

韓國人 母乳와 牛乳의 成分 組成에 關한 比較 研究 (I)

—韓國人 母乳와 牛乳中の Amino酸 組成에 關한 研究—

梨花女大 藥學大學 助教授

高 英 秀

梨花女大 家政大學 講師

金 貞 子

國立保健研究院 研究員

韓 仁 子

=Abstract=

Comparative Studies on the Composition of Korean Human and Cow's Milk (I)

—Amino Acid Composition of Human and Cow's Milk of Korea—

Young Su Ko

Assistant Prof., College of Pharmacy, Ewha Womans University

Jung Ja Kim

Part time instructor, College of Home Economics, Ewha Womans University

In Ja Han

Research member, National Institute of Health, Korea

The amino acid composition of human and cow's milk represents a standard of reference in infant nutrition.

The amino acid compositions determined by automatic amino acid analyzer, Yanagimoto Model LC-5.

Protein in the human and cow's milk were found to be hydrolyzed to yield free amino acids.

Qualitative data for free amino acids in the milk are as follows:

1) Amounts of acidic amino acids such as glutamic and aspartic acid in cow's milk were observed to be about 2 times compared with human milk and it is considered that the abundance in these amino acids may contribute significantly to the specific flavor of cow's milk.

2) It is much interesting that in the human milk the contents of sulfur-containing amino acids were high comparatively better than cow's milk; cystine was found to be 3 times and methionine, 2 times.

3) In the human milk a high content of some essential amino acids such as threonine, isoleucine and leucine was demonstrated and a specific flavor sweet amino acids.

4) Large amounts of basic amino acid such as histidine was found to occur in human milk and arginine in cow's milk.

I. 緒 論

Williamson 外¹⁾ 여러 研究者들은 人乳의 根本的인 重要性은 幼兒營養에 있어서 amino acid의 含量에 기여한다고 發表하였고 1951年 Moore와 Stein²⁾은 母乳를 加水分解하여 ion 交換樹脂 chromatography를 使用하여 amino acid의 系統的인 化學分析을 하였으며 1953年 Schram等³⁾은 이러한 分析을 食品分析에 應用하였다. 그리고 新林恒一等⁴⁾은 牛乳의 遊離 amino acid에 對해서 研究하였는데 그들은 牛乳를 여러 種類의 飼料로 飼育한 경우 血漿 遊離 amino acid pattern에 對하여 調査하였다.

그 結果 必須 amino acid와 必須 amino acid가 아닌 非必須 amino acid의 比는 實驗 飼料로 飼育한 6個月만에 高蛋白質, 低 energy 飼料로 飼育한 group이 protein이 適合하고 熱量이 適當한 飼料로 飼育한 group보다 높다고 하였다. 그래서 必須 amino acid가 아닌 非必須 amino acid의 總量은 後者보다 적었으나 이것은 特히 glycine, alanine, glutamic acid의 濃度의 減少에 依한 것이었으며 한편 低 protein 飼料로 飼育한 group의 必須 amino acid 및 非必須 amino acid의 比는 後者보다 낮다는 結果를 얻었다. 이것은 特히 valine, threonine, arginine의 減少에 依한 것이며 그 反面에 glycine, serine 및 proline은 後者보다 前者가 濃도를 나타냈다는 것이다.

또 津郷友吉 및 外의 共著인 「乳의 化學」이라는 책에는 牛乳 casein의 加水分解產物에서 볼 수 있는 amino acid가 發表⁵⁾되어 있으며 M.B. Williamson⁶⁾은 牛乳와 人乳의 protein의 營養價値를 比較하기 爲해서 全 protein의 重要한 amino acid 含量을 測定한 結果를 記錄하였다.

그리고 牛乳의 化學的인 組成과 營養價에 對해서는 E. Zollikofer⁷⁾가 研究하였는데 이는 主로 牛乳의 定性的인 化學 組成에 對해서 實驗하였고 特히 다른 protein에 比해서 牛乳 protein의 부패 및 生物化學的인 價値에 關하여 發表하였다.

