報 文

人乳と牛乳の窒素分布および 非たん白態窒素化合物について

西 川 勲, 村 田 信 子, 出 家 栄 記
川 西 悟 生, 古 市 栄 一
雪印乳業株式会社技術研究所

Nitrogen Distribution and Non-Protein Nitrogenous Compounds in Human and Bovine Milk

Isao NISHIKAWA, Nobuko MURATA, Eiki DEYA
Gosei KAWANISHI, Eiichi FURUICHI

Technical Research Institute, Snow Brand Milk Products Co., Ltd.

1. Nitrogen distribution in Japanese mother's milk was determined. The concentrations of crude protein ($N \times 6.38$) varied similar to previous data^{9)~11)} with the progress of days after parturition.
2. The proportion of casein nitrogen against total nitrogen is as follows: human milk I (1-10 days after parturition) 8.9%; human milk II (10-115 days after parturition) 37.0%; bovine milk 78.0%.
3. The proportion of milk serum protein nitrogen against total nitrogen is as follows: human milk I 60.5%; human milk II 39.3%; bovine milk 16.9%.
4. The proportion of non-protein nitrogen against total nitrogen is as follows: human milk I 30.6%; human milk II 23.7%; bovine milk 5.1%.
5. In both human and bovine milk, the concentrations of urea, creatine, amino sugar and free amino acid as a major non-protein nitrogenous compounds were determined and the proportion of their nitrogen against total nitrogen or non-protein nitrogen was estimated. Human milk contained more amino sugar and free amino acid compared with bovine milk.
6. True protein levels or accurate nitrogen-to protein factors should be used for accurate estimates of nutritive value of foods like human milk containing much non-nitrogenous compounds.

(Received August 1, 1975)

既報¹⁾において、非たん白態窒素化合物を除いた、純たん白質レベルで人乳および牛乳のたん白質の栄養評価を、ラットを用いて行なうと、人乳のほうが明らかにたん白質効率は高いことを認めた。

非たん白態窒素化合物については、牛乳について、Shahani²⁾ らが、尿素、クレアチン類、尿酸含量等を明らかにし、遊離アミノ酸については、Ghadimi ら³⁾ の研究の他は見当たらない。

本報では、人乳および牛乳中の尿素、クレアチン類、アミノ糖、遊離アミノ酸の含量およびそれら化合物の窒素として占める割合を明らかにし、これら含量の差異とたん白質の栄養評価あるいは乳児のたん白質栄養との関連について考察を加えた。

また、日本人の人乳のたん白質組成に関する報告⁴⁾ の

うち、人乳のカゼイン定量法に若干の問題が認められたので、形態別窒素化合物の分布、粗たん白質含量、カゼインと乳清たん白質の量比を再び検討した。

実 験 方 法

1. 人乳および牛乳試料

人乳は日本人の健康な婦人より得られた分べん後 1 ~ 10 日までの混合乳および分べん後 10~117 日までの個乳を凍結し、分析時に解凍して用い、牛乳はホルスタイン牛より得られた常乳の合乳を用いた。

2. 形態別窒素化合物の定量

既報¹⁾ と同様の方法によった。

3. 尿素の定量

乳汁 1 容に水 8 容、10% タングステン酸ソーダ 0.5 容、2/3N H₂SO₄ 0.5 容を加え、除たん白後、濾液について Diacetyl monoxime 法⁵⁾ により定量した。

4. クレアチン類の定量

前記3と同様に除たん白後、Jaffeの反応を用いたピクリン酸による発色法⁶⁾により定量し、総クレアチニン当量として表わした。

5. アミノ糖の定量

たん白質結合性のアミノ糖含量は、既報¹⁾の方法により調製したカゼインおよび乳清たん白質標品を、2NHCl, 110°C, 4時間封管中にて加水分解後、Rondle & Morgan法⁷⁾により定量し、グルコサミン当量として表わした。

非たん白態窒素画分中のアミノ糖含量は、12%トリクロル酢酸除たん白後、エーテルでトリクロル酢酸を除去し、等容の4NHClを加え、110°C, 4時間封管中で加水分解後、Dowex 50 X8 (H⁺)にてアミノ糖を吸着後、2NHClで溶出し、前記同様に比色定量し、グルコサミン当量として表わした。

