

## 白米와 蕎麥粉 混食의 營養價改善에 對한 研究 (4)

— 白米와 蕎麥粉의 混合飼料의 飼育한 흰쥐의 Growth Gain 과 血漿中の Branch-Amino Acid Level 에 對하여 —

李淑熙 · 李鉉琪

釜山大學校 文理科大學 家政學科

## Improving the Nutritional Value of Mixed Diet of Rice and Buckwheat (4)

— Growth Gain and the Level of Branch-Amino Acids in Plasma of Rats Fed on Rice Diet Adding Buckwheat —

Sook-Hee Rhee · Hyun-Ki Lee

*Department of Home Economics, Busan National University*

### Abstract

Wistar Strain male rats were divided into four different diet groups and the control group was fed on seven percent casein diet (C), the second with a mixture of 80% of rice and 20% of buckwheat (RW), the third with rice only (R), and the fourth with a mixture of rice and buckwheat of equal nitrogen level (RWS).

Each diet group consisted of six rats was fed for three weeks by the ad libitum feeding method.

The results of the experiment, i. e., the growth gain and change in the level of branch-amino acids in the plasma determined by the micro-bioassay method were as follows.

1. The group C showed the largest growth gain and the rest did in the order of RW group, R group, and RWS group.
2. It was shown that rats fed on diet of higher protein score tend to have higher level of free branch-amino acids in the plasma.
3. Thus, the protein score may be estimated based on the level of the free branch-amino acids in the plasma.

## 序 論

李<sup>1)</sup>는 雜穀混食과 粉食의 chemical score 改善 方法에 對하여 微生物定量法으로써 각각 그 EAA 를 定量하여 chemical score 를 算出하고 아미노산 pattern similarity 를 구하여 特히 쌀과 메밀가루를 混合할 때는 20% 의 메밀가루를 섞을 때가 chemical score 를 가장 높일 수 있다는 結論에 따라 第一報<sup>2)</sup> (백미에 메밀가루를 섞은 사료로 飼育하였을 때의 rat 의 growth gain 에 대하여)에서는 白米—메밀가루(80:20) 混合飼料로써 흰쥐를 飼育하였을 때의 growth gain 과 weight gain 이 다른 곡류를 混合하였을 때보다 더 良好하였음을 발표한 바 있으며, 第二報<sup>3)</sup> (백미와 메밀가루의 混合飼料로 飼育한 흰쥐의 growth gain 과 血漿 및 肝臟 中の 유리 아미노산 level 에 對하여)에서는 같은 조건 때의 흰쥐의 血漿과 肝臟 中の FAA (free amino acid: try., thr., lys.) 의 變량을 發表한 바 있으며, 第三報<sup>4)</sup> (肝臟 中の branch-amino acid level 에 對하여)에서는 肝臟 中の free branch-amino acid: val., leu., ileu., phe., met., tyr.) 의 變량에 대하여 발표한 바 있으나 금번 著者들은 第四報에서 血漿中の free branch-amino acid (leu., ileu., val.) level 의 變량에 대하여 검토하였으므로 그 結果를 報告한다.

## 實驗方法

## 1. 飼育實驗

體重 31~54g 의 Wistar 系 흰쥐 숫놈 24 마리를 4 群으로 나누어 飼育鐵網箱子 속에 한 마리씩 넣어 室內溫度 대략 24°C 條件하에서 ad libitum-feeding method 로 21 日間 飼育하였다. 처음 2 日間은 stock diet<sup>5)</sup> (oriental 酵母工業製)로써 飼育하였다. Stock diet 의 組成은 corn starch 38%, vitamin free casein 25%,  $\alpha$ 小麥澱粉 10%, 粉末濾紙 8%, linoleic salad oil 6%, 無機鹽類 6%, granulated sugar 5%, vitamin 類 2% 로 하였다. 各群의 實驗飼料 組成은 casein group (C) 는 starch 83%, casein 7%, rice group (R) 는 rice 90%, rice 80% + buckwheat 20%, group (RW) 는 rice 72%, buckwheat 18%, nitrogen

same levels group (RWS) 는 starch 15%, rice 60%, buckwheat 15% 로 조제하고 그리고 各群의 組成은 모두 0.15g salt mixture 4g [containing (mg/100g diet):  $\text{CaCO}_3$ , 29.29;  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.43;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 34.31;  $\text{NaCl}$ , 25.06;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 9.98;  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.623;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.156;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.121;  $\text{ZnCl}_2$ , 0.02;  $\text{KI}$ , 0.0005;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.0025], vitamin mixture 0.85g [containing (mg/100g diet):  $\alpha$ -tocopherol 100; vitamin A 400.0 I.U.; vitamin D 200.0 I.U., thiamin·HCl 0.5; riboflavin 0.5; nicotinic acid 2.5; Ca-panthothenate 2.0; pyridoxine·HCl 0.25; vitamin K 0.05; biotin 0.01; folic acid 0.02; vitamin  $\text{B}_{12}$  0.002; inositol 10.0; ascorbic acid 5.0], choline chloride 0.15g 을 첨가하여 시험 사료로 調製하였다.

