

메주 단백질 가수분해 효소 처리가 탈지 우유 단백질의 응고물 형성 및 소화율에 미치는 영향

이진실* · 윤 선 · 손경희

덕성여자대학교 교양학부*

연세대학교 식품영양학과

Modifications of Skim Milk Protein by Meju Protease and Its Effect on Acid Clotting and Digestibility

Lee, Jinsik* · Yoon, Sun · Sohn, Kyung Hee

General Education,* Duksung Women's University, Seoul, Korea

Department of Food & Nutrition, Yonsei University, Seoul, Korea

ABSTRACT

This study was attempted to investigate the effects of enzymatic modification of milk protein with Meju protease on its acid clotting and digestibility.

The proteases used in this study were isolated from Meju(fermented soybeans) and had specific activity of 250 units/mg protein at pH 7.0. These proteases were found to be at least 3 different isoenzymes of different pH optima(pH 4.0, 6.0, 10.0). The optimum temperature was 50°C.

Hydrolyzed skim milk showed 30.5% degree of hydrolysis for 1 hr. and 36.4% degree of hydrolysis for 3.5 hrs. of protease treatment at pH 7.0. Upon acidification to pH 4.0, skim milk produced large and dense coagulum, but the coagulum was getting smaller by protease treatment. Generally, digestibility of skim milk at pH 4.0 was lower than pH 2.0. At pH 4.0, native skim milk and control group had problem with hydrolysis of skim milk protein. Among protease treated groups, 1 hour treated skim milk was most effectively hydrolyzed at pH 4.0.

KEY WORDS : meju protease · skim milk · human skim milk · acid clotting · digestibility.

서 론

우유 단백질은 식품 영양학적으로 질이 매우 우수한 천연 단백질로 치즈, 아이스크림, 발효유, 단백질 음료 외에도 유아용 조제 분유의 중요한 소재이다.

우유 단백질은 크게 카제인과 유청 단백질로 이루어져 있는데 카제인은 전 우유 단백질의 80%를, 유청 단백질은 20%를 차지하며, 카제인은 micelle 상태로 존재하고 pH 4.6 부근이나 renin에 의해 응고물을 형성한다. 모유는 카제인이 총 단백질의 51%, 유청 단백질이 49%이다¹⁻³⁾. 이와 같이 모유와 우유는 카제인과 유청 단백질의 비율이

다르며 카제인을 조성하는 구성 성분비도 다르다. 모유 카제인은 α_s , β , κ 카제인의 비율이 1 : 7 : 3으로 주로 β 카제인으로 이루어져 있는 반면 우유 카제인의 비율은 1.0 : 0.8 : 0.3으로 α_s 와 β 카제인이 주된 구성 성분이다^{4,7)}. 또한 모유와 우유의 차이점으로 모유에 존재하는 β 카제인은 한 분자당 0~5개의 phosphate group으로 인산화되어 있으나 우유의 β 카제인은 한 분자당 4~5개의 phosphate group으로 인산화가 되어 있다⁸⁾. 이와 같이 여러 가지 요인들로 인해 모유와 우유는 산성 환경에서 서로 다른 양상을 보여 모유는 pH 4.0에서 아주 미세한 응고물을 형성하는 반면 우유는 매우 커다란 응고물을 형성한다고 보고되었다⁷⁻¹⁰⁾. 또한 Cavell (1979)은 신생아 위 내에서의 gastric emptying 시간이 모유를 섭취했을 때보다 우유를 섭취했을 때 더욱 길게 나타났다고 보고한 바 있다.

