

DEAE-Cellulose에 의한 산양유 Casein의 분별 및 이화학적 성질에 관한 연구

임동현 · 전우민* · 한경식 · 김병철 · 황광연 · 김세현
고려대학교 응용동물학과 · *삼육대학교 응용동물학과

Fractionation and Physicochemical Characteristics of Caprine Casein by DEAE-Cellulose

D. H. Lim, W. M. Jeon*, K. S. Han, B. C. Kim, K. Y. Whang and S. H. Kim
Dept. of Animal Science, Korea University
*Dept. of Animal Science, Sahmyook University

ABSTRACT

This experiment was carried out to study fractionation and physicochemical characteristics of caprine casein. Acid caseins obtained from caprine colostrum and normal milk were analyzed by chymosin treatment and fractionated by DEAE-cellulose column chromatography with linear gradient and electrophoresis. Protein, fat and lactose of caprine normal milk were $2.70 \pm 0.27\%$, $3.82 \pm 0.51\%$, and $4.10 \pm 0.29\%$, respectively. More non-protein nitrogen (NPN) was released by chymosin treatment from caprine colostrum casein than normal casein. The electrophoretic pattern of caprine casein was not similar to that of bovine casein. Caprine normal casein was fractionated by DEAE-cellulose column chromatography with a 0.08~0.18 M NaCl linear gradient into 5 peaks with the proportion of 5.27%, 26.07%, 25.97%, 30.40% and 12.29%, respectively. In order to identify the pure fraction, the chymosin-treated caprine normal casein was fractionated by DEAE-cellulose column chromatography with a 0.08~0.18 M NaCl linear gradient into 6 peaks with the proportion of 17.06%, 9.10%, 17.85%, 20.11%, 27.03% and 8.85%, respectively.

(Key words; caprine casein, DEAE-cellulose column chromatography, electrophoresis, NPN (non-protein nitrogen))

I. 서 론

산양은 소보다 질소와 물을 더 효과적으로 이용하는 반추동물로 크기가 작고 민첩하기 때문에 우리나라와 같이 산야가 많거나 조악한 지형뿐 아니라 냉대에서 열대에 이르는 다양한 기후대에 서도 사육이 가능한 특성을 가지고 있다^{1,2)}. 국내에서는 1903년 처음으로 Saanen종이 도입된 이후 도시 근교에서 유산양이 사육되기 시작하였으나 1970년대 들어 국민 보건 위생상 산양유의 자가 처리가 금지되어 우유 소비가 급증한 반면 산양유의 생산은 크게 줄어들게 되었다³⁾. 이미 유럽 등의 선진국에서는 산양유의 유제품, 특히 치즈의 소비 증가로 원유에 대한 많은 연구가 진행되고 있으나 국내의 경우, 일부 재래산양에 국한되고 있을 뿐 우유에 비해 극히 미비한 실정이다³⁻⁵⁾. 일반적으로 산양유 단백질은 우유 단백질보다 더 빨리 소화되고 산양유 아미노산이 우유의 그것보다 더 효과적으로 흡수되며 단백질 구조가 인유의 단백질 구조와 가장 유사하여 알레르기나 설사 등의 부작용이 없을 뿐만 아니라 연질 curd의 생성에 의해 위장 장애자에게 유용한 것으로 보고되고 있어 그 식품적 기능이 다시 부각되고 있다⁶⁾. 특히, 산양유 casein은 총단백질 중 약 76%를 차지하며 주요 구성 성분으로서 α_2 -casein, β -casein 및 κ -casein이 분리, 확인되었다⁷⁾. 그러나, 각 casein의 성상은 우유 casein과 비슷한 것으로만 알려져 있을 뿐 아직 우유와 같이 자세한 연구가 진행되어 있지 않은 실정이다⁸⁻¹⁰⁾. 따라서, 본 실험은 산양유 casein의 조성 및 이화학적 성질에 관하여 연구하고자 DEAE-cellulose column chromatography 및 polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 산양유 casein을 분리하였으며 각 분획의 조성 및 전기영동상 이동성 그리고 chymosin에 따른 변화를 살펴보고자 실시되었다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

1) 산양유

강원도 홍천지역에서 사육중인 Saanen종과 Nubian종으로부터 분만 직후 초유 및 정상유를 채취하여 사용하였다.

