

각기 다른 단백질섭취 수준에서 본 식이단백질의 질이 단백질대사에 미치는 영향*

— Simulation Model을 이용하여 —

이 옥 희

Hohenheim대학교 영양학과

Simulation of the Effect of Protein Quality at the Different Protein Intake Level on Protein Metabolism

Lie, Ok Hie

Department of Bioical Chemistry and Nutrition, Hohenheim University, Stuttgart, Germany

ABSTRACT

This study was designed to describe the effect of the protein quality at different intake level of protein on the protein metabolism in the whole body of growing pigs with a simulation model. Varying to the protein level in feeds, four simulations were conducted.

The feed protein level, represented as proportions of digestible protein to the metabolic energy (DP/ME, g/MJ), were 6-8, 11-13, 17-19, and 23-25 DP/ME, respectively. Two protein quality and six weeks of growth time were used at each simulation. The objective function for the simulations was protein deposition in the whole body, which was calculated from the experimental results. The parameters in the simulation were determined by the parameter estimation technique. The results obtained from the simulations were as follows :

The protein synthesis and breakdown rates(g/day) in the whole body was increased with the increase of protein quality only at lower or required level of protein intake. They showed a parallel behavior in the course of growth, irrespective of quality and level of feed protein intake. The simulated protein deposition and protein synthesis showed a linear relationship between them at different protein quality and level. The affinity parameter showed that arginine, tryptophan and isoleucine were more efficient in the stimulation of body protein synthesis. Lysine and phenylalanine+tyrosine were less efficient. The oxidation parameter showed that histidine, phenylalanine+tyrosine, and methionine+cystine were oxidized in larger magnitude than lysine and threonine. The oxidation parameter of most amino acids increased with the increase of protein intake beyond the requirement level, but not any more at highest protein

채택일자 : 1993년 12월 3일

*이 연구는 독일 Friedrich-Ebert-Stiftung의 지원으로 이루어진 것입니다.

intake level.

Finally it was found that the improvement of feed protein quality at the lower or required level of protein intake increase protein deposition through a parallel increase of protein synthesis and breakdown.

KEY WORDS : model · simulation · protein quality · protein synthesis.

서 론

최근 컴퓨터 및 통계처리 기법의 발달에 따라 대사 시스템의 연구에 모델을 사용하여 시스템 구성요소간의 관계를 설명하는 경향이 증가 추세에 있다. 그 중 단백질 대사 연구에 있어서 모델의 사용은 대체로 3가지 유형으로 구분될 수 있다.

첫째로 Phillips¹⁾, Dodds²⁾ 및 Mercer³⁾에 의해 개발된 것으로, 대사 시스템의 내부구조에 대한 설명은 없이 단순히 nutrient intake-reponse의 관계만을 enzyme kinetics과 유사하게 묘사한 모델을 들 수 있다. 이 모델에서는 실험에서 일정한 질의 식이단백질에서 단백질섭취 수준을 달리했을 때 흰 쥐에서 나타나는 총 질소축적량, 성장률 및 식이 섭취량등의 대사반응을 saturation kinetics 또는 sigmoidal-equation으로 나타내었다. 이러한 모델의 경우 각 식이단백질의 질에 따라 모델의 parameter들을 다시 산출해야 하는 단점이 있다.

둘째로 Menke⁴⁾⁵⁾에 의해서 개발된 것으로 단백질의 질을 나타내는 product of amino acid functions(PAF)이라는 실험적 모델을 들 수 있다. 이때 PAF은 reference protein에 대한 식이단백질의 필수아미노산 함량비를 이용하여 각 아미노산마다 2차 회귀식으로 이루어진 amino acid function식을 구해서 이것을 성장기에 필요한 10 아미노산으로 곱한 값이다. 이 모델 또한 위 모델 유형과 마찬가지로 대사 시스템의 내부구조에 대한 설명은 전혀 포함하고 있지 않다.

셋째로 Waterlow⁶⁾ 및 Young⁷⁾⁸⁾⁹⁾등의 연구에서는 다양한 영양상태에서 동위원소를 부착한 아미노산을 체내에 투여한 후, 채취한 sample에서 구한 specific activity-time curve를 분석하는데 사용되는

수치모델(simulation model)을 제시하였다. 이때 사용되는 모델은 compartmental model과 stochastic model로 대별될 수 있다. 많은 연구에서 이런 모델을 이용하여 아미노산의 flux, 산화율 및 protein turnover rate를 산출한후, 그에 의거하여 단백질 및 아미노산 대사의 동적인 면과 섭취수준에 따른 적응 mechanism을 설명하고 있다. 나아가서 이 산출치를 성인이나 성장기의 사람 및 동물의 단백질 및 필수아미노산의 요구량 결정에 이용하고 있다. 이런 류의 연구에서는 단백질 및 아미노산 섭취수준이 다를때 단백질 합성을 및 아미노산 산화율의 inflexion point 또는 break-point를 단백질 및 아미노산의 요구량으로 이용하고 있다⁸⁾¹⁰⁾.

위에 언급한 세번째 모델 유형에 속한 것으로 1992년에 발표된 Lie¹¹⁾의 모델을 들 수 있는데, 이 모델은 Waterlow의 two-compartmental model을 더 발전시켜 성장기 돼지에서 단백질 섭취가 요구량 수준일때 식이단백질의 아미노산구성이 단백질 대사에 미치는 영향을 나타내었다. 나아가서 이 모델은 체단백질의 아미노산 함량을 제시함으로써 모델을 이용하여 필수 아미노산의 필요량을 추정하는데 있어 새로운 방법을 제시했다.

체내 대사에 미치는 식이단백질 질의 영향은 단백질의 섭취수준에 따라 변하기 때문에, 본 연구에서는 Lie의 모델을 사용하여 단백질섭취 수준이 다를때 단백질 질의 차이가 체내 단백질 대사에 미치는 영향을 나타내고자 하였다. Lie의 모델에서는 단백질섭취량의 차이에 따른 영향을 고려하지 않았기 때문에 본 연구에서는 단백질 섭취수준이 달라짐에 따라 각각 개별적인 simulation을 하였다.

연구방법

1. 대상 및 식이

본 연구에서는 단백질섭취 수준을 달리 하였을때 단백질 대사에 미치는 식이단백질 질의 영향을 나타내기 위해 체중 25kg 돼지의 6주간의 성장을 simulation하였다. 이용된 단백질섭취 수준들은 저 단백질 수준, 요구량 수준 및 두 고단백질 수준의 네가지로써, 식이내 함유된 대사열량(metabolic energy, ME)에 대한 소화될 수 있는 단백질양(digestible protein, DP)의 비율을 기준으로 하여 각각 식이군 DP/ME 6~8, DP/ME 11~13, DP/ME 17~

19, DP/ME 23~25(g/MJ)으로 나누었다. 그리고 이러한 상이한 단백질 섭취수준마다 각각 개별적인 simulation을 하였다. 이때 각 식이군마다 질이 다른 두가지 식이단백질을 사용하였으며, 단백질 질은 PAF-값을 사용하여 나타냈다.

