

치즈 및 된장에서의 쓴 맛 펩타이드 특성

金壽鎬 · 李炯周

서울대학교 식품공학과

Characteristics of Bitter Peptides from a Cheese and a Soybean Paste

Soo-Ho Kim and Hyong-Joo Lee

Department of Food Science and Technology,
Seoul National University, Suwon

Abstract

To characterize bitter peptides in fermented protein foods, peptides were extracted with 2:1 (v/v) chloroform-methanol from various samples and separated into fractions I, II, and III by Sephadex G-25 gel chromatography. Amino acid compositions of Mozzarella cheese, soybean paste, and each fraction from the two samples were analyzed to calculate the average hydrophobicity. All the solvent extracts of the food samples had strong bitter taste, although the original samples did not taste bitter. The yield of solvent extraction ranged from 0.08 to 62.50% of total nitrogen of food samples. The average hydrophobicity calculated from the amino acid composition of Mozzarella cheese was 1376 cal/mole, solvent extract 1,623 cal/mole, gel chromatography fraction I, 1,797 cal/mole, fraction II, 2,454 cal/mole, and fraction III, 1,559 cal/mole. In the case of soybean paste, the average hydrophobicity of original sample, solvent extract, gel chromatography fraction I, II, and III were 1,229, 1,654, 1,900, 998 cal/mole, respectively. The important amino acids in bitter peptides were leucine, 2016, phenylalanine, proline, and valine.

서론

모든 발효식품은 그 발효과정 중에 단백질이 분해되어 여러 분자량의 펩타이드가 생성되며 이들은 다시 분해되어 아미노산이나 아미노산 분해물을 형성하고 이들은 모두 발효식품의 풍미에 직접 또는 간접으로 관여하게 된다. 이 중 펩타이드의 일부는 분자량과 아미노산 조성에 따라 쓴맛을 나타내게 되는데 이들 쓴맛 펩타이드는 풍미가 특히 중요시 되는 발효식품에서 풍미저하를 가져오는 중요한 요소가 될 수 있다. 또한 일부 양질의 단백질들이 동물 사료로만 쓰이거나⁽¹⁾ 단백질 가수 분해물을 이용한 고단백식품과 환자용 식품 개발이 어려운 이유 중 하나는 펩타이드군에 의한 쓴맛이 문제 될 수 있기 때문이다.⁽²⁾

어떤 제품이 쓴맛 펩타이드군에 의해 쓴맛을 느끼게 하는 이유는 미뢰에 의한 쓴맛 자체의 감지과정이 완전히 밝혀지지 않아⁽³⁾ 정확한 기작은 알 수 없으나 다른 성분들에 의한 상쇄효과를 넘는 양이 축적되었을 때로 알

려져 있다.⁽⁴⁻⁶⁾ 이것은 쓴맛 펩타이드군의 생성속도가 분해속도보다 클 때 이루어지므로^(4,5) 쓴맛 펩타이드가 많이 만들어 질 수 있는 단백질과^(3,7-9) 그 단백질을 쓴맛 펩타이드로 쉽게 분해시킬 수 있는 효소 역가가 클 때 나타나게 된다.

쓴맛 펩타이드군의 형성 기작에 대하여는 주로 치즈에 대해 연구되었는데 이들은 세 가지로 요약해 볼 수 있다. 첫째는 Czulak의 제안으로서^(8,10,11) 그에 의하면 쓴맛 펩타이드군은 주로 레닛에 의해 케이션이 분해될 때 생성되는데 유산균 중 "non-bitter" streptococci는 이 펩타이드군을 분해해 쓴 맛을 없애지만 "bitter" strain은 이들을 분해하지 못해 쓴 맛을 낸다는 것이다. 그 후 이 가설은 몇 사람들에게 의해서도 지지를 받았으나^(8,9,11) 이 기작에 의해서 설명되지 못하는 예가 있다. 둘째 가설은 Gordon과 Speck에 의해서 제안된 것으로^(8,11) 쓴맛 펩타이드군은 레닛이 아니라 유산균에 의해서 생성된다고 하는 것이다. 즉 이들에 의하면 케이션이 레닛에 의해 분해될 때 생성되는 펩타이드는 고분자