2) Acid casein

산양유를 20℃, 4,000×g에서 30분간 원심분리하여 지방을 제거한 다음 동량의 증류수로 희석하였으며 0.1 N HCl로 pH 4.6으로 조정하고 약 30분동안 정지한 후, 2,000 r.p.m.으로 10분간 원심분리하여 침전물을 회수하였다. 이 침전물을 3~4회 증류수로 세척한 다음 현탁시킨 뒤 0.1 N NaOH를 사용하여 pH를 7.0으로 조정하고 다시 0.1 N HCl로 pH를 4.6으로 조정하는 과정을 2번 이상 반복한 다음 침전물을 여과, 동결건조 후 -20℃에 보관하며 사용하였다.

2. 방 법

1) 일반성분 분석

A.O.A.C.¹¹⁾방법에 준하여 일반성분을 분석하였다.

2) Non-Protein Nitrogen(NPN) 유리량의 측정

(1) Chymosin 반응

Casein 용액(2%) 5 ml를 13개의 test tube에 각각 주입한 뒤 35℃에서 5분간 정지시킨 다음 chymosin(10 mg/ml, EC 3.4.23.4) 용액 0.2 ml를 대조구를 제외한 각각의 test tube에 첨가하여 혼합하였다. 그 다음 2개씩의 tube를 35℃에서 다양한 시간(0, 10, 20, 30, 40, 50 및 60분)동

안 정치시키고 꺼내어 4°C이하로 급냉시켰다. 그 후 24% TCA(trichloroacetic acid) 용액 5 ml를 즉시 tube에 넣고 혼합시킨 다음 30분간 정치시키고 Whatman No. 42 여과지로 여과시켰다.

(2) NPN의 측정

Lowry 등¹²⁾의 Folin phenol 방법에 준하여 정량하였다. 0.1 N NaOH 용액에 sodium carbonate를 2%로 용해시킨 용액 I과 0.5% cupric sulfate와 1% sodium citrate를 혼합한 용액 II를 50 : 1의 비율로 혼합하여 alkaline copper 시약을 제조하였으며 Folin 시약은 Folin-ciocalteus phenol reagent를 2배로 희석하여 사용하였다. 시료 1 ml에 alkaline copper 시약 5 ml를 첨가하여 혼합한 다음 10~15분간 정치시킨 후 0.2 ml의 Folin 시약을 첨가하여 즉시 흔들어 준 다음 상온에서 30분간 정치하였다. 다음에 발색된 시료를 spectrophotometer로 750 nm에서 흡광도를 측정 한 후 표준곡선에 대입하여 NPN량을 정량하였다.

3) DEAE-cellulose column chromatography

이 방법은 Rose 등¹³⁾ 및 Davies와 Law¹⁴⁾의 방법에 준하여 실시하였다.

산 casein 375 mg을 alkylation시킨 다음 Tris-HCl-urea(THU; 5 mM tris-HCl-6 M urea, pH 8.6) buffer에 투석하여 시료로 사용하였다. DEAE-cellulose(Whatman DE52, England)를 0.5 N HCl과 0.5 N NaOH 용액을 사용하여 수지에 전하를 갖게 하고 THU buffer를 사용하여 평형상태가 되도록 한 다음 2.5×35 cm의 column에 30 cm까지 충전시킨 후 약 200 ml의 buffer를 흘려주어 수지를 안정화시켰으며 유출 속도는 시간당 40~60 ml가 되도록 조정하였다. 준비된 column에 20 ml의 시료(250 mg casein 함유)를 주입한 다음 0.03 M NaCl을 함유한 200 ml의 buffer를 유출시키고 chamber I (0.03 M~0.08 M NaCl을 함유한 300~500 ml THU buffer)와 chamber II (0.18 M~0.25 M NaCl을 함유한 300~500 ml THU buffer)를 연결하였으며

fraction collector(Bio-rad, Model 2110, USA)로 8 ml씩 회수한 후 spectrophotometer(Beckman DU-64, USA)를 사용하여 280 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) Slab polyacrylamide gel electrophoresis

