

감마선 조사가 Soy Protein Isolate와 Whey Protein Concentrate의 이화학적 성질에 미치는 영향

조용식 · 송경빈
충남대학교 식품공학과

Effect of γ -irradiation on the Physicochemical Properties of Soy Protein Isolate and Whey Protein Concentrate

Yong Sik Cho and Kyung Bin Song

Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chungnam National University

Abstract

Effect of γ -irradiation on the SDS-PAGE pattern, secondary structure content, the solubility of commercial soy protein isolate (SPI) and whey protein concentrate (WPC) was investigated. The change in the subunit molecular weight of SPI and WPC irradiated in aqueous solution or dried state was studied using SDS-PAGE. The SDS-PAGE pattern of SPI irradiated in aqueous solution revealed the fragmentation and aggregation of the subunit protein. For WPC irradiated in aqueous solution, fragmentation of the subunit protein up to 10 kGy was observed. In contrast, γ -irradiation of SPI and WPC in dried state did not cause any significant changes in the SDS-PAGE pattern. The change in the secondary structure of irradiated SPI and WPC solution was studied using circular dichroism. The aperiodic structure content of SPI and WPC solution increased at higher irradiation doses, which suggests that γ -irradiation caused the disruption of the ordered structure of SPI and WPC solution. Gamma-irradiation also caused the change in solubility of SPI and WPC in dried state.

Key words : γ -irradiation, SDS-PAGE, CD, soy protein isolate, whey protein concentrate

서 론

식품에 대한 감마선 조사는 식품저장 및 가공의 문제점을 해결하는 새로운 방법으로서 응용되고 있으며, 허용된 범위 내에서 독성학적, 영양학적, 미생물학적 안전성이 관련 국제기구 등에 의하여 이미 공인되었으나⁽¹⁾ 조사 식품에 대한 소비자의 불신을 고려할 때 조사 공정의 안전성에 관하여서는 보다 더 체계적인 연구가 요구되고 있다⁽²⁾.

조사 식품 내에서 단백질은 영양적인 측면과 더불어 단백질이 갖는 다양한 기능성 때문에 중요하다. 감마선은 단백질을 통과하면서 직접효과 또는 간접효과를 나타내는데, 직접효과는 감마선 조사에 의하여 생성된 일차적 라디칼이온이 작용하는 것이며 간접효과는 감마선 조사에 의하여 생성된 라디칼 이온과 단백

질 주변을 둘러싸고 있는 물분자 등 주변성분과의 상호작용으로 생성된 2차 생성물에 의해 작용하는 것이다⁽³⁾. 감마선 조사 효과는 대부분 간접효과에 의한 변화로 해석되고 있으며⁽³⁾, 이러한 변화들은 피조사체를 구성하는 성분과 조성, 이화학적 성상, 구조, 변성 정도, 온도, 수분함량, 공존기체 조성, 조사 선량, 그리고 액상, 분말, 동결여부 등과 밀접한 관련이 있다⁽⁴⁾. 방사선 조사된 단백질에 관한 연구는 단백질 또는 단백질을 구성하는 아미노산을 대상으로 많은 연구들이 진행되어 왔는데⁽⁵⁾, 조사에 의해 생성된 일차적 라디칼이온 또는 단백질과 결합하고 있는 물분자로부터 생성된 이차적 라디칼이온의 연쇄반응에 의하여 단백질은 고분자화 또는 저분자화 된다⁽⁶⁾. 또한 생성된 hydroxy radical은 단백질을 구성하는 아미노산과 결합하며⁽⁷⁾, 구성 아미노산중의 일부 phenylalanine은 방사선 조사에 의하여 θ -tyrosine 또는 m-tyrosine 으로 전환되는데⁽⁸⁾, 특히, θ -tyrosine은 다른 가공 공정 중에서는 생성되지 않고 방사선조사에 의해서만 생성되는 자연적으로 존

Corresponding Author : Kyung Bin Song, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

재하지 않는 아미노산으로 보고된 바 있다⁽⁹⁾. 또한 단백질에 방사선이 조사되면 분자구조가 변하여 효소활성과 면역학적 성질이 변화한다는 연구결과도 보고되었다^(10,11). 양 등⁽¹²⁾은 대표적인 식품 allergy성 단백질인 계란 중에 함유된 ovomucoid에 감마선을 조사하면 항원성이 변하고 효소 저해능이 저하됨을 보고하였다.

