

## 난황 단백질의 효소 가수분해에 의한 sialic acid의 회수 공정 개발

강병철\* · 이광현

동의대학교 화학공학과

Received October 25, 2004 / Accepted December 22, 2004

**Process Development for the Recovery of Sialic Acid Fraction by Enzymatic Hydrolysis of Egg Yolk Protein.** Byung Chul Kang\* and Kwang Hyun Lee. *Department of Chemical Engineering, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea* - Batch enzymatic hydrolysis of egg yolk protein by protease was carried out at laboratory scale coupled to an ultrafiltration module. Effect of ethanol concentrations on the performance of enzymatic hydrolysis was studied to determine the optimum condition of recovery of hydrolysate. The enzymatic hydrolysis was conducted stepwise with following conditions, 50°C, pH 10.0 and pH 6.5. Ethanol concentration was changed from 10 to 40% (w/w). As ethanol concentration was increased, the recovery yield of total solid and protein in enzymatic hydrolysate was also increased. The content of sialic acid and protein in hydrolysate was independent of ethanol concentration. We also investigated the effect of ethanol concentration on the performance of ultrafiltration. As the concentration of ethanol in yolk protein was increased, the recovery yield of product was increased. Ultrafiltration of egg yolk protein hydrolysate was conducted to increase the content of sialic acid. Four ultrafiltration modules were used in this study, and we evaluated the performance of the UF modules. When Amicon module was used, the recovery percentage of total solid in retentate was 6.0%, which is the highest among the modules used. In spite of the difference in the recovery yield of total solid, the purity of sialic acid in retentate was about 2.0%, which was 5 times higher than that in feed. It was concluded that the recovery yield and the purity of sialic acid did not correlate with the types of modules and the size of MWCO.

**Key words** - sialic acid, ultrafiltration, dialysis, egg yolk protein

효소를 사용하여 동물성 혹은 식물성 단백질의 가수분해를 통해 새로운 기능성 식품의 개발에 많은 연구가 행해져 왔다[2,3]. 단백질의 효소 분해 공정은 현재 식품 및 제약분야에서 널리 이용되고 있으며, 효소에 의한 단백질의 가수분해는 산 혹은 알칼리에 의한 가수분해에 비해 장점을 가진다. 즉 온화한 조건에서 반응을 진행시킬 수 있고, 낮은 염 농도에서 가수분해물을 얻을 수 있으며, 가수분해 속도를 조절할 수 있으므로 최종제품의 품질도 개선할 수 있다. Protease에 의한 가수분해는 특별한 특성을 가진 peptide를 생산할 수 있는 유일한 방법이다[8,9].

난황(egg yolk) 단백질은 그 자체로 우수한 영양학적 가치를 지니고 있으나 실제로는 난백(egg white) 단백질에 비해 식품산업에서 관심이 적은 실정이다. 난황에는 단백질과 지질이 각각 40%와 60%를 차지하고 있고, 지질은 유리되지 않은 상태로 단백질과 결합되어 있는 lipoprotein의 형태로 존재하고 있다. 난황 단백질에는 지질이 중성지질(neutral lipid)과 인지질(phospholipid)을 합해서 대략 10~30% 존재하고 있다[12,14,15]. 따라서 에탄올과 같은 용매를 사용하여 지질을 제거하여도 이들을 완전하게 제거할 수 없다.

Sialic acid는 조류의 난황에서 주로 발견되는데, 당단백질

(glycoprotein)이나 당지질(glycolipid)의 구성원으로 존재하고 있다. 최근 sialic acid가 세포의 생리 활성에 미치는 역할에 대한 규명이 이루어지고 있다. 지금까지 계란 이외의 여러 소재료로부터 약 30여종의 sialic acid의 유도체가 밝혀졌다. 한편 계란에서 발견되는 sialic acid는 N-acetylneuraminic acid가 유일하다. 따라서 난황은 N-acetylneuraminic acid와 그것의 유도체에 대한 좋은 공급원으로 사용할 수 있다. Sialic acid를 포함하는 함유물은 계란의 여러 부분에 분포되고 있고 농도는 egg yolk membrane이나 chalaza에서 각각 1.8%와 2.4%로 높지만 총량은 난황에 가장 많이 함유되어 있으므로, sialic acid를 난황으로부터 가장 많이 생산할 수 있다. sialic acid를 함유하고 있는 ganglioside, sialyloligosaccharide, 그리고 sialylglycoprotein 등은 동물이나 사람의 tissue 세포에서 여러 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 예를 들면 이것은 여러 바이러스의 receptor로 작용할 수 있으며 기능성 식품이나 제약분야에 널리 적용할 수 있다고 알려져 있다[10,16].

