

흰쥐에서 식이 단백질 수준이 유즙 성분과 새끼의 영양상태에 미치는 영향

김화영 · 김지윤 · 홍경희 · 이현숙

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과

Effects of Dietary Protein Level on Milk Composition and Postnatal Growth in Rats

Kim, Wha Young · Kim, Jee Yoon · Hong, Kyoung Hee · Lee, Hyun Sook

Department of Food & Nutrition, College of Home Science, Ewha Wamans University, Seoul 120-750, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of dietary protein level throughout gestation and lactation on milk composition and on postnatal growth in infants, using rats as an animal model. Female Sprague-Dawley rats were provided with either high(25% ISP(Isolated Soy Protein)diet) or low protein diet(10% ISP diet) throughout gestation and lactation. Milk samples were taken for analysis from the lactating rats at days of 7, 14, 21, of lactation. Dams and some pups were killed after 4 weeks from parturition (Experiment 1). Pups from dams of each diet groups were randomly selected and reared with 25% or 10% ISP diet for 4 more weeks (Experiment 2). In experiment 1, maternal protein intake and body weight gain throughout gestation and lactation was higher in 25% ISP group. Serum protein, Ca, Fe, Zn, K concentrations were significantly higher in 25% ISP group. There was no difference in birth weight between two groups, however the mean body weight at 4 weeks postpartum was significantly higher in 25% ISP group. Serum profiles of pups at weaning were similar to that of dams. Milk compositions were changed during lactation processes and were affected by dietary protein level. Lactose and Ca, Cu, Fe concentrations in milk were higher in 25% ISP group, whereas, lipid, triglyceride were higher in 10% ISP group. In experiment 2, food intake was higher in pups from dams of 25% ISP group but was unaffected by pup's dietary protein level after weaning. The weights of liver and kidney were affected by maternal protein intake. The weight of intestine was affected by both maternal protein intake and pup's diet. The weights of femur and scapula were affected by maternal protein intake. There were no differences between four groups in serum profiles. Therefore, as mentioned above, it seemed that the effect of maternal protein malnutrition to fetus was able to be overcome to some extent by high protein diet intake after weaning. In conclusion, 1) Dietary protein level throughout gestation and lactation affected both nutritional status of dams and pups and milk composition: 25% ISP group supported better nutritional status than 10% ISP group. 2) It seemed that effect of dietary protein level after weaning on pups was able to be overcome the influence of maternal diet in fetus to some extent. (*Korean J Nutrition* 32(8) : 855~863, 1999)

KEY WORDS: dietary protein, milk composition, postnatal growth, maternal protein intake, pup's diet.

서론

임신기에 모체의 영양상태가 불량하면 태아의 성장부진이 초래되어 출생 시 체중, 생존율, 장기 무게, 생후 체중 증가량 등의 감소를 초래한다고 알려져 있다.¹⁾ 이러한 태아기의 영양이 중요한 이유는 태아기 영양상태가 유전자 발현에 직접적으로 영향을 미쳐 유전자 발현에 영구적인 영향을 미치기 때문이다. 태아기의 영양불량은 태아의 성장부진을 가

져올 뿐만 아니라 성인기의 건강에 영향을 미치기 때문에 임신기 모체의 영양이 더욱 중요하다.²⁾ 특히, 출생 시 무게는 태아 때의 성장과 출생시의 건강지표로 사용되는데, 미숙아의 경우, 심혈관 질환과 당뇨병의 발병률이 높다고 알려져 있다.³⁾

모체의 영양상태가 젖의 양이나 구성에 미치는 영향에 대해서는 여러 가지 다른 의견들이 발표되고 있다. Venkatachalam등⁴⁾은 유즙 성분이 영양불량에 의해 영향을 받지 않는다고 보고하였고, Dewey는 수유기간 중 특별히 단백질 섭취를 증가시키지 않아도 모유량에는 영향이 없다고 하

채택일 : 1999년 11월 20일

였다.⁴⁾ 반면, 식이 단백질 19%를 섭취한 젖소가 식이 단백질 16%를 섭취한 젖소보다 우유 생산량과 우유 단백질 함량이 더 많았음이 보고되었고,⁵⁾ 또한, Motil등⁶⁾은 충분한 모유 내 단백질 생성을 위해서는 수유기간 중 단백질 섭취량이 평소보다 많아야 한다고 하였다. 모체의 영양섭취 상태가 불량하면 젖의 질에도 영향을 미쳐 수용성 비타민과 비타민 A, 지방의 함량이 낮으며, 단백질과 Ca 양에도 영향을 미치게 되어 아기의 성장이 부진하게 된다고 한다.⁷⁾ 따라서, 모체와 아기의 성장의 관계를 자세히 연구하려면 모유에 대한 분석이 반드시 필요하다고 하겠다.

아기의 성장에 있어 태내에서 모체로부터 받는 영향 이외에도 성장기에 섭취하는 식이에 의한 영향을 받는다. 이때 영양상태가 불량할 경우, 성장이 지연되는데, 이러한 영양상태가 불량해지는 시점이 어릴수록 그 악영향이 더욱 심화된다.⁸⁾ 흰쥐의 예로 보면, 이유기 전의 영양불량은 장기 발달 지연 및 장기의 대사와 구조에 영구적인 변화를 가져와 이후에 회복되기가 거의 힘들다고 보고되고 있다.^{8,9)}

임신 후기에 모체의 단백질 섭취량이 적으면 영아의 출생시 체중이 적고,¹⁰⁾ 미숙아의 경우 에너지 섭취량이 충분하더라도 단백질 섭취가 부족하면 성장률이 낮다고 보고되어,¹¹⁾ 식이 단백질 수준이 태아와 영유아기의 영양상태에 중요한 역할을 한다고 보여진다. 그러므로 모체의 임신, 수유기의 영양상태가 태아의 성장 및 이후 성장기에 어떤 영향을 주는지, 또한 성장기의 영양이 어느 정도 영유아기의 영양불량상태를 변화시킬 수 있는지를 체계적으로 조사할 필요가 있다.

따라서, 본 연구에서는 식이 단백질 수준이 유즙의 성분 에 미치는 영향을 조사하고 또한 태아 때 모체의 식이와 출생 후 식이의 구성이 아기의 성장발달에 미치는 영향을 살펴 보기 위하여 흰쥐를 이용한 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육 및 식이

본 실험은 제 1 실험기와 제 2 실험기로 나누어 진행되었다.

