

감마선 조사에 의한 단백질분해효소의 특성변화

육홍선 · 이현자* · 임성일** · 김 성 · 변명우†

한국원자력연구소 방사선식품공학연구팀

*국립안성산업대학교 가정학과

**한국식품개발연구원 생물공학부

Changes of Proteolytic Enzyme Property by Gamma Irradiation

Hong-Sun Yook, Hyun-Ja Lee*, Sung-Il Im**, Sung Kim and Myung-Woo Byun†

Dept. of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-600, Korea

*Dept. of Home Economics, National Anseong University, Anseong 456-749, Korea

**Div. of Food Biotechnology, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-420, Korea

Abstract

Effects of gamma irradiation on the activity and the properties(amino acid compositions, *in vitro* digestibility and SDS-PAGE pattern) of proteolytic enzymes were investigated. The proteolytic activity of soluble human serine protease, enzyme in kiwi and pineapple decreased 10% and 30~65% by 5 kGy and 30 kGy, respectively. In dried pancreatin and lysozyme, the proteolytic and antimicrobial activities decreased 6~14% and 10~20% by 5 kGy and 40 kGy, respectively. The analysis of above 10 kGy-irradiated soluble human serine protease by SDS-PAGE revealed radiolysis of the enzyme into protein or peptides of lower molecular weights. The irradiation of skim milk, hammastein casein, and lysozyme up to 40 kGy had no deleterious effect on either the *in vitro* digestibility or amino acid compositions.

Key words: gamma irradiation, proteolytic enzyme activity, *in vitro* digestibility, SDS-PAGE

서 론

방사선 조사식품의 안전성에 관해서는 이미 국제기구(IAEA/FAO/WHO, ICGFI 등) 및 선진국의 여러 연구기관(FDA 등)에서 미생물학적, 영양학적, 유전독성학적으로 문제가 없는 것으로 결론이 내려져 있다(1-3). 그러나 단백질을 주성분으로하는 식품의 경우 고선량의 방사선을 조사할 경우, 생성된 라디칼이 연쇄반응하여 단백질 분자의 단편화가 초래되어 단백질의 영양가에 영향을 미칠 것으로 예상된다. 방사선 조사된 단백질의 소화성에 관해서는 지금까지 몇가지 모델 peptide를 이용한 각종 단백질분해효소의 반응성을 검토해 왔지만 영양학적 안전성의 견지에서 볼 때 실제적인 내용은 아니며, 특히 효소에 대한 방사선 조사의 영향을 검토한 결과는 거의 없다(4).

따라서 본 연구는 미생물 유래 및 포유류형의 단백질분해효소와 키위, 파인에플과 같은 과육에 존재하는

단백질분해효소를 대상으로 감마선 조사에 의한 이들 효소의 안정성을 조사하여 부분적으로나마 단백질식품의 방사선 조사시 특성변화를 검토코자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 방사선 조사

미생물 유래의 lysylendopeptidase(*Achromobacter protease* I. API)(EC3.4.21.50)은 和光純藥工業(일본)으로부터 구입하였으며, 포유류형 α -chymotrypsin, pancreatin은 Sigma Co.로부터, 키위와 파인에플은 시중에서 유통되고 있는 것을 구입하였다. 시료는 정제효소의 경우 일정량을 증류수로 녹인 다음 원심분리(15,000rpm에서 10분간)하여 그 상층액을 시료로 하였으며, 과일류의 경우는 과육을 마쇄하여 15,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 채취하여 감마선을 조사하였

† To whom all correspondence should be addressed

다. 한편, 전조단백질분해효소의 감마선 조사에 의한 영향을 조사하기 위하여 pancreatin(Sigma Co.), lysozyme(Sigma Co.), skim milk(Difco Co.), 및 hammastein casein(Biochemical Co.) 분말에 직접 방사선을 조사하였다.

