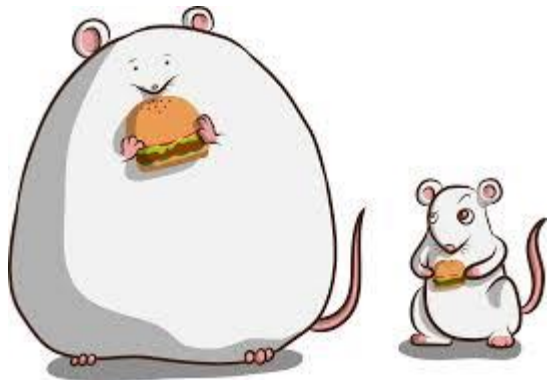


## Chapter 2.

# Experimental Design for Animal Studies



이혜련



인제대학교  
INJE UNIVERSITY

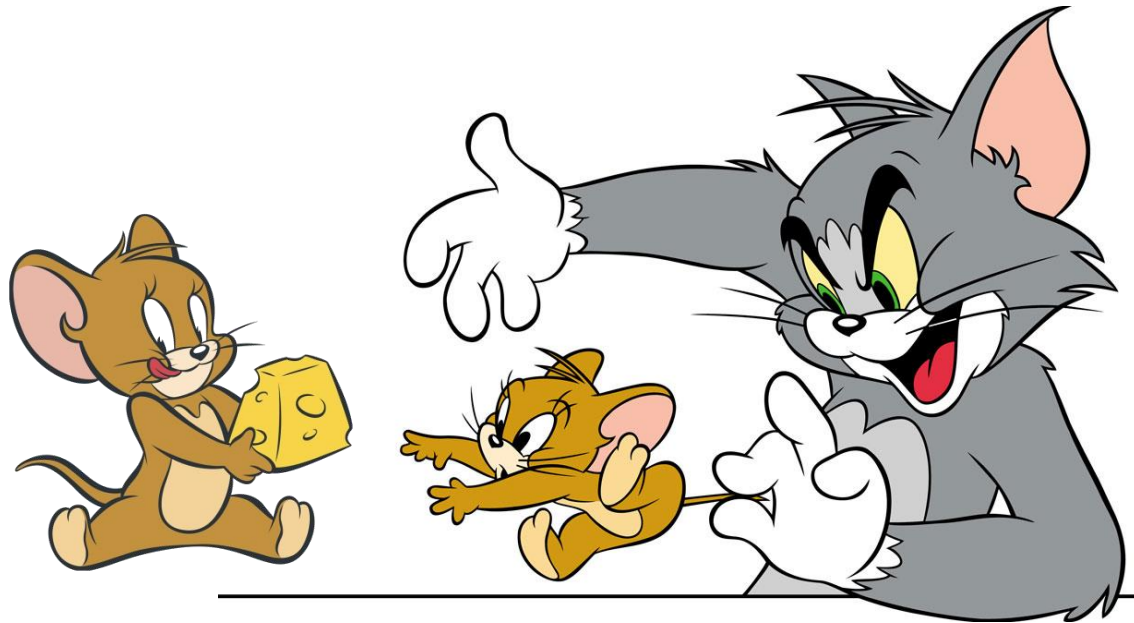
# 목 차

1. 영양과 영양소
2. 실험동물 사료
3. 실험동물 정제 사료
4. 실험동물 디자인/paper
5. 실험동물 사료 조제
  - 1) 실험의 목적 및 원리
  - 2) 재료, 기구 및 장치
  - 3) 실험방법
  - 4) 결과



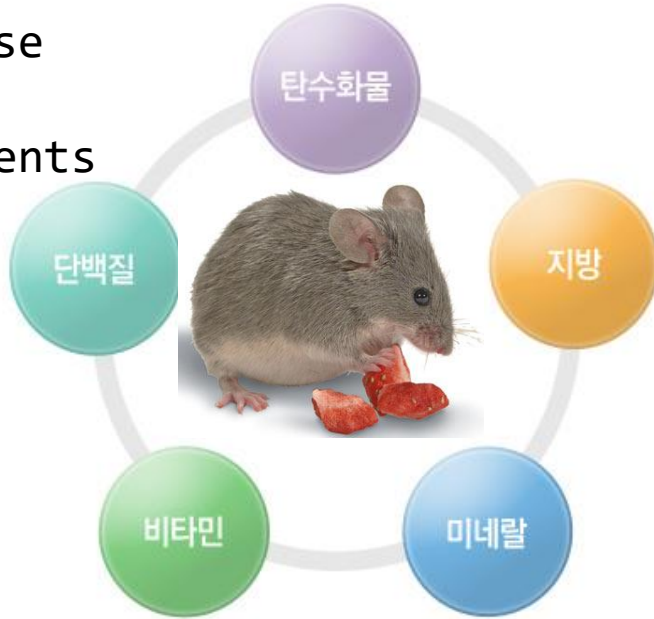
# 영양과 영양소

- 동물의 연령과 성별, 육체활동 등 여러 요인에 따라 다름
- 재현성 있는 실험결과- 일정한 조성의 사료 공급
- 실험동물의 사료는 적절한 영양소, 동물의 식성, 기호성 고려



# 영양과 영양소

Rat/Mouse  
Food  
Ingredients



## ● 영양(Nutrition)

- 동물이 개체 유지, 성장 및 번식 활동을 하는데 필요한 물질을 이용 과정
- 사료의 섭취, 소화, 흡수 및 세포내에서 일어나는 성분의 합성 및 분해작용

## ● 영양소(Nutrient)

- 영양작용을 수행하기 위하여 동물이 섭취해야 할 사료 내 화학적 성분

# 영양과 영양소

1

## 수분 (water)

- ① 동물체는 2/3가 물로 구성되어 있으므로, 생명유지에 불가결한 요소
- ② 동물의 영양섭취, 순환, 배설의 매개가 되며,
- ③ 각종의 생체 내 반응을 원활히 하고
- ④ 체온조절에 관여하는 등  
동물의 생리작용을 영위하는데 필수
- ⑤ 물의 필요량은  
대개 사료 전체 분량의 **2~10배** 정도로 계산한다.



