

DL-1-Aminoethylphosphonic acid 의 生物學的 機能研究

이화여자대학교 가정대학 식품영양학과

김숙희·조정남

고려대학교 이공대학 화학공학과

김용준

A Study of Synthesis and Biological Function on DL-1-Aminoethylphosphonic Acid

Sook He Kim, Jung Nam Cho

Dept. of Food and Nutrition, College of Home Economics, Ewha Woman's University

Yong Joon Kim

Dept. of Chemical Engineering, College of Science and Engineering, Korea University

=Abstract=

Since 1959 β -aminoethylphosphonic acid was discovered in the living organism, the biosynthesis and biological functions of aminophosphonic acids have been extensively studied.

The author designed and carried out this study for 14 weeks to find out the metabolic function of Ethylaminophosphonic acid (AEP) and its utilization in the living body. Sixty rats, thirty males and thirty females aged 40 ± 5 days were divided into two parts, one for alanine supplemented as control group and the other for AEP as experimental group to compare metabolic pathway of ordinary amino acid with that of AEP.

Both alamine and AEP group were divided into two subgroups according to the level of supplements, 0.1% and 0.2% of the diet. The major components of the diet in this study were composed of 20% casein, 72% Sugar, 4% fat, 4% salt Mixture, and all kind of Vitamins in adequate amount. For comparison of biological values between experimental and control group in terms of body weight, urinary nitrogen, creatinine excretion and final organ weight, there were no statistically significant difference in these respects. This meant AEP could be utilized in the body as much as alanine could.

Urinary phosphorus excretion was determined by developing the blue color to read on the Spectronic 20. Statistically insignificance in the urinary phosphorus excretion between experimental and control group was observed in spite of the supplementation of phosphorus of AEP for experimental group in the diet. The level of blood phosphorus was higher in experimental group than that in control group this result supported above result.

In the analysis of fat and nitrogen contents in the liver, AEP group showed slightly higher than control in both respects. But it was noteworthy 0.2% AEP group in both sex were higher than 0.1% AEP in liver fat content.

Histological examination of internal organs liver, lung, spleen, heart, kidney, adrenal and sex organs showed no changes in all groups included in this study. The group supplemented higher level of diet, by alanine 0.2% and AEP 0.2% stayed on less body weight gain and lower liver weight. This result could be interpreted that amino acid imbalanced condition was arose in the body.

1. 서 론

1959년 일본 동경대학 농학부 영양화학과의 Hori-

* 接受日字 1969. 12. 5.

kuchi에 의하여 2-aminoethylphosphonic acid가 양의 반
작물중에서 발견된 이후로 생물체내에서 aminophospho-
nic acid가 존재하고 있다는 확증이 이루어지고 이의
생물학적 역할에 대하여 주목을 끌게 되었다. 그후 우

유의 분유중에도 2-aminoethylphosphonic acid 가 발견되었고 이화합물이 쥐의 소화기관을 통하여 흡수되고 체내에서 phospholipids 와 서로 작용된다는 사실이 밝혀졌다¹⁹⁾ 어떤 aminophosphonic acid 가 실지로 생화학적 기능이 있다는 보고가 이미 발표된 바 있다. 계속해서 2-aminoethylphosphonic acid 가 생물조직에서 유리된 사실이 L.D. Quin 과 J.S. Kittridge 와 그의 공동연구자들에 의하여 발표된 바 있다. 고려대학교 이공대학 화학공학과의 김용준교수와 그의 연구원들에 의하여 DL-1-aminoethylphosphonic acid (AEP)가 다량으로 합성되었고 그의 생물학적기능을 좀 더 명확히 규명하기 위하여 본 실험을 하였다.

2. 실험방법

1. 실험재료

① DL-1-aminoethylphosphonic acid (AEP)의 합성 AEP 의 유기合成은 Isbell 과 Chamber¹⁾의 방법에 의하여 하였다. 2-L flask에 Stirrer 滴下漏斗, 温度計, 冷却기를 장치하고 2 mole 의 無水 Hydrazine(95%, 64.5cc) 를 反應 flask에 넣고 Ethyl-phosphonopropionate 238gr (1 mole)를 2시간동안 滴下하였다. 滴下하는동안 反應物質은 相當히 격렬하게 교반하여 주었다. 이때 反應物質은 自發의으로 42°C 까지 상승하였고 계속하여 20시간동안 격렬하게 교반하여 주었다. 과랑의 Hydrazine 과 反應中生成된 Ethylalcohol 은 반응용액을 격렬히 교반하면서 減壓下 증류하여 분리하였다. 이때 Acetone 과 Dry Ice 가 들어있는 Dewar flask에서 溶分을 응축하였다. 반응물질은 water bath 를 사용하여 40~50°C 의 온도를 유지시켜 주었다. 이때 약 75~80cc의 液이 응축되었다.

