

레시틴 추출 잔사인 계란노른자의 효소적 단백질 가수분해물의 항산화 특성

박표잠 · 정원교 · 최영일¹ · 김세권*

부경대학교 화학과
¹연변의과대학 면역학연구소

Antioxidative Effect of Enzymatic Protein Hydrolysate from Lecithin-Free Egg Yolk

Pyo-Jam Park, Won-Kyo Jung, Yong-Ri Choi¹ and Se-Kwon Kim*

Department of Chemistry, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea
¹Research Institute of Bioimmunity, Yan Bian Medicine College, Yanji 133000, China

Abstract

Lecithin-free egg yolk protein (EYP), the by-product of lecithin extraction from egg yolk, which is denatured with an organic solvent, would normally be discarded. In this study, the denatured protein was renatured with alkali, and hydrolyzed with Alcalase in order to utilize by-product. The hydrolysate was separated through a series of ultrafiltration membranes with molecular weight cut-off (MWCO) of 10, 5 and 1 kDa, and the antioxidative activities of the hydrolysates was investigated. The 5 K hydrolysate, permeate from 5 kDa membrane, showed stronger antioxidative activity than 10 K and 1 K hydrolysate which were permeated from 10 kDa and 1 kDa membrane, in a linoleic acid autoxidation system. In addition, the optimum concentration of antioxidative activity for 5 K hydrolysate was 1%, and the activity was about 37% higher as compared with α -tocopherol. The synergistic effect was also increased by using the hydrolysates with α -tocopherol.

Key words – Antioxidative activity, Enzymatic protein hydrolysate, Lechthin-free egg yolk.

서 론

항산화제란 산화를 방지하거나 지연시키는 물질을 통칭하는 것으로 그 작용기작에 따라 자동산화의 연쇄반응을 제어하는 자유라디칼 scavenger, 과산화물을 비라디칼로 분해하여 불활성시키는 과산화물 분해제, 미량금속의 산화촉진작용을 불활성화하는 금속불활성화제, 자동산화에 있

어서 라디칼 저해제와 공존시 항산화 작용을 증가시키는 상승제 및 각종 활성산소제를 소거하는 singlet oxygen quencher 등으로 분류된다. 항산화제는 다시 크게 두 그룹으로 분류되는데, 첫째 primary 또는 chain-breaking antioxidant로서 지질라디칼과 반응하여 더욱 안정한 생산물로 바꾸는 그룹과 둘째 secondary 또는 preventive antioxidant로서 다른 메카니즘에 의해 자동산화를 지연시키는 그룹으로 분류된다.

Primary antioxidant는 상대적으로 안정한 라디칼을 만들기 위해 지질 유리라디칼에 수소원자를 제공함으로서 연

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : 82-51-620-6375, Fax : 82-51-628-8147

E-mail : sknkim@mail.pknu.ac.kr

쇄반응의 연장을 저지하여 자동산화를 막는다. 이러한 형태의 항산화제는 대부분 폐놀화합물로서 α -tocopherol과 그 유도체[1] 및 quercetin과 caffeic acid[7] 등의 flavonoid 계가 알려져 있다. Secondary antioxidant는 순수한 지질에서는 항산화 효과를 나타내지 않지만 primary antioxidant의 효과를 중대시키거나 prooxidant의 효과를 저해시킨다. 이러한 형태의 항산화제는 α -tocopherol과 같은 primary antioxidant와 상승작용을 가지는 인지질[8]과 ascorbic acid[2] 등이 있다.

이상에서 살펴본 바와 같이 항산화활성을 가진 물질은 대부분 폐놀계 화합물이며, 그 외의 경우는 Tagashira 등[18]이 hop에서 β - β' -triketone 구조를 가진 항산화물질을 분리하였고, Osawa 등[16]은 *Eucalyptus globulus*의 leaf wax에서 β -diketone 화합물이 강력한 항산화활성을 나타낸다고 보고하였다. 또한, 동물성 단백질 및 식물성 단백질을 효소분해하여 얻어진 펩타이드에서도 항산화활성이 나타나는 것으로 보고되어 있는데, Yamaguchi 등[21]은 대두 단백질 및 우유카제인 가수분해물, Suetsuna 및 Osajima[17]는 어육단백질의 가수분해물이 항산화활성을 가진다고 보고하였다.

일반적으로 항산화제는 천연항산화제와 합성항산화제로 대별되는데, 합성항산화제는 동물실험에서 여러 효소에 영향을 주며, 특히 butylated hydroxytoluene (BHT)은 기형 발생 또는 암발생에 관여하는 것으로 보고되어[5], 뛰어난 항산화효과에 비해 부작용으로 인해 문제시되고 있는 반면, 천연항산화제는 부작용이 거의 없어 식품첨가물 또는 약품으로 현재 널리 이용되고 있다. 그러나 천연항산화제 중 가장 널리 이용되는 α -tocopherol의 경우 비싼 가격과 저용성이라는 이용상의 제약으로 대체 천연항산화제의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

현재 우리 나라에서 계란 노른자로부터 유기용매를 사용하여 레시틴을 추출하고 남은 부산물의 양은 연간 50톤 정도이며, 이는 대부분 동물사료로 이용되거나 폐기되어 심각한 환경오염을 야기시키고 있다. 그러나 이를 부산물에는 유용성분인 단백질이 다량 함유되어 있다.

