

## 키위 단백질 분해효소가 카제인의 기능성에 미치는 영향

윤 선·최 혜 정·이 진 실

연세대학교 식품영양학과

### Modification of Functional Properties of Casein by Kiwifruit Protesse

Sun Yoon, Hyejung Choi and Jinsil Lee

Departemtn of Food and Nutrition Yonsei University

#### Abstract

The object of this study was to investigate characteristics of kiwifruit protease and effect of this enzyme on the functionality of casein.

The specific activity of crudely prepared kiwifruit protease on casein was 196.95 units/mg protein, it showed optimum activity at pH 3.0, 60°C.

The degree of hydrolysis of casein with protease treatment steeply increased to 73.5% and 78.9% for 10 and 20 minutes and then reached 84.1% and 89.3% for 1 and 4 hours, respectively.

Solubility of non heated control group was 0.2% at pH 4, while the sample groups treated with enzyme for 0, 10 and 20 minutes were 14.5%, 19.2% and 24.0%, respectively.

Casein treated with protease showed marked increase in foam expansion near isoelectric point. However, enzymatically treated groups had lower foam expansion than the control groups. Foam stabilities of enzymatically modified groupw were lower than those of the control groups at all pH.

Emulsifying activity of the non-heated control group was 0% at pH 4, while the groups modified enzymatically for 0, 10, and 60 minutes showed 51.0%, 55.5% and 54.5%, respectively.

#### 서 론

우리나라에서 양다래로 불리는 Kiwifruit (Actinida

Chinensis)은 중국 양자강 부근에서 서식하던 아열대성 과일이다. 국내에서 처음 보급된 것은 1974년이며 그 이후 1983년부터 본격적으로 보급이 되어 1989년엔 전남에서 전 생산량의 75%인 2400톤이 생산되었고 제주도

가 500톤, 경남이 300톤을 생산하고 있다<sup>1)</sup>.

키위는 비타민 C와 섬유소의 함량이 높아 영양학적으로도 우수한 식품이라<sup>2)</sup>할 수 있으며 또한 키위에는 단백질 분해효소가 존재해 육류의 연육 효과도 존재한다<sup>3)</sup>.

특히 키위는 과육이 쉽게 물러져 일정 기간이 지나면 기호가 떨어지는 점을 고려해 볼 때 키위 단백질 분해효소를 추출하여 이용할 수 있는 방안에 대한 연구는 바람직 할 것으로 보인다.

또한 추출된 효소는 추출원이 과일이므로 식품 첨가제로서 안정하여 그 이용가치가 충분히 있을 것으로 생각된다. McDowall<sup>4)</sup>은 키위 단백질 분해효소를 결정화하여 특성을 조사한 결과, Actinidin (EC 3, 4, 22, 14)라 불리는 키위 단백질 분해효소는 plant thiol protease로서 papain과 유사하나 aromatic N-Substituent에 대한 Kcat/Km값이 낮은 것으로 보아 기질과 결합하는 부위가 다를 것으로 보았다. 또한 Actinidin은 분자량이 23500으로 23400인 papain의 분자량과 비슷하나 등전점은 papain이 pH 8.7인 반면 actinidin은 pH 3.1로 매우 다른 경향을 나타내었다고 한다<sup>5)</sup>.

단백질의 식품학적 기능성인 용해도, 유화성, 기포성, 젤형성 능력 등은 단백질을 식품 산업에 이용시 매우 중요하며 또한 기능성이 우수한 새로운 단백질 공급을 찾는 것은 물론 기존 단백질을 이용하여 기능성을 증진시킬 수 있는 방안도 함께 연구되어야 할 것이다.

단백질의 기능성을 향상시키기 위한 방법으로 화학적인 변형법외에 효소 처리법이 이용되고 있다.

이중에서도 효소 처리에 의한 단백질 가수분해법은 식품에 맛 성분을 주는 첨가제의 개발 외에도 단백질의 용해도, 유화성, 기포성과 같은 식품학적 기능성을 개선시킬 수 있어 관심의 대상이 되고 있다.

한편, 카제인은 우유 단백질의 약 80%를 차지하는 인 단백질로 우유내에 2.5~3.2%가량 존재하며<sup>6)</sup> Chobert 등<sup>7,8)</sup>에 의하면 staphylococcus aureus V<sub>8</sub> protease로 처리하였을때 등전점에서 용해도와 유화력이 증가되었다고 보고하였다.

이에 본 논문은 키위 단백질 분해효소의 효소학적 특성에 대해 살펴보고 이를 단백질에 처리하여 기능성 변화를 연구함으로써 키위 단백질 분해효소의 식품 산업에의 이용 가능성과 효소에 의한 가수 분해법이 단백질의 기능성에 미치는 영향을 알아보려 시도하였다.

