

식이내단백질 제한과 회복이 흰쥐의 성장에 미치는 영향

Effect of Dietary Protein Restriction and Repletion on the Growth in the Rats

이화여자대학교 식품영양학과
교 수 김 숙 희

경상대학교 식품영양학과
강 사 이 귀 세 라
Dept. Food and Nutrition, Ewha Woman's University
Prof.; **Sook Hee Kim**
Dept. Food and Nutrition, Gyeongsang National University
Instructor.; **Guisera Lee**

<목 차>

- | | |
|-----------------|---------------|
| I. 서론 | III. 실험 결과 |
| II. 실험계획 및 실험방법 | 1. [실험 1]의 결과 |
| 1. 실험동물의 분류와 내용 | 2. [실험 2]의 결과 |
| 2. 실험동물의 식이 | IV. 과찰 |
| 3. 분석 방법 | 참고 문헌 |

<Abstract>

This study was designed to observe the effect of two levels of dietary protein intake on the development and growth of rats from fetus to adult.

The pregnant rats were fed either 20% casein diet or 7% casein diet.

After weaning or two weeks postweaning, some of the pups from malnourished mothers were rehabilitated by feeding 20% casein diet.

The results were.

1. On the 14th day of gestation, no differences were found in weight and total body fat or protein between fetuses from dams fed 7% casein diet and those from those from 20% casein diet.

2. The birth weight of the pups from 7% casein diet group were significantly lower than those from 20% casein diet group.

3. After rehabilitation, the total body fat and protein of low protein group were not different from those of control group when they were compared at the same body weights regardless the age of rats or the duration on the low protein diet.

4. The nitrogen retention of low protein group, after rehabilitation, was higher than that of control group when they were compared at the same body weight.

I. 서론

우리나라의 영양 문제는 막연히 동물성 식품의 제한된 섭취로 인해서 빚어지는 단백질의 결핍이 있을 것으로 추측되며 이러한 사실은 영양섭취 실태조사에서 종종보고 되고 있다.¹⁾

특히 성장기에 있는 어린이들의 단백질의 질적 결핍은 두드러진 영양불량 증세를 보이지는 않으면서도 이 분야의 많은 전문가들은 우리나라의 성장기 어린이들의 영양상태가 서구를 비롯한 개발국의 어린이 수준에 미치지 못하고 있음을 시인하고 있다. 그러므로, 본 연구에서는 저단백질로 어려서는 성장을 해왔으나 후에 식이 단백질의 수준을 증가시켰을 때에 처음부터 충분한 양의 양질의 단백질로 자란 동물에 비해서 영양상태에 얼마 만큼의 차이가 생기는지에 대해 연구해 보고자 한다.

II. 실험 계획 및 방법

1. 실험 동물의 분류와 내용

평균 몸무게가 158.8 ± 12.1 g 인 Wistar 종암컷 쥐를 교미시켜서 Sperm 조사를 통해서 임신이 판명되면 그날을 임신 일로 해서 곧 표준식이인 20% Casein 식이와 실험식이인 7% Casein 식이로 나누어서 사육하였다. 임신이 된 쥐중 12마리는 임신 14일의 태아와 출생 직후 새끼쥐를 보기 위한 [실험 1]에 사용하고 19마리의 임신이 된 쥐는 이유후 새끼쥐의 성장을 보기 위한 [실험 2]에 사용하였다.

[실험 1]

임신 14일째에 실험식으로 사육한 어미쥐 6마리와 표준식으로 사육한 어미쥐 6마리를 각각 3마리씩 random 하게 선정해서 태아를 분리해내고 나머지는 출생시까지 각각의 식이로 사육한 후 출생시의 새끼쥐를 수집해서 체구성 성분 분석에 사용하였다.