따라서 여러 학자들은 우유를 모유화하기 위해 많은 연구를 해왔다¹²⁻¹³⁾. Li-Chan & Nakai¹³⁾는 whole casein에 레닌을 처리한 후 가열과정을 통해 α_s 카제인은 응고시키고 β 카제인이 풍부한 상등액을 선택적으로 모았다. 이렇게 얻은 우유 β 카제인은 pH 4.0에서 모유 카제인보다는 컷지만 우유 카제인보다는 훨씬 작은 응고물을 형성하였으며 pH 4.0에서의 펩신에 의한 소화율은 효소 처리된 카제인이 처리하지 않은 우유 카제인에 비해 훨씬 더 높았다고 보고하였다. 따라서 레닌 및 가열 처리를 해서 얻은 β 카제인은 신생아의 위에서 작은 응고물을 형성하여 소화율을 개선시킬 수 있었으므로 신생아용 조제 분유 성분으로 적합할 것이라고 보고하였다. 효소를 이용한 우유 단백질의 가수분해는 신생아에게 많이 나타나는 antigenicity를 효과적으로 파괴시킬 수 있다는 보고¹⁴⁾ 외에도 trypsin은 체내에서 카제인을 분해시켜 칼슘이 흡수되기 쉬운 상태인 casein phosphopeptide(CPP)를 형성해 칼슘의 흡수율을 증가시킨다는 보고도 있다¹⁵⁾.

메주는 발효 초기에는 공기중에 부유되어 있는 각종 미생물이 낙하 혼입 부착되어 번식이 시작된다. 발효 시간이 경과됨에 따라 메주의 pH가 알칼리성으로 되면서 pH 7.0이하의 산성 환경에 적합한 곰팡이나 효모는 번식이 억제되고 세균만이

왕성하게 번식되어 발효 속성된다¹⁶⁾. 곰팡이는 주로 메주 덩어리의 표면에만 존재하며 세균은 메주 덩어리의 전체에 골고루 조밀하게 분포되어 있다. 세균의 종류도 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus pumilus* 뿐이며 특히 *Bacillus subtilis*는 단백질 분해 활성이 매우 높은 효소를 생산한다고 한다¹⁷⁾. 따라서 본 연구에서는 메주에 존재하는 단백질 가수분해 효소는 활성이 강할 뿐 아니라 인체에도 해가 적을 것으로 사료되어 메주로부터 효소를 추출해 사용하였다.

이에 본 연구에서는 영양학적으로 가치가 높은 새로운 단백질 식품 개발의 일환으로 재래식 메주로부터 얻은 단백질 가수분해 효소를 이용하여 우유 단백질의 변형을 시도하였다. 변형된 우유 단백질의 분자량, 응고물의 형태 및 소화율을 토대로 조제 분유의 단백질 이용율을 높일 수 있는 방법의 개발을 목적으로 본 연구를 행하였다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

재래식 메주는 경동시장에서 구입하였으며, 우유는 시판 연세 우유를 이용하였고 모유는 소화 아동 병원에 입원해 있는 분만 후 3일 이내가 되는 산모로부터 수집하였다. 카제인, pepsin(EC 3.4.23.1, 2200 units/mg protein), ammonium persulfate, bovine serum albumin, Coomassie brilliant blue G-250, β -mercaptoethanol, N,N,N',N'-tetramethyl-ethylene-amine(TEMED)은 Sigma Chemical Co.로부터 구입하였다. 표준단백질(ribonuclease A, chymotrypsinogen A, ovalbumin, bovine serum albumin)은 pharmacia Fine Chemicals사의 제품을 사용하였으며, 기타 일반 시약들은 모두 특급품이었다.

2. 실험 방법

1) 메주 단백질 가수분해 효소의 특성 측정

재래식 메주로부터 단백질 가수분해 효소의 추출은 다음과 같은 방법으로 행하였다. 아세트산에 의해 탈지된 메주가루에 0.2 M, pH 7.0인 sodium phosphate 완충 용액을 가하여 하룻밤 동안 냉장

고에서 저어주면서 효소를 추출하였다. 효소 용액을 10,000×G에서 30분간 원심분리한 후 상등액만 모아 ammonium sulfate 70% 용액으로 만들어 정지시킨 후 원심분리를 거쳐 침전물만을 회수하였다. 이 침전물을 sodium phosphate 완충 용액으로 용해시키고 원심분리를 통해 상등액만을 얻었다. 이 상등액을 24시간 동안 완충 용액에 용해시켜 사용하였다. 효소의 활성 측정은 Kunitz method¹⁸⁾를 변형한 회의 방법¹⁹⁾을 이용하였다. 1분 동안 0.001의 흡광도 증가에 소요된 효소량을 1 unit로 정의하였다. 냉동 건조된 효소내의 단백질량은 Lowry method²⁰⁾를 이용하여 측정하였고 표준 단백질은 bovine serum albumin을 사용하였다.

