GOVP1200017057

631.1
L293E

최 종
연구보고서

타우린(Taurine) 강화우유 개발

Development of Taurine-enriched milk

경 북 대 학 교

농 림 부

대한민국
기증등록
2000. 12. 15
846226
국회도서관

〔별지 제7호 서식〕

최 종 보 고 서

1998년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 타우린(Taurine) 강화우유 개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 10부

2. 최종보고서 디스켓 1매

2000. 10. 11.

주관연구기관 : 경북대학교

총괄연구책임자 : 김 동 신

주관연구기관장 : 경북대학교 총장

농 림 부 장 관 귀 하

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "타우린(Taurine) 강화우유 개발" 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2000. 10 . 11.

주관연구기관명 : 경북대학교
총괄연구책임자 : 김 동 신
연 구 원 : 여 영 근
연 구 원 : 박 동 진

요 약 문

Ⅰ. 제 목

타우린(Taurine) 강화우유 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

타우린(Taurine)은 동물체내에서 생합성되어 뇌, 안구, 근육, 간 등의 조직에서 해독과 항산화 작용외 간기능 강화와 콜레스테롤, 혈압조절 등 다양한 기능성을 가진 건강소재로 오래 전부터 식품 및 음료에 사용되어져 왔다.

타우린함량이 높은 게껍질 부산물을 급여하거나 타우린합성의 전구체로 여겨지는 아미노산을 rumen protected 형태로 제조하여 착유우에 급여하여 모유에 비해 우유에는 부족된 타우린 함량을 높인 천연 타우린 강화우유를 생산하도록 하여 생체대사에 의한 천연 타우린이란 점이 제조공정중 타우린을 별도로 첨가하는 기존의 제품류와는 다른 새로운 개념의 다양한 제품개발 및 적용이 가능하며 특히 많은 량의 타우린을 요구하지만 생합성력이 부족하여 전적으로 외부로부터의 공급에 의존하는 영·유아 및 특정인에게 타우린 강화우유는 타우린의 좋은 공급원으로서 그 중요성을 평가받게 될 것이다. 또한 부가가치가 높은 제품의 원료유 생산에 따른 농가소득의 증대를 꾀할 수 있고 타우린 강화우유는 수입유제품에 대한 차별화된 제품으로서 평가받으므로서 국내 유제품의 안전성 및 품질에 대한 소비자들의 불신감을 해소하는데 일조할 것이다.

국내는 물론 국외에서도 천연타우린 유제품은 생산되지 않고 있으며 인위적으로 첨가하는 방식의 제품이므로 생체에 의해 대사되는 타우린 강화우유는 그 특성과 가치를 인정받을 수 있는 새로운 제품이 될 것으로 기대된다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

타우린 강화우유를 개발하기 위해 우선 우유내 타우린함량을 증가시키는 사료첨가물과 rumen-bypass 조건들을 선택하고 사양시험을 통해 타우린함량 및 유성분의 변화와 조성을 조사하였으며 일반우유와 비교하여 타우린 강화우유의 경제성을 분석하였다. 연구개발의 내용과 범위를 요약하면 다음과 같다.

세부과제명	세부연구개발 내용 및 범위
타우린(Taurine) 강화우유 개발	1. 게껍질의 급여가 타우린함량에 미치는 영향 가. 게껍질의 일반성분 및 아미노산 분석 나. 게껍질의 formaldehyde 처리 다. 게껍질 및 formaldehyde처리 게껍질 급여시험 라. 유조성분 및 아미노산, taurine함량 변화조사 2. 보호아미노산 급여가 타우린함량에 미치는 영향 가. Rumen-protected DL-methionine의 제조 나. Rumen-protected MHA제조 다. Rumen protection test 라. 보호아미노산 급여시험을 통한 타우린함량 증가 및 유조성분 변화 조사 3. 경제성분석

Ⅳ. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

타우린 강화우유를 개발하기 위해 유즙내 타우린함량을 증가시키는 첨가물을 선택하여 사양시험을 통해 타우린함량 및 유조성분의 변화를 조사한 뒤, 제품으로서의 경제성을 분석한 본 연구의 결과는 아래와 같다.

1. 게껍질분말 급여에 의한 천연 타우린강화우유의 생산 가능성을 평가하고자 게껍질분말의 영양성분 조성 및 아미노산 분석결과 게껍질 단백질의 아미노산조성은 phenylalanine이 가장 높았고, glutamate, aspartate, glycine, serine, histidine, arginine의 순으로 나타났다. 게껍질에 함유된 유리아미노산 중 타우린은 가장 고농도로 존재하였으며, 특히 집게다리껍질에 509μmol/100g이 함유되어 등뚜껑(319μmol/100g) 및 게껍질분말(296μmol/100g)에 비해 월등히 그 함량이 높았다. 게껍질분말의 급여가 우유의 타우린농도에 미치는 영향을 평가한 결과 3% 첨가군의 원유시료에 7.21±0.77μmole/100ml의 타우린이 함유되어 대조구에 비해 49%정도 유의적으로 증가하였다($p<0.01$). Formaldehyde처리 게껍질 급여군에서는 무처리급여군에 비해 타우린농도가 유의적으로 감소하여 게껍질의 formaldehyde처리는 반추위내에서 타우린을 보호하는데 효과적이지 못한 것으로 나타났다

   게껍질분말과 formaldehyde처리 게껍질분말의 급여시험에서 유조성분과 유량의 유의적인 증감은 나타나지 않았다.

2. Imitation buffer내 pH에 대한 저항성 및 ruminal contents를 함유한 buffer내에서의 보호정도를 조사한 결과 RP-Met.는 60~64% 정도가 보호되는 반면 RP-MHA는 70% 이상이었다. RP-Met.과 RP-MHA의 4위와 소

장 gastric juice 조건에서의 유출율은 90% 정도로 확인되었다.

3. RP-Met. 급여시 대조구의 타우린함량은 3.33±0.63 μmole/100ml, RP-Met. 급여군은 4.47±0.56 μmole/100ml로 대조구에 비해 23% 정도가 증가하였다.

RP-MHA 급여시 대조구는 3.86±0.16 μmole/100ml, RP-MHA 급여군은 5.91±0.44 μmole/litre로 53% 정도가 유의적으로 증가하였다($p<0.01$).

RP-Met., RP-MHA 급여시험에서 유조성분과 유량의 유의적인 증감은 나타나지 않았다.

4. 타우린 강화우유의 원유의 단위생산비는 10%가 증가하는 반면 원유매입가는 17%가 증가하여 농가소득이 7% 이상 늘어날 것으로 예상되며 제조원가 상승률 대비 소비자가격이 이를 2배 이상 상회하여 제품으로서의 경제성은 충분히 있을 것으로 사료된다.

타우린 강화우유는 타우린의 생합성력이 떨어지는 영·유아와 타우린의 식이공급이 부족한 사람, 동물에 대한 좋은 공급원이 되는 식품과 사료로의 적용이 가능하므로 metabolism과 cofactor에 대한 세부적인 연구와 rumen protection을 위한 소재 및 제조방법에 관한 보완이 이루어진다면 유제품류뿐만 아니라 양계, 양돈, 사료 등 폭 넓은 분야에서 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

SUMMARY

Ⅰ. Title

Development of taurine-enriched milk

Ⅱ. Objectives and Importance

Taurine, 2-amino-ethanesulphonic acid, is a metabolite found in highest concentrations in the heart muscle, skeletal muscle, white blood cells, eyes, brain, and central nervous system. It has functions in the gallbladder, eyes and blood vessels and appears to have some antioxidant and detoxifying activity.

Human can produce taurine from cysteine and methionine with the help of vitamin B_6. But most of human and primates have a poor ability to biosynthesis taurine, and are dependent to a large extent on a dietary source. Especially, taurine is essential in newborns and infant, as they cannot make it enough.

The milk of many species contains taurine, but the amount varies greatly. Futhermore, the concentration of taurine in milk decreases during lactation. The milk of the dairy cow has a little taurine compare with human milk.

This study was carried out on the development of the taurine enriched milk product. The milk product, naturally enhanced taurine concentration by supplementation of the concentrate-fed dairy cow with additives, may stood high in the consumer's favor.

Ⅲ. Contents and Scope

1. Selection of feeding condition and feed additives which can increasing taurine content on dairy cow's milk
2. Preparation of feed additives that protected from rumen pH and rumen microorganism
3. Investigation of milk composition changes include taurine content through feeding experiment
4. Economic efficiency assay

Ⅳ. Results and Suggestion for the practical use

1. Effects of dietary crab shell(snow crab, *chionoecetes japonicus*) meal supplementation on milk taurine concentration were evaluated in 25 dairy cows fed one of the following feeds for 30 days : control feed, crab shell meal supplemented feed, formaldehyde treated crab shell meal supplemented feed.

1) Analysis of the amino acid composition of crab shell protein hydrolyzates showed that phenylalanine existed at the highest concentration.

Branched-chain amino acid existed as relatively low levels in crab shell meal.

2) Taurine was the most abundant free amino acid found in three different parts of the crab shell. Front leg shells contained 37% and 41% higher level of taurine(509 μmol/100g) compared to the back shell (319 μmol/100g) and the crab shell meal (296 μmol/100g), respectively.

3) Dairy cows fed 1% crab shell and 3% crab shell meal showed 20% and 49% increased milk taurine concentrations respectively, compared to the value for the control groups($p<0.01$).

4) Formaldehyde treatment of the crab shell meal was not effective in increasing the milk taurine concentration.

5) Milk composition and yield were not changed significantly during feeding experiment

2. Studies on the rumen protection and release acivity of rumen protected matrix preparations showed a minimum of 60% of the rumen protected matrix were available post-ruminally.

3. Effects of rumen protected DL-methionine matrix supplementation on milk taurine concentration were evaluated in 10 dairy cows fed one of the following feeds for 42 days : control feed, rumen protected

DL-methionine matrix supplemented feed.

1) Dairy cows receiving rumen protected DL-methionine matrix showed 23% increased milk taurine content, compared to the value for the control groups.
2) Milk composition and yieid were not changed significantly during feeding period.

4. Effects of rumen protected MHA(Methionine Hydroxy Analog) matrix supplementation on milk taurine concentration were evaluated in 14 dairy cows fed one of the following feeds for 42 days : control feed, rumen protected MHA matrix supplemented feed.

1) Dairy cows fed rumen protected MHA matrix showed 53% increased milk taurine concentrations, compared to the value for the control groups($p<0.01$).
2) Milk composition and yield were not changed significantly during feeding period.

This study is the first report suggesting the natural enhancement of taurine in cow's milk by supplementing additives like crab shell meal or rumen protected methionine. The mechanism responsible for the increased concentration of taurine content is unknown, but this results could be widely applied in increasing the taurine level in other animal products.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction 14

1. Objectives and importance 14

2. Contents and scope 18

Chapter 2. Crab shell meal feeding experiment 20

1. Introduction 20

2. Analysis methods of chemical composition and amino acid concentration 21

3. Preparation of crab shell meal and formaldehyde treated crab shell meal 28

4. Feeding experiment of crab shell meal 28

5. Results and consideration 31

Chapter 3. Rumen protected amino acid feeding experiment 49

1. Introduction 49

2. Preparation of rumen protected DL-methionine matrix 51

3. Preparation of rumen protected MHA matrix 54

4. Rumen protction and release test 56

5. Feeding experiment of rumen protected amino acid 58

6. Results and consideration 61

대한민국국회도서관장서

Chapter 4. Economical efficiency assay 80

1. Introduction 80

2. Results and consideration 80

Chapter 5. Conclusion 85

References 88

목 차

제 출 문 1

요 약 문 2

SUMMARY 6

CONTENTS 10

목 차 12

제 1 장 서 론 14

제1절 연구개발의 목적 및 중요성 14

제2절 연구개발의 내용 및 범위 18

제 2 장 게껍질 급여시험 20

제1절 서 설 20

제2절 일반성분 및 아미노산 분석방법 21

제3절 게껍질부산물 및 Formaldehyde처리 게껍질의 제조 28

제4절 사양시험 28

제5절 결과 및 고찰 31

제 3 장 보호아미노산 급여시험 49

제1절 서 설 49

제2절 Rumen protected DL-methionine matrix 제조 51

제3절 Rumen protected MHA matrix 제조 54
제4절 Rumen protction test 56
제5절 사양시험 58
제6절 결과 및 고찰 61

제 4 장 경제성 분석 80
제1절 서 설 80
제2절 결과 및 고찰 80

제 5 장 결 론 85

참 고 문 헌 88

제 1 장 서 론

제1절 연구개발의 목적 및 중요성

함황아미노산의 일종인 타우린(Taurine)은 포유류에 있어서 sulfur 아미노산 대사의 최종산물로 단백질과 결합하지 않아 세포내액에서 유리된 상태로 골격근과 신경계의 유리아미노산 pool에서 높은 농도로 발견되어지는 sulfonic acid로 Table 1.에서와 같이 담즙산의 포합기능 이외에도 뇌의 발육, 망막의 광수용체 활성, 생식 및 정상적인 성장발달, 항산화 활성, 신경전달 등 다양한 기능을 가지고 있는 것으로 보고되어지고 있다(42). 타우린은 포유류 조직에서 거의 일정한 수준으로 고농도를 유지하지만 유즙내 타우린함량은 동물의 종류에 따라 큰 차이를 보이고 있다. Rassin 등(76, 84)이 여러 종류의 포유류를 대상으로 상유에 함유된 타우린농도를 측정한 바에 의하면 Table 2.에서와 같이 얼룩말과 고양이의 경우 각기 595μmol/100ml과 287μmol/100ml의 타우린이 존재하여 유즙에 함유된 유리아미노산 중 가장 농도가 높았으며, 모유에는 34μmol/100ml의 타우린이 함유되어 glutamate 다음으로 농도가 높았다. 한편 쥐, 토끼와 양의 상유에는 14~15μmol/100ml의 타우린이 함유되어 있었고, 소의 상유에는 1μmol/100ml으로 포유류의 유즙중 타우린함량이 가장 낮았다. 특히 모유의 경우 타우린이 총유리아미노산 pool의 약 13% 정도를 차지하는 주된 아미노산인 반면, 조제유의 주성분인 우유에는 상대적으로 타우린함량이 매우 낮다는 점이다.

Table 1. Biological actions of Taurine*

Tissue	Action
Cardiovascular system	. Antiarrhythmic . Positve inotropy at low calcium . Negaitve inotropy at high calcium . Potentiation of digitalis intropy . Antagonism of calcium paradox . Hypotensive(central and peripheral action) . Retardation of lesion development in calcium overload cardiomyopathy . Increased resistance of platelets to aggregation
Brain	. Anticonvulsant . Modulator of neuronal exitability . Maintenance of cerebellar function . Antinociceptive against chemical stimuli . Thermoregulation . Antiaggressive actions . Central regulation of cardiorespiratory responses . Alertration of sleeping duration . Resistance to anoxia/hypoxia . Alerted learning . Alerted motor behavior . Antitremor actions . Suppression of drinking, eating
Retina	. Maintenance of structure and function of photoreceptors, outer segments and tapetum lucidum
Liver	. Bile salt synthesis
Reproductive system	. Sperm motility factor
Muscle	. Muscle membrane stabilizer
General	. Modulation of neurotransmitter and hormone release . Osmoregulation . Stimulation of glycolysis and glycogenesis . Attenuation of hypercholesterolemia . Cell proliferation and viability . Antioxidation . Regulation of phosphorylation . Xenobiotic conjugation

* Adapted form Huxtable, Physiological Reviews Vol. 72, No. 1, Jan. 1992

Table 2. Taurine content of milk from various species*

Species	More than 5 day after birth	Less than 5 days after birth
	μmole/100ml	
Gebril	595	-
Cat	287	-
Beagle dog	191	264
Mouse(C57 B1/6J)	75	-
Rhesus monkey	56	61
Chimpanzee	26	71
Water buffalo	19	-
Man	34	41
Sheep	14	68
Guinea pig	17	56
Rat	15	63
Java monkey	14	-
Rabbit	14	-
Horse	3	-
Cow	1	31

* Adapted form Rassin et al., 1978 (76).

박 등(50, 65, 114)이 한국인 수유부를 대상으로 모유의 타우린농도를 측정한 바에 의하면 초유와 상유에 각기 54.9±5.8μmol/100ml과 23.3±4.1μmol/100ml의 타우린이 함유되어 있는 반면 우유내 타우린농도는 모유의 1/10 정도에 해당하는 1.0~3.3μmole/100ml (36, 76, 84)의 범위로 발표되었다.

포유류의 조직에서 타우린은 함황아미노산인 cysteine과 methionine으로부터 생합성되는데, 인체의 경우 타우린의 생합성에 관여하는 cysteine

dioxygenase와 cysteine sulfinate decarboxylase의 활성이 매우 낮아 타우린의 생합성이 거의 이루어지지 않고 있으며 따라서 외부로부터 타우린을 공급받아야만 한다(105). 정상적으로 음식물을 섭취하는 성인에게 있어서 타우린 결핍증의 임상적 보고는 없었지만 타우린이 첨가되지 않은 조제분유를 섭취하는 미숙아와 영아에 있어서 모유를 섭취하는 영아에 비해 혈장 타우린수준이 감소되었음이 보고된 바 있다(77, 78). 또한 영유아기는 신세뇨관의 미성숙으로 인해 타우린의 재흡수능력이 낮은 반면(111), 신체의 급성장으로 인한 체내의 타우린 요구도는 증가하는 시기로서 건강한 성장발달을 위해 타우린의 조건적 필수성(conditional essentiality)이 대두되고 있다. 미국에서는 조제분유에 타우린을 모유수준 (35μmol/dl)으로 첨가시키고 있으며(70), 현재 우리나라에서 시판되는 신생아용 조제분유에도 타우린이 부가적으로 강화되어 있다.

타우린 강화우유를 개발하기 위해 본 연구에서는 직접적인 타우린의 급여방법과 기질자극에 의한 타우린의 합성을 유도하기 위한 간접적인 방법으로 rumen protected methionine의 급여를 시도하였다.

우리나라에서는 많은량의 게 폐기물이 생산되어 환경오염문제가 우려될 정도로 버려지는데(118), 최근에는 키틴 등과 같은 유용한 생리활성물질이 함유되어 있음이 밝혀지면서 기능성 식품소재로서 게껍질의 이용가능성이 제시된 바 있으며(46, 61) 여러 가지 영양소가 다량 함유되어 있고, 타우린 또한 풍부하여 착유우의 사료에 첨가될 경우 유즙내 타우린성분의 이행뿐만 아니라 원유의 영양적 품질을 향상시키는 데에도 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

간접적인 방법의 첨가물소재로는 타우린합성의 전구체인 methionine과 경제적인 부담을 들어줄 수 있는 methionine hydroxy analog를 선택하여 반추위내 pH와 미생물에 의한 단백질의 분해정도를 감소시키기 위한 여러 가지 시

도 끝에 rumrn protected matrix형태로 제조하여 사양시험에 적용하였다.

본 연구개발의 주요 연구목적을 요약하면 다음과 같다.

사료첨가물을 이용한 타우린우유를 생산하기 위하여,

1. 유즙내 타우린함량을 증가시키는 사료첨가물과 조건들을 선택
2. 사양시험을 통해 타우린함량 및 유성분의 변화와 조성을 조사
3. 타우린 강화우유의 경제성 분석

제2절 연구개발의 내용 및 범위

본 연구과제는 타우린 및 타우린의 전구체가 되는 아미노산이 풍부한 게껍질의 급여 및 보호아미노산의 급여에 의한 타우린 강화우유를 개발하고자 수행되었으며 이를 요약하면 다음과 같다.

