

제주마유(馬乳)의 단백질에 관한 연구

1. FPLC에 의한 Casein의 분리

이종남, 이현종, 김중철*

제주대학교 동물자원과학과, 제주도축산진흥원*

Studies on Protein of Cheju mare's milk

1. Fraction of Casein by FPLC

Lee. J. N. , H. J. Lee, J. C. Kim*

Department of Animal Biotechnology, Cheju National University, institute for Cheju Livestock Promotion*

SUMMARY

We have adopted to study patterns of milk protein, in order to preservation of cheju native mares.

After that 1986, Cheju horses was designated to the a natural mounment No 347, there are research about its physical measurements, blood types, and meets. However, Cheju mare's milk was not study.

Cheju mare's milk appeared to contain higher amount of protein and lactose, but lower amount of fat and mineral than that of Japan native Kiso horse.

Show on Fast protein liquid chromatography(FPLC) showed that fraction patterns were different among cows, cheju mares and Thoroughbred.

In result of native-PAGE and electrophoretogram, different patterns was observed with the above statement. particularly Cheju mares had one that of Thoroughbred.

Polyacrylamide electrophoresis(PAGE) of Cheju mare's casein FPLC fraction showed that it is possible to separate by using MONO Q column in milk exception of α -s2 casein, but in Cheju mare's milk other methods will be necessary because of the lower separation of the α s2-casein.

(Key word : Casein, FPLC, PAGE, Electrophoretogram)

I. 서론

현재의 제주馬는소형의 高原型 인 Tarpan, 몽고 의 말이 혼혈의 기초가 되어 대원국 이리지방산 Arab 말의 영향을 받아 잡종화되고 오랜세월에 걸쳐 우리나라의 기후 풍토에 적응하면서 고유의 것으로 형성된 것으로 알려지고 있다. 한 때는 역용 및 승용등으로 이용범위가 넓어 55,000두 까지 사육된적도 있으나 (1917년) 국민경제의 발전과 자동차 및 농기계의 보급확대로 사용용도가 축소되어 1986년에는 1,347두로 급격히 감소되었다. 그러나 문화유산인 귀중한 제주마를 잘 보존해야 한다는 국민적 인식에 기초하여 1986년 2월 천연기념물 제 347호로 지정되었고, 제주경마장이 개설되어 제주마 경주가 실시되고, 관광승마장이 늘어남에 따라 농가의 사육의욕이 고취되면서 현재 3,000여두가 사육되고 있다.

본 연구는 1986년 천연기념물 제 347호로 지정된 이래 지금까지 체형, 혈액, 마육등에 대해서는 일부 조사가 이루어졌으나 마유에 대해서는 거의 없었음에 착안하여 제주마의 보존 차원에서 단백질을 중심으로 분석한 제 1보이다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료

실험대상으로한 제주마는 천연기념물로 지정되어 제주도축산진흥원에서 사육

중인 성빈마 23두로부터 20~ 150cc 씩 착유하여 시험관에 옮겨 넣은 다음 냉장하여 수송하였고 3회 등전점에 침전시킨 Casein 용액을 동결건조시켜 공시시료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 본 실험에서 일반성분은 우유자동 분석기인 Multispec-M(England) 을 사용하였다.

2) Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC)는 Angutia 등 (1996)의 방법에 따라 Pharmacia 사(Sweden)의 Mono Q HR 5/5 anion exchange column을 사용하였다.

3) Electrophoresis : Polyacrylamide gel 전기영동은 Davis(1964)의 방법으로, (Isoelectricfocusing(IEF)은 Pharmacia 사(Sweden)의 Phast gel IEF 4.0~6.5를 사용하였다.

