

가다랑어 자숙액에서 분리한 히스티딘 함유 저분자 펩타이드의 항산화 효과

정효숙
경남대학교 식품영양학과

Antioxidant Effect of Histidine Containing Low Molecular Weight Peptide
Isolated from *Skipjack* Boiled Extract

Hyo-Sook Cheong
Department of Food and Nutritional Science, Kyungnam University

Abstract

This study was carried out to investigate the optimum conditions for the isolation of low molecular weight peptides containing histidine, and to evaluate the antioxidant effects of skipjack boiled extracts(SBE). The results are summarized as follows : L-histidine contents of the ordinary muscle and dark muscle extracts were 83.1 ± 1.75 $\mu\text{M/g}$ and 11.0 ± 2.39 $\mu\text{M/g}$, respectively. The L-histidine level of the dark muscle was much lower than that of ordinary muscle in the SBE. The extracts were treated with alcalase and neutrase under different pH levels, temperatures, and times. The optimum hydrolysis conditions of SBE were pH 7.0 and a 60°C temperature for 2 hr in the batch reactor, which hydrolyzed 63% of the SBE. HPLC analysis showed a removing effect of the ultrafiltration permeate (UFP) to high molecular weight impurities in SBE. SBE and pure carnosine participated as inhibiting agents to, which was confirmed through the autoxidation processing of linoleic acid. UFP treatment improved the inhibiting ability of SBE to the autoxidation of linoleic acid. The reducing power of the UFP-treated ordinary muscle extracts were 10-fold higher than the dark muscle extracts, and 0.7-fold higher than 20 mM pure carnosine. The UFP-treated ordinary muscle extracts had greater reducing power activity than pure carnosine. The scavenging activities on DPPH radical of the different treated-SBE and pure carnosine were also investigated. Scavenging activities of the ordinary and dark muscle extracts and the pure carnosine were 90%, 70%, and 45%, respectively. In summary, *Skipjack* boiled extracts (SBE) demonstrated that low molecular weight peptides containing histidine are capable of inhibiting lipid oxidation. They also possessed effective abilities as free radical scavengers and reducing agents, and these activities may increase with increasing concentrations.

Keywords : *skipjack*, carnosine, antioxidant, ultrafiltration, peptide

I. 서 론

수산가공공장에서 발생하는 가공부산물 중에서 자숙

액은 주로 참치, 고등어, 굴, 오징어 및 멸치 등과 같은 통조림 및 전제품 가공공정에서 발생되며, 이를 대부분은 폐기물로 처리되고 일부는 저가의 조미료 재료나 식품중간소재로 이용되고 있는 실정이다. 특히 다량어 자숙액의 경우 아미노산이나 단백질 등과 같은 질소 성분 외에도 기능성 지질성분도 다량 함유하고 있어 기능성 식품 소재로써의 활용 가능성이 대단히 높은 것으로 알려져 있다.

천연 저분자 펩타이드 중 carnosine이나 anserine과

Corresponding author: Hyo-Sook Cheong, Department of Food and Nutritional Science, Kyungnam University, 449 Weolyoung, Masan, Kyungnam, 631-701
Tel: 055-249-2346
Fax: 055-249-2346
E-mail: chhs@kyungnam.ac.kr

같은 히스티딘계 저분자 펩타이드는 항산화능, 글리케이터 저해능, 가교결합 저해능, 자유라디칼과 금속이온 소거능이 매우 높은 것으로 보고되고 있으며, 이러한 기능특성으로 인해 세포의 노화를 억제시킬 수 있는 물질로 여겨지고 있으며, 최근 히스티딘계 저분자 펩타이드는 다른 항산화제와 달리 활성산소제거 뿐만 아니라 성인병 및 노화억제에 깊이 관련하고 있는 것으로 보고되고 있다. 히스티딘계 저분자 펩타이드는 수산물에서 회유성 어류에 많이 함유되어 있으며, 특히 참치에 다량 함유되어 있는 것으로 조사되어 있다.