난황에 존재하는 sialic acid를 회수하기 위해서는 난황 단백질을 protease에 의해 가수분해시키는 것이 효율적인데 난황 단백질을 효소 가수분해에 의해 peptide화시킴으로써 sialic acid함유 올리고당을 얻을 수 있다. 일반적으로 sialic acid함유 올리고당으로 회수한 것이 기능성 식품소재로서 유용하다고 보고되었다[5,7,11]. 효소 가수분해물에서 sialic acid가 함유된 올리고당을 선택적으로 회수하기 위해서 한외여과

\*Corresponding author

Tel : +82-51-890-1702, Fax : +82-51-890-1694

E-mail : bckang@deu.ac.kr

(ultrafiltration)와 투석을 실시하였다. 한외여과막을 사용하면 역삼투막보다 큰 분자들을 회수할 수 있는데, 대개 크기가 1 nm에서 50~100 nm까지의 지름을 가진 분자를 회수하는데 유용하게 사용된다. 일반적으로 제품의 농축(용매의 제거)이나 정제(낮은 분자량의 불순물의 제거)에 한외여과는 유용하게 사용되고 있고 특히 단백질이나 고분자의 회수에 널리 사용된다[4,6,13].

본 연구의 목적은 난황 단백질을 효소 가수분해할 때 원료에 포함된 에탄올의 농도가 가수분해 효율과 sialic acid의 회수에 어떤 영향을 주는지 조사하여 최적의 가수분해 조건을 구하고 단백질 가수분해물을 얻은 후 한외여과를 실시하여 가수분해물 중에 있는 sialic acid를 포함한 올리고당의 함량을 높이는 것이다. 또한 여러 종류의 한외여과막 모듈에 대한 평가를 실시하여 sialic acid의 대량생산을 위한 공정 개발을 하는데 그 목적이 있다.

**재료 및 방법**

**난황 단백질의 제조**

원료로 사용된 난황 단백질은 다음과 같이 제조하였다. 액체 난황을 분무건조한 후 여기서 얻어진 난황 분말 1.0 kg에 4.0 L의 95% 에탄올로 40℃에서 1시간 교반하면서 난황 분말 중에 함유된 지질을 제거하였다. 추출된 액을 여과한 후 다시 3.0 L의 에탄올을 투입하고 교반하면서 지질을 제거하였다. 추출여과에 의해 지질이 제거된 난황 단백질을 60℃의 오븐에서 건조하였다. 이 때 얻어진 난황단백질의 주요 성분의 함량은 대략적으로 단백질 40~50%, 지질 20~30%, 물 5~10%, 그리고 ethanol 20~30%의 조성을 가지고 있다.

**Protease에 의한 난황 단백질의 가수분해**

난황 단백질의 가수분해는 다음과 같이 실시하였다. 난황 단백질 800 g에 물 3.2 L를 넣고 5 M NaOH로 pH를 10.0으로 조정하였고, 반응온도를 50℃로 유지시켰다. 그리고 alkaline protease인 Orientase (Hanku, Japan)를 난황 단백질의 중량에 대해 0.05%를 첨가하였다. 1시간 정도 교반을 하였고 그 이후에는 교반을 중지하였다. 8시간 후에 다시 NaOH로 pH를 10.0으로 조정하였고 Orientase를 다시 0.05%를 첨가하였다. 8시간 반응이 끝난 후 5 M HCl로 pH를 6.5로 조정하였

다. 그리고 exo-protease인 Flavorzyme (Novo, Denmark)을 0.1%로 투입하여 16시간 반응시키고 반응을 멈추었다. 효소가수분해가 끝난 후에 반응물에 남아있는 효소를 실효시키기 위해 80℃에서 20분간 가열하였다. 반응이 끝난 후 전체 액을 진공여과하였고 이 때 여과면적 및 여과효율을 증가시키기 위해 셀라이트를 코팅한 후 여과시켰다. 얻어진 난황 단백질 가수분해물의 용액을 한외여과의 원료로 사용하였다.