방사선조사는 선원 10만 Ci, ⁶⁰Co 감마선 조사시설을 이용하여 분당 71.5 kGy의 선량율로 0~100 kGy범위의 총 흡수선량을 얻도록 하였으며, 흡수선량 확인은 ceric cerous dosimeter(USA)를 사용하였고, 총 흡수선량 오차는 ±0.2 kGy였다

아미노산 분석

각 시료의 총 아미노산 함량은 시험관(2×20cm)에 시료 50mg과 6N HCl 10ml를 가하고 질소층진 후 15 lb, 121°C에서 3시간 가수분해한 다음 Whatman filter papper No. 2와 membrane filter (0.45µm)로 각각 여과하였다. 그후 cartridge C₁₈을 사용하여 지방질과 색소를 제거한 다음, 아미노산 자동분석기(Hitachi model 835)로 분석하였다.

단백질 분해활성 측정

단백질분해효소의 활성은 Anson과 赤堀의 방법(5, 6)을 이용하여 측정하였다. 즉, 0.6% hammastein casein (pH 7.2) 2.5ml에 효소액 100µl를 가하고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 0.44M trichloroacetic acid 2.5ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 미분해 casein을 침전제거시키기 위해 10분간 정제시킨 후 Whatman No. 1 여과지로 여과시킨 다음 그 여액 1ml에 0.55M Na₂CO₃ 10ml와 1N Folin-ciocalteu 용액을 가하여 37°C에서 30분간 발색시켜 660nm의 흡광도를 측정하였다. 대조군은 효소와 침전시약의 첨가순서를 역으로 하였다. 이들 효소 단백질의 감마선 조사에 의한 변성정도는 비조사군의 활성을 100%로 하여, 100에서 감마선 조사군의 활성%를 뺀 값으로 나타내었다.

감마선 조사된 lysozyme의 항미생물활성 측정

Lysozyme의 항미생물활성은 *E. coli*(ATCC25922)를 공시균주로 하여 Ibrahim 등의 방법(7)에 준하여 측정하였다. 먼저 대장균을 BHI(brain heart infusion)배지를 사용하여 37°C에서 16시간 전배양한 다음 37°C에서 4시간 본배양한 후 원심분리(4°C에서 5000rpm, 10분간)하여 균체를 수집하였다. 균체를 10mM sodium phosphate buffer(pH 7.2)로 2회 세척한 다음 동일 buffer를 가하여 100ml로 조정하고 이 균현탁액 1ml에 선

량별로 감마선 조사된 lysozyme(nutrient broth 1ml당 lysozyme 500µg함유)수용액 1ml를 가하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 이 반응액 0.2ml을 nutrient agar plate에 도말한 다음 37°C에서 24시간 배양시킨 후 집락을 계수하여 비조사군과 비교함으로써 항미생물활성을 측정하여 감마선 조사에 의한 lysozyme의 변성정도를 검증하였다.

감마선 조사 단백질의 소화율 측정

식품단백질의 *in vitro* 소화율(relative digestion rates(RDR))은 식 1과 같이 비교군과 동일한 정도로 소화시키는데 소요되는 시간의 차로서 나타낼 수 있다

$$RDR = \frac{(t) \text{ ref}}{(t) \text{ sample}} \quad (1)$$

즉, 단백질이 단백질분해효소에 의해 가수분해되면 유리아미노산 carboxyl기가 증가함으로써 pH가 떨어진다 따라서, 본 실험에서는 pH 7.5에 도달하는데 소요되는 시간을 측정함으로써 RDR을 산출하였다. pH 8의 skim milk 또는 hammastein casein(8mg/ml) 수용액 50ml에 trypsin(16mg/ml) 1ml를 첨가하여 37°C에서 반응시키면서 pH 7.5에 도달하는데 소요되는 시간을 측정하여 식2에 준하여 RDR을 산출하였다(8).

$$RDR = \frac{\text{required time reached to pH 7.5 (irradiated sample)}}{\text{required time reached to pH 7.5 (nonirradiated sample)}} \quad (2)$$

SDS-PAGE 패턴의 비교

Polyacrylamde gel 전기영동분석(SDS-PAGE)은 Laemmli의 방법(9)에 준하였다. 이때 stacking gel과 separating gel의 농도는 각각 4.5, 12.5%였으며, 전기영동은 20mA에서 50분간 행하였다.