제 1 실험기는 체중 200~300g의 Sprague-Dawley종 암컷 흰쥐를 수컷과 교배시켜 임신이 확인되면 차례대로 25% ISP 식이인 고단백군(H: High protein group) 9마리와 10% ISP 식이인 저단백군(L: Low protein group) 11마리로 나누어 실험식이를 공급하여 사육하였다. 출산직후 각 모체당 새끼의 수를 8마리로 조절하여 사육하였고, 출산 후 수유기간동안 매주 유즙을 채취하였다. 출산 4주후에 어미와 각 모체의 새끼를 1~2마리씩 무작위 추출하여 희생하

였다.

제 2 실험기에서는 그 후 이유시킨 새끼중 수컷만을 각 어미에게서 1~2마리씩 무작위로 각 식이군에서 12마리씩 추출하였다. 이를 다시 체중에 따라 지분 요인 실험 배치법(Nested factorial design of experiment)에 의해 각기 6마리씩 두 군으로 나누어 고단백 식이와 저단백 식이로 계속하여 4주간 사육하였다. 그러므로 어미 쥐의 식이 단백질 수준과 그 후 공급된 단백질 수준에 따라 고단백-고단백군(HH), 고단백-저단백군(HL), 저단백-고단백군(LH), 저단백-저단백군(LL)의 4군으로 나누었다.

단백질 수준은 그 동안의 연구들과 한국인의 식사형태에서 섭취가능한 수준을 고려하여 고단백식이를 25%로 정했고 이유 후 성장기 쥐의 최소한의 성장과 발달이 가능한 수준인 5~8% 보다 약간 상향조정된 10%를 저단백식이 수준으로 설정하였다. 즉 단백질 급원으로 Isolated soy protein(146.4mgN/g, Isolated soy protein supro 535, protein technologies international)을 사용하여 25% ISP를 함유한 고단백식이와 10%를 함유한 저단백식으로 나누었다. 지방 함량은 각 군 모두 10%로 공급하였다. 두류 단백질의 제한 아미노산인 methionine을 1kg당 1.5g씩 첨가해 주었다. 실험식이의 구성은 Table 1에 나타내었다.

2. 쥐의 유즙과 각종 장기 및 혈액의 채취

유즙은 어미를 새끼로부터 2~4시간 동안 분리시켜 놓은 후 채취하였다.

Ketamine Hydrochloride(케타라, 유한양행)에 근육이

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

Ingredients	Groups	
	10% ISP(L)	25% ISP(H)
Corn starch	711.5	559.25
Isolated soy protein	100	250
Corn oil	100	100
Salt mixture ¹⁾	35	35
Vitamin mixture ²⁾	10	10
Choline chloride	2	2
DL-methionine	1.5	3.75
Methyl-cellulose	40	40

1) Salt Mixture(g/kg mixture): calcium phosphate, dibasic 500 ; Sodium chloride 74 ; Potassium citrate, monohydrate 220 ; Potassium sulfate 52 ; Magnesium oxide 24 ; Manganous carbonate 3.5 ; Ferric citrate 6 ; Zinc carbonate 1.6 ; Cupric carbonate 0.3 ; Potassium iodate 0.01 ; Sodium selenite 0.01 ; Chromium potassium sulfate 0.55 ; Sucrose, finely powdered to make 1000g

2) Vitamin Mixture(mg/kg mixture): thiamin · HCl 600 ; Riboflavin 600 ; Pyridoxine, HCl 700 ; Nicotinic acid 3000 ; D-Calcium pantothenate 1600 ; Folic acid 200 ; D-Biotin 20 ; Cyanocobalamine 1 ; Retinyl palmitate or acetate 400,000 IU vitamin A activity ; dl- α -Tocopheryl acetate 5000 IU Vitamin E activity ; Cholecalciferol 2.5 ; Menaquinone 5 ; Sucrose, finely powdered to make 1000g

완제인 Acetopromazine(1mg/100g B.W, Sigma Chemical Co., cat no A-6908)을 섞어 250 μ 씩 근육주사하여 마취시킨 10분 후 Oxytocin(1IU, 중외제약) 100 μ 을 복강내 주사하고,¹²⁾ 약 10분 후 vacuum pump를 연결시킨 plastic tube에 유즙을 채취하였다. 채취한 유즙은 분석직전까지 -70 $^{\circ}$ C에서 보관하였다.

실험기간이 끝난 후 12시간 동안 굶긴 동물을 ethyl ether로 마취시킨 후 단두에 의해 희생시키고 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분 이상 방치해 두었다가 2000rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청을 얻고 분석시까지 냉동고에서 보관하였다.

실험동물들은 혈액을 채취한 직후에 해부하여 간, 신장, 소장, 비장, 흉선의 무게를 측정하였고, 생후 8주된 새끼의 대퇴골, 견갑골의 젖은 무게와 마른 무게를 측정하였다.

3. 생화학적 분석

혈청의 단백질량은 Lowry¹³⁾법, 지방량은 Frings¹⁴⁾법, 콜레스테롤량은 Zak¹⁵⁾법, 중성지방은 Biggs¹⁶⁾법으로 분석하였다. 혈청 칼슘(Ca), 마그네슘(Mg), 구리(Cu), 철분(Fe), 아연(Zn), 칼륨(K), 나트륨(Na)등의 무기질 함량¹⁷⁾은 혈청 Ca과 Mg은 기질의 간섭(matrix interference)을 줄이기 위해 0.1% Lanthanum Chloride(LaCl₃) 용액으로 희석하였고, Cu, Fe, Zn, Na, K은 2차 증류수로 희석하여 Atomic Absorption Spectrophotometer(Perkin Elmer Co. 2380)로 농도를 측정하였다. 각 무기질의 표준용액(1000 μ g/ml)은 commercial stock standard solutions(소화화학, 일본)을 이용하였다.

유즙의 단백질량은 Lowry법으로, 지방량은 Sulfo-phospho-vanillin법을 이용한 kit(국제시약, 일본)로, 중성지방은 lipoprotein lipase와 glycerokinase를 포함하는 효소시약 kit(영연화학, 일본), 콜레스테롤량은 cholesterol esterase와 cholesterol oxidase를 포함하는 효소시약 kit(영연화학, 일본)로 측정하였다. 유당 함량은 효소 분해법¹⁸⁾을 이용하였다. 또한, 무기질 분석을 위해 습식회화¹⁹⁾(Wet ashing method)하여, 유즙의 Ca, Mg는 공시액을 0.1% lanthanum chloride로 희석하고, Cu, Zn, Fe는 공시액을 그

대로, Na, K은 2차 증류수로 희석하여 Atomic absorption spectrophotometer로 농도를 측정하였다.