반응물질을 열음 bath 상에서 0°C 로 冷却하니 용액은 대단히 waxy 하였다. 여기에 103cc의 H₂O 를 넣어 회색시키니 유동성있는 용액이 되었다. 다음 곧 600cc의 Ether 를 加하여 역시 -5°C ~ -10°C 를 유지시킨 다음 103cc의 농염산을 한시간동안 滴下하고 注意스럽게 -5°C ~ -10°C 을 유지시키면서 NaNO₂ 용액(83g in 150cc of H₂O)을 한시간동안 滴下하였다. 용액이 冷却되어 있는동안 2L 分液漏斗에 倒기고 Ether 충은 300cc 의 ether 로 4次 抽出하고 이 Ether 抽出物은 처음의 Ether 에 合하였다. 이 Ether 용액을 상온 40시간동안 放置하면 N₂ gas의 상승을 볼 수가 있었다. Ether 를 water bath 上에서 분리하고 계속하여 Ethylalcohol 을 분리하면 노란 용액이 남았다. 800cc의 농염산을 加하고 92°C에서 36시간동안 還流하였다. 溶液은 투명한 노란색을 띠었다. 염산은 Aspirator 로 減壓分離하면 상당

히 粘性의 노란용액이 남았으며 2L-4□ flask에 倒기고 800cc의 Ethylalcohol 을 混合하여 完全히 용해한다음 약간 加溫하면서 Propylene Oxide 를 Cl- ion 이 negative 일때까지 滴下하여 白色의沈澱을 얻었다. 침전은 40°C 의 Vacuum oven에 전조시키고 재결정은 소량의 물에 침전을 용해하고 가열한다음 곧 不純物을 제거하고 Alcohol 을 서서히 滴下하므로서 재결정하였다(收率 38%). 融點 276~277°C 이었다.

② 동물 사육 실험

생후 40±5일된 젖벌어진 Albino Rat 송금 각각 30마리를 크게 alanine(Al)과 AEP 의 두 group 으로 나누고 각 group 을 다시 각각 2 group 으로 나누어서 송금 alanine 0.1% 송금 0.2% 合 8 group 으로 나누었다. Alanine group 은 각 5마리 AEP group 은 각 10마리의 쥐를 포함시켰으며 첫 일주일은 사료와 환경에 적응시키기 위하여 같은 쥐장에서 20% Sugar casein(Stand-diet) diet 로 사육시킨후 각 group 의 Initial body Weight 평균치가 94.5±1.9 되도록 조정하였다. 동물들은 각 장에서 사육되어 갔으며 식이량에는 제한이 없었다. 쥐장의 온도는 17°C±2°C 로 유지하였으며 전체 사육기간은 14주였다.

③ 동물의 사료의 성분

동물의 사료는 Casein 20%인 Standard diet 로 사육하였으며 그 성분은 (Table 1)에서 보는바와 같다.

Table 1. Diet Composition

/kg diet

Sucrose	720gr
Casein	200gr
Fat(면실유)	40gr
※ 1 Salt Mixture	40gr
※ 2 Fat Soluble Vitamin	2cc
※ 3 Cod Liver Oil	30cc
※ Water Soluble Vitamin	
※ 5 Vitamin B ₁₂	1cc

※ 1 Salt Mixture

Calcium Carbonate, Dipotassium Phosphate,
Magnesium Sulfate, Monocalcium Phosphate 2H₂O
Sodium Chloride, Zinc Chloride, Copper Sulfate
Manganous Sulfate H₂O, Ferric Citrate 6H₂O

※ 2 Fat Soluble Vitamins

Alpha tocopherol Acetate (Vit E), Menadion(Vit K)
Corn oil (Solvent)

※ 3 Cod liver oil

Vitamin A, Vitamin D

※ 4 Water Soluble Vitamins

Choline Chloride, Thiamine Hydrochloride

Riboflavin, Nicotinic acid, Pyridoxine, Calcium-

Panthothenate, Biotin, Folic acid, Inositol,

Para-Amino-Benzoic acid.

※ 5 Vitamin B₁₂

Vitamin B₁₂ 5mg 을 증류수 500ml에 녹힌것.

④ AEP 와 alanine 의 차이

AEP 와 alanine 을 평균 섭취하도록 1일식이 섭취량의 0.2%에 해당되는 양을 각각 산출하여서 그 양을 1ml의 증류수에 녹여서 매일 식이 공급시에 동시에 식이 위에다 첨가하여서 동물들이 모두 섭취하도록 하였다.

2. 실험방법

매일 정기적으로 동물이 섭취한 사료량을 측정하였다. 매주마다 정기적으로 동물의 체중 증가를 측정하였다. 실험시작후 송은 제 5주와 제 12주 우은 제 6주와 제 13주에서 동물의 뇨를 채취하였으며 채취된 뇨는 Microkjeldahl Method²⁾에 의하여 총 질소 함량과 Folin's Method³⁾에 의한 Creatinine 배설량을 측정하였다. 체내 phosphorus 의 이용율을 보기 위하여 Fiske and Subba Row Method⁴⁾에 의하여 뇨中 phosphorus 함량도 측정하였다. 제 13주에 tail-bleeding 에 의하여 혈액 Sample 을 채취하여 R.B.C, W.B.C, Hemoglobin, Hematocrit 을 측정하였으며⁵⁾ 뇨의 방법과 같은 방법으로 혈액내의

린의 양도 측정하였다. 동물을 희생시킨 후 liver, Heart, Spleen, Kidneys, Adrenals, Sex organ 을 채취하여 무게를 측정하였다. 간내의 fat 함량을 Soxlet 法⁵⁾에 의하여 측정하였다. 또 간내의 질소함량도 Microkjeldahl method²⁾에 의하여 측정하였다.