효소의 최적 pH는 1.0% 카제인 용액 1ml에 0.2 ml(16 units) 효소액과 pH 2.0~10.0의 각 완충 용액 1.8ml를 가하여 50°C에서 20분간 반응시킨 후 결정하였다. 반응이 끝난 효소 반응액은 5% TCA용액 3ml를 첨가하여 효소 반응을 정지시킨 후 효소의 활성을 측정하였는데 최대 활성치를 100으로 하여 상대 활성도로 표시하였다.

효소의 최적 온도를 결정하기 위해 sodium phosphate 완충 용액(0.1 M, pH 6.0) 1.8ml와 1.0% 카제인 용액 1ml를 10°C부터 10°C까지 10°C간격으로 각 온도에서 10분간 온탕 가열하여 실험하였다. 여기에 효소용액 0.2ml를 가한 후 20분간 반응시켰으며 5% TCA 3ml를 첨가해 반응을 정지시킨 후 활성을 측정하였다. 최대의 활성치를 100으로 하여 상대 활성도로 표시하였다.

2) 가수분해정도 측정

구입된 우유와 모유는 20°C의 물에 30분간 담가둔 후, 3,000×G, 20°C에서 20분간 원심분리시켜 지방을 제거하여 탈지 우유 및 모유를 제조하였다. 탈지 우유내의 조단백질 함량은 Kjeldahl Method²¹⁾를 이용하여 측정하였다.

탈지 우유는 단백질의 함량이 1%(W/V)가 되도록 탈지 우유 원액을 희석하여 효소의 기질로 사용하였다. 기질 1gm당 1600 units의 효소를 사용하였다. 실험군의 종류와 처리는 Table 1에 표시하였다.

효소 반응 시간에 따른 탈지 우유의 가수분해도는 Kjeldahl Method²¹⁾를 이용해 다음과 같은 식¹⁹⁾에 의하여 측정하였다.

Degree of Hydrolysis(DH, %)

$$= \frac{\text{TCA Soluble N in Sample} - \text{TCA Soluble N in Control}}{\text{Total N in Sample}} \times 100$$

3) 탈지 우유의 가수분해

탈지우유는 단백질의 함량이 1%(W/V)가 되도록 탈지 우유 원액을 희석하여 효소의 기질로 사용하였으며 카제인 단백질 농도가 1%(W/V)가 되도록 용해시켜 사용하였다. 효소 용액은 10ml의 sodium phosphate 완충 용액(0.2 M, pH 7.0)에 12.8 mg의 냉동 건조된 효소 분말을 녹여 사용하였다. 탈지 우유를 단백질 1.0%(W/V) 용액으로 만든 후 기질 100ml(1gm 단백질)당 5ml의 효소 용액을 가하여 50°C에서 0시간, 1시간, 3.5, 5시간동안 반응시킨 후 효소를 불활성화하기 위해 100°C에서 15분간 가열하였다. 실험군의 종류와 처리는 Table 1에 표시하였다.

4) 응고물의 관찰 및 촬영

모유, 탈지우유, 효소 처리된 시료들을 20ml씩 취한 후 4N HCl로 pH 4.0으로 맞추었다. 3시간 동안 시료를 정지시킨 후 Nikon AFX-II Labophot 현미경을 이용해 400배 비율로 응고물을 관찰하고

Table 1. Classification of experimental groups treated with Meju protease

Groups	Treatments(50°C, pH 7.0)
NSM	Native skim milk 100ml+5ml of 0.2 M, pH 7.0 sodium phosphate buffer solution
Con	Skim milk 100ml+5ml of enzyme solution Hydrolyzed by Meju protease for 0 hr & heat treatment(100°C, 15min)
1 hr.	Skim milk 100ml+5ml of enzyme solution Hydrolyzed by Meju protease for 1 hr & heat treatment(100°C, 15min)
3.5 hrs.	Skim milk 100ml+5ml of enzyme solution Hydrolyzed by Meju protease for 3.5 hrs & heat treatment(100°C, 15min)

활영하였다.