1. 게껍질 부산물을 이용한 타우린 강화우유 개발
   가. 게껍질을 건조 분쇄하여 게껍질 미투여구를 대조구로 한 사양시험
   나. Formaldehyde처리 게껍질 급여에 의한 타우린 함량과 유조성분 변화 조사
   다. 상기에서 유의성이 인정되는 첨가물 및 급여비율 등 제반 사양조건을 최적화

2. 보호아미노산 급여에 의한 타우린 강화우유의 개발

가. Rumen-protected DL-methionine의 제조

나. Rumen-protected MHA(Methionine Hydroxy Analog)의 제조

다. Rumen Protection Test

라. 보호아미노산의 사양시험을 통한 타우린함량 증가 및 유조성분 변화 조사

3. 생산비분석과 제품으로서의 경제적 타당성 분석

가. 원유생산비 분석

나. 제품경제성 분석

제 2 장 게껍질 급여시험

제1절 서 설

본 연구에 이용된 홍게는 우리나라 동해와 일본 서해, 북해도의 수심 500~2,000m에 분포, 서식하는 절족동물 물말이게과의 snow crab(*Chionoecetes japonicus*)으로 우리나라에서는 홍게를 포함한 꽃게, 영덕대게 등 게 폐기물이 매년 5.4×104톤 정도 생산되어 환경오염문제가 우려될 정도로 많은 양이 버려지는데(118), 최근에는 키틴 등과 같은 유용한 생리활성물질이 함유되어 있음이 밝혀지면서 기능성 식품소재로서 게껍질의 이용가능성이 제시된 바 있으며(46, 61) 현재 키틴, 키토산 키토올리고당 등과 같은 기능성소재 제품들이 활발하게 개발되어지고 있다. 게껍질을 알카리로 처리하여 단백질을 제거한 다음 다시 염산으로 칼슘을 제거하면 순수한 키틴이 남고 이를 고열처리하여 탈아세틸화하게 되면 키토산이라는 물질이 된다. 키틴-키토산을 부분분해하여 소화흡수가 용이하게 만든 키토올리고당과 같은 제품이 된다. 그러나 이들의 제조를 위한 추출가공후에는 역시 많은 량의 게껍질 부산물이 생성되어 버려지게 되는데, 부산물로는 특이하게도 게껍질은 단백질과 칼슘 등 영양소가 풍부하고 타우린 또한 상당량을 함유하여 착유우의 사료에 첨가될 경우 원유의 영양적 품질을 향상시키는데 기여할 수 있을 뿐만 아니라 폐기물의 생성이 전혀없는 완전한 자원재활용의 의미도 클 것으로 기대된다.

본 연구에서는 일차적으로 게껍질의 아미노산조성을 평가하고, 더 나아가 착유우를 대상으로 농후사료에 게껍질을 첨가시킴으로써 우유의 타우린함량을 높이는데 기여할 수 있는지를 확인하고자 시도되었다. 이와 같은 시도는 폐기물의 자원화라는 바람직한 측면 이외에도 '천연 타우린강화우유'를 생산

할 수 있다는 점에서 중요성이 크며, 특히 국내에서 시판되는 우유의 타우린 함량이 외국에서 생산되는 제품에 비해 월등히 높다는 점을 감안한다면 이와 같은 천연 타우린우유의 개발은 수입유제품에 대한 차별화된 제품으로서 평가받을 수 있을 것이다.

제2절 일반성분 및 아미노산 분석방법

1. 게껍질의 일반성분 분석

게껍질분말과 농후사료의 수분함량은 적외선 수분분석기(Ohaus MB200, USA)를 이용하여 측정하였으며, 조지방, 조단백질, 조섬유 및 회분함량은 AOAC 방법(1)에 따라 분석하였다. 우유시료의 유조성분은 Mikoscan(133B Foss Electric, Denmark)을 이용하여 측정하였으며, 상기의 분석은 모두 2회 반복 측정하여 평균값으로 제시하였다.

2. 게껍질의 유리아미노산농도 분석

게껍질분말 2g을 75% ethanol 100ml에 넣고 90℃에서 30분간 진탕한 다음 4℃ 7,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상징액을 분리하였다. 남은 잔사에 ethanol을 첨가하여 원심분리한 상징액을 앞에서 분리한 상징액과 함께 감압농축하여 ethanol을 제거하고 25% trichloroacetic acid와 ethyl ether를 첨가하여 섞은뒤 ether층과 굳어진층을 제외한 하층액을 분리하여 감압건조후 loading buffer(0.2N sodium citrate buffer, pH 2.2)에 용해한 다음 0.2㎛ filter(PVDF Aerodisc 13, Gelman Sciences)를 사용하여 여과하였다.

Table 3. Free amino acid analysis condition of Amino acid analyzer

Column	Biochrom 20 S/N 60668 P-0361 Resin 05647, Pharmacia UK
Mobile phase	0.2 M lithium buffer pH 2.80 0.3 M lithium buffer pH 3.00 0.5 M lithium buffer pH 3.15 0.9 M lithium buffer pH 3.50 1.65 M lithium buffer pH 3.55
Regeneration	0.3 M lithium hydroxide soln.
Injection volume	40$\mu\ell$
Flow rate	20ml/hr(Buffer, Nin/OPA)
Column temp.	34~85℃
Reac. coil temp.	135℃

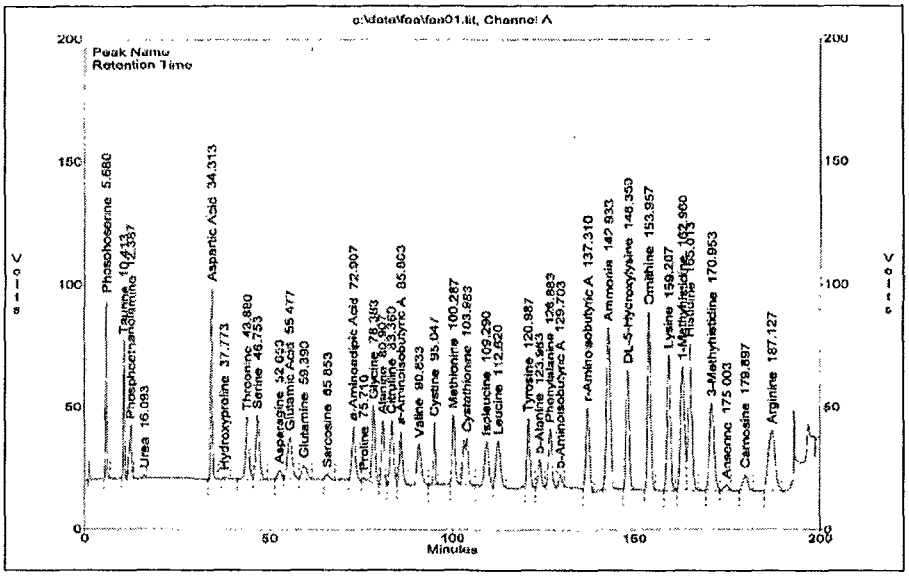

Fig 1. Chromatogram of the standard amino acid mixture (acidic and neutrals)

시료의 아미노산농도는 ion-exchange chromatography(58)에 입각한 아미노산 전용분석기(Biochrom 20, Pharmacia LKB Biotech, Cambridge, England)를 사용하여 측정하였다. Lithium high performance column을 이용하여 유리아미노산을 성공적으로 분리시키기 위해서 Table 3.에서 제시된 바와 같이 이동상으로 pH와 이온농도를 단계적으로 증가시킨 lithium citrate buffer를 20ml/h의 유속에서 사용하였다 (0.2M, pH 2.80; 0.30M, pH 3.00; 0.50M, pH 3.15; 0.90M, pH 3.50; and 1.65M, pH 3.55). Column을 통해 분리된 각 아미노산을 ninhydrin과 반응시켜 보라색의 착색물을 형성한 후 440nm와 570nm에서 흡광도를 각기 측정하였다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 산성이 강한 phosphoserine이 가장 먼저 column을 빠져나오고 taurine과 phosphoethanolamine이 그 뒤를 이었으며, 염기성이 강한 arginine이 마지막으로 분리되기까지 총 188분이 소요되었고, column을 씻어내고 재정비하여 다음 시료가 주입되기까지는 총 237분이 소요되었다.

각 시료의 아미노산농도는 0.5mM 표준아미노산용액(Sigma # A-6407 & A-1585), 20㎕을 주입하여 얻어진 peak의 면적을 각 시료에서 얻어진 peak의 면적과 비교하여 계산하였다. 반복실험의 오차계수(coefficient of variation)는 5% 이내이었으며, internal standard로 norleucine를 시료에 첨가시켜 시료의 전처리 및 분석과정에서 발생되는 손실을 보정하였다.

3. 게껍질 단백질의 가수분해 및 총아미노산 함량 분석

게껍질의 총아미노산함량을 분석하기 위해서는 단백질의 가수분해가 선행되어져야 하고, 이를 위해 Moore와 Stein(58)의 6N HCl 가수분해방법을 사용하였다. 가수분해된 게껍질 단백질의 아미노산함량은 위에서 언급된 아미노산 전용분석기를 사용하여 측정하였다. 단백질 가수분해물에 함유된 18가지 아미노산의 분리를 위해서는 sodium high performance column을 이용하여

Table 4. Basic amino acid analysis condition of Amino acid analyzer

Column	P-0306 Resin 05242
Mobile phase	0.2 M sodium citrate buffer pH 3.20 0.2 M sodium citrate buffer pH 4.25 1.2 M sodium citrate buffer pH 6.45
Regeneration	0.4 M sodium hydroxide soln.
Injection volume	40㎕
Flow rate	20ml/hr(Buffer, Nin/OPA)
Column temp.	45~90℃
Reac. coil temp.	135℃

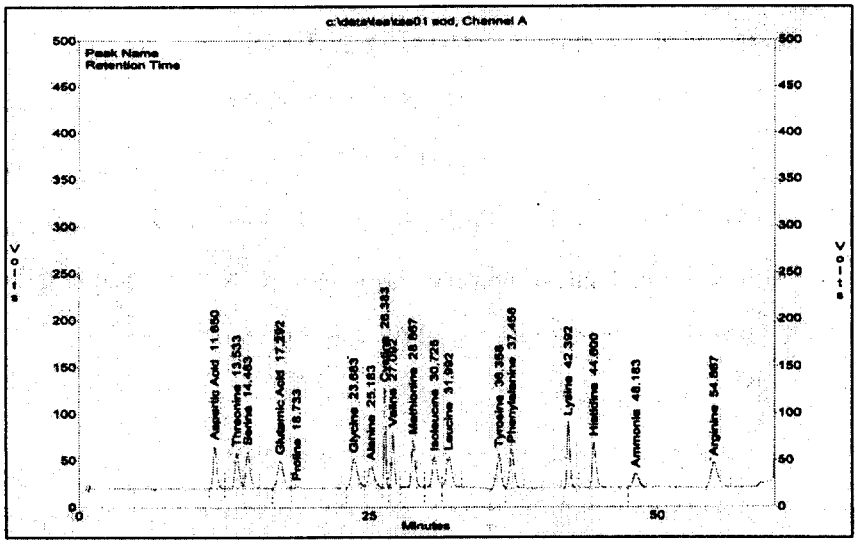

Fig. 2 Chromatogram of the standard amino acid mixture(Basics)

Table 4와 같은 조건으로 분석하였다. 이동상으로는 sodium citrate buffer를 pH와 이온농도에 따라 단계적으로 사용하였다.(0.2M, pH 3.20; 0.2M, pH 4.25; 1.2M, pH 6.45). Aspartate이 가장 먼저 column을 빠져나오고, arginine이 마지막으로 분리되기까지 48분이 소요되었으며, column을 씻어내고 재정비하여 다음시료가 주입되기까지는 약 65분이 소요되었다(Fig. 2)

4. 원유시료의 타우린함량 분석

현재까지 국내외 연구보고에서 미량이 함유된 액상의 우유시료내 타우린 분석방법에 관한 자료가 부족한 관계로 시료의 전처리와 정확한 분석방법에 관한 연구를 수행하였다.

Sarwar(84), Woollards & Indyk(108), Chen Zilin(11) 등이 제시한 liquid chromatography에 의한 방법으로 solvent 등 몇 가지 조건을 Table 5와 같이 조정하여 시료를 분석하였으나 detection limit가 0.1mg/ml 정도로(Fig. 3) 우유시료중 미량의 taurine 함량을 분석하기에는 적합치 않았다.

Mehaia(1992) 등이 보고한 전처리와 아미노산 전용 분석기를 통해 taurine의 함량이 낮은 우유시료와 첨가제 급여시험후 채취한 시료의 타우린 분석방법으로 이용하였다.

우유 시료 500㎕을 1.5ml microeppendorf tube에 취하고 20% sulfosalicylic acid 용액 125㎕를 가하여 vortex한 후 4℃에서 60분간 방치하였다. 14,000×g에서 10분간 원심분리하여 단백질을 침전물로 제거시키고, 상층액을 취하여 깨끗한 튜브에 옮긴 후 아미노산 분석기에 주입시키기 직전에 0.2㎛ filter (PVDF Aerodisc 13, Gelman Sciences)를 사용하여 여과하였다.

Table 5. Analysis condition of Reversed-phase liquid chromatography

Pump & Detector	D7000 Hitachi, Japan
Column	COSMOSIL 5PH-AR-300(4.6x250mm) Nacalai tesque Co., Japan
Column temp.	40℃
UV Detection	360nm
Flow rate	1.0ml/min
Solvent A	CH_3COOH/H_2O(pH 4.0)
Solvent B	CH_3CN/H_2O(1:3 V/V)
Eluent	Solvent A-B (95:5) at 0, (2:98) at 12, (95:5) at 22min

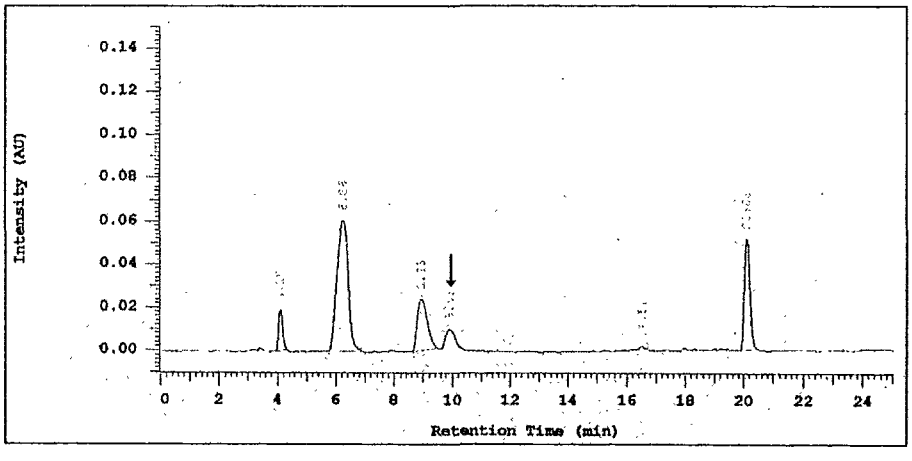

Fig. 3 Standard chromatogram of Reversed-phase liquid chromatography

우유시료의 타우린함량은 ion-exchange chromatography(58)에 입각한 아미노산 전용분석기(Biochrom 20, Pharmacia LKB Biotech, Cambridge, England)를 사용하여 게껍질의 유리아미노산 분석과 같은 조건(Table 3)으로 측정하였다. 전처리된 시료 40㎕를 아미노산 전용분석기의 lithium high performance column (90×4.6mm, Pharmacia LKB Biotech)에 주입하였으며 이동상으로 pH와 이온농도를 단계적으로 증가시킨 lithium citrate buffer를 20ml/h의 유속에서 사용하였다 (0.2M, pH 2.80; 0.30M, pH 3.00; 0.50M, pH 3.15; 0.90M, pH 3.50; and 1.65M, pH 3.55).

Column을 통해 분리된 각 아미노산을 ninhydrin과 반응시켜 보라색의 착색물을 형성한 후 440nm와 570nm에서 흡광도를 각기 측정하였다. 게껍질시료의 유리아미노산분석에서와 같이 산성이 강한 phosphoserine이 가장 먼저 column을 빠져나오고 taurine과 phosphoethanolamine이 그 뒤를 이었으며, 염기성이 강한 arginine이 마지막으로 분리되기까지 총 188분이 소요되었고, column을 씻어내고 재정비하여 다음 시료가 주입되기까지는 총 237분이 소요되었다(Fig. 1). 여러개의 우유시료에 일정량의 타우린을 첨가시켜 회수율을 측정한 결과 98~102% 범위의 높은 회수율을 보였다.

5. 통계처리

게껍질급여가 우유의 타우린농도에 미치는 영향은 one-way ANOVA test에 의해 $p<0.01$ 수준에서 유의성 여부를 검증하였으며, 각 실험군간의 평균값의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 $p<0.01$수준에서 검증하였다.

제3절 게껍질부산물 및 formaldehyde처리 게껍질의 제조

1. 게껍질 부산물의 제조

사양시험에 사용된 게껍질은 영덕지역의 홍게(Snow crab, *chionoecetes japonicus*)에서 얻어진 것으로 경북 영덕군내 연간 1,700톤(1일 5톤 정도)이 발생된다. 그라당, 커틀릿, 청크, 바이트 등의 식품재료로 이용되는 게살, 등뚜껑과 집게다리부분을 떼어낸 후, 버려지는 나머지 부위의 게껍질 부산물(이하 게껍질분말)을 경북 영덕군 강구면 오포리 소재 태훈산업주식회사 강구공장에서 수집하여,에덴농장(경북 영덕군 강구면)에서 직경 5mm이하로 분쇄한 다음 24시간 이상 일광건조하여 사용하였다.

2. Formaldehyde 처리 게껍질의 제조

게껍질의 formaldehyde 처리를 위해서는 Chalupa 등(2, 3, 10, 55)의 보고에 따라 단백질 중량당 0.5%로 처리되도록 formaldehyde(Sigma # F-1268)용액에 침지하여 1시간 동안 정치한 다음 수분함량이 10%미만이 되도록 50℃에서 72시간 동안 건조한 후 사용하였다.

제4절 사양시험

1. 공시가축 및 시험기간

사양시험을 위해 체중 550~650kg, 평균 산유량 20~30kg/day의 Holsteine 젖소 25두를 공시하여 1999년 2월 6일부터 3월 6일까지 30일간 경북 영덕군 영해면 소재 김영칠씨 목장에서 사양시험을 수행하였다.

2. 시험설계 및 급여사료

25두의 젖소를 난괴법에 의해 5군으로 나누고, 각기 대조사료, 게껍질분말 1% (1%CS), 게껍질분말 3%(3%CS), 게껍질분말 5% 첨가사료(5%CS)와 formaldehyde로 처리된 게껍질분말 3% 첨가사료(3%FCS)를 30일간 급여하였다. 사양시험에 이용된 모든 개체에게 농후사료는 15kg/day씩 제한 급여하였고, 물과 조사료는 무제한 급여하였다. 1%CS, 3%CS 및 5%CS군에는 게껍질분말을 1일 2회(06:00와 18:00) 착유시 농후사료와 함께 각기 150, 450, 750g/day씩 급여하였고, 3%FCS군에는 formaldehyde로 처리된 게껍질분말을 농후사료와 함께 450g/day씩 제한급여하였다. 본 시험에 사용된 농후사료는 낙농스타프라임 3호(농협중앙회, 울산 배합사료공장)로 배합비는 Table 6와 같으며, 조사료로 아끼바레볏짚을 무제한급여하였다. 농후사료의 자세한 영양성분조성은 Table 7에 제시된 바와 같다.

3. 사양관리

본 연구에서는 급여사료를 규격화하고, 착유시에만 농후사료와 함께 첨가물을 급여하는 제한급여 방식을 채택하여 일정한 섭취량을 시험기간내 계속 유지하고자 하였다. 시험개체별 원유시료는 착유기와 파이프라인 사이에 시료채취기(Waikato milk meter Mark 5, Newzealand)를 장착하여 게껍질 급여전과 급여후 30일째에 채취하였다.