## II. 실험 재료 및 방법

### 1. 실험 재료 및 시약

본 실험에 사용한 키위는 뉴질랜드산이었으며, 카제인 Hammarsten은 B D H Chemicals의 제품이었다. 기타 시약들은 모두 특급품을 사용하였다.

### 2. 키위 단백질 분해효소의 추출

키위 단백질 분해효소는 Fig. 1과 같은 방법으로 추출하였다.

### 3. 효소의 활성 측정

#### 1) 기질 용액의 조제

카제인을 0.1 M sodium phosphate (pH 7.0)에 1%가 되도록 용해시키고 이를 80°C수조에서 5분간 열처리 후 냉각시켜 사용하였다.

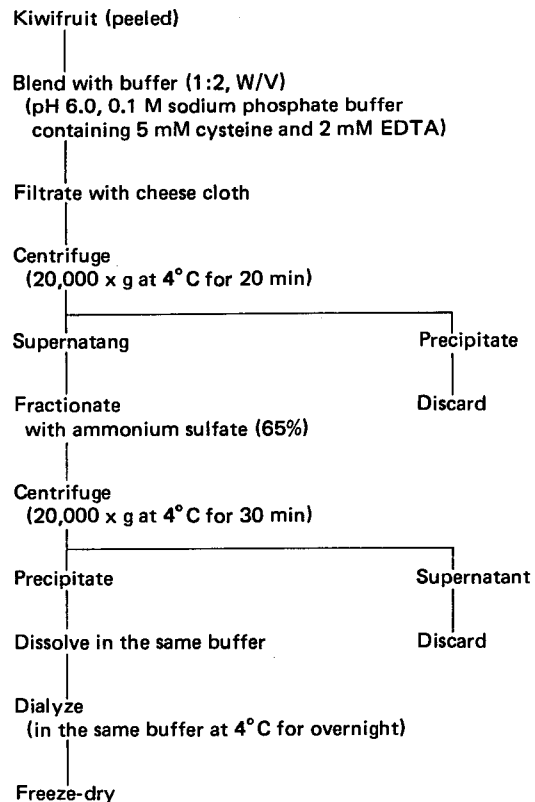


Fig. 1. Extraction procedures of kiwifruit protease

## 2) 효소의 활성 측정

효소의 활성은 Kunitz법<sup>9)</sup>을 변형시켜 측정하였다. 기질 용액 1 ml에 10배로 희석된 효소용액 2 ml를 가한 후 40°C에서 20분간 반응시킨 후 trichloroacetic acid (TCA)로 반응을 정지시킨 후 30분간 실온에서 방치 후 whatman No. 40 여과지로 여과시킨 후 여액을 280 nm에서 흡광도를 측정(Beckman, Model 35 Spectrophotometer)하였으며, 1분간 0.001 흡광도가 증가된 효소량을 1 unit로 표시하였다.

## 3) 단백질의 정량

단백질 정량은 Bio-Rad 단백질 정량법<sup>10)</sup>에 의해 측정하였다.

## 4. 효소의 특성 측정

효소의 최적 pH는 1% 카제인 용액 1 ml에 10배로 희석된 효소액 2 ml를 가한 후 40°C에서 20분간 반응시켜 효소의 활성을 측정하였으며 pH 안정성은 48시간 동안 10°C에서 방치 후 활성을 측정하였다.

효소 최적 온도는 0.1 M acetate buffer (pH 3.0) 1.8 ml와 1% 카제인 용액 1 ml를 10°C부터 100°C까지 10°C간격으로 10분간 온탕 가열 후 여기에 효소액 0.2 ml를 가한 후 20분간 반응시켜 활성을 측정 후 최대의 활성치를 100으로 하여 상대 활성도로 표시하였다. 열안정성은 효소액을 10°C부터 10°C간격으로 100°C까지의 각 온도에서 20분간 열처리 후, 즉시 실온으로 조정하여 잔존 활성을 측정 비교하였다.

## 5. 카제인의 가수분해

카제인을 4 N NaOH로 pH 7.8이 되도록 조절하면서 증류수에 용해시켜 최종농도는 1.0%가 되도록 하였다. 40°C의 카제인 용액과 효소액의 단백질 비율이 100 : 1(W/W)이 되도록 효소액을 가하고 40°C온탕 수조에서 흔들어 주면서 반응시켰다. 반응이 끝난 용액은 100°C 온탕 수조에서 15분간 열처리하여 정지시켰다.

본 실험에서는 효소 반응을 정지시키기 위해 사용된 열처리 과정의 영향을 알아보기 위해 대조군은 원래의 카제인군(대조군 1)과 효소는 첨가되지 않았으나 열처리가 된 카제인군(대조군 2)으로 하였으며 실험군은 효소 반응에 따라, 효소를 첨가한 즉시 열처리한 카제인군(실험군 1), 10분간 효소 반응을 시킨 카제인군(실험군 2)과 60분간 효소를 반응시킨 카제인군(실험군 3)으로

하였다.

