

단백분해효소 처리된 두유단백질의 구조적 특성

변진원

수원여자대학 식품영양과

Conformation of Soymilk Protein Treated by Protease

Jin-Won Pyun

Department of Food and Nutrition, Suwon Women's College

Abstract

Conformation of soymilk protein was examined to obtain basic information for improved calcium intolerance of soymilk protein partially hydrolyzed with protease.

Surface hydrophobicities of three proteins showed the order of SMP(soymilk protein) < SPI(soy protein isolate) < PT-SMP(protease treated soymilk protein). Total thiol group contents of SMP and PT-SMP were similar but larger than that of SPI. Reducing rate of disulfide bond in PT-SMP after 2-mercaptoethanol treatment was faster than that in SMP. And so, this result indicates that PT-SMP may be less compacting due to protease treatment.

From circular dichroism result, PT-SMP showed different pattern from SMP and SPI suggesting change of secondary structure by hydrolysis. And analysis of heat denaturing property by DSC showed that denaturation enthalpy of three proteins were all small. Especially enthalpy of PT-SMP was least, and this result suggested that PT-SMP was denatured easily by heating due to less compacting structure.

Key words : soymilk protein, protease treatment, surface hydrophobicity, thiol group, circular dichroism, DSC.

서론

우리나라에서 이용되고 있는 전통적인 대두가공품 중 음료의 형태로 이용되고 있는 두유는 오랫동안 사용해온 대두 영양식으로, 필수지방산이 많이 함유되어 있고 필수아미노산의 조성도 메티오닌 외에는 우유의 것과 유사하여 곡류 위주의 식사습관을 지닌 우리나라 사람들에게 결핍되기 쉬운 리신의 좋은 급원이다¹⁾. 또한 유당이 함유되어 있지 않아 우유와 같은 소화장애가 없을 뿐만 아니라 우유에 알레르기가 있는 유아에게 알레르기가 없어 고단백 우유대체식품으로서의 가치를 인정받고 있다²⁾. 성인의 경우에 있어서도 기호성, 경제성 또는 동물성 식품의 과다섭취 등으로 인하여 우유를 기피하는 경우, 두유는 콜레스테

롤 함량도 거의 없을 뿐 아니라 체내의 콜레스테롤 함량을 낮추는 활성을 지니고 있으며 성인병 예방에 좋은 불포화지방산 등을 함유하고 있어 식물성 건강음료로서의 인식이 더욱 확대, 강화되고 있다^{3~6)}.

이처럼 1967년 상품화된 이래 수요가 날로 증가되고 있는 우유대체 영양음료인 두유는 영양저해성분과 장내가스 발생인자, 콩비린내 등 몇가지 문제점을 가지고 있으나 많은 연구를 통해 보완 시정되고 있다^{7~10)}. 또한 성장기 아동 및 노인들에게 필수적으로 필요한 칼슘의 부족도 고단백 우유대체식품으로서의 가치를 인정받고 있는 두유가 가진 큰 문제점 중의 하나여서 이를 해결하기 위한 많은 연구^{11~15)}들이 행해지면서 좀 더 나은 품질의 두유 생산에 노력을 기울이고 있다.

† Corresponding author : Jin-Won Pyun

한편 칼슘부족 해결을 위한 여러 가지 방법 중 하나로, 단백질의 기능적 특성을 향상시키기 위하여 사용했던 단백분해효소를 처리하게 되면 칼슘내인성 (calcium intolerance)이 증가¹⁶⁾되므로 이를 이용하여 제조된 고칼슘 두유는 칼슘부족 문제의 해결뿐 아니라 단백분해효소 처리시 생성된 대두펩타이드로 인해 혈청의 콜레스테롤 저하효과^{17,18)}도 아울러 얻을 수 있으리라 생각된다.