3. 실험결과 및 고찰

AEP의 생물학적 기능을 규명하기 위하여 60마리에게 14주동안 사육한 결과는 다음과 같다. 사료 섭취경향은 송 group 이 우group 보다 대체적으로 높은 경향을 보였으며 제 7주나 제 8주에 가장 높은 섭취를 하였으며 각 group 간의 큰 차이는 보여주지 않았다.

1. 사료섭취량

2. 몸무게

(Table 3)에서 보여주는 바와 같이 0.1%로 첨가한 것인 0.2% 수준보다 전반적으로 체중이 높았으나 Alanine 과 AEP 양 group 사이에서 비교하여 보면 통계학적으로 각 group 간에 유의적인 차이는 없는 같은 방향을 나타내 주었다. Amino acid의 조성과 단백질의 생물학적 가치에는 밀접한 관계가 있고^{7,8,9,10)} Amino acid의 종류, 각종 Amino acid의 비율에 따라 생물학적 가치가 다르다는 것이 여러 학자에 의해 보고되었다. 뿐만 아니라 Oser⁷⁾는 amino acid의 함량 및 그 생물학적 가치에 차이가 있음을 지적한바 있다. 따라서 본 실험에서 0.2% group 이 체내 amino acid의 이용률 및 대사율이 낮은 것으로 간주될 수 있으며 이는 0.2% diet에서

Table 2.

Food Consumption

주 group	※ AL 0.1%송	※ AL 0.2%송	△ AEP 0.1%송	△ AEP 0.2%송	※ AL 0.1%우	※ AL 0.2%우	△ AEP 0.1%우	△ AEP 0.2%우
1 주	14. 2g	13. 7g	14. 1g	12. 8g	12. 2g	12. 8g	12. 6g	12. 8g
2	15. 0	14. 3	15. 2	14. 4	13. 5	14. 1	14. 1	15. 3
3	15. 8	15. 4	15. 8	14. 5	14. 6	14. 0	14. 7	15. 0
4	14. 2	14. 0	14. 1	14. 4	14. 6	14. 2	14. 2	14. 4
5	14. 6	14. 1	15. 0	16. 3	16. 3	15. 2	14. 6	15. 9
6	16. 9	18. 8	20. 9	21. 3	20. 9	16. 6	16. 7	18. 4
7	22. 5	18. 7	16. 9	20. 2	21. 4	16. 7	17. 1	21. 1
8	21	20. 9	19. 6	19. 6	19. 1	16	17. 1	19
9	18. 9	20. 2	19. 7	19. 8	16. 6	14. 2	14. 8	16. 2
10	21. 9	16. 3	18. 8	18. 3	15. 8	16. 0	14. 1	17. 4
11	20. 5	19. 6	15. 9	18. 9	14. 9	15. 3	12. 3	15. 6
12	16. 8	18. 3	14. 3	18. 1	10. 5	12. 0	10. 4	11. 5
13	19. 2	14. 8	14. 6	19. 4	13. 8	13. 8	11. 3	12. 0
14	17. 3	15. 8	15. 7	20. 5	16. 4	11. 8	12. 5	11. 6

※ AL=Alanine

△ AEP=Aminoethylphosphonic acid

Table 3.

Body weight

group	AL 0.1%	AL 0.2%	AEP 0.1%	AEP 0.2%	AL 0.1%	AL 0.2%	AEP 0.1%	AEP 0.2%
Initial	96. 4gr	96gr	96. 3gr	96. 2gr	93gr	92. 6gr	93. 1gr	93. 2gr
1 주	122. 2	118. 2	124. 7	118. 1	107. 8	107. 0	109. 4	105. 5
2	150. 6	146. 2	152. 1	143. 5	127. 6	127. 0	127. 5	127. 6
3	176. 8	172	172. 9	166. 3	147	136. 6	147. 7	141. 6
4	182. 8	171. 2	176. 0	165. 1	145. 8	148. 0	152. 2	147. 6
5	194. 2	193. 4	190. 7	175	159. 6	160. 4	161. 1	154. 1
6	220	207. 4	221. 7	207. 8	174. 4	173	173. 4	169. 7
7	249. 2	220. 8	236. 3	210. 8	191. 8	188	186. 5	189
8	226. 4	266. 0	256. 2	241. 1	196. 4	191. 2	190	192. 4
9	275. 8	273. 8	286. 1	256. 0	202. 4	197. 6	205. 2	198. 5
10	286. 8	295. 5	284. 3	281. 4	207	203. 4	199. 6	200. 8
11	301	303. 8	292. 7	291	210. 2	208. 6	205. 2	205. 2
12	321. 2	304. 5	295. 3	291. 3	206	207. 2	204. 7	204. 9
13	329. 8	325. 8	297. 1	291. 7	203. 2	205. 4	202. 6	199. 1
14	332. 7	304. 8	297. 3	291. 5	203. 4	205. 7	202. 8	198. 5

※ AL=alanine

▲ AEP = aminoethylphosphonic

Table 4.