따라서 본 연구에서는 현재 식품이나 의약품으로 사용하기 위해 계란 노른자로부터 유기용매로 레시틴을 추출하고 남은 잔사를 효율적으로 활용하고자, 단백질을 추출하고 이를 효소로 가수분해시킨 후 3단계 막반응기를 사용하

여 분자량별로 분획한 가수분해물들의 항산화활성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용한 시료는 계란 노른자로부터 레시틴을 추출하고 남은 잔사로 경기도 용인에 위치한 두산인재기술개발원에서 구입하였다.

가수분해시 사용한 효소인 pepsin, α -chymotrypsin, trypsin 및 pronase E는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA), Alcalase와 Neutrase는 Novo Co. (Denmark)로부터 구입하였고, TPCCE (tuna pyloric caeca crude enzyme)는 (주)동원산업에서 구입한 참치 유분수로부터 조효소를 추출하여 사용하였다[10]. 또한, 항산화활성을 측정하기 위한 linoleic acid, thiobarbituric acid 및 ammonium thiocyanate는 Sigma Chemical Co. 제품을 사용하였으며, 그 외의 모든 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

계란 노른자 단백질을 가수분해시켜 분자량별로 분획하기 위한 한외여과막장치 (ultrafiltration membrane system)는 Millipore Co. (Bedford, USA)로부터 구입하였고, 사용된 막의 분자량 한계범위 (molecular weight cut-off: MWCO)는 각각 10 kDa, 5 kDa 및 1 kDa를 사용하였다.

계란 노른자 단백질의 추출 및 환원

계란 노른자로부터 레시틴을 추출하고 남은 잔사는 Lawrence 및 Weber[12]의 방법을 이용하여 지질을 제거하고 단백질만을 분리하였다. 즉, 계란 노른자로부터 레시틴을 추출하고 남은 잔사 30 g에 1% KOH용액 150 mL와 methanol 150 mL를 가하여 50°C에서 4시간 동안 교반한 다음, 원심분리 (3,900×g, 10분)하여 상층액을 제거한 후, 침전물을 아세톤으로 여러 회 세척하여 지질을 완전히 제거하고, 2% 2-mercaptoethanol을 사용하여 계란 노른자 단백질을 환원시킨 다음 동결건조하여 가수분해를 위한 시료로 사용하였다.

단백질의 가수분해도 측정

여러 가지 효소를 이용한 계란 노른자 단백질의 가수분해도 (degree of hydrolysis) 측정은 각 시료 0.5 g을 Table 1

Table 1. Conditions for the hydrolysis of cod teiset protein treated with seven different proteases.

Enzyme	Buffer	pH	Temp. (°C)
Alcalase	0.1 M Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄	7.0	50
Neutrase	0.1 M Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄	8.0	50
Pronase E	0.1 M Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄	8.0	37
Pepsin	0.1 M Glycine-HCl	2.0	37
Trypsin	0.1 M Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄	8.0	37
α -Chymotrypsin	0.1 M Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄	8.0	37
TPCCE*	0.1 M NaHCO ₃ -NaOH	10.0	50

*TPCCE: Tuna pyloric caeca crude enzyme

에 나타낸 완충용액 50 ml에 분산시켜 1% (w/v) 기질용액으로 만든 다음, 각 효소별 최적온도에서 8시간 반응시켰으며, 첨가된 효소량은 기질 대 효소비가 100:1이 되도록 하였다. 반응종료 후 반응 혼합물을 2 ml 취하고 여기에 20% trichloroacetic acid (TCA)를 동량 첨가하여 원심분리 (2,370×g, 5분)한 다음, 상층액을 일정량 취하여 Lowry 법 [13]으로 10% TCA 가용성 단백질량을 측정한 후 다음 식으로부터 가수분해도를 계산하였다.

$$\text{가수분해도}(\%) = \frac{10\% \text{ TCA 가용성 단백질량}}{\text{총단백질량}} \times 100$$

단백질 가수분해 조건

기질에 대한 최적의 효소비를 결정하기 위해서 0.1 M disodium hydrogen phosphate-sodium dihydrogen phosphate buffer (pH 7.0)를 사용하여 50°C에서 기질 대 효소비를 10에서 1,000까지 변화시켜 가수분해도를 검토하였다. 또한 최적의 기질농도를 결정하기 위하여 0.2%부터 5%까지 기질농도를 변화시키면서 동일한 완충용액과 온도에서 가수분해하여 기질농도를 검토하였고, 기질에 대한 효소의 반응시간에 대한 조건은 50°C, 기질농도 1% 및 기질 대 효소비를 100:1로 하고 반응시간을 1, 2, 4, 8, 12, 18 및 24시간으로 변화시키면서 가수분해도를 측정하였다.

가수분해물의 제조

가수분해물은 Kim 등[9]의 방법에 따라 계란노른자 단백질을 효소로 가수분해시켜 각 단계별로 분자량 크기에 따라 분획하였다. 즉, 효소로 가수분해시킨 후 한외여과막 장치를 사용하여 분자량 한계범위가 각각 10 kDa, 5 kDa 및 1 kDa인 막에 차례로 통과시켜 분획한 후 동결건조하

여 가수분해물을 제조하였다.