전기영동은 Rose 등¹³⁾ 및 Davies와 Law¹⁴⁾의 방법에 준하여 실시하였다. Tris-citrate-urea-mercaptoethanol buffer(0.076 M tris, 0.01 M citric acid, 8 M urea, 0.04 M mercaptoethanol, pH 8.6)를 사용하여 7% polyacrylamide gel에서 15 mA로 전기영동을 실시한 후 1% amido black 10B dye 용액으로 염색시키고 탈색 용액(methanol : water : acetic acid = 5 : 10 : 1, v:v:v)으로 반복하여 탈색시킨 뒤 사진 촬영하였다.

III. 결과 및 고찰

산양유의 일반성분 함량을 3회 이상 반복하여 측정 한 평균치는 Table 1과 같다. 지방함량의 경우, Mba 등⁴⁾이 서아프리카에서 Saanen종에 대해 보고한 3.41% 및 그리스에서 Voutsinas 등¹⁵⁾이 Alpine종에 대해 보고한 3.44%보다 높은 함량을 나타내었고 단백질 함량의 경우, Sawaya 등¹⁶⁾이 Masri종과 Alpine종에 대해 보고한 3.41%와 3.28% 및 Voutsinas 등¹⁵⁾이 Alpine종에 대해 보고한 3.35%보다 훨씬 낮은 수치를 나타내었다. 또한 유당의 경우 Denvendra¹⁷⁾가 Nubian종에 대해 보고한 4.05%와는 비슷하였으나 Voutsinas¹⁵⁾가 Alpine종에 대해 보고한 4.30%보다는 조금 낮은 수치였다. 이러한 성분함량의 차이는 Jenness⁶⁾가 보고한 바와 같이 기후적인 영향뿐만 아니라 품종 및 사양 수준 등에 따라 상이한 것으로 판단된다.

Fig. 1은 chymosin을 첨가한 후 처리시간에 따라 산양 초유 및 정상유 casein에서 유리된 NPN 함량을 비교한 것으로 이러한 유리양상은 Zittle과 Custer¹⁸⁾에 의해 보고된 결과와 동일하였으며 chymosin 처리한 후 10분까지 급격히 유

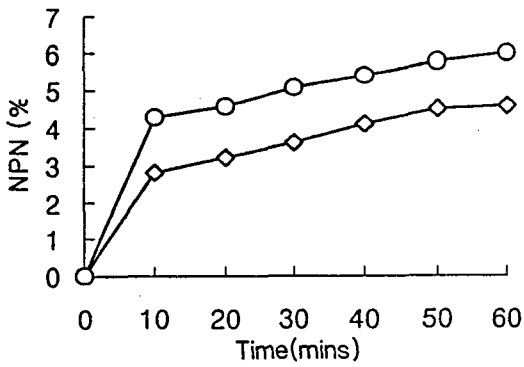


Fig. 1. Amount of NPN released by chymosin treatment from 2% caprine casein solution at 35°C. ○-○ : Colostral casein, ◇-◇ : Normal casein.

리되는 양상을 보이지만 시간이 경과되면서 유리되는 양은 점차 감소하였다. 특히, 초유 casein에서 유리된 NPN량이 정상유의 그것보다 많은 것을 보았을 때 산양 초유내 κ -casein 함량은 정상유보다 더 풍부함을 알 수 있었다. 산양유도 우유와 마찬가지로 κ -casein이 존재하고 전기영동상에 특이한 변화를 가지며 칼슘이온에 침전되지 않는 것으로 알려져 있다. 또한, chymosin 처리시 κ -casein의 105번째 phenylalanine 잔기와 106번째 methionine 잔기 사이가 분해되어 불용성의 para- κ -casein과 가용성의 glycomacropeptide로 분리되고 chymosin 작용에 의해 유리되는 NPN은 glycomacropeptide로 알려져 있다^{6,18)}.

