



## 분자량에 따라 분획된 유청단백분해물이 *Bifidobacterium bifidum* Bb-11의 생장에 미치는 영향

김완섭 · 박승용\* · 이범진\*\* · 김평현\*\*\* · 고준수\*\*\*\*

일본 북해도대학 낙농과학연구소, \*연암축산원에대학 축산학부, \*\*강원대학교 약학대학,  
\*\*\*강원대학교 자연대학 미생물학과, \*\*\*\*강원대학교 축산가공학과

## Effects of Whey Protein Hydrolyzates Fractionated by Molecular Weight on the Growth of *Bifidobacterium bifidum* Bb-11

Wan-Sub Kim, Seung-Yong Park\*, Beom-Jin Lee\*\*,  
Pyeong-Hyeun Kim\*\*\* and Juhn-Su Goh

Dairy Science, Hokkaido University

\*Faculty of Animal Science, Yonam College of Agriculture,

\*\*Department of Pharmaceutics, \*\*\*Department of Microbiology, \*\*\*\*Department of Animal  
Food Science and Technology, Kangwon National University

### Abstract

This study was carried out to evaluate the effect of whey protein concentrate-80%(WPC-80) and whey protein isolate(WPI) on the growth of *B. bifidum* Bb-11. Whey proteins( $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin) were digested with trypsin, then their hydrolyzates were separated into three fractions (>10,000Da, 3,000~10,000Da, <3,000Da) by two-step ultrafiltration process with Centriprep 10 and Centricon-30. These three fractions by molecular weight were evaluate growth-promoting effects for the *B. bifidum* Bb-11. The results obtained were summarized as follows; The growth rate of *B. bifidum* Bb-11 tended to increase by supplementation of WPC-80 to basal medium, but decreased by supplementation of WPI. Two whey proteins were hydrolyzed by trypsin at 40°C for 6 hrs, and three fractions were collected by UF treatment and concentrated by Centricon-30. Collected concentrations of protein of F-I and F-II and F-III from  $\alpha$ -lactalbumin were 11.53mg, 7.79mg, and 5.21mg and those of protein from  $\beta$ -lactoglobulin were 4.13mg, 5.30mg, and 9.351mg, respectively. Three fractions of  $\alpha$ -lactalbumin hydrolyzates promoted the growth rate of *B. bifidum* Bb-11. Growth promoting activities of hydrolyzates(F-I and F-II) with molecular weight below 10,000Da were stronger than that of hydrolyzate(F-III) above 10,000Da. However, there was no significant difference between the hydrolyzate F-I and F-II. Three fractions of  $\beta$ -lactoglobulin hydrolyzates improved the growth rate of *B. bifidum* Bb-11. The growth of *B. bifidum* Bb-11 was decreased after 24 hr incubation by supplementation of either F-II or F-III fraction compared to basal Whey medium, but maintained the enhancement by supplementation of F-I.

Key words : trypsin,  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin, UF filtration, growth rate, *Bifidobacterium bifidum* Bb-11

### 서 론

*Bifidobacteria*는 모유영양아 장내균총의 92.7%를 구성하

는 장내 최우점 균으로(Yoshihama, et al., 1982), 소장하부에  
서 대장에 걸쳐 생육하면서 당류를 발효, 유산과 초산을 생  
성하여 장내 pH를 낮추고 대장균과 기타 부패세균의 생육을  
억제한다. *Bifidobacteria*는 많은 연구 결과에 의하여 그 생리  
적 특성이 밝혀짐에 따라 *bifidobacteria* 성장을 촉진시키는  
생장급원물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Molder,  
1990; Reuter, 1990; El-Soda et al., 1992; Marteau et al.,

Corresponding author : Juhn-Su Goh, Dept. of Animal Food Sci-  
ence and Technology, Kangwon National University, Chunchon, 200  
-701, Korea. Tel : 33-250-8642, Fax : 33-244-2198.  
E-mail : jsgoh@ kangwon.ac.kr

1990; Poch and Bezkorovainy, 1988, 1991; Desjardins et al., 1990a; Desjardins et al., 1990b). 유청에는  $\beta$ -lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin, immunoglobulin, serum albumin, proteose-peptone, 유당 그리고 여러 종류의 비타민과 무기물 등이 함유되어 있으며, 이들 유청단백질들은 우수한 유효작용과 용해성 등 기능적 특성과 가치를 지니고 있어 여러 분야에서 그 이용성에 대하여 매우 활발하게 연구되고 있다(Yamauchi, 1992). Petschow와 Talbott(1991)는 casein을 pepsin, trypsin, papain 등의 효소로 처리하여 얻어진 단백질의 가수분해물인 peptide류와 모유의 whey protein 또는 모유 casein을 trypsin, chymotrypsin 효소로 처리하여 얻은 glycopolyptide는 galactose, glucosamine, galactosamine, sialic acid 및 fucose 등으로 구성된 당을 60~70% 함유하고 있으며, 이것들은 *B. bifidum* var. *pennsylvanicus*의 생육을 촉진하는 효과가 있다고 하였다. Kim 등(1998)도 케이션 분획물을 분자량에 따라 분획한 후 *B. bifidum* Bb-11의 성장 촉진효과를 연구한 바 있다. 이 연구는 bifidobacteria를 산업적으로 이용할 목적으로 bifidobacteria를 대량생산하기 위하여 유청을 기초배지로 하여 유청단백질로부터 유래하는 분자량이 다른 펩타이드들이 *B. bifidum* Bb-11의 성장에 미치는 영향을究明하기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### Bifidobacteria