Table 6. Ingredients of the concentrated feed

Ingredient	%	Remarks
Grain	49.0	corn, wheat, rye, lupin
Brans	20.0	wheat bran, flour, cane, alfalfa
Meals	16.0	soybean, rapeseed, palm
Fiber	10.0	mixed fiber
Vitamin and mineral premix	1.7	
Additives	1.5	growth factor, probiotics, drug, etc.
Limestone	0.7	
NaCl	0.6	
Buffer	0.5	
Total	100	

Table 7. Composition of the concentrate feed

Item	%(Dry matter basis)
Dry matter	87.5
Crude protein	16.0
Crude fat	3.5
Crude fiber	8.9
Crude ash	6.2
NFE(Nitrogen Free Extract)	52.4
TDN(Total Digestible Nutrient)	71.2
NDF(Neutral Detergent Fiber)	23.3
ADF(Acid Detergent Fiber)	13.8

제5절 결과 및 고찰

1. 게껍질의 일반성분 조성

유선조직에서 유즙이 합성되기 위해서는 영양소의 적절한 공급을 필요로 하며, 따라서 사료뿐 아니라 사료에 첨가되는 게껍질믹스에 대한 일반 영양성분의 분석이 우선적으로 이루어져야 한다. 본 연구에 이용된 게껍질분말는 28.2%의 조단백질을 함유하고 있어 유단백질 합성의 재료가 되는 아미노산을 풍부히 제공할 것으로 생각된다. 이외에도 41.5%의 조회분과 22.5%의 조섬유를 함유하는 것으로 분석되었다(Table 8). 이와같은 결과는 우리나라에서 생산되는 게폐기물의 주된 성분이, 갑각류의 종과 계절에 따라 차이를 보이기는 하지만, 일반적으로 단백질 30~40%, 탄산칼슘 30~50%와 키틴 20~30%으로 구성되어 있다는 선행보고들(46, 61)과 유사하였다(Table 9).

고염식이는 물의 섭취를 증가시켜 반추위내 소화물의 보유시간을 감소시키는 경향이 있어 20% salt식이급여시 물의 섭취량과 털의 성장속도가 빨라진다는 보고(10)가 있는바 게껍질의 경우 상기와 같은 효과가 기대될 만큼 염의 함량이 높았다.

2. 게껍질 단백질의 아미노산조성

게껍질 분말에 함유된 단백질 가수분해물의 아미노산함량을 분석한 결과는 Table 10에 제시되어 있으며 chromatogran은 Fig. 4와 같다. 게껍질분말의 아미노산 분석시 참고로 집게다리껍질 및 등뚜껑에 함유된 단백질의 아미노산조성을 함께 분석하였다. Table 10에서와 같이 단백질 가수분해물의 아미노산조성은 게껍질 부위별로 매우 유사한 패턴을 나타냈다.

Table 8. Nutrient contents of crab shell meal

Item	%
Moisture	13.9
Crude protein	28.2
Crude fat	0.16
Crude fiber	22.5
Mineral	41.5

Values are average of duplicate analyses.

Table 9. Mineral contents of crab shell meal

Mineral	mg/100g
Ca	18,800
P	1,300
Fe	18.6
Mn	11.3
Zn	0.25
Cd	0.82
Co	0.12
Cr	0.16
Cu	1.25
K	164
Mg	634
Na	493

Values are average of duplicate analyses.

Table 10. Amino acid concentrations of crab shell protein hydrolyzates

Amino acid(mg/g)	**Crab shell meal**	Front leg shell	Back shell
Aspartic acid	**26.7**	20.7	25.5
Threonine	**11.2**	7.5	10.7
Serine	**15.1**	14.3	15.7
Glutamic acid	**30.4**	21.8	29.3
Proline	**8.0**	8.4	9.9
Glycine	**17.9**	15.2	18.1
Alanine	**13.9**	10.3	13.5
Cystine	**1.5**	0.5	1.3
Valine	**10.5**	8.4	10.6
Methionine	**2.0**	0.8	2.0
Isoleucine	**2.9**	1.9	3.3
Leucine	**4.1**	2.4	3.9
Tyrosine	**0.8**	0.3	0.7
Phenylalanine	**33.4**	58.4	38.5
Lysine	**4.6**	3.8	4.6
Histidine	**12.2**	5.9	10.8
Arginine	**12.0**	8.8	11.3

Values are average of two hydrolyzates.

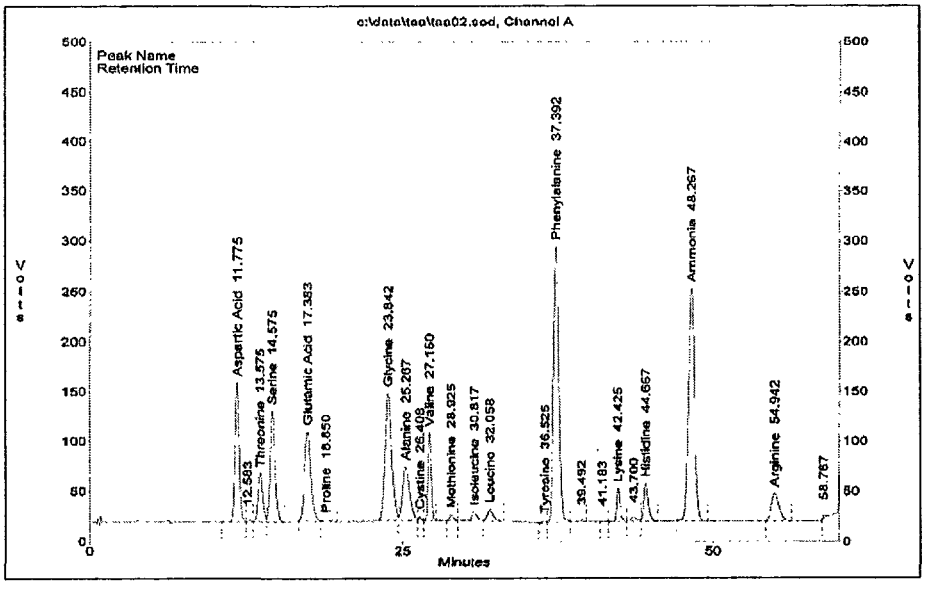

Fig 4. Chromatogram of total amino acids in crab shell

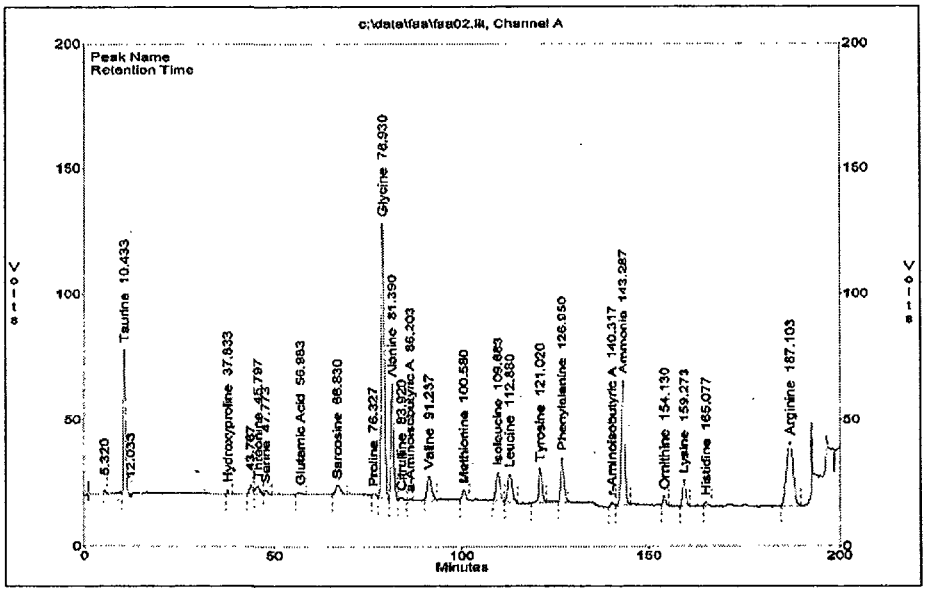

Fig 5. Chromatogram of free amino acids in crab shell

게껍질분말에 함유된 단백질의 아미노산조성은 phenylalanine이 가장 높은 반면(33.4mg/g), phenylalanine에서부터 합성 가능한 tyrosine의 농도(0.8mg/g)는 상대적으로 매우 낮았다. Phenylalanine 다음으로는 산성아미노산인 glutamate과 aspartate의 함량이 높았고, 그 다음으로 glycine, serine, alanine, histidine, arginine, threonine과 valine이 17.9~10.5mg/g 범위의 농도로 게껍질분말에 함유되어 있었다. Branched-chain 아미노산이 주된 구성아미노산인 다른 동물조직의 단백질과는 달리 게껍질단백질에는 leucine과 isoluecine의 함량이 각기 4.1과 2.9mg/g로 비교적 낮았다.

본 연구에서 단백질의 가수분해를 위해 이용된 6N HCl 방법은 trypophan, 그리고 함황아미노산인 cysteine과 methionine을 파괴시키는 단점을 가지고 있으며(58), 따라서 본 연구결과에서도 이들의 함량이 거의 0에 가깝게 나타났다.

이상에서 살펴본 게껍질 단백질의 아미노산조성은 젖소의 사료로 이용되는 곡물단백질의 아미노산조성과 매우 상이한 패턴을 지니므로 게껍질을 사료에 첨가시 아미노산 보충효과를 통한 단백질의 질적 개선을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

3. 게껍질의 유리아미노산 함량

게껍질에 함유되어 있는 유리아미노산 함량 역시 게껍질분말, 집게다리와 등뚜껑부위로 구분하여 분석하였다(Table 11, Fig. 5). 타우린은 세가지 부위의 게껍질시료에서 모두 가장 고농도로 존재하는 유리아미노산중의 하나였으며, 특히 집게다리껍질에 509 μmol/100g이 함유되어, 등뚜껑(319 μmol/100g) 및 게껍질분말(296 μmol/100g)에 비해 월등히 그 함량이 높았다. 게살의 타우린함량은 껍질보다 약 10배정도 더 높아 종류에 따라 약 3,200~5,600 μmol/100g(406~721mg/100g)의 타우린을 함유하고 있는 것으로 나타나 있다(119).

Table 11. Free amino acid concentrations of crab shell(μ mol/100g)

Amino acid	**Crab shell meal**	Front leg shell	Back shell
Phosphoserine	**0**	0	0
Taurine	**296**	**509**	**319**
Phosphoethanolamine	**0**	0	0
Urea	**0**	0	0
Aspartic acid	**0**	0	0
Hydroxyproline	**0**	0	0
Threonine	**8.9**	20.7	14.1
Serine	**13.2**	9.3	11.8
Asparagine	**0**	0	0
Glutamic acid	**8.9**	7.3	25.5
Glutamine	**0**	0	0
Sarcosine	**174**	244	353
Proline	**290.4**	73.1	94.9
Glycine	**301**	411	270
Alanine	**138**	217	287
Citruline	**6.6**	5.9	24.0
α -Aminoisobutyric acid	**0**	3.3	6.4
Valine	**57.3**	72.8	124
Cystine	**0**	0	0
Methionine	**0**	2.4	4.2
Cystathionine	**0**	0	0
Isoleucine	**50.0**	69.3	87.6
Leucine	**54.9**	72.5	102
Tyrosine	**40.7**	65.6	26.7
β -Alanine	**0**	0	0
Phenylalanine	**45.5**	94.9	82.3
β -Aminoisobutyric acid	**0**	0	0
γ -Aminoisobutyric acid	**5.3**	5.6	11.2
DL-5-hydroxylysine	**0**	0	3.4
Ornithine	**3.3**	5.9	5.8
Lysine	**14.0**	24.2	23.2
L-methylhistidine	**0**	0	0

Values are average of duplicate analyses.

닭고기 및 돼지고기의 타우린함량을 분석한 연구(120)에 의하면 운동을 많이 하는 다리부분은 다른 부위 살코기의 약 2~8배에 해당하는 타우린을 함유하는 것으로 보고된바 있으며 게살의 타우린함량을 앞다리와 몸통부분으로 구분지어 분석한 연구보고는 없었으나, 집게다리 껍질의 타우린함량이 다른 부위 껍질에 비해 더 높게 나타난 본 연구의 결과는 집게다리부위의 게살에 다른 부위에 비해 타우린이 농축되어 존재할 가능성을 시사하는 것이다. 운동을 많이 하는 근육의 경우 운동을 하지 않는 근육에 비해 타우린함량이 더 높을 수 있다는 가정은 앞으로 동물을 대상으로 한 운동부하실험에서 명확히 규명될 수 있을 것으로 생각된다.

집게다리부위의 게껍질에는 taurine 다음으로 glycine, sarcosine 및 alanine의 함량이 높았다. 게껍질의 sarcosine농도는 174~353 μmol/100g으로 비교적 높았으며, 특히 등뚜껑부위에서 가장 높게 나타났다. 함황아미노산이며 타우린의 전구체인 methionine함량은 세가지 종류의 게껍질시료에서 모두 매우 낮았으며, branched chain 아미노산인 valine, leucine 및 isoleucine의 농도는 50~124 μmol/100g의 범위를 나타내 유리아미노산중에서 중간정도의 농도를 나타냈다.

집게다리와 등뚜껑부위를 제외한 게껍질분말의 경우 대부분의 유리아미노산 농도가 집게다리껍질 또는 등뚜껑부분에 비해 낮게 나타나는 경향을 보였으나, 흥미롭게도 proline의 농도는 이 두 가지 부위에 비해 3~4배정도 더 높게 나타났다. 게껍질분말의 유리아미노산조성을 살펴보면 glycine과 taurine농도가 각기 301과 296 μmol/100g으로 가장 높았고, proline, sarcosine 및 alanine의 순으로 그 농도가 높았다.

4. 게껍질분말의 급여가 우유의 타우린농도에 미치는 영향

Taurine과 phosphoserine, phosphoethanolamine, urea 등을 함유하는 표준 아미노산용액 39종의 chromatogram이 Fig. 1에 제시되어 있다. 게껍질 분말과 formaldehyd 처리한 게껍질 분말을 급여한 원유시료의 taurine peak는 phosphoethanolamine peak 및 phosphoserine peak와는 완전히 분리되어진 단일 peak로 분리되었으며, resolution time은 약 10.2~10.5분 정도였다. 한편, 같은 아미노산 전용분석기에 의해 분리된 우유시료의 유리아미노산 chromatogram을 표준아미노산용액의 chromatogram(Fig. 1)과 비교해 보면, taurine peak 바로 앞부분(약 9.28분 정도)에서 unknown peak가 검출되는 특징을 나타낸다(Fig. 6). 다양한 식품시료를 대상으로 타우린농도를 분석한 결과에서도 오직 우유 및 유제품시료에 국한되어 같은 위치에 이와 같은 unknown peak가 나타났으며 게껍질의 유리아미노산 분석시에도 우유시료의 경우에서와 같은 unknown peak는 나타나지 않았다. 일정량의 타우린을 우유시료에 첨가시켜 spiking test를 해 본 결과 약 10.2~10.5분 정도에 나타난 peak가 진정한 타우린 peak임을 재차 확인할 수 있었다. 한편, Fig. 6의 unknown peak가 타우린과 구조가 유사한 타우린 전구체, 또는 대사물일 가능성을 확인하기 위하여 cysteine sulfinic acid, cysteic acid, isethionic acid, hypotaurine 등을 우유시료에 첨가하여 spiking test를 해 본 결과 peak가 일치하지 않았고, 따라서 적어도 이들 4가지 대사물은 아닌 것으로 밝혀졌다.

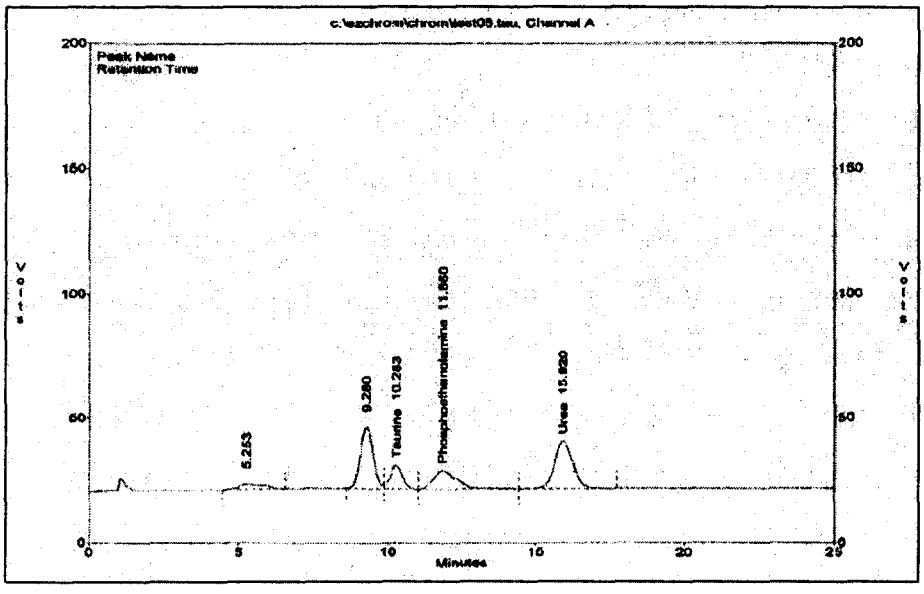

Fig 6. Chromatogram of crabshell fed cow's milk sample by amino acid analyzer

게껍질분말과 formaldehyde로 처리된 게껍질분말을 사료에 보충시켜 30일간 급여한 후 채취한 원유의 타우린농도는 Fig. 6와 같다. 먼저 대조구에서 채취한 원유의 타우린농도는 4.84±0.29 μmole/100ml로 나타났는데, 이는 Rassin 등(76)이 보고한 수치인 1.0 μmole/100ml의 약 5배, 그리고 Harris등(36)이 보고한 수치인 1.7~3.3 μmole/100ml의 약 2배에 해당되는 수치이다. 이에 대한 주된 이유 중의 하나로 비유우용 농후사료에 함유된 타우린 및 함황아미노산 농도의 차이를 들 수 있겠다. 서구의 경우 건초, 청예 등 단백질함량이 낮은 식물성 사료에 의한 사양이 일반적이지만, 조사료의 수급사정이 원활하지 못한 국내에서는 식물성단백질외 함황아미노산 등을 보강한 단백질함량이 높은 농후사료의 급여량이 많기 때문으로 생각된다. 포유류의 타우린 또는 함황아미노산 섭취량이 유즙의 타우린함량에 반영될 수 있다는 가능성은 채식주의자(vegetarian) 수유부의 모유내 타우린농도가 비채식주의자(omnivore) 수유부의 모유내 타우린농도보다 유의적으로 더 낮다는 보고(12, 50, 75)에서도 밝혀진 바 있다. 같은 맥락에서 본 연구에서는 농후사료의 섭취량이 높은 겨울철 원유에 더운 날씨와 스트레스로 인해 사료섭취량이 떨어지는 여름철 원유에 비해 약 15~25%정도 더 높은 타우린이 함유되어 있음을 관찰하였다.

단백질합성에 이용되지 않은 채 생체내에서 유리아미노산으로 존재하는 타우린은 동물의 거의 모든 조직에서 밀리몰 범위의 고농도로 존재하는 반면, 식물성 조직에서는 일부 해조류(43, 90)를 제외하고는 거의 발견되지 않는다(69). 반추동물은 단위동물에 비해 조직, 혈액, 뇨 및 유즙의 타우린 및 시스테인함량이 매우 낮은데, 이는 초식동물인 반추동물이 섭취하는 사료에 타우린이 결핍되어 있다는 사실로 미루어 볼 때 지극히 당연한 결과로 사료된다.