**Sialic산 회수를 위한 한외여과 및 투석**

본 실험에 사용된 한외여과 막 모듈의 제원을 Table 1에 나타내었다. 모듈은 MWCO (Molecular Weight Cut-Off)가 2,000에서 5,000사이를 사용하였다. 막 모듈은 flat, sprial wound 및 tubular 형태를 사용하였다. 한외여과 장치의 개괄도는 Fig. 1에 나타내었다. 한외여과 장치는 공급탱크, 순환펌프, 그리고 여러 막을 사용한 모듈로 구성되었다.

한외여과의 운전 조건은 다음과 같다. 효소 가수분해물은 pH 5.0, 55℃에서 한외여과되었다. 막 모듈의 입구압력과 출구압력의 평균을 취한 transmembrane pressure (TPM)은 1.5 bar로 하였다. 막 모듈은 실험 후에 다음과 같이 재생되었다. 0.5%의 HNO<sub>3</sub>로 60℃에서 30 min동안 순환시키고, 다음에 4.0%의 NaOH로 60℃에서 30 min동안 순환시켰다. 계속해서 증류수로 permeate의 pH가 7.0이 될 때까지 계속해서 순환시켜 재생하였다.

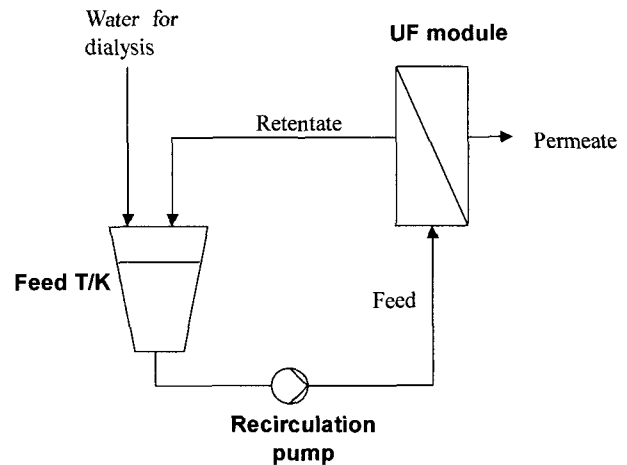


Fig. 1. Schematic diagram of UF operation.

Table 1. Specifications for ultrafiltration modules

Manufacturer	Material	Membrane configuration	Membrane area (m <sup>2</sup> )	Molecular weight cut-off (Da)
Amicon	organic	sprial wound	0.09	3,000
Dow-DDS	polysulfone	flat	0.09	5,000
AMT	polyehtersulfone	sprial wound	0.09	2,000
Millipore	mineral	tubular	0.5	5,000

한외여과 운전은 농축과 투석의 두 단계로 연속적으로 실시하였다. 첫 단계는 농축 단계로서 공급탱크에 있는 가수분해물의 용액이 처음 부피의 1/4이 될 때까지 계속적으로 permeate를 배출시켜 공급탱크의 부피를 감소시켰다. 두 번째 단계는 투석 과정으로서 효소반응에 발생한 염의 농도를 낮추고 sialic acid를 정제하기 위한 것으로 최종 전기전도도가 600  $\mu\text{S}/\text{cm}$ 가 될 때까지 실시하였다. 투석은 permeate로 빠지는 액의 유량만큼 증류수를 공급하였고, 이 때 공급탱크의 부피를 일정하게 유지시켰다.

**분석방법**

고형물은 105°C 오븐에서 3~4시간 정도 시료를 건조하여 측정하였다. 효소 가수분해시에 발생하는 peptide와 아미노산에 관계하는 총 단백질의 양은 Kjeldahl 방법으로 정량하였다 [1]. Sialic acid의 함량은 TBA 방법에 의해 실시하였다 [17]. 즉 시료 50 mg을 취하여 물 10 ml에 용해시키고 5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  100  $\mu\text{L}$ 를 가하고 80°C에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응액에 periodate 용액 0.1 ml 첨가한 후 실온에서 20 min 동안 반응시킨 다음, TBA 용액 1.5 ml를 첨가하고 15분간 90°C에서 가열시켰다. Cyclohexanone 1.0 ml를 첨가하여 원심분리시켰고 spectrophotometer로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 sialic acid의 양을 정량하였다.

