

## *Lactobacillus helveticus* YM-1과 *Streptococcus lactis* ML<sub>3</sub>의 혼합발효에 미치는 peptide의 영향

박정길\* · 류인덕 · 유주현

연세대학교 공과대학 식품공학과

\*충주공업전문대학 식품공업과

(1986년 10월 6일 수리)

## Effect of peptide on the mixed fermentation of *Lactobacillus helveticus* YM-1 and *Streptococcus lactis* ML<sub>3</sub> in skim milk

Chung Kil Park\*, In Deok Lew and Ju Hyun Yu

Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul, Korea

\*Department of Food Technology, Chung-Ju National Technical College

(Received October 6, 1986)

*Lactobacillus helveticus* YM-1 and *Streptococcus lactis* ML<sub>3</sub> were inoculated together in reconstituted non-fat skim milk medium, and then their proteolytic activity and stimulatory compound for acid production were investigated. Significant difference between *Lactobacillus helveticus* YM-1 and *Streptococcus lactis* ML<sub>3</sub> was observed in the proteolytic activities. The proteolytic activity of *Lactobacillus helveticus* YM-1 and *Streptococcus lactis* ML<sub>3</sub> was 105 ug/ml and 30 ug/ml when converted the amounts of hydrolysates of milk protein determined by Folin Ciocalteu phenol method into their tyrosine equivalent Stimulatory compounds in cell-free filtrate of *Lactobacillus helveticus* YM-1 were identified as peptide with a molecular weight of approximately 4,300 for the acid production by *Streptococcus lactis* ML<sub>3</sub>. Some kinds of amino acids, such as histidine, lysine, arginine and glutamic acid, were rich in acid hydrolysates of peptide. Among amino acids, histidine, glutamic acid and phenylalanine stimulated acid production, on the contrary isoleucine inhibited.

우유에 *Lactobacillus*속 균체를 과과하여 얻은 추출물을 첨가한후 *Streptococcus*속 균을 배양하면 생육이 촉진되며, 이것은 추출물속에 aminopeptidase가 들어 있어 배양시 우유 casein을 분해하여 생육 영양소를 공급하기 때문이라 하였다<sup>(1~6)</sup>.

*L. helveticus*와 *Str. thermophilus*를 우유에 혼합배양하면 각각의 균을 단독배양할 때보다 균체 생육이나 산생성량이 촉진된다. 이에 대한 주원인은 우유속에 존재하는 casein을 분해하여 유리상태의 아미노산을 생성하고 이 유기질소원을 이용하기

때문이라고 하였다. 이 촉진물질은 leucine, valine, histidine과 isoleucine의 혼합물이라고 하였다<sup>(7)</sup>.

*L. bulgaricus*와 *Str. thermophilus*와의 혼합배양시 촉진물질의 대부분은 *L. bulgaricus*가 생성하였으며, Bautisa등<sup>(8)</sup>은 이들 물질이 glycine과 histidine이라고 하였으며, Shankar등<sup>(9)</sup> 및 Braquart등<sup>(10)</sup>도 이와 유사한 보고를 한바 있었다.

일반적으로 *Lactobacillus*속은 *Streptococcus*속에 비해서 proteinase활성이 강한 반면에 peptidase활성은 다소 약한 것으로 알려졌다. 이와같이 단백질

질 가수분해 능력의 차이가 두 균의 symbiosis 현상을 결정짓는 요소로 보고되었다<sup>(11)</sup>.

Woolley<sup>(12)</sup>는 peptide인 streptogenin이 *L. casei*의 생육을 촉진한다는 사실을 보고하였으며, peptide의 생육촉진 이유로 Kihara 등<sup>(13)</sup>은 배지속의 물질을 세포내로 통과할 때 세포의 특별한 운송 부위에서 다른 아미노산과 경쟁관계로 충분히 세포속으로 들어갈 수 없는 생육제한 아미노산을 peptide로 흡수한 다음 세포내에서 가수분해하여 이용하기 때문이라 하였다. 이 생육촉진 물질인 peptide는 *Lactobacillus* 속에 의해서 주로 생산되며<sup>(14-16)</sup>, Brannen 등<sup>(17)</sup>은 *Str. lactis*에 의해서 생성된 분자량 4700 정도의 peptide 물질이 *L. casei*의 생육을 촉진하였으며, 이 peptide의 가수분해물은 serine, proline, glycine, alanine, leucine, glutamic acid를 다량 함유하고 있다고 하였다.