본 연구에서는 효소처리를 이용한 칼슘강화두유 제조의 일환으로, 단백분해효소를 두유단백질에 처리한 후 효소처리 전, 후에 나타나는 단백질의 구조적 특성을 비교 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

대두는 농촌진흥청에서 분양 받은 장엽을 사용하였으며, 단백질 가수분해 효소로는 *Bacillus polymyxa*에서 추출한 단백분해효소(P 5647, Sigma)를 사용하였다.

두유단백질의 특성을 비교, 분석하기 위한 상업용 분리대두단백(soy protein isolate : SPI)으로는 PP590 Purina Co. Ltd.)을 사용하였다.

2. 부분가수분해 두유단백질의 제조

Fig. 1과 같은 방법으로 제조한 두유를 냉동건조하여 두유분말을 얻은 뒤 막자사발에 갈아 20메시 체로 거른 후 diethyl ether로 탈지하여 탈지 두유분말을 얻었다.

단백질의 회수방법으로는 산 침전에 의한 방법을 사용하였다. 즉, 탈지된 두유분말의 10% 용액을 두유단백질의 용해도가 가장 적게 나온 pH로 맞추고 30분간 자석교반기로 저어준 뒤 pH를 재조정하여 9,600g에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 침전물을 모아 증류수로 씻고 재 분산시켜 pH를 7.5로 맞추고 냉동건조하고 막자사발로 갈아 40메시 체로 거른 것을 기준 시료인 두유단백질(soymilk protein ; SMP)로 사용하였다.

또 두유단백질(SMP) 4%용액에 대해 예비실험 결과 선택된 *Bacillus polymyxa*에서 추출한 단백분해효소를 사용하여 효소처리한 뒤(pH 7.5, 50°C, 10분) 불활성화시키고 냉동건조하여 막자사발로 갈아 40메시 체로 거른 것을 단백분해효소가 처리된 부분가수분해 두유단백질시료(protease-treated soymilk protein ; PT-SMP)로 사용하였다.

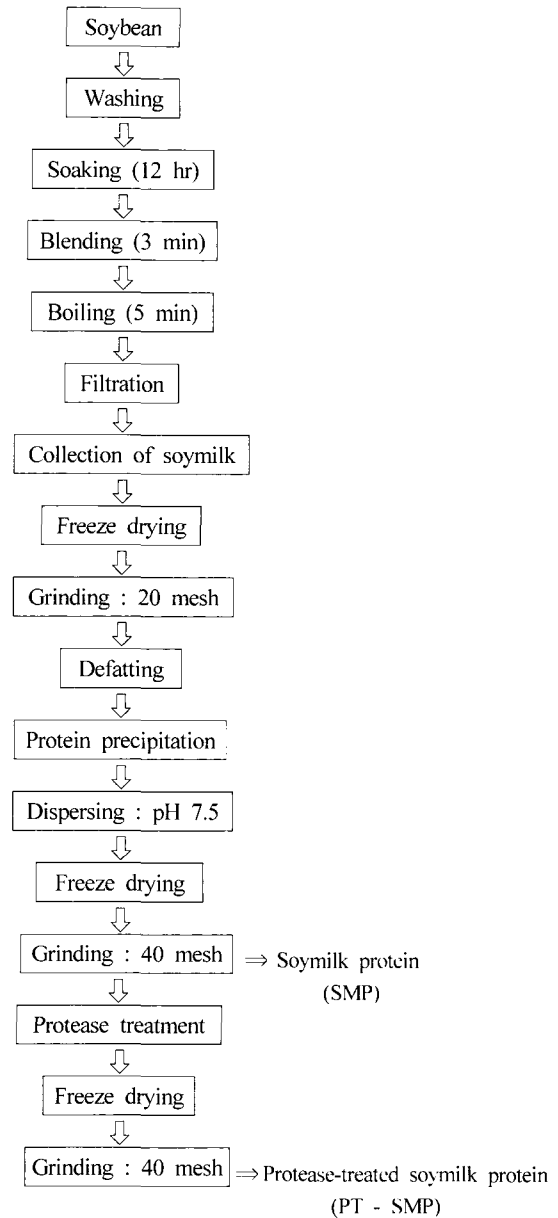


Fig. 1. Procedure for preparing of soymilk proteins.