R. Schober等⁸⁾은 微量定量分析에 依해서 生乳와 熱處理한 牛乳의 amino acid分析을 한바 있다.

또 人乳와 牛乳의 amino acid 含量中 cystine의 含量에 있어서는 조금 差異가 있으나 必須 amino acid의 含量에는 大差가 없었으며 特히 amino acid의 組成에서 보면 牛乳와 人乳의 protein은 營養價가 좋고 나쁜 區別이 別로 없다고 發表⁹⁾되어 있다.

1954年 P. Soupart等¹⁰⁾은 美國人 人乳의 amino acid 組成에 關해서 chromatography에 依하여 分析하였으며 辛等¹⁰⁾은 韓國의 市販牛乳中에서 必須 amino acid가 全部 含有하고 있어 營養學的으로 優秀한 食品의 하나라는 것을 強調하였다.

以上 國內外 文獻에 ㅅ와있는 것을 紹介한 것처럼 牛乳와 人乳의 amino acid의 組成은 營養學的인 見地에서도 重要하지만 또 牛乳와 人乳의 amino acid의 含量 比較도 價値가 있다고 思慮되나 韓國人 母乳와 牛乳의 amino acid의 組成에 關하여서는 아직까지 研究되어 있지 않아서 여기에 實驗한 것을 報告하는 바이다.

II. 實驗 方法

II-1. 試料의 獲得

1961年 人乳와 牛乳의 組成에 對해서 美國의 小兒科 營養研究 委員會에서 報告한 바에 依하면 人乳의 組成은 大體로 그 分泌量, 分泌時期의 狀態, 최수기의 時間 및 個體의 變化 등에 따라서 다르고 牛乳는 그 해의 季節과 牧童들의 젖 짜 때의 condition 등에 따라 다르다고 하였는데 韓國人 母乳의 sample과 牛乳의 sample을 일일히 條件을 파악하기란 困難함으로 韓國 婦人의 混乳 및 牛乳의 混乳를 수집하여 實驗用 sample로 하였다.

韓國人 母乳의 sample은 1969年 겨울에 梨花女子大學校 醫科大學 附屬病院 產婦人科에서 提供한 것을 試料로 使用하였으며 牛乳 sample은 1969年 겨울 서울 牛乳協同 組合에서 提供한 生乳를 使用하였다.

母乳와 牛乳는 위에 記錄한 것처럼 季節에 따라서 또 勞働如何 condition에 따라서 또 年齡에 따라서 그리고 飼料 및 食餌에 依해서 그리고 各 個人에 따라, 소의 種類에 따라 等等 그 組成이 조금씩 다르고 同一하지가 않기 때문에 本實驗에서는 數十名の 젖과 여러 種類의 소젖 混合한 것을 實驗 sample로 하여서 比較 研究를 目的으로 하였다. 이 두 종류의 sample 生乳는 획득한 그날로 遠心分離를 하였다.

그리고 protein中의 amino acid의 組成을 알기 爲해서는 加水分解를 하여 遊離의 amino acid로 하지 않으면 안됨으로 加水分解의 方法에는 많은 文獻이나 參考書가 있으나 sample에 따라서 適當한 方法을 써야하고 特히 amino acid分析計의 경우는 分析의 精度가 매우 높기때문에 protein質의 組成을 決定하는 경우의 精度는 protein類의 加水分解 할 때의 amino acid의 回

收率에 거의 모두가 의존되고 있다.

또加水分解中에 불안정한 amino acid 分子가 分解한 다든지 反對로 特定の amino acid 間的 peptide 結合의 加水分解가 지연되어서 그 回收率은 一般으로 100%가 못된다는 것이 發表¹²⁾되어 있음으로 現在 一般으로 널리 使用되고 있는 鹽酸에 의한 加水分解法이 使用한 鹽酸의 除去가 容易하고 比較的 좋은 回收率을 얻을 수 있음으로 分析計에서는 前處理로서 가장 適當하다.