자숙액의 항산화성에 관한 연구는 Oh KS 등(1987)에 의해 수산가공 부산물로부터 새로운 생리 기능성 소재 탐색 차원에서 시도된 바 있으나 자숙액의 항산화성이 어떠한 기작에 의해서 이루어지는가에 대해서는 연구된 바 없다. 일본의 경우 어류의 히스티딘 유래 물질의 분포에 대하여 연구된 사례가 있으나 저분자 펩타이드의 항산화성과 노화억제능에 관한 연구는 없는 실정이다.

기능성 저분자 펩타이드에 대한 연구에 있어서 Gopalakrishnan JE 등(1999)에 의해 돼지끌격근 추출물에 함유된 기능성 저분자 펩타이드의 검색에 대한 연구는 이루어 진 바 있으나, 수산물 중 어류를 이용한 기능성 펩타이드 추출 또는 관련 제품을 개발한 사례는 아직 보고되지 않고 있다. Hipkiss AR 등(2001)에 의해 항산화성 저분자 펩타이드의 노화억제능에 대해 보고되어 있으나 이러한 물질의 추출 및 정제에 대해서는 부족한 상태이며, 주로 축육을 대상으로 Yeargans GS 와 Seidler NW(2003)에 의해서 기능성 저분자 펩타이드의 추출에 관한 연구가 진행되어 있을 뿐 수산물을 이용한 추출은 아직 세계적으로도 미미한 실정이다.

현재 우리나라에서 이루어지고 있는 자숙액의 이용 형태는 천연 조미료 개발에 제한적으로 이용되어지고 있는 것이 대부분이고 자숙액 속에 함유되어 있는 천연 저분자 펩타이드의 항산화 효과와 단백질 가교결합 형성 및 글리케이션 형성을 억제하는 기능을 이용한 형태의 제품 개발은 없는 상태이다. 따라서 본 연구에서는 가다랑어 자숙액으로부터 히스티딘 함유 저분자 펩타이드를 분리하고, 고부가가치의 기능성 식품소재로서 이용가능성을 타진할 목적으로 항산화능을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 및 시약

본 실험에 사용한 참치육은 (주)서영티앤비에서 가다랑어(*Katsuwonus pelamis*)를 제공받아 저분자 펩타이드의 분리정제용 시료로 사용하였다. 각 시료는 혈합육과 보통육으로 나누어서 20°Brix로 농축한 후 1 kg 단위로 진공 포장하여 -20°C의 냉동고에 저장하면서 실험에 사용하였으며 가수분해 시 사용한 효소인 Alcalase와 Neutrase는 Novo Co.(Denmark)으로부터 구입하여 사용하였고 기능성 저분자 펩타이드의 HPLC 용 표준품으로 사용된 Carnosine과 linoleic acid, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical과 ascorbic acid는 Sigma Co.(St. Louis, USA)에서 구입하였고 그 외의 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

2. 실험방법

1) 일반성분의 측정

AOAC(1995)의 방법에 따라 수분은 상압가열건조법으로, 조단백질은 Semi-micro Kjeldahl법으로, 조회분은 건식회화법으로, 조지방은 Soxhlet방법을 이용한 용매 추출법으로 측정하였다.

2) 자숙액의 단백질 가수분해

가다랑어 자숙액에 함유된 단백질을 추출하기 위해 20°Brix로 농축된 가다랑어 자숙액 보통육과 혈합육 300 g을 homogenizer(AM-11, Nihonseiki Kaisha, Japan)를 이용하여 100 rpm에서 60 초간 균질화 한 후 초고속 원심분리기를 이용하여 10°C에서 7,000×g의 조건으로 15 분간 원심분리하고 상등액을 회수한 후 1 N HCl 또는 1 N NaOH를 이용하여 pH를 실험에 사용한 alcalase와 neutrase효소의 최적 활성 조건의 pH로 조절 후 자숙액중량의 0.5%(w/v)를 가한 후 2시간 동안 가수분해 시켰다. 가수분해 후에는 85°C에서 10분간 효소를 불활성화시킨 후 다시 10°C에서 7,000×g의 조건으로 15 분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 히스티딘 함유 저분자 펩타이드 추출시료로 사용하였다.