량으로서 쓰지 않으며 이들 펩타이드가 다시 유산균의 단백질분해효소에 의해 분해될 때 일부가 쓴맛 펩타이드로 된다는 것이다. 따라서 케이션을 레닛없이 bitter strain만으로 처리해도 쓴 맛이 생길 수 있으며 bitter strain이라는 것은 단백질분해 역가가 높은 균이라는 것이다. 세번째 가설은 Lowrie 등에 의한 것⁽¹¹⁾으로 쓴맛 펩타이드균이 유산균에 의해 생성되기는 하나 strain은 별로 중요한 역할을 하지 않는다는 것이다. 즉 bitter나 non-bitter 등 어떤 strain이건 발효 조건에 의해 생육이 왕성하게 되면 단백질분해가 잘 일어나 그만큼 쓴맛 펩타이드균의 생성이 촉진된다는 것이다. 이같은 사실은 몇 가지 실험결과에서 잘 나타나고 있다.⁽¹¹⁾ 이상의 몇 가지 가설을 종합적으로 살펴보면 쓴맛 펩타이드를 형성하는 데 관여하는 모든 조건, 즉 모든 단백질분해효소, 이들 효소를 생산하는 균주, 이들 균주 생육에 영향을 주는 가공조건등이 쓴맛 펩타이드 형성에 작용한다고 볼 수 있다.

쓴맛 펩타이드의 분리나 분석에 대하여는 여러 방법이 보고되었는데^(1, 2, 4, 6, 12-23) 대개 관능검사를 병행하고 있다. 쓴맛 펩타이드의 크기는 구성 아미노산이 2개로 된 것에서부터^(6, 7) 케이션 분자가 한 번, 또는 두 번 끊어져서 된 것⁽¹⁾ 등 크기가 상당히 다르나 대체로 2~30 개이며, 분자량은 200~3,000 가량 된다.⁽⁴⁾ 쓴맛 펩타이드의 정의에 대하여는 여러 요인에 의해 모든 사람의 것이 일치되지는 않으나 구성 아미노산중에 소수성 아미노산의 함량이 많다는 것에는 대부분 의견의 일치를 보이고 있다.^(1, 2, 7, 12) 쓴맛 펩타이드 분석 방법으로는 추출용매로서 secondary butyl alcohol,⁽¹⁾ cyclodextrin,⁽¹⁾ chloroform-methanol 2:1 (v/v)^(14, 20, 21, 23)을 사용하는 예가 보고되었고, 크로마토그래피로는 hexyl Sepharose, Phenol-formaldehyde resin과 같이 소수성을 이용하는 것,⁽²⁾ 특히 항체를 이용한 immunoabsorbent affinity chromatography,⁽²²⁾ silica gel,^(12, 23) Sephadex^(12, 17, 20, 21) 등의 방법이 이용되었다.

본 실험에서는 발효 유제품, 발효 대두제품, 젓갈류 등 단백질발효식품으로부터 유기용매를 사용하여 쓴맛 펩타이드균을 분리하고 이 중 치즈와 된장으로부터의 펩타이드는 크로마토그래피와 아미노산 분석등을 통해 그 특성을 실험하였으므로 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 및 시약

시료로 사용한 단백질분해 식품중 된장과 간장은 서울대학교 식품공학과에서 *Aspergillus oryzae* 를 이용하여

콩과 보리로 제조한 것으로 각각 3 4개월 숙성된 것이며, 모짜렐라치즈, 자연치즈, 새우젓, 바지락젓, 요구르트: 3종(요구르트 1, 2), 바나나향우유 1종, 쌀막걸리는 시중에서 구입한 것으로 모든 시료는 구입후 바로 냉동건조하였다.

각종 시약은 G.R. 또는 E.P. 등급의 것을 정제없이 사용하였다.

시료의 냉동 건조

된장, 치즈, 젓갈류등 고체 시료는 냉동건조하기 전에 분쇄기나 유발로 분쇄하였고 이들 분쇄된 고체 시료와 액체 시료는 3일간 냉동건조한 다음, 된장은 실험실용 분쇄기로 분쇄하여 20mesh 통과한 것을, 나머지 원료는 유발로 갈아, 데시케이터에 보관하면서 일반 성분 및 용매 추출 시료로 사용하였다.