Holstein종 우유 casein, Saanen종 및 Nubian종 산양유 casein과 각각 chymosin 처리한 cas-

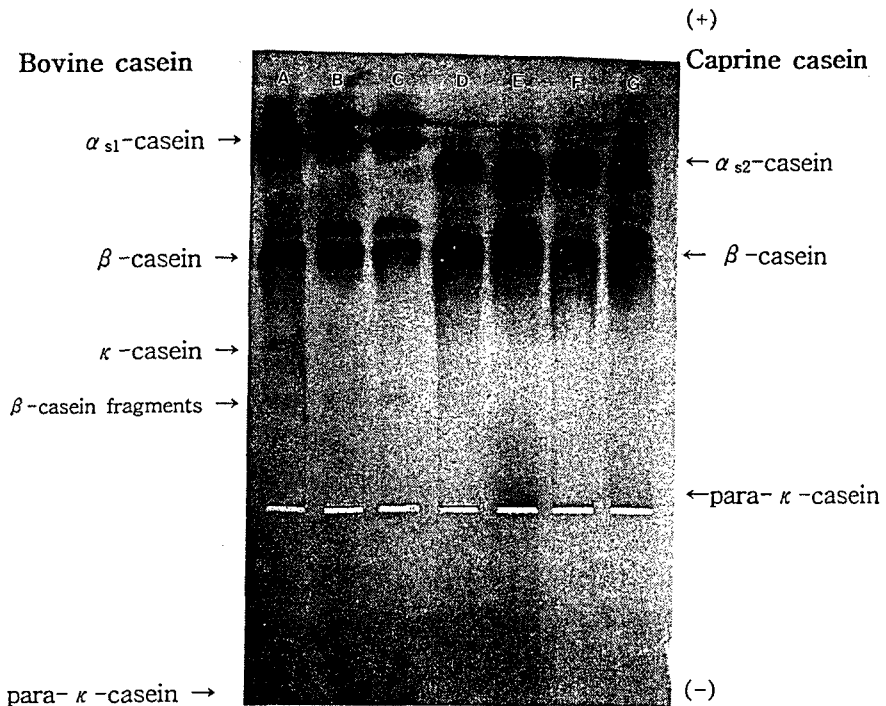


Fig. 2. Polyacrylamide slab gel electrophoretic pattern of chymosin treatment on bovine and caprine whole casein.

A. Bovine whole casein B. and C. Bovine whole casein + chymosin D. Saanen whole casein
E. Saanen whole casein + chymosin F. Nubian whole casein G. Nubian whole casein + chymosin

ein을 7% polyacrylamide slab gel에서 전기영동한 결과는 Fig. 2와 같다. 먼저, 우유 casein의 경우, α_5 -casein 중 α_{51} -casein이 major band로 나타났으며 산양유 casein은 α_{51} -casein보다 이동도가 느린 α_{52} -casein이 나타났다. 이러한 결과는 Ri-