본 연구에서는 *L. helveticus* YM-1 과 *Str. lactis* ML<sub>3</sub>을 혼합배양 하였을 때 산발효 촉진물질을 확인하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 실험재료 및 방법

### 사용균주

본 실험에 사용한 균주는 한국 중균협회에서 분양받은 *Str. lactis* ML<sub>3</sub>과 *L. helveticus* YM-1을 사용하였다. 사용균은 121°C, 15분간 가압 멸균한 10% (w/v) 환원탈지유 배지에서 2일 간격으로 계대배양하였으며, 필요에 따라 냉장고에 보존하였다.

### 생육배지

Skim milk (Difco)를 증류수에 10% (w/v) 되게 환원시킨 후에 100°C에서 30분간 멸균하여 사용하였다.

### Starter의 배양과 접종

*L. helveticus* YM-1은 37°C에서 8시간, *Str. lactis* ML<sub>3</sub>는 35°C에서 10시간 동안 배양하여 사용하였으며 단독배양인 경우는 1.0%씩을, 혼합배양의 경우는 각각 0.5%씩 접종하여 전체 접종량이 1.0%가 되도록 첨가하였다.

### 단백질 가수분해 활성의 측정

Hull의 방법<sup>(18)</sup>에 따라서 측정하였다.

### 단백질 가수분해물의 chromatogram 측정

Dimena 등<sup>(19)</sup>의 HPLC 방법에 따라서 측정하였다.

단백질 분석용 column 3 종류 (waters社 제품 1-250, 1-125, 1-60)를 HPLC (waters社)에 직렬로 연결하고, 0.1 mole NaCl을 함유한 0.2N sodium phosphate buffer (pH 6.8)을 이동상으로 사용하였다. 이때 유속은 1 ml/min로, 흡수파장은 280

nm로, AUFS는 0.4로 조절하였다.

### 이온교환 column chromatography<sup>(20)</sup>

Amberlite IR-120 (-SO<sub>3</sub> H<sup>+</sup>)을 유리 column (2.3×70cm)에 채우고 counterion으로 교환하였다. 배양여액을 5 ml/min의 속도로 column을 통과시켜서 먼저 유출액 부분을 얻고, CO<sub>2</sub>를 제거한 증류수로 당이 검출되지 않을 때까지 계속 세척하였다. 당 검출용 시약은 Molish 시약을 사용하였으며 이와같이 세척한 부분도 따로 보존하고, 마지막으로 이온교환 column에 결합된 물질을 2N-NH<sub>4</sub>OH 로 용출시킨 분획물을 얻었다. 이 세부분을 회전 진공증발기로 50°C에서 농축시켜 증류수를 첨가하여 pH 6.6으로 조정하였다.

### LH-20 sephadex column chromatography<sup>(21)</sup>

유리 column (2.3×50cm)에 LH-20 sephadex (pharmacia fine chemicals)로 충전시키고, 1/10N-NH<sub>4</sub>OH 용액으로 실온에서 24시간 평형화시킨 다음 이온교환 column을 통과시켜 얻은 분획물 5ml를 1/10N-NH<sub>4</sub>OH 용액을 사용하여 0.7 ml/min의 유속으로 용출시켰다. 용출액은 automatic fraction collector (Toyo SF-160K)에 5ml씩 받아 UV & VIS spectrophotometer (Gilford 2600)로 파장 280nm에서 흡광도를 측정하여 chromatogram을 작성하였다.

### LH-20 sephadex column 용출분획물의 자외선 흡광도 측정<sup>(22)</sup>

1/10 N-NH<sub>4</sub>OH를 기준용액으로 하여 용출 분획물 3을 파장 200~400nm까지 UV & VIS spectrophotometer (Gilford 2600)로 연속적으로 흡광도를 측정하였다.

### 생육 촉진효과의 확인

시험관 (1.5×12cm)에 10% 환원탈지유를 9 ml씩 분주하고 chromatography로부터 얻은 분획물을 1 ml씩 첨가(대조구는 증류수 1 ml 첨가)한 다음 37°C 수조에서 배양하고 적정산도를 측정하였다.