3) 한외여과처리를 통한 분자량 조절

저분자 펩타이드의 분리를 위해서 Amicon사의 stirred cell ultrafiltration 장치를 이용하였으며 저분자

펩타이드의 분리를 위해서 membrane filter(cellulose, amicon, USA)를 이용하여 10 kDa~500 Da까지 분리하였으며 한의여과 시 사용되는 질소 가스는 50 psi의 압력조건으로 실험에 사용하였다. 500 Da까지 분리된 시료는 -40°C 이하의 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

4) 유리아미노산 함량 측정

유리아미노산은 참치육 및 가공부산물 5 mL에 5' sulfosalicylic acid 250 mg을 넣고 잘 혼합하여 균질화시켜 제단백시킨 후 원심분리(3,000×g, 15 min)하여 얻은 상층액을 0.20 μm membrane filter로 여과한 다음 litium citrate buffer(pH 2.2)로 일정량 희석하여 아미노산 자동 분석기(Hitachi model 835-50, Japan)로 분석하였다.

5) HPLC법에 의한 저분자 펩타이드 관련 물질 분석

Knecht SS 등(2000)의 방법에 따라 추출물 25 μL에 탈 이온수 25 μL를 가한 후 50 μL NaHCO₃ buffer(100 mM, pH 8.3)와 200 μL의 Dabsyl-Cl 용액(4 mM)을 첨가하고 이용액을 70~72°C에서 15분간 반응시킨 다음 700 μL의 Na₂HPO₄ buffer(50 mM; pH 7.0)를 첨가한 후 0.22 μm membrane filter로 여과시켜 HPLC분석용 시료로 사용하였다. HPLC는 Hewlett-Packard사의 1100 series를 사용하였으며 column은 C-18(5μm; 4.6 mm×20 cm)을 사용하였다. 이동상 용액은 sodium acetate buffer(25 mM; pH 6.5)와 acetonitrile을 사용하였고 유속은 1 mL/min, column 온도는 40°C 검출파장은 436 nm에서 분석하였다.

6) Linoleic acid계 자동산화 억제능 측정

항산화능 측정은 ferric thiocyanate 방법(Huang SC와 Kuo JC. 2000)에 따라 측정하였다. 대조구의 시료로는 탈 이온수를 사용하였으며 실험방법은 다음과 같다. 0.5 mL의 시료에 1.0 mL의 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)와 1.0 mL의 50 mM linoleic acid(in 95% ethanol)를 5 mL의 tube에 넣어 혼합한 후 산화를 가속시키기 위해 60°C의 암소에서 저장시키면서 항산화능을 측정하였다.

산화시킨 반응물 50 μL에 75% 에탄올 2.35 mL와 30% ammonium thiocyanate 50 μL 그리고 20 mM ferrous chloride 용액 50 μL를 첨가한 후 3분간 교반하

고 과산화물가를 자외선 분광계를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였으며 모든 시료는 3회 반복하여 실험하였다.

7) DPPH 라디칼 소거능

저분자 펩타이드의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼의 소거능 시험은 Shimada K 등(1992)의 방법에 따라 측정하였다. 공시험구의 시료로는 탈 이온수를 사용하였으며 1.5 mL의 각각의 시료에 0.1 mM DPPH용액 1.5 mL를 첨가한 후 혼합물을 교반 후 실온에서 30분간 정지시킨 후 자외선 분광계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였으며 소거능은 다음과 같은 방법으로 계산하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능} =$$

$$\frac{\text{Blank absorbance} - \text{Sample absorbance}}{\text{Blank absorbance}} \times 100\%$$

8) 환원력 측정

히스티딘계 저분자 펩타이드의 환원력은 Oyaizu M (1988)의 방법에 따라서 측정하였다. 대조구로는 탈이온수를 사용하였으며 실험방법은 다음과 같다. 시료 2 mL에 0.2 M phosphate buffer(pH 6.6) 2 mL와 2 mL의 1% potassium ferricyanide를 첨가한 혼합물을 50°C에서 20분간 배양시킨 후 2 mL의 10% tricholoroacetic acid를 각각의 반응물에 첨가한 배양된 반응물 2 mL에 중류수 2 mL와 0.4 mL의 0.1% ferric chloride를 시험관에 첨가한 10분후에 자외선분광계를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하여 환원력을 평가하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 일반 성분 분석 및 유리아미노산 정량

실험에 사용된 가다랑어육 일반성분 조성은 Table 1과 같이 건조 중량 기준으로 조단백질이 82.30±0.42%로 가장 높은 함량을 나타내었으며 지방과 회분의 함량은 각각 0.39±0.70%, 10.00±0.21%로 나타났다.