일반 성분의 분석

수분은 진공오븐에서의 건조방법⁽²⁵⁾으로, 조단백질은 마이크로켈달법⁽²⁵⁾으로, 조지방은 Roesse-Gottlieb 법⁽²⁵⁾으로, 회분은 회화법⁽²⁵⁾으로, 탄수화물은 100에서 위 네성분을 빼서 구하였다. 질소계수는 된장과 간장은 5.71, 치즈 요구르트 우유는 6.38, 새우젓 바지락젓은 6.25, 막걸리는 5.95를 사용하였다.⁽²⁶⁾

쓴맛 펩타이드 "용매추출 분획"의 추출

쓴맛 펩타이드균의 추출과정은 그림 1과 같다. 1,000 ml 메스실린더에 냉동건조한 시료를 넣고 2:1 (v/v) chloroform-methanol을 시료무게의 10배 용량을 넣은 후 균질기로 5분간 중속으로 균질화하고 다시 고속으로 10분간 혼합한 다음, 여과지(Whatman No. 42, 이하 동일)와 부흐너 깔대기를 사용하여 120mm Hg로 감압여과하였다. 남은 잔사에는 2:1 (v/v) chloroform-methanol을 최초 시료무게의 5배 용량을 넣은 후 추출을 2회 더하여 먼저 여액과 합했다. 최종잔사는 10배 용량의 증류수로 1분간 균질화한 후 진공농축기로 용매를 제거한 다음 증류수를 1배 용량 넣고 감압여과하여 잔사와 여액을 맛검사 하였는데 쓴 맛이 없어서 더 이상의 처리는 하지 않았다. 추출여액은 진공농축기로 60°C 이하에서 감압건조시킨 후 최초 시료무게의 25배 용량의 8:4:3 (v/v/v) chloroform-methanol-water로 분액여두에 옮기고, 5분간 세게 흔든 후 꼭크를 단단히 하여 하룻밤 정지하였다. 아래층인 chloroform층은 주로 지질층으로 쓴맛이 거의 없어 더 이상의 처리는 하지 않았다. 이중 계면과 상층을 정지여과하였으며 상층 조성인⁽²⁷⁾ 3:48:47 (v/v/v) chloroform-methanol-w-