3. 부분가수분해 두유단백질의 구조적 특성 분석

1) 표면소수도 분석

Wagner 등의 방법¹⁹⁾을 이용하여 3가지 단백질시료의 표면소수도를 분석하였다. 순수 단백질의 농도가 0.04%~0.005%가 되도록 0.01M phosphate 완충용액 (pH 7.0)에 녹이고 40 μl의 1-anilino-8-naphthalene sulfonate (ANS : 0.01M phosphate 완충용액에 8.0mM이 되도록 녹임)를 단백질용액 2ml에 가했다.

ANS-단백질 복합체의 형광강도는 390nm(excitation wavelenth), 470nm (emission wavelenth)에서 spectro-

fluorometer(Kontron, SFM25)로 측정하였으며 강도 수치는 메탄올에 녹인 ANS에 대한 수치를 80% full scale로 표준화 하여 얻었고, 각 단백질 농도에서의 순형광강도(net fluorescence intensity)는 각 시료용액의 형광강도에서 ANS가 첨가되지 않은 sample blank의 형광강도를 뺀 것이다.

표면소수도는 형광강도 : 단백질농도의 직선 회귀 분석 결과 얻어진 초기 기울기로 나타내었다.

2) 유리 thiol기와 환원 후의 총 thiol기의 분석

(1) 유리 thiol기 분석

Beveridge 등의 방법²⁰⁾을 이용하여 두유단백질, 부분가수분해 두유단백질 및 SPI의 유리 thiol기를 분석하였다. 단백질시료 60mg을 tris-glycine buffer(10.4g tris, 6.9g glycine and 1.2g EDTA / liter, pH 8.0) 1ml에 녹이고 4.7g의 guanidine hydrochloride(guHCl)를 첨가하여 10ml로 만든 뒤 그중 1ml를 취하여 urea-guHCl (tris-glycine buffer에 녹인 것으로 5M guHCl가 함유된 8M urea) 4ml와 섞은 후 4mg/ml buffer 농도의 Ellman's reagent(5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid ; DTNB) 0.05 ml를 섞고 15분 뒤에 412nm에서 발색 정도를 측정하였으며 아래의 식을 이용하여 단백질시료의 유리 thiol기 함량을 계산하였다.

$$\mu\text{M SH/g} = \frac{73.53A_{412}D}{C}$$

A_{412} = 412nm에서의 흡광도

C = 단백질농도(mg protein/ml)

D = 회석배수

$$73.53 = 10^6 / (1.36 \times 10^4)$$

$$1.36 \times 10^4 = \text{분자흡수도(molar absorbtity)}$$

(2) 환원 후의 총 thiol기 분석

위의 방법에 의해 10ml로 만든 단백질용액 1ml를 2-mercaptoethanol 0.05ml, urea-guHCl 4ml와 섞어 실온에서 방치하고 30분, 1시간후에 12% 트리클로로아세트산 10ml를 첨가하여 단백질을 침전시키고, 다시 1시간동안 방치한 뒤 원심분리(6,700g, 10분)하였다. 침전물은 2-mercaptoethanol을 제거하기 위해 2회에 걸쳐 12% 트리클로로아세트산 10ml에 분산시키고 원심분리를 하였다.

얻어진 침전물은 8M urea in tris-glycine 10ml에 녹이고 이중 3ml를 3ml의 8M urea in tris-glycine로 희석시킨 뒤, 4mg/ml buffer 농도의 Ellman's reagent 0.04ml

와 섞고 15분 후에 412nm에서 발색 정도를 측정하여 총 thiol기의 함량을 계산하였다.