4. 자료의 처리

본 연구의 실험 분석 결과는 각 실험군 간의 평균치와 표준 오차를 계산하였다. 1차 실험 결과인 어미와 수유기 새끼 쥐의 자료는 student's t-test로 H 군과 L 군간의 차이를 검정하였다. 2차 실험 결과인 생후 8주 후의 4개군 새끼 쥐의 자료는 각 실험군 평균치간의 유의성을 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였고, 또한 임신, 수유기 동안 어미가 섭취한 식이 단백질 수준에 의한 영향(A)과 성장기동안 새끼가 섭취한 식이 단백질 수준의 영향(B)을 검증하기 위해 Nested factorial design으로 분산분석하여 $\alpha = 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

유즙 분석 자료는 t-test로 H군과 L군, 초유와 성숙유 간의 차이를 검정하였다. 쥐의 유즙에서 같은 군내에 기간(주)에 의한 차이를 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan test로 검정하였고 식이 단백질 수준과 기간의 영향을 $\alpha = 0.05$ 수준에서 2요인 분산 분석을 하였다. 모든 통계 분석은 SAS Package를 이용하여 처리하였다.

결과 및 고찰

1. 임신, 수유기간 동안 식이 단백질 수준의 영향(제1실험기)

1) 어미와 새끼의 체중변화, 혈청성분 및 유즙 성분에 미친 영향

(1) 체중변화

임신기와 수유기 어미의 식이섭취량은 식이 단백질 수준에 의한 유의적 차이를 나타내지 않았으나, 단백질 섭취량은 고단백군에서 높았다(Table 2). 체중은 임신·수유기를 통해 고단백군에서 높았는데, 수유기에는 두 군 모두 체중이 감소하였으며 10% ISP군에서 그 정도가 더 심하였다(Fig. 1).

Table 2. Diet intake, protein intake and body weight increase of dams during gestation and lactation

Period	Groups	Diet intake(g/3weeks)	Protein intake(g/3weeks)	Body weight increase(g/3weeks)
Gestation ¹⁾	H(9) ²⁾	477.5 \pm 21.6 ³⁾	119.4 \pm 5.4	103.8 \pm 8.7
	L(11)	460.3 \pm 17.5	46.1 \pm 1.7*	76.4 \pm 4.9*
Lactation ⁴⁾	H(9)	677.2 \pm 33.9	222.6 \pm 50.3	-90.2 \pm 0.1
	L(11)	651.6 \pm 18.2	60.6 \pm 4.8*	-111.4 \pm 11.1

1) For 3 weeks of gestation

2) (): numbers

3) Mean \pm SE

4) For 3 weeks of lactation

H: 25% ISP diet group

L: 10% ISP diet group

*Groups differ significantly(p < 0.05) by t-test

새끼의 출생 시 무게는 25% ISP군이 $7.2 \pm 0.5g$, 10% ISP군이 $6.1 \pm 0.3g$ 으로 두 군 사이에 유의적인 차이가 없었으나, 이후 수유가 진행됨에 따라 25% ISP군 새끼들이 10% ISP군 새끼들보다 체중증가가 커져서 유의적인 차이가 있었다(Fig. 2).

Melandro 등²⁰⁾은 흰쥐에서 임신기에 5% casein을 섭취한 군이 20% casein 군에 비해 모체와 태아의 체중이 모두 적었는데, 이는 태반을 통한 모체에서 태아로의 아미노산 운반량이 감소하여 태아의 성장부진을 가져오는 것이라고

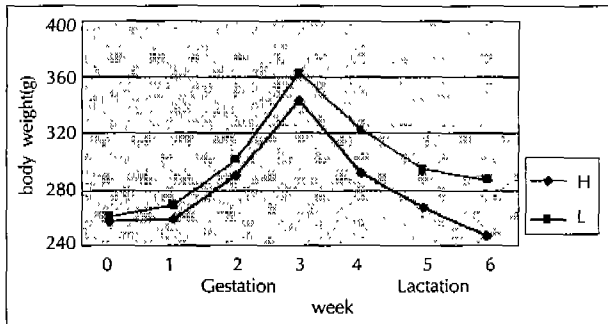


Fig. 1. Weight changes of dams for gestation and lactation.

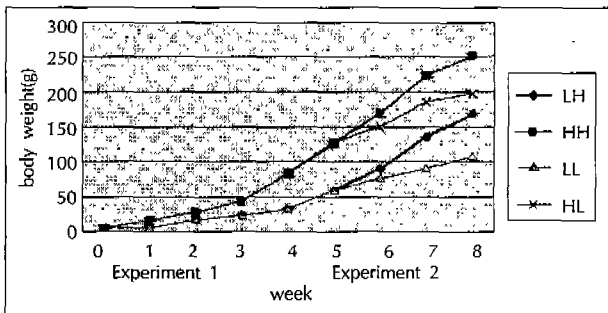


Fig. 2. Weight changes of pups during 8 weeks postpartum.

했다. 본 연구 결과가 이들 연구와 차이를 보인 것은 본 연구의 저단백군의 식이 단백질 수준이 10%로 이들보다 높은 수준이었고, 10% 단백질이 태아가 정상적으로 자랄 수 있을 정도가 되었기 때문으로 사료된다.

출생 후 수유기의 체중증가는 25% ISP군이 유의적으로 높았고 수유기동안 10% ISP 식이를 섭취한 어미는 체중감소도 심하고 새끼의 성장도 지연되었다. 이처럼 새끼의 영양상태는 임신, 수유기 동안 어미의 식이 단백질 수준과 밀접한 관련이 있음을 알 수 있었다.

(2) 혈청성분

어미의 혈액성분 중 헤마토크릿은 25% ISP군이 높았는데, Kathleen 등²¹⁾은 흰쥐에서 식이제한시 헤마토크릿이 감소하였다고 하여 일치하는 결과를 보였다. 혈청 단백질이 25% ISP군에서, 혈청지방($p < 0.1$), 콜레스테롤은 10% ISP군에서 높았다(Table 3).

새끼의 경우 어미와 비슷한 경향을 보였는데, 헤마토크릿, 혈청 Ca은 25% ISP군에서 높은 경향을 보였으며, 혈청 단백질은 식이의 영향이 없었다. 혈청지방과 중성지방은 유의적 차이를 보이지 않았지만 10% ISP군이 높은 경향을 보였고, 혈청 콜레스테롤은 10% ISP군이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.1$)(Table 3). 이것은 저단백군에서 상대적으로 탄수화물 섭취가 많았기 때문에 일어난 고지혈증 현상으로 보인다. 새끼의 혈액 성분은 어미의 혈액 성분 및 유즙 성분과 비슷한 경향을 보여 임신·수유기 동안의 어미의 식이 종류의 영향을 받을 수 있다. 혈 중 단백질 농도는 두 군의 차이가 없었는데 이것은 유즙의 단백질 함량이 두 군의 차이가 없었기 때문으로 사료된다. 또한, 지방 및 콜레스테롤 함량이 10% ISP군에서 높았는데 이것도 유즙의 농