chardson과 Creamer¹⁹⁾에 의해 보고된 결과와 동일하였으며 산양유내에는 α_{52} -casein이 다량 존재함을 알 수 있었다. 또한, 두 품종의 산양유에서는 우유 β -casein 위치에 이동도가 매우 비슷한 2개의 β -casein band가 나타났다. 이러한 결과 역시, Addeo 등¹⁰⁾이 보고한 결과와 동일하였으며 인 함량의 차이에 따른 2종의 변이체로 추정되었다²⁰⁾. κ -Casein의 경우, 우유 casein에서는 band가 나타난 반면 두 품종의 산양유 casein에서는 우유 κ -casein의 위치에서 아무런 band가 나타나지 않았다. 또한, 각 casein에 chymosin을 처리한 결과 우유 casein의 경우 κ -casein은 사라지고 para- κ -casein band가 음전하쪽에 나타난 반면, 두 품종의 산양유 casein의 경우 chymosin을 처리한 두 품종 모두에서 어느 band도 사라지지 않고 β -casein의 위치와 바로 위 부분에서 선명한 band들이 나타났으며 slot의 위부분에 para- κ -casein으로 추정되는 band가 나타났다. 우유 casein의 경우 다른 보고자와 결과가 동일하였으며 산양유 casein의 경우, Zittle과 Custer¹⁸⁾도 이와 동일한 결과를 보고한 반면, Addeo 등¹⁰⁾은 para- κ -casein band가 slot의 바로 위부분에서 2개가 나타났다고 보고하였다. 이러한 실험을 통하여 산양유 casein은 chymosin 처리시 사라지는 band가 명확히 확인되지 않아 β -casein과 κ -casein을 동정하기 어려웠다.

DEAE-cellulose column chromatography에 의하여 alkylation된 우유 casein을 0.03~0.25 M NaCl linear gradient로 조절하여 용출시킨 결과, Fig. 3과 같이 4개의 분획으로 분별되었다. 이는 본 실험과 동일한 조건하에서 한 등²¹⁾에 의해 보고된 용출양상과 비슷한 경향을 나타내었으며 각각 β -casein fragments, κ -casein, β -casein 및 α_5 -casein으로 알려져 있다. 우유 casein과 동

일한 조건하에서 산양 정상유 casein을 주입한 결과는 Fig. 4와 같다. 총 5개의 분획으로 용출되었으며 NaCl gradient 농도로 미루어 F-1은 β -casein fragments이고 F-5는 α_5 -casein의 일종임을 추정할 수 있었으나 다른 분획들은 명확히

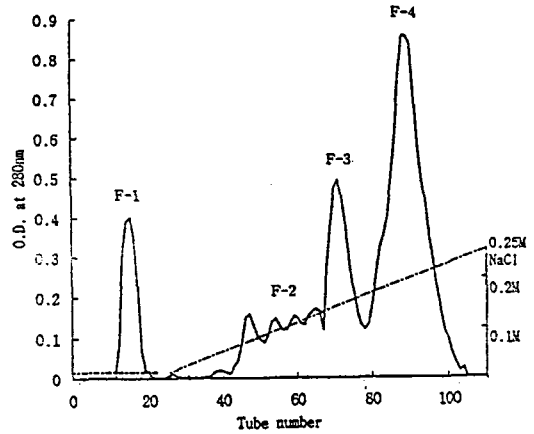


Fig. 3. Fractionation of bovine alkylated whole casein by DEAE-cellulose column chromatography using THU buffer with a linear NaCl gradient(0.03~0.25 M).

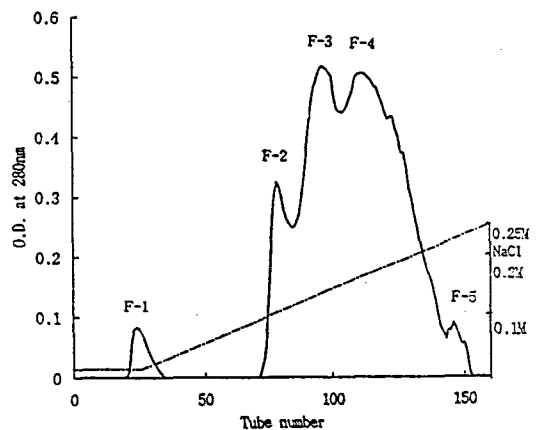


Fig. 4. Fractionation of caprine alkylated whole casein by DEAE-cellulose column chromatography using THU buffer with a linear NaCl gradient(0.03~0.25 M).