### Peptide의 분자량 측정<sup>(19)</sup>

생육 촉진물질의 분자량은 insulin (M. W. 6000)을 표준물질로 사용하여 HPLC 방법으로 측정하였다.

### 아미노산의 분석<sup>(23-25)</sup>

LH-20 sephadex column을 통과시켜 얻은 분획 3을 100ml 환저플라스크에 취하고 6N-HCl 60ml를 가하였다. 이 플라스크에 냉각기를 부착시키고 128°C의 액체 paraffine 내에서 24시간동안 분해하였다. 가수분해액을 50°C에서 회전 진공 증발기로 농축시키고 clarification kit (waters社)와 sep-pak C<sub>18</sub> (waters社)로 통과시킨 여액을 시료로 사용하였다. 아미노산을 함유한 이 시료는 amino acid

analyzer (Waters 社)를 사용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

단백질 가수분해의 활성

탈지유 배지에 *L. helveticus*와 *Str. lactis*를 단독 및 혼합배양하여 단백질 가수분해 능력을 측정 한 결과는 Fig. 1과 같았다. 배양 8시간후 *L. helveticus*는 105 µg/ml, *Str. lactis*는 30 µg/ml, 혼합배양시는 63 µg/ml의 tyrosine을 각각 생산하였다. *L. helveticus*의 단백질 가수분해 활성은 *Str. lactis*보다 약 3배 정도 크며, 혼합배양의 경우 *L. helveticus*보다 오히려 낮은 값을 나타냈다. 혼합배양의 경우가 낮은 이유는 배지중에 존재하는 아미노산과 peptide 등을 *Str. lactis*가 빠르게 소모 하기 때문인 것으로 사료되었다.

Kumio등<sup>(26)</sup>은 *L. helveticus*와 *Str. lactis*의 세포 내 단백질 가수분해효소를 비교한 결과 *L. helveticus*가 *Str. lactis*보다 4배 정도 크다고 하였으며, Singh<sup>(27)</sup>은 배양시간이 경과함에 따라 단백질 가수분해 활성이 증가한다고 하였으며, 윤등<sup>(28)</sup>도 같은 보고를 한바 있었다. 본 실험결과와 위의 보고들은 같은 경향을 나타냈다.

또 단백질 가수분해의 형태를 알기 위해서 *Str. lactis*의 12시간 배양한 여액과 *L. helveticus*의 8시간 배양한 여액을 단백질 분석 column에 통과시

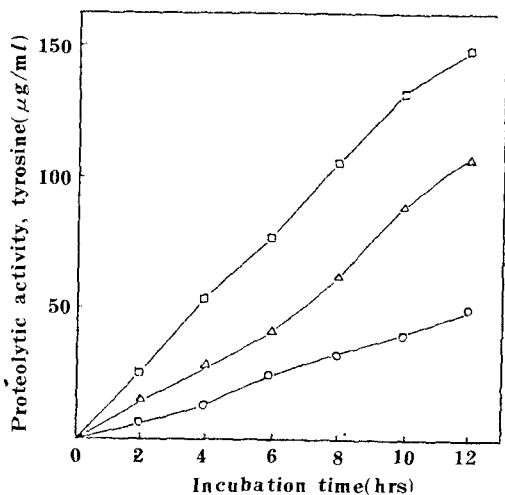


Fig. 1. Proteolytic activity of single and mixed culture by *L. helveticus* YM-1 and *Str. lactis* ML<sub>3</sub> in 10% reconstituted skim milk at 37°C.

□ : *L. helveticus* YM-1  
 ○ : *Str. lactis* ML<sub>3</sub>  
 △ : *L. helveticus* YM-1 plus *Str. lactis* ML<sub>3</sub>

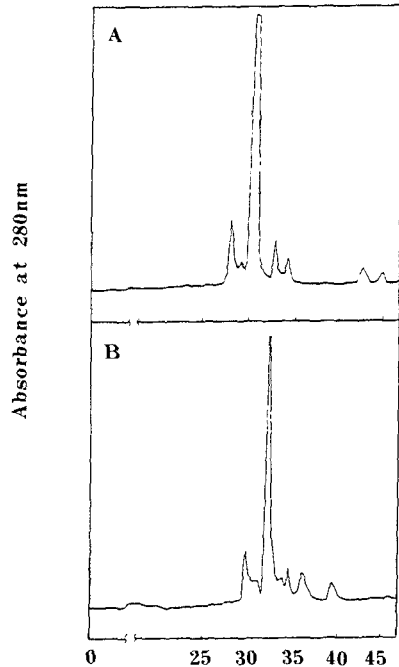


Fig. 2. Comparative elution profiles of protein in cultured broth filtrate on Protein analysis column.

