

대두 단백질의 특성과 그 이용

- 총 설 -

박 양 원

동신대학교 식품영양학과

Characteristics of the Soybean Protein and Its Utilization

Yang-Won Park

Dept. of Food and Nutrition, Dongshin University, Naju 520-714, Korea

Abstract

Soybean composition, which is different from those of other beans and grains, gives from 35 to 40 percent protein, 15 to 20 percent oil, and 20 to 25 percent sugar. Soybean has been extensively used as the raw material for traditional foods such as bean curd, soy sauce, soy paste and so on, since ancient times in Korea. Ultracentrifugal components of the soybean proteins represent four major peaks with sedimentation constants of about 2, 7, 11 and 15S. The two major reserve protein of soybean, 7S and 11S globulins, have been isolated and characterized by many workers. The curd made with microbial enzyme exhibited minuter structure than those of the metal ion- and acid-treatment. Thus, the curd obtained by enzymatic operation serves as a material for further development of food items, and the procedure may be widely applicable in food processing.

Key words : soybean protein, microbial enzyme, curd

서 론

예로부터, 우리나라를 비롯한 동양각국에서는 전통적으로 미생물균에 의한 분해효소를 이용하여 된장(soy paste), 간장(soy sauce), 고추장(red pepper bean paste) 등과 같은 형태로 대두단백을 분해하여 식생활중의 부식으로 하는 중요한 단백질 자원으로 이용하여왔다.

근년에들어, 식물성단백질에 대한 관심이 높아지면서 대두가 새롭게 각광을 받고 있는 것은, 대두가 양질의 단백질과 높은 함량의 필수지방산을 함유함에 따라 영양적으로 우수한 식품소재가 될수 있다는 재평가가 되어지고 있기 때문이다.

대두는 질소량으로 환산하여 약 40%의 단백질을 함유하고 있으며 대두 단백질의 대부분은 자엽의 단백질과립(protein body)중에 존재하는 생물활성을 갖지않는 저장 단백질이다. 대두단백질은 총 12개의 subunit(6개의 산성 subunit와 6개의 염기성 subunit)로 구성되어 있으며, 이 때문에 주요 단백질은 200,000~600,000의 분자량을 갖는다. 미변성의 상태에서, 이들 거

대분자는 해리회합반응(dissociation-association reaction), 또는 disulfide linkage를 통해 다량체를 형성함으로써 커다란 입자를 만든다. 이와같은 대두단백질이 가지는 복잡한 구조적 특징 때문에, 대두단백질에 대해서 상세한 연구를 하기전에 대두단백질을 분리하는 것이 필요하다.

많은 연구자들에 의해 대두단백의 조성이 조사되고, 또한 최근에 이르러서는 대두단백의 구조까지 상세하게 밝혀지고 있지만^{1,2)}, 전통식품으로써의 대두단백의 이용한계를 벗어나고 있지못하는 실정이다.

본 논문에서는, 대두단백의 응용측면에서 대두단백의 조성과 주요 globulin인 7S와 11S단백질의 조제법 및 미생물효소에 의한 대두단백의 응고를 중심으로 산업에의 응용을 고찰하고자 한다.

대두단백질의 조성

대두종자 단백질의 약 90%는 물로써 추출되어진다. 더우기 물추출 단백질의 약 90%는 pH 4~5에서 등전

침전하고, 침전단백질은 대두 globulin (또는 산침전 단백질)으로 총칭되며, 대두단백질의 약 80%에 달한다³⁾.

Table 1^{3,4)}에 표시되는 것과 마찬가지로 대두 globulin의 침강성분은 pH, 이온강도(μ) 등의 환경인자로 변화하나, 7S, 11S성분이 주요성분으로 합쳐서 대두 globulin의 약 70%를 점유하고 있다.

대두종자의 색깔, 크기, 모양 및 다른 물리적 특성은, 그것의 화학조성과 마찬가지로 다양하며 대두 globulin의 구성비, 특히 11S성분은 단일성분으로 11S globulin으로 불리우나, 대두의 품종에 따라 변동한다^{5,6)}.