계산된 총 thiol기의 양은 disulfide group이 환원되어 생성된 thiol기의 양과 유리 thiol기 양의 합계이므로 이 총 thiol기에서 유리 thiol기를 뺀 뒤 2로 나누어 환원된 disulfide groups의 양을 얻었다.

$$\text{reduced S-S} = 1/2 (\text{total SH} - \text{free SH})$$

3) 단백질의 2차 구조 분석

두유단백질, 부분가수분해 두유단백질 및 SPI를 단백질농도가 약 0.2%가 되도록 증류수에 분산시키고 자석교반기를 사용하여 저어준 뒤 원심분리하여 얻은 상징액에 대해 biuret방법을 이용하여 단백질을 정량하였다. 이 용액을 0.1cm cell에 담고 spectropolarimeter (Jobin-Yvon, CD-6)를 이용하여 190nm~250nm 범위의 far-UV circular dichroism spectra를 측정하였다²¹⁾.

Spectropolarimeter는 isoandrosteron을 dioxan에 62.5 mg/50ml로 녹인 것을 표준물질로 사용하여 304nm에서 molecular ellipticity[θ]가 1.45×10^{-3} 이 되도록 맞추어 표준화하였다.

4) 단백질의 열변성 특성 분석

Sheard 등과 Kilara 등의 방법^{22,23)}을 이용하여 두유단백질, 부분가수분해 두유단백질 및 SPI의 열변성 특성을 분석하였다. 분말상태의 단백질시료를 일정량 알루미늄 팬에 담아 밀봉한 다음, 시차주사열량기 (Differential Scanning Calorimeter, Perkin-Elmer, DSC-7, USA)를 이용하여 30°C부터 340°C까지 1분당 10°C의 속도로 가열하면서 열변성 특성을 알아보았다.

표준물질로는 빈 알루미늄 팬을 사용하였고 흡열피크로부터 변성최대온도(T_{max})와 변성엔탈피(ΔH)를 구하여 이로부터 시료간의 열변성 특성을 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 표면소수도

ANS(1-anilino-8-naphthalene sulfonate)를 이용하여 두유단백질, 부분가수분해 두유단백질과 SPI의 표면소수도를 측정한 결과 SPI가 220.4, SMP가 202.1, PT-SMP가 278.2로 나타났다. 표면소수도는 SMP < SPI < PT-SMP의 순으로 나타났는데 PT-SMP의 경우 효소 처리로 인해 노출된 전하가 증가되면서 ammonium, carboxyl 그룹 등의 멀리 떨어진 상태의 인력이 가까운

상태의 인력으로 바뀌어 구조를 바꾸게 되고 이로 인해 펩타이드 사슬이 구속되어 표면에 소수도가 더 노출된 결과로 생각된다.

SMP의 표면소수도가 비교적 적게 나왔는데 이는 두유 제조시 가한 열처리에 의해 단백질이 변성되면서 사슬이 펼쳐져 소수기가 노출이 되긴 하나 변성이 더 진행되면서 응집체가 심하게 생기고 이때 소수기간의 결합이 응집체 형성에 관여하게 되어 결과적으로 표면의 소수도가 감소¹⁹⁾되었기 때문인 것으로 생각된다.

단백질의 기능적 특성과 구조간의 관계에 대해 많은 연구가 행해졌다. 이들의 연구를 종합해 보면 단백질 기능적 특성의 가장 중요한 구조적 인자는 단백질의 표면소수도로 소수결합이 단백질의 기능적 특성에 중요한 역할을 한다고 보고되었다²⁴⁾. 특히 표면소수도는 열변성된 단백질의 표면 기능적 특성과 상관관계가 높아 표면소수도가 높은 양친매성 단백질은 기름 또는 공기와 물 사이의 계면에 강하게 흡착하여 계면 또는 표면장력을 현저히 감소시킴으로써 유화 또는 기포형성을 용이하게 한다²⁵⁾. 그러므로 표면소수도가 크게 나타난 효소처리된 두유의 경우 유화성이 증대하리라 생각된다.