A: Cultured broth filtrate of *Str. lactis* ML<sub>3</sub>  
 B: Cultured broth filtrate of *L. helveticus* YM-1

켜 얻은 chromatogram을 Fig. 2에 나타냈다. *Str. lactis*의 chromatogram은 retention time이 27~34분 사이에 5개의 큰 peak와 43~45분 사이에 2개의 작은 peak를 나타냈고, *L. helveticus*의 chromatogram은 retention time 29~40분 사이에 7개의 큰 peak만을 나타냈다. *Str. lactis*의 배양여액은 *L. helveticus*의 배양여액보다 분자량이 큰 물질을 보다 많이 함유하고 있으며, 또한 *L. helveticus*의 배양여액에 들어 있지 않은 분자량이 작은 부분을 가지고 있었다. 이러한 이유는 *Str. lactis*는 peptidase 활성이, *L. helveticus*는 proteinase 활성이 보다 강하기 때문에 나타나는 현상이라고 사료되었다. Lawrence등<sup>(11)</sup>은 *Streptococcus* 균주들은 peptidase가, 그리고 *Lactobacillus* 균주들은 proteinase 활성이 크다고 주장한 보고와 본 실험결과와는 일치되는 경향을 나타냈다. 이상의 결과로부터 이 두균주는 서로 다른 단백질 가수분해 능력을 가지고 있기 때문에 혼합배양시 상호 보완 작용을 하여 산생성과 생육에 도움이 된다고 사료되었다.

**Table 1. Effect of each fraction passed through ion exchange column on acid fermentation by *Str. lactis* ML<sub>3</sub> in reconstituted skim milk at 37°C.**

Fractions	Titratable acidity (ml of 0.1N NaOH)			Stimulation (%)
	0hr	4hrs	8hrs	8hrs only
Control	1.60	1.9	3.3	100
Effluent fraction	1.60	1.9	3.3	100
Washing fraction	1.60	2.0	3.5	106
Eluate fraction	1.60	2.4	4.4	132

**이온교환 chromatography에 의한 분획물의 산 생성 효과**

배양액중에 존재하는 산발효 촉진물질을 분리하기 위해 이온교환 column을 통과시켜 용출된 3 분획물을 얻고, 이 각각의 분획물에 대해서 산생성 촉진효과를 검토한 결과는 Table 1, 2와 같았다. *Str. lactis*와 *L. helveticus* 양자 모두 유출분획물과 세척분획물에서는 효과가 적었고, *L. helveticus* 배양액의 용출 분획물이 132%의 촉진효과를 냈고, *Str. lactis* 배양액의 용출 분획물은 *L. helveticus*에 대해 111% 효과밖에 주지 못했다. *L. helveticus*의 용출 분획물내에 존재하는 촉진물질이 peptide라면 열에 안정할 것이므로 이를 열처리하여 검토한 결과는 Table 3과 같았다. 이 결과는 열처리한 경우나 하지 않는 경우 모두 같은 효과를 나타냈었다. 그러므로 이 물질은 열에 안정한 저분자 물질을 함유하고 있다고 사료되었다. Berg등<sup>(29)</sup>은 생효모 추출물로부터 *L. sanfrancisco*의 생육 촉진물질을 확인하기 위해서 양이온 교환 column을 통과시킨 eluate 분획물에 생육촉진물질이 존재한다고 하였으며 그 분자량이 1065의 peptide라고 하였다.