Protein Efficiency Ratio

group	AL 0.1% 우	AL 0.2% 우	AEP 0.1% 우	AEd 0.2% 우	AL 0.1% 오	AL 0.2% 오	AEP 0.1% 오	AEP 0.2% 오
1 주	2.11	1.62	1.01	1.14	1.22	1.13	0.65	0.48
2	1.89	1.96	0.90	0.88	1.47	1.42	0.64	0.72
3	1.63	1.63	1.48	0.79	1.33	0.69	0.69	0.47
4	0.42	0.09	0.11	-0.04	-0.88	0.80	0.16	0.21
5	0.78	1.57	0.47	0.30	0.85	0.82	0.30	0.20
6	0.32	0.75	0.74	1.11	0.71	0.75	0.37	0.78
7	1.30	1.47	0.43	0.08	0.81	0.90	0.38	0.46
8	0.82	2.16	2.00	0.77	0.24	1.25	0.10	0.09
9	0.50	0.39	0.03	0.04	0.36	0.08	0.51	0.19
10	0.50	1.33	0.05	0.87	0.29	0.36	-0.20	0.07
11	0.69	0.42	0.28	0.36	0.21	0.34	0.62	0.14
12	1.71	0.04	0.10	0.01	-0.25	-0.12	0.02	0.01
13	0.45	1.41	0.02	0.02	0.20	-0.11	0.09	-0.24
14	0.17	-1.30	0.01	-0.01	0.01	-0.01	-0.01	-0.03
평균치	0.95±0.23	0.97±0.22	0.55±0.16	0.43±0.13	0.53±0.14	0.59±0.14	0.30±0.08	0.25±0.07

❖ AI = alanine

▲ AEP=aminocetylphosphonic acid

Amino acid의 장내 흡수시 imbalanced condition에 의한 0.2% group의 체중 증가율이 0.1% group보다 낮음을 나타내었다. 또한 alanine group과 AEP group의 체중 증가율에 있어서는 통계학적인 유의성을 나타내지는 않았지만 송에서나 우에서나 AEP group이 Alanine group보다 약간 저조하였다. 이 결과 AEP도 Alanine과 거의 마찬가지의 체내 대사율을 보이고 있음을 나타내었

유별 새풀체내에서 이울릴 수 있음을 나타내 주었다.

3. 다백질의 효율

(Table 4)에서 보는 바와 같이 각 group 모두가 실험기간 중 차차로 감소하였다. 이는 동물의 성장율이 시간이 경과함에 따라서 저하하고 있기 때문이이다. 또한 P.E.R Value가 실험기간에 따라 변한다고 한 Morrison and Campbell¹¹의 연구결과와 일치한다. 실험기간 외에

Sex Dietary Protein 량에 의해서도 P.E.R Value에 차이가 있다는 연구결과에 비교해보면 본실험에서도 Sex에 따라 차이가 있었으며 첨가한 Amino acid의 종류에 따라서도 차이가 있었다. 또한 Bander¹²⁾에 의하면 P.E.R Value는 Food Intake와 밀접한 관련이 있어 식이 섭취량이 감소하면 P.E.R Value도 감소한다고 하였다. 본 실험에서도 식이 섭취량이 많을때는 P.E.R Value가 높았고 식이 섭취량이 적을때는 P.E.R Value가 낮았다. 그러나 〈Table 4〉에서 보는바와 같이 전체 실험 기간중의 P.E.R Value의 평균치에는 유의적인 차이가 없었다. 이로서 AEP도 Alanine과 같은 보통의 일반적인 Amino acid와 별 차이없이 체내에서 대사되고 이용된다는 사실이 나타났다.

4. 노분석

① 노 질소 균형 측정

〈Table 5〉 〈Table 6〉에서 보는 바와 같이 체내 질소 보유량을 비교해보면 성별의 차이를 보여주고 있다. ♂에서는 제 1회째의 보유량이 제 2회째의 보유량보다 적었으나 ♀에서는 1회째가 2회째보다 많았다. 그러나 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 ♂ Alanine 0.1%보다 ♀ AEP 0.1%이 $P < 0.01$ 의 유의적인 차이를 나타내었다. 또한 ♀ AEP 0.2% group을 제외하고는 AEP 0.2% group이 AEP 0.1% group보다 질소 보유량이 증가되었으며 이 사실은 Alanine의 group에서와 일치되지 않은 사실이다. 그러나 통계적인 유의성은 없었다. 이 사실로 미루어보아 AEP를 식이에 많이 함유시키면 체내 이용율도 높아짐이 밝혀졌다. Letwak, et al¹²⁾에 의하면 질소 균형은 phosphorus, Calcium, 치방의 배설과는 관계가 없다고 하였다.

