

조기 이유와 단백질의 양적·질적섭취가 흰쥐의 기관성장, 질소대사 및 생리기능에 미치는 영향*

이 연 숙·박 미 나

서울대학교 생활과학대학 식품영양학과

Effects of Early Weaning and Protein Intake on Organ Growth, Nitrogen Metabolism and Physiological Functions in Rats

Lee, Yeon Sook · Park, Mi Na

*Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Seoul National University,
Seoul 151-742, Korea*

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the short-term effects of early weaning and protein intake on organ and cell growth, nitrogen metabolism and physiological functions of rats. Five groups of early weaned rats separated from the dam on the 15th day postpartum were each given one of five diets consisting of either one of the three levels of casein-low(8%), -normal (16%), and -high(32%), or a normal level(16%) of isolated soy protein(ISP) or egg yolk protein, for 7days. The normal weaned rats were fed maternal breast milk for three weeks from birth. On the 22nd day postpartum, all the rats were sacrificed. The weight gain of the early weaned rats, especially the ones fed high protein, was observed to be significantly lower than that of the normal weaned rats. By the 15th day, of early weaning and especially in the ISP-fed rats, the total DNA contents of liver and kidney, which may be said to represent an index of cell numbers, significantly decreased, but their fresh and dry weight and protein/DNA ratio, allegedly representing an index of cell size, significantly increased, not affecting the cell number and cell size of brain. There were no differences in total serum protein and albumin concentrations between early and normal weaned rats. In the early weaned rats observed, the serum urea N and α -amino N concentrations significantly increased in high protein-fed rats, and decreased in low protein-fed rats. Another observation was that no significant difference was noticed as regards to serum GOT activity, total bilirubin, uric acid, and creatinine concentration, which may represent indices of liver and kidney functions, among rat groups, GPT activity was an exception. These results suggest that premature weaning and the quality and quantity of dietary protein significantly affect organ and cell growth and nitrogen metabolism, but does not seriously affect physiological functions in the neonatal development of rats. (*Korean J Nutrition* 31(3) : 243~252, 1998)

KEY WORDS : early weaning · protein intake · cell growth · nitrogen metabolism · physiological functions.

채택일 : 1998년 3월 10일

*The authors wish to acknowledge the financial support of the Korea Research Foundation made in the program year of 1996.

서 론

이유(weaning)는 영아기의 식사환경에 있어서 가장 중요한 변화이며, 이유개시시기와 이유식의 내용에 대한 문제는 광범위하게 검토되어 왔다¹⁻³⁾. 대체로 이유시작시기는 영아의 영양소 필요량, 생리적 성숙도, 식행동과 발달 양상을 고려하여 출생후 4~6개월이 적절한 것으로 권장되고 있다. 그러나 실제로는 선진국 뿐 아니라 개발도상국에서도 너무 빠른 이유 경향이 보고되고 있다²⁾. 기관의 성장·발달 뿐 아니라 영양소대사와 생리적기능이 미숙한 출생후 초기의 조기이유(early weaning) 문제는 영양적 또는 생리적 위험성이 내포되어 있음에도 불구하고 아직 많은 연구가 되어 있지 않으며, 특히 성장기에 있어서 중요한 필수 영양소인 단백질의 양적 및 질적 섭취에 대한 출생후 초기 적응에 대한 연구는 매우 미흡하다⁴⁾.

최근 Heinig 등⁵⁾, Bai 등⁶⁾과 Koo 등⁷⁾의 생후 6개월간 영아의 이유식 섭취실태 조사결과를 보면 특히 단백질 섭취량이 모유영양아에서 인공영양아의 70% 정도로 낮게 나타났으며, Lucas 등⁸⁾은 모유영양아가 인공영양아보다 단백질의 섭취가 더 낮음에도 불구하고 면역기능과 행동발달 측면에서 더 우수하다고 보고하였다. 또 Axelsson 등⁹⁾은 이유기 영아들의 대사적 반응과 성장을 측정 한 결과, 모유영양아들의 단백질의 섭취가 유의적으로 낮음에도 불구하고 인공영양아들의 성장률과 차이가 없었으며, 단백질 섭취 수준이 높은 인공영양아에서 혈액과 뇨의 단백질 대사산물들은 유의적으로 높게 나타났다. 따라서 이들은 이유기 영아의 경우 follow-up milk의 단백질 수준을 낮추므로써 모유영양의 대사성 지표에 근접하게 될 것임을 제안하였다. 인공영양아 뿐 아니라 이유기 영아에 있어서 고수준의 단백질 섭취 문제는 신중하게 검토되어야 할 과제임에 틀림없다.

또 이유기의 단백질 급원으로서 중요한 것으로 우유 단백질, 계란단백질 및 식물성단백질(쌀 또는 대두단백질)을 들 수 있다. 이들 단백질 종류에 따른 조기이유시의 적응문제도 면밀히 검토할 필요가 제기된다¹⁻³⁾.

출생시 소화관 기능을 보면 소화 효소의 활성이 미흡할 뿐 아니라 많은 방어인자들이 수동적이거나 완전히 발달되어 있지 않다. 이유기에는 여러가지 병원체와 이종 단백질(foreign protein)에 노출되기 쉬우므로 능동적인 장관 방어 기전을 필요로 한다. 또 간의 대사능력도 충분히 발휘되지 못하고, 신장계(renal system)의 농축 능력에도 한계를 가진다¹⁰⁾. 따라서 소화관, 간 및 신장의 생리기능이 미숙한 상태에서의 조기이유와 단

백질의 부적절한 질적·양적 섭취는 기관의 성장 발달 과정에 상당히 심각한 문제를 야기시킬 소지를 내포하고 있을 것이다.

