J. of the Korean Oil Chemists' Soc.,
Vol. 26, No. 3. September, 2009. 248~262

식물성 당단백질의 제조 및 유효성 분석

이미진† · 정노희

충북대학교 공과대학 공업화학과, 씨엔에이바이오텍㈜

(2009년 6월 1일 접수 ; 2009년 8월 27일 채택)

Preparation and Availability Analysis of Vegetable Glycoprotein

Mi-Jin Lee† · Noh-Hee Jeong

Dept. Indus. Eng. Chem. Chungbuk Univ. Cheongju 361-763 Korea,
*CNABIOTECH CO., Ltd **

(Received June 1, 2009 ; Accepted August 27, 2009)

Abstract : This study is on the feasibility of use of glycoprotein in various areas such as cosmetics and food etc. by extracting, isolating and refining glycoprotein from carrots, red ginseng extract residue, sesame and pine needles using protease(pepsin) and by analyzing general characteristics and measuring various bioactivities. The results of analysis of nutritional composition showed protein contents of glycoprotein. In the analysis of constitutive amino acids, the ratio of contents of hydroxy proline and glycine, the characteristics of glycoproteins appeared similar and the contents of glutamic acid and aspartic acid appeared higher. As a result of measurement contents of total polyphenol and flavonoid, it showed that glycoprotein had more contents generally, and the effect of bioactivity of glycoprotein appeared higher although different kinds of glycoprotein showed a little DPPH radical and nitrite scavenging ability, total antioxidant capacity by ABTS, ACE inhibitory.

Keyword : glycoprotein, protease(pepsin), bioactivity of glycoprotein

1. 서 론

당단백질은 탄수화물이 단백질의 특정 아미노산에 복합체로 이루어진 생체 분자로 생물체 내에서 매우 중요한 역할을 하는 것 중 하나이다. 특히, 세포표면의 탄수화물은 세포와 세포 사이의 신호전달, 세포의 고정, 성장 및 박테리아 또는 바이러스에 의한 감염 등 생물학적으로 중요한 역할을 수행한다. 또한 생명현상에 중요한 기능을 담당하고 있는 당단백질은 단백

†주저자 (e-mail : shuduc@hanmail.net)

질과 올리고당으로 구성되어 있으며 이중에서 올리고당에 해당하는 부분은 단백질의 접힘(folding), 열적안정성의 증가, 단백질 분해효소에 대한 저항력 증가 및 단백질의 용해도 변화 등 여러 형태로 단백질에 영향을 준다. 이러한 당단백질은 동·식물의 세포조직에 널리 퍼져 있으며, 세포조직 내 당단백질은 특히 세포 외벽에 많이 존재하며 수 많은 세포표면의 반응에 관여한다. 세포 표면의 당단백질은 세포간의 인지(recognition), 종양 세포의 전이, 세포성장, 세포간 구별 그리고 숙주-병원체(host-pathogen)간의 상호작용 등 생리적으로 중요한 역할 등을 조절한다. 그리고 여러 종류의 암과 같은 질병은 비정상적인 글리코실화 반응을 유발한다 [1]. 이러한 당 단백질의 중요성이 있음에도 당단백질의 역할에 대하여 많은 연구가 되어 있지 않은 이유는 당단백질이 일반적으로 한가지 형태로 존재하지 않고 여러 개의 서로 다른 당 복합체(glycoform)로 존재하며, 펩타이드의 배열이 같을지라도 그 곳에 결합되어 있는 탄수화물의 형태가 다르다. 따라서 당단백질 내 탄수화물의 구조와 기능성을 연구하는데 많은 어려움이 있다. 식물성 원료를 이용한 콜라겐 대체 추출물의 연구는 국내외의 연구동향을 살펴보면 당근 유래 당단백질이 60년대 초기에 세포벽에서 발견된 것으로 일차세포벽의 중요한 구성요소로서 외부의 자극에 대한 방어역할을 담당하고 있는 물질이며, 아미노산 조성에서 추측해 볼 때 분자측쇄에 히드록시기를 가진 serine의 함량이 높기 때문에 보습력이 뛰어나 예로부터 기초화장품 및 모발제품 등에 배합·응용되고, 식물에서 추출한 소재로서 건강기능성 식품으로서의 이용도 기대되고 있다 [2].

당근은 미나리과에 속하는 일년생 초본이며 황적색의 다육질로서 수분이 89.3%이고 fructose, sucrose, glucose 등의 당질이 함유되어 있어 단맛을 낸다. 독특한 맛과 색을 지닌 당근은 체내에 흡수되어 vitamine A로 전환되는 β-carotene, vitamin B, C, 식이섬유 등은 물론 철분, 칼슘, 인 등 무기질을 함유한 알카리성 식품으로 알려져 있다. 당근의 영양상 특징은 β-carotene이 많고 생당근 100g당 β-carotene이 7,620㎍ 들어 있어 채소류 중 가장 많이 함유하고, 이는 여러 연구를 통해 암과 같은 만성질환의 위험감소와 상관관계를 갖는다 [3,4,5].

참깨는 참깨속(sesamum)의 일년생 초본식물로 지방 50% 단백질 20% 및 탄수화물 15% 정도 함유하고 있으며, 다른 유지류에 비해 산화안정성이 좋다. 참기름은 예로부터 우리나라에서 가장 애호하는 식용유로 특유한 향미가 있어 일반적으로 정제하지 않고 그대로 사용하고 있다. 또한 참기름은 oleic acid 40%, linoleic acid 35%, linolenic acid 2% 정도이며 내열성이 강하다. 참깨 종자의 색은 흰색, 황색, 흑색 등이 있으며 흰색은 흑색보다 유지함량이 많다 [6]. 최근 불포화도가 높은 지방산이 생체 내 생리활성을 조절한다고 보고되면서 참기름이 갖는 기능성이 주목되고 있으며 참깨에 함유된 sesamin, sesamoline, sesaminol 등과 같은 항산화물질인 리그난 성분이 체내에서 간 해독작용 촉진, 과산화지질생성억제, 저밀도 리포단백질 산화억제, 장내 콜레스테롤 흡수억제 및 당뇨 개선작용 등 다양한 생체 조절 기능성물질로 부각되고 있다[7,8].