Table 5. Nitrogen Retention
g/day

Group	1 회	2 회
AL 0.1%	0.301±0.011	0.426±0.002
AL 0.2%	0.267±0.002	0.384±0.036
AEP 0.1%	0.282±0.019	0.384±0.011
AEP 0.2%	0.262±0.017	0.393±0.003
AL 0.1%	0.445±0.065	0.259±0.012
AL 0.2%	0.433±0.118	0.215±0.018
AEP 0.1%	0.312±0.014	0.164±0.016
AEP 0.2%	0.380±0.057	0.189±0.031

② Creatine 배설량

노중 Creatine 배설량은 〈Table 7〉에서 나타난 와 같이 통계적인 유의적인 차이는 없었지만 전반적인 경향은 AEP group이 Alanine group보다 배설량이 낮았다.

〈Table 6〉 % of Nitrogen Retention to Nitrogen Intake

Group	1 회	2 회
AL 0.1%	68.76±0.020	68.77±0.001
AL 0.2%	68.75±0.007	68.76±0.005
AEP 0.1%	68.75±0.001	68.75±0.005
AEP 0.2%	64.85±2.370	68.75±0.001
AL 0.1%	70.20±4.860	68.75±4.060
AL 0.2%	70.92±2.780	56.31±5.850
AEP 0.1%	67.05±7.590	48.85±3.550
AEP 0.2%	62.21±4.190	50.33±4.840

Creatinine 배설량은¹⁴⁾ 식사에 함유된 양과는 무관하려는 체내 muscle 내의 endogenous metabolism을 대표하는 것으로 알려져 있다. 고로 muscle mass의 endogenous metabolism의 울에 따라서 Creatinine 노중 배설량은 조절된다. 또한 Creatinine¹⁵⁾ 배설량은 기초 대사량과 관계가 있으며 기초 대사량이 저하되면 따라서 Creatinine 배설량도 저하된다. 본실험에서 보여준 결과 muscle mass의 endogenous 대사율이 AEP group이 alanine group보다 저조함을 나타내었다.

Table 7. Urinary Creatinine
mg/kg body wt. /day

Group	1 회	2 회
AL 0.1%	59.27±8.91	58.71±11.98
AL 0.2%	53.92±12.93	56.23±13.21
AEP 0.1%	47.34±11.39	50.84±10.76
AEP 0.2%	45.37±9.86	48.56±14.45
AL 0.1%	50.42±9.57	47.77±10.27
AL 0.2%	51.07±11.25	45.19±11.36
AEP 0.1%	42.28±10.69	40.34±9.55
AEP 0.2%	42.01±8.78	38.12±11.22

Table 8. Urinary Phosphorus
mg/day

Group	1 회	2 회
AL 0.1%	236.67±9.67	279.33±12.65
AL 0.2%	284.67±17.72	256.67±15.87
AEP 0.1%	264.00±11.29	280.37±7.50
AEP 0.2%	242.67±11.28	257.62±8.25
AL 0.1%	222.00±16.82	305.33±8.91
AL 0.2%	212.67±25.37	292.67±18.21
AEP 0.1%	221.00±6.28	300.33±19.09
AEP 0.2%	220.00±15.54	306.67±10.35

Table 9.

Hematology

Group	R.B.C (a)	W.B.C (b)	Hematocrit (c)	Hemoglobin (d)
AL 0.1% 송	750±58.0	10001±996.7	39.2±1.6	10.83±3.50
AL 0.2% 송	774.75±40.4	106.25±752.5	38.8±1.3	12.62±0.31
AEP 0.1% 송	645.6±54.9	12850±870.3	38.2±2.1	12.05±0.68
AEP 0.2% 송	575.3±82.4	12135±292.4	37.1±1.2	11.81±0.42
AL 0.1% 우	504.4±56.5	9600±257.1	35.4±9.3	11.50±0.83
AL 0.2% 우	622.0±56.5	9660±119.8	37.2±1.1	11.63±0.24
AEP 0.1% 우	621.1±25.7	10005±861.9	37.7±0.7	12.03±0.72
AEP 0.2% 우	605.3±28.2	8785±971.3	34.5±0.8	11.07±0.42

(a) 萬 per cu. mm

(b) per cu. mm

(c) Volume of packed red blood cells in cc per 100cc blood

(d) hemoglobin in grams per 100ml blood

③ phosphorus 배설량

〈Table 8〉에서 보는바와 같이 송에서는 제1회째에는 제2회째 완만한 증가를 나타냈으며 AL 0.2% group 은 약간의 감소를 나타냈으나 암놈에서는 제2회째가 제1회보다 급격한 증가를 나타내었다. 그러나 〈table 8〉에서 보는바와 같이 각 group 간에 유의적인 차이가 없음으로 인하여 AEP가 Alanine과 같은 다른 일반적인 Amin acid와 AEP가 dietary phosphorus의 함량이 Alanine group 보다 많은 것을 감안할 때 체내 보유량이 AEP group 쪽이 많다는 것을 알 수 있다.

