

Recycling Preparative HPLC를 이용한 청국장의 활성 펩타이드 분리

작물과학원 : 지희연*, 김선림, 김정태, 박남규, 손종록

Bioactive Peptides Separated from *Chungkukjang* by using Recycling Preparative HPLC

Hee-Youn Chi*, Sun-Lim Kim, Jung-Tae Kim, Nam-Kyu Park, Jong-Rok Son
National Institute of Crop Science, R.D.A., Suwon 441-857, Korea

연구목적

우리나라의 전통발효식품인 청국장은 영양학적 특성 및 항암효과, 혈압강화, 콜레스테롤 저하효과 등 생리활성이 우수한 것으로 알려져 있다. 따라서 Recycling LC를 이용하여 청국장으로부터 주요 peptide를 분리하고 그 활성을 검정하였다.

재료 및 방법

- 청국장 제조 : 콩 2 kg을 청국장 제조기를 이용하여 24시간 동안 발효.
- 시료 준비 : 청국장의 동결건조 → Hexane 탈지 → 100% MeOH 추출 → 농축
- Recycling Preparative HPLC을 이용한 청국장 peptide 분리 조건

Instrument : JAI Associates Recycling Preparative HPLC

Colum : JAIGEL GS-310, 20 mm × 500 mm

JAIGEL W-252, 20 mm × 500 mm

Solvent : Methanol (100%)

UV Detector : JAI UV-3702 (280 nm)

Injection Volume : 10 mL (1 g)

Flow Rate : 5 mL/min, 3.5 mL/min

- HPLC를 이용한 분획된 peptide의 분석 조건

Instrument : Millenium³² HPLC workstation system (Waters, USA)

Colum : Reverse-phase C18 4.6 × 250 mm column (Phenomenex, USA)

Solvent : Eluent A - 0.1% trifluoroacetic acid(TFA) in Water

Eluent B - 0.1% TFA in Acetonitrile

UV Detector : Waters 2487 (210 nm)

Injection Volume : 20 µL

Flow Rate : 1 mL/min

- 각각의 Fraction을 DPPH로 항산화 활성 검정 - 50 ppm 농도로 측정

실험결과

- GS-310 컬럼을 이용하여 4개의 fraction을 얻었고, fraction 1을 W-252 컬럼을 이용하여 4개의 fraction을 얻었고, fraction 2도 W-252 컬럼을 이용하여 4개의 fraction을 얻었다.
- 분획물들을 analytical LC로 분석한 결과 저분자단백질들이 있음이 확인되었다.
- DPPH 로 항산화 활성을 검정한 결과 fraction 2에서 활성이 높았다.

† Corresponding author:(Phone) 031-290-6791 (E-mail) chi1143@rda.go.kr

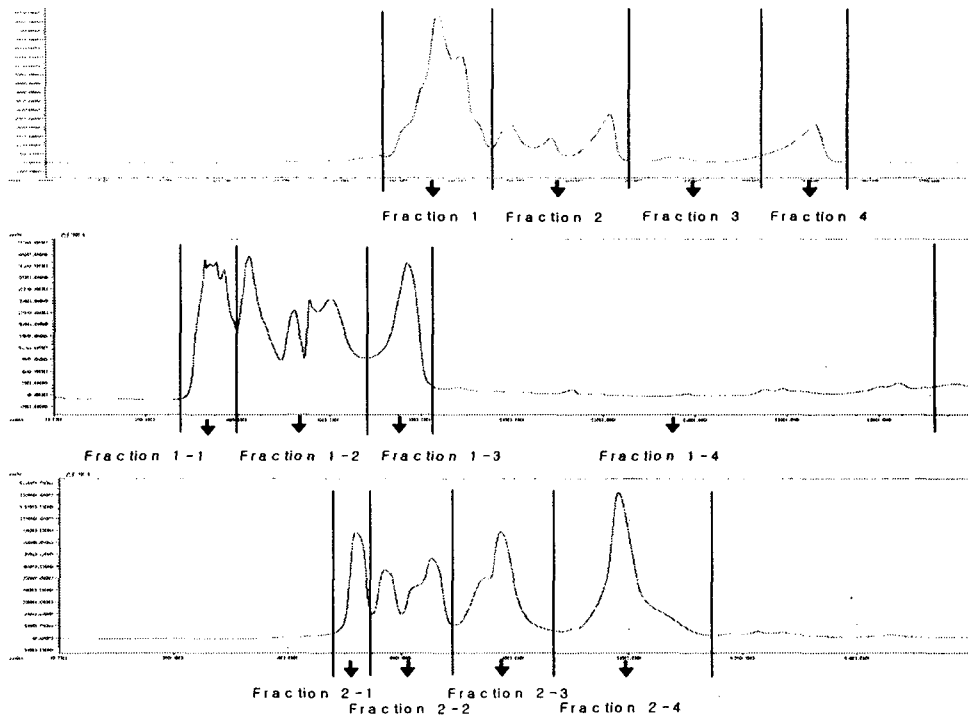


Fig. 1 Recycling chromatogram of chungkukjang.

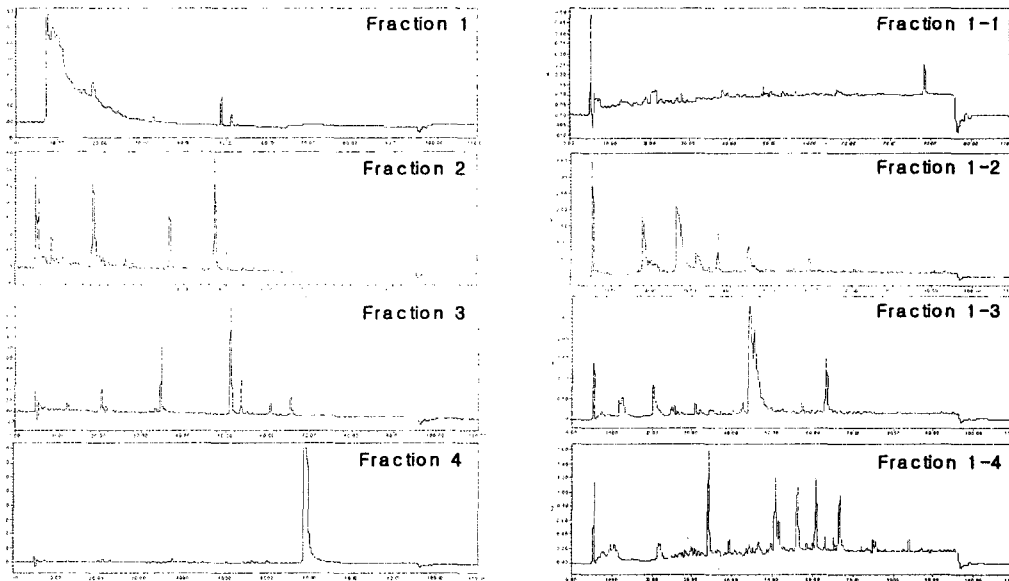


Fig. 2 HPLC chromatogram of separated fractions of chungkukjang.

Table 1. DPPH inhibition of separated fractions of chungkukjang

Separated Fraction	Inhibition (%)	Separated Fraction	Inhibition (%)
Fraction 1	6.07	Fraction 1-1	0.98
Fraction 2	72.61	Fraction 1-2	4.65
Fraction 3	9.27	Fraction 1-3	5.04
Fraction 4	0.34	Fraction 1-4	5.62