**Table 2. Effect of each fraction passed through ion exchange column on acid fermentation by *L. helveticus* YM-1 in reconstituted skim milk at 37°C.**

Fractions	Titratable acidity (ml of 0.1N NaOH)			Stimulation (%)
	0hr	4hrs	8hrs	8hrs only
Control	1.60	2.0	4.6	100
Effluent fraction	1.60	2.0	4.7	100
Washing fraction	1.60	2.1	4.9	105
Eluate fraction	1.60	2.3	5.1	111

**Table 3. Effect of heat treatment of eluate fraction on acid fermentation by *Str. lactis* ML<sub>3</sub> in reconstituted skim milk at 37°C.**

Eluate fraction	Titratable acidity (ml of 0.1N NaOH)			Stimulation (%)
	0hr	4hrs	8hrs	8hrs only
Control	1.60	1.9	3.3	100
No-treated	1.60	2.4	4.4	132
Heat-treated	1.60	2.5	4.5	135

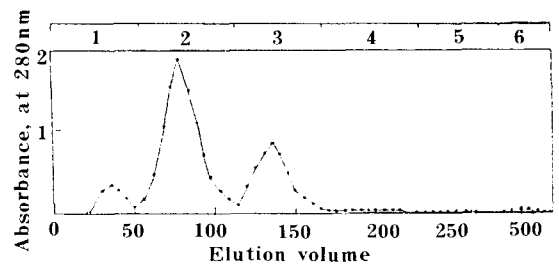
Heat treatment was carried out in autoclave at 100°C for 30 min.

**LH-20 sephadex column에 의한 분획물의 흡광도와 산생성 효과**

이온교환 column으로 부터 얻은 용출 분획물은 분자량 크기로 분리하기 위해서 LH-20 sephadex column을 사용하여 여과되는 것을 fraction collector에 받아 흡광도를 측정하여 도시한 chromatogram은 Fig. 3과 같았다.

흡수 peak는 모두 5개이며 이들은 분자 크기가 다른 물질로 사료되었다. 이 여과물질을 도시한바와 같이 6개의 분획으로 하고 각 분획이 나타내는 산생성 촉진효과를 측정한 결과는 Fig. 4와 같았다. *L. helveticus*의 배양액이 나타내는 효과를 100%로 하였을때 분획 3은 45%, 분획 4는 21%의 산생성 촉진효과를 나타냈으며 나머지 분획은 크게 기대하기는 어려웠다.

촉진효과가 좋은 분획 3의 자외선 흡수 spectrum은 Fig. 5와 같았으며 파장 210, 280nm에서 흡수 spectrum을 나타냈으며 전형적인 단백질 spectrum으로 볼 수 있었다. 또 Biuret반응도 양성으로 나타났었다.



**Fig. 3. Chromatogram of ion exchange column eluate of *L. helveticus* YM-1 from LH-20 Sephadex column(2.2 × 50 cm) using 0.1N-ammonium hydroxide.**

Flow rate was 0.5ml/min.

Eluate was pooled into 6 fractions as shown.

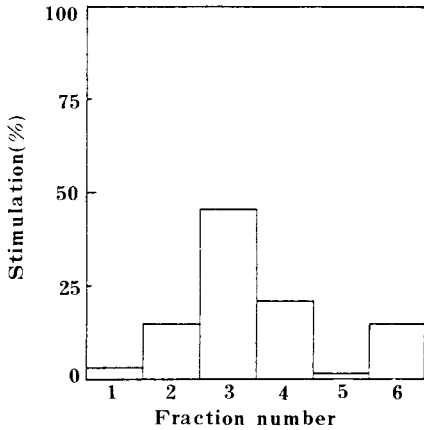


Fig. 4. Effect of each fraction from LH-20 sephadex column on acid fermentation by *Str. lactis* ML<sub>5</sub> in reconstituted skim milk.

Each fraction was added separately to the growth medium and incubated at 37°C for 8 hrs. Stimulation of growth was expressed as a percentage of the stimulation produced by equivalent concentration (10% v/v) of cultured broth filtrate which was taken to represent 100% stimulation.

**Peptide의 분자량 측정**

산생성을 촉진하는 분획 3의 peptide분자량을 H-PLC 방법으로 측정할 결과는 Fig. 6과 같았다. 분자량이 6000인 insulin의 retention time은 9분 30초였으며, 분획 3은 12분 30초를 나타냈다. 이상의 결과로 부터 분획 3의 촉진물질은 분자량이 6000이하의 peptide라고 사료되었다.

