

방사선조사를 이용한 돈피 콜라겐의 저분자화 연구

조영준[†] · 서정은 · 김윤지 · 이남혁 · 홍상필 · 김영호

한국식품연구원

Study on the Degradation of Pigskin Collagen Using Irradiation Technique

Young Jun Cho[†], Jung Eun Seo, Yun Ji Kim, Nam Hyouk Lee, Sang Pil Hong and Young Ho Kim

Korea Food Research Institute, Gyeonggi-do 463-746, Korea

Abstract

This study was intended to observe possibility of which radiation technique can be used for oligopeptide production from pigskin collagen to reduce environmental pollution in processing and simplify the processing steps. Raw pigskin was ground using chopper, and then defatted in acetone cooled at -20°C freezer. Defatted dried pigskin was irradiated at 20, 40, 60, 100, 150, 200, 250, and 300 kGy using Co-60 gamma rays irradiator. With irradiation doses, the amount of soluble proteins increased, and the viscosity and turbidity of soluble proteins decreased, which could be clue of that irradiation degrade high molecular proteins directly. pH of soluble proteins from defatted pigskin increased in the sample above 150 kGy, and low molecular weight components (below 24 kDa) in SDS-PAGE increased. From gel permeation chromatography of the hydrolysates of pigskin irradiated at 300 kGy showed the major peak of 9,000, 8,200, 860, and 170 Da.

Key words: irradiation, pigskin, collagen, oligopeptide

서 론

돈피는 콜라겐 또는 젤라틴으로 추출하여 의약품(캡슐, 정제, 지혈대, 인공콩팥, 인공피부 및 봉합사), 화장품(크림, 연고제) 및 식품(결착제, 증량제, 물성개량제) 분야에서 광범위하게 이용하고 있으며, 최근에는 비만억제, 피부노화억제, 피부탄력개선 등과 관련된 기능성식품 소재로 점차 이용범위가 확대되고 있으며, 콜라겐 유래 올리고펩타이드의 생리활성 기능이 밝혀지면서 콜라겐 올리고펩타이드 제조기술이 주요 관심의 대상이 되고 있다. 일반적인 콜라겐 펩타이드 구조는 $(\text{Gly-X-Y})_n$ 으로서 이 중 X는 proline, Y는 hydroxyproline으로 되는 경우가 1/3정도이고, 나머지 2/3는 다른 아미노산으로 존재하는 것으로 알려지고 있다(1,2). 최근 Togashi 등(3)은 인간태반 추출물의 항산화효과를 관찰하는 중 태반 추출물에 존재하는 올리고펩타이드가 강한 항산화활성을 가지는데, 주요 활성물질이 Glycine-X-Y 형태의 콜라겐 유래 올리고펩타이드라고 보고하고 있다. 또한 Samonina 등(4)은 glyproline peptide family(Pro-Gly, Gly-Pro, Pro-Gly-Pro, Hyp-Gly, Gly-Hyp, cycloPro-Gly)가 유사한 생리활성을 가지는 것으로 보고하였고, glyproline peptide family의 생리활성효과는 혈전용해작용, 위 점막 보호기능, 식욕감퇴효과(5,6), morphin analgesia 저해 및 기억

력 증강(cycloPro-Gly)효과(5,7,8) 등인데 이러한 glyproline peptide family의 가장 좋은 원료가 콜라겐인 것으로 밝혀지고 있다(4).

위의 내용과 같이 콜라겐 유래 올리고펩타이드의 생리활성이 점차 밝혀지면서 콜라겐 올리고펩타이드의 활용범위가 넓어질 것으로 예상되고 있는데, 일반적으로 콜라겐 펩타이드는 산 또는 알카리 처리하여 콜라겐을 제조한 후에 효소가수분해시켜 펩타이드를 제조하는 공정을 거치게 되므로 다량의 산, 알카리 처리에 의한 폐수처리 등 환경오염 문제가 발생됨과 동시에 산 또는 알카리 용액에 장시간 침지시켜 콜라겐을 용출시키기 때문에 제조시간이 오래 걸리는 단점이 있다. 따라서 단백질 자원으로 활용하기 위해서는 추출수율을 최대화하여야 하며, 환경오염 문제의 최소화와 더불어 제조공정을 단순화하여 경제성 있는 콜라겐 유래 기능성 올리고펩타이드가 제조되어야 한다.