대두단백질과 유청단백질은 식품공정에 다양하게 이용되고 있는데 가수분해⁽¹³⁾, 화학적 처리⁽¹⁴⁾, 물리적 처리⁽¹⁵⁾ 등에 의하여 기능성을 향상시켜 이용율을 극대화하려는 연구가 수행되고 있다. 특히, 단백질의 기능적 성질을 향상시키기 위해서는 화학적 방법보다 효소적 방법이 더 안전한 것으로 생각되는데⁽¹⁶⁾, 효소 처리하여 변형된 대두단백질을 이용하거나⁽¹⁷⁾ 유청단백질을 가수분해하여 항원성을 낮추는 것⁽¹⁸⁾은 현실적으로 실용 가능성이 큰 것으로 보고되고 있다. 따라서, 방사선조사가 단백질의 분자적 및 이화학적 특성의 변화를 유도하는 사실에 비추어 볼 때 대두단백질과 유청단백질에 방사선을 조사하여 항원성을 낮추는 방안도 생각할 수 있다.

따라서, 본 연구에서는 식품첨가물로서 다양하게 활용되고 있는 상업적 등급의 soy protein isolate(SPI)와 whey protein concentrate(WPC)에 감마선을 조사하고 그 이화학적 성질을 연구하였다.

재료 및 방법

재료

Soy protein isolate(SPI)는 Protein Technology International(U.S.A) 제품을, whey protein concentrate(WPC)는 JM Macmahon & Co. 제품을 사용하였다. 전기영동용 시약은 Sigma사 제품을, 기타 분석시약은 특급 이상의 시약을 구입하여 사용하였다.

시료의 준비 및 감마선 조사

SPI와 WPC의 감마선 조사 시료는 용액과 분말 두 가지로 준비하였다. 용액의 경우 SPI와 WPC 1g을 10 mM 인산완충용액(sodium phosphate, pH 7.0) 100 mL에 가하고 4°C에서 1시간 동안 교반하면서 용해한 후 15분간 원심분리(11600×g)하였고 얻어진 상등액은 0.45 μm microfilter를 이용해서 여과하였다. 얻어진 SPI와 WPC 용액의 단백질 농도측정은 Bradford의 방법⁽¹⁹⁾에 의해 실시하였으며 이 때의 단백질 농도는 SPI와 WPC 각각 0.06%와 0.15% 이었다. 감마선 조사는 SPI와 WPC 용액을 시험관(16×125 mm, Pyrex, U.S.A.)에 10 mL씩 넣고 밀봉한 후 한국원자력연구소 내 ⁶⁰Co 감마

선 조사시설을 이용하여 실온에서 0.5, 1, 5 및 10 kGy의 총 흡수선량이 되도록 선원으로부터 거리를 달리하여 조사하였다. 분말의 경우는 SPI와 WPC 10g을 50 mL tube에 넣고 밀봉한 후 용액과 동일한 조건하에 0.5, 1, 5, 10, 30 및 50 kGy의 총 흡수선량이 되도록 선원으로부터 거리를 달리하여 조사하였다. 흡수선량의 확인은 ceric cerous dosimeter를 사용하였다.

SDS-PAGE

감마선 조사된 SPI와 WPC용액의 SDS-PAGE는 Laemmli의 방법⁽²⁰⁾에 따라 실시하였고, separation gel의 acrylamide 농도는 SPI와 WPC 12.5% 와 15%, 그리고 stacking gel의 acrylamide 농도는 5%를 각각 사용하였다. 전기영동용 시료의 준비는 감마선 조사된 SPI 용액 40 μL를 취하여 sample buffer(0.06 M Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 14.4 mM β-mercaptoethanol, 25% glycerol, 0.1% bromophenol blue) 10 μL와 혼합하여 사용하였으며, WPC 용액의 경우 10 μL를 취한 다음 10 mM 인산완충용액(pH 7.0)을 30 μL를 가하여 희석한 후 sample buffer 10 μL와 혼합하여 사용하였다.