식산균의 단백질 가수분해 효소는 존재 부위별로 세포내 효소, 세포외 효소, 표면부착 효소, 세포벽 효소로 분류하는데 세포외 효소는 매우 희박한 것으로 보고 되어 있었다.<sup>30-31</sup>, 그러므로 대부분 표면에 결합되어 존재하는 단백질 가수분해 효소에

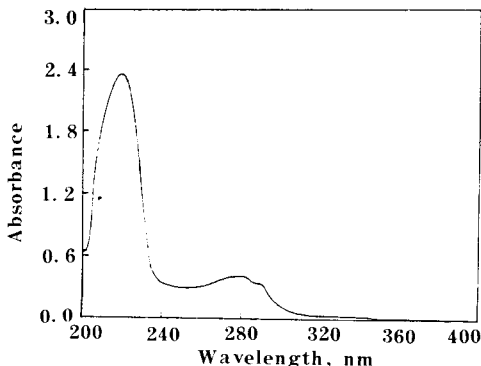


Fig. 5. Absorbance spectra of 3 fraction passed through LH-20 Sephadex column.

의해서 casein을 peptide로 분해하고<sup>32</sup>, 이 peptide을 세포내로 운반하여 아미노산 공급원으로써 이용하며<sup>33-34</sup>, 아미노산으로의 가수분해는 세포내 peptidase에 의해서 이루어진다고 하였다.<sup>30-36</sup>.

Woolley<sup>12</sup>는 5개의 아미노산 분자를 가진 streptogenin이 *L. casei*의 생육을 촉진한다고 하였으며, Berg등<sup>29</sup>은 분자량이 1065인 peptide가 *L. sanfrancisco*의 생육을 촉진하며, Branen등<sup>17</sup>은 분자량이 4700인 peptide가 *L. casei*의 생육을 촉진한다고 하였다.

**Peptide의 아미노산 조성**

촉진효과가 양호한 분획 3의 아미노산조성을 알아보기 위해서 HCl로 가수분해하여 amino acid analyzer로 분석한 결과는 Table 4와 같았다.

이 peptide는 13종의 아미노산을 함유하고 있으며 여러 아미노산 중에서 특히 lysine, histidine, glutamic acid, arginine의 함량이 많았고, methionine, valine, phenylalanine들이 상당량 존재하였다. 아미노산의 평균분자량을 150으로 가정하고, 또한 산 가수분해시 파괴되기 쉬운 tryptophane, cysteine의 함량을 무시하고 대략 이 stimulatory peptide의 분자량을 구해보면 4300 (28.5몰 × 150 = 4275) 정도였다.

Berg등<sup>29</sup>은 *L. sanfrancisco*의 생육촉진 물질인 분자량이 1065의 peptide 조성은 aspartic acid, cys-

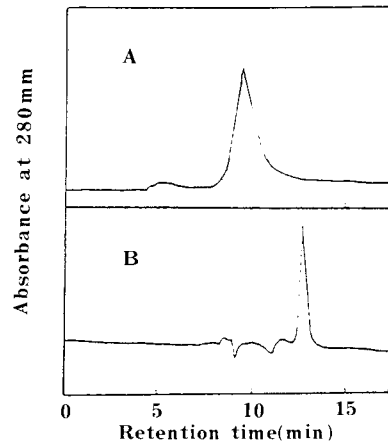


Fig. 6. Comparative elution profiles of insulin and 3-fraction from LH-20 Sephadex column on protein analysis column(1-60)

A: Standard insulin

B: 3-fraction from LH-20 Sephadex column.

Analysis conditions

Column: Protein analysis column(1-60)

Mobile phase: 0.2N Sodium phosphate buffer(pH 6.8) containing 0.1 mole NaCl

Detector: Model 405 UV Detector

Wavelength: 280nm

Flow rate: 0.5ml/min

teine, glutamic acid, glycine, lysine 등으로 보고하였으며, Branen 등<sup>(17)</sup>은 *L. casei*의 생육 촉진물질인 분자량이 4700의 peptide에는 serine, proline, glycine, alanine, leucine, glutamic acid 등이 풍부하게 존재한다고 하였다. 이상의 보고들과 본 실험결과와 비교해 보면 다량 함유하고 있는 물질로 glutamic acid와 lysine만이 일치하였다.