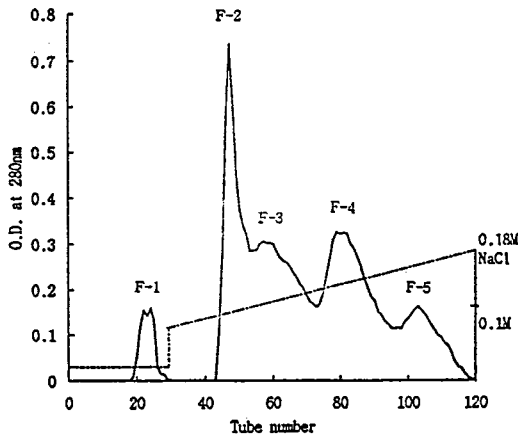


Fig. 5. Fractionation of caprine alkylated whole casein by DEAE-cellulose column chromatography using THU buffer with a linear NaCl gradient(0.08~0.18 M).

분별되지 않아 동정하기 어려웠다. 김과 강²⁾은 Saanen종 전 casein을 0~0.3 M NaCl gradient를 이용하여 Tris-citrate-urea buffer(pH 8.6, 0.005 M tris)를 사용한 DEAE-cellulose column chromatography에 의해 8개의 peak로 분리하였으며 장과 김²⁾은 김과 강²⁾과 동일한 조건하에서 실험한 결과 크게 4개의 분획으로 분리하였고 그 중에서 α_2 -casein과 β -casein을 추정하였다.

이상의 보고된 결과들을 본 실험 결과와 비교하였을 때 chromatography 용출양상의 주된 차이는 gradient에 사용된 NaCl 농도 차이이므로

동일한 조건하에서 앞서 수행된 농도와는 다르게 0.08~0.18 M NaCl의 linear gradient를 사용하여 산양유 casein을 분별한 결과는 Fig. 5와 같다. 이와 같은 gradient 농도는 앞서 수행된 linear gradient에서 산양유 casein의 각 분획이 용출되는 농도를 기준으로 하여 채택한 것이며, 첫 번째 분획이 용출되었던 농도인 0.03 M의 NaCl을 첨가한 THU buffer 200 ml를 먼저 흘려준 후, 다음으로 분획이 멎쳐서 용출되기 시작전에 각각 약 380 ml의 0.08 M과 0.18 M NaCl이 함유된 buffer를 흘려주었다. 그 결과, 분획 F-1은 NaCl 농도 약 0.03 M에서 용출되었고, F-2는 0.08~0.09 M, F-3은 0.10~0.12 M, F-4는 0.13~0.14 M, F-5는 0.15~0.16 M에서 각각 용출되었다. 각 분획의 함량비율은 Table 2에 나타난 바와 같다. 이와 같은 실험 결과 산양유의 각 casein을 순수하게 분별할 수 없었으므로 다시 chromatography상에서 확인하고자 동일한 조건하에서 산양유 casein에 chymosin을 처리하여 DEAE-cellulose column chromatography를 실시한 결과는 Fig. 6과 같다. 크게 6개의 분획으로 분별되었으며 분획 F-1은 NaCl 농도가 약 0.03 M에서 용출되었고, 0.03~0.08 M 사이에서 F-2와 F-3가 용출되었으며, F-4는 0.12~0.13 M, F-5는 0.13~0.14 M, F-6은 0.15~0.16 M에서 각각 용출되었다. 분획별 함량비율은 Table 2와 같다. Fig. 6에서는 Fig. 5의 F-2와 F-3의 chromatography상 용출양상이 변화되어 3개의 새로운 peak가 다른 NaCl 농도범위에서 용출된 것으로

Table 1. The components of caprine normal milk(%)

	Protein	Fat	Lactose	Total solid
Caprine milk	2.70±0.27	3.82±0.51	4.10±0.29	11.32±0.53

Table 2. The area of fraction obtained by DEAE-cellulose column chromatography(0.08~0.18 M NaCl linear gradient) of caprine normal casein and chymosin-treated caprine normal casein(%)

	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6
Caprine casein	5.27	26.07	25.97	30.40	12.29	—
Chymosin-treated caprine casein	17.06	9.10	17.85	20.11	27.03	8.85