6. 遊離アミノ酸の定量

搾乳後、乳汁10mlに対し、1%ピクリン酸40mlを添加、除たん白濾液から、Dowex 2 X8カラムでピクリン酸を除去したのち日立KLA 3型アミノ酸分析機により分析した。

実験結果および考察

1. 形態別窒素化合物の分布

分べん後10日までの混合乳および10~115日までの13人の健康な婦人より得られた計26試料について、分析を行なった。

粗たん白質含量(全窒素×6.38)について、児玉⁸⁾が分べん後10日までの経日的変化を調べた結果とわれわれの結果および斎藤⁹⁾、今村¹⁰⁾、NRC¹¹⁾の結果をプロットすると、Fig. 1に示すように、分べん後10日ごろまでの急激な減少、10~30日ごろまでのゆるやかな減少、30~120日ごろまでのほぼ一定に達する3段階の変化が認められる。斎藤、今村、NRCの値もほぼ同レベルにあり、日本人と欧米人の差もみられないと考えられる。先に、日本人の人乳500余例について行なった結果⁴⁾は、分べん後の平均日数が117±55日で、粗たん白質の平均値1.07±0.14%であり、とくに低い値ではない。

以上のように、分べん後の日数によって粗たん白質含量は変動するから、初乳(1~5日)、移行乳(6~10日)、前期成乳(10~30日)、後期成乳(30日以上)というように、母乳栄養児の場合には、分べん後の日数に伴うたん白質含量およびその組成を考慮する必要がある。

牛乳の場合は、Parrishら¹²⁾によるとだいたい5日くらいで常乳の組成に戻るといわれる。人工栄養児用調製粉乳の主原料としての牛乳は、初乳は使用されないの、常乳についてのみ考慮すれば良い。また、現在では牛乳そのままの形で用いられることはなく、量的にも質

Fig. 1. Variation of crude protein of human milk with days after parturition.

● present study, × Kodama,⁸⁾ □ Saito,⁹⁾
△ Imamura,¹⁰⁾ ○ NRC.¹¹⁾

的にも種々の改善がなされている。したがって、人工栄養児と母乳栄養児のたん白質栄養上の問題については、たんに牛乳と人乳の成分の比較という点では論ずることはできなく、調製粉乳の組成についても十分考慮する必要がある。

次に、人乳と牛乳の各形態別窒素化合物の分布をFig. 2に示す。分べん後10~115日までの人乳についての結果をみると、非たん白態窒素の全窒素中に占める割合は、平均値23.7%、標準偏差4.0、変動係数17%であった。牛乳の5.1%よりかなり高く、初乳、移行乳に相当する分べん後1~10日までの人乳では30.6%で、さらに高い値を示した。粗たん白質含量から非たん白態窒素に相当するたん白質を差し引いた純たん白質態窒素の全窒素中に占める割合は、分べん後10~115日までの人乳で、平均値76.3%、標準偏差4.0、変動係数5%であり、牛乳の94.9%と比較し低値であり、分べん後1~10日までの人乳では69.4%でさらに低い。

次に、たん白質の主要成分であるカゼインと乳清たん白質の全窒素に対する割合をみると、分べん後10~115日の人乳ではカゼインは平均値37.0%、標準偏差6.5、変動係数18%、乳清たん白質は平均値39.3%、標準偏差6.9、変動係数18%で両者の構成比はほぼ1:1である。既報⁴⁾においては、1.6:1というカゼインが高い結果が得られたが、これはカゼイン定量法に問題があ

Fig. 2. Nitrogen distribution of human and bovine milk.