최근 기능성 저분자 펩타이드 중에서도 L-Carnosine과 L-Anserine의 경우 Decker EA 와 Faraji H(1990)에 의하면 carnosine은 매우 훌륭한 천연 항산화 물질이라

고 보고하였으며 이러한 히스티딘 함유 저분자 펩타이드를 이용하여 Huang SC와 Kuo JC(2000)에 의해서 닭에서 추출한 히스티딘 함유 저분자 펩타이드의 항산화 능에 대해서 연구가 이루어져 있으며 가금류를 이용하여 천연 항산화물질의 추출에 관한 연구는 다소 진행되었으나 수산물을 이용한 추출에 대해서는 그 연구가 미미한 실정이기 때문에 가다랑어육의 부위별에 따른 히스티딘 함유 펩타이드의 함량을 조사한 결과(Table 2에) 습물 기준으로 L-Anserine이 보통육의 경우 $17.3 \pm 0.80 \mu\text{mol/g}$ 로 가장 높은 함량으로 측정되었으며 L-carnosine의 경우 $5.54 \pm 0.22 \mu\text{mol/g}$ 함유되어져 있는 것으로 조사되었으며 특히 보통육이 혈합육에 비해서 높은 함량을 나타내었다. 이에 본 실험에서는 보통육과 혈합육으로 나누어서 20°Brix의 자숙액을 제조하여 각 실험에 사용하였다.

2. 분리정제 및 히스티딘함유 저분자 펩타이드 분석

가다랑어 자숙액으로부터 기능성 저분자 펩타이드의 추출을 위해 가다랑어의 보통육과 혈합육을 히스티딘 함유 저분자 펩타이드 추출 시료로 사용하였으며, 유효 성분의 효율적인 회수를 위해 효소반응으로 얻은 가수분해물을 한외여과 장치를 이용하여 분자량 한계 범위(molecular weight cut-off: MWCO)가 각각 10 kDa ~500 Da의 범위로 한외여과를 시행하여 최종 500 Da의 저분자 펩타이드를 분리하였다. 단백질 가수분해물에 대한 한외여과장치의 이용 연구는 단백질의 연속적 가수분해와 한외여과막 공정에 의한 유청 단백질의 생산에 관한 연구(Deeslie and Cheyan 1981, Cheryan과 Deeslie 1983, 1984), 막 반응기를 이용하여 참치 자숙액의 연속적 가수분해에 관한 연구(Kim SK 등 1999)

Table 1. Proximate compositions of skipjack tuna

Composition	Contents (%) (dry basis)
Crude protein	82.30 ± 0.42
Crude ash	0.39 ± 0.7
Crude fat	10.00 ± 0.21

* Data are expressed as means \pm standard deviation(n=3)

Table 2. Contents of L-Histidine, carnosine and anserine in skipjack tuna muscle
($\mu\text{mol/g}$)

Muscle	L-Histidine	Carnosine	Anserine
Ordinary	83.1 ± 1.75	5.54 ± 0.229	17.3 ± 0.804
Dark	11.0 ± 2.39	0.599 ± 0.0374	2.23 ± 0.545

가 보고되어 있다. 한외여과장치를 이용한 분리, 정제 결과를 HPLC로 분석하였다.

히스티딘 함유 저분자 펩타이드 중 천연 항산화물질인 carnosine을 HPLC로 분석한 결과(Fig. 1), 가다랑어 자숙원액에서는 carnosine(RT=27 min)이 분리되었고 10~20분대에서는 상대적으로 고분자량을 가진 펩타이드로 추정되는 peak들도 상당량 함유되어져 있음을 확인할 수 있었다. 이에 본 실험에서는 효율적인 히스티딘 함유 저분자 펩타이드의 회수를 위해 효소로 가수분해처리 후 한외여과막분리기법으로 펩타이드를 분리 및 정제를 실시하였고 여과액을 HPLC로 분석한 결과(Fig. 1c) 10~20분대에 나타나던 다수의 peak가 제거되거나 상쇄되는 결과를 보였으며 이는 한외여과막분리법이 기능성 저분자 펩타이드의 회수에 매우 효과적임을 의미하는 것으로 사료된다. 이렇게 한외여과 처리를 거쳐서 분자량을 500 Da까지 조절시킨 시료를 이용하여 각종 항산화 실험에 사용하였다.