본 연구에 사용된 bifidobacteria는 동결건조된 *Bifidobacterium bifidum* Bb-11(Chr. Hansen's Lab., Denmark)을 구입하여 시험에 사용하였다. *B. bifidum* Bb-11의 전배양은 L-cysteine·HCl을 함유하는 MRS배지에서 24시간 성장활력을 높여 시험에 이용하였다.

### *B. bifidum* Bb-11의 배양

Whey powder는 (주)삼익유가공으로부터, whey protein concentrate (WPC)와 whey protein isolates(WPI)는 (주)남양유업으로부터 제공받았으며,  $\alpha$ -lactalbumin과  $\beta$ -lactoglobulin 및 trypsin은 Sigma사(St. Louis, U.S.A)로부터 구입하였다. 기초배지 제조를 위해 국내산 whey powder를 증류수에 6.5%로 용해시키고(pH 7.0, 1N NaOH로 조정), 원심분리기(Beckman J2-21, England)로 10,432×g에서 5분간 원심분리하여 상정액을 회수, 냉동보관하면서 시험에 사용하였다. 기초배지인 whey용액에 L-cysteine·HCl 0.05%와 yeast extract 0.75%를 첨가한 것을 성장기초배지로 정하였고, 여기에 단백질분해물에 의한 성장촉진효과를 비교하고자 WPC와 WPI, 그리고 trypsin 처리후 분자량에 따라 10,000Da 이상, 10,000

~3,000Da, 3,000Da 이하로 분리한  $\alpha$ -lactalbumin과  $\beta$ -lactoglobulin의 분획들을 각각 1%(w/v)양으로 조정하여 각각 0.25, 0.5, 0.75 및 1%의 농도별로 첨가하였으며, *Bifidobacterium bifidum* Bb-11 1%를 접종하여 37℃에서 24시간동안 혐기배양하였다.

### Trypsin 처리 및 분자량별 분획

$\alpha$ -Lactalbumin과  $\beta$ -lactoglobulin 250mg을 각각 0.1M phosphate buffer(pH 8.0) 30ml에 용해하여 40℃에서 5분간 예열시킨 후, 1% trypsin 용액 125  $\mu$ l를 첨가하여(효소:단백질 = 1:200, wt/wt) 40℃ 항온수조에서 6시간 반응시킨 후, 85℃에서 10분간 효소를 불활성화 시켰다.  $\alpha$ -Lactalbumin과  $\beta$ -lactoglobulin의 trypsin분해물들은 각각 2단계에 걸쳐 분자량에 따라 분리하였다. 각 단백질의 trypsin분해물의 분획처리는 Centriprep-10(Amicon, Inc., USA)에 분해물을 넣고 3,000×g에서 40분 원심분리(Union 32R, Hanil Sci. Korea)하여 10,000Da 이상의 분획과 10,000Da 이하의 분획(F-I)으로 분리한 다음, 10,000Da 이하의 분획을 다시 Centricon-3(Amicon, Inc., USA)에 넣고 7,500×g에서 2시간 원심분리하여 3,000Da 이상의 분획(F-II)과 3,000Da 이하의 분획(F-III)

