

최 종  
연구보고서

GOVP1200609012

계란의 유효성분 분리, 정제를 위한  
일관공정개발 및 그 이용에 관한 연구

Separation and utilization of whole egg components

연 구 기 관

인 제 대 학 교

농 립 부

## 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “계란의 유효성분 분리, 정제를 위한 일관공정개발 및 그 이용에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005 년 11 월 일

주관연구기관명 : 인제대학교

총괄연구책임자 : 김 재 철

세부연구책임자 : 김 재 철

연 구 원 : 권 상 오

연 구 원 : 이 상 현

연 구 원 : 안 경 은

협동연구기관명 : 울산대학교

협동연구책임자 : 이 은 우

위탁연구기관명 : 서울대학교

위탁연구책임자 : 이 무 하

# 요 약 문

## I. 제 목

### 계란의 유효성분 분리, 정제를 위한 일관공정개발 및 그 이용에 관한 연구 (Separation and utilization of whole egg components)

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

난(卵, egg)은 하나의 생명이 태어나서 완성된 개체로 자라는 데 필요한 모든 영양소와 방어체계를 위한 물질들을 보유하고 있다는 점에서 그 중요성이 새로이 인식되고 있다. 국내외에서 계란전체를 발효시키거나, 다양한 부재료를 혼합하여 가공하거나, 난황과 난백을 분리하여 각각의 특성을 살려 가공하여 산업적으로 많이 이용하고 있다. 또한 산란계의 사료성분이나 사양조건을 달리하여 기능성분들의 변화를 유도하고자 하는 노력도 활발히 이루어지고 있다. 동시에 생명공학의 발전에 따라 유용한 기능성분들의 선택적 대량생산에 대한 가능성이 점점 커지고 있다. 계란의 유용한 특정성분을 선택적으로 대량 함유하는 계란을 생산하여, 추출하려는 시도가 다양하게 이루어짐에 따라, 계란의 부가가치를 극대화 시킬 수 있을 것으로 기대된다. 아울러 계란 중 특정성분들의 생리활성효과가 계속 연구되고, 특히 문제가 되고 있는 콜레스테롤의 흡수를 방해하는 물질도 있다는 것이 확인됨에 따라 계란에 대한 사회적 인식도 달라 질 것으로 기대된다. 계란의 성분분리에 의한 이용성은 크게 특정성분의 기능성을 이용하여 식품의 물리, 화학적 성질을 다양하게 조절할 수 있는 특수식품소재와, 생리적 활성을 이용한 생물활동조절소재, 더 나아가서는 의약품소재로 구분할 수 있다.

전 세계적으로 계란의 성분별 추출, 분리에 의한 상품화는 북미, 일본 및 유럽 각국에서 최근 활발히 이루어지고 있다. 일본에서는 큐피와 같이 계란을 이용한 식품을 제조하다가 계란의 유용성분에 착안하여 성분들의 추출, 분리로 사업영역을 다각화한 경우에서 보는 것처럼 상당히 오래 전부터 계란의 기능적 이용성에 주목하고 심도 깊은 연구가 이루어져 왔음을 알 수 있다. 국내에서도 인지질, 면역항체물질을 중심으로

상용화가 활성화되고 있으며, 규모가 커지는 추세에 있다. 식품산업에 있어서 계란성분 중 다양한 물질들은, 기존의 화학적 합성에 의해 만들어진 인공첨가물에 대한 거부감으로 인해, 점점 그 수요가 증대될 수 있을 것이다. 또한 생물 공학적 기법에 의해 유용성분의 대량생산이 필요하다는 사회적 공감대는 많이 형성되어 있으나, 장기적인 측면에서 안전성이나 환경에 미치는 영향에 있어서 아직 불안감을 많이 가지고 있는 것이 사실이다. 그러나 이미 오래 전부터 이용하여 온 계란의 다양한 특정성분을 추출, 정제 후 활용하는데 있어서는 방법상의 안전성만 유지되면 성분자체에 대한 식품안전성의 불확실성은 거의 없다고 할 수 있다. 따라서 계란유효성분을 효율적으로 이용하여 부가가치를 올리려면 유용성분들의 생리적 기능에 관한 지속적인 연구와 더불어 원료가격, 유효성분의 시장가치, 분리 및 가공비용, 향후 시장 진입전망 등 다양한 경제적 변동요인을 감안한 종합적이고 실질적인 접근이 필요하다. 다시 말하면 천연 기능성 소재의 선호도가 높아짐에 따라 생물자원으로부터 경제적인 공정에 의한 적절한 가격수준의 공급이 요구되고 있다. 특정성분을 추출하여 분리한 뒤 잔여물을 폐기하는 것보다는, 특화된 유용성분추출공정을 계열화하여 종합적인 추출, 분리 및 이용의 효율성을 극대화하는 방향으로 관련분야의 재편이 이루어질 것으로 전망된다. 따라서 철저한 시장분석과 수요예측에 의한 기술개발로 국제적 경쟁력을 갖춘 다양한 용도의 기능성 물질을 공급할 수 있는 능력을 확보하는 것이 중요하다고 생각된다. 따라서 성분들의 기능적 특성의 변화를 최소화할 수 있는 조건에서 계통적으로 분리할 수 있는 공정의 확립으로 경제성을 확보함으로써 계란의 부가가치를 올려 양계산업의 안정적인 발전을 도모할 수 있을 것으로 생각된다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 계란 **난황의 주요 유효성분(IgY, 인지질, 중성지질, 난황단백)**을 **계통적으로 분리**하여, 정제하는 경제성 있는 기본공정을 개발하고, **난백 중 특히 오보트랜스페린(ovotransferrin)의 분리, 정제와 그 기능적 특성**을 확인한다. 계란에서 난각과 난백, 난황을 물리적으로 분리한 뒤, 난각은 주로 칼슘의 이용성을 조사하고, 난백단백질중 최근 관심이 고조되고 있는 ovotranferrin을 분리하여 특성을 알아본다. 난황에 들어있는 다양한 성분들 (IgY, 인지질, 중성지질, 난황단백질, 포스비틴)을, 경제성에

기초를 두고, 계통적으로 분리할 수 있는 공정과 공정조건을 제시한다. 구체적인 분리 공정과 더불어 각 성분들의 기능적 특성과 안전성을 유지할 수 있는 분리 및 정제조건을 확립한다. 또한 주요 성분들의 특성에 따른 용도를 조사하고, 용도에 적합한 가공공정을 확립하여 제시한다. 상대적으로 이용성이 적은 난황단백질의 이용성을 육가공제품에 적용하여 확인해 본다. 난황단백질 중 활용가능성이 큰 것으로 예상되는 포스비틴(phosvitin)을 분리, 정제하는 방법을 확립하고, 칼슘결합특성을 조사한다. 난백으로부터 항균활성을 지닌 ovotransferrin을 대량으로 분리할 수 있는 방법을 모색해 보고, 분리된 ovotransferrin의 미생물학적 저해특성의 상승조건과 식품소재로서의 가공적성 즉 기포성, 응고성, 보수성을 연구하며 더 나아가 ovotransferrin을 이용한 생분해성 항균필름을 제조하여 그 항균·항곰팡이 활성과 신선육에의 적용연구를 수행하였다. 각성분의 순도, 용도, 2차 가공에 따른 적절한 공정조건과 설비규격에 따른 비용분석과 각 성분들의 국내외 수요조사와 예측에 의해 **경제성 있는 일관 공정과 표준 생산규모**를 도출해 본다 (Table). 주요성분들의 예상표준수익은 용도개발에 의한 신규수요창출, 기존의 용도로 쓰이는 물질들의 대체재, 새로운 기능적 특성을 이용한 수요창출등에 의해 얻어 진다.

Table. 연구과제의 구성과 내용

구 분	연구 내용	연구 책임자
실용 공정 개발	주성분군별 분리 공정 확립	김재철(인제대학교)
	분리, 가공공정 설비와 조건 확립	
	미이용성분의 가공적성 연구	
기능성 란 단백질 연구	단백질 성분별 분리 및 정제 방법 연구	이무하(서울대학교)
	기능성 연구 및 용도 개발	
경제성 분석	수요예측과 시장분석	이은우(울산대학교)
	모형별 경제성 분석에 의한 공정 최적화	

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

계란에서 제거한 난각과 난각막은 깨끗이 씻어 유기물을 제거한 뒤 유기산(초산, 글루콘산, 구연산)에 녹여, 해리된 용액을 얻었다. 물과 알코올, 헥산(n-hexane)에 의한 난황 주요성분들의 계통적 분리와 정제에 의해 IgY, 인지질, 중성지질, 포스비틴을 얻었다. IgY는 물에 의한 추출과 한외여과에 의해 난황에서 100% 회수되었으며, 순도는 40%까지 얻을 수 있었다. 이온교환수지등을 이용하여 순도를 88%까지 높일 수 있었다. 4배의 알코올과 n-hexane에 의한 일회의 연속적인 추출로 인지질과 중성지질을 각각 87%와 96% 회수할 수 있었으며, 추출하여 얻은 인지질과 중성지질의 순도는 각각 83%와 94%였다. 필요시 반복적인 추출과 정제에 의해 인지질과 중성지질의 순도를 높일 수 있다. 이렇게 함으로써 지질함량이 1%이하인 난황단백질을 얻을 수 있었다. 알코올로 인지질을 추출한 뒤, 알코올을 제거하여 얻은 인지질은 붉은 색을 띠며, 점성이 대단히 높다. 난황의 중성지질은 대량생산이 이루어지는 경우, 용도에 따라 계속적인 탈색, 탈취공정으로 정제할 수 있다. 그러나 분리한 중성지질속에 많이 존재하는 Lutein과 zeaxanthin은 망막의 반점에 집적되어 노화에 따른 실명을 방지하는 데 중요한 역할을 하는 황색색소(carotenoids)들이므로 경우에 따라 그대로 이용하는 것도 바람직하다. 알코올과 헥산으로 각각 일회씩 연속적으로 인지질과 중성지질을 추출하여 분리하는 경우 남은 고형물중 잔존하는 지질은 고형물기준으로 1%미만이므로 저장성이 증대되며, 따라서 가공적성도 좋아진다. 인지질과 중성지질이 제거된 난황단백질은 용매를 휘발시켜 제거한 뒤 적절한 분쇄기 (ball mill등)로 분쇄하여 연노랑색의 분말을 얻는다. 인지질과 중성지질을 제거한 난황단백질에서 분리한 phosvitin (순도91.3%)을 동결건조하면 미백색을 나타낸다.

난황 100g을 물, 에탄올, 헥산에 의한 계통적 유효성분 추출량은 다음과 같다. 물 추출에 의해 액상난황 100g에 존재하는 난황 고형물 51g 중 4g(3.5g 단백질, 0.5g 지질)이 분리 되었고, 비수용성 성분 37g 이 남았다. 난황 100g은 17g의 단백질을 함유하고 있으므로, 물 추출에 의해 전체 난황단백질 중 약 20%가 추출되었다고 볼 수 있다. 그러므로 IgY의 정제도를 높일 때, 회수 되는 수용성 단백질을 재활용할 수 있다.

일회의 에탄올 추출에 의해 대부분 인지질(9.4g)로 구성된 11.5g의 고형물을 얻을 수

있었다. 단백질과 지질은 미량(0.4g, 0.3g)함유 되어있다. 에탄올 추출물은 인지질함량이 85%이상 이므로, 별도의 정제과정을 거치지 않아도 식품용으로 사용할 수 있을 것이다. 에탄올 추출 후 남은 잔유물을 헥산(n-hexane)으로 추출하면 대부분 중성지질(20.2g)과 소량의 인지질(1.2g)이 함유된 21.5g의 고형물을 얻을 수 있었다. 헥산 추출물의 인지질은 에탄올로 반복 추출하여 제거 하였다. 순도는 인지질과 중성지질의 특수한(제약, 화장품 등) 사용 필요성에 따라 알코올과 헥산의 추출회수를 달리하여 결정할 수 있다. 헥산추출 후 최종 잔유물은 96%의 단백질, 3%의 회분, 1%이하의 지질(건조시, 수분함량 7% 이하)로 구성 된 총 무게 14g을 얻을 수 있다. 이렇게 얻은 난황단백질은 타 식품 생산 시 훌륭한 단백질 공급 원료가 될 수 있으며, phosvitin과 같은 다른 유효성분의 원료 물질로 사용이 가능할 것이다. 이상의 분리공정은 다양한 유효성분을 계통적으로 분리 할 수 있고, 다양한 식품 및 비식품용 목적으로 사용될 수 있는 가능성을 제시하였다. 이러한 유효성분의 계통적 분리 공정은 원료의 낭비를 최소화하여 이용성을 최대로 높일 수 있으며, 분리 비용을 최소화할 수 있다.

동물실험결과, 난각과 난각막에 존재하는, 칼슘전달에 관여하는, 단백질의 영향으로 칼슘흡수가 촉진되는 것으로 나타났다. 칼슘이 녹아있는 초산 (식초)으로 만든 마요네즈는 칼슘함량에 따라 점도의 차이가 났으며, 100%포화된 식초로 만든 마요네즈를 제외하면 대조구에 비해 높게 나타났다. 계란난황성분들의 계통적분리에 있어서 난황에 존재하는 황색색소들은 지질에 추출되어 나오며, 특히 분리된 중성지질에 거의 대부분 함유되어 있다. 이런 점에서 난황에서 분리한 중성지질은 lutein과 zeaxanthin의 좋은 공급원이 될 수 있을 것으로 판단되어 난황유를 이용하여 Lutein 이 강화된 소시지를 개발해 보았다. 대체적으로 난황지질의 황색색소에 의해 붉은 색이 강한 것을 제외하면, 품질면에서 차이가 없는 것으로 나타났다. 분리된 난황단백질을 turkey roll (육가공제품)의 단백질 강화제로 대두단백을 대체하여 적용해 본 결과 상대적으로 부드러운 물성을 부여해 주는 것을 알 수 있었다. 분리한 포스비틴은 칼슘을 결합하는 기능이 있는 것을 실험적으로 확인하였으며, 트립신을 처리하여 얻은 포스포펩타이드는 칼슘결합능력이 현저히 증가함을 알 수 있었다. 계란의 난백으로부터 affinity chromatography와 gel filtration 방법을 이용하여 항균성 단백질인 ovotransferrin을 분리하였으며, 분리된 ovotransferrin의 항균효과와 미생물학적 저해특성의 상승조건과 기포성, 응고성, 보수성의 가공적성을 연구하였다. 또한 ovotransferrin의 항균효과를

이용하여 생분해성 항균필름을 제조하여 필름의 항균·항곰팡이 효과와 제조된 필름을 신선육에 적용하여 저장성을 연장시키는 연구를 수행하였다. 난백으로부터 항균특성을 지닌 ovotransferrin의 분리, 정제하는 방법을 산업적으로 적용하여 대량생산에 의한 기능성 소재로서의 이용가능성을 증진시킬 수 있을 것이며, 또한 제조된 항균필름은 신선육의 저장에 있어 기존의 진공포장과 함께 병용함으로써 미생물의 생육을 억제하고 저장기간을 연장시킬 수 있을 것으로 기대된다.

경제가 성장함에 계란에 대한 수요가 증가한다. 인구증가와 소득증가에 따라 우리나라의 계란 소비량과 생산량은 꾸준히 증가해 왔지만, 그러나 그 증가추세는 전체적으로 완화되고 있다. 외국의 경우를 보면 대부분의 선진국은 우리나라보다 1인당 소비량이 많지만, 저발전국의 경우는 우리나라보다 적다. 연도별 증가추세를 보면 선진국의 경우 약간 증가하거나 정체상태를 나타내고 있고, 일부 국가의 경우 감소추세를 나타내고 있다. 반면에 발전도상국의 경우 계란소비추세는 계속 증가하고 있다. 이상에서 우리나라의 경우도 소득이 증가함에 따라 당분간은 계란소비량이 증가하지만, 일정 기간 경과 후에는 계란 소비가 정체될 것으로 예측된다. 국내의 양계산업이 발전하기 위한 전제조건인 계란 수요의 증대를 위해서는 계란의 활용도를 높일 필요가 있다. 이렇게 하기 위해서는 계란 성분을 분리하여 소비자의 기호에 맞는 다양한 제품을 개발할 필요가 있다. 본 연구에서는 계란의 난황으로부터 각 성분을 계통적으로 분리하는 공정을 개발하였다. 여기서는 난황을 각 성분으로 분리하는 방법 중 기존의 단일성분 분리 방법과 본 연구에서 개발한 계통적 분리 방법을 비교하여 새로운 방법의 경제성을 분석하였다. 기술평가를 하는 방법은 여러 가지가 있는데, 여기서는 비용 접근법을 변형하여 사용하기로 한다. 분석결과에 의하면 단일 성분분리 기술에 비해 일관공정 기술이 경제성이 우수한 것으로 나타났다. 현재는 단순분리 방법을 사용하고 있으나 본 연구에서 개발한 계통분리 기술을 이용하게 되면 원가를 절감할 수 있고, 순도가 높은 제품을 생산할 수 있기 때문에 국내수요를 창출할 수 있고, 수출수요도 창출할 수 있을 것이다.



## SUMMARY

### (영문 요약문)

pH adjustment of diluted egg yolk to 5.0 increased the amounts of proteins and immunoglobulins extracted, but the profile of proteins extracted was not affected. Lipid content and the turbidity of the supernatant decreased dramatically by lowering pH of the 10-fold diluted egg yolk, which is very important for the subsequent ultrafiltration step to concentrate the supernatant. Holding of diluted egg yolk in cold room up to 24 hr and the duration of centrifugation (30 min vs. 60 min at 2,800 x g) had practically no effect on protein and IgY extraction. As both the holding time and centrifugation time are expensive and rate limiting factors for a continuous, large-scale separation of IgY from egg yolk, holding time before centrifugation should be eliminated and centrifugation time should be limited to 30 min at 2,800 x g.

Comparison of water dilution method with polyethylene glycol, dextran sulfate, and xanthan gum precipitation methods found that water dilution method was superior to the other three precipitation methods(data not shown) in terms of IgY yield, purity, ease of use, potential scaling up, and immunoactivity of IgY. Increasing dilution ratio up to 10 times facilitated the precipitation of lipoproteins in egg yolk because lower ionic strength helped the aggregation of lipoproteins in egg yolk. However, volume increase makes it difficult to handle for the subsequent preparation steps of IgY purification. Attempts were made to extract immunoglobulin directly from egg yolk by precipitating lipids with cold propane-2-ol and/or using two times dilution of yolk with distilled water and then treated them with a -70 °C freeze-thaw cycling (data not shown). These methods eliminated concentration step for immunoglobulin extract, but the yield of immunoglobulin was lower than the higher dilution method. To reduce volume and concentrate supernatant, ultrafiltration and precipitation of proteins with ammonium

sulfate were suggested . Between the two methods, however, ultrafiltration was more practical than ammonium sulfate precipitation for scaling up, continuous processing for IgY purification, and further separation of other components. In using ultrafiltration, a pre-treatment that removes lipids and lipoproteins is essential because they clog filters and reduce the productivity of ultrafiltration process. Various methods such as adding polyethylene glycol, dextran sulfate,  $\lambda$ -carrageenan gum, xanthan gum, hydroxypropylmethyl cellulose phthalate, caprylic acid or pectin, adjusting pH, or freeze-thaw cycling had been suggested to remove lipids and lipoproteins from water-diluted egg yolk or egg yolk extract. Among these methods, pH adjustment was the most practical for scaling up and continuous processing, and the yield of IgY was the highest. As shown in results, adjusting pH to 5.0 eliminated the lipids from the supernatant almost completely. However, lowering pH below 5.0 is not recommended because at  $\text{pH} < 5.0$ , the precipitants became loose and watery due to over-hydration of proteins. The pH adjustment of diluted egg yolk to pH 5.0 significantly increased moisture content in the precipitant (water-insoluble fraction of yolk) after centrifugation. This happened because the adjusted pH 5.0 is lower than the PIs of all egg yolk proteins and water molecules tend to bind proteins when the pH is lower or higher than the PI of a protein. About 15% of IgY was lost at ultrafiltration step. Significant amount of concentrated IgY was lost in membrane of filter, tubing and empty spaces of filter. This problem, however, can be minimized in large-scale or continuous processing of ultrafiltration, instead of batch-type processing. Since yolk contains almost all the antibody in egg, egg yolk can be mixed in animal feed directly as an antibody source. Direct use of egg yolk as an antibody source is simple and costs less, but its application and efficiency is limited because the concentration of antibody is low. Additional process such as defatting step can be applied to concentrate antibodies from egg yolk. Supercritical fluid extraction and organic solvent extraction methods are currently used as defatting methods for egg yolk. Most of the current utilization of immunoglobulin (IgY) from egg yolk is

a direct use of egg yolk obtained from hens immunized for specific diseases. Spray-drying of the supernatant will produce a water-soluble egg yolk product with high IgY, which can be used as a dietary supplement. However, if antibodies from egg yolk are isolated and purified, their efficiency and application can be expanded significantly.

Because neutral lipids and phospholipids separated from the water-insoluble fraction of diluted egg yolk are aimed for human consumption, solvents of choices are limited to ethanol, hexane and acetone. Although acetone is not allowed as a lipid extracting solvent for human consumption in Korea yet, it's allowance increased gradually as a solvent for food usage worldwide. Both ethanol and acetone had strong extracting capabilities for phospholipids, but hexane was able to extract very small amount of lipids from the water-insoluble fraction of egg yolk. The major component of both ethanol and acetone extract was phospholipids, but some neutral lipids and cholesterol were also extracted as the volume of those solvents increased, especially with acetone. Using 4 volumes of ethanol or acetone was better than 9 volumes of ethanol or acetone because very high-purity(> 85%) phospholipids with little neutral lipids could be obtained. Repeated extraction of the precipitant of ethanol extraction with 4 volumes of ethanol increased the amounts of neutral lipids and cholesterol in the extract. It is also clear that decrease in ethanol concentration less than 4 volumes decreased its extractability. However, using 4 volumes of ethanol was better than that of acetone because ethanol had higher extractability for phospholipids from the water-insoluble fraction of egg yolk than acetone. It is very important point because almost all neutral lipids are eliminated from the ethanol extract without further purification steps. The remaining lipid (mainly neutral lipids) after ethanol extraction was extracted using hexane. Hexane is the most widely used solvent in extracting lipids from plant seeds and also has a strong extracting power for neutral lipids. Thus, hexane was selected as a second solvent to extract neutral lipids from the solids of ethanol

extraction. As expected, the second (hexane) extract was mainly composed of neutral lipids but contained some phospholipids (PC and PE), indicating that there are still significant amount of phospholipids left in the solids after the first ethanol extraction. Four volumes of hexane were used to remove remaining lipids from the solids of ethanol extraction and the extraction was repeated 3 times.

Chromatography also has been proposed to further purify PLs by using alumina, silica gel, and ion exchange cellulose as media. The precipitants obtained after the second solvent extraction with hexane contained mainly proteins. After drying, the final egg yolk residue contained more than 90% of proteins with small amounts of lipids and carbohydrates.

Sequential separation of IgY, phospholipids, neutral lipids and yolk protein was successfully undertaken starting from egg yolk. Dilution of egg yolk with 9 volumes of water adjusted at pH 5 was selected as the first step for the consecutive separation of the components. The diluted egg yolk was centrifuged at 2800 x g and 4°C for 30 minutes. Ultrafiltration of the supernatant with a molecular weight cut-off size of 30 kd concentrated IgY. The residues of centrifugation, water insoluble fraction of the diluted egg yolk, was treated with 4 volumes of 100% ethanol and centrifuged at 2800 x g for 10 minutes. Evaporation of the ethanol under vacuum recovered phospholipids. Further extraction of the precipitant with 4 volumes of hexane three times and centrifugation at 2800 x g for 5 minutes isolated proteins. Hexane was removed from the supernatant to obtain neutral lipids. Removal of phospholipids using 2 volumes of 100% ethanol improved the purity of the neutral lipids. Overall mass balance and component mass balance during consecutive extraction of egg yolk with water, ethanol and hexane are made. Forty seven grams out of 51 g of total egg yolk solids (from 100 g egg yolk) remained in the precipitant fraction and 4 g (3.5 g proteins, 0.5 g lipids) went to the water-soluble fraction after water extraction. Considering 100 g egg yolk contain 17 g of proteins, more than 20% of the whole egg yolk proteins

went to water-soluble fraction. Thus, a plan to recycle water-soluble proteins from the supernatant after recovering IgY may be needed in the future. Ethanol extract contained 11.5 g of solids most of which was phospholipids (9.4 g) and some cholesterol (1.1 g). The amounts of proteins and neutral lipids were small (0.4 g and 0.3 g, respectively). Because ethanol extract contains more than 85% phospholipids, it may be used in food products without further purification. However, due to somewhat high cholesterol content in the ethanol extract, further purification to remove cholesterol may be necessary. The subsequent hexane extraction of the precipitant from ethanol extraction removed 21.5 g of lipids, which was composed of 20.2 g neutral lipids and 1.2 g phospholipids. Phospholipids in hexane extract can be removed by repeated extraction with ethanol. The degree of purity should be decided by the specific applications or needs for phospholipids and neutral lipids. The final precipitant after hexane extraction was 14 g and was composed of 96% proteins, 3% ash and <1% of lipids after drying (dry weight basis, moisture <7%). This product can be an excellent source for protein supplementation of other food products or can be used as a starting material for other value-added components, such as phosvitin. This process is significant because multiple value-added components can be sequentially separated and used for various food and non-food purposes. With this sequential separation process of value-added components, natural resources can be maximally utilized with minimal wastes. Costs for separating value-added components from egg yolk can be decreased.

Ovotransferrin was separated from hen egg white by gel chromatography and heparin affinity chromatography. Protein characteristics under the pH and temperature and antimicrobial activity of ovotransferrin isolate was evaluated. The antimicrobial activity of  $\kappa$ -carrageenan based biodegradable packaging film incorporated with ovotransferrin, and effects on microorganisms of fresh chicken filet packaged with the antimicrobial biodegradable film during storage were

determined. Heparin affinity chromatography with ferric ion saturated column resulted in the best separation of ovotransferrin compared with gel chromatography and heparin affinity chromatography with ferrous ion saturated column. Foaming ability and stability of ovotransferrin isolate were highest in neutral condition (pH 7.0), and temperature effect on foam stability of ovotransferrin isolate showed that the highest foam was produced at 60°C. Ovotransferrin isolate alone showed weak antimicrobial activity against *E. Coli*, *S. typhi*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* at dose of 12.5mg/ml and 25mg/ml. Effect of ovotransferrin isolate with either lysozyme or albumin on antimicrobial activity shows that the effective dose was 25mg/ml especially on *S. typhi* and *C. albicans*. Combined with κ-carrageenan, ovotransferrin and EDTA film showed antimicrobial activity on *E. coli*. In all treatment, total microorganisms and *E. coli* of chicken filet was inhibited during storage.

Generally demand for high quality food increases in accordance with economic growth. In case of developed countries, per capita consumption of egg is higher than less developed countries. Korea has achieved very high economic growth, so egg consumption rose gradually. This tendency will continue, but increasing rate will decrease. So we need to create new consumption of egg in order to grow egg industry. Purpose of the technology development is to improve the process of ingredients separation of egg. Feasibility of the developed technology was made in terms of cost-benefit analysis. There are several methods of technology assessment. In this research, modified cost approach method was applied to evaluate cost and benefit of the sequential separation of egg components.

CONTENTS  
(영 문 목 차)

I . Background of the work-----	18
A. Necessity of the study-----	18
B. Aim and scope of the project-----	21
II . Current status of research and industrial application worldwide-----	24
III. Process development for sequential separation of egg yolk components-----	26
A. Materials and Methods-----	26
1. Separation of egg yolk components-----	26
2. Method of analysis-----	29
3. Studies on the utilization of major components-----	30
B. Results and Discussions-----	38
1. Separation process of egg yolk components-----	38
2. Separation and purification of components-----	50
3. Suitability for processing and utilization of major components-----	74
References-----	104
IV. Separation and purification of ovotransferrin from hen egg white -----	111
A. Materials and Methods-----	111
1. Separation and purification of ovotransferrin from hen egg white-----	111
2. Determining protein characteristics of ovotransferrin isolate-----	113
3. Developing uses of ovotransferrin isolate-----	119
B. Results and Discussions-----	119
1. Separation and purification of ovotransferrin from hen egg white-----	119

2. Determining protein characteristics of ovotransferrin isolate-----	127
3. Developing uses of ovotransferrin isolate-----	138
References-----	147
V. Feasibility analysis of technology development-----	150
A. Consumption and price pattern trend of egg-----	150
1. Consumption trend of egg-----	150
2. price change trend of egg-----	154
3. estimation of egg consumption function-----	154
B. Outline of technology and market situation of related products-----	157
1. Outline of technology-----	157
2. IgY-----	160
3. Phospholipid-----	162
4. Neutral lipid-----	164
5. Protein-----	164
6. Egg white protein-----	167
C. Feasibility analysis of sequential separation in egg yolk-----	171
1. Method of valuing technology-----	171
2. Comparison between one target and sequential separation-----	171
3. Technology of separation in egg yolk components and national economy-----	175
References-----	180
VI. Achievements and contributions to the related fields-----	181
VII. Application of the results and future work-----	186
VIII. Available informations regarding to the research-----	190



# 목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	18
제 1 절	연구과제의 필요성	18
제 2 절	연구개발의 목적 및 범위	21
제 2 장	국내외 기술개발 현황	24
제 3 장	난황주요성분의 계통적 분리공정개발	26
제 1 절	연구내용에 따른 실험방법	26
1.	성분별 분리	26
2.	분석방법	29
3.	주요성분의 이용성 조사	30
제 2 절	연구 내용과 결과	38
1.	계란난황성분 분리공정총괄	38
2.	성분별 분리와 정제	50
3.	주요성분들의 이용성과 가공적성	74
	참고문헌	104
제 4 장	기능성 난단백질의 분리와 효능특성연구	111
제 1 절	연구내용에 따른 실험방법	111
1.	난백 단백질의 항균성 단백질인 ovotransferrin의 분리 및 정제방법 연구	111
2.	분리된 ovotransferrin의 기능성 연구	113
3.	Ovotransferrin 단백질의 용도 개발	114
제 2 절	연구 내용과 결과	119
1.	난백 단백질의 항균성 단백질인 ovotransferrin의 분리 및 정제방법 연구	119
2.	분리된 ovotransferrin의 기능성 연구	127
3.	Ovotransferrin 단백질의 용도 개발	138
	참고문헌	147

제 5 장 기술개발의 경제성 분석-----	150
제 1 절 계란의 소비 및 가격 추세-----	150
1. 계란의 소비추세-----	150
2. 계란의 가격변화 추세-----	154
3. 계란의 수요함수 추정-----	154
제 2 절 기술의 개요 및 관련제품의 시장현황-----	157
1. 기술의 개요-----	157
2. IgY-----	160
3. 인지질-----	162
4. 중성지질-----	164
5. 단백질-----	164
6. 난백-----	167
제 3 절 난황의 계통적 분리 방법의 경제성 분석-----	171
1. 기술평가의 방법-----	171
2. 단일성분 분리와 계통적 분리에 의한 경제성 비교-----	171
3. 계란 성분분리 기술과 국민경제-----	175
참고문헌-----	180
제 6 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도-----	181
제 7 장 연구개발결과의 활용계획-----	186
제 8 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보-----	190

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제1절. 연구개발의 필요성

전 세계적으로 지난 40여 년간 난(卵, egg)중 식용으로 가장 많이 소비되는 계란(鷄卵, chicken egg)의 생산량은 약 3.33배 증가(1961년; 14,412,574톤, 1998년; 47,980,320톤)하였다.(축산신문, 1999) 그러나 1인당 계란 소비량변화추이는 나라마다 큰 차이를 보여 산업화가 이루어진 나라들에서는 지난 10여 년 간 거의 변화가 없거나 소폭 감소하는 추세를 보이고 있으나 개발도상국가들에서는 급속히 증가하는 경향을 보이고 있다. 선진국에서 계란의 소비가 정체되는 이유는 전체적인 식품수급이 이미 균형을 이루어 개인의 식품소비량이 더 이상 증가되기 어려운 측면도 있으나, 계란 중 콜레스테롤이 성인병의 주요한 원인으로 지목되고 있는 것도 크게 작용하고 있는 것으로 보인다. 계란의 높은 콜레스테롤 함량으로 인해 미국의 많은 의학전문가들은 계란을 성인병 유발식품으로 분류하고 이들의 섭취를 제한하도록 권장하고 있다. 국내의 경우에는 전반적인 계란의 소비정체와 더불어, 치열한 경쟁으로 인해 지난 30년 간 계란은 소비자 물가상승에 훨씬 못 미치는 가격으로 형성되어 옴에 따라 양계농가의 수익성이 크게 악화되고 있는 실정이다. 이러한 사실은 1970년을 기준으로 할 때 2000년도 계란의 물가 변동율은 소비자물가변동율의 절반이하인 사실에서도 잘 알 수 있다(Fig. 1-1). 따라서 계란의 다양한 이용방법에 의해 부가가치를 증대시키는 노력이 국내외적으로 절실히 필요한 시점에 와 있다고 볼 수 있다.