2. 자 료

Simulation할때는 일반적으로 모델을 구성하는 state variable과 parameter의 초기치, 그리고 모델 검증과 궁극적인 parameter값을 산출키 위한 실험 측정치가 필요하다. 본 연구의 simulation에 사용된 실험측정치 및 식이내 아미노산들의 조성은 Table 1, 2에 각각 나타냈다. Table 1의 실험측정치는 PAF 및 DP/ME 수치, 그리고 체중의 세가지 기준에 의해

Table 1. Experimental data used in the calculation of protein depositions in the whole body

DP/ME (g/MJ)	PAF	body weight (kg)	W ^{0.75} (kg)	DP/ME ^a (g/MJ)	RPg (g/day)	RPg/W ^{0.75} (g/kg)
6-8	0.410	42.0	16.50	6.4	92	5.58
	0.677	36.0	14.70	7.8	132	8.98
11-13	0.554	32.1	13.49	11.2	94	6.97
	0.604	25.1	11.21	12.3	88	7.85
17-19	0.574	26.0	11.61	18.0	94	8.09
	0.649	42.0	16.50	17.9	123	7.46
23-25	0.603	25.7	11.41	24.4	111	9.72
	0.647	25.9	11.48	24.8	98	8.54

DP/ME=proportion of digestible protein to metabolic energy(g/MJ)

W^{0.75}=metabolic body weight according to KLEIBER(1965)

DP/ME^a=proportion of digestible protein to metabolic energy(g/MJ) (from experiment)

PAF=product of amino acid functions

RPg=retained protein(from experiment)

Table 2. Amino acids composition(g/16g N) of feed used in the simulation

DP/ME	PAF	Lys	M+C	Trp	Thr	Ile	Val	His	Leu	P+T	Arg
6-8	0.410	7.3	1.7	1.4	5.1	5.2	5.6	2.7	8.3	9.6	7.5
	0.677	6.5	4.1	1.0	3.9	3.4	4.8	2.0	6.5	7.5	4.7
11-13	0.554	5.4	3.3	0.8	3.8	4.3	4.6	2.7	7.9	8.0	7.1
	0.604	7.9	4.2	1.4	4.6	5.8	7.1	3.2	10.5	11.3	4.4
17-19	0.574	9.0	4.7	1.6	4.6	7.0	6.3	3.0	12.9	10.8	5.1
	0.649	6.6	3.3	1.1	4.1	5.2	6.5	2.7	8.4	9.6	4.1
23-25	0.603	8.9	3.9	1.4	4.7	5.8	7.3	3.2	10.9	11.9	4.3
	0.647	9.6	4.1	1.5	4.2	6.3	5.9	3.1	11.5	9.8	5.1

DP/ME=proportion of digestible protein to metabolic energy(g/MJ)

PAF=product of amino acid functions

Berschauer¹²⁾, Cornelli¹³⁾ 및 Gruber¹⁴⁾의 연구 결과에서 택한 것으로, 이때 가능한한 각 단백질 섭취수준마다 PAF 수치의 균일한 분포를 고려했다. 위에서 선택된 실험측정치를 기초로 각 식이마다 성장 7, 14, 21, 28, 35 및 42일째의 총 체단백질 축적량(g/day)을 계산하여 수치모델의 비교자료로 사용했다. 비교자료로 사용된 단백질 축적량 계산시, 총 체단백질 함량은 체중의 14%를¹⁵⁾ 차지하며 1일 총단백질 축적량은 metabolic body weight($W^{0.75}$)¹⁶⁾에 비례한다고 가정하였다.

State variable의 초기치는 Table 3에 나타났다. 본 연구에 사용된 모델의 state variable은 도합 11가지로, 이것들은 precursor pool의 열가지 유리아미노산 및 한개의 단백질 pool로 구성된다. Precursor pool의 유리아미노산양은 Wiesemüller¹⁷⁾가 제시한 체중 10kg 돼지의 간, 근육, 내장, 혈액의 각 유리아미노산 함량을 사용하여 이를 체중 25kg으로 환산하여 사용했다. 이때 체중 10kg의 간, 근육, 내장 및 plasma의 아미노산 농도에서 각 유리아미노산 마다의 총 체내함량을 계산하였고 이것을 25kg 체중으로 다시 환산하여, 각 유리아미노산의 초기치로써 사용했다. 이러한 환산시 유리아미노산의 함량 및 체중에 대한 각 장기의 비율은 체중 10kg에서 25kg으로 성장하는 동안 크게 변하지 않는다고 가정했다. Protein pool의 초기치로써 총 체단백질양은

Table 3. Starting values of the variables of simulating model

Free amino acids AS(i)	kg
Lys	0.003235
M+C	0.006370
Trp	0.000010
Thr	0.006460
Ile	0.004020
Val	0.005055
His	0.041720
Leu	0.002740
P+T	0.008260
Arg	0 001210
Sum of free amino acids	0.079080
Protein mass (%)	3.5

체중의 14%를 차지한다고 보아 체중 25kg에서 3.5kg을 가정했다.

3. 모 델

본 simulation 연구에서는 Lie¹¹⁾의 non-linear structure 모델을 사용했다. 모델의 구조 및 방정식들은 Fig. 1 및 Table 4에 각각 나타났다. Fig. 1에 나타난 각 flux의 번호는 Table 4에 나타나 있다.

이 모델의 경우 체단백질 합성은 체중에 의해 결정되는 maximal protein synthesis capacity와 식이로 섭취한 각 아미노산들의 양 및 구성에 의해 결정된다. 그리고 단백질 분해량은 체단백질양에 비례한다고 가정되었다. 따라서 성장기동안의 단백질 축적량은 체중과 아미노산 섭취에 의한 복합적인 기능에 의해 결정된다. 이에 따라 위 모델의 경우 아미노산 섭취가 protein synthesis capacity의 이용효율을 결정함으로써 체단백질 합성에 영향주며, 나아가 전체 단백질 대사에 영향받는다고 보았다.

4. 모델의 수치적 검증

위 모델을 사용한 simulation은 fortran program을 세워 대형 컴퓨터 ICL 1266에서 시행했다. 이 때 fortran program은 Gear¹⁸⁾의 표준 적분 연산자를 이용하였다. 이 Routine은 수치적분에 따른 오차를 최소화하기 위하여 적분변수의 간격을 자동 보정하는 기법에 기초를 두고 있으며 관련 도함수는 후방차분법을 이용하여 이산화했다.

5. Parameter의 결정

Parameter들은 최소자승법에 기초한 parameter

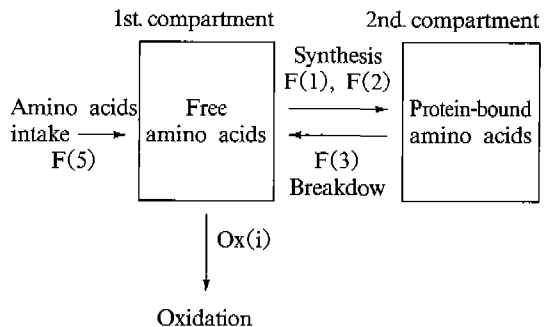


Fig. 1. Structure of the simulating model.

estimation technique을 사용하여 Fig. 2에 나타낸 도식화된 과정을 통해 산출했다. 이때 기준치로는 모델의 총단백질 축적량과 실험측정치사이의 relative difference를 제공한 후 이 것을 모든 비교시

점마다 더해서 구한 Q²-value가 사용되었으며, parameter값을 반복적으로 변화시켜서 Q²-value가 최소화되는 parameter값들을 구했다. 각 simulation에서 parameter 결정에 기준으로

Table 4. Model equations

Flux equations

- 1) $F(1) = \frac{K1 + K2 \times M}{K3 + K4 \times M}$; Maximal protein synthesis capacity.
- 2) $F(2) = F(1) \times \text{Factor}$; Protein synthesis
- 3) $F(3) = M \times K5$; Protein breakdown
- 4) $F(4) = F(2) - F(3)$; Net protein synthesis
- 5) $F(5) = M \times K6$; Amino acid intake
- 6) $Ox(i) = AS(i) \times KO(i)$; Amino acid oxidation

Differential equations :

- 7) $DAS(i)/dt = F(5) \times ASF(i) - F(4) \times ASB(i) - Ox(i)$
- 8) $dM/dt = F(4)$

Function equations :

- 9) $Konz(i) = \frac{AS(i)}{M}$
- 10) $AF(i) = \frac{Konz(i)}{KA(i) + Konz(i)}$
- 11) $\text{Factor} = AF(1) \times AF(2) \times \dots \times AF(10)$

Symbol :

