

## Plastein반응을 이용한 정어리 단백질의 기능성 개선에 관한 연구

### 2. Plastein의 일반적 성장

김세권 · 박동채 · 조덕제\* · 이응호\*\*

부산수산대학 응용화학과 · \*경남전문대학 · 식품영양학과 · \*\*부산수산대학 식품공학과

## Studies on the Improvements of Functional Properties of Sardine Protein by Plastein Reaction

### 2. General Properties of Plasteins

Se-Kwon Kim, Dong-Chae Kwak, Duck-Jae Cho\* and Eung-Ho Lee\*\*

Dept. of Applied Chemistry, National Fisheries University of Pusan, Pusan, 608-023, Korea

\*Dept. of Food & Nutrition, Kyung Nam Junior College, Pusan, 616-012, Korea

\*\*Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan, 608-023, Korea

### Abstract

Plasteins were synthesized from a peptic sardine protein hydrolysate by pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, protease(from *Aspergillus saitoi*) and papain under the optimum conditions of previous paper<sup>1)</sup>. L-glutamic acid diethylester and L-leucine ethylester also were incorporated into plastein during the plastein reaction by papain. General composition, yield, molecular weight and amino acid composition were measured.

The protein, ash and lipid content of plasteins were 81.1~88.2%, 1.9~7.6% and 0.3~0.8%, respectively. The yield of plasteins were protease plastein 52.3%, papain plastein 44.2%, pepsin plastein 43.6%,  $\alpha$ -chymotrypsin plastein 43.2%, Leu-papain plastein 33.2% and Glu-papain plastein 29.0%. The glutamic acid and leucine content in Glu-papain plastein and Leu-papain plastein were 39.0%, 37.5%, respectively. While the contents in the papain plastein were 14.3%, 7.1%, respectively. The amino acid composition of plasteins were similar to that of peptic sardine protein hydrolysate.

The major molecular weight of the peptic hydrolysate estimated by gelfiltration were 1,800 and 285, and those of plasteins were 26,000 and 9,100 for  $\alpha$ -chymotrypsin, 23,000, 10,000 and 4,300 for pepsin, 18,000 for protease, 13,000 for papain, 29,000 for Leu-papain plastein and 19,000 for Glu-papain plastein.

### 서론

식품에 아미노산의 보충은 일반적으로 유리아미노산이 첨가되는데 이와 같은 방법으로 보충된 아미노산은 가공 또는 조리중에 쉽게 손실된다. 따라서 plastein 반응을 유용화 할 수 있는 예로서는 plastein

합성과정에서 유리아미노산을 도입하는 것이다.

Yamashita 등<sup>1)</sup>은 단백질 및 펩티드에 함황아미노산을 보충하기 위한 수단으로 plastein 반응을 이용하여 cysteine을 plastein에 도입시켰으며, Aso<sup>2)</sup>등은 zein에 부족한 lysine, threonine 및 tryptophan을 도입시킨 plastein 합성에 대하여 보고 한 바 있다.

Yamashita 등<sup>3)</sup>은 대두단백질의 가수분해물에 필수아미노산을 도입한 plastein과 대두단백질과의 영양성을 검토한 결과 plastein은 식품으로 이용하는 데 문제가 없다고 하였다.

최근까지 plastein반응은 주로 단백질 가수분해물의 쓴맛을 감소시키거나<sup>4-6)</sup>, 균형있는 단백질 강화 식품을 생산하기 위해 필수아미노산 도입에 관한 연구보고<sup>2,7,8)</sup>는 많지만 어육단백질의 기능성 개선에 plastein 반응을 이용한 연구보고는 찾아 보기 어렵다.

본 연구에서는 정어리 단백질의 pepsin가수분해물로부터 pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, protease 및 papain을 이용하여 합성한 plastein과 이들의 물성을 개량하기 위해 papain으로 plastein합성시 유리 glutamic acid 및 leucine을 도입시킨 plastein의 일반성분, 수율, 아미노산조성 및 분자량을 측정하여 비교 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

전보<sup>9)</sup>와 동일한 재료를 사용하였다.

### 가수분해물의 조제

전보<sup>9)</sup>에서 조제한 가수분해물을 사용하였다.