이미 잘 알려진 바와 같이 난(卵, egg)은 하나의 생명이 태어나서 완성된 개체로 자라는 데 필요한 모든 영양소와 방어체계를 위한 물질들을 보유하고 있는 독특한 생물체로서, 전통적인 식품자원으로서의 역할을 벗어나 각 성분들의 생리적 기능과 상호작용에 의한 역할이 밝혀지면, 기능성 건강식품의 주요한 소재원이 될 수 있다는 점에서 그 중요성이 새로이 인식되고 있다. 국내외에서 계란전체를 발효시키거나, 다양한 부재료를 혼합하여 가공하거나, 난황과 난백을 분리하여 각각의 특성을 살려 가공하여 산업적으로 많이 이용하고 있다. 또한 계란의 콜레스테롤 함량을 감소시키기 위해

산란계의 사료성분을 변화시키거나, 사양조건을 변화시키는 등의 많은 노력이 이루어짐과 동시에 여러 가지 분리방법을 이용하여 계란이나 계란제품으로부터 콜레스테롤을 추출, 제거하려는 시도를 하고 있지만 상업적으로 어려운 점이 많은 것으로 보인다. 한편으로는 생명공학의 발전에 따라 유용한 기능성성분들의 선택적 대량생산에 대한 가능성이 점점 커지고 있으며, 그 매개체로서 계란의 중요성이 부각되고 있다. 계란 중의 유용한 특정성분을 선택적으로 대량 함유하는 계란을 생산하여, 추출하려는 시도가 다양하게 이루어짐에 따라, 계란의 부가가치를 획기적으로 올릴 수 있을 것으로 기대된다. 아울러 계란 중 특정성분들의 생리활성효과가 계속 연구되고, 특히 문제가 되고 있는 콜레스테롤의 흡수를 방해하는 물질도 있다는 것이 확인됨에 따라 계란에 대한 사회적 인식도 달라 질 것으로 기대된다. 계란의 성분분리에 의한 이용성은 크게 특정성분의 기능성을 이용하여 식품의 물리, 화학적 성질을 다양하게 조절할 수 있는 특수식품소재와, 생리적 활성을 이용한 생물활동조절소재, 더 나아가서는 의약품소재로 구분할 수 있다.

국내외에서 계란의 소비부진을 타개하고 부가가치를 올리기 위해 다양한 방법으로 유용성분이 많이 함유되거나, 계란 중 특정성분이 강화된 특수계란을 개발하여 시판하고 있다. 전 세계적으로 계란의 성분별 추출, 분리에 의한 상품화는 북미, 일본 및 유럽 각국에서 최근 활발히 이루어지고 있다. 일본에서는 큐피와 같이 계란을 이용한 식품을 제조하다가 계란의 유용성분에 착안하여 성분들의 추출, 분리로 사업영역을 다각화한 경우에서 보는 것처럼 상당히 오래 전부터 계란의 기능적 이용성에 주목하고 심도 깊은 연구가 이루어져 왔음을 알 수 있다. 국내에서도 인지질, 면역항체물질을 중심으로 상용화가 활성화되고 있으며, 규모가 커지는 추세에 있다. 식품산업에 있어서 계란성분 중 다양한 물질들은, 기존의 화학적 합성에 의해 만들어진 인공첨가물에 대한 거부감으로 인해, 점점 그 수요가 증대될 수 있을 것이다. 또한 생물 공학적 기법에 의해 유용성분의 대량생산이 필요하다는 사회적 공감대는 많이 형성되어 있으나, 장기적인 측면에서 안전성이나 환경에 미치는 영향에 있어서 아직 불안감을 많이 가지고 있는 것이 사실이다. 그러나 이미 오래 전부터 이용하여 온 계란의 다양한 특정성분을 추출, 정제 후 활용하는데 있어서는 방법상의 안전성만 유지되면 성분자체에 대한 식품안전성의 불확실성은 거의 없다고 할 수 있다. 따라서 계란유효성분을 효율적으로 이용하여 부가가치를 올리려면 유용성분들의 생리적 기능에 관한 지속적

인 연구와 더불어 원료가격, 유효성분의 시장가치, 분리 및 가공비용, 향후 시장 진입 전망 등 다양한 경제적 변동요인을 감안한 종합적이고 실질적인 접근이 필요하다. 다시 말하면 천연 기능성 소재의 선호도가 높아짐에 따라 생물자원으로부터 경제적인 공정에 의한 적절한 가격수준의 공급이 요구되고 있다. 특정성분을 추출하여 분리한 뒤 잔여물을 폐기하는 것보다는, 특화된 유용성분 추출공정을 계열화하여 종합적인 추출, 분리 및 이용의 효율성을 극대화하는 방향으로 관련분야의 재편이 이루어질 것으로 전망된다. 따라서 철저한 시장분석과 수요예측에 의한 기술개발로 국제적 경쟁력을 갖춘 다양한 용도의 기능성 물질을 공급할 수 있는 능력을 확보하는 것이 중요할 것으로 예측된다.

그러나 계란에 있는 유효성분의 종류와 그 물리, 화학적 특성은 워낙 다양하여 분리, 정제 및 가공을 위한 설비 및 기기가 광범위하게 요구된다. 현재는 인지질을 중심으로 식용이나 인체주사용으로 추출, 분리하여 가장 많이 이용되고 있는 것으로 보인다. 전 세계적으로 대부분 업체별로 관심이 있는 특정성분을 추출, 분리 후 잔여물은 폐기하고 있다. 이때 특정성분의 추출 및 분리조건이 다른 유효성분들의 특성을 변화시켜 이용하는 데 장애요인으로 작용하는 경우가 많이 있다. 따라서 성분들의 기능적 특성의 변화를 최소화할 수 있는 조건에서 계통적으로 분리할 수 있는 공정의 확립으로 경제성을 확보함으로써 계란의 부가가치를 올려 양계산업의 안정적인 발전을 도모할 수 있을 것으로 생각된다.

## 제2절 연구개발의 목적 및 범위

계란 난황의 주요 유효성분(IgY, 인지질, 중성지질, 난황단백)을 계통적으로 분리하여, 정제하는 경제성 있는 기본공정을 개발하고, 난백 중 특히 오보트랜스페린(ovotransferrin)의 분리, 정제와 그 기능적 특성을 확인한다. 구체적인 분리공정과 더불어 각 성분들의 기능적 특성과 안전성을 유지할 수 있는 분리 및 정제조건을 확립한다. 또한 주요 성분들의 특성에 따른 용도를 조사하고, 용도에 적합한 가공공정을 확립하여 제시한다. 계란에서 난각과, 난백, 난황을 분리하고 **난황의 주요성분을 계통적으로 분리, 정제하는 일관공정**을 제시한다. 각성분의 순도, 용도, 2차 가공에 따른 적절한 공정조건과 설비규격에 따른 비용분석과 각 성분들의 국내외 수요조사와 예측에 의해 **경제성 있는 일관 공정과 표준 생산규모**를 도출해 본다. 주요성분들의 예상표준수익은 용도개발에 의한 신규수요창출, 기존의 용도로 쓰이는 물질들의 대체제, 새로운 기능적 특성을 이용한 수요창출등에 의해 얻어 진다.

주요 연구개발내용과 범위는 Table 1-1에 나타내었다.

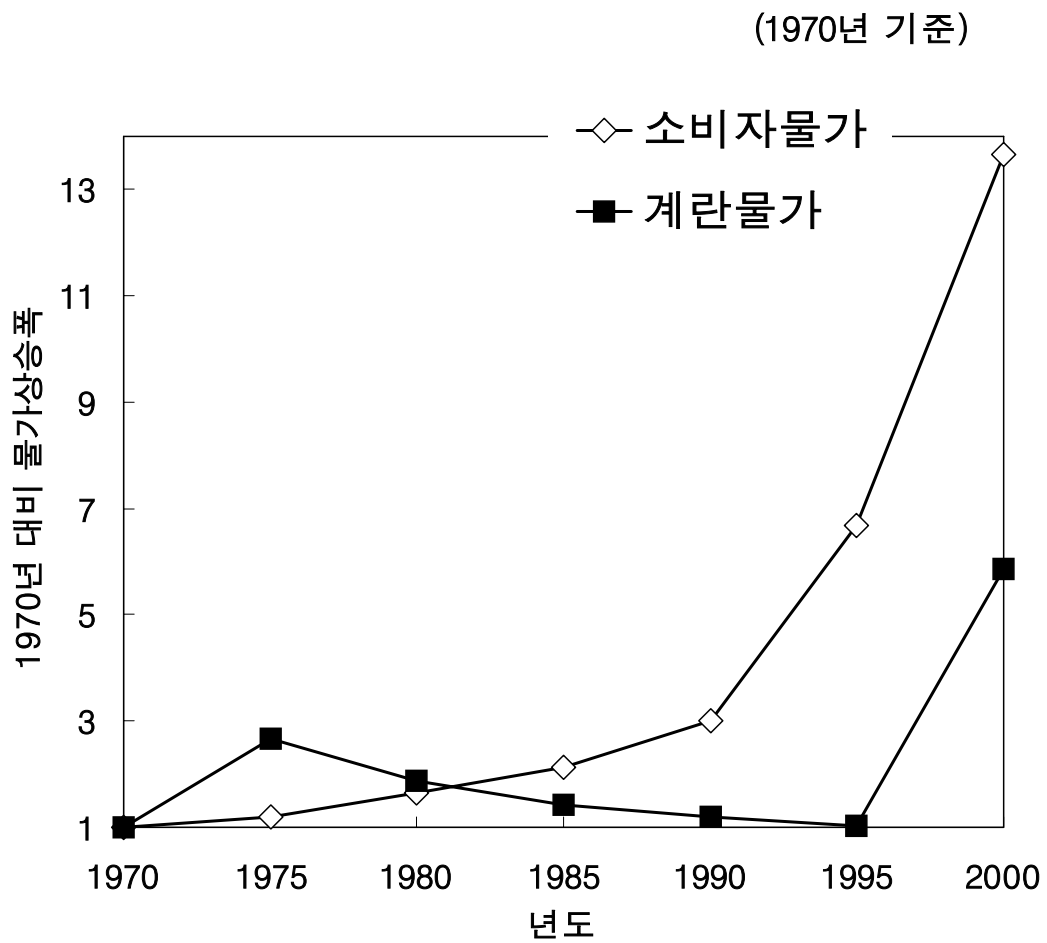


Fig. 1-1. 소비자 물가 대비 계란가격 변동율

Table 1-1. 연구개발내용과 범위

구 분	연 구 내 용	연구 범위
실용 공정 개발	주성분군별 분리 공정 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 분리 성분군별 조성을 비교 분석하고 이용성과 그에 따른 가공특성을 조사하여 분리 및 정제 공정을 확립</li> <li>· 공정의 연속성과 일관성 확립</li> <li>· 농축, 건조, 공정등을 이용한 2차 가공적성 검증</li> <li>· <b>경제성에 기초한 일관공정확립</b></li> </ul>
	분리, 가공공정 설비와 조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 액상 난황으로부터 <b>인지질, 중성지질, 난황 단백질, IgY</b> 추출, 분리</li> <li>· 적정 설비 및 조건 확정</li> <li>· 단위 공정간 연계성 확립</li> </ul>
	미이용성분의 가공적성 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 중성지질 이용적성조사</li> <li>· <b>난황단백질을 이용한 재조합육의 제조와 안정성 검증</b></li> </ul>
기능성 란 단백질 연구	단백질 성분별 분리 및 정제 방법 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 이온교환 크로마토그래피, 전기영동등의 방법 중 최적 방법선발</li> <li>· 난백 단백질의 항균성 단백질인 <b>오보트랜스페린</b>의 분리및 정제방법 확립</li> </ul>
	기능성 연구 및 용도 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 식품소재로서의 가공적성(기포성, 응고성, 보수성) 연구</li> <li>· 분리 정제된 ovotransferrin의 이화학적 특성을 고려한 항균효과와 항곰팡이 효과 연구</li> <li>· 미생물학적 저해특성 조사</li> </ul>
경제성 분석	수요예측과 시장분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 전 세계적인 기술동향과 시장현황 분석</li> <li>· 각 성분별 <b>수요 예측</b></li> <li>· 공정별 비용 분석방법 표준화</li> </ul>
	모형별 경제성 분석에 의한 공정 최적화	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 성분의 물리적, 화학적, 기능적 특성에 따라 요구되는 단위공정에 대한 비용분석</li> <li>· 공정모형과 생산여건에 따른 비용과 수요예측에 의한 시장형성가격 비교분석으로 경제성 있는 생산공정도출</li> <li>· <b>경제성 있는 표준 일관공정모형 확립</b></li> </ul>



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

난(egg)의 거의 모든 성분들이 새로운 생명을 탄생시키는 데 기여한다는 측면에서 난 중의 각 성분들의 생리적 기능과 역할에 대한 연구가 계란을 중심으로 다양하게 이루어져 왔다(Okubo 등, 1997). 그에 따라 계란 유효성분의 분리와 이용에 관한 연구와 실용화도 다양하게 전개되고 있다. 난각의 칼슘을 이용하기 위해 칼슘섭취원이나 탄산칼슘의 용해열을 이용한 도로결빙방지제등 다양한 시도가 이루어지고 있다. 난막은 피부세포의 재생에 효능이 있는 것으로 알려지고 있다(Arias 등, 1991; Starcher and King, 1980). 난백의 다양한 단백질들은 여러 가지 생리활성기능과 항균효과를 가지고 있으며, 특히 라이소자임은 가장 많이 연구가 되어 이용되고 있는 단백질이다(Fleming, 1992). 난황 인지질은 식용이나 주사제, 유화제로 활발히 이용되고 있는 성분으로서 전 세계적으로 가장 많이 생산되어 유통되고 있는 성분중의 하나이다. 특히 각각의 난황인지질들은 고유의 생리적 기능으로 인해 연구자들의 관심이 되고 있으나 분리, 정제의 어려움으로 기능성연구에 한계를 나타내고 있다. 난황단백질중의 포스비틴(phosvitin)은 인단백질로서 칼슘의 이동에 관여하는 것으로 알려지면서 그 기능적 특성에 대해 관심이 커지고 있다(Castellani 등, 2003, 2004; Choi 등, 2005).

전 세계적으로 계란의 성분별 추출, 분리에 의한 제품화는 일본 및 미국의 기업체를 중심으로 이루어져 왔으며, 점차 증가하는 경향을 보이고 있는 것으로 판단된다. 일본에서는, 큐피와 같이 계란을 이용한 식품을 제조하다가 계란의 유용성분에 착안하여 성분의 추출, 분리로 사업영역을 다각화한 경우에서 보는 것처럼, 상당히 오래 전부터 계란의 기능적 이용성에 주목하고 심도 깊은 연구가 이루어져 왔다. 상업적인 측면에서는 식품소재로 이용가능성이 높고 용도가 다양한 인지질을 중심으로 제품화가 이루어져 왔으며, 최근에는 전 세계적으로 상대적으로 안전한 면역체(IgY)의 분리와 이용에 대한 관심도 증가하고 있다. Akita and Nakai (1992, 1993a)를 비롯해서 많은 연구자들에 의해 다양한 항체 분리방법이 개발되어 이용되고 있다. 국내에서는 두산 바이오텍사에서 주로 인지질을 추출하여 식품, 주사제, 또는 화장품소재용으로 국내외에 공급하고 있다. 또한 난황면역체(Immunoglobulin)가 다량 함유된 계란을 생산하여 추출, 이용하기 위한 시도가 다양하게 이루어지고 있다. 생명과학의 발전과 지

구환경변화에 대한 우려로 인해 생물 산업이 새로운 측면에서 관심을 받고 있는 상황에 비추어볼 때, 란 성분들의 이용성은 식품, 의약품, 화장품분야에서 점점 커질 것으로 기대된다.

계란 중의 유효성분의 종류와 그 물리, 화학적 특성은 워낙 다양하여 분리, 정제 및 가공을 위한 설비 및 기기가 광범위하게 요구된다. 이러한 이유로 인해 전 세계 대부분의 업체들이 상업적으로 관심이 있는 특정성분만 추출하여 분리 한 뒤 잔여물은 폐기하는 공정을 대부분 채택하고 있는 것으로 생각된다. 한편 생명공학의 발전에 따라 유용한 기능성성분들의 선택적 대량생산에 대한 가능성이 점점 커지고 있으며, 그 때 개체로서 계란의 중요성이 더 크게 부각되고 있는 추세에 있다. 동시에 천연 기능성 식품소재의 선호도가 높아짐에 따라 생물자원으로부터 경제적인 공정에 의한 적절한 가격수준의 공급이 요구되고 있다. 이런 점에서 장기적으로 볼 때, 특화된 유용성분 추출공정을 계열화함으로써, 계동적인 추출과 분리 에 의해 이용의 효율성을 극대화 하는 방향으로 관련분야의 재편이 이루어질 것으로 전망된다. 따라서 계란유효성분의 효율적 이용을 위한 추출 및 가공공정개발을 위해서는 관련부문의 연구를 위한 학문적 뒷받침과 아울러 원료가격, 유효성분의 시장가치, 분리 및 가공비용, 향후 시장 진입전망 등 다양한 경제적 변동요인을 감안한 종합적이고 실질적인 접근이 필요하다.

## 제 3 장 난황주요성분의 계통적 분리공정개발

### 제 1 절 연구내용에 따른 실험방법

#### 1. 성분별 분리

##### 가. 물을 이용한 IgY 분리와 정제

난황무게의 9배의 증류수를 가해서 교반하면서 pH를 5.0으로 조정 한 후 4℃, 2800 x g 에서 40분간 원심분리 한다(Nakai and Nakai, 1992; Kim and Nakai, 1996). 원심 분리한 뒤 상층액을 한외여과 하여 분리한다 (cut-off size 100,000 dalton, Kim and Nakai, 1996, 1988). 이때 0.025% 카라기난을 혼합하여 상층액을 침전한 뒤 다시 2,800 x g로 원심분리하면(Hatta 등, 1988, 1990), 상층액에 존재하는 인지질을 대부분 제거 할 수 있어 한외여과의 효율성이 좋아지는 반면, IgY 수율은 낮아지는 단점이 있다. 90%이상의 고순도 IgY는 CM cellulose Cation Exchange Chromatography로 정제하여 얻는다. 그러나 이 방법은 실험실적 규모에서는 용이하나 대량생산 규모로는 적합하지 못하다. 40% Ammonium Sulfate용액에서 IgY는 침전되며(Hanson 등, 1998; Cook 등, 2001), 따라서 대량분리에도 적용가능 할 것으로 판단된다. 먼저 한외여과 후 농축된 상층액에 있는 대부분의 단백질들은 20% Ammonium Sulfate용액으로 침전시켜 얻는다. 그 후 Ammonium Sulfate농도를 40%로 올려 잔여 IgY를 회수한다. 여과 후 침전물을 다시 물에 녹인 후 40% Ammonium Sulfate용액에서 다시 침전시켜 IgY의 순도를 높인다.

##### 나. 인지질, 중성지질과 난황단백질 분리

위에서 물을 가해 원심분리 하여 상층액을 제거하고 남은 난황 잔유물에 4배의 순수 에탄올을 넣은 후 homogenizer로 교반하여 2400 x g에서 15분간 원심분리 한다. 상층액은 분리하여 rotary evaporator로 건조시켜 인지질 층을 얻는다. 건조된 시료 0.15g에 chloroform을 1 mL넣어 TLC용 시료를 만든다. 에탄올로 분리하고 남은 잔유물에 4배의 헥산(n-hexane)으로 남은 지질성분을 3회 반복하여 추출하고 rotary evaporator로 헥산을 제거하여 중성지질을 얻는다. 추출한 중성지질은 rotary

evaporator로 건조시켜 중성지질층을 얻는다. 건조된 시료 0.15g에 chloroform을 1 mL넣어 TLC용 시료를 만든다.

다. 액상 추출법(liquid extraction)에 의한 중성지질의 분리

알콜로 인지질을 분리하고 남은 잔류물에서 유기용매를 쓰지 않고 중성지질을 분리하기 위해 물을 이용하는 방법을 시도해 보았다. 인지질을 제거한 난황과 물의 혼합비는 1:5-10, sonication(power sonic 405, 화신 테크)의 세기는 강(220W), 중(160W), 약(120W), 추출시간은 2-10분으로 변화시켰다. 실온에서 인지질을 제거한 난황과 물을 교반하여 혼합한 뒤, 용액이 담긴 용기를 수욕조에 담그고 초음파를 가한다. 일정 시간 처리 후 3000g에서 수분간 원심분리하여 얻은 상층액을 분액깔때기에 넣어 상층의 지질을 분리해 낸다. 수분을 제거하고 추출된 지질량을 계산한다. 분리된 지질층의 입자가 작아 분산되어 있을 경우 실험의 정확성을 기하기 위해 분액깔때기에 옮긴 상층액에 에테르를 넣어(1:1, v/v) 물층과 분리한 뒤 에테르를 제거하고 녹아 있는 지질량을 측정한다. 액상추출에 의한 잔류지질 추출비는 soxhlet법에 의해 추출된 지질 대비 액상추출에 의해 얻은 지질의 백분율로 나타내었다.

라. 헥산(n-hexane)추출물로부터 중성지질과 인지질의 분리와 정제

위의 헥산추출물에서 헥산을 제거하고 남은 지질에 2배의 에탄올 (최종 에탄올함량 85%)을 넣고 교반한 뒤, 2400 x g 에서 5 분간 원심분리 한다. 분리된 상층액(에탄올층)은 주로 인지질이며, 하층액은 주로 중성지질로 이루어져 있다. 분리한 하층액을 2배의 에탄올로 추출하는 과정을 2회 더 반복하여 중성지질층으로부터 인지질을 제거하여 정제도를 높인다. 알코올 분리층을 모은 뒤 evaporator로 알코올을 제거한 후 남은 인지질을 2배의 아세톤을 넣고 교반한 후 냉동실에서 1시간가량 보관하거나 2400 x g 에서 5 분 동안 원심분리 하여 층 분리가 일어나게 하여 인지질중의 중성지질을 분리해 내어, 인지질의 순도를 높인다. 분리된 아세톤 상층액은 용매를 제거한 뒤 앞에서 분리한 중성 지방층에 합쳐 최종수율을 얻는다. 하층에 남은 인지질은 용매를 제거한 뒤 무게를 측정한다. 헥산과 아세톤으로 분리한 중성지질 중 미량으로 남아있는 인지질은 caustic soda를 이용한 통상적인 방법으로 탈검한 뒤, 산성백토나 활성탄소, 지올라이트등으로 탈색하여 정제함으로써 이용범위를 높인다(Ferreiro 등, 2005). 난황에서 주요 성분별 계통적 분리과정과 기본조건은 Fig. 3-1에 나타나 있다.

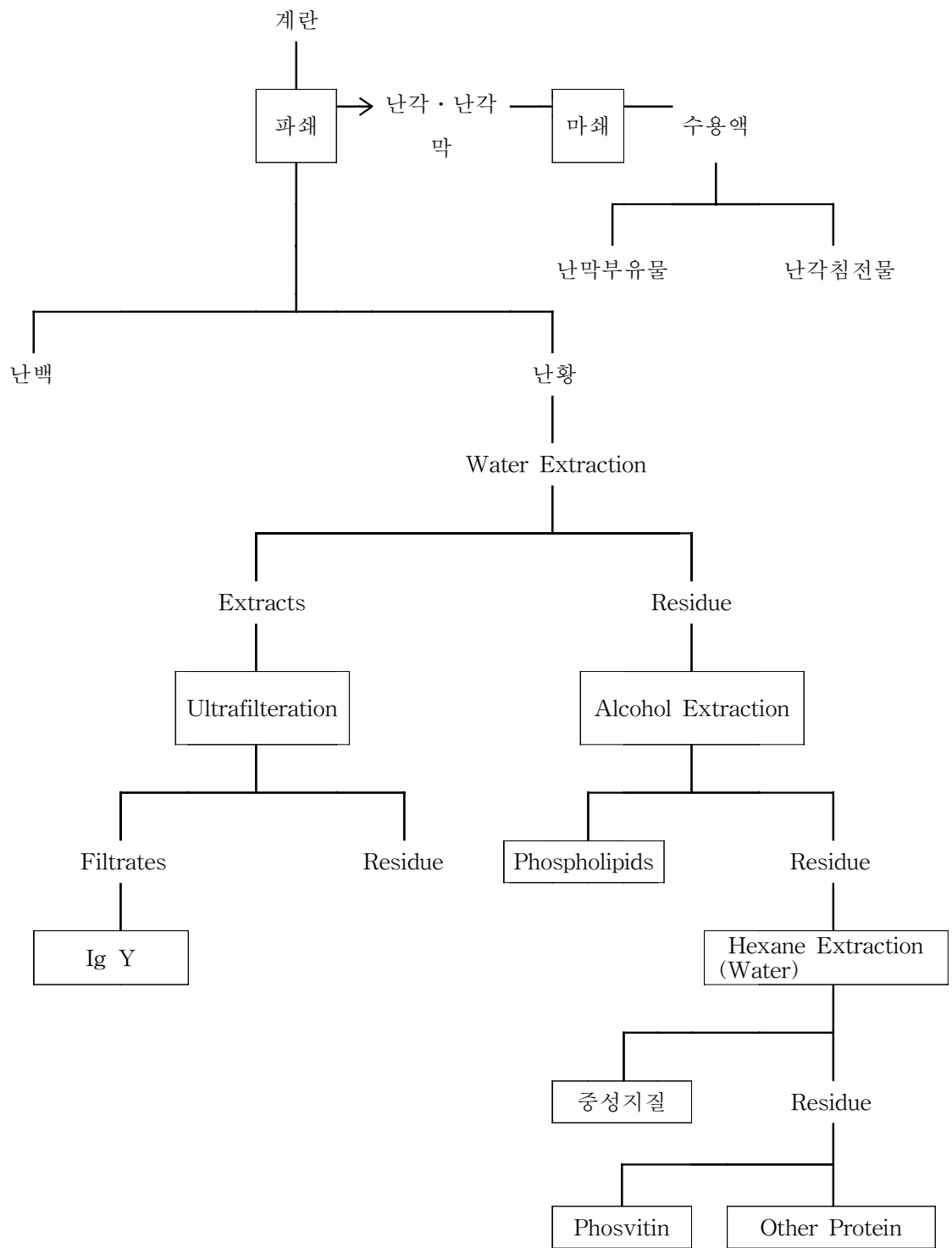


Fig. 3-1. Overall Processing Scheme

마. 탈지 난황단백질에서 phosvitin분리

난황에서 계통적으로 물에 의한 IgY, 알콜에 의한 인지질분리, hexane에 의한 중성지질을 분리하고 남은 단백질에서 헥산을 실온에서 제거한 뒤 남은 단백질을 분쇄한다. 분쇄된 단백질에 1.74 M(pH 7.0) 소금용액을 9배(w/v)첨가하여 추출하면서 4℃에서 12시간 방치한다(Castellani 등, 2005; Choi 등, 2005). 상층액을 여과하여(Whatman #4) 불순물을 제거한다. 여과한 액을 0.45 μm cellulose membrane(10k dalton)으로 다시 여과하여 불순물을 제거한 후 1차로 한외여과(Milipore Labscale TFF System, 42LSS11) 하여 50mL까지 농축한다. 다시 10배의 증류수를 가한 뒤 2차여과하여 50mL로 농축하면서 염을 제거한 뒤, 동결 건조하여 성분을 분석한다.

## 2. 분석방법

가. 일반성분분석

고형분은 항량건조법(105 ℃), 조단백질은 Kjeldahl법(AOAC Official Method, 960.52), 조지방은 Soxhlet추출법에 의해 정량하였으며. 칼슘과 인지질은 적정법(AOAC Official Method, 923.09, 935.13)과 더불어 기기분석(Atomic Absorption Spectroscopy)을 병행하였다. 단백질은 Bradford법(Compton and Jones, 1985)에 의해 595nm에서 측정하였다.

나. IgY 분석

**Western blotting**에 의한 **IgY**의 특이성을 측정하여 확인하였다. 이온교환수지를 통과한 시료를 2-mercaptoethanol이 들어 있지 않은 완충용액과 섞은 뒤, SDS-PAGE를 실시했다. 젤에서 단백질을 nitrocellulose membrane(Bio-Rad)으로 8시간동안 30mA에서 이동시켰다. Alkaline phosphate conjugated antichicken IgG (Sigma-Aldich)를 항체로, Alkaline Phosphate Conjugate Substrate Kit(Bio-Rad)를 발색시약으로 사용하였다. PBS-Tween(1% Tween 20) 완충용액을 세척용으로 사용하였으며, blocking step은 3%의 탈지분유가 함유된PBS-Tween 완충용액으로 일어나게 하였다.

정제분획별 IgY정량은 ELISA법에 의해 이루어 졌으며, 각 정제단계별 순도를 확인하였다. 각 분리 단계에서 정제된 IgY를 항원으로, Anti-chicken 항원을 항체로 사용하였다. Immulon I micro titer 96 well plates (Shimizu 등, 1988)를 solid support로 사용하였다. Plate 내 각각의 well들은 항원 100 $\mu$ l 가 용해된 코팅용액으로 코팅 후 4 $^{\circ}$ C 에서 12시간 보관한다. Well이 항원으로 코팅 된 Plate는 PBS-Tween (0.05% Tween 20)로 3회 세척 후, 1% BSA(bovine serum albumin)이 포함된 PBST용액 300 $\mu$ l씩 well에 주입하여 실온에서 1시간 Blocking한 후, 다시 PBST로 3회 세척한다. 앞의 과정이 끝난 후 PBS(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)로 1:10,000으로 희석된 antichicken IgG (alkaline phosphatase conjugate)를 각 well에 100 $\mu$ l씩 채우고 반응시킨 뒤, PBST로 5회 세척한다. 다시 Alkaline phosphatase yellow (pNPP: p-nitro-Phenylphosphate) liquid substrate를 50 $\mu$ l씩 주입하여 30분간 발색시킨 후, 3 N NaOH 용액 50 $\mu$ l를 넣어 반응을 중지 시킨다. 405nm에서 ELISA reader로 흡광도를 측정한다.

#### 다. TLC에 의한 지질분석

용매를 제거한 지질성분을 클로로포름에 150 mg/mL가 되게 용해시킨 뒤 무수알콜 2방울을 떨어뜨려 인지질을 용해시킨다. 열로 활성화시킨 (120  $^{\circ}$ C, 2 hr) 실리카겔 G plate에 sample을 올린 뒤, chloroform : ethanol : water 비율이 98 : 38 : 6인 용매를 10 cm 전개시킨다(40분소요). 공기로 건조한 후 hexan과 diethyl ether비율이 120:30인 용매를 약 20분 동안 15cm 전개시킨다.다시 공기 건조 후 0.1%(w/v) 2'7'-dichlorofluorescein 에타놀용액을 분무한 뒤 자외선으로 표준시약과 비교하여 동정한다(Ahn 등, 1997).