[실험 2]

어미쥐 6마리를 표준식으로, 13마리를 실험식으로 임신기간 동안 사육하고 새끼를 분만하면 한

어미당 새끼수를 8마리가 되도록 조절하여 주고 수유기간에도 임신기간과 같은 내용의 식이로 사육하였다. 생후 21일에 이유시켜서 표준군의 새끼중 수컷 28마리를, 실험군의 새끼중 수컷 24마리를 한군에 4마리씩 Randomized Complete Block Design에 의해 표준군은 7군으로 실험군은 6군으로 나누었다. 실험군중 3군을 실험군 I, 나머지 3군을 실험군 II로 하였다. 표준군과 실험군 I은 표준식으로 사육하였고 실험군 II는 이유 2주까지는 실험식으로 사육한 다음 표준식으로 전환시켜 사육하였다. 각 군의 희생시기는 이유시에 표준군과 실험군 I을 희생시키고 실험군 I과 실험군 II가 표준군의 이유시 몸무게가 되었을때와 표준군의 이유 4주시 몸무게가 되었을때 표준군과 실험군을 함께 희생시키고 이유 4주시에는 표준군만 희생시켰다.

2. 실험 동물의 식이

실험기간 동안 섭취시킨 20% Casein 식이와 7% Casein 식이의 구성성분은 <표 1>과 같다.

<Table 1> Diet Composition

	(per Kg diet)	
	20% casein diet	7% casein diet
Corn-Starch	720g	850g
Casein	200g	70g
Corn oil	40g	40g
Salt mixture ^①	40g	40g
Vitamin A.D. mixture ^②	1 cc	1 cc
Fat soluble vitamins ^③	2 cc	2 cc
Water soluble vitamins ^④	+	+
Vitamin B ^⑤	1 cc	1 cc

① Salt mixture (g/kg salt mixture)

Calcium carbonate	300
Dipotassium phosphate	322.5
Magnesium sulfate-7 HO	102
Monocalcium phosphate-2 HO	75
Sodium chloride	167.5
Ferric citrate-6HO	27.5
Potassium iodide	0.8
Zinc chloride	0.25
Copper sulfate-5 HO	0.3
Manganese sulfate-HO	5

② Vitamin A.D. mixture

(mg/cc corn oil)

Vitamin A	0.1(850I.U)
Vitamin D	0.01(85I.U)

③ Fat soluble vitamin mixture

a-tocopherol acetate(Vit. E)	5g
Menadion(Vit. K)	200 mg
Corn oil	200 ml

④ water soluble vitamin mixture

(mg/kg diet)

Choline chloride	2,000
Thiamin hydrochloride	10
Riboflabin	20
Nicotinic acid	120
Pyridoxin	10
Calcium pantothenic acid	100
Biotin	0.05
Folic acid	44
Inocitol	500
Para-aminobenzoic acid	100

⑤ Vitamin B solution

5 mg Vit. B+500 ml water

3. 분석 방법

1) 체구성 성분의 분석

[실험 1]의 임신 14 일에 희생되는 어미쥐는 Ethyl-ether 로 마취시킨 다음 제왕절개해서 태아를 어미로부터 분리하였다. 출생직후 새끼쥐는 출생후 즉시 어미로부터 분리시켜서 Ethyl-ether 로 마취시켜 희생시켰다. 태아와 출생 직후 새끼는 7마리씩 한 pool로 해서 분석하였다. sample 은 Miceison & Anderson 법¹⁹⁾으로 균등액을 만들어서 총단백질량은 Micro-Kjeldahl 법¹⁸⁾에 의해서 측정했고 총지방량은 Bligh & Dyer 법²⁰⁾에 의해서 측정하였다.

[실험 2]의 쥐도 Ethyl-ether 로 마취시켜 희생시킨후 위와 동일한 방법으로 분석하였다.

