

감마선 조사가 마늘(*Allium sativum*) 단백질 Allivin의 구조적 변화에 미치는 영향

김미리* · 서지현 · 이주운 · 육홍선* · 김미정** · 변명우†

한국원자력연구소 방사선식품·생명공학기술개발팀

*충남대학교 식품영양학과

**안양대학교 식품영양학과

Effect of Gamma Irradiation on the Conformational Changes of Garlic (*Allium sativum*) Protein, Allivin

Mee-Ree Kim*, Ji-Hyun Seo, Ju-Woon Lee, Hong-Sun Yook*,
Mi-Jung Kim** and Myung-Woo Byun†

Team for Radiation Food Science and Biotechnology,

Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-600, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Dept. of Food and Nutrition, Anyang University, Anyang, Kyonggi-Do 430-714, Korea

Abstract

Conformational changes of allivin, a major allergen protein in garlic, by gamma irradiation were observed. Allivin solution (3.0 mg/mL in 0.01 M PBS, pH 7.4) and raw garlic were irradiated in a gamma irradiation facility to be absorbed with doses of 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 kGy. After irradiation, a half of irradiated allivin solution was filtered through 0.22 μ m filtration kit. UV spectrum and SDS-PAGE were used for observing the conformational changes of allivin by gamma irradiation. Turbidity of allivin solution was increased by optical observation, and the result was validated by the increase of absorbance at 660 nm. Turbidity of irradiated and filtered allivin solution significantly ($p < 0.05$) decreased, and the concentration of soluble protein in the solution decreased by increase of the dose. Aggregation among allivin molecules was observed by SDS-PAGE, but irradiated and filtered samples showed decrease of allivin with reducing aggregation trend. SDS-PAGE profiles of irradiated raw garlic were not different. Results indicate that gamma irradiation can decrease the allivin in solution state which may impact on allergenic reaction of garlic.

Key words: gamma-irradiation, garlic, allivin, UV spectrum, SDS-PAGE

서 론

마늘(*Allium sativum*)은 독특한 풍미와 소화 및 생리활성을 돕는 효과가 큰 향신료로서 세계적으로 많이 이용되는 식품이다(1). 한편, 마늘에 대한 과민반응(hypersensitivity)으로 야기되는 피부질환(2), 호흡기 천식(3,4), anaphylaxis(5) 등이 보고되면서 마늘 알러지에 대한 관심이 점차 고조되고 있다. 일반적으로 마늘 알러지는 양파(*Allium cepa*) 알러지와 함께 극히 드물게 발생하지만, 다른 식품 알러지가 유·소아에게서 주로 발생하는 것과 비교할 때 성인들에게서 발생율이 높으며, 특히 향신료 제조공장이나 식품가공공장의 작업자에게서도 많이 발생하는 것으로 보고되고 있다(6-8). 다른 식품알러지 환자의 경우와 같이 마늘 알러지 환자들은 마늘의 섭취뿐만 아니라 취급도 꺼려 균형잡힌 식생활의 저해와 마늘, 양파 등

의 향신료에서 얻을 수 있는 심혈관 장애 치료 효과(9) 등 다양한 임상적 이익을 받지 못하게 된다. 마늘의 주요 알러젠들은 크게 allyl 계통의 미량 성분들과 단백질 부분으로 구분된다. Allyl 계통의 성분들 중 diallyl disulfide, allylpropyl disulfide 와 allicin이 알러젠으로 동정되었고(10), 단백질 알러젠은 12 kDa(allivin), 20 kDa, 40 kDa, 54 kDa의 단백질들이 알러젠으로 동정되었으며(4,6), 그 중 allivin이 가장 강력한 알러젠으로 보고되었다(5).