5) 소화율

웍신에 의한 *in vitro*에서의 소화율은 Li-Chan & Nakai⁹⁾의 방법을 이용하였다. 모유, 탈지우유 및 효소 처리된 탈지우유는 4N HCl로 각각 pH 2.0과 pH 4.0으로 맞춘 후 37°C의 온탕수조에서 30분간 방치하여 시료의 온도를 37°C로 평형시켰다. 웍신은 시료 단백질의 1%에 해당되는 양을 pH 2.0과 pH 4.0인 증류수에 녹여 효소 용액으로 준비했다. 37°C로 평형이 이루어진 시료에 효소 용액을 넣고 0, 30, 60, 120분간 반응시켰다. 일정량의 효소 반응 용액에 동량의 5% TCA를 넣어 30분간 방치시킨 후 9,990×G에서 15분간 원심분리시켜 TCA 가용성 분획의 흡광도를 280nm에서 측정하였다. 일정 시간의 소화율은 웍신 처리 시간 0분을 기준으로 일정 시간동안 증가된 흡광도로 계산하였다.

결과 및 고찰

1. 메주 단백질 가수분해 효소의 특성

본 실험에 사용하기 위해 재래식 메주로부터 추출한 단백질 가수분해 효소의 특이 활성은 카제인을 기질로 하였을 때 250units/mg protein이었다.

추출된 단백질 가수분해 효소는 pH 4.0, 6.0, 10.0에서 활성 peak를 보였다. 따라서 재래식 메주에는 산, 중성 및 알칼리성 단백질 가수분해 효소가 함께 존재하는 것으로 해석된다. 재래식 메주에는 *Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*와 같은 여러 미생물이 존재¹⁷⁾하기 때문에 다양한 최적 pH를 가진 단백질 가수분해 효소가 존재할 수 있을 것으로 추측된다.

메주로부터 얻은 단백질 가수분해 효소는 50°C에서 최대 활성을 보였다.

2. 가수분해도

효소 처리에 따른 탈지 우유의 가수분해도를 측정한 결과는 Fig. 1에 제시한 바와 같다. 효소 처리 1시간에서의 가수분해도는 30.5%, 2시간은 33.9%, 3.5시간은 36.4%, 5시간은 38.4%로 효소 반응 1시간 동안 가수 분해율이 가장 크게 증가했으며

그 이후부터는 완만한 증가 추세를 보였다. 그러나, 가수분해는 5시간까지 계속 일어났다. 관능 검사 결과, 2시간 이후부터는 쓴 맛이 느껴지기 시작하여 3.5시간 이후에는 쓴 맛이 강하게 느껴졌다. 쓴맛이 강한 시료는 식품으로서의 가치가 없을 것으로 생각되어 효소에 의한 가수분해 시간을 3.5시간으로 제한하였다.

효소를 이용한 단백질 가수분해법은 식품의 영양학적 혹은 식품학적 가치를 높이기 위해서 많이 행하여지고 있다. 그러나 가수분해시 쓴맛을 형성하는 펩타이드의 출현으로 관능적 품질이 저하되는 문제점이 있다. 메주로부터 추출된 단백질 가수분해 효소의 경우는 탈지 우유의 단백질 가수 분해도가 38.9%가 되도록 쓴맛이 없었다. Vegarud & Langsrud²⁴⁾는 sodium caseinate와 rennet casein을 여러 가지 단백질 가수분해 효소로 처리한 결과, endopeptidase 활성이 있는 Catalase L10은 가수분해도가 10% 이하일 경우에도 쓴맛을 생성시켰으나 *Bacillus licheniformis*로부터 추출된 Maxatase와 *Aspergillus* 속으로부터 유래된 Cololase PS는 가수분해도가 30% 이상에 이르렀을 때도 쓴맛이 거의 없었다고 보고하였다. 따라서 메주 단백질 가수분해 효소는 그 출처가 Vegarud & Langsure²²⁾가 사용한 Maxatase나 Corolase PS와 유사한 미생물로부터 추출되