본 연구에서는 생후 15일째 조기 이유시킨 흰쥐에게 단백질의 수준과 종류를 달리한 실험식이를 이유 직후부터 21일째까지 일주간 동안 급여한 후, 성장과 기관 성장, 혈중의 질소성분과 대사산물, 간과 신장의 생리기능 지표, 소장내 효소활성 등을 측정하여 생후 21일째 정상이유한 흰쥐와 비교·고찰함으로써 조기 이유 및 조기이유시 단백질 양적·질적 섭취문제를 보다 이론시기에 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 설계와 실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley종(서울대학교 실험동물 사육장에서 구입) 흰쥐 암컷(200g) 2마리와 수컷(250g) 1마리를 한 케이지에 10일 동안 넣어주는 방법으로 교배시켜, 임신된 쥐는 각각 한마리씩 케이지에 넣어 분만시켰다. 분만 후 24시간 이내에 성별을 구별하여, 어미쥐 한마리 당 수컷 새끼쥐 9마리씩 수유하도록 조정하였다. 생후 21일까지 어미쥐로부터 수유된 새끼쥐 8마리를 정상이유군(control)으로 하였고, 생후 15일째 되는 날 이유시킨 어린쥐를 조기이유군으로 하였다. 조기이유군은 각각 8마리씩 5개 실험군으로 나누었다. 실험군은 조기이유시 단백질 섭취 수준의 영향을 보기 위해 단백질급원으로 카제인(casein)을 저, 중, 고의 3수준(low casein : LC, normal casein : NC, high casein : HC)으로 나누었고, 정상수준에서 단백질 급원의 영향을 보기 위해서는 대두단백질(Isolated Soy Protein : ISP)과 난황단백질(Egg Yolk Protein : EYP)의 2군(normal ISP : NS, normal EYP : NE)으로 나누어 정상수준의 casein 섭취군(NC)과 비교하고자 하였다. 체중은 생후 15일째부터 매일 측정하였다. 실험동물 사육실 환경은 온도 22±2℃, 상대습도 65±5%로 유지하였으며, 명암은 12시간 주기(light : 6 : 00 a.m. - 18 : 00 p.m.)로 조절하였다.

2. 실험식이

조기이유군에게 생후 15일째부터 21일째까지 급여한 식이는 흰쥐의 어미 젖(rat's milk)의 조성¹¹⁾을 참고로 하여 영양소 함량을 정하였다(Table 1). 단백질 섭취 수준은 어미젖의 단백질의 에너지 비와 비슷한 16%를 정상(normal)수준으로 정하고, 정상수준의 ½인 8%를 저(low)수준으로, 정상수준의 2배인 32%를 고(hi-

Table 1. Composition of experimental diets (g/100g diet)

Ingredients	Protein source		Casein	ISP	EYP
	LC ¹⁾	HC	NC	NS	NE
Casein	8	32	16	-	-
ISP	-	-	-	16	-
EYP	-	-	-	-	16
Starch	30	6	22	22	22
Soybean oil	16	16	16	16	16
Cellulose	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3
Mineral mix. ²⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix. ³⁾	1	1	1	1	1
Choline-chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Agar	1	1	1	1	1
Distilled-water	37	37	37	37	37

1) LC : low casein diet HC : high casein diet NC : normal casein diet NS : normal isolated soy protein (ISP) diet NE : normal egg yolk protein(EYP) diet
2) & 3) AIN.⁷⁶

gh)수준으로 정하였다. 단백질 급원으로 사용된 casein과 ISP(한국합성(주), 서울)는 분리정제된 것을 구매하여 사용하였고, EYP는 본 실험실에서 Yamaguchi 등¹²⁾의 방법으로 신선한 난황으로부터 직접 추출하여 정제하였으며, 추출정제된 난황단백질의 질소함량은 평균 15.2%(조단백질함량 95%)였다. 유즙 중 지방이 차지하는 비율이 높은 것을 고려하여 지방은 총 에너지의 50% 이상이 되도록 하였고, 지방 급원으로는 soybean oil(제일제당(주))을 이용하였다. 비타민과 미네랄의 조성은 AIN-76 pattern¹³⁾을 따랐으며, 각 실험식이의 총 에너지 함량은 일정하게 하기 위해서 탄수화물 함량을 조정하였다. 갑작스런 식이 형태의 변화를 막기 위하여 Agar 1%를 포함하도록 끓인 물을 분말실험식과 혼합하여 반고형식(gel) 형태로 매일 만들어 ad libitum으로 급여하였다.

3. 시료수집 및 분석방법

1) 시료 수집

조기이유 및 정상이유 흰쥐 모두 생후 22일째 희생시켰다. 이들은 실험식이 섭취조건을 일정하게 하기 위해서 희생전 10시간을 절식시키고 1시간 30분 동안 식이를 섭취시킨 후 30분(소화시간 2시간)에서 sodium pentobarbital(Pitman-Moore, Inc., USA)을 체중 100g당 5mg씩 복강내 주입으로 마취하여 시료를 수집하였다. 경동맥에서 채취한 혈액은 12시간 냉장 방치 후, 3000rpm에서 20분간 원심분리(Sorvall, GLC-2B)하여 혈청을 얻었고, 분석 때까지 -70℃에서 냉동보관하였다. 간과 신장은 적출하여 장기에 부착되어 있는 지방을 깨끗이 제거한 후, 생리식염수(0.9% NaCl)로 씻어 혈

액을 제거한 다음 여과지로 물기를 닦고 생조직의 무게를 측정하였고, 뇌 조직은 꺼낸 즉시 무게를 재고 모든 조직을 즉시 냉동보관 하였다. 위는 적출하여 전체 무게를 재고 내용물을 일정량(5ml)의 생리식염수로 씻어내어 수집한 후, pH를 측정하였으며, 나머지 조직 무게도 측정하였다. 소장조직은 총 무게와 길이를 측정하고 전체 소장 내용물을 생리식염수로 씻어낸 후 일정량(30ml)으로 맞추고 원심분리(10,000rpm, 20min)하여 상층액을 효소혈청 측정에 이용하였다.

2) 시료분석

혈청 중 간기능을 나타내는 지표들(total protein, albumin, total bilirubin, GOT, GPT)과 신장기능을 나타내는 지표들(blood urea nitrogen, uric acid, creatinine)은 multi-liver와 multi-kidney strips을 이용하여 혈액자동분석기(fully automated dry chemistry system; SPOTCHEM; Daiichi Kagaku Co., Japan)에서 측정하였다. α-amino N은 혈청을 5% TCA로 희석하고 30분 이상 냉장방치한 후 3,000rpm에서 30분간 원심분리하여 제단백 후, 그 상층액에서 ninhydrin법¹⁴⁾으로 측정하였다. 소장내용물의 trypsin activity는 casein을 기질로 하는 Rick의 방법¹⁵⁾으로 측정하였다. 간, 신장, 뇌, 및 위조직은 냉동건조시켜 분쇄한 후 우선 nucleic acid와 protein을 추출한 후 DNA는 Diphenylamine법¹⁶⁾, RNA는 Orcinol법¹⁷⁾, protein은 Lowry법¹⁸⁾으로 비색정량 하였다.