한편, 7S 성분은 복잡하며, Sephadex chromatography⁷⁾ 및 polyacryl amide gel 전기영동⁸⁾에 의해서도 2 성분 이상의 7S의 존재가 확인되었다. 이들 7S 성분중 이온강도(μ)의 변화에 민감한 7S ↔ 9S의 해리회합반응(dissociation-association reaction)성분은 낮은 이온강도(μ)에 의해서 가역적이며 정량적으로 소량만이 형성되는 것으로 확인되었고⁹⁾, 11S 성분과 interaction 하는 7S 성분도 연구 되었다^{10,11)}. 2S 성분의 존재는 2.8S glob-

Table 1. Ultracentrifugal analysis of soybean globulin

Ultracentrifugal sediment composition %	
2S (α -conglycinin)	15.0
7S (β -conglycinin)	34.0
11S (glycinin)	41.9
15S	9.1
100.0 %	

ulin이 단리되어 2성분 이상이 존재하는 것으로 생각되며, 15S 성분은 11S globulin의 회합물을 포함하는 것을 확인 했으나, 대두 globulin 중에서 가장 불분명한 성분이다.

대두단백 성분의 조제법

대두 globulin 성분을 단리한 보고는 많으나, 정제법이 확립되어 있는 7S 및 11S globulin의 조제방법을 중심으로 소개한다^{7-9,12-18)}.

7S globulin (β -conglycinin)

겔 여과법

본 방법은 최초로 성공한 7S globulin의 정제법으로, 11S globulin의 냉각침전(CIF)이 Ca^{2+} 의 존재하에서 촉진되는 현상을 이용하여 11S 성분을 제거, 7S 성분을 여러차례 겔 여과의 반복을 통해 정제하는 방법이다¹⁵⁾.

산 처리법

이 방법은 염화나트륨을 포함하는 산성용액 중에서 11S 성분을 선택적으로 침전제거함으로써, 상정액의 7S 성분을 얻는 방법이다¹⁶⁾.

황산암모늄법

본 방법은 황산암모늄 60% 포화용액을 사용하여 냉각-포화-냉각의 처리로 침전하는 단백질을 차례로 제거하여, 최후에 90% 포화용액으로 침전하는 성분을 취하여 겔 여과 하여 7S globulin을 제거하는 방법이다¹⁷⁾.

위에 소개한 정제방법은 방법이 복잡한 불편때문에, 현재는 Sepharose 6B column을 이용한 7S globulin의 정제방법이 가장 널리 쓰여지고 있다.

a. Sepharose 6B gel chromatography

본 방법은 간단하게 7S globulin을 얻을 수 있는 정제법으로, pH 6.6에서 11S globulin 성분을 침전으로 제거하고, 7S globulin을 농축한 시료에 대해 겔 여과를 통해 정제하는 방법이다⁸⁾. 본 방법은 특히, Sepharose 6B gel

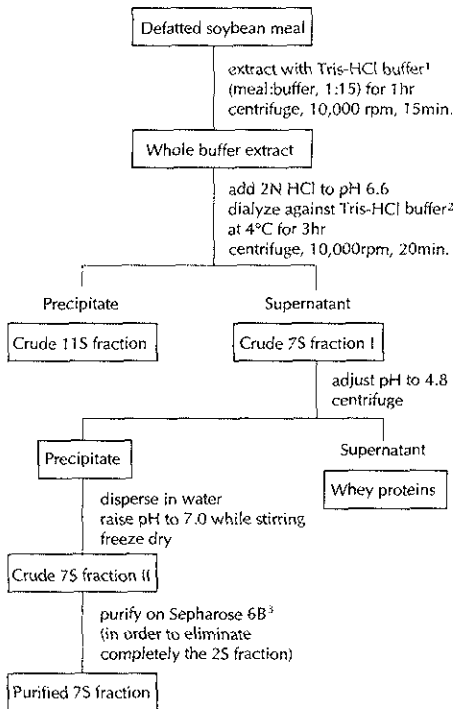


Fig. 1. Schematic outline of the simultaneous separation of the 7S and 11S fractions from defatted soybean meal.

