 혈장 인지질내에서 (Bisby *et al*, 1994) 보고되었으며 조직에 따른 차이가 있다. 육류 보관 시 비타민 E와 C를 동시에 처리한 경우에는 비타민 E 단독투여보다 더 나은 지방산 산화 억제효과를 보였다 (김 등, 1997). 적혈구 고스트 실험에서 ferricyanide등의 산화적 요인을 제거하기 위해 적혈구막 외의 비타민 C와 막내의 비타민 E가 협동작용을 하였다 (May *et al*, 1996).

비타민 C군의 MDA 농도가 대조군에 비해 증가 한 것은 비타민 C를 과량 투여하였을 경우의 과산화 효과를 나타낸 것이다 (이 등, 1997).

본 실험에서 사용한 비타민 C의 농도는 흰쥐의 체내 평균 비타민 C 함량인  $0.5\text{mg}/100\text{mg}^{\text{bw}}$  보다 2배 많은 용량을 첨가한 것으로 MDA의 결과와 비교하여 볼 때 철분과 동시 투여 시 과산화를 유발하기 충분한 양임을 보여준다. 본 실험에 사용된 철의 농도 ( $0.1\text{mg Fe(OH)}_3/\text{ml}$ )에서 어린 돼지의 지질과산화는 없으며 성돈의 경우 지질과산화를 일으키지만, 비타민 C와 철을 함께 투여한 경우 비타민 C는 철의 지질과산화를 억제시킨다.



## V. 참고 문헌

Barroso, M.P., Gomex-Diaz, C., Lopez-Lluch, G., Malagon, M.M., Crane, F.L. and Navas, P. 1997. Vitamin C and vitamin E prevent induced by serum removal independent of Bcl-2. *Arch Biochem Biophys.* 343(2):243-248.

Bauer, J.D. 1982. Clinical laboratory methods. The C.C. Mosby Co., St. Louis. pp.105-106.

Beard, J.L. Dawson, H. Pinero, D.J. 1996. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr Rev.* 54:295-317.

Berger, T.M., Polidori, M.C., Dabbagh, A., Evans, P.J., Halliwell, B., Morrow, J.D., Roberts, L.J. and Frei, B. 1997. Antioxidant activity of vitamin C in iron-overloaded human plasma. *J Biol Chem.* 272(25):15656-15660.

Beutler, E., Dulon, O. and Kelly, B.M. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 614:882-888.

Bisby, R.H. and Parker, A.W. 1995. Reaction of ascorbate with the alpha-tocopheroxyl radical in micellar and bilayer membrane systems. *Arch Biochem Biophys.* 317:170-178.

Bothwell, T.H. 1995. Overview and mechanisms of iron regulation. *Nutr Rev.* 53(9):237-245.

Braugher, J.M., Chase, R.L. and Pregenzer, J.F. 1987. Oxidation of ferrous iron during peroxidation of lipid substrates. *Biochim Biophys Acta*. 921(17):457-464.

Brigelius-Flohe, R. and Traber, M.G. 1999. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB Journal*. 13(10):1145-1155.

Catignani GL, Bieri JG. 1983. Simultaneous determination of retinol and alpha-tocopherol in serum or plasma by liquid chromatography. *Clin Chem*. 29(4):708-712.

Chen K, Suh J, Carr A.C, Morrow J.D, Zind J, Frei B. 2000. Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 279(6):E1406-1412.



Collis C.S, Yang M, Diplock A.T, Hallinan T, Rice-Evans C.A. 1997. Effects of co-supplementation of iron with ascorbic acid on antioxidant-pro-oxidant balance in the guinea pig. *Free Radic Res*. 27(1):113-121.

Glascott, P.A., Gilfor, E., Serroni, A. and Farber, J.L. 1996. Independent antioxidant action of vitamin E and vitamin C in cultured rat hepatocytes intoxicated with allyl alcohol. *Biochem Pharmacol*. 52(8):1245-1252.

Glasscott, P.A.Jr. Tsyganskaya, M. Gilfor, E, Zern M.A. and Farber J.L. 1996. The antioxidant function of the physiological content of vitamin C. *Molecular Pharmacology* 50:994-999.

Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutr Rev.* 52(8):253-265.

Livrea, M.A., Tesoriere, L., Pintaudi, A.M., Calabrese, A., Maggio, A. Freisleben, H.J., D'Arpa, D., D'Anna, R. and Bongiorno, A. 1996. Oxidative stress antioxidant status in beta-thalassemia major: iron overload and depletion lipid-soluble antioxidants. *Blood.* 88(9):3608-3614.