분말시료의 경우에는 0.1 g을 10 mM 인산완충용액(pH 7.0) 10 mL를 가하여 용해한 후 10분간 원심분리(11,600×g)하였고 상등액은 0.45 μm microfilter(Whatman)로 여과하였다. SPI의 경우 여액에서 20 μL를 취하고 10 mM 인산완충용액(pH 7.0)을 20 μL가하여 희석한 후 sample buffer 10 μL와 혼합하여 사용하였고, WPC의 경우 여액에서 10 μL를 취하고 10 mM 인산완충용액(pH 7.0)을 30 μL가하여 희석한 후 sample buffer 10 μL와 혼합하여 사용하였다.

표준단백질은 분자량 범위가 다른 두 가지 전기영동용 표준단백질을 Sigma사로부터 구입하여 사용하였다. SPI의 경우 표준단백질과 분자량은 다음과 같다. Rabbit Muscle Myosin, 205,000; *E. coli* β-Galactosidase, 116,000; Rabbit Muscle Phosphorylase b, 97,400; Bovine Albumin, 66,000; Egg Albumin, 45,000; Bovine Erythrocytes Carbonic Anhydrase, 29,000. WPC의 경우는 다음과 같은 표준단백질을 사용하였다. Bovine Albumin, 66,000; Egg Albumin, 45,000; Porcine Stomach Mucosa Pepsin, 34,700; Bovine Pancreas Trypsinogen, 24,000; Bovine Milk β-Lactoglobulin, 18,400; Chicken Egg White Lysozyme, 14,300.

CD Spectroscopy

감마선 조사된 SPI와 WPC 용액의 이차구조를 분석

하기 위하여 Spectropolarimeter (JASCO J-720, Japan)를 이용하여 25°C에서 CD(Circular dichroism) 연구를 수행하였다. 감마선이 조사된 용액으로부터 Far UV CD 측정에서 최적농도가 되도록 10 mM 인산완충용액 (pH 7.0)을 가하여 희석한 후 Bradford의 방법⁽¹⁹⁾에 의해 농도를 측정하였다. 사용된 단백질 농도는 SPI, WPC 각각 0.0063%, 0.0029% 이었다. CD spectrum은 1 mm pathlength cell을 사용하여 5회 반복하여 측정하였고, 얻어진 spectrum은 polynomial fitting curve를 이용하여 smoothing하였으며 molar ellipticity(deg · Cm² · dmol⁻¹)로 나타냈다. 또한 이차구조 함량은 Chang 등의 방법⁽²¹⁾에 따라 분석하였다.

용해도의 측정

SPI의 용해도는 Wang과 Kinsella의 방법⁽²²⁾을 변형하여 측정하였다. 감마선이 조사된 SPI 분말 0.5 g을 45 mL의 증류수를 가하고 실온에서 30분 동안 교반하여 시료가 완전히 분산되도록 하였으며 여기에 0.1 N NaOH 또는 0.1 N HCl을 가하여 pH를 7.0으로 조정하고 증류수를 가하여 50 mL로 만든 후 다시 1시간동안 교반한 후 30분간 원심분리(20,000×g)하였다. 원심분리 후 얻어진 상등액을 10 배 희석하여 280 nm에서 흡광도를 측정하여 용해도를 비교하였다.