### Plastein합성

정어리 단백질의 pepsin가수분해물을 기질로 하여 전보<sup>9)</sup>의 plastein 합성 최적조건에 따라 pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, protease 및 papain의 pH를 각각 4, 7, 5 및 6으로 조절하였으며, 기질농도는 pepsin과  $\alpha$ -chymotrypsin의 경우 40%, protease와 papain은 50%, 효소첨가농도 1%로 하여 50°C에서 24시간 진탕항온수조(philip harris limited model SS40)에서 반응시켜 plastein을 합성하였다. 이 때 20% TCA 용액을 동량 가한 다음 plastein을 침전시키기 위하여 유리병으로 교반한 후 원심분리(5,000rpm, 15min)하였다. TCA불용분을 취하여 동결건조한 후 5°C에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

이 때 첨가된 효소는 pepsin(1 : 10,000 Nakarai Chemicals Co.),  $\alpha$ -chymotrypsin(51 Unit / mg solid, from Bovine pancreas type II, Sigma Co.), papain(19 Unit / mg Solid, from papaya latex, Sigma Co.), protease(0.6 Unit / mg Solid, from *Aspergillus saitoi*, Sigma Co.)였으며, pH는 2N HCl로 조절하였다.

### 아미노산도입 Plastein 합성

Plastein 반응에 의한 L-glutamic acid 및 L-leucine의 도입은 Yamashita 등<sup>10)</sup>의 일단계법을 이용하였다. 즉 동결건조된 가수분해물 20g 씩을 각각 100ml beaker에 취하고, 여기에 증류수 10ml씩을 가하여 교반한 다음, L-glutamic acid 및 L-leucine 10g 씩을 증류수에 용해시켜 0.1N HCl 및 0.1N NaOH로 pH를 맞추어 가며 혼합하면서 다시 pH를 조절하였다. 여기에 papain 300mg을 0.01M L-cysteine에 녹인 것을 주입하여 pH를 6으로 맞추었다. 여기서 기질농도는 50%가 되도록 조절하였으며 50°C에서 24시간 반응시켰다. 반응 후 즉시 10배의 0.2N NaOH로 처리한 후 세로판 주머니로 5°C에서 3일간 투석한 다음 동결건조하였다.

이 때 사용된 아미노산은 L-glutamic acid diethyl ester HCl(Sigma Co.), L-leucine ethylester HCl(Sigma Co.) 및 cysteine(Fluka Garantie)였으며, 합성효소로서 papain(19Unit / mg, Solid, Sigma Co.)을 사용하였다.

### 일반성분 및 아미노산이 정량

수분은 상압건조법, 지방은 Soxhlet법, 회분은 건식회화법, 그리고 단백질은 Semi-micro kjeldahl법으로 측정하였다.

아미노산조성 분석은 각 시료 0.05g을 정확히 달아 ampoule에 넣고 6N HCl 2ml를 가하여 진공밀봉한 다음 110°C sand bath에서 24시간 가수분해시켰다. 가수분해된 시료는 rotary evaporator로써 염산을 제거한 후 구연산 완충액(pH 2.2)으로 25ml로 정용하여 아미노산 자동분석계(LKB4150- $\alpha$ 형)로 정량하였다.

그리고 tryptophan함량은 Spies와 Chamber<sup>11)</sup>의 방

법으로 정량하였다.

#### 겔여과에 의한 분자량 측정

가수분해물의 겔여과는 Yuen<sup>12)</sup> 및 Zerwekh<sup>13)</sup>에 준하여 행하였다. 즉 동결건조한 가수분해물 0.1 g 을 2ml의 50%초산용액에 용해시킨 후 50% 초산으로 평형화된 Sephadex G-25 column (1.3×140cm)으로 겔여과하였으며, 용리액의 단백질농도는 분광광도계(Shimadzu UV-140-02)로서 280nm에서 흡광도를 측정하였다. 분자량 측정에 사용한 표준물질은 lysine(MW 146), penta alanine(MW 445), glamicidin D(MW 2000) 및 insulin(MW 5700)이며 각 표준물질 0.01 g 씩을 각각 0.5ml의 50%초산용액에 용해시킨 후 ninhydrin정색반응에 의해 표준물질을 검지하였으며, 분자량 측정용 표준곡선은 Andrew<sup>14)</sup>의 방법에 따라 작성하였다.