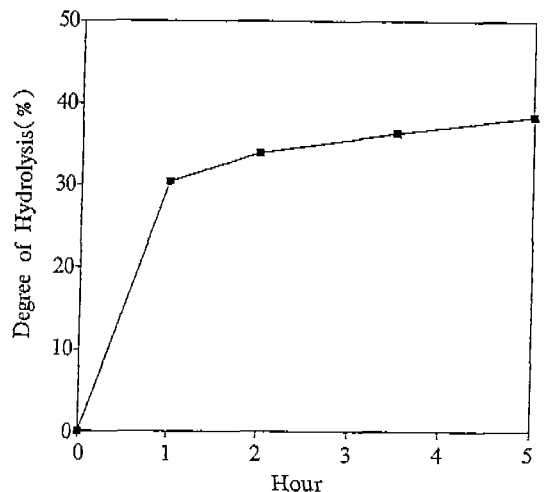


Fig. 1. Degree of hydrolysis of skim milk treated with Meju protease.

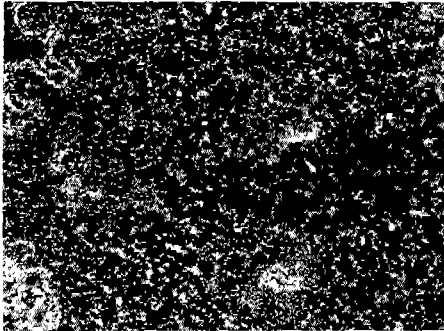
효소 처리에 의한 탈지 우유의 응고물 및 소화율에 미치는 영향

었기 때문인 것으로 해석된다.

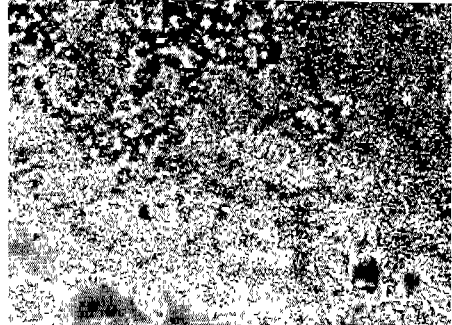
3. 응고물 양상

현미경을 통해 관찰된 탈지 우유, 탈지모유, 효소 처리된 탈지우유의 응고물 양상은 Fig. 2에 나타난 바와 같다. 탈지 우유균이나 대조군의 응고물의

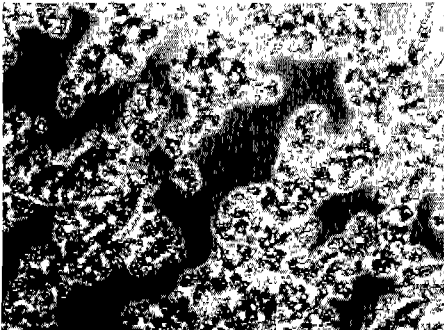
크기는 탈지 모유에 비해 엄청나게 크게 보였으며 육안으로도 응고물의 형태를 파악할 수 있었다. 응고물의 크기는 탈지 우유균, 대조균, 효소처리 1시간균, 효소 처리 3.5시간균 탈지 모유균의 순으로 나타났다. 대조균의 응고물이 탈지 우유균보다 약간 작았던 것은 우유 단백질이 열에 의해 구조가



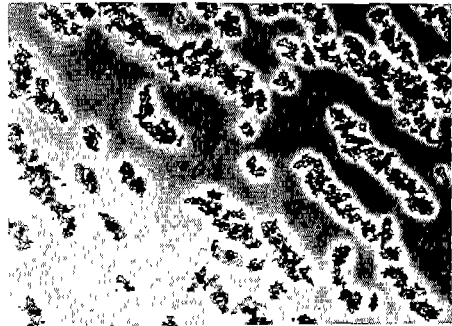
Native skim milk



Protease modified skim milk for 0 hr.



Protease modified skim milk for 1 hr.



Protease modified skim milk for 3.5 hrs.