## 2

## 단백질(Protein)

### ① 필수아미노산 (사료로 공급)

- Arginine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, Methionine, Phenylalanine, Threonine, Tryptophan, Valine

### ② 단백질 사료 : 필수 아미노산이 NRC 사양표준에 따라 비율적으로 존재해야 함

### ③ 채식동물(토끼)- 동물성 단백질원 혼합



| 포화지방( Saturated oil)                                                                     | 불포화지방( Unsaturated oil)                                                                                     |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• 단일결합</li> <li>• 안정된 구조로 인해 실온에서 고체상태</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 이중결합</li> <li>• 유동적인 구조로 실온에서 액체상태</li> </ul>                      |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• 안정적, 산화에 강함</li> </ul>                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 불안정한 구조로 산화가 잘됨, 산패 쉬움</li> <li>• 반드시 밀폐, 저온 저장 (보관 주의)</li> </ul> |



## 4

## 탄수화물(Carbohydrate)

① 세포 내 주요 에너지원, 특히 **뇌와 신경조직에서 유일한 에너지 원**

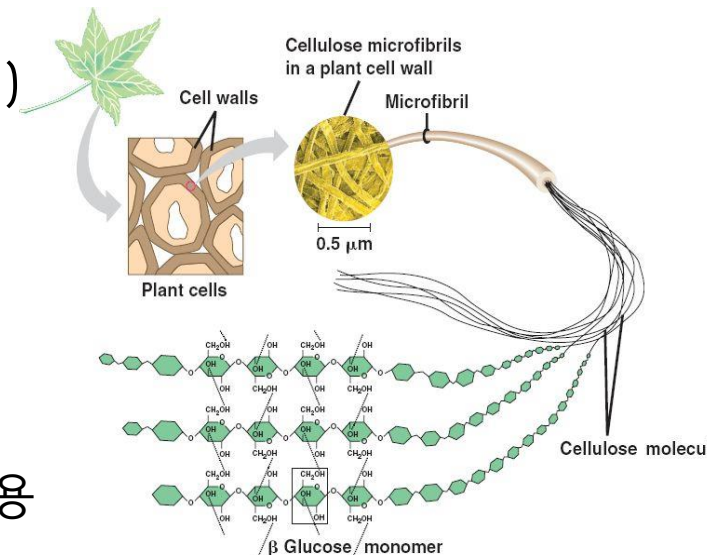
② 종류

- glucose, fructose, galactose 등 (단당류)
- sucrose, lactose, maltose 등 (이당류)
- starch, cellulose

③ Glucose-동물체에서 주요 에너지원(=dextrose)

④ Cellulose

- 포만감 증진
- 소화물이 소화관을 쉽게 이동하게 하며
- 대장에서 박테리아 등에 의해 분해되어 체내에 이용

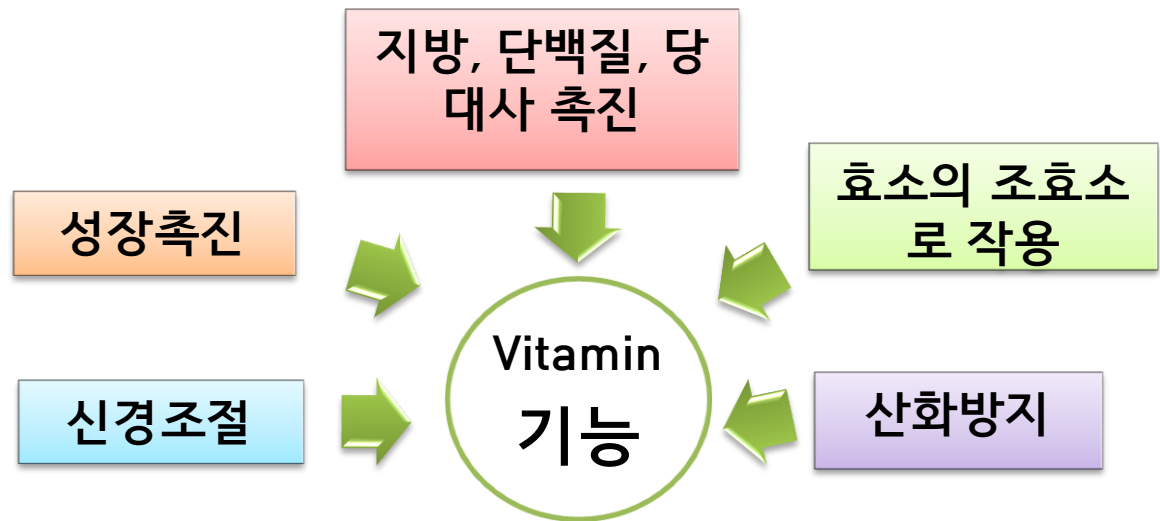




5

## 비타민(vitamin)

- ① 역할: 탄수화물, 지방, 단백질의 대사과정 및 새로운 체조직을 합성하는데 조절 물질



② 지용성 비타민 : A,D,E,K

③ 수용성 비타민 : C, B 복합체

- 비타민 B<sub>1</sub> : thiamine
- 비타민 B<sub>2</sub> : riboflavin, 비타민 G
- 비타민 B<sub>3</sub> : niacin
- 비타민 B<sub>4</sub> : adenine
- 비타민 B<sub>5</sub> : pantothenic acid
- 비타민 B<sub>6</sub> : pyridoxine
- 비타민 B<sub>7</sub> : biotin, 비타민 H
- 비타민 B<sub>9</sub> : folic acid, 비타민 M
- 비타민 B<sub>12</sub> : cobalamin
- Vit.C : 유인원, 기니피그에서는 반드시 사료로 통해 급여

## 6 미네랄(Mineral)

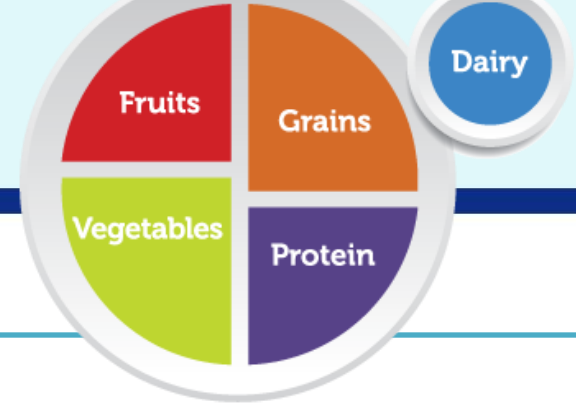
- ① 영양소 대사과정에 필요 , 효소, 호르몬 및 전신의 세포와 조직의 필수 구성 요소
- ② 체내에서 합성 되지 않기 때문에 반드시 사료로 공급
- ③ 다량 미네랄: Ca, P, K, Mg, S 등



## 에너지(energy)

- ① 체내에서 탄수화물, 지방, 단백질이 주요한 에너지원으로 사용
- ② 동물이 필요로 하는 에너지는 **동물의 크기, 연령, 성, 활동성, 환경, 호르몬, 성장, 임신, 비유** 등에 따라 달라진다.