WPC의 용해도는 Morr 등의 방법⁽²³⁾을 변형하여 측정하였다. 감마선이 조사된 WPC 분말 0.5 g을 45 mL의 0.1 M NaCl 용액에 가하고 실온에서 30분 동안 교반하여 시료가 완전하게 분산되도록 하였으며 그 후 과정은 SPI와 동일하게 처리하였다. SPI와 WPC의 용해도 결과는 statistical analysis system⁽²⁴⁾과 t-test를 사용하여 통계분석을 실시하여 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

SDS-PAGE 형태의 변화

감마선 조사에 따른 SPI와 WPC의 분자량 형태의 변화를 조사하기 위하여 전기영동을 하였다. SPI는 여러 subunit로 구성되어 있는 단백질로서 3 subunit type으로 된 7s fraction과 12 subunit으로 이루어진 11s fraction으로 구성되어 있고 WPC는 α -lactalbumin(14.3 kDa)과 β -lactoglobulin(18.4 kDa)이 주요 단백질로 이루어져 있는데 SDS-PAGE pattern은 이미 보고된 문헌^(25, 26)의 형태와 일치하였다(Fig. 1-2). 또한 이들 단백질을 0-10 kGy의 흡수 선량으로 감마선을 조사한 후 SDS-PAGE를 수행한 결과 감마선에 의하여 단백질의 degraded pattern과 중합이 일어났음을 보여 주었다. SPI

Fig. 1. SDS-PAGE pattern of the irradiated SPI solution (0.063%).

1, molecular weight marker protein; 2, 0 kGy; 3, 0.5 kGy; 4, 1 kGy; 5, 5 kGy; 6, 10 kGy.

Fig. 2. SDS-PAGE pattern of the irradiated WPC solution (0.146%).

1, molecular weight marker protein; 2, 0 kGy; 3, 0.5 kGy; 4, 1 kGy; 5, 5 kGy; 6, 10 kGy.

의 경우, 감마선 흡수 선량이 증가할수록 주요 subunit의 밴드 굵기가 감소되고 저분자량 물질이 증가하였으나 10 kGy의 흡수선량에서는 단백질의 중합된 형태를 나타내는 단백질이 보였다(Fig. 1). 또한 WPC의 SDS-PAGE 결과에서도 흡수선량이 증가함에 따라 주요 subunit의 밴드 굵기가 감소하고 분자량이 절단된 형태가 나타났고(Fig. 2), 그 변화가 SPI에 비하여 보다 큰 것으로 나타났으나 SPI와는 달리 단백질의 중합현상은 관찰되지 않았다. 이는 WPC를 구성하는 단백질의 특성, 용해도 등에 기인하는 것으로 여겨지는데 Taub 등⁽⁴⁾은 단백질의 조성, 이화학적 성상, 온도, 수분함량, 공존기체 조성, 조사선량 등이 영향을 끼친다고 보고하였는데 특히, 조사선량은 최종산물의 형태와 정도에 영향을 미친다고 하였다. 본 연구에서 사용

Fig. 3. SDS-PAGE pattern of the irradiated SPI powder.
1, molecular weight marker protein; 2, 0 kGy; 3, 0.5 kGy; 4, 1 kGy; 5, 5 kGy; 6, 10 kGy; 7, 30 kGy; 8, 50 kGy.

Fig. 4. SDS-PAGE pattern of the irradiated WPC powder
1, molecular weight marker protein; 2, 0 kGy; 3, 0.5 kGy; 4, 1 kGy; 5, 5 kGy; 6, 10 kGy; 7, 30 kGy; 8, 50 kGy.

된 단백질의 경우 감마선 조사 선량이 증가할수록 단백질의 변화가 커지는 것으로 나타났다.

상업적으로 판매되는 SPI 와 WPC 분말에 0~50 kGy의 흡수선량으로 감마선을 조사하고 SDS-PAGE를 실시한 결과, 용액상태로 조사된 경우와는 다른 형태를 보였는데(Fig. 3-4), 감마선 조사된 SPI의 경우 분자량 형태는 흡수 선량에 따라 분자량 분포에 변화가 거의 없었으며, 또한 새로운 분자량의 분획도 발견되지 않았다. 이러한 결과는 Byun 등⁽²⁷⁾의 dried soya bean을 이용하여 20 kGy까지 조사한 결과 subunit molecular weight pattern 상 변화가 없었던 것과 일치하였다. 또한 WPC 분말에 조사한 결과에서도 감마선 조사에 의한 주요 단백질 분자량 분포의 변화는 없었다(Fig. 4). 따라서, 이러한 결과는 수용액 또는 수분을 많이 함유한 경우보다 건조된 분말 형태의 경우가 방사선에 의한 단백질 손상이 적음을 나타내었고 상업