(i) = no. of Lys, M+C, Trp, Thr, Ile, Val, His, Leu, P+T and Arg

a) State variables

- M = fat-free protein mass(kg)
- AS(i) = quantity of the individual free amino acid in blood and all tissues(kg)

b) Parameter

- K1-K4 = parameter for the maximal protein synthesis capacity
- K5 = parameter for the protein breakdown
- K6 = parameter for the amino acids intake
- KA(i) = parameter for the amino acid affinity
- KO(i) = parameter for the amino acid oxidation
- ASB(i) = amino acid requirement for the protein deposition(% or g/16g N)

c) Function

- Konz(i) = concentration of the individual free amino acid in blood and all tissues(kg/kg fat-free protein mass)
- AF(i) = amino acid function
- Factor = efficiency of protein synthesis

d) Flux

- Ox(i) = oxidation flux of the individual amino acids

e) Amino acids composition of feed

- ASF(i) = percentage or amount of the individual amino acids of feed protein (% or g/16g N)

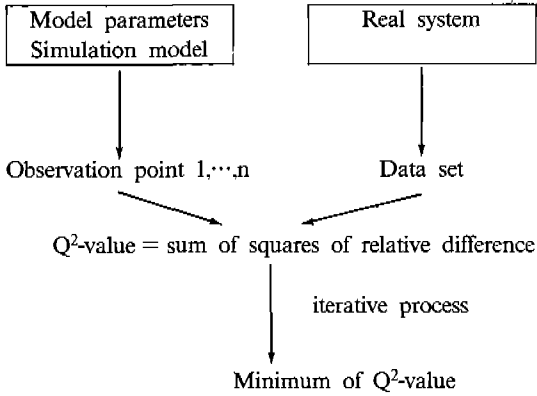


Fig. 2. Sequence of the parameter estimation.

사용된 Q²-value의 식은 다음과 같다.

$$Q^2\text{-value} = \sum_{i=1}^n \left(\sum_{j=1}^m \left(\frac{E_{i,j} - S_{i,j}}{\text{MIN}(E_{i,j}, S_{i,j})} \right)^2 \right)$$

i=index for comparison time point
j=index for feed ration

m=no. of comparison time point

n=no. of feed ration

MIN=smaller value between simulation(S) and comparison value(E)

각 simulation에서 42일간의 성장기간동안 매 7일 마다의 simulation된 단백질 축적량을 실험측정치에서 계산된 값과 비교하였고 각 식이군마다 질이 다른 두가지 단백질을 사용하였으므로, Q²-value 계산에 12개의 값들이 사용되었다.

6. Simulation 결과의 처리

Simulation 결과와 실험측정치에서 계산된 총 단백질 축적량과의 일치정도를 나타내기 위해, 각 식이마다 두 값사이의 relative difference(%Diff)를 계산했다. Simulation된 단백질 축적량과 단백질 대사의 다른 parameter들과의 관계는 MS-chart program을 사용하여 나타냈다. %Diff의 계산은 다음의 공식을 따른다.

$$\% \text{Diff} = \frac{S - E}{\text{MIN}(E, S)} \times 100$$

Min(E, S)=smaller value between simulation(S) and comparison value(E)

Table 5. Q²-value

6-- 8	0.044
11-13	0.596
17-19	0.165
23-25	0.078

연구결과

1. Q²-value 및 %Diff(relative difference)

Simulation에서 얻은 Q²-value는 Table 5에, simulation에서 구한 1일 단백질 축적량과 실험측정치와의 사이에서 계산된 relative difference는 Table 6에 각기 나타내었다. Relative difference의 평균(Diff)은 식이단백질의 질 및 양에 따라 4.1~21.3에 달하였으며, 단백질 섭취수준 DP/ME 11~13에서 다른 섭취수준보다 높았다. Q²-value도 식이내 DP/ME-비율에 따라 위와 같은 결과를 나타내었다.

2. Parameter

각 단백질 섭취수준에서 얻은 affinity parameter, 즉, KA(i)의 값은 Table 7에 나타내었다. 이 Table에서 보듯이 KA(i)-값은 아미노산간에 단백질 섭취 변화에 따른 일정한 변화를 나타내지는 않았다. 다만 phenylalanine+tyrosine, methionine+cystine 및 threonine을 제외한 아미노산에서 대개의 KA(i) 값은 단백질 섭취수준 DP/ME 6~8 또는 DP/ME 11~13에서 최고치를 보이나 DP/ME 23~25에서 감소하는 경향을 나타내었다. 그 반면 phenylalanine+tyrosine 및 methionine+cystine 및 threonine의 경우 KA(i)는 DP/ME 17~19 또는 DP/ME 23~25에서 다른 단백질섭취 수준에 비해 증가하였다.

그리고 아미노산들간의 KA(i) 값은 서로 차이를 나타내었다. KA(i)는 아미노산이 체내단백질 합성을 촉진하는데 있어서 개개 아미노산의 활성화 차이를 나타내기 위한 것으로, 이때 각 아미노산의 작용을 나타내는 AF(amino acid function)는 michaelis-menten식과 유사한 형태로 구성되어, KA(1) 값과 precursor pool의 아미노산 농도에 따라 결정되며, 그 값은 0과 1 사이에 있다. 이때 KA(i)는 michaelis-

Table 6. Comparison of the simulated protein deposition(g/day) (S) with values from Experiment(E)

Day	7			14			21			28			35			42								
	E	S	% Diff	E	S	% Diff	E	S	% Diff	E	S	% Diff	E	S	% Diff	E	S	% Diff						
Method	PAF			PAF			PAF			PAF			PAF			PAF								
	DP/ME			DP/ME			DP/ME			DP/ME			DP/ME			DP/ME								
6-8	0.410	68	-4.6	0.410	74	-1.4	0.410	82	1.2	0.410	88	4.5	0.410	95	103	8.4	0.410	110	115	4.5	4.1			
	0.677	114	-12.9	0.677	131	-6.5	0.677	146	-2.7	0.677	169	1.8	0.677	192	204	6.3	0.677	216	240	11.1	6.9			
	0.554	86	-26.5	0.554	96	-24.7	0.554	107	-23.0	0.554	118	-20.4	0.554	131	111	-18.0	0.554	144	125	-15.2	21.3			
11-13	0.604	98	102	4.1	0.604	111	122	9.9	0.604	144	15.2	22.1	0.604	156	203	30.1	0.604	173	241	39.3	20.1			
	0.574	101	111	9.9	0.574	115	129	12.2	0.574	149	14.6	15.8	0.574	163	188	15.3	0.574	182	206	13.2	13.5			
17-19	0.649	98	84	-10.7	0.649	104	95	-9.5	0.649	107	-9.3	130	119	-9.2	0.649	145	131	-10.7	0.649	160	143	-11.9	10.2	
	0.603	124	113	-9.7	0.603	145	136	-6.6	0.603	167	163	-2.5	0.603	191	196	2.6	0.603	218	235	7.8	247	282	14.2	7.2
23-25	0.647	108	99	-9.1	0.647	123	117	-5.1	0.647	140	138	-1.4	0.647	158	164	3.8	0.647	178	192	7.9	199	226	13.6	6.8

% Diff=relative difference between simulation and experiment(%)

Diff=mean of absolute values of the relativen Differences

DP=digestible protein(g) ME=metabolic energy(Mj)

PAF=product of amino acid functions

Table 7. KA(i), parameter of amino acid affinity

DP/ME Amino acid	6-8	11-13	17-19	23-25
Lys	0.81E-5	0.69E-5	0.79E-5	0.71E-5
M+C	0.21E-5	0.23E-5	0.30E-5	0.21E-5
Trp	0.31E-6	0.34E-6	0.28E-6	0.32E-6
Thr	0.22E-5	0.27E-5	0.28E-5	0.24E-5
Ile	0.51E-6	0.58E-6	0.39E-6	0.50E-6
Val	0.23E-5	0.25E-5	0.21E-5	0.23E-5
His	0.88E-6	0.90E-6	0.89E-6	0.85E-6
Leu	0.13E-5	0.12E-5	0.12E-5	0.10E-5
P+T	0.33E-5	0.30E-5	0.28E-5	0.39E-5
Arg	0.89E-7	0.84E-7	0.89E-7	0.55E-7
Q ² -value	0.044	0.596	0.165	0.078