식품의 방사선조사기술은 1980년 FAO, IAEA, WHO 식품조사합동전문가위원회에서 10 kGy 이하로 방사선 조사된 식품은 독성학적, 미생물학 및 영양학적으로 안전하다고 발표하고 1983년 Codex 국제식품규격위원회에서 모든 식품의 방사선조사 허용을 권고한 이래 세계 각국에서는 농축산물의 발근, 발아억제 및 해충구제는 물론 가공식품의 식중독 예방 및 물성개량 등으로 방사선조사 이용범위가 점차 확대

[†]Corresponding author. E-mail: c0j75@naver.com
Phone: 82-31-780-9093. Fax: 82-31-780-9286

되고 있는 추세이다. 현재는 고선량(10~70 kGy)조사에 의한 식품의 보존, 무균화 등의 실용화 연구(9)와 다른 형태의 고분자 다당체 물질들을 분해하는데 방사선 조사가 유용하게 이용(10)되는데, 이것은 단백질을 주성분으로 하는 식품에도 고선량의 방사선을 조사할 경우 생성된 라디칼이 연쇄 반응하여 단백질 분자가 단편화되고, 구성아미노산의 변화가 일어날 것으로 예상된다.

따라서 본 연구는 냉온처리기술 또는 환경친화적 기술로 주목받고 있는 방사선조사기술(RT: Radiation Technology)을 이용하여 환경오염을 최소화하고, 추출수율의 증대 및 기능성을 개선하고자 하였다.

재료 및 방법

시료의 전처리

본 실험에 사용한 돈피는 가락동 농수산물 시장에서 구입하여 피하지방을 제거한 등 부위를 사용하였다. 방사선조사를 실시하기 전 원피를 2.5 cm×2.5 cm의 크기로 절단하여 -3°C로 동결시킨 다음 chopper(AALEN W-114-T-80451-1, Germany)를 이용하여 직경 12 mm sieve에서 1차 조분쇄하고, 직경 3 mm sieve로 2차 분쇄하였다. 분쇄된 돈피에 -20°C로 냉각시킨 아세톤을 5배량 첨가하여 4°C 저온실에서 1시간동안 교반하고 상등액을 여과하였다. 이 작업은 상등액이 투명해질 때까지 반복하였다. 남은 고형분은 상온에서 (20°C) 풍건하여 완전히 건조하였다.

방사선조사

탈지돈피를 그린피아기술(주)의 γ -ray irradiator(JS-8900 automatic pallet irradiator, MDS Nordion Co, Canada)를 이용하여 방사선조사를 실시하였으며, 1 kGy/h의 조사선량으로 0, 20, 40, 60, 100, 150, 200, 250, 300 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 조사하였다. 흡수선량은 PMMA acryl dosimeter를 이용하여 확인하였다.

pH 및 콜라겐 함량 측정

pH는 탈지된 방사선조사 시료 0.9 g에 증류수 100 mL를 첨가하여 20분간 교반한 다음, pH meter를 이용하여 측정하였다. 콜라겐 함량은 방사선 조사한 탈지시료 0.01 g을 평량하고 6 N-HCl 4 mL를 가한 후, 110°C상에서 12~24시간동안 가수분해시켜 Jamall의 방법(11)으로 hydroxyproline 함량을 측정하였다. Hydroxyproline(mg/mL)×100×7.5(계수)식으로 산출된 콜라겐 함량은 탈지된 방사선조사 돈피의 단백질 함량의 백분율로 하여 콜라겐 함량을 산출하였다.