2. 유리 thiol기와 환원 후의 총 thiol기

두유단백질, 부분가수분해 두유단백질과 SPI에 대해 환원제를 처리하기 전, 처리 30분 후, 처리 60분 후에 측정된 총 thiol기의 함량은 Fig. 2와 같다. 환원제 처리 전 3가지 단백질 시료의 thiol기 함량은 $2.4 \mu\text{mole/g protein}$ 정도로 열처리 전의 대두단백질의 함량인 $20 \mu\text{mole/g protein}$ ²⁶⁾에 비해 매우 낮은 값을 나타냈는데 이는 SMP나 PT-SMP가 열처리로 인해 응집되면서 유리 thiol기가 S-S결합으로 변화되었음을 의미한

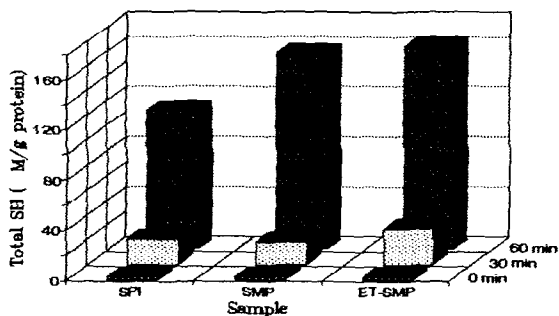


Fig. 2. Comparison of total thiol group contents of soymilk protein, protease treated soymilk protein and SPI before and after 2-mercaptoethanol treatment.

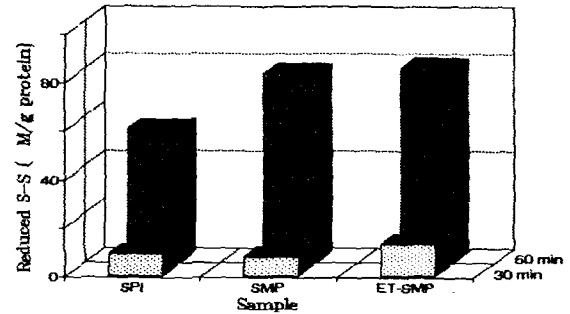


Fig. 3. Comparison of reduced disulfide bond contents of soymilk protein, protease treated soymilk protein and SPI after 2-mercaptoethanol treatment.

다.

SMP와 PT-SMP를 2-mercaptoethanol(ME)을 사용하여 60분 동안 환원시킨 후에 측정된 thiol기 함량은 거의 유사했으나 30분 처리시 값이 차이가 나타났는데 이는 환원시킬 때 효소처리한 PT-SMP의 분자구조가 SMP에 비해 성글어 환원되는 속도가 빠르기 때문인 듯하다. 한편 SPI가 다른 시료에 비해 작은 thiol기 함량을 보이는 것은 SPI의 원료 대두와 두유제조용 대두의 품종 차이때문인 듯하다.

두유단백질과 부분가수분해 두유단백질, SPI에 2-ME를 처리하여 환원시킨 S-S결합의 함량은 Fig. 3과 같다. 1시간동안 방치하여 충분히 환원시킨 후에 SMP와 PT-SMP는 비슷한 함량을 나타내었으며 SPI에 비해서는 높은 값을 나타내었다. 이는 두유단백질의 원료와 SPI를 만든 원료의 품종 차이거나 또는 두유단백질인 경우 가열처리로 인해 더 많은 양의 S-S결합이 형성되었기 때문이라 생각된다.

3. 단백질의 2차 구조

두유단백질의 가수분해에 의한 2차 구조의 변화를 알아보기 위해 두유단백질, 부분가수분해 두유단백질과 SPI의 circular dichroism을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 변성되지 않은 원래의 IIS의 2차 구조를 보면 $\alpha, \beta, \text{random coil}$ 이 각각 6%, 40%, 55%²⁷⁾ 또는 20%, 17%, 63%²⁸⁾로 연구마다 약간의 차이가 있긴 하나, IIS는 β 구조와 비주기적인 구조가 많고 α -helix는 거의 없다²¹⁾고 보고되었다. 본 시료중 SMP인 경우는 $\alpha, \beta, \text{random coil}$ 이 각각 22%, 31%, 47%로 가열처리로 인해 α -helix의 양이 증가하였음을 보여주었고, PT-SMP는 13%, 37%, 51%로 222nm에서의 여계부분이 SMP의 것보다 없어서 α -helix가 줄어들었음을 알 수 있으며