Buffer 1 ; 63mM Tris-HCl buffer containing 10mM β -mercaptoethanol, pH 7.8 ; buffer 2 : 63mM Tris-HCl buffer containing 10mM β -mercaptoethanol, pH 6.6 ; buffer 3 : 35mM KH_2PO_4 , 26mM K_2HPO_4 , 0.4M NaCl containing 10mM β -mercaptoethanol ; pH 7.6 at 4°C.

여과의 단계에서 전반부에 분자량이 큰 11S 성분이 제거되어 용출되기 때문에 중반 이후에 용출되는 7S 성분의 분리가 용이하다.

Fig. 1의 방법에 의해 제조된 crude 7S 성분은 표준완충용액 (35mM phosphate ; 0.4M NaCl ; 10mM β -mercaptoethanol ; pH 7.6)으로 조정된 Sepharose 6B column (2.5 × 100cm)으로 용출하며, 분취된 7S globulin fraction은 280nm에서 그 흡광도를 측정한다.

이 방법에 의해 7S 성분의 80%가 정제된 상태에서 얻어진다.

b. DEAE-Sephadex A-50 chromatography

본 방법은, Sepharose 6B에 의해 정제된 7S 단백질을 증류수로 충분히 투석하여 얻어진 침전 단백질을 동결 건조하여 표준완충용액 (16mM K_2HPO_4 , 35mM KH_2PO_4 containing 10mM β -mercaptoethanol ; pH 7.8)에 용해한 후, DEAE-Sephadex A-50 column (1.5 × 30cm)으로 0M~0.4M의 NaCl gradient에 의해 7S globulin 성분을 정제한다³⁾.

정제된 7S 성분은 DEAE-Sephadex A-50 chromatography에 의해 Fig. 2에 표시된 것과 마찬가지로 적어도 4가지 성분으로 나누어진다.

11S globulin (glycinin)

대두 저장단백질 중에서 단리법이 가장 많이 연구되어 있는 성분이다. 11S globulin은 cryoprotein의 성질을 갖기 때문에, 물추출 단백질로부터 초원심분리로 약 60% 정도의 순도로 냉침 단백질(CIF)로써 쉽게 농축되며, Ca^{2+} 의 존재하에서 냉침은 현저하게 촉진된다. 이와같은 성질을 이용하여 초기의 11S globulin의 정제에는 CIF (cold insoluble fraction)가 출발물질로써 사용되었다¹²⁻¹⁴⁾.

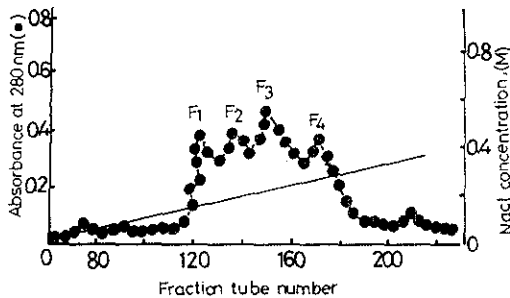


Fig. 2. The elution profile of the purified 7S fraction on DEAE-Sephadex column chromatography. Degradation products were eluted by 500ml each of a NaCl concentration gradient (0~0.4M). The flow rate was 12.5ml/hr and 6.5ml fractions were collected.

Mitsuda¹²⁾는 냉침단백질을 Sephadex G-200 column을 통해 겔여과하여 얻어지는 11S 성분에 혼합되어 있는 7S 성분을 인산칼슘으로 흡착시켜 제거하고, 11S globulin을 최초로 정제하였다.

Wolf 등⁴⁾은 황산암모늄 분획법으로 초원심분리를 이용하여 90%순도의 11S 성분을 DEAE-Sephadex A-50 chromatography를 통해 얻었다.