3) 통계분석

실험 식이의 처리에 의한 각 분석치는 mean±SE로 제시하였다. 각 실험군의 평균값간의 유의성 검증은 one-way ANOVA test후 p<0.05 수준에서 DUN-CAN's multiple range test에 의해 분석되었다.

결 과

1. 신체성장

생후 21일간의 성장을 측정한 결과(Table 2) 카제인을 급원으로 하였을 때 정상이유군에 비해 조기이유군에서 체중의 증가량이 유의적으로 적었으며(p<0.05), 특히 고단백질 섭취군(HC)에서 성장이 가장 저조하였다. 단백질 급원별 영향을 보면 체중의 증가량, 식이섭취량과 식이효율에서 모두 ISP 섭취군(NS)에서 가장 높게 나타났으며, EYP섭취군(NE)의 경우 casein섭취군(NC)보다 높았고, 정상이유군(control)과 비슷한 성장을 나타냈다. 이와 같은 성장율의 차이는 고단백질의 경우는 식이섭취량이 낮은데 기인하지만, ISP섭취의

Table 2. Body weight, food intake and food efficiency ratio of rats[†]

	Body weight(g)	Weight gain(g/d)	Food intake(g/d)	FER ²⁾
Normal weaning(21st)				
Control	51.54 ± 1.30 ^{1b)}	2.49 ± 0.17 ^{b)}	-	-
Early weaning(15th)				
LC	48.36 ± 1.40 ^{bc)}	1.92 ± 0.17 ^{bc)}	4.88 ± 0.12 ^{b)}	0.39 ± 0.03 ^{bs)}
HC	43.81 ± 1.93 ^{c)}	1.18 ± 0.18 ^{d)}	2.90 ± 0.22 ^{d)}	0.40 ± 0.06 ^{b)}
NC	46.29 ± 1.69 ^{c)}	1.67 ± 0.20 ^{cd)}	3.90 ± 0.20 ^{c)}	0.42 ± 0.04 ^{b)}
NS	60.72 ± 1.38 ^{a)}	3.35 ± 0.18 ^{a)}	5.99 ± 0.16 ^{a)}	0.56 ± 0.03 ^{a)}
NE	52.71 ± 2.38 ^{b)}	2.32 ± 0.27 ^{b)}	4.62 ± 0.24 ^{b)}	0.49 ± 0.04 ^{ab)}

[†]All rats were sacrificed at 22nd after birth

1) Values are Mean ± SE of eight rats

a-d : Values with different superscripts in column are significantly different at $p < 0.05$

2) FER : Food efficiency ratio, weight gain/food intake

경우는 식이섭취량의 증가 뿐 아니라 식이효율이 높은 데 기인하는 것으로 생각된다.

2. 기관의 성장

1) 간(liver)

간의 중량, 체중에 대한 상대적 비율, 건조중량 및 수분함량을 Table 3에 제시하였다. 정상이유군(control)에 비해 조기이유군에서 모든 중량이 유의적으로 증가하였으며, 단백질의 섭취수준에 따른 차이는 거의 없었다. 정상적인 단백질 섭취수준에서 간의 중량이 ISP(NS) 및 EYP(NE) 섭취군에서 casein(NC) 섭취군에 비해 유의적으로 높았는데, 이는 체중증가 및 간의 건조중량의 증가에 의한 것이라고 볼 수 있다. 조직의 수분함량은 정상이유에 비해 조기이유에 의해 유의적으로 감소하였으나, 조기이유의 실험군들 간에는 거의 차이가 없었다.

간세포의 수를 나타내는 DNA 함량은 조기이유에 의해 유의적으로 감소된 반면, 세포의 크기를 나타내는 protein/DNA비는 높은 경향을 보였다. 단백질 섭취수준별로는 조기이유시 고단백질 섭취군(HC)에서 DNA와 protein농도가 가장 낮았다. DNA함량은 단백질 급원에 따라 차이가 없었으나 protein농도 뿐 아니라 protein/DNA비는 ISP섭취군(NS)에서 유의적으로 증가하였다.

간의 RNA함량과 RNA/DNA비로 단백질 합성능을 추정해 볼 때 조기이유-고단백질 섭취군(HC)에서 가장 낮았고, 정상단백질 섭취 수준에서는 ISP섭취군(NS)과 EYP섭취군(NE)이 casein섭취군(NC)보다 높게 나타났다.

2) 신장(kidney)

Table 3에 제시한 바와 같이 신장의 중량 및 체중에 대한 상대비율이 조기이유의 경우 저단백질 섭취군

(LC)을 제외하고는 정상이유에 비해 유의적으로 증가하였다. 특히 고단백질 섭취군(HC)의 경우 체중에 대한 상대적 비율이 가장 높았다. 반면에, 조직의 수분함량은 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 단백질 급원별로 보면 중량은 ISP섭취군(NS)이 다른 두 군에 비해 유의적으로 높았는데, 이것은 체중에 대한 상대적 비율이 낮음을 고려할 때 이 실험군의 체중이 높았던 것에 기인하는 것 같다. 신장조직의 수분함량은 실험군간에 차이가 없었다.

신장조직의 세포수(DNA함량)는 정상이유군에 비해 모든 조기이유군에서 유의적으로 감소하였다. 반면 세포의 크기(Protein/DNA)는 조기이유군이 정상이유군에 비해 유의적으로 높았다. 이러한 세포크기의 증가는 실험군들 간에 protein함량이 큰 차이가 없는 점을 고려할 때 조기이유의 경우 세포수가 상대적으로 감소되었기 때문이라고 해석된다.

3) 뇌(brain)

뇌 중량과 수분함량은 정상이유군과 조기이유군의 실험군간에 차이가 없었다(Table 3).

DNA함량은 조기이유의 경우 정상단백질 섭취수준에서는 단백질종류와는 관계없이 정상이유의 경우와 차이가 없었다. 그러나 조기이유에서 저단백질(LC) 및 고단백질 섭취군(HC)에서 정상이유에 비해 DNA함량이 유의적으로 낮았다. protein/DNA는 조기이유-저단백질 섭취군(LC)에서 유의적으로 높았고 단백질 급원에 따라서는 차이를 보이지 않았다.