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE)

탈지된 방사선조사 시료 0.2 g을 정확히 취하여 8 M urea, 2% 2-mercaptoethanol, 2% SDS, 20 mM Tris-HCl(pH 7.0) 용액 7.8 mL에 첨가하여 100°C에서 2분간 가열한 후 실온에서 24시간 교반하여 가용화시켰다. 20,000×g의 속도로 30분

간 원심분리 후 상등액을 sample buffer와 1:10 비율로 혼합하여 10%의 polyacrylamide gel을 이용하여 Laemmli의 방법(12)에 따라 SDS-PAGE를 수행하였다. 한편 콜라겐 펩타이드의 조성변화를 비교하기 위해 방사선을 조사한 탈지시료 0.2 g에 전체 중량의 1%가 되도록 papain을 첨가한 후 0.1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.0) buffer 7.8 mL에 용해한 후 25°C에서 1시간에서 4시간 반응시킨 후 원심분리한다음 동일한 조건에서 SDS-PAGE를 수행하였다.

용해도 측정

방사선조사 선량별 용해도와 효소 반응시간별 용해도 변화를 측정하기 위해 탈지된 방사선조사 시료 0.2 g과 전체 중량의 1%가 되도록 papain을 첨가한 시료에 0.1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.0)용액 7.8 mL를 첨가하여 25°C에서 1~4시간 교반한 후 4°C에서 20,000×g의 속도로 30분간 원심분리하였다. 상등액에 포함되어 있는 수용성 단백질을 Biuret법으로 측정하고 총 단백질 함량에 대한 수용성 단백질의 백분율로 표시하여 단백질의 용해도로 나타내었다.

점도, 탁도 측정

각각의 시료에서 추출한 용액의 점도는 Ostwald(ϕ 1 mm) 점도계를 이용하여 측정하였다. 방사선조사 시료 10 mg을 0.1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.0)용액 10 mL에 용해시킨 것과 전체 중량의 1%가 되도록 papain을 첨가한 시료를 0.1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.0)용액 10 mL에 용해하여 25°C 항온조에서 1~4시간 반응시켜 측정하였다. 탁도는 점도 측정법과 동일하게 시료를 조제하여 spectrophotometer(JASCO UVIDEC-610, Japan)를 이용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Gel permeation chromatography

방사선조사와 효소처리를 병행한 시료를 AKTAexplorer chromatography(AMERSHAM BIOSCIENCES, UK)에 장착한 superdex 200 10/300 GL로 분획하여 분자량을 측정하였다. 효소 가수분해한 300 kGy 시료를 0.1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.0)에 용해시킨 후 10,000×g의 속도로 10분간 원심분리와 0.2 μ m filter로 여과하였다. 그리고 0.75 mL를 주입한 후 0.4 mL/min의 유속으로 용출하였다. 280 nm에서 용출한 분획물을 fraction collector로 2 mL씩 분취하였다. 측정을 위한 marker로 Blue dextran(2000 kDa) Albumin(67 kDa), Ovalbumin(43 kDa), Ribonuclease A(13.7 kDa)를 사용하여 분자량 검량선을 작성하고 시료의 평균분자량을 측정하였다.

결과 및 고찰

방사선조사선량에 따른 돈피의 pH 및 콜라겐 함량 변화 Table 1에 0~300 kGy의 조사선량으로 방사선을 조사한

Table 1. Changes in pH of pigskins by irradiation dose

Irradiation dose (kGy)	0	20	40	60	100	150	200	250	300
pH	6.54±0.07 ¹⁾	6.46±0.12	6.43±0.08	6.37±0.27	6.49±0.03	6.61±0.04	6.71±0.06	6.96±0.04	6.94±0.07
Collagen %	91.3±3.5	90.4±3.8	89.2±4.9	89.8±1.2	89.7±3.4	90.0±3.1	93.4±2.2	93.0±3.2	91.3±3.5

¹⁾All values are mean±SE (n=3).

돈피의 pH 및 콜라겐 함량변화를 나타냈다. 방사선조사선량 60 kGy까지는 돈피의 pH가 감소하는 경향을 보였고, 이후 150 kGy 이상에서는 증가하는 경향을 보여 방사선조사에 의한 성분조성 변화가 예측되었다. 반면, 콜라겐 함량은 방사선조사선량에 따라 89~93%를 보여주어 돈피 중에 함유된 단백질의 대부분이 콜라겐 성분인 것으로 나타났다.