그러므로 Milk 中の protein은 加水分解하면 amino acid가 생기기 때문에 free amino acid의 組成을 比較할 目的으로 加水分解하였다. 여기에서는 R. J. Block 等¹³⁾이 實驗한 것 같이 約 5.0 ml의 milk(약 50 mg의 protein)를 6 N-HCl 3.0 ml에 溶解시켜 加水分解爐에서 110°C로 22時間 加水分解하여 W.B.上에서 乾固시켜 稀釋液으로 5.0 ml을 取하여 amino acid autoanalyzer로 分析할 sample로 하였다.

II-2. Automatic Amino Acid Analyzer 用

試料의 調製

普通 sample 中에는 amino acid와 protein이 共存하고 있음으로 protein을 除去하여 分析하여야되는데 여기서는 picric acid에 의하여 protein을 除去시키는 picric acid에 의한 除蛋白法¹⁴⁾을 使用하였다. 이 法은 1%의 picric acid 溶液을 加하여 生成되는 沈澱을 遠心分離하여 除去하고 excess의 picric acid는 Dowex 1×8의 column을 通해서 除去하는 것이다.

picric acid에 의한 除蛋白法을 쓰고 Moore 等¹⁵⁾의 方法에 依해서 chromatography를 하였다. 即 母乳 및 牛乳 sample 各 0.5 ml을 秤取하고 여기에 1% picric acid 1.5 ml(普通 試料溶液 10 ml에 對해서 1% picric acid 溶液 50 ml을 加하는데 나중엔 1 ml을 더 追加해야함으로 1.5 ml를 取하였음)을 加하여 1時間 放置한後 protein을 除去시키고 遠心分離器(3000 rpm에서 10分間)로 遠沈하여 上澄液을 冷藏庫에 保管하는 한便 沈澱殘渣에 1% picric acid 1 ml을 더 加하여 再次 protein을 除去시키고 아울러 遊離 amino acid를 抽出하고 다시 遠沈한 上澄液을 먼저 上澄液과 合쳐서 이것을 冷藏庫 中에서 하루 저녁 放置한後 沈澱物을 遠沈한다.

다음 2×20 cm인 Dowex 1×8(200~400 mesh) Cl⁻ type resin으로 picric acid를 吸着 除去한다. Dowex 1×8(200~400 mesh) Cl⁻型 樹脂 column은 다음과 같이 準備하여 놓는다. Dowex 1×8(200~400 mesh) Cl⁻型 resin을 증류수에 分散시켜서 數分間 靜置하고 微細

한 粒子를 傾斜法으로 除去한다.

이것을 IN-HCl에 分散시켜 2×10 cm의 column(樹脂의 厚이는 2~3 cm)에 넣어 數分間 沈澱시킨後 下部의 coke를 열어서 IN-HCl 20 ml을 加한다.

그런다음 증류수를 加하여 液이 中性이 될때까지 washing 한다. washing 한後 樹脂床에 column의 크기보다 조금 작은 圓形濾紙를 넣어 둔다. 그리고 樹脂床 上部는 若干의 증류수가 남아있는 체로 놓아둔다. 이것을 遠心分離하여 沈澱을 除去시킨 sample을 遠心上澄液에 넣고 全部 添加시킨 後에 管壁과 樹脂床을 0.02 N-HCl 3 ml를 加하였다.

添加時의 流出液과 洗液을 合쳐서 約 5 ml가 될때까지 減壓 濃縮시키고 amino acid만 含有된 effluent를 얻어 pH 2.2로 다시 調整하여 autoanalyzer用 sample로 하였다.

II-3. Amino Acids의 測定

Amino acids 測定은 automatic amino acid analyzer (Yanagimoto Model LC-5) type로 Table-1과 같은 條件 아래에서 分析하였다.

Sample을 ion交換樹脂¹⁶⁾ Amberlite CG 120을 充填시킨 70 cm×0.9 cm 및 7.5 cm×0.9 cm인 column에 1.0 및 0.5 ml 式 注入吸着시키고 pH 5.28인 buffer solution으로 basic amino acid를 pH 3.25 및 pH 4.25인 buffer solution으로 neutral and acidic amino acid를 elution시켜 ninhydrin과 反應하여 recorder에 나타나게 하였다. 既知 濃度の standard amino acid solution은 program time에 따라 各 amino acid의 位置와 peak가 一定함으로 sample의 各 peak와 比較하여 定性 및 定量을 하게되는데 本實驗에서는 ml가 sample의 ml가 아니고 final milliliter임으로 定量이 不可能함으로 定性的인 問題만 다루었다.