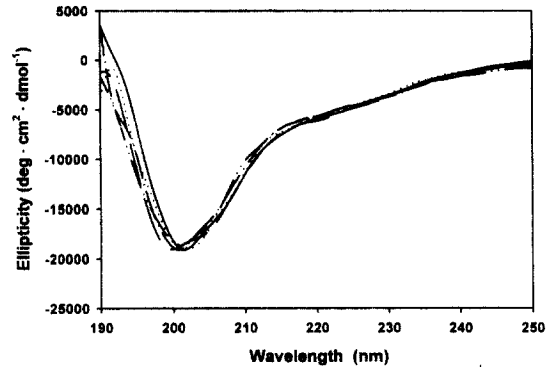


Fig. 5. CD spectra of the irradiated SPI solution (0.0063%).
—, 0 kGy ; ----, 0.5 kGy ; ——, 1 kGy ; - · - ·, 5 kGy ; ·····, 10 kGy

적인 SPI 와 WPC 분말에 대한 감마선 조사는 그 안전성이 공인된 10 kGy까지의 흡수선량 뿐만 아니라 50 kGy 까지의 높은 흡수선량 범위에서도 분자량 분포에 영향이 없음을 시사하였다. 건조상태의 단백질이 액상상태 보다 감마선 조사에 의한 손상이 보다 적은 것은 단백질 분자 주변에 존재하는 물분자의 감마선 분해 산물이 더 적게 생산되었고, 따라서 감마선의 간접적인 효과가 줄어들어 단백질 손상이 억제되는 것으로 해석되는데⁽¹⁾, 건조상태의 단백질이 수용액 또는 고수분 함유 단백질 보다 감마선에 의한 손상이 억제된다는 사실은 다른 문헌에서도 보고되었는데 육 등⁽¹⁰⁾은 감마선 조사된 단백질 분해 효소의 활성은 건조상태에서 조사된 효소의 활성이 더 안정하다고 하였고, Hajos 등⁽²⁸⁾은 난백 단백질의 감마선 조사효과는 수용액 시료보다 동결건조 상태 또는 동결상태의 시료에서 더 적었다고 보고하였다. 또한, Angelides 등⁽²⁹⁾도 건조상태의 단백질은 감마선조사에 의한 간접효과가 줄어들기 때문에 액체상태의 단백질 보다 감마선 조사에 의한 단백질의 변화가 적어진다고 하였다.

이차구조의 변화

감마선 조사가 SPI와 WPC의 이차구조의 변화에 미치는 영향을 검토하기 위하여 CD 연구를 수행하였다. SPI의 Far UV CD Spectrum은 β -sheet와 random coil 구조를 보여주고 있다(Fig. 5). 특히, aperiodic structure를 나타내는 198 nm에서의 negative minimum ellipticity 값은 random coil 함량을 나타내었다. 이와는 달리 WPC의 경우는 대표적인 α -helix 구조를 나타내는 207 nm와 221 nm에서 negative minimum ellipticity를 나타내었다(Fig. 6). 0~10 kGy의 흡수선량으로 감

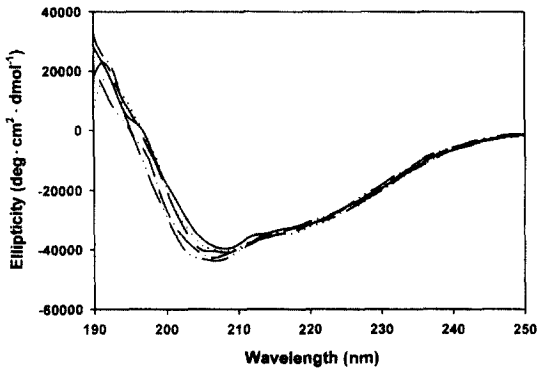


Fig. 6. CD spectra of the irradiated WPC solution (0.0029%).