ったのではないかと考えられる。すなわち、人乳のカゼインは牛乳のそれと比較し沈殿しにくいので、既報⁴⁾ではこれを補うため、酢酸緩衝液で pH を 4.6 に調整後、40°C に 10 分加温し、室温に 3 時間静置してカゼインの沈殿を得ているので、乳清たん白質の一部が変性しカゼインと共沈した結果、カゼインが高い値となったのではないと思われる。本報の方法における 35,000×g, 20 分遠心分離によるカゼインと乳清たん白質の分離は、電気泳動的にも完全であることを確認している¹³⁾。

初乳、移行乳に相当する分べん後 1~10 日までの人乳では、カゼイン 8.9%、乳清たん白質 60.5% でカゼイン含量がきわめて少ない。

牛乳ではカゼインが 78.0%、乳清たん白質 16.9% であり、カゼインが主体で乳清たん白質の占める割合は低い。

人乳と牛乳のカゼイン、乳清たん白質のアミノ酸組成における動物種による差は比較的少なく、それらの構成割合が人乳と牛乳のたん白質栄養上重要であることは、既報¹⁾において明らかにした。

2. 非たん白態窒素化合物

本報では、尿素、クレアチン類、アミノ糖、遊離アミ

ノ酸の各含量を求めた。

1) 尿素含量

Table 1 にその結果を示す。分べん後 10~96 日までの人乳では平均 100 ml 中に 27.4 mg 含有し、非たん白態窒素中尿素窒素の占める割合は 27.5% であった。

牛乳では、100 ml 中 31.7 mg 含有し、非たん白態窒素中尿素窒素の占める割合は 58.8% で人乳に比較し高い。Shahani²⁾ の結果では 46.6% で、われわれの結果はやや高い。Snyderman¹⁴⁾ は低たん白レベルにおいて尿素 N¹⁵ を用いた実験で、乳児のヘモグロビンや血清たん白質にとり込まれることを認めているが、人乳中の尿素が母乳栄養児のたん白質栄養にどの程度寄与しているかは明らかではない。

2) 総クレアチニン含量

Table 2 にその結果を示す。分べん後 97~117 日までの人乳では 100 ml 中に平均 20.9 mg 含有し、非たん白態窒素中、クレアチニン窒素の占める割合は 20.6% であり、尿素について多い成分である。

牛乳では、100 ml 中 12.7 mg 含有し、非たん白態窒素中、18.8% を占める。Shahani²⁾ らはクレアチン、クレアチニン量 16.3% という結果を得ている。尿素同

Table 1. Concentrations of urea in human and bovine milk.

Urea	Human milk ^{a)}			Bovine milk ^{b)}
	(Ave.)*	(S.D.)**	(C.V.)***	
mg/100 ml	27.4	5.8	21	31.7
N mg/100 ml	12.8	2.7	21	14.8
N % of non-protein N	27.5	7.3	27	58.8

^{a)} No. of samples: 15, period post partum: 10-96 days, ^{b)} composite milk sample (normal).

* average, ** standard deviation, *** coefficient of variation.

Table 2. Concentrations of creatinine in human and bovine milk.

Creatinine	Human milk ^{a)}			Bovine milk ^{b)}
	(Ave.)	(S.D.)	(C.V.)	
mg/100 ml	20.9	3.7	18	12.7
N mg/100 ml	7.8	1.4	18	4.7
N % of non-protein N	20.6	5.5	27	18.8

^{a)} No. of samples: 8, period post partum: 97-117 days, ^{b)} composite milk sample (normal).

Table 3. Amino sugar distribution of human milk.*

	Amino sugar**		Amino sugar N	
	mg/100 ml	% of total amino sugar	mg/100 ml	% of total N
Casein fraction	9.6	8.6	0.75	0.41
Milk serum protein fraction	21.5	19.4	1.68	0.93
Non-protein fraction	80.0	72.0	6.24	3.45
Total	111.1	100.0	8.67	4.79

* N mg/100 ml: total 181, casein 67, milk serum protein 71, non-protein 43. Amino sugar mg/g N: casein 142.6, milk serum protein 303.4.

** as glucosamine.

Table 4. Amino sugar distribution of bovine milk.*

	Amino sugar**		Amino sugar N	
	mg/100 ml	% of total amino sugar	mg/100 ml	% of total N
Casein fraction	6.7	17.1	0.52	0.11
Milk serum protein fraction	12.5	31.9	0.98	0.20
Non-protein fraction	20.0	51.0	1.56	0.32
Total	39.2	100.0	3.06	0.63

* N mg/100 ml: total 490, casein 382, milk serum protein 83, non-protein 25. Amino sugar mg/g N: casein 17.6, milk serum protein 150.6.