그리고 母乳의 protein hydrolysate의 tryptophane 및 phenyl alanine은 active carbone에 依해서 吸着되었음으로 考慮하여야 되기 때문에 計算에 參考하였다.

III. 實驗結果 및 考察

母乳 및 牛乳의 遊離 amino acid 測定을 위하여 standard amino acid로서 N.B.C. 社製 18種을 使用하여 basic amino acid는 各各 0.05 μ mol中, 酸性 amino acid는 0.1 μ mol을 含有하는 混合液을 standard로 하고 母乳와 牛乳의 遊離 amino acid를 amino acid autoanalyzer에 依하여 分析한 結果는 Table-2와 같다.

Table-1. Analysis condition of amino acids by amino acid autoanalyzer

	Neutral & acidic amino acid	Basic amino acid
Sample	Standard amino acid human and cow's milk	" "
Sample size	1.0 ml	0.5 ml
Column	70 cm × 0.9 cm	7.5 cm × 0.9 cm
Resin	Ambereite CG-120 (Type III) 25~28 μ	Ambereite CG-120 (Type III) 19~22 μ
Flow rate	buffer solu. 100 ml./hr.	100 ml./hr.
	ninhydrin reagent 50 ml./hr.	50 ml./hr.
Column temp.	52~56°C	52~56°C
Buffer solu.	pH 3.25 and 4.25 0.2N-Na ⁺ citrate buffer solu.	pH 5.28 0.35N-Na ⁺ citrate buffer solu.
Buffer change time	65 min.	
Analysis time	140 min.	70 min.
Chart speed	9 inch/hr.	9 inch/hr.

Table-2. Free amino acid contents of the human and cow's milk (unit: μl)

Amino acid	Human milk free amino acid	Cow's milk free amino acid	Human milk protein hydrolysate	Cow's milk protein hydrolysate
Tryptophane	+++++	+++++	+++++	+++++
Lysine	+++++	+++++	+++++	+++++
Histidine	+++++	+	++++	+++
Ammonia	+++	+++++	+	+
Arginine	+	+++++	+++++	+++
spartic acid	++	+++	+++++	+++++
Abreonine	+++	++	++++	+++++
Terine	++	++	+++++	+++++
SGLutamic acid	+++++	+++++	+++++	+++++
Proline	++	+++++	+++++	+++++
Glycine	+++	+++++	+++	++
Alanine	+++++	++++	++++	+++
Cystine	+++	+	+	+
Valine	++++	+++	+++	+++++
Methionine	++	+	+	++
Isoleucine	++++	+	++++	+++++
Leucine	+++++	+	+++++	+++++
Tyrosine	+	+	+	+
Phenylalanine	+	+	+	+