게껍질분말의 급여가 우유의 타우린농도에 미치는 영향을 one-way ANOVA에 의해 평가한 결과 $p<0.01$ 수준에서 유의성이 관찰되었다(Fig. 7). 1%의 게껍질분말이 첨가된 사료를 섭취한 젖소에서 착유된 원유의 타우린농

도는 5.84±0.73 μmole/100ml로 대조구에 비해 약 20%정도 더 높았으며, 3%의 게껍질분말사료를 급여한 군의 원유에는 7.21±0.77 μmole/100ml의 타우린이 함유되어 대조구에 비해 49%정도 유의적으로 증가하였다($p<0.01$). 한편 5%의 게껍질분말 급여시 원유의 타우린농도는 5.14±0.26 μmole/100ml로 3%CS군에 비해 다시 유의적으로 감소하였고, 사료에 formaldehyde로 처리된 게껍질 3%를 첨가한 경우 원유의 타우린농도가 4.79±0.19 μmole/100ml로 나타나 3%CS군에 비해 유의적으로 낮았다($p<0.01$).

Harris 등(36)의 보고에 의하면 반추위 분해를 막기 위한 rumen protected methionine을 젖소에게 공급해 준 결과 원유의 타우린농도가 3.58 μmol/100ml로 대조구(1.98 μmol/100ml)에 비해 약 2배정도 유의하게 증가하였음을 관찰하였다. 본 연구에 이용된 개체는 매일 15kg의 농후사료를 공급받았고, 따라서 1%CS, 3%CS 및 5%CS군의 젖소가 섭취한 타우린함량은 적어도 444, 1,332 및 2,220 μmole/day에 해당된다. 이와 같이 다량의 타우린이 급여되었음에도 불구하고 원유의 타우린농도 증가폭이 선행연구(36)에 비해 적게 나타난 것에 관하여는 다음과 같은 두 가지 가능성을 생각해 볼 수 있겠다. 첫째로 본 연구의 대조구에서 채취된 원유의 타우린농도가 4.84 μmol/100ml로 이미 외국의 수치에 비해 월등히 높은 상태에서 게껍질급여를 시작하였기 때문에 원유의 타우린농도 증가폭이 비교적 더 낮게 나타날 수 있을 것으로 사료된다.

두번째는 타우린이 반추미생물에 의해 암모니아와 sulfate로 분해되었을 가능성을 들 수 있겠다. 포유류의 경우 일반적으로 타우린은 함황아미노산 대사의 최종산물로 더 이상 분해가 되지 않은 것으로 알려져 있고, 따라서 인체의 경우 섭취된 타우린의 95%정도가 소변으로 배설되어진다(102). 아울러 흡수되지 않은 채 대장으로 운반된 타우린은 박테리아에 의해 sulfate과 암모니아로 분해됨이 인체와 쥐에서 보고된 바 있다(39, 87).

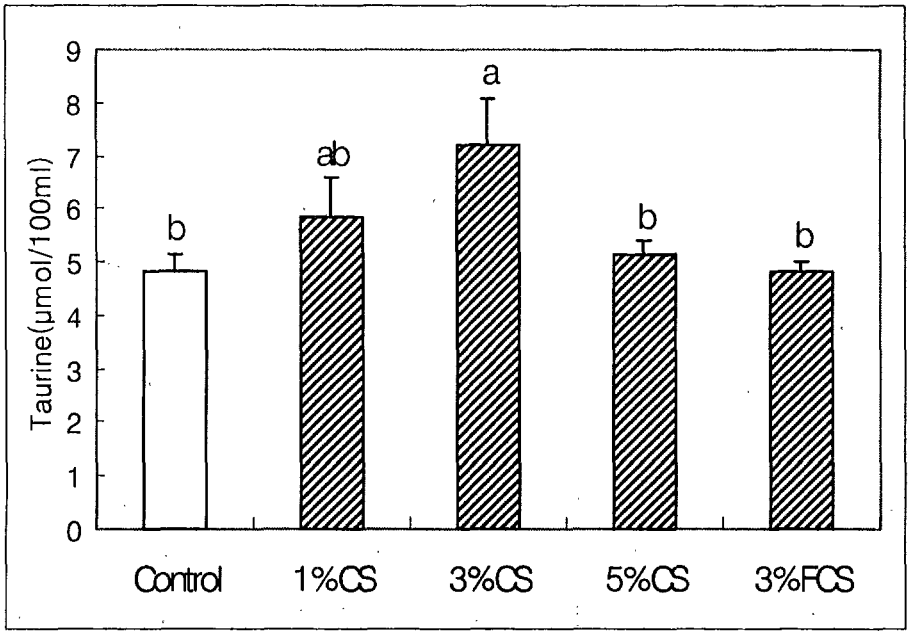

Fig 7. Concentration of taurine in raw milk sample from dairy cows fed crab shell supplemented feeds.

Values are means ± SEM of 5 cows. Different alphabets above the bar indicate significant difference by the Duncan's multiple range test at $p<0.01$.

1%CS : 1% crab shell meal

3%CS : 3% crab shell meal

5%CS : 5% crab shell meal

3%FCS : 3% formaldehyde treated crab shell meal

30일동안 게껍질분말과 formadehyde처리 게껍질분말 급여후 채취한 원유시료의 유조성분 변화를 관찰하기 위해 유지방, 단백질, 유당, 총고형분, 무지유고형분에 관한 분석결과 유의적인 증감의 변화는 나타나지 않았다(Fig. 8~12).

반추동물의 위에서 미생물에 의한 타우린 분해가 어느 정도까지 진행되는가에 관하여는 현재까지 전혀 알려진 바가 없으나, 단위동물에 비해 장내 미생물의 작용이 활발한 반추동물에 있어서 섭취된 타우린의 상당량이 흡수되기 전에 분해되었을 가능성이 있을 것로 생각된다. 반추위내에서 미생물은 강력한 proteinase와 deaminase 활성을 나타내 단백질과 아미노산을 분해시키고, 이를 억제하기 위하여 본 연구에서는 formaldehyde로 처리한 게껍질분말을 급여하였으나, 결과적으로 게껍질내 타우린을 보호하거나 formaldehyde 처리된 게껍질의 단백질이 유조성분 합성에 관계하여 타우린농도 증가에 기여하는 효과를 나타내지는 못하였다. Formaldehyde처리는 아미노기와 아마이드기간에 가역적인 cross linkage를 형성함으로써 단백질의 용해도를 감소시키고(2, 10, 55), 4위(abomasum)의 산성 pH에서 linkage가 파괴되어 host에 이용되는 원리를 이용한 것이라는 점을 감안한다면 유리상태로 존재하는 타우린의 경우 formaldehyde에 의한 용해도 저하 효과가 매우 미미할 것으로 생각되며, 따라서 반추위에서 타우린을 보호하기 위한 다른 방법을 시도해야 할 것으로 생각된다.

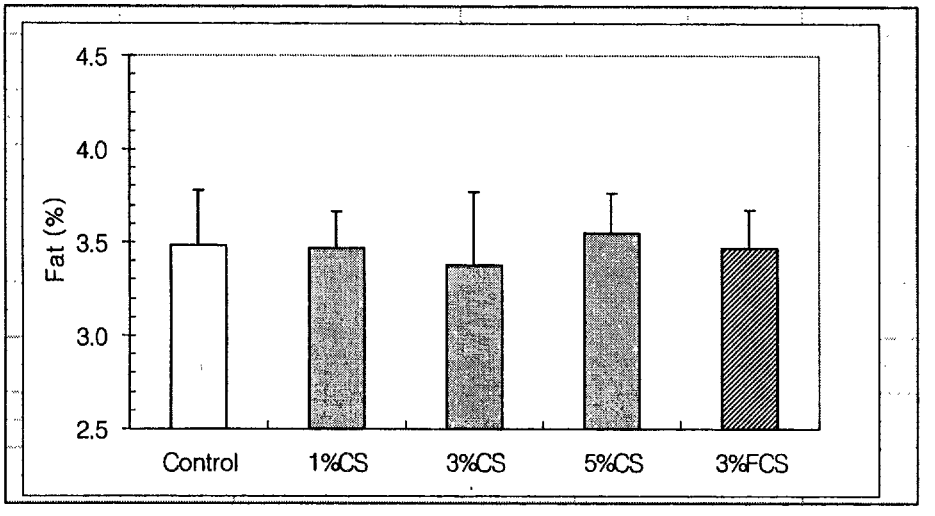

Fig. 8 Effect of crab shell meal supplementation on Fat of dairy cow's milk

· Values are means ± SEM of 5 cows.

1%CS : 1% crab shell meal

3%CS : 3% crab shell meal

5%CS : 5% crab shell meal

3%FCS : 3% formaldehyde treated crab shell meal

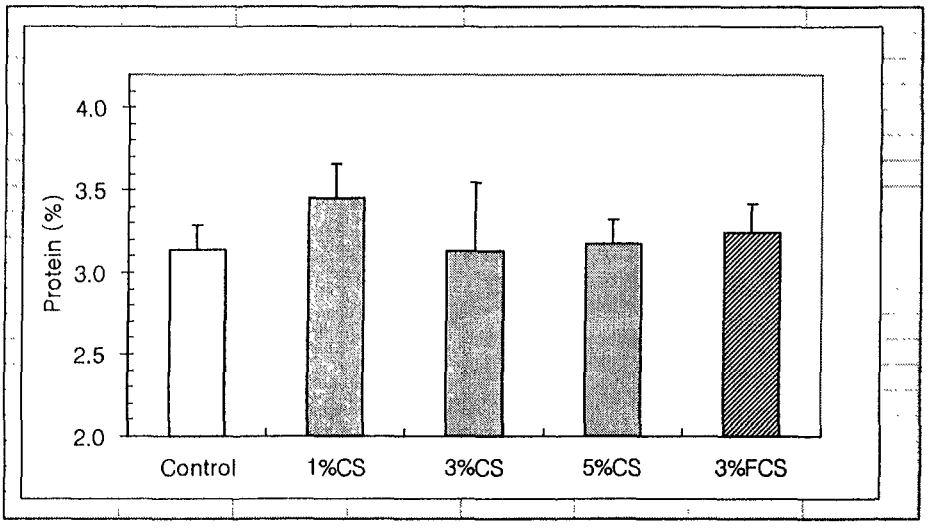

Fig. 9 Effect of crab shell meal supplementation on protein of dairy cow's milk

Values are means ± SEM of 5 cows.

1%CS : 1% crab shell meal

3%CS : 3% crab shell meal

5%CS : 5% crab shell meal

3%FCS : 3% formaldehyde treated crab shell meal

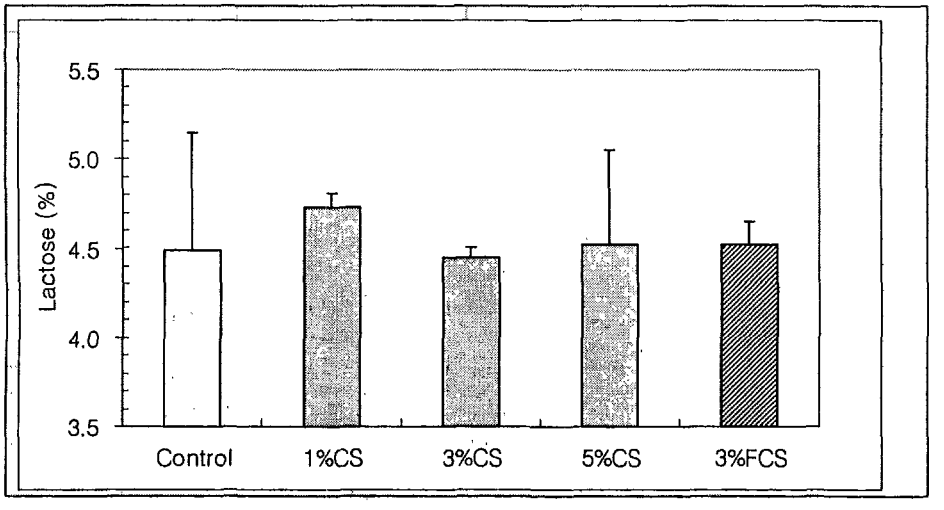

Fig. 10 Effect of crab shell meal supplementation on lactose of dairy cow's milk

Values are means ± SEM of 5 cows.

1%CS : 1% crab shell meal

3%CS : 3% crab shell meal

5%CS : 5% crab shell meal

3%FCS : 3% formaldehyde treated crab shell meal

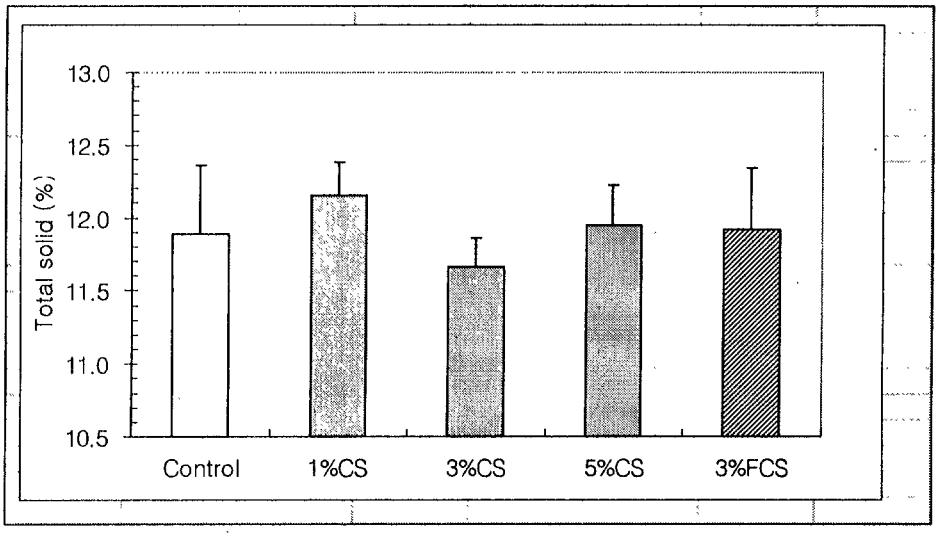

Fig. 11 Effect of crab shell meal supplementation on Total solid of dairy cow's milk

Values are means ± SEM of 5 cows.

1%CS : 1% crab shell meal

3%CS : 3% crab shell meal

5%CS : 5% crab shell meal

3%FCS : 3% formaldehyde treated crab shell meal

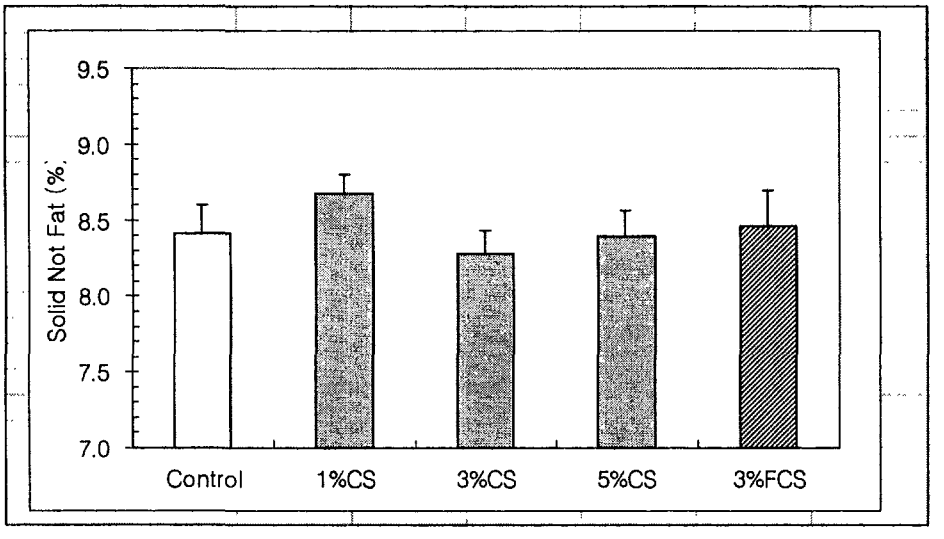

Fig. 12 Effect of crab shell meal supplementation on Solid Not Fat of dairy cow's milk

Values are means ± SEM of 5 cows.

1%CS : 1% crab shell meal

3%CS : 3% crab shell meal

5%CS : 5% crab shell meal

3%FCS : 3% formaldehyde treated crab shell meal

제 3 장 보호아미노산 급여시험

제1절 서 설

Taurine 대사에 관계된 여러 가지 연구보고와 대사경로(Fig. 13)를 조사해본 바에 의하면(36) 타우린의 전구체는 cysteine, methionie과 같은 함유황 아미노산으로 이들 아미노산은 모든 동물의 단백질대사에 있어서 필수적이며 특히 우유단백질 합성에는 제1제한 아미노산으로 평가되어진다. 단위동물에 비해 반추동물의 조직과 혈액, 뇨, 유즙 등에는 cysteine과 taurine 함량이 매우 낮은데 이는 유전적, 생리적인 원인도 있겠지만 반추동물은 모두 초식동물이므로 이들이 섭취하는 식물성 단백질에는 taurine과 taurine의 공급원이 결핍되어 있다는 사실로 미루어 보아 반추위에 분해되지 않고 소장에서 흡수되어지는 rumen protected methionine을 추가 급여시 기질 자극에 의한 유단백질 조성의 변화와 함께 타우린함량의 증가를 기대할 수 있다. 타우린의 합성과 비유에 관계되는 이들 아미노산의 소장내 소화를 위해서는 rumen bypass와 protection이 중요하며 이를 위해서는 화학적처리와 encapsulation 방법이 유효할 것으로 기대된다.

반추위내 미생물은 강력한 protease와 deaminase activity를 가져 액상상태의 반추위내에서 가용성인 단백질과 아미노산을 신속하게 분해한다. 이러한 반추위내에서 단백질과 아미노산의 분해정도를 감소시키는 방법에는 열처리, 화학적 처리, amino acid analog 이용, encapsulation, esophageal groove closure, 반추대사경로 균형의 선택적 조작 등의 방법이 있는데(10, 13) 이들 과정이 반추대사와 반추후 소화흡수에 방해가 되어서는 안되는 것이 중요하다.

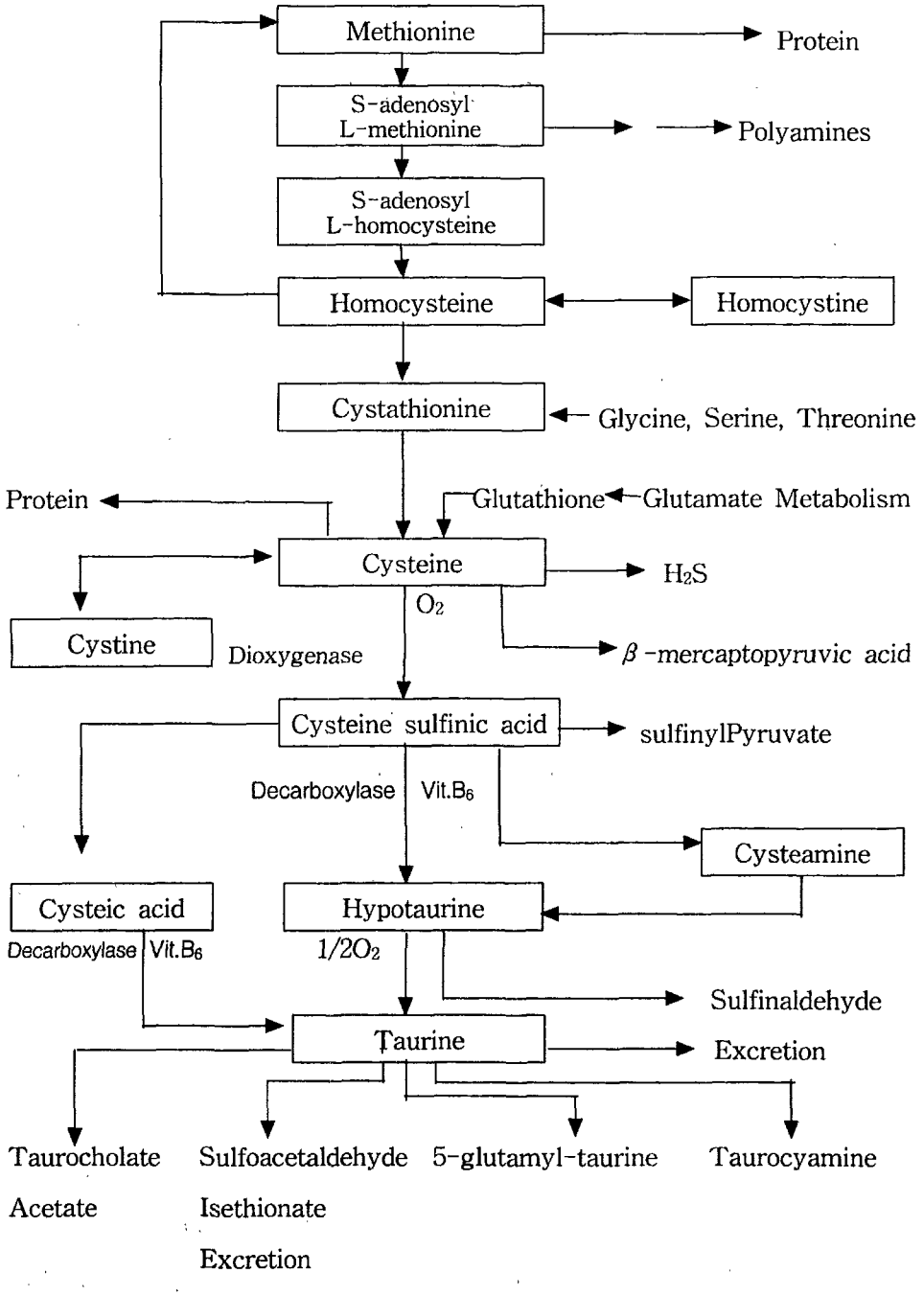

Fig. 13 Metabolism of sulfur amino acids to form taurine*

* K.C. Hayes et al. Adv. Exp. Med. Biol. 139, 1981.

