

*Streptomyces mobaraensis*로부터 생산되는 transglutaminase 분리 및 모델식품 적용

유재수 · 신원선¹ · 전계택² · 김영수 · 정용섭*

전북대학교 응용생물공학부, ¹한국식품개발연구원, ²강원대학교 생명과학부

The Separation of Transglutaminase Produced from *Streptomyces mobaraensis* and Its Application on Model Food System

Jae-Soo Yoo, Weon-Sun Shin¹, Gie-Tack Chun², Young-Soo Kim and Yong-Seob Jeong*

Division of Biotechnology, Chonbuk National University

¹Korea Food Research Institute

²Division of Life Sciences, Kangwon National University

Transglutaminase (TG) was prepared from *Streptomyces mobaraensis* to improve texture and self-life of food. In preliminary experiments, texture of the dough was not improved due to the interference in microbial TG reaction by proteases present in the crude enzyme. Among the cation exchange resins tested for the removal of proteases, MonoPlus S 100 was the most efficient. Further purification steps with a quaternary ammonia salt resin and gel permeation chromatography effectively removed proteases from crude enzyme. Molecular weight of purified enzyme was about 38,000 on SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Farinograph data showed the addition of purified enzymes to wheat flour gave higher stability and lower weakness values those that of crude enzyme.

Key words: *Streptomyces mobaraensis*, transglutaminase, dough properties

서 론

Transglutaminase(TG, protein glutamine γ -glutamyltransferase, EC 2.3.2.13)는 glutaminyl 잔기의 γ -carboxamide group과 다양한 1차 아민 사이에 acyl transfer 반응을 촉매한다. 반응계에 아민이 존재하지 않으면 transglutaminase는 glutaminyl 잔기의 γ -carboxamide group의 가수분해를 촉매한다. lysyl 잔기의 ϵ -amino group이 기질로써 사용될 때 peptide chain은 ϵ -(γ -glutamyl)lysine 결합을 통해 이루어진다(Fig. 1). 이러한 transglutaminase(TG)의 가교형성은 단백질을 구조적으로 변형시키고 단백질 식품의 기능적인 특성(functional property)을 변화시킴으로써 다양한 물성의 변화를 일으킨다⁽¹⁾. Transglutaminase(TG)를 첨가함으로써 열에 의해 gel이 형성되지 않는 단백질을 gel화시킬 수 있으며, 높은 온도에서 녹을 수 있는 gel을 더 이상 녹지 않게 하며, 계면활성제나 변

성제에 의해 더 이상 용해되지 않게 할 수 있다⁽¹⁾. 이러한 특성들은 식품공정에서 실질적으로 다양하게 응용되고 있다. Transglutaminase(TG)는 다양한 동물의 조직, 어류, 미생물 등에서 발견되어지나⁽²⁾, 동물유래의 TG는 제한된 양과 분리, 정제의 어려움 때문에 상업적으로 이용하기엔 높은 비용이 문제가 되고 있다^(3,4). 미생물에서 생산된 transglutaminase는 동물에서 추출한 TG(칼슘의존효소)와는 다르게 칼슘 비의존성이며, 열에 비교적 안정하고, 작용 pH 범위도 넓은 특성을 가지고 있어 식품분야에 널리 응용 되고있다^(1,5). Kuraishi 등⁽⁶⁾은 microbial transglutaminase(mTGase)를 작은 육류조각에 첨가함으로써 탄성과 조직 그리고 맛이 향상됨을 보고하였고, Kumazawa 등⁽⁷⁾은 어류제품에서 mTGase 처리는 원료의 신선도 유지와 조직의 질이 향상됨을 보고하였다. 또한 Motoki 등⁽¹⁾은 유제품인 요거트에 mTGase를 첨가함으로써 물리적인 충동이나 온도의 변화에 따라 일어날 수 있는 내용물의 분리 현상을 막을 수 있음을 보고하였고, Sakamoto 등⁽⁸⁾은 국수와 pasta에 mTGase를 처리함으로써 조리 후 조직이 나뉘짐을 예방하고, 제품의 탄력이 향상됨을 보고하였다. 따라서 이러한 transglutaminase 가교결합의 응용은 식품의 물성과 저장성을 향상시키고 식품이 아닌 다른 제품들의 응용에도 큰 역할을 할 수 있으리라 기대되어진다.