## 6. 가수분해도(Degree of Hydrolysis: DH)의 측정

효소의 반응시간에 따른 카제인의 가수분해도는 TNBS법에<sup>11)</sup>의해 측정하였다.

1% SDS용액에 희석된 재료 0.25 ml와 0.215 phosphate buffer (pH 8.2) 2 ml를 혼합 후 0.1% TNBS 용액 2 ml를 첨가하여 50°C 온탕 수조에서 1시간 동안 빛을 차단한 상태에서 반응시켰다. 반응 후 0.1 N HCl, 4 ml로 반응을 종결시키고 30분간 실온에서 냉각 후 340 nm에서 흡광도를 측정(Shimadzu, UV-240 Spectrophotometer)하였으며 표준 곡선은 L-Leucine으로 작성하였다. DH는 다음식에 의해 계산하였다.

DH =

$$\frac{\text{Total free amino group} - \text{free amino group in sample}}{\text{free amino group in control}} \times 100$$

## 7. Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

효소 처리에 의한 카제인의 분자량 변화를 살피보기 위해 SDS-PAGE를 Webber와 Osborn<sup>12)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 표준 단백질은 ribonuclease A (MW 13700) chymotrypsin A (MW 25000), Ovalbumin (MW 43000), bovine serum albumin (MW 67000)을 사용하였다.

## 8. 단백질의 기능성 측정

### 1) 용해도의 측정

시료 용액 20 ml를 취하여 pH 3~8까지 조절한 후 2000 g 20°C에서 15분간 원심분리하고 상층액의 단백질을 bovine serum albumin을 표준 단백질로 하여 뷰렛법<sup>13)</sup>에 의해 정량하였으며 이때 가장 높은 용해도 값을 100으로하여 이에 대한 백분비로 나타내었다.

### 2) 기포 형성력의 측정

기포 형성력은 Wang과 Kinsella<sup>14)</sup>가 제시한 방법을 이용하였다. 시료 용액을 20 ml씩 취해 pH 3~8까지 조절한 후 균질기(Nihon Seiki, Ace homogenizer AM-7)로 5000 rpm에서 3분간 기포를 형성시킨 후 다음식에 의해 기포 형성력을 계산하였다.

$$\text{Foam expansion (\%)} = \frac{\text{Total volume of foam including liquid} - \text{Initial liquid volume}}{\text{Initial liquid volume}} \times 100$$

**3) 기포 안정성의 측정**

기포 안정성은 기포 형성력 측정시와 같은 방법으로 기포를 형성시켜 형성된 기포의 부피를 기록하고 실온에서 30분간 방치하였다가 남아있는 기포의 부피 부피를 측정하였으며 기포 안정성은 다음 식에 의해 계산하였다.

Foam stability =

$$\frac{\text{Foam volume after 30 min including liquid}}{\text{Initial foam volume including liquid}} \times 100$$

**4) 유화력의 측정**

유화력(Emulsifying activity)은 Yasumatsu<sup>15)</sup>의 방법을 이용하였다.

시료 용액 20 ml씩 취한 후 대두유 20 ml를 첨가해 균질기로 5000 rpm에서 4분간 분산시킨 것과 형성된 유화액을 5 ml씩 취하여 1300 g, 20°C에서 5분간 원심 분리한 것을 다음 식에 의하여 측정하였다.

Emulsifying Activity (%) =

$$\frac{\text{Height of emulsified layer}}{\text{Height of total contents in the tube}} \times 100$$

**III. 결과 및 고찰**

**1. 효소의 활성 및 특성**

본 실험에 이용된 키위 단백질 분해 효소의 활성은 196.95 units/mg protein이었으며 최적 pH는 3.0 최적 온도는 60°C였다. 효소의 안정 pH는 2.5~7.0이며 안정 온도는 60°C 이하였다.

**2. 가수분해도(Degree of Hydrolysis: DH)**

키위 단백질 분해효소에 의한 시료용액의 가수분해도는 Fig. 2에 제시되었다. 효소 반응 10분, 20분 후의 가수분해도는 각각 73.5, 79.9%로 증가하였으며 60, 120, 180 및 240분 후의 가수분해도는 각각 84.1, 86.6, 88.1, 89.3%로 나타났다. 이러한 결과로 보아 80% 이상의 가수분해를 일으키기 위해서는 20분 이상을 반응시켜주어야 할 것으로 보인다.