마늘 알러지를 억제하기 위한 방법은 현재까지 보고되지 않았다. 식품가공에서 사용할 수 있는 다양한 방법들이 고려될 수는 있으나, 실용화에는 많은 연구가 필요하다고 사료된다. 그러나, 감마선 조사에 의해 식품 단백질들의 구조가 변화된다는 연구결과(11-13)가 발표된 이래로 감마선 조사기술이 식품 알러지를 억제하거나 제거할 수 있는 가능성에 대한 연구가

†Corresponding author. E-mail: mwbyun@kaeri.re.kr
Phone: 82-42-868-8060. Fax: 82-42-868-8043

보고되고 있다(14-19). 본 연구에서는 감마선 조사기술을 이용하여 마늘의 알러지성 감소를 위한 기초 연구로서, 마늘 단백질 중 주요 알러젠인 allivin에 대하여 감마선 조사에 의해 야기되는 구조적 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

시료의 준비

마늘은 지역 시장으로부터 통마늘을 구입하여 마늘의 껍질을 제거한 후 과육부분을 분리하여 증류수로 세척하고 실온에서 표면을 건조시켰다. 표면이 건조된 시료를 각각 100 g씩 진공포장한 후 감마선을 조사하였다. 또한, Allivin을 추출하기 위해 Lab blender(Mix Master, Duwon Tech., Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 표면이 건조된 마늘을 마쇄하고 20 g 씩 진공포장한 후 -70°C에서 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

Allivin의 분리

마늘 단백질 allivin의 분리는 Asero 등(6)의 방법을 변형하여 실시하였다. 즉, 동결된 마늘 시료 20 g 을 추출용액(0.01 M phosphate buffered saline(PBS), pH 7.2, 2% polyvinylpyrrolidone, 10 mM diethyldithiocarbamate, 2 mM ethylenediamine tetraacetic acid disodium salt) 200 mL에 넣고 실온에서 약 1시간 방치한 후 homogenizer(Diax 900, Heidolph, Germany)를 사용하여 균질화하였다. 마늘 균질액을 4°C에서 16시간 동안 교반하면서 단백질 부분을 추출하였다. 교반 후 9,000×g에서 30분간 원심분리하여 상등액을 분리한 다음 Whatman No. 4 여과지(Whatman International Ltd., Maidstone, England)를 사용하여 여과한 후 여액의 부피를 측정하였다. 부피에 맞게 고체 ammonium sulfate를 60%로 포화되게 교반하면서 천천히 투여하여 용해시켰다. 용해 후 6,000×g에서 20분간 고속원심분리기(Sorvall[®] RC-5B, Du Pont Instruments, Newtown, CT, USA)에서 원심분리하여 침전물을 분리하고, 0.01 M PBS(pH 7.4)을 사용하여 침전물을 용해시키고, 같은 완충액 1 L에서 투석하였다. 투석에 사용한 tube(pore size < 5,000 Da)는 Spectra사(Spectro/Por[®] molecular porous membrane, Spectrum Medical Industries, Inc., Houston, TX, USA)의 제품을 사용하였다. 처음 투석 후 4시간 후 완충액을 교환하여 주고, 이 후 12시간마다 완충액을 교환하며 28시간 후 투석을 마쳤다. 투석된 용액을 9,000×g에서 30분간 원심분리하여 침전된 부분을 제거한 후 0.22 µm disposable filtration kit(Millex[®]-GV, Millipore, Molsheim, France)를 사용하여 여과한 후 protein assay kit(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 사용하여 단백질 함량을 측정하였다. 표준 단백질용액은 bovine serum albumin(Sigma Chemical Co. Ltd., St. Louis, MO, USA)을 0.01 M PBS에 일정 농도로 용해한 다음 희석하여 사용하였다. 분리된 용액에 존재하는 단백질의 정성은 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electro-

phoresis(SDS-PAGE, 12.5% acrylamide)를 사용하여 확인하였다. Allivin 용액은 4°C에 보관하며 다음 실험에 사용하였다.

감마선 조사 및 용액의 여과

감마선 조사는 Co-60을 선원으로 하여 시간당 10 kGy의 선량율로 시료 10 mL이 2.5, 5.0, 7.5 및 10 kGy의 흡수선량을 받도록 감마선 조사시설(IR-79, Nordion International Ltd., Ontario, Canada)에서 조사하였으며, 흡수선량의 확인은 Fricke dosimetry(ceric/cerous dosimeter)(20)를 사용하였고, 흡수선량의 오차는 ±0.1 kGy였다. 이 때 조사실의 온도는 16°C였다. 조사 후 allivin 용액 5 mL을 분리하여 0.22 µm disposable filtration kit를 사용하여 여과한 후 여과하지 않은 시료와 함께 4°C 보관하면서 실험에 사용하였다.