# 실험동물 사료



## 사양표준(feeding standard )

- 가축에게 사료를 과부족 없이 급여하기 위하여 가축의 상태에 알맞은 양분 요구량을 나타낸 기준
- 영양소 요구량에 영향을 미치는 동물의 종류와 상태, 성장 단계 등의 요인에 맞추어 공급 정도를 결정해놓은 기준

## NRC 사양표준

- 미국 국립 연구회의(National Research Council)의 가축영양위원회에서 제정
- 1944년에 모든 가축에 대한 영양소의 급여 적량 발표했으며,
- 이후 정기적으로 개정, 발행하고 있는 사양 표준의 하나
- 가축의 최소 영양소 요구량을 가장 과학적으로 설정
- 가장 보편적으로 이용

# 실험동물 사료



## 1) 일반사료

- 정제되지 않은 식물 및 동물성 원료를 실험동물의 영양 요구량에 맞추어 제조
- 일반사료의 문제점
  - 구성성분의 불균질성, 화학 구성 성분 다양
  - 곡류 -성장 토양에 따라 미네랄 구성 성분 다양
  - 어분-고기종류 및 처리과정에 따라 조성 다양

### Dietary Ingredient Composition (% by Weight)

### NIH-31 Modified Auto

|                          |       |                        |      |                     |      |
|--------------------------|-------|------------------------|------|---------------------|------|
| Ground No. 2 Yellow Corn | 20.00 | Soybean Meal (47.5%)   | 5.00 | Dicalcium Phosphate | 1.50 |
| Ground Whole Wheat       | 35.17 | Soybean Oil            | 2.50 | Limestone           | 0.50 |
| Ground Whole Oats        | 10.00 | Alfalfa Meal (17%)     | 2.00 | Salt                | 0.50 |
| Wheat Middlings          | 10.00 | Corn Gluten Meal (60%) | 2.00 | Premixes            | 0.63 |
| Fish Meal (60%)          | 9.00  | Brewers Dried Yeast    | 1.00 | Lysine              | 0.10 |
|                          |       |                        |      | dl-Methionine       | 0.10 |

# 실험동물 사료

## 2) 정제사료

- 단백질, 지방 및 탄수화물을 주성분으로, 정제된 원료성분을 이용하여 배합한 사료
- 미국 영양학회(AIN, American Institute of Nutrition)
  - 실험용 사료의 용어 및 분류를 통하여 실험사료의 표준화 작업 실시
  - AIN-76, AIN-93 정제사료
- casein(단백질), starch(탄수화물) 및 cellulose(섬유소) 등과 같은 원료 사용

## 3) 화학적 정제사료

- 순도가 우수한 정제된 영양소를 이용하여 배합한 사료
- 아미노산(단백질), 단당류, 이당류(탄수화물), 중성지방, 지방산(지방) 사용
- 오염배제, 성분의 정확성 및 사료 균질성을 높임
- 값이 매우 비싸다





## 4) Food intake 종류

### 1) Ad libitum feeding

- 임의적으로 사료를 자유롭게 섭취하게 하는 것.
- 식이를 일정하게 먹지 않아 실험결과에 영향을 주기도 함

### 2) Pair-feeding

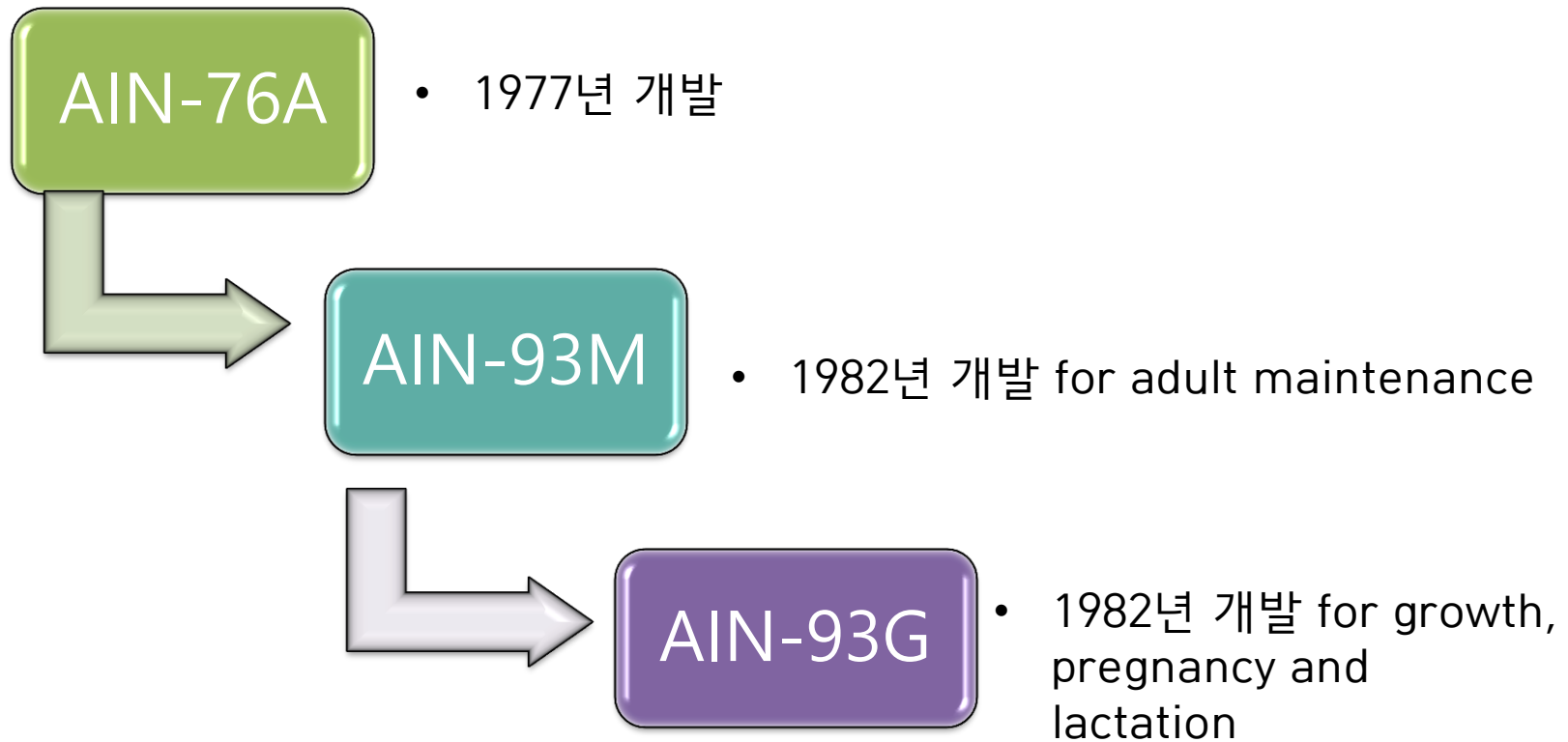
- 먹는 양을 똑같이 조정해서 섭취하게 하는 방법

### 3) Pair-weighted feeding

- 체중이 똑같이 되도록 조정해서 섭취하게 하는 방법
- 체중관련 실험에서 사용

# 실험동물 사료

- 미국 영양학회(AIN, American Institute of Nutrition)