5. Hematology

① R.B.C & W.B.C

〈Table 9〉에서 보여주는 바와 같이 AL 첨가 group 은 0.1%보다 0.2% group에서 높은 수치를 보여주며 AEP 첨가 group에서는 0.2% group보다 0.1% group이 높은 수치를 나타내었으며 각 group 간의 유의성은 없었다.

② Hematocrit

〈Table 9〉에서 보는 바와 같이 솟놈에서는 각 group 의 Hematocrit 값은 서로 비슷하고 우에서는 AL 0.1% group과 AEP 0.2% group이 낮은 수치를 나타냈으며 각 group 간의 유의적인 차이는 없었다.

③ Hemoglobin

〈Table 9〉에서 보여주는 바와 같이 송에서는 AL 0.1% group이 낮은 Hemoglobin 값을 나타냈으나 각 group 간의 유의적인 차이는 없었고 우에서는 서로 비슷한 수치를 나타냈으며 유의성도 없었다.

④ M.C.V. M.C.H. M.C.H.C.

〈Table 10〉에서 보여주는 바와 같이 각 group의 Mean Corpuscular Volume (M.C.V.)을 볼 때 Wintrobe, et al.⁶⁾의 쥐의 표준치인 61±4에 비하여 송에서는 AL 0.1%

0.2% group에서 낮은 수치를 보여주나 microcytic anemia의 경향은 볼 수 있으며 우에서는 AEP 0.2% group이 가장 낮으나 표준치에 근사하다고 보면 Mean Corpuscular Hemoglobin(M.C.H.)을 보면 송에서는 AL 0.1% 0.2% group이 낮은 수치를 나타냈으나 각 group 간의 유의성은 없었고 우에서는 AL 0.1% group이 가장 높았으며 AL 0.1%와 0.2% 사이에 $p<0.05$ 로 유의적이며 Wintrobe, et al.⁶⁾의 표준치인 20±2.1과 비

Table 10. M.C.V., M.C.H., M.C.H.C

group	M.C.V (cu. μ)	M.C.H (μ . Mg)	M.C.H.C (%)
AL 0.1% 송	53.1±2.9	17.7±1.0	33.1±1.4
AL 0.2% 송	50.9±2.8	16.4±0.7	32.6±0.4
AEP 0.1% 송	62.4±4.6	19.9±1.7	31.7±0.2
AEP 0.2% 송	72.0±11.1	23.2±3.3	31.8±0.3
AL 0.1% 우	71.4±3.6	23.1±1.3	32.3±0.6
AL 0.2% 우	60.4±3.3	19.1±0.6	31.6±0.4
AEP 0.1% 우	61.4±2.0	19.6±0.7	31.9±0.3
AEP 0.2% 우	57.6±2.5	18.5±0.6	32.1±0.3

Table 11. Blood phosphorus
mg/100ml serum

group	
AL 0.1% 송	524.67±46.49
AL 0.2% 송	533.33±54.75
AEP 0.1% 송	501.48±70.75
AEP 0.2% 송	605.14±49.28
AL 0.1% 우	417.33±21.12
AL 0.2% 우	596.00±107.74
AEP 0.1% 우	758.000±32.66
AEP 0.2% 우	664.67±28.04

Table 12.

Organs weight

Group	Liver (g)	Heart (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Sex Organs (g)	Adrenals (g)
AL 0.1% ♂	11.08±0.74	1.018±0.03	2.349±0.272	0.808±0.042	2.311±0.184	0.0404±0.0190
AL 0.2% ♂	10.25±0.52	1.091±0.21	2.088±0.113	0.989±0.168	2.338±0.108	0.0518±0.0063
AEP 0.1% ♂	11.08±0.53	1.012±0.04	2.155±0.074	0.978±0.372	2.235±0.101	0.0469±0.0055
AEP 0.2% ♂	9.26±0.50	1.136±0.057	2.150±0.099	1.130±0.169	2.396±0.112	0.0485±0.0057
AL 0.1% ♀	8.04±0.57	0.831±0.27	1.643±0.159	0.760±0.076	0.806 ± 0.706	0.0506±0.0261
AL 0.2% ♀	7.96±0.21	0.811±0.02	1.673±0.085	0.676±0.075	0.786±0.035	0.0598±0.0130
AEP 0.1% ♀	7.71±0.06	0.788±0.03	1.664±0.057	0.690±0.070	0.895±0.0069	0.0631±0.0089
AEP 0.2% ♀	7.96±0.03	0.753±0.03	1.582±0.064	0.681±0.049	0.646±0.0181	0.0697±0.0067

교하여 거의 비슷한 수치를 나타냈으며 Mean Corpuscular Concentration (M.C.H.C)는 모든 group ← 서로 비슷한 수치를 나타냈으며 유의성도 없었고 Wintrobe, et, al¹⁶의 쥐의 표준치인 33±2.3%와 비교할 때 ♂ AL 0.1% group 을 제외하고는 약간 낮은 수치를 보여 주었으나 근사하다고 본다.