**결과 및 고찰**

**난황 단백질의 효소 가수분해**

Table 2는 본 실험에서 난황에서부터 제조된 난황 단백질의 조성을 표시한 것이다. 본 실험에서 효소에 의한 난황 단백질의 가수분해는 두 단계로 실시되었다. 우선 알칼리성 endoprotease에 의한 분해와 그 다음 exoprotease에 의한 분해로 진행되었다. Exoprotease의 사용은 제품 중에 쓴 맛을 완화시켜 풍미를 향상시키기 위한 목적이다. 원료인 난황 단백질에 함유된 에탄올의 농도를 달리하면서 실험을 실시하였다. 원료 중에 에탄올의 함유량이 낮을수록 효소가수분해시 유화(emulsion)층이 발생하여 효소분해가 끝난 후 단백질 가수분해물의 회수가 어렵기 때문에 최적 에탄올 농도를 결정하기 위하여 에탄올의 함량을 달리하면서 가수분해물의 회수율을 조사하였고, 여러 업체에서 생산되는 난황 단백질의 에탄올 함량이 대략 10~40%이기 때문에 이 범위내에서 실험을 하였다.

실험결과와 Fig. 2와 같다. 에탄올의 농도가 증가함에 따

라 고형물과 단백질의 회수율이 높아짐을 알 수 있다. 이것은 앞에서도 언급했지만 난황 단백질은 지질이 단백질과 결합되어 있는 형태로 많이 존재하기 때문에 endoprotease인 Orientase를 첨가할 때 지질과 결합된 단백질의 성분은 반응에 의해 반응용기의 상부에 유화층을 형성하게 된다. 본 실험에서는 에탄올의 함량이 증가할수록 이 유화층의 두께가 얇아졌고, 유화층의 두께가 얇아진 만큼 많은 가수분해물을 회수할 수 있다는 것을 의미한다. 실제로 유화층이 증가할수록 회수율도 감소하였고 또한 가수분해물을 여과할 때 유화층으로 인해 여과를 상당히 어렵게 하였다. 따라서 원료중에 에탄올의 함량이 증가할수록 고형물과 단백질의 회수가 증가하였고 원료 중에 에탄올의 함량이 40%까지는 효소가수분해를 저해하는 영향이 거의 없다고 판단되었다. 따라서 난황 단백질의 효소 가수분해는 원료 중에 에탄올의 함량을 40%로 하여 실시하였다.

Fig. 3은 가수분해물에서 sialic acid의 함량을 나타내고 있다. sialic acid의 함량은 에탄올의 농도에 관계없이 대략 0.5% 내외를 보이고 있다. 이것은 난황 단백질 원료 중에서의 함량에 비해 1.5배 정도 증가하였다. 본 실험에서는 효소 가수분해 시에 유화층을 제거하기 때문에 전체 고형분에 대한 sialic acid의 함량이 증가한다고 생각되어진다. Sialic acid의 함량과 마찬가지로 에탄올의 농도에 관계없이 단백질의 함량이 대략 75% 정도를 나타내었다. 이것은 원료와 비교하면 약 8% 정도 상승한 결과이다. 마찬가지로 유화층의 제거로 인해 단백질의 함량도 상승함을 알 수 있다.

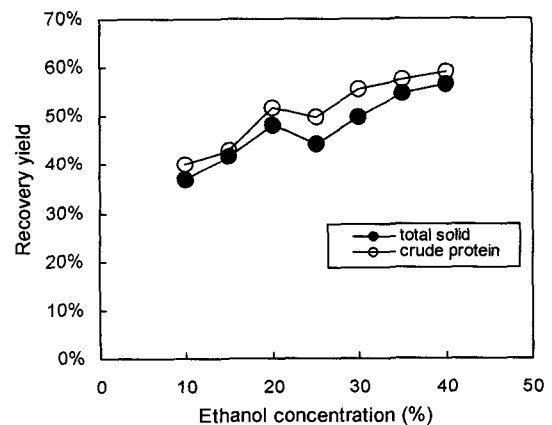


Fig. 2. Recovery yield of total solid and crude protein in enzymatic hydrolysate.