항산화활성 측정

단백질 가수분해물의 항산화활성은 linoleic acid emulsion을 Osawa 등[16]의 방법에 따라 linoleic acid 0.13 ml, ethanol 10 ml, 50 mM phosphate buffer (pH 7.0) 10 ml를 혼합하고, 이 혼합물에 가수분해물을 linoleic acid에 대해 각각 1% (w/v)의 농도로 3차 중류수에 용해시켜 첨가하여 전체 부피가 25 ml가 되게 하였다. 이때 α -tocopherol은 ethanol에 용해시켰으며, 대조구는 가수분해물을 첨가하지 않고 만든 linoleic acid emulsion 그 자체를 사용하여 40±1°C로 조절된 항온기내에서 저장하면서 자동산화를 촉진시켰다. Thiobarbituric acid (TBA)에 의한 항산화활성의 측정은 Ohkawa 등[15]의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 40°C에서 반응시킨 linoleic acid emulsion 0.05 ml에 8.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) 0.2 ml, 20% acetic acid 1.5 ml 및 0.8% TBA 수용액 1.5 ml를 넣고 혼합한 다음, 5°C에서 60분간 방치한 후 95°C에서 60분간 발색시켜 분광광도계 (Hitachi, Japan)를 사용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ferric thiocyanate에 의한 항산화활성 측정은 Mitsuda 등[14]의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 유지thonate 0.1 ml에 75% ethanol 4.7 ml, 30% ammonium thiocyanate 0.1 ml 및 3.5% HCl이 포함된 20 mM ferrous chloride 0.1 ml를 가한 후 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

기질농도에 따른 항산화활성 측정

가수분해물의 농도에 따른 항산화활성의 측정은 가수분해물을 linoleic acid에 대해 0.1%에서 2%까지 첨가하여 40±1°C로 조절된 항온기 내에서 저장하면서 일차별로 TBA

와 ferric thiocyanate 방법에 따라 흡광도를 측정하였다.

상승효과 측정

가수분해물의 상승효과는 TBA 및 ferric thiocyanate 방법에 의해 결정하였다. 즉, 유지혼탁액에 α -tocopherol을 linoleic acid에 대해 0.1%가 되게 첨가하고, 여기에 가수분해물을 linoleic acid에 대해 1%가 되게 가한 후 $40 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 조절된 항온기 내에 저장하면서 TBA값 및 ferric thiocyanate값을 측정하였다.

결과 및 고찰

계란 노른자 단백질의 가수분해

계란 노른자 단백질에 대한 여러 효소의 가수분해활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. Trypsin으로 가수분해하였을 때 가수분해도가 90%로 가장 높았으며, Alcalase, α -chymotrypsin 및 TPCCE로 가수분해시켰을 때 약 70%의 가수분해활성을 나타내었다. 반면, Neutrarse와 pronase E로 가수분해시켰을 때의 가수분해도는 10%미만으로 가수

분해가 거의 일어나지 않았다.

효소에 따른 가수분해물의 항산화활성

계란 노른자 단백질을 각 효소별로 가수분해하여 동결건조한 가수분해물의 linoleic acid에서의 항산화활성은 TBA법과 ferric thiocyanate법으로 측정한 결과로 Fig. 2 및 Fig. 3에 나타내었다. 즉, 가수분해물의 항산화활성은 Alcalase로 8시간 가수분해시킨 가수분해물에서 가장 높게 나타났으며, 이는 시판 천연항산화제인 α -tocopherol보다 TBA법과 ferric thiocyanate법에서 각각 27%와 42%정도 활성이 높게 나타났다. 그리고, 가수분해 활성이 높게 나타난 trypsin으로 가수분해시킨 가수분해물에서의 항산화활성도 천연항산화제와 비교하여 비교적 높았으나, Alcalase로 가수분해시킨 가수분해물보다는 항산화활성이 낮았다. 이 결과는 가수분해도와 항산화활성과는 상관관계가 없음을 보여주는 것으로, 이러한 결과는 기질의 차이 뿐만 아니라 각 효소가 기질에 작용하는 절단부위가 다르기 때문에 N말단 및 C말단에 위치하는 아미노산의 종류가 달라지므로 항산화활성이 다르게 나타나는 것으로 판단된다.

최적의 가수분해 조건

계란 노른자 단백질을 여러 효소로 가수분해시켜 항산

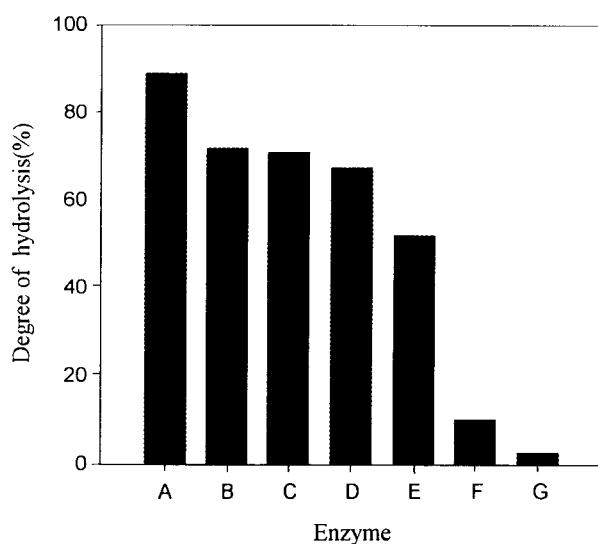


Fig. 1. Effect on the hydrolysis of egg yolk protein with various proteases. Substrate concentration used in this experiment was 1% (w/v), the ratio of substrate to enzyme (S/E) was 100/1, and the incubation time was 8 hours. A, Trypsin; B, Alcalase; C, α -Chymotrypsin; D, Tuna pyloric eaeeca crude enzyme (TPCCE); E, Pepsin; F, Neutrarse, G, Pronase E.