** as glucosamine.

様, 栄養的意義は不明である。

3) アミノ糖含量

人乳中の炭水化物は, 大部分乳糖であるが, ビフィダス菌の発育促進因子と考えられているオリゴ糖の存在することが, Kuhn¹⁵⁾ らによって明らかにされ, その構成糖としてグルコサミンを含んでいる。また, たん白質に結合した, ガラクトサミン, グルコサミンの存在も認められている¹⁶⁾。これらアミノ糖は窒素を含有しており, 粗たん白態窒素として寄与していることになる。

人乳のアミノ糖含量をカゼイン結合態, 乳清たん白質

結合態, 非たん白態の3画分に分けて, 1例について精査した結果によると, Table 3 のごとく, 人乳 100 ml 中全アミノ糖はグルコサミンとして 111.1 mg 含有し, 全アミノ糖を 100 とすると, 72% が非たん白態画分に, ついで乳清たん白質に 19.4%, カゼインがもっとも少なく, 8.6% 分布していることがわかった。全窒素中に占めるアミノ糖窒素の割合は 4.79% であった。

牛乳では (Table 4), 100 ml 中の全アミノ糖は人乳より低く, 39.2 mg, そのうち非たん白態画分に 51% でもっとも多く, ついで乳清たん白質に 31.9%, カゼインに

Table 5. Concentrations of amino sugar in non-protein fraction of human and bovine milk.

Amino sugar*	Human milk ^{a)}			Bovine milk ^{b)}
	(Ave.)	(S.D.)	(C.V.)	
mg/100 ml	80.0	40.7	51	20.0
N mg/100 ml	6.2	3.2	52	1.6
N % of non-protein N	13.8	5.1	37	6.4

^{a)} No. of samples: 8, period post partum: 10-105 days, ^{b)} composite milk sample (normal).

* as glucosamine.

Table 6. Concentrations and compositions of free amino acids in human and bovine milk.

Amino acid	Human milk ^{a)}				Bovine milk ^{b)}	
	mg AA/100 ml		% AA of total AA	mg AA/100 ml		% AA of total AA
	(Ave.)	(S.D.)		(C.V.)	(Ave.)	
Lys	0.199	0.060	30	0.65	0.66	8.42
His	0.413	0.168	41	1.34	0.01	0.12
Arg	0.089	0.035	39	0.29	0.35	4.46
Asp	0.576	0.260	45	1.87	0.37	4.72
Thr	1.231	0.531	43	3.99	0.12	1.52
Ser	2.694	0.727	27	8.74	0.20	2.55
Glu	20.376	4.620	23	66.06	3.39	43.28
Pro	0.268	0.073	27	0.87	0.62	7.91
Gly	0.799	0.189	24	2.59	0.98	12.51
Ala	1.959	0.540	28	6.34	0.43	5.48
Cys	0.937	0.384	41	3.04	tr.	—
Val	0.560	0.148	26	1.82	0.24	3.06
Met	0.052	0.015	29	0.17	tr.	—
Ile	0.080	0.022	28	0.26	0.09	1.14
Leu	0.275	0.121	44	0.89	0.14	1.77
Tyr	0.138	0.024	17	0.45	0.24	3.06
Phe	0.195	0.045	23	0.63	tr.	—
Total	30.841	—	—	100	7.83	100

^{a)} No. of samples: 8, period post partum: 97-117 days previous data.¹⁶⁾

^{b)} composite milk sample (normal).

17.1% の順に分布している。この傾向は人乳と同様である。

全窒素中に占める全アミノ糖窒素の割合をみると、人乳 4.79%, 牛乳 0.63% で人乳のほうが高い割合を示している。

次に、非たん白態のアミノ糖について分べん後 10~105 日までの 8 例の分析結果を Table 5 に示す。100 ml 中平均 80.0 mg 含有するが、変動係数はかなり高い。この原因は分べん後日数とともにアミノ糖含量は減少す

るためであろう。非たん白態窒素中アミノ糖窒素の占める割合を求めると 13.8% であり、一方、牛乳では 6.4% であった。アミノ糖がいかなる意義をもっているかは不明であり、今後の研究がまたれる。

4) 遊離アミノ酸

人乳および牛乳の遊離アミノ酸の分析結果を Table 6 に示す。人乳の遊離アミノ酸は分べん後 97~117 日の 8 試料について分析し、100 ml 当たりの mg 数、平均、標準偏差、変動係数、各アミノ酸の構成割合を求めた。