3. 단백질대사

단백질 대사의 지표로 측정된 혈중 질소성분을 Table 4에 제시하였다. Serum total protein과 albumin 함량은 정상이유군과 조기이유군 모두 정상범위¹⁹⁾에 속하였으며, 조기이유한 고단백질 섭취군(HC)이 다른 군들에 비해 높은 값을 보였으며 정상이유군과 차이

Table 3. Weight, moisture, DNA, RNA and protein in organs of rats[†]

	Weight		Moisture (%)	DNA (mg/g tissue)	RNA (mg/g tissue)	Protein (mg/g tissue)	Protein/DNA
	Wet(g)	% of BW					
<u>Liver</u>							
Normal weaning(21st)							
Control	1.86±0.06 ^{1d}	3.62±0.05 ^b	75.5±0.5 ^a	13.60±0.66 ^a	28.05±0.68 ^{cd}	222.8 ± 9.3 ^a	16.5±0.6 ^c
Early weaning(15th)							
LC	2.35±0.10 ^{1k}	4.86±0.16 ^a	70.5±0.4 ^t	9.90±0.56 ^b	29.44±0.59 ^c	213.4 ± 10.8 ^a	21.7±0.6 ^b
HC	2.14±0.09 ^{cd}	4.90±0.11 ^a	72.6±0.4 ^b	7.32±0.64 ^d	22.34±0.81 ^c	144.7 ± 12.5 ^b	19.8±0.5 ^{bc}
NC	2.18±0.11 ^{cd}	4.71±0.16 ^a	71.5±0.3 ^{bc}	9.30±0.38 ^{bc}	25.90±1.37 ^d	176.1 ± 17.5 ^b	18.8±1.6 ^{bc}
NS	2.82±0.11 ^a	4.65±0.17 ^a	71.0±0.8 ^t	8.28±0.35 ^{cd}	32.55±0.47 ^b	216.3 ± 9.6 ^a	26.6±1.9 ^a
NE	2.55±0.15 ^{ab}	4.84±0.16 ^a	70.9±0.3 ^c	9.09±0.31 ^{cd}	35.23±0.68 ^a	177.1 ± 7.1 ^b	19.7±1.0 ^{bc}
<u>Kidney</u>							
Normal weaning(21st)							
Control	0.60±0.02 ^d	1.17±0.02 ^d	76.9±0.7 ^{NS2)}	34.90±1.08 ^a	23.35±0.85 ^{ab}	363.4 ± 9.3 ^a	10.4±0.1 ^b
Early weaning(15th)							
LC	0.60±0.01 ^d	1.23±0.02 ^{cd}	77.0±0.6	27.12±1.10 ^b	21.46±0.78 ^b	350.4 ± 11.1 ^{ab}	13.0±0.4 ^a
HC	0.74±0.03 ^{ab}	1.68±0.04 ^a	76.1±0.4	24.49±0.87 ^b	22.26±0.49 ^{abc}	337.2 ± 7.8 ^{ab}	13.8±0.3 ^a
NC	0.69±0.03 ^{bc}	1.49±0.03 ^b	76.4±0.4	24.80±1.11 ^b	21.06±0.62 ^t	330.7 ± 8.8 ^b	13.4±0.4 ^a
NS	0.77±0.02 ^a	1.26±0.03 ^c	76.3±0.5	25.82±0.85 ^b	23.65±0.55 ^a	360.2 ± 10.0 ^a	14.0±0.4 ^a
NE	0.63±0.02 ^{cd}	1.20±0.03 ^{cd}	77.3±0.2	25.94±0.69 ^b	22.90±0.55 ^{abc}	353.1 ± 7.4 ^{ab}	13.7±0.3 ^a
<u>Brain</u>							
Normal weaning(21st)							
Control	1.46±0.03 ^{NS}	2.85±0.05 ^b	81.5±0.2 ^{ab}	9.92±0.17 ^a	14.79±0.19 ^{ab}	398.4 ± 4.0 ^{NS}	40.3±0.8 ^b
Early weaning(15th)							
LC	1.39±0.03	2.89±0.09 ^b	80.8±0.3 ^b	7.61±0.52 ^c	15.92±0.29 ^a	380.1 ± 6.0	51.8±4.6 ^a
HC	1.40±0.02	3.23±0.17 ^a	81.1±0.3 ^{ab}	8.27±0.46 ^{bc}	13.92±0.68 ^b	375.1 ± 15.7	45.8±2.1 ^{ab}
NC	1.42±0.02	3.09±0.11 ^{ab}	81.1±0.6 ^{ab}	10.15±0.45 ^a	15.81±0.30 ^a	377.2 ± 7.7	37.6±1.6 ^b
NS	1.39±0.06	2.39±0.07 ^c	81.5±0.3 ^{ab}	9.01±0.58 ^{ab}	14.02±0.35 ^b	377.0 ± 8.9	43.4±3.6 ^b
NE	1.45±0.01	2.80±0.12 ^b	81.9±0.1 ^a	9.82±0.32 ^a	14.07±0.37 ^b	387.75 ± 6.7	36.7±1.1 ^b

[†]All rats were sacrificed at 22nd after birth

1) Values are Mean ± SE of eight rats

a-d : Values with different superscripts in column are significantly different at p<0.05

2) NS : Not significantly different

Table 4. Total protein, albumin, urea-N and α -amino N in serum of rats[†]

	Total protein(g/dl)	Albumin(g/dl)	Urea N(mg/dl)	α -amino N(μ mol/ml)
Normal weaning(21st)				
Control	5.40 \pm 0.07 ^{1ab}	3.26 \pm 0.05 ^{bc}	25.50 \pm 0.98 ^b	8.30 \pm 0.30 ^{bc}
Early weaning(15th)				
LC	4.90 \pm 0.05 ^{cd}	3.08 \pm 0.05 ^{cd}	11.63 \pm 0.86 ^c	7.23 \pm 0.48 ^c
HC	5.43 \pm 0.12 ^a	3.50 \pm 0.10 ^a	50.86 \pm 2.19 ^a	11.41 \pm 0.49 ^a
NC	5.13 \pm 0.13 ^{bc}	3.31 \pm 0.08 ^{ab}	28.50 \pm 0.93 ^b	10.41 \pm 0.67 ^a
NS	5.10 \pm 0.05 ^c	3.30 \pm 0.04 ^{ab}	27.87 \pm 1.26 ^b	8.06 \pm 0.33 ^{bc}
NE	4.80 \pm 0.10 ^d	2.93 \pm 0.10 ^d	28.25 \pm 2.37 ^b	8.68 \pm 0.39 ^b