Plastein의 겔여과는 동결건조한 plastein 0.1 g 을 2ml의 50%초산용액에 용해시킨 후 가수분해물과 동일한 방법<sup>13,14)</sup>으로 Sephadex G-50 Column(2.5×90cm)으로 겔여과하였으며, 단백질농도는 280nm에서 흡광도를 측정하였다. 분자량 측정에 사용한 표준물질은 glamicidin D(MW 2,000), insulin(MW 5,700), cytochrome C(MW 12,400) 및 carbonic anhydrase (MW 29,000)였다. 0.01 g 의 glamicidin D를 2ml의 50% 초산용액에 용해시켜 겔여과한 후 용리액을 ninhydrin정색반응에 의하여 검지하였으며, 그 밖에 표준물질인 insulin, cytochrome C 및 carbonic anhydrase는 각각 0.01 g 씩을 1ml의 0.1M 식염을 함유한 0.01M 인산염 완충액(pH 7.0)으로 용해시켜

동일한 완충액으로 용리시킨 후에 280nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 표준물질을 검지하였으며, 분자량 측정용 표준곡선은 Andrew<sup>14)</sup>의 방법에 따라 작성하였다.

## 결과 및 고찰

### Plastein 제품의 일반성분 및 수율

Plastein 제품의 일반성분은 Table. 1과 같다. 단백질함량은 plastein 제품에 따라 큰 차이는 없었으나 papain plastein이 82.0%로 다소 낮았으며, 지방함량은 protease plastein이 0.3%로 가장 낮았으나 다른 plastein에 있어서는 큰 차이가 없었다. 회분함량은 pepsin가수분해물이 10.4%로 매우 높았으며, plastein제품의 경우는 3.7~7.6%로 비교적 높은 함량을 나타내었으나 아미노산이 도입된 plastein의 회분함량은 모두 낮은 편이었다. 이와 같이 plastein제품에 회분함량이 높은 것은 침전된 회분에 들어 있는 삼염화아세트산 또는 그이외의 복합염에 기인되는 것으로 생각된다. 수율을 Table. 2에 나타낸 바와 같이 protease plastein이 52.3%로 가장 높았으며, 다음이 papain plastein 44.2%, pepsin plastein 43.6%였고,  $\alpha$ -chymotrypsin plastein이 43.2%로 가장 낮았으며, leucine이 도입된 제품의 수율은 33.2%로 glutamic acid가 도입된 제품 29.0%보다 높았다.

김과 이<sup>15)</sup>는 말쥐치육 가수분해물로 합성한 plastein에 있어서는 papain plastein이 55.0%로 가장 높았고, 다음이 pepsin plastein이 47.6%,  $\alpha$ -chymotrypsin plastein 38.6%였고, protease plastein이 23.6%로

**Table 1. Chemical composition of freeze-dried peptic hydrolysate, plastein products and FPC.**

Products	Moisture	Protein	Lipid	Ash
Peptic hydrolysate	5.5	81.1	1.2	10.4
Pepsin plastein	5.4	88.2	0.5	3.7
$\alpha$ -chymotrypsin plastein	6.8	83.9	0.6	6.6
Protease plastein	5.3	87.9	0.3	4.1
Papain plastein	7.5	82.0	0.6	7.6
Glu-papain plastein	8.0	85.6	0.6	2.5
Leu-papain plastein	8.3	86.7	0.8	1.9
FPC	6.4	83.1	1.9	6.5

**Table 2. Percent yield of plastein reaction products using 10% TCA as precipitating agent.**

Products	Amount( g )	Protein(%)	Protein( g )	Yield(%)*
Pepsin plastein	12.0	88.2	10.6	43.6
$\alpha$ -Chymotrypsin plastein	12.6	83.9	10.5	43.2
Protease plastein	14.5	87.9	12.7	52.3
Papain plastein	13.1	82.0	10.7	44.2
Glu-papain plastein	8.9	85.6	7.6	29.0**
Leu-papain plastein	10.1	86.7	8.7	33.2**

\* % Yields were calculated from a starting quantity of 30 g hydrolysate at 81.1% protein representing 24.3 g of protein.

\*\* % Yield were calculated from a starting quantity of 20 g hydrolysate and 10 g amino acid representing 26.2 g of protein.

가장 낮아 protease(*Streptomyces griseus*)는 plastein 합성에 적합하지 않다고 보고한 바 있으나 본 실험에서 사용한 protease(*Aspergillus saitoi*)는 plastein 합성에 가장 적합한 것으로 판단되었다.