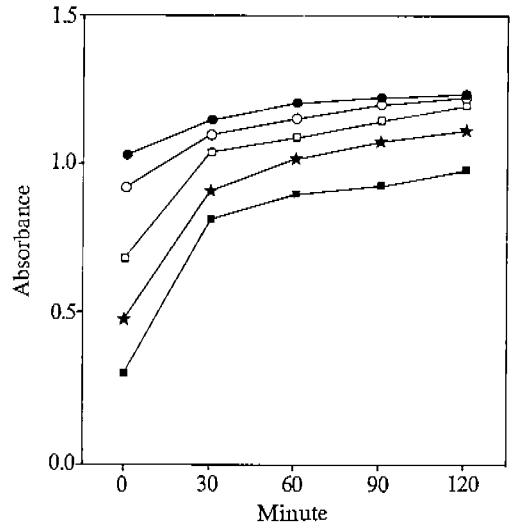
Human skim milk

Fig. 2. Microscopy of coagulation of native skim milk, human skim milk, control, and protease modified skim milk at pH 4.0($\times 400$).

풀려 나타난 현상으로 보인다. 효소 처리 1시간군에서는 탈지 우유균이나 대조군에서와 같은 커다란 응고물은 볼 수 없었고 응고물이 여러 개로 나뉘어진 듯한 모습을 보였다. 이는 우유 단백질이 효소에 의해 분해되어 분자량이 작은 펩타이드들을 형성해 헐거운 상태로 존재하기 때문으로 보인다. 효소 처리 3.5시간군에서는 효소 처리 1시간군보다 훨씬 크기가 작은 형태의 응고물을 볼 수 있었으며, 일부 응고물은 크거나 모양이 모유에서 관찰된 응고물과도 비슷하였다. 그러나 전반적으로 모유와 같은 크기의 응고물이 되기 위해서 더 많은 시간의 효소 처리가 필요할 것으로 보인다. 이와 같이 단백질 가수분해 효소처리는 우유 단백질의 pH 4.0에서의 응고 현상을 개선시킬 수 있는 방법의 하나가 될 수 있을 것으로 보인다. 위와 같은 현상은 Li-Chan & Nakai¹³⁾의 모유, 레닌이 처리된 우유 카제인, 우유 카제인의 응고물을 험미경에 의해 관찰한 결과와도 일치하고 있다. 음식물이 섭취된 후 2시간이 되면 신생아의 위 속은 pH가 4.0~5.0을, 성인은 pH 2.0을 유지한다는 보고²³⁾를 통해 볼 때 우유 단백질과 모유 단백질의 pH 4.0에서의 응고물 크기는 신생아의 위속에서 일어날 수 있는 상황을 제시해줄 수 있는 한 연구 결과로 해석될 수 있을 것으로 보인다. 또한 이러한 결과는 모유의 gastric emptying시간이 우유의 경우보다 짧다²⁴⁾는 보고를 뒷받침할 수 있는 결과로 보인다. 그러므로 우유를 소재로 한 조제분유를 섭취하는 신생아와 모유를 주식으로 하는 신생아의 위내에서의 소화 양상이 다르게 나타날 수 있으며 단백질의 이용을 또한 다를 것으로 해석된다. 따라서 메주 단백질 가수분해 효소와 같은 효소를 통한 우유 단백질의 가수분해법은 조제 분유의 단백질 이용율을 높일 수 있는 바람직한 방법의 하나로 제시될 수 있을 것으로 보인다.

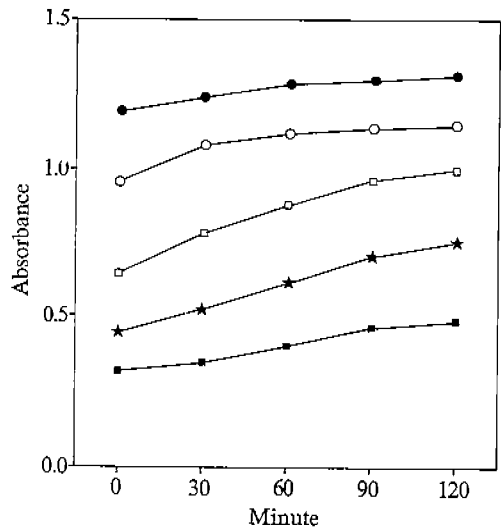
4. 소화율

단백질은 위 속에서부터 펩신에 의해 소화가 시작되므로, 신생아의 위속을 모방하기 위해서 시료의 pH를 4.0으로, 성인의 위를 모방하기 위해서 pH 2.0으로 조절하였다. 각 시료들의 펩신 처리에 따른 흡광도의 변화는 Fig. 3, 4에 제시하였다.