Table 2. Composition of egg yolk protein

Ethanol conc (%)	10	15	20	25	30	35	40
Total Solid (g)	71.3	66.8	63.4	60.3	55.4	51.5	47.5
Crude Protein (g)	50.6	47.8	45	42.9	39.4	36.6	33.7
Sialic Acid content (%)	0.34	0.33	0.31	0.29	0.27	0.25	0.23

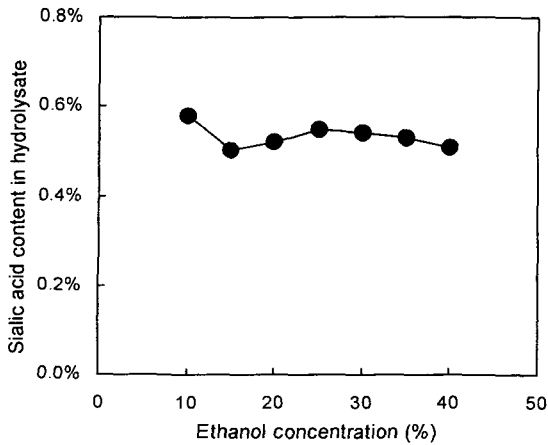


Fig. 3. Sialic acid content in enzymatic hydrolysate.

**여과막에서 MWCO에 따른 영향**

한외여과와 투석에 사용된 한외여과막의 MWCO가 sialic acid의 회수에 미치는 영향에 대해 조사하였다. Sialic acid을 포함하고 있는 올리고당과 단백질이 분자량 기준으로 2000 dalton (Da) 이상이기 때문에 2000, 3000 그리고 5000 Da의 MWCO의 한외여과 막을 사용하였다. 사용된 막에서 permeate의 투과속도를 조사하였고, 이 때의 운전조건은 TPM이 1.5 bar에서 실시하였다. Fig. 4는 한외여과에서 농축 단계에서 막 모듈에 따른 투과속도를 보여주고 있다. 각각의 투과속도는 시간에 따라 감소하였고, 최종 투과속도는 초기 속도에 비해 약 30% 이상 감소하였다. 특이할 점은 3000 Da에서의 투과속도가 2000 Da에서 보다 낫다는 점이다. 또한 5000 Da에서의 투과속도도 tubular 형태의 millipore 막을 사용한 경우가 flat 형태의 DDS 막에 비해 투과속도가 높다는 점이다. 이것은 막의 특성 즉 막의 재질이나 모듈형태에 기인한 것이라고 판단된다. 정상상태에서의 투과속도를 비교하면 5000 Da의 투과속도가 3000 Da의 투과속도보다 약 1.5배 이상 높음을 알 수 있다. 대부분의 경우 투과속도는 40 min이 경과한 다음 일정한 정상 상태의 값을 유지하였다.

**난황 단백질 중의 에탄올 농도가 한외여과에 미치는 영향**

Fig. 5는 한외여과 후에 retentate에 있는 고형분의 회수율을 나타낸 것이다. 원료 난황 단백질 중에 에탄올 함량이 높을수록 회수율도 높아짐을 알 수 있다. 이것은 가수분해물에서의 회수율과 비슷한 경향을 보였다. 왜냐하면 가수분해시에 에탄올 농도가 증가함에 따라 회수율도 높아졌기 때문에 한외여과도 비슷한 경향을 나타내는 것으로 생각되며, 원료 중에 있는 에탄올 농도가 증가하더라도 한외여과막에 나쁜 영향을 주지 않음을 알 수 있다. Fig. 6은 한외여과 조업 후에 retentate에서 sialic acid의 함량을 나타낸 것이다. sialic acid의 함량은 에탄올의 농도와 관계없이 대략 2.5% 정도를 유지하고 있음을 알 수 있다. 따라서 가수분해물의 함량에 비해 대

략 5배 정도 상승하였다. 이것은 한외여과에서는 sialic acid가 retentate로 농축됨을 알 수 있다.

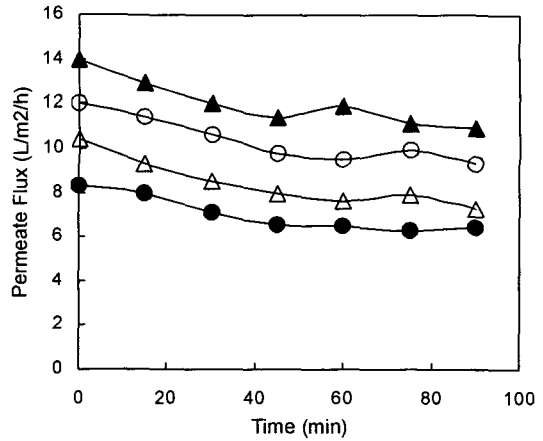


Fig. 4. Permeation flux as a function of time for membrane pore size: (Δ) 2000 Da, AMT; (●) 3000 Da, Amicon; (▲) 5000 Da, Millipore and (○) 5000 Da, Dow-DDS.