2) 체내 질소 보유량 및 보유율

[실험 1]에서는 노와변을 채취하지 않았고 [실험 2]에서는 이유시 희생되는 군을 제외한 나머지 군에서 노와 변을 채취하였다. 희생시켜야 할 시기가 가까와지면 metabolic cage에 옮겨서 이틀간 배설되는 노와 변을 채취하였다. 노와 변의 질소배설량을 Micro-Kjeldahl 법에 의하여 측정후 체내 질소 보유량과 보유율을 다음과 같이 구하였다.

체내질소보유량 = 질소섭취량 - (노질소량 + 변질소량)

체내질소보유율 = 체내질소보유량 / 질소섭취량 × 100

3) 통계 처리

모든 실험분석 결과는 각 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였다. 각 실험군간의 유의성 검정은 Turkey's Test 법²¹⁾에 의해서 $\alpha=0.05$ 수준에서 유의성 검정을 하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. [실험 1]의 결과

<표 2>에서 보는 바와 같이 임신 14 일째의 태아의 무게 및 체구성성분은 표준군과 실험군 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 출생직후의 새끼쥐는 실험군이 표준군보다 체중, 총단백질량, 총지방량 및 지방함유율이 유의적으로 적었고 단백질 함유율에는 유의적인 차이가 없었다.

2. [실험 2]의 결과

1) 성장곡선

표준군의 이유시 평균 몸무게는 44.3g 이었으나 실험군은 13.5g 이었다. 이유 직후 표준식이로 전환한 실험군 I 은 식이전환후 <그림 1>에서 보는 바와 같이 성장이 급격히 증가해서 표준군의 이유시 평균 몸무게에 도달한 이후에는 표준군의 성장곡선과 비슷한 기울기를 나타내었다. 이유후 2주인 생후 35 일에 식이전환한 실험군 II 는 식이전환이전에는 완만한 기울기의 성장곡선을 보였으나 식이전환후 성장이 급격히 증가해서 표준군의 이유시 평균 몸무게에 도달한 이후에는 표준군과 비

<Table 2>

Fetal and pup's weight & carcalsis

group	age (day)	weight (g)	carcass protein		carcass fat	
			mg/rat	%	mg/rat	%
control-fetus	14	0.136±0.003*a**	5.781±0.245	a4.29±0.12N.S.	1.446±0.116a	1.07±0.09a
low protein-fetus	14	0.134±0.002 a	5.940±0.253 a	4.52±0.07	1.360±0.090a	1.01±0.06a
control-pup	0	6.290±0.071 c	293.76±11.536 c	4.68±0.20	108.05±5.074c	1.72±0.06b
low protein-pup	0	4.950±0.042 b	211.116±1.884 b	5.04±0.45	44.158±2.669b	1.05±0.06a

* mean±S.E

** Values in the same column that do not have a common letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Turkey's test methodN.S Values in the same column are not significantly different at $\alpha=0.05$ by Turkey's test method

숫한 성장곡선을 나타내었다.

2) 체구성 성분의 함량 및 함유율

<표 3>에서 보는 바와 같이 이유시에는 실험군 I이 표준군보다 신체내 단백질 함유량 및 함유율 지방함유량 및 함유율이 낮은 경향을 나타내었다. 실험군 I이 식이전환후 표준군의 이유시 평균 몸무게가 되었을 때, 즉 생후 32일과 생후 21일의 실험군 I과 비교해 보면 지방함유율이 유의적으로 증가했으며 같은 나이의 표준군과 비교해서 유의적인 차이가 없었다. 표준군의 이유 4주시 몸

무게가 되었을 때인 생후 61일의 체구성성분의 함유율은 같은 나이의 표준군과 실험군 사이에 유의적인 차이가 없었다. 실험군 II 역시 식이전환 이전에는 같은 나이의 표준군보다 신체내 단백질과 지방의 함유량 및 함유율이 낮았으나 식이전환 후에는 증가해서 표준군의 4주시 몸무게가 된 생후 77일에는 같은 나이의 표준군과 비교해서 단백질과 지방의 함유량에는 유의적인 차이가 있으나 함유율에는 유의적인 차이가 없었다. 같은 몸무게에서는 표준군의 이유시 몸무게에서도, 이유 4주시 몸무게에서도 표준군, 실험군 I, 실험군 II 사이에 유의적인 차이가 없었다.