홍삼은 오가과(araliaceae)에 속하는 다년생 초본인 인삼뿌리에서 잔뿌리를 제거하고 가열처리하여 건조한 것으로 함유성분은 약 32종에 이른다. 그 중 ginsenoside 4%가 가장 많고, alkynol과 β-elemene 등의 휘발성 물질과 organic acid, polysaccharide, polypeptide 등이 함유되어 있다[9]. 약리작용으로는 중추신경조절작용, 면역조절작용, 조혈작용 및 항산화작용 등이 있으며 인삼에 포함되어 있는 polysaccharide는 NK 세포활성을 증가시키고, ginsenoside는 생쥐의 혈청에 있는 Ig G, Ig A, Ig M 등의 생성과 임파세포의 전이에 관여되며, cyclophosphamide에 의한 백혈구 수 감소, macrophage 기능감소, 체액면역이나 세포성 면역저하를 정상으로 회복시킨다. 또한 인삼은

interferon의 생성을 증가시키며 IL 2등의 cytokine의 생성을 증가시킨다[10]. 또한 홍삼은 T림프구에 대한 세포매개성 면역반응과 자연적 살해세포의 활성도를 증가시켜 면역활성 및 항암효과를 증명하였고[11,12], 홍삼의 T세포 증강효과를 밝혔으며[13], 홍삼추출물이 calu-3(lung carcinoma), HEC-IB(endometrial adenocarcinoma), HEp-2(larynx carcinoma), Hs-578T(brest carcinoma)등 각종 인체 종양세포주에 대한 증식억제효과 등을 보고하여 홍삼추출물의 우수한 항암작용을 입증하였으며[14,15,16] 홍삼복합체가 보간 및 항산화작용이 있음을 보고하였다[17,18]. 이 밖에도 홍삼추출물은 항노화현상 및 여러 가지 퇴행성 질환이나 노인성 질환에 효능이 있으며 염증 및 면역반응에 유효한 영향을 줄 뿐만 아니라 피부 미용에 대한 효능 및 구미각국에서도 인삼에 대한 연구가 활발하며, 의료용 각성제나 최음제로서 효능이 있고, 홍삼 제조 시 증숙과정 중에 당과 아미노산의 결합 반응에 의해 생성된 argining-fructose가 혈관을 확장시키는 생리활성이 있으며, 홍삼의 다당체는 다종다양하여 여러 가지 생리 활성이 있는 것으로 보고 되어있다[19].

솔잎은 α-oinene, β-pinen, camphene 등의 정유성분과 querecetin, kaempferol 등의 flavonoide류, 수지, 당류, carotene 및 비타민 C 등의 성분이 있어 간장, 위장, 신경계, 순환계 및 피부 등의 각종 질환 치료에 효과가 있다고 알려졌다[20]. 특히, 솔잎에는 양질의 단백질, 비타민, 철분 등이 함유되어 있어 동맥경화, 고혈압 등의 성인병에도 약효가 있는 것으로 알려져 있고, 기능성 연구로는 지방대사에 미치는 영향, 솔잎 추출물의 항변이성, 항산화효과, 효소활성 및 간 조직에 미치는 영향이 보고되었고, 항미생물 활성을 갖는 성분의 분리 및 동정 등이 알려져 있다.[21,22,23].

본 연구에서는 식물성 소재에서 화장품, 건강기능식품 및 일반식품을 포함한 다양한 분야에 응용이 가능한 수용성 식물성 당단백질을 제조하는 방법을 개발하여 그의 물리적 특성과 생리활성을 검토 코자 하였다. 이에 따른 식물성 원료로는 당근, 홍삼박, 참깨 및 솔잎 등을 택하였다.

2. 실험 방법

2.1. 실험재료 및 효소

본 실험에 사용된 식물성 재료는 청주산 당근(carrot)과 참깨(sesame), 충남 금산에서 생산된 5년근 생삼을 홍삼 농축액 가공 후 부산물인 홍삼박(red ginseng marc), 그리고 경남 합천산 솔잎(pine needle)을 택하여 사용하였다. 단백질 가수분해 효소로는 *pepsin*(EC 3.4.23.1 from porcin stomach mucosa, 3,280 units/mg)은 Wako Pure Chemical Industries, LTD.(1:100) 제품을 구입하여 사용하였다.

2.2. 식물성 당단백질의 제조

식물성 당단백질의 제조는 씨엔에이바이오텍㈜의 제조방법[24]을 응용하여 Fig.1의 제조공정을 거쳐 제조하였다. 즉, 원료인 당근, 참깨, 홍삼박 및 솔잎 등을 깨끗이 씻어 각각 60 ℃에서 완전히 건조한 후 커팅 밀로 분쇄하여 시료로 사용하였다. 각 시료를 10%-HCl용액과 10:25 비율로 침지시키고, 원료 대비 0.7wt%의 *pepsin*을 첨가하여 진탕항온조에서 45~50 ℃, 200 rpm에서 5시간 동안 교반하면서 산성 조건하에서 효소로 가수분해시켰다. 가수분해물을 200 mesh 체로 1차 분리하여 얻은 추출액을 cotton filter(10 ㎛)로 감압 여과하고 불순물을 제거한 후 여액을 85 ℃에서 30분 동안 가열하여 남아 있는 효소를 불활성화시켜 식물성 당단백질을 제조하였다. 제조된 식물성 당단백질 액량의 0.7 wt%의 활성탄을 첨가하여 진탕항온조에서 50 ℃, 200 rpm조건하에 30분 동안 교반하면서 탈색·탈취시켰다. 1차 정제된 추출액을 이온 교환 수지를 이용하여 추출액에 포함되어 있는 유리 아미노산 및 그의 염들을 제거

한 후 1㎛의 거름막을 사용하여 난용성 불순물을 제거하고 감압 농축하여 순수한 식물성 당단백질을 얻었다.

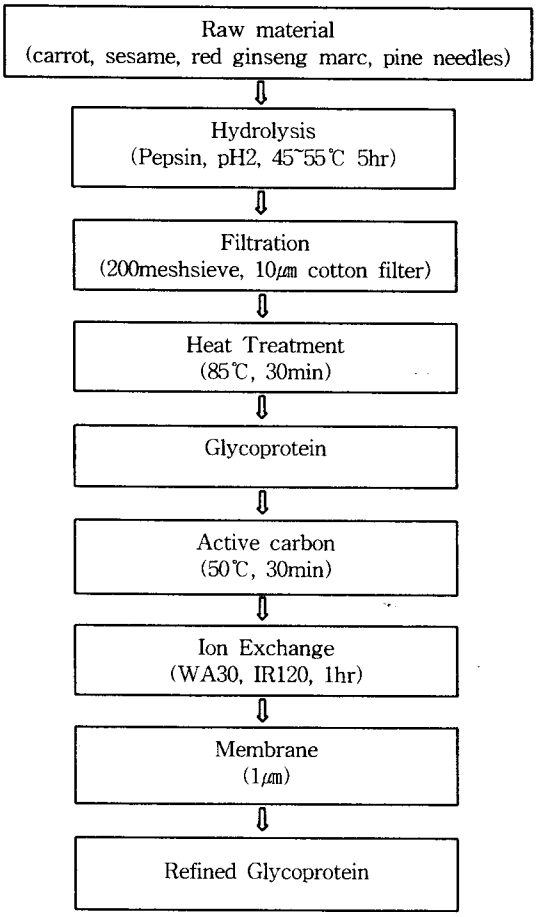


Fig. 1. Production process of glycoprotein

2.3 식물성 당단백질의 특성 분석

2.3.1. 물리적 특성 분석

원료를 추출 정제하여 얻은 식물성 당단백질에 대한 성상, 맛 및 냄새 등에 대한 관능평가 및 pH, 비중 등 물리적 성질을 측정하였다.