*Corresponding author : Yong Seob Jeong, Division of Biotechnology, Chonbuk National University, Chonju, Chonbuk 561-756, Korea
 Tel: 82-63-270-2571
 Fax: 82-63-270-2572
 E-mail: ysjjeong@moak.chonbuk.ac.kr

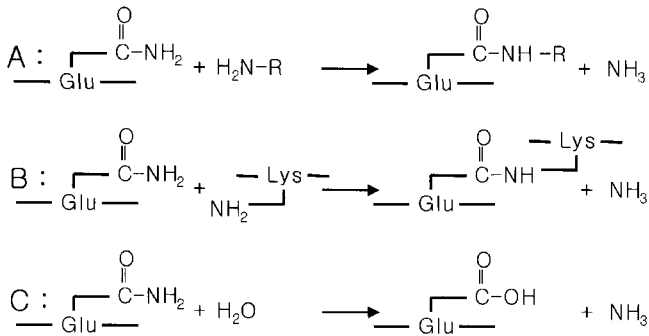


Fig. 1. Catalytic action of transglutaminase.

A: incorporation of a primary amine into γ -carboxyamide group of peptide-bound glutaminy residue; B: crosslinking through formation and ϵ -(γ -glutamyl)lysine between the γ -carboxyamide group and ϵ -amino group of peptide-bound lysyl residue; C: deamidation of the γ -carboxyamide group.

일반적으로 국내산 밀가루는 수입산 밀가루에 비해 단백질함량이 높으나 반죽 및 제면적성이 현격하게 떨어지는 것으로 보고되고 있다^(9,10). 국내산 밀가루의 반죽특성 및 제면적성을 개선하기 위하여 다양한 노력이 경주되어 왔으며, Seo 등⁽¹¹⁾은 국내산 밀가루인 그루밀에 시판되고 있는 transglutaminase를 첨가하였을 때, 반죽의 안정성과 제면적성이 향상되고 관능적으로 우수하게 평가된 것으로 보고했다.

본 연구에서는 *Streptomyces mobaraensis* 발효액으로부터 transglutaminase를 분리하여 모델식품계로 선정한 국내산 밀가루반죽에 첨가한 후 반죽형성 과정중의 물리적 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

균주

본 연구에 사용한 균주는 *Streptomyces mobaraensis* (ATCC 29032)이다. 포자형성을 위한 고체배지로써 Bacto agar를 사용하였으며, 30°C로 유지된 배양기에서 10일간 배양하였다. 포자수는 혈구계수기와 광학현미경을 사용해서 계수 하였다.

밀가루

본 실험에 사용한 밀가루는 전남 구례군에서 생산된 국내산 그루밀(Geurumil) 품종으로 우리밀 살리기 운동본부 산하 사업전문회사에서 구입하였다.

배지 및 배양조건

성장배지의 조성은 glucose 0.5%, proteose peptone 0.2%, MgSO₄ 0.1%, K₂HPO₄ 0.2%이며, 성장배지 80 mL에 Bacto agar 배지에서 취한 10⁸ 포자를 접종하여, pH 7.0, 온도 30°C와 교반속도 250 rpm에서 3일간 진탕 배양하였다. 발효를 위한 접종량은 5%(v/v)로 하였다. mTGase 생산을 위한 생산배지 조성은 soluble starch 5%, proteose peptone 2%, yeast extract 0.2%, NaH₂PO₄·2H₂O 0.1%, MgSO₄ 0.1%, PPG 0.05%이었고, pH는 2 N HCl 또는 2 N NaOH를 사용하여 7.0으로 조정하였다.