Table 3. Effect of dietary protein level on biochemical values in serum from dams and pups(4 weeks postpartum)

	Dams		Pups	
	H(9) ¹⁾	L(11)	H(9)	L(12)
Hct(%)	44.4 ± 0.6 ²⁾	37.0 ± 0.9*	39.9 ± 0.5	36.1 ± 0.6 [†]
Protein(g/dl)	9.8 ± 0.7	6.0 ± 0.5*	5.9 ± 0.6	5.6 ± 0.9
Lipid(mg/dl)	277.7 ± 20.8	337.3 ± 29.2 [†]	234.4 ± 6.7	265.4 ± 57.6
Cholesterol(mg/dl)	95.9 ± 13.2	152.8 ± 20.3*	76.7 ± 4.9	89.9 ± 3.2 [†]
Triglyceride(mg/dl)	108.4 ± 14.7	103.9 ± 8.7	142.7 ± 14.2	165.9 ± 44.7
Ca(ppm)	52.3 ± 2.7	38.9 ± 4.0*	51.5 ± 2.6	33.5 ± 4.2 [†]
Mg(ppm)	23.0 ± 1.2	22.6 ± 3.0	21.4 ± 0.7	17.4 ± 0.9
Cu(ppm)	1.27 ± 0.10	1.10 ± 0.17		
Fe(ppm)	7.49 ± 0.33	5.52 ± 0.60*		
Zn(ppm)	0.360 ± 0.013	0.308 ± 0.019*		
K(ppm)	874.2 ± 33.3	440.4 ± 55.3*		
Na(ppm)	3328.0 ± 462.1	3333.3 ± 356.7		

1) (): numbers

2) Mean ± SE

*Groups differ significantly($p < 0.05$) by t-test

[†] Groups differ significantly($p < 0.1$) by t-test

도가 10% ISP군에서 높았기 때문으로 보겠다.

이런 결과로 볼 때, 어미의 혈청 성분은 젖으로 이동되고 이에 의해 새끼의 혈액 농도에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

(3) 쥐의 유즙 성분

전유(Whole milk)의 단백질, 지방, 중성지방, 콜레스테롤, 유당 및 Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, K, Na의 함량은 Table 4에 제시하였다.

본 연구에서 분석된 유즙 성분은 식이 단백질 수준에 의한 차이를 보였다. 쥐의 유즙의 단백질 함량은 25% ISP군과 10% ISP군간의 차이가 없었으며, 지방함량은 10% ISP군에서 높게 나타났다. Grigor등²²⁾에 의하면 쥐에게 수유기 동안 식이 단백질을 제한했을 때 10% casein군이 대조군(20% casein)에 비해 유즙의 지방함량이 높아 본 연구의 결과와 일치하였다. 유즙의 지방은 혈액으로부터 운반된 것과 유선에서 직접 합성된 것으로 구분될 수 있으며, 이때 지방 합성에 사용되는 주된 전구체는 포도당으로서, 유선에서 걸러진 포도당의 50~60%가 지방합성에 사용된다.²³⁾ 저단백 식이는 고단백식에 비해 상대적으로 탄수화물 비율이 높으므로 유선에서의 지방합성이 많아지게 되어 유즙의 지방 함량이 더 높게 되는 것이라는 보고들이 있는데 본 연구의 결과도 같은 경향으로 볼 수 있다. 본 연구결과 유당 함량은 10% ISP군이 25% ISP군에 비해 낮았고 뿐만 아니라 수유기에 식이를 제한하면 유즙 분비량이 감소한다는 보고에서 볼때, 이러한 지방함량의 증가는 농축 에너지를 함유하게 되므로 유즙 분비의 감소와 유당 함량 등의 감소로 인한

새끼가 받을 영향을 어느 정도 감소시키려는 보상 반응으로 보여진다.

무기질에서는 Ca, Cu, Fe의 농도가 25% ISP군에서 높았다. Sigman등²⁴⁾에 의하면 쥐에게 임신, 수유기 동안 식이 Fe 수준을 달리 공급했을 때 혈 중 Fe 농도가 고 Fe군에서 높았고, 유즙의 Fe함량도 고 Fe군에서 높았는데 이는 유선조직에 있는 트랜스페린 결합체의 활성이 증가되었기 때문으로 보고 있어 혈 중 Fe농도와 유선조직의 트랜스페린 결합체의 활성이 비례한다고 보고하였다. 유즙내 Zn 함량은 다른 미량 무기질보다 양이 훨씬 많으며 보통 13~17 ppm으로 알려져있는데, 본 연구 결과는 14~21ppm으로 이보다 약간 높게 나타났다. 본 실험의 결과에서도 알 수 있듯이 유즙내 Na, K 구성비는 혈액과는 달라 K의 농도가 Na보다 높았다. Linzell등²⁵⁾에 의하면 Na와 K은 유방의 포상세포(mammary alveolar cell)에서 유즙으로 수동이 동되므로 세포내 농도와 같은 수준을 유지한다고 한다. 즉 세포로부터 유즙으로의 분비가 이루어지게 된다. 즉, 유방의 포상세포에서 유당이 합성되며 이로 인해 삼투질 농도가 달라져 유방 강으로 수분의 이동이 일어난다고 하였으며 이러한 수분의 이동과 함께 K과 Na등의 전해질도 이동하게 된다.²⁵⁾

본 연구에서 1주 간격으로 채유한 유즙성분은 기간에 따른 차이를 보여 단백질 함량은 10% ISP군에서 기간이 지남에 따라 감소하였으며, 25% ISP군은 증가하는 경향을 보였다. 지방과 콜레스테롤의 경우 수유기간에 따라 감소하였으며 이는 10% ISP군에서 더욱 현저하였다. 유당 함량