# Purified Rodent Diet AIN-76A

## Dietary Ingredient Composition (% by Weight)

|                |       |                           |      |                       |      |
|----------------|-------|---------------------------|------|-----------------------|------|
| Granular Sugar | 50.00 | Corn Oil                  | 5.00 | AIN-76 Vitamin Mix    | 1.00 |
| Casein Lactic  | 20.00 | Solka Floc-40 * Cellulose | 5.00 | <u>DL- Methionine</u> | 0.30 |
| Corn Starch    | 15.00 | AIN-76 Mineral Mix        | 3.50 | Choline Bitartrate    | 0.20 |

| Amino acid    | Milk Casein (%) |
|---------------|-----------------|
| Aspartic Acid | 6.7             |
| Threonine     | 4.3             |
| Serine        | 5.6             |
| Glutamic Acid | 19.8            |
| Proline       | 10.8            |
| Glycine       | 1.8             |
| Alanine       | 2.9             |
| Valine        | 6.3             |
| Cysteine      | 0.3             |
| Methionine    | 2.6             |
| Isoleucine    | 5.1             |
| Leucine       | 8.9             |
| Tyrosine      | 5.4             |
| Phenylalanine | 4.9             |
| Lysine        | 8.2             |
| Histidine     | 2.7             |
| Arginine      | 3.5             |
| Tryptophane   | ND              |

### ● casein의 장점 및 단점

- amino acid 구성이 적당
- 손쉽게 구할 수 있음
- 가격저렴
- 황함유아미노산이 부족하여 따로 첨가
- 미네랄 중 P의 함량이 많음

# Purified Rodent Diet AIN-76A

## ● AIN-76 Mineral mix

- $P > Ca$  : 뼈에 있는 Ca 배출,
- $Ca:P=1:1$  맞춰서 조절되어 있음



## ● AIN-76 Vitamin mix

- 특히, riboflavin (Vit. B<sub>2</sub>)은 쉽게 산화되기 때문에 식이는 어둡고 시원한 곳에 저장

### Guaranteed Analysis

|               |         |       |
|---------------|---------|-------|
| Crude Protein | Minimum | 16.0% |
| Crude Fat     | Minimum | 5.0%  |
| Crude Fiber   | Maximum | 5.0%  |
| Ash           | Maximum | 4.0%  |

# Purified Rodent Diet AIN-76A

## Calculated Nutrient Composition

| Amino Acid Concentration (% of total diet) |      | Mineral Concentration |           | Vitamin Concentration  |         | 1IU=0.3 $\mu$ g |
|--------------------------------------------|------|-----------------------|-----------|------------------------|---------|-----------------|
| Arginine                                   | 0.70 | Calcium               | % 0.52    | Vitamin A              | IU/g    | 4.00            |
| Lysine                                     | 1.48 | Phosphorous           | % 0.44    | Vitamin D <sub>3</sub> | IU/g    | 1.00            |
| Methionine                                 | 0.86 | Potassium             | % 0.38    | Alpha-Tocopherol       | IU/kg   | 64.24           |
| Cystine                                    | 0.06 | Sodium                | % 0.11    | Thiamine               | ppm     | 5.90            |
| Tryptophan                                 | 0.21 | Magnesium             | % 0.05    | Riboflavin             | ppm     | 6.29            |
| Histidine                                  | 0.52 | Iron                  | ppm 34.25 | Niacin                 | ppm     | 30.15           |
| Leucine                                    | 1.76 | Zinc                  | ppm 36.75 | Pantothenic Acid       | ppm     | 15.26           |
| Isoleucine                                 | 1.14 | Manganese             | ppm 59.34 | Choline                | ppm     | 1040.00         |
| Phenylalanine                              | 0.96 | Copper                | ppm 6.73  | Pyrodoxine             | ppm     | 7.12            |
| Tyrosine                                   | 0.98 | Cobalt                | ppm 0.02  | Folic Acid             | ppm     | 2.10            |
| Threonine                                  | 0.78 | Iodine                | ppm 0.21  | Biotin                 | ppm     | 0.21            |
| Valine                                     | 1.34 |                       |           | Vitamin B12            | Mcg/kg  | 10.10           |
|                                            |      |                       |           | Vitamin K              | ppm     | 0.50            |
|                                            |      |                       |           | Gross Energy           | Kcal/gm | 4.34            |

# Purified Rodent Diet AIN-93M

## Dietary Ingredient Composition (% by Weight)

|                    |       |                |      |                    |      |
|--------------------|-------|----------------|------|--------------------|------|
| Corn Starch        | 46.75 | Granular Sugar | 5.00 | AIN-93 Mineral Mix | 0.30 |
| Casein Lactic      | 14.00 | Solka Floc-40  | 3.50 | L- Cystine         | 0.25 |
| Dextrin            | 15.50 | Soy Oil        | 1.00 | Choline Bitartrate | 7.00 |
| AIN-93 Vitamin Mix | 1.00  |                |      |                    |      |

- Values as percent (%) by weight of total fat.

| Type    | Linolenic acid<br>( $\omega$ -3) | Linoleic acid<br>( $\omega$ -6) |
|---------|----------------------------------|---------------------------------|
| Corn    | 1                                | 58                              |
| Soybean | 7                                | 50                              |

## Guaranteed Analysis

|               |         |       |
|---------------|---------|-------|
| Crude Protein | Minimum | 12.6% |
| Crude Fat     | Minimum | 4.0%  |
| Crude Fiber   | Maximum | 4.8%  |
| Moisture      | Maximum | 7.0%  |
| Ash           | Maximum | 3.9%  |

# Purified Rodent Diet AIN-93M

## Calculated Nutrient Composition

### Amino Acid Concentration (% of total diet)

|               |      |
|---------------|------|
| Arginine      | 0.48 |
| Lysine        | 0.92 |
| Methionine    | 0.33 |
| Cystine       | 0.24 |
| Tryptophan    | 0.16 |
| Histidine     | 0.33 |
| Leucine       | 1.09 |
| Isoleucine    | 0.59 |
| Phenylalanine | 0.62 |
| Tyrosine      | 0.66 |
| Threonine     | 0.47 |
| Valine        | 0.70 |

### Mineral Concentration

|             |     |       |
|-------------|-----|-------|
| Calcium     | %   | 0.52  |
| Phosphorous | %   | 0.23  |
| Potassium   | %   | 0.38  |
| Sodium      | %   | 0.11  |
| Magnesium   | %   | 0.05  |
| Iron        | ppm | 34.25 |
| Zinc        | ppm | 36.76 |
| Manganese   | ppm | 11.09 |
| Copper      | ppm | 6.73  |
| Cobalt      | ppm | 0.02  |
| Iodine      | ppm | 0.21  |

### Vitamin Concentration

|                        |        |         |
|------------------------|--------|---------|
| Vitamin A              | IU/g   | 4.00    |
| Vitamin D <sub>3</sub> | IU/g   | 1.00    |
| Alpha-Tocopherol       | IU/kg  | 75.00   |
| Thiamine               | ppm    | 5.00    |
| Riboflavin             | ppm    | 6.00    |
| Niacin                 | ppm    | 30.00   |
| Pantothenic Acid       | ppm    | 15.00   |
| Choline                | ppm    | 1000.00 |
| Pyrodoxine             | ppm    | 6.00    |
| Folic Acid             | ppm    | 2.00    |
| Biotin                 | ppm    | 0.20    |
| Vitamin B12            | Mcg/kg | 25.00   |
| Vitamin K              | ppm    | 0.86    |