mTGase 활성측정

효소를 함유한 배양액을 일정량 취하여 원심분리한 후 상정액 0.1 mL를 0.5 M Tris buffer(pH 7.0)에 용해시킨 0.1 M CBZ-L-glutaminyglycine(Sigma) 0.2 mL, 1 M Hydroxylamine·HCl stock 0.05 mL, 0.02 M EDTA 0.05 mL와 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 15% TCA 0.1 mL, 0.1 N HCl에 용해시킨 5% FeCl₃ 0.15 mL, 2.5 N HCl 0.25 mL를 첨가하여 반응을 정지시키고 발색시켰다. 흡광도는 525 nm에서 측정하였다. 1 unit은 1분간 1 μ mol L-glutamic acid γ -mono hydroxamate가 생성되는 양으로 정하였다.

protease 활성측정

효소액 1 mL과 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해시킨 0.6% hammersten casein(Merck) 1 mL을 혼합하여 40°C에서 10분간 반응시킨 후 0.4 M TCA 2 mL, 0.4 M Na₂CO₃ 2.5 mL를 넣어 반응을 정지시켰다. 이 혼합액에 50% folin phenol reagent(Merck) 0.5 mL을 넣고 40°C에서 10분간 반응시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 1 unit은 1분간 1 μ g의 tyrosine이 생성되는 양으로 정하였다.

효소정제

발효된 배양액은 7,000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 상정액을 조효소액으로 사용하였다. 조효소액을 70% 암모늄설페이트로 포화시켜 원심 분리한 후, 침전물을 모아 염을 제거하였다. 25 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)로 충분히 세척된 MonoPlus S 100(Bayer, Germany)의 수지에 탈염 효소액을 넣고 4시간 동안 4°C에서 안정화하였다. MonoPlus S 100으로 처리한 상정액은 원심분리 후 IEX-Q Resin(Sigma, USA)에 적용하였다. 활성기가 quaternary ammonium salt로 이루어진 column(7.5 mm×7.5 cm)의 유속은 1 mL/min이었다. 10분간 25 mM sodium phosphate pH 7.0(buffer A) buffer로 흘려준 다음 10분에서 25분 동안 1 M NaCl이 첨가된 상기 완충용액(buffer B)으로 농도 경사를 하고 다시 10분간 buffer B로 흘려보냈다. 활성이 있는 부분은 모은 뒤 0.5 mL/min의 유속으로 gel filtration(Sigma, Sephadex G-25, column size 7.5 mm×30 cm)하여 다시 활성부위를 모아 실험에 사용하였다.

전기영동

SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacryamide gel electrophoresis)는 Laemmli 방법⁽¹²⁾에 따라 12%의 separating gel과 4% stacking gel을 사용하였다. 시료는 sample buffer에 단백질함량이 20 μ g이 되도록 넣고 5분간 끓인 후 사용하였다. 전기영동은 0.1% SDS를 함유한 Tris-glycine buffer에서 5 mA의 전류를 사용하여 3시간동안 실온에서 전개하였다. 전기영동 후 전개된 젤은 0.2% comassie brilliant blue R-250으로 염색하고 탈색은 distilled water : methanol : acetic acid의 혼합비가 6 : 3 : 1(v/v)이 되도록 섞은 후 이 혼합액으로 탈색하였다.

Farinogram 측정

반죽의 형성능력과 형성된 반죽의 물리적 성질은 AACC(54-

Table 1. Comparison of mTGase and protease ratio by using various resins

Resins	mTGase (U/mL)	Protease (U/mL)	ratio
Crude enzyme	0.796	0.74	1.07
Ambelite IRC-50	0.54	0.45	1.20
CM Sepharose	0.38	0.4	0.95
MDS 1368	0.5	0.386	1.30
Monoplus S 100	0.65	0.4	1.63

51)방법⁽¹³⁾에 따라 Farinograph(Brabender Co., Germany)를 이용하여 흡수율(커브의 중심선이 500 B.U. 선에 도달 했을 때 까지의 가수량, %), 안정도(그래프의 중심선이 500 B.U. 선을 처음 지나는 지점에서부터 중심선이 500 B.U. 선을 벗어나는 지점까지의 시간, 분), 연화도(peak time으로부터 12분 후의 커브의 높이와 500 B.U.와의 차이, B.U.)와 valorimeter를 이용한 전체 강력도(반죽시간동안의 안정도를 종합 평가한 값)를 조사하였다. 밀가루 300 g(14% 수분함량기준)을 사용하고 bowl의 온도는 30±0.2°C를 유지하도록 하였다. 밀가루를 1분 동안 1단으로 혼합하면서 일정량 효소(40 U)를 넣고 5분간 혼합한 후 커브의 중앙이 500 B.U.에 도달할 때까지 물의 양을 조절하였다.