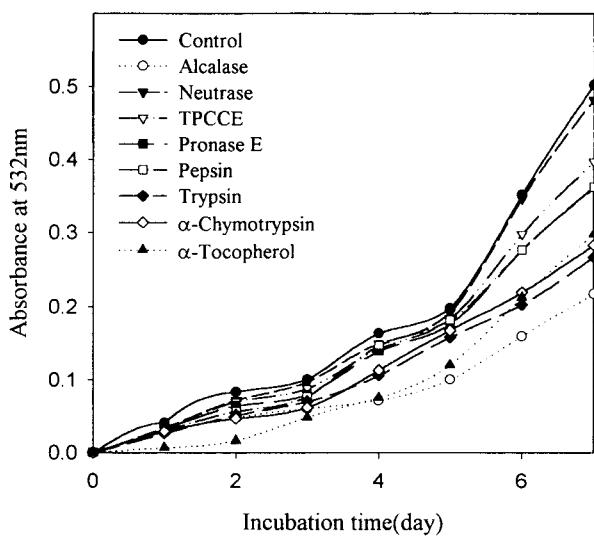


Fig. 2. Effect of antioxidative activity of hydrolysates of various enzymes from egg yolk protein in linoleic acid autoxidation system measured by the TBA method.

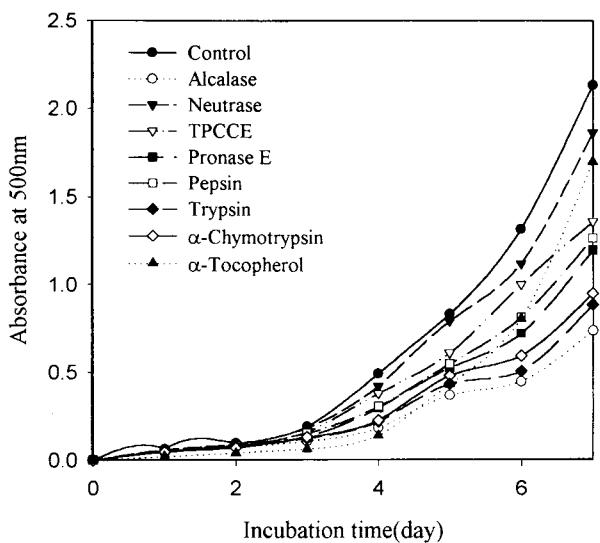


Fig. 3. Effect of antioxidative activity of hydrolysates of various enzymes from egg yolk protein in linoleic acid autoxidation system measured by the ferric thiocyanate method.

화활성을 측정하였을 때 가장 뛰어난 활성을 보인 Alcalase로 가수분해물을 제조하기 위한 최적조건을 구명하기 위하여 기질에 대한 효소비, 기질 농도 및 반응시간의 변화에 대한 활성을 측정한 결과는 Fig. 4, Fig. 5 및 Fig. 6과 같다. 즉, 기질 대 효소비가 10:1에서 가수분해활성이 82%로 가장 높았으나 100:1에 비해 큰 차이가 없으므로 대량처리 시 경제적인 효과를 감안할 때 기질 대 효소비가 100:1이 적합하다고 판단된다 (Fig. 4). 기질 농도는 1%에서 가수분해활성이 73%로 가장 우수하였으며 (Fig. 5), 반응시간 18시간까지는 가수분해도가 급격하게 증가하여 가수분해도가 96%였으나 그 이후에는 거의 일정하였다 (Fig. 6).

한외여과막을 이용한 가수분해물의 분리 및 항산화활성

계란 노른자 단백질을 Alcalase로 18시간 가수분해하여 제조한 가수분해물을 분자량 한계범위가 10 kDa, 5 kDa 및 1 kDa인 막을 통과하여 나온 분획물을 각각 동결건조하여 항산화활성을 측정한 결과는 Fig. 7 및 Fig. 8에 나타내었다. 즉, 각 가수분해물의 항산화활성은 5 kDa인 막을 통과하여 나온 가수분해물이 대조구에 비해 각각 60% (Fig. 7)와 70% (Fig. 8), 시판 천연항산화제인 α -tocopherol보다 각각 30% (Fig. 7)와 43% (Fig. 8)정도 활성이 높게 나

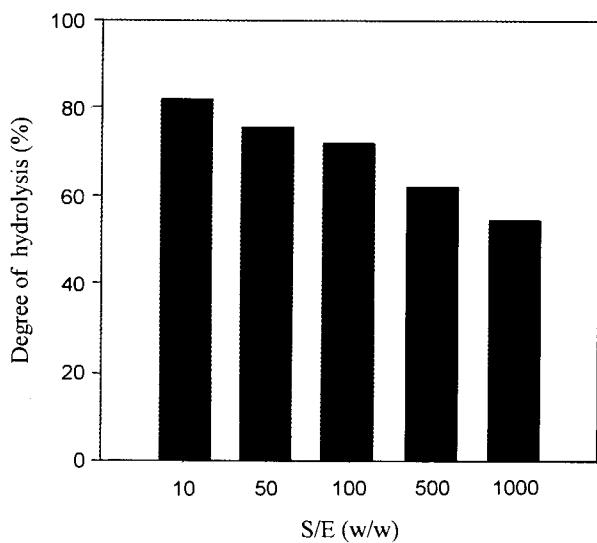


Fig. 4. Effect of substrate/enzyme ratio on the hydrolysis of egg yolk protein by Alcalase. Substrate concentration was 1% (w/v), and the incubation time was 8 hours.