## 2. 試料處理

採血 heparin sodium (mg/0.05 ml) 로 處理한 注射器로써 fasting 16 hr 후의 흰쥐를 chloroform 으로써 마취시킨 후 心臟에서 直接 採血하여 3,000 r.p.m., 15 min. 원심분리하여 血漿을 얻었다.

血漿의 除蛋白<sup>5,6)</sup> 血漿과 uranyl acetate (1.55g/dl) 와  $\text{H}_2\text{O}$  를 1:1:1 의 容積比로 混合하여 잘 섞은 다음 원심분리 (3,000 r.p.m., 15 min.) 하여 윗 물을 除蛋白한 血漿으로서 얻어  $-20^\circ\text{C}$  에서 冷藏하면서 FAA 의 定量에 使用하였다.

## 3. 遊離아미노酸의 定量

이들 아미노酸의 定量은 李<sup>2-4)</sup> 와 같이 微生物定量法으로 定量하였다.

Leuconostoc mesenteroides P-60 의 發表에 필요한 vitamin, 아미노酸, 鹽類, 포도당 등의 營養成分을 全部 含有하고 있는 完全合成培地에서 定量코저 하는 目的아미노산만을 除去한 basal medium 을 各各 만들어 이 basal medium 2 cc 를 內經 15 mm 의 시험관에 分注하고 table 1 과 같이 standard 와 試料를 分注한 후 各 시험관에  $\text{H}_2\text{O}$  를 添加하여 總液量이 4 cc 되도록 하여  $120^\circ\text{C}$  1 kg/cm<sup>2</sup> 에서 10 分間 加壓滅菌하였다.

接種菌은 미리 遠心分離用 15 ml 시험관에 5 cc 의 培養培地로서  $32^\circ\text{C}$  에서 24 時間 培養하여 無菌의 殺菌生理食鹽水로 菌體를 懸濁한 후 다시 遠心分離하여 菌體를 이와 같이 反復 洗滌하였다. 이것을 殺菌生理食鹽水로 懸濁하여 heavy ino-

culum 로 하여 각 시험관에 2 방울씩 接種하였다. 接種後 32°C 에서 leucine 은 48 時間, valine, isoleucine 은 72 時間 부란기 內에서 培養하였다. 培養을 끝낸 후 leu. 은 1/10 N NaOH로 val., ileu. 은 1/20 N NaOH 로서 滴定하였다. 이 때 指示藥으로서는 0.2% brom thymol blue 와 0.2% neutral red 의 混合指示藥을 使用하였다. 從軸에 response, 橫軸에 아미노산량을 取하여 dose-re-

sponse 를 만들었다. 또한 檢液의 滴定値를 dose-response 上에 代入하여 FAA 의 含有量を 算出하였다.

Basal medium 의 調製方法은 steel 의 bacts assay medium<sup>7)</sup> 와 田村學造 medium<sup>8)</sup> 法을 利用한 lactobacillus 의 medium uniform 은 李<sup>2-4)</sup> 와 같다. 標準아미노酸 및 試料의 分注 시행은 Table 1 과 같이 하였다.

Table 1. pour amino of standard amino acids and sample in each tube

test tube NO.	1	2	3	4	5	6
standard A. A (Val. 10 $\gamma$ /ml)	0 $\gamma$	3 $\gamma$	6 $\gamma$	9 $\gamma$	12 $\gamma$	15 $\gamma$
plasma	0.3 cc	0.6 cc	0.9 cc	each 3 $\gamma$ added		
				0.3 cc	0.6 cc	0.9 cc
standard A. A (Leu. 10 $\gamma$ /ml)	0 $\gamma$	2 $\gamma$	4 $\gamma$	8 $\gamma$	10 $\gamma$	12 $\gamma$
plasma	0.1 cc	0.3 cc	0.5 cc	each 2 $\gamma$ added		
				0.1 cc	0.3 cc	0.5 cc
standard A. A (Ileu. 10 $\gamma$ /ml)	0 $\gamma$	2 $\gamma$	4 $\gamma$	6 $\gamma$	8 $\gamma$	12 $\gamma$
plasma	0.3 cc	0.6 cc	0.9 cc	each 2 $\gamma$ added		
				0.3 cc	0.6 cc	0.9 cc