결과 및 고찰

Microbial transglutaminase의 정제

S. mobaraensis 발효액을 원심분리하여 균체를 제거하고 암모늄설페이트로 염석시킨 조효소원액을 이온교환 수지와 겔 크로마토그래피를 이용하여 분리하였다. 예비실험결과, 조효소액을 일정액 밀가루반죽에 첨가하였을 경우 mTGase를 첨가하지 않은 실험군에 비해 밀가루반죽의 안정도가 현저히 떨어지는 결과를 보였다(Fig. 5(b) 참조). 따라서 조효소액중에 존재하는 protease로 인하여 밀가루 반죽의 물성 향상에 역효과를 보여주는 것으로 판단되어 정제과정에 따른 mTGase의 밀반죽 물성개선 효과를 조사하였다. 우선 이온교환수지

인 Amberlite IRC 50, CM Sepharose, MDS 1368과 MonoPlus S 100 등을 선택하여 조효소액을 처리한 후 protease와 mTGase의 상대적인 활성차이를 비교하였다(Table 1). 그 결과 양이온교환수지인 MonoPlus S 100을 처리하였을 경우 mTGase의 활성 잔존율은 81.7%, protease 활성 잔존율은 54.0%를 보여 mTGase와 protease의 잔존비율이 1.51이었다. 따라서 타 이온교환수지를 처리한 것에 비해 mTGase 분리에 가장 효과적인 것으로 판정되어 MonoPlus S 100수지를 사용하여 실험을 진행하였다. MonoPlus S 100 수지를 사용하여 모아진 효소는 IEX-Q(Sigma, USA) column을 이용하여 분리하였다. Fig. 2는 IEX-Q Chromatography를 이용하여 효소액의 용출결과를 나타낸 것으로 용출된 각 분획의 peak 부분을 모아 효소활성을 측정된 결과 첫번째 peak 분획에서 효소활성이 높게 측정되었다. IEX-Q Chromatography를 통하여 분획한 효소를 gel filtration(Sigma, column size 7.5 mm×30 cm) Chromatography로 용출한 결과를 Fig. 3에 제시하였다. 그 결과 2개의 peak로 분리되어 각각을 분획한 후 효소활성을 나타내는 분획을 mTGase 효소로 사용하였다. Table 2에 제시한 바와 같이 조효소액의 경우, protease에 대한 mTGase 비율은 1.06이었으나, 암모늄설페이트로 침전한 결과는 15.0, Monoplus S100 수지로 처리한 결과에서는 35배로 각각 증가하였다. 더욱이 IEX-Q Chromatography로 처리한 결과에서는 protease와 mTGase 활성 잔존비율이 115배 증가하였고, gel filtration 분획에서는 protease가 검출되지 않음을 알 수 있었다. 이 결과로부터 정제를 수행할수록 mTGase 수율은 감소되었지만, protease 활성은 현저하게 감소됨을 알 수 있었다. 따라서 식품첨가물 수준으로의 이용확대를 위하여 대규모로 효소정제를 수행할 경우 mTGase 수율은 높게 유지되면서 protease를 제거할 수 있는 수지개발이 필요할 것이다.

전기영동에 의한 분자량확인

각 단계에서 얻어진 효소는 단백질의 pattern과 분자량, 순도확인을 위해 SDS-PAGE(sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis)를 수행하여 Fig. 4에 나타냈다. 정