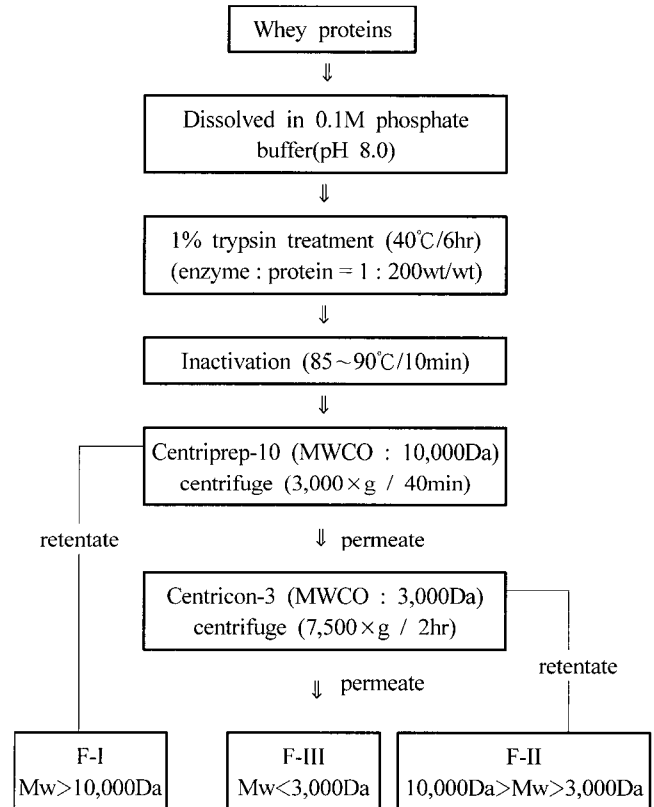


Fig. 1. Fractionation procedure of  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin hydrolyzates by ultrafiltration after trypsin digestion.

으로 분리하였다(Fig 1). 각 분획의 단백질 함량은 Waddell 법(A215/A225 법)에 준하여 증류수를 바탕으로하여 215 nm와 225nm의 두 파장에서 각각 시용액의 흡광도를 측정 (자외선 분광광도계(Uvikon 942, Kontron Co. Italy)하여 다음 식에 의해서 단백질 농도를 계산하였다.

$$(A_{215} - A_{225}) \times 144 = \text{미지시료 1ml당 단백질의 } \mu\text{g수.}$$

### 생균수, pH 및 적정산도 측정

pH는 Delta 350 pH 측정기(Mettler, England)로 측정하였으며, 적정산도(titratable acidity, TA)는 Marth(1978)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시료 9ml에 동량의 증류수 9ml를 가하고 1% phenolphthalein을 가하여 pH가 8.4에 도달할 때까지의 0.1N NaOH 소요량(ml)으로 측정하여 환산하였다. 생균수의 측정은 Lactobacillus MRS agar(Difco Lab., USA)에 L-cysteine · HCl(Sigma Chem. Co. U.S.A.) 0.05%를 첨가하여 121°C에서 15분간 멸균한 배지를 사용하였고, 희석액은 MRS broth함량의 1/2농도로 하여 L-cysteine · HCl 0.05%를 첨가한 다음, 산소의 접촉을 차단하기 위하여 유동과라핀으로 피복하여 사용하였다. 희석된 시료 1ml를 petridish에 분주하여 MRS agar를 부어 굳힌 다음, 37°C에서 48시간 혐기적으로 배양하였으며, 혐기적 조건은 BBL Gas Pak 100 TMA aerobic Systems (Cockeysville, MD. U.S.A)으로 수행하였다.

## 결과 및 고찰

### WPC에 의한 *B. bifidum*의 성장촉진효과

Whey배지에 WPC-80을 각각 0.25, 0.5, 0.75 및 1%를 첨가하였으며, 그 결과는 Fig. 2, Fig. 3과 같다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 배양 12시간에 pH는 대조구에 비해 전시험구에서 낮은 pH를 나타냈으며( $P < 0.05$ ), 첨가량에 따른 pH값은 큰 차이가 없었다. 배양 24시간에서도 pH는 모든 시험구에서 대조구에 비해 낮은 pH를 나타냈고, 첨가량에 따른 차이는 배양 12시간에서와 같이 큰 차이가 없었다. 적정산도에 있어서는 배양 12시간에서 모든 시험구가 대조구에 비해 높은 산생성을 보였으며( $P < 0.05$ ), 첨가량에 따른 산생성량은 첨가량이 많을수록 높았으나 1% 시험구는 0.75% 시험구에 비하여 산생성이 낮게 나타났다. 배양 24시간에 산생성량은 모든 시험구에서 대조구에 비하여 많았으나, 첨가량에 따른 산생성량은 0.5%와 0.75% 시험구에서 가장 많았다. Fig. 3에서와 같이 생균수에 있어서 배양 12시간에 모든 시험구에서 대조구에 비해 생균수가 높게 나타났으며, 첨가량에 의한 차이는 1% 시험구가 가장 높은 생균수를 보여주었다( $P < 0.05$ ). 배양 24시간에서는 대조구에 비해 1% 시험구만이 높은 생균수를