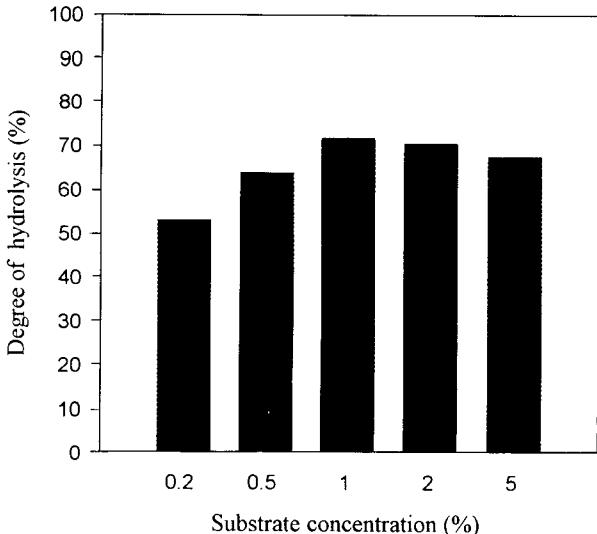


Fig. 5. Effect of substrate concentration on the hydrolysis of egg yolk protein by Alcalase. The ratio of substrate to enzyme (S/E) was 100/1, and the incubation time was 8 hours.

되었으며, 10 kDa과 1 kDa인 막을 통과하여 나온 가수분해물의 항산화활성도 천연항산화제와 거의 유사하였다.

Yee 등[22]은 대두단백질을 pepsin으로 가수분해시킨 가수분해물의 항산화활성을 측정한 결과, 대조구에 비해 약

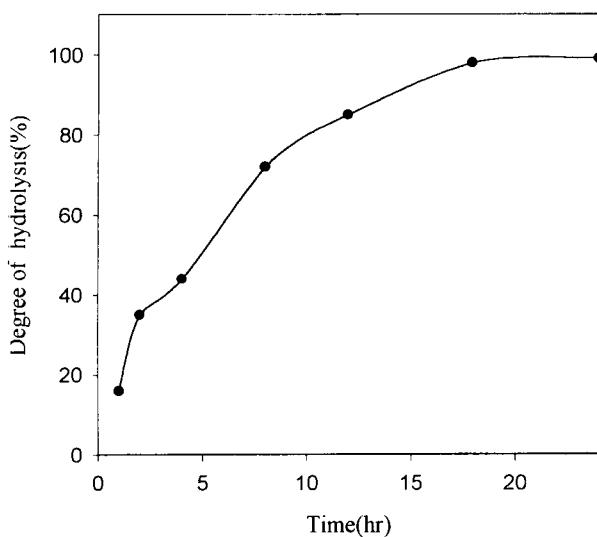


Fig. 6. Effect of incubation time on the hydrolysis of egg yolk protein by Alcalase. Substrate concentration was 1% (w/v), and the ratio of substrate to enzyme (S/E) was 100/1.

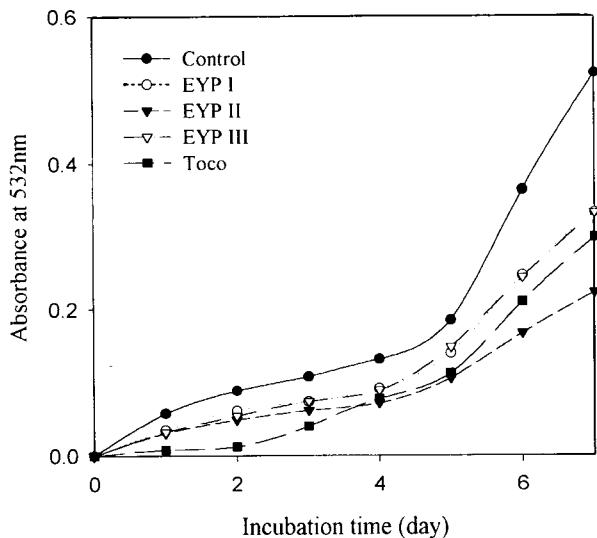


Fig. 7. Antioxidative activity of hydrolysates of Alcalase from egg yolk protein in linoleic acid autoxidation system measured by the TBA method. EYP I, Hydrolysate of egg yolk protein passed through a membrane with molecular weight cut-off (MWCO) 10 kDa but not passed through a membrane with MWCO 5 kDa; EYP II, Passed through a membrane with MWCO 5 kDa but not passed through a membrane with MWCO 1 kDa; EYP III, Passed through a membrane with MWCO 1 kDa; Toco, α -tocopherol.