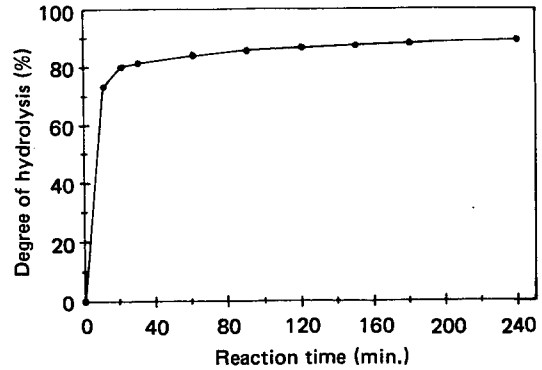


Fig. 2. Degree of Hydrolysis (DH) of casein treated kiwifruit protease at pH 3.0 and 60°C

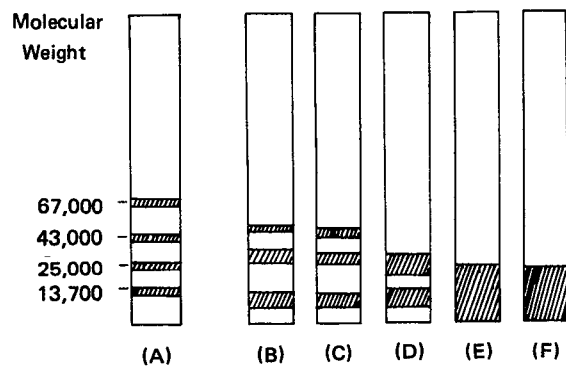


Fig. 3. SDS-PAGE of control and protease-modified casein

- A: reference protein; bovine serum albumin (67,000) ovalbumin (43,000) chymotrypsinigen A (25,000) ribonuclease A (18,700)
- B: native casein
- C: heated casein without protease
- D: heated casein with protease
- E: casein modified with protease for 10 min
- F: casein modified with protease for 60 min

**3. Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)**

효소 처리의 의한 카제인의 분자량 변화는 Fig. 3에 제시한 바와 같다.

대조군의 경우 분자량 40000~44000, 25000~27000, 12000부위에서 3개의 뚜렷한 띠를 볼 수 있었으나 실험 군 1에서는 분자량 40000~44000부위의 띠는 사라지고

분자량 24000, 12000부분에서 띠가 나타났다. 효소 반응이 진행되어 감에 따라 반응 10분 후에는 분자량이 23000 이하에서 띠가 넓게 나타났다. 이것으로 보아 카제인에 키위 단백질 분해효소를 60분간 처리한 경우 분자량이 20000 이하인 가수분해물을 얻을 수 있으며 이러한 분자량의 변화가 카제인의 식품학적 기능성에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측된다.

#### 4. 단백질의 기능성

##### 1) 용해도

카제인 용액을 pH 3~8까지 조절하여 용해도를 측정 한 결과는 Fig. 4에 제시하였다.

열처리와 효소 처리의 유무에 관계없이 pH4에서 카제인의 용해도가 가장 낮았으며, 대조군 1에 비해 대조군 2는 pH 3, 4, 5에서 보다 높은 용해도를 나타내었으나 pH 6, 7, 8에서는 낮은 용해도 값을 나타내었다.

실험군의 경우 대조군에 비해 전 pH범위에서 용해도가 증가하였다. 특히 pH 4와 5에서는 대조군 1은 용해도가 각각 0.2, 9.7%인데 반해 실험군 3의 경우는 각각

24.0, 33.5%로 용해도가 현저히 증가하였다. 이와같이 효소처리에 의한 등전점 부근에서의 용해도 증가 현상은 Chobert등<sup>7)</sup>의 연구에서도 보고된 바 있다.

이와 같은 용해도 증가 현상은 단백질이 효소에 의해 가수분해되면서  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CO}_2^-$ 와 같은 극성을 띠는 잔기가 노출이 되어 물과의 친화력이 높아졌기 때문인 것으로 보고되었다<sup>6)</sup>.

위의 같은 결과로 보아 키위 단백질 분해효소 이용은 단백질을 주원료로 한 산성 음료 제조시 단백질의 이용 범위를 높일 수 있을 것으로 생각된다.

##### 2) 기포 형성력

효소 처리에 의한 카제인의 기포 형성력 변화는 Fig. 5에 제시하였다.

효소 처리를 하지 않은 대조군 1의 경우 pH 4, 5에서 각각 145, 200%대조군 2의 경우는 185, 220%의 기포 형성력을 나타내었으나 대조군 1의 경우 pH 3, 6, 7, 8에서는 각각 280, 285, 280, 280% 대조군 2는 290, 285, 270, 280%로 두군 모두 pH 4나 5에서 보다는 월등한 기포 형성력을 볼 수 있었다.