4) Image analysis : 전기영동분석은 UVP사(USA)의 Image analysis system 을 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

마유에 대한 연구는 Linton(1931) 등 지금까지 많은 연구가 보고되고 있으며 국내에서의 제주마의 젖성분에 대한 보고는 김(1984)의 연구가 보고 되어 있다. 본 연구에서는 Angutia 등(1996)의 방법

에 따라 소, 제주마, 더러브렛의 Casein을 FPLC에서 단백질분리를 실시한 결과는 Fig 1,2,3과 같다. 각 개체간의 분리도를 비교해 보았을 때 우유와 마유간에 제주마와 Thoroughbred 마 사이에 분리 pattern의 차이를 볼 수 있었다. bovine casein의 4번째 peak와 5번째 peak는 각각 κ -casein과 β -casein을 나타내고 있다.

비유중기부터 후기의 말은 낮은 T.S (10~11%), Fat(1~2%), Protein(1.6~1.8)을 가진 조금 희석되어진 것이다. 그러나 Lactose(6~7%)는 높게 생산한다. 포유동물사이에서 단지 소과의 동물은 말에서 보고된 것보다 낮은 T.S, Fat, G.E를 지속적으로 생산하는 것으로 알려졌다. 마유의 낮은 에너지성분은, 비유중인 말이 망아지의 에너지요구량은 충족시키기 위하

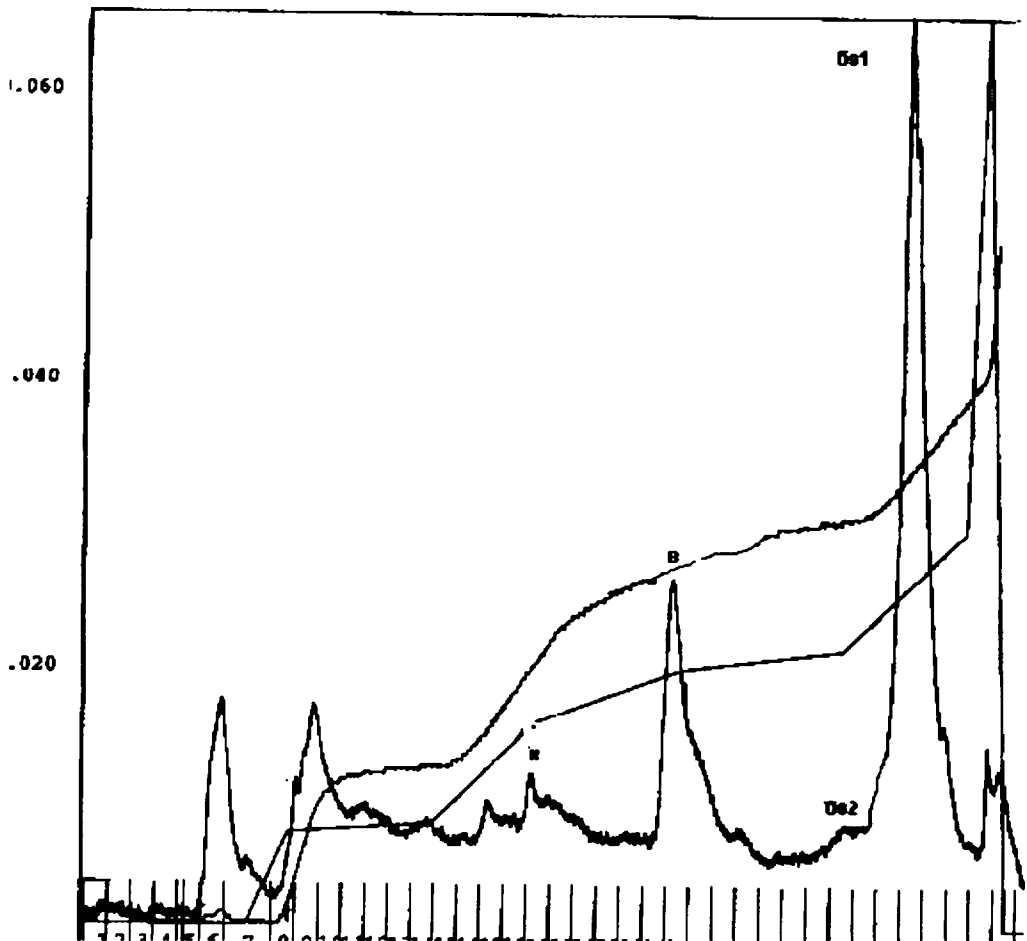


Fig.1 FPLC chromatography of bovine casein on Mono Q HR5/5 column and using BTP buffer and a NaCl gradient. sample volume 1ml , flow rate 1ml/min