### 3. 주요성분의 이용성 조사

#### 가. 난각칼슘용해 식초의 마요네즈 제조적성

난각을 깨끗이 씻은 뒤, 분쇄하여 양조식초(산도 6.62%)에 넣고 실온에서 칼슘을 용해시키면서 시간별로 용해된 칼슘량을 측정하였다. 식초용액은 3일내 포화되며, 포화칼슘량은 3.13%(w/w) 로 나타났다. 식물성유지 65%, 포화칼슘식초용액 15%, 난황

15%, 설탕 3%, 소금 2%의 무게비로 통상적인 방법에 의해 마요네즈를 만든다. 또한 칼슘포화식초와 양조식초의 혼합비율을 조절하여 칼슘농도가 서로 다른 식초를 만든다. 식초중의 칼슘농도별로 마요네즈의 점도를 측정하였다. 제조된 마요네즈를 21℃로 유지하면서 보존시간별, 저장온도별로 회전점도계(Brookfield model LVT)를 사용하여 spindle No. 6, 회전속도 4rpm에서 5분간 회전시킨 후 점도변화를 측정하였다. 제조된 마요네즈의 pH와 식초함량을 통상적인 방법에 따라 측정하고 관능검사를 실시하여 품질특성을 비교하였다. 쓴맛, 고소한 맛, 색깔, 향미와 전체적인 맛을 매우 좋음(5), 좋음(4), 보통(3), 나쁨(2), 매우 나쁨(1)으로 구분하여 평가하였다(이광옥, 이영춘, 1995).

#### 나. 동물실험에 의한 난각 칼슘의 흡수율비교

난각 칼슘의 흡수율을 다른 칼슘원과 비교해 보기 위해 멸치유래 칼슘과 초산(식초) 용해 난각 칼슘을 제조하여(신형순, 김공환, 1997) 실험쥐를 통하여 흡수율을 비교하였다. 양조식초(제조원, pH, 산도)에 난각과 난각막을 넣어 칼슘을 용해시켜 포화용액을 만들어 시료로 사용하였다. 멸치칼슘이 흡수될 때 식이에서 유기산의 효과를 알아보기 위해 식초를 계란칼슘용해식초와 같은 비율로 식이에 첨가하였다. 실험쥐의 식이를 동일하게 하고 칼슘원별로 칼슘함량과 유기산함량을 동일하게 하여, 적응기간이 지난 실험쥐에 3일간 투여하면서 사육기간 중 섭취량과 배설량의 차이로 흡수율을 구하였다. 식이조성은 Table 3-1에 나타내었다.

#### 다. Phosvitin phosphopeptide의 제조 및 calcium binding capacity 측정

분리된 액상의 phosvitin을 인정량 법(molybden blue)과 단백질 측정법(Bradford method, sigma, USA)으로 순도와 함량을 측정하였다. Phosvitin phosphopeptide는 Trypsin으로 분해하여 얻었다(Choi 등, 2005). 효소대 기질 비율이 1:1000(w/w)으로 되도록 0.1%(w/v) trypsin(Sigma, USA) 용액(pH 7.0)과 분리된 액상의 phosvitin을 섞는다. 0.1M의 HCl로 용액의 pH를 7.0으로 보정하여 37℃에서 6시간 반응시키고 난 후, 90℃에서 10분간 열처리하여 효소반응을 종결시키고, 원심분리(10000 x g, 5 분)한다. 상층액을 취하여 SDS-PAGE를 통해 phosphopeptide의 생성 유무를 확인한다. Phosvitin과 분리된 phosphopeptide의 calcium binding capacity를 비교하기 위하여 분리된 phosphopeptide의 철(iron)은 1%(w/v) chelex 100(iminodiacetic acid, sigma)



Table 3-1. Diet 조성표

단위 (g/kg)	달걀껍질	껍질in식초	멸치	멸치+식초
Casein	200	200	154	154
Corn oil	50	50	44.1	44.1
Vitamin mixture	10	10	10	10
Mineral mixture	40	40	40	40
α-Cellulose	50	50	50	50
Corn starch	640	645	582	582
DL-Methionin	3	3	3	3
Choline chloride	2	2	2	2
시료	5	식초186ml	114.9	114.9+식초186ml

용액에서 실온에서 1시간동안 교반하여 제거한다. (철이 제거된) phosphopeptide 용액 (10mg/20mL)과 phosvitin용액 (10mg/20mL) 에 각각 0.1M CaCl<sub>2</sub> 용액 1mL을 넣고 1분간 교반 후 칼슘 이온 전극(pHoenix Electrode Co., USA)이 연결된 측정기(730P, Istek, Korea)로 자유 칼슘 이온량을 측정하여 calcium binding capacity를 분석 하였다(Park and Allen, 1998).

라. 난황단백질을 이용한 turkey breast roll의 제조

#### 1) Turkey breast roll의 제조

세 가지의 서로 다른 조성 (Table 3-2), 2%의 대두단백을 함유(대조구)와 1%의 대두단백과 1%의 분리 난황단백을 함유, 2%(w/w)의 분리난황단백 함유를 가지는 Turkey breast roll을 제조하였다. 각각의 조성비에 따른 원료들을 마쇄한칠면조 가슴살과 3분간 혼합한 뒤, 직경 11.5cm의 케이싱에 충전하여 4 °C에서10시간이상 방치하면서 transglutaminase에 의해 가교를 형성하도록 한다. 그 다음 내부온도 75°C 의 훈연실에서 열처리한 뒤, 즉시 냉수를 10분간 뿌려(coldwater shower) 냉각시키고 4°C 에서 4시간 동안 저장한다. 제조된 시료들을 조직감 측정을 위해 2 cm 두께로, 다른 분석을 위해 1cm 두께로 잘라 진공 포장하여 4°C 에서 14일 동안 보관한다. 색도, 휘발성물질, 조직감, TBARS값들을 0, 7과 14 저장일에 측정하였다. 일반성분분석은 저장 7일째에 이루어 졌다.

#### 2) 휘발성 물질

시료의 휘발성 성분들은 GC/MS (Model 6890/5973; Hewlett-Packard Co., Wilmington, DE, USA)에 연결된Solatek 72 Multimatrix-Vial Autosampler/Sample Concentrator 3100 (Tekmar-Dohrmann, Cincinnati, OH, USA)로 분석하였다 (Ahn and Lee, 2002). 1그램의 다진 칠면조 가슴살을 40 ml의 시료 병에 넣고 헬륨(순도 99.999%)으로 40 psi에서 5초간 치환한다. The vial was closed with a cap with Teflon septa로 밀봉한 뒤, 시료병은 4 °C에 보관하면서 분석시료 준비3시간 이내에 휘발성 물질을 측정한다(Ahn 등, 1999). 시료는 40°C로 가열한 뒤, 기체헬륨을 40mL/min의 속도로 11분간 흘려보낸다. 휘발성분들은 Tenax/charcoal/silica trap

column으로 20℃에서 포집하여, 220℃에서 2분간 탈착한 뒤 -90℃에서 cryofocusing unit로 농축하고 다시 220℃에서 30초 동안 유지하면서 GC column으로 흘려보낸다. HP-624 column (15 m, 250 m i.d., 1.4 m nominal), HP-1 column (60 m, 250 m i.d., 0.25 m nominal), 그리고 HP-Wax column (7.5 m, 250 m i.d., 0.25 m nominal)를 조합, 연결(zero-volume connector 사용)하여 휘발성분을 분석하였다. Mass selective detector (MSD)를 사용하여 휘발성분들을 동정하고 정량하였다. 표준정량물질과 Wiley library (Hewlett-Packard Co.)의 질량분석자료들을 이용하여 동정하였다.

### 3) 2-Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) 측정

다진 시료 5그램을 50 mL의 시험관에 넣은 뒤 50 mL의 butylated hydroxyanisole (7.2%) 와 15 mL 의 deionized distilled water (DDW)를 첨가하고 Polytron homogenizer (Type PT 10/35; Brinkman Instruments Inc., Westbury NY, USA)를 사용하여 15초 동안 고속으로 균질화한다. 1 mL의 균질시료를 시험관 (13x100mm)에 넣고 2 mL의 thiobarbituric acid/trichloroacetic acid (15 mM TBA/15% TCA)와 혼합한다. 혼합액을 15분 동안 끓는 수욕조에서 발색시킨다. 다음 시료는 냉수에 10분간 담가 식힌 뒤 4 ℃, 2,500 x g 에서 15분 동안 원심분리한다. 상층액의 흡광도를 531 nm에서 측정하고 TBARS물질량은 mg malonaldehyde/kg 시료로 표시한다(Ahn 등, 1997). 대조구 (blank)는 1 mL의 DDW와 2 mL의 TBA/TCA용액이 된다.

### 4) 색도 측정

Hunter LabScan Colorimeter (Hunter Laboratory, Inc., Reston, VA) 를 사용하여 시료(1cm 두께)의 표면 색도를 측정하였다. CIE L\* (lightness), a\* (redness)와 b\* (yellowness) 값을 illuminant A (light source)를 사용하여 얻었다. 시료의 각 절단 표면에서 색도를 측정하였으며, 통계처리를 하였다.

### 5) 조직감 분석

절단시료 (두께 2cm)는 스테인레스 강 표면에 고정하여 star-shaped, cheery-pitter probe (Texture Technology Corp., New York, NY, USA)가 수직으로 힘을 가하도록 한다. 각 시료는 TA-XT2i Texture Analyzer (Texture Technology Corp.)에 장착된 위의 probe로 50%의 압축강도로 두번 왕복 처리하였다. 절단시료 한 개당 조직감 변화

Table 3-2. Formulation of turkey roll

	(unit: %)		
	Control	1% EYP	2% EYP
Turkey breast	83.34	83.34	83.34
<b>Soy protein isolate (SPI)</b>	<b>2.00</b>	<b>1.00</b>	<b>0.00</b>
<b>Egg yolk protein (EYP)</b>	<b>0.00</b>	<b>1.00</b>	<b>2.00</b>
Ice water	10.91	10.91	10.91
Salt	1.50	1.50	1.50
Phosphate	0.25	0.25	0.25
Transglutaminase	1.00	1.00	1.00
Sodium caseinate	0.50	0.50	0.50
<u>Dextrose</u>	0.50	0.50	0.50

Abbreviation: egg yolk protein.

도 분석(TPA)을 2회 행하였다. 각 처리구당 4개의 절단시료를 측정하였다. hardness, cohesiveness, springiness, chewiness와 resilience값을 force-time curve에서 얻어 계산하였다(Bourne, 1994).

#### 6) 통계처리

Statistical Analysis System (SAS 2000)의 General Linear Model (GLM)을 이용하여 통계처리하였다. 평균값의 차이는Tukey's multiple comparison을 이용하여 비교하고, 평균값과 표준편차는 95%신뢰구간( $P < 0.05$ )에서 구하였다.

마. 난황유를 이용하여 Lutein 이 강화된 소시지개발

#### 1) 중성지질회수

난황에서 4배의 무수알코올로 인지질과 콜레스테롤을 추출하였다. 원심분리 하여 얻은 침전물을 4배의 아세톤으로 3회 추출하여 냉장실에서 보관하여 미량 존재하는 인지질과 콜레스테롤을 침전시켜 제거하였다. 용매를 감압 증류하여 제거하고 얻은 중성지질을 시료로 사용하였다.

#### 2) 소시지제조

신선한 돼지고기(95% fat-free)살을 이용하여 난황의 중성지질함량을 달리한 소시지들을 만들었다. 대조구로 돈지만을 사용한 것과, 5% 난황중성지질과 10%돈지, 10% 난황중성지질과 5%돈지, 15% 난황중성지질을 사용한 4개의 소시지 시료를 만들었다. 기본 배합비는 지방 (15% of lean meat), 소금 (2%), 얼음 (10%), 분리대두단백1% (단백질 함량90%)과 아질산염0.02%로 구성되었다 (Table 3-3). 향신료에 존재하는 물질의 항산화 효과나 휘발성물질의 혼입을 방지하기 위해 별도의 향신료는 전혀사용하지 않았다. 제조된 소시지는 수증기로 75 °C 로 유지된 훈연실에서 열처리(cooking)한 뒤, 얼음물에서 냉각하였다. 처리가 끝난 소시지의 반은 진공포장기(Multi Vac)로 불투과성 nylon/polyethylene bag ( $O_2$  permeability, 9.3 mL  $O_2/m_2/24$  h at 0 °C)에 포장하고, 반은 산소투과성 포장지에 진공 포장한다. 포장한 뒤 4 °C의 냉장실에서4주까지 보관하면서 소시지의 색도, 지질산화물, 휘발성물질, 조직감, 관능특성들을 측정한다

Table 3-3. Formulation of sausages

	(unit: wt.%)			
	Control	5% egg oil	10% egg oil	15% egg oil
Pork loin	64.62	64.62	64.62	64.62
<b>Pork back fat</b>	<b>15.00</b>	<b>10.00</b>	<b>5.00</b>	<b>0.00</b>
<b>Extracted egg oil</b>	<b>0.00</b>	<b>5.00</b>	<b>10.00</b>	<b>15.00</b>
Ice water	16.4	16.4	16.4	16.4
Salt	2.2	2.2	2.2	2.2
Modified starch	1.5	1.5	1.5	1.5
White pepper	0.1857	0.1857	0.1857	0.1857
Nutmeg	0.0457	0.0457	0.0457	0.0457
Ascorbic acid	0.0386	0.0386	0.0386	0.0386
Sodium nitrite	0.0100	0.0100	0.0100	0.0100

다. 색도는 Hunter color meter, 조직감은 TA-XT2i Texture Analyzer (with a star-shaped, cheery-pitter probe)로 측정하였다. 지질산화는 2-Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 측정법을, 휘발성 물질은 dynamic headspace/GC-MS법을 이용하였다.

## 제 2 절 연구내용과 결과

### 1. 계란난황성분 분리공정총괄

계란은 난황이 32.5%, 난백이 57.3%, 난각이 10.2%를 차지하고 있다. 난황과 난백중 수분은 각각 48.7%와 87.6%를 차지하며, 난백고형물의 대부분(85.4%)은 단백질이 차지하고 있다. 또한 난각과 난각 막에는 난각 막과 난각을 합친 무게에서 각각 4.23%와 2.54%에 해당하는 다양한 단백질이 존재한다(Table 3-4). 난각중의 칼슘은 대부분 탄산칼슘 ( $\text{CaCO}_3$ )의 형태로 존재한다. 난황 1 mL중 IgY는 25 mg정도 함유(Hatta 등, 1997)되어 있으며, 난황고형물중 지질은 60.7%, 단백질은 32.3%를 포함하고 있다. 중성지질은 지질의 65%를 차지하며, phosphatidylcholine(PC)과 phosphatidylethanolamine이 각각 지질의 26%와 3.8%를 차지하여 인지질의 대부분을 이루고 있다. PC의 섭취는 뇌의 choline함량을 증가시키며, acetylcholine의 생합성을 촉진한다. Choline의 결핍은 성인의 간을 비정상적으로 형성하게하고, 여성은 folic acid의 결핍을 야기한다. 그 외에 cholesterol과 sphingomyelin이 각각 4%와 0.6%를 차지하고 있다. Phosvitin은 인이 분자량의 10%를 차지하여 난황에 존재하는 인의 80%를 함유하고 있다. 정제된 phosvitin은 5.5-6.5%의 탄수화물을 함유하며, 난황단백질의 7%를 구성한다. 분자량 40,000의 인단백질로서 황을 함유한 아미노산이 거의 없고 serine이 전체 아미노산의 31%를 구성하고 있다. 특히 serine은 인산과 ester결합을 하여 phosphoserine으로 존재한다. Phosphoserine이 철이나 칼슘이온과 결합하여 운반체로 작용하는 것으로 알려져 있다. 한편 계란이 철의 흡수율을 떨어뜨리는 원인이 되기도 한다. 또한 간에서 난포세포까지 철을 운반하는 기능이 있으며, phosvitin으로부터 유도된 phosphopeptide는 골다공증을 방지하는 것으로 알려져 있다(Sugino 등,

Table 3-4. General Chemical Composition of Hen Egg(Average Values, g/egg)

	Water	Protein	Carbohydrate		Lipid	Mineral	
			Free sugar	Conjugated Oligosaccharides			
Egg yolk	18.7	9.1	3.1	0.131	0.056	5.83	0.318
Egg White	33.0	28.9	3.5	0.132	0.165	0.002	0.231
Eggshell membrane	5.9	0.1	0.25	-	-	-	5.9
Eggshell			0.15	-	-	-	
Total	57.6	38.1	7.0	0.263	0.221	5.832	6.449

(from Hen eggs, Takehiko 등)



1997; Jeneja and Kim, 1977).

식품용으로 안전성이 입증되어 이용가능한 물, 알코올(ethanol)과 유기용매로서 헥산(n-hexane)을 사용하여 난황 중 면역단백질(IgY), 인지질, 중성지질, 난황단백질과 난황 단백질 중 대부분의 인을 함유하는 phosvitin을 계통적으로 분리하였다. 아직 국내에서는 허가되지는 않았으나 허용국가가 늘어나고 있는 아세톤을 인지질과 중성지질의 추출, 분리에 적용해 보았다. 계란 주요난황성분들의 분리공정과 중요한 조건들은 Fig. 3-2 에 나타내었다.

난백과 분리한 난황을 10배의 pH 5.0의 물로 2800 x g에서 원심분리 하여 상층 액에서 IgY를 정제한다. 원심분리 하여 얻은 침전물을 4배의 무수 알코올과 혼합하여 균질화한 뒤 다시 원심분리 하여 인지질이 추출된 알코올 층(상층액)과 침전물을 얻는다. 알코올 층에서 감압증류에 의해 알코올을 제거하고 인지질을 얻는다. 알코올 층을 제거하고 남은 침전물에는 난황단백질과 대부분의 중성지질이 존재한다. 침전물에 4배의 n-hexane을 가하여 원심분리 하여 지질을 추출하는 과정을 2회 이상 반복한다. 분리된 n-hexane층을 감압 증발에 의한 농축으로 용매를 회수하고 지질층을 얻는다.

n-hexane을 제거하고 얻은 지질에 존재하는 소량의 인지질(5.6%)은 다시 알코올로 분리해 낼 수 있다. 2배(w/w)의 무수알코올과 함께 60℃로 가온하면 상층의 인지질층과 하층의 중성지질층으로 분리된다. 각층에서 알코올을 감압 증류하여 분리하여 인지질과 중성지질을 회수한다. 중성지질층에는 남아있는 미량의 인지질은 알코올로 재회수하거나 일반적으로 식용 유지를 정제할 때 쓰는 탈검(Kim 등, 2002; Yen 등, 2003)법에 의해 제거할 수 있다. 그러나 이러한 경우 추가 설비비용이 막대할 것으로 예상되어 실질적으로 적용하기는 어려울 것으로 판단된다. n-hexane으로 추출하여 얻은 중성지질층의 잔류인지질을 알코올로 제거하여 얻은 중성지질의 정제정도는 식품 소재용으로 이용하는 데 큰 무리가 없을 것이다. 각 성분별 구체적인 분리공정의 선택과 조건은 원료수급(액상난황 또는 건조분말난황)조건, 성분별 수요, 공정설비비등 수요와 공급의 변동요인에 따라 다양한 선택의 조합이 가능할 것이다. 주로 IgY를 포함하는 수용성 단백질을 분리하는 데 있어서 용매의 극성을 조절하기 위해 물의 pH를 조절하였다. 또한 물로 추출한 뒤 원심분리 하여 얻은 침전물을 알코올로 추출할

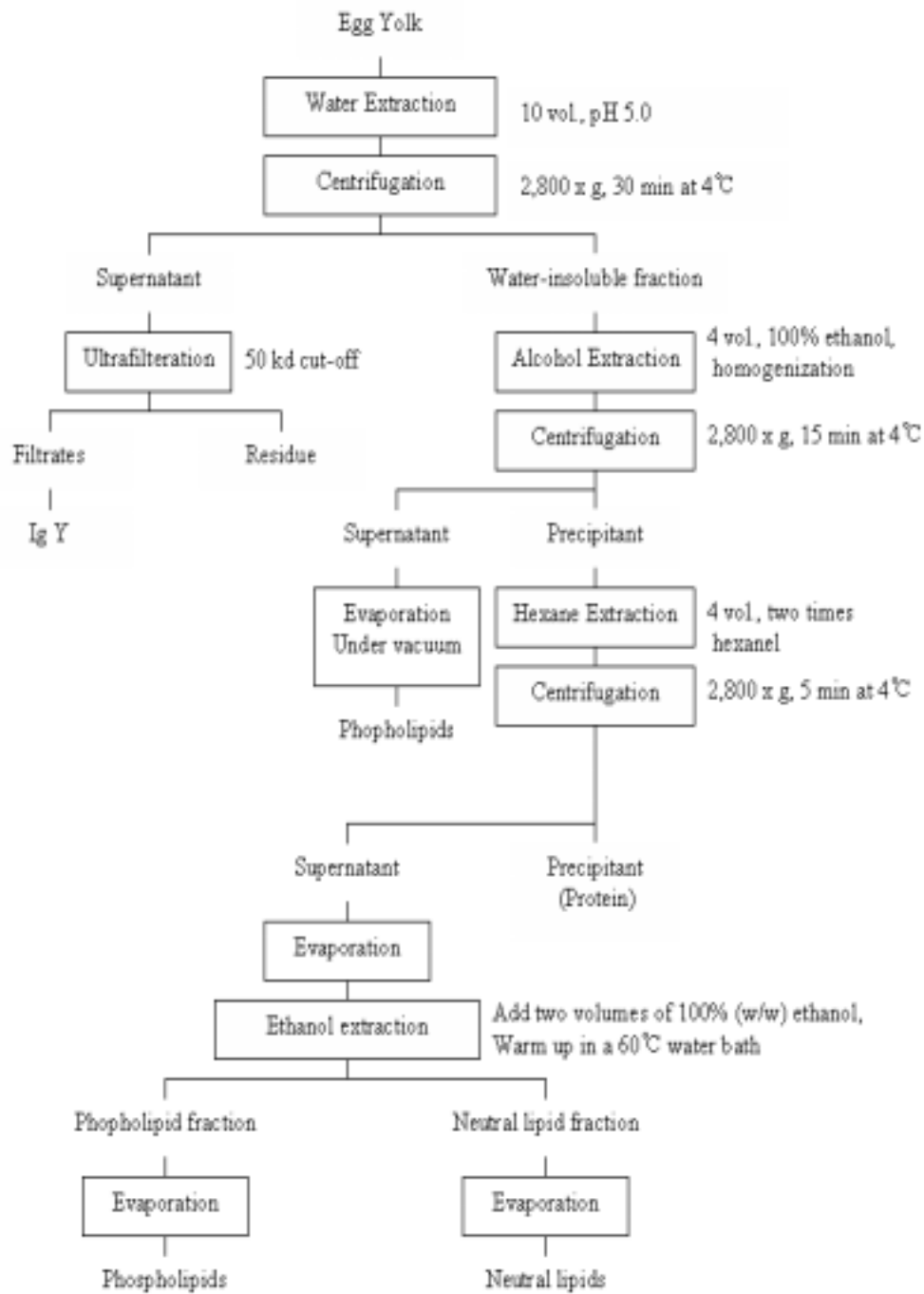


Fig. 3-2 Sequential separation Scheme for egg yolk components

때 침전물과 알콜 혼합물중 액상의 알코올농도를 공정변수로 삼았다.

9배 이상의 물을 사용할 때 난황에서 수용성물질의 분리가 가능하였으며, 물 추출액을 한외 여과하여 난황 중에 존재하는 IgY를 회수한다. 물 추출물에서 IgY를 포함한 수용성 단백질을 분리하고 남은 잔류물에서 알코올로 인지질을 분리할 때, 알코올의 함량비율을 높일수록 중성지질의 분리가 용이하였으나, 4배의 무수알코올을 사용할 때 인지질이 가장 많이 회수되고 분리된 인지질 중 중성지질이 가장 적게 함유되어졌다. 특히 난황의 IgY를 포함한 수용성 단백질은 10배(w/w)의 물로 충분히 분리되었으며, 용액의 pH가 5.0일 때 혼입되어 나오는 지질의 함량은 0.08%로 대비구(pH 6.3)의 지질함량(1%) 보다 훨씬 적었다. 따라서 용액의 혼탁도도 낮았다(Table 3-5, Akita and Nakai, 1992). 수용성 물질을 추출할 때 지질이 많이 혼입되어 있으면 다음의 한외여과에 의한 농축공정에서 여과막의 구멍을 막아 농축효율이 떨어진다. 또한 물 추출 용액의 pH를 5로 조정했을 때에 비해 조정하지 않은 상태에서 분리된 침전물에서 인지질과 중성지질을 제거한 난황 단백질에 잔류하는 지질의 양(5.4%)이 최적 조건에서 인지질과 중성지질을 분리하고 얻은 난황단백질에 잔류하는 지질의 양(0.4%)보다 더 많아 효과적이지 못하였다 (별도의 결과 생략). 난황과 10배의 물 혼합물은 교반하여 4℃, 2800 x g에서 40분 동안 원심분리 하여 물 추출물(supernatant)과 주로 지질과 단백질로 이루어진 침전물(water insoluble fraction)을 얻는다. 물 추출물은 한외여과를 통해 50-100kd 이하의 여과액과 잔류물로 분리한다. 난황중의 IgY는 95%이상 물로 추출되며, 한외여과 하여 분리된 여과액에 존재하는 IgY의 난황함량대비 분리수율은 80%로써(Table 3-6) 계속적인 정제과정을 거쳐 순도를 높인다. 물 추출물을 한외여과 하여 IgY를 분리하고 남은 잔류물은 주로 수용성 단백질로 구성되어 있으며, 이후 물 추출에 의해 나온 침전물에서 지질을 분리한 뒤 나온 단백질 층과 혼합하여 재이용할 수 있다. 동시에 별도로 가공하여 특성에 맞는 용도로 이용할 수 있는 가능성을 조사해 볼 필요도 있을 것으로 생각한다.

물 추출에 의한 침전물(water insoluble fraction)의 조성은 수분 69.2, 지질 20.8, 단백질 8.9, 회분 1.0%로서, 고형물은 주로 단백질과 인지질, 중성지질로 이루어져 있다. 식품용 알코올로 물 추출에 의한 침전물(water insoluble fraction)에서 인지질을 분리할 때 알코올과 침전물 혼합물중 용액의 알코올농도가 인지질의 추출수율과 최종적으

Table 3-5. Effect of pH adjustment on lipid content and turbidity of egg yolk supernatant after centrifugation

Treatment	Lipid (%)	Turbidity*
Control (pH 6.3)	1.00	2.97
pH adjustment to 5.0	0.08	0.33

\*Turbidity is the absorbance of sample at 600 nm. n = 4.

Table 3-6. Amount of IgY\*(mg) recovered at each separation step<sup>1</sup>

	IgY (mg)	Yield <sup>2</sup>
Total IgY	883.0	100
After water extraction (10 x)	845.0	95.9
After ultrafiltration	677.5	80.0

\*On the basis of IgY activity determined by ELISA. Values are average of 2 replications.

<sup>1</sup>Based on 100 g of liquid egg yolk as a starting material

<sup>2</sup>wt. % of total IgY present in egg yolk

Table 3-7. 난황침전물(yolk ppt)과 추출알콜함량비

사용알콜농도	알콜부피비율	난황침전물비율	최종용액알콜함량(% w/v)
absolute	4	1	85.3
90	4	1	76.8
80	4	1	68.2
70	4	1	59.7

로 인지질과 중성지질이 분리된 단백질 층의 잔류지질함량에 영향을 미쳤다. 참고로 물 추출에 의한 난황침전물(yolk precipitate: yolk ppt)과 알코올을 1:4(v/v)의 비율로 섞었을 때, 사용 알코올의 농도에 따른 최종 용액의 알코올함량(% w/v)을 아래 Table 3-7 에 나타내었다.

이어서 pH 5.0의 추출수를 난황과 섞은 뒤 원심 분리한 yolk ppt (Moisture 69.2, Lipid 20.8, Protein 8.9, Ash 1.0%)를 85% ethanol로 추출하였을 때 난황 고형분 중 8.6%를 얻었다. 이들은 대부분 인지질이며, 소량의 중성지질을 함유하고 있다. 난황 중에 존재하는 콜레스테롤은 거의 모두 알코올 층에 존재함을 알 수 있다(Table 3-8, 3-8). Acetone으로 추출할 경우에도 알코올과 마찬가지로 부피 비를 늘릴수록 인지질 층에 중성지질의 혼입이 많아 역시 분리 효율이 좋지 않았다. 한편 아세톤은 인지질을 추출하는 데 있어서 수율과 분리효율에서 알코올만큼 효과적이지 못하였다. 또한 용매사용에 따른 설비투자비와 유지관리비, 정제도에 따른 수입증가를 비교하여 종합적으로 고려해야 할 것으로 판단된다. 인지질을 분리하고 남은 침전물을 다시 hexane으로 추출하여 대부분 중성지질로 이루어진 13.5%의 고형분을 얻었다.

인지질과 중성지질을 분리하고 남은 난황 단백질에는 0.4%의 지질이 잔류하였다. 한편 위의 yolk ppt를 75% 알코올로 추출하면 7.6%의 인지질 층과, 14.3%의 중성지질 층이 분리되며, 남은 난황 단백질에 1.1%의 지질이 함유되어 분리효율이 좋지 않았다. pH를 조정하지 않은 상태(control, pH 6.3)에서 물 추출로 분리한 yolk ppt를 72%알코올로 추출하면 1.56g의 인지질 층과 12.1g의 중성지질층이 분리되고, 분리된 난황 단백질에는 5.4%의 지질이 존재하였다. 따라서 난황에서 알코올로 인지질을 분리할 때 난황과 알코올 혼합물중 액상의 알코올함량이 85%(w/v)정도에서 인지질이 잘 분리되고 수율도 높았다. 또한 분리된 난황 단백질 중 잔류지질양도 현저히 감소하였으며, 이러한 경향은 물로 수용성 단백질을 추출할 때 pH 조정효과와 더불어 더 뚜렷하게 나타났다.

추출단계별로 추출물(supernatant)과 침전물(precipitant)에 분리되어 분포되는 난황고형분의 성분함량을 Table 3-8에 나타내었다. Table 3-9에는 물로 추출하고 남은 잔류물을 알코올로 1회 추출하여 얻은 인지질 층과 그 잔류물을 hexane으로 1회 추출하

Table 3-8. Amount (g) of the yolk solids distributed to the supernatants and precipitants at each extraction step<sup>1</sup>

	Protein	Phospholipids	Cholesterol	Neutral lipids	Ash
<i>Supernatant</i>					
Water extraction	3.5±0.21*	0.2±0.03	-	0.3±0.02	-
Ethanol extraction	0.4±0.07	9.4±0.17	1.2±0.24	0.3±0.04	-
Hexane extraction	-	1.2±0.19	0.1±0.04	20.2±0.33	-
<i>Precipitant</i>					
Water extraction	13.6±0.32	10.6±0.38	1.4±0.32	20.6±0.44	0.7±0.36
Ethanol extraction	13.2±0.16	1.2±0.11	0.2±0.04	20.3±0.18	0.7±0.19
Hexane extraction	13.2±0.19	-	-	0.1±0.03	0.7±0.17

<sup>1</sup>Based on 100g of liquid egg yolk as a starting material. n = 4.

\*Average±standard deviation.



Table 3-9. Percent composition of solvent extracts\*

	Ethanol extract	Hexane extract following ethanol extraction
Phospholipids	86.2±0.16	5.6±0.16
Cholesterol	11.0±0.24	-
Neutral lipid	2.8±0.43	94.0±0.29

\*Average ± standard deviation. n = 4.