감마선 조사된 allivin 용액의 UV spectrum 측정

감마선 조사된 allivin 용액과 조사 후 여과된 용액에 대한 UV spectrum의 변화를 spectrophotometer를 사용하여 180에서부터 900 nm까지의 파장에서 흡광도의 변화를 관찰하였다. Spectrum 측정 후 280과 660 nm에서의 흡광도를 측정하여 이전 연구(11)에서와 같이 감마선 조사된 allivin 용액의 혼탁도 및 구조적 변화를 관찰하였다.

전기영동

Laemmli(21)의 방법을 사용하여 allivin의 정성 및 감마선 조사된 allivin 용액의 감마선 조사 후 여과한 allivin 용액의 전기영동적 분리 형태 변화를 관찰하기 위하여 SDS-PAGE (5~15%, 10~20% acrylamide gradient gels)를 실시하였다. 또한, 전술한 allivin의 분리 방법을 사용하여 감마선 조사된 마늘로부터 분리한 allivin의 변화를 측정하였다. 전기영동에 사용한 표준 분자량 marker는 Bio-Rad사의 prestained molecular weight marker를 사용하였다.

결과 평가 및 통계처리

단백질 농도 변화 및 UV spectrum에 대해 동일한 실험을 5회 반복 실시하였으며, 시료에 대해 3회 반복 실시하여 얻어진 결과들을 SAS[®] software(22)에서 프로그램된 general linear procedures, least square 평균값을 Duncan의 multiple range test법을 사용하여 평가하였다.

결과 및 고찰

감마선 조사가 allivin 용액의 UV spectrum에 미치는 영향

감마선 조사된 allivin 용액에 대한 UV spectrum의 변화는 Fig. 1-A에 나타났다. 감마선 흡수선량이 증가할수록 UV spectrum에서 흡광도의 값이 증가하였다. 식품단백질들에 대한 이전 연구들(11,23)에서 보고된 바와 같이, allivin에 대한 감마선 조사가 단백질용액의 흡광도를 증가시키는 것으로 나타났다. 흡광도의 증가는 특히 200 nm부터 400 nm 범위에서

큰 폭의 변화를 나타내었는데, 감마선 조사에 의해 단백질 2, 3차 구조를 이루는 disulfide bond와 hydrogen bond의 부분적인 파괴로 단백질 내부에 존재하고 있던 저파장에서 흡광도에 관여하는 phenylalanine, tryptophane 등의 benzene ring을 갖고 있는 일부 hydrophobic amino acid들이 분자 외부로 노출되어 흡광도의 값에 간접하여 값을 증가시키기 때문이다(24, 25). 이 때 단백질의 정성 및 정량에 이용되는 UV 파장인 280 nm에서의 흡광도도 역시 증가하는데, 단백질 농도의 변화없이 흡광도의 변화는 구조변화를 예측할 수 있는 기초자료를 제공한다(11). Allivin 용액의 280 nm에서의 흡광도는 감마선 조사로 인해 증가됨을 알 수 있었다(Table 1).

일반적으로 단백질의 구조변화는 단백질 용액의 혼탁도에 영향을 미친다(11). 감마선 조사된 allivin 용액이 흡수선량이 증가함에 따라 가지적으로도 관찰할 수 있게 탁하게 변화했다. 단백질 용액의 혼탁도는 660 nm 파장의 흡광도의 변화를 관찰하면 쉽게 알 수 있다(26). 이에 UV spectrum 결과에서 660 nm의 흡광도를 비교해 본 결과 감마선 조사에 의해 allivin 용액의 혼탁도가 증가함을 알 수 있었고, 혼탁도는 흡수선량이 증가할수록 증가하였다(Table 1).

한편, 감마선 조사 후 0.22 μ m에서 여과된 allivin 용액의

혼탁도가 가지적으로 관찰하였을 때, 현저하게 감소되는 것을 관찰하였다. 여과된 allivin 용액의 UV spectrum을 측정한 결과, 300 nm 이상의 범위에서 처리구간의 차이가 발견되지 않았다(Fig. 1-B). 또한, 280 nm의 흡광도에서는 흡수선량이 증가할수록 오히려 감소되는 결과를 나타냈다(Table 1). 이 결과는 감마선 조사에 의해 분자간 중합·축합으로 발생된 응집물들이 0.01 M PBS(pH 7.4) 조건에서 용해되지 않고 여과시 여과되지 않은 것을 나타낸다. 특히 흡수선량이 증가할수록 280 nm에서의 흡광도의 감소는 처리구간의 단백질 함량의 변화를 나타낸다. 이 결과는 protein assay kit를 이용한 단백질 정량에서 확인하였다(Table 1). 감마선에 의한 단백질 용해성의 감소는 hydrophobic amino acids의 표면 노출로 분자간 hydrophobic interaction이 발생하고, 조사시 생성된 아미노산의 분해산물 중 반응성이 큰 ketone체가 단백질과 반응하여 분자를 거대분자로 변형시키며, 단백질 표면에 존재하는 hydroxyl group의 수를 감소시키기 때문이다(24,27).