방사선조사 및 효소처리를 병행한 돈피 콜라겐의 변화

방사선조사선량 및 효소처리를 병행한 돈피 단백질의 변화를 측정하기 위하여 SDS-PAGE를 이용하였다. Fig. 1은 방사선조사선량에 따른 돈피 단백질의 SDS-PAGE로써 방사선조사를 하지 않은 대조구에서는 분자량 100~300 kDa 크기의 α -chains, β -components 또는 γ -components의 콜라겐 사슬이 대부분인 것으로 나타났으나, 40 kGy 이상의 조사선량에서는 100 kDa 또는 200 kDa 부근의 콜라겐 분자가 점차 소실되는 모양을 보였으며 조사선량이 높아질수록 분자량 24 kDa 이하의 저분자 물질이 점차적으로 증가하는 현상을 보였다. 이러한 결과는 고선량의 방사선조사가 콜라겐과 같은 고분자 단백질의 저분자화를 촉진하는 것을 제시하고 있다. 이결과는 비조사구와 비교해 100 kGy에서 약 60%의 단백질이 분해되어 조사선량의 증가와 더불어 pep-

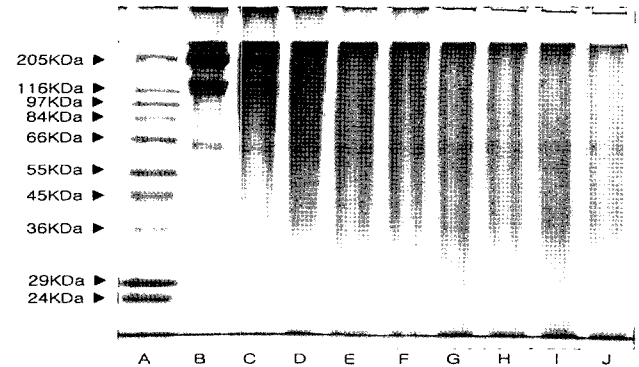


Fig. 1. SDS-PAGE pattern of pigskin proteins according to irradiation doses.

A, protein marker; B, 0 kGy; C, 20 kGy; D, 40 kGy; E, 60 kGy; F, 100 kGy; G, 150 kGy; H, 200 kGy; I, 250 kGy; J, 300 kGy.

tide결합이 절단됨으로 단백질의 저분자화가 일어난다는 Yook 등(13)의 결과와 거의 일치하였다. 한편, 콜라겐 펩타이드를 보다 효율적으로 제조하기 위해 방사선을 조사한 시료에 전체 중량의 1% papain을 첨가하였을 때의 콜라겐 조성변화를 검토하였다. Fig. 2에 나타낸 바와 같이 방사선 조사한 돈피 단백질을 효소처리를 병행했을 때 α - 및 β - 나선 구조의 100 kDa 및 200 kDa의 콜라겐 밴드가 소실되는 반면