Onoue와 Riddle<sup>16)</sup>은 어류폐기물의 pepsin 가수분해물을 기질로 하여 합성한 plastein의 수율은 35%였다고 보고하였고, Edward와 Shipe<sup>17)</sup>는 상업용 egg

albumin의 pepsin 가수분해물로 부터  $\alpha$ -chymotrypsin 및 pepsin을 합성효소로 사용하여 얻어진 plastein의 수율은 30%였다고 보고한 바 있다.

**아미노산 함량**

FPC : 가수분해물 및 plastein제품의 아미노산 조성을 Table. 3과 같다. FPC와 가수분해물의 아미노

**Table 3. Amino acid composition of FPC, peptic hydrolysate, and plastein products. (g - A.A./16 g - N)**

Amino acid	FPC	Peptic hydrolysate	Plastein Products					
			Pepsin	$\alpha$ -Chymotrypsin	Protease	Papain	Glu-papain	Leu-papain
Asp	9.02	10.46	9.71	9.57	10.46	10.46	8.07	6.86
Thr	4.75	6.04	4.33	4.32	5.54	5.95	3.28	3.65
Ser	4.45	4.92	3.40	3.78	4.35	5.05	2.73	3.13
Glu	14.64	14.67	12.83	11.05	12.82	14.37	39.30	8.83
Pro	3.97	4.95	5.44	4.22	4.00	6.69	2.85	3.11
Gly	4.84	4.56	4.69	4.51	4.88	4.39	2.91	2.65
Ala	6.15	5.79	5.94	5.94	5.67	5.61	3.44	3.84
Val	5.57	5.35	1.64	6.66	5.44	5.82	4.23	3.51
Met	3.83	2.86	3.49	3.70	3.43	2.40	1.92	2.35
Ileu	4.72	3.62	4.63	4.69	4.42	3.65	3.84	2.70
Leu	7.36	6.44	8.17	8.08	7.80	7.13	6.01	37.52
Tyr	5.07	4.16	5.01	4.37	4.59	5.01	3.46	3.76
Phe	4.93	4.44	6.33	5.50	4.73	3.97	4.06	3.60
Lys	8.02	7.81	8.57	7.66	7.09	6.29	4.62	4.25
His	4.15	4.25	4.29	3.72	4.51	5.61	2.06	2.64
Arg	6.64	7.19	8.99	7.12	6.94	5.97	4.24	3.62
Trp	1.08	0.91	0.99	0.95	1.01	0.89	0.76	0.55
NH <sub>4</sub>	0.61	0.71	0.63	0.63	0.72	0.62	0.50	0.46
Total	99.80	99.13	99.08	96.47	98.40	98.30	98.28	97.03

산 함량은 비슷하였으며 성분조성간에 차이는 볼 수 없었다. 4종의 효소로 합성한 plastein제품의 경우는 pepsin plastein의 아미노산 조성중 다른 제품에 비하여 valine함량이 매우 적었으나 arginine함량은 오히려 많았으며, papain plastein에 있어서는 tyrosine 함량이 다른 plastein제품에 비해 다소 낮았으나 glutamic acid함량은 오히려 많았다. 그러나 4종류 plastein제품 간에는 아미노산조성에 있어서 큰 차이는 없었다.

Glutamic acid를 도입시킨 제품은 glutamic acid 함량이 39.3%로서 대조구인 papain plastein의 14.4%에 비하여 월등히 높았으며, Leucine을 도입시킨 제품의 경우도 leucine함량이 37.5%로 대조구인 papain plastein의 7.1%에 비하여 월등히 높은 함량이었다.

김과 이<sup>15)</sup>는 말쥐치육 가수분해물로 plastein합성시 glutamic acid 및 leucine을 도입시킨 plastein의 아미노산 조성중 glutamic acid 및 leucine함량은 각각 38.7%, 41.7%였으나 대조구인 papain plastein에서는 이들의 함량이 14.0%, 10.1%에 불과하였다고 보고하였으며, Yamashita 등<sup>18)</sup>은 대두 단백질에 glutamic acid를 도입시킨 결과, L-glu- $\alpha$ , r-OEt<sub>2</sub> 41.9%, L-glu- $\alpha$ -OEt 32.2% 및 유리 L-glutamic acid 25.0%가 도입되었다고 보고한 바 있다.