전기영동 분리 형태 변화

Fig. 2는 감마선 조사된 allivin 용액의 전기영동도이다. 감마선 조사로 12 kDa의 분자량을 갖는 allivin의 변화는 크게

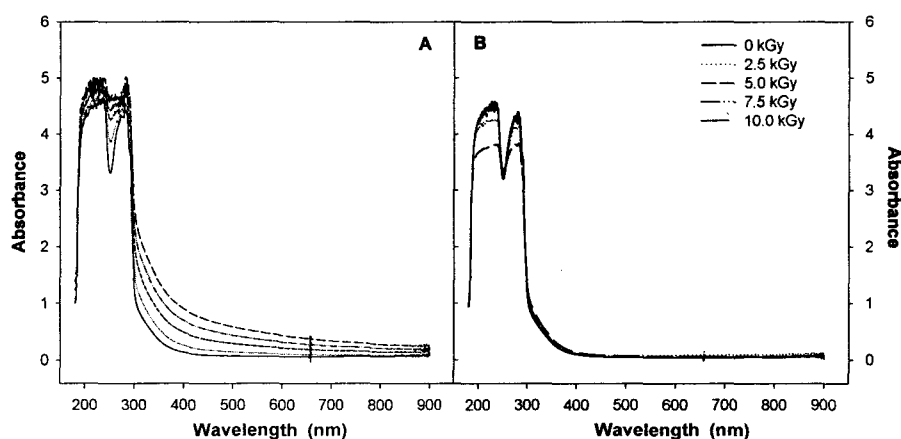


Fig. 1. UV spectrum of allivin solution (3.0 mg/mL) gamma-irradiated with the different absorbed doses.

A, Only irradiated samples; B, Irradiated and filtered samples.

Table 1. Changes of optical densities of gamma-irradiated garlic protein, allivin solution (3.0 mg/mL)

Treatment	Absorbance (nm)	Irradiation dose (kGy)					SEM ⁵⁾
		0	2.5	5.0	7.5	10.0	
Non-filtered	280	4.503 ^{a,3)}	4.500 ^a	4.708 ^b	4.857 ^c	5.000 ^{d,4)}	0.005
	660	0.057 ^a	0.097 ^b	0.185 ^c	0.273 ^d	0.372 ^e	0.006
	Protein assay at 585 ²⁾	0.542	0.539	0.541	0.542	0.540	0.003
Filtered ¹⁾	280	4.393 ^a	4.352 ^b	4.329 ^c	4.178 ^d	3.803 ^e	0.004
	660	0.039 ^a	0.043 ^a	0.048 ^b	0.051 ^b	0.062 ^c	0.003
	Protein assay at 585 ²⁾	0.531 ^a	0.522 ^b	0.501 ^c	0.485 ^d	0.432 ^e	0.006

¹⁾Sample solutions were filtered within 0.22 μ m filtration kit after irradiation.

²⁾Protein assay was conducted to determine the concentration of protein in the solutions.

³⁾Means within a row with no common superscript differ ($p < 0.05$).

⁴⁾This value was the highest of a spectrophotometer used in this study.

⁵⁾SEM: Standard errors of the mean. n = 15.