최근에는 ion exchange chromatography 및 affinity chromatography의 방법을 사용해 90% 이상의 11S fraction을 정제하며, Sepharose 6B column을 통하여 간단히 95% 순도의 11S성분을 정제한다.

a. Gel filtration method³⁾

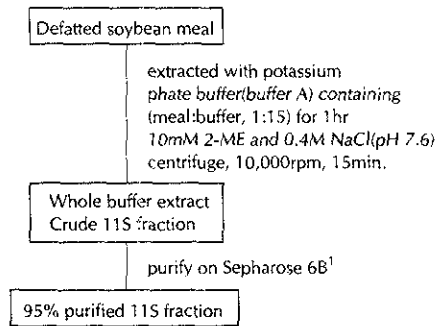


Fig. 3. Schematic outline of the separation of the 11S fraction from defatted soybean meal.

1 ; Dialyzed in the phosphate buffer (pH 6.6) purify on Sepharose 6B column previously equilibrated with buffer A.

b. Ion exchange chromatography method⁴⁾

Sepharose 6B gel filtration에 의해 95% 순도의 11S fraction을 DEAE-Sephadex A-50 chromatography로 흡착용출시켜, Fig. 4와 같이 적어도 3성분 이상의 11S fraction을 단리한다.

다음은 Table 2와 Table 3에 각각 아미노산 조성과 N-말단 아미노산 조성을 나타내었다.

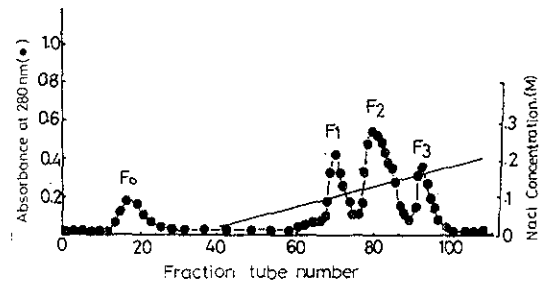


Fig. 4. The elution profile of the acidic polypeptides on the DEAE-Sephadex column chromatography. Degradation products were eluted by 500ml each of a NaCl concentration gradient (0~0.3M). The flow rate was 12.5ml/hr and 6.5ml fractions were collected.

중성에서 7S 단백질은, 이온강도의 변화에 따라 현저한 가역적 반응을 받는다. Ion강도 0.5에서 7S 단백질은 180,000~210,000의 분자량을 가지나, ion강도 0.1에서 약 9S(1% 단백질 농도)의 속도로 침강하여 370,000의 분자량을 갖는다. pH 2 및 저이온 강도에서 7S globulin은 여러 subunit로 해리된다고 생각되어지나, 2S와 5S로 변화하며, ion강도 0.1 이상에서는 2S와 5S 형태로의 변화가 저해되고, pH 7.6, 이온강도 0.5의 완충 용액에서 투석함으로써 7S형으로 되돌아 온다.

11S 단백질의 12개의 N-말단 잔기는 11S 단백질 분자가 복잡한 구조를 가지는 것을 나타내는데, 이온강도 0.1에서 부분적으로 빠르게 회합한다. 온화한 조건 하에서의 해리(pH 7.6, ion강도 0.01)는 가역적이나, pH의 상승으로 단백질이 해리된 경우에는 불가역적이 된다. 한편, ultraviolet difference spectral 연구에 의해,

Table 2. Amino acid composition of soybean proteins

g Amino acid residue/100g protein			
2S(2.8S globulin) ¹⁷⁾ 7S(β -conglycinin) ¹⁸⁾ 11S(glycinin) ²⁰⁾			
Trp	2.3	0.3	1.4
Tyr	2.2	3.3	3.9
Arg	6.5	7.9	7.0
His	0.6	1.5	2.3
Lys	5.6	6.2	4.2
Phe	6.5	6.6	4.9
1/2Cys	1.9	0.2	1.4
Cys	-	-	-
Met	0.6	0.2	1.3
Ser	4.1	5.6	6.5
Thr	3.4	2.4	4.5
Leu	6.4	8.8	6.3
Ileu	8.1	5.5	5.1
Val	6.8	4.3	4.3
Glu	9.4	18.0	21.8
Asp	13.5	12.2	12.2
Gly	3.9	2.2	3.6
Ala	2.5	3.0	3.4
Pro	4.5	3.7	4.9
Ammonia	-	1.6	-