Analysis by automatic amino acid analyzer Yanagimoto Model LC-5

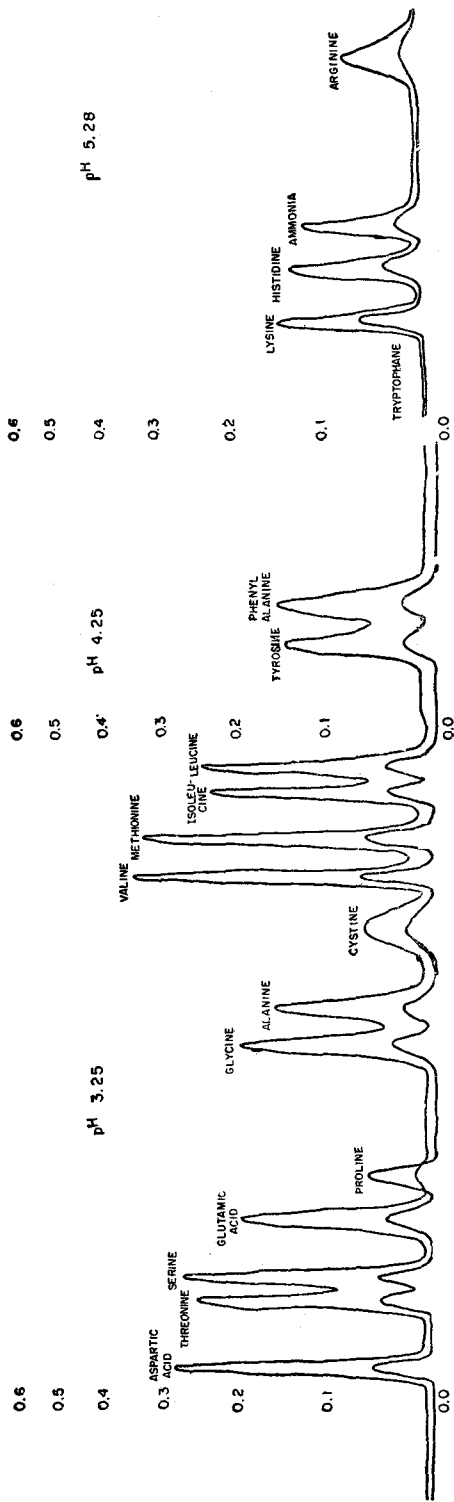


Fig. 1. Chromatogram of Amino Acid Standard Mixture

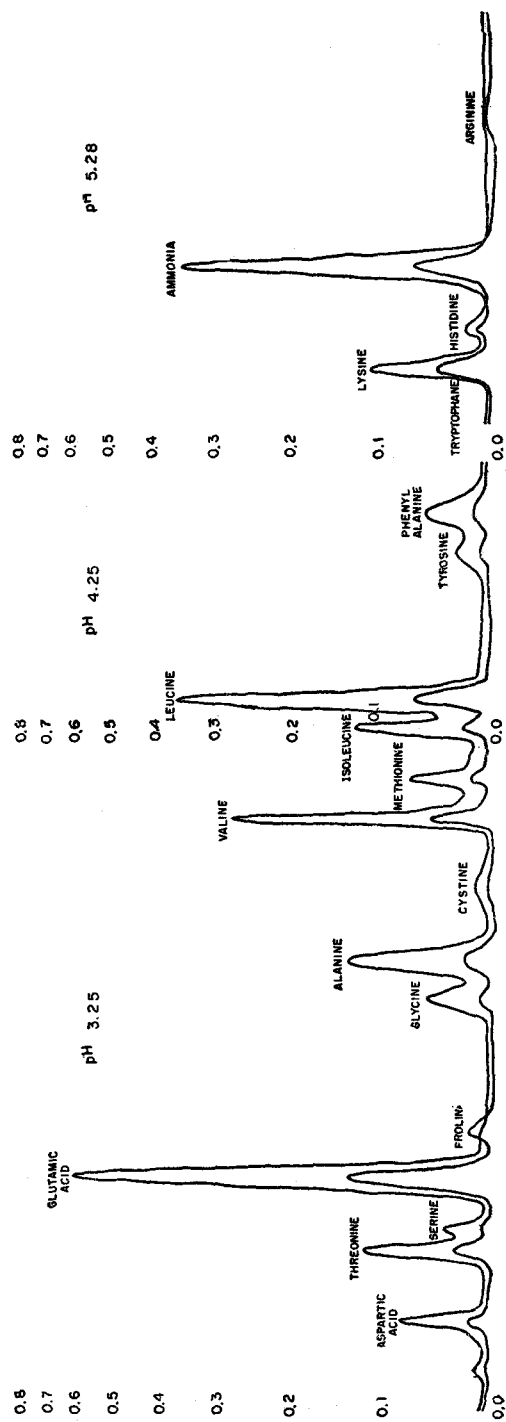


Fig. 2. Free Amino Acids in Human Milk