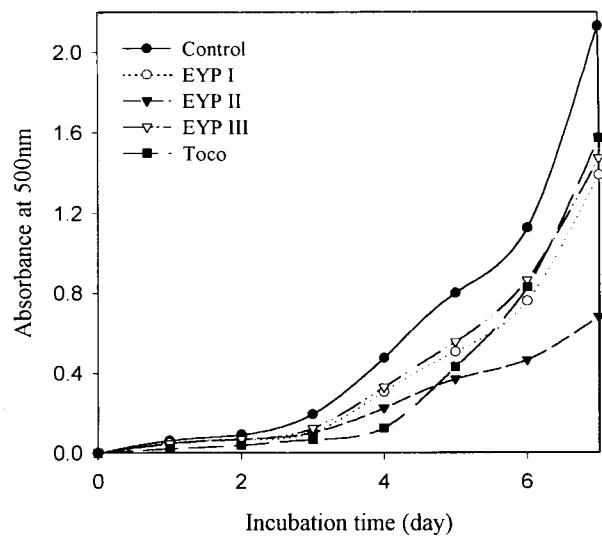


Fig. 8. Antioxidative activity of hydrolysates of Alcalase from egg yolk protein in linoleic acid autoxidation system measured by the ferric thiocyanate method.

80% 정도 항산화활성이 높았다고 하였으며, Yamaguchi [19]는 대두단백질을 효소로 가수분해시킨 가수분해물 중에서 분자량 2.5~3 kDa 사이의 펩타이드가 항산화활성이 가장 뛰어났다고 보고하였다. 또한, Krogull 등[11]은 질소화합물인 단백질, 펩타이드 및 아미노산은 자체적으로 산화가 일어나며, pH, 온도, 수분활성 및 산화촉매제나 저해제의 존재 여부에 따라 차이가 있다고 보고하였고, Mitsuda 등[14]은 indole화합물과 aromatic 아미노산의 항산화활성은 electron-donor로서의 성질과 관계가 있다고 하였다. 즉, 자동산화의 중간체가 indole핵의 C₂~C₃위치를 끊어 전하 이동형 화합물을 형성한 후, π 전자 pool에서 전하를 빼앗아 C₂~C₃결합을 개열하고 동시에 자신은 불활성 물질로 변한다고 하였으며, 조사된 아미노산 중에서는 5-hydroxytryptophan이 가장 항산화성이 높았다고 보고하였다.

이상의 보고에서 가수분해물의 항산화성은 아미노산 단계에서는 radical scavenger로서 작용하여 과산화물 생성을 억제하고, 펩타이드 단계에서는 그 구성아미노산의 성분과 위치에 의해 항산화성이 결정되는 것으로 판단된다.

가수분해물의 농도에 따른 항산화활성

항산화활성이 가장 높은 5 kDa인 막을 통하여 나온 가수분해물의 첨가 농도에 따른 항산화활성을 측정한 결과를 Fig. 9 및 Fig. 10에 나타내었다. 가수분해물의 항산화활

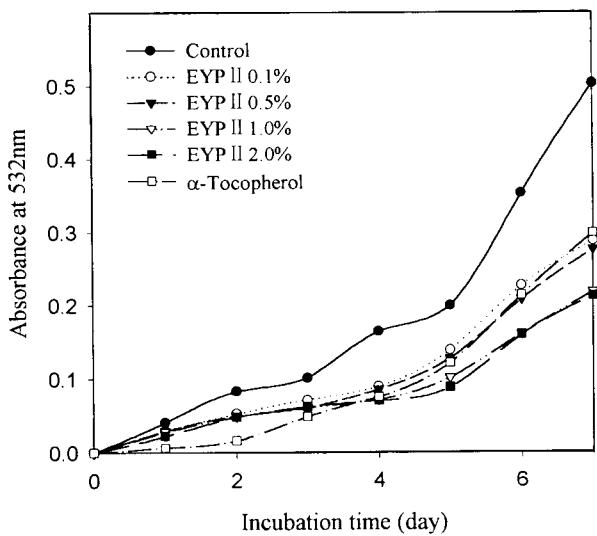


Fig. 9. Antioxidative activity of EYP II at various concentration in linoleic acid autoxidation system measured by the TBA method.

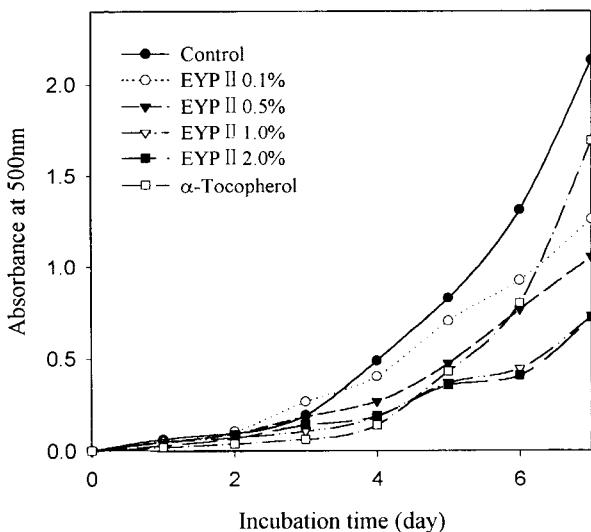


Fig. 10. Antioxidative activity of EYP II at various concentration in linoleic acid autoxidation system measured by the ferric thiocyanate method.