Table 3. N-terminal amino acid composition of soy globulin components

2.8S globulin ²⁰⁾	7S globulin ¹⁸⁾	11S globulin ²¹⁾
Asp 1	Asp 1	Gly 8
	Ala 1	Phe 2
	Gly 1	Leu
	Ser 2	(Ileu) 2
	Tyr 1	
	Glu 1	
	Val 1	
	Leu	
	(Ileu) 1	

1) 7S globulin의 Trp은 분자표면에 존재하고, Tyr의 대부분은 분자내부의 소수영역에 몰입된 형태로 존재한다^{22,23)}. 2) 11S globulin의 Tyr 및 Trp잔기는 분자의 소수영역에 몰입해 있는데, 그중 14개의 Trp과 35~39개의 Tyr잔기는 분자표면에 존재²⁴⁾하는 것으로 밝혀졌다.

미생물효소에 의한 대두단백질의 응고

전통적 방식에서의 발효 및 무발효 대두식품의 산물은 옛사람들의 지혜였다. 오래전부터 중국에서는 대두식품을 두가지 방법으로 분리하여 다양하게 발전시켜왔다²⁵⁾.

a) 미생물 이용식품[soy sauce, soy paste, fermented tofu (chotofulu, bean curd)]

b) 미생물을 이용하지 않은 식품(두부 및 그 변형제품)

이와같은 대두의 광범위한 응용과 식품산업에서의 적용에도 불구하고, 대두단백질은 식품에 많이 쓰이고 있지않다. 그것은 대두단백을 식품화 하기 위한 몇가지 문제점 때문으로 생각할수 있다.

- 1) 대두 특유의 맛과 향기
- 2) 단백질 회수율
- 3) 물에 대한 불용성

온도²⁵⁻²⁷⁾, pH^{28,29)}, ion강도^{26,29)}, 응고제^{30,31)} 및 효소적 수식³²⁻³⁵⁾을 통하여 대두 단백질의 기능적 특성을 개선하기 위한 많은 논문이 발표되었다. 특히 Fuke 등³³⁻³⁵⁾이 파인애플에서 추출한 식물성 protease인 bromelain을 이용하여 대두유로부터 제조한 cheese-like food는 새로운 시각에서 관심이 모아졌었으나, 쓴맛을 생성하는 문제점을 보였고, 대두단백의 겔화, 수분 보지력 및 curd의 탄력성에 대한 개선이 미흡했다. 이의 결점을 보완하기위한 연구로써, Park 등³⁷⁾은 토양에서 분리한 미생물 *Bacillus* sp. K-295G-7이 생산하는 두유응고 효소를 이용하여, 대두단백을 응고시켜 대두단백의 새로운 물성을 가진 식품소재로써의 가능성을 시사 하였고, 미생물 *Bacillus* sp. K-295G-7이 생산하는 효소에 의한 대두단백의 응고물은 앞에서 말한 대두 단백질의 여러 가지 기능적 특성을 개선할수 있는 것으로 평가 되었다^{38,39)}. 미생물 효소로 제조된 curd는 대두 특유의 맛과 향기가 없고, 쓴맛을 생성하지 않으며 mild texture의 "umami"를 갖는 종래의 금속이온에 의해 제조된 두부와는 전혀 다른 새로운 물성의 curd를 형성하였다.

대두단백의 응고, 즉 curd를 제조함에 있어 가장 중요한 것은 clotting activity/proteolytic activity의 비율

Table 4. Ratio between soymilk-clotting activity and proteolytic activity²⁸⁾

Enzyme	Soymilk-clotting activity / proteolytic activity
Crude enzyme	49.5
Enzyme I	61.9
Enzyme II	207.6
Bromelain	93.0

Proteolytic activity was determined with SPI as the substrate at pH 6.1 and at 50° C for 10min

Table 5. Relative proteolytic activity toward various proteins²⁹⁾

Substrate	Relative activity (%)	
	Enzyme I	Enzyme II
SPI	100	100
Casein	78	41
Hemoglobin	37	33
Ovalbumin	6	25
BSA	25	66
Elastin	4	6

Enzyme reaction was carried out at pH 9.0 and 50° C for 30 min

인데 Table 4에서 보는 것과 마찬가지로 정제된 *Bacillus* sp. K-295G-7이 생산하는 enzyme II의 경우, clotting activity/proteolytic activity의 비율이 다른 효소에 비해 월등히 높다는 것은 미생물효소가 대두단백응고효소로써 적합하다는 것을 시사하고 있다.