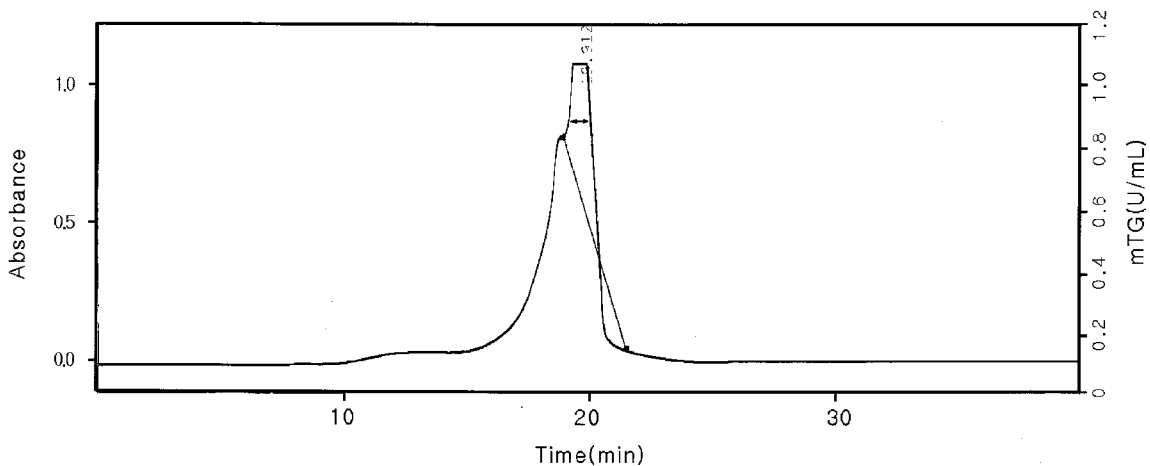


Fig. 2. Chromatogram of IEX-Q chromatography.
↔ indicates the fractions with mTGase activity.

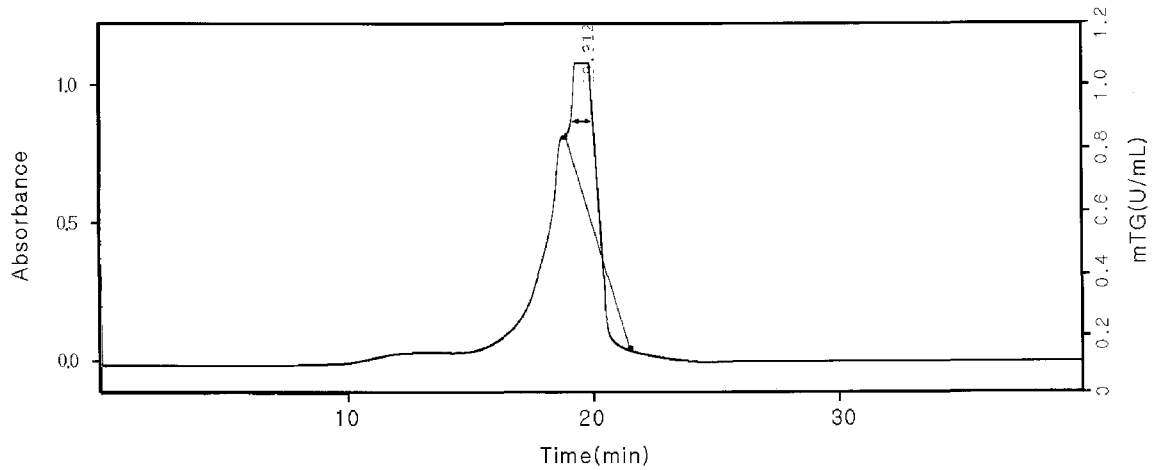


Fig. 3. Chromatogram of gel filtration chromatography.
 ↔ indicates the fractions with mTGase activity.

Table 2. Comparison of mTGase and protease activities during the purification steps

purification steps	mTGase total activity (U)	Protease total activity (U)	ratio	yield (%)
Crude enzyme	790	740	1.06	100
(NH ₄) ₂ SO ₄ 70%	474	30.08	15.76	60
Monoplus S100	308.1	8.34	36.9	39
IEX-Q (HPLC)	87.6	0.72	122.2	11.1
Gel filtration (HPLC)	79.7	-	∞	10.1