實驗結果 및 考察

白米와 메밀 飼料로써 흰쥐를 飼育하였을 때의 growth gain 과 血漿中의 遊離 leu., ileu., val. 含

有量を 微生物定量法으로 定量한 結果은 아래와 같다.

1) 體重增加

各群別 흰쥐를 各級試驗飼料로써 21 日間 飼育한 結果를 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Quantities of in take diet on rats

Diet group	1	2	3	4	5	6	av.
C-group	170.7	181.2	260.8	205.6	209.4	214	206.95
R-group	165.2	113.5	239.5	202.5	186.2	167.7	182.43
RW-group	162.3	182.5	213	118.3	210	213.6	183.28
RWS-group	170	191.1	239	181.7	204.5	206.5	182.13

各 마리당 攝取한 飼料의 範圍는 182.13 ~ 206.95 g으로써 平均 9.2~11.5g을 攝取하였었다. 이들의 平均發表狀態를 Fig. 1에 나타낸다.

Fig. 1에서 나타낸 것과 같이 casein 7% diet를 사용한 對照群의 發表狀態가 가장 좋으며, 그 다음은 쌀 單獨으로 먹었을 때보다 쌀 80%에 메밀가루 20%를 섞어 먹었을 때가 成長率이 더 좋았으며 쌀과 메밀의 질소 level을 같게 한 飼料때보다도 더 좋았었고 成長率이 가장 낮은 群은 쌀과 메밀의 질소 level을 같게 한 群이였었다. 이 때의 growth gain과 weight gain值를 Table 3에 나타낸다.

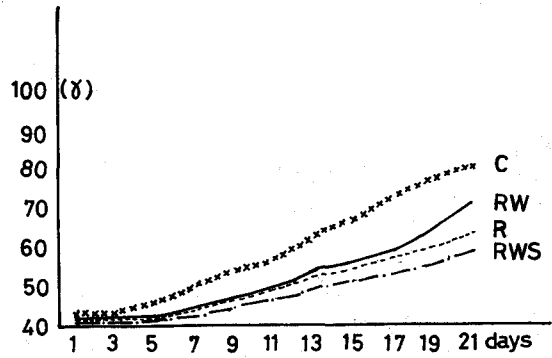


Fig.1 The averages Composition of growth gain of rats (g/days)

Table 3. Growthgain and Weightgain of rats (g or % / 21 days)

Gain	C-group		R-group		RW-group		RWS-group	
	av.	s.e.***	av.	s.e.***	av.	s.e.***	av.	s.e.***
* Growthgain (g)	38.25 ± 2.22		21.62 ± 3.25		27.42 ± 3.21		20.17 ± 0.86	
Growthgain (%)	181.77 ± 6.53		153.30 ± 7.83		170.92 ± 6.21		149.27 ± 1.53	
** Weightgain (%)	18.16 ± 1.52		11.35 ± 1.29		15.82 ± 2.41		10.77 ± 1.39	

\* Growthgain : (Increased body weight / 21 days)

\*\* Weightgain : (Increased body weight / 100g diet)

\*\*\* s.e. : standard error

2) 標準曲線

Leuconostoc mesenteroides P-60 으로 val., leu., ileu.을 定量한 값의 standard curve을 Fig. 2와 같이 作成하였다.

3) Free Val., Leu., Ileu.의 含量

흰쥐의 血漿中の 遊離아미노酸의 含有量을 Table 4와 Fig. 3에 나타낸다.