—, 0 kGy ; ----, 0.5kGy ; ·····, 1 kGy ; - · - · - , 5 kGy ; - - - - - , 10 kGy

마선 조사된 SPI와 WPC 용액의 CD spectrum은 흡수 선량이 증가함에 따라 random coil 구조가 증가되는 모습을 보였는데 이는 방사선 조사에 의해 β -sheet나 α -helix 구조가 random coil 구조로 변환되는 것을 시사하였다. 이차구조 함량을 측정하기 위하여 spectrum을 Chang 등의 방법⁽²¹⁾에 따라 분석하여 그 결과를 Table 1-2에 나타내었다. SPI의 이차구조 함량은 감마 선을 조사하지 않은 경우 β -sheet 40%, random coil 60%로 분석되어 대부분이 aperiodic structure로 구성되었고, 감마선 조사 선량이 증가할수록 β -sheet 함량이 35%에서 25%까지 정량적으로 감소하는 반면 aperiodic structure 함량은 60%에서 65%까지 증가하였다(Table 1). 또한 WPC의 이차구조함량도 감마선이 조사되지 않은 경우 α -helix 35%, random coil 65%에서 감마선 조사 선량이 증가함에 따라 α -helix 함량이 35%에서 25%까지 감소한 반면 aperiodic structure 함량은 65%에서 75%까지 증가하는 것으로 나타났다(Table 2). 이 결과는 SPI와 WPC 용액에 감마선을 조사하면 단백질의 구조적 변화가 일어나는데 aperiodic structure 함량의 증가 등 구조적으로 보다 불안정한 상태로 변하는 것을 보여준다. 따라서 이러한 이차구조의 변화는 단백질의 구조와 기능적 성질 등의 변화를 가져다 주는데 이러한 CD 연구를 통한 단백질의 구조 변화 분석은 다른 연구들^(30,31)에서도 보고되었듯이 매우 유용하게 사용되는 수단이다. Kume와 Matsuda⁽¹¹⁾도 bovine serum albumin과 ovalbumin에 감마선 조사하였을 때 이차구조 함량의 변화를 보고한 바 있다.

용해도의 변화

감마선 조사가 SPI 와 WPC 분말의 용해도에 미치

Table 1. Estimation of secondary structure contents of the irradiated SPI

Radiation dose (kGy)	α -Helix	β -Sheet	β -Turn	Random coil
	(%)			
0	0	40	0	60
0.5	0	35	5	60
1	0	30	5	65
5	0	30	5	65
10	0	25	10	65

Table 2. Estimation of secondary structure contents of the irradiated WPC.

Radiation dose (kGy)	α -Helix	β -Sheet	β -Turn	Random coil
	(%)			
0	35	0	0	65
0.5	35	0	0	65
1	35	0	0	65
5	30	0	0	70
10	25	0	0	75

Table 3. Protein solubility of the irradiated SPI and WPC powders.

Radiation dose (kGy)	Absorbance at 280 nm	
	SPI	WPC
0	0.469 ± 0.041 ^a	0.749 ± 0.028 ^{bcd}
0.5	0.446 ± 0.037 ^{ab}	0.749 ± 0.028 ^{bcd}
1	0.424 ± 0.022 ^{bc}	0.738 ± 0.013 ^{cd}
5	0.405 ± 0.011 ^c	0.756 ± 0.026 ^{bcd}
10	0.404 ± 0.008 ^c	0.729 ± 0.006 ^d
30	0.395 ± 0.011 ^c	0.766 ± 0.012 ^{abc}
50	0.391 ± 0.008 ^c	0.792 ± 0.007 ^a

^{a-d}Means with the same letter are not significantly different (P < 0.05).