반추동물의 소장에서 흡수되는 아미노산의 source는 반추위내 미생물에 의해 합성된 단백질과 반추위를 bypass한 분해되지 않은 식이단백질 및 내인성 분비로, 내인성 분비의 경우는 직접적으로 아미노산에 영향을 미칠 수 없으나 나머지 두 경우는 인위적으로 조정이 가능하다.

본 연구에서 유즙내 타우린합성의 전구체로서 농후사료와 함께 공급하는 methionine이 rumen를 bypass하여 소장에서 소화흡수된 다음 유선조직에 도달하기 위해서는 pH 5.3의 반추위내에서 10~30시간 동안 반추위 미생물의 효소작용과 pH에 대해서 안정성을 가지는 동시에 pH 2.9의 4위에서 2시간 이내 용출되어 소장에서 흡수되는 조건을 충족시켜야 한다. 이를 위한 제조방법으로 불용성물질, 충진제 등의 첨가물을 methionine과 배합하여 spray drying, fluidized bed drying, extrusion, pelletizing 등과 같은 과정을 거쳐 물리적인 충격과 반추위내 pH와 미생물 효소작용에 안정된 사료첨가제를 제조하는 방법을 시도하였다.

제2절 Rumen protected DL-methionine 제조

1. Rumen protected DL-methionine의 성분조성

보호아미노산 제조시 coating material은 대사와 영양에 아무런 영향을 미치지 않는 생체적용이 가능한 소재로 최소량을 사용하여 methionine의 배합비율이 60% 이상 되도록 하였다. 반추위 미생물의 효소작용에 저항성을 가지도록 fatty acid를 배합하였고 물리적, 기계적 충격에 안정한 입자크기 φ3~6mm, 비중 1.0~1.05 정도의 구형으로 만들어 운반과 보존, 타 사료와의 응용을 용이하게 하였고 저작에 의한 입자 파괴를 최소화하도록 제조하였다.

By-pass methionine matrix의 조성은 Table 12.와 같으며 hydrogenated beef tallow는 입자를 불용성으로 만드는 주성분으로 가격이 저렴하며(1,000원/kg) 60℃이하에서 고화되는 특성을 가져 20~25% 정도 첨가로 그 목적을 달성할 수 있었다.

Table 12. Ingredients of Rumen protected DL-methionine matrix

Ingredients	%
DL-methionine	65.2000
Beef tallow	24.2000
Starch	7.0000
Gelatin	2.7000
$Ca(OH)_2$	0.4194
Tween 80	0.3600
Vitamin E	0.1170
Defoamer	0.0036
Total	100.0000

$Ca(OH)_2$는 core 물질의 pH을 상승시키며 beef tallow와 결합시 hardness 제공하여 반추위내 용해도 저하에 큰 효과가 있다. Emulsifier는 폴리글리세린 지방산에스테르류 유화제로 beef tallow와 gelatin sol.을 유화시키고 defoamer는 gelatin sol. 제조시 소포 및 유화효과를 가진다. Gelatin은 beef tallow와 methionine의 binder로 작용하며 Vitamin E는 항산화제로 지방의

0.5~1.0%를 첨가하였으나 수소경화우지의 특성상 산화의 우려가 없을 것으로 사료된다. 이외 methionine이 matrix material과 균일하게 섞이도록 propylene glycol과 같은 levigating agent와 beef tallow의 고화속도를 조정하기 위해 sugar palmitic acid ester 등을 첨가한다면 더욱 효과가 있을 것으로 기대된다.

2. Rumen protected DL-methionine의 제조

먼저 융점이상의 온도에서 수소경화우지와 gelatin용액을 유화시켜 methionine과 잘 혼합하고 고화후 균일한 결정입자를 얻기 위해 1시간 이상 mixing한 다음 starch를 첨가하여 pelletizer로 성형후 50~60℃에서 24시간 이상 건조하여 수분 함량을 5% 미만으로 matrix embedded type의 rumen protected DL-methionine을 제조하여 사양시험에 사용하였다. 제조된 입자의 DL-methionine 함량은 63%이었다.(요오드 적정법)

3. 기타 제조방법 검토

가. Spray drying는 반추위 보호를 위한 encapsulation으로는 가장 좋은 방법이지 만 DL-methionine이 불용성으로 coating material과의 O/W emulsion이 어렵고 유화를 하더라도 core 함량이 20%미만이었다.

나. Extrusion 방법은 불용성물질로 사용하는 유지의 융점으로 인해 가열단계에서 입자에 crack이 생겨 입자의 파괴가 발생될 우려가 있으며 압출시 methionine과의 binding에도 약점이 있었다.

다. Fluidized bed drying은 DL-methionine의 입도가 coating agent와 상이하여 균일한 입자를 얻기가 힘들며 처리시간이 길고 가공비용이 비싸므로 경제성 문제가 있었다.

제3절 Rumen protected MHA 제조

1. Rumen protected MHA matrix의 성분조성

Methionine hydroxy analog(2-hydroxy 4-methylthio butanoic acid, $C_5H_{10}O_3S$)는 methionine의 amine group이 hydroxy group으로 대체된 화학구조를 가지며(Fig. 14) methanethiol과 dimethylsulfide로 대사되는데 methionine과 dimethylsulfide는 반추미생물의 대사에 있어서 유사한 것으로 알려져 있다.

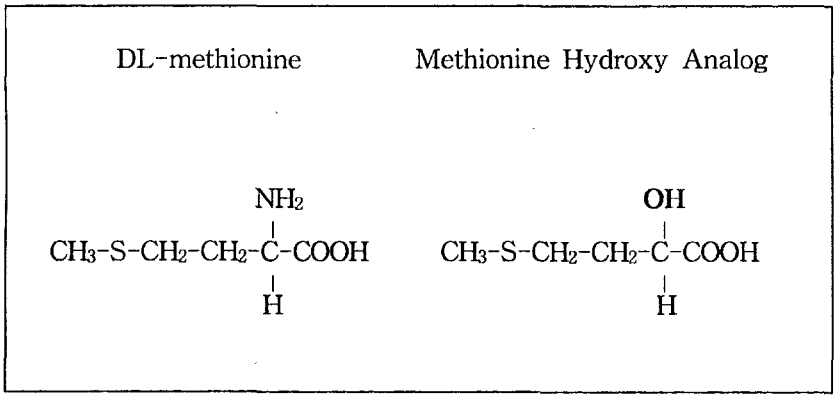

Fig. 14 Chemical structure of methionine and MHA

MHA는 rumen fluid에서 용해성이 떨어지고 DL-methionine에 비해 반추미생물에 어느정도의 저항성을 가지며 가격이 저렴한 장점을 가지며 수용성이므로 제조공정상의 적용성이 용이하였다. 그러나 pH 1.0정도의 강산성으로 급여량의 제한성을 가지므로 $Ca(OH)_2$에 의한 중화가 요구되어 rumen protected DL-methionine matrix 제조에 비해 많은 량의 $Ca(OH)_2$이 사용되어 core 함량이 감소하는 단점이 있었다. Rumen protected MHA matrix의 성분조성은 Table 13.과 같다.

Table 13. Ingredients of rumen protected MHA matrix

Ingredients	%
MHA	55.492
Beef tallow	27.732
$Ca(OH)_2$	8.158
Tween 80	8.158
Dextrin	0.460
Total	100.000

2. Rumen protected MHA matrix의 제조과정

Methionine hydroxy analog로는 alimet(Novus International, Inc., USA)를 구입하여 $Ca(OH)_2$으로 중화하여 pH를 5.0이상으로 조정한 뒤 beef tallow, dextrin과 균일하게 결합되도록 1시간 이상 혼합한 다음 24시간 이상 건조하여 수분함량을 5%미만으로 하였다. 제조된 rumen protected MHA matrix의 MHA함량은 57% 이상이었는데 이는 MHA의 수분함량이 12%로 MHA자체의 수분이 건조과정을 통해 제거된 결과인 것으로 사료된다.

제4절 Rumen protction Test

1. I_2에 의한 DL-methionine 적정법

시료 0.2~0.6g을 증류수에 녹여 100ml로 하고 이중 50ml를 공전플라스크에 넣고 증류수 50ml, K_2HPO_4 5g, KH_2PO_4 2g, KI 2g을 넣고 용해한 다음 0.1N I_2 용액 50ml를 가하여 밀전하여 30분간 방치한 후 Indicator로 전분시액 2~3 방울을 넣고, 0.1N $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$으로 적정하였다(121). 0.1N I_2 1ml는 7.461mg $C_5H_{11}O_2NS$에 해당되며 이를 아래 rumen protection과 release 평가에 이용하였다. MHA의 경우, MHA의 purity를 88%로 하여 상기와 같은 방법으로 적정하였다.

2. Rumen protection과 release activity 평가방법

가. pH 안정성

1) 1위내 유출속도 측정

1위 Buffer sol.(Table 14) 100ml에 시료 5g 넣은후 37℃ 16hr shake incubation한 다음 교반후 상징액을 취하여 요오드 적정법으로 methionine 함량을 측정하였다.

2) 4위내 유출속도

1위내 유출속도 측정후 남은 solid부분을 분리하여 4위 Buffer(Table 14) sol. 100ml에 시료 5g을 넣은후 37℃ 2hr shake incubation한 다음 요오드 적정법으로 methionine 함량을 측정하였다.

3) 소장 gastric juice내 유출속도

4위 유출속도 실험후 남은 solid를 분리하여 소장 gastric juice Buffer sol. (Table 14)100ml에 시료 5g을 넣은후 37℃ 4hr shake incubation한 다음 methionine 함량을 측정하였다.

Table 14. Composition of imitation buffer

Rumen	Abomasum	Duodenum	
Na_2HPO_4 2.5g	3.2N KCl 50ml	$NaHCO_3$	9.8g
K_2HPO_4 6.7g	0.2N HCl 10ml	KCl	0.57g
DW → 1 ℓ	DW → 200mℓ	Na_2HPO_4	9.3g
		NaCl	0.47g
		$Na_2SO_47H_2O$	0.12g
		Ox gall powder	0.05g
		Lipase(EC 3.1.1.3)	0.05g
		DW → 1 ℓ	
pH 6.4	pH 2.0	pH 8.2	

나. 반추미생물에 대한 안정성

반추미생물의 효소분해작용에 대한 matrix의 안정성 및 유출속도를 조사하기 위해 경북 고령군 소재 농협중앙회 고령공판장에서 도살직후 Hosteine 암소의 반추위 내용물을 적출하여 상기 모조 buffer에 12%씩 첨가하여 CO_2 incubation 하면서 위와 동일한 방법으로 rumen protected DL-methionine과 MHA matrix의 protection 및 release activity를 조사하였다.

제5절 사양시험

1. Rumen protected DL-methionine matrix 급여시험

가. 공시가축 및 시험기간

RP-Met. matrix 급여시험을 위해 체중 550~650kg, 평균 산유량 20~30kg/day의 Holsteine 젖소 10두를 공시하여 1999년 7월 20일부터 8월 31일까지 42일간 경북 영덕군 영해면 소재 김영칠씨 목장에서 사양시험을 수행하였다.

나. 시험설계 및 급여사료

10두의 젖소를 2군으로 나누어 각기 대조사료와 rumen protected DL-methionine matrix 60g/day 첨가사료(RP-Met.)를 42일간 급여하였다. 사양시험에 이용된 모든 개체에게 농후사료는 15kg/day씩 제한 급여하였고, 물과 조사료는 무제한 급여하였다. RP-Met. 급여군에는 1일 2회(06:00와 18:00) 착유시 농후사료와 함께 60g/day씩 제한급여하였다. 본 시험에 사용된 농후사료는 낙농스타프라임 3호(농협중앙회, 울산 배합사료공장)로 배합비는 앞의 Table 6.과 같으며, 조사료로 아끼바레볏짚을 무제한급여하였다. 농후사료의 자세한 영양성분조성은 앞의 Table 7.에 제시된 바와 같다.

다. 사양관리

본 연구에서는 급여사료를 규격화하고, 착유시에만 농후사료와 함께 첨가물을 급여하는 제한급여 방식을 실시하므로서 일정한 섭취량을 시험기간내 계속 유지하고자 하였다. 시험개체별 원유시료는 착유기와 파이프라인 사이에 시료채취기(Waikato milk meter Mark 5, Newzealand)를 장착하여 첨

가제 급여전과 급여후 2주 간격으로 채취하였다.

2. Rumen protected MHA matrix 급여시험

가. 공시가축 및 시험기간

사양시험을 위해 체중 550~700kg, 평균 산유량 26~36kg/day의 Holsteine 젖소 14두를 공시하여 2000년 5월 9일부터 6월 21일까지 6주간 경북 경주시 안강읍 육통리 소재 관희목장(목장주 김민관)에서 사양시험을 수행하였다.

나. 시험설계 및 급여사료

14두의 젖소를 2군으로 나누어 각기 대조사료와 rumen protected MHA matrix(RP-MHA) 60g/day 첨가사료를 42일간 급여하였다. 사양시험에 이용된 모든 개체에 농후사료는 15kg/day씩 제한 급여하였고, 물과 조사료는 무제한 급여하였다.

RP-MHA 급여군에는 1일 2회(06:00와 18:00) 착유시 농후사료와 함께 RP-MHA matrix를 60g/day씩 제한급여하였다. 본 시험에 사용된 농후사료는 낙농스타프라임 3호(농협중앙회, 울산배합사료공장)로 배합비는 앞의 Table 6.과 같으며, 조사료로 아끼바레볏짚을 무제한급여하였다. 농후사료의 자세한 영양성분조성은 앞의 Table 7.에 나타난 바와 같다.

다. 사양관리

본 연구에서는 급여사료를 규격화하고, 착유시에만 농후사료와 함께 첨가물을 급여하는 제한급여 방식을 실시하므로서 일정한 섭취량을 시험기간내 계속 유지하고자 하였다. 시험개체별 원유시료는 착유기와 파이프라인 사

이에 시료채취기(Waikato milk meter Mark 5, Newzealand)를 장착하여 급여전과 급여후 2주간격으로 채취하였다.

제6절 결과 및 고찰

1. Rumen protection test 결과

반추동물에게 급여되는 아미노산은 반추미생물과 반추위의 화학적 분해에 저항성을 가지면서 생물학적으로 흡수가 용이한 특성을 가지는 것이 중요한데(67) 유즙내 타우린함량의 증가를 위해서는 우선 반추위의 bypass와 releasing activity가 가장 중요하다. 앞에서 제조된 matrix의 postruminal release 효과를 조사하기 위해 Papas 등(18, 63, 67)의 시도에서와 같이 반추위와 같은 pH로 조정된 imitation buffer에서 pH에 대한 저항성과 유출정도을 조사하였고 반추미생물의 효소작용에 의한 분해정도를 알기위해 ruminal contents를 함유한 buffer내에서의 보호정도를 조사한 결과 RP-Met의 경우 반추위내에서 60~64% 정도가 보호되는 반면 RP-MHA는 70% 이상이었다 (Fig. 15, Fig. 16). 이는 견고성과 용해도 저하를 위해 rumen protected matrix 제조시 사용된 beef tallow의 첨가량에 기인하는 것으로 사료된다. RP-Met.과 RP-MHA의 4위와 소장 gastric juice 조건에서의 유출정도는 90% 정도였다.

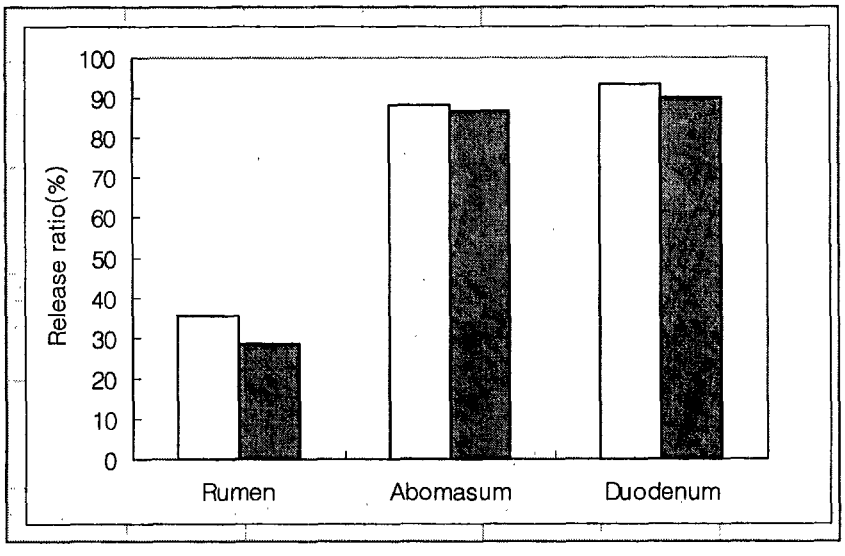

Fig. 15 Appearance of DL-methionine and MHA from ruminally protected RP-Met. and RP-MHA in imitation buffers of the gastrointestinal tract after incubation.

□ RP-Met : Rumen protected DL-methionine matrix in imitation buffer

■ RP-MHA : Rumen protected MHA matrix in imitation buffer

Values are average of duplicate analyses.

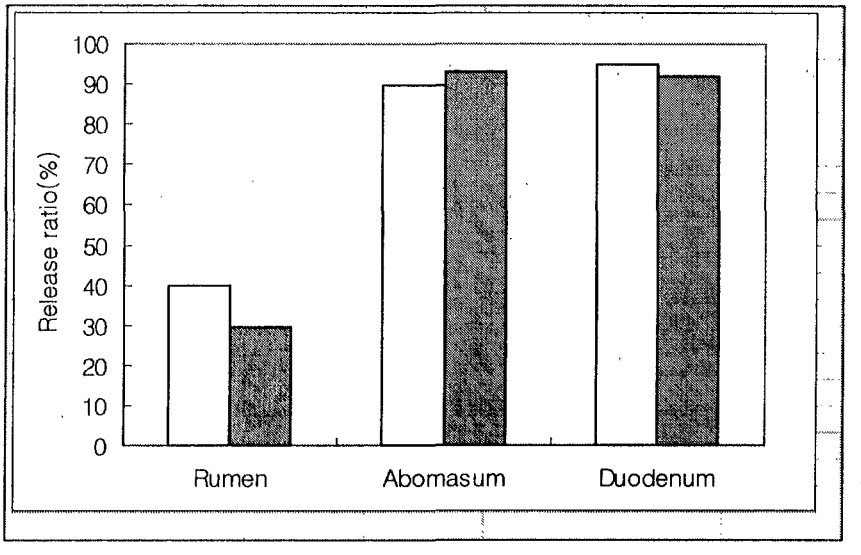

Fig. 16 Appearance of DL-methionine and MHA from ruminally protected RP-Met. and RP-MHA in imitation buffers containing ruminal contents after incubation.