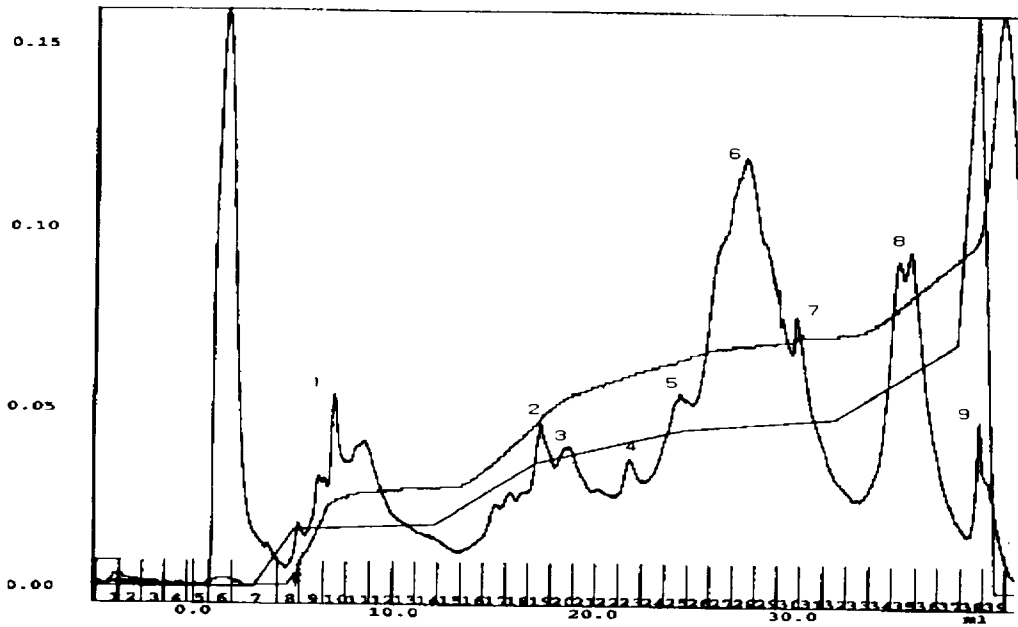


Fig.2 FPLC chromatography of cheju mare casein on Mono Q HR 5/5 column and using BTP buffer and a Nacl gradient. sample volume 1ml, flow rate 1ml/min