3) 체내 질소보유량 및 보유율

<표 4>에서 보는 바와 같이 실험군 I이 표준군의 이유시 몸무게가 되었을 때에는 실험군 I이 같은 나이의 표준군보다 체내 질소 보유량은 유의적으로 낮았으나 보유율은 유의적인 차이가 없었다. 표준군의 이유 4주시 몸무게가 되었을 때에는 표준군보다 질소보유량은 낮은 경향을 보였으나 질소보유율은 높은 경향을 보였다.

실험군 II가 표준군의 이유 4주시 몸무게가 되었을 때에는 실험군 II가 같은 나이의 표준군보다 체내 질소 보유율이 유의적으로 높았다.

같은 몸무게에서는 표준군의 이유시 몸무게에서도 이유 4주시 몸무게에서도 표준군, 실험군 I, 실험군 II 사이에서 체내 질소보유량은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 체내 질소 보유율은 표준군의 이유시 몸무게에서는 실험군 I이 실험군 II

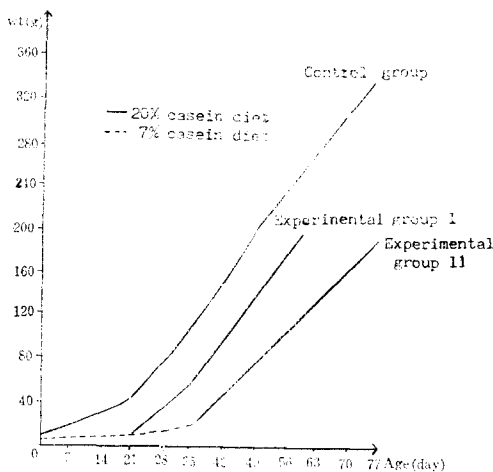


Fig. 1. Growth curves of control group and experimental group I & II.

<Table 3> Carcass protein & fat of control and experimental group

group	age(day)	carcass protein		carcass fat	
		g/rat	%	g/rat	%
C	21	4.18±0.24*a**	9.960±.24 abc	3.47±0.29 abc	8.23±0.31 b
E-I	21	1.12±0.09 a	8.95±0.30 ab	0.48±0.05 a	3.82±0.15 a
C	32	11.16±0.27 bc	11.10±0.33 cd	9.65±0.31 bcd	9.66±0.42 bc
E-I	32 ^o	4.64±0.31 ab	10.6±0.55 bc	3.80±0.57 abc	8.44±0.55 b
C	35	12.36±0.20 c	11.11±0.11 cd	10.97±0.24 cd	9.85±0.06 bcd
E-II	35	1.80±0.16 a	8.53±0.15 a	1.00±0.16 ab	4.67±0.42 a
C	42	17.52±2.05 cd	11.34±0.44 cde	16.71±1.84 de	10.84±0.37 cde
E-II	42 ^c	4.84±0.27 ab	10.37±0.30 bc	3.82±0.42 abc	8.13±0.52 b
C	49	26.40±1.36 e	12.86±0.28 e	24.06±1.25 ef	11.72±0.21 def
C	61	30.76±3.46 e	13.0 ±0.50 e	28.91±3.54 f	11.95±0.21 ef
E-I	61 ^o	25.03±1.48 e	12.9 ±0.29 e	22.36±1.52 ef	11.52±0.35 def
C	77	41.56±3.73 f	2.7 ±0.23 de	42.70±4.76 g	12.99±0.58 f
E-II	77 ^o	24.32±1.16 de	12.70±0.022 de	22.24±2.04 ef	11.52±0.45 def