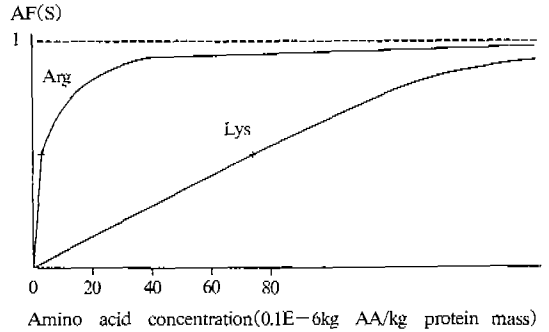


Fig. 3. Variation of the simulated amino acid function, AF(S) with respect to amino acid concentration.

menten식의 Km과 유사한 역할을 한다. 보기로써 KA(i) 값이 아미노산농에서 최고 및 최저치를 각각 나타내던 arginine 및 lysine의 AF를 예를 들어 Fig. 3에 나타냈다. 이 Fig. 3에서 보듯이 KA(i) 값이 낮을수록 아미노산은 낮은 농도에서도 효율적으로 체단백질 합성을 촉진하여 precursor pool의 아미노산 농도 증가에 따라 AF(i)는 plateau 수치인 1에 빨리 접근한다. KA(i) 값에 따르면 arginine, tryptophan 및 isoleucine은 lysine, phenylalanine+tyrosine 및 valine에 비해 활발하게 체단백질 합성을 촉진하였다.

Oxidation parameter, KO(i)는 Table 8에서 보듯이 단백질 섭취수준에 따라 아미노산간에 약간의 차이가 있지만 대체적으로 단백질 섭취수준 DP/ME

Table 8. KO(i), parameter of amino acid oxidation

DP/ME Amino acid	6-8	11-13	17-19	23-25
Lys	1.4	1.4	1.4	1.2
M+C	7.6	7.5	8.1	5.5
Trp	6.6	8.3	6.9	4.6
Thr	2.9	2.9	3.4	2.3
Ile	6.2	4.8	5.2	6.2
Val	5.3	5.3	5.3	5.8
His	10.1	11.2	11.1	10.9
Leu	4.4	4.2	4.0	4.2
P+T	7.3	7.8	7.3	8.3
Arg	4.6	4.5	4.0	3.4
Q ² -value	0.044	0.596	0.165	0.078

11~13 및 17~19군에서 증가하는 경향을 보였으나 DP/ME 23~25군에서는 오히려 감소하였다. 그리고 KO(i)-값은 아미노산들간에 서로 큰 차이를 나타내어 최고치를 나타내는 histidine의 경우 최저치를 나타내는 lysine의 7배에 달했다. KO(i)-값에 따르면 histidine, phenylalanine+tyrosine 및 methionine+cystine의 산화율이 lysine 및 threonine의 산화율보다 높았다.

3. 아미노산의 요구량, 또는 총 체단백질의 아미노산 조성

일반적으로 근육 및 총 체단백질의 아미노산 조성은 성장 및 유지에 필요한 아미노산 요구량과 비슷하여 ideal balanced amino acids composition¹⁹⁾ ²⁰⁾을 나타낸다고 한다. 이에 따라 본 연구에서도 아미노산 요구량결정에 체단백질의 아미노산 조성을 이용하였다. 이때 ARC²¹⁾에 따라 체중 25kg에서 50kg으로 성장하는 동안 아미노산의 요구량은 단백질 섭취수준에 크게 영향받지는 않는다고 보아, 본 simulation 연구에서는 모든 식이군에서 적용될 수 있는 하나의 동일한 체단백질 아미노산 조성을 구하였다.

Table 9. Amino acids requirement, or amino acids composition of the whole-body protein

(g/100g Protein)									
Lys	M+C	Trp	Thr	Ile	Val	His	Leu	P+T	Arg
5.0	2.3	0.9	2.2	2.1	1.3	4.5	4.1	2.8	

Table 10. Protein synthesis (g/Kg weight/day)

DP/ME	PAF	Synthesis	DP/ME	PAF	Synthesis
6-8	0.410	23.9	17-19	0.574	28.0
	0.677	27.0		0.649	27.7
11-13	0.554	27.3	23-25	0.603	31.6
	0.604	28.1		0.647	31.2

Simulation된 아미노산 요구량은 Table 9에 보듯이 lysine, isoleucine 및 phenylalanine+tyrosine의 경우 다른 아미노산보다 높았다. 대부분 돼지사료에서 first-limiting amino acid인 lysine의 요구량은 5.0(g/100g protein)으로 아미노산중 가장 높은 반면, tryptophan의 요구량은 가장 낮았다. 돼지의 성장에 있어서 필요한 총 필수 아미노산의 양은 28.8(g/100g protein)을 나타냈다.

4. 단백질 합성량(g/kg weight/day)

성장 42일째의 체내 총 단백질 합성량(g/kg weight/day)은 Table 10에서 보듯이 단백질의 섭취수준 및 질에 따라 23.9에서 31.6(g/kg weight/day)에 달했다. 또한 단백질 합성량은 DP/ME 6~8 및 DP/ME 11~13에서 단백질 질이 높은 경우 증가하였다. 그 반면 두 고단백질 섭취수준에서는 단백질 질의 증가에 따른 이런 경향이 나타나지 않았다.

5. 단백질 축적량, 체내 총 단백질양 및 단백질 turnover rate(g/day)

6주간 성장동안 simulation된 단백질 축적량(g/day), 총 단백질양(g) 및 단백질 합성량(g/day)과 분해량(g/day)은 Fig. 4, 5, 6, 7에서 각각 나타내었다. 이 그림들의 수치 1, 2는 DP/ME 6~8를, 3, 4는 DP/ME 11~13를, 5, 6은 DP/ME 17~19를, 7, 8은 DP/ME 23~25 식이군을 각각 나타내며, 각 단백질섭취 수준에서 수치의 증가는 PAF-값의 증가를 뜻한다. Fig. 4 및 5에 따르면 6주 성장기간 동안의 단백질 축적량과 체단백질량은 오직 DP/ME 6~8 및 11~13군에서 식이단백질 질이 높은 경우

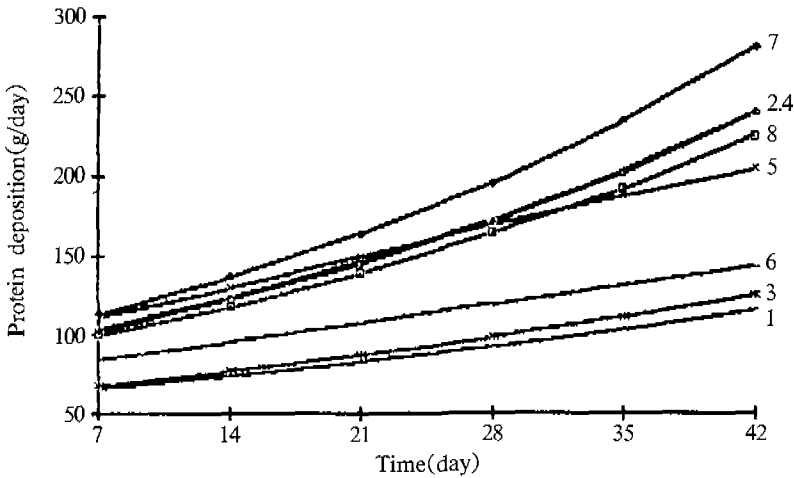


Fig. 4. Time change of protein deposition during 6-weeks growth.