가수분해물의 분자량

동결건조된 가수분해물 0.05 g을 50%초산으로 용해시켜 동일한 용액으로 Sephadex G-25 column에 의하여 겔여과한 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 분자량 1,800 및 285의 peptide성 분자가 주종을 이루고 있으며, 이 외에도 분자량 3,600, 830 및 유리 아미노산 형태로 추정되는 분자량 120의 물질들이 소량 함유된 것으로 나타났다. Tsai 등<sup>19)</sup>은 겔여과법으로 대두단백질의 가수분해물의 분자량을 측정된 결과, 4개의 획분이 얻어졌으며, 분자량이 685 및 1,043인 획분이 대부분을 차지하고 있었고, 이외의 polypeptide 획분과 유리아미노산 획분도 소량 존재하였다고 보고하였으며, 김과 이<sup>15)</sup>는 말쥐치육 가수분해물의 분자량은 2,000 및 310의 peptide성 분자가 주종을 이루고 있었다고 보고하였다. Sukan과 Andrews<sup>20)</sup>는

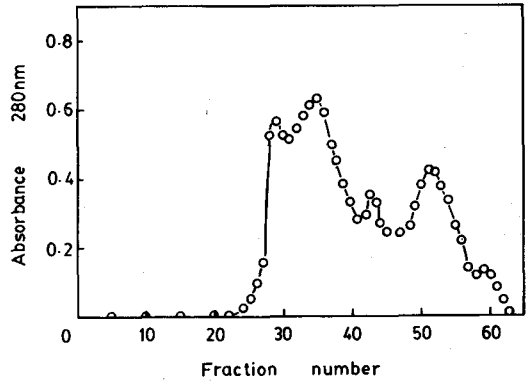


Fig. 1. Gel filtration of hydrolysate of Sardine on a Sephadex G-25 column(1.3×140cm). Solvent : 50% acetic acid, Flow : rate : 16ml / hr, Fraction volumn : 3ml, (5°C).

카제인과 분말 skim-milk의 가수분해물의 분자량이 400과 800사이에서 가장 plastein수율이 높았다고 보고 한 바 있다.

plastein의 분자량

동결건조한 plastein제품 0.05 g을 Sephadex G-50

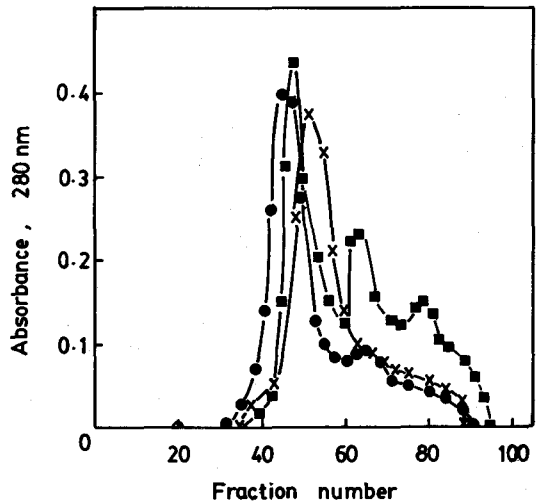


Fig. 2. Gel filtration of plastein products on a Sephadex G-50 column(2.5×90cm).

Solvent : 50% acetic acid, Flow rate : 16ml/hr, Fraction volumn : 5ml, (5°C).

- : Pepsin plastein
- :  $\alpha$ -Chymotrypsin plastein
- ×-× : Protease plastein

column으로 겔여과한 크로마토그램을 Fig. 2 및 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 2에 나타낸 바와 같이  $\alpha$ -chymotrypsin plastein의 분자량 26,000의 단백질이 대부분이었으며 소량인 분자량 9,100인 저분자량의 단백질도 합성되었다. pepsin plastein은 분자량이 23,000인 단백질이 주종을 이루고 있었으며 분자량이 10,000 및 4,300인 단백질도 소량 존재하였다. protease로 합성시킨 plastein은 분자량이 18,000인 단백질이 합성되었다. Fig. 3에서 볼 수 있는 바와 같이 papain으로 합성한 plastein은 분자량이 13,000으로 plastein 중 분자량이 가장 낮았으나 leucine이 도입된 leu-papain plastein은 분자량이 29,000으로 가장 분자량이 높았으며 분자량 9,000인 합성단백질도 소량 존재하였다. Glutamic acid를 도입시킨 glu-papain plastein은 분자량이 19,000인 단백질이 합성되었다.