Table 3-10. 추출단계별 침전물의 일반성분(wt.%) 변화

	Moisture	Lipids	Protein	Ash
Whole yolk	48.7	33.2	16.6	1.5
Yolk after water extraction(pH 5.0)	69.2	20.8	8.9	1.0
Yolk after lipid extraction	10.0	0.8	86.1	3.1

여 얻은 중성지질층의 지질함량 비를 나타내었다. 알코올과 n-hexane 1회추출로 각각 85%와 94%이상의 순도를 얻었다. 알코올과 헥산추출에 의해 난황단백질은 순도 98% 이상으로 분리가 가능하였다(Table 3-8, 3-10).

## 2. 성분별 분리와 정제

### 가. IgY

#### 1) IgY 분리와 정제조건

난황중의 단백질은 대부분 지질과 비공유성(noncovalently)결합을 하고 있어 추출수의 pH를 조절하지 않으면 물로 분리할 때 평형에 도달하는 시간과 원심분리시간이 많이 걸린다. 난황을 물로 10배 희석한 뒤, 1N HCl을 사용하여 pH를 5.0으로 보정한 후 2,800 x g로 40분간 원심분리 하였을 때 상층액의 지질함량이 가장 적었다. 4 °C에서 난황을 추출수로 혼합하여 방치시간을 늘리거나, 원심분리시간을 늘려도 추출되는 수용성단백질 함량에는 큰 차이가 없었다(Fig 3-3, 3-4). 따라서 경제적인 대량분리 공정을 위해 물로 희석 후 바로 2,800 x g에서 30분간 원심분리 하였다. 난황을 pH 5.0의 물로 추출한 뒤 원심분리 하여 얻은 상층액에서 IgY를 분리하여 정제하는 과정을 Fig. 3-5에 나타내었다. 추출한 수용성단백질용액을 여과(Whatman #43)한 뒤 투입압력 25 psi, 실온에서 한외여과(50-100kD, Millipore hollow cartridge, Amicon, Inc., Beverly, MA)하여 50배 농축한 뒤 단백질함량을 Bradford method로 측정하였다. IgY(등전점pH 5.7-7.6)의 정제는 CM-Cellulose cation exchange resin으로 pH 5.4, 20mM MES buffer로 고정시킨 뒤 pH6.5, 200mM MES buffer로 회수(elution)하면 정제된 IgY의 순도는 85%이상으로 시도한 방법 중 비교적 효과적이었다.

회수액(eluent)을 pH 6.5의 citrate-phosphate buffer 또는 ethylene glycol로 투석하였다. IgY가 함유된 회수액(eluent)은 3000 x g에서 centricones(Bio-Rad lab., 100kD cut-off size)로 농축하여 사용하였다. 회수완충용액의 ionic strength(salt concentration)를 높이면 불순물이 많아져, 순도에 역효과를 미친다. Fig. 3-6와 Fig. 3-7에 이온 교환 수지에서 최적의 binding condition을 찾기 위한 ELISA결과와 동정을 위한 western blot 결과를 나타내었다. DEAE-Sephacel 수지에 결합시 완충액의

pH는 결합정도에 큰 영향을 미치지 않았다. 회수용 완충용액은 200mM Tris buffer일 경우, pH 8.0에서 회수율은 62%로 가장 높았으며, 순도는 50~60%로 나타났다.

## 2) IgY의 대량 분리, 정제공정

이상의 결과를 바탕으로 최적조건에서 좀 더 큰 규모로 IgY를 분리하고 정제한 결과를 Fig. 3-8에 나타내었다. 한외여과를 할 때 50kd의 분자량 분리막(membrane)을 사용하여 수율을 향상시킬 수 있었다. 양이온 교환수지(CM Cellulose)에서 Wash bufer로 20mM citrate-phosphate buffer (pH 5.0), Elution buffer로 200 mM citrate phosphate buffer(pH 6.4)를 사용했을 때 다른 buffer들의 조합보다 첫 번째 완충용액을 흘려보냈을 때 IgY가 많이 회수되고 2차 완충용액으로 회수되는 양이 적어 실질적으로 적용하는 데 가장 효과적인 것으로 나타났다(Fig. 3-9). ELISA로 각 분획별로 분리되어 나오는 IgY를 정량하여 확인하였다 (Fig. 3-10). 난황을 10배의 물로 추출한 뒤, pH를 5.0으로 보정 시 IgY는 거의 모두 수용액상으로 이동하여 분리되며, 분리된 단백질 중 IgY함량은 40%였다. 한외여과로 농축한 뒤 양이온 교환수지로 정제하면 수율은 85-90%, 순도는 80-90%수준까지 올릴 수 있다. 다시 투석하고 동결건조 하여 얻은 IgY의 최종 수율과 순도는 각각 86%와 88%였다. 한외여과액을 음이온교환수지(DEAE-sephadex)로 정제하면 수율과 순도는 각각 51-61과 50-60%로 나타났다.

그러나 이온교환수지법에 의해 얻을 수 있는 IgY는 실험실규모를 벗어나기 어렵다. 이온교환수지법대신 Ammonium Sulfate 침전법에 의해 IgY의 대량분리를 시도해 보았다. 물로 추출한 난황농축액에 분말 Ammonium Sulfate를 농도가 20% 되도록 첨가한 뒤 2800 x g에서 30분 동안 원심분리한다. 상층액을 분리한 뒤 40% 포화되도록 Ammonium Sulfate를 첨가하고 2800 x g에서 30분 동안 다시 원심분리한다. 침전물을 분리하여 증류수에 녹인 뒤 40% 포화 Ammonium Sulfate용액에서 다시 침전시킨다. 얻어진 침전물은 10배의 증류수로 세 번 투석하고 동결 건조한다. 건조된 IgY는 85%이상의 순도를 나타내어, 효과적인 분리공정이 될 수 있었다(50배 농축).

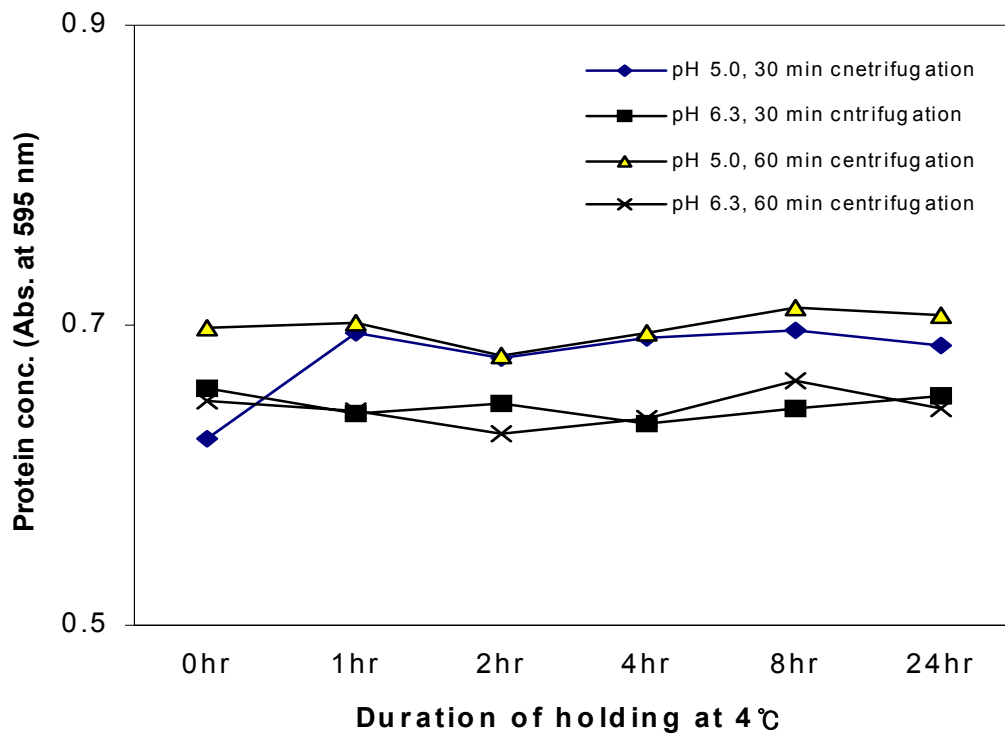


Fig. 3-3. Effects of pH of egg yolk diluents, holding time before centrifugation, and the duration of centrifugation at 2,800 x g on protein concentrations of supernatant

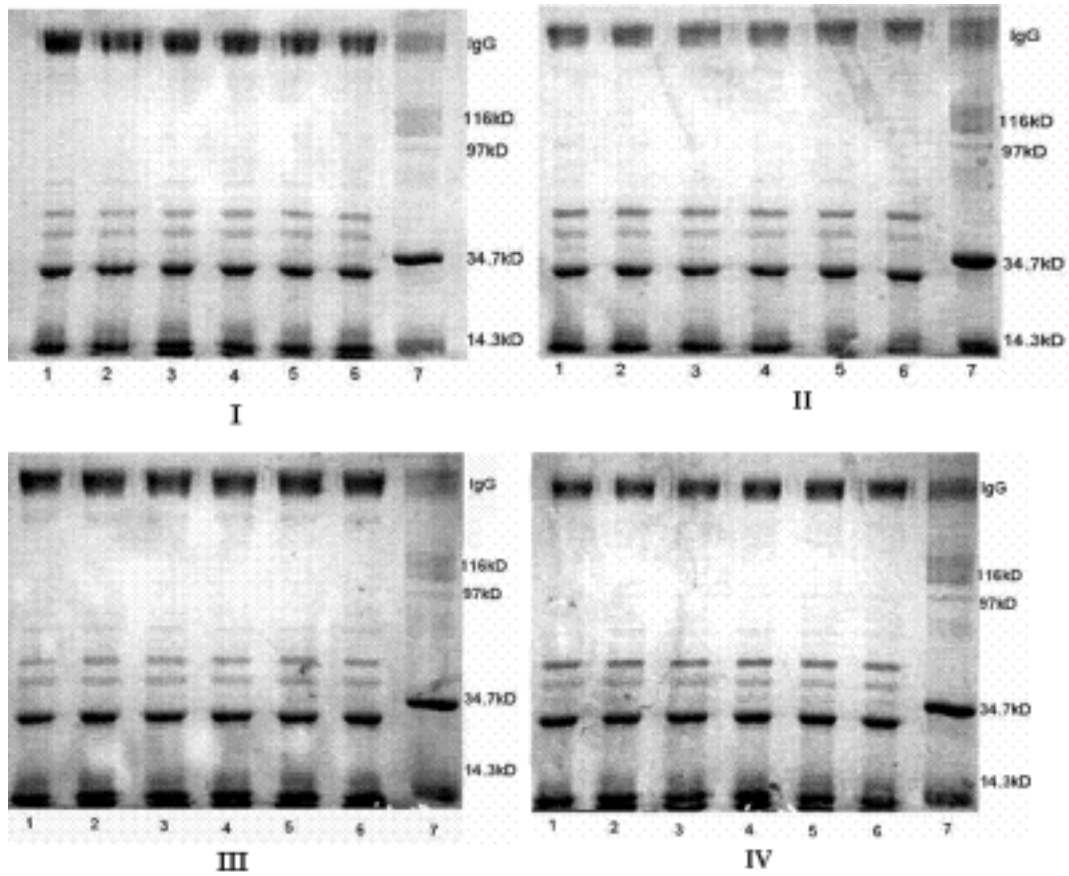


Fig. 3-4. SDS-PAGE for water-soluble fraction of egg yolk sample. I & III - at pH 5.0 and II & IV - at pH 6.3. I & II - centrifuged for 30 min and III & IV - centrifuged for 60 min at 2,800 x g. Lane 1 - samples incubated for 0 hr, lane 2 - 1 hr, lane 3 - 2 hr, lane 4 - 4 hr, lane 5 - 8 hr and lane 6 - 24 hr. and lane 7 - molecular size markers

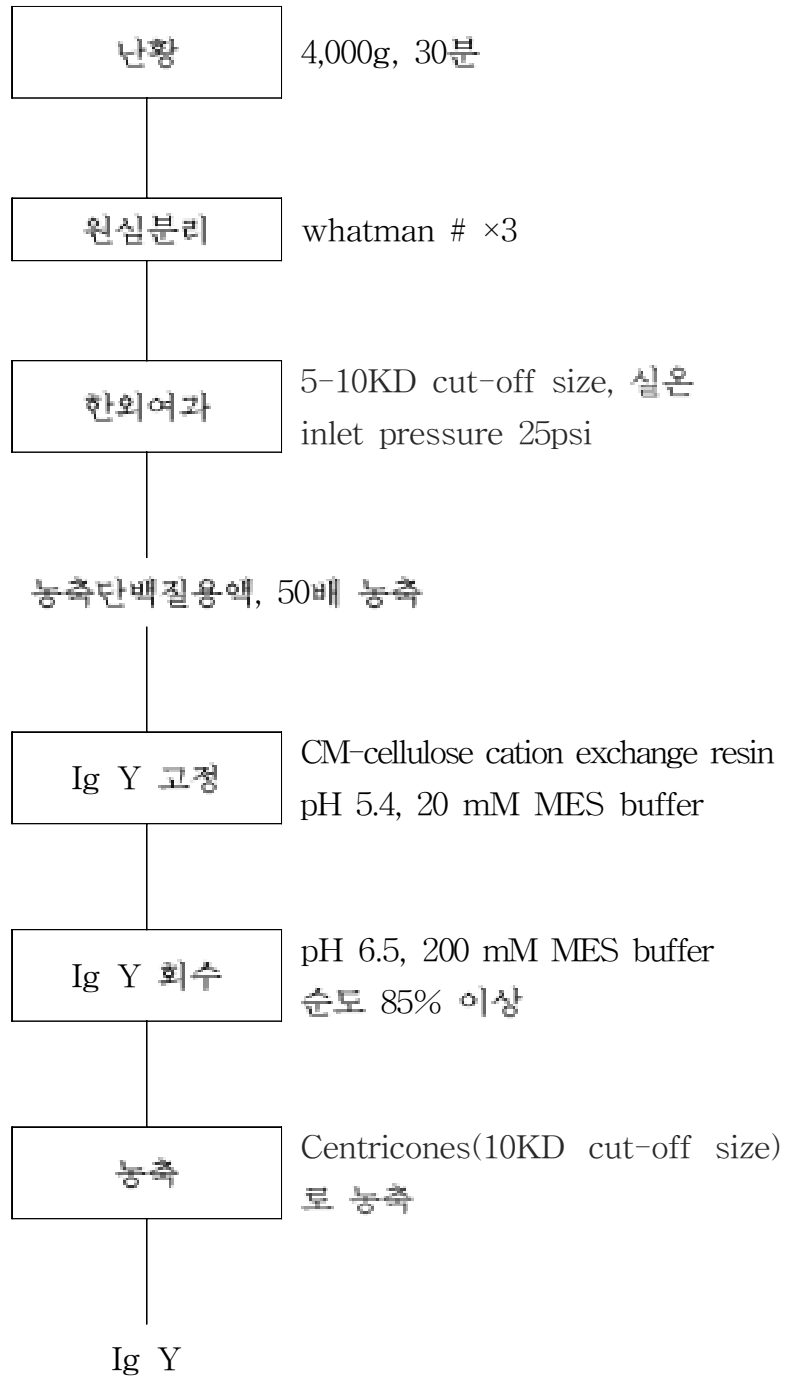


Fig. 3-5. Protocol for Isolation and Purification of IgY

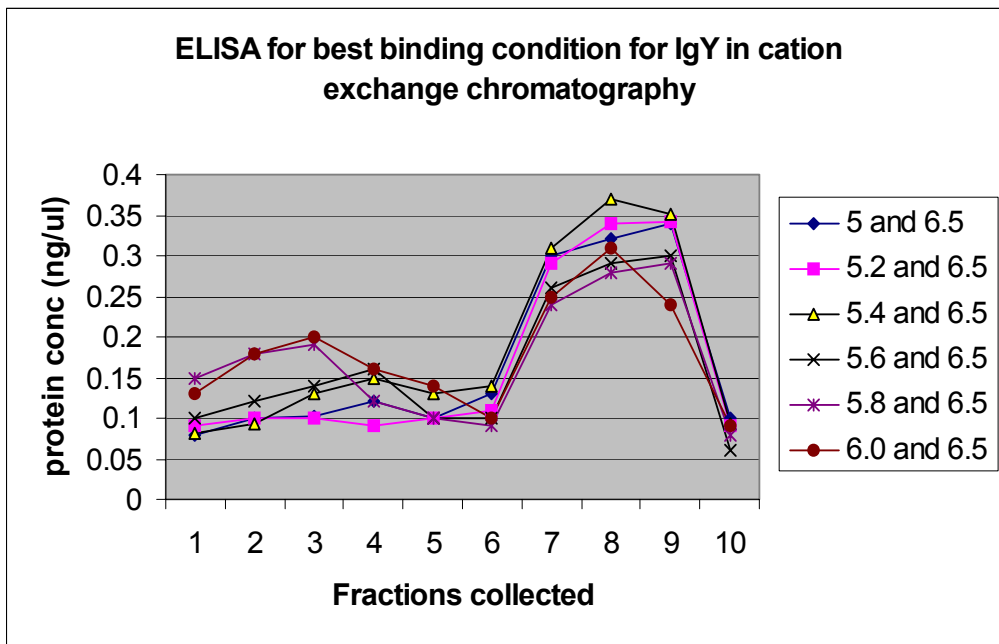


Fig. 3-6. ELISA for CM-cellulose Cation-exchange chromatography using MES buffer: fractions 1 to 5 were washed out proteins with 20 mM, and fractions 6 to 10 were proteins eluted with 200 mM buffer.



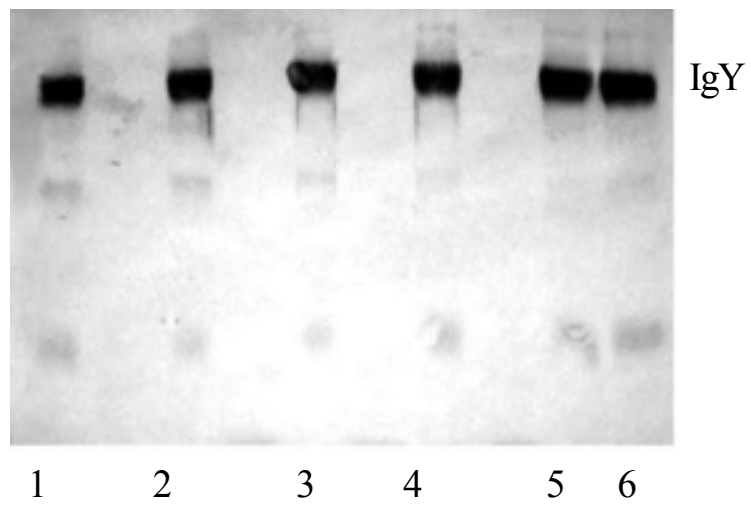


Fig. 3-7. Western blot using IgY and Alkaline Phosphate conjugated antichickens IgG. Lanes 1- 4 are Samples eluted in MES buffer at 200 mM pH 6.5 and lane 5 and 6 are whole water-soluble protein fraction.

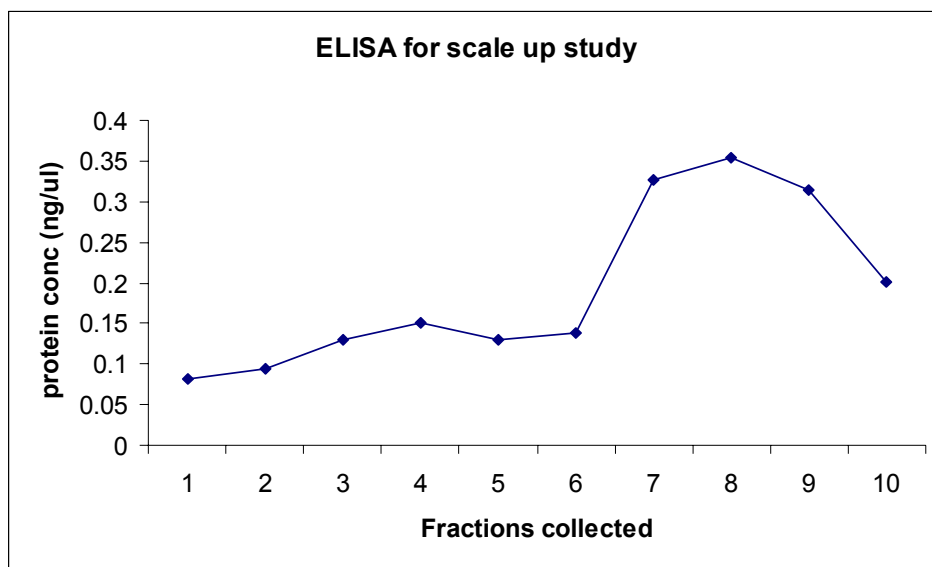
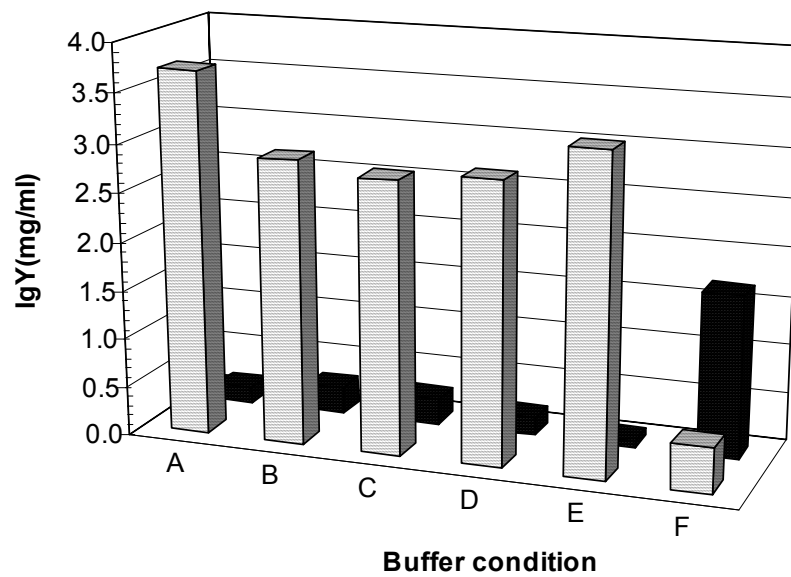




Fig. 3-8. ELISA for CM-cellulose Cation-exchange chromatography using MES buffer: fractions 1 to 5 were washed out proteins with 20 mM, and fractions 6 to 10 were proteins eluted with 200 mM buffer.



\* Wash and elution buffer conditions

	Wash buffer pH 5.0	Elution buffer pH 6.4
A	Citrate-phosphate	Citrate-phosphate
B	Citrate	Citrate-phosphate
C	Acetate	Citrate-phosphate
D	Citrate	Maleate
E	Acetate	Maleate
F	MES	MES

Wash buffer: 20 mM; Elution buffer: 200 mM

Fig. 3-9. The comparison of IgY contents in eluent obtained from CM-cellulose cation exchange chromatography with different elution buffer and pH conditions ;  1st eluent ;  2nd eluent.

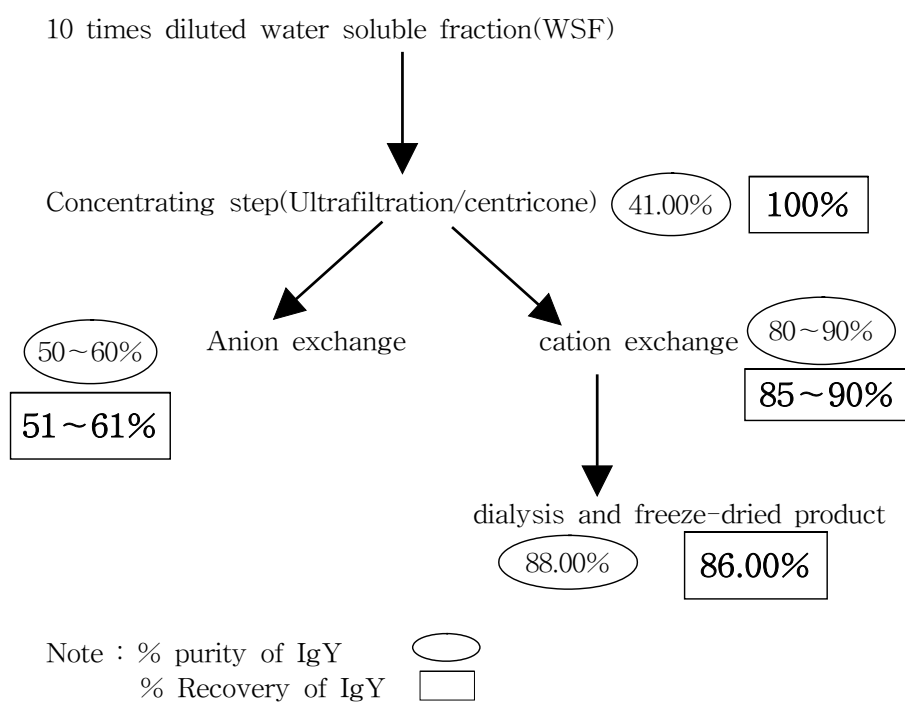


Fig. 3-10. Flow chart showing the % purity and % recovery of IgY at different stages

#### 나. 인지질, 중성지질, 난황단백질의 분리

인지질을 분리하기 위하여 에탄올과 아세톤을 용매로 사용하여 비교해 보았다(Fig. 3-11). 아세톤과 에탄올 모두 4배로 추출하는 것이 9배보다 중성지질의 함량이 적었다. 에탄올을 4배 사용하여 추출할 때, PE와 PC가 가장 많이 추출되고 중성지질의 함량이 가장 적어 인지질을 선택적으로 분리하는 데 있어 아세톤보다 효과적이었다. 결과적으로 10배의 pH 5.0 물로 난황을 추출하여 원심분리로 상층액을 제거하고 남은 잔류물을 4배의 100% 알코올 (혼합물 중 용액의 알코올함량 85%(w/v))로 1회 추출에 의해 순도 85%이상의 인지질을 85%이상 회수 가능하였다. 추출된 인지질 층의 알코올을 제거한 뒤 남아 있는 수분 층을 건조하여 제거하면 순도 95%이상의 인지질을 얻으며, 다시 헥산 (n-hexane)으로 중성지질을 제거하여 순도를 높일 수 있다.

Fig. 3-12에서도 4배의 무수알코올로 난황을 추출했을 때 주로 인지질과 cholesterol이 추출되며, 중성지질은 거의 추출되지 않는 것을 알 수 있다. 또한 9배의 알코올을 사용했을 때 4배의 알코올을 사용했을 때 보다 상대적으로 인지질의 양이 적고 중성지질의 양이 많아 효율적이지 못함을 알 수 있다. 4배의 알코올로 대부분의 인지질을 추출하고 남은 잔유물에서 헥산으로 추출하여 얻어지는 지질은 주로 중성지질과 소량의 인지질로 구성되어 있음을 알 수 있다. 헥산 추출물에서 헥산을 제거하고 얻어지는 지질층을 다시 85% 알코올과 혼합하여 60°C로 유지하면 주로 인지질이 녹아 있는 상층부 (top layer)의 알코올층과中间的 중성지질층 (middle layer), 중성지질과 인지질의 혼합층 (bottom layer 1)과 상대적으로 인지질이 많은 중성지질과 인지질의 혼합층 (bottom layer 2, Fig. 3-12)으로 분리된다. 그중 주로 인지질이 녹아 있는 알코올층을 분리함으로써 인지질의 회수와 더불어 중성지질의 순도를 높인다.

알코올 추출물과 헥산 추출물, 그리고 헥산 추출물을 다시 85% 알코올로 1:2의 비율로 혼합하여 분리되는 2층의 성분 비율을 TLC로 분석한 결과는 Fig. 3-13에 나타난다. Table 3-11에는 Fig. 3-13에서 얻어진 분리 성분들을 정량하여 그 비율을 나타내었다. 에탄올 추출물에는 인지질이 95%이상 존재하며 헥산 추출물은 중성지질을 95% 이상 함유하였다. 헥산 추출물을 다시 85% 에탄올로 추출하면 중성지질에 소량 존재하는 인지질은 알코올 층(상층부)에서 대부분 분리된다. 따라서 헥산추출물중의 인지질을 다시 알코올로 추출하여 회수하면, 총인지질의 98%이상을 회수할 수 있다. 동시

에 중성지질의 순도도 높게 된다. 이상의 용매 조합에 의해 지질을 제거한 난황단백질은 보존성과 이용성이 향상된다.

위에서 알코올로 인지질을 분리하고 남은 지질 (대부분 중성지질)을 헥산으로 추출한 뒤, 회수한 중성지질에 다시 소량 남아 있는 인지질을 제거하기 위해 아세톤(2배)으로 처리하는 과정은 중성지질에서 인지질을 완전히 제거하는 하나의 방법이 될 수도 있으나, 상업적으로 실효성이 희박하다고 볼 수 있다. 필요시 소량 남아 있는 중성지질층의 인지질은 통상적인 탈검법(산성백토나 활성탄으로 처리 후 여과)으로 제거하여 식용유지로 사용하는 것이 더 실질적인 방법이 될 수 있다. 또한 위의 헥산추출물에서 회수한 중성지질을 다시 알코올로 처리하여 분리되는 네층 중 중성지질과 인지질 혼합층(bottom layer 1, 2, Fig. 3-12)에서 알코올추출에 의한 인지질의 회수로 인지질과 중성지질의 순도를 높일 수 있으나, 인지질함량이 60%이상이므로 그자체로 식품의 유향제로 사용할 수도 있다.

인지질 중 phosphatidyl ethanolamine (PE)와 phosphatidyl choline (PC)는 TLC (Fig. 3-11, 12)를 이용하여 분리하여 고순도용(시약급등)으로 사용할 수 있다. 대량으로 분리할 필요가 있을 경우 TLC system을 이용한 공정설비개발도 가능할 것으로 판단되나, 식품용으로 이용되는 경우 PE와 PC를 따로 분리하여 사용할 필요성은 거의 없다.

유기용매인 헥산(hexane, acetone)을 사용하면 중성지질을 신속히 완전하게 추출할 수 있지만 설비비용(헥산재회수설비와 안전관련설비)의 증가와 화재의 위험 등 공정관리상의 새로운 요인이 발생하게 된다. 한편 분리된 난황단백질의 이용성과 보존성은 잔존하는 지질의 함량과 밀접한 관계가 있는 것으로 판단된다. 현재 대부분의 국내의 난황인지질 생산현장에서는 용매에 의해 인지질을 추출하고 남은 잔류물에서 중성지질과 단백질을 따로 다시 분리하지 않는 것으로 알려져 있다. 따라서 높은 지질 함량으로 인해 저장성과 이용성이 낮아 대부분 사료 등으로 이용되고 있는 것으로 보인다. 난황단백질 중 상대적으로 낮은 중성지질함량과 더불어 단백질 용도의 다양화가 이루어 지지 않아, 아직까지는 높은 분리비용에 비해 이점이 크지 않기 때문에 판단된다.