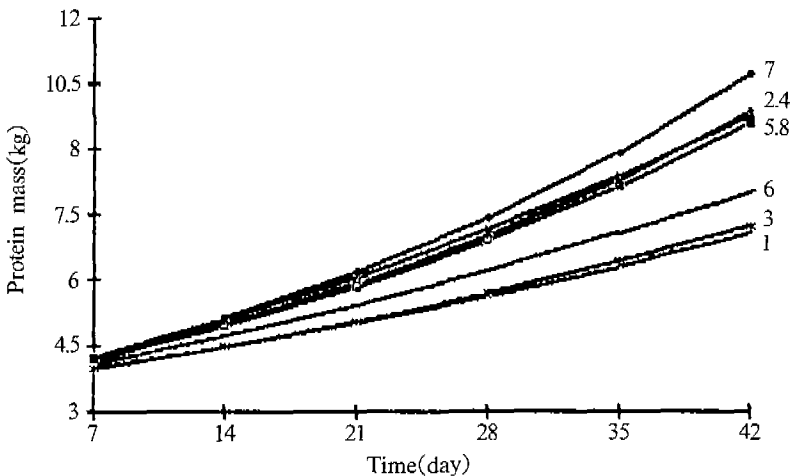


Fig. 5. Time change of protein mass during 6-weeks growth.

높았다. 이와 같은 형태의 변화가 Fig. 6 및 7에서 보듯이 단백질 합성량 및 분해량에서도 나타났다. 또한 단백질 합성량은 식이내 DP/ME 비율이 증가함에 따라 증가했고, 이와 병행하여 단백질 분해량도 증가했다.

다양한 식이단백질 질 및 섭취수준에서 단백질 축적량과 합성량의 관계는 Fig. 8에서 보듯이 $Y = A + Bx$ 형태의 1차 방정식으로 나타낼 수 있었다. 이 때 일반 실험연구와 달리, 본 simulation에서 계산된 값들은 통계적 확률이론의 적용이 매우

어렵기 때문에, 상관계수 r 및 확률 p 는 계산하지 않았다. Fig. 8에서 보듯이 식이내 단백질의 양과 질에 상관없이 체단백질량은 단백질 합성량의 증가에 따라 증가함을 볼 수 있었다.

고찰 및 결론

Simulation으로 구한 총 단백질 축적량과 실험 측정치사이의 relative difference는 대부분의 식이에서 약 20% 또는 그 이하의 값을 나타내었다.

단백질 대사와 Simulation Model

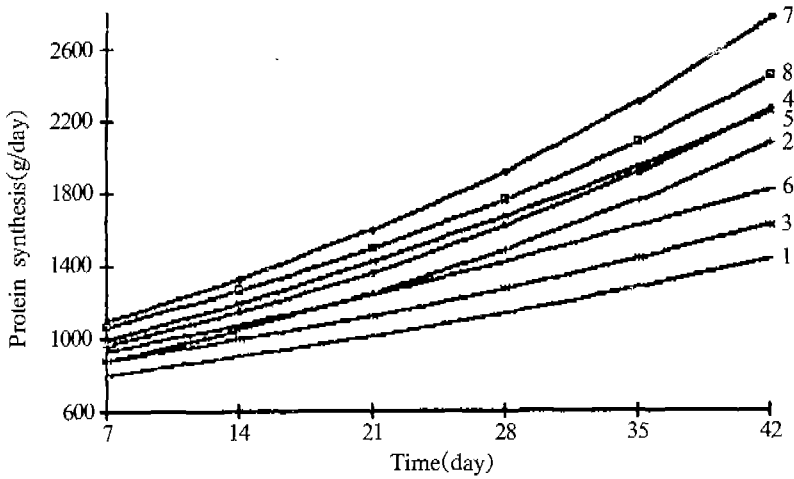


Fig. 6. Time change of protein synthesis during 6-weeks growth.

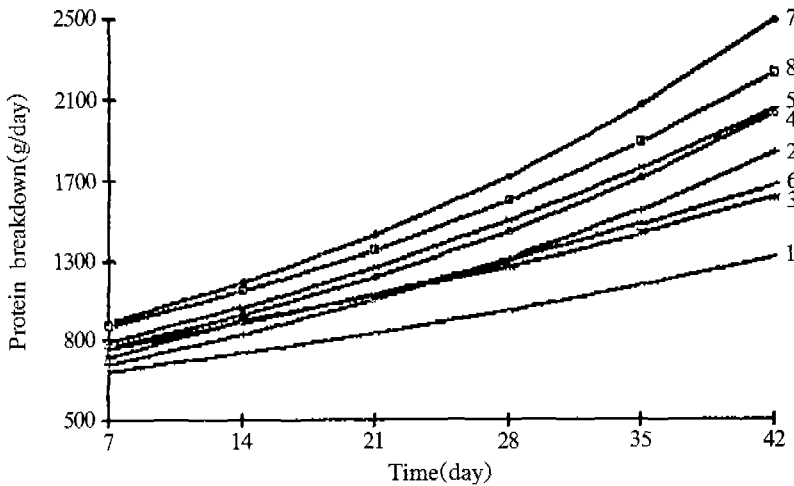


Fig. 7. Time change of protein breakdown during 6-weeks growth.

대개의 수치모델이 실험측정치와의 일치도가 60% 정도인 것을 감안할 때 위 relative difference의 값은 낮은 것으로, 이로 미루어 본 연구에 사용된 모델은 단백질의 섭취 수준이 다를때도 돼지에서 신체내 단백질 대사에 미치는 단백질 질의 영향을 잘 나타내고 있다고 할 수 있다.

Oxidation parameter, KO(i) 값은 BCAA(branched chain amino acids)를 제외한 대부분의 아미노산에서 식이군 DP/ME 11~13 및 17~19에서 증가하였으나 식이군 DP/ME 23~25에서는 감소했다.

그 반면에 affinity parameter, KA(i)는 phenylalanine+tyrosine을 제외한 대부분의 아미노산의 경우 식이군 DP/ME 6~8 및 DP/ME 11~13에서 높은 값을 보였으며 그 이상의 단백질 섭취수준에서는 감소했다.

단백질 섭취 차이에 따른 체내 단백질 합성과 아미노산 산화사이에서 섭취된 아미노산의 분포는 Krebs²²⁾에 의하면 substrate 농도와 효소의 michaelis constant, Km 및 효소의 활성도등이 복합적으로 작용함으로써 결정된다. 이때 단백질 섭취부족에

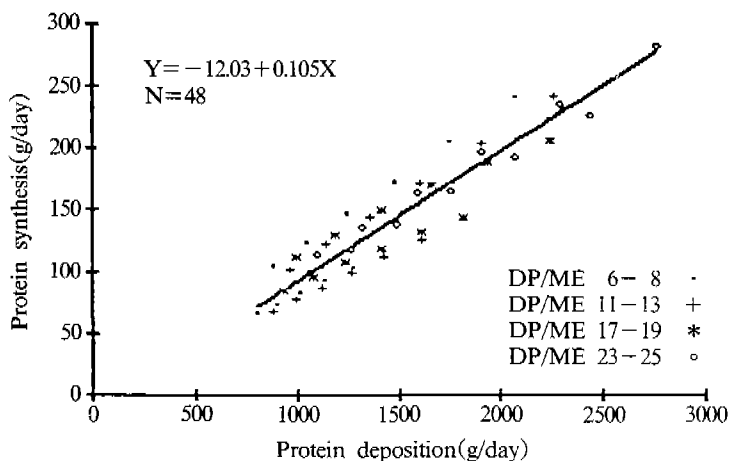


Fig. 8. Protein deposition, as a function of protein synthesis.