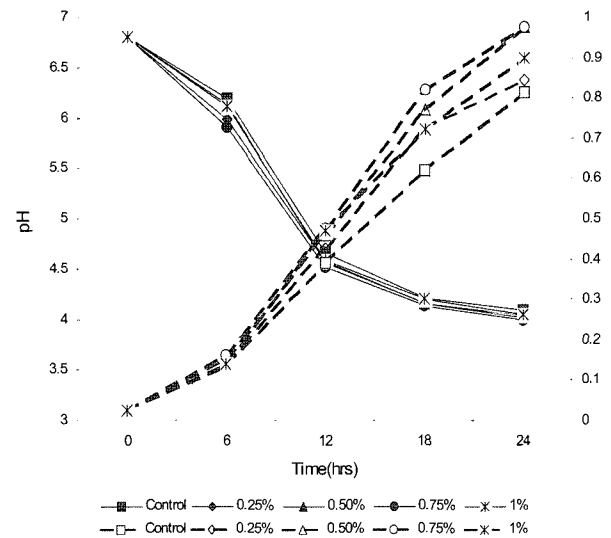


Fig. 2. Changes of pH and titratable acidity during the growth of *B. bifidum* Bb-11 in whey-based medium supplemented with whey protein concentrate. The medium was prepared for 6.5% whey powder solution and controlled pH 7.0 with 1N NaOH, and then centrifuged for 5min at 10,432 × g. The *B. bifidum* Bb-11 was incubated for 24hr at 37°C.

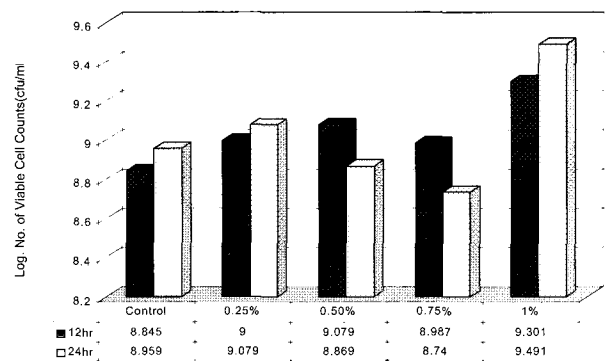


Fig. 3. Changes of viable cell counts during the growth of *B. bifidum* Bb-11 in whey-based medium supplemented with whey protein concentrate. The medium was prepared for 6.5% whey powder solution and controlled pH 7.0 with 1N NaOH, and then centrifuged for 5min at 10,432 × g. The *B. bifidum* Bb-11 was incubated for 24hr at 37°C.

나타냈고, 나머지 시험구는 대조구에 비하여 비슷한 수준이거나 오히려 생균수가 낮은 경향을 보였다. WPC-80농도별 첨가에 따른 *B. bifidum*의 성장촉진효과는 대조구에 비해 모든 시험구에서 높은 성장촉진효과를 나타냈으며, 농도별 첨가량에 따른 차이는 1% 시험구를 제외하고 1%이하 첨가구는 거의 차이가 없었다.

### WPI에 의한 *B. bifidum*의 성장촉진

Whey배지에 WPI를 각각 0.25, 0.5, 0.75 및 1%를 첨가하였을 때, pH, 적정산도 및 생균수는 Fig. 4, Fig. 5와 같다. 유청배지에 WPI를 농도별로 첨가한 후 pH 변화는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 배양 12시간에 0.5%시험구를 제외한 모든 시험구에서 대조구에 비해 pH가 낮았으며, 특히 0.25% 시험구는 대조구에 비해 가장 낮은 pH를 나타내었고(P<0.05), 0.75% 시험구와 1% 시험구에 있어서는 대조구에 비해 pH가 낮았으나 큰 차이는 없었다. 배양 24시간에는 모든 시험구에서 대조구에 비해 큰 차이를 보이지 않았다. 적정산도는 배양 12시간에 0.25% 시험구만이 대조구에 비해 높은 산생성량을 나타냈고, 0.5%, 0.75% 및 1% 시험구에서 대조구에 비해 산생성량이 적었으며, 배양 24시간에서는 모든 시험구에서 대조구에 비해 산생성량이 낮았다. 생균수는 Fig. 5에서 보는 바와 같이 배양 12시간에 대조구에 비해 0.5% 시험구만이 높은 생균수를 나타냈고, 0.75% 시험구에서는 대조구와 차이가 없었으며, 나머지 시험구는 대조구에 비해 생균수가 적었고, 배양 24시간에서는 모든 시험구가 대조구에 비해 적은 생균수를 나타냈다. WPI에 의한 *B. bifidum*의 성장촉진 효과는 배양 12시간에서는 대조구에 비해 0.25% 시험구가 가장 낮은 pH와 높은 산생성량을 나타냈지만 생균수에 있어서는 대조구에 비해 생균수가 적었고, 오히려 0.5%시험구가 높은 pH와 낮은 산생성량을 보였음에도 불구하고 높은 생균수를 나타냈다.