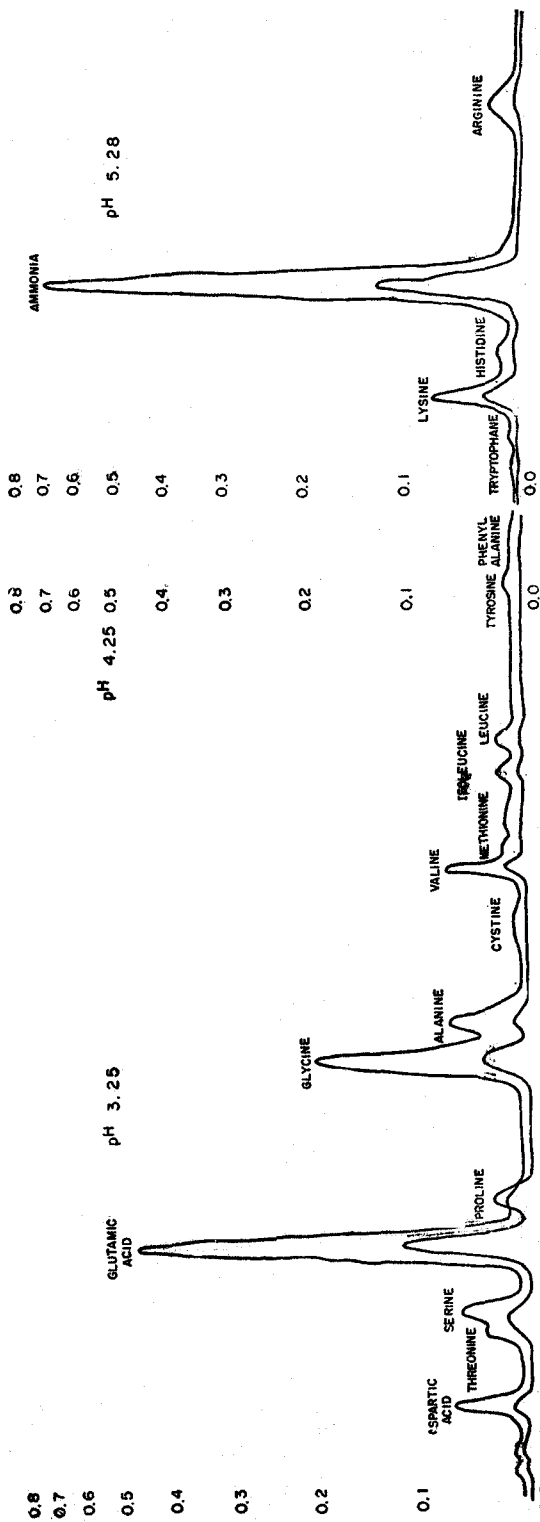


Fig. 3. Free Amino Acids in Cow's Milk

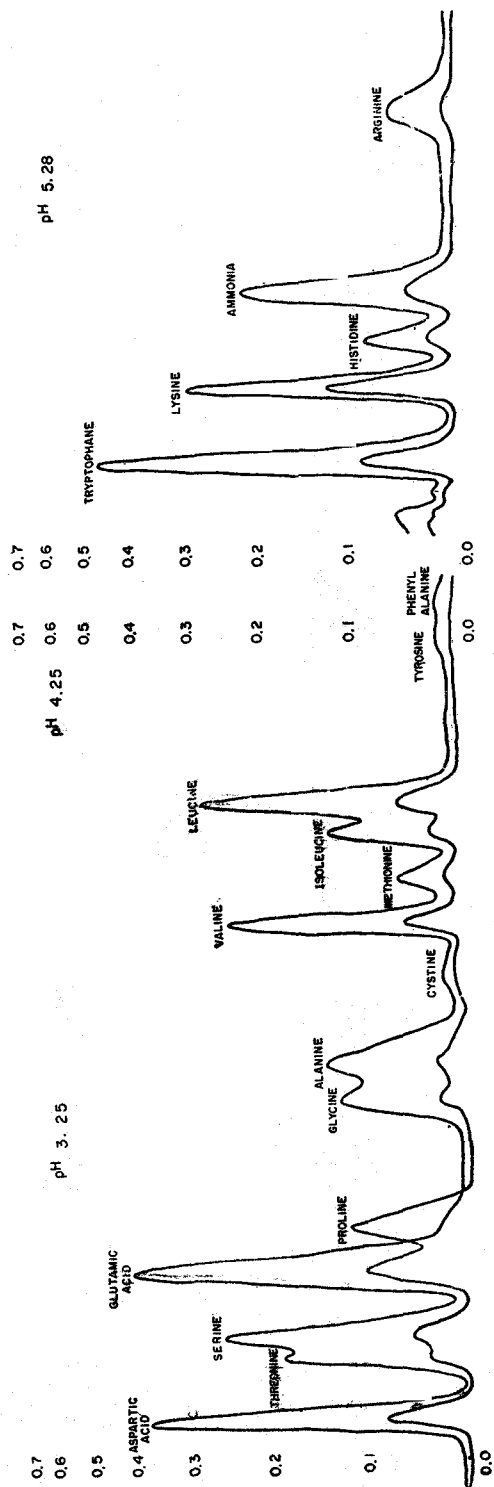


Fig. 4. Amino Acid Analysis of Human milk Hydrolysate

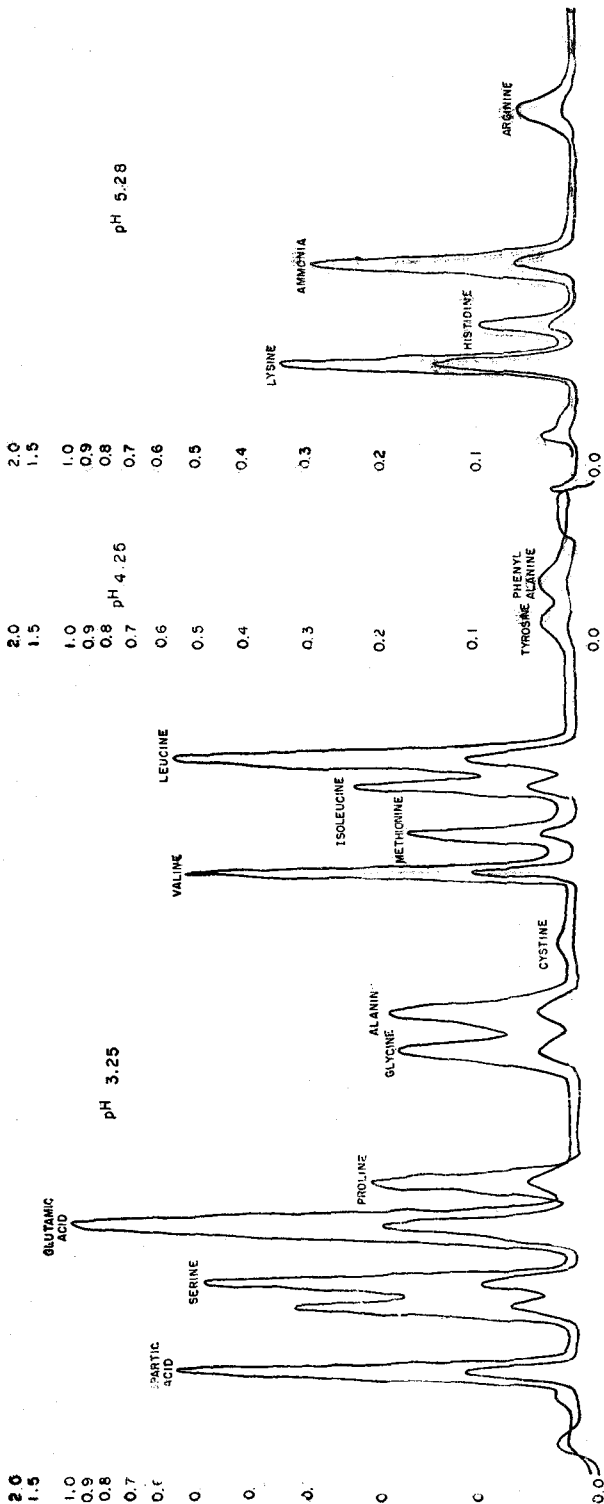


Fig. 5. Amino Acid Analysis of Cow's Milk Hydrolysate

Amino acid autoanalyzer의 recorder에 의한 各 amino acid의 分析結果로서 standard amino acid를 Fig. 1에 그리고 母乳의 free amino acid를 Fig. 2에 그리고 牛乳의 free amino acid를 Fig. 3 및 母乳의 protein hydrolysate를 Fig. 4에 그리고 牛乳의 protein hydrolysate를 Fig. 5에 表示하였다.

