

감마선 조사된 실크펩타이드의 항산화능 평가

이주운¹·서지현¹·오상희¹·유영춘²·성낙운²·정일운¹·변명우^{1*}

¹한국원자력연구소 방사선연구원 식품생명공학기술개발팀, ²건양대학교 의과대학 미생물학교실

서 론

실크 단백질은 누에고치 (*Bombyx mori*)에서 얻어지며 피브로인과 세리신으로 이루어진 섬유상 단백질이다⁽¹⁾. 실크 단백질은 주로 피브로인을 말하며 이는 거대분자로서 (300 kDa) 체내에서 흡수가 불가능하다. 따라서 실크 단백질을 산가수분해법, 알칼리 가수분해법, 효소가수분해법을 이용하거나 병용처리하여 실크 펩타이드를 얻을 수 있다⁽¹⁾. 실크 펩타이드는 활성산소생성의 저해, 혈당 강하, 항종양 및 항산화 효능 등을 갖는 것으로 보고되고 있다^(2,3). 한편, 감마선 조사된 phytic acid는 비조사된 phytic acid에 비해 라디칼 소거능이 증가한 보고가 있었다⁽⁴⁾. 따라서 본 연구는 실크 펩타이드의 생리활성 가능성을 향상시킬 목적으로 방사선 조사 기술을 이용하여 전자공여능시험 및 모델 햄버거 패티를 제조하여 항산화 효과를 측정하였다.

재료 및 방법

1. 시료의 준비 및 감마선 조사

실크펩타이드는 Fineco에서 제조한 fine-silk powder를 구입하여 10%의 농도로 증류수에 녹인 후, Co-60 감마선 조사시설(IR-70 gamma irradiator, MDS Nordion, Canada)을 이용하여 실온에서 분당 70 Gy의 선량율로 흡수선량이 5, 10, 50, 100 kGy가 되도록 조사하였다.

2. 전자공여능 (DPPH) 측정

실크 펩타이드의 항산화 활성 측정은 산화적 스트레스의 원인이 되는 유리기의 소거 효과를 검색하는 방법으로 실크펩타이드의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼에 대한 전자 공여능(electron donating ability, EDA) 또는 라디칼 소거능(radical-scavenging activity)을 Yoshida 등⁽⁵⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 실크 펩타이드를 증류수에 10%(w/v)의 농도로 수화하여 흡수선량이 5, 10, 50, 100 kGy가 되도록 감마선 조사한 후 1.25~10%의 농도에서의 전자 공여능을 평가하였다. 각각의 시료 100 μ L를 분취하여 96 well microplate에 넣은 후 1.0×10^{-4} M 농도로 메탄올에 용해시킨 DPPH 용액 100 μ L와 잘 혼합한 후 실온에서 10분간 방치한 후 595 nm에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거활성은

DPPH의 전자 공여능(EDA)로 나타내었으며 이는 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 감소 차이를 백분율로 계산하였다.

$$EDA(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

A_c : 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도

A_s : 시료를 첨가하지 않은 반응구의 흡광도

3. 지방산패도(2-thiobarbituric acid value) 측정

지방산패도는 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)법으로 측정하였다. 즉 햄 버거패티 시료 10 g을 10% trichloroacetic acid 용액 30 mL을 첨가하여 homogenizer로 균질화시킨 후 50 mL로 정용한 후 Whatman filter paper(No. 4, Whatman international Ltd, Maidstone, England)로 여과하여 시험용액을 제조하였다. 시험용액 2 mL를 취하여 15 mL 시험관에 넣고 20 mM TBA 용액 2 mL을 넣은 후 혼합하고 끓는 물에서 20분간 가열하였다. 10분간 냉수에 냉각한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 결과는 1,1,3,3-tetra-ethoxyprone을 표준물질로 하여 얻어진 검량선을 이용하여 mg malondialdehyde/kg meat (wet basis)으로 표시하였다.

결과 및 고찰

1. 감마선 조사된 실크웬타이드의 전자공여능 활성

실크 웬타이드를 용해시킨 모델시스템을 이용하여 감마선을 조사한 후 항산화활성을 측정하여 감마선 조사가 실크 웬타이드의 항산화 효과에 미치는 영향을 분석하였다. 실크 웬타이드는 Lee 등⁽³⁾이 보고한 바와 같이 항산화 활성이 있는 것으로 나타났으며, 특히 감마선 조사된 실크 웬타이드의 전자공여능은 감마선 조사선량 및 농도가 증가함에 따라 증가하여 실크 웬타이드의 항산화활성이 감마선 조사에 의해 증가되었다(Fig. 1). 한편, 전자공여능을 50% 감소시키기 위한 실크 웬타이드의 최소 농도(IC50)를 측정한 결과 5 및 10 kGy 조사된 실크웬타이드는 비조사구에 비해 약 50% 정도 감소하였으며, 50 및 100 kGy 조사된 실크웬타이드는 약 70% 정도 감소하는 것으로 나타났다. Ahn 등⁽⁴⁾은 phytic acid에 감마선을 조사할 경우 감마선 조사에 의해 phytic acid의 항산화 활성이 증가한다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다. 이와 같은 현상을 규명하기 위한 보다 구체적인 연구가 필요한 것으로 생각되나, 감마선 조사 기술을 효과적으로 사용한다면 특정물질에 대해 항산화 효과를 증진시킬 수 있는 가능성이 높은 것으로 사료된다.