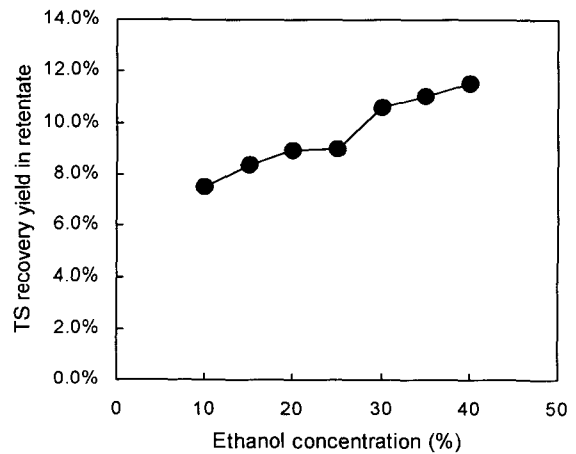


Fig. 5. The recovery yield of total solid in retentate after ultrafiltration.

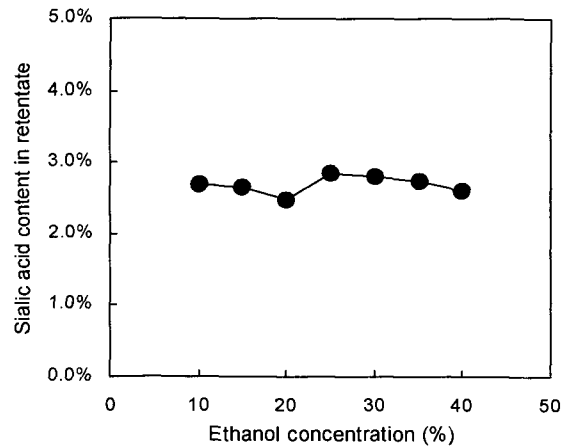


Fig. 6. Sialic acid content in retentate after ultrafiltration operation.

**한외여과와 투석에 의한 sialic산의 회수**

투과속도의 관점에서 보면 MWCO가 높을수록 유리함을 알 수 있다. 하지만 sialic acid를 포함하고 있는 제품은 분자량이 2000 이상의 물질임으로 최대한 permeate로 빠지는 손실을 최소화하여야 한다. 따라서 한외여과막의 조업에서 원료중의 고형물과 sialic acid가 permeate와 retentate로 분리되는 것을 조사하여 수지(balance)를 살펴보았다. 본 실험에서 사용한 4종류의 모듈에 대한 총 고형물(total solid)의 수치 즉 permeate와 retentate의 양을 조사하였고, 이것을 Table 3에 결과를 나타내었다. 원료에 있는 총 고형물의 양은 모든 경우에 352 g의 시료에 대해 한외여과를 실시하였다. 농축 단계에서 총고형물의 회수율은 모듈간에 약간의 차이를 보이지만, 전반적으로 회수율에서 많은 차이는 없었음을 알 수 있었다. 즉 이것은 사용한 막의 MWCO의 차이에도 불구하고 permeate로 빠지는 고형물의 양은 거의 일정하다는 것을 의미한다. 농축단계에서는 고형물이 막 표면에 일정한 젤을 형성함으로써 permeate로 고형물의 손실이 MWCO의 차이에도 불구하고 일정함을 나타낸다.

하지만 탈염 과정인 투석에서는 고형물의 회수에서는 많은 차이를 나타내고 있다. Amicon 모듈을 사용한 경우가 투석과정에서의 회수율이 가장 높았고, 회수율은 Millipore 모듈을 사용한 경우에 비해서 약 2배 정도 높았다. 그리고 고형물의 회수율은 각 모듈의 특성에 의해 좌우되었고, MWCO가 작을수록 회수율이 증가하는 경향은 보이지 않았다. 즉, AMT 모듈의 MWCO 2,000이었지만, 다른 모듈에 비해 고형물의 회수율이 높지 않음을 알 수 있다. 투석과정에서 고형물의 회수율이 차이가 나는 이유는 농축 단계와는 달리 투석과정은 계속적으로 증류수를 공급함으로써 농축단계에 비해 막 표면에 젤의 형성이 약화될 것으로 기대된다. 따라서 MWCO와 막의 형태에 의해서 회수율에 차이가 생기는 것으로 생각된다. 따라서 permeate에서의 제품의 손실을 줄이고 retentate로 제품을 최대한 회수하기 위해서는 투석과정에서의 고형물 회수율이 한외여과 막 모듈을 선택하는 기준이 된다고 생각된다. 따라서 본 실험에서는 위의 결과로부터 MWCO 3000이고 spiral-wound 형태인 Amicon 모듈이 가장 좋은 회수율을 나타냄을 알 수 있었다.