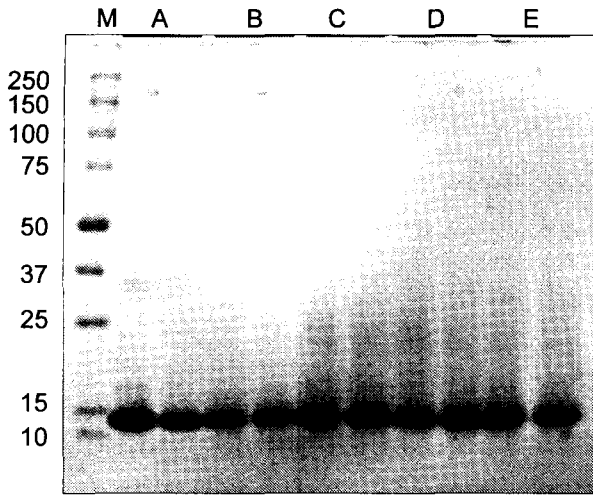


Fig. 2. SDS-PAGE profile of allivin gamma-irradiated with the different absorbed doses.
 M, molecular weight standard marker; A, 0 kGy; B, 2.5 kGy; C, 5.0 kGy; D, 7.5 kGy; E, 10.0 kGy.
 Numbers on the left side indicate the molecular weights (kDa) of the standard marker.

관찰되지 않았다. 그러나, 5 kGy 이상의 선량에서부터 분자간 응집으로 인한 끌림 현상이 관찰되었다. 이 결과는 감마선 조사된 단백질의 전기영동분리형태에서 잘 발견되는 현상으로서, 이전 연구들(14-16)에서 보고된 분리형태와 유사한 경향을 나타내고 있다. 끌림 현상은 35 kDa 이하의 분자량 범위에서 주로 발견되었고, 선량의 증가에 따른 분자량의 증가는 관찰되지 않았다. 위에서 설명한 바와 같이 단백질 분자간 중·축합으로 발생하는 고분자화 현상은 산소(O₂)의 존재유무에 큰 영향을 받는다(12,25). 일반적으로 산소의 존재시 감마선 조사로 인해 단백질 분자는 거대분자로 응집되는 현상이 주로 발생되고, 분자간 응집은 특정한 분자량대를 형성하지 않고 넓은 범위에서 발견되며, 선량이 증가할수록 고분자량으로 이동하는 경향을 나타낸다(11,15).

한편, 감마선 조사 후 불용성 부분을 제거한 다음 전기영동을 실시하였을 때, allivin의 농도가 감소됨을 확인할 수 있었다 (Fig. 3). 여과하지 않은 시료에서 발견되었던 35 kDa 이하에서의 넓은 끌림현상은 감소하였으나, 선량이 증가할수록 끌림 현상의 범위가 넓게 분포하는 것을 알 수 있었다. 이 결과는 감마선에 의한 단백질의 응집이 모든 응집된 단백질 부분을 불용화시키는 것은 아니라는 것을 확인할 수 있었으며, 응집되어 용해되어 있는 단백질 부분의 연구에 대한 필요성을 제시하고 있다.

감마선 조사된 마늘로부터 분리한 allivin의 전기영동도는 Fig. 4에 나타냈다. 감마선 조사에 의한 마늘내 allivin은 구조적 변화를 일으키지 않았다. 변성으로 인한 추출율의 변화도 나타나지 않아 10 kGy 이하에서의 감마선 조사는 마늘 단백질 allivin의 구조적 변화에 큰 영향을 미치지 않았다.

감마선 조사로 인한 단백질의 구조적 변화는 저분자량의

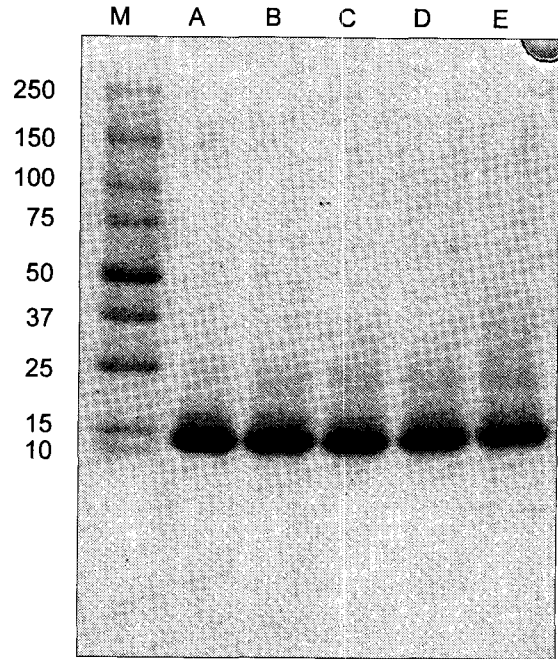


Fig. 3. SDS-PAGE profile of allivin gamma-irradiated and filtered within 0.22 μm filtration kit.
 M, molecular weight standard marker; A, 0 kGy; B, 2.5 kGy; C, 5.0 kGy; D, 7.5 kGy; E, 10.0 kGy.
 Numbers on the left side indicate the molecular weights (kDa) of the standard marker.