IV. 結 論

이상의 Fig. 5까지의 結果를 보면 매우 興味 있는 分布를 보이고 있다.

即 amino acid 中에서 呈味性 amino acid의 代表的¹⁷⁾인 glutamic acid 및 aspartic acid 含量을 考慮해보면 牛乳가 더 많아서 牛乳가 母乳보다 特有的 風味를 支配하고 있다고 볼 수 있으며 硫黃 amino acid인 cystine과 methionin 含量은 母乳가 牛乳보다 더 많이 含有되고 있다. 그밖에 tyrosine 및 phenylalanine은 母乳나 牛乳나 다 濃縮 뿐이고 essential amino acid인 lysine, threonine, isoleucine 및 leucine 含量은 lysine은 母乳나 牛乳나 別로 差異가 없으나 isoleucine, leucine 및 threonine의 含量은 母乳中에 훨씬 많이 含有되어 있다.

그리고 serine의 含量은 牛乳나 母乳나 같으나 proline의 含量은 牛乳가 훨씬 많은가 하면 甘味性 amino acid인 alanine의 含量은 母乳가 牛乳보다 조금 많을 뿐이나 glycine은 牛乳가 현저히 많으므로 牛乳 맛에 母乳의 맛에 비해 若干 더 달다고 볼 수 있다.

母乳中에는 basic amino acid인 histidine 含量이 牛乳보다 特異하게 많고 牛乳中에는 arginine 含量이 母乳보다 特異하게 많은것이 잘 比較되었다.

REFERENCES

- 1) Williamson, M.B.: *J Biol. Chem.*, **156**, 47 (1944); Block, R.J. and Bolling, D.: *Arch. Biochem.*, **10**, 359 (1946); Block, R.J. and Bolling, D.: *Arch. Biochem.*: **25**, 350 (1950); Macy, I.G.: *Am. J. Dis. Child.*: **78**, 589 (1949)
- 2) Moore, S. and Stein, W.H.: *J. Biol. Chem.*, **192**, 663 (1951)
- 3) Schram, E. Dustin, J.P., Moore, S. and Bigwood, E.J.: *Anal. chim. acta*, **9**, 149 (1953)
- 4) 新林恒一, 伊出優, 朱村壽男: *Agr. Biol. chem.* **31**, 628(1967); 日農化會誌 **41**, 375(1967).
- 5) 津郷友吉, 佐佐木林治郎共著: “乳の化學” 地球出版社 發行 1957, p. 11.
- 6) Williamson, M.B.: *J. Biol. Chem.* **156**, 47 (1944)
- 7) Zollikofer, E.: *Schweiz. Milchzgt.* **80**, 113 (1954)
- 8) Schober, R., Prinz, I. and Christ, W.: *Milchwiss.* **11**, 209 (1956)
- 9) Soupart, P., Moore, S. and Bigwood, E.J.: *J. Biol. Chem.* **206**, 699 (1954)
- 10) 辛孝善, 柳良子: 韓國 營養學會誌 第1卷 第2號 p. 87 (1968)
- 11) Repote of committee on nutrition: *J. Amer. diet. Asso.* **38**, 276 (1961)
- 12) 波多野 博行 著, “アミノ酸 自動分析法” 化學同人發行 1964, p. 63.
- 13) Block, R.J. and Belling, D.: *Arch. Biochem.* **25**, 350 (1950)
- 14) Shimbayashi, K. and Yonemura, T.: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*; **3**, 36 (1963)
- 15) Moore, S., Spackman, D.H. and Stein, W.H.: *Analyt. Chem.* **30**, 1185 (1958)
- 16) Hamilton, P.B.: *Anal. Chem.* **30**, 914 (1954)
- 17) 市川邦介: 日醫工會誌 **33**, 198 (1955); 有働織三: 日農化會誌 **8**, 673 (1932)