2.3.2. 영양성분 및 열량분석

식품공전 시험법[25]따라 조단백 분석은 세미마이크로킬달법으로, 조지방 함량은 에테르추출법으로 그리고 탄수화물은 벨트란법으로 분석하였다. 그리고 열량분석은 에크워터계수를 사용하여 계산하였으며 영양성분을 분석한 결과에 따라 조단백질, 조지방 및 탄수화물의 함량 2.44, 8.37 및 3.57의 각각에 대한 에너지 환산계수를 곱하여 각 영양성분 함량에 따른 에너지를 산출하였다.

2.3.3. 아미노산 조성분석

식물성 당단백질 추출물에 대한 아미노산 조성분석은 PITC 라벨링 한 후 Automated Amono Acid Analyzer(Waters Pico Tag HPLC system, Milford, MA, USA)에 의해 Waters 510 HPLC를 이용해서 시험하였다. 추출 및 전처리 방법은 시료 중 1000㎕을 취하여 PICO tag 방법을 이용하여 가수분해 및 PITC 라벨링을 한 후 시료 400㎕ 중에서 20㎕을 취하여 HPLC에 로딩하여 크로마토그램을 얻었다. 분석 조건은 Table 1.에 표시하였다.

2.3.4. 분자량 분석

추출 정제하여 얻은 carrot glycoprotein(CG), red gingseng marc glycoprotein(RG), sesame glycoprotein (SG) 및 Pine needles glycoprotein (PG)등 식물성 당단백질의 분자량 측정은 MALDI-TOF Mass Spectrometer(Voyagen-DETMSTR spectrometer, Persepive Bio systems, USA)을 사용하여 분석하였다.

2.4. 생리활성 측정

2.4.1. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu Reagent가 식물성 당단백질 추출물의 폴리페놀성화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것으로 분석하였다[22].

각 시료 100㎕에 2% Na_2C0_3 용액 2ml을 가한 후, 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였고, 표준물질로 tannic acid를 사용하여 검

Table 1. Operating Condition for Amino Acid Analysis

Items	Conditions
Model	Waters 510 HPLC pump Waters Gradient Controller Waters 717 Automatic sampler Waters 996 photodiode array detector(PDA)
Column	Waters Pico-tag column(3.9×300㎜, 4㎛)
Detector	Waters 996 photodiode array detector(PDA), 254㎚
Data analysis	millenium 32 chromatography manager
Reaction amount	100㎕ or ㎎
Injection volume	50㎕
PITC-labeling volume	400㎕
Injection amount	12.5㎕ or ㎎

량선을 작성한 후 총 폴리페놀 함량은 시료 100g 중의 mg (tannic acid)으로 나타내었다.

2.4.2. 총 폴라보노이드 함량 측정

총 폴라보노이드 함량 측정은 식물성 당단백질 추출물 250㎕에 증류수 1ml와 5% $NaNO_2$ 75㎕을 가한 다음 5분 후 10% $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 150㎕을 가하여 6분 동안 정치하고, 1N-NaOH 500㎕을 가하였다. 11분 경과 후 반응액의 흡광도 값을 510nm에서 측정하였다[26]. 이때 표준물질로(+)-catechin hydrate를 사용하여 검량선을 작성하였다.

2.4.3. DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH(αα'-diphenyl-picrylhydrazyl)에 의한 전자공여능 측정은 $1*10^{-4}$M-DPPH(sigma chemical Co., USA) 에탄올 용액 0.8ml에 시료 0.2ml을 첨가한 후 520nm에서 정확히 1시간 후에 흡광도 감소치를 측정하였다[27]. 흡광도를 측정할 때 셀에 분주되는 각 시료에 의한 흡광도의 차이는 에탄올만의 흡광도를 측정하여 보정해 주었고, 이 때 전자공여능은 시료 첨가와 비첨가의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

Electron donating ability (%)=

$$[(A-B)/B]\times 100 \quad (1)$$

여기서 A ; 시료 첨가 시 흡광도

B ; 동량의 에탄올 첨가 시 흡광도

2.4.4. ABTS에 의한 총 항산화력 측정

총 항산화력은 ABTS • (+)-cation decolorization assay 방법에 의하여 측정되었다. ABTS(2,2'- Azino -bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-suftomic acid(Sigma Chemical Co., USA)) 7.4m mol과 potassium persulfate 2.6m mole을 혼합하여 하루 동안 방치하여 ABTS • (+)양이온을 형성시킨 후 이 용액을 735nm에서 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 mole 흡광계수(ε=3.6*104$mol^{-1}cm^{-1}$)를 메탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS • (+)용액 1ml에 식물성 당단백질 추출액 50㎕을 가하여 60분 후에 흡광도를 측정하였으며, 표준물질로서 L-ascorbic acid을 동량 첨가하고, 각각의 시료에 대한 총

산화력은 다음 식으로 산출하였다[28].

Total antioxidant activity =
$$(\triangle A/\triangle Aaa)Caa \times V \times (100/W) \quad (2)$$

여기서

△A ; 시료를 넣었을 때의 O•D의 변화량

△Aaa ; A 표준용액에 시료 대신 동량 메탄올이 첨가되었을 때 O•D의 변화량

Caa ; A 표준 용액의 농도(mg/ml)

V ; 시료의 정용부피(ml)

W ; 시료의 무게(g)

2.4.5. ACE 저해활성 측정

ACE(Angiotensin Converting Enzyme) 저해활성은 ACE(EC 3.4.15.1. unit/mg) 1unit을 0.1M-potassuim phosphate buffer (pH 7.0) 5ml에 용해시켜 이중 80㎕씩(0.2unit/㎕)을 시험관에 취하여 반응시켰다. 기질인 Hippuryl-ℓ-His-ℓ-Leu(HHL)는 21.475mg을 0.1M-potassium phosphate buffer(pH 8.3) 10ml에 용해시켜 5ml HHL 기질 용액을 만들고 이중 100㎕씩을 취하여 반응시켰다. 위의 두 반응액을 취한 후 앞에서 얻어진 가수분해물의 상층액을 100㎕ 가하고 37℃에서 30분 동안 반응시켰다. 반응이 끝나면 IN-HCl 0.25ml을 가하여 반응을 정지시키고 ethyl acetate 1.5ml을 가하고 vortex로 강하게 15초간 교반하였다. Ethyl acetate에 의해 hippuric acid가 추출된 상층액을 1ml 취하여 120℃의 thermoblock에서 완전 건조시킨 다음 증류수 1ml을 가하여 녹인 후 228nm에서 흡광도를 측정한 다음 아래 식에 의해 계산되었다. 대조 실험으로 시료 가수분해물 대신 멸균수를 넣어 반응 시켰으며 공 실험은 효소 대신 증류수를 넣었다[29].