[†]All rats were sacrificed at 22nd after birth1) Values are Mean \pm SE of eight rats

a-d : Values with different superscripts in column are significantly different at p<0.05

Table 5. Index of liver and kidney functions in rats[†]

	Total bilirubin(mg/dl)	GOT(IU/L)	GPT(IU/L)	Uric acid(mg/dl)	Creatinine(mg/dl)
Normal weaning(21st)					
Control	0.40 \pm 0.05 ^{1ab}	116.50 \pm 3.21 ^a	24.62 \pm 1.60 ^c	4.70 \pm 0.14 ^{bc}	0.66 \pm 0.03 ^b
Early weaning(15th)					
LC	0.24 \pm 0.03 ^c	91.62 \pm 4.00 ^c	28.87 \pm 3.85 ^c	3.65 \pm 0.18 ^d	0.55 \pm 0.02 ^c
HC	0.36 \pm 0.05 ^{abc}	109.00 \pm 5.29 ^{ab}	31.14 \pm 1.39 ^c	3.90 \pm 0.09 ^{cd}	0.53 \pm 0.02 ^c
NC	0.21 \pm 0.01 ^c	101.75 \pm 5.75 ^{bc}	33.38 \pm 2.46 ^{bc}	3.71 \pm 0.20 ^d	0.61 \pm 0.02 ^{bc}
NS	0.35 \pm 0.06 ^{bc}	98.37 \pm 2.45 ^{bc}	48.63 \pm 4.93 ^a	5.33 \pm 0.67 ^{ab}	0.58 \pm 0.05 ^{bc}
NE	0.50 \pm 0.06 ^a	104.25 \pm 5.57 ^{abc}	41.75 \pm 2.19 ^{bb}	5.70 \pm 0.12 ^a	0.76 \pm 0.04 ^a

[†]All rats were sacrificed at 22nd after birth1) Values are Mean \pm SE of eight rats

a-d : Values with different superscripts in column are significantly different at p<0.05

가 없었다. 혈중 urea N함량은 정상이유와 조기이유에 관계없이 정상수준의 단백질 섭취시에는 같은 값을 보였으나, 저수준의 단백질 섭취로 낮은 값을, 고수준의 단백질 섭취로 유의적으로 높은 값을 보였다. α -amino N 함량은 조기이유의 경우 카제인 함유한 정상수준 이상의 섭취군에서 유의적으로 높게 나타났다.

단백질 급원별로 보면, total protein과 albumin 함량은 EYP섭취군이 casein군과 ISP군에 비해 유의적으로 낮았다. Urea N은 단백질 급원에 따른 차이를 보이지 않았고 α -amino N 함량은 casein섭취군에서 ISP섭취군과 EYP섭취군에 비해 유의적으로 높았다.

4. 간과 신장의 생리기능

Table 5에 간기능의 지표로 serum total bilirubin 함량과 GOT, GPT활성을, 신장기능의 지표로 serum creatinine과 uric acid함량을 제시하였다.

Total bilirubin농도는 조기이유군이 정상이유군보다 낮은 경향을 보였으나, 고단백질 섭취에 따라, 카제인 이외의 ISP 및 EYP 섭취에 따라 정상이유군과 거의 차이가 없었다. GOT는 조기이유군이 정상이유군보다 낮은 경향을 보인 반면에 GPT는 더 높은 경향을 보였다.

신장기능의 지표로 측정된 serum creatinine은

EYP섭취군(NE)에서만 유의적으로 증가하였다. 혈청 uric acid 함량은 단백질 섭취수준과는 관계없이 casein을 섭취한 조기이유군들에서 유의적으로 낮은 값을 보였다.

5. 소화관의 생리기능

1) 위(stomach)

위의 중량과 체중에 대한 상대비율 및 건조중량은 정상이유군보다 조기이유군이 높았으며, 특히 ISP섭취군에서 유의적으로 높은 값을 보였다(Table 6).

DNA함량은 casein을 섭취한 경우 조기이유에 의해서 정상이유군보다 유의적으로 낮아졌으나, ISP 및 EYP를 섭취했을 경우에는 정상이유군과 거의 같은 값을 보였다. 반면 protein/DNA는 조기이유군에서 높은 경향을 보였다. 위내 pH는 조기이유시 단백질 섭취수준이 정상일 경우에는 단백질종류에는 관계없이 정상이유의 경우와 비슷하였으나, 저수준 또는 고수준의 단백질섭취군에서는 낮아졌다.

2) 소장(small intestine)

소장의 무게는 정상이유군과 조기이유군간에 큰 차이가 없었으나, 단백질 급원별로 ISP섭취군과 EYP섭

Table 6. Weight, pH, DNA, RNA and Protein in stomach tissue of rats*

	Weight(g)		pH	DNA (mg/g tissue)	RNA (mg/g tissue)	Protein (mg/g tissue)	Protein/DNA
	Wet	Dry(g)					
Normal weaning(21st)							
Control	0.42±0.01 ^{1c}	0.81±0.02 ^c	5.27±0.06 ^a	20.30±0.68 ^a	24.32±0.77 ^{ab}	238.3±9.5 ^b	11.8±0.3 ^b
Early weaning(15th)							
LC	0.47±0.02 ^b	0.97±0.03 ^b	4.77±0.15 ^{bc}	14.19±1.21 ^c	18.53±1.85 ^c	181.2±14.9 ^c	13.1±0.5 ^{ab}
HC	0.49±0.01 ^b	1.12±0.05 ^a	4.43±0.16 ^c	16.71±0.81 ^{bc}	22.55±1.03 ^b	232.6±6.7 ^b	13.9±0.3 ^a
NC	0.48±0.02 ^b	1.04±0.04 ^{ab}	5.00±0.08 ^{ab}	15.04±0.75 ^c	18.86±0.93 ^c	196.1±12.7 ^c	13.1±0.7 ^{ab}
NS	0.58±0.02 ^a	0.95±0.03 ^b	4.81±0.16 ^b	19.03±0.57 ^{ab}	25.95±0.67 ^a	256.8±2.9 ^{ab}	13.6±0.3 ^a
NE	0.50±0.02 ^b	0.95±0.03 ^b	5.03±0.06 ^{ab}	21.46±1.06 ^a	26.67±0.88 ^a	269.7±6.7 ^a	12.8±0.6 ^{ab}