결과 및 고찰

감마선 조사선량에 따른 효소활성의 변화

농축산물의 보존과 안전성의 확보를 위해 실용화되고 있는 감마선 조사가 이들 산물의 자연 그대로의 특성을 보유하면서 위생화 대책으로 적당량의 여부를 조사하기 위해 농축산물과 그 밖의 미생물유래의 단백질분해효소를 선별하여 감마선 조사선량에 따른 효소활성을 측정하였다.

Table 1에서 비조사군을 100%로 하였을 경우 FAO/

Table 1. Enzyme activity of gamma-irradiated soluble and dry enzymes

Enzymes	Relative activity (%)						
	0 kGy	5 kGy	10 kGy	20 kGy	30 kGy	40 kGy	100 kGy
API ¹⁾	100	95	91	67	35	N.E	10
α -Chymotrypsin ¹⁾	100	90	85	79	69	N.E	45
Pancreatin ¹⁾	100	91	82	70	57	N.E	36
Kirwi ¹⁾	100	94	85	78	70	N.E	62
Pineapple ¹⁾	100	96	90	81	56	N.E	36
Pancreatin ²⁾	100	94	93.6	93	n.e	86	N.E

¹⁾Soluble enzyme, ²⁾Dry enzyme, API: lysylendopeptidase(*Achromobacter protease* I), N.E: not examined

IAEA/WHO의 식품조사합동전문가위원회(JECFI)가 모든 식품에 허용한 조사선량인 10 kGy이내에서는 *Achromobacter lyticus* 유래의 단백질분해효소인 lysylendopeptidase의 경우 10% 실패된 90%의 효소활성을 보유했으나 100kGy에서는 불과 10%만의 활성을 유지하였다. Chymotrypsin의 경우는 5 kGy, 10 kGy, 100 kGy의 선량에서 각각 90%, 85%, 45%의 활성을 유지하였으며, pancreatin은 91%, 82%, 36%의 효소활성을 갖고 있었다. 한편 천연과실류의 경우 키위가 5 kGy, 10 kGy, 100 kGy에서 약 94%, 85%, 62%의 단백질분해 활성이 보유되었으며, 파인애플은 96%, 90%, 36%의 활성이 유지되었다. 이와같이 병원성미생물 살균을 목적으로 사용되고 있는 5 kGy 이하의 저선량에서는 이들 단백질의 변성정도가 10%이내로서 생리활성상 크게 문제되지 않는 것으로 확인되었다.

단백질을 주성분으로 하는 식품에 방사선을 조사할 경우, 생성된 라디칼이 연쇄반응하여 단백질분자가 고분자화 또는 단편화되며(10-14), 방사선 조사에 의해 물분자로부터 생성된 hydroxy radical(OH·)에 의해 단백질을 구성하는 아미노산과 각종 결합이 형성된다고 보고되고 있다(15). 결과적으로 건조단백질식품보다도 수용액 혹은 고수분함유식품이 감마선 조사로 변성되는 속도와 크기가 더 많은 영향을 받을 것으로 생각된다. 이에 따라, 감마선에 의한 변성정도를 건조상태의 단백질과 수용상태의 단백질에 대하여 비교, 검토하였다. 건조분말 상태인 pancreatin에 감마선을 5, 10, 20, 40 kGy 선량조사하여 단백질분해활성을 측정된 결과, 10 kGy의 조사선량에서 약 94%의 활성이, 40 kGy에서는 86%의 효소활성이 유지됨으로써 건조분말상태의 단백질이 수용성단백질에 비해 감마선에 대한 감수성이 낮아 매우 안정한 것으로 나타났다.