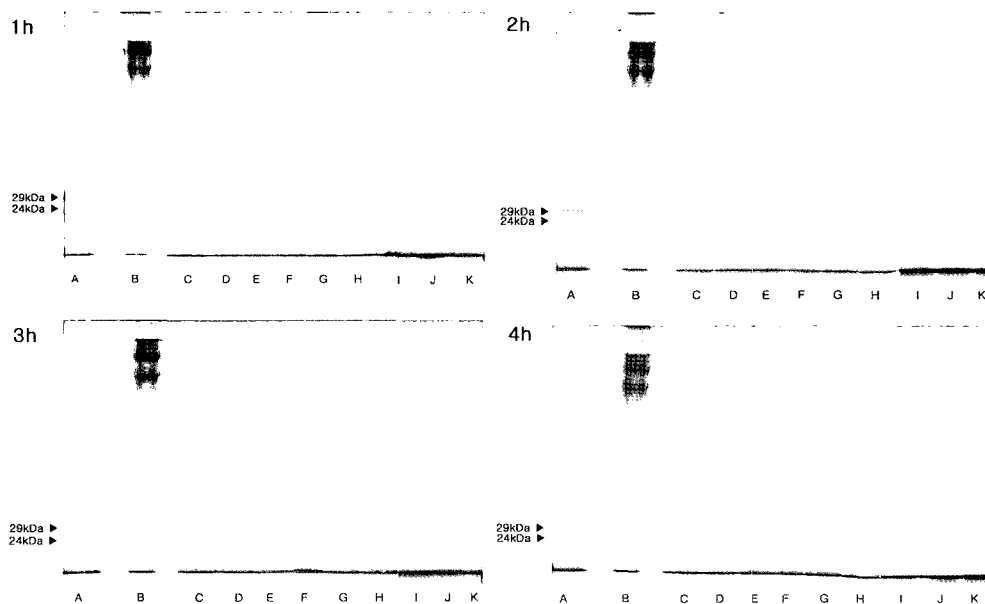


Fig. 2. SDS-PAGE pattern of pigskin proteins according to irradiation doses and papain treatments. A, protein marker; B, non treated; C, 0 kGy; D, 20 kGy; E, 40 kGy; F, 60 kGy; G, 100 kGy; H, 150 kGy; I, 200 kGy; J, 250 kGy; K, 300 kGy.

에 24 kDa의 밴드가 형성되고 있으며, 방사선조사선량이 증가할수록 10% SDS-polyacrylamide gel 하단에 콜라겐 분해물질로 예상되는 저분자 물질이 축적되는 현상을 나타냈다. 방사선조사가 난백단백질의 peptide fragment를 생성한다는 Kume(14)의 보고와 방사선에 의한 단백질 분해반응으로 탈아미노, 탈탄산, SH기의 산화, S-S결합의 분해, 아미노산 잔기의 수식, peptide결합의 분해 등(15)의 결과를 고려해볼 때 방사선조사가 단시간에 콜라겐이 papain에 쉽게 가수분해될 수 있는 구조로 변형시키고 있음을 확인할 수 있었으며, 방사선조사가 콜라겐 펩타이드 제조에 효과가 있다는 것으로 생각되었다.

용해도

SDS-PAGE에서 보여준 콜라겐의 저분자화를 확인하기 위하여 수용성 단백질의 용해도를 측정하였다(Fig. 3). 수용성 단백질의 용해도는 대조구(0 kGy)에서 2.6±0.2%를 나타냈으나 방사선조사선량이 증가할수록 증가하였고 300 kGy에서는 64.6±1.2%를 보였다. 이러한 결과는 SDS-PAGE에서 보여준 저분자화를 뒷받침하고 있다. 방사선을 조사한 돈피에 papain 1%를 첨가하였을 때의 수용성 성분의 용해도는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 시간별로 papain을 처리한 대조구(0 kGy)는 55%였으나 300 kGy로 방사선만 조사한 시료에서 65.3%로 나타나 방사선조사만으로도 효소처리를 대체할 수 있을 것으로 생각되어진다. 한편 방사선조사선량이 높아질수록 용해도가 증가하여 300 kGy에서는 90% 이상의 용해도를 보여 산, 알칼리 처리를 이용한 콜라겐 제조를 대체할 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 전반적으로 100 kGy 이내에서는 용해도 증가율이 높은 것으로 나타났고, 100 kGy 이상에는 용해도 증가율이 낮은 것으로 나타나 향후 방사선조사를 이용한 콜라겐 펩타이드 제조 시 경제성을 고려한 방사선조사선량의 선정이 필요한 것으로 나타났다.

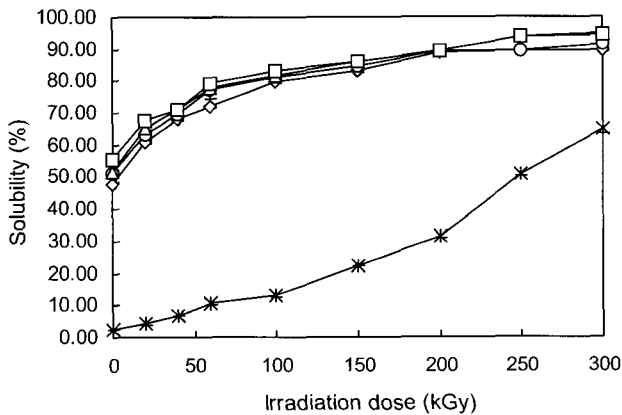


Fig. 3. Solubility of aqueous protein according to irradiation doses and enzyme treatment.
 -◇-: 1 h, -○-: 2 h, -△-: 3 h, -□-: 4 h, -*-: non enzymatic treated.