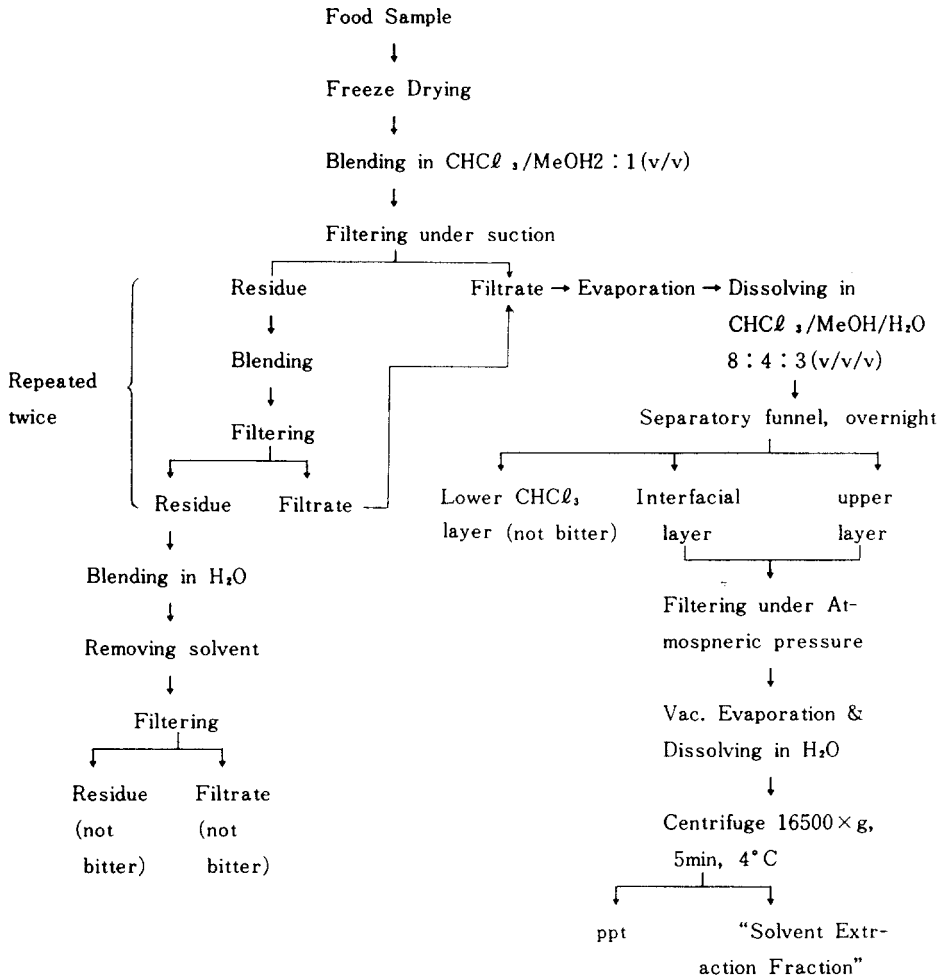


Fig. 1. Procedure used to extract bitter peptides from food samples

ater 30ml를 사용하여 분액여두를 세척여과하여 합하였다. 이를 다시 감압건조한 후 증류수 일정부피에 용해한 다음 4°C에서 16,500×g로 5분간 원심분리하여 상등액을 쓴맛 펩타이드의 “용매추출 분획”이라 칭하였다.

겔 크로마토그래피에 의한 펩타이드군의 분리

겔 크로마토그래피의 겔로는 Sephadex G-25를, buffer는 0.02M sodium phosphate buffer (pH 7.0)를 사용하였고 용출분획중 펩타이드의 양은 280mm에서의 흡광도를 측정함으로써 분석하였다.²⁰⁾

쓴 맛 검사

쓴 맛 검사는 3명의 선발된 검사원이 실시하였다.

펩타이드군의 아미노산 조성분석 및 평균소수도 계산
아미노산 분석은 아미노산 자동분석기(Hitachi, Model KLA-5)를 사용하여 110°C 24시간 6N-염산 가수분해법으로 하였으며 특히 cysteine과 methionine을 위하여 performic acid 산화법을 사용하였다.

아미노산의 소수도는 Tanford의 데이터를 사용하였으며 이 중에 histidine에 대한 데이터는 없으므로 Nozaki와 Tanford의 것을 사용하였다.²¹⁾ Cystine의 소수도는 알려진 것이 없어 계산에서 제외하였다. 평균소수도의 계산은 Bigelow와 Ney에 의해 제안된 식을²²⁾ 사용하되 아래와 같이 약간 변형하였다.

$$Q = \frac{\sum \Delta F_t \cdot n'}{100} \text{ (cal} \cdot \text{mole}^{-1}\text{)}$$

Q : average hydrophobicity

Table 1. Composition of freeze-dried samples

Samples	Moisture	Crude protein	Crude fat	Carbohydrate	Ash
			(% w / w)		
Mozzarella cheese	1.26	39.30	50.78	4.67	3.99
"Natural" cheese	1.28	42.11	43.72	4.15	8.74
Soybean paste	7.76	20.92	9.19	40.68	21.45
Soy sauce	3.96	8.37	1.38	11.86	74.43
Shrimp sauce	1.39	22.90	3.89	0.75	71.07
Clam sauce	2.60	23.82	3.07	12.72	57.79
Yogurt 1	0.81	2.43	0.83	94.27	1.66
Yogurt 2	5.34	2.62	1.76	88.78	1.50
Flavored milk	3.99	15.71	22.36	54.44	3.50
Mackuli	5.97	34.87	3.13	53.45	2.58

결과 및 고찰

ΔFt : transfer free energy of an amino acid
from an aqueous solution (at a certain
concentration) to an ethanolic solution
(at the same concentration)
 n' : mole % of each amino acid

시료의 일반조성

냉동 건조한 시료의 일반 조성은 표 1과 같다. 수분 함량은 시료에 따라 차이가 있어 0.81~7.76%의 범위를 나타내었고 펩타이드가 포함된 "조단백" 함량은 요구르트 1의 2.43에서 "자연"치즈의 42.11%로 큰 차