이와 같이 Whey배지를 기초로 WPC-80와 WPI를 농도별로 첨가하였을 때 *B. bifidum*의 성장촉진효과는 WPC-80은 1% 첨가구에서 가장 높은 성장촉진효과가 있었으나(P<0.05),

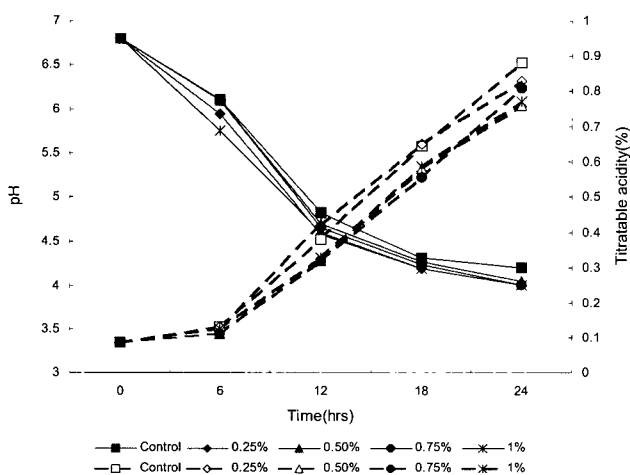


Fig. 4. Changes of pH and titratable acidity during the growth of *B. bifidum* Bb-11 in whey-based medium supplemented with whey protein isolate. The medium was prepared for 6.5% whey powder solution and controled pH 7.0 with 1N NaOH, and then centrifuged for 5min at 10,432×g. The *B. bifidum* Bb-11 was incubated for 24hr at 37°C.

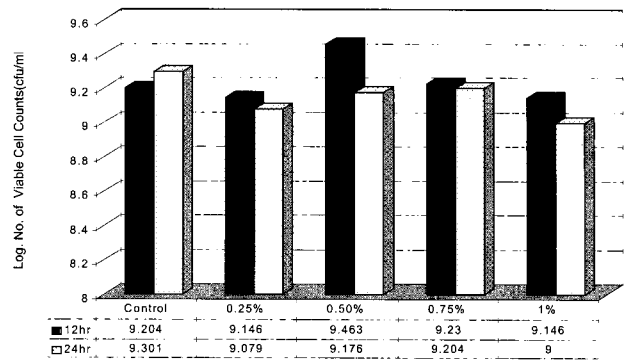


Fig. 5. Changes of viable cell counts during the growth of *B. bifidum* Bb-11 in whey-based medium supplemented with whey protein isolate. The medium was prepared for 6.5% whey powder solution and controled pH 7.0 with 1N NaOH, and then centrifuged for 5min at 10,432×g. The *B. bifidum* Bb-11 was incubated for 24hr at 37°C.

첨가량에 따른 효과는 1% 첨가구를 제외하고는 대조구와 큰 차이가 없었으며, WPI는 성장촉진효과가 낮았다. 이러한 원인에 대해 Hukins와 Nannen(1993)은 젖산균 배지에 영양소가 풍부하면 젖산균이 배지의 pH를 유지하기 위해 수소이온을 많이 방출하기 때문이라고 하였다. Bifidobacteria의 세포벽은 분자량이 600 이하인 저분자물질을 투과시키는데 과도한 산생성은 세포내의 pH를 배지환경과 같아지게 하므로 McDonald 등(1990)의 설명과 같이 세포내 고분자물질이 변성될 뿐만 아니라 에너지 대사의 중심이 되는 proton motive force를 구성하는 proton gradient가 무너져 대사에 이상이 생긴 결과로 보여진다. 또 다른 설명으로는 유청배지에 첨가한 yeast extract가 bifidobacteria의 성장에 매우 효과적이었다고 볼 수 있으며, 유청용액을 기초로한 유청배지가 bifidobacteria의 배양배지로서 가치가 있다는 Park과 Heo (1995)의 보고와 일치한다.

Whey protein 분해물에 의한 *B. bifidum*의 성장촉진  $\alpha$ -Lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin을 trypsin으로 처리하여 얻은 분해물을 분자량 10,000Da 이상(F-I), 10,000~3,000Da (F-II) 및 3,000Da 이하(F-III)로 분리하여 얻은 분획들의 단

Table 1. Protein concentration of three fractions, based on molecular weight, of casein and whey protein hydrolyzates by trypsin ( $\mu$ g/ml)

	Molecular weight		
	> 10,000 Da	10,000~3,000 Da	< 3,000 Da
$\alpha$ -lactalbumin	11.53	7.79	5.21
$\beta$ -lactoglobulin	4.13	5.30	9.35

백질농도를 측정된 결과는 Table 1과 같다.