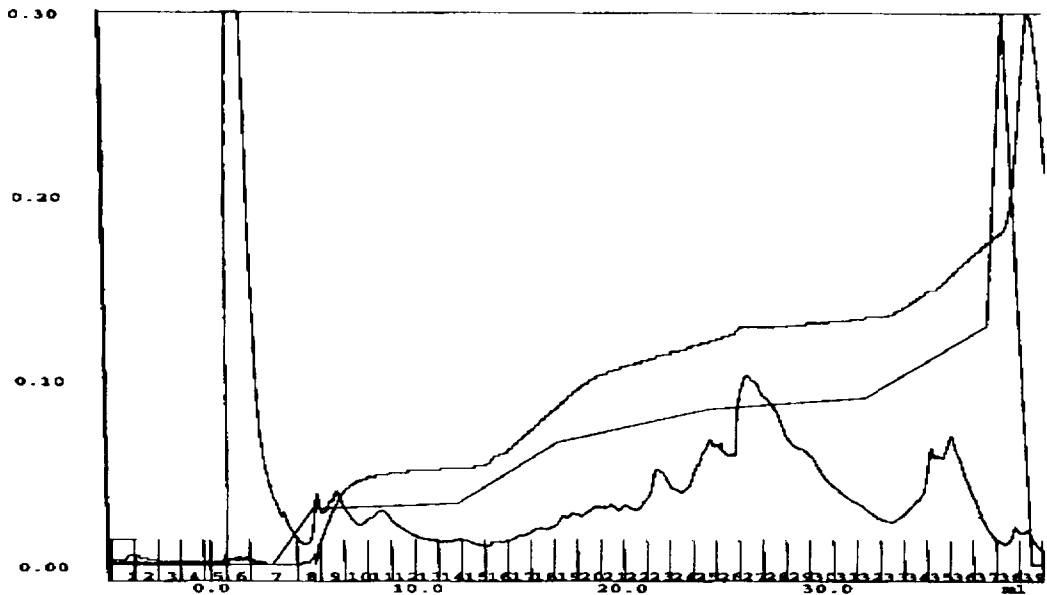


Fig.3 FPLC chromatography of Thoroughbred casein on Mono Q HR 5/5 column and using BTP buffer and a Nacl gradient. sample volume 1ml, flow rate 1ml/min

여는 우유의 많은 양을 반드시 분비하여야 한다고 제시한다.(Ofstedal, 1986)

제주마와 다른 종의 말들과의 유성분 비교는 Table 1에서 보는 바와 같이 고형분을 제외한 protein의 함량과 mineral 그리고 lactose의 함량이 다른종에 비해 높은 것으로 확인되었다. 또한 제주마유의 지방함유량은 일본 재래마인 kiso 마에 비해 훨씬 지방함량이 낮은 것으로 확인되었다.

fig.4, 5, 6, 7는 제주마와 한우 그리고,

Thoroughbred의 native-PAGE 및 electrophoretogram 결과이다. 세 종간에 α s1-casein 과 β -casein의 분리의 차이와 각각의 pattern의 차이를 확인할 수 있었고 특히 제주마는 Thoroughbred종에 비해 우유 Casein에서의 α s1-casein의 밀도에 부위와 β -casein의 상부에 또다른 band를 관찰할수 있었다. 제주마 casein의 FPLC에 의한 fraction을 polyacrylamide 전기영동한 결과 우유에서는 MONO Q column을 이용하여 casein의

Table 1. Comparison of Cheju mare milk with other species

Components	Cheju(korea)	Kiso(japan) ⁽⁴⁾	solaroli et al. ⁽⁵⁾
Minereal	0.19±0.01	0.36	0.5~ 2.0
protein	2.66±0.44	2.51	1.5~ 2.8
Lactose	6.10±0.24	5.84	5.8~ 7.0
solids	11.31±0.40	11.81	9.3~11.0
Fat	1.65±0.44	3.10	0.3~ 0.5