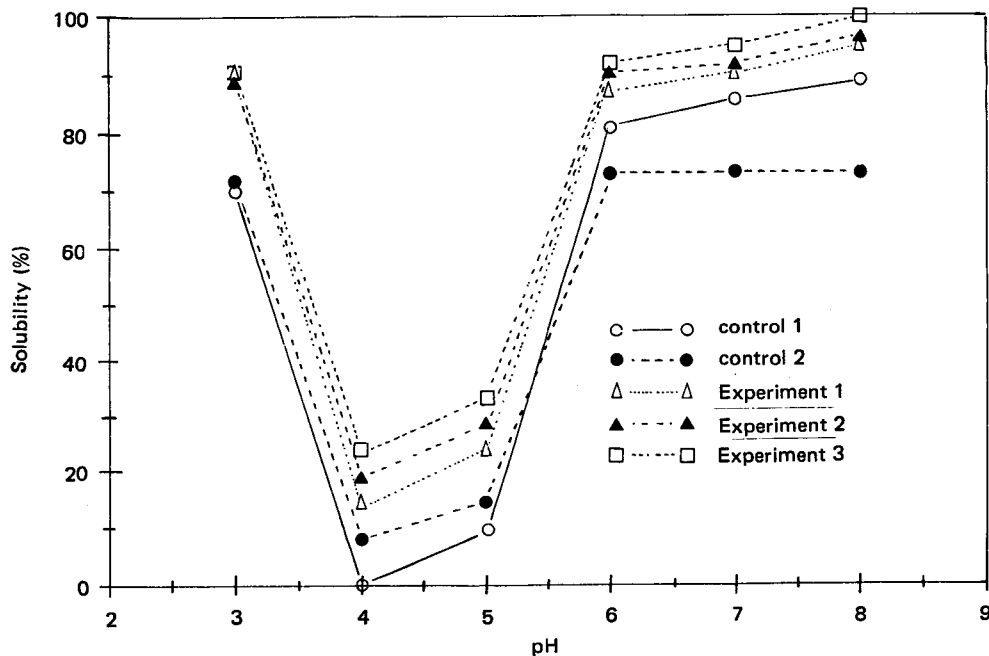


Fig. 4. Solubility profiles of control and protease-modified casein. Control 1: Native casein, Control 2: Heated casein without protease Experiment 1: Heated casein with protease, Experiment 2 (3): Casein modified with protease for 10 (60) min

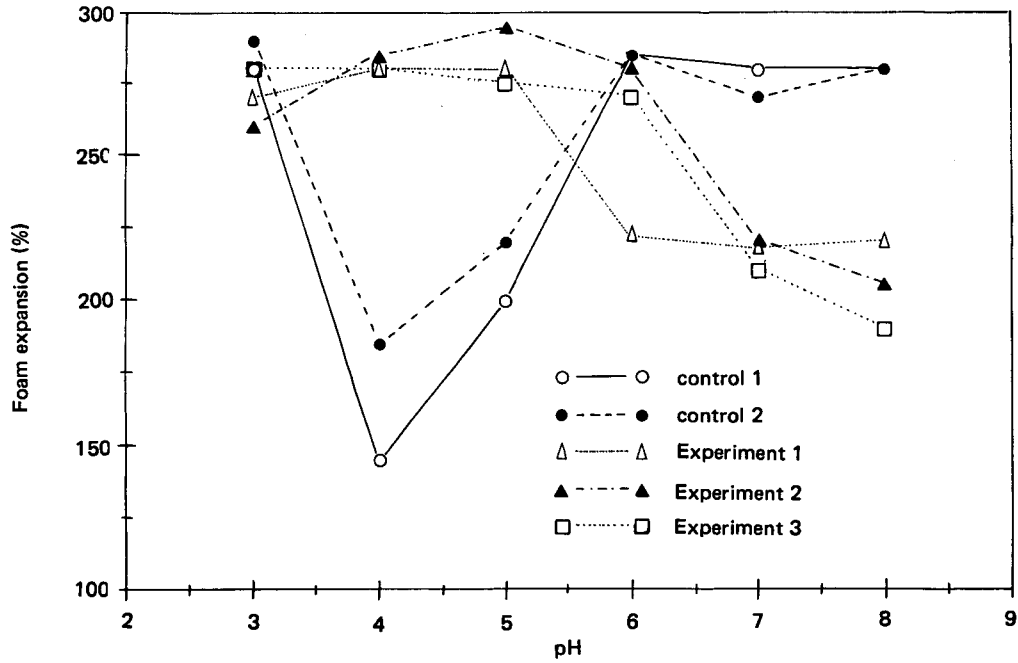


Fig. 5. Foam expansion of control and protease-modified casein as a function of pH (the same options to Fig. 4)