감마선 조사 lysozyme의 항미생물 활성

건조분말 단백질의 감마선에 대한 영향을 단백질분

해효소가 아닌 용균성 lysozyme을 대상으로 대장균을 이용하여 항미생물활성을 측정함으로써 pancreatin의 감마선에 대한 감수성과 비교 시험을 수행하였다. 그 결과는 Table 2와 같이 lysozyme은 20 kGy까지의 조사선량에서 비조사군과 비교해 항미생물활성이 10% 감소되었으며, 40 kGy에서는 20% 감소하였다. 이 수치는 lysozyme의 감마선 조사에 의한 변성정도를 나타내는 것으로서 pancreatin의 감마선에 대한 감수성과 유사하였다. 따라서 건조상태의 단백질은 10 kGy 미만의 선량으로 조사될 경우 그 영향이 크지 않음을 알 수 있었다.

감마선 조사에 의한 아미노산 조성변화

단백질식품은 가공·저장과정에서 구성 아미노산이 손상을 받기 쉬운데 특히 methionine이 가장 빠르게 손상을 받으며, 그 다음으로 lysine, histidine, tryptophane이 손상을 받기 쉽다(16). 또한 감마선 조사 등에 영향을 받기 쉬운 아미노산으로 tryptophane, threonine, valine, methionine, isoleucine, phenylalanine, lysine이 불안정한 아미노산으로 알려져 있고, 반응성이 높은 아미노산의 하나인 phenylalanine은 orthotyrosine, metatyrosine으로 전환되는 것으로 보고되고 있다(16). 이와같은 방사선에 의한 단백질의 구조변화나 구성아미노산의 화학적 변화는 단백질의 영양적 가치나 안전

Table 2. Effect of gamma-irradiated lysozyme on viability of *E. coli* ATCC25922

Irradiation dose (kGy)	$\times 10^8$ CFU/ml	Relative viability(%)
Control ¹⁾	5.0	-
0	1.0	100
5	1.1	90
10	1.1	90
20	1.1	90
40	1.2	80

¹⁾Control: no added lysozyme

Table 3. Amino acid composition of gamma-irradiated lysozyme, skim milk and hammastein casein (unit : %)