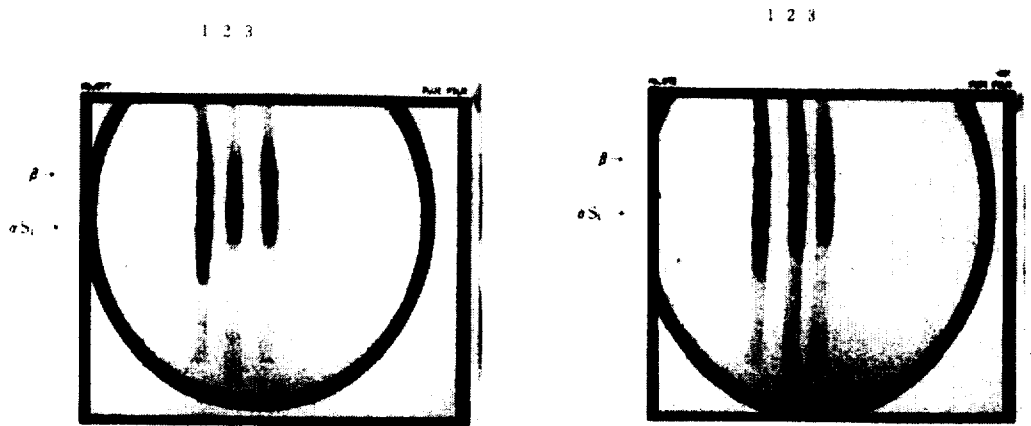


Fig.4 Eletrophoretic comparison among bovine, cheju mare and thoroughbred casein
1. bovine casein 2. cheju mare's casein3. thoroughbred mare's casein