Table 2. Average hydrophobicity of each peptide fraction from Mozzarella cheese

amino acid	hydrophobicity ΔFt (cal/mole)	Mozzarella cheese itself		Solvent extraction fraction f		Fraction I		Fraction II		Fraction III	
		mole %	hydrophobicity	mole %	hydrophobicity	mole %	hydrophobicity	mole %	hydrophobicity	mole %	hydrophobicity
Ile	2,970	5.85	174	5.37	159	3.45	102	0.22	7	2.32	69
Tyr	2,870	3.77	108	1.41	40	9.89	284	5.04	145	0.43	12
Ph e	2,650	3.93	104	8.47	224	9.78	259	78.40	2,078	0.30	8
Pr o	2,600	8.74	227	2.80	73	7.20	187	2.34	61	29.80	775
Leu	2,420	10.19	247	25.90	627	22.86	553	3.43	83	14.20	344
Val	1,690	6.67	113	13.27	224	8.03	136	1.10	19	4.98	84
Lys	1,500	7.30	110	5.78	87	8.21	123	0.50	8	5.55	83
Met	1,300	6.11	79	1.17	15	1.42	18	1.69	22	6.83	89
Ala	730	3.03	22	3.60	26	4.14	30	0.49	4	3.19	23
Arg	730	1.94	14	2.32	17	1.12	8	0.30	2	0.12	1
His	500	2.49	12	2.74	14	3.73	19	0.02	0	0.45	2
Glu	550	21.15	116	15.19	84	9.76	54	3.05	17	4.66	26
Asp	540	5.84	32	3.45	19	2.87	15	1.09	6	4.90	26
Thr	440	3.59	16	2.6	13	2.05	9	0.39	2	2.95	13
Ser	40	5.45	2	1.41	1	1.08	0	0.62	0	10.04	4
Gly	0	3.94	0	4.26	0	4.39	0	1.32	0	9.27	0
Sum		1,376		1,623		1,797		2,454		1,559	

Table 3. Average hydrophobicity of each peptide fraction from soybean paste

amino acid	hydrophobicity ΔF_t (cal/mole)	Soyben paste itself		Solvent extraction fraction		Fraction I		Fraction II		Fraction III	
		mole %	hydrophobicity	mole %	hydrophobicity	mole %	hydrophobicity	mole %	hydrophobicity	mole %	hydrophobicity
Ile	2,970	4.74	141	5.26	155	15.69	466	3.39	101	3.62	108
Tyr	2,870	2.46	71	1.29	37	0.18	5	6.14	176	0.25	7
Phe	2,650	3.85	102	8.56	227	3.02	80	46.37	1,229	7.22	191
Pro	2,600	8.60	224	10.75	280	12.34	321	7.34	191	1.71	44
Leu	2,420	6.91	167	21.57	522	27.48	665	5.87	142	5.92	143
Val	1,690	5.48	93	10.90	184	10.69	181	4.26	72	12.63	213
Lys	1,500	7.47	112	1.33	20	1.07	16	0.99	15	7.15	107
Met	1,300	3.41	44	3.07	40	1.62	21	0.32	4	0.00	0
Ala	730	6.03	44	5.33	39	4.78	35	3.15	23	5.92	43
Arg	730	7.67	56	0.75	5	1.29	9	0.50	4	0.31	2
His	500	3.46	17	0.63	3	0.45	2	0.05	0	0.66	3
Glu	550	17.37	96	22.93	126	14.78	81	8.02	44	13.24	73
Asp	540	9.13	49	1.13	6	1.36	7	1.95	11	8.20	44
Thr	440	2.67	12	1.82	8	2.25	10	0.79	3	3.23	15
Sgr	40	3.28	1	1.28	1	1.30	1	2.59	1	11.47	5
Gly	0	7.47	0.	3.41	0	1.71	0	8.28	0	18.36	0

이를 나타내고 있었다. 된장, 간장, 젓갈류의 “회분” 함량이 높은 것은 많이 함유된 소금 때문으로 생각된다.

용매 추출 펩타이드군

위의 열 가지 시료에서 2:1(v/v) chloroform-methanol을 이용하여 펩타이드를 추출하여 전체 질소물에 대한 %로 나타낸 결과는 막걸리의 0.08%에서부터 간장의 62.50%까지 넓은 범위의 추출율을 보이고 있으며 젓갈류와 장류가 13% 이상의 높은 수율을 나타내는 것은 그만큼 단백질 발효가 많이 일어났음을 뜻한다고 하겠다. 냉동건조된 시료들은 쓴 맛이 거의 나지 않았으나 용매추출 분획은 모두 쓴 맛이 나타났다.