Whey배지에 L-cysteine · HCl 0.05%를 기본적으로 첨가하고, trypsin처리에 의해 얻어진  $\alpha$ -lactalbumin 분해물은 분자량에 따라 분획들을 각각 단백질 1%(w/v)함량으로 조정하여 첨가하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 pH는 배양 12시간에 F-I 분획이 대조구에 비해 높았으며, F-II, F-III 분획 순으로 pH가 낮았다. 배양 24시간에서는 대조구에 비해 F-II I분획만이 낮은 pH를 나타냈다. 적정산도는 배양 12시간에 F-I 분획이 대조구와 비슷한 산생성량을 보였고, 나머지 시험구는 높은 산생성량을 나타냈으며, F-III 분획에서 가장 많은 산이 생성되었다. 배양 24시간에서는 F-III 분획만이 대조구에 비하여 높은 산생성량을 나타냈다. 생균수는 배양 12시간에 모든 시험구가 대조구에 비하여 높았으며, F-I 분획이 가장 높은 생균수를 나타냈고(P<0.05), F-II 및 F-III 분획과의 생균수 차이가 없었다. 배양 24시간에 모든 시험구에서 대조구에 비하여 생균수가 적게 나타났다(Fig. 7).  $\alpha$ -Lactalbumin 분해물의 분자량에 따른 *B. bifidum*의 성장촉진효과는 분자량 3,000Da 이하의 분획(F-III)과 분자량 10,000~3,000Da의 분획(F-II)에서 가장 생균수가 많았다(P<0.05).

Trypsin처리에 의해 얻어진  $\beta$ -lactoglobulin 분해물은 Fig. 8에서 보는 바와 같이 배양 12시간의 pH값이 F-III분획에서 대조구에 비해 낮았으며, 배양 24시간에서는 배양 12시간과 같이 분자량 F-III 분획이 가장 낮은 값을 나타냈다(P<0.05). 적정산도는 F-I 분획에서 대조구에 비해 낮은 산생성량을 보였고, F-II 분획에서는 대조구와 유사하였으며, F-III 분획에

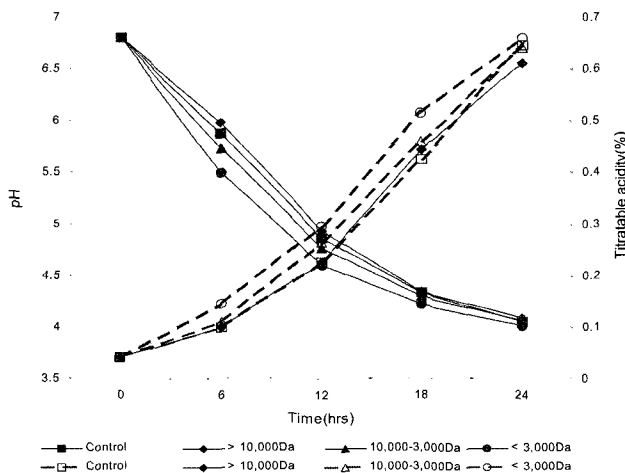


Fig. 6. Changes of pH and titratable acidity during the growth of *B. bifidum* in whey-based medium supplemented with different molecular weights of  $\alpha$ -lactalbumin hydrolyzates. The medium was prepared for 6.5% whey powder solution and controlled pH 7.0 with 1N NaOH, and then centrifuged for 5min at 10,432×g. The *B. bifidum* Bb-11 was incubated for 24hr at 37°C.

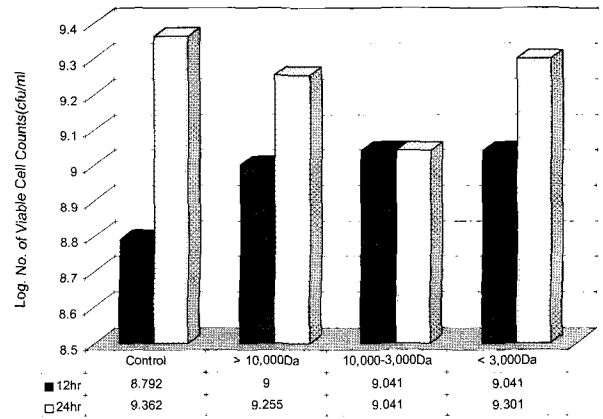


Fig. 7. Changes of viable cell counts during the growth of *B. bifidum* Bb-11 in whey-based medium supplemented with different molecular weights of  $\alpha$ -lactalbumin hydrolyzates. The medium was prepared for 6.5% whey powder solution and controlled pH 7.0 with 1N NaOH, and then centrifuged for 5min at 10,432×g. The *B. bifidum* Bb-11 was incubated for 24hr at 37°C.