점도, 탁도

방사선조사선량에 따른 수용성 단백질의 점도 변화를 Fig. 4에 나타냈다. Ostwald 점도계를 이용할 경우 수용성 단백질의 점도측정은 60 kGy 이상에서 가능하였고, 조사선량이 증가할수록 수용성 단백질의 점도가 낮아지는 현상을 보였다. Choi 등(16)이 보고한 방사선조사가 키토산 다당체의 1-4 glycosidic bond를 분열시켜 저분자화시켜 점도가 감소한다고 보고하고 있다. 한편 방사선을 조사한 돈피에 papain 1%를 첨가하여 수용성 단백질을 추출한 경우 비효소처리구에 비하여 점도가 낮아지는 현상을 보여 돈피 단백질이 papain에 일정수준 가수분해되고 있음을 알 수 있었다. 방사선조사선량이 증가할수록 점도가 급격히 감소하는 현상을 보였으며, 150 kGy 이상에서는 일정수준의 점도를 유지하고 있었다. 이러한 현상은 고선량의 방사선조사가 콜라겐의 구조를 절단시켜 papain의 소화력에 영향을 주고, 200 kGy 이상의 고선량에서는 콜라겐의 구조를 완전히 변형시켜 저분자화시킬 수 있음을 추론할 수 있었다. 이러한 현상은 Fig. 5의 탁도 변화에서도 유사하게 나타나고 있다.

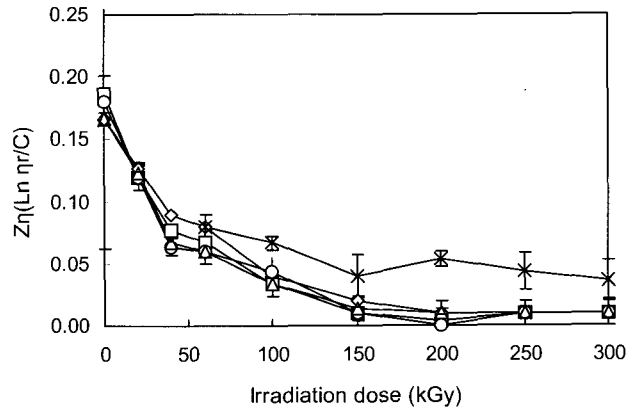


Fig. 4. Viscosity of aqueous protein according to irradiation doses and enzyme treatment.
 -◇-: 1 h, -○-: 2 h, -△-: 3 h, -□-: 4 h, -*-: non enzymatic treated.

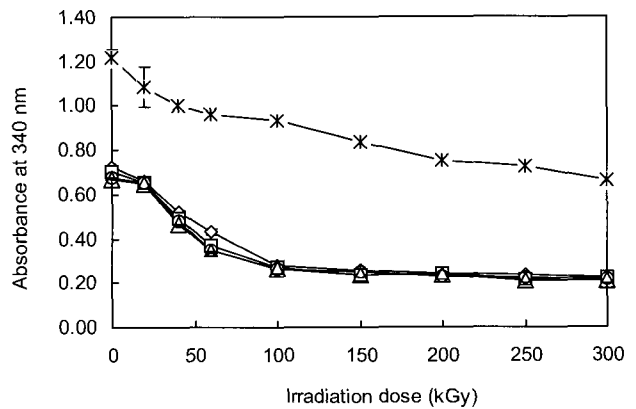


Fig. 5. Turbidity of aqueous protein according to irradiation doses and enzyme treatment.
 -◇-: 1 h, -○-: 2 h, -△-: 3 h, -□-: 4 h, -*-: non enzymatic treated.