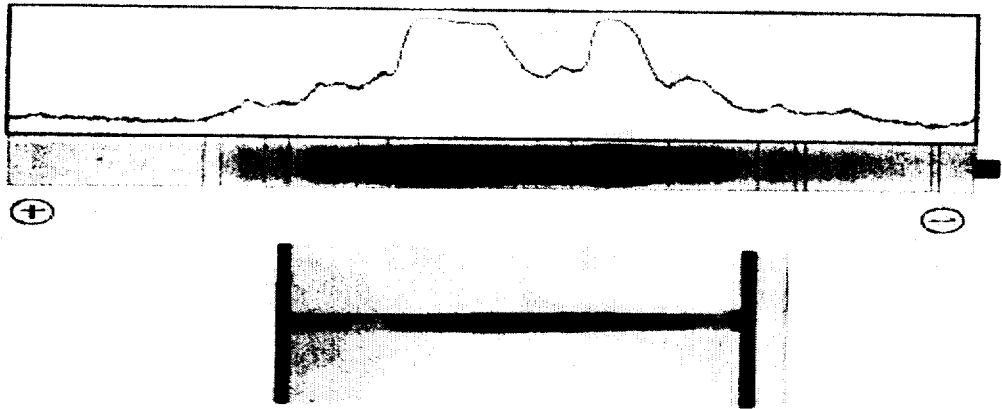


Fig. 5 Electrophoretogram of bovine casein

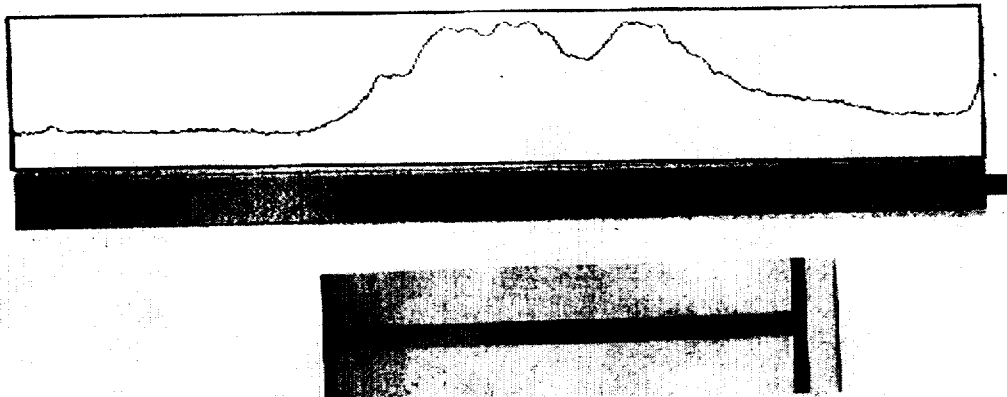


Fig. 6 Electrophoretogram of cheju mare's casein

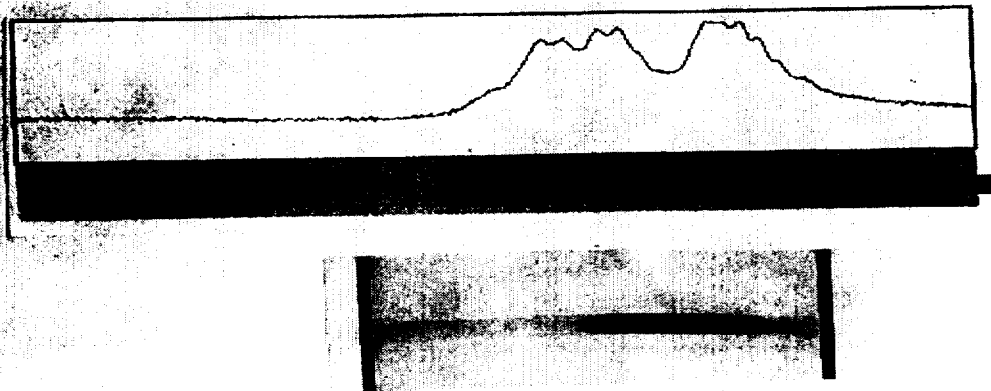


Fig. 7 Electrophoretogram of Thoroughbred mare's casein

분리정제가 α s2-casein을 제외하고 가능한 것으로 보고 되었으나 제주마에서는 분리정제도가 낮아 다른 분리방법이나 타방법과의 병행이 필요한 것으로 생각된다.

IV. 요약

제주마유의 일반성분은 일본재래마인 Kiso 마에 비해 지방, 무기물함량이 낮았고 단백질과 유당함량은 약간 높았으며 Solaroli 등의 결과와도 무기물 및 지방함량이 낮았다. FPLC의 결과에서는 우유와 마유간에 또 제주마와 Thoroughbred 마 사이에 분리 Pattern차이를 볼 수 있었다.

native-PAGE 및 electrophoretogram 결과에서도 상기 pattern의 차이를 확인할 수 있었고 특히 제주마는 Thoroughbred종에 비해 우유 casein에서의 α s1-Casein의 밑에 부위와 β -casein의 상부에 또 다른 band를 관찰할 수 있었다.

제주마 casein 의 FPLC에 의한 fraction을 polyacrylamide 전기영동한 결과 우유에서는 Mono Q column을 이용하여 casein의 분리정제가 α s2-casein을 제외하고 가능한 것으로 보고 되었으나 제주마에서는 분리정제도가 낮아 다른 분리방법이나 타방법과의 병행이 필요한 것으로 생각된다.

V. 참고문헌

1. Davis, B. J. 1964. Disc electrophoresis-II, method and application to human serum protein. Ann. N. Y. Acad. Sci., 121: 404
2. G. Anguita, R. Martin, Teresa Garcia, Paloma Morales, Anal. Haza, Gonza'lez, Bernabe' Sanz and P.E. Herna' Ndez. 1996 Immunological characterization of bovine casein fractionated by Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC). Milch-wissenschaft. 51(1): 21~25
3. Solaroli. G, E. Pagllarini and Lattle Di Cavalla. 1993. Composition and nutritional quality of mare's milk. Ital. J. food. sci. nl : 3~10
4. Vegarud G. E. T. S. Molland, M.J. BROVOLD, T.G. DEVOLD, P. ALESTROM, T. Steine, S. rogne, AND T. Langsrud. 1989 Rapid separation of genetic variants of caseins and whey proteins using urea-modified gels and fast electrophoresis. Milchwissenschaft. 44(11): 689-691
5. Tsujii, H. H. Otani and A. hosono. 1985. Characteristics of body measurement and milk composition of Kiso horse. Jap. J. of Dairy and Food Sci., 34 : A118~122
6. Csapo, J. J. Stefler, T. G Martin, S. Majrat & Zs.csapo' Kiss 1995.

- Composition of Mare's Colostrm and Milk. Fat Content Fatty Acid Composition and Vitamon Content. Int. Dairy Journal 393~402
7. Linton, R. G. 1937. The compositon of mare's milk. J. Dairy Sci., 143~172
8. Visser, S. R. JENNIES and R. MULLIN. 1982. Isolation and characterization of β -and γ -caseins from horse milk. Biochem. J.203 : 131~139