Amino acid	Irradiation dose (kGy)														
	0			5			10			20			40		
	L ¹⁾	S ²⁾	H ³⁾	L	S	H	L	S	H	L	S	H	L	S	H
Asp	16.647	2.710	6.249	16.179	2.895	6.269	16.299	2.598	6.287	16.793	2.624	6.216	17.017	2.530	6.203
Thr	4.371	1.172	3.269	4.159	1.186	3.293	4.210	1.179	3.372	4.203	1.169	3.415	4.210	1.139	3.419
Ser	5.501	1.707	4.642	5.433	1.674	4.666	5.318	1.647	4.619	5.444	1.686	4.679	5.544	1.664	4.776
Glu	4.977	7.923	20.990	4.339	8.254	20.989	4.497	7.781	21.552	4.501	7.905	21.156	4.510	8.138	21.449
Gly	5.077	0.705	1.566	4.944	0.657	1.564	4.892	0.632	1.549	5.010	0.687	1.583	5.057	0.693	1.590
Ala	6.199	1.129	2.636	6.036	1.138	2.650	6.071	1.114	2.560	6.108	1.181	2.645	6.081	1.218	2.683
Cys	3.927	0.671	0.549	4.081	0.587	0.566	4.079	0.610	0.547	3.737	0.612	0.607	3.692	0.514	0.531
Val	3.119	2.092	5.217	3.094	2.058	5.338	3.134	2.565	5.312	3.179	2.511	5.112	2.991	2.180	5.272
Met	1.432	0.822	1.945	1.476	0.842	2.125	1.482	0.888	2.008	1.561	0.878	1.942	1.483	0.794	1.956
Ile	3.233	1.354	3.682	3.167	1.335	3.747	3.175	1.394	3.799	3.227	1.420	3.631	3.032	1.489	3.917
Leu	5.700	3.417	8.143	5.554	3.349	8.601	5.631	3.280	8.149	5.741	3.308	8.055	5.774	3.271	8.133
Tyr	2.697	1.265	4.259	2.562	1.259	4.369	2.612	1.346	4.179	2.662	1.239	4.669	2.473	1.460	4.097
Phe	2.879	1.763	4.541	2.770	1.789	4.506	2.872	1.756	4.360	2.947	1.790	4.199	3.026	1.877	4.353
Lys	4.791	2.777	7.062	4.674	2.777	7.071	4.766	2.808	6.977	4.883	2.808	6.806	4.878	2.888	7.040
His	0.944	0.807	2.173	0.866	0.870	2.358	0.829	0.852	2.268	0.844	0.842	2.315	0.842	0.832	2.332
Arg	10.046	1.394	3.274	10.115	1.240	2.993	10.071	1.305	3.141	10.143	1.305	3.169	10.304	1.386	3.239
Pro	1.928	-	15.428	2.290	-	14.723	2.036	-	14.913	1.962	-	15.665	1.920	-	14.993
Total	83.468	31.708	95.625	82.039	31.910	95.828	82.974	31.755	95.592	82.834	31.965	95.864	82.834	32.073	95.983

¹⁾L: lysozyme, ²⁾S: skim milk, ³⁾H: hammastein casein

성에 영향을 미칠 것으로 예상된다.

본 실험에서 전조분말 상태인 lysozyme, skim milk, hammastein casein을 대상으로 감마선 조사선량에 따른 아미노산 조성의 변화를 살펴 본 결과(Table 3), 40 kGy 조사선량까지의 감마선 조사군은 비조사군의 아미노산 조성과 큰 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 변 등(17)의 대두 단백질의 감마선 조사에 의한 아미노산 조성변화 시험에서 40 kGy 조사선량까지는 유의적인 변화가 없었다는 보고와 유사한 경향을 보였다.

인공소화계에서 소화물의 변화

감마선 조사된 곡류나 두류의 소화물 및 영양이용율은 비조사군에 비해 증가되며, 이는 감마선 조사에 의한 단백질 구조와 항영양인자의 부분적 분해로 소화작용이 용이해지는 것으로 보고되고 있다(18). Skm milk와 hammastein casein의 감마선 조사선량에 따른 소화물 변화를 37°C에서 시험한 결과는 Table 4와 같이 비조사군과 감마선 조사군간에 거의 변화가 없는 것으로 나타나 감마선 조사가 소화물에 미치는 영향은 거의 없는 것으로 확인되었다 Yasumoto 등(19)도 30 kGy까지 감마선 조사된 닭고기과 ovalbumin은 인공 소화계에서 비조사군과 소화물의 차이를 보이지 않았다고 하였다.

SDS-PAGE 패턴의 변화

감마선 조사에 의한 효소활성의 저하가 이들 효소의 구성아미노산 조성의 변화에 의한 영향인지, 효소의 구조적 변화에 의한 것인지를 여부를 확인하기 위하여 수용상태와 건조상태의 단백질분해효소의 감마선에 대한 영향을 SDS-PAGE로 검토하였다. Fig 1에 의하면 수용상태의 API(MW 28,000), α-chymotrypsin(MW. 25,000), pancreatin(α-amylase, lipase, trypsin의 혼합물)은 10 kGy까지는 밴드의 굵기로 판단할 경우, 약 50 % 정도의 단백질의 peptide 결합이 절단되어 저분자량화 되는 것으로 나타났으며, 50kGy의 선량에서는90 % 이상 분해되는 것으로 나타났다. 한편, 건조상태 단백질의 경우는 Fig. 2에서와 같이 pancreatin은 10 kGy까지의 조사선량에서는 거의 변화가 없었으나, 40 kGy