성은 가수분해물의 첨가 농도가 0.5%까지는 TBA값과 ferric thiocyanate값 모두에서 활성이 천연항산화제인 α -tocopherol과 거의 유사하거나 약간 높았지만, 1% 이상의 농도에서는 각각 30% (Fig. 9)와 45% (Fig. 10)이상의 높은 항산화 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 펩타이드의 첨가 농도가 낮을 경우에는 펩타이드 자체의 산화정도가 항산화활성

에 크게 영향을 미치지 않지만, 펩타이드를 1% 이상 첨가하였을 때 펩타이드의 산화정도가 항산화활성에 영향을 미치는 중요한 요인으로 작용하기 때문에 판단되며, 본 연구에서는 가수분해물의 항산화활성에 대한 최적농도는 1%였다.

Bishov 및 Henick[3]은 대두단백질 가수분해물의 농도에 따른 항산화활성을 검토한 결과, 0.01 M~0.2 M 농도범위에서 분자량 700~1,500 Da인 펩타이드의 농도가 높을수록 항산화활성도 증가한다고 보고하였으며, Yamaguchi 등 [20]은 단백질 가수분해물을 각종 유지식품에서 산화안정성을 측정한 결과, 0.25%에서 효과가 나타나기 시작하였으며, 1% 이상의 농도에서는 유지식품의 변패도가 오히려 증가하였다고 보고하였고, Kim 등[9]은 가자미피 젤라틴 가수분해물의 첨가한 농도에 따른 항산화활성 측정에서 유지 중량에 대해 1% 첨가한 농도에서 최대 항산화활성을 나타내었다고 보고한 바 있다.

상승효과

각 단계별 가수분해물의 항산화활성에 대한 상승효과를 검토하기 위해 천연 항산화제인 α -tocopherol과 병용사용하였을 때 항산화활성을 측정한 결과를 Fig. 11 및 Fig. 12에 나타내었다. 각 단계별 가수분해물 1%를 α -tocopherol과 함께 첨가한 경우, α -tocopherol만을 첨가한 대조구보다 TBA값과 ferric thiocyanate값이 각 단계별 가수분해물 모두에서 거의 유사한 결과를 얻었으며, 이들은 각각 60% (Fig. 11)와 75% (Fig. 12)정도의 높은 상승효과를 보였다.

Hatake 등[6]은 21개의 아미노산으로 이루어진 소의 혈청 가수분해물이 α -tocopherol과 높은 상승효과를 나타내었다고 보고하였으며, Bishov 및 Henick[4]은 식물단백질 가수분해물 (HVP)과 자가분해 효모 단백질 (AYP)을 BHA, BHT와 함께 사용했을 때 3% 이상의 농도에서 50% 이상의 상승효과를 나타내었다고 보고하였다. 또한, Bishov 및 Henick[3]은 식물성 단백질 가수분해물을 α -tocopherol과 함께 사용하였을 때 시료농도가 약 10% 정도일 때 가장 높은 상승효과를 나타내었다고 보고한 바 있다. 따라서 계란 노른자 단백질 가수분해물은 1%의 낮은 농도에서도 뛰어난 항산화 상승효과를 나타내었기 때문에 매우 우수한 상승제인 것으로 판단된다.

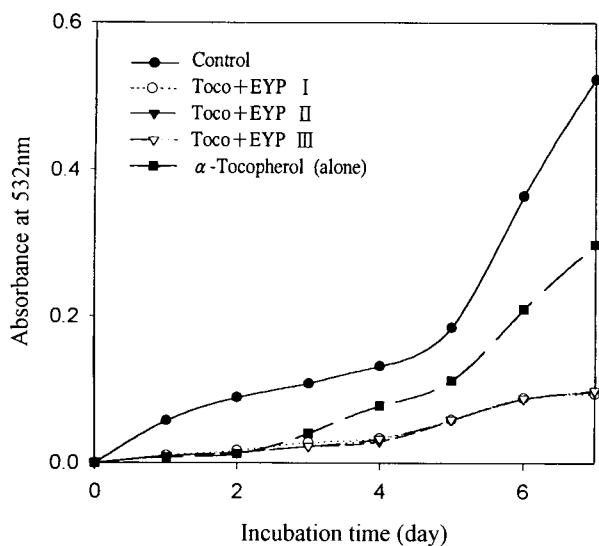


Fig. 11. Synergistic effects of α -tocopherol and hydrolysates of egg yolk protein in linoleic acid autoxidation system measured by the TBA method.

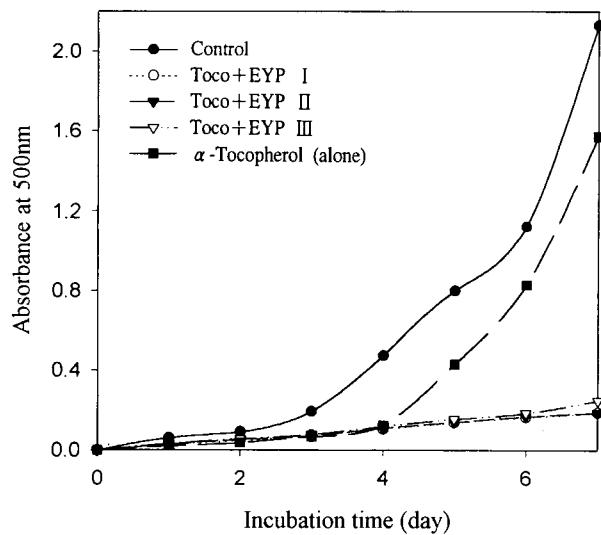


Fig. 12. Synergistic effects of α -tocopherol and hydrolysates of egg yolk protein in linoleic acid autoxidation system measured by the ferric thiocyanate method.