□ RP-Met : Rumen protected DL-methionine matrix in imitation buffer

■ RP-MHA : Rumen protected MHA matrix in imitation buffer

Values are average of duplicate analyses.

2. RP-Met. matrix 급여가 유즙내 타우린농도에 미치는 영향

Rumen protected DL-methionine matrix를 42일간 급여하여 2주 간격으로 채취한 원유시료의 타우린농도는 Fig. 17과 같다. 이들 시료의 chromatogram 또한 게껍질분말을 급여한 원유시료와 같이 타우린이 phosphoethanolamine peak 및 phosphoserine peak와는 완전히 분리되어진 단일 peak로 분리되었으며, resolution time은 약 10.1~10.5분 정도였으며 타우린 peak 바로 앞부분에 unknown peak가 검출되는 특징을 나타내었다(Fig. 18). RP-Met. 급여시험에서 대조구의 타우린농도는 급여전 시료에서 34.78±8.91 μmole/litre, 42일 후에는 33.38±6.32 μmole/litre로 나타났으며 rumen protected DL-methionine matrix 급여군의 경우 급여전 36.53±2.83 μmole/litre, 급여 후에는 44.77±5.61 μmole/litre로 대조구에 비해 23% 정도가 증가하였다. 급여전과 2주 간격으로 채취된 원유시료의 생산량과 조성분 분석결과 Overton(63, 67) 등의 보고에서와 같이 유의적인 증감은 나타나지 않았다(Fig. 19~23).

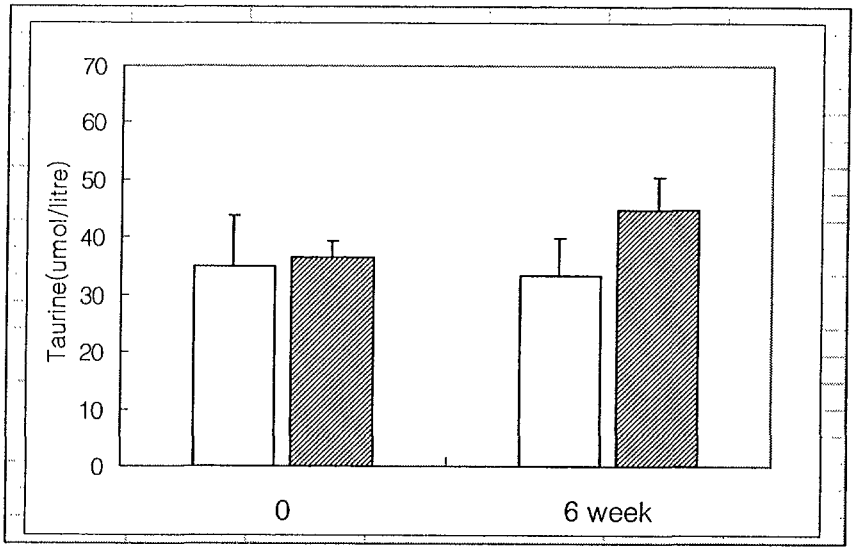

Fig. 17 Concentration of taurine in raw milk sample from dairy cows fed rumen protected DL-methionine matrix supplemented feeds.

□ : Control

■ : Rumen protected DL-methionine matrix supplementation

Values are means±SEM of 5 cows.

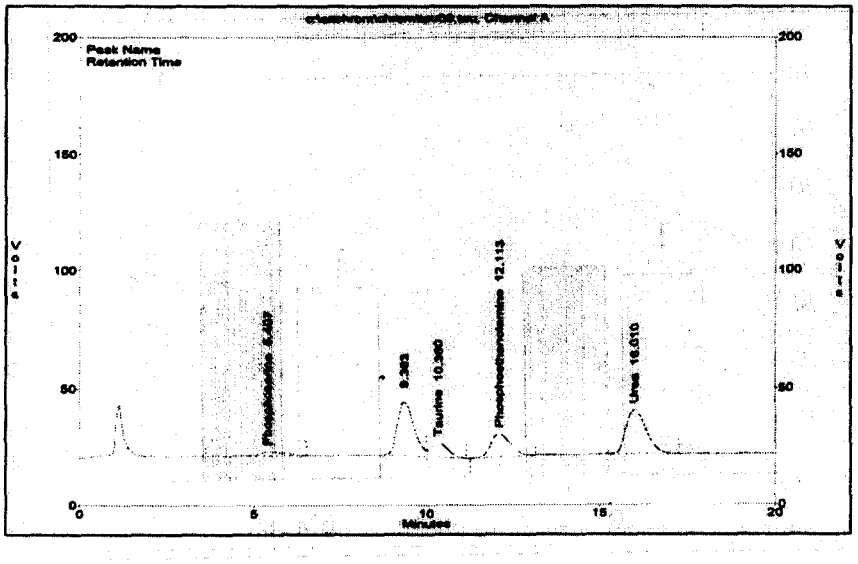

Fig 18. Chromatogram of rumen protected DL-methionine fed cow's milk sample by amino acid analyzer

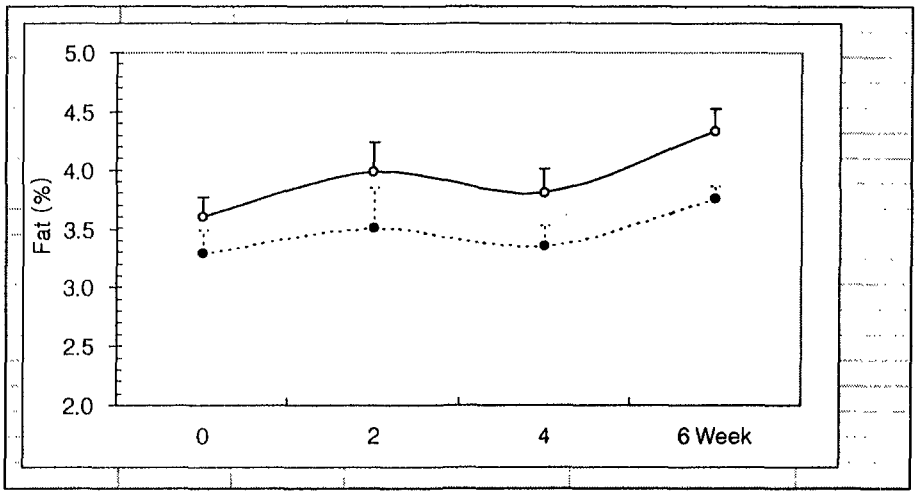

Fig. 19 Effect of RP-Met. supplementation on fat of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 5 cows.

● : Control

○ : Rumen protected DL-methionine matrix

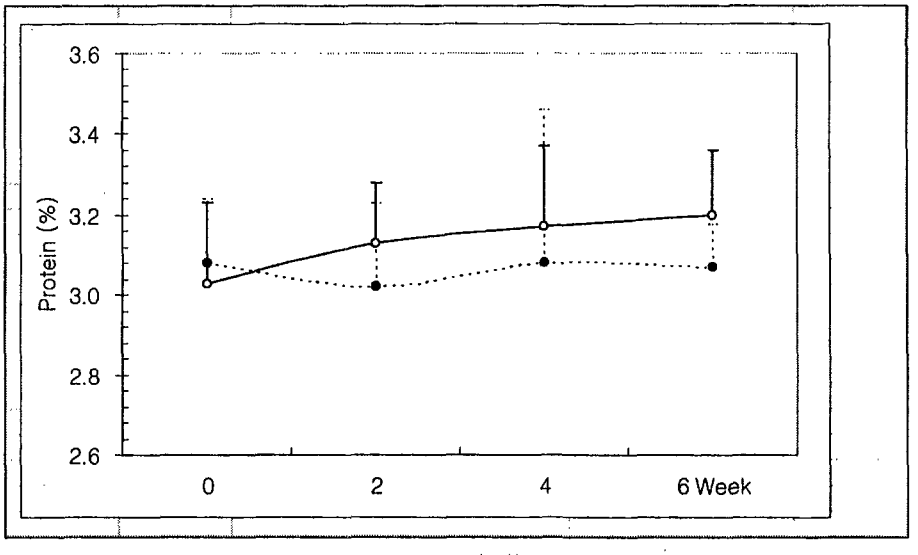

Fig. 20 Effect of RP-Met. supplementation on protein of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 5 cows.

● : Control

○ : Rumen protected DL-methionine matrix

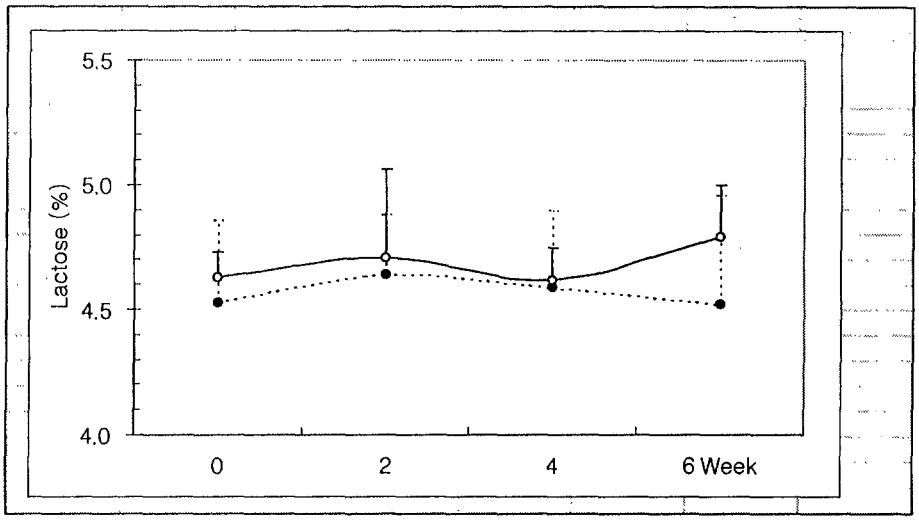

Fig. 21 Effect of RP-Met. supplementation on lactose of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 5 cows.

● : Control

○ : Rumen protected DL-methionine matrix

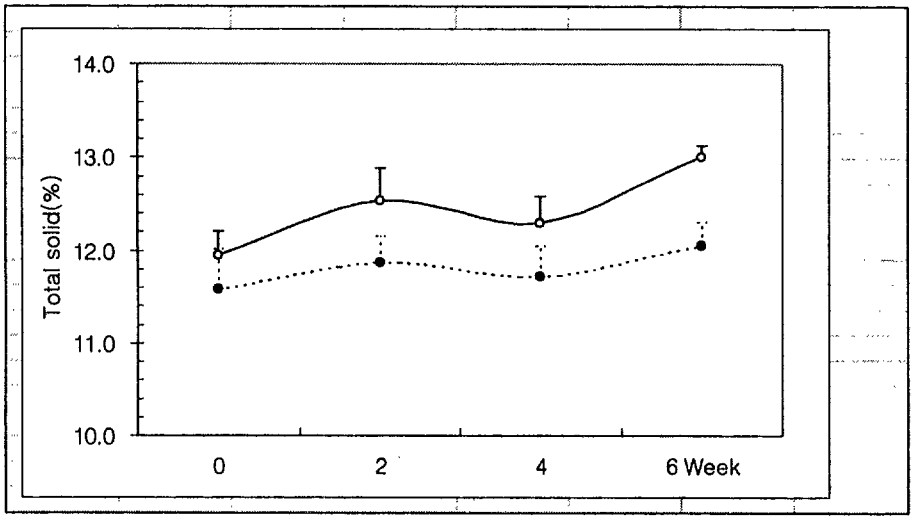

Fig. 22 Effect of RP-Met. supplementation on total solid of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 5 cows.

● : Control

○ : Rumen protected DL-methionine matrix

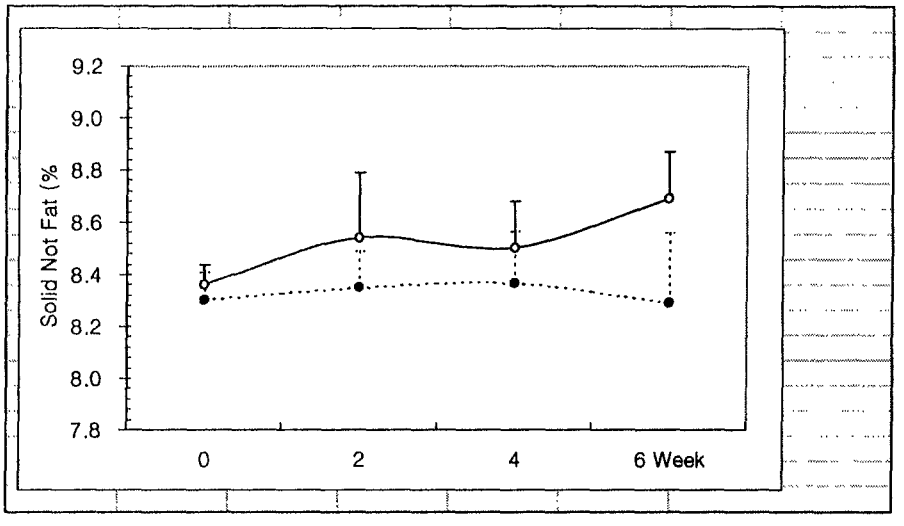

Fig. 23 Effect of RP-Met. supplementation on solid not fat of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 5 cows.

● : Control

○ : Rumen protected DL-methionine matrix

3. RP-MHA matrix 급여가 유즙내 타우린농도에 미치는 영향

Rumen protected MHA matrix를 42일간 급여하여 2주 간격으로 채취한 원유시료의 타우린농도는 Fig. 24와 같다. 이들 시료의 chromatogram 또한 게껍질분말을 급여한 원유시료와 rumen protected DL-methionine matrix를 급여한 원유시료의 경우와 같이 taurine은 phosphoserine 및 phosphoethanolamine peak, phosphoserine peak와는 완전히 분리되어진 단일 peak로 분리되었으며, taurine peak 바로 앞부분에 unknown peak가 검출되는 같은 특징을 나타내었다(Fig. 25). 먼저 대조구의 타우린농도는 급여전 및 2주 간격으로 채취한 시료에서 49.78±6.19, 42.49±4.38, 42.78±4.99, 6주 후에는38.64±1.63 μmole/litre로 나타났으며 RP-MHA 급여군에서는 46.95±6.19, 51.79±6.10, 63.32±8.85, 6주 후에는 59.19±4.12 μmole/litre로 증가하였다. RP-MHA 급여군은 대조구에 비해 원유중 타우린의 농도가 53% 정도 유의적으로 증가하였다($p<0.01$). 급여전과 2주 간격으로 채취된 원유시료의 산유량과 유조성분 분석결과(Fig. 26~30) RP-Met. 급여시험에서와 같이 유의적인 증감은 나타나지 않았으나 대조구에 비해 단백질과 무지유고형분이 약간 증가하였으며 산유량에서도 감소율이 완화되는 효과가 있었다. Harris 등(36, 67)은 착유우에 부가의 methionine 급여시 유단백질의 증가와 유량증가 등의 변화에 대해 언급하였으나 본 사양시험에서는 유조성분과 유량의 유의적인 증가는 확인하지 못하였다.

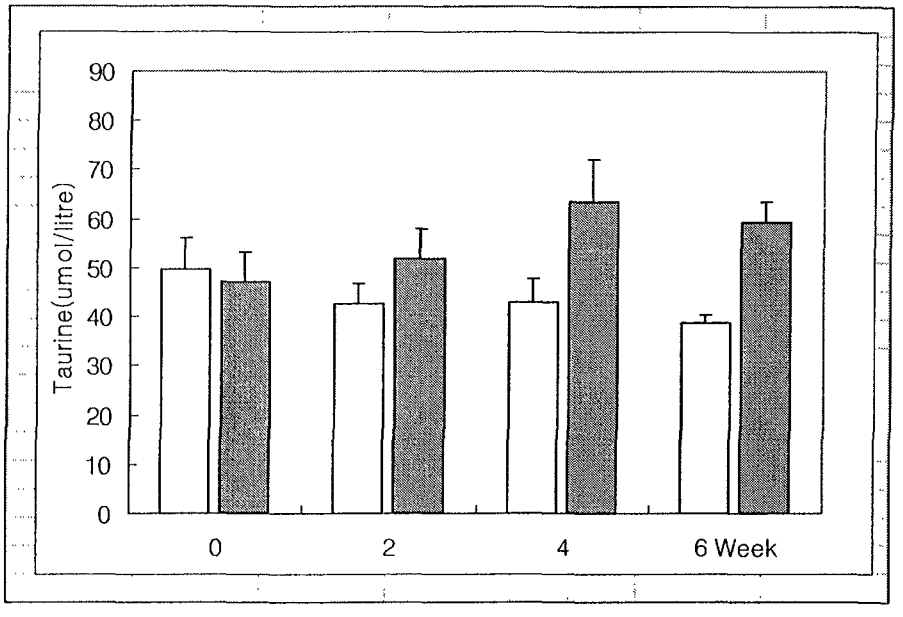

Fig. 24 Concentration of taurine in raw milk sample from dairy cows fed rumen protected MHA matrix supplemented feeds.

Values are means ±SEM of 7 cows.

□ : Control

■ : Rumen protected methionine hydroxy analog matrix

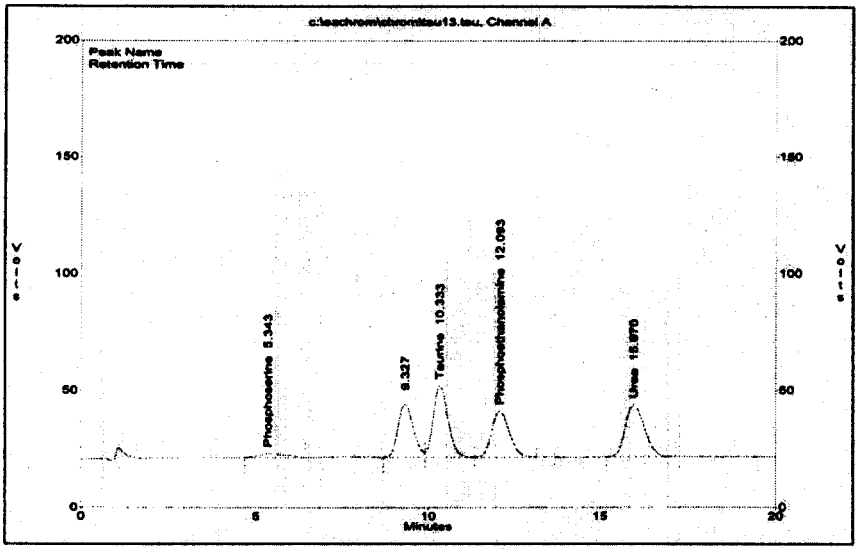

Fig 25. Chromatogram of rumen protected MHA fed cow's milk sample by amino acid analyzer

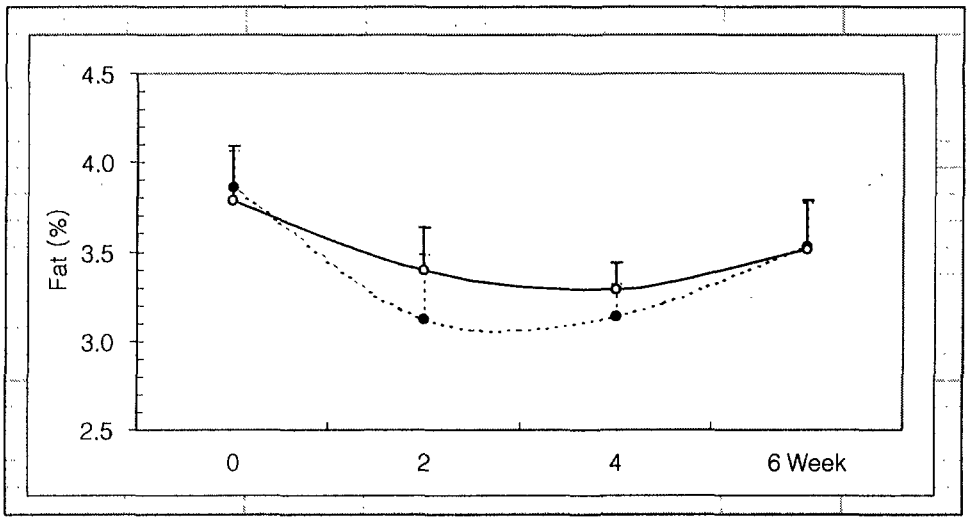

Fig. 26 Effect of RP-MHA supplementation on fat of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 7 cows.