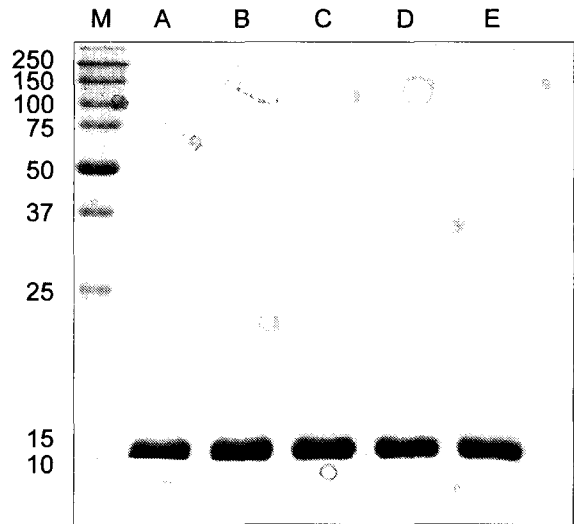


Fig. 4. SDS-PAGE profile of allivin separated from garlic gamma-irradiated with the different absorbed doses.
 M, molecular weight standard marker; A, 0 kGy; B, 2.5 kGy; C, 5.0 kGy; D, 7.5 kGy; E, 10.0 kGy.
 Numbers on the left side indicate the molecular weights (kDa) of the standard marker.

단백질보다는 고분자량의 단백질에서 더 크게 발생되고(11, 18), 식물체의 씨앗에 존재하는 단백질들이 감마선에 강한 저항을 갖는 것으로 사료된다. 마늘 allivin의 구조적 변화를 위한 감마선 조사의 이용은 조사시 pH의 변화, 가열 및 가압 등 다른

가공처리기술과의 병용처리가 고려되어야 한다(19). 결론적으로 마늘 알러지를 방지하기 위한 기술개발의 일환으로 실시한 마늘알러젠, allivin에 대한 감마선 조사는 10 kGy 이하의 선량에서는 큰 구조적 변화를 일으키지 않는 것으로 나타났다.

요 약

감마선 조사에 의한 마늘의 주요 알러젠 단백질인 allivin의 구조적 변화를 관찰하였다. Allivin 용액(3.0 mg/mL in 0.01 M PBS, pH 7.4)과 생마늘에 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 kGy의 흡수선량을 갖도록 감마선을 조사하였다. 조사 후 용액의 절반을 0.22 µm filter로 여과하여 준비하였다. 감마선 조사에 의한 allivin의 변화는 UV spectrum과 SDS-PAGE를 사용하여 관찰하였다. 가지적으로 관찰하였을 때, 조사선량이 증가할수록 allivin 용액의 혼탁도가 증가하였으며, 660 nm 파장에서 흡광도의 증가로 확인할 수 있었다. 조사 후 여과한 allivin 용액의 UV spectrum 측정에서 혼탁도의 변화가 크게 감소되었으며, 선량이 증가할수록 용해된 단백질의 농도가 감소하였다. SDS-PAGE 시험에서 감마선 조사된 allivin의 큰 변화는 관찰되지 않았으나, 분자간 응집이 관찰되었다. 그러나, 조사 후 여과한 시료에서는 allivin의 감소가 관찰되었으며, 분자간 응집으로 발생된 끌림도 감소하였다. 생마늘에 대한 전기영동 결과는 차이가 없었다. 이 결과들은 감마선 조사가 수용액 상태에서 allivin의 알러지성을 감소시킬 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 원자력 중장기 연구개발과제의 지원으로 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