겔 크로마토그래피에 의한 펩타이드 분획

용매추출 분획에 포함된 펩타이드를 분자량 별로 나누기 위해 모짜렐라 치즈와 된장에 대해서 Sephadex G-25 크로마토그래피를 실시하였다. 용매추출 분획에는 유리 아미노산도 포함되어 있으므로 이들의 tryptophan과 tyrosine의 혼합액을 통과시켰을 때 elution volume은 약 270ml로 나타났으며 겔 컬럼의 void volume은

60ml로 나타났다. 이들의 겔 크로마토그램의 모양은 비슷하였는데 대략 3개의 분획으로 나뉘질 수 있어 이를 각각 분획 I, II, III이라고 구분하였다. 이 중 분획 III은 tryptophan-tyrosine 혼합용액의 elution volume과 같게 나타나 펩타이드가 아닌 유리 아미노산의 것으로 추정되었다. 분획 II는 두 경우 모두 뚜렷이 구분되었으나 분획 I은 모양이 일정하지 않았으며 비교적 분자량이 큰 펩타이드들로 생각되었다.

펩타이드군의 아미노산 조성 및 평균 소수도

모짜렐라치즈와 된장에서 얻어진 용매추출 분획을 다시 겔 크로마토그래피에 의해 분리한 후 이때 얻어진 각각 3개의 분획에 대해 아미노산 조성을 분석하고 평균소수도를 계산한 결과는 표 2와 3에 각각 나타났다. 1,400cal/mole 이상의 평균소수도를 갖는 모든 펩타이드는 쓰고 1,300cal/mole 이하의 평균소수도를 갖는 모든 펩타이드는 쓰지 않는다는 Ney's rule에 비추어 보면 모짜렐라치즈와 된장 자체는 각각 1,376cal/mole, 1,229cal/mole로 쓰지 않은 평균소수도를 나타냈으나 용매추출후는 각각 1,623cal/mole, 1,654cal/mole로 상당한 쓴 맛의 평균소수도를 나타냈다. 다시 겔 크로

마토그래피를 하여 분획 I, II, III으로 나누었을 때 모차렐라치즈의 경우 고분자량에 해당하는 분획 I에서는 1,797cal/mole, 저분자량에 해당하는 분획 II에서는 2,454cal/mole, 유리 아미노산에 해당하는 분획 III에서는 1,559cal/mole로 나타났다. 세 개의 분획중 분획 II가 진정한 쓴 맛을 가지는 크기의 펩타이드들로 평균소수도가 높음은 쓴맛 펩타이드가 분획 II에 주로 이행되어 있음을 나타내며 분획 III은 쓴 맛의 평균소수도를 가지나 유리 아미노산 상태로 실제로는 식품중에서 쓴 맛에는 크게 기여하지 못할 것으로 생각된다.⁴⁾

된장은 고분자량에 해당하는 분획 I에서는 1,900cal/mole, 저분자량에 해당하는 분획 II에서는 2,016cal/mole, 유리 아미노산에 해당하는 분획 III은 998cal/mole로 나타났다. 전체 소수도에 가장 크게 기여하는 아미노산은 표 2 과 3에 보인 바와 같이 leucine, phenylalanine, proline, valine들로 이 결과는 쓴맛 펩타이드에 valine, leucine, isoleucine, proline, tyrosine, phenylalanine과 같은 소수성 아미노산의 함량이 높다는 이제까지의 보고와^{1), 2), 7), 19)} 잘 일치하고 있다.