3. 히스티딘 함유 저분자 펩타이드의 항산화능 평가

1) Linoleic acid계 자동 산화 억제능

한외여과막분리기법으로 분자량을 조절한 보통육 UFP와 혈합육 UFP 추출물을 침가한 linoleic acid의 과

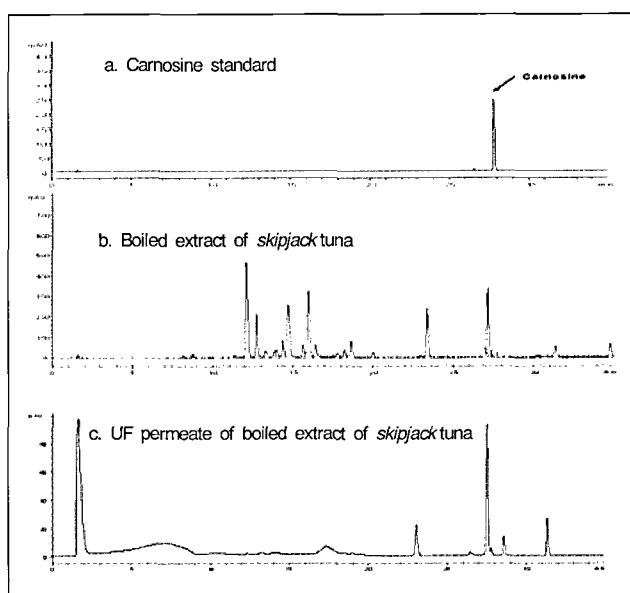


Fig. 1. HPLC Chromatogram of carnosine standard(a), boiled extracts of skip jack tuna(b) and UF permeate of boiled extracts of skip jack tuna(c)

산화물가의 변화를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 저장 7일 동안 linoleic acid에 대한 대조구의 과산화 물가는 초기에 비해 약 20배 이상 증가한 반면에 20 mM carnosine 첨가구와 보통육 UFP와 혈합육 UFP 처리구는 대조구에 비해서 산화억제 효과가 높은 것으로 나타났으며 보통육에서 추출한 히스티딘계 저분자 펩타이드의 경우 저장 6일째까지 항산화 지속성이 상당히 우수한 것으로 나타났다. 이에 반해 혈합육 추출물은 항산화능을 나타내고는 있지만 보통육에 비해서는 매우 낮은 항산화능을 나타내었다. 이러한 결과를 살펴볼 때 한외여과 투파액의 히스티딘 함유 저분자 펩타이드가 지질의 과산화물 생성 억제능에도 천연항산화제로써 우수한 능력을 가진 것으로 사료되며 20 mM carnosine 첨가구에 비해 보통육 한외처리구의 높은 항산화능은 히스티딘 함유 펩타이드인 anserine에 의한 상승효과일 것이라고 사료되어진다.

2) 환원력과 DPPH 라디칼 소거능

가다랑어 자숙액의 보통육UFP와 혈합육UFP을 이용하여 환원력을 비교한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 결과를 살펴보면 20 mM carnosine을 첨가한 구에 비해 한외여과 처리한 가다랑어 보통육UFP의 환원력이 높은 결과를 나타내었는데 이는 한외여과 처리하여 얻은 추출물의 경우 순수한 carnosine에 비해서 동일한 환원능력을 가진 anserine이 함유되어져 있기 때문에 이러한 기능성 저분자 펩타이드의 상승효과에 의한 것으로 사료되어진다.