서 가장 많은 산생성량을 나타내었다. 배양 24시간에서는 분자량 F-III 분획에서 대조구에 비해 산생성량이 높았다. 생균수는 배양 12시간에 모든 시험구가 대조구에 비해 높은 생균수를 나타내었으며, 분자량에 따라서는 F-III 분획의 생균수가 가장 높았다. 배양 24시간에서는 F-I과 F-II 분획들은 대조구에 비해 낮은 생균수를 보였으며, F-III 분획에서 가장 높은 생균수를 나타냈다(Fig. 9).  $\beta$ -Lactoglobulin 분해물의

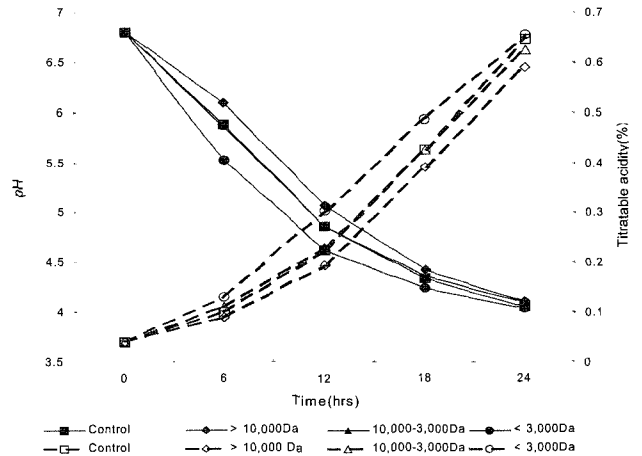
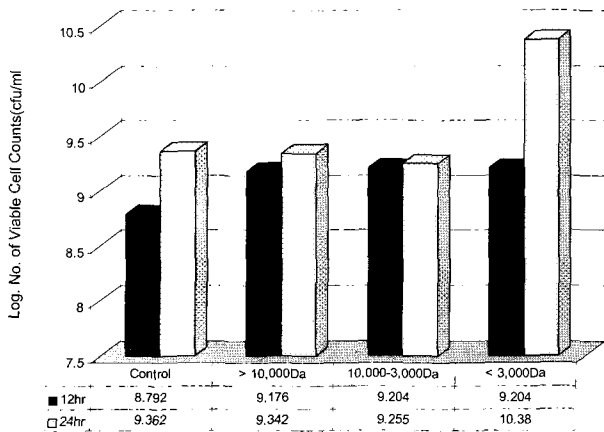


Fig. 8. Changes of pH and titratable acidity during the growth of *B. bifidum* Bb-11 in whey-based medium supplemented with different molecular weights of  $\beta$ -lactoglobulin hydrolyzates. The medium was prepared for 6.5% whey powder solution and controlled pH 7.0 with 1N NaOH, and then centrifuged for 5min at 10,432×g. The *B. bifidum* Bb-11 was incubated for 24hr at 37°C.



**Fig. 9. Changes of viable cell counts during the growth of *B. bifidum* Bb-11 in whey-based medium supplemented with different molecular weights of  $\beta$ -lactoglobulin hydrolyzates.** The medium was prepared for 6.5% whey powder solution and controlled pH 7.0 with 1N NaOH, and then centrifuged for 5min at 10,432  $\times$  g. The *B. bifidum* Bb-11 was incubated for 24hr at 37°C.

분자량에 따른 *B. bifidum*의 성장촉진효과는 분자량 10,000 Da 이하의 분획들에서 가장 좋은 효과를 나타냈다.

Whey protein을 가수분해하여 bifidobacteria 성장촉진을究明하기 위한 연구보고는 매우 적은 편이다. Yoshigkawa 등 (1994)은 opioide peptide와 아미노산배열이 같은  $\beta$ -lactoglobulin(f102-105)이나  $\alpha$ -lactalbumin(f50-53) 분해물이 bifidobacteria의 성장을 촉진하는 인자라고 확인한 바 있다. 본 연구 결과로 볼때, trypsin을 처리한  $\alpha$ -Lactalbumin과  $\beta$ -lactoglobulin 분해물들중에서 분자량 3,000Da 이하의 분획과 분자량 10,000~3,000Da의 분획사이에서 성장촉진물질이 있는 것으로 나타났으며, 분자량 10,000Da 이하의 분획중 peptide들도 bifidobacteria의 성장을 촉진하는 것으로 밝혀졌다.

**요 약**

이 연구는 Whey배지에 Whey protein concentrate 80% (WPC-80)와 Whey protein isolate(WPI)를 첨가하여 *B. bifidum* Bb-11의 성장촉진효과를 알아보려고 실시하였다. 또 이 단백질들의 구성성분인  $\alpha$ -Lactalbumin과  $\beta$ -Lactoglobulin을 trypsin으로 처리하여 얻어진 분해물을 분자량에 따라 분획하여 각 분획별로 그 효과를究明하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다. WPC 첨가에 의한 효과는 대조구에 비하여 성장촉진효과가 있는 것으로 나타났으나, 첨가농도에 따른 차이는 근소하였다. WPI는 뚜렷한 성장촉진효과를 보여주지 못하였으며, 첨가량이 많을수록 생장이 억제되었