Table 4. Effect of gamma irradiation on the rate of digestion of skim milk and hammastein casein

Proteins	Relative digestion rate ¹⁾				
	0 kGy	5 kGy	10 kGy	20 kGy	40 kGy
Skim milk	1.0	1.1	1.0	1.0	1.1
Hammastein casein	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0

¹⁾Required time reached to pH 7.5(irradiated sample)/required time reached to pH 7.5(nonirradiated sample)

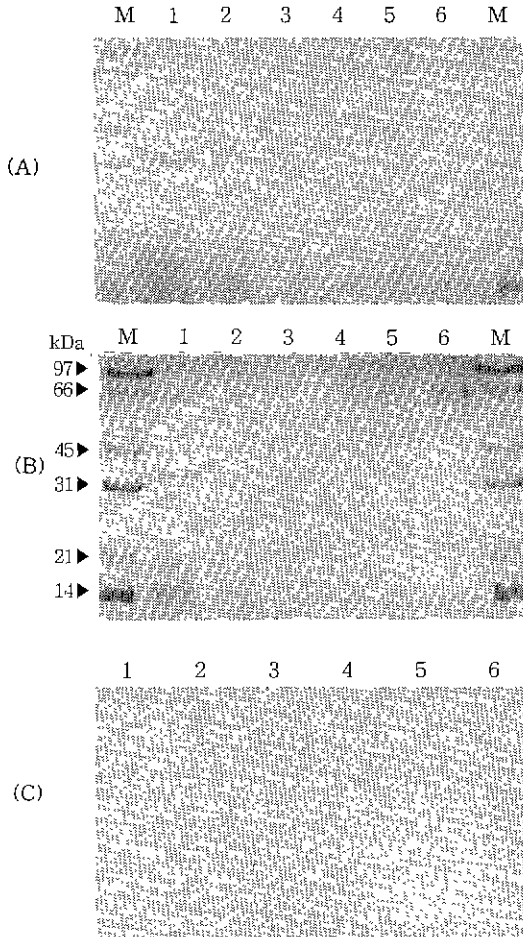


Fig. 1. SDS-PAGE patterns of soluble proteins of API (A), α -chymotrypsin(B) and pancreatin(C) irradiated with 0 to 50 kGy. M, low range molecular weight markers: lane 1, 0 kGy; lane 2, 5 kGy; lane 3, 10 kGy; lane 4, 20 kGy; lane 5, 30 kGy, lane 6, 50 kGy.

의 선량하에서는 약 50%의 단백질이 변성되는 것으로 나타났으며, lysozyme 역시 이와 유사한 정도로 변성되는 것이 확인되었다. 건조상태의 skim milk, hamma-stein casein에 감마선을 조사한 경우에는 40 kGy의 조사선량에서도 상당히 안정하여 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과로부터 효소활성의 저하는 효소를 구성하는 단백질이 감마선조사에 의해 파괴·변성되어 단편화가 일어나 저하되었으며, 수용상태의 단백질이 건조상태의 단백질보다 감마선에 대한 감수성이 높음을 시사하고 있다

단백질의 방사선에 의한 분해는 구성아미노산이나 peptide 결합의 반응으로 대부분 수복될 수 있으며, 이에 관여하는 반응으로는 탈아미노, 탈탄산, SH기의 산