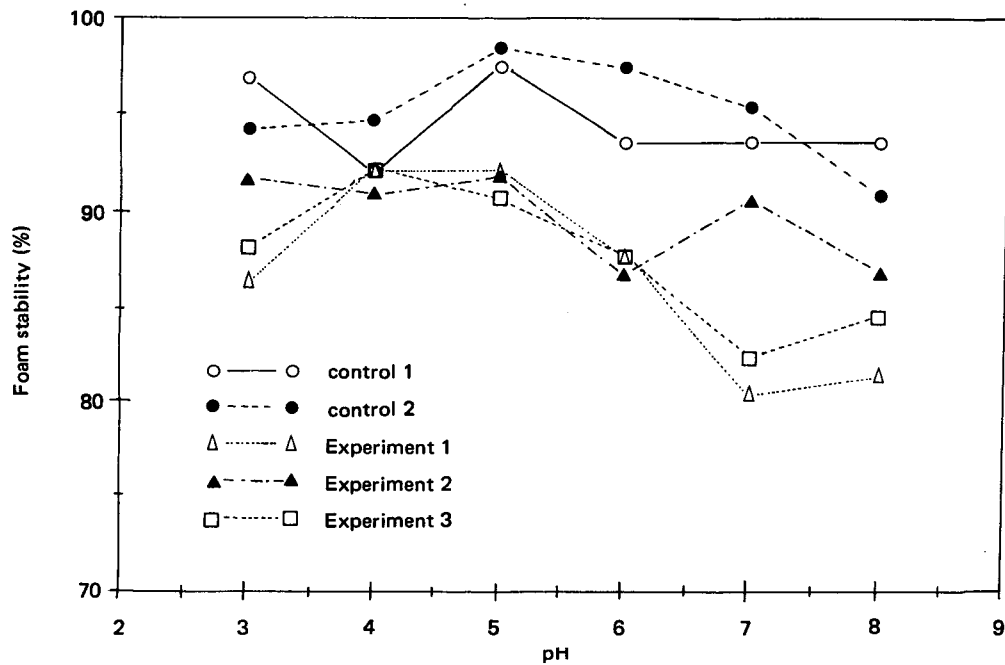


Fig. 6. Foam stability of control and protease-modified casein as a function of pH (the same options to Fig. 4)

반면 실험군의 경우 기포형성력은 실험군 1의 경우 pH 4, 5에서는 각각 280, 280%, 실험군 2는 285, 295%, 실험군 3의 경우 280, 275%로 대조군 들에 비해 높은 수치를 나타냈다.

이러한 결과로 보아 카제인의 효소에 의해 가수분해가 될 경우 산성 pH에서 기포 형성에 유리한 방향으로 카제인 분자의 구조가 변형되었기 때문인 것으로 보인다.

그러나 pH 6, 7, 8에서 대조군 1의 기포 형성력은 각각 285, 280, 280%, 대조군 2의 경우는 285, 270, 280%의 기포 형성력을 보였으며 실험군 1은 22, 218, 220%, 실험군 2는 280, 220, 205%, 실험군 3은 270, 210, 190%로 실험군들의 기포 형성력은 대조군들에 비해 낮았다.

이러한 결과로 보아 기포 형성을 필요로 하는 경우, 키위 단백질 분해효소 처리는 산성 조건인 pH 4.5에서는 바람직하다고 하겠지만 알카리 조건에서는 바람직하지 못한 것으로 사료된다.

### 3) 기포 안정성

기포 안정성의 결과는 Fig. 6에 제시한 바와 같다.

열처리와 효소처리의 유무에 관계없이 등전점 부근인 pH 4.5에서 기포 안정성이 대조군 1은 각각 92, 98%,

대조군 2는 95, 98%, 실험군 1은 92, 92%, 실험군 2는 91, 92%, 실험군 3은 92, 91%로 대조군들에 비해 실험군이 약간 낮은 기포 안정성을 보였다. 그러나 대조군들의 경우 pH 4.5에서 기포 형성력이 효소 처리군 보다 훨씬 낮았으므로 실제로 남아있는 기포의 잔존량은 실험군들이 훨씬 많았다.

또한 pH 6, 7, 8에서는 대조군 1은 각각 94, 95, 95%, 대조군 2는 97, 95, 91%, 실험군 1은 88, 80, 81%, 실험군 2는 87, 91, 87% 및 실험군 3은 88, 82, 85%로 대조군들은 효소 처리군들에 비해 높은 기포 안정성을 보였다. 이러한 결과로 보아 키위 단백질 분해 효소에 의한 카제인 가수분해물을 기포제로 사용시 산성 pH에서 이용하는 것이 바람직할 것으로 보인다.

위와 같이 단백질 분해효소에 의한 기포 형성력 증가 및 안정성 감소 현상은 계란 알부민<sup>18)</sup>과 대두 단백질<sup>19)</sup>에서도 보고된 바 있다.