천연항산화제로써의 효능을 살펴보기 위해 DPPH

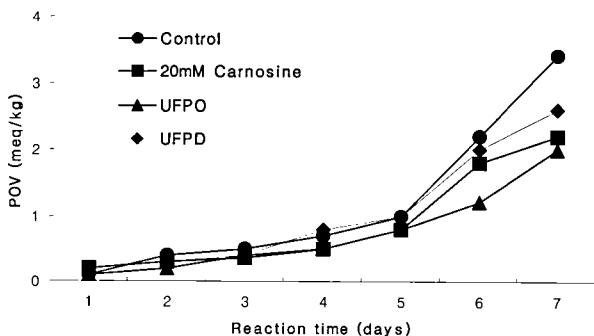


Fig. 2. Comparison of antioxidative activity by the addition of carnosine, UFP from ordinary muscle(UFPO) and UFP from dark muscle(UFPD) in linoleic acid auto-oxidation stored at 60°C for 7 days

라디칼의 소거능을 실험한 결과(Fig. 4), 20 mM carnosine 첨가구의 경우 약 70%정도의 라디칼 소거능을 보인 반면 보통육 UFP추출물(UFPO)은 거의 90%의 라디칼 소거능을, 혈합육UFP 추출물(UFPD)은 약 45% 정도의 소거능을 나타내었다.

IV. 요약 및 결론

히스티딘 함유 저분자 펩타이드의 추출 가능성을 살펴보기 위해 먼저 가다랑어 육의 일반성분의 조성을 살펴본 결과, 건조 중량 기준으로 조단백질 함량이 $82.30 \pm 0.42\%$ 로 대상 펩타이드 추출용 시료로 적당한 것으로 나타났다. 가다랑어 자숙액의 히스티딘관련 화합물 분석 결과, L-anserine 함량이 높게 측정되었으나

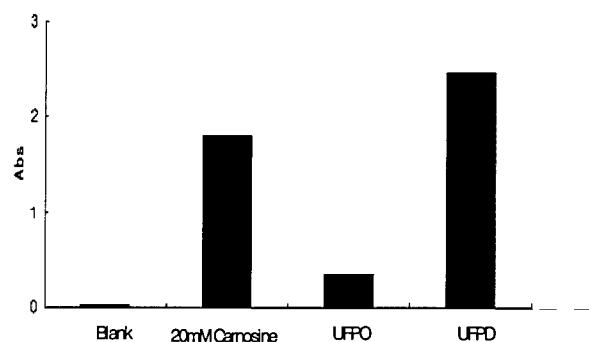


Fig. 3. Comparison of reducing power by the addition of carnosine, UFP from ordinary muscle(UFPO) and UFP from dark muscle(UFPD)

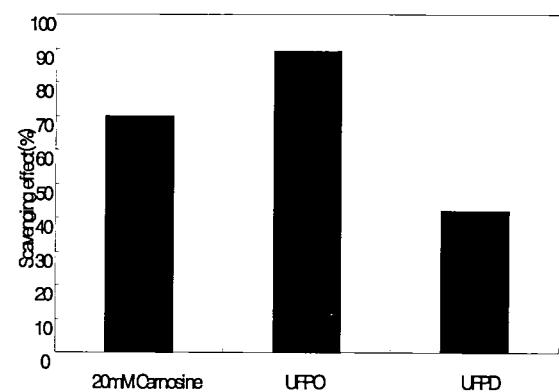


Fig. 4. Comparison of scavenging effect(%) by the addition of carnosine, UFP from ordinary muscle(UFPO) and UFP from dark muscle(UFPD)

L-carnosine은 다소 낮은 함량이 함유된 것으로 나타났다. 가다랑어육의 부위별 히스티딘 함유 펩타이드의 함량을 분석한 결과, 보통육이 혈합육에 비해서 높은 함량을 함유한 것으로 나타났고 가다랑어 추출액과 이의 한외여과막을 이용한 투과액을 HPLC로 펩타이드의 패턴을 비교한 결과, carnosine은 공통적으로 분석되었으나 가다랑어 추출액에서 분석된 고분자량의 펩타이드가 한외여과막으로 제거된 결과를 보여주었으며 이는 기능성 저분자 펩타이드의 회수에 있어서 한외여과처리가 매우 효율적인 방법으로 사료되어 진다. 20 mM carnosine 첨가구와 보통육 UFP(UFPO)와 혈합육 UFP(UFPD)는 대조구에 비해서 산화억제 효과가 있는 것으로 나타났으며 보통육 UFP(UFPO)의 경우 저장 6 일째까지 항산화 지속성이 상당히 우수한 것으로 나타났다. 한외여과 처리한 가다랑어 자숙액의 보통육과 혈합육을 이용하여 환원력을 비교한 결과 20 mM carnosine을 첨가한 구에 비해 한외여과 처리한 보통육의 환원력이 높은 결과를 나타내었는데 이는 한외여과 처리하여 얻은 추출물의 경우 순수한 carnosine에 비해서 동일한 환원능력을 가진 anserine이 함유되어져 있기 때문에 이러한 기능성 저분자 펩타이드의 상승효과에 의한 것으로 사료되어진다. 히스티딘 함유 저분자 펩타이드를 이용하여 DPPH 라디칼 소거능을 살펴본 결과 20 mM carnosine을 첨가한 구의 경우 약 70%정도의 라디칼 소거능을 나타내었으며 이에 비해 보통육 UFP(UFPO)는 거의 90%의 라디칼 소거능을 나타내었으나 혈합육 UFP(UFPD)의 경우에는 약 45%정도의 소거능을 나타내었다.