Gross Energy Kcal/gm 3.60

# Purified Rodent Diet AIN-93G

## Dietary Ingredient Composition (% by Weight)

|                |       |                    |      |                    |      |
|----------------|-------|--------------------|------|--------------------|------|
| Corn Sugar     | 39.75 | Solka Floc-40      | 5.00 | L-Cystine          | 0.30 |
| Casein Lactic  | 20.00 | AIN-93 Mineral Mix | 3.50 | Choline Bitartrate | 0.25 |
| Granular Sugar | 10.00 | AIN-93 Vitamin Mix | 1.00 | Soy Oil            | 7.00 |
| Dextrin        | 13.20 |                    |      |                    |      |

## Guaranteed Analysis

|               |         |       |
|---------------|---------|-------|
| Crude Protein | Minimum | 17.9% |
| Crude Fat     | Minimum | 7.0%  |
| Crude Fiber   | Maximum | 4.8%  |
| Moisture      | Maximum | 7.0%  |
| Ash           | Maximum | 4.2%  |



# Purified Rodent Diet AIN-93G

## Calculated Nutrient Composition

### Amino Acid Concentration (% of total diet)

|               |      |
|---------------|------|
| Arginine      | 0.70 |
| Lysine        | 1.48 |
| Methionine    | 0.56 |
| Cystine       | 0.30 |
| Tryptophan    | 0.21 |
| Histidine     | 0.51 |
| Leucine       | 1.76 |
| Isoleucine    | 1.14 |
| Phenylalanine | 0.96 |
| Tyrosine      | 0.98 |
| Threonine     | 0.76 |
| Valine        | 1.00 |

### Mineral Concentration

|             |     |       |
|-------------|-----|-------|
| Calcium     | %   | 0.52  |
| Phosphorous | %   | 0.20  |
| Potassium   | %   | 0.38  |
| Sodium      | %   | 0.11  |
| Magnesium   | %   | 0.05  |
| Iron        | ppm | 52.02 |
| Zinc        | ppm | 36.76 |
| Manganese   | ppm | 11.33 |
| Copper      | ppm | 6.73  |
| Cobalt      | ppm | 0.02  |
| Iodine      | ppm | 0.21  |

### Vitamin Concentration

|                        |        |         |
|------------------------|--------|---------|
| Vitamin A              | IU/g   | 4.00    |
| Vitamin D <sub>3</sub> | IU/g   | 1.00    |
| Alpha-Tocopherol       | IU/kg  | 75.00   |
| Thiamine               | ppm    | 5.00    |
| Riboflavin             | ppm    | 6.00    |
| Niacin                 | ppm    | 30.00   |
| Pantothenic Acid       | ppm    | 15.00   |
| Choline                | ppm    | 1000.00 |
| Pyrodoxine             | ppm    | 6.00    |
| Folic Acid             | ppm    | 2.00    |
| Biotin                 | ppm    | 0.20    |
| Vitamin B12            | Mcg/kg | 25.00   |
| Vitamin K              | ppm    | 0.90    |

|              |         |      |
|--------------|---------|------|
| Gross Energy | Kcal/gm | 3.80 |
|--------------|---------|------|

# 실험동물 정제 사료

## < AIN 76A diet 와 93G diet의 차이점 >

- ① 76A의 corn Oil이 93G에는 soy Oil로 대체
- ② 93G의 linolenic acid가 증가  
→ 필수지방산, 혈중 콜레스테롤을 저하, 혈관 염증 지표 물질 감소
- ③ 76A의 corn starch가 sugar로 대체  
dextrin 추가
- ④ 76A의 methionine → cystine으로 대체
- ⑤ Mineral mix의 함량 변화 → Mn 양이 감소, Fe 증가
- ⑥ Vitamin의 함량 변화 → E, K, B<sub>12</sub>(cobalamin)의 양이 증가

독립변수 (independent variable)

**청국장**이 고지방-고콜레스테롤식을 급여한 흰쥐에서 **체중감소**  
및 **콜레스테롤 저하효과**

종속변수

김아라<sup>1</sup> · 이재준<sup>1</sup> · 이 환<sup>1</sup> · 장해춘<sup>1</sup> · 이명렬<sup>1†</sup> (dependent variable)

<sup>1</sup>조선대학교 식품영양학과

Body-Weight-Loss and Cholesterol-Lowering Effects of  
*Cheonggukjang* (a Fermented Soybean Paste) Given to Rats Fed a  
High-Fat/High-Cholesterol Diet

Ah-Ra Kim<sup>1</sup>, Jae-Joon Lee<sup>1</sup>, Hwan Lee<sup>1</sup>, Hae-Choon Chang<sup>1</sup> and Myung-Yul Lee<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

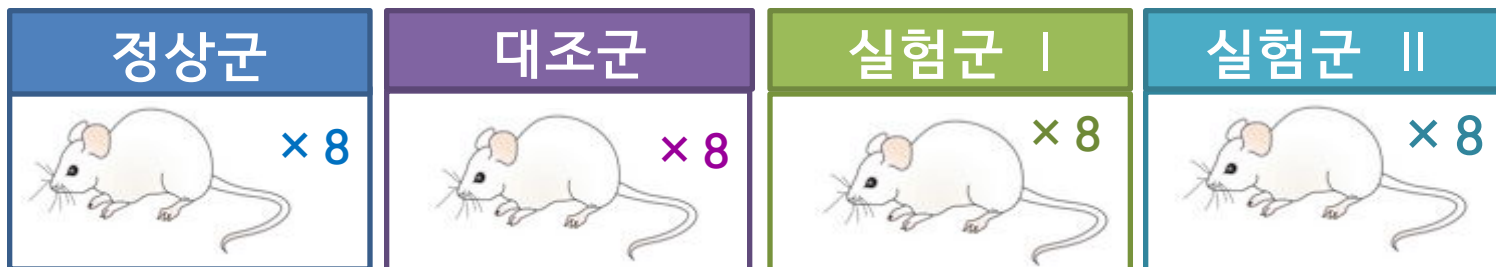
# 실험동물 디자인 /paper



Sprague-Dawley Rat (5주령 , 205 g)



일반 사료(1 week, 환경 적응)



1마리씩 ,4 week



- 온도  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $65 \pm 5\%$ ,
- 명암 12hr(09:00~21:00)주기로 조절,
- 물과 사료는 ad libitum으로 급여

# 실험동물 디자인 /paper

Table 2. Composition of the experimental diet fed in rats

(g/kg diet)

| Diet composition                | Groups <sup>1)</sup> |       |         |         |
|---------------------------------|----------------------|-------|---------|---------|
|                                 | ND                   | HFC   | HFC-SCK | HFC-CCK |
| Corn starch                     | 485.0                | 395.0 | 353.9   | 344.7   |
| Sucrose                         | 100.0                | 100.0 | 100.0   | 100.0   |
| Casein                          | 200.0                | 200.0 | 100.0   | 100.0   |
| DL-cystine                      | 3.0                  | 3.0   | 3.0     | 3.0     |
| Soybean oil                     | 100.0                | 200.0 | 162.3   | 156.2   |
| Cellulose powder                | 50.0                 | 50.0  | 21.0    | 16.1    |
| Vitamin mixture <sup>2)</sup>   | 10.0                 | 10.0  | 10.0    | 10.0    |
| Mineral mixture <sup>2)</sup>   | 35.0                 | 35.0  | 35.0    | 35.0    |
| Choline bitartrate              | 2.0                  | 2.0   | 2.0     | 2.0     |
| Cholesterol                     | 10.0                 | 10.0  | 10.0    | 10.0    |
| DJI <i>Cheonggukjang</i>        | -                    | -     | 202.8   | -       |
| Commercial <i>Cheonggukjang</i> | -                    | -     | -       | 223.0   |