*All rats were sacrificed at 22nd after birth

1) Values are Mean ± SE of eight rats

a-d : Values with different superscripts in column are significantly different at p<0.05

Table 7. Weight, length and trypsin activity in small intestine of rats*

	Wet weight (g)	Length (cm)	Trypsin activity (TUCas)
Normal weaning(21st)			
Control	1.63±0.12 ^{1cd}	73.26±1.59 ^{bd2}	7.97±0.98 ^d
Early weaning(15th)			
LC	1.95±0.08 ^{abc}	74.19±1.20 ^{ab}	6.76±0.95 ^d
HC	1.56±0.11 ^d	73.50±1.86 ^b	27.47±2.77 ^a
NC	1.75±0.17 ^{bcd}	74.19±1.75 ^{ab}	13.99±0.84 ^c
NS	2.29±0.08 ^a	78.81±1.64 ^a	19.82±1.68 ^c
NE	2.06±0.09 ^{ab}	77.89±0.82 ^{ab}	13.03±0.68 ^c

*All rats were sacrificed at 22nd after birth

1) Values are Mean ± SE of eight rats

a-d : Values with different superscripts in column are significantly different at p<0.05

취군이 casein섭취군에 비해 유의적으로 증가하였다 (Table 7). 소장 길이는 조기이유에 따라 차이를 보이지 않았으나, ISP 및 EYP섭취군에서 증가된 경향을 보였다. 소장내의 trypsin의 효소활성은 조기이유에서 저단백질섭취군을 제외하고 정상이유군에 비해 증가하였고, 고단백질 섭취군(HC)에서 가장 높았다. 단백질급원에 따라서는 ISP섭취군에서 유의적으로 높았다.

고 찰

흰쥐의 정상이유는 일반적으로 21일경에 이루어지며, 그 이전의 조기이유시 영양적, 식이적 적응 문제는 여러 측면에서 검토되어 왔다¹⁻⁴⁾. 본 연구에서 시도된 흰쥐의 조기이유시 단백질의 양적 섭취효과를 보면 조기이유에 의해 성장율이 저하되었고, 특히 고단백식에 의해서 식이섭취량의 저하와 함께 성장율이 가장 낮게 평가되었다. 이는 선행연구⁴⁾²⁰⁾에서도 제시되었는데, 조기이유시 고단백식에 의한 성장저하는 정상이유의 경우와는 달리 성장기의 상당기간 동안 지속되었다. Teichberg 등²¹⁾과 Arvola 등²²⁾도 조기이유한 흰쥐의 성장율이 정상이유한 흰쥐보다 낮았다고 보고하였다. 반면 조기이유라 할지라도 단백질 급원에 따라 성장율은 달라서 난황단백질의 경우 정상이유군과 같았고, 대두단백질의 경우는 오히려 높았다. 이것은 이들 단백질의 사료효율이 높고, 대두단백질의 경우는 식이섭취량이 유의적으로 증가되었기 때문으로 사료된다.

일반적으로 기관의 성장을 세포수준에서 분석하기 위하여 세포당 DNA함량이 일정하다(6.2pg/cell)는 전제로부터 DNA함량을 세포수에 대한 index로 간주한다. 이것을 모든 기관에 적용하기에는 한계점을 가지고

있다 할지라도 세포수는 DNA 함량으로, 세포의 크기는 DNA 단위 증량당 기관의 중량 또는 단백질 함량 등으로 나타낼 수 있다²³⁾²⁴⁾. 흰쥐에 있어서 성장 초기의 기관의 성장에 대해서는 이미 Winick와 Noble²⁴⁾에 의해서 상세하게 검토되었는데, 뇌의 DNA 함량은 생후 14일경에 성숙치의 90%에 이르는 반면, 간 또는 신장의 DNA 함량은 생후 40일 경에도 꾸준히 증가하는 경향을 보였다.

따라서 본 실험에서 15일째 조기이유시기는 뇌의 성장에서 볼 때에는 세포수의 증가가 거의 완료단계라고 할 수 있으나, 다른 기관 즉 간, 신장, 소화관 등의 성장은 아직 세포수가 증가하는 hyperplasia시기라고 볼 수 있다²³⁾²⁴⁾. 이시기에 각기관의 성장에 대한 식이의 영향 즉 단백질의 양적, 질적 대응 문제를 검토해보는 것은 매우 의의있는 일일 것이다.

본 실험 결과 15일째 조기이유한 흰쥐의 간조직의 성장을 21일째 정상이유한 흰쥐와 비교해 볼 때, 간의 중량이 유의적으로 증가되었고 특히 간 조성에서 볼 때 수분함량이 유의적으로 감소된 반면 건조중량이 증가하였다. 이때 간의 단백질 함량이 증가되지 않았으므로 조기이유에 의한 간조직의 중량 증가는 지질함량의 증가로 해석될 수 있다. 특히 대두단백질을 급원으로 했을 때 이 현상은 현저하였다.

한편 간조직의 세포수준에서의 성장지표인 DNA 함량 즉 세포수는 조기이유에 의해서 단백질의 양적, 질적 섭취 변화에 관계없이 30~50%의 유의적인 감소 현상을 보였다. 이는 간조직의 경우 흰쥐의 생후 15일이 hyperplasia시기인점을 고려할 때, 이미 hyperplasia시기가 거의 완료된 뇌조직의 경우와 달리 더욱 크게 영향을 받는 것 같다. 이러한 조기이유에 의한 간조직의 세포수의 감소 영향은 생후 이른 시기에서 심각한 것으로 생후 35일에서는 거의 나타나지 않았다²⁰⁾. 간 세포크기(protein/DNA)는 조기이유에 따라 20~30% 증가 경향을 보였는데, 이것은 간조직의 단백질 함량이 DNA 함량의 변화보다 상대적으로 적게 감소되었기 때문으로 사료된다. 그러나 조기이유 후 성장에 따라 생후 35일에는 DNA함량이 증가되는 반면 단백질 함량은 상대적으로 감소되기 때문에 세포의 크기가 감소한 것으로 평가되었다. 특히 고단백식에 의해서 DNA, RNA 및 단백질 함량이 가장 크게 감소하였는데, 선행 연구들⁴⁾²⁰⁾에서도 성장에 있어서 조기이유 동물이 정상이유 동물에 비해 고단백식에 대한 반응이 가장 낮았음을 고려할 때 주목할 만하다. 이유식의 단백질 급원으로서 대두단백질의 섭취는 간의 중량 및 단백질 함량을 증가시키므로서 세포크기를 유의적으로 증가시켰다.