Inhibition effect (%) = {1-(S-B)/C}100 (3)

여기서

S ; 시료 첨가 후 흡광도 값

B ; 효소대신 증류수 첨가 후 흡광도 값

C ; 시료대신 멸균수 첨가 후 흡광도 값

2.4.6. SOD 유사 활성 측정

SOD(superoxide dismutase) 유사활성 측정은 각 농도 별 시료액 0.2 ml에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 m mole-tris-HCl, 10 m mole EDTA)3ml 와 7.2 m mole pyrogallol 0.2ml을 25℃에서 10분간 정치하고, 1N-HCl 1ml로 반응을 정지시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식에 의해 SOD 유사활성을 구하였다[30].

SOD-like ability (%) = $(1-S_{Abs}/C_{Abs})100$ (4)

여기서

S_{Abs} ; 시료를 첨가하여 측정한 흡광도 값

C_{Abs} ; 시료 대신 동량의 증류수를 첨가하여 측정한 흡광도

2.4.7. 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 1 mmole $NaNO_2$ 용액 2 ml에 시료를 가하고 0.1 N-HCl (pH 1.2)과 0.2M-구연산 완충액(pH 3.0, 6.0)으로 각각 pH 1.2, 3.0, 6.0으로 보정한 다음 반응액의 부피를 10ml로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 반응시키고 각 반응액을 1 ml씩 취하여 초산용액과 Griess reagent를 가한 다음 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 무첨가 시는 Griess reagent 대신 증류수를 가하여 측정하였다. 다음 식으로 아질산염 소거능을 나타내었다[31].

Nitrite-scavenging ability (%) =
$$(1-S_{Abs}/C_{Abs})100 \quad (5)$$

여기서 S_{Abs} ; 시료 첨가 시 흡광도 값

C_{Abs} ; 시료 무 첨가 시 흡광도 값

2.4.8. 지질과산화 억제효과 측정

linoleic acid 모델 시스템을 이용한 지질과산화 억제효과는 0.13 % linoleic acid 5 ml, 증류수 2.4 ml, 50 mmole 인산완충액(pH 7.0) 5 ml 및 시료 100 ㎕을 captube 에 넣고 40℃ 인큐베이터에 5일간 보관 후 지질 과산화 정도를 thiocyanate 법에 의해서 측정하였다. 반응액 100㎕에 4.7 ml의 75 % 에탄올 및 100 ㎕의 30 % NH_4SCN용액을 넣고 20 mmole의 $FeCl_2$용액으로 발색 시켰으며, 이 지질과산화 억제반응에서 나타내는 발색 정도는 UV/VIS spectrophotometer(DUNG IL SHIMADZU, UV 1650PC)를 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다[32].

3. 실험 결과 및 고찰

3.1. 식물성 당단백질 추출의 최적 조건

식물성 당단백질을 추출하기 위하여 당근을 사용하여 단백질분해 효소의 일종인 *pepsin*의 가수분해율을 효소의 농도 0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.17% 및 1.0%와 추출시간 별로 측정한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에서와 같이 *pepsin*의 사용 농도는 원료 농도 0.7wt%에서 최적의 가수분해 추출 수율을 나타냈으며 5시간 동안 추출 효율이 효소의 단가에 가장 적합하였다. 따라서 본 실험에서는 0.7%의 *pepsin*농도와 45℃의 수욕상에서 5시간 동안 추출하는 방법을 최적조건으로 하여 당근, 홍삼박, 참깨 및 솔잎 등 각각의 식물성 당단백질을 제조하였다.

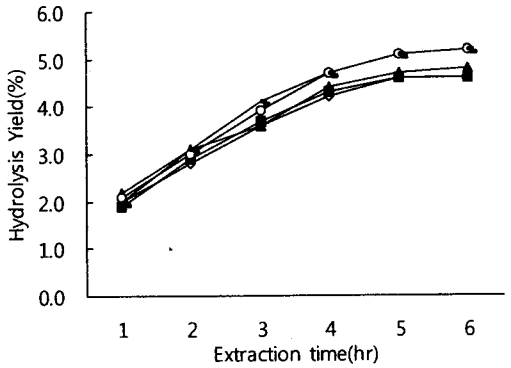
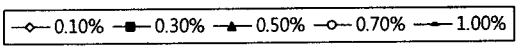


Fig. 2. Extraction condition for enzyme treatment of glycopratein at 45℃. (glycopratein and water ratio 10:25



3.2. 물리적 특성

당근, 홍삼박, 참깨 및 솔잎 등에서 본 논문 2.2의 방법에 따라 효소가수분해에 의하여 추출한 식물성 당단백질에 대한 각각의 물리적 특성들은 Table 2.에 일괄 표시하였다. Table 2.에서 보는 바와 같이 이들은 원재료 식물소재

Table 2. General Properties of Glycoproteins

Item	CG	RG	SG	PG
Appearances	colorlessness	dark brown	light brown	dark brown
Odor	characteristics	characteristics	characteristics	characteristics
pH	5.7	5.8	5.5	5.6
Specific gravity	1.017	1.011	1.015	1.017
Ginsenoside-RD1	-	22.52ppm	-	-
Carbohydrate	72.7%	64.7%	12.8%	71.4%

CG : Glycoprotein from Carrot RG : Glycoprotein from Red Ginseng Marc
SG : Glycoprotein from Sesame PG : Glycoprotein from Pin Needles

에 따라 각각 무색, 엷은 갈색 또는 어두운 갈색을 띠며 원재료의 특유의 독특한 냄새가 약간 있었다. pH범위는 약산성이었고, 홍삼박인 경우 ginsenoside-RD1을 22.52ppm이 함유하고 있었으며, 탄수화물 함량은 참깨에서 추출한 당단백질을 제외하고는 65 ~ 70%에 달하는 것으로 나타났다. 식물성 당단백질의 물리적 특성의 차이는 소재 별로 그다지 크지 아니하였으나, 각 식물 소재의 종류에 따라 함유된 성분이 다르므로 고유의 색상과 냄새를 지니고 있었다.