Table 4. Effect of dietary protein level on milk composition during lactation

Period Groups	1 Week		2 Weeks		3 Weeks		SF ²⁾
	H	L	H	L	H	L	
Protein(g/dl)	14.6 ± 0.5 ¹⁾	15.3 ± 0.6	14.3 ± 0.4	13.0 ± 0.5*	15.7 ± 0.7	13.8 ± 0.9	NS
Lipid(g/dl)	9.4 ± 1.5	16.1 ± 1.4*	10.4 ± 0.7	15.0 ± 1.9	8.1 ± 0.7	10.5 ± 1.0	A, B
Triglyceride(g/dl)	3.4 ± 0.8	3.8 ± 0.7	3.2 ± 0.3	7.2 ± 1.9*	3.5 ± 0.4	4.1 ± 0.3	A, B, A*B
Cholesterol(mg/dl)	607.7 ± 58.7	876.2 ± 22.4*	749.8 ± 16.0	774.0 ± 55.6	642.6 ± 154.6	586.3 ± 146.4	NS
Lactose(g/dl)	1.57 ± 0.12	1.14 ± 0.14*	1.95 ± 0.14	1.80 ± 0.14	1.93 ± 0.10	1.85 ± 0.13	A, B
Ca(ppm)	1986.7 ± 130.5	2429.6 ± 123.0*	2045.3 ± 144.5	3032.7 ± 191.4*	2453.3 ± 165.7	3131.9 ± 103.6	A, B
Mg(ppm)	252.4 ± 12.6	255.4 ± 15.0	246.5 ± 12.3	270.0 ± 26.2	256.2 ± 13.6	250.3 ± 17.1	NS
Cu(ppm)	3.82 ± 0.11	4.24 ± 0.11*	3.82 ± 0.10	4.42 ± 0.08*	4.02 ± 0.18	4.34 ± 0.05	A
Fe(ppm)	7.82 ± 0.12	7.34 ± 0.12*	7.42 ± 0.17	6.59 ± 0.25*	5.70 ± 0.14	5.14 ± 0.21	A, B
Zn(ppm)	20.49 ± 2.81	17.01 ± 0.83	16.58 ± 4.18	14.28 ± 1.59	18.91 ± 4.21	21.50 ± 8.53	NS
K(ppm)	1590.0 ± 74.9	1517.6 ± 70.9	1405.0 ± 52.3	1357.4 ± 65.6	1408.3 ± 54.7	1351.9 ± 93.0	NS
Na(ppm)	579.7 ± 97.2	494.4 ± 70.2	701.5 ± 120.7	408.3 ± 48.7*	346.0 ± 49.8	464.3 ± 66.4	A*B

1) Mean ± SE

2) Significant Factor: Statistical significance was calculated at p < 0.05 by 2-way ANOVA

A: Dietary protein level

A*B: Interaction between dietary protein level and lactating period

*Groups differ significantly(p < 0.05) by t-test at the period

B: Lactating period

NS: not significant

은 10%, 25% ISP군 모두 수유가 진행됨에 따라 증가하여 Kuhn²⁰⁾의 결과와 일치하였다. 무기질의 경우, Ca은 기간이 지남에 따라 증가하였고, Fe는 감소하는 경향을 보였다.

이상에서 살펴보았듯이 식이 단백질 수준은 임신, 수유기 동안 어미의 영양상태에 영향을 미치며 분비되는 유즙의 성분에도 영향을 주었다.

2. 성장기에 섭취한 식이 단백질 수준의 영향(제2실험기)

1) 식이섭취량, 단백질섭취량, 체중증가량, 식이 효율, 단백질 효율

제 2 실험기의 연구는 모체의 식이에 의한 영향이 수유후 성장기에 섭취한 식이의 영향으로 어느 정도 보완될 수 있는지를 알아보기 위하여 행하여졌다. 제 2 실험기간동안 이유후의 새끼의 식이섭취량, 단백질섭취량, 체중증가량, 식이효율, 단백질효율은 Table 5에 제시하였고, 체중증가곡선은 Fig. 2에 나타내었다.

식이섭취량은 임신, 수유기 동안 어미가 섭취한 식이 단백질 수준에 영향을 받아 어미가 25% ISP 식이를 섭취한 군이 유의적으로 높았으며 새끼가 섭취한 식이의 영향은 없었다. 4그룹간의 식이섭취량은 유의적인 차이를 보여, HL군의 식이 섭취량이 가장 높았고 HH군 > LH군 > LL군 순으로 나타났다.

단백질 섭취량과 체중증가량은 어미가 섭취한 식이 단백질 수준과 성장기동안 새끼가 섭취한 식이 단백질 수준의 영향을 받았다. 즉, 어미가 25% ISP 식이를 섭취한 군이 유의적으로 높았으며, 또한 성장기때 25% ISP 식이를 섭취한 군이 유의적으로 높아 HH군 > LH군 > HL군 > LL군 순으로 나타났다.

Muaku에 의하면 흰쥐에서 임신기 동안 식이 단백질을 5%와 20%로 제한한 쥐의 새끼를 출생 후 정상식이를 먹은

쥐로 수유하여 키웠을 때, 저단백군의 새끼가 수유기간 동안 체중과 장기 무게가 적었고, 이는 Insulin-like growth factor-I 이 성장 회복(catch-up growth)에 관여하기 때문인 것으로 보고 있다.¹⁾ 본 연구의 결과에서도 어미가 10% ISP 식이를 섭취했고, 성장기에 25% ISP 식이를 섭취한 LH군이 어미때부터 계속 10% ISP식이를 섭취한 LL군보다는 체중이 더 증가했다. 그러나 계속 25% ISP 식이를 섭취한 HH군에 비해서는 여전히 적은 체중이었음을 보여주고 있어 임신, 수유기 동안 모체로부터 받은 영향이 매우 중요함을 알 수 있다.

또한 저체중아²⁷⁾와 영양불량인 유아²⁸⁾에게 고단백 식이를 공급하였을 때 성장 회복이 증진됨이 보고된 바 있다. 본 연구에서도 HL군의 경우 식이 섭취량은 가장 높았으나, 체중 증가는 LH군과 차이를 보이지 않은 것으로 보아 체중은 태아, 수유기의 영양상태가 불량했어도 이유후의 영양조건에 의하여 회복될 수 있음을 보여 주는 것으로 사료된다.

2) 장기 무게

제 2 실험기의 새끼의 장기 무게는 Table 6에 제시하였다.

간 무게는 어미가 섭취한 식이 단백질 수준에 영향을 받아 어미가 25% ISP식이를 섭취한 HH군, HL군이 무거웠는데, LH군의 경우는 HL군과 비슷한 무게를 보여 성장기에 고단백식이를 섭취하면 간무게의 증가가 빨라져 회복이 가능하다는 선행 연구결과²⁹⁾와 일치하였다. 체중 100g당 간의 무게로 환산하면 어미가 10% ISP 식이를 섭취한 군(LH, LL)이 유의적으로 높았다.