2. 실크웬타이드가 첨가된 햄버거패티의 지방산패도 측정

Table 1에서와 같이 감마선을 조사하지 않은 햄버거 패티의 TBA값은 실크 웬타이드 첨가구가 무첨가구에 비해 낮게 나타났다. 한편, 감마선 조사 직후 TBA값은 감마선 조사선량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였지만, 실크 웬타이드 첨가구가 무첨가구에 비해 감마선에 의한 지방산화가 적었다.

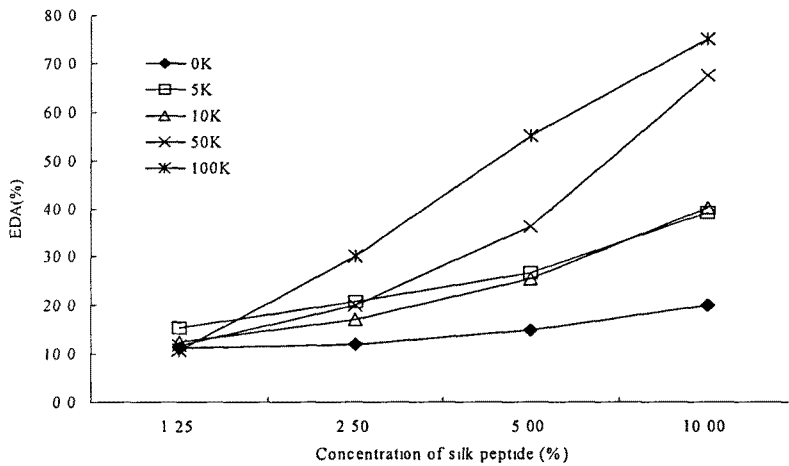


Fig. 1. Electron donating ability(%) of gamma-irradiated silk peptide solution.

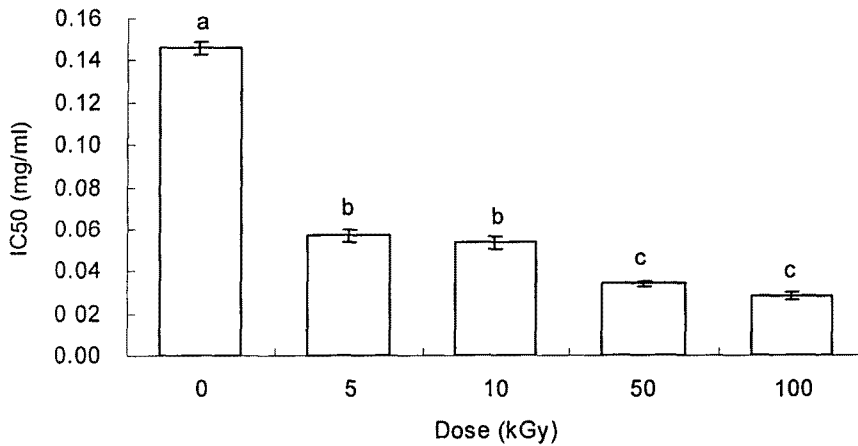


Fig. 2. IC50 of irradiated and non-irradiated silk peptide solution.

이는 감마선 조사된 실크 펩타이드의 항산화활성이 증가한다는 결과(Fig. 1과 2)와 일치하는 것으로서 실크 펩타이드가 가열에 의한 지방산패 뿐만 아니라 방사선 조사에 의한 지방산패 억제에도 효과적임을 입증한 결과이다. 이상의 결과는 실크 펩타이드의 첨가가 가공공정 중의 가열 및 감마선 조사에 의해 발생할 수 있는 햄버거 패티의 지질 산패를 억제시켜 TBA값이 낮아짐을 보여준다.

Table 1. Changes of TBARS in gamma-irradiated hamburger steak with silk peptide
(mg malonaldehyde/kg samples)

Dose (kGy)	Silk peptide (%)	
	0	5
0	3.30 ^b	2.77 ^c
5	4.02 ^{ab}	3.50 ^b
7	4.35 ^a	3.97 ^{ab}
10	4.48 ^a	4.05 ^{ab}
SEM ¹⁾	0.12	

^{a-c}: Different letters indicate significantly different ($p \leq 0.05$).

¹⁾SEM: Standard error of the means.

요 약

감마선 조사된 실크 펩타이드의 전자공여능은 감마선 조사선량이 증가할수록 증가되었으며 IC50은 비조사구에 비해 50~70%로 감소되었다. 또한, 실크 펩타이드가 첨가된 햄버거 패티를 감마선 조사하여 측정된 결과 감마선 조사선량이 증가함에 따라 지방 산패도가 증가하였지만 실크 펩타이드 첨가구가 무첨가구에 비해 지방산화가 적은 것으로 나타났다. 이상의 결과는 실크 펩타이드의 첨가가 가열 및 감마선 조사에 의해 발생할 수 있는 햄버거 패티의 지질 산패를 억제시켜 TBA값이 낮아짐을 보여준다.

참 고 문 헌

1. Lee, K.G. et al.(2003) *Food Science and Industry* 36, 25-37.
2. Choi, J.H. et al.(2000) *Korean J. Seric. Sci.* 42, 58-64.
3. Lee, S.H. et al. (2002) *Food Science and Industry* 35, 57-61.
4. Ahn, H.J. et al. (2003) *J. Food Sci.* 68, 2221-2224.
5. Yoshida, T. et al. (1989) *Chem. Pharm. Bull.* 1919-1921.