3.3. 영양성분 및 열량

위에서 효소 가수분해에 의하여 얻어진 식물성 당단백질을 본 논문 2.3.2의 방법으로 탄수화물, 조단백, 조지방, 회분 및 수분 등의 영양성분과 열량분석은 Table 3.에 나타내었다. 수분을 제거하고 wet basis로 살펴볼 때 식물성 당단백질은 대개 함량이 낮으나 동물성 콜라겐 펩타이드에서는 찾아볼 수 없는 탄수화물이 존재한다. 또한 참깨, 솔잎 및 홍삼박 등에서 추출된 식물성 당단백질은 현재 화장품 제조에서 보습제 원료로 많이 사용되고 있는 당근 당 단백질 영양성분 조성[33]과 비교해 볼 때 유사한 영양성분 조성을 이루고 있는 것으로 분석되었다. 따라서 식물성 당단백질을 화장품 소재로서 사용이 가능할 것으로 기대된다. 열량에 있어서는 모두 낮은 열량으로 나타났으며, 그 중 참깨에서 추출한 당단백질의 열량이 낮게 나타났다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 건강기능 식품이나 일반식품에 사용시 저열량원으로서 가치성이 있을 것으로 본다.

3.4. 아미노산 조성

본 논문 2.3.3의 방법으로 식물성 당단백질에 대한 아미노산 조성 분석결과는 Table4에 일괄 표시하였다. 식물성 당단백질은 hydroxyproline과 glycine 함량이 전반적으로 낮았지만 콜라겐 생합성 시 이용되는 hydroxyproline과 glycine 비율이 유사하다. 보통 피부 보습 역할을 하는 glycine의 함량은 낮았지만 소재에 따라 다소 차이는 있었으나 분자 측쇄에 히드록시기를 가지고 있는 serine의 함량이 높기 때문에 기초화장품 및 모발 제품 등에 배합·응용되고 있는 당근 당단백질과 비교하여 볼 때 홍삼 당단백질을 제외하고는 serine의 함량이 높아 보습 역할의 부족한 부분을 대신할 수 있다고 하였다[2].

당단백질을 식품에 적용 시 중요한 특성 중 하나로 열에 대한 안정성을 들 수 있다. 당단백질의 아미노산의 조성은 Gly-X-Y배열이 반복되어 있으며 Gly-X-Y가 Gly-Pro-Hyp일 때 hydroxyproline 잔기는 pyrroliding 고리의 hydroxyl group에 의해 당단백질 triple helix의 열안정성을 높여준다. 또한 hydroxyproline의 함량은 콜라겐으로 유도되는 젤라틴의 중요한 기능적 특성인 물성에 중요한 영향을 미치며, 함량이 높을수록 좋은 보수성을 가진다고 밝혔다[34,35]. 따라서 proline과 hydroxyproline 잔

Table 3. Composition of Glycoproteins(Wet basis, %)

Item	CG	RG	SG	PG
Protein	0.4	0.5	2.3	0.2
Carbohydrate	2.9	2.6	0.6	2.8
Fatty oil	-	0.2	0.1	-
Ash	0.7	0.7	1.0	1.0
Moisture	96.0	96.0	96.0	96.0
Calorie	11.3	12.2	8.5	10.5

Table 4. Amino acid Compostions of Glycoproteins

Amino acid	Composition			
	CG	RG	SG	PG
Cystine	0.52	0.32	0.23	0.79
Aspartic acid	16.57	8.15	7.16	11.82
Glutamic acid	20.5	22.26	26.60	15.13
OH Proline	2.24	0.68	0.72	2.85
Serine	4.29	3.58	5.69	6.82
Glycine	5.96	2.01	5.50	10.97
Histidine	1.73	1.80	2.46	1.78
Arginin	1.88	26.37	10.82	7.78
Threonine	3.40	4.39	4.06	3.41
Alanine	13.44	4.98	4.89	16.29
Proline	5.02	11.33	2.49	5.84
Tyrosine	0.10	0.56	1.23	0.77
Valine	4.60	3.98	4.90	5.32
Methionine	0.68	2.36	2.41	0.36
Cystine2	0.05	0.60	0.23	0.92
Leucine	4.55	1.41	7.89	3.29
Phenylalanine	2.51	0.77	4.97	1.93
Trptophan	2.62	0.05	0.10	0.03
Lysine	5.65	2.51	3.87	1.38
Other	3.69	1.89	3.78	3.04
Total	100	100	100	100

기를 함유하고 있는 식물성 당단백질이 공업적 응용에 있어서 매우 중요한 것으로 본다. 또한 식물성 당단백질은 신진대사에서 단백질을 운반하고 저장하며 배설하는데 관여하는 arginine 함량이 높아 체내 암모니아의 독성을 제거하고 신진대사와 생장에 필요한 영양분을 제공하는 역할을 도모할 수 있음을 알 수 있었고, 포도당과 지방대사에 관여하는 glutamic acid, aspartic acid 함량 또한 높아 뇌 속의 유해물질을 해독하는 동시에 뇌에 영양공급원이 될 수 있음을 시사하였다.

3.5. 분자량

식물성 당단백질과 콜라겐 펩타이드에 대한 분자량 측정 결과를 Fig.3에 나타내었다. 식물성 당단백질의 분자량 분포는 800~2,400 Da의

범위에서 비교적 낮은 분자량 분포를 보이고 있는 것으로 나타났으며, 일반적으로 피부에 흡수 가능한 분자량을 3,000 Da으로 보면 화장품 소재로 이용 할 경우 콜라겐 펩타이드의 일부는 피부로 흡수되고 일부는 표면에 잔존하겠지만 대부분이 피부로 흡수되어 보습 효과가 있는 것으로 본다. 아울러 ACE저해활성을 가지는 아미노산을 분석한 결과 proline, tyrosine, alanine 및 leucine등이 다량 함유하고 있는 것으로 보아 ACE 저해활성을 가질 것으로 본다.

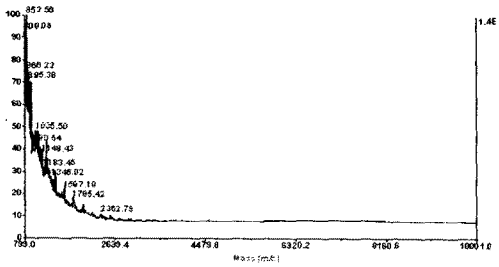


Fig. 3. Distribution of molecular weight on glycoproteins.

3.6. 식물성 당단백질의 생리활성

3.6.1. 총 폴리페놀 함량

Folin-Ciocalteu Reagent가 식물성 당단백질 추출물의 폴리페놀 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴을 청색으로 발색하는 것을 가지고 당단백질의 총폴리페놀 함량을 측정하였다. 즉, 식물성 당단백질인 carrot glycoprotein(CG), red gingseng marc glycoprotein(RG), sesame glycoprotein (SG) 및 Pine needles glycoprotein (PG)등의 총폴리페놀 함량은 1.76, 16.70, 8.58 및 20.53 mg/g로 솔잎에서 추출된 당단백질이 가장 많은 함량을 보였다.