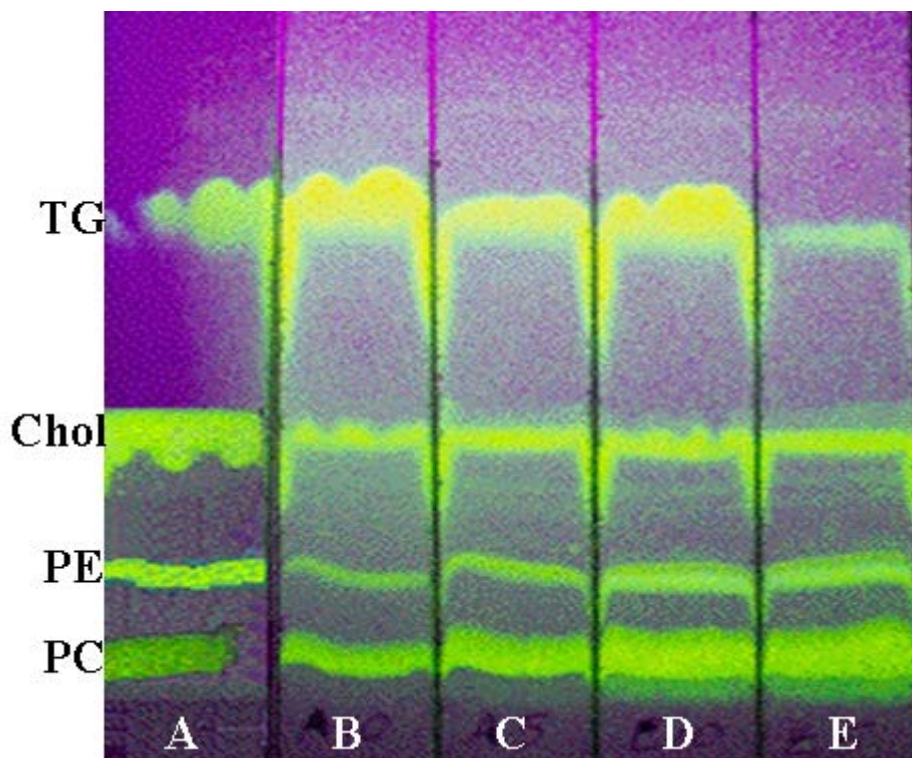


Fig. 3-11. Extraction profile of egg yolk components with various combination of acetone and ethanol : A; standard, B; extraction with 9 vol. of acetone, C; extraction with 4 vol. of acetone, D; extraction with 9 vol. of ethanol, E; extraction with 4 vol. of ethanol. TG ; Triglyceride, Chol ; Cholesterol, PE ; phosphatidylethanolamine, PC ; Phosphatidylcholine.

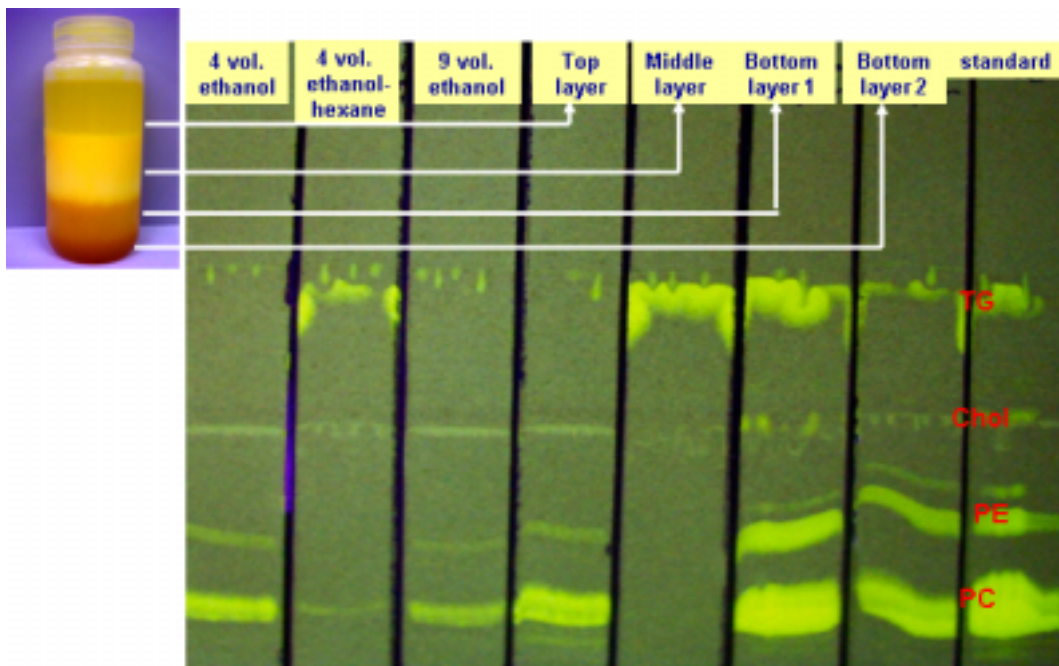


Fig. 3-12. Separation of Neutral Lipids and Phospholipids from Egg Yolk. TG ; Triglyceride, Chol ; Cholesterol, PE;phosphatidylethanolamine, PC ; Phosphatidylcholine.



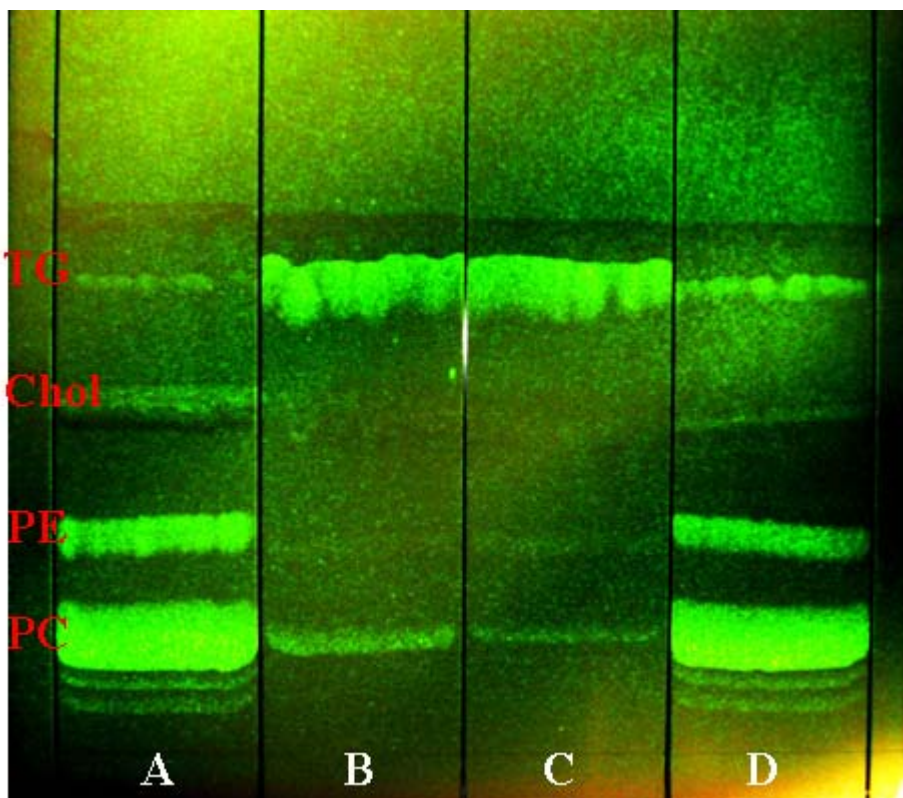


Fig. 3-13. Purity of phospholipids and neutral lipids with various solvent by thin layer chromatography; A: ethanol extraction, B: hexane extraction, C: Middle layer and Bottom layer 1, 2 in Fig. 3-12(Subsequent Hexane - ethanol extraction), D: Top layer (Subsequent Hexane - ethanol extraction)

Table 3-11 Analysis of compositions of the solvent extracts with thin layer chromatography (wt. %)

	Ethanol Extraction	Hexane extraction	Subsequent Hexane - Ethanol extraction *	
			Top layer	Bottom layer
Phospholipids	85.1±0.16**	4.9±0.16	85.4±0.39(1.0)***	1.5±0.22 (0.2)
Cholesterol	12.5±0.24	-	1.8±0.22 (0.1)	-
Neutral lipid	2.4±0.43	95.1±0.29	12.8± 0.22 (0.3)	98.5±0.34(19.9)

\*The hexane extracts was extracted with ethanol subsequently.

\*\* Average ±standard deviation of four replicates.

\*\*\*Values in parenthesis are absolute amount of each component distributed to top and bottom layer of the subsequent hexane-ethanol extraction based on 100g of yolk.

그러나 난황단백은 다양한 구성성분들의 생리적 기능성 측면에서 중요할 뿐만 아니라 양질의 식품용 단백질원으로서도 대단히 좋은 가치가 있다. 식품용 소재로서 난황단백질을 이용할 경우에는 중성지질을 완전히 제거하지 않아도 저장온도를 조절해 지질 산화를 조절할 수 있을 것으로 생각한다. 다른 가공식품의 단백질원으로 이용할 경우 중성지질이 어느 정도 존재하는 것이 더 이로울 수도 있을 것으로 생각된다. 이러한 이유들로 유기용매에 의한 추출법에 비해 지질을 완전히 제거할 수는 없지만, 인지질을 제거한 난황단백에서 중성지질을 분리하기 위해 분리비용을 줄이면서 식품용으로 이용할 수 있는 물에 의한 액상추출법 (liquid extraction)을 시도해 보았다. 액상추출법은 상대적으로 비용이 적게 들뿐만 아니라, 단백질의 변성도 방지할 수 있는 이점이 있다. 이번 연구에서 계통적 분리에 의해 각 성분들을 추출하는 과정에서 IgY추출을 위한 pH조정과 알콜 추출에 의해 난황중의 중성지질은 쉽게 분리될 수 있는 상태로 되어 있어 물에 의한 용출이 상대적으로 용이하였다. 또한 수용액상에서 단백질 층으로부터 지방구가 잘 분리되어 표면에서 응집되게 하기 위해 일정한 기간 동안 60°C에서 교반하면서 방치하면 난황단백질의 수화가 일어나 분무건조 등을 통한 2차 가공적성(Telis-Romero, 2005)과 이용성을 좋게 해 주는 이점이 있을 수 있다.

액상 추출과정에서 사용하는 물의 양이 많으면 표면의 지질층이 넓게 분산되어 분리하기 어려우므로 액상추출기의 설계는 윗부분이 좁아지게 하여 지질을 쉽게 분리할 수 있도록 하는 것이 바람직할 것으로 판단된다. 액상추출 시 추출시간, 시료(인지질 제거 난황)와 용매(물)의 비율, 초음파세기에 따른 시료별 지질추출수율을 Table 3-12에 나타내었다. Soxhlet추출에 의한 시료중의 잔류지질함량은 58.4% (wt.)였다. 수용액상에서 지질의 추출은 초음파강도가 낮을수록, 추출시간이 짧을수록 용매(물)의 비율이 높을수록 잘 일어났으며, 실험 조건 내에서 최고 수율은 36.1%(wt.)까지 얻을 수 있었다. 추출할 때 초음파강도가 너무 세거나, 일정한 초음파 강도에서 상대적으로 오래 동안 처리하면 지방구가 잘게 쪼개져 분산되어 오히려 분리가 잘 되지 않는 것으로 판단된다. 이러한 현상은 용액속에 초음파를 직접 가할 경우 균질화 되어 지방구형성이 전혀 일어나지 않는 사실에서도 이해될 수 있다. 한편으로 에너지준위(주파수)가 낮은 파를 이용하면 분리효율을 더 높일 수 있는 가능성도 기대 된다. 실용적인 측면에서 인지질을 제거한 난황의 중성지질을 부분적으로 제거하기 위해 액상추출법을 적용하는 경우는 이용성이나 경제성측면에서 대단히 제한적일 수밖에 없다. 그러

나 용매를 사용하지 않고 난황의 잔류지질 함량을 일정한 범위에서 조정할 수 있다는 측면에서 필요시 고려해 볼 수 있는 방법으로 제시해 보고자한다.

분리된 지질들은 다양한 색소를 함유하여 짙은 적황색을 띄고 있어 흡착에 의해 탈색할 수 있다. 그러나 색소들 중에는 유용한 성분들이 많이 들어 있으며, 특히 lutein은 망막중심의 기능이 소실되어 물체의 주변만 보이는 것(macular degeneration) 방지하는데 효과가 있는 것으로 알려져 있어 그대로 기능성 유지소재로 이용하거나 탈색하여 분리한 뒤 재회수하여 이용할 수 있다(Batista, 2006). 한편 산란계 사료에 백일홍꽃잎이나 알팔파를 많이 첨가하면 난황의 색상이 짙어지는 데 이러한 현상을 이용하여 산란계사료의 조성을 조절함으로써, 지질 중 lutein 함량을 강화하여 계란의 기능성을 높일 수 있다(designer egg)고 생각된다. 따라서 사료성분이 lutein으로 전이되는 기작이 밝혀지면 lutein강화 계란의 생산이 가능할 것으로 기대되어, 지속적인 연구가 필요하다고 생각한다.

다. 난황단백질에서 phosvitin의 분리, 정제와 유도체 반응

#### 1) phosvitin의 분리와 정제

난황단백질에 함유된 phosvitin은 난황중 인을 많이 함유한 단백질로서, 철과 같은 무기이온과의 결합으로 미생물성장을 억제하거나 육제품의 산화방지효과에 이용될 수 있다(Polo 등, 2000). 특히 phosvitin은 간에서 난포세포까지 철을 운반하는 기능을 하고 있다. phosvitin으로부터 유도된 phosphopeptids는 골다공증을 방지하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Megias 등, 2004). 또한 N-terminal과 C-terminal 기에 있는 아미노산이 풍부하며 유화특성을 가지고 있어, 경우에 따라 이용범위가 대단히 클 수 있어, 향후 집중적인 연구가 필요할 것으로 사료 된다 .

1.74M NaCl용액에서 phosvitin을 분리할 때 용액의 pH는 수율(yield)과 순도에 모두 영향을 미쳤다. 용액의 pH가 6.5일 때 추출된 용액속의 phosvitin 함량은 가장 높았으나 pH 6.0일 때 보다 큰 차이가 없었으나, 추출된 물질의 phosvitin의 순도는 pH 6.0일 때가 pH 6.5일 때 보다 훨씬 높았다. 따라서 pH 6.0에서 추출하는 것이 유리한 것으로 생각된다(Table 3-13 ).

Table 3-12. 처리 조건별 인지질 제거 난황 중 액상추출에 의한 지질 추출 수율

처리조건		수율(wt.%)	비 고
추출시간 (분)	2	34.3	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 난황 : 추출수 비율 = 1 : 7.5</li> <li>• 초음파 강도 중(160w)</li> </ul>
	4	28.1	
	8	19.5	
	10	16.6	
난황 대 추출수 비율 (w/v)	1 : 4	12.8	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 추출시간 5분</li> <li>• 초음파 강도 중(160w)</li> </ul>
	1 : 5	17.8	
	1 : 6	24.6	
	1 : 7	27.1	
	1 : 8	36.1	
초음파 세기 (w)	약(120w)	35.8	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 난황 : 추출수 비율 = 1 : 7.5</li> <li>• 추출시간 5분</li> </ul>
	중(160w)	28.9	
	강(220w)	10.5	

Table 3-13 pH dependence of content and purity of phosvitin in isolates using 1.74M NaCl.

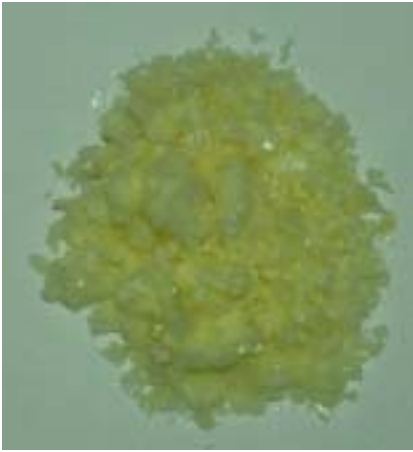
pH	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0
Content (g/L)	5.2	5.6	5.8	5.9	5.0	4.8	5.3	5.0	4.9	4.2	4.1
Purity (%)	90.8	85.4	91.3	86.9	78.5	88.6	75.0	72.9	72.9	75.9	75.8

다. 계통적 분리에 의한 분리성분들

계란 난황 주요성분들의 계통적 분리와 정제에 의해 얻은 주요성분들의 사진을 Fig. 3-14에 나타내었다. IgY는 물로 추출한 뒤 한외여과하여 농축한 용액을 동결 건조하여 얻은 시료로서, 현 단계에서 IgY의 순도는 40%로서 수용성 난황단백질이 많이 남아 있다. 각 성분들의 난황함유량 대비 회수율(yield)과 순도는 Table 3-14에 표시하였다. 앞에서 보고된 바와 같이 이온교환수지등을 통한 지속적인 정제공정에 의해 순도를 높일 수 있다. 알코올로 인지질을 추출하고 알코올을 회수하여 얻은 인지질은 붉은 색을 띠며, 점성이 대단히 높다. 실험실적으로 얻어진 주요성분들(Fig. 3-14)의 일반조성은 Table 3-15 에 나타내었다. 잔존하는 수분은 용도에 따라 저온진공건조등 다양한 방법으로 제거할 수 있다.

일부 소량 존재하는 중성지질과 미량의 단백질 등에 의해 순도는 83%로 상대적으로 낮으나, 반복적인 용매의 조합과 추출에 의해 순도를 높일 수 있다. 알코올로 인지질을 분리한 뒤, n-hexane으로 추출하여 얻은 중성지질은 약 5.6%의 인지질이 남아있다. 필요시 잔존하는 인지질은 알코올로 재추출하여 인지질을 회수함으로써 인지질의 수율과 중성지질의 순도를 높일 수 있다. 난황의 중성지질은 대량생산이 이루어지는 경우, 용도에 따라 지속적인 탈색, 탈취공정으로 정제할 수 있다. 알코올과 헥산으로 각각 일회씩 연속적으로 인지질과 중성지질을 추출하여 분리하는 경우 남은 고형물(대부분 난황단백질)중 잔존하는 지질은 고형물기준으로 1%미만 (Table 3-10)이므로 저장성이 증대되며, 따라서 가공적성과 보존성도 좋아진다.

인지질과 중성지질이 제거된 난황단백질은 용매를 휘발시켜 제거한 뒤 적절한 분쇄기(ball mill등)로 분쇄하여 연노랑색의 분말을 얻는다 (Fig. 3-14). 인지질과 중성지질을 제거한 난황단백질에서 분리한 phosvitin (순도91.3%)을 동결건조하면 미백색을 나타낸다.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Fig. 3-14. Egg yolk products; (a) IgY, (b) Phospholipid, (c) Neutral lipid, (d) Yolk Protein, (e) Phosphovitin



Table 3-14. Recovery yield and purity of egg yolk components

	Treatment	Recovery Yield	Purity
IgY	Water extraction	100%	40%
	Ammonium sulfate precipitation	90%	85% 이상
Phospholipids	Single ethanol extraction	87%	83%
Neutral lipids	Single hexane extraction	96%	94%
Yolk protein with phosvitin		77%	94%
Phosvitin	Single 1.74M NaCl extraction	30%	91%

Table 3-15. Proximate analysis of yolk components

	Moisture	Protein	Lipid	Trace
IgY	10.0%	81.0%	4.0%	5.0%
Phospholipids	15.2%	0.1%	84.7%	-
Neutral lipids	10.1%	0.2%	89.7%	-
Yolk protein without phosvitin isolation	10.0%	86.1%	0.8%	3.1%

### 3. 주요성분들의 이용성과 가공적성

#### 가. 난각의 이용성

##### 1) 칼슘강화 마요네즈

난각은 칼슘이 주성분으로 난각 칼슘은 다른 생물함유칼슘보다 흡수율이 좋은 것으로 알려져 있다(김재욱 등, 2002). 이러한 난각 칼슘의 성질을 이용하여 우리의 식생활에서 부족한 칼슘이 보강된 식품소재로 활용하기 위해 효과적인 칼슘의 추출과 활용가능성을 알아보았다. 마요네즈는 어린이뿐만 아니라 어른도 잘 먹는 친숙한 식품으로 자리 잡고 있으며, 주원료인 식초는 난각 칼슘을 쉽게 선택적으로 용해시킬 수 있다. 마요네즈를 제조할 때 들어가는 다양한 부재료는 무기이온에 의한 금속 맛을 완화시켜, 거부감을 없앴으로써 관능특성을 향상시킬 수 있는 장점이 있어 난각 칼슘의 이용성을 적용해 볼 수 있는 가장 적합한 식품모델 중 하나로 생각되었다.

따라서 난각 칼슘을 이용하는 데 있어서, 마요네즈원료인 양조식초로 추출하고 여과하는 공정만 간단히 부가하면 쉽게 이용하여 흡수가 잘되는 칼슘강화 마요네즈를 제조할 수 있다. 난각을 깨끗이 씻은 뒤, 분쇄하여 시판하는 양조식초 (산도 6.62%)에 넣고 칼슘을 용해시키면서 시간별로 용해된 칼슘량을 측정해 본 결과, 실온에서 3일 이내에 포화되며, 용액 중 포화칼슘량은 3.13%로 나타났다. 식물성유지 65%, 식초 15%, 난황 15%로 마요네즈를 만들고, 식초중의 칼슘함량을 조절하여 마요네즈의 점도를 확인한 결과, 식초의 칼슘농도에 따라 점도가 영향을 받는 것으로 나타났다. 칼슘이 포화된 식초로 만든 마요네즈의 금속성 맛은 뚜렷하게 느껴지지 않았다. 칼슘이 용해되지 않은 식초로 만든 마요네즈의 점도가 포화칼슘식초를 25%와 50%를 섞은 식초로 만든 마요네즈의 점도보다 낮고, 포화칼슘식초를 75% 섞은 식초로 만든 마요네즈나 포화칼슘식초로 만든 마요네즈보다 높게 나타났다 (Table 3-16).

이러한 현상은 현재로서는 정확하게 설명하기 어려우나 유기산의 포화도가 높을수록 칼슘이온의 이동성(자유도)이 낮아 인지질의 인과 복합체를 형성하기 어렵기 때문인 것으로 보인다. 한편 상대적으로 낮은 포화칼슘농도에서는 칼슘과 인의 복합체형성이 용이하여 점도가 상승하는 것으로 생각된다. 시판되고 있는 마요네즈의 점도가

107,500 cp인 것으로 비추어 볼 때, 식초중의 칼슘포화도와 부재료의 배합비를 조절함으로써 마요네즈의 점도를 조절할 수 있을 것으로 기대되어, 칼슘용해식초를 마요네즈에 적용하는 데 큰 어려움은 없을 것으로 판단된다. 식초에 용해된 칼슘함량별 식초의 pH와 산도의 상관관계를 Table 3-17 에 나타내었다. 거기에서 만들어진 마요네즈의 산도도 비교해 보았다 (Table 3-18). 칼슘포화식초로 만든 마요네즈의 산도는 용해된 칼슘이 들어있지 않은 식초로 만든 마요네즈에 비해 현저히 낮았으나 관능적 특성이나, 저장기간 동안 점도변화 (Fig. 3-16 3-17)에는 특이한 영향을 미치지 않는 것으로 보인다(김재욱 등, 1988, 2002; 배효미 and 오명숙, 1989).

마요네즈의 유화안정성은 산도에 의해 영향을 많이 받는다. 낮은 pH에서는 난황의 용해도가 떨어져 인지질에 의한 유화안정도가 저하됨으로 인해 지질의 분리가 쉽게 일어난다(Tolosa 등, 2005; Fachin and Viotto, 2005). 물성안정제를 사용하지 않은 상태에서 칼슘용해식초와 칼슘이 용해되지 않은 일반식초를 사용하여 만든 마요네즈를 냉장조건(Fig. 3-15)과 실온조건(Fig. 3-16)에서 보관하면서 점도변화를 관찰하여 시판 제품과 비교해 보았다. 실온조건에서 칼슘이 함유된, 시험적으로 제조된, 마요네즈는 보관 6주 동안 급격한 변화 없이 점진적으로 점도가 올라가는 경향을 보였다.

반면 시판 마요네즈는 보관 4주후 점도의 뚜렷한 하락을 보였으며, 칼슘이 용해되지 않은 식초로 만든 시험 마요네즈는 보관 4주후 뚜렷한 점도의 상승을 나타내었다. 시판 마요네즈와 칼슘이 용해되지 않은 식초로 만든 시험 마요네즈의 보관 4주후 뚜렷한 점도변화는 사용원료의 종류와 배합비의 차이로 해석할 수 있다. 식초 중 용해칼슘의 유무에 따른 저장 중 점도변화의 차이는 용해칼슘이 마요네즈의 물성에 영향을 미친다는 사실을 간접적으로 나타내는 것으로 해석되어진다. 인지질중의 인산과 초산들에 의해 칼슘복합체를 형성해 물성을 안정화시킴으로써 장기간 보존에도 일정한 경향의 점성을 유지하는 것으로 생각된다. 냉장 보관한 마요네즈는 식초의 칼슘함량별로 다른 경향을 보여 저장온도가 칼슘함량에 따라 물성 안정성에 영향을 미치는 것으로 보인다.

Table 3-16. 사용식초중 난각칼슘포화식초 혼합비율에 따른 마요네즈의 점도

혼합비율(%)	마요네즈점도(cp)
0	148,750
25	240,000
50	205,000
75	136,750
100	71,500

Table 3-17. 사용식초 중 난각칼슘포화식초 혼합비율별 pH와 산도

혼합비율(wt. %)	pH	산도
0(시판 식초)	2.53	6.62
33	4.14	5.93
67	4.39	4.83
100	4.36	4.33
시판 마요네즈	3.65	4.50

Table 3-18. 사용식초 중 난각칼슘포화식초 혼합비율별 마요네즈의 산도

혼합비율(wt. %)	산도
시판 제품	4.5
0	2.8
25	2.5
50	1.7
75	1.1
100	1.0

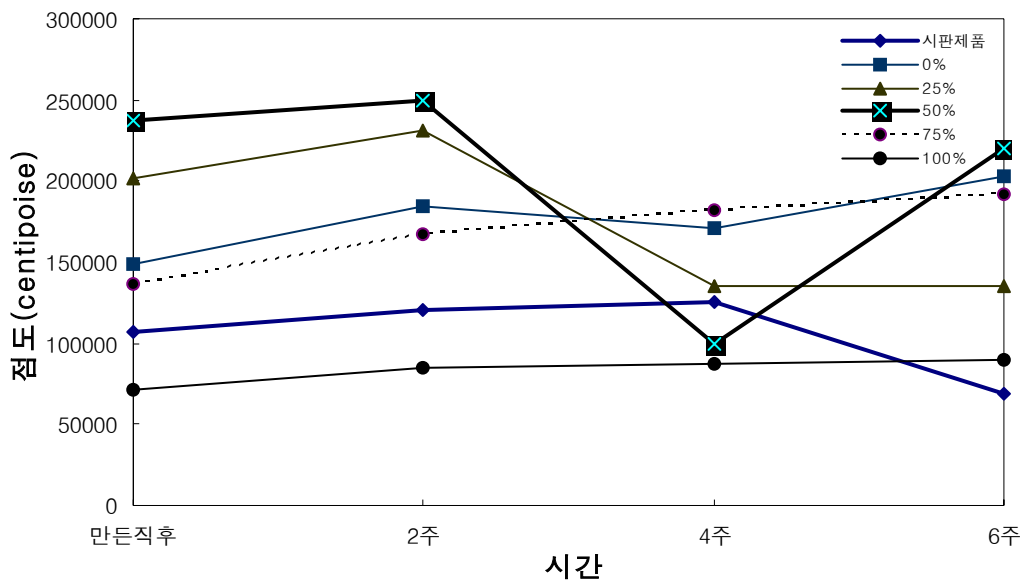


Fig. 3-15. 종류별 냉장보관 마요네즈의 점도변화



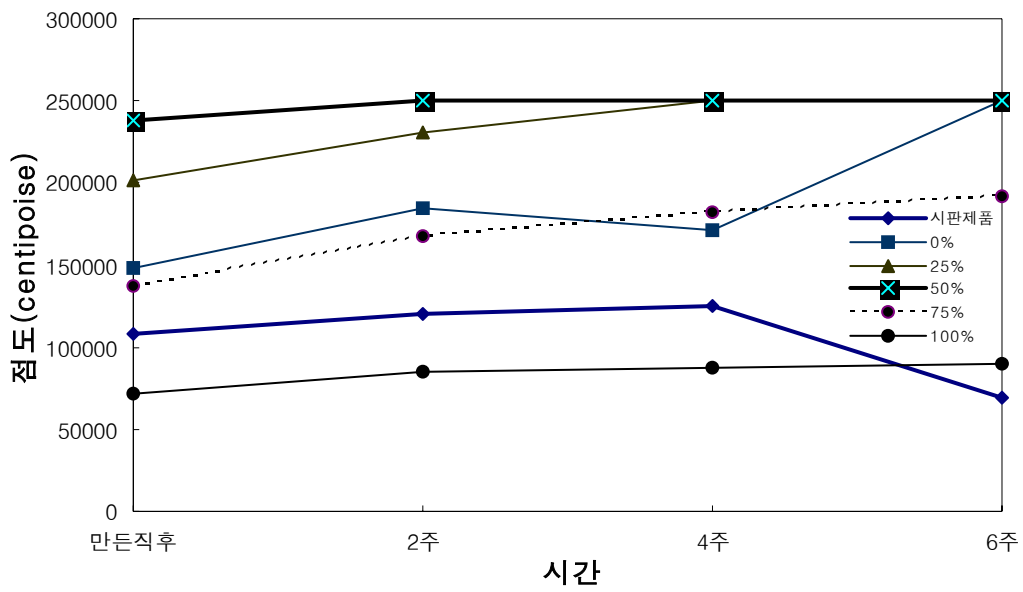


Fig. 3-16. 종류별 상온보관 마요네즈의 점도변화

칼슘이 용해되지 않은 식초와 포화칼슘용액을 33%와, 67% 섞은 식초, 포화 칼슘 식초로 만든 4가지 마요네즈의 관능적 특성을 평가하였다. 만들어진 마요네즈의 개별적인 향기와 맛, 색깔의 차이와 관능적 특성을 나타 낸 결과를 Table 3-19에 나타내었다. 쓴맛은 칼슘을 첨가하지 않은 식초로 만든 마요네즈에서 가장 높게 나타났고, 고소한맛은 거의 비슷하여 구분하기 어려웠으나, 칼슘첨가 비율이 높을수록 고소한맛이 더 강한경향을 보여 난각 칼슘을 이용한 칼슘강화마요네즈의 개발가능성을 충분히 보여 주었다.

각 마요네즈의 색깔은 시중에 판매되고 있는 마요네즈에 비해서 전반적으로 노란색이 강한 것처럼 보이나, 포화칼슘식초를 33% 함유한 식초로 만든 마요네즈가 가장 비슷한 색을 띄고 있었다. 제조한 마요네즈의 향은 거의 향신료를 사용하지 않아 강한 식초향을 느낄 수가 있었다. 그러나 포화칼슘식초를 33% 함유한 식초로 만든 마요네즈가 시판되고 있는 마요네즈와 가장 유사한 향을 느낄 수 있었다. 전반적으로 포화칼슘식초를 33% 함유한 식초로 만든 마요네즈가 일반적으로 높은 점수를 받은 것을 볼 수 있다. 칼슘을 첨가한 마요네즈에는 일반적으로 비린 맛을 느낄 수가 있었다. 보존기간에 있어서의 변화는 칼슘첨가량이 많을수록 잔거품이 많이 생기는 것을 볼 수 있었고, 일반식초로 만든 마요네즈에서는 강한 식초냄새를 맡을 수가 있었다.

결과적으로 칼슘을 첨가하지 않은 마요네즈는 향이 강한 것이 특징이었으나 관능검사 결과 큰 차이를 느낄 수 없었다.

마요네즈의 성분의 기능성을 향상하고 난각칼슘의 이용성을 높이기 위해 마요네즈의 원료 중에 칼슘강화제로 난각 칼슘을 녹인 식초를 사용하여 제품화 적용가능성을 알아보았다. 일반적으로 이용되는 마요네즈의 원료 배합비에 난각칼슘함량(wt.)기준으로 0.098%, 0.124%, 0.150%, 0.176%, 0.203%의 마요네즈를 제조하여 이들 마요네즈에 대한 물리적, 관능적 특성과 저장기간과 온도별 물성 안정성을 평가해보았다. 식초중 칼슘용해도가 증가할수록 pH는 증가하고 산도는 떨어지며, 점도는 상승했다가 하락하는 경향을 보였다. 칼슘이 용해된 식초로 만든 마요네즈의 점도는 냉장과 실온보관에서 조금씩 증가하는 경향을 보였으나 대체로 안정적인 경향을 보였다. 점성이나 색상면에서 난각칼슘 포화식초를 33% 첨가한 식초로 만든 마요네즈가 시판되고 있는 마요

Table 3-19. 칼슘 함량에 따른 마요네즈의 관능특성

	0% 칼슘첨가	33% 칼슘첨가	67% 칼슘첨가	100% 칼슘첨가
쓴맛	4	3.5	2	2
고소한맛	3	4	4.5	4.5
색깔	3	3.5	3	2
향미	2.5	4.5	2	3
전체적인 평가	3.2	3.7	2.6	2.6

네즈와 가장 유사하게 나타났다.