이상의 결과를 살펴 볼 때 수산가공부산물인 자숙액에서 추출한 히스티딘 함유 저분자 펩타이드의 항산화능은 실험결과 상당히 우수한 것으로 사료되어지며 미 이용 폐자원을 이용한 고부가가치의 기능성 물질 추출의 원료로써의 가능성이 매우 높은 것으로 사료되어지며 자숙액 유래 히스티딘 함유 저분자 펩타이드의 경우 매우 강력한 수용성 성질을 가지고 있기 때문에 기능성 음료로써의 개발도 유용할 것으로 사료되어 진다.

감사의 글

본 연구는 2006학년도 경남대학교 학술진흥연구비 지원으로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- A.O.A.C. 1995. Official methods of analysis. 16th ed. Association Official Analytical Chemists. Washington D.C. 69-74
- Cheryan, M, Deeslie WD, 1983. Soy protein hydrolysis in membrane reactors. *J Am Oil Chem Soc* 60 : 1112-1115
- Cheryan M, Deeslie WD. 1984. Protein hydrolysis. U.S. Patent 4 : 443-540
- Decker EA, Faraji H. 1990. Inhibition of lipid oxidation by carnosine. *J Am Oil Chem Soc* 67(10) : 650-652
- Deeslie WD, Cheryan M. 1981. Continuous enzymatic modification of proteins in an ultrafiltration reactor. *J Food Sci* 46 : 1035-1042
- Gopalakrishnan JE, Decker A, Means WJ. 1999. Antioxidant activity of mechanically separated pork extracts. *Meat Science* 52 : 101-110
- Hipkiss AR, Brownson C, Carrier MJ. 2001. Carnosine, the anti-ageing, anti-oxidant dipeptide, may react with protein carbonyl groups. *Mechanisms Ageing Development* 122 : 1431-1445
- Huang SC, Kuo JC. 2000. Concentrations and Antioxidative Activity of Anserine and Carnosine in Poultry Meat Extracts Treated with Demineralization and Papain. *Proc. Natl. Sci. Counc. Roc(B)* 24(4) : 193-201
- Hui CW, Chyuan YS, Hua MC, Chiou TK. 2003. Antioxidants Activity of Carnosine, Anserine, Some Free Amino Acids and Their Combination. *J Food Drug Analysis* 11(2) : 148-153
- Kim SK, Byun HG, Jeon YJ. 1999. Continuous Hydrolysis of Tuna Boiled Extract using Proteinase from Tuna Pyloric Caeca in Membrane Reactor. *J Korean Fish Soc* 32(2) : 127-133
- Knecht SS, Takeuchi M, Watabe S, Ochi H. 2000. HPLC.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biological Chemistry* 193 : 265-275
- Oh KS, Lee EH, Kim MC, Lee KH. 1987. Antioxidative Activities of Skipjack Meat Extract. *Bull Korean Fish Soc* 20 : 441-446
- Oyaizu M. 1988. Antioxidative activities if browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35 : 771-775
- Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the antioxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agric Food Chem* 40 : 945-948
- Yeargans GS, Seidler NW. 2003. Carnosine promotes the heat denaturation of glycated protein. *Biochem Biophys Research Communica* 300 : 75-80

(2007년 2월 6일 접수, 2007년 4월 9일 채택)