신장의 무게는 어미의 식이 단백질 수준에 의한 영향을 받아 어미가 25% ISP식이를 섭취한 군이 유의적으로 무거웠다. 신장의 경우 성장기부터 고단백식이를 섭취하면 신장의 성숙이 빨라지고, 사구체 여과율(GFR)도 증가된다는 Axelsson³⁰⁾의 보고가 있었는데, 본 연구에서 임신 중 어미

Table 5. Diet intake, protein intake, body weight increase, food efficiency ratio and protein efficiency ratio of pups during experimental period¹⁾

	Diet intake (g/4weeks)	Protein intake (g/4weeks)	Body weight increase (g/4weeks)	Food efficiency ratio (F.E.R.)	Protein efficiency ratio (P.E.R.)
HH(6) ²⁾	526.1 ± 13.3 ^{3a)}	131.5 ± 3.3 ^{4a)}	167.3 ± 0.1 ^a	0.318 ± 0.014 ^a	1.274 ± 0.057 ^b
HL(6)	577.0 ± 16.7 ^a	57.7 ± 1.7 ^c	114.3 ± 7.6 ^b	0.200 ± 0.009 ^b	1.973 ± 0.093 ^a
LH(6)	436.7 ± 5.6 ^c	109.2 ± 1.4 ^b	135.8 ± 6.1 ^b	0.287 ± 0.016 ^a	1.235 ± 0.065 ^b
LL(5)	378.6 ± 14.3 ^d	37.9 ± 1.4 ^d	74.5 ± 2.2 ^c	0.210 ± 0.005 ^b	2.104 ± 0.046 ^a
SF ⁵⁾	A	A, B	A, B	B	B

1) For 4 weeks from 5 weeks postpartum
 HH: pups of 25% ISP group from dams of 25% ISP group
 LH: pups of 25% ISP group from dams of 10% ISP group
 2) (): numbers
 3) Mean ± SE
 4) Values with different superscripts among 4 groups were significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test
 5) Significant Factor:Statistical significance was calculated at p < 0.05 by ANOVA
 A: Dams' dietary protein level during gestation and lactation
 B: Pups' dietary protein level

Table 6. Effect of dietary protein level on pups' organ and bone weights(8 weeks postpartum)

		HH(6) ¹⁾	HL(6)	LH(6)	LL(5)	SF
Liver	Weight(g)	8.53 ± 0.44 ^{a2)}	6.52 ± 0.41 ^{h3)}	6.13 ± 0.43 ^b	4.14 ± 0.21 ^c	A
	Weight/100gBW(g/100g)	3.41 ± 0.11 ^a	3.02 ± 1.46 ^b	3.80 ± 0.13 ^a	3.57 ± 0.17 ^a	A
Kidney	Weight(g)	2.60 ± 0.29 ^a	2.72 ± 0.11 ^a	1.82 ± 0.29 ^b	2.16 ± 0.01 ^{ab}	A
	Weight/100gBW(g/100g)	1.05 ± 0.12 ^b	1.26 ± 0.04 ^b	1.11 ± 0.14 ^b	1.86 ± 0.05 ^a	A, B
Intestine	Weight(g)	3.11 ± 0.22 ^a	2.91 ± 0.23 ^a	2.76 ± 0.47 ^a	1.79 ± 0.22 ^b	A, B
	Weight/100gBW(g/100g)	1.27 ± 0.12 ^b	1.35 ± 0.08 ^{ab}	1.72 ± 0.17 ^a	1.52 ± 0.15 ^{ab}	A
Spleen	Weight(g)	1.50 ± 0.30	1.44 ± 0.06	1.25 ± 0.20	1.23 ± 0.17	NS
	Weight/100gBW(g/100g)	0.55 ± 0.13 ^b	0.67 ± 0.05 ^b	0.77 ± 0.11 ^{ab}	1.05 ± 0.13 ^a	A, B
Thymus	Weight(g)	0.99 ± 0.16	1.16 ± 0.06	0.82 ± 0.19	0.91 ± 0.02	B
	Weight/100gBW(g/100g)	0.40 ± 0.07 ^b	0.54 ± 0.01 ^b	0.53 ± 0.10 ^b	0.79 ± 0.03 ^a	A, B
Femur	Wet weight(g)	0.649 ± 0.034 ^a	0.658 ± 0.032 ^a	0.435 ± 0.033 ^b	0.436 ± 0.075 ^b	A
	Dried weight(g)	0.371 ± 0.013 ^a	0.343 ± 0.020 ^a	0.237 ± 0.019 ^b	0.236 ± 0.034 ^b	A
Scapula	Wet weight(g)	0.166 ± 0.007 ^a	0.149 ± 0.012 ^a	0.113 ± 0.011 ^b	0.098 ± 0.005 ^b	A
	Dried weight(g)	0.093 ± 0.003 ^a	0.093 ± 0.006 ^a	0.073 ± 0.005 ^b	0.061 ± 0.002 ^b	A

1) (): numbers

2) Mean ± SE

3) Values with different superscripts among 4 groups were significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

4) Significant Factor: statistical significance was calculated at p < 0.05 by ANOVA

A: Dams' dietary protein level during gestation and lactation

B: Pups' dietary protein level

NS: not significant

See Table 5. for abbreviation

가 25% ISP 식이를 섭취한 군에서 신장의 무게가 높아 모체의 영양상태도 새끼의 신장의 성숙에 큰 영향을 주고 있음을 보여 주었다. 대체로 다른 장기의 무게는 HL군과 LH군의 차이가 없었고 신장의 무게만 HL군이 유의적으로 컸다는 것은 고단백이 공급된 시기가 신장의 성숙에 영향을 미친다고 볼수 있겠다. Desai등¹⁰⁾은 임신, 수유기의 단백질 영양불량에 의한 장기발달은 선택적으로 뇌와 폐는 최대한 보호하면서 간과 신장등의 발달은 상대적으로 저하된다고 하였다.

소장의 무게는 어미의 식이 단백질 수준에 의한 영향을 받아 어미가 25% ISP 식이를 섭취한 군이 유의적으로 높았으며, 새끼가 섭취한 식이의 영향으로 새끼때 25% ISP 식이를 섭취한 군이 소장무게가 무거웠다. 체중당 소장 무게는 어미의 식이 단백질 수준의 영향을 받아 어미가 10% ISP 식이를 섭취한 군이 유의적으로 높았다. 소장의 무게는 어미와 새끼의 식이 단백질 수준에 모두 영향을 받아 HH군, HL군, LH군 간에 차이가 없었고 단지 LL군만이 유의적으로 무게가 적었다. 따라서 태아때 받은 영향이 이후의 성장기의 식이 영향으로 극복될 수 있음을 보여준다. 이 결과는 또한, 성장기에 고단백을 섭취하였을때 GI tract의 무게가 증가 한다는 Michael¹¹⁾의 연구와 일치한다.

비장의 총무게는 유의적 차이를 보이지 않았지만, 체중당 비장무게는 어미와 성장기의 식이 단백질 수준에 영향을 받아 어미가 10% ISP 식이를 섭취한 군이 유의적으로 높았고, 성장기에 10% ISP 식이를 섭취한 군이 유의적으로 높

게 나타났다.

흡선의 무게는 성장기 식이 단백질 수준에 영향을 받았으며, 체중당 흡선의 무게는 어미의 식이 단백질 수준과 성장기의 식이 단백질 수준의 영향을 받아 LL군에서 유의적으로 높게 나타났다.