■ NSM : Native skim milk
 ● HSM : Human skim milk
 ★ Con : Protease modified skim milk for 0 hr.
 □ 1 hr. : Protease modified skim milk for 1 hr.
 ○ 3.5 hrs. : Protease modified skim milk for 3.5 hrs.

Fig. 3. Pepsin hydrolysis of native skim milk, human skim milk, control and protease modified skim milk at pH 4.0.



■ NSM : Native skim milk
 ● HSM : Human skim milk
 ★ Con : Protease modified skim milk for 0 hr.
 □ 1 hr. : Protease modified skim milk for 1 hr.
 ○ 3.5 hrs. : Protease modified skim milk for 3.5 hrs.

Fig. 4. Pepsin hydrolysis of native skim milk, human skim milk, control and protease modified skim milk at pH 2.0.

전반적으로 pH 4.0에서의 소화율(웍신 처리 120분의 흡광도-웍신 처리 0분의 흡광도)은 pH 2.0에서보다 훨씬 낮게 나타났다.

pH 4.0에서 웍신 처리 0분의 흡광도는 탈지 우유균, 탈지 모유균, 대조균, 효소 처리 1시간, 효소 처리 3.5시간군이 각각 0.315, 1.190, 0.445, 0.645, 0.960, 웍신 처리 120분의 흡광도는 각각 0.595, 1.310, 0.755, 1.000, 1.145로 각군의 소화율은 각각 0.280, 0.120, 0.310, 0.355, 0.185로 나타났다. 이와 같은 결과에 의하면 효소 처리 1시간군은 소화율이 가장 높게 나타났다. 이는 탈지 우유균이나 대조균의 응고물 관찰에서 보여졌듯이 pH 4.0에서 커다란 응고물을 형성해 웍신과의 결합이 어려웠기 때문에 풀이된다. 이러한 현상은 Li-Chan & Nakai¹³⁾가 우유 카제인, 레닌이 처리된 우유 카제인과 모유 카제인의 응고물 및 소화율에 대한 연구 결과와 일치하고 있다. 탈지 모유균과 효소 처리 3.5시간군들은 탈지 우유균과 대조군보다도 소화율이 낮게 나타났다. 이는 웍신과의 반응 초기에도 나머지 실험군들보다 높은 흡광도를 보였던 것으로 보아 웍신과의 결합이 가능한 부위가 이미 가수분해되어 웍신의 활동이 제한되었기 때문에 해석된다. 이와같은 결과는 모유의 gastric emptying 시간이 우유보다 짧다는 Cavell¹⁰⁾의 보고와도 연관이 있을 것으로 생각된다. 즉 모유는 웍신의 작용이 조금만 일어나도 소화의 다음 단계인 심이 지장으로 이동이 가능하기 때문에 해석된다. 그러므로 메주 단백질 가수분해 효소 처리는 우유를 모유에 보다 가깝게 만들 수 있는 한 방법이 될 수 있다고 생각된다. 또한 소화율에 대한 해석시 각각의 실험군들의 흡광도도 함께 고려해야 보다 바람직한 해석이 가능하다고 생각된다.

pH 2.0에서 웍신과의 반응 0분의 흡광도는 탈지 우유균, 탈지 모유균, 대조균, 효소 처리 1시간, 효소 처리 3.5시간군이 각각 0.295, 1.030, 0.475, 0.685, 0.920으로 웍신과의 반응 120분은 각각 0.985, 1.235, 1.120, 1.200, 1.220으로 소화율은 각각 0.690, 0.205, 0.645, 0.515, 0.300으로 나타났다. pH 2.0에서는 pH 4.0에서와는 달리 탈지 우유균과 대조균의 단백질이 pH 4.0에서와는 달리 용해도가 높아 웍신의 활동이

방해받지 않았기 때문에 높은 소화율을 보인 것으로 풀이된다. 따라서 pH 2.0에서는 메주 단백질 가수분해 효소 처리는 신생아나 위산 저하증 환자 혹은 위산의 분비가 적어지는 노인들에게는 단백질질의 이용율을 증가시킬 수 있는 한 방법이 될 수 있을 것으로 풀이된다.