그러므로 산성 pH에서의 기포 형성력 및 안정성은 카제인의 가수분해도에 의해서 좌우된다고 볼 수 있다. 즉 분자량이 24000 이하일 경우 비교적 양호한 기포 형성력 및 안정성을 얻을 수 있을 것으로 보인다.

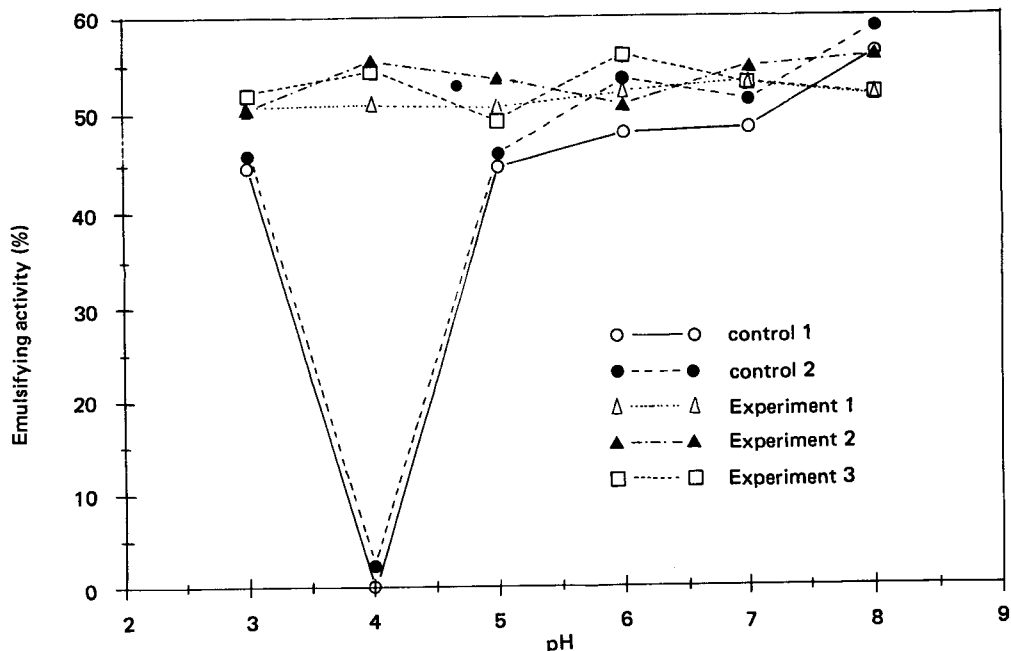


Fig. 7. Emulsifying activity of control and protease-modified casein as a function of pH (the same options to Fig. 4)

#### 4) 유화력 (Emulsifying activity)

키위 단백질 분해효소가 유화력에 미치는 영향을 Fig. 7에 제시하였다.

pH4에서 대조군 1의 유화력은 0%, 대조군 2는 2.2%로 실험군 1의 51%, 실험군 2의 56%, 실험군 3의 55%에 비해 훨씬 낮은 유화력을 보였다. 이러한 현상은 천연 카제인의 경우 친수성 잔기보다는 소수성 잔기가 단백질 표면에 훨씬 많이 존재해 유화하는데 필요한 적당량은 친수 혹은 소수성 잔기의 부족에 기인한 것으로 보인다.

실험군들의 경우 거의 모든 pH에서 50% 이상의 유화력을 나타냈다. 이와같은 현상은 카제인을 트립신으로 처리했을 때에도 나타났다는 보고가 있다<sup>20)</sup>.

위와 같은 결과로 보아 키위 단백질 분해 효소의 경우도 카제인의 등전점 부근에서의 유화력 감소 현상을 개선시키기 위한 방법으로 사용이 가능하다고 사료된다.

#### IV. 결론 및 제언

본 연구에서는 키위 단백질 분해효소의 효소학적 특성을 살피고 이를 카제인에 처리하여 단백질의 식품학적 기능성을 살펴봄으로써 키위 단백질, 분해효소의 식품 산업에의 이용 가능성과 효소에 의한 가수분해법이 단백질의 기능성을 향상시킬 수 있는지 알아보고자 하였다.

1. 본 실험에 이용된 키위 단백질 분해효소의 specific activity는 196.95 units/mg protein이었다. 최적 pH는 pH 3.0 최적 온도는 60°C였다.

2. 키위 단백질 분해효소에 의한 카제인의 가수분해도는 효소 반응 10분후엔 73.5% 20분후엔 79.9%로 급격히 증가했으며 그 이후 완만한 증가를 나타냈다.