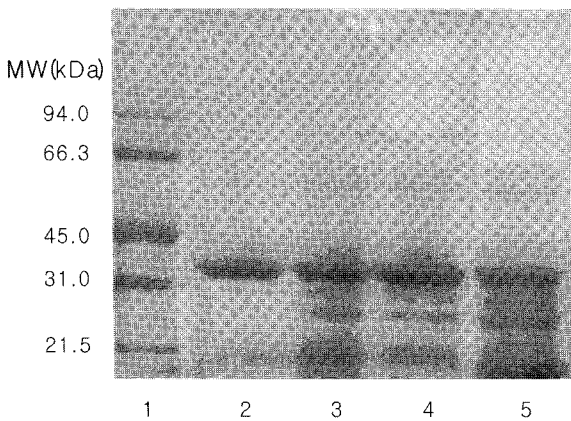


Fig. 4. SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis patterns after different purification steps.

Lane 1; molecular weight marker, Lane 2; sample after gel filtration, Lane 3; sample after ion exchange chromatography, Lane 4; sample after ammonium sulfate precipitation, Lane 5; culture fluid after centrifugation and filtration.

제를 할수록 저분자들은 제거되었고, gel filtration에서는 단일 밴드를 얻을 수 있었다. 본 균주에 의해 생산되는 transglutaminase 분자량은 약 38,000으로 계산되었다. 동물에서 얻어진 TG의 경우 분자량은 약 76,000~80,000 정도로 보고되었으며⁽¹⁴⁾, 미생물 유래 TG의 경우 *Streptovercillium sp.*의 하나인 S-8112로부터 생산되는 mTGase의 분자량은 40,000, *Streptovercillium ladakanum*에서 생산되는 mTGase는 37,500으로 알려졌다^(4,14). 또한 Kanaji 등⁽¹⁵⁾은 아미노산분석을 통해 *Streptovercillium sp.*인 S-8112에서 생산되는 mTGase 분자량

을 37,869라고 밝혔다. 본 연구에 사용된 *Streptomyces morbaroensis*의 경우 이전의 보고들과 일치하는 분자량을 지니고 있으며, SDS-PAGE상에서 단일 밴드로 나타나 정제도가 높음을 알 수 있었다.

정제효소를 이용한 밀가루 반죽특성 비교

밀가루(300 g)에 정제된 효소 일정량(40 U)을 첨가하여 반죽했을 때 측정된 farinogram 특성을 Table 3과 Fig. 5에 나타냈다. 밀가루의 점도가 500 B.U.에 도달하는데 요하는 수분함량, 즉, 흡수율은 대조구가 60.6%이었고 mTGase를 적용했을 때의 수분함량은 대조구와 같거나 다소 낮은 값을 나타냈다. Gerrard 등⁽¹⁶⁾은 원인은 명확하지 않으나 mTGase를 첨가함으로써 cross linking에 의한 gluten 단백질의 구조적 변화가 water holding capacity를 증가시킨다고 보고하였다.

반죽의 형성시간은 대조구의 경우 3.8분이었고 조효소, 암모늄설페이트침전, Monoplus S100 수지를 이용한 효소는 각각 3.5, 4.0, 3.5분으로 비슷한 값을 나타냈다. 밀가루 반죽에 대한 저항성의 지표가 되는 안정도는 대조구가 4분이었고, 조효소는 대조구보다 짧은 3.5분이었으며, 암모늄설페이트 침전은 4.3분, Monoplus S100 수지를 이용한 효소는 4.5분으로 대조구보다 0.5분 증가하였다. 이 결과로부터 조효소 형태로 첨가한 경우 효소액중에 존재하는 protease로 인하여 반죽형성이 저해되어 대조구보다 안정도가 낮고, 정제가 진행될수록 protease 함량이 감소되어 안정도가 향상되는 것으로 판단되었다. 반죽의 약화도는 안정도와 관계가 있으며 안정도가 좋은 밀가루 일수록 낮은 약화도를 나타낸다⁽¹⁷⁾. 대조구에서 반죽의 약화도는 40 B.U.로 측정되었고, 조효소 첨가군은 60 B.U.로 측정되어 반죽의 분해율이 증가되는 것을 알 수

Table 3. Farinograph data for wheat flour by addition of mTGase obtained by different methods