는 영향을 조사하기 위하여 0~50 kGy의 흡수선량으로 감마선 조사된 SPI와 WPC 분말을 10 mM 인산완충용액(pH 7.0)에 동일조건에서 용해한 후 280 nm에서 흡광도를 측정함으로써 용해도를 단순 비교하였다. Table 3은 감마선 조사된 SPI 와 WPC의 흡수선량에 따른 용해도의 변화를 나타낸 것이다. 이들 단백질은 용해도에서 차이가 있었는데 전반적으로 SPI에 비하여 WPC의 용해도가 더 높았다. 또한 감마선의 흡수 선량에 따른 단백질의 용해도에도 통계적으로 유의차가 있었는데(P<0.05), 흡수선량 별 용해도의 차이는 매우 작았고 흡수선량이 증가함에 따라 SPI의 용해도는 감소하였으나 WPC의 경우에는 일관된 경향이 나타나지 않았다. Diehl 등⁽³²⁾과 Alexabder 등⁽³³⁾은 구형단백질이 감마선 조사되면 단백질이 중합되어 용해도가 떨어진다고 하였으며, Afify 등⁽³⁴⁾은 5가지 종류의 대두에 감마선을 조사하고 수용성 단백질 함량을 측정할 때 감마선의 흡수 선량에 따라 차이가 있었다고 하였다.

요 약

감마선 조사가 상업적 등급의 SPI와 WPC의 SDS-PAGE 형태와 이차구조 함량, 용해도 등 이화학적 변화에 미치는 영향을 조사하였다. 감마선이 조사된 SPI와 WPC의 SDS-PAGE 형태는 SPI 용액의 경우 5 kGy 이상 조사에서 단백질의 degraded pattern과 아울러 중합이 나타난 반면에 WPC 용액에서는 단백질이 절단된 형태로 나타났다. 반면에 감마선이 조사된 SPI와 WPC 분말의 경우 분자량 분포에는 큰 변화가 없었다. Circular dichroism 연구에서 감마선이 조사된 SPI와 WPC 용액의 이차구조의 변화는 감마선 조사에 의하여 단백질의 구조 변화를 나타내는 random coil 함량이 증가하였다. 또한, SPI와 WPC 분말의 경우에는 감마선 조사에 의한 용해도의 차이가 있었다.