Fig. 3에서 나타낸 것과 같이 血漿中の val., leu., ileu.의 含量을 蛋白質의 營養價에 比例하는 傾向을 나타냄을 볼 수 있었다. 이와 같은 현상은 1969年 Syderman<sup>9)</sup> 등은 低蛋白營養時에 있어서는 흰쥐의 plasma 중의 遊離 lysine level은 低下되고 遊離 glycine level은 상승되며 高蛋白食事에서는 遊離 proline, branch-amino acids (leucine, isoleucine, valine)의 농도가 增加되며 glycine의 농도는 低下된다고 하는 發表와 1964年 White head<sup>10)</sup>

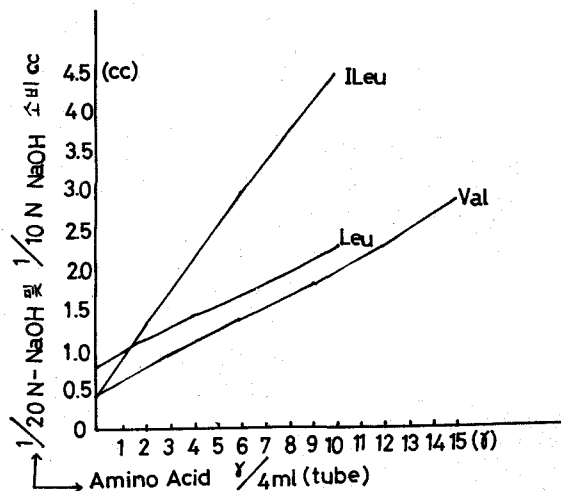


Fig. 2. Dose-response for standard amino acid with Leuc. mesenteroides P-60(72 hr)

**Table 4. Contents of free amino acid in plasma of rats (mg/100 ml)**

Group of rats	Leu.	ILeu.	Val.
C	1.133	1.059	1.554
R	0.815	0.789	0.852
RW	0.930	0.905	1.152
RWS	0.577	0.521	0.643

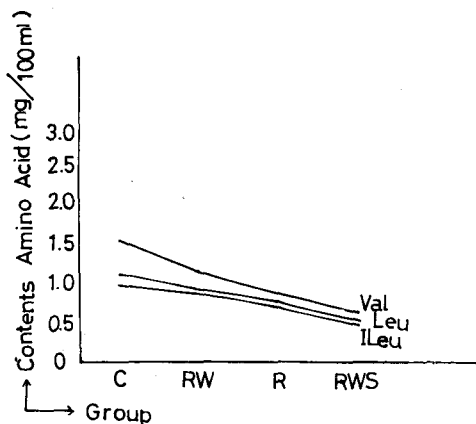


Fig. 3. Contents of free amino acids in plasma

등과 1965年 Holt<sup>11)</sup> 등이發表하고 있는 바와 같이 低蛋白質營養時의 小兒의 PFAA의 變動은 必須아미노산(EAA)의 現저한 저하 그 중 特히 valine, leucine, isoleucine 등의 低下가 심하다는 報告와 거의 같은 傾向을 나타내고 있음을 볼 수 있었다.

**結 論**

Wistar系 흰쥐 숫놈을 casein 7% 飼料群(C), 白米 80%에 메밀가루 20%를 加한 飼料群(RW), level을 같게 한 飼料群(RWS)으로 하여 各群 6마리씩을 ad libitum feeding method로 3주간 飼育하였을 때의 growth gain과 血漿中の 遊離아미노酸의 level의 變量을 微生物定量法으로 定量한 結果는 다음과 같은 結論을 얻을 수 있었다.

① Growth gain은 C群이 가장 높고 RW群, R群, RWS群의 순으로 낮았다.

② Protein score가 높은 飼料로 飼育된 흰쥐의 血漿中の free branch-amino acid의 level은 높은 傾向을 나타냄을 볼 수 있었다.

③ 따라서 血漿中の 遊離 branch-amino acid의 含有 level로써 蛋白營養狀態를 推定할 수 있음을 알 수 있었다.

끝으로 本實驗은 1973年度 文教部 研究助成費에 依하여 研究된 것임을 밝혀둠과 同時에 當局과 또한 本原稿整理에 수고를 하여준 本大學 盧基淑嬢에게 感謝의 뜻을 표한다.

**References**

- ① 李鉉琪: 日本營養と食量 Vol. 23, 140 (1970)
- ② " : 한국영양식량학회 Vol. 1, 1 (1972)
- ③ " : " Vol. 2, 23 (1972)
- ④ " : " Vol. 2, 31 (1972)
- ⑤ Harper. A. E.: J. Nut., 68, 405 (1958)
- ⑥ Bjönesjö. K. B. Beleww M. and Zarr B. : Scand. J. clin. Lab. Invest., 18, 591 (1966)
- ⑦ Stel, Sauberlich, Reynolds and Bauman : J. Biol. Chem., 177, 533 (1949)
- ⑧ Tamara, Tunota et al : J. Agr. Chem. Soc. of Japan, 26, 464 (1952)