⑤ Blood phosphorus

<Table 11>에서 볼 수 있는 바와 같이 AL 0.1% group 보다 AEP 0.1% group 이 $p<0.01$ 로 유의적이었다. AEP 의 첨가로 dietary phosphorus 의 함량이 높아졌는데도 불구하고 Urinary phosphorus 의 함량이 차이가 없었으므로 보아 체내 phosphorus 함량이 AEP group 에 높다는 것을 알 수 있다. 이 견해와 blood phosphorus 의 함량이 일치한다는 것을 알 수 있다.

6. 최종 Organ weight

Huxley¹⁶는 여러 동물에서 Organs 의 Growth 는 신체의 Growth 와 비례한다고 하였다. 또한 Webster and Diljegren¹⁷은 Guinea pigs 에서 몸무게가 증가함에 따라 Liver, kidneys, Lungs, Heart, Spleen 의 무게도 증가함을 발견하였다. Easton¹⁸는 Guinea pigs 에서 Liver 와 Lungs 는 몸무게에 따라 변화하지만 Heart, Spleen, Kidneys Adrenals, testes 는 몸무게에 관계없이 무게가 같았다고 하였다. <Table 12>에서 보는 바와 같이 본실험에서는 Liver, Heart, Kidneys, Sex organs, Spleen, Adrenals 각 장기에서 비록 ♂ AEP 0.1% 와 0.2% group 사이에 Liver 와 Heart 만이 $p<0.05$ 로 유의적으로 나타났으나 0.1% 와 0.2% group 을 비교함에 있어 모든 group 이 0.2% 가 열등함을 보여주었다. 이것으로 0.2% diet 에서 amino acid 의 장내 흡수시 imbalanced condition 을 초래하여 체내 Amino acid 대사를 저하시킨 것으로 나타났다.

7. Femur length

<Table 13>에서 보는 바와 같이 femur 길이는 0.1% group 이 0.2% group 보다 우세하지만 유의적인 차이

는 없었다.

Table 13. Femur length

단위 cm

Group	
AL 0.1% ♂	4.0±0.21
AL 0.2% ♂	3.97±0.048
AEP 0.1% ♂	4.13±0.064
AEP 0.2% ♂	4.04±0.049
AL 0.1% ♀	3.78±0.056
AL 0.2% ♀	3.58±0.09
AEP 0.1% ♀	3.62±0.08
AEP 0.2% ♀	3.56±0.07

8. Liver fat

<Table 13>에서 보는 바와 같이 ♂ group 에 있어서 Alanine 첨가 group 보다는 AEP group 이 지방 함량이 높으며 AEP group 중에서는 0.2% group 이 더 높았다. 우유의 분유중에서도 2-aminoethylphosphonic acid 가 발견되었고 이화합물이 쥐의 소화기관을 통하여 흡수되고 체내에서 phospholipids 와 서로 작용된다는 사실이 밝혀졌다¹⁹. 이 사실에 비추어 보아 AEP 가 간의 지방 함량에 관여하며 조직검사 결과로 간조직에서 어떠한 fat

Table 14. Liver fat

mg/day weight

Group	
AL 0.1% ♂	116.6±8.2
AL 0.2% ♂	135.4±8.1
AEP 0.1% ♂	135.1±6.8
AEP 0.2% ♂	159.0±3.6
AL 0.1% ♀	147.2±6.9
AL 0.2% ♀	159.2±5.1
AEP 0.1% ♀	133.8±4.9
AEP 0.2% ♀	158.5±5.0

lumps 도 발견되지 않았음으로 fatty liver 를 형성하는 요인은 되지 않는다고 본다.

9. Liver Nitrogen

<table 14>에서 보는바와 이 AEP 첨가 group 사이에서 0.2% group 이 0.1% 보다 현저히 많은 Nitrogen 을 간에 보유하고 있으며 AL 0.1% group 보다 AEP 0.1% group 이 유의적으로 많은 양을 간에 함유하고 있었다. 이는 AEP 의 첨가로 Liver Nitrogen 함량을 간에 보유하고 있으며 AL 0.1% group 보다 AEP 0.1% group 이 유의적으로 많은 양을 간에 함유하고 있었다. 이는 AEP 의 첨가로 Liver Nitrogen 함량을 높일 수 있다는 결론을 얻을 수 있으며 1968년 이화여자 대학교 식품영양학과에서 3일간 AEP 를 첨가함으로서 체내 질소 보유량을 증가시켰다는 보고와 일치된다.