<sup>1)</sup>The Experimental diet groups are as follow; ND: normal diet, HFC: high fat- high cholesterol diet, HFC-SCK: high fat-high cholesterol diet + DJI Chungkukjang, HFC-CCK: high fat-high cholesterol diet + Commercial *Chungkukjang*

<sup>2)</sup>Based on AIN-93-MX vitamin mixture and AIN-93-VX mineral mixture.

정상군(ND)



대조군 (HFC)



실험군 (HFC-SCK, HFC-CCK)



# 실험동물 디자인 /paper

## 1) 체중 증가량, 식이섭취량 및 식이효율

Table 3. Body weight gain, food intake and feed efficiency ratio in rats fed experimental diets

| Groups <sup>1)</sup> | Body weight gain (g/day) | Food intake (g/day)     | FER <sup>2)</sup>      |
|----------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|
| ND                   | 4.52±0.22 <sup>c3)</sup> | 23.50±2.42 <sup>a</sup> | 0.19±0.01 <sup>b</sup> |
| HFC                  | 5.94±0.39 <sup>a</sup>   | 19.31±3.98 <sup>b</sup> | 0.31±0.02 <sup>a</sup> |
| HFC-SCK              | 5.15±0.18 <sup>b</sup>   | 20.64±1.84 <sup>b</sup> | 0.27±0.01 <sup>a</sup> |
| HFC-CCK              | 5.06±0.40 <sup>b</sup>   | 17.07±2.06 <sup>c</sup> | 0.30±0.03 <sup>a</sup> |

● 에너지 밀도가 높아 식이섭취량이 적은 것으로 보여짐

<sup>1)</sup> See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup> Food efficiency ratio : FER (body weight gain/food intake).

<sup>3)</sup> Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $p<0.05$ ) between groups by Tukey's test.

## 2) 간 조직 및 지방조직의 무게

(부고환지방조직 장간막지방조직)

Table 4. Changes in liver and adipose tissue weights of rats fed experimental diets

| Groups <sup>1)</sup> | Liver                    | Epididymal<br>adipose tissue | Mesenteric<br>adipose tissue |
|----------------------|--------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                      | (g/100 g body wt.)       |                              |                              |
| ND                   | 2.52±0.11 <sup>b3)</sup> | 3.96±0.21 <sup>b</sup>       | 2.19±0.18 <sup>b</sup>       |
| HFC                  | 3.32±0.21 <sup>a</sup> ↑ | 5.49±0.39 <sup>a</sup>       | 3.98±0.25 <sup>a</sup>       |
| HFC-SCK              | 2.82±0.17 <sup>b</sup>   | 4.12±0.14 <sup>b</sup>       | 2.54±0.24 <sup>b</sup>       |
| HFC-CCK              | 2.79±0.15 <sup>b</sup>   | 4.23±0.20 <sup>b</sup>       | 2.59±0.13 <sup>b</sup>       |

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>The results are mean ± S.E. for 6 rats in each group.

<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $p<0.05$ ) between groups by Tukey's test.

● 콜레스테롤과 지방 과다섭취

→ 간내 지방합성과 관련된  
유전자의 발현 증가

● 청국장 섭취군들에서 간 조직  
에 지방축적이 억제

## 3) 간 조직 중 총지질, 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

Table 7. Contents of total lipid, triglyceride and total cholesterol in liver of rats fed experimental diets

| Groups <sup>1)</sup> | Total lipid                 | Triglyceride            | Total cholesterol         |
|----------------------|-----------------------------|-------------------------|---------------------------|
|                      | (mg/g, wet weight)          |                         |                           |
| ND                   | 42.26±3.56 <sup>2)c3)</sup> | 11.08±1.68 <sup>b</sup> | 9.26±1.36 <sup>b</sup>    |
| HFC                  | 61.23±5.02 <sup>a</sup>     | 16.29±0.74 <sup>a</sup> | 13.26±0.28 <sup>a</sup> ↑ |
| HFC-SCK              | 51.02±3.26 <sup>b</sup>     | 13.46±1.52 <sup>b</sup> | 8.82±1.52 <sup>b</sup> ↓  |
| HFC-CCK              | 56.29±2.87 <sup>a</sup>     | 15.29±0.23 <sup>a</sup> | 8.92±1.36 <sup>b</sup> ↓  |

<sup>1)</sup>See the legend of Table 2.

<sup>2)</sup>The results are mean ± S.E. for 6 rats in each group.

<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.



# 실험동물 사료 조제

## 1. 실험의 목적 및 원리

### 1) 제목

- 고지방 식이로 비만을 유도한 흰쥐에서의 참죽(quercetin) 영향

### 2) 실험목적

- 고지방 식이로 인한 비만에 참죽(quercetin)의 효과가 있는지 알아본다.
- 동물 실험 주제에 맞는 동물실험 계획을 디자인 해본다.
- 저울 및 dry oven 등 사료 조제에 필요한 기구 사용법을 학습한다.
- 사료 배합 비율 및 조제 방법을 익힌다.

# 실험동물 사료 조제

## 3) 실험원리

|        |                                       |
|--------|---------------------------------------|
| ① 독립변수 | • 참죽(Quercetin)                       |
| ② 종속변수 | • 체중 증가량,식이섭취량 및 식이효율<br>• 간 조직 중 총지질 |



근교계(inbred)BALB/c : 흰색털과 분홍색 눈)  
(6주령, Male , 30 g)



일반 사료  
(1 week, **환경 적응**)



| Weeks | ND      | HFD        | HFD+참죽        |
|-------|---------|------------|---------------|
| 1     | AIN-93G | AIN-93G    | AIN-93G       |
| 2     | AIN-93G | <b>HFD</b> | <b>HFD</b>    |
| 3     | AIN-93G | <b>HFD</b> | <b>HFD+참죽</b> |

# 실험동물 사료 조제



AIN-93G  
High fat  
diet

AIN-93G high fat diet +  
leaves of *Cedrela  
sinensis* (10% in diet)

사육(3 week)

실험동물 사육실 환경조건 및 사료 급여

- 온도  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 상대습도  $65 \pm 5\%$ , 명암 12hr(09:00 ~ 21:00)주기로 조절,
- 물과 사료는 ad libitum으로 급여
- 모든 실험식이는 사육기간 동안 냉동보관