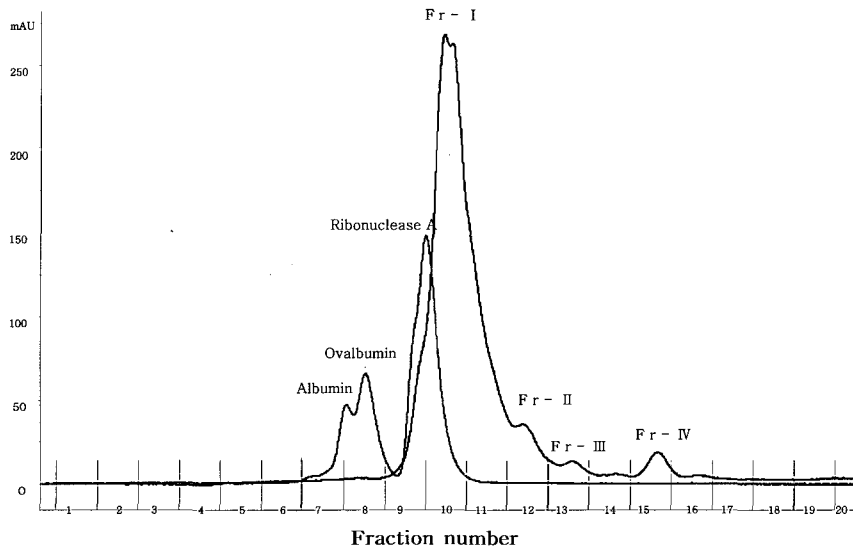


Fig. 6. Purification of molecular weight calibration kit and hydrolyzed collagen by superdex 200 10/300 GL.

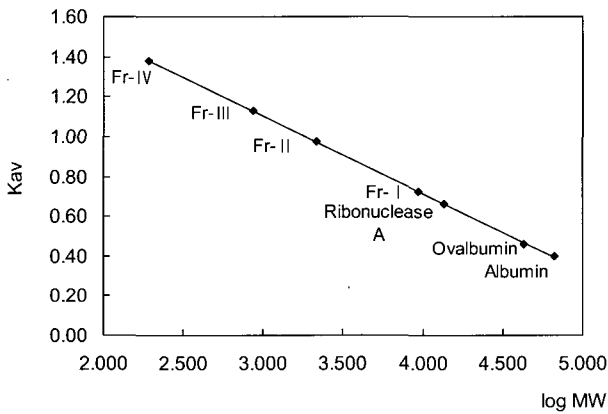


Fig. 7. Gel permeation chromatogram of hydrolyzed collagen from irradiated pigskin.

Gel permeation chromatography

이상의 결과에서 고선량의 방사선조사에 의하여 돈피 단백질 특히, 콜라겐의 구조변화가 일어나 저분자화가 이루어지고 있음을 확인할 수 있었고, molecular weight calibration standard로 gel permeation chromatography한 결과 albumin, ovalbumin, ribonuclease A의 elution volume은 각각 14.91, 15.58, 18.8 mL이었다(Fig. 6). 또한 300 kGy로 방사선을 조사한 돈피 가수분해물의 elution volume은 19.82, 23.56, 25.79, 30 mL로 측정되었다. 검량선에 의거하여 분자량을 측정한 결과 분자량 9,000, 2100, 860, 170 Da의 분획물을 확인하였다(Fig. 7).

요 약

방사선조사를 이용하여 돈피유래 올리고펩타이드를 제조하고자 하였다. 생박돈피를 chopper를 이용하여 조분쇄한

후 -20°C 아세톤으로 탈지하였고, γ -ray irradiator를 이용하여 0, 20, 40, 60, 100, 150, 200, 250, 300 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 탈지돈피에 방사선조사를 하였다. 탈지돈피의 pH는 150 kGy이상에서 소폭 증가하였고, SDS-PAGE에서 방사선조사선량이 증가할수록 분자량 24 kDa이하의 저분자 물질이 점차 증가하였고, 효소처리를 병행했을 때 α - 및 β -나선구조의 100 kDa 및 200 kDa의 콜라겐 밴드가 소실되는 반면에 24 kDa의 밴드가 형성되고 있으며, 방사선 조사선량이 증가할수록 10% SDS-polyacrylamide gel 하단에 콜라겐 분해물질로 예상되는 저분자 물질이 축적되는 현상을 보였다. 방사선조사선량에 따른 수용성 단백질의 용해도, 점도 및 탁도를 측정된 결과 방사선조사선량이 증가할수록 용해도가 증가하고 점도 및 탁도가 감소하는 현상을 보였고, 방사선을 조사한 돈피에 papain 1%를 첨가하여 수용성 단백질을 추출한 경우 비 효소처리구에 비하여 점도가 낮아지는 현상을 보여 돈피 단백질이 papain에 일정수준 가수분해되고 있음을 알 수 있었다. 300 kGy로 방사선을 조사한 돈피 가수분해물을 gel permeation chromatography한 결과 분자량 9,000, 2100, 860, 170 Da의 분획물을 확인하였다. 이상의 결과는 환경오염 문제를 최소화하고 제조공정을 단순화하여 경제성 있는 콜라겐 유래 기능성 올리고펩타이드를 제조함에 있어 방사선조사기술(RT: Radiation Technology)이 고분자물질의 저분자화에 직접 이용될 수 있는 기술로 실용화되어 환경오염을 최소화할 수 있는 대체기술로 가능할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2004년 농림기술개발연구사업의 일환으로 추진된 일부 연구결과이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