3. SDS-PAGE로 분자량의 변화를 살피본 결과 효소 반응이 진행됨에 따라 실험군 1은 분자량이 23000 이하에서 실험군 2는 20000 이하에서 넓은 띠를 나타냈다.

4. 키위 단백질 분해효소 처리 후 카제인의 용해도를 pH 3~8에서 측정한 결과 대조군들에 비해 실험군들은 pH 4.5에서 뚜렷한 증가 현상을 볼 수 있었다.

5. 기포 형성력 및 안정성에 미치는 효과의 경우 실험군들은 대조군들에 비해 pH4와 5에서 기포 형성력이 증가하였으나 pH7과 8에서는 기포 형성력이 감소하였다. 기포 안정성은 전 pH에 걸쳐 대조군들보다 실험군들이 낮게 나타났다.

6. 키위 단백질 분해효소가 카제인의 유화력에 미치는 영향은 대조군들에 비해 실험군들이 pH 4에서 현저한 유화력 증가를 나타냈다.

이상과 같은 결과로 보아 키위 단백질 분해효소로 카제인을 가수분해 시키면 카제인의 등전점 부근에서의 식품학적 기능성이 향상될 수 있을 것으로 생각된다.

#### <감사의 글>

본 논문은 1990년도 연세대학교 학술연구비의 지원으로 수행된 것으로 이에 감사를 드립니다.

#### 참 고 문 헌

- 1) 알칼리성 식품 키위, 무공해 식품으로 인기, 식품과 위생, 5월, 1990
- 2) Beutel, J.A., Winter, F.H., Manners, S.C. and Miller, M.W., A new crop for california kiwifruit. *Calif. Agric.*, 30:5, 1976
- 3) Lweis, D.A. and Luh, B.S., Application of actinidin from kiwifruit to meat tenderization and characterization of beef muscle protein hydrolysis. *J. Food Biochem.*, 12:147, 1988
- 4) McDowall, M.A., Anionic proteinase from *Actinidia chinensis* preparation and properties of the crystalline enzyme. *Eur. J. Biochem.*, 14:214, 1970
- 5) Carne, A. and Moore, C.H., The amino acid sequence of the tryptic peptides from the fruit of *Actinidia chinensis*. *Biochem. J.*, 173:73, 1978
- 6) Brunner, J.R., Milk proteins. Un "Food Proteins", ed. Whitaker, J.R. and Tannenbaum, S.R., AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut, 1977
- 7) Chobert, J.M., Bertrand-Herb, C., Dalgalarondo, M. and Nicolas, M.G., Solubility and emulsifying properties of beta casein modified enzymatically by tripsin. *J. Food Biochem.*, 13:335, 1989
- 8) Chobert, J.M., Bertrand-Herb, C., Nicolas, M.G., Gaertner, H. F., and Puigserver, A. J., Solubility and emulsifying properties of caseins chemically modified by covalent attachment of L-methionine and L-valine. *J. Agric. Food Chem.*, 35:638, 1987
- 9) Kunitz, M., Crystalline soybean trypsin inhibitor. *J. Gen. Physiol.* 30:291, 1947
- 10) Bradford, M.M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal.*



- Biochem.*, **72**:248, 1976
- 11) Adler-Nissen, J., Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.*, **27**:1256, 1979
  - 12) Webber, K. and Osborn, M., The reliability of molecular weight determinations by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, **244**:4406, 1969
  - 13) Harris, E.L.U., INITIAL PLANNING, In "Protein purification methods". ed. Harris, E.L.U. and Angal, S., Oxford University Press New York. N.Y., 1989
  - 14) Wang, J.C. and Kinsella, J.E., Functional properties of alfalfa leaf protein: Foaming. *J. Food Sci.*, **41**:498, 1976
  - 15) Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J., Wada, T. and Ishii, K., Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agric. Biol. Chem.*, **36**:719, 1972
  - 16) Phillips, R.D. and Beuchat, L.R., Enzyme modification of proteins, In "Protein functionality in foods" ed. Cherry, J.P. American Chemical Society, Washington, D. C., 1981
  - 17) Beuchat, L.R., Cherry, J.R. and Quinn, M.R., Physicochemical properties of peanut flour as affected by proteolysis. *J. Agric. Food Chem.* **23**:616, 1975
  - 18) Grunden, L.P., Vadehra, D.V. and Baker, R.C., Effects of proteolytic enzymes on the functionality of chicken egg albumen. *J. Food Sci.*, **39**:841, 1974
  - 19) 강여주, 대두단백질의 효소적 변형 : 분리대두단백질의 기능성에 미치는 단백질 가수분해의 영향. 한국식품과학회지, **16**:211, 1984
  - 20) Chobert, J.M., Bertrand-Herb, C., and Nicolas, M.G., Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by tripsin. *J. Agric. Food Chem.*, **36**:883, 1988