Table 5에서 보여주듯이 미생물효소는 다른 여러 단백질에 비해 SPI (soy protein isolate)를 잘 분해한다는 것도 역시 대두단백응고효소로써의 적절함을 잘 말해 주고 있다.

한편 시판되고 있는 두유에 각각 HCl, microbial enzyme 및 meta lion (Ca²⁺)을 처리하였을때의 변화를 scanning electron microscope를 통하여 관찰하였다. Fig. 5에서 알수 있는 것과 마찬가지로 microbial enzyme (*Bacillus* sp. K-295G-7 enzyme I, II)에 의해서 생성된 curd상의 물질구조는 산처리한 것이나 금속염처리한 curd에 비해 훨씬 조밀한 구조를 하고 있는 것을 알수있다.

장래의 과제와 전망

대두 단백질의 물리화학적 특성, 영양기능 등이 분명해지면서, 종래의 단백질이나 아미노산 보다 우수한 점도 확인되었고, 그 특성을 살리는 이용이 다방면에서 검토되고, 일부는 실용화되고 있다. 그러나 현재는

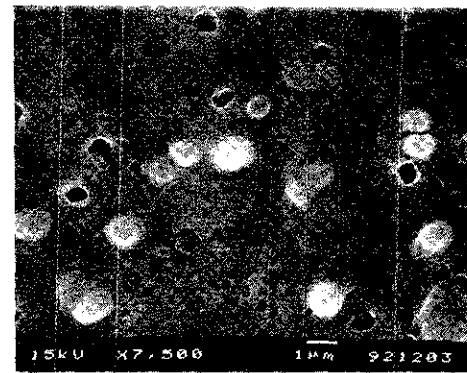
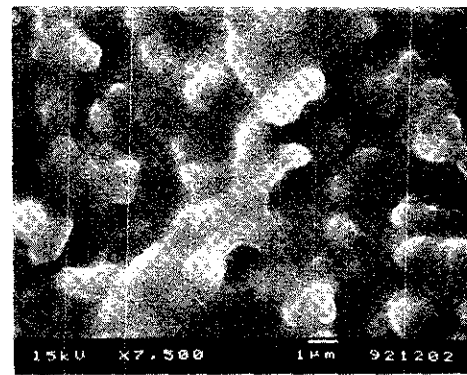
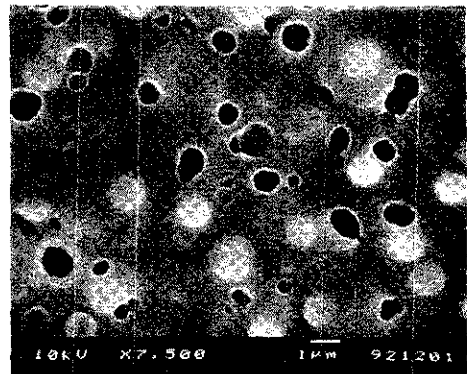


Fig. 5. Scanning electron micrographs of acid-, microbial enzyme- and metal ion- induced aggregates produced from the commercial soymilk protein : 1, SEM of acid-induced aggregates ; 2, SEM of microbial enzyme-induced aggregate ; 3, SEM of metal ion induced aggregate.

아직 식품 이용의 초기단계에 있으며, 해결할 문제도 많이 있다. 그 최대의 목표는 풍미의 "무미무취" 이나 대두단백의 enzyme처리에 의해서 off flavor의 생성을 완전하게 억제하지는 못한다. 그러나 영양가 높고, 식품단백질중에서 비교적 낮은 가격의 대두 단백질을 원료로 하기때문에 식품원료로의 활성화, 사용량의 확대에

의한 산업에의 도입을 가능하게 하며, 다음과 같은 것을 생각할 수 있다.