다. 두 종류의 유청단백질을 40°C에서 6시간 동안 trypsin처리한 후 UF처리에 의하여 분획하고 각 분획들을 Centri-con-30 으로 농축한 후, 얻어진  $\alpha$ -lactalbumin 분해물 3분획에 대한 단백질농도는 각각 11.63mg, 7.79mg 및 5.21mg 이었고,  $\beta$ -Lactoglobulin 분해물 3분획은 각각 4.13mg, 5.30 mg 및 9.35mg 이었다.  $\alpha$ -Lactalbumin 분해물 세 분획 모두 대조구에 비하여 높은 성장촉진효과를 나타내었으며, 그중에서 분자량 10,000~3,000Da(F-II)과 3,000Da 이하(F-III)의 두 분획이 모두 높게 나타난 것으로 보아, 분자량 10,000Da 이하의 peptide들이 bifidobacteria의 성장을 향상시키는 것으로 밝혀졌다.  $\beta$ -Lactoglobulin 분해물 세 분획들도 대조구에 비하여 생장이 좋게 나타났다. 분자량 10,000Da 이하의 peptide를 함유하는 두 분획은 생장이 우수하였으며 배양 24 시간후에는 분자량 3,000Da 이상의 두 분획(F-I, F-II)이 대조구에 비하여 빠르게 생장이 저하된 반면, 분자량 3,000 Da 이하의 분획(F-III)에서는 계속적인 성장촉진효과를 보여주었다.

**참고문헌**

- Desjardins, M. L., Roy, D., and Goulet, J. (1990a). Growth of bifidobacteria and their enzyme profiles. *J. Dairy Sci.* **73**, 299-307.
- Desjardins, M. L., Roy, D., Toupin, C., and Goulet, J. (1990b). Uncoupling of growth and acids production in *Bifidobacterium* spp. *J. Dairy Sci.* **73**, 1478-1488.
- El-Soda, M., Macedo, A., and Olson, N. F. (1992). The peptide hydrolase system of *Bifidobacterium* species. *Milchwissenschaft* **47**, 87-90.
- Hukins, R. W. and Nannen, N. L. (1993). pH homeostasis in lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* **76**, 2354-2365.
- Kim, W. S., Choi, J. W., Park, S. Y., Lee, B. J., Kim, P. H., Choi, S. H., and Goh, J. S. (1998). Effects of casein hydrolysates fractionated by molecular weight on the growth of *Bifidobacterium bifidum* Bb-11. *Kor. J. Dairy Sci.* **20**, 123-132.
- Marteau, P., Pochart, P., Flourie, B., Pellier, P., Sanots, L., Desjeux, J. F., and Rambaud, J. C. (1990). Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **52**, 685-688.
- Marth, E. H. (1978). Standard methods for the examination of dairy products. Americ. Public Health Assoc. Washington, DC 20036.
- McDonald, L. C., Fleming, H. P., and Hassen, H. M. (1990). Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 2120-2124.
- Modler, H. W., Mc Kellar, R. C., Goff, H. D., and Mackie, D. A. (1990). Using ice cream as a mechanism to incorporate bifidobacteria and fructooligosaccharides into the human diet. *Cult. Dairy Prod. J.* **25**, 4-9.
- Park, H. K. and Heo, T. R. (1995). Studies on the characteristics of *Bifidobacterium* spp. for the Industrial use. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **15**, 139-149.

11. Petschow, B. W. and Talbott, R. D. (1991). Response of *Bifidobacterium* species to growth promoters in human and cow milk. *Pediatr Res.* **29**, 208-213.
12. Poch, M. and Bezkorovainy, A. (1988). Growth-enhancing supplements for various species of the genus *Bifidobacterium*. *J. Dairy Sci.* **71**, 3214-3221.
13. Poch, M. and Bezkorovainy, A. (1991). Bovine milk  $\kappa$ -casein trypsin digest is a growth enhancer for the genus *Bifidobacterium*. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 73-77.
14. Reuter, G. (1990). Bifidobacteria cultures as components of yoghurt-like products. *Bifidobacteria Microflora* **9**, 107-118.
15. Yamauchi, K. (1992). Biologically functional proteins of milk and peptides derived from milk proteins. *Bulletin of the IDF.* **272**, 51.
16. Yoshigawa, M., Suganuma, H., Shiata, A., Usui, H., Kurahashi, K., Mizumoto, T., Suitani, Y., and Kashimoto, K. (1994). *In Peptides Chemistry* 1993. Y. Okata(Editor), Protein Research Foundation, Osaka pp. 157-160.
17. Yoshihama, M., Mochizuki, E., Mitsuhashi, S., and Ahiko, K. (1982). Studies on application of galactosyl lactose for infant formula. III. Effects of galactosyl lactose on intestinal bacterial flora of newborn infants, *Reports of research lab. Technical research institute, snow brand milk products Co., Ltd.* **78**, 33-37.

---

(2002년 1월 29일)