적응하기 위한 가장 빠른 반응은 무엇보다 아미노산 산화효소의 높은 Km 값에 비해 amino acyl-tRNA synthetase의 낮은 Km값²²⁾에 의해 결정되기 때문에, 많은 연구에서⁹⁾²³⁾²⁴⁾ 섭취된 아미노산이 효율적으로 체단백질 합성에 이용되는 반면 산화율은 일정하며 낮다고 보고되었다. 그리고 단백질 섭취량이 요구량을 넘어 더 증가하면 체내 단백질 합성량은 포화하게 되어¹⁰⁾ 아미노산의 섭취량에 대한 상대적인 산화율은 급격히 증가한다는 것이 여러 연구⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾²³⁾에서 보고되었으며, 이에 상응하여 아미노산 산화효소²⁴⁾²⁵⁾와 carbamoyl phosphate synthetase²⁶⁾ 및 urea cycle 효소²⁷⁾의 활성도가 급격히 증가한다고 보고되었다. 본 연구에서 단백질섭취 수준에 따른 KO(i)의 변화는 아미노산의 산화율 및 이용효율에 대한 상기의 연구들과 일치한다. 그 반면 DP/ME 23~25에서 KO(i)의 감소는 단백질의 과다섭취에 따라 oxidative capacity가 포화된 것으로 보여진다. BCAA의 경우 KO(i)가 단백질 섭취수준의 변화에 따라 다른 아미노산과 구분되는 변화를 나타냈는데, 이는 BCAA 분해 효소들의 조직간 분포도 차이에 의해 발생된 특수한 대사과정에 기인하는 것으로 본다. 대개의 필수 아미노산들은 간에서 우선적으로 산화되나 BCAA의 경우 BCAA-aminotransferase와 BCKA(branched chain α-keto acid)-dehydrogenase의 조직간 분포도 차이에 의해, 주로 근육에서 transamination된 후, 간에서 oxidative decarboxylation

된다는 사실과 단백질 섭취부족시 근육의 BCAA-aminotransferase 활성도는 변화하지 않는다는 연구결과에²⁸⁾²⁹⁾ 따르면, 식이군 DP/ME 6~8에서 valine 및 leucine의 높은 산화율은 근육의 높은 transamination에 기인한다고 생각된다. 본 연구의 KA(i) 값은 단백질 합성을 촉진하는데 있어서 하나의 활성도를 나타내는 기능을 갖는다. 일반적으로 단백질섭취 변화에 따른 각 아미노산의 amino acyl-tRNA synthetase 활성도 변화에 대한 연구결과가 밝혀지지 않았기 때문에 KA(i) 값 변화를 다른 연구와 비교하기는 어렵다. 다만 전체적으로 보아 KA(i) 값이 저단백질섭취 수준 및 요구량 수준에서는 높으나 과잉섭취시 감소하는 것은, 요구량이 하의 단백질섭취 수준에서는 precursor pool의 유리아미노산 농도가 증가함에 따라 체내 단백질 합성이 'linear'하게 증가하지만 과다 섭취시 섭취된 아미노산의 단백질 합성으로의 이용이 빨리 plateau에 도달하는 것을 나타낸다고 본다.

본 simulation의 결과 아미노산즈, 대부분의 돼지 사료에서 first-limiting amino acid인 lysine이 가장 높은 KA(i) 값을 나타낸 반면 arginine의 KA(i) 값은 가장 낮았다. 이것은 다른 아미노산의 섭취 부족보다 lysine 결핍의 경우 체단백질 합성이 특히 제한되는 반면에 arginine의 결핍은 체단백질 합성을 크게 영향주지 않는다는 것을 나타낸다. 본 연구에서 lysine의 높은 KA(i) 값은 lysine이 세포내에

다른 아미노산이나 BCAA보다 훨씬 높은 농도로 존재함에도 불구하고 성장한 사람이나 흰쥐의 absorptive state에서 net protein synthesis를 유지하기 위해서는 free pool의 rate limiting amino acid인 leucine³⁰⁾만큼 높은 섭취가 필요하다는 연구결과³¹⁾와 일치한다. Lysine이 다른 아미노산에 비해 상대적으로 단백질합성 촉진율이 낮은 것은 free lysine이 세포내의 cation balance³²⁾유지와 같은 대사상의 다른 이유에 사용되는데 기인하는 것으로 본다. 본 연구에서 단백질 합성상에 나타난 arginine의 영향은 아미노산의 결핍시 흰쥐의 단백질 축적량에 나타난 imbalance 영향이 arginine의 경우 가장 약했다는 연구결과³³⁾와 일치한다. 이는 arginine의 경우 요구량의 2/3를 체내 합성에 의해 조달하는데³⁴⁾ 기인하는 것으로 추측되며, 본 연구에서 사용된 모델의 경우 이 체내 합성을 고려치 않았으므로 이 요인이 또한 KA(i) 값에 작용한다고 본다.

Oxidation parameter KO(i) 값에 따르면 lysine 및 threonine의 경우 산화율이 낮으나, histidine, phenylalanine+tyrosin, methionine+cystine의 경우 다른 아미노산보다 높게 나타났다. Lysine과 threonine의 비교적 낮은 산화율은 간경변증환자에서 측정된 아미노산의 NH₃-생성력과³⁵⁾ 섭취한 아미노산양에 대한 CO₂의 생성량에 대한 연구결과와²³⁾³⁰⁾ 일치한다. Lysine 및 threonine의 낮은 산화율은 다른 아미노산들의 transaminase가 낮은 Km 값을 나타내는데 비해 lysine-1-oxoglutarate-reductase 및 serine-threonine-dehydratase가 높은 Km 값³⁰⁾을 갖는데 기인하는 것으로 본다. Methionine의 높은 KO(i) 값은 다른 아미노산보다 낮은 이용효율³⁶⁾³⁷⁾ 및 높은 산화율을 보인 연구결과³⁸⁾와 일치한다. Methionine은 대사상 sulfate기 및 methyl기 donor로서 작용하며 transamination 및 transsulfation의 두 대사과정을 통해 산화된다³⁹⁾. 그리고 흰쥐 간의 경우 in-vitro에서 transamination을 통한 methionine의 산화가 transsulfation에 비해 5~8배에 달하며, 이 차이는 media에서 methionine 농도 증가에 따라 더 급격히 증가된다는 연구보고⁴⁰⁾에 비추어 볼때, 본 연구에서 나타난 methionine의 높은 KO(i) 값은, transamination pathway 효소들의 높은 활

성도를 나타낸다고 보여진다. Histidine의 높은 산화율은 단백질 섭취수준에 상관없이 흰쥐의 혈장에서 다른 필수 아미노산에 비해 histidine 농도가 낮았던 Lunn등⁴¹⁾의 연구결과와 일치한다. 이제까지 언급한 아미노산간의 oxidation parameter 차이는, 단백질 축적량이 각 아미노산의 종류 및 그 아미노산의 섭취수준에 따라 변화한 다른 연구결과³⁷⁾와 일치한다.

성장을 위한 아미노산의 요구량을 결정키 위해서는 net protein deposition의 아미노산 조성 및 단백질 축적을 위한 각 아미노산의 이용율이 필요하지만, 대부분의 연구에서 이 두가지 모든 아미노산에 대해서 알려져 있지는 않다. 또한 실험 측정에 의해 보고된 아미노산의 요구량은 체단백질의 아미노산구성과 매우 유사²¹⁾하므로 일반적으로 식이로 섭취되어야 할 이상적으로 배합된 아미노산구성을 제시하기 위해 체단백질의 아미노산 조성을 이용한다. 따라서 본연구에서도 simulation된 체단백질의 아미노산 조성을 각 아미노산의 요구량으로 보았다.

Simulation된 각 아미노산의 요구량은 다른 연구결과들²¹⁾⁴²⁾보다 낮으며 특히 lysine의 경우 특히 낮았다. 그러나 본 연구결과는 NRC⁴³⁾의 값과 비슷하였으며 총 필수 아미노산의 요구량은 단백질 100g당 28.8g으로, NRC의 31.8g과 큰 차이를 보이지 않았다. 본 연구에서 다른 연구에 비해 낮은 양의 아미노산 요구량이 나타난 사실은, 다른 연구에서 단백질 축적을 위한 각 아미노산의 체내 availability은 고려치 않은 반면, 본 연구에서는 affinity parameter를 사용하여 precursor pool에서 아미노산간의 단백질합성으로의 이용효율 차이를 고려하였기 때문으로 본다. 이것은 본 연구에서 다른 연구에 비해 특히 낮은 lysine 요구량과 아미노산중 lysine의 affinity constant가 가장 높았던 사실을 연관시켜 보았을 때 분명해진다.