Table 15. Liver Nitrogen

group	질소량 mg/g dry weight
AL 0.1% 송	100.4±4.0
AL 0.2% 송	99.0±2.9
AEP 0.1% 송	90.3±1.9
AEP 0.2% 송	98.6±3.7
AL 0.1% 우	102.8±2.8
AL 0.2% 우	101.8±2.8
AEP 0.1% 우	104.0±3.4
AEP 0.2% 우	106.5±1.8

10. 조직검사

각장기 즉 liver, lung, heart, kidney adrenal sexorgan, spleen 을 해부직후 조직검사용으로 일부를 보존하였다가 통상적인 조직검사 방법인 H.A. stain 法으로 조직검사를 해본 결과 모든 쥐에서 뚜렷하고 의의있는 조직의 변화는 없었다.

4. 요 약

생후 40±5일된 젖벌어진 Albino Rat 우송 각자 30마리를 크게 Alanine(AL)과 Aminoethylphosphonic acid(AEP) group 으로 나누고 각 group 을 다시 각자 2 group 으로 나누어 송우 Alanine 0.1%, 송우 Alanine 0.2%와 송우 AEP 0.1%, 송우 AEP 0.2% 合 8 group 으로 나누어 14주동안 실험한 결과의 요약은 다음과 같다. 단백질 효율과 노중 질소배설량에 어떤 유의적인 차이가 없음으로 AEP도 다른 일반적인 Amino acid 와 같은 정도로 체내에서 이용됨을 알 수 있다. AEP의 첨가로 인한 p의 이용률의 변화 유무를 판정하기 위하여 노중 p의 함량을 측정한 결과 모든 group 사이에 유의성이 없었음으로 alanine 첨가 group 에서나 AEP 첨

가 group 에서나 같은 정도로 체내에서 이용됨을 알 수 있으나 AEP의 첨가로 인한 Dietary Phosphorus 함량이 높음으로 인하여 체내 보유량이 많다는 것을 알 수 있으며 이는 blood phosphorus 함량측정을 해본 결과와 일치함을 알 수 있다. 간질소 함량을 측정하여 본 결과 AEP 첨가가 간질소 함량을 높일 수 있으며 0.2%쪽이 더 많은 양을 간에 보유할 수 있다는 것을 알았다. 간지방 함량도 간질소 함량과 같은 방향으로 나타났으며 조직검사로 fat lumps 를 발견할 수 없었으므로 AEP 첨가가 fatty liver 의 요인이 될 수 없다는 것을 알 수 있다. Amino acid의 생물학적 가치와 Amino acid의 조성사이에는 현저한 관계가 있어 양적으로 충분한 단백질을 섭취한다 하더라도 섭취한 단백질이 함유하고 있는 Amino acid의 종류 및 각종 Amino acid의 비율에 따라서 소화에 현저한 차이가 있어 생물학적 기능이 다르다는 것이 Oser 와 그의 여러 학자들에 의하여 보고되었다^{7,8,9,10)}. 6] 보고에 비추어 보아 0.2% diet 에서 Amino acid의 장내 흡수시 imbalanced condition 을 초래한 것으로 본다.

参 考 文 献

- Chambers, J.R., and A.F. Isbell, *J. Org. Chem.*, 29:832 (1964).
- Hawk, P. B., B.L. Oser and W. H. Summerson *Practical Physiological Chemistry*, New York, McGraw-Hill Book Co., (1965) pp 1219-1220.
- Ibid., pp 1234-1235.
- Ibid., pp 1258-1259.
- 日本東京大學 農學部 農藝化學教室, 農藝化學 下卷 朝倉書店 (1960) pp 122-124.
- Winstrobe, M.M., *Clinical Hematology*, Philadelphia, Leb & Febiger, (1957)
- Oser, B.L., *Protein and Amino acid Nutrition*, New York, Academic Press (1959)
- Richert, D.A., and W.W. Westerfield, *J. Nutr.*, 86:17 (1965)
- Tomavelli, R.M., and F.W. Bernhart, *J. Nutr.*, 78:44 (1962)
- R.P. Abernathy and Josephine Miller, *J. Nutr.*, 86:231 (1965)
- Morrison, A.B. and J.A. Cample, *J. Nutr.*, 70: 112 (1960)
- Bander, A.E., *Brit. J. Nutr.*, 10:135 (1956)
- Lutwak, L.L. Laster, H.J. Gitelman, M. Fox and G.D. Whedon, *Am. J. Chin. Nutr.*, 14:76

(1964)

- 14) Albanese, Anthomy. A. Protein and Amino acid Nutritious, *academic press*, (1959)
- 15) Myers, V.C. and Fine, M.S., *J. Biol. Chem.* 14: 9 (1913)
- 16) Luxley, J.S., *Nature*, 114:895 (1924)
- 17) Webster, S.H. and E.J. Liljegren, *Am. J. Anat.*, 85:199 (1949)
- 18) Eaton, O.N., *Am. J. Hnat.*, 63:273 (1938)
- 19) Kandatsu, M.M. Tamari, and M. Horiguchi, *Ann. Meeting Agric. Chem. Soc. Japan*, 40 (1964)
- 20) Rosenberg, H., Chi-Rong Liang and Julia M. Lau, Nauze, *Abstr. 7th. Intr'l. Congress of Biochem.*, 451 (1967)