Yamashita 등<sup>21)</sup>은 평균분자량이 1,550인 대두단백질의 pepsin가수분해물로 만든 plastein제품의 분자량은 5,490이었다고 보고 하였으나, Tsai 등<sup>22)</sup>은 분자량이 1,043인 대두단백질의 pepsin가수분해물로 합성한 plastein의 분자량은 약 25,000였다고 보고 하였다. Edward와 shipe<sup>17)</sup>는 pepsin으로 egg albumin을 가수분해시킨 가수분해물의 분자량은 6,500~10,

500범위였으며, 이것으로 합성한 pepsin plastein의 분자량은 35,000 및 11,000이었고,  $\alpha$ -chymotrypsin plastein의 경우는 분자량이 25,000, 13,000 및 11,000이었다고 보고하였으며, Hofsten과 Lalasidis<sup>23)</sup>는 plastein은 물과 buffer용액에 용해도가 낮기 때문에 분자량 측정에 많은 차이가 있다고 지적하였다.

## 요 약

Pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, protease 및 papain을 이용하여 정어리육 단백질의 pepsin가수분해물로 부터 합성한 plastein과 유리 glutamic acid 및 leucine을 도입시킨 plastein의 일반성분, 수율, 아미노산조성 및 분자량을 측정하여 비교 검토한 결과

plastein의 단백질 함량은 82.0~88.2%였으며 회분함량은 2.7%~7.6%로 glu-papain plastein과 leu-papain plastein의 2.5% 및 1.9%보다 높았고, 지방함량은 0.3%~0.8범위였다.

수율은 protease plastein이 52.3%로 가장 높았고, papain plastein, pepsin plastein 및  $\alpha$ -chymotrypsin plastein은 각각 44.2%, 43.6%, 43.2%였으며, leu-papain plastein과 glu-papain plastein은 각각 33.2% 및 29.0%였다.

plastein종류에 따른 아미노산조성에는 큰 차이는 없었으며, leu-papain plastein과 glu-papain plastein의 leucine 및 glutamic acid 함량은 각각 37.5% 및 39.3%였으나 대조구인 papain plastein에서는 이들의 함량이 7.1%, 14.4%에 불과하였다.

겔여과에 의한 가수분해물의 분자량은 1,800 및 285인 것이 주종을 이루었으나 이외에도 분자량 3,600 및 830인 획분도 존재하였다. plastein의 분자량은  $\alpha$ -chymotrypsin plastein이 26,000 및 9,100였으며 pepsin plastein은 23,000이 주종을 이루었고, 10,000 및 4,300도 존재하였고, protease plastein의 분자량은 18,000였다. leu-papain plastein과 glu-papain plastein은 각각 29,000 및 19,000였으나 papain plastein은 13,000로 가장 낮았다.

[본 연구는 1987년도 산학협동재단의 학술연구비와 백양식품(주)의 matching fund의 지원으로 수행되었으며 이에 대해 깊이 감사드립니다]

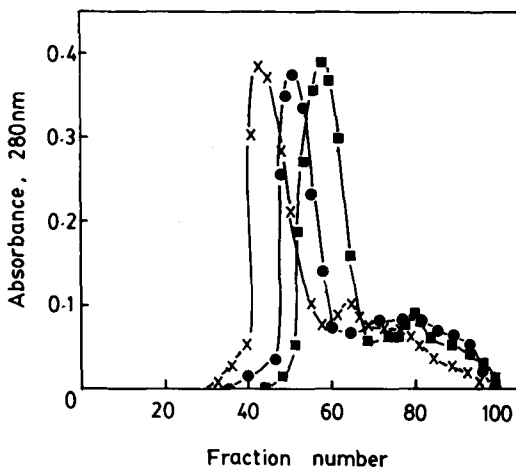


Fig. 3. Gel filtration of plastein product on a Sephadex G-50 column(2.5×90cm). Solvent: 50% acetic acid, Flow rate: 16ml/hr, Fraction volume: 5ml, (5°C).