본 연구에서 성장 42일째의 체중 1kg당 1일 단백질 합성량은 단백질의 섭취가 요구량 수준에서 PAF-값이 0.604인 식이의 경우 28.1g으로, 이는 본 연구와 같은 섭취 수준에서 측정된 Reeds등⁴⁴⁾의 14.1g 보다 높은 것이다. 그러나 Reeds등의 연구

에서는 총 단백질 축적량이 체중 1kg당 2.3g에 불과한 데 반해, 본 연구에 사용된 실험측정치의 경우 3.5g이었다. 그리고 단백질 합성량과 축적량 사이에 6~7배의 차이⁴⁴⁾⁴⁵⁾ 및 Linear relationship이 존재하는 사실에 비추어, 본 연구의 높은 단백질 합성량은 실험측정치의 높은 단백질 축적량에 기인한다고 본다.

6주간의 성장기간 동안의 단백질 합성량(g/day)은 식이군 DP/ME 6~8 및 11~13에서 높은 질의 단백질섭취시 증가하는 결과를 보였다. 이는 10% 및 20% 단백질 식이로 사육한 흰쥐의 근육을 in-vitro에서 ¹⁴C-leucine으로 incubation시 단백질로의 incorporation양이 cascin 식이군에서 wheat-gluten군보다 높았던 연구결과와⁴⁶⁾ 일치한다. 이때 ribosome당 leucine의 incorporation양은 식이단백질의 BV와 양의 상관관계를 나타냈다. 그리고 식이 단백질 질의 향상에 따라 RNA-activity가 RNA-turnover에 미치는 영향보다 훨씬 컸던 다른 연구결과⁴⁷⁾⁴⁸⁾와 위 연구결과를 비추어 볼때, 본 simulation연구에 사용된 모델에서 식이단백질 질은 단백질합성에 있어서 용량보다 효율을 직접 영향준다는 가정의 타당성이 확인된다고 본다. 나아가 Sampson등⁴⁹⁾의 연구결과와 마찬가지로 본 연구에서도 낮은 단백질 섭취수준에서 식이단백질의 질을 증가하였을 때, 질의 변화없이 양만 낮은 수준에서 요구량 수준으로 증가한 경우와 비슷하게 단백질 합성량의 증가폭이 컸는데, 이로 미루어 특히 단백질 섭취가 부족시 체단백질 대사에 미치는 식이단백질 질의 중요성을 알 수 있다. 그러나 요구량 이상의 단백질 섭취수준에서는 단백질 합성량이 질의 증가에 상응하는 효과가 나타나지 않는 것을 보였는데, 이는 고단백질 섭취수준에서는 식이단백질 질이 크게 문제되지 않는 점을 반영하는 것으로 본다. 총 체단백질 분해량도 각 단백질 섭취수준에서의 단백질 질의 변화에 따라 단백질 합성량과 같은 형태의 변화를 나타내었다. 그리고 본 연구에서 6주 성장기간동안 식이단백질의 질 및 섭취수준에 따라 protein turnover의 두 요소가 병행해서 변화하였는데, 이는 Waterlow등⁵⁰⁾에 의하면 근육의 단백질 대사를 반영하는 것이다. 또한 총

단백질 합성량중 성장뿐 아니라 유지에 필요한 양도 감소된다는 것을 반영한다. 이제까지 언급한 사실들로 미루어 단백질 질에 따른 단백질 축적량의 변화는 우선적으로 단백질 합성량의 증감폭에 의해 결정된다는 것을 알 수 있다.

저단백질 섭취에 대한 적용은 여러 연구에 의하면⁸⁾³²⁾⁴⁷⁾⁴⁸⁾⁵⁰⁾ 근육의 단백질 합성량의 감소 및 간에서 단백질 분해량의 증가, 질소 배설량의 감소 및 단백질 분해에서 나온 아미노산에서 interne 및 externe recirculation율의 증가에 의해 일어나는 것으로, 이는 각 아미노산의 anabolic 및 catabolic enzyme의 specific activity와 affinity 차이에 기인한다. 이에 따르면 본 simulation 연구에서 나타난 단백질 섭취변화에 따른 아미노산의 oxidation parameter, 그리고 protein turnover양의 변화는 식이단백질 이용에 있어서 이런 보상적인 적응 mechanism을 반영하며, 그에 따라 식이의 낮은 단백질 섭취에서 체내 아미노산을 절약함에 있어서 특히 근육의 단백질대사를 반영한다.

이제까지 고찰한 내용에서 보듯이 본 연구는 동위원소를 부착한 아미노산을 체내 직접 투여하지 않고도 실험에서 측정된 단백질 축적량만을 이용하여 수치모델로 단백질 대사를 연구할 수 있는 방법을 제시했다.

Literature cited

- 1) Phillips RD. Modification of the saturation kinetics models to produce a more versatile protein quality assay. *J Nutr* 112 : 468-473, 1982
- 2) Dodds SJ, Dornhofer PL, Frye GJ, Mercer LP. Food intake and weight gain responses in dispensable, conditionally dispensable and indispensable amino acid deficiency in rats. *Nutr Rep Int* 35 : 341-353, 1987
- 3) Mercer LP, Dodds SJ, Smith DL. Dispensable, indispensable and conditionally dispensable amino acid ratios in the diet. In : Absorption and utilization of amino acids. Friedman, M(ed), Vol 1, CRC Press, 1-13, 1989
- 4) Menke KH, Gruber F, Gaus G. The product of