● : Control

○ : Rumen protected methionine hydroxy analog matrix

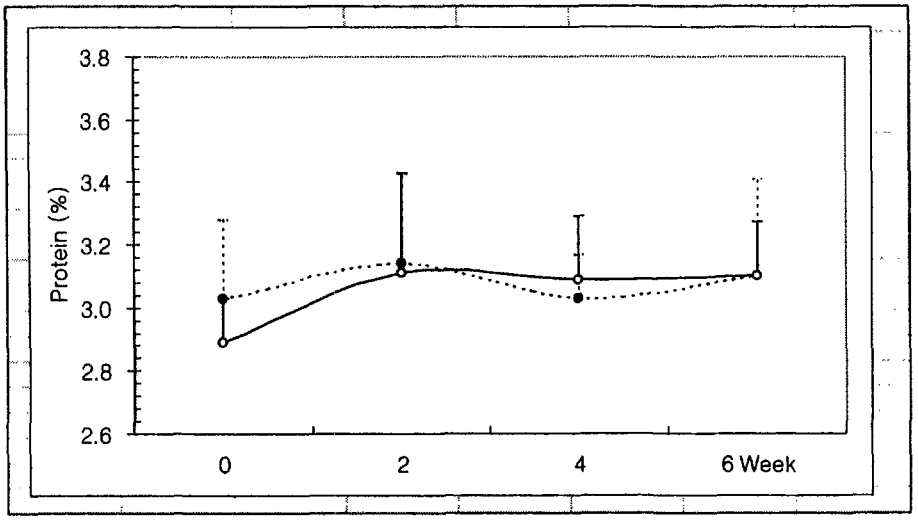

Fig. 27 Effect of RP-MHA supplementation on protein of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 7 cows.

● : Control

○ : Rumen protected methionine hydroxy analog matrix

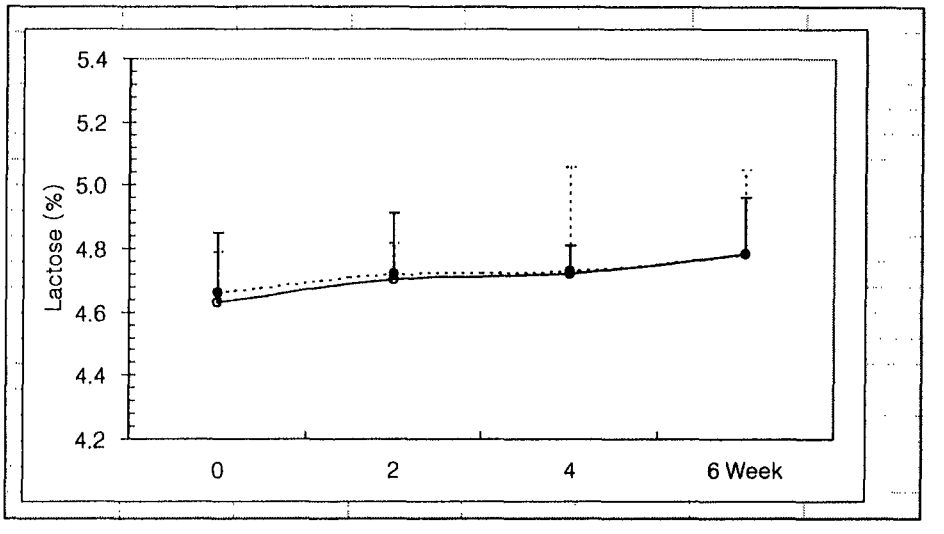

Fig. 28 Effect of RP-MHA supplementation on lactose of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 7 cows.

● : Control

○ : Rumen protected methionine hydroxy analog matrix

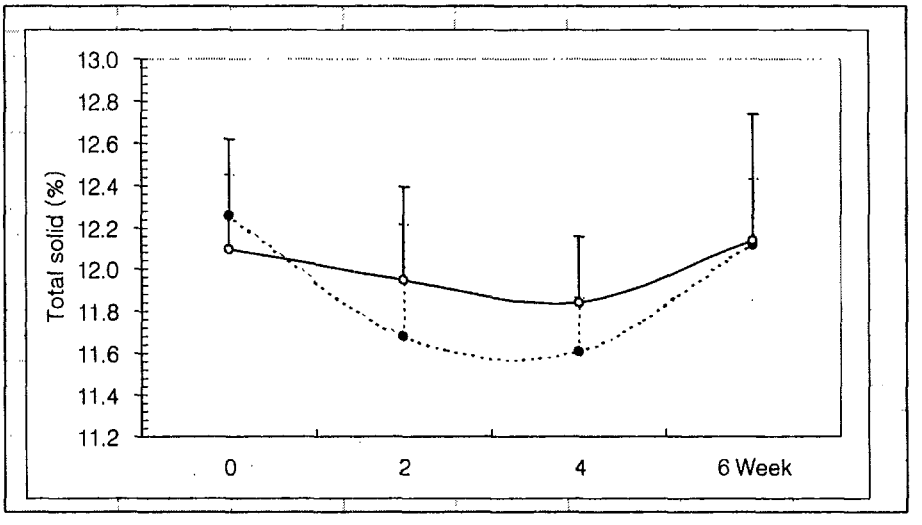

Fig. 29 Effect of RP-MHA supplementation on total solid of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 7 cows.

● : Control

○ : Rumen protected methionine hydroxy analog matrix

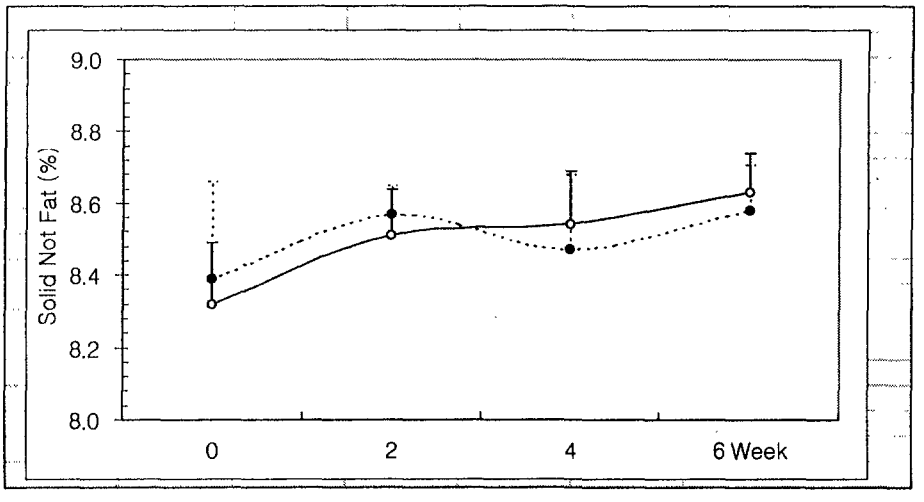

Fig. 30 Effect of RP-MHA supplementation on solid not fat of dairy cow's milk

Values are means ±SEM of 7 cows.

● : Control

○ : Rumen protected methionine hydroxy analog matrix

제 4 장 경제성 분석

제1절 서 설

타우린 강화우유의 경제성은 원유생산비와 원료유의 공급가격, 그리고 최종 제품의 소비자가격에 의해 전적으로 결정된다는 가정 아래 타우린 강화우유의 생산을 위한 원유의 생산비용을 일반우유의 원유 생산비용과 비교 분석하고, 제품 생산시 투입되는 생산요소 비용과 제품가격을 비교하였다.

제품의 소비자가격은 기존 기능성우유제품 시장의 가격을 참고로 하여 타우린 강화우유의 경제적 타당성을 추정하였다. 이외 타우린 강화우유 생산을 위한 사료비 및 원유의 별도 집유와 관리를 위한 제경비, 별도생산을 위한 비용 등 추가 생산비용 요인도 고려하였다.

제2절 결과 및 고찰

1. 원유생산비 분석

본 연구에서 원유생산비를 계산하는 방법을 식으로 표시하면 아래와 같다.

생산비(kg) = [(경영비+착유우 감가상각비)-부산물판매수입] ÷착유량(kg)

경영비에는 사료비, 노동비, 방역 치료비, 축사 및 설비 등의 감가상각비, 제 자본 이자 등 유우의 사양관리에 소요되는 비용 일체를 고려하였으며 송아지와 노폐우, 질병우 출하수입을 부산물판매수입으로 계산하였고 착유우의 내용연수는 4년으로 하였다.

사료비는 사양시험 목장내 착유우 및 육성우 등에 급여하는 농후사료와 조사료 에 대한 비용으로 계상하였으며 농후사료는 실제 거의가 외상매입이며 조사료의 경우 매입시기가 일정치 않으므로 현물과 시장가격에 근거하여 계산하였다. 농가자체 조달 사료와 청초 등은 제외하고 대용유, 첨가제 등은 사료비에 포함하였다. 노무비는 성인의 노동시간으로 환산하여 도시근로자의 평균임금수준으로 하고 상각비는 건물 및 구축물과 설비 등의 취득가를 기준으로 하였다. 이외 대출금이자, 토지임차료, 등의 이자와 전기·수도료, 동물약품대, 수리비 등을 고려하여 목장을 운영하고 우유를 생산하는데 투입되는 총비용을 계산하였다.

사양시험 목장의 사육비명세서를 기준으로 부족된 부분을 보완하여 분석한 원유의 생산비는 Table 15와 같다.

우리나라 축산물 생산비중 사료비의 비중은 젖소의 경우 43.1%로 비육우나 번식우의 경우보다 많은 비중을 차지하고 있으며(117) 본 분석에서도 사료비가 총 비용의 42%로, 특히 농후사료의 비중이 원유생산비의 34%에 달하였다.

1998년의 경우 착유우용 배합사료의 가격이 300~350원/kg으로 단백질, 칼슘 등의 영양소가 풍부한 게껍질을 사료의 일부로 사용하게 된다면 값비싼 수입 사료원료의 대체효과와 사료비의 절감효과가 기대되었으나 배합사료의 원료는 거의 수입에 의존하여 국제곡물가와 환율과 같은 외부요인에 영향을 크게 받아 2000년 현재에는 배합사료 가격이 220~270원/kg으로 대체효과는

기대하기 어려우며 단지 원료대체 및 폐자원의 재활용과 환경정화에 의의가 있을 것으로 사료된다.

Table 15. 원유생산비(원/kg)*

비 목	금액(원)	구성비(%)
◦ 경영비(A)	547.4	
사료비	229.3	42
노무비	158.5	29
상각비	71.6	13
이자	54.7	10
방역치료비	9.5	1.7
수도광열비	5.8	1.1
수선유지비	4.1	0.7
제재료비	3.0	0.5
기타잡비	10.9	1.9
◦ 부산물(B)	59.8	
◦ 생산비(A-B)	487.6	

* 자료제공(경북낙농협동조합, 2000. 8)

게껍질분말을 급여농후사료의 3% 급여시 사료비는 4%가 증가하여 단위생산비는 496.8원/kg으로 상승하며 rumen protected DL-Met.과 rumen protected MHA 급여시에는 단위 생산비가 501.3, 515.1원/kg으로 증가된다.

이는 첨가제의 원재료비만 고려한 가격으로 별도생산 및 가공, 판매이윤 등을 고려한다면 생산비는 5 ~10%까지 증가될 수 있다.

2. 제품의 경제성분석

다음의 Table 16.은 경북낙농협동조합 유가공공장의 제조원가명세서에 의한 일반우유와 타우린 강화우유제품의 경제성을 비교한 것으로 타우린 강화우유는 현재 시중에서 안정된 공급과 수요량을 지닌 기능성우유제품을 모델로 하였다.

원재료비에서 가장 큰 부분을 차지하는 원유대금은 Table 15.에서 분석한 생산비에 일반원유보다 100원/kg정도 높게 책정되었으며 포장비는 200ml 카톤팩 기준으로 계산되었다. 노무비와 제조경비는 비목이 너무 많은 관계로 세부적으로 분류·구분하지 않고 타제품과 생산량에 근거하여 배분하였다. 다만, 타우린 강화우유의 별도집유를 위한 수수료 및 운송임과 별도생산을 위한 유류비와 동력비 등과 타우린함량 분석 및 시험연구비, 홍보 등 제조경비의 상승과 원유매입대금, 디자인의 차별화에 따른 포장재료비와 같은 원재료비가 상승하는 것으로 고려되어졌다.

Table 16. 제조원가 및 소비자가격 비교

구 분	일반우유	타우린강화우유	증가율(%)
◦ 원유생산비(원/kg)	487.6	536	9.9
◦ 원유매입대금(원/kg)*	590	690	16.9
◦ 제조원가(원/200ml)*	199.6	211.3	5.9
원재료비	141.8	150.7	6.3
노무비	15.5	15.5	
제조경비	42.3	45.1	6.6
◦ 소비자가격(원/200ml)	350	450	28.6

* 자료제공(경북낙농협동조합, 2000. 8)

원유의 단위생산비는 최고 10%가 증가하는 반면 원유매입가는 17%가 증가하여 농가소득이 최소 7% 이상 늘어날 것으로 기대되며 제조원가 상승률 대비 소비자가격이 이를 2배 이상 상회하여 제품으로서의 경제성은 충분히 있을 것으로 사료된다.

타우린 강화우유의 경쟁력은 건강지향적인 소비자의 차별적 선호에 부응하는 차별화정책과 고가격정책이 가장 바람직하며 이를 위해 별도집유, 생산, 원유관리, 연구개발 등의 특별한 노력 이외에도 표적시장의 확대를 위한 마케팅전략과 지속적인 홍보가 중요할 것이다.

제 5 장 결 론

타우린 강화우유를 개발하기 위해 유즙내 타우린함량을 증가시키는 첨가물을 선택하여 사양시험을 통하여 타우린함량 및 유성분의 변화와 조성을 조사한 뒤 제품으로서의 경제성을 분석한 본 연구의 결과는 아래와 같다.

1. 게껍질분말 급여에 의한 천연 타우린강화우유의 생산 가능성을 평가하고자 25두의 젖소를 5군으로 나누고, 각기 대조사료, 1%(1%CS), 3%(3%CS) 및 5% 게껍질분말사료(5%CS), 그리고 formaldehyde로 처리된 3% 게껍질분말사료(3%FCS)를 30일간 급여하였다. 게껍질 단백질의 아미노산조성은 phenylalanine이 가장 높았고, glutamate, aspartate, glycine, serine, histidine, arginine의 순으로 나타났으며, 다른 동물조직의 단백질과는 달리 branched-chain 아미노산의 함량이 비교적 낮았다. 게껍질에 함유된 유리아미노산 중 타우린은 가장 고농도로 존재하였으며, 특히 집게다리껍질에 509 μmol/100g이 함유되어 등뚜껑(319 μmol/100g) 및 게껍질분말(296 μmol/100g)에 비해 월등히 그 함량이 높았다. 게껍질분말의 급여가 우유의 타우린농도에 미치는 영향을 평가한 결과 $p<0.01$ 수준에서 유의성이 관찰되었다. 1%CS군의 원유에는 5.84±0.73 μmole/100ml의 타우린이 함유되어 대조구(4.84±0.29 μmole/100ml)에 비해 20%정도 더 높았으며, 3%CS군의 원유에는 7.21±0.77 μmole/100ml의 타우린이 함유되어 대조구에 비해 49%정도 유의적으로 증가하였다($p<0.01$). 한편, 3%FCS군의 경우 원유의 타우린농도가 3%CS군에 비해 유의적으로 감소하였고, 따라서 게껍질의 formaldehyde 처리는 반추위내에서 타우린을 보호하는데 효과적이지 못한 것으로 나타났다

2. Taurine 합성의 전구체인 methionine을 추가급여하여 반추위내 저항성과 유출정도를 고려하여 제조한 rumen protected matrix의 안정성을 조사하기 위해 반추위와 같은 pH로 조정된 imitation buffer에서 pH에 대한 저항성을 조사하고 반추미생물에 의한 분해정도를 알기위해 ruminal contents를 함유한 buffer내에서의 보호정도를 조사한 결과 RP-Met의 경우 반추위내에서 60~64% 정도가 보호되는 반면 RP-MHA는 70% 이상이었다. RP-Met.과 RP-MHA의 4위와 소장 gastric juice 조건에서의 유출정도는 90% 정도였다.

3. RP-Met. 급여시 대조구의 타우린농도는 급여전 3.47±0.89 μmole/100ml, 42일 후에는 3.33±0.63 μmole/100ml로 나타났으며 RP-Met. 급여군의 경우 급여전 3.65±0.28 μmole/100ml, 급여 후에는 4.47±0.56 μmole/100ml로 대조구에 비해 23% 정도가 증가하였다.

RP-MHA 급여시험에서 대조구의 타우린농도는 급여전 및 2주 간격으로 채취한 시료에서 4.97±0.61, 4.24±0.43, 4.27±0.49, 6주 후에는 3.86±0.16 μmole/100ml로 나타났으며 RP-MHA 급여군에서는 46.95±6.19, 51.79±6.10, 63.32±8.85, 6주 후에는 5.91±0.44 μmole/litre로 증가하였다. RP-MHA 급여군은 타우린함량이 53% 정도 유의적으로 증가하였다($p<0.01$).

RP-Met., RP-MHA 급여시험에서 유조성분과 유량의 유의적인 증감은 나타나지 않았다.