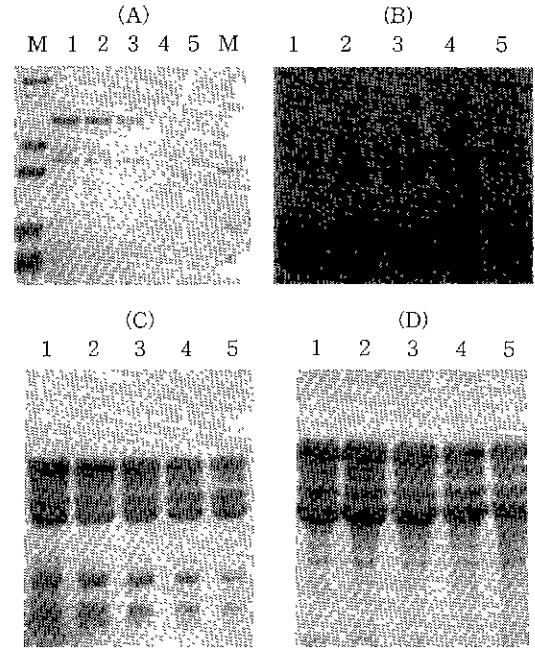


Fig. 2. SDS-PAGE patterns of dry-pancreatin(A), dry-lysozyme(B), dry-skim milk(C), and dry-hammastein casein(D) irradiated with 0 to 40 kGy. M, low range molecular weight markers, lane 1, 0 kGy, lane 2, 5 kGy; lane 3, 10 kGy; lane 4, 20 kGy; lane 5, 40 kGv

화, S-S 결합의 분해, 아미노산 잔기의 수식, peptide 결합의 분해나 중합 등이 있다(20). 이와같은 반응이 식품단백질의 생리적 기능이나 가공특성에 미치는 영향은 지금까지 밝혀지지 않아 앞으로 더 많은 연구가 필요시된다.

지금까지의 연구결과를 종합해 보면, 30 kGy까지의 감마선조사는 단백질의 아미노산 조성변화 및 인공소화계에서 소화율에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타나, 실용 선량범위 내에서의 영양학적 건전성에는 거의 문제가 없다고 판정할 수 있다. 그리고, 10 kGy이내의 조사선량에서는 단백질의 변성이 10% 이내였으며, 5 kGy의 선량에서는 5% 이내인 것으로 확인됨으로써 현재 식품의 병원성 미생물 오염대책으로 실시되고 있는 조사선량인 5 kGy내에서는 단백질식품에 거의 영향을 미치지 않는다는 것을 간접적으로 알 수 있었다. 그러나 고선량조사에 따른 SDS-PAGE 패턴의 차이로부터 단백질 구조상의 변화가 일어난다는 것이 확인되어 peptide 결합의 절단과 분해산물의 생성에 관한 구체적인 연구가 앞으로 수행되어야 할 것이다. 또한 고선량의 방사선 조사에 의해 생성되는 휘발성 물질 유래의 조사취, 악취 등은 조사식품의 기호성 측면에서 그

수용성 점토가 중요하다고 생각된다.

요 약

감마선 조사선량에 따른 단백질의 변성정도를 단백질분해효소의 활성변화를 측정하여 단백질식품의 감마선 조사 허용선량기준의 기초자료를 마련하고자 하였다. 수용상태의 포유류형 serine protease와 키위 및 파인애플의 단백질분해효소활성은 5kGy 조사로 10% 내의 단백질활성이 소실되었으나, 30 kGy에서는 30~65%가 소실되었다. 한편 건조상태의 pancreatin의 경우 5 kGy에서 6%, 40 kGy에서 14%의 단백질분해 활성이 감소하였고, lysozyme에 있어서는 각각 10%, 20%의 항미생물활성이 감소하였다. 이러한 결과로부터 건조상태의 단백질이 수용상태보다 감마선에 대하여 더 안정하며, 5 kGy내의 조사선량에서는 수용상태나 건조상태 모두 안정한 것으로 나타났다. 또한, 수용상태로 10 kGy 이상 조사된 API, α-chymotrypsin, pancreatin은 SDS-PAGE 패턴에서 단백질의 peptide 결합의 절단과 저분자화가 일어났다. Skim milk, hammastein casein, lysozyme의 *in vitro* 소화율과 아미노산 조성은 40 kGy 조사선량 범위내에서는 비조사군과 큰 차이를 나타내지 않았다.