グルタミン酸がもっとも多く、セリン、アラニン、スレオニン、シスチン、グリシンが比較的多いアミノ酸である。アミノ酸の総平均値は 100 ml 中 30.8 mg であった。

牛乳の遊離アミノ酸¹⁷⁾は 100 ml 中 7.8 mg で人乳より少ない。人乳と同様、グルタミン酸がもっとも多いアミノ酸であるが、グリシン、リジンがかなり多く、人乳とは異なったパターンを示している。なお、Ghadimi ら³⁾の分析値と比較すると量、パターンともわれわれの結果と異なっており、いかなる理由によるのか明らかではない。

非たん白態窒素中に占める遊離アミノ酸窒素の割合をみると、人乳では 9.2%、牛乳では 3.9% であった。全アミノ酸中に占める遊離アミノ酸量の割合を求めると、人乳では約 3.3%、牛乳では約 0.5% となり、遊離アミノ酸の全アミノ酸中に占める量は少ない。アミノ酸パターンから考えても、アミノ酸栄養における遊離アミノ酸の寄与は少ないと思われる。

次に、人乳の非たん白態窒素画分中にペプチド類が含

まれるかどうかを明らかにするために、トリクロル酢酸除たん白濾液について、加水分解前後のアミノ酸組成を比較すると、Table 7 に示すように、Case 1 (分べん後 40 日の個乳) では 18.2 mg から 55.7 mg, Case 2 (分べん後 105 日の個乳) では 29.6 mg から 59.1 mg に、2~3 倍増加することから、非たん白態画分中には 12% トリクロル酢酸に可溶性ペプチド類が存在すると考えら

Fig. 3. Distribution of non-protein nitrogen.

Table 7. Changes of amino acid contents in non-protein fraction before and after hydrolysis.

Amino acid	Case 1*		Case 2**	
	Before	After	Before	After
	mg/100 ml		mg/100 ml	
Lys	0.350	1.695	0.491	2.630
His	0.390	1.242	0.436	0.869
Arg	0.176	0.387	0.294	0.760
Asp	0.865	4.977	2.094	4.143
Thr	1.094	2.554	1.737	2.124
Ser	1.263	3.789	3.556	3.737
Glu	11.102	26.415	14.234	31.420
Pro	0.152	1.793	0.475	1.865
Gly	0.164	1.572	1.459	2.012
Ala	2.050	2.734	2.164	2.960
Cys	0.695	0.695	0.964	0.964
Val	0.719	1.959	0.614	1.249
Met	0.035	1.245	0.041	0.954
Ile	0.154	1.071	0.173	0.849
Leu	0.379	1.544	0.353	1.090
Tyr	0.248	1.384	0.266	0.922
Phe	0.256	0.675	0.271	0.511
Total	18.247	55.731	29.622	59.059
	(N=2.313)	(N=6.445)	(N=3.499)	(N=6.897)

* individual milk of 40 days after parturition.

** individual milk of 105 days after parturition.

れる。

以上、非たん白態窒素化合物の主要な成分と考えられる、尿素、クレアチン類、アミノ糖、遊離アミノ酸量について述べたが、Fig. 3 に全窒素中および非たん白態窒素中に占める割合をまとめた。人乳では非たん白態窒素中約 70% (ペプチド類を含めると約 80%) が、牛乳では約 88% がこれら化合物によって説明できた。全窒素中では人乳 18.5%、牛乳 4.5% がこれら化合物で占められる。これら非たん白態窒素化合物が栄養的にどのような意義をもっているかは今後の研究にまたねばならないが、たん白質の栄養評価に際しては十分考慮されるべきと思われる。すなわち、従来たん白質の栄養評価は粗たん白質レベルで行なわれることが多いが、人乳のように粗たん白質中約 24% の非たん白態窒素化合物を含有するものと、約 5% の比較的少ない牛乳を比較する場合に、全窒素に同一のたん白質換算係数 6.38 を乗じて求めた粗たん白質レベルを同一にして比較を行なっても、真のたん白質の評価を行なったことにはならないであろう。Barness¹⁸⁾ は人乳と牛乳を窒素レベルを同一になるように調整し、乳児における窒素出納を比較した実験で、粗たん白質レベルでは有意差は認められないが、非たん白態窒素を除いた真のたん白質を基準にして計算すると、人乳のほうが有意に保留窒素は牛乳より大であったと述べている。この事実は、われわれの報告とともに、真のたん白質の栄養価を論ずるには、非たん白態窒素化合物は除かれるべきことを示唆するものである。したがって、栄養価を厳密に比較する際には、精製されたたん白質を用いるべきであろうし、あるいは粗たん白質算出時の換算係数を修正すること一つの方法であろう。以上のような点は、人乳のみならず非たん白態窒素化合物が多い食品のたん白質栄養評価の場合にも考慮されるべきであろう。