문 헌

- World Health Organization. Wholesomeness of irradiation food. Report of joint FAO/IAEA/WHO expert committee. Technical report series No. 695 Geneva WHO (1981)
- Lim, S.I., Yook, H.S., Kim, Y.J. and Byun, M.W. Effect of gamma irradiation on egg white protein. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 27: 291-295 (1998)
- Kempner, E.S. Damage to proteins due to the direct action of ionizing radiation. Quart. Rev. Biophys. 26: 27-48 (1993)
- Taub, I.A., Kaprielian, R.A., Halliday, J.W., Walker, J. E., Angelini, P. and Merritt C. Jr. Factors affecting radiolytic effects in food. Radiat. Phys. Chem. 14: 639-653 (1979)
- Garrison, W.M. Reaction Mechanisms in radiolysis of peptides, polypeptides and proteins. Chem. Rev. 87: 381-398 (1987)
- Davies, K.J.A. Protein damage and degradation by oxygen radicals. J. Biol. Chem. 262: 9895-9901 (1987)
- Simic, M.G. Radiation chemistry of amino acids and peptides in aqueous solutions. J. Agric. Food Chem. 26: 6-14 (1978)
- Kaur, H., 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 leghemoglobin. Anal. Biochem. 172: 360-367 (1988)
- Simic, M.G., Dizdaroglu, M. and DeGraff, E. Radiation chemistry-extravaganza or an integral component of radiation processing of food. Radiat. Phys. Chem. 22: 233-239 (1983)
- Yook, H.S., Lee, H.J. Im, S.I., Kim, S. and Byun, M.W. Changes of proteolytic enzyme property by gamma irradiation (in Korean). J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 26: 1116-1121 (1997)
- Kume, T. and Matsuda, T. Changes in structural and antigenic properties of protein by radiation. Radiat. Phys. Chem. 46: 225-231 (1995)
- Yang, J.S., Kim, J.H., Matsuhashi S. and Kume, T. Change in biochemical properties of ovomucoid by radiation. Radiat. Phys. Chem. 48: 731-735 (1996)
- Kim, S.Y., Park, P.S. and Rhee, K.C. Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate. J. Agric. Food Chem. 36: 651-656 (1990)
- Sung, H., Chen, H., Liu, T. and Su, J. Improvement of the functionalities of soy protein isolate through chemical phosphorylation. J. Food Sci. 48: 716-721 (1983)
- Lah, C.L. and Cheryan, M. Emulsifying properties of a full-fat soy protein product produced by ultrafiltration. Lebens. Wissen. Technol. 13: 259-263 (1980)
- Kang, Y.J. Enzymatic modification of soy proteins : Effects of functional properties of soy isolate upon proteolytic hydrolysis. Kor. J. Food Sci. Technol. 16: 211-217 (1984)
- Kimball, M.E., Hsieh, D.S.T. and Rha, C. Chymotrypsin hydrolysis of soybean protein. J. Agric. Food Chem., 29: 872-874 (1981)
- Ha, W.K., Juhn, S.L., Kim, J.W., Lee, S.W., Lee, J.Y. and Son, D.H. Reduction of the antigenicity of whey protein by enzymatic hydrolysis. Kor. J. Food Sci. Technol. 26: 74-80 (1994)
- Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254 (1976)
- Lamml, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685 (1970)
- Chang, C.T., Wu, C.C. and Yang, J.T. Circular dichroic analysis of protein conformation: Inclusion of β -Turns. Anal. Biochem. 91: 13-21 (1978)
- Wang, J.C. and Kinsella, J.E. Functional properties of novel proteins : Alfalfa leaf protein. J. Food Sci. 41: 286-292 (1976)
- Morr, C.V., German, B., Kinsella, J.M., Regenstein J.M., Van Buren, J.P., Kilara, A., Lewis, B.A. and Mangino, M.E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. J. Food Sci. 50: 1715-1718 (1985)
- SAS Institute, Inc. SAS User's guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (1990)
- Wolf, W.J., Babcock, G.E., and Smith, A.K. Ultracentrifugal differences in soybean protein composition. Nature 191: 1395-1396 (1961)
- Kim, S.H., Morr, C.V., Seo, A. and Surak, J.G. Effect of whey pretreatment on composition and functional properties of whey protein concentrate. J. Food Sci. 54: 25-29 (1989)
- Byun, M., Kang, I., Hayashi, Y., Matsumura, Y. and Mori, T. Effect of γ -irradiation on soya bean proteins. J. Sci. Food Agric. 66:55-60 (1994)
- Hajos, G., Kiss, I. and Halasz, A. Chemical changes of proteins of irradiated egg-white. Radiat. Phys. Chem. 36: 639-643 (1990)

29. Angelides, K. J., Nutter, T. J., Elmer, L. W. and Kempner, E. S. Functional unit size of the neurotoxin receptors on the voltage-dependent sodium channel. *J. Biol. Chem.* 260: 3431-3439 (1985)
30. Lee, M.J. and Song, K.B. Purification of streptodornase from *Streptococcus equisimilis* and its DNA-induced conformational change. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 230: 13-15 (1997)
31. Cho, Y.S., and Song, K.B. Effect of chaotropic salt on the secondary structure of pig skin gelatin. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61(7), 1194-1195 (1997)
32. Diehl, J.F., Adam, S., Delincee, H. and Jakubick, V. Radiolysis of carbohydrates and of carbohydrate-containing food stuffs. *J. Agric. Food Chem.* 26: 15-20 (1978)
33. Alexander, P., Fox, M., Stracey, K.A. and Rosen D. Comparison of some direct and indirect effect of ionizing radiation in protein. *Nature* 178: 846-849 (1956)
34. Afify, A. El-Moneim M. R. and Shousha, M. A. Effect of low-dose irradiation on soybean protein solubility, trypsin inhibitor activity and protein pattern separated by polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.* 36: 810-813 (1988)

(1999년 9월 21일 접수)