요 약

단백발효식품에서의 쓴맛 펩타이드의 특성을 규명하기 위하여 여러 시료로부터 소수성 펩타이드를 2:1(v/v) chloroform-methanol로 추출하였다. 이 중 모차렐라치즈와 된장으로부터 얻은 쓴맛 펩타이드 추출물을 다시 Sephadex G-25 겔 크로마토그래피한 결과 분획 I, II, III을 얻었는데 이들 시료 자체와 각각의 크로마토그래피 분획을 구성하고 있는 펩타이드의 아미노산 조성을 분석하여 평균소수도를 계산하였다. 시료들 자체는 쓴 맛을 나타내지 않았으나 용매로 추출된 소수성 펩타이드 분획은 강한 쓴 맛을 나타내었다. 시료의 용매추출 수율은 총 질소 함량의 0.08내지 62.50%의 범위로 나타났다. 모차렐라치즈 질소물의 평균 소수도는 1,376cal/mole, 용매추출 분획은 1,623cal/mole, 겔 크로마토그래피 분획 I은 1,797cal/mole, 분획 II는 2,454cal/mole, 분획 III은 1,559cal/mole이었다. 된장의 경우 된장 자체, 용매추출 분획, 겔 크로마토그래피 분획 I, II, III의 평균소수도는 각각 1,229, 1,654, 1900, 2016, 998cal/mole이었다. 쓴맛 펩타이드에서 중요한 아미노산을 leucine, phenylalanine, proline, valine으로 나타났다.

문 헌

1. Lalasidis, G. and Sjöberg, L. B. : *J. Agr. Food Chem.*, **26**, 742 (1978)
2. Roland, J. F., Mattis, D. L., Kiang, S. and Alm, W. L. : *J. Food Sci.*, **43**, 1491 (1978)
3. Jago, G. R. : *The Australian J. of Dairy Tech.*, **29**, 94 (1974)
4. Emmons, D. B., McGugan, W. A. and Eliott, J. A. : *J. Dairy Sci.*, **45**, 595 (1962) ili Ili J
5. Lawrence, R. C., Thomas, T. D. and Terzaghi, B. E. : *J. Dairy Res.*, **43**, 141 (1976)
6. Fuji maki, M., Yamashita, M., Okazawa, Y. and Arai, S. : *J. Food Sci.*, **35**, 215 (1970)
7. Guigoz, Y. and Solms, J. : *Chem. Senses Flavor*, **2**, 71 (1976)
8. Sandine, W. E., Daly, C., Elliker, P. R. and Vedamuthu, E. R. : *J. Dairy Sci.*, **55**, 1031 (1972)
9. Exterkate, F. A. and Stadhouders, J. : *Netherlands Milk and Dairy J.*, **25**, 240 (1971)
10. Schormüller, J. : *Adv. Food Res.*, **16**, 231 (1968)
11. Lowrie, R. J., Lawrence, R. C. and Pearce, L. E. : *New Zealand J. Dairy Sci. and Tech.*, **7**, 44 (1972)
12. Edwards, J. and Kosikowski, F. V. : *J. Dairy Sci.*, **66**, 727 (1983)
13. Buzov, I. P., Zvyagintsev, V. I. : *FSTA*, **9** 10 p. 1564 (1977)
14. Clegg, K. M., Lim, C. L. and W. Manson : *J. Dairy Res.*, **41**, 283 (1974)
15. Takahashi, K., Tadenuma, M., Kitamoto, K. and Sato, S. : *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 927 (1974)
16. Harwalkar, V. R. : *J. Dairy Sci.*, **55**, 742 (1972)
17. Matoba, T., Hayashi, R. and Hata, T. : *Agr. Biol. Chem.*, **34**, 1235 (1970)
18. Fujimaki, M., Kato, H., Arai, S. and Tamaki, E. : *Food Technol.*, **22**, 889 (1968)
19. Fox, P. F. and Walley, B. F. : *J. Dairy Res.*, **38**, 165 (1971)
20. Harwalkar, V. R. and Elliott, J. A. : *J. Dairy Sci.*, **54**, 8 (1971)
21. Chiba, Y. and Sato, Y. : *Nippon Shokuhin kogyo Gakkaishi*, **28**, 325 (1981)
22. Van Leeuwen, H. J. : *Agr. Biol. Chem.*, **42**, 1375 (1978)

23. Visser, S., Slangen, K. J. and Hup. G. : *Netherland Milk and Dairy J.*, 29, 319 (1975)
24. 李炯周 : 乳加工研究, 2, 69 (1983)
25. A. O. A. C. : *Official Methods of Analysis*, 13th ed., Association of Official Analytical Chem-
ists, Washington, D. C. (1980) gton
26. 金敏勛, 朴啓仁 : 食品加工實驗實習法, 郷文社, p. 21 (1975)
27. Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G. H. : *J. Biol. Chem.*, 226, 497 (1975)
(1985년 5월 27일 접수)