**한외여과막의 종류에 따른 sialic acid의 순도에 미치는 영향**  
한외여과 조업에서 농축과 투석의 과정이 끝난 후에 reten-

tate에 포함된 고형물 중에 포함된 sialic acid의 함량을 조사하였다. Fig. 7은 sialic acid의 함량과 retentate의 회수율을 함께 나타내었다. 이 때 원료인 효소 분해에 의한 가수분해물의 용액에서 sialic acid의 함량은 0.45%였다. 한외여과 후에 retentate에서 sialic acid의 함량은 원료에 비해 5배 가량 증가한 2.2% 정도였다. Sialic acid는 원료 중에 1.58 g이었고 최종제품 중에는 1.06 g를 회수하였다. 따라서 sialic acid의 회수율은 67%였다. 고형물의 회수율은 막 모듈에 따라서 다른 특성을 보였지만, Fig. 7에서 알 수 있듯이 sialic acid의 함량은 모듈에 관계없이 일정한 경향을 보였으며 제품의 수율은 MWCO 3000인 Amicon 모듈을 사용한 경우가 가장 우수함을 알 수 있다. 이상의 결과로부터 난황 단백질의 가수분해물에서 sialic acid의 함량 및 회수율을 향상시키는 한외여과막을 선택하는데 있어 MWCO의 특성 뿐만아니라 투석과정에서 고형물의 손실을 최소화시킬수 있는 모듈이 선택되어야 한다. 향후 연구에서는 투석과정에서 고형물의 손실에 대한 원인을 규명하는 작업이 진행될 것이다.

**요 약**

난황 단백질의 효소에 의한 가수분해에서 에탄올의 농도가 증가할수록 고형물과 단백질의 회수가 증가함을 알 수 있었다. 이것은 유화층을 에탄올의 증가가 감소시켰기 때문이

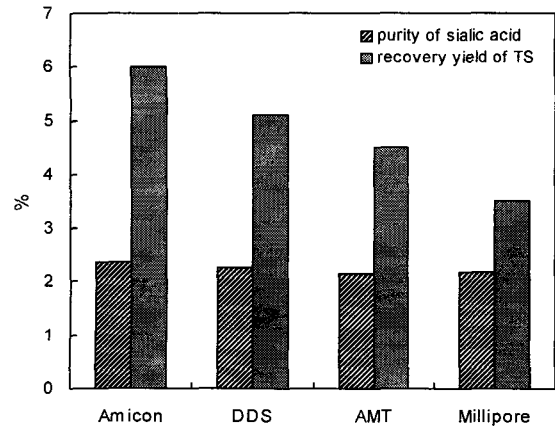


Fig. 7. Purity of sialic acid and yield of TS after UF and dialysis operation.

Table 3. Balance of total solids in UF and dialysis operations

MWCO	Amicon	DDS	AMT	Millipore
	3000	5000	2000	5000
TS in concentration step (g)	96.4	93.9	87.6	83.0
TS in Dialysis step (g)	48.3	40.8	36.0	27.2
Recovery of TS in concentration step (%)	27.4	26.6	24.9	23.5
Recovery of TS in dialysis step (%)	13.8	11.5	10.2	7.7