신장의 중량의 증가는 생 후 80일까지 꾸준히 증가하여 plateau에 이르고, DNA함량은 50일까지 증가하며 단백질의 축적은 이유기와 50일 사이에 전체 체단백질에 대한 비율이 가장 커진다고 하였다²³⁾²⁴⁾. 15일째 조기이유는 신장의 세포수 및 크기에 상당히 영향을 미칠 수 있는 시기로 본 연구결과 단백질의 양적, 질적 섭취 변화에 관계없이 세포수가 20~30% 감소한 반면, 세포크기는 20~30% 증가하였다. 이러한 세포크기의 증가는 간조직의 단백질 함량이 세포수의 증가 만큼 증가되지 못하고 오히려 감소한 것에 기인하였다.

신장의 증량면에서는 조기이유시 저단백식에 따라, 난황단백질의 섭취에 따라 정상이유군에 근접하였고, 세포수준에서의 신장의 성장은 조기이유시 단백질의 섭취수준이나 종류에 따른 차이가 거의 없었다.

뇌의 DNA함량은 생후 14일경에 성인 수준의 90%에, 19일경에 plateau에 이르며, 단백질 합성도 역시 19일경에 정점에 이른다. 반면 DNA와 RNA농도는 태생기 때 높은 수준을 유지하다가 출생후부터 이유기까지 점점 감소한다²³⁾²⁴⁾. 따라서 뇌조직은 비교적 일찍 성장이 완료되므로 본 연구에서 15일째 조기이유 및 식이변동의 영향을 크게 받지 않은 것으로 사료된다.

체내 질소대사의 지표로 이용될 수 있는 혈청 총단백질, 알부민, urea N, α -amino N 농도들은 조기이유에 의해서 크게 영향받지 않는 것 같다. 오히려 단백질의 섭취수준에 따라 고단백식의 경우 측정된 혈청 질소 성분이 모두 증가하는 반면, 저단백식의 경우 모두 감소하는 경향을 보였다. 특히 urea N 농도가 고단백식 섭취로 약 100%가 증가된 것은 섭취량이 동물체내의 단백질 이용능을 초과한 것을 반영하는 것이다⁹⁾. 이러한 현상은 선행연구⁴⁾²⁰⁾에서도 일치하였다.

Bilirubin은 reticuloendothelial system(spleen, bone marrow, liver Kupffer cells)의 세포들에 의해 hemoglobin의 분해에 의해 생성된다. Total bilirubin의 증가는 주로 황달(jaundice)이 원인이 되며, 간이 증가된 색소를 적절히 excrete하지 못하는 경우에 증가한다고 한다. 간에서 transaminase는 간이나 heart muscle에 장애가 있을 경우 이들 효소가 혈액으로 분비되어 증가한다. 본 실험 결과에서는 bilirubin 함량이나 측정된 상기 효소 활성면에서 간기능을 평가해 볼 때 조기이유에 의해 GPT 활성이 상당히 증가되는 것 외에 특별히 간기능이 저해되었다는 증거는 나타나지 않았다. 또 신장기능의 지표로 측정된 혈 중 uric acid 함량이나 creatinine 함량이 모두 정상범위 내에 있으므로¹⁹⁾ 조기이유에 의해 신장기능의 변화에 대한 확실한 결과를 얻지 못하였다.

Buts 등²⁰⁾의 연구에서는 위조직의 DNA함량이 생후 21일째에는 단백질 수준에 따라 유의적인 차이를 보이지 않다가 28일, 35일째에는 저단백 식이에 의해 유의적인 감소를 보여서 간조직이나 소장조직에 비해 소화관 상피세포의 증식이 더 늦게 일어난다고 보고하였다.

따라서 소화관의 성장이 계속 일어나고 있는 생후 15일의 조기이유는 소화관 상피세포의 성장을 저해하는 요소가 될 수 있다고 보며, 본 연구의 결과에서도 조기 이유시 위조직의 세포수가 감소한 것으로 설명될 수 있다. 그러나 유단백질 이외의 대두단백질이나 난황단백질의 섭취 경우에는 세포수의 감소없이 정상이유에 필적하였다.

식이단백질은 소화관의 기능에 다양한 영향을 미치며, 예를들어 소화액의 분비와 gut motility에 영향을 미치고 따라서 영양소의 흡수율에 영향을 미친다²¹⁾. 본 연구결과에서도 소장의 중량 뿐 아니라 길이에서도 단백질 수준보다는 단백질 급원에 따라 더 크게 영향을 받았다.

요약 및 결론

조기이유와 단백질의 섭취가 기관성장, 질소대사 및 기관의 생리기능에 어떻게 영향을 미치는지 검토하고자 생후 15일째 조기이유시킨 흰쥐에게 세 수준의 단백질(low, normal, high)과 세가지 종류의 단백질(casein, ISP, EYP)을 함유한 식이를 일주간 급여하고 21일째 정상이유한 흰쥐와 비교·검토한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 신체의 성장은 조기이유군이 정상이유군보다 유의적으로 낮게 평가되었다. 특히 고단백질섭취군에서 체중의 증가량이 가장 낮았고, ISP섭취군의 성장이 가장 높았으며, 이는 식이섭취량에 의해 영향을 받았다.

2) 각 기관의 성장을 측정된 결과, 조기이유에 의해 간과 신장의 중량이 증가되었으나 뇌중량은 영향받지 않았다. 또 간과 신장 조직에서 조기이유에 따라 DNA함량(세포수)은 감소되었으며, protein/DNA(세포크기)는 증가되었다. 반면, 뇌 조직은 비교적 조기이유의 영향을 적게 받았다. 조기이유시 단백질 수준별 영향을 보면 고단백 식이에 의해 간과 뇌의 세포수가 더욱 감소되었고, 단백질 급원의 영향은 ISP 섭취군에서 간, 신장, 위의 무게가 더욱 증가되었다.