- amino acid functions(PAF) as a measure of protein quality for pigs. In : Protein metabolism and nutrition, Pion R, Arnal M, Bonin D (eds) 4th Int Symp Clermont-Ferrand, INRA Publ 16, II : 431-434, 1983
- 5) Menke KH. Abschluß-Bericht aus dem SFB 142-A. 4. Universität Hohenheim, Stuttgart, 1987
 - 6) Waterlow JC. Lysine turnover in man measured by intravenous infusion of L-[U-¹⁴C] lysine. *Clin Sci* 33 : 507-515, 1967
 - 7) Young VR, Bier DM. Stable isotope (¹³C and ¹⁵N) in the study of human protein and amino acid metabolism and requirements. In : Nutritional factors -modulating effects on metabolic processes. Beers RF Jr, Basset EG(eds) Raven Press, New York, 267-308, 1981
 - 8) Young VR, Meredith C, Hoerr R, Bier DM, Matthews DE. Amino acid kinetics in relation to protein and amino acid requirements ; the primary importance of amino acid oxidation, In : Substrate and energy metabolism in man, Garrow JS, Halliday D(eds), John Libbey Press, London, 119-133, 1985
 - 9) Young VR. Kinetics of human amino acid metabolism ; nutritional implications and some lessons. *Am J Clin Nutr* 46 : 709-725, 1987
 - 10) Millwards DJ. Human protein requirements : the physiological significance of changes in the rate of whole-body protein turnover. In : Substrate and energy metabolism in man, Garrow JS, Halliday D(eds) John libbey press, London, 531-542, 1985
 - 11) Lie OH. Wachstumsdynamic des schweines in Abhängigkeit von der Aminosäurezusammensetzung in Futter. Dissertation, Universität Hohenheim, 1992
 - 12) Berschauer F. Blutharnstoffkonzentration and Proteinverwertung beim Schwein. In : Schlysssek B(Hsg) ; Hohenheimer Arbeiten, 91, Tierische Produktion, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1977
 - 13) Cornelliuss HC. Untersuchung zur Bewertung von Maisproteinen in Rationen für wachsenden Schweine. Dissertation, Hohenheim, 1981
 - 14) Gruber F. Der Einfluß von Aminosäuren-Zulagen auf die Futteraufnahme und die Proteinverwertung von Ferkeln. Dissertation, Hohenheim, 1981
 - 15) Berschauer F. Der Proteinansatz beim Schwein and seine Beeinflussung durch exogene und endogene Faktoren. *Übers Tierernährg* 5 : 123-160, 1977
 - 16) Kleiber M. Metabolic body size. In : Energy metabolism, 3rd Symposium, Blaxter KL(ed) EAAP Publ 11, Academic Press, London, 427-435, 1965
 - 17) Wiesemüller W. Die Dynamik des Aminosäurestoffwechsels monogastrischer Tierarten unter verschiedenen Leistungsbedingungen. *Wiss Z Univ Rostock, 22 Math-Naturwiss. Reihe* 899-929, 1973
 - 18) Gear CW. Numerical initial value problems in ordinary differential equations. Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs, 1971
 - 19) Oslage HJ, Schulz E. Aminosäurenansatz in verschiedenen Organen und im Gesamtkörper wachsender Schweine sowie Ableitungen zum Aminosäurenbedarf. In : 5th Int Symp Amino acids, Budafest, 1-15, 1977
 - 20) Wünsche J, Meinel M, Kreienbring F, Bock HD. Aminosäurenansatz in Ferkeln in Abhängigkeit von der Ernährung. *Tierernährg Futtermittelkde* 9 : 166-175, 1975
 - 21) ARC, The nutrient requirement of pigs. Agricultural Research Council(ed), Commonwealth Agricultural Bureaus, London, 1981
 - 22) Krebs HA. Some Aspects of the regulation of fuel supply in omnivorous animals. In : Advances in enzyme regulation, Weber G(ed), Vol 10, Pergamon Press, New York, 397-420, 1972
 - 23) Meredith CN, Wen ZW, Bier DM, Matthews DE, Young VR, Lysine kinetics at graded lysine intake in young men. *Am J Clin Nutr* 43 : 787-794, 1986
 - 24) Kang-Lee TA, Harper AE. Effect of histidine intake and hepatic histidase activity on the metabolism of histidine in vivo. *J Nutr* 107 : 1427-1443, 1977
 - 25) Kang-Lee TA, Harper AE. Threonine metabolism in vivo : effect of threonine intake and prior induction of threonine degradation in rats. *J Nutr* 108 : 175, 1978
 - 26) Stewart P, Walser M. Short-term regulation of

- ureagenesis. *J Biol Chem* 255 : 5270-5280, 1980
- 27) DAS TK, Waterlow JC. The rate of adaptation of urea cycle enzymes, aminotransferase and glutamic dehydrogenase to changes in dietary protein intake. *Br J Nutr* 32 : 353-373, 1974
- 28) Sketcher RD, James WPT. Branched-chain amino acid oxidation in relation to catabolic enzyme activities in rats given a protein-free diet at different stage of development. *Br J Nutr* 32 : 615-623, 1974
- 29) Sketcher RD, Fern EB, James WPT. The adaptation in muscle oxidation of leucine to dietary protein and energy intake. *Br J Nutr* 31 : 333-342, 1974
- 30) Watwelow JC, Fern FB. Free amino acid pools and their regulation. In : Nitrogen metabolism in man. Waterlow JC, Stephen JMC(eds), Applied science Publ London, 1-16, 1981
- 31) Meredith C, Bier DB, Meguid MM, Matthews DC, Wen Z, Young VR. Whole body amino acid turnover with ¹³C tracers : a new approach for the estimation of human amino acid requirement. In : Clinical nutrition, Ed Wesdorp RIC, Soeters PB, Livingstone, London, 42-59, 1981
- 32) O'Dell BL, Savage JE. Arginine-lysine antagonism in the chick and its relationship to dietary cations. *J Nutr* 90 : 364-470, 1966
- 33) Peng Y, Meliza LC, Vavich MG, Kemmerer AR. Effects of amino acid imbalance and protein content of diets on food intake and preference of young, adult and diabetic rat. *J Nutr* 105 : 1395-1404, 1975
- 34) Erbersdobler H. Stoffwechselfysiologie der Proteine and Aminosäuren. Fette Seifen Anstrichmittel, 80 jahrgang Sonderheft, 508-512, 1978
- 35) Ruderman DJ, Galambos T, Smith RB, Salam A, Warren WD. Comparison of effect of various amino acids upon the blood ammonia concentration of patient with liver disease. *Am J Clin Nutr* 26 : 916-925, 1973
- 36) Aguilar TS, Harper AE, Benevenga NJ. Efficiency of utilization of indispensable amino acids for growth by the rat. *J Nutr* 102 : 1199-1208, 1972
- 37) Heger J, Frydrych Z. Efficiency of utilization of essential amino acids in growing rats at different levels of intake. *Br J Nutr* 54 : 499-508, 1985
- 38) Immura K, Walser M. Rate of whole-body protein synthesis in the rat as calculated from fractional oxidation of leucine, valine or methionine. *Metab* 37 : 591-596, 1988
- 39) Smolin LA, Benevenga NJ. Methionine, Homocyst(e)ine, Cyst(e)in-metabolic interrelationships. In : Absorption and utilization of amino acids, Friedman M(ed) Vol 1, CRC Press, BOCA Raton, 157-187, 1989
- 40) Benevenga NJ. Evidence for alternative pathways of methionine catabolism. *Adv Nutr Res* 6 : 1-18, 1983
- 41) Lunn PG, Whitehead RG, Baker BA. The relative effects of a low-protein-high carbohydrate diet on the free amino acid composition of liver and muscle. *Br J Nutr* 36 : 219-230, 1976
- 42) Wang TC, Fuller MF. The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs. 1. Experiments by amino acid depletion. *Br J Nutr* 62 : 77-89, 1989
- 43) NRC, Nutrient requirement of swine. National Research Council, 9th. Ed, National Academy Press, Washington DC, 1988
- 44) Reeds PJ, Fuller MF, Cadenhead A, Lobley GE. The effects of dietary energy and protein on protein turnover and nitrogen balance in growing pigs. In : Oslage HJ, Rohr K(eds), Proc 3rd. EAAP Symp Protein metabolism in man and nutrition, Braunschweig, EAAP Publ 27(1) : 67-72, 1980
- 45) Edmunds BK, Buttery DH. Protein and energy metabolism in the growing pig. In : Mount LE (ed) Energy metabolism. Vol 37, Butterworth, 32 a, 1987
- 46) Von der Decken A, Omstedt PT. Dietary protein quality measured by in vitro protein synthesis in rat skeletal muscle ribosomes. *J Nutr* 102 : 1555-1562, 1972
- 47) Omstedt PT, von der Decken A. Dietary amino acids : effect of depletion and recovery on protein synthesis in vitro in rat skeletal muscle and liver. *Br J Nutr* 31 : 67-76, 1974

- 48) Martinez JA, Goena M, Santidrian S, Larralde J. Response of muscle, liver and whole-body protein turnover to two different source of protein in growing rats. *Ann Nutr Metabol* 31 : 146-153, 1987
- 49) Sampson DA, Hunsaker HA, Jansen CR. Dietary protein quality, protein quantity and food intake : Effects on lactation and on protein synthesis and tissue composition in mammary tissue and liver in rats. *J Nutr* 116 : 365-375, 1986
- 50) Waterlow JC, Garlick PJ. Metabolic adaptations to protein deficiency. In : *Alcohol and abnormal protein biosynthesis*. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS(ed), Pergamon Press, London, 67-94, 1975
- 51) Millward DJ, Bates PC, Brown JG, Rosochaki SR, Rennie MJ. Protein degradation and the regulation of protein balance in muscle. In : *Protein degradation in health and disease*, Ciba Found Symp 75 : Elsevier/Excerpta Medica, Amsterdam, 307-329, 1980