<Table 4> Nitrogen retention of control and experimental group

group	age (day)	nitrogen retention	
		mg/day	%
C	32	394.3±1.26*cd*	93.08±0.33e
E-I	32 ^o	189.4±19.37 b	92.41±1.26 e
C	35	361.7±17.75 c	86.69±1.97cd
E-II	35	61.6±7.61 a	88.66±0.90 bcd
C	42	431.1±43.46 cd	82.39±1.63 abc
E-II	42 ^o	195.1±13.00 b	87.98±1.68 de
C	49	416.1±13.87 cd	76.99±1.44 ab
C	61	462.3±15.74 cd	80.02±0.47 abc
E-I	61 ^o	409.5±18.65 cd	84.58±1.24 cd
C	77	506.4±23.26 d	76.15±1.05 a
E-II	77 ^o	464.6±47.54 cd	86.72±1.97 cde

* Mean±S.E.

** Values in the same column that do not have a common letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Turkey's test method.

- ① the age when the weight of E-I and E-II came up to the weaning weight of C.
- ② the age when the weight of E-I and E-II came up to the 49th day's weight of C.

C: Control group(20% casein diet). E-I: Experimental group I(after weaning, the pups from malnourished mothers were rehabilitated by feeding 20% casein diet). E-II: Experimental group II(after two weeks post weaning the pups from malnourished mothers were rehabilitated by feeding 20% casein diet)

* Mean±S.E **Values in the same column that do not have a common letters are significantly different at $\alpha=0.05$ by Turkey's test method.

① the age when the weight of E-I and E-II came up to the weaning weight of C.

② the age when the weight of E-I and E-II came up to the 49th day's weight of C.

보다 높은 경향을 나타내었고 표준군의 이유 4 주 시 몸무게에서는 실험군 I 과 실험군 II 사이에는 유의적인 차이가 없었으나 표준군 보다는 유의적으로 높았다.

IV. 고찰 및 결론

본 연구는 저단백식이로 자란 쥐를 식이내 단백

질의 수준을 증가시킨 식이로 사육하였을때 저단백식으로 인해서 생긴 성장지연으로 부터 회복되는 과정을 관찰하고자 시도하였다. 저단백식이물태아때 부터 시작하여 출생후 77일의 나이에 이르기 까지 저단백식으로 부터의 회복시기를 달리 해서 회복되는 과정에서 같은나이와 나이는 다르더라도 몸무게가 같을 때에 표준군과 실험군을 비교하였다.

Morgan & Winick²²⁾의 보고에서와 같이 본 연구에서도 두가지 수준의 단백질 식이로 사육된 어미의 임신 14일째의 태아의 무게와 체구성성분에는 유의적인 차이가 없었다. 어미쥐가 저단백식을 섭취하는데도 정상적인 식이를 섭취하는 어미쥐의 태아와 유의적인 차이가 생기지 않는 것은 임신 14일까지는 태아의 발달은 거의 일어나지 않고 어미의 신체 특히 근육에 단백질이 축적되는 시기이므로²³⁾ 식이 단백질의 부족은 어미 자신에게만 영향을 줄뿐 태아에게는 영향을 미치지 않기 때문이다.

임신 만기후 출생한 새끼쥐는 몸무게에 현저한 차이를 나타내는 것으로 보아서 태아의 발달은 임신 마지막 주에 급격히 일어나는 것이며 어미쥐의 영양상태가 태아에게 미치는 영향도 이 시기가 대단히 중요하다고 생각된다. 이러한 결론은 임신 2주까지는 저단백식으로 사육한 후 정상적인 단백질로 전환해준 결과 임신 21일의 태아의 체중 및 체구성 성분은 임신 전기간에 걸쳐 정상적인 단백질양을 공급받은 태아와 유의적인 차이를 나타내지 않았다는 Morgan & Naismith⁴⁾와 Hastings-Roberts & Zeman⁶⁾의 연구가 뒷받침해주고 있다.