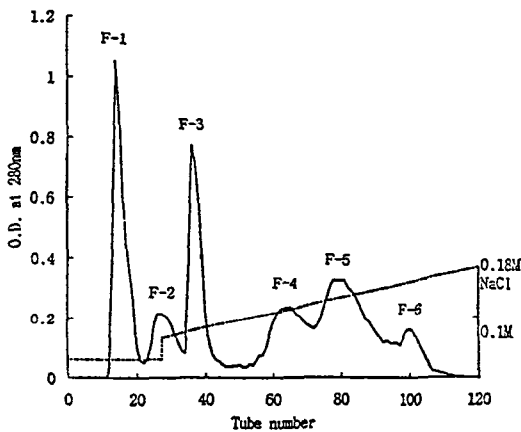


Fig. 6. Fractionation of chymosin-treated caprine alkylated whole casein by DEAE-cellulose column chromatography using THU buffer with a linear NaCl gradient(0.08~0.18 M).

보아 Fig. 5의 F-2와 F-3은 κ -casein이 주로 함유된 분획으로 추정되었다. Zittle과 Custer¹⁸⁾ 및 Addeo 등²⁰⁾에 의하면 용출된 양상이 κ -casein은 β -casein에 의해 가려져 있다고 보고되어 있어 본 실험결과를 토대로 산양유 κ -casein이 우유 κ -casein보다 더 음전하를 띠며 산양유 β -casein과 비슷한 음전하를 띠고 있어 NaCl 농도가 점차적으로 증가함에 따라 명확한 분별없이 혼입되어 용출된 것으로 추정되었다. 따라서, chymosin 처리된 전 casein을 전기영동하였을 때 나타난 결과 역시 이와 같은 κ -casein의 성질 때문이라 판단된다.

IV. 요약

본 실험은 산양유 casein의 조성 및 분별 그리고 이화학적 성질에 관하여 연구하고자 산양유의 일반성분을 분석하고 초유와 정상유로 산 casein을 제조하였으며 chymosin 작용과 전기영동에 의한 분리특성 및 DEAE-cellulose column chromatography에 의한 분별을 실시하였다. 그 결과, 산양 정상유의 단백질, 지방, 유당 함량은

각각 $2.70 \pm 0.27\%$, $3.82 \pm 0.51\%$ 및 $4.10 \pm 0.29\%$ 이었으며 정상유 casein보다 초유 casein에서 chymosin 처리에 의해 더 많은 NPN 함량이 유리되었다. 우유 및 산양유 casein을 chymosin 처리하여 전기영동을 실시한 결과 casein 조성이 서로 다르게 나타났으며 그 분리양상 또한 차이를 보였다. 산양 정상유 casein을 0.03~0.25 M NaCl linear gradient로 DEAE-cellulose column chromatography를 실시한 결과 명확히 분별되지 않아 농도 기울기를 달리한 0.08~0.18 M NaCl linear gradient로 column chromatography를 실시한 결과 5개의 peak로 분리되었고 그 비율은 각각 5.27%, 26.07%, 25.97%, 30.40% 및 12.29%이었다. 또한, 순수한 동정, 특히 κ -casein 분획을 확인하기 위하여 chymosin을 처리한 산양 정상유 casein을 동일한 조건에서 column chromatography를 실시한 결과 6개의 peak로 분리되었으며 그 비율은 각각 17.06%, 9.10%, 17.85%, 20.11%, 27.03% 및 8.85%로 나타났다.