최근에 다양한 종류의 페놀성 화합물이 천연항산화제 혹은 항돌연변이, 항발암효과 등 인체에 다양한 생리활성을 나타내고 있어 많은 관심을 보이고 있다[36]. 페놀성 화합물은 식물류에 널리 분포되어 있는 것으로 알려져 있으며 폴리페놀화합물을 많이 함유하고 있는 야채 및 과일 등의 식물성식품의 섭취가 증가할수록 심혈관질환에 의한 사망률이 낮아지고 혈중 총콜레스롤 농도를 낮추며 HDL-콜레스테롤 농도를 높이는 등 혈관순환계질환의 예방 및 개선효과도 있는 것으로 보고되고 있다[37]. 참깨박 80% 에탄올 추출물에서 각종 생리활성 및 항산화 효과를 지닌 sesamin, sesaminol 및 sesamol이 다량 함유되어 있다는 연구 결과를 토대로 본 연구에서 제조한 sesame glycoprotein의 주요 페놀성 화합물은 sesamol 성분일 것으로 본다.

3.6.2. 총 flavonoid 함량

식물성 당단백질의 flavonoid 함량은 CG는 1.35, RG는 2.66, SG는 2.1, 그리고 PG는 4.52 mg/g이었다. flavonoid류는 식물에서 보편적으로 함유된 색소 성분의 하나로서 흔히 배당체로 존재하며 이와 관련된 생리활성에 관한 것으로 약리작용으로서는 항염증, 항알러지, 항산화, 간보호, 항균, 항암, 항바이러스 및 혈전형성 억제작용 등이 보고되었다[38].

이렇게 광범위한 약리작용을 갖는 것은 flavonoid가 효소, 호르몬 및 DNA등과 반응하거나 중금속과 착제 형성작용이 강해 전자전달이나 유리라디칼 제거작용을 할 뿐만 아니라 각종 효소작용을 억제하여 모세관 혈관투과율을 저하시키기 때문이라고 보고되고 있다[39]. 따라서 각 식물 원료별 flavonoid 함량 차이에 따라 위와 같은 효과의 차이가 있을 것으로 본다.

3.6.3. DPPH 라디칼 소거능

지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 활성 자유라디칼에 전자를 공여하여 산화를 억제시키는 척도인 DDPH(α,α-diphenyl picryl hydrazyl)라디칼 소거능을 측정한 결과 다음과 같다. DDPH 라디칼 소거능은 식물성 당단백질과 비교군인 BHA(Butylated Hydroxy Anisol)이나 Vitamin E에 비하여 낮았지만 100 ppm에서 CG는 12.09 %, RG는 5.99 %, SG는 7.42 %

및 PG는 21.53 % 였다. 그리고 500 ppm에서는 CG는 39.29 %, RG는 20.05 %, SG는 12.14 % 및 PG는 60.66 %이다. 즉, 100 ppm 및 500 ppm 모두가 비교적 높은 전자공여능을 나타내었으며, 그 중에서 솔잎에서 추출한 것이 가장 높은 수치를 나타냈다. 이와 같은 결과는 식물성 당단백질이 자유라디칼을 억제하여 인체 내에서 각종 질병과 노화를 일으키는 산화성 자유라디칼과 반응하여 항산화효과를 줄 수 있어 효과적인 면에서 우수한 것으로 본다. 전자공여작용은 활성라디칼에 전자를 공여하여 식품의 지방질산화는 물론 인체에서의 활성라디칼을 제어할 수 있기 때문에 주목을 받고 있다. 이러한 라디칼 소거작용은 인체의 질병과 노화를 방지하는데 있어 중추적 역할을 하기 때문에 기능성 식품을 대상으로 관심이 집중되고 있다.

3.6.4. ABTS에 의한 총 항산화 활성

식물성 당단백질의 총 항산화활성을 알아보기 위하여 ABTS에 의한 총 항산화 활성을 측정할 결과 CG는 11.74mgAAeg, RG는 62.15mgAAeg, SG는 87.43mgAAeg 및 PG는 282.82mgAAeg였다. 그 중에서 PG가 가장 높았다. 대구고니 단백질의 효소적 가수분해물로부터 항산화활성의 차이는 기질의 차이 뿐만 아니라 각 효소가 기질에 작용하는 절단 부위가 다르기 때문에 N말단 및 C말단에 위치하는 아미노산의 종류가 달라지므로 항산화활성이 다르게 나타나는 것으로 보고되었다[40]. 따라서 식물성 당단백질의 항산화 활성도 효소를 이용한 가수분해물을 구성하는 아미노산의 함량 보다는 N및 C말단에 위치하는 아미노산의 종류에 따라 영향을 받는 것으로 본다.

3.6.5. ACE 저해활성

100ppm, 200ppm, 및 300ppm으로 농도를 달리하여 ACE저해 활성을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. Fig.4 에서 보는 바와 같이 농도를 증가시키므로 ACE 저해활성도 전반적으로 보다 높은 수치를 보여 주었고, 300ppm에서 CG는 65.0%, RG는 38.5%, SG는 67.0%및 PG는 43.3%였다. 최근 ACE 저해제가 합성되어 임상치료에 이용되었고[41], 일반적으로 섭취하는 식품에 대해서 ACE 저해능의 연구로는 한국산 녹차에서 아세톤으로 분리한 탄닌류의 연구에서(+)-catechin류와 (-)-epicatechin류가 높은 저해활성이 있다고 보고 되었다[42].

또한 ACE 저해 활성에 차이가 나는 것은 효소마다 작용하는 기질의 반응 부위가 다르며 생성된 펩타이드의 N및 C말단의 아미노산이 다르기 때문이다. 생성된 펩타이드의 분자량 및 입체구조도 ACE 저해활성에 영향을 미치는 것으로 보고된[43] 바와 같이 식물성 당단백질의 구성 아미노산의 구조와 분자량의 차이로 인해 각각의 다른 ACE 저해능을 가질 것으로 본다.