<그림 1>에서 보는 바와 같이 임신기간 및 수유기간에 저단백식으로 사육된 어미의 새끼쥐는 이 유직후 또는 이유 2주째인 생후 35일에 정상식으로 전환시켜 주어도 처음부터 정상식으로 사육된 군의 성장에는 도달하지 못했다. 이러한 결과는 이미 여러 논문^{6,15)}에서도 보고되어졌다. 또한 저단백식이의 섭취기간이 길고 정상식으로의 전환이 느릴수록 본 연구의 실험기간 에서는 표준군의 성장에 도달하는 폭이 커졌다.

저단백식으로 사육되었던 동물은 식이전환후 신체내 지방 함유율이 많이 증가 했으며 식이전환후

40일이 되었을때는 같은 나이의 표준군의 신체내 단백질과 지방의 함유율과 비슷해졌다. 이러한 결과는 수유기간에 한 어미당 새끼수를 증가시켜 영양결핍을 시킨 후 이유 직후부터 정상식으로 전환시켜주었을때 이유시에는 신체내 지방함유율은 표준군이 더 컸으나 식이 전환후에는 두 군 사이에 차이가 없어졌다는 Widdowson & McCance^{15,16)}의 결과와 일치한다. 신체내 지방함유율의 증가가 뚜렷한 것은 Harris & Widdowson¹⁷⁾의 실험 결과에서 보여주듯이 제한된 영양공급후에 회복을 시켜주면 영양결핍이 되었던 동물은 그들의 성상이나 신체의 유지에 요구되는 것보다 더 많은 양의 식이를 섭취하므로써 여분의 양이 체내에서 지방으로 전환하여 축적 했기 때문이라고 볼 수 있다. 나이가 다르더라도 같은 몸무게에서는 저단백식에서 정상적인 단백질식으로 전환시켰더라도 나이에 상관없이 체구성성분의 함유량과 함유율은 비슷하였다. 그러나, Widdowson & McCance⁷⁾에 의하면 수유기 동안 한 어미당 15~20마리로 새끼수를 조절하여 영양결핍을 시킨 결과 체중이 170g 이상에서는 영양결핍이 되더라도 정상으로 자란 동물과 체지방 함유율이 비슷하였으나 170g 이하의 체중에서는 영양결핍이 되었던 동물의 체지방함유율이 낮다고 했으며 같은 나이에서는 영양결핍이 되었던 동물의 체지방 함유율이 훨씬 낮다고 보고 되어있다.

체내질소보유율은 실험군이 정상식으로 전환을 한 후 표준군의 이유 4주시 몸무게에 도달하였을 때 같은 나이의 표준군보다 실험군이 높게 나타났다. 이러한 결과는 Barnes & Kwong¹³⁾의 실험 결과에서도 볼 수 있다. Barnes & Kwong,은 12% Casein 식이로 임신과 수유기간에 사육한 후 25% Casein 식이로 전환해서 질소보유율을 측정 한 결과 저단백식으로 사육한 어미쥐의 새끼쥐의 질소보유율이 처음부터 25% Casein 식이로 사육한 새끼쥐의 질소보유율보다 높다고 보고하였다.

실험군과 표준군 사이에는 항상체중의 차이가 있으므로 체중에 따라 체내질소보유율이 달라질 수 있는 가능성이 있다고 보아서 이에, 대한 실험으로 실험군 I과 실험군 II가 표준군의 이유시 체중에 도달하였을 때의 체내질소보유율을 조사한

결과 표준군보다 실험군이 유의적으로 높았다. 이러한 결과는 Barnes & kwong¹³⁾의 실험과 일치한다.

그러므로, 체중은 같다고 하더라도 과거 단백질의 결핍유무에 따라 체내질소 보유율이 달라진다고 생각한다.