TS: total solid

다. 그러나 가수분해물에서 단백질 함량이나 sialic acid의 함량은 에탄올 농도와는 관계없이 일정하였다. 한외여과 후에 retentate에 대한 에탄올의 영향을 조사하였다. 마찬가지로 고형물의 회수는 에탄올 농도의 증가와 함께 증가하였다. 그리고 retentate에서 sialic acid의 함량은 대략 2.5% 정도로 일정하고 에탄올의 농도에 영향을 받지 않았다. 이상의 결과로부터 난황 단백질의 효소 가수분해를 통해 sialic acid가 함유된 제품을 얻고자 할 때는 원료 난황단백질에 포함된 에탄올의 함량을 증가시킬수록 높은 수율의 제품을 얻을 수 있다. 본 실험에서는 원료 난황 단백질 중에서 40%의 에탄올 함량까지는 제품 수율이 계속 증가하는 경향을 보였다. 난황 단백질 가수분해물의 한외여과에서 농축단계에서는 막 모듈의 MWCO의 차이에도 불구하고 retentate에서 총 고형물의 회수율은 비슷함을 나타내었으며, 투석에서 회수율은 MWCO가 작을수록 높아지지는 않았다. 제품에서의 sialic acid의 함량은 사용한 모듈에서 약 2.0%를 나타내었다. 이것은 단백질 가수분해물에 비해 5배 정도 상승한 결과이다. 본 연구에서 사용된 막 모듈 가운데서 Amicon 모듈이 제품의 회수율과 함량면에서 가장 우수한 특성을 보였다. 결론적으로 난황 단백질의 protease에 의한 가수분해에서 한외여과에 의해 순도를 높일 때 MWCO, 막 모듈의 type 그리고 운전조건등을 잘 고려해 줄 때 최적의 조업조건을 얻을 수 있었다.

### 참 고 문 헌

1. A.O.A.C. 1975. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
2. Adler-Nissen, J. 1977. Enzymatic hydrolysis of food proteins. *Process Biochem.* **1**, 18-23.
3. D'Alvise, N., C. Lesueur-Lambert, B. Fertin, P. Dhulster and D. Guillochon. 2000. Removal of polyphenols and recovery of protein from alfalfa protein concentrate by ultrafiltration and adsorbent resin separations. *Separation Sci. Technol.* **15**, 2453-2472.
4. Deeslie, W. D. and M. Cheryan. 1981. Continuous enzymatic modification of proteins in an ultrafiltration reactor. *J. Food Sci.* **46**, 1035-1042.
5. Holmgren, J., L. Svennerholm, H. Elwing, P. Fredman and O. Strannegard. 1980. Sendai virus receptor: proposed recognition structure based on binding to platic-adsorbed gangliosides. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **77**, 1947-1949.
6. Hyun, C. K. and H. K. Shin. 2000. Utilization of bovine blood plasma proteins for the production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Process Biochem.* **36**, 65-71.
7. Juneja, L. R., M. Koketsu, K. Nishimoto, M. Kim, T. Yamamoto and T. Itoh. 1991. Large-scale preparation of sialic acid from chalaza and egg-yolk membrane. *Carbohydr. Res.* **214**, 179-183.
8. Kinsella, J. E. 1976. Functional properties of proteins in foods: a survey. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **7**, 219-280.
9. Kinsella, J. E. 1979. Functional properties of soy proteins. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **56**, 242-258.
10. Koketsu, M., K. Nakata, L. R. Juneja, M. Kim and T. Yamamoto. 1995. Learning performance of egg yolk sialyloligosaccharides. *Oyotoshitsu Kagaku* **9**, 15-18.
11. Koketsu, M., T. Nitoda, L. R. Juneja, M. Kim, N. Kashimura and T. Yamamoto. 1995. Sialylglycopeptides from egg yolk as an inhibitor of rotaviral infection. *J. Agric. Food. Chem.* **43**, 858-860.
12. Li, S. C., J. L. Chien, C. C. Wan, C. C. and Y. T. Li. 1978. Occurrence of glycosphingolipids in chicken egg yolk. *Biochem. J.* **173**, 697-701.
13. Mannheim, A. and M. Cheryan. 1981. Continuous hydrolysis of milk protein in a membrane reactor. *J. Food Sci.* **55**, 381-385.
14. Parkinson, T. L. 1966. The chemical composition of eggs. *J. Sci. Food Agri.* **17**, 101-106.
15. Sakanaka, S., Y. Tachibana, N. Ishihara and L. R. Juneja. 2004. Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. *Food Chem.* **86**, 99-103.
16. Seko, A., M. Koketsu, M. Nishizono, Y. Enoki, H. R. Ibrahim, L. R. Juneja, M. Kim and T. Yamamoto. 1997. Occurrence of a sialylglycopeptide and free sialylglycans in hen's egg yolk. *Biochimica et Biophysica Acta* **1335**, 23-32.
17. Warren, L. 1959. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J. Biol. Chem.* **234**, 1971-1975.