McCord, J.M. 1996. Effects of positive iron status at a cellular level. *Nutr Rev.* 54(3):85-88.

May, J.M., Qu, Z.C. and Morrow, J.D. 1996. Interaction of vitamin C and vitamin E in resealed human erythrocyte ghosts. *J Biol Chem.* 271(18) :10577-10582.

Rehman A, Collis C.S, Yang M, Kelly M, Diplock A.T, Halliwell B, Rice-Evans C. 1998. The effects of iron and vitamin C co-supplementation on oxidative damage to DNA in healthy volunteers. *Biochem Biophys Res Commun.* 246(1):293-8.

Rifici, V.A. and Khachadurian, A.K. 1996. Effects of dietary vitamin C and vitamin E supplementation on the Copper mediated of HDL and HDL mediated cholesterol efflux. *Atherosclerosis.* 127:19-26.

Schweigert F.J, Furtler H, Boumane A, Wahren M, Leo M. 2000. Effect of iron supplementation on plasma level of vitamins A, E and C in piglets. *Livest Prod Sci.* 63(3):297-302



Sheard, N.F. 1994. Iron deficiency and infant development. *Nutr Rev.* 52(4):137-146.

Tanaka, K., Hashimoto, T., Tokumaru, S., Iguchi, H. and Kojo, S. 1997. Interaction between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. *J Nutr.* 127(10):2060-2064.

Vatassery, G.T. 1996. Oxidation of alpha-tocopherol, vitamin C and thiols in rat brain synaptosomes by peroxy-nitrite. *Biochem Pharmacol.* 52(4):579-586.

Yagi, K. 1976. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med.* 15:212-216.

Yang M, Coois C.S, Kelly M, Diplock A,T. Rice-Evans C. 1999. Do iron and vitamin C co-supplementation influence platelet function or LDL oxidizability in healthy volunteers? *Eur J Clin Nutr.* 53(3):367-74.

김성훈, 허린수, 박항균, 도재철, 이영호. 1985. 철분투여가 적혈구내막 및 혈장내의 지질함량에 미치는 영향. *대한수의학회지.* 25(2):125-132.

김수민, 이신호, 성삼경. 1997. Vitamin C와 Vitamin E 처리가 한우육의 육색 및 지방산화에 미치는 영향. *한국축산학회지.* 39(3):267-274.

이정원, 김소영, 곽충실. 1997. 비타민 C의 만성적 과량투여가 흰쥐의 혈액과 간의 지질성상, 과산화상태 및 혈소판 thromboxane A<sub>2</sub> 생성에 미치는 영향. *한국영양학회지.* 30(6):639-647.

# Antioxidant activity of vitamin C in iron-overdosed swine plasma

Dongjoo Lim

Department of Veterinary Medicine  
Graduate School  
Cheju National University

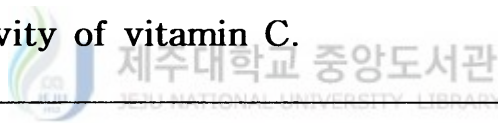
(Supervised by professor Jun Hong Park)



## Abstract

Iron deficient anemia in piglets could be overcome by supplementary iron. Overdosed iron induced peroxidation of cell membrane and increased malonaldehyde (MDA). Antioxidant activity of vitamin C has been studied in iron-overdosed swine plasma. Erythrocyte fragility, MDA, glutathione, vitamin A, and vitamin E were measured in swine plasma with or without iron (0~1mg/dl) and vitamin C (0~10mg/dl). Erythrocyte fragility increased from 8% to 45% in iron group and reduced from 57% to 43% in vitamin C group with dose dependant response. MDA was

0.94±0.05 and 1.86±0.10nmol/ml in piglet and pig, respectively, and significantly high in pig (p<0.05). Iron increased MDA from 1.86±0.10 to 9.46±0.04nmol/ml in pig, but not in piglet (p<0.05). Vitamin C reduced MDA from 9.46±0.04 to 4.80±0.10nmol/ml in pig. Iron increased glutathione from 90.12±0.10 to 108.52±5.29nmol/dl in pig, and vitamin C reduced glutathione from 108.52±5.29 to 93.52±2.44 nmol/dl (p<0.05). Vitamin A and E were 24.86±2.70 to 138.29±6.70µg/dl, respectively in iron group, and 35.76±0.60 to 177.21±2.95µg/dl, respectively in supplementary vitamin C group (p<0.05). This study shows peroxidation of iron-overdosed swine plasma, and increased vitamin A and E and antioxidant activity of vitamin C.



---

Keyword : iron, malondialdehyde, glutathione, vitamin C, swine