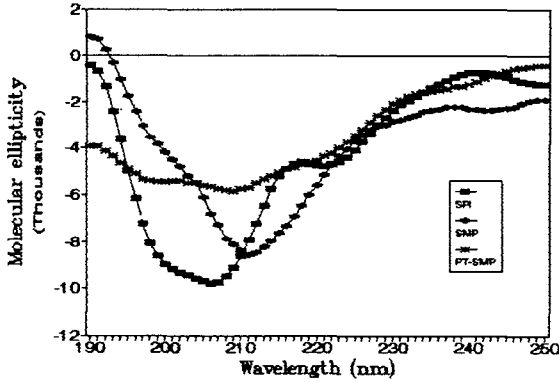


Fig. 4. Comparison of circular dichroism profile of soymilk protein, protease treated soymilk protein and SPI at 190~250nm wavelength.

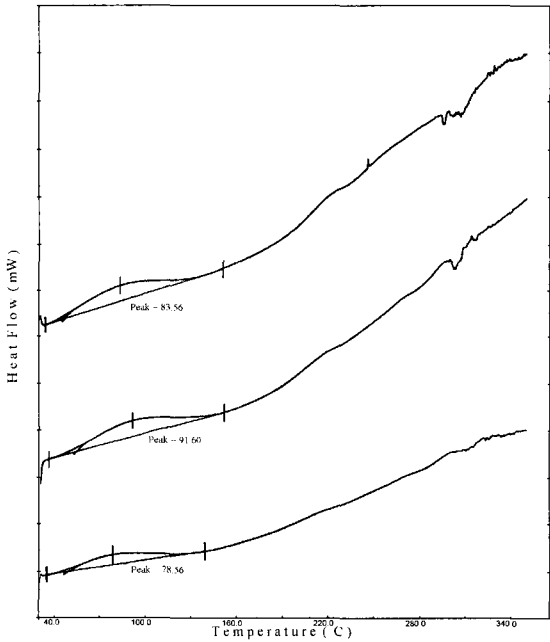


Fig. 5. Comparison of DSC thermograms of soymilk protein, protease treated soymilk protein and SPI.

SPI의 경우는 이 부분의 어깨가 더 현저히 나타나 α -helix의 함량이 더 많음을 알 수 있다.

또 전체적인 모양을 보면 SMP와 SPI의 것은 유사하나 PT-SMP는 다른 패턴을 보여 PT-SMP의 경우 효소 처리로 인해 분자 구조가 짧아지고 전하를 띤 부분이 더 많이 생성되어서 3차 구조의 심한 변화가 초래되었다고 생각된다.

4. 단백질의 열변성 특성

두유단백질과 부분 가수분해 두유단백질, SPI의 열변성 특성을 조사하기 위해 분석한 DSC(differential scanning calorimeter)결과는 Fig. 5와 같다.

단백질은 가열변성될수록 구조의 변화, 즉 3차 구조의 펼쳐짐으로 인해 변성엔탈피(enthalpy of denaturation : ΔH)가 현저히 감소하고 변성최대온도(denaturation temperature : T_d)도 약간씩 감소된다. 본 시료도 변성되지 않은 대두단백질의 DSC 패턴(Wagner et al., 1990)에 비해 peak의 면적이 작으면서 넓게 퍼진 모양을 하고 있었으며 이로써 가열처리 등으로 인해 시료단백질이 변성되었음을 알 수 있다.