4. 타우린강화우유의 경제성 분석에서 원유의 단위생산비는 10%가 증가하는 반면 원유매입가는 17%가 증가하여 농가소득이 7% 이상 늘어날 것으로 예견되며 제조원가 상승률 대비 소비자가격이 이를 2배 이상 상회하여 제

파 오 손 면

참 고 문 헌

1. A.O.A.C., 1995. Official methods of analysis. 16th edition. Animal Feed, Chapter 4. p2~30. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
2. Atwal A.S. et al, Formaldehyde in milk not affected by feeding soybean meal coated with chemically treated zein, Canadian Journal of Animal Science, Vol. 74, (1994), 715~716
3. Barry J.L. et al, Formaldehyde content of milk in goats fed formaldehyde-treated soybean oil-meal, Food addititives and contaminants, Vol. 8, No.5, (1991), 633-640
4. Baumrucker C.R., Cationic amino acids transport by bovine mammary tissue, Journal of Dairy Science, Vol. 67, No. 11, (1984), 2500~2506
5. Baumrucker C.R. et al, γ-Glutamyl transpeptidase in lactating mammary secretory tissue of cow and rat, Journal of Dairy Science, Vol. 61, No. 3, (1978), 309~314
6. Baumrucker C.R., Cationic Amino Acid Transport by Bovine Mammary Tissue, Journal of Dairy Science, Vol. 67, No. 11, (1984), 2500~2506
7. Baumrucker C.R., Symposium : Nutrient uptake across the mammary gland, Journal of Dairy Science, Vol. 68, No.9, (1985), 2436~2451
8. Bergen W.G., Free amino acids in blood of ruminants-physiological and nutrtional regulation, Journal of animal Science, Vol. 49, No. 6, (1979),

1577~1589

9. Bequette B.J. et al, Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant, Journal of Dairy Science, Vol. 81, No. 9, (1998), 2540~2559
10. Chalupa W., Rumen bypass and protection of proteins and amino acids, Journal of Dairy Science, Vol. 58, No. 8, 1198~1218
11. Chen Z. et al, Determination of taurine in biological samples by reversed-phase liquid chromatography with precolumn derivatization with dinitrofluorobenzene, Analytica Chimica Acta 296, (1994), 249~253
12. Choi, K.S., Kim, E.S. : Longitudinal Changes of the Taurine Content in the Human Milk of Korean Lactoovovegetarian. Kor. J. Nutr., 22(1), 36-41 (1989)
13. Christensen R.A. et al, Effects of amount of protein and ruminally protected amino acids in the diet of dairy cows supplemental fat, Journal of Dairy Science, Vol. 77, No. 6, (1994), 1618~1629
14. Clark R.M. et al, Limiting Amino Acids for Milk Proteins Synthesis by Bovine Mammary Cells in Culture, Journal of Dairy Science, Vol. 61, No.4, (1978), 408~413
15. Clark R.M. et al, Extracellular Amino Acid Effects on Milk Protein Synthesis and Intracellular Amino Acid Pools with Bovine Mammary Cells in Culture, Journal of Dairy Science, Vol. 63, No. 8, (1980), 1230~1234
16. Clark J.H. et al, Symposium : nitrogen metabolism and amino acids nutrition in dairy cattle, Journal of Dairy Science, Vol. 75, No. 8, (1992), 2304~2323

17. Clark A.K. et al, Effect of methionine hydroxy analog supplementation on dairy cattle hoof growth and composition, Journal of Dairy Science, Vol. 65, No. 8, (1982), 1493~1402

18. Clark J.H., Lactational Responses to Postruminal Administration of Proteins and Amino Acids, Journal of Dairy Science, Vol. 58, No. 8, 1178~1197

19. Clark R.M., Within-day variation of taurine and other nitrogen substances in human milk. J. Dairy Sci. 70(4):776~780, 1987 Apr.

20. Colin-Schoellen O. et al, Interactions of ruminally protected methionine and lysine with protein source or energy level in the diets of cows, Journal of Dairy Science, Vol. 78, No. 12, (1995), 2807~2818

21. Demirkol, M., Bohles, H., Breast milk taurine and its possible influence on the development of breast milk induced jaundice of the neonate-a hypothesis, Adv. Exp. Med. Biol., 359, 405-410, (1994)

22. Depeters E.J. et al, Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk, Journal of Dairy Science, Vol. 75, No. 8, (1992), 2043~2070

23. Depete-Rios E.J. et al, The effects of methionine supply upon milk composition and production of dairy cows in mid lactation, Proceedings of the Newrs, Nonprotein Nitrogen and protein Distribution in the Milk of Cows, Journal of Dairy Science, Vol. 75, No. 11, (1992), 3192~3209

24. Do, K.Q., Tappaz, M.L., Specificity of cysteine sulfinate decarboxylase(CSD) for sulfur-containing amino acids, Neurochem. Int. 28(4), 363-371, (1996)

25. Dupre et al, Possible relationships between taurine derivatives and

products of the metabolism of ketimines, Adv. Exp. Med. Biol., 359, 1-7, (1994)

26. Ensunsa, J.L., Hirschberger, L.H., and Stipanuk, M.H., Catabolism of cysteine, cystine, cysteinsulfite and OTC by isolated perfused rat hindquater, Am. J. Physiol., 263, E782-E789 (1993)

27. Erbersdobler Helmut F., Determination of taurine in foods and feeds using amino acid analyzer. J. Chromatogr. 254:332~334, 1983

28. Ferreira, I.M., et al., Development of an HPLC-UV method for detection of taurine in infant formula and breast milk, J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol., 20(8), 1269-1278, (1997)

29. Finkelstein, J.D. et al, Methionine metabolism in mammals : concentration of metabolites in rat tissues, J. Nutr. 112, 1011-1018 (1982)

30. Franke A.A. et al, Distribution of Protein in California Milk in 1983, Journal of Dairy Science, Vol. 71, No. 9, (1988), 2373~2383

31. Gaull, G.E., Taurine in pediatric nutrition : Review and update, Pediatrics 83(3), 433~442, (1989)

32. Gaull, G.E., Taurine in infant nutrition and central nervous system dysfunction, Brain Dysfunct., 2(3) 117~125, (1989)

33. Gaull G.E., Presence in human milk. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2, Suppl.1, 266p, 1983

34. Grass G.M., Glycerol tristerate and high fatty acid mixture for improving digestive absorption. U.S. Patenr. 3, 655, 864, 1972

35. Griffith O.W., Cysteine sulfinate metabolism, J. Biol.. Chem., 258, 159 1~1598, (1983)

36. Harris P.M. et al, Natural enhancement of nutritionally significant amino acids in milk, Bulletin of the IDF 336, (1999), 51~56

37. Hayes K.C., Taurine nutrition, Nutrition Research Reviews, 99-113 (1988)

38. He Tianpei., Zhou Yuping., Studies on additional effect of taurine on fat metabolism and immune action of rats fed fat diet, Yingyang Xuebao, 19(1), 7-10, (1997)

39. Hepner, G.W., Sturman, J.A., Hofmann, A.L. and Thomas, P.J. : Metabolism of steroid and amino acid moieties of conjugated bile acids in man. Ⅲ. Cholyltaurine(taurocholic acid). J. Clin. Invest., 52, 433-440 (1973)

40. Huxtable, R.J., Towards a unifying theory for the actions of taurine, Trends Pharmacol. Sci., 7, 481-485 (1986)

41. Huxtable, R.J, Taurine and the oxidative metabolism of cysteine, Biochemistry of sulfur, 121-197 (1987)

42. Jacobsen, J.G. and Smith, L.H. Jr. : Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. Physiol. Rev., **48**, 424-511 (1968)

43. Kataoka, H. and Ohnishi, N. : Occurrence of taurine in plants. Agric. Biol. Chem., 50, 1887-1888 (1986)

44. Kim E.S., Taurine intake of Korean breast-fed infants during lactation. Adv. Exp. Med. Biol. 403 : 571~577, 1996

45. Kim, E.S., Kim, J.S. and Moon, H.K. : Taueine contents in commercial milks, meats and seafoods. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 28, 16-21 (1999)

46. Kim, S.B. and Park, T.K. : Isolation and characterization of chitin form

crab shell. Korean J. Biotechnol. Bioeng., 9, 174-179 (1994)

47. Kisrakoi Csilla., Liquid chromatograpic determination of taurine in serum and human milk. Pro. Int. Conf. Biochem. Sep. 2nd. 1988. 275~284

48. Lee J. et al, Sulfur amino acid metabolism in the whole body and mammary gland of the lactating saanen goat, Aust. J. Agric. Res, Vol. 50, (1999), 413~423

49. Lee J. et al, Whole body metabolism of cysteine and glutathione and their utilization in the skin of Romney sheep : consequences for wool growth, Journal of Agricultural Science, Vol. 121, (1993), 111~124

50. Lee, J.S. : A Study about Taurine Contents of Korean Human Milk. J. Kor. Soc. Food Sci., 17(1), 73-76 (1988)

51. Maas J.A. et al, Application of a Mechanistic Model to Study Competitive Inhibition of Amino Acid Uptake by the Lactating Bovine Mammary Gland, Journal of Dairy Science, Vol. 81, No. 6, (1998), 1724~1734

52. Maas J.A. et al, Application of a Mechanistic Model to Study Competitive Inhibition of Amino Acid Uptake by the Lactating Bovine Mammary Gland, Journal of Dairy Science, Vol. 81, No. 6, (1998), 1724~1734

53. Mackenzie D.D.S., Milk composition as an indicator of mammary gland metabolism, Proceedings of the nutrition society of New zealand, Vol. 22, (1997), 126~136

54. McCarthy R.D. et al, Effects of Source of Protein and Carbohydrate on Ruminal Fermentation and Passage of Nutrients to the Small Intestine

of Lactating Cows, Journal of Dairy Science, Vol. 72, No. 8, (1989), 2002~2016

55. Mcallister T.A. et al, Use of formaldehyde to regulate digestion of barley strach, Can. J. Anim, Sci, Vol. 70, (1990), 581~589

56. Mepham T.B., Amino acids utilization by lactating mammary gland, Journal of Dairy Science, Vol. 65, No. 2, (1982), 287~298

57. Mercier J.C., Early events in secretion of main milk proteins : Occurrence of Precursors, Journal of Dairy Science, Vol. 65, No. 2, (1982), 299~316

58. Moore, S. and Stein, W.H. : Chromatographic determination of amino acids by the use of automatic recording equipment. In Methods in Enzymology Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (eds.). Academic Press, New York, Vol. 6, p. 819-831 (1963)

59. Naismith, D.J., Rana, Surinder K., Emery, P.W., Metabolism of taurine during reproduction in woman, Hum. Nutr. Clin. Nutr., 41C(1), 37~45, (1987)

60. Nicolas Edgar, C., Pfender Kathleen A., Determination of taurine in infant formulas using ultrafilteration and cation-exchange chromatography, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73(4), 627-631, (1990)

61. No, H.K. and Lee, M.Y. : Isolation of chitin from crab shell waste. J. Kor. Soc. Food Nutr., **24**, 105-113 (1995)

62. Ohta, Jun., Taurine production in rat primary hepatocytes, Adv. Exp. Med. Biol., 403(2), 69-71, (1996)

63. Overton T.R. et al, Evaluation of ruminally protected methionine product for lactating dairy cows, Journal of Dairy Science, Vol. 79, No.

4, (1996), 631~638

64. Pamblanco, M., Portoles, M., Free amino acids in preterm and term milk from mothers delivering appropriate or small for gestational age infants, Am. J. Clin. Nutr., 50(4), 778-781 (1989)

65. Park, T, Chung, E.J., Um, Y.S., Moon, S.J. and Lee, Y.C. : Taurine concentrations are closely associated with fatty acids concentrations in breast milk from Koreans. Kor J. Nutr. **31**(1), 88-95 (1998)

66. Park C.S. et al, Limiting Amino Acids for Protein Synthesis with Mammary Cells in Tissue Culture, Journal of Dairy Science, Vol. 59, No. 5, 868~875

67. Papas A.M. et al, Effectiveness of rumen-protected methionine for delivering methionine postruminally in dairy cows, Journal of Dairy Science, Vol. 67, No. 3, (1984), 545~552

68. Park T.S. et al, Plasma aminogram and urinary excretion of free amino acids in adult vegetarians compared with age-matched omnivores in korea, J. Food Sci. Nutr., Vol. 3, No. 4, (1998), 368~378

69. Park, T.S., Park, J.E., Chang, J.S., Son, M.W. and Sohn, K.H. : taurine content in Korean foods of plant origin, J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 27, 801-807 (1998)

70. Picone, T.A. : Taurine uptake: metabolism and function. Nutr. Today July/Aug, 16-20 (1987)

71. Piepenbrink M.S. et al, Response of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine, Journal of Dairy Science, Vol. 79, No. 9, (1996), 1638~1646

72. Pisulewski P.M. et al, Lactational and systemic responses of dairy

cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine, Journal of Dairy Science, Vol. 79, No. 10, (1996), 1781~1791

73. Pocius P.A. et al, Amino acids uptake by bovine mammary slices, Journal of Dairy Science, Vol. 63, No. 5, (1980), 746~749

74. Pocius P.A. et al, Glutathione in bovine blood : Possible sources of amino acids for milk protein synthesis, Journal of Dairy Science, Vol. 64, No.7, (1981), 1551~1554

75. Rana S.K., Taurine concentration in the diet, plasma, urine and breast milk of vegans compared with omnivores. Br-J-Nutr. 56(1):17~27, 1986 Jul.

76. Rassin, D.K., Sturman, J.A. and Gaull, G.E. : Taurine and other free amino acids in milk of man and other mammals. Early Hum. Dev., 2(1), 1-13 (1978)

77. Rassin, K., Gaull G.E., Jarvenpaa, A.L., Raiha, N.C.R. : Feeding the low-birth-weight infant. II. Effect of taurine and cholesterol supplementation on amino acids and cholesterol. Pediatrics, 71, 179-186 (1983)

78. Rigo, J. and Senterre, J. : Is taurine essential for the neonates?, Biol. Neonates, 32, 73-76 (1997)

79. Robert J.C. et al, Milk synthesis 3, Journal of Dairy Science, Vol. 79, Suppl. 1, (1996), 194~195

80. Robinson P.H., Ruminally Protected Lysine and Methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meat requirement for microbial and postruminal protein, Journal of Dairy Science, Vol. 78, No. 3, (1995), 582~594

81. Roseler D.K. et al, Dietary Protein Degradability Effects on Plasma and Milk Urea Nitrogen and Milk Nonprotein Nitrogen in Holstein Cows, Journal of Dairy Science, Vol. 76, No. 2, (1993), 525~534

82. Rudolff, S., Kunz, C., Protein and nonprotein nitrogen components in human milk, bovine milk, and infant formula : Quantative and qualitative aspects in infant nutrition, J. Pediatr. Gastroentterol. Nutr. 24(3), 328-344, (1997)

83. Rulquin H., Importances and limitations on Met. & Lys. supplements in dairy cow feeding, INRA Prod. Anim., Vol. 5, 29~36

84. Sarwar G. et al, Free amino acids in milks of human subject, other primates and non-primates, British Journal of Nutrition, Vol. 79, (1998), 129~131

85. Sarwaret G. et al, Rapid Analysis of Nutritionally Important Free Amino Acids in Serum and Organs(Liver, Brain and Heart)by Liquid Chromatography of Precolumn Phenylisothiocyanate Derivatives, J. Assoc. Off. Anal. Chem, Vol. 73, No. 3. (1990), 470~475

86. Saymour W.M. et al, Effects of Dietary Protein Degradability and Casein or Amino Acid Infusions on Production and Plasma Amino Acids in Dairy Cows, Journal of Dairy Science, Vol. 73, No. 3, (1990), 735~748

87. Schram, E. and Crokaert, R. : Etude du metabolise de la taurine chez le rat. Formation de sulfate. Biochim. Biophys. Acta., 26, 300-308 (1957)

88. Schwab C.G. et al, Amino Acid Limitation and Duodenum at Four Stages of Lactation. 1. Sequence of Lysine and Methionine Limitation, Journal of Dairy Science, Vol. 75, No. 12, (1992), 3486~3502

89. Schwab C.G. et al, Response of Lactating Dairy Cows to Abomasal Infusion of Amino Acids, Journal of Dairy Science, Vol. 59, No. 7, 125 4~1270

90. Schweigen, R.G. : Low-molecular-weight compounds in *Macrocystis pyrifera*, a marine algae. Arch. Biochem. Biophys., 118, 383-387 (1967)

91. Shahidi F. et al, Encapsulation of food ingredients, Critical Reviews in food science and nutrition, Vol. 33, (1993), 501~547

92. Shubat P.J., Effect of suckling and diurnal influences on the concentrations of taurine and other free amino acids in milk. Europ. J. Clin. Nutr.(GBR) 43(10) : 675~680, 1989

93. Sibbald I.R., A methionine supplement for ruminants. Proc. 2nd. World Conf. Anim. Prod. 1968

94. Spaeth, D.G., Schneider, D.L., Taurine synthesis,. concentration, and bile salt conjugation in rat, guinea, pig and rabbit, Prog. Soc. Exp. Biol. Med, 147, 855-858 (1974)

95. Srivastava A. et al, Milk production performance and nutrient utilization in buffaloes fed soybean or sunflower seeds treated with formaldehyde, Buffalo J. Vol. 2, (1994), 115~124

96. Stapleton P.P. et al, Host defense-A role for the amino acid taurine ?, Journal of parenteral and enteral nutrition, Vol. 22, No. 1, (1998), 42~48

97. Stipanuk Martha H., Kuo Shiu Ming., Effect of vitamin B6 deficiency on cysteinesulfinate decarboxylase activity and taurine concentrations in tissues of rat dams and their offspring, Nutr. Rep. Int., 30(3), 667-680, (1984)

98. Stipanuk M.H., Changes in maternal taurine levels in response to

pregnancy and lactation. Life Sci. 1984 Sep.10:35(11):1149~1155

99. Stipanuk M.H. et al, Cysteine concentration regulates cysteine metabolism to glutathione, sulfate and taurine in rat hepatocytes, American Institute of Nutrition, (1992), 420~427

100. Stipanuk M.H. et al, Hepatic regulation of cysteine utilization for taurine synthesis, Adv. Exp. Med. Biol, (1994), 79~89

101. Sturman J.A., Taurine in development, J. Nutr., 118, 1169-1176, (1988)

102. Sturman, J.A., Hepner, G.W., Hofmann, A.F. and Thomas, P.J. : Metabolism of [^{35}S] taurine in man. J. Nutr. 105, 1206-1214 (1975)

103. Thompson P.D., Milking equipment-Where are we headed ?, Journal of Dairy Science, Vol. 62, No. 1, (1979), 161~167

104. Trumbo, P.R., Effect of vitamin B_6 status of the lactating rat on taurine biosynthesis and availability to the suckling pup, Nutr. Res., 11(6), 663-668, (1991)

105. Vinton, N.E., Laidlaw, S.A., Ament, M.E. and Kopple, J.D. : Taurine concentrations in plasma, blood cells, and urine of children undergoing long-term total parenteral nutrition. Pediatr. Res., 21, 399-403 (1987)

106. Wan L.S.C. et al, Drug encapsulation in alginate microspheres by emulsification, J. Microencapsulation, Vol. 9, No. 3, (1992), 309~316

107. Wribht Charles E., Taurine : Biological update, Ann. Rev. Biochem., 55, 427-453 (1986)

108. Woollard D.C. et al, Taurine analysis in milk and infant formulae by liquid chromatography : collaborative study, Journal of AOAC International, Vol. 80, No. 4, (1997), 860~865

109. Wu Z. et al, Adequacy of amino acids in diets fed to lactating dairy

cows, Journal of Dairy Science, Vol. 80, No. 8, (1997), 1713~1721

110. Zamboni, G., Piemonte, G., Influence of dietary taurine on vitamin D absorption, Acta. Paediatr. Int. J. Paediatr. 82(10), 811-815, (1993)

111. Zeilikovic, I. Chesney, R.W., Firedman, A.L., Alfors, C.E. : Taurine depletion in very low birth weigh infants receiving prolonged total parenteral nutrition. : role of renal immaturity. J. Pediatr., 116, 301-306 (1990)

112. 박태선, 박정은 장준성, 손미원, 손경희. 한국인 상용 식물성 식품의 타우린 함량 조사. 한국식품영양학회지 : 27(5), 801~807, 1998

113. 박태선, 박정은. 시판음료, 유제품, 당류 및 조미료의 타우린 함량. 한국식품영양학회지 28(1):9~15, 1999

114. 이종숙, 한국인 모유중 taurine 함량에 관한 연구. 한국영양식량학회지 17(1):73~76p, 1988

115. 오 훈, 한국인의 인유조성과 단백질 성분에 관한 연구. 한국낙농학회지 13(2) : 141p, 1991

116. 윤영찬 등, 한국인 모유 분비기간에 따른 아미노산 변화. 인간과학 8(4):13p, 1984

117. 축협중앙회 : 1997년도 축산물생산비 분석, 1998.

118. 한국수산학회 : 수산연감 99p, 1992.

119. 농촌진흥청 농촌생활연구소 : 식품성분표 제5개정판, 1996.

120. 박태선 : 타우린의 생리활성 및 급원식품개발에 관한 연구, 1997년도 보건의료기술연구개발사업 보고서, 2000.

121. 한국식품공업협회 : 식품첨가물공전 88p, 1999.