- International Atomic Energy Agency. 1992. Irradiation of spices, herbs and other vegetable seasonings. IAEA-TEC DOC-639.
- Delanet TA, Donnelly AM. 1996. Garlic dermatitis. *Austra J Derm* 37: 109-110.
- Savin JA. 2001. Follow your nose. *Clin Exp Derm* 26: 123-124.
- Anibarro B, Fontela JL, De La Hoz F. 1997. Occupational asthma induced by garlic dust. *J Allergy Clin Immunol* 100: 734-738.
- Perez Pimiento AJ, Moneo I, Santaolalla M, de Paz S, Fernandez-Parra B, Dominguez-Lazaro AR. 1999. Anaphylactic reaction to young garlic. *Allergy* 54: 626-629.
- Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Antoniotti PL, Falagiani P. 1998. A case of garlic allergy. *J Allergy Clin Immunol* 101: 427-428.
- Sinha SM, Pasricha JS, Sharma RC, Kandhari KC. 1977. Vegetables responsible or contact dermatitis of the hands. *Arch Dermatol* 113: 776-779.
- Lehrer SB, O'Neil CE. Occupational reactions in the food industry. 1992. *Food Technol* 46: 153-156.
- Mashour NH, Lin GI, Frishman WH. 1995. Herbal medicine for the treatment of cardiovascular disease: Clinical considerations. *Arch Intern Med* 158: 2225-2234.
- Papegeogiu C, Corbet JP, Menezes-Brandao F. 1983. Allergic contact dermatitis to garlic, identification of the allergens. The role of mono-, di- and trisulfides present in garlic. *Arch Dermatol Res* 275: 299-234.
- Lee JW, Yook HS, Lee KH, Kim JH, Kim WJ, Byun MW. 2000. Conformational changes of myosin by gamma irradiation. *Radiat Phys Chem* 58: 271-277.
- Filali-mouhim A, Audette M, St-louis M, Thauvette L, Denroy L, Penin F, Chen X, Rouleau N, Le Caer JP, Rossier J, Potier M, Le Maire M. 1997. Lysozyme fragmentation induced by γ -radiolysis. *Int J Radiat Biol* 72: 63-70.
- Horowitz R, Kempner ES, Bisher ME, Podolsky RJ. 1986. A physiological role for titin and nebulin in skeletal muscle. *Nature* 323: 160-164.
- Kume T, Matsuda T. 1995. Changes in structural and antigenic properties of proteins by radiation. *Radiat Phys Chem* 46: 225-231.
- Byun MW, Kim JH, Lee JW, Park JW, Hong CS, Kang IJ. 2000. Effects of gamma radiation on the conformational antigenic properties of a heat-stable major allergen in brown shrimp. *J Food Prot* 63: 940-944.
- Lee JW, Kim JH, Yook HS, Kang KO, Lee SY, Hwang HJ, Byun MW. 2001. Effects of gamma radiation on the allergenic and antigenic properties of milk proteins. *J Food Prot* 64: 272-276.
- Lee SY, Jeon GR, Lee JW, Oh SJ, Yook HS, Cho KH, Byun MW. 2002. Reduced allergenicities of irradiated ovalbumin and ovomucoid determined by skin prick test and ELISA inhibition test. *J Allergy Clin Immunol* 109: S307.
- Kim MJ, Lee JW, Yook HS, Lee SY, Kim MC, Byun MW. 2002. Changes of the antigenic and immunoglobulin E-binding properties of hen's egg albumin by the combination of heat and gamma irradiation treatment. *J Food Prot* 65: 1192-1195.
- Lee JW, Lee KY, Yook HS, Lee SY, Kim HY, Jo C, Byun MW. 2002. Allergenicity of hen's egg ovomucoid gamma irradiated and heated under different pH conditions. *J Food Prot* 65: 1196-1199.
- Holm NW, Berry RJ. 1970. *Manual on Radiation Dosimetry*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of binding ability bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- SAS. 1988. *SAS/STAT: User's Guide*. 6th edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Jo C, Lee JW, Byun MW. 2001. Short communication of novel application of food irradiation. *J Food Sci Nutr* 6: 253-256.
- Garrison WM. 1987. Reaction mechanisms in the radiolysis of peptides, polypeptides, and proteins. *Chem Rev* 87: 381-398.
- Schuessler H, Schilling K. 1984. Oxygen effect in the radiolysis of proteins. Part 2: Bovine serum albumin. *Int J Radiat Biol* 45: 267-281.
- Chan JK, Gill TA, Paulson AT. 1993. Thermal aggregation of myosin subfragments from cod and herring. *J Food Sci* 58: 1057-1060.
- Wolff SP, Garner A, Dean RT. 1986. Free radicals, lipids and protein degradation. *TIBS* 11: 27-31.