3) 뼈 무게

생후 8주된 새끼의 대퇴골, 견갑골의 젖은 무게, 마른 무게는 모두 어미가 25% ISP 식이를 섭취한 군(HH, HL)이 유의적으로 높게 나타났고, 이유후 새끼 식이의 영향은 없었다(Table 6).

골격 유지와 관계 있는 여러 식이인자들 중에서 식이 내 단백질은 체내 Ca 대사에 영향을 미쳐 성장기의 골격의 성장과 유지에 관련이 있다. 현재까지 식이 내 단백질 함량이 체내 Ca 대사와 골격에 미치는 영향에 대한 많은 연구가 있으나 태아및 성장기에 걸쳐 고단백식이 미치는 영향은 잘 알려지지 않았다. 본 실험의 결과 대퇴골과 견갑골의 젖은 무게, 마른 무게가 어미가 25% ISP 식이를 섭취한 군(HH, HL)에서 유의적으로 높아서 태아기의 단백질 공급에 의한 영향을 받은 것으로 나타났다. 그러나 성장기에 공급된 식이 단백질에 의해서는 영향을 받지 않았으며, 이런 경향은 골격 종류에 따른 차이 없이 모두 같은 경향이였다.

본 연구 결과로 볼 때 임신, 수유기 동안의 단백질 섭취 부족은 새끼의 골격발달 저하를 초래하며, 이 경우 이유기 후 성장기에 단백질을 보충해줘도 지연된 골격성장이 개선

Table 7. Effect of dietary treatment on biochemical values in serum from pups(8 weeks postpartum)

	HH(6) ¹⁾	HL(6)	LH(6)	LL(5)	SF ⁴⁾
Hct(%)	42.9 ± 1.8 ²⁾	43.7 ± 1.7	38.8 ± 2.8	40.5 ± 0.9	NS
Protein(g/dl)	7.5 ± 1.0	8.4 ± 1.5	9.5 ± 1.1	7.6 ± 1.7	NS
Lipid(mg/dl)	311.1 ± 58.3	200.9 ± 39.6	232.5 ± 54.7	260.5 ± 57.3	NS
Cholesterol(mg/dl)	146.3 ± 21.9	102.1 ± 11.2	98.5 ± 20.2	86.6 ± 16.0	NS
Triglyceride(mg/dl)	101.4 ± 14.0	97.9 ± 27.9	102.1 ± 30.2	89.1 ± 19.3	NS
Ca(ppm)	42.6 ± 3.7	50.1 ± 4.5	57.2 ± 4.6	53.6 ± 5.1	NS
Mg(ppm)	20.7 ± 1.5	19.5 ± 0.3	18.4 ± 0.6	18.6 ± 0.9	NS
Cu(ppm)	0.66 ± 0.043	0.64 ± 0.070	0.82 ± 0.110	0.62 ± 0.037	NS
Fe(ppm)	8.14 ± 0.47 ³⁾	7.73 ± 0.31 ⁴⁾	7.01 ± 0.47 ³⁾	5.21 ± 0.51 ³⁾	NS
Zn(ppm)	0.38 ± 0.018	0.367 ± 0.029	0.397 ± 0.019	0.391 ± 0.015	NS
Na(ppm)	3464.0 ± 406.5 ^{b)}	6220.0 ± 356.5 ^{a)}	3350.0 ± 185.0 ^{b)}	4070.0 ± 446.1 ^{b)}	NS
K(ppm)	888.0 ± 102.7	1063.1 ± 84.4	967.5 ± 41.9	1158.7 ± 88.1	NS

1) (): numbers

2) Mean ± SE

3) Values with different superscripts among 4 groups were significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test4) Significant Factor: Statistical significance was calculated at $p < 0.05$ by ANOVA

NS: not significant

See Table 5. for abbreviation

되지 않는 것으로 나타났다. 따라서 흰쥐에서 새끼의 골격 발달은 임신, 수유기에 모체로 받는 영양의 영향이 더욱 중요한 것으로 사료된다.

4) 혈청 성분

태아기 때 어미의 단백질 섭취 수준과 생후 성장기의 식이 단백질 수준이 8주된 새끼의 헤마토크릿과 혈청 단백질, 지방, 콜레스테롤, 중성지방 및 혈청 Ca, Mg, Fe, Zn, K, Na에 유의적인 영향을 미치지 않았다(Table 7).

따라서, 생후 4주된 새끼의 혈청 단백질, 콜레스테롤, Ca이 어미의 식이 단백질에 의한 차이를 보인 것과는 대조적으로 새끼가 성장해 감에 따라 식이단백질 수준에 의한 차이가 감소된다고 보겠다. 본 연구에서 사용된 ISP 10% 수준은 성장기 동안 식이섭취량과 체중증가에는 영향을 미쳤으나, 혈액의 생화학적 변화까지 초래할 정도로 심각한 수준은 아니라고 볼 수 있겠다.

이상으로 볼 때, 모체가 임신, 수유기에 25% ISP 식이를 섭취했었고, 이후 성장기에도 25% ISP 식이를 섭취한 HH군이 영양상태가 월등히 좋았으며, LH군은 LL군 보다는 훨씬 양호한 영양상태를 보였으나 HH군의 결과에는 미치지 못했다. 또한 LH군은 HL군과는 비슷한 영양 상태를 보였다. 따라서, 성장기의 새끼는 임신, 수유기에 모체로부터 받은 영양상태에도 영향을 받지만, 이유후 성장기에 섭취한 식이로 어미에 의한 영향을 어느 정도 극복할 수 있음을 알 수 있다. 또한, 태아기와 수유기의 영양결핍시 이유후의 영양보충(LH군)도 어느 정도 극복되지만 그 보상정도에 한계가 있어 HH군의 결과에는 미치지 못하였다. 그리고, 태

아기와 수유기의 영양상태는 좋았지만 그 후 영양결핍인 경우(HL군)는 성장기의 영양상태가 HH군 보다는 악화되었는데 이것은 성장기에 영양보충으로 개선시킬 수도 있으며 이것은 저체중아²⁷⁾ 및 영양불량 유아들²⁸⁾에 관한 연구결과들에서 확인할 수 있다.

따라서, 임신, 수유기의 영양상태가 생후 독립영양 시기의 영양상태보다도 중요하며 이 시기의 영양결핍이 더욱 심각한 문제라고 사료된다. 또한 선천적 영양불량으로 인한 성장발달의 지연도 출생 후 영양회복에 의해 일부 개선되는 것으로 나타났으므로 미숙아와 저체중아를 위한 적극적인 영양회복 프로그램 개발이 요구된다고 보겠다.