V. 감사의 글

본 연구는 고려대학교 특별연구비 수혜로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

VI. 참고문헌

1. Parkash, S., and Jenness, R. : The composition and characteristics of goat's milk : A review. Dairy Science Abstracts, 30(2), 67(1968).
2. 장주익, 김영교 : Saanen乳의 理化學的 성질에 관한 연구. 한국축산학회지, 20(3), 207 (1978).
3. 이현종 : 산양유 Casein의 성상. 한국유가공 기술과학회지, 3(1), 3(1983).
4. Mba, A.U., Boyo, B.S., and Oyenuga, V. A. : Studies on the milk composition of West African dwarf, Red Sokoto and

- Saanen goats at different stages of lactation. I. Total solids, butter fat, solids-not-fat, protein, lactose and energy contents of milk. *J. Dairy Res.*, 42, 217 (1975).
5. Akinsoyinu, A.O., Mba, A.U., and Olu-bajo, F.O. : Studies on milk yield and composition of the West African dwarf goat in Nigeria. *J. Dairy Res.*, 44, 57 (1977).
 6. Jenness, R. : Composition and characteristics of goat milk : Review 1968-1979. *J. Dairy Sci.*, 63, 1605(1980).
 7. Zittle, C.A. : Precipitation of caprine and bovine caseins from acidic solutions by sodium polyphosphate ; Influence of pH and Urea. Utilization for separation of α_2 - and κ -casein. *J. Dairy Sci.*, 50, 1352(1967).
 8. Brignon, G., Rivadeau Dumas, B., and Mercier, J. C. : Premiers elements de structure primaire des caseins α_2 -bovines. *FEBS Letters*, 71, 111(1976).
 9. Kotts, C., and Jenness, R. : Isolation of κ -caseins-like proteins from milks of various species. *J. Dairy Sci.*, 59(2), 816 (1976).
 10. Addeo, F., Soulier, S., Pelissier, J.P., Chobert, J.M., Mercier, J.C., and Ribadeau-Dumas, B. : Preparation and fractionation of goat κ -casein : analysis of the glycan and peptide components. *J. Dairy Res.* 45, 191(1978).
 11. Association of Official Analytical Chemists(A.O.A.C.) : Official methods of analysis. 15th ed., Washington, D.C.(1990).
 12. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A. L., and Randell, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951).
 13. Rose, D., Davies, D.T., and Yaguchi, M. : Quantitative determination of the major components of casein mixtures by column chromatography on DEAE-cellulose. *J. Dairy Sci.*, 52, 8(1969).
 14. Davies, D.T., and Law, A.J.R. : An improved method for the quantitative fractionation of casein mixtures using ion-exchange chromatography. *J. Dairy Res.*, 44, 213(1977).
 15. Voutsinas, L., Pappas, C., and Katsiari, M. : The composition of Alpine goat's milk during lactation in Greece. *J. Dairy Res.*, 57, 41(1990).
 16. Sawaya, W.N., Safi, W.J., Al-Shalhat, A. F., and Al-Mohammad, M.M. : Chemical composition and nutritive value of goat milk. *J. Dairy Sci.*, 67, 1655(1984).
 17. Devendra, C. : The composition of milk of British Alpine and Anglo-Nubian goats imported into Trinidad. *J. Dairy Res.*, 39, 381(1972).
 18. Zittle, C.A., and Custer, J.H. : Identification of the κ -casein among the components of whole goat casein. *J. Dairy Sci.*, 49, 788(1966).
 19. Richardson, B.C., and Creamer, L.K. : Comparative micelle structure. IV. The similarity between caprine α_2 -casein and bovine α_{s2} -casein. *Biochim. Biophys. Acta.*, 393, 37(1975).
 20. Richardson, B.C., and Creamer, L.K. : Comparative micelle structure III. The isolation and chemical characterization of caprine β_1 -casein and β_2 -casein. *Biochim. Biophys. Acta.*, 365, 133(1974).
 21. 한경식, 염창훈, 김세현, 김영교 : 비유기에 따른 초유 casein의 분자조성과 분별. *한국낙농학회지*, 19(1), 49(1997).
 22. 金榮教, 姜聲哲 : Saanen乳蛋白質의 理化學的 性質에 관한 研究. *高麗大學校 農科大學 農林論集*, 17, 199(1977).
 23. Addeo, F., Mauriello, R., and Di Luccia, A. : A gel electrophoretic study of caprine casein. *J. Dairy Res.*, 55, 413(1988).