감사의 글

본 논문은 한국 과학 재단의 연구비로 이루어진 것으로 이에 감사를 드립니다.

Literature cited

- 1) Brunner JR. Cow milk proteins : Twenty-five years of progress. *J Dairy Sci* 64 : 1038, 1981
- 2) Brunner JR, Ernstron CA, Hollis RA, Larson BL, Whitney R, McLand Zittle CA. Nomenclature of the proteins of bovine milk-first revision. *J Dairy Sci* 43 : 901, 1960
- 3) Jenness R. Major proteins of bovine and human milk. *Food Sci* 19 : 4, 1986
- 4) Blanc B. Biochemical aspects of human milk comparison with bovine milk. *World Review of Nutrition and Dietetics* 36 : 1, 1981
- 5) Chtourou A, Bringnon G & Ribadeau-Dumas B. Quantification of β -casein in human milk. *J Dairy Research* 52 : 39, 1985
- 6) Nagasawa T, Ryoki T, Kiyosawa I & Kuwahara K. Studies on human casein. I. Fractionation of human casein by diethylaminoethyl cellulose column chromatography. *Arch Biochem Biophys* 121 : 502, 1967
- 7) Ruegg M, Blanc B. Structure and properties of the particulate constituents of human milk : a review. *Food Microstruct* 1 : 25, 1982
- 8) West DW. The structure and function of the phosphorylated residues of casein. *Hannah Res* 101, 1984
- 9) Li-Chan E & Nakai S. Enzymatic dephosphorylation of bovine casein to improve acid clotting properties and digestability for infant formula. *J Dairy Res* 56 : 381, 1989
- 10) Cavell B. Gastric emptying in preterm infants.

- Acta Paediatrica Scandinavica* 68 : 725, 1979
- 11) Al-Mashikhi S & Nakai S. Reduction of β -Lactoglobulin content of cheese whey by polyphosphate precipitation. *J Food Sci* 52 : 1237, 1987
 - 12) Kaneko T, Wu BT and Nakai S. Selective concentration of bovine immunoglobulins and α -lactalbumin from acid whey using FeCl_3 . *J Food Sci* 50 : 605, 1985
 - 13) Li-Chan E & Nakai S. Rennin modification of bovine casein to simulate human casein composition : Effect on acid clotting and hydrolysis by pepsin. *Can. Inst. Food Sci Technol J* 21 : 200, 1988
 - 14) Jost R, Monti JC, Pahud JJ. Whey protein allergenicity and its production by technological means. *Food Technol* 41 : 118, 1987
 - 15) Barrocal R, Chanton S, Juillerat MA, Pavillard B, Scherz J and Jost R. Tryptic phosphopeptides from whole caesin. II. Physicochemical properties related to the solubilization of calcium. *J Dairy Res* 56 : 335, 1989
 - 16) 박계인 · 김기주. 한국 간장 제조에 관한 연구(제 1보), 국립 공업 연구소 보고, 20 : 89, 1970
 - 17) 조덕현 · 이우진. 한국 재래식 간장의 발효 미생물에 관한 연구. 한국 재래식 메주의 발효 미생물군에 대하여. *한국농화학회지* 13 : 35, 1970
 - 18) Kunits M. Crystalline soybean trypsin inhibitor. *J Gen Physiol* 30 : 291, 1947
 - 19) 최혜정. 키위 단백질 분해 효소가 casein의 기능성에 미치는 영향. 연세대학교 대학원 석사학위논문, 1991
 - 20) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RS. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 93 : 265, 1951
 - 21) AOAC. Official Methods of Analysis, Association of Official Agricultural Chemists. Sidney William, Washinton D.C., 1984
 - 22) Nakai S. Study on digestion of milk protein and its improvement, Ph. D thesis, University of Tokyo, 1962
 - 23) Hadorn B. Developmental aspects of intraluminal protein digestion. in "Gastroenterology and nutrition in infancy", E.Lebenthal ed., Raven Press, New York, 365, 1981
 - 24) Nakai, S & Li-Chan E. Effect of clotting in stomachs of infants on protein digestability of milk. *Food Microstruct* 6 : 161, 1987