결론

임신, 수유기의 식이 단백질 수준이 어미와 새끼의 영양상태 및 유즙성분에 영향을 미쳐, 25% ISP군이 10% ISP군에 비해 좋은 상태를 유지하였으며, 성장기의 식이 단백질 수준의 영향은 태내에서 받은 어미의 식이의 영향을 보완할 수 있는 것으로 나타났다.

임신, 수유기의 저단백 식이로 새끼의 성장과 모체의 영양상태가 저하되었고, 특히 모체의 체단백 손실이 심하여 체중이 많이 감소되었고, 유즙 분비량이 감소되었다. 그리고, 임신, 수유기 동안 단백질 결핍이었던 모체의 새끼들은 이유후 성장기에 단백질을 보충해 주어도 고단백 식이를 섭취했던 어미의 새끼로서 성장기에도 고단백 식이를 섭취한 경우와는 성장속도와 골격 발달 등에서 여전히 차이를 보여, 임신, 수유기 동안의 모체의 영양상태가 중요하며, 태아일 때 뿐

아니라 이후의 성장에도 영향을 미침을 알 수 있었다.

Literature cited

- 1) Muaku SM, Beauoye V, Thissen JP, Underwood LE, Fossion C, Gerard G, Ketelslegers JM, Maiter D. Long-term effects of gestational protein malnutrition on postnatal growth, insulin-like growth factor(IGF)-I, and IGF-binding proteins in rat progeny. *Pediatr Res* 39(4 Pt 1): 649-655, 1996
- 2) Henriksen T, Lande B, Clausen T, Gren M, Salvesen K. Intrauterine nutrition. *Tidsskr Nor Laegeforen* 118(20): 3162-3165, 1998
- 3) Venkatachalam PS, Ramanathan KS. Effect of protein deficiency during gestation and lactation on body weight and composition of the offspring. *J Nutr* 84: 38-42, 1964
- 4) Dewey KG. Energy and protein requirements during lactation. *Annu Rev Nutr* 17: 19-36, 1997
- 5) Komaragiri MV, Erdman RA. Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. Effects of dietary protein on mobilization of body fat and protein. *J Dairy Sci* 80(5): 929-937, 1997
- 6) Motil KJ, Sheng HP, Kertz BL, Montandon CM, Ellis KJ. Lean body mass of well-nourished women is preserved during lactation. *Am J Clin Nutr* 67(2): 292-300, 1998
- 7) Jelliffe DB, Jelliffe EF. The volume and composition of human milk in poorly nourished communities. A review. *Am J Clin Nutr* 31: 492-496, 1978
- 8) Menendez A, Ferrandez S. Influence of undernutrition during gestation and suckling on development and sexual maturity in the rat. *J Nutr* 115: 1025-1032, 1985
- 9) Desai M, Crowther NJ, Lucas A, Hales CN. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. *Br J Nutr* 76(4): 591-603, 1996
- 10) Godfrey KM, Barker DJ, Robinson S, Osmond C. Maternal birthweight and diet in pregnancy in relation to the infant's thinness at birth. *Br J Obstet Gynaecol* 104(6): 663-667, 1997
- 11) Sumner K, Metcalf F, Daniels L. The use of breastmilk in a neonatal unit and its relationship to protein and energy intake and growth. *J Paediatr Child Health* 33(1): 55-60, 1997
- 12) Kim HY, Picciano MF, Walling MA. Postnatal selenium repletion protects lungs of neonatal rats from hyperoxia. *J Nutr* 122: 1760-1767, 1992
- 13) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- 14) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipid based on the sulfophospho-vanilin reaction. *Am J Clin Pathol* 53: 89-91, 1970
- 15) Zak B. Total and free cholesterol. In standard method of clinical chemistry. N.Y. Acad Press Inc, pp.79-89, 1968
- 16) Biggs HG, Erickson JM, Moorehead WR. A manual colorimetric assay of triglycerides in serum. *Clin Chem* 21: 437-441, 1975
- 17) Peterson GL. Simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal Biochem* 83: 346-356, 1977
- 18) Bergmeyer HU. Methods for enzymatic analysis. 2nd ed. Vol. 1, 2, Academic press, New York, 1974
- 19) Lonnerdal B, Clegg M, Keen CL. Effects of wet ashing techniques on the determination of trace element concentrations in biological samples. Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and biology. pp.619-629, Walter de Gruyter & Co., Berlin. New York, 1980
- 20) Malandro MS, Beveridge MJ, Kilberg MS, Novak DA. Effect of low-protein diet-induced intrauterine growth retardation on rat placental amino acid transport. *Am J Physiol* 271(1 Pt 1): C295-303, 1996
- 21) Kathleen MR and Nancy LW. Effect of maternal malnutrition during the reproductive cycle on growth and nutritional status of suckling rat pups. *Am J Clin Nutr* 38: 77-83, 1983
- 22) Grigor MR and Thompson MP. Diurnal regulation of lipid production and milk secretion in the rat: Effect of dietary protein and energy restriction. *J Nutr* 117: 748-753, 1987
- 23) Williamson DH, Munday MR, and Jones RG. Biochemical basis of dietary influences on the synthesis of the macronutrients of rat milk. *Fed Proc* 43: 2433-2477, 1984
- 24) Sigman M and Lonnerdal B. Response of rat mammary gland transferrin receptors to maternal dietary iron during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 52: 446-450, 1990
- 25) Linzell JL, Peaker M. Intracellular concentrations of sodium, potassium and chloride in the lactating mammary gland and their relation to the secretory mechanism. *J Physiol* 216: 683-700, 1971
- 26) Kuhn NJ. The lactose and neuraminlactose contents of rat milk and mammary tissue. *Biochem J* 130: 177-180, 1972
- 27) Rigo J, Boboli H, Franckart G, Pieltain C, De Curtis M. Surveillance of the very-low birthweight infant: Growth and nutrition. *Arch Pediatr* 5(4): 449-53, 1998
- 28) Kabir I, Rahman MM, Haider R, Mazumder RN, Khaled MA, Mahalanabis D. Increased height gain of children fed a high-protein diet during convalescence from shigellosis: A six-month follow-up study. *J Nutr* 128(10): 1688-1691, 1998
- 29) Mohan PF, Narasinga BS. Adaptation to underfeeding in growing rats. Effect of energy restriction at two dietary protein levels on growth, feed efficiency, basal metabolism and body composition. *J Nutr* 113: 79-85, 1983
- 30) Axelsson SB. Protein intake during weaning II. Metabolic response. *Acta Paediatr Scand* 76: 457-462, 1987
- 31) Michael LT, Deborah AR. Composition of gain of rats fed low of high protein diets and grown at controlled rates from 80 to 205 grams. *J Nutr* 117: 2135-2141, 1987