- 1) 아미노산조성을 조정할 알레르기 환자를 위한 특수영양식품
- 2) 체격형성 등을 위한 스포츠식품
- 3) 건강보조식품

요 약

대두의 조성은 다른 두류나 곡류와는 달리 35~40%의 단백질, 15~20%의 유지 및 20~25%의 당을 함유하고 있다. 예로부터 대두는 두부, 간장, 된장과 같은 전통식품의 원료로써 넓게 쓰여져왔다. 초원심분리에 의한 대두 단백질의 성분은 침강정수에 의해 2, 7, 11 및 15S의 4가지의 주요한 성분으로 나타난다. 저장단백질중 중요한 2성분인 7S 및 11S globulin은 많은 연구자들에 의해 분리되고, 특성이 알려졌다. 미생물 효소에 의해 제조된 응고물은 금속이온 및 산처리에 의해 만들어진 것보다 훨씬 조밀한 구조를 나타내었다. 효소작용으로 얻어진 curd는 식품재료로써 개발되어지고, 식품가공분야에서도 폭넓게 이용될 것으로 기대된다.

문 헌

1. Staswick, P. E., Hermodson, M. A. and Niesen, N. C. : The amino acid sequence of the AB subunit of glycinin. *J. Biol. Chem.*, **259**, 13424(1984)
2. Hirano, H., Fukuzawa, C. and Harada, K. : The complete amino acid sequence of the A₃ subunit of the glycinin seed storage protein of the soybean (*Glycine max.* Merrill). *J. Biol. Chem.*, **259**, 14371(1984)
3. Smith, A. K. and Circle, S. J. : *Soybeans : chemistry and technology. Proteins*, Vol. 1, p.110(1972)
4. Wolf, W. J., Babcock, G. E. and Smith, A. K. : Purification and stability studies of the 11S component of soybean proteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, **99**, 265(1962)
5. Yanagi, S. O. : Studies on divergence of 11S globulin (glycinin) among soybean varieties. *Rept. Natl. Food Res. Int.*, **35**, 52(1979)
6. Mori, T., Utsumi, S., Inaba, H., Kitamura, K. and Harada, K. : Difference in subunit composition of glycinin among soybean cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 20(1981)
7. Catsimpoalas, N. and Ekenstam, C. : Isolation of alfa, beta and gamma conglycinins. *Arch. Biochem. Biophys.*, **129**, 490(1969)
8. Thanh, V. H., Okubo, K. and Shibasaki, K. : Isolation and characterization of the multifid 7S globulins of soybean protein. *Plant Physiol.*, **56**, 19(1975)
9. Thanh, V. H. and Shibasaki, K. : Beta-conglycinin from soybean proteins. *Biochem. Biophys. Acta*, **490**, 370(1977)
10. Koshiyama, I. : Comparison of acid-induced conformation change between 7S and 11S globulin in soybean seeds. *J. Sci. Food Agric.*, **23**, 853(1972)
11. Utsumi, S., Damodaran, S. and Kinsella, J. E. : Heat-induced interactions between soybean proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 1406(1984)
12. Mitsuda, H., Kusano, T. and Hasegawa, K. : Purification of the 11S component of soybean proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 7(1964)
13. Moreira, M. A., Hermodson, M. A., Larkins, B. A. and Nielson, N. C. : Partial characterization of the acidic and basic polypeptides of glycinin. *J. Biol. Chem.*, **254**, 9921(1979)
14. Kitamura, K., Okubo, K. and Shibasaki, K. : The purification of soybean 11S globulin with con A-Sepharose 4B and Sepharose 6B. *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 1083(1974)
15. Koshiyama, I. : Purification of the 7S component of soybean proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 885(1965)
16. Koshiyama, I. : A newer method for isolation of the 7S globulin in soybean seeds. *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 2255(1972)
17. Roberts, R. C. and Briggs, D. R. : Isolation and characterization of the 7S component of soybean globulins. *Cereal Chem.*, **42**, 71(1965)
18. Kitamura, K., Takagi, T. and Shibasaki, K. : Subunit structure of soybean 11S globulin. *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 1837(1976)
19. Koshiyama, I. : Chemical and physical properties of a 7S protein in soybean globulins. *Cereal Chem.*, **45**, 394(1968)
20. Shvarts, A. D. and Vaintraub, I. A. : Isolation of the 11S component of soybean protein and determination of its amino acid composition. *Biochemistry*, **32**, 135(1967)
21. Catsimpoalas, N., Rogers, D. A., Circle, S. J. and Meyer, E. W. : Purification and structural studies of the 11S component of soybean proteins. *Cereal Chem.*, **44**, 631(1967)
22. Catsimpoalas, N. : A note on the proposal of an immunochemical system of reference and nomenclature for the major soybean globulins. *Cereal Chem.*, **46**, 369(1969 A)
23. Koshiyama, I. : Isolation of a glycopeptide from a 7S protein in soybean globulins. *Arch. Biochem. Biophys.*, **130**, 370(1969)
24. Harris, R. S., Wang, F. K. E., Wu, Y. H., Tsao, C. S. and Loe, L. Y. S. : The composition of Chinese foods. *J. Am. Dietetic Assoc.*, **25**, 28(1949)
25. Saio, K., Terashima, M. and Watanabe, T. : Changes in basic groups of soybean proteins by high temperature heating. *J. Food Sci.*, **40**, 541(1975)
26. Iwabuchi, S. and Yamauchi, F. : Effect of heat and ionic strength upon dissociation-association of soybean protein functions. *J. Food Sci.*, **49**, 1289(1984)