要 約

1) 日本人の人乳の窒素分布を求めた。粗たん白質量 (全窒素×6.38) は分べん後の日数につれて、従来の結果と同様な減少の傾向を示した。

2) 全窒素に対するカゼイン態窒素の割合は、人乳 I (分べん後 1~10日まで) 8.9%；人乳 II (分べん後 10~

115日) 37.0%；牛乳 78.0% であった。

3) 全窒素に対する乳清たん白質態窒素の割合は、人乳 I 60.5%；人乳 II 39.3%；牛乳 16.9% であった。

4) 全窒素に対する非たん白態窒素の割合は、人乳 I 30.6%；人乳 II 23.7%；牛乳 5.1% であった。

5) 非たん白態窒素のおもな成分として、尿素、クレアチン、アミノ糖、遊離アミノ酸の含量とそれら化合物の窒素が全窒素あるいは非たん白態窒素中に占める割合を人乳と牛乳について求めた。人乳は牛乳よりアミノ糖、遊離アミノ酸を多く含有する。

6) 非たん白態窒素化合物の多い人乳のような食物の栄養評価には、真のたん白質レベルあるいは正しいたん白質換算係数が用いられるべきであろう。

文 献

- 1) 西川 勲, 村田信子, 割石正信, 出家栄記, 川西悟生, 古市栄一: 栄養と食糧, 28, 9 (1975)
- 2) Shahani, K.M. and Sommer, H.H.: *J. Dairy Sci.*, 34, 1010 (1951)
- 3) Ghadimi, H. and Pecora, P.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 13, 75 (1963)
- 4) 斎藤健輔, 中里溥志, 川西悟生, 西川 勲, 野口絢子, 土肥 達, 今村正男: 栄養と食糧, 16, 327 (1963); 16, 336 (1963)
- 5) Ormsby, A.A.: *J. Biol. Chem.*, 146, 595 (1942)
- 6) 佐藤徳郎, 福山富太郎: 光電比色法各論(2), 化学の領域, 102 (1965)
- 7) Randle, C.J. and Morgan, W.J.: *Biochem. J.*, 61, 586 (1955)
- 8) 児玉貞介: 日児誌, 76, 681 (1972)
- 9) 斎藤健輔, 野口洋介, 野口絢子, 新郷珠美子, 村田信子, 石井哲男: 栄養と食糧, 18, 430 (1966)
- 10) 今村栄一: 日児誌, 70, 341 (1966)
- 11) National Research Council: *Bull. Nat. Res. Coun.*, No. 254 (1953)
- 12) Parrish, D.B., Wise, G.H. and Atkeson F.W.: *J. Dairy Sci.*, 31, 889 (1948); 33, 457 (1950)
- 13) 西川 勲, 斎藤健輔: 日農化誌, 43, 50 (1969)
- 14) Snyderman, S.E., Holt, L.E., Dancis, J., Roitman, E., Boyer, A. and Balis, M.E.: *J. Nutrition*, 78, 57 (1962)
- 15) Kuhn, R.: *Angew. Chem.*, 69, 23 (1957)
- 16) Adachi, S. and Patton, S.: *J. Dairy Sci.*, 44, 1375 (1961)
- 17) 川西悟生, 斎藤健輔: 日畜会報, 37, 430 (1966)
- 18) Barness, L.A., Barker, D., Guilbert, P., Torres, F.E. and György, P.: *J. Pediatrics*, 51, 29 (1957)

(昭和 50 年 8 月 1 日受理)