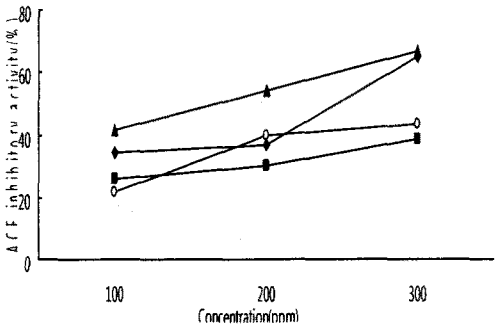


Fig. 4. ACE inhibitory activity of Glycoproteins

3.6.6. SOD 유사활성

생체 내 항산화 효소중의 하나인 superoxide dismutase(SOD)는 세포 내 활성산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉진하는 효소이며 SOD에 의해 생성된 과산화수소는 catalase 또는 peroxidase에 의해 물 분자와 산소분자로 전환되는 중요한 효소중의 하나이다. 이러한 SOD와 똑같지는 않지만 유사활성 측정방법이 사용되고 있으며, superoxide anion의 활성을 억제시키는 물질 즉, 널리 이용되고 있는 SOD 유사활성 측정방법을 이용해 식물성 당단백질

인 CG, RG, SG 및 PG와 비교군인 BHA와 vitamin E등에 SOD 유사활성을 측정한 결과 100ppm에서 CG는 16.0 %, RG는 16.3 %, SG는 16.7 % 및 PG는 31.6 %이고, 비교군인 BHA 68.5 %와 Vitamin E는 75.0 %인 결과를 가져왔고, 500ppm에서는 CG는 28.2 %, RG는 28.7 %, SG는 24.0 % 및 PG는 42.5 %이었다. 이런 결과로 보아 비교군 보다 식물성 당단백질은 낮은 수치를 보였고 농도가 증가할수록 SOD 유사활성 수치도 증가하였다. 식물성 당단백질 중에서는 PG가 가장 높은 수치를 나타내었다. 따라서 자연의 항산화 효소 중 하나인 SOD는 세포에 해로운 환원된 산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉진시키는 효소로서, superoxide anion의 활성을 억제시킬 수 있는 물질이 식물성 당단백질에 SOD 유사활성을 나타내는 생리활성 물질이 있음을 알았다. 그리하여 superoxide anion 제거능에 있어서 활성을 지닌 물질로 이용될 수 있다.

3.6.7. 아질산염 소거능

아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급 및 3급 아민 등의 아민류와 반응하여 nitrosamine을 생성하는 것으로 이들 nitrosamine은 동물실험 결과 대부분 발암성을 나타내는 물질로 밝혀짐으로써 주목된다. 아질산염 소거능을 pH별로 측정한 결과 pH1.2에서 CG는 25.7 %, RG는 21.0 %, SG는 14.6 % 및 PG는 38.5 %이고, pH 6.0에서 CG는 3.6 %, RG는 6.7 %, SG는 5.1 % 및 PG는 7.9 %이었다. 이 결과 솔잎에서 추출한 당단백질이 다른 당단백질에 비하여 높았다. 한편 팽이버섯 추출물의 기능적 특성 연구에 의하면 팽이 버섯 추출물에 함유된 폴리페놀성 물질들의 아질산염 소거능은 pH 3~6보다 pH 1.2에서 비교적 높은 수치를 보였다. 이는 낮은 pH조건에서 nitrosamine형성을 보다 효과적으로 억제할 수 있다. 본 연구의 실험결과 당단백질에 함유된 폴리페놀성 물질들의 아질산염 소거능은 전반적으로 pH 6.0보다 pH 1.2에서 비교적 높은 수치를 보인 바와 같이 추출물에 함유된 폴리페놀성 화합물들이 낮은 pH조건에서도 비교적 안정하며 nitrosamine의 형성을 효과적으로 억제함을 알 수 있다.

3.6.8. 지질과산화 억제효과

linoleic acid model system을 이용한 지질과산화 억제효과를 2.3.8의 방법으로 측정한 결과 다음과 같았다. 즉, 1,3및 5일의 경과시간에 따라 지질과산화 억제효과는 3일 경과 후 CG는 36.7%, RG는 29.0%, SG는 18.9% 및 PG는 50.5%이었고, 5일 경과 후 CG는 51.6%, RG는 48.6%, SG는 35.2% 및 PG는 62.2%이었다. 즉, 100ppm에서 비교적 비교군인 BHA(70.14%)와 vitamin(64.5%)보다 지질과산화 억제효과가 높았고, 식물성 당단백질 중 SG가 가장 큰 것으로 나타났다. 일반적으로 페놀성 화합물이 지질과산화를 방지하고 유리기를 소거하는 것으로 위의 결과에서 미루어 볼 때 페놀성 화합물과 비슷한 메커니즘을 갖는 것으로 본다.

4. 결 론

식물성 재료인 당근, 홍삼박, 참깨 및 솔잎들을 pepsin같은 단백질 가수분해 효소를 이용하여 식물성 당단백질을 추출하고, 분리 정제한 후 가용화 될 수 있는 식물성 당단백질의 제조방법을 확립하였다. 제조된 식물성 당단백질은 carrot glycoprotein, red ginseng marc glycoprotein, sesame glycoprotein 및 pine needles glycoprotein으로서 이들 각각에 대한 물리적 특성, 영양성분 및 열량, 아미노산 조성 및 분자량을 분석 및 평가 하였고, 식물성 당단백질의 생리활성 시험으로 총 폴리페놀 함량, 총 flavonoid함량, DPPH 라디칼 소거능, ABTS에 의한 항산화성, ACE 저해활성, SOD 유사활성, 아질산 소거능 및 지질과산화 억제효과 등을 서로 비교 검토한 결과 식물성 당단백질은 콜라겐 펩타이드의 특징인 hydroxyl proline과

glycine 함량 낮았지만 유사한 비율의 함량을 가졌으며 저 분자량의 저열량원으로서 총 폴리페놀 함량과 총 flavonoid함량이 높기 때문에, 그리고 항산화 효과, DPPH 라디칼 소거능, ACE 저해활성 등 각종 생리활성효과가 우수한 것으로 나타났다. 따라서 영양적, 기능적인 구조적 특성을 지니고 있는 것으로 나타났다. 그리하여 본 연구결과를 바탕으로 화장품원료, 각종 가공식품 및 기능적 식품 원료로서 사용이 기대된다.