#### 나) 난각의 유기산(초산)용해추출물의 칼슘흡수율과 그 이용성

난각과 난각막에는 다양한 기능성을 가지는 단백질이 존재하여,란을 신선한 상태로 유지하거나 배아발생기간에 물질의 이동을 돕게 한다. 특히 난각 칼슘은란에서 발생하는 생명체의 주요 칼슘공급원으로 이용되며, 난각이나 난각막 중의 특정 단백질이 칼슘의 이동에 관여하는 것으로 알려져 있다. 이러한 성질을 이용하여 칼슘흡수율의 차이를 알아보기 위하여, 난각과 난각막을 초산(발효식초)으로 추출한 액의 흡수율을 실험쥐(Sprague Dawley)를 통해 다른 칼슘원과 비교해 보았다.

초산염의 형태가 흡수율이 높았다. 또한 난각분의 흡수율 (81%)은 멸치분 (57%) 보다 유의적으로 높아, 난각막과 난각에 존재하는 성분들이 칼슘의 흡수를 돕는 것으로 판단되었다 (Fig. 3-17). 따라서 포화 농도이하에서 염의형태로 첨가하여 섭취할 수 있는 식품의 경우 난각과 난각막을 유기산으로 용해하여 추출한 액은 흡수율이 좋은 중요한 칼슘원으로 이용될 수 있을 것으로 기대되었다. 난황 단백질에서 분리한 phosvitin과 더불어 난각과 난각막에 존재하는 성분들의 칼슘이동과 흡수에 미치는 영향을 정성적뿐만 아니라 정량적으로 명확히 파악하면 골밀도를 지속적으로 유지할 수 있는 실질적인 방법이 가능할 것으로 예상되어 향후 심도 깊은 연구의 필요성이 제기되었다.

#### 나. Phosvitin과 phosvitin phosphopeptide의 분리와 calcium binding capacity

Phosvitin의 분자량은 약 40,000정도로서 SDS-PAGE상에서 분리된 phosvitin을 확인할 수 있다. 분자량 40,000주위에서 보이는 서로 다른 2개의 큰 띠는 서로 다른 2개의 phosvitin (Fig.3-18, line 2)을 나타낸다. Trypsin으로 분해된 phosvitin(Fig.3-18, line 3)은 분자량 40,000주위의 성분이 줄어들면서 분자량이 작은 물질들이 늘어나는 것을 알 수 있다. 20mL의 Phosvitin용액 (0.5mg phosvitin/mL)과 trypsin으로 분해한 phosvitin phosphopeptide용액에 0.1M 염화칼슘용액 1mL(칼슘량 4.63mg)을 첨가하여 교반한 뒤 자유칼슘이온을 측정 한 결과를 Table3-20에 나타내었다. 염화칼슘용액을 첨가한 뒤 Phosvitin의 자유 칼슘이온은 첨가한 량보다 약간 적게 증가(3.35mg/L)하여 소량의 칼슘이 phosvitin과 결합한 것으로 보인다. 반면 분해된 phosvitin

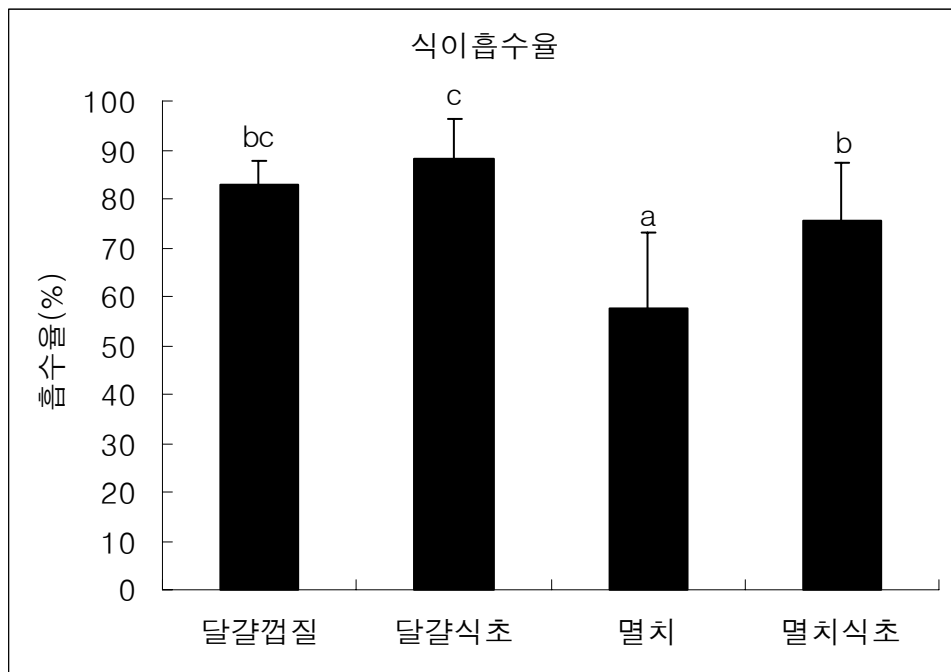


Fig. 3-17. 난각분과 멸치분의 생체 내 흡수율 비교

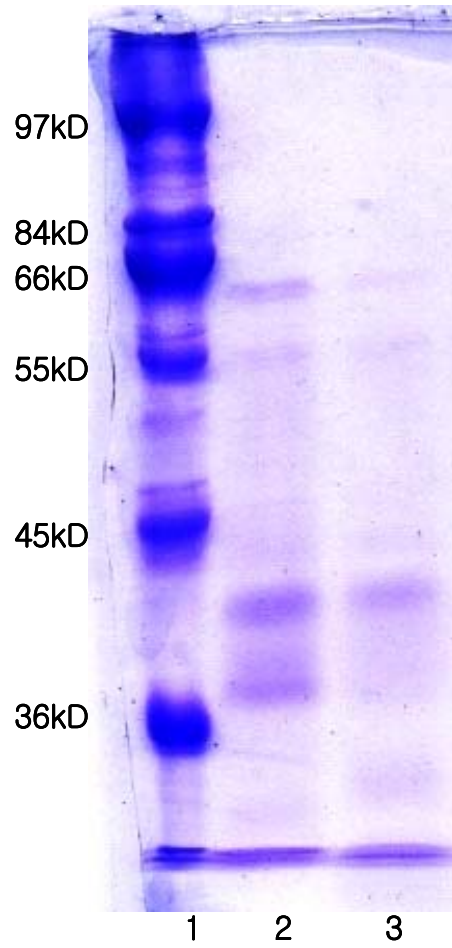


Fig. 3-18. SDS-PAGE patterns of tryptic hydrolysates of purified phosvitin. Side marker(1), purified phosvitin(2), tryptic hydrolysates of phosvitin(3).

Table 3-20. Amount of free calcium(mg/L) in phosvitin and phosphopeptide solution with an addition of 1mL 0.1M CaCl<sub>2</sub>

	Free calcium(mg/L)	
	Phosvitin solution	Phosphopeptide solution
Blank solution*	1.02 ± 0.18	8.37 ± 0.24
Addition of 1mL 0.1M CaCl <sub>2</sub>	4.37 ± 0.21	8.58 ± 0.29

\* Phosvitin(0.5mg phosvitin/mL) and phosphopeptide solution without addition of 1mL 0.1M CaCl<sub>2</sub>

phosphopeptide용액에 염화칼슘용액을 첨가하였을 때 자유 칼슘이온의 증가 (0.21mg/L)는 미미하여 첨가한 대부분의 칼슘이온이 phosvitin이 분해된 phosphopeptide에 결합된 것으로 보여, 칼슘결합능력이 훨씬 좋은 것으로 생각된다.

#### 다. 분리된 난황단백질의 가공적성

난황단백질은 분리방법에 따라 물리적 성상이 달라 2차가공방법이 달라질 수 있다. 유기용매 (n-hexane)로 중성지방을 추출 후 잔류 헥산을 증발시킨 후 남은 고화된 단백질은 미분쇄하여 이용하거나, 60℃의 물에서 수 시간 수화시킨 후 분무 건조하여 식품 또는 건강기능성 식품소재로 이용이 가능하다. 알코올과 유기용매에 의해 지질이 대부분 분리되었으므로 저장성이 좋고 이용범위도 넓을 수 있다. 한편 액상추출에 의해 얻은 난황단백질은 충분히 수화된 상태로 존재하여 분무건조에 의해 쉽게 분말로 만들 수 있고, 다양한 종류의 기능성 성분들을 함유하고 있어 건강기능성 식품소재로 활용될 수 있을 것으로 생각된다. 상당량 남아 있는 지질은 냉장저장에 의해 변화를 억제할 수 있으며, 중성지질의 계란 향은 가공식품의 독특한 향을 부여할 수 있을 것으로 기대한다.

난황에서 IgY, 중성지질, 인지질을 분리하고 남은 난황 단백질들(단백질 함량 90% 이상)을 가공식품의 단백질 원료로 이용할 수 있는 가능성을 조사해 보았다. 육가공 제품에 분리난황단백질의 첨가는 결착력과 영양가의 향상을 가져 올 수 있다. 재조합 육인 Turkey breast roll을 대상으로 하여 난황단백질을 첨가함에 따라 결착력, 조직감, 향, 저장 안정성을 비교해 보았다. 현재 많이 이용되고 있으며, 단백질함량이 비슷한 분리대두단백을 사용하여 만든 시료를 대조구로 하였다.

단백질원을 달리하여 제조된 시료 (turkey breast roll)들간의 일반 성분조성의 차이는 미미하였다. 수분과 단백질함량에서 시료간 유의적인 차이가 있는 경우도 있으나 실질적으로 그 차이는 크지 않아 일반성분의 조성이 같다고 본다 (Table 3-21).

난황 단백질을 첨가하여 만든 시료들은 대두단백만을 사용한 대조구보다 TBARS값이 모두 유의적으로 높았으나 그 차이는 크지 않은 것으로 판단된다 (Table 3-22). 모든 시료들은 보존기간 (2주)동안 지속적인 지질산화가 진행되었으나, 시료들간의 차이는



Table 3-21. Proximate analysis of turkey rolls

	(unit: %)			
	Control	5% egg oil	10% egg oil	SEM
Moisture	70.92 <sup>ab</sup>	70.64 <sup>b</sup>	71.20 <sup>a</sup>	0.13
Protein	23.58 <sup>b</sup>	24.01 <sup>a</sup>	23.68 <sup>b</sup>	0.09
Fat	1.55	1.54	1.57	0.07
Ash	1.71	1.61	1.67	0.03
Carbohydrate	2.24	2.20	1.88	

<sup>a-b</sup>Values with different letters within a row are significantly different ( $P < 0.05$ ). SEM: standard error of the means. n = 4. Abbreviation: EYP, egg yolk protein.

Table 3-22. TBARS of turkey roll

	Control	1% EYP	2% EYP	SEM
	----- MDA mg/ kg meat -----			
0 week	1.26 <sup>cz</sup>	1.35 <sup>bz</sup>	1.54 <sup>az</sup>	0.02
1 week	1.89 <sup>y</sup>	1.99 <sup>y</sup>	2.21 <sup>y</sup>	0.09
2 week	2.30 <sup>x</sup>	2.56 <sup>x</sup>	2.61 <sup>x</sup>	0.09
SEM	0.09	0.09	0.07	

<sup>a-c</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different (P < 0.05). <sup>x-z</sup>Values with different letters within a column with the same treatment are significantly different (P < 0.05). SEM: standard error of the means. n = 4. Abbreviation: EYP, egg yolk protein.

발견되지 않았다. 따라서 실험조건 내에서 대두단백질 (2%)을 난황단백질로 대체하여도 지질산화와 관련된 품질변화에 있어서 보존성에는 문제가 없는 것으로 생각된다. 난황단백질을 첨가하면 제조직후 색도의 L값 (Lightness)은 유의적으로 증가하였으나, 저장기간 동안(1, 2주)에는 차이가 없었다. 난황단백질을 2% 첨가한 시료의 b (Yellowness)값은 대조구와 비교해 유의적으로 제조직후와 저장2주 후 차이가 났다.

색도의 a (Redness)값은 난황단백질을 첨가한 시료들이 대조구보다 작은 경향을 보였으나, 1 주일 보관한 시료들에서만 유의적인 차이를 나타내었다 (Table 3-23). 저장기간은 시료들간 색도차이에 영향을 미치지 않았다.

난황 단백질을 첨가하여 만든 시료들은 대두단백만을 사용한 대조구보다 TBARS값이 모두 유의적으로 높았으나 그 차이는 크지 않은 것으로 판단된다 (Table 3-22). 모든 시료들은 보존기간 (2주)동안 지속적인 지질산화가 진행되었으나, 시료들간의 차이는 발견되지 않았다. 따라서 실험조건 내에서 대두단백질 (2%)을 난황단백질로 대체하여도 지질산화와 관련된 품질변화에 있어서 보존성에는 문제가 없는 것으로 생각된다. 난황단백질을 첨가하면 제조직후 색도의 L\*값 (Lightness)은 유의적으로 증가하였으나, 저장기간 동안(1, 2주)에는 차이가 없었다. 난황단백질을 2% 첨가한 시료의 b\*(Yellowness)값은 대조구와 비교해 유의적으로 제조직후와 저장2주 후 차이가 났다. 색도의 a\* (Redness)값은 난황단백질을 첨가한 시료들이 대조구보다 작은 경향을 보였으나, 1 주일 보관한 시료들에서만 유의적인 차이를 나타내었다 (Table 3-23). 저장기간은 시료들간 색도차이에 영향을 미치지 않았다.

난황단백질을 첨가한 시료들은 제조직후 탄화수소 (hydrocarbons)화합물, 키톤, 알코올류, 알데하이드와 총휘발성 물질량이 대조구보다 훨씬 많은 양이 검출되었다 (Table 3-24).그러나 대조구의 탄화수소 (hydrocarbons)화합물, 키톤, 알코올류와 알데하이드는 저장 1주일 후 급격히 증가한 반면, 난황 단백질을 첨가한 시료들의 키톤은 감소하고, 알코올류는 큰 변화가 없으며, 알데하이드는 증가하여 다른 양상을 보였다. 저장 후 시료들간 키톤함량은 유의적인 차이가 없었다. 난황단백질을 첨가한 시료들의 알코올류는 대조구보다 저장2주 후 높았으며, 알데하이드는 저장1주와 2주 모두 높았다. 모든 휘발성분들은 사용한 칠면조 고기의 지질산화 정도와 관련된 것으로 볼

Table 3-23. Color of turkey roll

	Control	1% EYP	2% EYP	SEM
<b><i>0 week</i></b>				
L	75.35 <sup>b</sup>	77.00 <sup>a</sup>	76.61 <sup>a</sup>	0.36
a	6.89	6.48	6.61	0.20
b	16.05 <sup>b</sup>	16.61 <sup>ab</sup>	16.86 <sup>a</sup>	0.21
<b><i>1 week</i></b>				
L	76.43	77.13	76.76	0.32
a	6.85 <sup>a</sup>	6.50 <sup>b</sup>	6.38 <sup>b</sup>	0.10
b	16.54	16.40	16.89	0.17
<b><i>2 week</i></b>				
L	75.49	75.75	76.06	0.20
a	6.79	6.65	6.49	0.13
b	16.61 <sup>b</sup>	16.94 <sup>ab</sup>	17.35 <sup>a</sup>	0.17

<sup>a-d</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different ( $P < 0.05$ ). SEM: standard error of the means.  $n = 4$ . Abbreviation: EYP, egg yolk protein.

Table 3-24. Volatile profiles of turkey roll

	Control	1% EYP	2% EYP	SEM
<b>0 week</b>	----- Total ion counts x 10 <sup>4</sup> -----			
Hydrocarbons	4894 <sup>b</sup>	34762 <sup>a</sup>	38655 <sup>a</sup>	1733
Ketones	27617 <sup>c</sup>	98609 <sup>b</sup>	126945 <sup>a</sup>	3004
Alcohols	6921 <sup>b</sup>	56295 <sup>a</sup>	55689 <sup>a</sup>	1505
Aldehydes	20780 <sup>b</sup>	64924 <sup>a</sup>	77868 <sup>a</sup>	4396
Others	0 <sup>c</sup>	2342 <sup>b</sup>	3687 <sup>a</sup>	273
Total volatiles	60212 <sup>c</sup>	256931 <sup>b</sup>	302844 <sup>a</sup>	5332
<b>1 week</b>				
Hydrocarbons	19269 <sup>b</sup>	26662 <sup>a</sup>	28282 <sup>a</sup>	1636
Ketones	70883	97569	96419	9675
Alcohols	78520	76573	93274	8739
Aldehydes	63845 <sup>b</sup>	79154 <sup>a</sup>	83586 <sup>a</sup>	4144
Others	1368 <sup>c</sup>	2697 <sup>b</sup>	3356 <sup>a</sup>	80
Total volatiles	233835 <sup>b</sup>	282656 <sup>a</sup>	304918 <sup>a</sup>	10954
<b>2 week</b>				
Hydrocarbons	19266	29142	28998	2922
Ketones	59894	80235	95809	11134
Alcohols	66072 <sup>b</sup>	73746 <sup>b</sup>	94078 <sup>a</sup>	5829
Aldehydes	61510 <sup>b</sup>	87110 <sup>a</sup>	90882 <sup>a</sup>	6412
Others	887 <sup>c</sup>	1663 <sup>b</sup>	2907 <sup>a</sup>	134
Total volatiles	207629 <sup>b</sup>	271895 <sup>ab</sup>	312675 <sup>a</sup>	20845

**Hydrocarbons:** pentane, hexane, 1-heptene, heptane, 1-octene, octane, 2-octene, nonane, 2,3-dimethyl pentane **Ketones:** 2-propanone, 2-butanone, 2-heptanone, 5-hexen-2-one, 4-methyl-3-penten-2-one, **Alcohols:** ethanol, 2-propanol, 2-methyl-1-propanol, 1-pentanol, 1-penten-3-ol, 3-heptanol, 1-octen-3-ol, **Aldehydes:** 3-methyl butanal, pentanal, hexanal, acetaldehyde, propanal, heptanal, nonanal, octanal, **Others:** 2-ethyl furan, 1,4-dimethyl benzene, methyl cyclopentane, ethyl benzene, dimethyl disulfide

<sup>a-b</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different ( $P < 0.05$ ). SEM is standard error of the means. n = 4. Abbreviation: EYP, egg yolk protein.

Table 3-25. Texture of turkey roll

	Control	1% EYP	2% EYP	SEM
<b>0 week</b>				
Hardness	4726.1 <sup>a</sup>	4180.8 <sup>b</sup>	3892.5 <sup>b</sup>	131.0
Adhesiveness	-3.1	-3.5	-5.1	0.9
Springiness	0.8	0.8	0.8	0.0
Cohesiveness	0.5	0.5	0.5	0.0
Gumminess	2317.6 <sup>a</sup>	2031.7 <sup>b</sup>	1869.9 <sup>b</sup>	60.3
Chewiness	1904.9 <sup>a</sup>	1654.7 <sup>b</sup>	1517.9 <sup>b</sup>	52.7
Resilience	0.3	0.3	0.3	0.0
<b>2 Week</b>				
Hardness	4508.4 <sup>a</sup>	4223.4 <sup>a</sup>	3713.0 <sup>b</sup>	116.6
Adhesiveness	-2.9	-2.5	-3.1	1.1
Springiness	0.8	0.8	0.8	0.0
Cohesiveness	0.5	0.5	0.5	0.0
Gumminess	2269.6 <sup>a</sup>	2066.5 <sup>b</sup>	1895.7 <sup>b</sup>	62.8
Chewiness	1882.9 <sup>a</sup>	1699.0 <sup>b</sup>	1599.6 <sup>b</sup>	60.0
Resilience	0.3	0.3	0.3	0.0
<b>0 week</b>				
Hardness	4543.5 <sup>a</sup>	3975.0 <sup>b</sup>	3627.8 <sup>c</sup>	106.5
Adhesiveness	-3.0	-2.5	-3.1	0.6
Springiness	0.8	0.8	0.8	0.0
Cohesiveness	0.5	0.5	0.5	0.0
Gumminess	2252.9 <sup>a</sup>	1987.6 <sup>b</sup>	1785.1 <sup>c</sup>	47.5
Chewiness	1885.0 <sup>a</sup>	1658.6 <sup>b</sup>	1461.6 <sup>c</sup>	42.8
Resilience	0.3	0.3	0.3	0.0

<sup>a-c</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different ( $P < 0.05$ ).

SEM is standard error of the means. n = 4. Abbreviation: EYP, egg yolk protein.

수 있으나, 특히 알데하이드성분들은 직접적으로 고기의 지질산화와 연관되어 있다. 시료들 중 생성된 알데하이드양과 TBARS값 (Table 3-22, 3-24)에서 알 수 있는 것처럼, 높은 TBARS값을 가지는 시료들이, 특히 저장기간 중, 더 많은 알데하이드를 발생한다. 조직감에 있어서 hardness, gumminess와 chewiness는 난황단백질을 첨가할수록 유의적으로 감소하여, 전체적으로 부드럽고 쉽게 씹히는 느낌을 주었다(Table 3-25). 이러한 현상은 난황 단백질과 대두단백질의 가교형성차이에 의해 일어나는 것으로 판단된다. 저장기간은 시료들 간 조직감 변화에 영향을 주지 않았다.

이상의 결과들로 볼 때, 난황 단백질을 첨가한 turkey breast roll은 통상적인 배합비로 만들어진 시료들과 비교하여 조성이나, 보존성, 일반성질에서 큰 차이가 없는 것으로 보여 meat가공제품의 단백질공급원으로 충분히 활용할 수 있는 가능성을 보여 주었다. 난황단백질의 영양적 우수성뿐만 아니라 아미노산 조성에 따른 단백질의 물성 특성으로 인해 기존의 제품과 차별화된 특성을 부여할 수 있을 것으로 기대한다.

라. 난황유를 이용하여 Lutein 이 강화된 소시지개발

Lutein과 zeaxanthin은 망막의 반점에 집적되어 노화에 따른 실명을 방지하는 데 중요한 역할(Blums, 2000 Hasler, 2000) 을 하는 황색색소(carotenoids)들이다. 앞의 계란난황성분들의 계통적분리에 있어서 난황에 존재하는 황색색소들은 지질에 추출되어 나오며, 특히 분리된 중성지질에 거의 대부분 함유되어 있다. 이런 점에서 난황에서 분리한 중성지질은 lutein과 zeaxanthin의 좋은 공급원이 될 수 있다.

난황유는 의약품, 화장품이나 수산양식에 이용 될 수 있는 가능성이 많이 제기되고 있다. 그러나 황색색소들에 의한 짙은 붉은 색으로 인해 식품가공이나 식용유지로 그대로 이용되기에는 어려운 점이 많다. 분리의 어려움과 상대적으로 적은 양으로 인해 지속적인 탈색공정의 경제성이 확보되기 어려운 점이 있다. 동물성 피하지방을 25-30% 첨가하여 유화시켜 만드는 소시지는 식감과 조직감이 좋다. lutein과 zeaxanthin이 많이 함유된 난황의 중성지질을, 전체적인 품질의 차이를 느낄 수 없는 범위 내에서, 소시지의 동물성지방의 일부로 대체할 수 있다면 새로운 건강 기능성 제품의 개발이 가능할 것이다.

사물의 중심부분이 잘 보이지 않게 되는 시력소실은 선진국의 주요한 안 질환으로 점진적으로 일어난다(Lesson and Caston, 2004). 가장 효과적인 예방법으로 망막을 자극하는 청색계열의 빛을 흡수하는 lutein과 zeaxanthin을 많이 섭취하는 것이다. 청색계열의 빛은 망막표면의 퇴화를 촉진시키는 것으로 여겨지고 있다(Landrum and Bone, 2001).lutein과 zeaxanthin, cryptoxanthin은 xanthophil계열의 색소로서, 난황에는 300-500 mg 의 xanthophyll들이 존재한다(Steinberg 등, 2000). 다른 생물체에 존재하는 xanthophyll들과 달리난황중의 xanthophylls들은 절반이상이용가능하고 안정한 상태로 존재하여 백내장이나 망막퇴화를 막는 데 효과적이다. lutein과 zeaxanthin의 성인 하루 권장섭취량은 5-6 mg (USDA-NCC, 1998 Grando 등, 2003)이다. 그러나 Landrum and Bone (2001) 은 북미대륙 주민들의 lutein과 zeaxanthin 하루섭취량은 1mg이하로 보고하고 있다. lutein과 zeaxanthin의 체내이용성은 존재하는 식품의 특성과 다른 성분들과의 상호작용에 의해 달라진다. 난에 존재하는 lutein과 zeaxanthin의 이용성이 높은 것은 중성지질(triglycerol), 인지질, 콜레스테롤에 의해 잘 분산되어 있기 때문으로 판단된다 (Handelman 등, 1999).이러한 점에서 계통적 분리에 의해 얻은 중성지질은lutein과 zeaxanthin이 많이 함유되어 있어 시력유지에 좋은 건강식품소재로 이용될 수 있을 것으로 기대된다. 또한 중성지질의 이용범위를 넓히기 위해 지질이 유화되어 있는 프랑크푸르트 소시지에 적용해 보았다.

난황의 중성지질을 첨가하여 만든 소시지들은 대조구 (돈지 100%)에 비해 단백질 함량이 약간 낮게 나타났다 (Table 3-26). 이러한 차이는 돈지에 존재하는 소량의 단백질때문이다. 난황중성지질의 함량이 높아질수록 소시지의 회분함량이 조금씩 높아지는 경향을 보이나, 전체적으로 배합비에 따른 일반성분의 차이는 크지 않았다. TBARS값은 난황중성지질을 이용한 소시지들에서 대조구보다 낮게 나타났으며, 낮아지는 정도는 난황중성지질의 함량에 비례하였다 (Table 3-27). 난황중성지질에 존재하는 토크페롤 등 항산화물질이 지질산화를 억제하는 것으로 보인다. 저장기간 동안 조금씩 증가하였으나 4주 동안의 변화율은 미미하였다. 소시지표면과 내부의 색상은 모두 난황중성지질의 첨가에 의해 영향을 받았다. 소시지 표면의 적색도(a\*-values)와 황색도 (b\*-values)는 난황지질을 첨가함에 따라 증가하였다. 특히 황색도의 증가는 가장 뚜렷하게 나타났으며, 난황지질의 첨가량에 비례하였다.

저장기간 동안 소시지의 백색도(L\*-value)는 점진적으로 증가하는 반면, 적색도(a\*-value)와 황색도(b\*-value) 는 감소하는 경향을 보였다 (Table 3-28). 소시지 내



부의 색상과 저장기간 중 색상변화도 표면의 색상과 저장기간 중 색상변화와 비슷한 경향을 나타내었다. 그러나 소시지내부의 백색도 변화는 표면의 변화보다 확연하였으며, 내부의 백색도 감소는 난황유지사용량에 비례하였다. 내부의 a\* 값과 b\*값은 난황유지사용량이 증가할수록 증가하였으나, 저장기간은 영향을 미치지 않았다. 전체적으로 주어진 실험조건 내에서 난황유지를 사용하여 만든 소시지는 대조구와 비교하여 노란색을 많이 띄어 구별되었다. 다른 색소를 띄는 물질의 배합비를 달리하여 대조구와 색상의 차이를 줄일 수 있으나, 구별되는 색상으로 제품의 특징을 나타 낼 수 있는 측면도 있을 것으로 기대된다.

난황유지 사용량이 증가할수록 탄화수소화합물(hydrocarbons), 키톤(ketones), 알코올류, 알데하이드, 환화합물(cyclo-compounds)과 총휘발성 성분의 생성은 저장기간중 점진적으로 증가하였다 (Table 3-29). 난황유지를 15% 사용하여 만든 소시지의 휘발성 물질의 생성량은 대조구나 다른 난황유지함량소시지보다 유의적으로 훨씬 많았다. 한편 대조구와 5%, 10%의 난황유지를 첨가하여 만든 소시지의 초기(0 week) 생성값은 탄화수소화합물을 제외하고는 유의적 차이가 없었다. 저장 2주나 4주 후 제조초기에는 탐지되지 않던 terpenoids들이 전 시료들에서 뚜렷이 나타나기 시작하였으며, 전 휘발성 물질들의 증가는 난황유지 사용량과 비례하였다. 이러한 경향은 지방산조성과 연관이 있다. 난황유지를 많이 사용할수록 돈지보다 많은 linoleic acid, arachidonic acid와 docosahexaenoic acid 와 같은 불포화지방산의 비율이 많아지게 된다(Table 3-30). 따라서 불포화지방산들은 지질산화나 다른 화학적 변화에 민감하게 작용하므로, 휘발성물질들을 더 많이 생산하게 된다. 난황유지함량이 높음에도 불구하고 TBARS값이 낮은 사실을 볼 때, 난황유지를 사용한 소시지에서 생성된 휘발성물질들은 지질산화에 의한 것보다는 가열처리공정과 저장기간 동안 주로 열분해에 의한 것으로 생각된다.

Table 3-26. Proximate analysis of sausages

	Control	5% egg oil	10% egg oil	15% egg oil	(unit: %) SEM
Moisture	58.97	58.31	59.02	59.98	0.17
Protein	17.51 <sup>a</sup>	16.88 <sup>b</sup>	16.86 <sup>b</sup>	16.64 <sup>b</sup>	0.09
Fat	16.07	16.87	16.93	16.83	0.26
Ash	1.02 <sup>c</sup>	1.16 <sup>bc</sup>	1.43 <sup>ab</sup>	1.56 <sup>a</sup>	0.08
Carbohydrate	6.43	6.78	5.76	4.99	

<sup>a-b</sup>Values with different letters within a row are significantly different ( $P < 0.05$ ).

SEM: standard error of the means. Abbreviation: EP, egg protein,  $n = 4$ .

Table 3-27. TBARS of sausages

	Control	5% egg oil	10% egg oil	15% egg oil	SEM
	----- MDA mg/ kg meat -----				
0week	0.61 <sup>ay</sup>	0.48 <sup>by</sup>	0.38 <sup>cz</sup>	0.30 <sup>dy</sup>	0.01
2week	0.62 <sup>ay</sup>	0.48 <sup>by</sup>	0.41 <sup>cy</sup>	0.33 <sup>dy</sup>	0.01
4week	0.73 <sup>ax</sup>	0.60 <sup>bx</sup>	0.49 <sup>cx</sup>	0.42 <sup>dx</sup>	0.01
SEM	0.01	0.01	0.01	0.01	

<sup>a-d</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different (P < 0.05).

<sup>x-z</sup>Values with different letters within a column with the same treatment are significantly different (P < 0.05).

SEM: standard error of the means. n = 4.