3) 혈청내에서 단백질의 대사적 지표들을 측정된 결과, 혈청 총 단백질과 알부민 함량은 조기이유군과 정상이유군간에 큰 차이를 보이지 않았다. 조기이유시 고단백질 섭취에 따라 혈청 α -amino N과 urea N의 함

량이 증가한 반면, 저단백질 섭취에 따라 이들 함량은 유의적으로 낮았다.

4) 간의 대사 기능을 나타내는 지표를 측정된 결과, 조기이유시 혈청 bilirubin함량은 감소경향을 보인 반면 혈청 GPT활성은 높은 경향을 보였다. 단백질 급원별로는 EYP군에서 혈청 bilirubin농도가 유의적으로 높았다.

5) 소화관의 기능에 있어서는 위 및 소화관의 중량이 조기이유에 따라 증가 경향을 보였으며, ISP와 EYP 섭취에 따라 더욱 증가되었다. 위내 pH는 조기이유에 따라 낮은 경향을 보였으며, 저수준과 고수준의 단백질 섭취에 따라 유의적으로 낮아졌다.

결론적으로, 흰쥐에서 조기이유는 성장을 저해하는 요인이 되며, 기관의 세포수를 줄이고 세포의 크기를 증가시키며, 이는 기관의 중량과 건조중량을 증가시키는 결과를 초래하였다. 조기이유시 특히 고단백질의 섭취가 세포의 성장과 단백질 대사에 해로운 영향을 주는 것으로 나타났다. 비록 본 실험 결과에서 각 기관의 생리기능의 변화에 대한 확실한 결과는 얻지 못했지만 조기이유와 고단백질 식이의 섭취가 단백질 대사에 좋지 않은 영향을 미치므로서 간이나 신장 및 소화관의 생리 기능까지도 손상을 일으킬 수 있음을 시사하였다.

Literature cited

- 1) Hendricks KM, Badruddin SH. Weaning recommendations : The scientific basis, *Nutr Rev* 50(5) : 125-133, 1992
- 2) Wharton B. Weaning and child health. *Ann Rev Nutr* 9 : 377-394, 1989
- 3) Walker AF. The contribution of weaning foods to protein-energy malnutrition. *Nutr Res Rev* 3 : 25-47, 1990
- 4) Park MN, Lee YS. Effects of milk protein levels and casein/whey ratios on organ growth and protein metabolism in early weaned rats. *Korean J Nutrition* 30(1) : 3-11, 1997
- 5) Heinig MJ, Nommsen LA, Peerson JM, Lonnerdal B, Dewey KG. Energy and protein intakes of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life and their association with growth velocity : the DARLING study. *Am J Clin Nutr* 58 : 152-161, 1993
- 6) Bai HS, Ahn HS. Solid foods intake pattern during the first 6 months of life. *Korean J Community Nutrition* 1(3) : 335-345, 1996
- 7) Koo JO, Choi KS, Kim WG. Longitudinal study of growth, energy and protein metabolism of Korean breast fed and formula fed infants from 1 to 3 postpartum months. *Korean J Community Nutrition* 1(1) : 47-60, 1996

- 8) Lucas A, Morley R, Cole TJ, Lister F, Leeson-Payne C. Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet* 339 : 261-264, 1992
- 9) Axelsson I, Borulf S, Righard L, Rih N. Protein and energy intake during weaning : II. Metabolic responses. *Acta Paediatr Scand* 76 : 457-462, 1987
- 10) Worthington-Roberts BS, Williams SR. Nutrition throughout the life cycle. Mosby, 1996
- 11) Dymsha HA, Czajka DM, Miller SA. Influence of artificial diet on weight gain and body composition of the neonatal rat. *J Nutr* 84 : 100-106, 1964
- 12) Yamaguchi M, Kandatsu M. Nutritional evaluation of dietary proteins with regard to body protein metabolism in adult rats using purified whole egg protein as a standard reference. *Agr Biol Chem* 37(4) : 809-817, 1973
- 13) Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutrition studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
- 14) Rosen HA. Modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch Biochem Biophys* 67 : 10-15, 1957
- 15) Rick W. Enzyme activities : Trypsin In : Bergmyer HU. ed. vol 2. Methods of enzymic analysis, pp1013-1024, Academic press., New York, 1974
- 16) Burton K. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem J* 62 : 315-323, 1956
- 17) Schmidt G, Thannhauser SJ. A method for the determination of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissue. *J Biol Chem* 161 : 83, 1945
- 18) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 19) Mitruka BM, Rawnsley HM. Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal human. Masson pub. pp153-309, 1981
- 20) Park MN, Lee MJ, Lee YS. Effects of dietary protein levels on organ growth and protein metabolism in early and normal weaned rats. *Korean J Nutrition* 31(1) : 3-10, 1998
- 21) Teichberg S, Isolauri E, Wapnir RA, Roberts B, Lifshitz F. Development of the neonatal rat small intestinal barrier to nonspecific macromolecular absorption : Effect of early weaning to artificial diets. *Pediatr Res* 28 : 31-37, 1990
- 22) Arvola T, Rantala I, Marttinen A, Isolauri E. Early dietary antigens delay the development of gut mucosal barrier in preweaning rats. *Pediatr Res* 32(3) : 301-305, 1992
- 23) Miller SA. Protein metabolism during growth and development. In : Munro HN, ed. Mammalian protein metabolism. Vol III. pp183-233, Academic press, New York and London, 1969
- 24) Winick M, Noble A. Quantitative changes in DNA, RNA and protein during prenatal and postnatal growth in the rats. *Develop Biol* 12 : 451, 1965
- 25) Buts JP, Nyakabasa M. Role of Dietary protein adaptation at weaning in the development of the rat gastrointestinal tract. *Pediatr Res* 19 : 857-862, 1985
- 26) Hara H, Nishikawa H, Kiriya S. Different effects of casein and soyabean protein on gastric emptying of protein and small intestinal transit after spontaneous feeding of diets in rats. *Brit J Nutr* 68 : 59-66, 1992