#### 아미노산이 산생성에 미치는 영향

각 아미노산이 산생성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 탈지유에 10 $\mu$  mole의 아미노산을 첨가하고 *Str. lactis*을 접종 배양한 산생성의 변화는 Table 5와 같았다. 여러 아미노산 중에서 histidine, glutamic acid, phenylalanine이 113% 정도의 촉진효과를 나타냈고, methionine, valine, lysine 등은 106% 정도였다. 그외의 아미노산은 별 효과가 없었으며, isoleucine은 오히려 저해 현상을 나타냈다.

Accolas 등<sup>(7)</sup>은 *Str. thermophilus*의 생육촉진 아미노산으로 leucine, valine, histidine과 isoleucine의 혼합물을, Bautisa 등<sup>(8)</sup>은 glycine과 histidine을, Zuraw 등<sup>(37)</sup>은 phenylalanine을 각각 보고하였다.

본 실험결과와 위의 보고들을 비교하면 histidine과 phenylalanine, 그리고 valine만이 같은 경향을 나타내었고, 촉진물질인 peptide의 구성을 이루고 있었던 아미노산과 산생성을 촉진한 유리 아미노산과의 관계를 비교해 보면, 일반적으로 peptide의 가수분해물에 다량 존재하였던 histidine, glutamic acid가 유리 아미노산으로 첨가 했을 때 산생성 촉진효과가 양호하였다.

**Table 4. Amino acid composition of the stimulatory peptide.**

Amino acid	Content ( $\mu$ mole/ml)
Aspartic acid	1.2
Serine	0.8
Glutamic acid	3.4
Glycine	1.1
Alanine	0.9
Valine	2.0
Methionine	2.4
Leucine	1.1
Tyrosine	0.9
Phenylalanine	2.0
Histidine	4.2
Lysine	5.4
Arginine	3.1
Total	28.5

**Table 5. Effect of stimulation or inhibition of *Str. lactis* ML<sub>3</sub> in reconstituted skim milk by known amino acids.**

Amino acid	Titratable acidity (ml of 0.1N NaOH)	Percent of stimulation (%)
Control	3.2	100
Histidine	3.6	113
Glutamic acid	3.6	113
Phenylalanine	3.6	113
Methionine	3.4	106
Valine	3.4	106
Lysine	3.4	106
Glutamine	3.3	103
Arginine	3.3	103
Threonine	3.3	103
Proline	3.2	100
Glycine	3.2	100
Leucine	3.2	100
Serine	3.1	97
Isoleucine	2.7	84
Aspartic acid	3.2	100
Tyrosine	3.2	100
Tryptophan	3.2	100

The concentration of amino acid added was 0.1m mol/ml. Incubated at 37°C for 8 hrs.

## 요 약

*L. helveticus* YM-1과 *Str. lactis* ML<sub>3</sub>를 환원 탈지유 배지에 혼합배양시켜 단백질 가수분해 활성과 산발효 촉진물질을 검토하였다.

두 균을 8시간 동안 배양한 결과 단백질 가수분해 활성은 현저한 차이를 나타냈으며, 배양액중의 우유 단백질 가수분해물을 측정하여 tyrosine 양으로 환산했을 때 *L. helveticus* YM-1은 105 $\mu$ g/ml, *Str. lactis* ML<sub>3</sub>는 30 $\mu$ g/ml였다. 탈지유에 *Str. lactis* ML<sub>3</sub>의 배양여액을 첨가하여 *L. helveticus* YM-1을 배양했을 때 *L. helveticus* YM-1의 산발효를 거의 촉진시키지 못하였으며, 반대로 *L. helveticus* YM-1의 배양여액을 첨가하여 *Str. lactis* ML<sub>3</sub>를 배양했을 때는 *Str. lactis* ML<sub>3</sub>의 산발효를 크게 촉진시켰다.

*Str. lactis* ML<sub>3</sub>의 산발효 촉진물질로는 *L. helveticus* YM-1이 우유 단백질을 가수분해하여 생산한 분자량 4300 정도의 peptide이며, 이 peptide를

산으로 가수분해한 결과 lysine, arginine, glutamic acid가 주로 많이 존재하였다. 또한 유리 아미노산으로 탈지유에 첨가하여 *Str. lactis* ML<sub>3</sub>를 배양했을 때 여러 아미노산 중에서 histidine, glutamic acid, phenylalanine이 산생성을 가장 촉진하였고 isoleucine은 오히려 저해하였다.