# 실험동물 사료 조제

## 2. 재료, 기구 및 장치

### 1) 재료 : 참죽

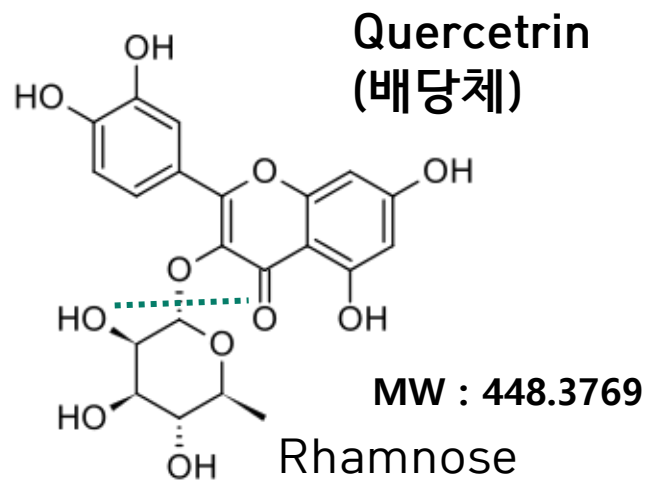
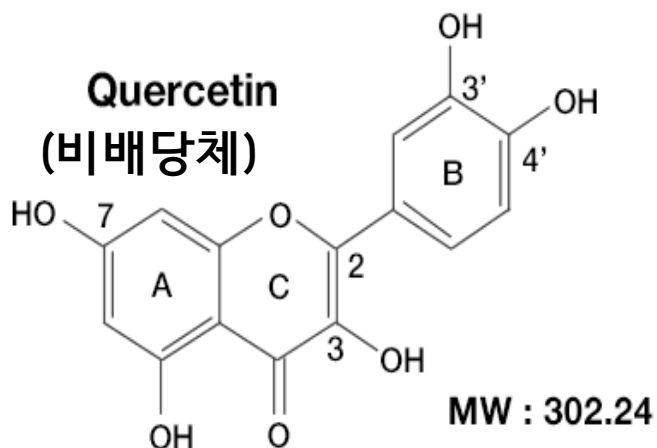
- 멸구슬나무과에 속하는 참죽나무(*Cedrela sinensis*)의 순
- 소염, 해독, 피부질환 효능, 장염, 이질 등의 치료에 이용
- Carotene , Vitamin B, C 함유
- Ca과 K도 다량 함유
- catechin, quercetin, afzelin, quercitrin, isoquercitrin 등의 페놀성 화합물 포함



# 실험동물 사료 조제

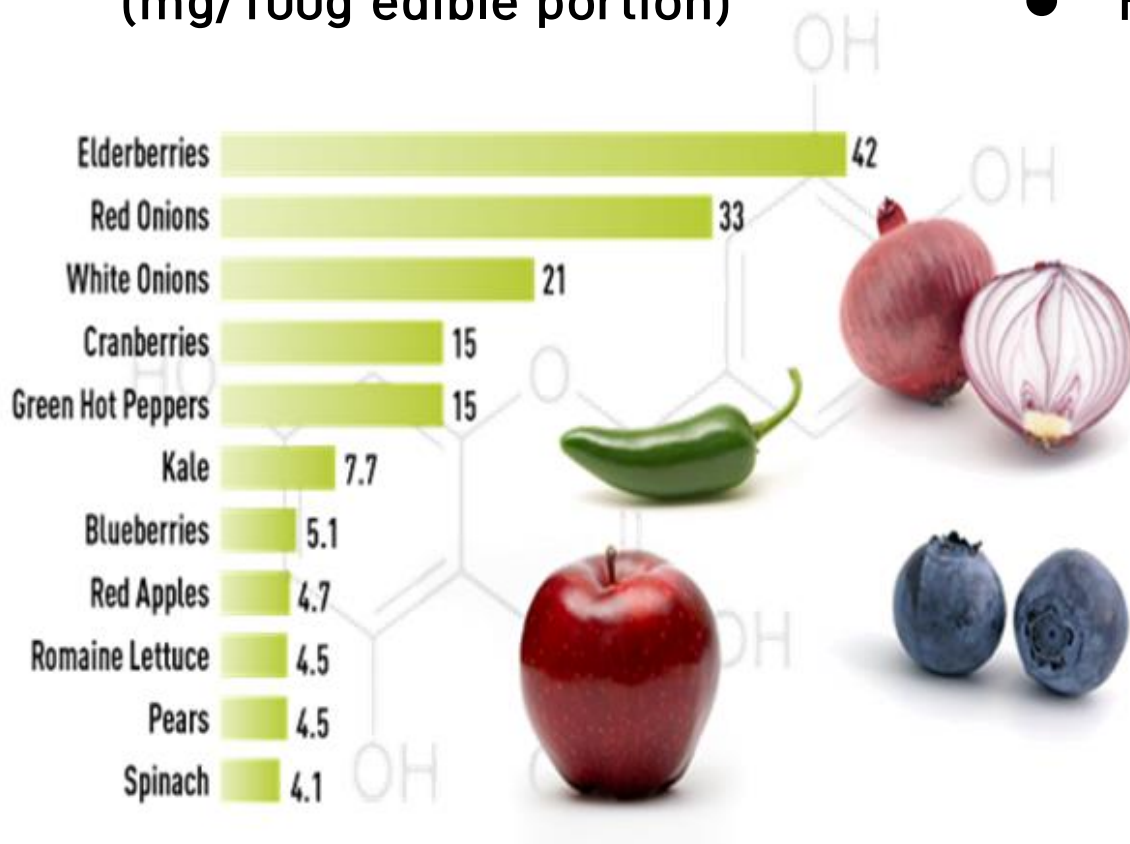
## 2. 재료, 기구 및 장치

- Chemical structures of Quercetin



# 실험동물 사료 조제

- Quercetin Content  
(mg/100g edible portion)



- Health benefit of Quercetin

- Antioxidant effect
- Anti-inflammation effect
- Anti-cancer effect
- Lipid reduction effect
- Hypotensive effect
- **Anti-obesity effect**

| Table. Composition of the experimental diet fed in rats (g) |              |               |                      |
|-------------------------------------------------------------|--------------|---------------|----------------------|
| Diet composition                                            | Groups       |               |                      |
|                                                             | AIN 93G diet | high-fat diet | high-fat diet<br>+참죽 |
| Corn starch                                                 | 397.486      | 59.44         | 17.832               |
| Casein(>85% protein)                                        | 200.00       | 71.64         | 21.492               |
| Dextrin                                                     | 132.00       | 34.96         | 10.4856              |
| Sucrose                                                     | 100.00       | 26.34         | 7.908                |
| Soybean oil                                                 | 70.00        | 25.08         | 7.524                |
| Fiber(cellulose)                                            | 50.00        | 17.88         | 5.376                |
| Mineral mix                                                 | 35.00        | 12.54         | 3.762                |
| Vitamin mix                                                 | 10.00        | 3.57          | 1.0716               |
| L-cystine                                                   | 3.00         | 1.08          | 0.324                |
| Choline bitartrate                                          | 2.5          | 0.9           | 0.27                 |
| tert-Butylhydroquinone(TBHQ)                                | 0.014        | 0.004         | 0.0024               |
| Lard                                                        |              | 46.6          | 13.98                |
| leaves of chinese cedrela                                   |              |               | 10                   |
| Total                                                       | 1000         | 300           | 100                  |