1. Lee MH. 1988. *Meat Science: Theory and Application*. Sunjin Press, Seoul. p 242.
2. Piez KA. 1966. Collagen. In *The Physiology and Biochemistry of Muscle as a Food*. Eds EJ, Briskey RG, Cassens JC, eds. Madison Press, Wisconsin. Vol 1, p 315.
3. Togashi SI, Takahashi N, Iwama M, Watanabe S, Tamagawa K, Fukui T. 2002. Antioxidative collagen-derived peptides in human-placenta extract. *Placenta* 23: 497-502.
4. Samonina G, Ashmarin I, Lyapina L. 2002. Glyproline peptide family: review on bioactivity and possible origins. *Pathophysiol* 8: 229-234.
5. Ashmarin IP, Karazeeva EP, Lyapina LA, Samonia GE. 1998a. The simplest proline-containing peptides PG, GP, PGP and GPGG: regulatory activity and possible sources of biosynthesis. *Biochemistry (Moscow)* 63: 119-124.
6. Lyapina LA, Pastorava VE, Samonia GE, Ashmarin IP. 2000. The effect of PGP peptide and PGP-rich substances on haemostatic parameters of rat blood. *Fibrinolysis Blood Coagul* 11: 1-6.
7. Samonia GE, Kopylova GN, German SV, Umarova BA, Bakaeva ZV, Zeliashnik NJ, Zhuykova SE, Sergeev VI, Lukjanzeva GV, Smirnova EA, Lelekova TV. 2000b. Endogenous peptides and gastric mucosal homeostasis. In "Pathophysiology of organs and system. Typical physiological processes (experimental and clinical aspects)". Proceedings of II Russian Congress of Photophysiology (Moscow). p 133.
8. Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKh, Ostrovskaya RU, Scoldinov SP, Rozantsev GG, Voronina TA, Zherdev VP, Seredenin SV. 1996. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolyl in rat brain. *FEBS Lett* 391: 149-152.
9. Olivia BW, Christine MB. 1996. Position of the American dietetic association. Food irradiation. The American Dietetic Association Info.
10. Wood RT, Pikaev AK. 1994. *Applied radiation chemistry; Radiation processing*. Wiley, New York. p 341.
11. Jamall IS, Finelii VN, Que Hee S. 1981. A single method to determine nanogram of levels of 4-hydroxyproline in biological tissue. *Anal Biochem* 112: 70-75.
12. Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
13. Yook HS, Kim MR, Kim JO, Lim SI, Byun MW. 1998. Effects of γ -irradiation on meat protein. *Korean J Food Sci Technol* 30: 407-412.
14. Kume T. 1994. Immunochemical identification of irradiated chicken eggs. *J Sci Food Agric* 65: 1-4.
15. Matoba T, Yoshida H, Yonezawa D. 1982. Changes in casein and egg albumin due to reactions with oxidizing methyl linoleate in dehydrate systems. *Agric Biol Chem* 46: 979-986.
16. Choi WS, Ahn KJ, Lee DW, Byun MW, Park HJ. 2002. Preparation of chitosan oligomers by irradiation. *Polymer Degradation and Stability* 78: 533-538.

(2006년 2월 23일 접수; 2006년 4월 20일 채택)