단백질의 표면 기능적 특성에는 표면소수도 외에 단백질의 크기, 구조의 안정성, 순전하 등이 관여하며²⁹⁾, ΔH 의 감소는 구조의 불안정성을 의미하므로 이 ΔH 의 낮은 값과 표면 기능적 특성을 연관지어 볼 수 있겠다. ΔH 의 감소는 열변성된 분자가 계면으로 확산되는 속도를 증대시켜 계면막을 형성하는 단백질간의 회합을 용이하게 해줌으로써 거품 형성력과 그의 안정성의 증가가 가능하리라 생각된다. 즉 거품이나 유화액을 생성하는데는 계면막의 생성이 필수이고 이 막이 생성되려면 단백질이 확산되어 계면에 흡착되고 폴리펩타이드의 3차 구조는 어느 정도 풀어져서 펼쳐져야 하는데 이를 위해서는 바람직한 열역학적 상황(favorable thermodynamic situation)이 있어야 하며 이런 상황은 낮은 ΔH 를 의미하게 된다²⁹⁾.

SPI, SMP, PT-SMP 등 각 단백질 시료의 최대 peak가 나타난 변성최대 온도는 각각 83.56°C, 91.60°C, 78.58°C이고 변성 엔탈피는 89.06 J/g, 96.90J/g, 87.01 J/g으로 PT-SMP<PP590<SMP의 순으로 나타났다. PT-SMP의 경우 효소처리로 인해 구조가 더 성글어져 열에 의한 변성이 더 쉽게 일어났음을 알 수 있으며 높은 표면소수를 나타낸 PT-SMP가 작은 ΔH 를 갖는 것은 Wagner 등¹⁹⁾의 결과와 일치하였다.

요 약

본 연구는 두유에 칼슘을 강화하고자 두유단백질의 칼슘내인성을 높이기 위한 방법으로 단백질분해효소를 처리한 경우 효소처리 전, 후에 나타나는 단백질의 구조적 특성을 비교 분석하였다.

표면소수는 SMP<SPI<PT-SMP의 순으로 나타났으며, SMP나 PT-SMP는 열변성으로 인해 S-S 결합의 형성을 초래하여 유리 thiol기의 양이 적게 나타났고 S-S의 환원속도를 비교해 볼 때 SMP보다 PT-SMP가 빠른 것으로 보아 효소처리로 인해 분자구조가 성글

어졌음을 확인하였다.

단백질의 2차 구조 분석 결과 SMP나 SPI에 비해 PT-SMP는 전혀 다른 circular dichroism 패턴을 보여 효소처리로 인해 많은 구조적 변화를 초래했음을 알 수 있으며, 또 3가지 시료의 DSC분석 결과 흡열 피크가 작으면서 넓게 퍼진 모양을 하고 있어 모두 변성된 시료임을 확인하였다. 특히 PT-SMP의 피크면적이 가장 작은 것으로 보아 구조가 성글어져 열에 의한 변성이 더 쉽게 일어났으리라 생각된다.