Sample	Water absorption (%)	Peak time (min)	Stability (min)	Weakness (B.U.)	Valorimeter value
Wheat flour	60.6	3.75	4	40	52
Crude enzyme	60	3.5	3.5	60	48
(NH ₄) ₂ SO ₄ 70%	59.9	4.0	4.3	40	53
Monoplus S100	59.8	3.5	4.5	45	53

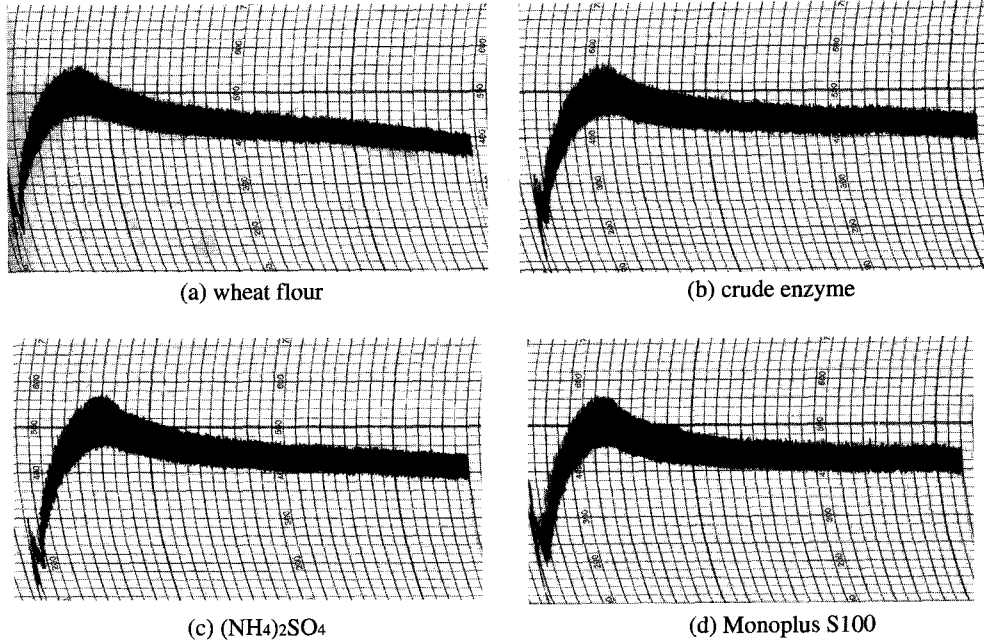


Fig. 5. Farinograms of wheat flour dough applied with purified enzyme, which is obtained by several methods.

있었다. 또한 암모늄설페이트 침전, 이온교환수지에 의한 반죽의 약화도는 대조구보다 감소됨으로써 반죽의 전반적인 특성이 향상됨을 알 수 있었다. 밀가루 품질을 평가할 수 있는 valorimeter 값은 전체적인 강력도를 나타내는 하나의 값으로써 반죽시간과 반죽에 대한 저항성을 기초로 하여 유도되는 값이다. 일반적으로 강력분은 70 정도이며 박력분은 30이하의 값을 가지게 된다. 본 실험에 사용된 밀가루반죽의 valorimeter 값은 52로 측정되었고, 조효소 첨가군의 경우 48, 암모늄설페이트 침전과 이온교환수지에 의한 효소의 경우 53을 나타내어 조효소 첨가군에서 valorimeter 값이 감소했으나 정제도가 향상된 효소를 첨가한 군에서는 중력분과 유사한 반죽형성능력을 가지는 것으로 판단되었다.

요 약

본 연구에서는 수율과 protease 제거정도 그리고 분리정제 비용을 고려하여 암모늄 설페이트 침전과 Monoplus S100 수지로 처리한 효소를 밀가루에 적용하여 반죽 형성 시 물리적 특성개선 효과를 조사하였다. 암모늄설페이트 침전, 이온교환수지, 겔 크로마토그래피를 통한 정제된 효소의 분자량은 SDS-PAGE상에서 38,000으로 판정되었고 단일밴드로 나타나 정제도가 높음을 알 수 있었다. Farinograph를 이용하여 측정된 밀가루 반죽의 특성변화에서 저항성의 지표가 되는 안정도는 대조구가 4분, 조효소는 대조구보다 짧은 3.5분, 정