Table 3-28. Color of sausages

	Surface color					Surface color				
	Control	5% egg oil	10% egg oil	15% egg oil	SEM	Control	5% egg oil	10% egg oil	15% egg oil	SEM
<i>0 week</i>										
L	64.24	64.10	63.68	64.49	0.55	72.57 <sup>a</sup>	71.79 <sup>ab</sup>	71.23 <sup>bc</sup>	70.34 <sup>c</sup>	0.31
a	17.78 <sup>b</sup>	18.81 <sup>b</sup>	20.01 <sup>a</sup>	20.26 <sup>a</sup>	0.38	11.48 <sup>d</sup>	13.08 <sup>c</sup>	14.40 <sup>b</sup>	16.38 <sup>a</sup>	0.14
b	27.73 <sup>d</sup>	39.94 <sup>c</sup>	52.12 <sup>b</sup>	61.00 <sup>a</sup>	1.05	12.14 <sup>d</sup>	26.11 <sup>c</sup>	35.34 <sup>b</sup>	51.28 <sup>a</sup>	0.60
<i>2 week</i>										
L	66.70 <sup>a</sup>	66.88 <sup>a</sup>	64.30 <sup>b</sup>	66.41 <sup>a</sup>	0.45	73.00 <sup>a</sup>	72.24 <sup>ab</sup>	71.52 <sup>b</sup>	71.22 <sup>b</sup>	0.37
a	16.74 <sup>c</sup>	18.15 <sup>b</sup>	20.32 <sup>a</sup>	18.32 <sup>b</sup>	0.39	11.86 <sup>d</sup>	13.31 <sup>c</sup>	14.40 <sup>b</sup>	15.42 <sup>a</sup>	0.10
b	24.65 <sup>d</sup>	36.94 <sup>c</sup>	52.89 <sup>a</sup>	49.27 <sup>b</sup>	0.87	13.00 <sup>d</sup>	25.13 <sup>c</sup>	33.21 <sup>b</sup>	38.99 <sup>a</sup>	0.51
<i>4 week</i>										
L	67.55 <sup>a</sup>	67.61 <sup>a</sup>	65.30 <sup>b</sup>	67.86 <sup>a</sup>	0.54	73.47 <sup>a</sup>	72.01 <sup>b</sup>	71.99 <sup>b</sup>	71.87 <sup>b</sup>	0.27
a	15.96 <sup>b</sup>	16.51 <sup>b</sup>	19.41 <sup>a</sup>	16.84 <sup>b</sup>	0.49	11.37 <sup>d</sup>	13.03 <sup>c</sup>	14.21 <sup>b</sup>	15.59 <sup>a</sup>	0.14
b	23.81 <sup>c</sup>	32.72 <sup>b</sup>	44.74 <sup>a</sup>	46.35 <sup>a</sup>	0.87	12.79 <sup>d</sup>	24.52 <sup>c</sup>	32.20 <sup>b</sup>	42.37 <sup>a</sup>	0.48

<sup>a-d</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different ( $P < 0.05$ ).

SEM: standard error of the means. n = 4.



예상한 대로 난황유지 사용량이 증가할수록 만들어진 소시지의 조직감은 부드러워 졌다 (Table 3-31). 난황유지가 첨가된 소시지는 낮은 용점을 가지는 다가불포화지방산 함량이 높아, 난황유지 함량이 높을수록 조직은 더 부드러웠다. 그러나 저장기간은 조직감에 큰 영향을 주지 않았다. 난황유지가 첨가됨에 따라 부드러워진 조직감은 필요할 경우 다른 성분들의 배합비를 조정함으로써 조절이 가능할 것으로 판단된다. 결론적으로 난황유지를 15%까지 넣어 프랑크푸르트 소시지를 만들 수 있을 것으로 기대되며, 경우에 따라 색상이나 조직감을 조정할 필요가 있을 것으로 판단된다.

Table 3-29 Volatile profiles of sausages

	Control	5% egg oil	10% egg oil	15% egg oil	SEM
<b>0 week</b>	----- Total ion counts x 10 <sup>4</sup> -----				
Hydrocarbons	2601 <sup>d</sup>	4586 <sup>c</sup>	6231 <sup>b</sup>	10445 <sup>a</sup>	519
Ketones	242363 <sup>b</sup>	169538 <sup>c</sup>	27198 <sup>ab</sup>	308770 <sup>a</sup>	16237
Alcohols	357107 <sup>b</sup>	281727 <sup>b</sup>	392819 <sup>b</sup>	640442 <sup>a</sup>	37825
Aldehydes	2974 <sup>b</sup>	3422 <sup>b</sup>	4063 <sup>b</sup>	23450 <sup>a</sup>	1546
Cyclo compounds	163447 <sup>b</sup>	136112 <sup>b</sup>	132005 <sup>b</sup>	320544 <sup>a</sup>	29742
Total	768492 <sup>b</sup>	595385 <sup>c</sup>	807046 <sup>b</sup>	1308151 <sup>a</sup>	51807
<b>2 week</b>					
Hydrocarbons	231 <sup>d</sup>	456 <sup>c</sup>	911 <sup>b</sup>	1330 <sup>a</sup>	49
Ketones	18672 <sup>d</sup>	59796 <sup>c</sup>	120939 <sup>b</sup>	152339 <sup>a</sup>	4774
Alcohols	55175 <sup>d</sup>	136542 <sup>c</sup>	208565 <sup>b</sup>	25388 <sup>a</sup>	8393
Aldehydes	7737 <sup>d</sup>	115121 <sup>c</sup>	199466 <sup>b</sup>	252904 <sup>a</sup>	4367
Cyclo compounds	209 <sup>d</sup>	31983 <sup>c</sup>	60104 <sup>b</sup>	84619 <sup>a</sup>	1938
TerpenoidsTotal	3116 <sup>d</sup>	23696 <sup>c</sup>	57537 <sup>b</sup>	89890 <sup>a</sup>	2073
Total	85141 <sup>d</sup>	367595 <sup>c</sup>	647522 <sup>b</sup>	834966 <sup>a</sup>	16586
<b>4 week</b>					
Hydrocarbons	749 <sup>b</sup>	1409 <sup>a</sup>	1216 <sup>a</sup>	1556 <sup>a</sup>	102
Ketones	53534 <sup>b</sup>	52010 <sup>b</sup>	69934 <sup>b</sup>	128099 <sup>a</sup>	8897
Alcohols	51882 <sup>d</sup>	107224 <sup>c</sup>	145258 <sup>b</sup>	212629 <sup>a</sup>	5581
Aldehydes	4852 <sup>d</sup>	99245 <sup>c</sup>	153793 <sup>b</sup>	221332 <sup>a</sup>	5380
Cyclo compounds	1300 <sup>d</sup>	19216 <sup>c</sup>	52262 <sup>b</sup>	72297 <sup>a</sup>	1621
TerpenoidsTotal	1854 <sup>d</sup>	22889 <sup>c</sup>	44231 <sup>b</sup>	83485 <sup>a</sup>	3354
Total	114171 <sup>d</sup>	301993 <sup>c</sup>	466695 <sup>b</sup>	719398 <sup>a</sup>	15693

**Hydrocarbons:** 3-methyl heptane, undecane, nonane, decane, octane, **Ketones:** 2-propanone, 2-butanone, 2-heptanone, 4-methyl-3-penten-2-one, **Alcohols:** ethanol, 2-propanol, 1-butanol, 1-pentanol, **Aldehydes:** 2-methyl propanal, 3-methyl butanal, hexanal, heptanal, nonanal, octanal, **Cyclo compounds:** methyl cyclopentane, toluene, tetrahydro furan, cyclohexane, **Terpenoids:** alpha-pinene, camphene, beta-pinene, myrcene, delta-3-carene, limonene, para-cymene.

<sup>a-b</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different ( $P < 0.05$ ). SEM is standard error of the means. n = 4



Table 3-30. Fatty acid composition of sausages added with egg oil

	Control	5% egg oil	10% egg oil	15% egg oil	SEM
Myristic acid (C14:0)	1.67 <sup>a</sup>	1.26 <sup>ab</sup>	1.27 <sup>ab</sup>	0.87 <sup>b</sup>	0.09
Palmitic acid (C16:0)	22.30 <sup>b</sup>	22.33 <sup>b</sup>	22.90 <sup>b</sup>	24.20 <sup>a</sup>	0.22
Palmitoleic acid (C16:1, n7)	3.13 <sup>ab</sup>	2.97 <sup>b</sup>	3.25 <sup>ab</sup>	3.49 <sup>a</sup>	0.10
Margaric acid (C17:0)	0.48	0.58	0.49	0.43	0.09
C17:1, n10	0.45	0.47	0.50	0.55	0.08
Stearic acid (C18:0)	12.36 <sup>a</sup>	11.04 <sup>b</sup>	9.84 <sup>c</sup>	8.58 <sup>d</sup>	0.14
Oleic acid (C18:1, n9)	39.89 <sup>a</sup>	38.29 <sup>ab</sup>	36.84 <sup>bc</sup>	35.65 <sup>c</sup>	0.54
trans-Vaccenic acid (C18:1, n7)	3.97 <sup>a</sup>	3.48 <sup>b</sup>	3.17 <sup>bc</sup>	3.05 <sup>c</sup>	0.09
Linoleic acid (C18:2, n6)	12.58 <sup>c</sup>	15.33 <sup>b</sup>	16.60 <sup>ab</sup>	17.40 <sup>a</sup>	0.39
gamma-Linolenic acid (C18:3, n6)	0.13	0.15	0.19	0.18	0.03
alpha-Linolenic acid (C18:3, n3)	0.53	0.55	0.67	0.73	0.06
Arachidic acid (C20:0)	0.19	0.20	0.20	0.15	0.03
Gondoic acid (C20:1, n9)	0.76 <sup>a</sup>	0.62 <sup>b</sup>	0.57 <sup>b</sup>	0.46 <sup>c</sup>	0.02
Arachidonic acid (C20:4, n6)	1.13 <sup>c</sup>	1.93 <sup>b</sup>	2.53 <sup>ab</sup>	2.96 <sup>a</sup>	0.17
C22:4, n6	0.20	0.29	0.29	0.31	0.05
Docosapentaenoic acid (C22:5, n3)	0.15	0.15	0.17	0.22	0.02
Docosahexaenoic acid (C22:6, n3)	0.08 <sup>c</sup>	0.36 <sup>b</sup>	0.52 <sup>b</sup>	0.80 <sup>a</sup>	0.05

<sup>a-c</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different ( $P < 0.05$ ). SEM is standard error of the means. n = 4.

Table 3-31 .Texture of sausages

	Control	5% egg oil	10% egg oil	15% egg oil	SEM
<b><i>0week</i></b>					
surface	857.6 <sup>a</sup>	670.1 <sup>b</sup>	427.5 <sup>c</sup>	206.5 <sup>d</sup>	15.86
inside	335.4 <sup>a</sup>	256.4 <sup>b</sup>	216.4 <sup>c</sup>	191.2 <sup>d</sup>	6.54
<b><i>2week</i></b>					
surface	825.4 <sup>a</sup>	594.3 <sup>b</sup>	246.7 <sup>c</sup>	198.5 <sup>d</sup>	12.69
inside	310.9 <sup>a</sup>	254.8 <sup>b</sup>	205.5 <sup>c</sup>	185.6 <sup>d</sup>	6.07
<b><i>4week</i></b>					
surface	806.8 <sup>a</sup>	681.4 <sup>b</sup>	385.7 <sup>c</sup>	205.8 <sup>d</sup>	17.86
inside	342.0 <sup>a</sup>	285.8 <sup>b</sup>	226.1 <sup>c</sup>	192.8 <sup>d</sup>	8.0

<sup>a-d</sup>Values with different letters within a row with the same storage time are significantly different ( $P < 0.05$ ). SEM is standard error of the means. n = 4.

## 참고문헌

- 김재욱, 허종화. 한국산업식품공학회지. 2002년 난각칼슘 및 키토산 첨가에 의한 마요네즈의 기능성 개선.
- 김재욱, 최춘언, 차가성. 한국식품과학회지. 1988년 마요네즈 제조시에 난황 사용량에 따른 유화안정성의 비교.
- 배효미, 오명숙. 한국조리과학회지. 1989년 마요네즈의 유통 특성과 유화 안정성에 미치는 초산 농도의 영향.
- 신형순, 김공환. 한국농화학회지. 1997년 난각칼슘 제조 조건 및 유기산이 칼슘의 이온화에 미치는 영향.
- 송영선. 한국식품과학회지. 1990년 마요네즈 저장 중 미세구조의 변화.
- 이광욱, 이영춘 공저 공연사 1995년판 식품의 관능검사.
- 축산 신문. 1999. 12 .31
- Akita, E.M. and Nakai, S. Immunoglobulins from egg yolk: isolation and purification. *J. Food Sci.* 57:629-634 (1992)
- Akita, E.M. and Nakai, S. Comparison of four purification methods for the production of immunoglobulins from egg laid by hens immunized with an enterotoxigenic *E. coli* strain. *J. Immunol. Methods* 160:207-214 (1993a)
- Ahn, D.U., Kim, S.M. and Shu, H. Effect of egg size, and strain and age of hens on the solids content of chicken eggs. *Poultry Sci.* 76:914-919. (1997)

- Ahn, D.U., Sell, J.L., Jeffery, M. Jo., Chen, C.X., Wu, C. and Lee, J.I. Dietary Vitamin E Affects Lipid Oxidation and Total Volatiles of Irradiated Raw Turkey Meat. *J. Food Sci.* 62:954-959 (1997)
- Ahn, D.U., Jo, C. and Olson, D.G. Headspace Oxygen in Sample Vial Affects Volatiles Production and Lipid Oxidation of Raw and Cooked Meat during the Automated Purge-and-Trap Dynamic Headspace/GC Analyses. *J. Agric. Food Chem.* 47:2776-2781 (1999)
- AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 17th ed. Method 960.52. Association of Analytical Communities, Arlington, VA, USA (2000)
- AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 17th ed. Method 923.09. Association of Analytical Communities, Arlington, VA, USA (2000)
- AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 17th ed. Method 935.13. Association of Analytical Communities, Arlington, VA, USA (2000)
- Arias, J.S., Fernandez, M.S., Dennis, J.E. and Caplan, A.I. Collagens of the chicken egg shell membrane, *Connect. Tissue Res.* 26:37 (1991)
- Batista, A.P., Raymundo, A., Sousa, I. and Empis, J. Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. *Food Hydrocolloids*, 20(1):44-52 (2006)
- Blums M. The hidden secrets of greens. *International Food Ingredients* 6:7-10 (2000)
- Bourne, M.C. *Food Texture and Viscosity*. Academic Press, New York, p330 (1994)

- Castellani, O., Martinet, V., David-Briand, E., Guérin-Dubiard, C. and Anton, E. Egg yolk phosvitin: preparation of metal-free purified protein by fast protein liquid chromatography using aqueous solvents. *Journal of Chromatography B*. 791(1-2):273-284 (2003)
- Castellani, O., Guérin-Dubiard, C., David-Briand, E. and Anton, E. Influence of physicochemical conditions and technological treatments on the iron binding capacity of egg yolk phosvitin. *Food Chemistry*, 85(4):569-577 (2004)
- Castellani, O., David-Briand, E., Guérin-Dubiard, C. and Anton, E. Effect of aggregation and sodium salt on emulsifying properties of egg yolk phosvitin. *Food Hydrocolloids*, 19(4):769-776 (2005)
- Choi, I., Jung, C., Choi, H., Kim, C. and Ha, H. Effectiveness of phosvitin peptides on enhancing bioavailability of calcium and its accumulation in bones. *Food Chemistry*, 93(4):577-583 (2005)
- Compton S.J., Jones C.G. Mechanism of dye response and interference in the Bradford protein assay. *Anal. Biochem.* 151(2): 369-74 (1985)
- Cook, C.L., Pao, W., Frica, J.R., Anderson, B.E. and Fryer, J.P. Simple purification methods for an  $\alpha$ -galactose-specific antibody from chicken eggs. *J. Biosci. Bioeng.* 91(3):305-310 (2001)
- Fachin, L. and Viotto, W.H., Effect of pH and heat treatment of cheese whey on solubility and emulsifying properties of whey protein concentrate produced by ultrafiltration. *International Dairy Journal*, 15(4) : 325-332 (2005)
- Ferreiro, E.A. and de Bussetti, S.G. Apparent and partial specific adsorption of

- 1,10-phenanthroline on mixtures of Ca-montmorillonite, activated carbon, and silica gel. *Journal of Colloid and Interface Science*, 292(1):54-62 (2005)
- Fleming, A. On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretion. *Proc.. R. Soc. London, Ser B.*, 93:306 (1922)
- Grando, F., Olmedilla. B., Blanco I. Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *Br. J. Nutr.* 90:487-502 (2003)
- Hansen, P., Scoble, J.A., Hansen, B. and Hoogenraad, N.J. Isolation and purification of immunoglobulins from chicken eggs using thiophilic interaction chromatography. *J. Immunol. Methods* 215:1-7 (1998)
- Handelman, G.J., Nightingale, Z.D., Lichtenstein, A.H., Schaefer, E.J. and Blumberg JB. Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70:247-251 (1999)
- Hasler, C.M. The changing face of functional foods. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(5):499S-506S (2000)
- Hatta, H., Kim, M., and Yamamoto, T. A novel isolation method for hen yolkantibody, "IgY". *Agric. Biol. Chem.* 54:2531-2535 (1990)
- Hatta, H., Ozeki, M. and Tsuda, K. Chapter 11. Egg yolk antibody IgY and its application, pp. 153. In: *Hen Eggs-Their basic and applied science.* (ed. Yamamoto. T, Juneja. L.R., Hatta. H., Kim, M.). CRC Press, London, UK (1997)
- Hatta, H., Sim, J.S. and Nakai, S. Separation of phospholipids from egg yolk and recovery of water-soluble proteins. *J. Food Sci.* 53(2): 425-427 (1998)

- Jeneja, L.R. and Kim, M. Chapter 5. Egg yolk proteins, pp. 60. In: Hen Eggs-Their basic and applied science. (ed. Yamamoto, T., Juneja, L.R., Hatta, H., Kim, M.). CRC Press, London, UK (1997)
- Kim, H. and Nakai, S. Immunoglobulin separation from egg yolk: a serial filtration system. *J. Food Sci.* 61(3):510-512, 523 (1996)
- Kim, H. and Nakai, S. Simple separation of immunoglobulin from egg yolk by ultrafiltration. *J. Food Sci.* 63(3):485-490 (1998)
- Kim, I.C., Kim, J.H., Lee, K.H. and Tak, T.M. Phospholipids separation (degumming) from crude vegetable oil by polyimide ultrafiltration membrane. *Journal of Membrane Science*, 205(1-2):113-123 (2002)
- Lesson, S. and Caston, L. Enrichment of eggs with lutein. *Poultry Sci.* 83:1709-1712 (2004)
- Megias, C., Mar Yust, M., Pedroche, J., Lquari, H., Giron-Calle, J., Alaiz, M., Millan, F. and Vioque, J. Purification of an ACE inhibitory peptide after hydrolysis of sunflower (*Helianthus annuus* L.) protein isolates. *J. Agric. Food Chem.* 52:1928-1932 (2004)
- Okubo, T., Akachi, S., Hatta, H. Chapter 1. Structure of hen eggs and physiology of egg laying, pp. 1. In: Hen Eggs-Their basic and applied science. (ed. Yamamoto, T., Juneja, L.R., Hatta, H., Kim, M.). CRC Press, London, UK (1997)
- Park, O., Allen, J.C. Preparation of phosphopeptides derived from s-casein and -casein using immobilized glutamic acid-specific endopeptidase and characterization of their calcium binding. *J. Dairy Sci.* 81:2858-2865 (1998)

- Polo, M.C., Ramos, M., de Llano, D.G. HPLC of peptides. In "Food Analysis by HPLC". Nollet LM, Eds. Marcel Dekker, Inc: New York, NY. pp. 99-126 (2000)
- Shimizu, M., Fitzsimmons, R.C., Nakai, S. Anti-E. coli immunoglobulin Y isolation from egg yolk of immunized chickens as a potential food ingredient. *J. Food Sci.* 53:1360-1366 (1988)
- Starcher, B.C. and King, G.S. The presence of desmosine and iosdesmosine in egg shell membrane protein, *Connect. Tissue Res.* 8:53 (1980)
- Steinberg, W., Grashorn, M.A., Klunter, A.M., Schierle, J. Comparative pigmentation efficiency of two products containing either apo-ester or targets extract in egg yolks and liquid eggs. *Arch. Gelugelkd.* 64:1-8 (2000)
- Sugino, H., Nitoda, T. and Jeneja, L.R. Chapter 2. General chemical composition of the hen eggs, pp. 16. In: *Hen Eggs-Their basic and applied science.* (ed. Yamamoto, T., Juneja, L.R., Hatta, H., Kim, M.). CRC Press, London, UK (1997)
- Telis-Romero, J., Thomaz, C.E.P., Bernardi, M., Telis, V.R.N. and Gabas, A.L. Rheological properties and fluid dynamics of egg yolk. *Journal of Food Engineering*, In Press, Corrected Proof, Available online (2005)
- Tolosa, L.I., Rodríguez-Malaver, A.J., González, A.M. and Rojas, O.J. Effect of Fenton's reagent on O/W emulsions stabilized by black liquor. *Journal of Colloid and Interface Science*, In Press, Corrected Proof, Available online 2 (2005)
- USDA-NCC Carotenoid Database (1998). USDA Food Nutrient Database for Standard Release 13, Hart and Scott, 1995
- Yen, G.C. and Wu, S.C. Reduction of mutagenicity of the fumes from cooking oil



by degumming treatment. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 36(1):  
29-35 (2003)

## 제 4 장 기능성 난 단백질의 분리와 효능특성연구

### 제 1 절 연구내용에 따른 실험방법

#### 1. 난백 단백질의 항균성 단백질인 ovotransferrin의 분리 및 정제방법 연구

##### 가. 공시재료 및 처리

본 실험의 공시재료는 시중에서 구입한 신선한 계란을 구입하여 실험실에서 난황과 난백을 분리 하였다. 분리된 난백에서 알끈을 제거 한 후 동량의 3차 증류수를 가한 후 mixer를 이용하여 저속으로 교반하였다. 교반이 끝난 난백액은 sonicator chamber에서 60분간 sonication을 실시하여 난백액 중의 공기를 배제하였다.

Sonication 종료 후 난백액을 5,000 rpm에서 25분간 원심분리한 다음 침전물을 제거한 후 상등액을 급속동결하였다. 급속동결 된 시료를 동결건조하여 분리·정제에 이용하였다.

##### 나. 분획(fraction)의 수집

###### 1) Gel filtration

아머삼 바이오사이언스의 XK26을 이용하여 시간대별로 Auto fraction collector로 회수하였다.

본 실험에 사용된 분리칼럼은 아머삼 바이오사이언스에서 구입한 Sephacryl S-200HR resin이 충전된 HiPrep 26/60 칼럼을 이용하였다. 조정제 난백시료 20mg/3ml을 칼럼에 loading 후 0.15M salt가 함유된 50mM sodium phosphate buffer(pH 7.2)를 elution buffer로 이용하여 분획물을 수집하였다. Buffer의 flow rate는 2ml/min으로 하였다. 분획물의 수집은 튜브 당 5분(10ml)씩 연속적으로 25개의 시험관에 수집하였다. 수집된 분획물은 분광광도계(UV-1601 SHIMADZU, Japan)를 이용하여 280nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 2) 투석

Gel filtration을 이용하여 분취한 분획물은 용출 튜브별로 투석막을 이용하여 투석을 실시하였다. 투석막은 스펙트라사의 고강도 cellulose계 Spectra/Por Membrane (MWCO:50,000)을 이용하였다. 투석이 끝나면 내액을 용기에 모은 후 급속동결한 뒤 동결 건조하여 사용하였다.

## 3) SDS-PAGE 분리 방법

SDS-PAGE는 10% acrylamide gel을 이용하여 Laemmi(1970)의 방법에 따라 전기영동을 실시하였다. 또한 gel 염색은 0.2% coomassie brilliant blue R-200(w/v)을 함유한 acetic acid/methanol/water(1:1:5) 용액에 염색하였다. 분리단백질의 전기영동상을 확인하기 위하여 표준단백질은 high range protein marker(아머삼 바이오사이언스, UK)를 사용하였다. 회수된 분획물을 이용하여 전기영동(SDS-PAGE)을 실시하였다.

## 4) Heparin 친화크로마토그래피

가) 50mM EDTA와 50mM Phosphate buffer(pH 7.2, 0.15M salt)를 이용한 two step 분리방법

본 실험에 사용된 분리칼럼은 아머삼바이오사이언스에서 구입한 Heparin sepharose 6 fast flow resin이 충전된 HiPrep 16/10 FF 칼럼을 이용하였다. 칼럼에  $Fe^{2+}$  ion을 고정 시키기 위하여 0.3M ferrous chloride( $FeCl_2$ )로 칼럼을 세척한 후 100ml의 증류수를 흘려서 미결합 철이온을 세척하여 제거하였다. 20mM phosphate buffer로 칼럼을 평형화한 후 조난백시료 210mg을 3ml의 3차 증류수에 용해한 후 filtering 하여 칼럼에 loading하였다. 시료의 용출은 50mM의 EDTA buffer(0~100분, 1~20번 분획)를 이용하여 분당 2ml의 속도로 수집하였다. 시료의 수집시간은 5분 간격으로 10ml씩 수집하였다. 수집이 끝난 뒤 3차 증류수 100ml(101~150분, 21~30번 분획)로 칼럼을 세척한 뒤 50mM Phosphate buffer(pH7.2, 0.15M salt함유)(151~250분, 31~50번 분획)를 이용하여 같은 수집방법으로 실시했다. 수집된 각각의 분획물은 분광광도계(UV-1601 SHIMADZU, Japan)를 이용하여 280nm에서 흡광도를 측정하였고 시료별로 냉동건조하여 전기영동(SDS-PAGE)을 실시하였다.

나) 50mM EDTA와 20mM Phosphate buffer(pH 7.0, salt free)를 이용한 salt free two-step 분리방법

본 실험에 사용된 분리칼럼은 아머삼바이오사이언스에서 구입한 Heparin sepharose 6 fast flow resin이 충전된 HiPrep 16/10 FF 칼럼을 이용하였다. 칼럼에  $Fe^{3+}$  ion을 고정 시키기 위하여 0.3M ferric sulfate( $Fe_2(SO_4)$ )로 칼럼을 세척한 후 100ml의 증류수를 흘려서 미결합 철이온을 세척하여 제거하였다.

시료의 용출은 50mM의 EDTA buffer(0~100분, tube 1~20번 분획)를 이용하여 분당 2ml의 속도로 수집하였다. 시료의 수집시간은 5분 간격으로 10ml씩 수집하였다. 수집이 끝난 뒤 3차 증류수 100ml(101~150분, 21~30번 분획)로 칼럼을 세척한 뒤 50mM Phosphate buffer(pH7.2, 0.15M salt함유)(151~250분, 31~50번 분획)를 이용하여 같은 수집방법으로 실시했다. 수집된 각각의 분획물은 분광광도계(UV-1601 SHIMADZU, Japan)를 이용하여 280nm에서 흡광도를 측정하였고 시료별로 냉동건조하여 전기영동(SDS-PAGE)을 실시하였다.

## 2. 분리된 ovotransferrin의 기능성 연구

### 가. 재료

#### 1) 균주 및 배지

균주는 L.Mono (ATCC 19111), S.typhi (ATCC 14028), Staph.aureus (ATCC 12692), E.Coli (ATCC 25922), B. cereus (ATCC 11778)로서 한국 식품개발연구원에서 분양 받았다. 곰팡이로는 Candida albicans (ATCC 10231), Saccharomyces cerevisiae (ATCC 4126), Aspergillus oryzae (ATCC 22788)을 이용하였다(Garibaldi, 1960).

배지는 nutrient agar, Mueller Hinton agar, Brain heart infusion agar (Difco. USA)를 이용하였다. tryptic soy broth 는 계대배양용 액체 배지로 이용하였고 곰팡이의 증식을 위해서는 potato dextrose agar를 이용하였다.

## 나. 방법

### 1) 항균 활성

항균 활성 측정에 사용된 각각의 균주는 10ml의 nutrient broth에 접종하고 37°C에서 18-24시간 동안 2회 계대 배양하여 사용하였다. 항균력 검색을 위해 분리된 ovotransferrin은 0.45 membrane filter로 여과하여 제균한 후 25, 12.50, 6.25, 3.15 mg/ml 의 농도가 되도록 조절하였다.

항균 활성은 MacLowry and Jaqua (1970)의 paper disc법으로 측정하였다. 멸균된 8mm paper disc를 각 미생물의 최적 고체 배지에 깔고 50ul의 각 농도의 ovotransferrin를 떨어뜨려 37°C incubator에서 16~24시간 배양 후 disc 주변의 inhibition clear zone의 직경을 mm 단위로 측정하여 비교하였다.

### 2) 보수성 측정

Ovotransferrin의 수분 흡착력의 측정은 Beuchat (1981)의 방법에 따라 1g의 각 시료에 증류수를 10ml 넣고 vortex 한 후 실온에서 30분간 정치한 다음 3,000xg에서 20분간 원심 분리하여 얻은 상층액의 부피를 측정하였고 1g의 시료에 흡착된 증류수의 부피 ml 을 측정하였다.

### 3) 기포 형성력 및 기포 안정성

기포 형성능력은 Wang과 Kinsella의(1976) 방법을 약간 변형하여 이용하였다. 0.1g의 오보트랜스페린에 증류수 10ml을 가하고 pH를 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 및 11.0으로 조절한 후 2000rpm에서 30초간 homogenizing하여 기포를 형성 시켰다. 발생된 기포의 부피를 측정하여 기포형성력을 측정하였고. 이의 안정성은 0, 10, 20, 30, 60, 120분 동안의 방치시간 후에 기포의 부피의 변화를 나타내었다.

## 3. Ovotransferrin 단백질의 용도 개발

### 가. 재료

#### 1) 생분해성 필름의 준비

필름은 Choi 등(2005)의 방법을 수정하여 제조하였다. 2%  $\kappa$ -Carrageenan (MSC Company, Yangsan, Kyungnam, Korea)에 90°C 증류수를 가한 후 90°C 항온수조에서 40분간 용해하였다. 필름의 가소성 증진을 위하여 가소제(PEG:glycerol=1:1)를 1.5% 첨가하였다. 필름에 항균활성 부여를 위하여 potassium sorbate(Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA), ovotransferrin (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA), ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA, Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA), grape fruit seed extract(GFSE, MSC Company, Yangsan, Kyungnam, Korea)의 항균물질을 첨가하였으며(table 4-1), 그 조성은 Table 1에 나타내었다. 용해된  $\kappa$ -Carrageenan 수용액 50ml을 10cm×10cm 평판에 부어 40°C drying oven(DS-80-1, Dasol scientific corp. Korea)에서 24시간 건조한 후 벗겨 내어 PE 포장지에 넣어 저장하며 시료로 사용하였다(Fig. 4-1).

## 2) 균주 및 배지

생분해성 필름의 항균, 항곰팡이 활성 측정을 위한 균주로는 Staph. aureus(ATCC 12692), E. coli(KFRI 00174)와 곰팡이 Candida albicans (ATCC 10231)를 한국식품개발연구원에서 분양받아 이용하였다.

배지는 nutrient agar와 YM agar (Difco. USA)를 이용하였다. 계대배양용 배지로는 nutrient broth(Difco. USA)를 이용하였고, 곰팡이의 배양을 위해서는 YM broth (Difco, USA)를 이용하였다.

## 3) 계육

생분해성 필름을 사용한 저장성 실험에 사용된 계육은 시중에서 안심부위만을 부분육으로 분할하여 판매하는 것을 구입하여 시료로 사용하였다.