# 실험동물 사료 섭취량

- 사육실 온도, 임신, 포유 등 생리 상태에 따라 섭취량이 달라진다.
- Mouse 일일 음수량 : 4~7ml 또는 체중 10g 당 1.5ml

일일 사료소비량 : 3~6g 또는 체중 10g 당 1.5g

Table. 실험동물의 사료 및 음수 섭취량(100g체중 기준/day)

| 실험동물            | 체 중 (g)     | 사료섭취량(g) | 음수 섭취량(ml) |
|-----------------|-------------|----------|------------|
| Mouse           | 20~30       | 15~20    | 20~27      |
| Rat             | 250~300     | 5        | 8~11       |
| Hamster(golden) | 80~120g     | 9~14     | 27         |
| Guinea pig      | 500~800     | 6        | 10         |
| Rabbit          | 1.500~2.500 | 4~7      | 12         |



# 실험동물 사료 조제

## 2) 장치 및 기구

가) 항온건조기(dry oven)

나) 화학천칭(electronic chemical balance)

다) Spatula

라) 알루미늄 포일

마) 믹싱 볼(mixing bowl)

바) 칭량접시 (weighing dish)



# 실험동물 사료 조제

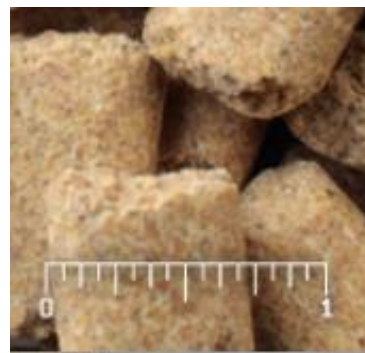
## 3. 실험 방법



무게 측정



+ 물

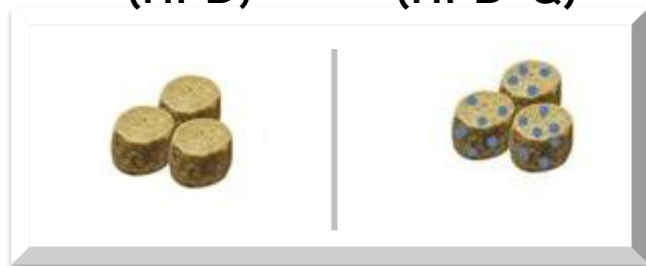


적당한 크기로 뭉쳐준다  
(4~5g)



대조군  
(HFD)

실험군  
(HFD-Q)



Dry oven



(4~5day,  
60°C→80°C)  
타지 않도록 중간  
에 뒤집는다.

## 4. 결과

### 1) 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이효율

Table 1. Body weight gain, food intake and feed efficiency ratio in rats fed experimental diets

| Groups | Body weight gain(g/day) | Food intake (g/day) | FER |
|--------|-------------------------|---------------------|-----|
| ND     |                         |                     |     |
| HFD    |                         |                     |     |
| HFD-Q  |                         |                     |     |

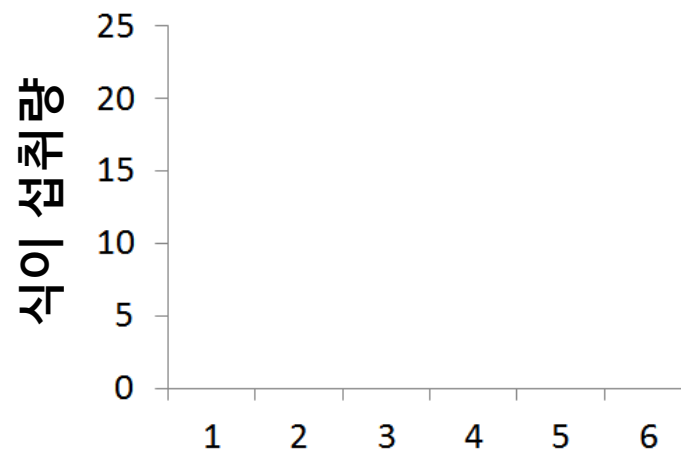
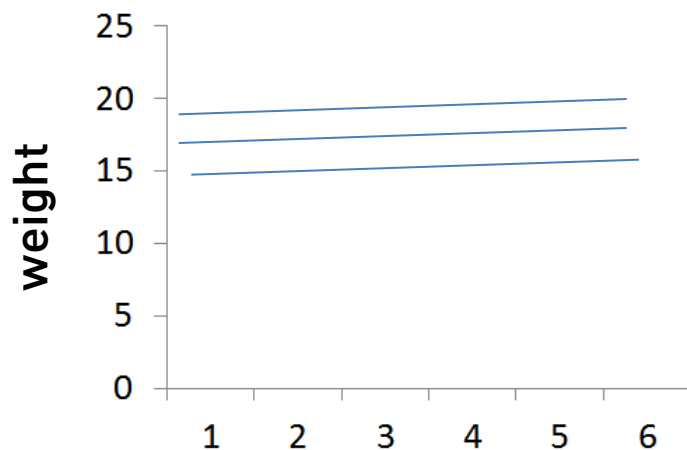
\* **Food efficiency ratio: FER(body weight gain/food intake)**

# 실험동물 사료 조제

## 2) 체중 증가량 및 식이섭취량 그래프

- 이틀에 한번

|             | 1회 | 2회 | 3회 | 4회 | 5회 | ... |
|-------------|----|----|----|----|----|-----|
| ① 정상(ND)    |    |    |    |    |    |     |
| ② 대조군 (HFD) |    |    |    |    |    |     |
| ③ 실험(HFD-Q) |    |    |    |    |    |     |



# 실험동물 사료 조제

## ※ 체중 측정법

- 체중 측정은 동물의 건강상태를 알려주는 유용한 지표
- 마취약이나 시험물질 등의 투여량을 결정하는데 중요한 항목
- 동물종에 따라서 민감도 및 측정 범위가 다른 것을 사용
- 체중대비 많은 양의 사료와 음수를 섭취하는 마우스나 랫드에 자유 급여할 경우에는 일정시각에 측정한다.



# 실험동물 사료 조제

## ※ 사료의 멸균

- 특정병원균 부재 동물, 고품질 동물들을 사육할 때 멸균 사료 공급

- 멸균방법

- ①고압증기멸균법

- 121°C, 20~30min
    - 경제적이고 간편, 수용성 비타민 파괴, 단백질의 변성
    - 사료가 딱딱, 분말사료나 정제사료에는 적용 어려움

- ②방사선멸균법

- 영양소 파괴나 기호성의 변화가 적어 분말상, 액상, 정제사료 적용 가능