요 약

계란 노른자로부터 레시틴을 추출하고 남은 잔사를 효율적으로 이용하기 위하여 유기용매 변성 단백질을 알칼리로 환원시켜 효소로 가수분해시킨 후 한의여과막을 사용하여 분자량별로 분획하여, 이들 가수분해물들의 항산화활성을 검토하였다.

여러 가지 효소로 가수분해시켜 얻은 가수분해물 중에서 항산화활성이 가장 우수한 것은 Alcalase 분해물로 천연 항산화제인 α -tocopherol보다 34%정도 활성이 높았다. 이 가수분해물을 분자량 10 kDa, 5 kDa 및 1 kDa 이하를 분획할 수 있는 한의여과막으로 각각 분리한 가수분해물 중 5 kDa의 막으로 분리된 가수분해물이 α -tocopherol 보다 37%정도 항산화활성이 높아 가장 우수하였다. 가수분해물의 첨가 농도에 따른 항산화활성은 첨가 농도가 0.5% 까지는 α -tocopherol과 거의 유사하였지만, 1%의 농도에서는 37%정도 높은 항산화활성을 나타내었다. 또한, 각 단계별 가수분해물 1%를 α -tocopherol과 함께 첨가하여 항산화 상승효과를 검토한 결과, α -tocopherol만을 첨가한 대조구보다 모든 가수분해물에서 67%이상의 높은 상승효과를 보였다.

참 고 문 헌

- Aoyama, M., T. Maruyama, I. Niiya and S. Akatsuka. 1985. Antioxidant effects of tocopherols on palm oil by frying tests. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **34**, 714-719.
- Bendich, A., L. J. Machlin, O. Scandurra, G. W. Burton and K. U. Ingold. 1986. The antioxidant role of vitamin C. *Adv. Free Rad. Biol. Med.* **2**, 419-444.
- Bishov, S. J. and A. S. Henick. 1972. Antioxidant effect of protein hydrolysates in freeze-dried model system. *J. Food Sci.* **37**, 873-875.
- Bishov, S. J. and A. S. Henick. 1975. Antioxidant effect of protein hydrolysates in freeze-dried model system. Synergistic action with a series of phenolic antioxidants. *J. Food Sci.* **40**, 345-348.
- Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**, 59-68.
- Hatake, H., K. Kusunoki and M. Kochi. 1993. Synergistic effects of protein hydrolysates with antioxidants. *J. Japan. Oil Chem.* **12**, 8-15.
- Hodnick, W. F., E. B. Milosavljevic, J. H. Nelson and R. S. Pardini. 1988. Electrochemistry of flavonoids. Relationships between redox potentials, inhibition of mitochondrial respiration, and production of oxygen radicals by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* **37**, 2607-

- 2611.
8. Hudson, B. J. F. and J. I. Lewis. 1983. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Phospholipids as synergists. *Food Chem.* **10**, 111-120.
 9. Kim, S. K., Y. J. Jeon, H. G. Byun, Y. T. Kim and C. K. Lee. 1997. Enzymatic recovery of cod frame proteins with crude proteinase from tuna pyloric caeca. *Fisheries Sci.* **63**, 421-427.
 10. Kim, S. K., H. C. Lee, H. G. Byun and Y. J. Jeon. 1996. Isolation and characterization of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysates of yellowfin sole skin gelatin. *J. Kor. Fish. Soc.* **29**, 246-255.
 11. Krogull, M. K. and O. Fennema. 1987. Oxidation of tryptophan in the presence of oxidizing methyl linoleate. *J. Agric. Food Chem.* **35**, 66-70.
 12. Lawrence, J. F. and D. F. Weber. 1984. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in some canadian commercial fish, shellfish, and meat products by liquid chromatography with conformation by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **32**, 789-794.
 13. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
 14. Mitsuda, H., K. Yasumoto and K. Iwami. 1966. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Nippon Eiyo to Shokuryo Gakkaishi* **19**, 210-214.
 15. Ohkawa, H., N. Ohishi and K. Yagi. 1978. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
 16. Osawa, T. and M. Namiki. 1981. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of eucalyptus leaves. *Agric. Biol. Chem.* **45**, 735-739.
 17. Suetsuna, K. and K. Osajima. 1989. Blood pressure reduction and vasolatory effects *in vivo* of peptides originating from sardine mucle, *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi* **42**, 47-54.
 18. Tagashira, M., M. Watanabe and N. Uemitsu. 1995. Antioxidative activity of hop bitter acids and their analogues. *Biosci. Biotechol. Biochem.* **59**, 740-742.
 19. Yamaguchi, M. 1989. *New Food Industry* **31**, 18-21.
 20. Yamaguchi, N., S. Naito, Y. Yokoo and M. Fujimaki. 1980. Application of protein hydrolyzate to biscuit as antioxidant. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* **27**, 56-59.
 21. Yamaguchi, N., Y. Yokoo and M. Fujimaki. 1979. Antioxidative activities of protein hydrolysates. *Nippon shokuin Kogyo Gakkaish* **26**, 65-70.
 22. Yee, J. J., W. F. Shipe and J. E. Kinsella. 1980. Antioxidant effects of soy protein hydrolysates on copper-catalyzed methyl linoleate oxidation. *J. Food Sci.* **45**, 1082-1083.