×-×: Leu-papain plastein  
●-●: Glu-papain plastein  
■-■: Papain plastein

## 문헌

1. Yamashita, M., S. Arai, S.J. Tsai and Fujimaki M. : Plastein reaction as a method for enriching the sulfur-containing amino acid level of soybean protein. *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 1151(1971)
2. Aso, K., M. Yamashita, S. Arai and Fujimaki M. : Tryptophan-, Threonine-, and Lysine-enriched plasteins from zein. *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 679(1974)
3. Yamashita, M. S., Arai, M. Gonda, H. Kato and Fujimaki M. : Enzymatic modification of proteins in foodstuffs 2. Nutritive properties of soy plastein and its bio-utility evaluation in rats. *Agr. Biol. Chem.*, **34**, 1333(1970).
4. Arai, S., Yamashita M. and Fujimaki M. : Plastein reaction and its applications. *Cereal Food World*, **20**, 107(1975)
5. Yamashita, M., Arai S., Matsuyama J., Kato H. and Fujimaki M. : Enzymatic modification of protein in foodstuffs. 4. Bitter dipeptides as plastein-building blocks debittering of peptic proteolyzate with  $\alpha$ -chymotrypsin. *Agr. Biol. Chem.*, **34**, 1492(1970).
6. Savangikar, V. A. and Josh R.N. : Modification of leaf protein concentrate by the use of plastein reaction. *J. Sci. Food Agr.*, **30**, 899(1979).
7. Monti, J. and Jost R. : papain-catalyzed synthesis of methionine enriched soy plastein average chain length of the plastein peptides. *J. Agr. Food Chem.*, **27**, 1281(1979).
8. Noar, S. R. and Shipe W.F. : A study of the forces involved in the incorporation of L-Methionine into soy protein by the one-step plastein-like process. *J. Food Sci.*, **49**, 1316(1984).
9. 김세권, 광동채, 조덕제, 이용호 : plastein 반응을 이용한 정어리 단백질의 기능성 개선에 관한 연구. 1. 정어리 분말 단백질의 pepsin 가수분해물을 이용한 plastein 합성조건. *한국영양식량학회지*, **17**, 232, 1988.
10. Yamashita, M., Arai S., Imaizumi Y., Amanoland Y. and Fujimaki M. : A one-step process for incorporation of L-methionine into soy protein by treatment with papain. *Agr. Food Chem.*, **27**, 52(1979).
11. Spices, J. R. and Chamber D.C. : Chemical determination of tryptophan. *Anal. Chem.*, **20**, 30(1948).
12. Yuen, P. : Studies on removal characterization of bitter compounds in pepsin-hydrolyzed fish protein Master's thesis. University of Washington. 81(1978).
13. Zerwekh, M. A. : Molecular weight distribution of peptides from proteolytic hydrolysate of fish waste Master's thesis. University of Washington. 65(1976).
14. Andrew, P. : Estimation of the molecular weight of proteins by Sephadex gel filtration. *Biochem. J.* **91**, 222(1964).
15. 김세권, 이용호 : 말치육 단백질의 효소적 가수분해물을 이용한 plastein의 합성 및 그 물성 2. plastein의 일반적 성상과 IR Spectrum. *한수지*, **20**(5), 431(1987).
16. Onoue, M. and Riddle L.M. : Use of plastein reaction in recovering protein from fish waste. *J. Fish. Res. Board(Canada)*, **30**, 1745(1973).
17. Edwards, J. H. and W. F. Shipe : Characterization of plastein reaction products formed by pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin and papain treatment of egg albumin hydrolysates. *J. Food Sci.*, **43**, 1215(1978).
18. Yamashita, M., Arai S., Kokubo S., Aso K. and Fujimaki M. : Synthesis and characterization of a glutamic acid enriched plastein with greater solubility. *Agr. Food Chem.*, **23**, 27(1975).
19. Tsai, S. J., Yamashita M., Arai S. and Fujimaki M. : Effect of substrate concentration of plastein productivity and some rheological properties of the products. *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 1045(1972).
20. Sukan, G. and Andrew A.T. : Application of the plastein reaction to caseins and to skim-milk powder. I. Protein hydrolysis and plastein formation. *J. of Dairy Res.*, **49**, 265(1982).
21. Yamashita, M., Arai S., Matsuyama J., Gonda M., Kato H. and Fujimaki M. : Enzymatic modification of proteins in foodstuffs. 3. Phenomenal survey on  $\alpha$ -chymotrypsin plastein synthesis from peptic hydrolyzate of soy protein. *Agr. Biol. Chem.*, **34**, 1484(1970).
22. Tsai, S. J., Yamashita M., Arai S. and Fujimaki M. : Polyacrylamide gel electrophoresis of plasteins. *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 641(1974).
23. Hofsten, B. and Lalasidis G. : Protease catalyzed formation of plastein products and some of their properties. *J. Agr. Food Chem.*, **24**, 460(1976).

(Received August 8, 1988)