27. Utsumi, S. and Kinsella, J. E. : Structure-function relationships in food proteins : subunit interactions in heat-induced gelation of 7S, 11S and soy isolate proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 297(1985)
28. Miial, B. K. and Steincraus, K. H. : Growth of lactic acid bacteria in soymilks. *J. Food Sci.*, **39**, 1018 (1974)
29. Bau, H. M., Poullain, B. and Beaufrand, M. J. : Comparison of cold-, acid- and salt-precipitated soy protein. *J. Food Sci.*, **43**, 106 (1978)
30. Saio, K., Koyama, E. and Watanabe, T. : Effect of calcium and phosphorus on solubility characteristics of soybean meal protein. *Agric. Biol. Chem.*, **31**, 1195(1967)
31. Mori, T., Nakayama, T. and Utsumi, S. : Gelation mechanism of soybean 11S globulin. *J. Food Sci.*, **47**, 26(1981)
32. Arai, S., Noguchi, M., Kurosawa, S., Kato, H. and Fujimaki, M. : Applying proteolytic enzymes on soybean. *J. Food Sci.*, **35**, 392 (1970)
33. Matsuoka, H., Sasago, K. and Sekiguchi, M. : Manufacturing of a cheese-like product from soybean milk. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish*, **15**, 3 (1968)
34. Fuke, Y. and Matsuoka, H. : Preparation of fermented soybean curd using stem bromelain. *J. Food Sci.*, **49**, 312(1984)
35. Fuke, Y., Sekiguchi, M. and Matsuoka, H. : Nature of stem bromelain treatments on the aggregation and gelation of soybean proteins. *J. Food Sci.*, **50**, 1283 (1985)
36. Mohri, M. and Matsushita, S. : Improvement of water absorption of soybean protein by treatment with bromelain. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 486(1984)
37. Park, Y. W., Kusakabe, I., Kobayashi, H. and Murakami, K. : Production and properties of a soymilk-clotting enzyme system from a microorganism. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3215 (1985)
38. Park, Y. W., Kobayashi, H., Kusakabe, I. and Murakami, K. : Purification and characterization of soymilk-clotting enzymes from *Bacillus* sp. K-295G-7. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2343 (1987)
39. Park, Y. W. : Studies on the soymilk-clotting enzymes of *Bacillus* sp. K-295G-7. Doctoral Program in Agricultural Sciences University of Tsukuba (1988)

(1993년 3월 25일 접수)