제된 효소는 대조구보다 길게 측정되었다. 반죽의 약화도는 조효소의 경우 대조구보다 높게 측정되었고, 정제된 효소의 경우 대조구보다 낮은 값을 나타냈다. 이 결과로부터 조효소의 경우 protease 존재로 인하여 반죽의 분해가 진행됨을 알 수 있었고, 정제된 효소 첨가로 인하여 물성이 향상됨을 알 수 있었다. 대조군 밀가루 반죽의 valorimeter 값은 52로 측정되었고, 정제된 효소첨가에 의해 증가되었다. *S. mobaraensis*가 분비하는 transglutaminase의 정제단계를 조절하고 최적화시킬 경우 국내산 밀가루의 반죽특성의 효과를 기대할 수 있다고 판단된다.

문 헌

1. Motoki, M. and Seguro, K. Transglutaminase and its use for food processing. Food Sci. Technol. 9: 204-210 (1998)
2. Folk, J.E. Transglutaminase. Annu. Rev. Biochem. 49: 517-531 (1980)
3. Yasueda, H., Kumazawa, Y. and Motoki, M. Purification and characterization of a tissue-type transglutaminase from red sea bream (*Pagrus Major*). Biosci. Biotechnol. Biochem. 58: 2041-2045 (1994)
4. Iceson, I. and Apelbaum, A. Evidence for transglutaminase activity in plant tissue. Plant Physiol. 84: 972-974 (1987)
5. Soeta, K. A. Study of new protein ingredient by transglutaminase. Shouhing Kougok 12: 18-25 (1997)
6. Kuraishi, C., Sakamoto, J. and Soeda, T. The usefulness of transglutaminase for food processing, pp. 29-38. In: Biotechnology for

- Improved Foods and Flavors. Kuraishi, C. and Soeda, T. (eds.) American Chemical Society, Washington, DC, USA (1996)
7. Kumazawa, Y., Sakamoto, H., Kawajiri, H. and Motoki, M. Determination of ϵ -(γ -glutamyl)lysine in several fish eggs and muscle proteins. *Fish. Sci.* 62: 331-332 (1995)
 8. Sakamoto, H., Yamazaki, K., Kaga, C., Yamamoto, Y., Ito, R. and Kurosawa, Y. Strength enhancement by addition of microbial transglutaminase during chinese noodle processing. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* 43: 598-602 (1996)
 9. Koh, B.K. Comparison of protein characteristics of Korean and imported wheat varieties. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 586-592 (1999).
 10. Lee, Y.S., Song, J.C., Park, N.K., Chung, W.K., Nam, J.H. and Chang, H.G. Comparison of noodle related characteristics of domestic and imported wheat. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 44-50 (1997).
 11. Seo, H.S., Shin, W.S., Yoon, S. and Lee, S.J. Effect of microbial transglutaminase of physical and textural properties of noodles made with Korean wheat flour (*Geurumil*). *Food Sci. Biotechnol.* 12: 1-8 (2003)
 12. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685 (1970)
 13. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA (1983)
 14. Tsai, G. and Lin, J. Transglutaminase from *Streptovercillium ladakanum* and application to minced fish product. *J. Food Sci.* 61: 1234-1238 (1996)
 15. Kanaji, T., Ozaki, H., Takao, T., Kawajiri, H., Ide, H., Motoki, M. and Shimonishi, Y. Primary structure of microbial transglutaminase from *Streptovercillium* sp. Strain S-8112. *J. Biol. Chem.* 268: 11565-11572 (1993)
 16. Gerrard, J. A., Fayle, S. E., Wilson, A.J., Newberry, M. P., Ross, M. and Kavale, S. Dough properties and crumb strength of white pan bread as affected by microbial transglutaminase. *J. Food Sci.* 60: 472-475 (1998)
 17. Kim, S.K., Kim, H.R. and Bang, J.B. Effect of alkaline reagent on the rheological properties of wheat flour and noodle property. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 58-65 (1996)

(2003년 3월 11일 접수; 2003년 4월 1일 채택)