참고문헌

1. Asghar, H., and Henrickson, R.L., "Advance in Food Research", Chichester C.O(ed.) Vol. 28, 231(1982) Academic Press; New York.
2. Satoshi, K., Masashi, M., " The properties and applications of EXTENSIN(Vegetable collagen) for cosmetics"., *J. Fragrance.*, **7**, 48(1997).
3. Hannes B.Stahelin, K.Fred Gey, Monika Eichholzen, Eri Ludin., "β-Carotene and cancer prevention, The Basel Study"., *Am. J. Chin Nutr.*, **53**, 265(1991).
4. Regina G.Ziegler., " Vegetables, fruits and carotenoids and the risk of cancer"., *Am. J. Chin. Mutr.*, **53**, 251(1991).
5. Eva, N., Sc. D., Carlo La Vecchia, M.D., Silvia Franceschi, M.D., Fabio Levi, M.D., and Fabio Parazzini, M.D., "Intake of selected micronutrients and the risk of endometrial carcinoma, Cancer"., *Cancer*, **77(5)**, 917(1996).
6. Beroza, M., Kinman, M.L., "Sesamin, sesamolin, and sesamol content of the oil of sesame seed as affected by strain, location grown, ageing and frost damage"., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **32**, 348(1995).
7. Kang, D. W., "Oxidation Stability and Synergistic Effect of Lignan Compound Extracted from Sesame Oil"., Hankyong University Graduate Thesis, (2003).
8. Hirata, F., Fugita, K., Tshikura, Y., Hosod, K., Oshikawa, T., and Nakamura, H., "Hypocholesterolemic effect of sesame lignan in humans"., *Atheroschlerosis*, **122**, 135(1996).
9. 지형준 외 약간 명, 대한 약전 한약 규격 주해, 서울 한국 메디칼 인덱스사, 681~682(1998).
10. 이영철 • 서영배, "補氣藥類의 免疫藥理學的 考察"., 대전대학교 한의학연구소 논문집, (1994).
11. 장성강 외 2인, " 한국 홍삼의 면역활성 및 항암효과에 관한 실험적 연구"., 고려인삼학회지, **18(3)**, 151(1994).
12. 이해연 외 약간명, "홍삼 추출물의 림프구 증식 및 활성 촉진효과"., 고려 인삼 학회지, **22(1)**, 60(1998).
13. 조영걸외 약간명, "HIV 감염자에 대한 고려 홍삼의 T세포 증강 효과"., 대한 미생물 학회지, **29(4)**, 371(1994).
14. 김창한 외 약간명, "Clonogenic assay를 이용한 홍삼추출물의 인체종양세포에 대한 증식억제효과"., 고려 인삼학회지, **22(3)**, 188(1998).
15. 황우익 외 약간명, "한국 및 중국 홍삼의 암세포 증식억제 효과 비교연구(Ⅲ)"., 고려 인삼 학회지, **17(3)**, 196(1993).
16. 서성옥 외 약간명, "소화기계암에 대한 고려 홍삼의 면역학적 연구"., 대한 외과 학회지, **52(2)**, 155(1997).
17. 강창희외 2인, "홍삼복합체의 보간 및 항산화 작용에 대한 연구"., 생약학회지, **31(4)**, 383(2000).
18. 조영주 외 약간명, "高麗人蔘·高麗紅蔘 및 total saponin의 抗酸化 作用"., 대한 동의

병리 학회지, **12(1)**, 72(1998).

19. kim, J.D., Yoon, T.H., Choe, K., Im, K. J., Ju, J. S., and Lee, S. Y., "Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats"., *Kor. J. Gerantol*, **1(1)**, 47(1990).
20. Chung, B.S., and Shin, M. K., "The great dictionary of traditional and crede medicine" Young Lim Press,(1990).
21. Lee, S. J., Son, K.H., Kim, J.S. and Kang, S.S., *Natural Products Sci.*, **2**, 1 (1996).
22. Kang, Y.H., Park, Y.K., Ha, T.Y. and Moon., "Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver, and liver morphology in rats fed high fat diet"., *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25(3)**, 374~378(1996).
23. Kuk, J., Ma, H., and Park, K.H., "Isolation and characterization of benzoic acid with antimicrobial activity from needle of pine"., *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29(2)**, 204~210 (1997).
24. 장부식 • 이미진, "식물성 및 마린 콜라겐 펩타이드 제조응용" 씨엔에이 바이오텍㈜, 특허 제0488913호(2003).
25. 한국식품공업협회., "식품공전"., 문영사 (2003).
26. Teresa-Satue, M., Huang, S.W., and Frankel, E.N., "Effect of natural nitroxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached and deodorized olive oil"., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72(4)**, 1131(1995).
27. Blois, M.S., "Antioxidant determination by the use of a stable free radical"., *nature*, **26**, 1199(1958).
28. Leong, L.P., "An investigation of antioxidant capacity of fruits Singapore makets"., G., *Food Chem.*, **76**, 69(2002).
29. Do, J.R., Heo, I. S., and Jo, J. H., "Effect of antihypertensive peptides originated from various marine protein on ACE inhibitory activity and systolic blood pressure in sponaneously hypertensive rates"., *J. Food sci, Technol.*, **38(4)**, 567(2006).
30. Marklund, S. and Mark lund, G., "Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase"., *Eur. J. Biochem.*, **47**, 468(1974).
31. kato, H., Lee, I. E., Cheyen, N.V., Kim, S.B., and Hayase, F., " Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidines"., *Agric. Biol. Chem.*, **51(5)**, 1333-1339(1987).
32. Osawa, T., and Namiki, M., *Anal. Biochem.*, **95**, 351(1985).
33. Lamport, "A Repetitive Proline-Rich Protein from the Gymnosperm Douglas Fir Is a Hydroxyproline-Rich Glycoprotein"., *Plant Physiol*, **98**, 919 (1992).
34. Gilsenan, P.M., & Ross-Murphy, S.B. " Rheological characterization of gelatins from mammalian and marine sources"., *Food Hydrocolloids*, **14**, 191 - 195 (2000).
35. Gomez-Guillen, M>C., Turmay, J., Fernandez-Diaz, M.D ulmo, N., Lizaebe, M.A.&Montero, P., *Food Hydrocolloids*, **16**, 25(2002).
36. 심영자, 한영실, 전희정, "참쑥의 영양성분에 관한 연구"., 한국식품과학 학회지, **24**, 49 (1992).
37. Hattori, M., Namba, T., and Hara, Y., "Effect of tea polyphenols on glucosyltransferase from Streptococcus mutans"., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 717(1990).

38. Elliott, M., Jr and Kandaswami, C., "The impact of plant flavonoids on mammalian "., *Biology*, 618(1993).
39. Havsten, B., "Flavonoides a class of natural products of high pharmacological potency"., *Biochem. Pharmcol.*, **32**, 1142(1983).
40. Kim, S.K., Choi, Y.R., and Park, P.J., "Purification and cgaracterization of antioxidative peptides from hydrolysate of cod teiset protein"., *J. Korean Fish Soc.*, **33(3)**, 1981(2000).
41. 이기호, "Angiotensin converting enzyme 저해제 합성 및 동력학적 연구"., 강원대학교 대학원 농학박사 학위논문(1992).
42. Cho, Y. C., Chun, S.S. & Choi C., "Inhibitory effect of condenced tannins isolated from Korean green tea against xanthine oxidase"., *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **22(4)**, 418(1993).
43. 김수영, "민태(Johnius belengerii)가공잔사 단백질의 가수분해물로부터 항산화 펩타이드의 정제 및 특성"., 부경대학교 대학원 화학과 석사학위논문(2006).