감사의 글

이 논문은 1997년도 과학기술처 원자력연구개발과제의 연구비에 의해 수행된 연구결과의 일부로, 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Olivia, B. W. and Christine, M. B. : Position of the American dietetic association; Food irradiation. The American Dietetic Association Info (1996)
2. Department of Health and Human Services : Irradiation in the production, processing, handling of food FDA 21 CFR part-179 Federal Register, 51, 13376, April 18(1986)
3. World health Organization ' Wholesomeness of irradiation food, report of joint FAO/IAEA/WHO expert committee. Technical report series No.695 Geneva WHO(1981)
4. Wetzal, K., Huenbner, G. and Baer, M. ' Irradiation

of onions, spices and enzyme solutions in the German Democratic Republic. *Food Irradiation Processing*, International Atomic Energy Agency, Vienna, p.35(1985)

5. Anson, M. L. : The estimation of pepsin, papain and cathepsin with hemoglobin *J. Physiol.*, **22**, 79(1938)
6. 赤堀四郎. 酵素研究法. Vol II (朝倉書店: 東京), p.237 (1956)
7. Ibrahim, H. R., Higashiguchi, S., Juneja, L. R., Kim, M. and Yamamoto, T. : A structural phase of heat-denatured lysozyme with novel antimicrobial action. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1416(1996)
8. Hung, N. D., Cseke, E., Vas, M. and Szabolcsi, G. ' Processed protein foods characterized by *in vitro* digestion rates. *J. Food Sci.*, **49**, 1543(1984)
9. Laemmli, U. K. ' Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680(1970)
10. 川岸舜朗 食品成分の相互作用(並木滿夫, 松下雪郎編). 講談社, 東京, p 33(1989)
11. Didiehl, J. F. Safety of irradiated foods. Marcel Dekker Inc, New York, p.62(1990)
12. El-Monem, A., Afify, M. R. and Shousha, M. A. : Effect of low-dose irradiation on soybean protein solubility, trypsin inhibitor activity, and protein patterns separated by polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 810(1988)
13. Krunhar, K. C. and Berry, J. W. : Effect of antioxidant and conditions on solutions. *J. Food Sci.*, **55**, 1127(1990)
14. Le Maire, M., Thauvette, L., de Foresta, B., Biel, A., Beauregard, G. and Totier, M. ' Effects of ionizing radiations on proteins. Evidence of nonrandom fragmentations and a caution in the use of the method for determination of molecular mass. *Biochem J*, **267**, 431 (1990)
15. Simuc, M. G. : Radiation chemistry of amino acids and peptides in aqueous solutions. *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 6(1978)
16. Kaur, J., Fagerheim, I., Grootveld, M., Puppo, A. and Halliwell, B. : Aromatic hydroxylation of phenylalanine as an assay for hydroxyl radicals: Application to activated human neutrophils and to the heme protein of hemoglobin. *Anal. Biochem.*, **172**, 360(1988)
17. 변명우, 조한옥, 양재승, 조성기, 강일준, 이수정, 육홍선 : 방사선 식품 저장기술 및 공정개선 연구. KAERI/RR-1321/93, 과학기술처, p.56(1994)
18. Nene, S. P., Vakil, U. K. and Sreenivasan, A. : Effect of gamma irradiation on red gram (*Cajanus cajan*) proteins *J. Food Sci.*, **40**, 815(1975)
19. Yasumoto, K., Ueda, M. and Suzuki, T. : Evaluation of γ-irradiation on nutritional quality of protein foods. The Japan Radioisotope Association, Tokyo, Japan. p.51 (1992)
20. 久米民和 : 放射線分解生成物について. 食品照射, **22**, 1(1987)

(1997년 9월 12일 접수)