이러한 과정으로 초기에는 저단백식으로 성장하다가 후에 정상식이로 전환했을 때와 처음부터 좋은 단백질로 성장하였을 때를 비교해서 수명에까지는 과연 어떻게 영향을 미칠 것인지에 대하여 연구되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. 이기열, 김숙희, 「한국인의 식생활 향상을 위한 종합연구」서울, 이화여자대학교 출판부, 1974, pp.7-27.
2. B.L.G. Morgan & Winick, Effects of malnutrition on some aspects of RNA metabolism in the maternal liver and fetal tissues at different stages of pregnancy in the rat., J. Nutr. 107, 1977, pp.1694-1701.
3. G.H. Beton, J. Beare, M. H Rye, E.W. Henry, Protein metabolism in the pregnant rat., J. Nutr. 54, 1954, pp.291-304.
4. B.L.G. Morgan & D.J. Naismith, Effects on the products of conception of protein supplementation of diets of rats., J. Nutr. 107, pp.1590-1954.
5. M.H. Hastings-Roberts & F.J. Zeman, Effects of protein deficiency pair-feeding, or diet supplementation on maternal, fetal and placental growth in the rats., J. Nutr. 107, 1977, pp.973-982.
6. C.Z. Lee & B.F. Chow, Protein metabolism by progeny of underfed mother rats., J. Nutr. 87, 1965, pp.439-444.
7. E.M. Widdowson & R.A. McCance, Some effects of accelerating growth. 1. General somatic development., Proc. R. Soc. Lond. B. 152, 1960, pp.188-206,
8. R.H. Barnes, E. Kwong, L. Morris, Maternal protein deprivation during pregnancy or lactation in the rats and the efficiency of food nitrogen utilization J. Nutr. 103, 1973, pp.273-284.
9. B.F. Chow C.J. Lee, Effects of dietary restriction of pregnant rats on body weight gain of the offspring., J. Nutr. 82, 1964, pp.10.
10. M. Winick & A. Noble, Cellular response in the rats during malnutrition at various ages., J. Nutr. 96, 1966, pp.300-306.
11. R.H. Barnes, C.S. Neely, E. Kwong, Postnatal nutritional deprivations as determinants of adult rat behavior toward food, its consumption and utilization, J. Nutr. 96, 1968, pp.467-476.
12. J.P.G. Williams & P.C.R. Hughes, Muscle growth during neonatal undernutrition and subsequent rehabilitation in the rat., Acta. Anat. 101, 1978, pp.249-254.
13. R.H. Barnes & E. Kwong, Effect of different postnatal periods of protein-energy malnutrition in young rats upon subsequent protein utilization., J. Nutr. 107, 1977, pp.412-419.
14. I. Krieger & Q. TaQi, Metabolic rate and body composition in the rats nutritionally deprived before or after weaning., Pediatr. Res. 11, 1977, pp.796-802.
15. E.M. Widdowson & R.A. McCance, The effect of finite periods of undernutrition at different ages on the composition and subsequent development of the rat., Proc. Roy. Soc. Lond. B. 158, 1963, pp.329-342.
16. R.A. McCance & E.M. Widdowson, The determinants of growth and form., Proc. Roy. Soc. Lond. B. 185, 1974, pp.1-17.
17. P.M. Harris & E.M. Widdowson, Deposition of fat in the body of the rat during rehabilitation after early undernutrition., Br.

- J. Nutr. 39, 1978, pp.207-211.
18. P.B. Hawk & B.L. Oser, Practical physiological chemistry, New York, McGraw Hill Book Co., pp.1219-1220.
19. O. Mickelson & A.A. Anderson, A method for preparing intact animals for carcass analysis., J. Lab. Clin. Med. 53, 1959, pp.282-287.
20. E.C. Bligh & W.J. Dyer, Can.J. Biochem. Phys. 37, 1959, pp.911-917.
21. C.W. Smêdecor & W.C. Cochran, Statistics Methods, Iowa state University Press, pp. 268-271.