### 참고문헌

1. Denis, H.H., V. Schmal and J.E. Auclair: *J. Dairy Res.*, **48**, 139 (1981).
2. Gravie, E.L. and L.A. Mabbitt: *J. Dairy Res.*, **23**, 305 (1956).
3. Huhtanen, C.N. and W.L. Williams: *Appl. Microbiol.* **11**, 20 (1963).
4. Koburger, J.A., M.L. Speck and L.W. Aurand: *J. Bacteriol.* **85**, 105 (1963).
5. Nath, K.R. and B.J. Wagner: *Appl. Microbiol.* **26**, 49 (1973).
6. Smith, J.S., A.J. Hiller, G.J. Lees and G.R. Jago: *J. Dairy Res.*, **42**, 123 (1975).
7. Accolas, J.P., M. Veaux and J. Auclair: *Le Lait*, **51**, 249 (1971).
8. Bautisa, E.S., R.S. Dahiya and M.L. Speck: *J. Dairy Res.*, **33**, 299 (1966).
9. Shankar, P.A. and F.L. Davies: *J. Soc. Dairy Technol.*, **30**, 28 (1977).
10. Braquart, P., D. Lorient and C. Alais: *Milchwissenschaft*, **33**, 341 (1978).
11. Lawrence, R.C., T.D. Thomas and B.E. Tergzagli: *J. Dairy Res.*, **43**, 141 (1976).
12. Woolley, D.W.: *J. Exp. Med.*, **73**, 487 (1941).
13. Kihara, H. and E.E. Snell: *J. Biol. Chem.*, **235**, 1409 (1960).
14. Desmazeud, M.J. and J.H. Hermier: *European J. Biochem.*, **28**, 190 (1972).
15. Shandar, P.A. and F.L. Davies: *20th International Dairy Congress*, Paris E. 467 (1978).
16. Braquart, P. and D. Lorient: *Milchwissenschaft*, **34**, 676 (1979).
17. Branen, A.L. and T.W. Keenan: *Appl. Microbiol.*, **20**(5), 757 (1970).
18. Hull, M.E.: *J. Dairy Sci.*, **30**, 881 (1947).
19. Dimenna, G.P. and H.J. Segall: *J. Liquid Chromatogr.*, **4**(4), 639 (1981).
20. Cooper, T.G.: *Tools of Biochemistry*, John Wiley and Sons, NY, p. 136 (1977).
21. Work, T.S. and R.H. Burdon: *Laboratory Technique*, Vol. 1, Elsevier, p. 1 (1980).
22. Cooper, T.G.: *Tools of Biochemistry*, John Wiley and Sons, NY, p. 36 (1977).
23. Kato, Y., N. Sasaki, M. Aiura and I. Hashimoto: *J. Chromatogr.*, **153**, 546 (1978).
24. Bishop, C.A. and W.S. Hancock: *J. Liquid Chromatogr.*, **4**(4), 599 (1981).
25. Dong, M.W. and J.R. Gant: *J. Chromatogr.*, **327**, 17 (1985).
26. Kunio, C. and Y. Sato: *Agric. Biol. Chem.*, **42**(1), 7 (1978).
27. Singh, J.: *Milchwissenschaft*, **38**(3), 148 (1984).
28. Yoon Sung Sik, Chung Kil Park and Ju Hyun Yu: *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **13**(2), 151 (1985).
29. Berg, R.W., W.E. Sandine and A.W. Anderson: *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**(5), 786 (1981).
30. Law, B.A.: *J. Appl. Bacteriol.*, **46**, 455 (1979).
31. Law, B.A., M.E. Sharpe and B. Reiter: *J. Dairy sci.* **4**, 137 (1974).
32. Thomas, T.D., B.D. Jarvis and N.A. Skipper: *J. Bacteriol.* **118**, 329 (1974).
33. Law, B.A.: *J. Dairy Res.*, **44**, 309 (1977).
34. Law, B.A.: *J. Gen. Microbiol.*, **105**, 113 (1978).
35. Mou, L., J.J. Sullivan and G.R. Jago: *J. Dairy Res.*, **42**, 147 (1975).
36. Schmidt, R.H., N.A. Morris and L.L. McKay: *J. Dairy Sci.*, **60**, 710 (1977).
37. Zuraw, E.A., M.L. Speck, L.W. Aurand and S.B. Tove: *J. Bacteriol.*, **80**, 457 (1960).