참고문헌

1. 김성란 : 비지가 발생하지 않는 두유 제조 공정 및 전두유의 특징, *한국콩연구회지*, **19**, 8 (2002).
2. 신해철 : 아기들의 영양공급원으로서 대두 유아식의 적합성과 유용성, *한국콩연구회지*, **18**, 10 (2001).
3. Murphy, P. A. : Phytoestrogen content of processed soybean products, *Food Technol.*, **1**, 60 (1982).
4. Saio, K. : About soymilk, *Shoku No Kagaku*, **70**, 58 (Japanese) (1983).
5. Potter, S. M. J. and Berber-Jimenz, M. D. : Soy protein concentrate and isolated soy protein similarly lower blood serum cholesterol but differently affect thyroid hormones in hamsters, *J. Nutri.*, **126**, 2007 (1996).
6. Carroll, K. K., and Kurowska, E. M. : Soy consumption and cholesterol reduction: Review of animal and human studies, *J. Nutri.*, **125**, 5948 (1995).
7. 김우정, 오훈일, 오명원, 변시명 : 대두발아가 대두유의 품질 및 아미노산 조성에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, **15**, 12 (1983).
8. 김은수, 조재선 : 두유의 현탁안정성에 관한 연구, *한국식품과학회지*, **22**, 312 (1990).
9. 유정선, 이서래 : 두유의 품질향상을 위한 효소제 처리의 효과, *한국식품과학회지*, **20**, 426 (1988).
10. 하상도, 김성수, 박철수, 김병목 : 대두의 데치기와 발아가 두유의 품질에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, **23**, 485 (1991).
11. Weingartner, K. E., Nelson, A. I. and Erdman JR, J. W. : Effects of calcium addition on stability and sensory properties of soy beverage, *J. Food Sci.*, **48**, 256 (1983).
12. Hirotsuka, M., Taniguchi, H., Narita, H. and Kito, M. : Calcium fortification of soymilk with calcium-lecithin liposome system, *J. Food Sci.*, **49**, 1111 (1984).
13. Nanba, K. and Nagasawa, T. : Effects of addition of calcium ion on the colloidal stability of soymilk, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **33**, 745 (1986).
14. 황인경, 김수희, 최용락 : 단백질 식품자원의 개발 및 그 물성적 특성과 관능평가 - 두유와 두부두유의 이화학적 특성연구 (제1보), *한국조리과학회지*, **8**, 117 (1992).
15. 변진원, 황인경 : 칼슘강화 두유의 제조 및 단백질과 칼슘의 체외 소화 특성, *한국식품과학회지*, **28**, 995 (1996).
16. 강영주, 이기춘, 박영호 : 대두 7S 및 11S 단백질의 기능성에 대한 효소적 가수분해의 효과, *한국식품과학회지*, **20**, 344 (1988).
17. Tanaka, K., Aso, B. and Sugano, M. : Biliary steroid excretion in rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixture, *J. Nutr.*, **114**, 26 (1984).
18. 한응수 : 대두펩타이드의 래트 혈청 콜레스테롤 저하효과와 그 기작, 서울대학교 박사학위 논문 (1990).
19. Wagner, J. R. and Anon, M. C. : Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolates, *J. Food Sci.*, **55**, 765 (1990).
20. Beveridge, T., Toma, S. J. and Nakai, S. : Determination of SH- and SS-groups in some food proteins using Ellman's reagent, *J. Food Sci.*, **39**, 49 (1974).
21. Sureshchandra, B. R., Appu Rao, A. G. and Narasinga Rao, M. S. : Effect of sodium dodecyl sulfate on the conformation of soybean glycinin, *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 244 (1987).
22. Sheard, P. R., Fellows, A., Ledward, D. A. and Mitchell, J. R. : Macromolecular changes associated with the heat treatment of soya isolate, *J. Food Technol.*, **21**, 55 (1986).
23. Kilara, A. and Mangino, M. E. : Relationship of solubility of whey protein concentrates to thermal properties determined by differential scanning calorimeter, *J. Food Sci.*, **56**, 1448 (1991).
24. Kato, A., Tsutsui, N., Matsudomi, N., Kobayashi, K. and Nakai, S. : Effects of partial denaturation on surface properties of ovalbumin and lysozyme, *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2755 (1981).
25. Kato, A., Komatsu, K., Fujimoto, K. and Kobayashi, K. : Relationship between surface functional properties and flexibility of proteins detected by the protease susceptibility, *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 931 (1985).
26. 김수희 : Succinyl화가 대두단백질의 기능성과 두부의 품질에 미치는 영향, 서울대학교 석사학위논문 (1990).
27. Yamauchi, F., Ono, H., Kamata, Y. and Shibasaki, K. : Acetylation of amino group and its effect on the structure of soybean glycinin, *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 309 (1979).
28. Ishino, K. and Kudo, S. : Conformational transition of alkaline-denatured soybean 7S and 11S globulins by ethanol, *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 537 (1980).
29. Kato, A., Ibrahim, H. R., Watanabe, H., Honma, K. and Kobayashi, K. : Enthalpy of denaturation and surface functional properties of heated egg white proteins in the dry state, *J. Food Sci.*, **55**, 1280 (1990).

(2002년 10월 15일 접수)