Table 4-1. Composition of  $\kappa$ -Carrageenan-based biodegradable packaging film

Code	Film Treatments
C	Control : $\kappa$ -Carrageenan(2%) + plasticizer(1.5%)
T1	Control + Ovotransferrin(25mg/g $\kappa$ -Carrageenan)
T2	Control + Ovotransferrin(25mg/g $\kappa$ -Carrageenan) + EDTA(5mmol)
T3	Control + Potassium sorbate(10mg/g $\kappa$ -Carrageenan)
T4	Control + GFSE(100mg/g $\kappa$ -Carrageenan)

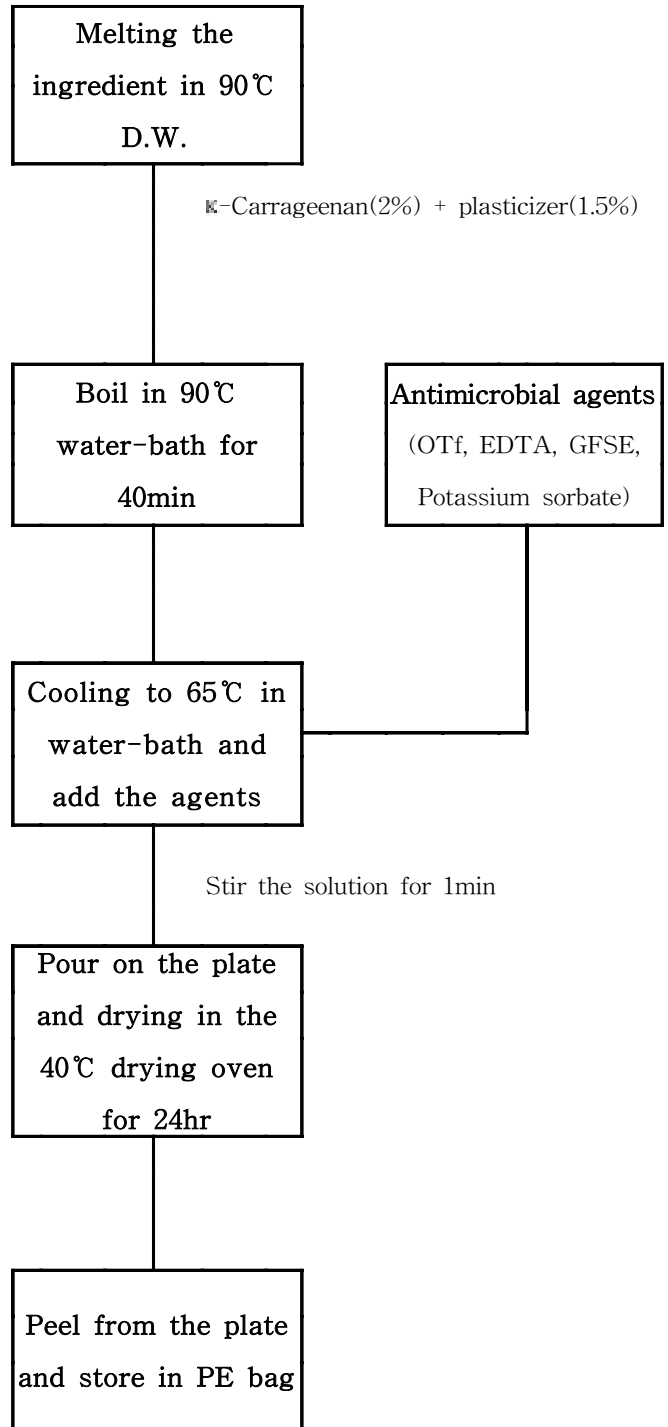


Fig. 4-1. The diagram of biodegradable packaging film manufacturing



## 나. 실험방법

### 1) 생분해성 필름의 항균, 항곰팡이 활성 측정

생분해성 필름의 항균, 항곰팡이 활성 측정에 사용된 균주는 10ml의 nutrient broth와 YM broth에 접종하고 각각 37℃와 25℃에서 18-24시간 동안 2회 계대 배양하여 사용하였다. 항균 활성은 Chen 등(1996)의 agar diffusion 법으로 측정하였다. 생분해성 필름들을 직경 6mm로 도려내어 104~5 CFU/ml의 균주 0.1ml을 접종한 nutrient agar plate와 YM agar plate 위에 얹는다. Nutrient agar plate들과 YM agar plate들은 각각 37℃와 25℃에서 10시간 배양한 후 생분해성 필름을 둘러싸고 있는 저해 구역을 측정한다.

### 2) 생분해성 필름을 이용한 저장성 실험

계육의 안심부위를 생분해성 필름으로 1차 포장한 후, 다시 PE 포장지를 이용하여 진공포장하여 5℃ 냉장고에 저장하면서 0, 1, 4, 7일 간격으로 총균수와 대장균수의 변화를 측정하였다. 총균수와 대장균수의 측정은 petrifilm(3M, USA)을 이용하였으며, 실험은 3회 반복하였다.

### 3) 통계 및 분석

모든 결과의 통계처리는 SAS-statistical analysis system (1995) program을 통해 분산분석을 수행하였고, 평균간 유의성 검정은 Duncan의 Multiple range test로 처리구간 결과의 차이를 분석하였다.

## 제 2 절 연구수행 내용 및 결과

### 1. 난백 단백질의 항균성 단백질인 ovotransferrin의 분리 및 정제방법 연구

#### 가. Gel filtration 방법을 이용한 기능성 난단백질의 분리

##### 1) whole egg protein의 전기영동(SDS-PAGE) pattern

크로마토그래피를 실시하기 전 whole egg protein의 전기영동 pattern은 Fig. 4-2와 같다. 분리된 난백에서는  $\alpha$ -macroglobulin과 ovotransferrin, ovalbumin등의 단백질이 포함되어있음을 보여주고 있다. 이들 단백질 중 항균 기능이 있는 ovotransferrin만을 분리하기위해 Gel filtration을 시도하였다.

##### 2) Gel filtration를 통해 분리한 난 단백질의 크로마토그램

Gel filtration을 통해 분리한 난 단백질의 크로마토그램을(Fig. 4-3) 보면 16번 분획이 가장 높은 농도를 보이는 단일 피크로 나타남을 알 수 있다. 난백에는 위에서 언급한 여러 가지 난 단백질이 함유되어 있으나 gel filtration을 통하여 분리한 결과 하나의 단일 피크안에 모든 단백질이 함유되어있는 것으로 사료된다. 따라서 이 피크의 구성 단백질의 구분을 위하여 11-16번 튜브에 용출된 분획물을 탈염 후 동결 건조하여 10% acrylamide 겔을 이용하여 SDS-PAGE을 실시하였다(Awadé 등, 1994).

##### 3) Gel filtration를 통해 분리한 난 단백질의 SDS-PAGE상의 분리패턴

Gel filtration를 통해 분리한 난 단백질을 10% acrylamide gel을 통하여 분리한 결과, 샘플인젝션 후 60-65min(13번 분획)경에 가장 높은 농도의 ovotransferrin (76.0kDa)이 분리됨을 보여주었다. 또한 65-70min 이후에는 ovalbumin이 ovotransferrin과 혼입되어 분리되었음을 나타내었고 오히려 ovalbumin의 농도가 더 높아짐을 보였다. 따라서 ovotransferrin은 샘플 인젝션 후 60-65min 경에 반복적으로 분획할 수 있기 때문에 대량 생산의 개발 가능성을 나타내었다.

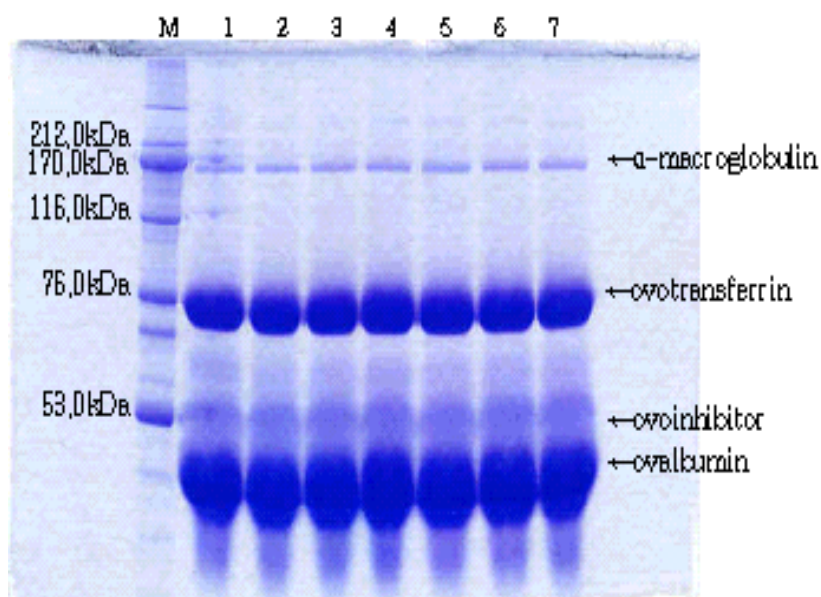


Fig. 4-2. 10% SDS - PAGE of egg white protein. [Marker: 212.0kDa(Myosin), 170.0kDa( $\alpha$  2-macroglobulin), 116.0kDa( $\beta$ -galactosidase), 76.0kDa(Transferrin), 53.0kDa(Bovine liver dehydrogenase)]

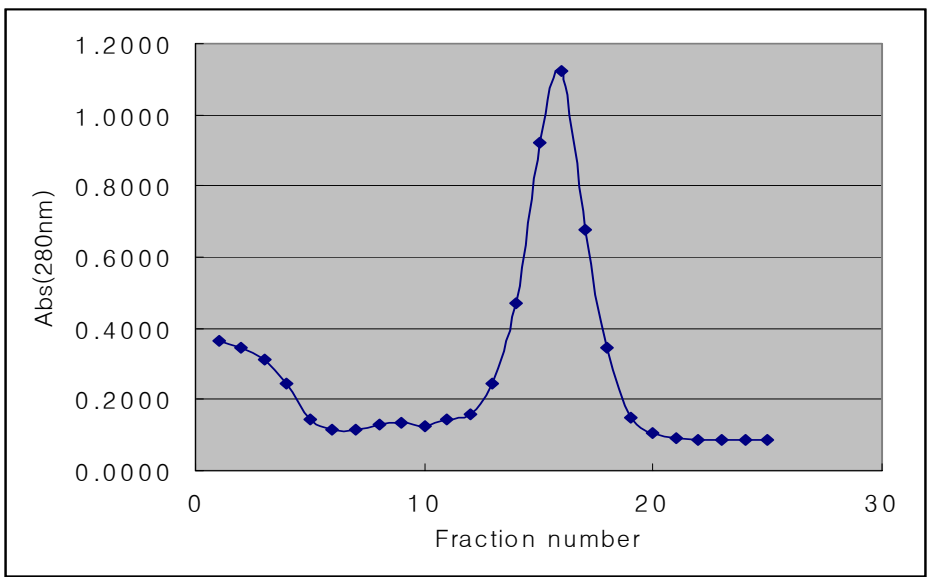


Fig. 4-3. Chromatogram of the first gel chromatography fractions of egg white protein.

전기영동으로 확인된 고농도의 ovotransferrin 분획물(Fig.4-4; 12-14번 분획)을 다시 2ml/min의 속도로 튜브당 5ml씩 50개의 fraction으로 수집한 후 280nm에서 흡광도를 측정하였다.(Fig. 4-5) 그 결과 여전히 하나의 단일 피크만 보임을 알 수 있었다. 하지만 Fig 4-3의 비교하였을 때 피크의 모양이 다소 변함을 알 수 있었다.

Fig 4-5의 크로마토그램에서 24-40번 분획을 각각 동결건조한 후 농축하여 10% acrylamide 젤을 이용하여 구성 단백질을 확인한 결과 24-26번과 36-38번 분획에서 ovotransferrin과 ovoalbumin이 뚜렷하게 분리됨을 알 수가 있었다 (Fig. 4-6). 특히 26번 분획물은 진한 ovotransferrin의 밴드를 보여 높은 순도의 분리가 이루어 졌음을 보였다. 이것은 분획물의 용출량을 10ml/튜브로 분리할 때 혼합되어있던 ovotransferrin과 ovalbumin이, 용출량을 5ml/튜브로 감소하였을 때 더 세분화 되어 분리되었음을 시사한다.

이 결과로 비추어 볼 때 Gel filtratin을 통하여 난 단백질에서 ovotransferrin을 분리할 경우 2ml/min의 용출 속도로 분획물의 양을 10ml보다는 5ml로 좀더 세분하여 수집하는 것이 더 바람직하다고 사료된다.

나. Affinity chromatography를 이용한 기능성 난단백질의 분리

#### 1) Heparin Affinity chromatography를 통한 분획물의 전기영동 pattern

가) 50mM EDTA와 50mM Phosphate buffer(pH 7.2, with 0.15M salt)를 이용한 two-step 분리방법( $\text{FeCl}_2$  고정 컬럼)

Affinity chromatography를 통해 분리 수집된 총 50개 분획물(0~250분) chromatogram은 Fig. 4-7과 같다. 용출 개시 후 5-15분과 156-165분에 피크가 나타났다.

각 분획의 단백질 확인은 SDS-PAGE를 이용하였다 (Fig. 4-8).

용출개시 후 100분까지 50mM EDTA buffer(pH 7.2 with 0.15M salt )를 흘려준 결

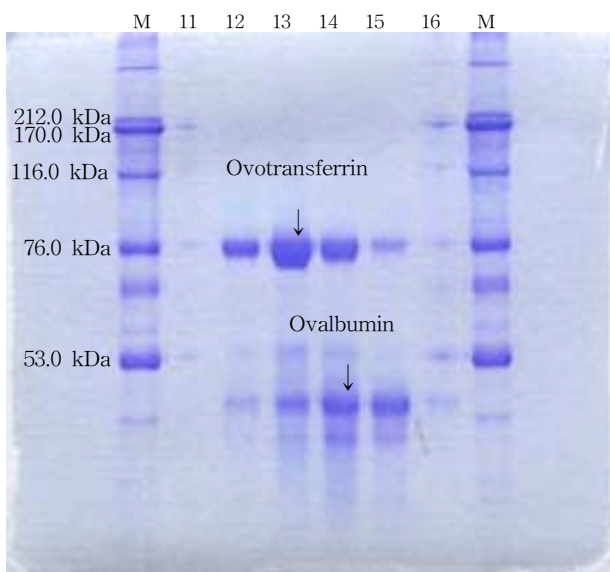


Fig. 4-4. 10% SDS-PAGE patterns of the first gel chromatography fractions of egg white protein. [11~16 : Fraction number, Marker : 212.0kDa(Myosin), 170.0kDa ( $\alpha$ 2-macroglobulin), 116.0kDa( $\beta$ -galactosidase), 76.0kDa(Transferrin), 53.0kDa(Bovine liver dehydrogenase)]

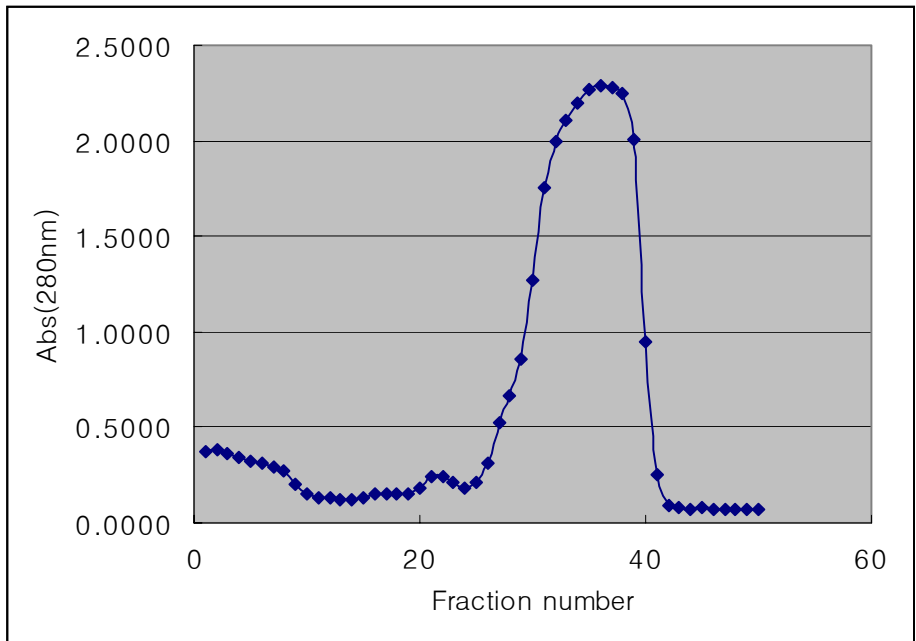


Fig. 4-5. Chromatogram of the second gel chromatography fractions of No. 12~14 fractions obtained by the first gel

chography

용출량을 2배 더 늘려서 수집한 뒤 전기영동으로 확인하였다

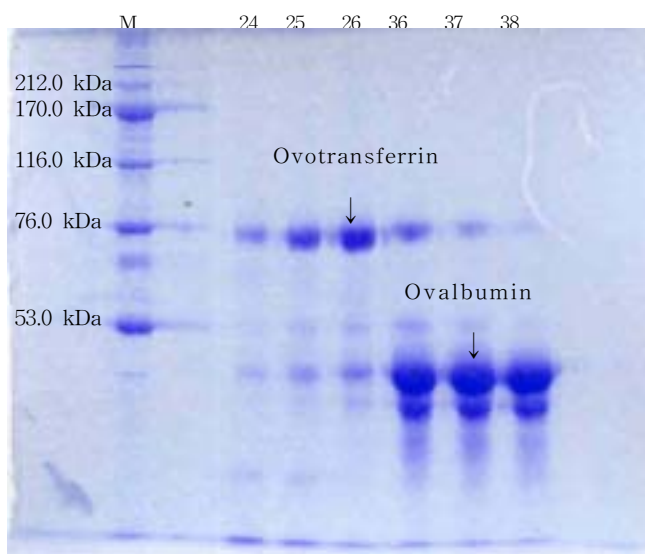


Fig. 4-6. 10% SDS-PAGE patterns of the second gel chromatography fractions of No. 12~14 fractions obtained by the first gel chromatography. [24~26, 36~38 : Fraction number, Marker: 212.0kDa(Myosin), 170.0kDa( $\alpha$ 2-macroglobulin), 116.0kDa ( $\beta$ -galactosidase), 76.0kDa(Transferrin), 53.0kDa(Bovine liver dehydrogenase)]



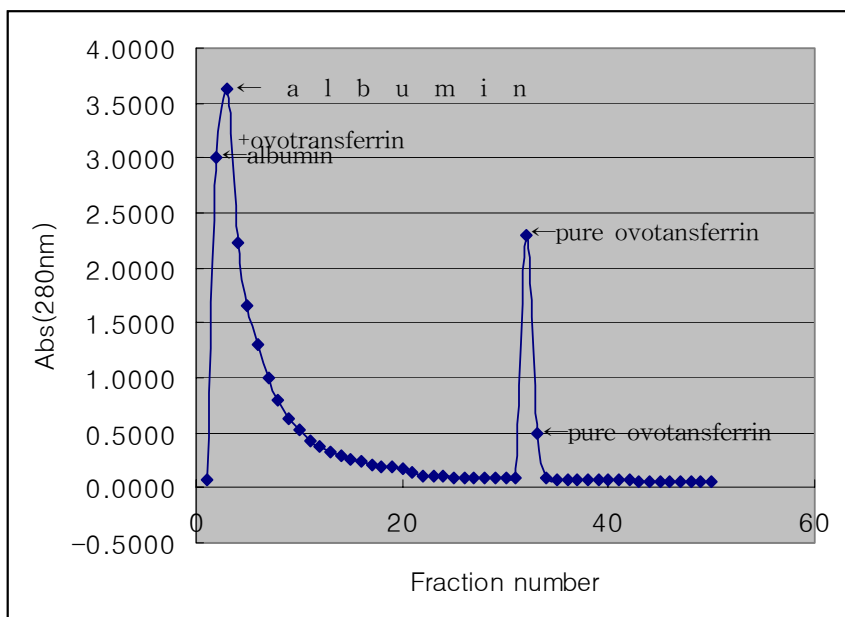


Fig. 4-7. Chromatogram of the egg protein of heparin affinity chromatography eluted 50mM EDTA buffer(No.1~20), distilled water(No.21~30) and 20mM phosphate buffer(pH 5.0, 0.15M salt)(No.31~50) through column bonding ferrous chloride.

과 5~10분경(2~3번 분획)에 ovalumin만 순수하게 분리되었으나 10~15분경(4번 분획)에는 ovalbumin과 ovotransferrin의 혼합물이 용출되어 순수한 ovotransferrin의 분리는 이루어지지 않았다. 15분 이후에는 어떤 단백질도 검출되지 않았다.

그러나, 151~250분 동안에 50mM phosphate buffer(pH 7.2, 0.15M salt포함)를 이용하여 분리한 결과 156~165분(32~33번 분획)에 ovotransferrin이 분리되었다 (Fig. 4-9).

나) 50mM EDTA와 20mM Phosphate buffer(7.0, salt free)를 이용한 salt free two-step 분리방법( $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)$  고정 컬럼)

50mM EDTA와 20mM Phosphate buffer(7.0, salt free)을 이용하여 분리 수집된 총 50개 튜브(0~250분)의 흡광도는 Fig. 9와 같다. 용출개시 후 100분까지는 50mM EDTA buffer(pH 7.2, 0.15M salt 포함)를 흘려준 결과 15분과 170분에 두개의 피크가 보였다.

Affinity chromatography를 통해 160~170분에 분리된 분획의 단백질 확인은 SDS-PAGE를 이용하였다 (Fig. 4-11). 모두 순수한 ovotransferrin이었으며 ovalbumin은 보이지 않았다. 하지만 Fig. 4-10의 첫 번째 피크는 SDS-PAGE 상에서 어떠한 단백질 밴드로도 보이지 않았다. 버퍼의 혼입으로 인한 고스트 피크로 사료된다. 결국, 기능성 난 단백질분리를 위해 gel filtration방법과 affinity chromatography 방법을 비교해본 결과, 후자의 방법이 더욱 순수한 ovotransferrin의 분리를 가능하게 하여 바람직한 방법으로 생각된다. 그러나 affinity chromatography를 이용하여 분리한 ovotransferrin은 이미 인위적으로 철이온을 결합시킨 것으로 후에 이 철이온의 분리가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## 2. 분리된 ovotransferrin의 기능성 연구

### 가. Ovotransferrin의 가공적성

기능성 단백질 식품은 식육 근육의 texture, 다즙성, 육색등, 빵의 밀 글루텐의 점탄성과 기포성, 치즈 casein 단백질의 커드 형성, 아이스크림 및 whipping 제품에서의 난

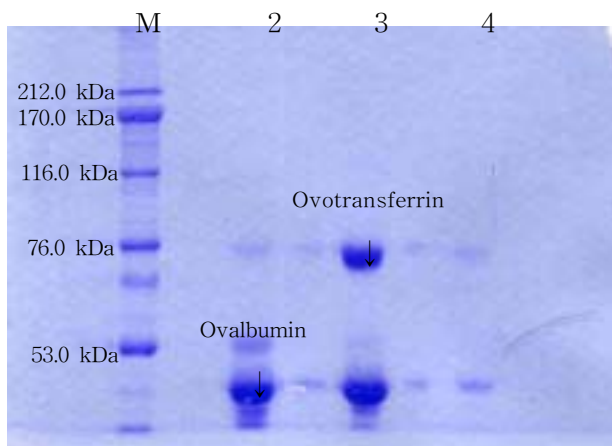


Fig. 4-8. 10% SDS-PAGE profile of the egg protein of heparin affinity chromatography eluted 50mM EDTA buffer through column bonding ferrous chloride. [2~3 : Fraction number, Marker: 212.0kDa(Myosin), 170.0kDa( $\alpha$ 2-macroglobulin), 116.0kDa( $\beta$ -galactosidase), 76.0kDa(Transferrin), 53.0kDa(Bovine liver dehydrogenase)]

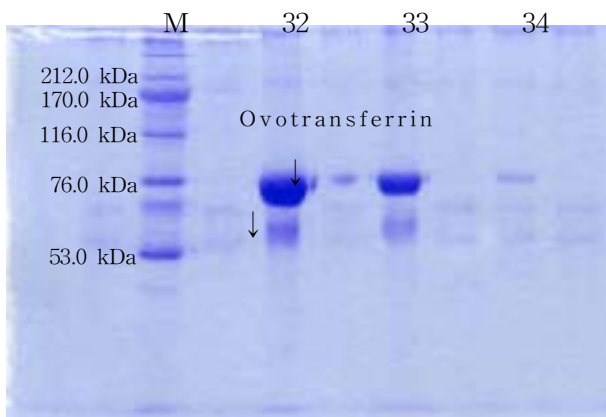


Fig. 4-9. 10% SDS-PAGE profile of the egg protein of heparin affinity chromatography eluted 20mM phosphate buffer(pH 5.0, 0.15M salt) after eluting 50mM EDTA buffer through column bonding ferrous chloride. [Marker: 212.0kDa(Myosin), 170.0kDa( $\alpha$  2-macroglobulin), 116.0kDa( $\beta$ -galactosidase), 76.0kDa(Transferrin), 53.0kDa(Bovine liver dehydrogenase)]

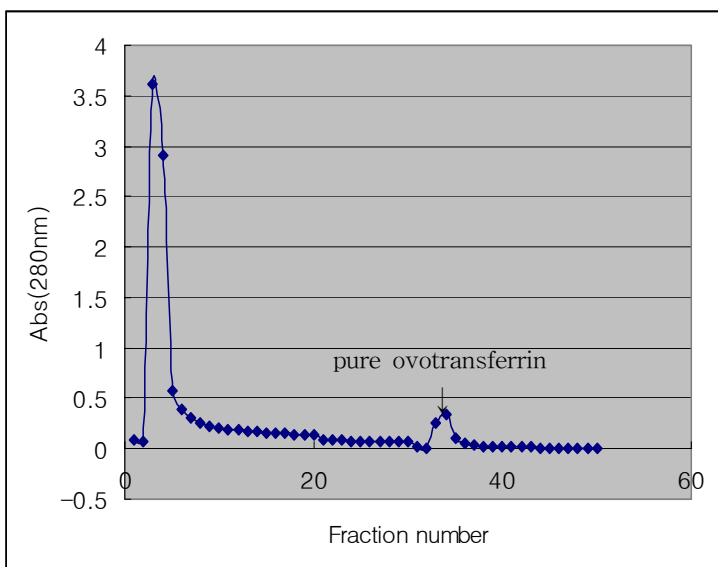


Fig. 4-10. Chromatogram of the egg protein of heparin affinity chromatography eluted 50mM EDTA buffer(0~100min), distilled water(101~150min) and 20mM phosphate buffer(pH 5.0, salt free, 151~250min) through column bonding ferric sulfate.

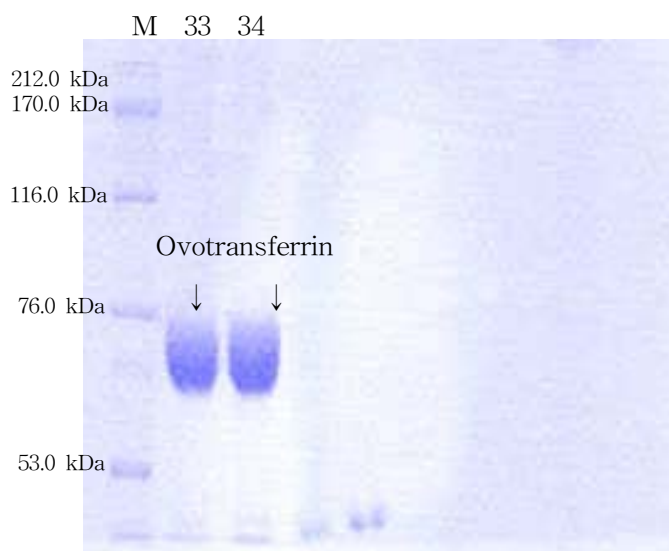


Fig. 4-11. 10% SDS-PAGE profile of the egg protein of heparin affinity chromatography eluted 20mM phosphate buffer(pH 7.0, salt free) after eluting 50mM EDTA buffer through column bonding ferric sulfate. [33~34 : Fraction number, Marker : 212.0kDa(Myosin), 170.0kDa( $\alpha$ 2-macroglobulin), 116.0kDa( $\beta$ -galactosidase), 76.0kDa(Transferrin), 53.0kDa(Bovine liver dehydrogenase)]

백질의 기포성, 마요네즈의 난황의 유화성, 두부 제조시 칼슘에 의한 대두단백의 응고성 등이 있다(Handa and Kuroda, 1999). 특히 난백 단백질의 기포성의 열과 pH 등에 대한 안정성이 요구 된다(Burley and Vadehra, 1989; Robinson, 1987; Yoshinori, 1998).

단백질의 농도가 증가하면 기포형성이 용이하고 안정성도 증가한다고 알려져 있으며 부분적인 열변성에 의해서도 단백질의 기포 특성이 증가 한다(Lechevalier, 2005; Matsudomi 등, 2002).

분리된 ovotransferrin의 식품소재로서의 가공적성을 알아보기 위해 기포성, 응고성, 보수성을(Kuser, 2002) 측정하였다.

Fig. 4-12는 pH 3, 5, 7, 9, 11에서의 ovotransferrin의 시간에 따른 기포의 형성과 그 안정성을 나타내고 있다. 가장 염기적인 조건인 pH 11에서 기포가 최대 발생하였다가 시간이 지나면서 점차 감소하였는데 산성 조건인 pH 3에서는 기포의 형성이 가장 적게 발생되어서 pH의 조건에 의존하는 기포의 발생 형태를 보여주고 있다. 이 결과를 보았을 때, 기포 형성을 필요로 하는 경우엔 중성이상의 pH 조건이 적합한 것으로 보여 졌다. 특히 pH 3의 조건에서 ovotransferrin의 기포는 시간이 지나면서 급속하게 감소하는 경향을 보였으나, pH 7의 조건에서는 감소의 폭이 적어 기포형성 후 안정하게 유지되는 조건으로 판단되었다. 따라서 열처리에 대한 ovotransferrin의 기포 형성과 안정성을 측정하기 위해 pH 7을 선택하였다.

Fig. 4-13은 선정된 pH 7의 조건에서 30, 60, 90, 120℃의 조건으로 열처리하였을 때의 기포 형성력 및 안정성을 타나낸 것이다. 기포는 발생 후 시간이 지남에 따라 감소하였고 기포의 발생은 60℃의 온도에서 가장 높았으나 처리 온도가 90℃이상이 되면 현저하게 감소하는 것으로 나타났다.

이는 단백질의 기능적 성질이 단백질의 조성, 배열, conformation, 분자량과 구조 등의 내적 요인, pH, 온도, 이온강도, 단백질과 다른 식품 성분 간의 상호 작용 등의 환경적 요인, 변형 등 가공 처리, 측정조건 등에 의해 영향을 받기 때문인 것이다 (

Kinsella, 1979)

#### 나. Ovotransferrin의 항균, 항 곰팡이 효과 연구

Ovotransferrin은 오랫동안 척추동물의 혈액과 조류 및 파충류의 난백의 주요 철 수송 단백질로 인식되어오고 있다(Cheuk 등, 1987). 또한 난의 알부민의 화학적 방어 라인의 주요요소로 여러 연구를 통해 밝혀지고 있다. 약 80kDa의 분자량을 보이는 단일체인의 당단백질이며(Wang, and Shelef, 1991), 이런 transferrin의 종에는 네 가지가 있다. 첫째, 척추동물의 혈액내 철 수송단백질인 serum transferrin, 둘째, 우유에서 최초로 발견된 lactoferin, 셋째, 난백에서의 ovotransferrin, 넷째, 악성 melanoma 세포에서 발견된 melanotransferrin이 있다.

Table 4-2는 분리된 ovotransferrin의 항균효과 및 항 곰팡이 효과를 나타낸 것이다. 다섯 가지 병원성 미생물과 두 가지 이스트와 곰팡이에 대한 ovotransferrin의 농도별 저해효과를 측정하였는데 위의 농도에서는 유의적인 저해 효과는 볼 수 없었다. 다만 25mg/ml의 농도로 적용했을 때 E.Coli, S.typhi, P.aerug와 Candida 에서만 약한 저해 효과를 나타내었다.

#### 다. 철과 결합한 단백질( holo-ovotransferrin)의 기능성 연구

본 실험에서는 철과 결합된 holo-ovotransferrin을 이용해 항미생물 효과를 측정하였으나 어떠한 병원성 미생물 균에도 억제 기능을 보이지 않았다 (data not shown). 이것은 ovotransferrin이 철 수거기능을 하지 못하여 미생물의 생존에 영향을 주지 않은 것으로 판단된다.

이것은 Ibrahim 등 (2000)이 철이 결핍된 E.coli에서 lysozyme에 의한 용해를 발견할 수 없다고 하였고 최근에는 항미생물 펩타이드인 lactofericin은 박테리아의 cytoplasmic mambrane을 탈극화시켜서 E.coli의 pH gradient의 손실을 일으키는 것으로 발표한 내용과 일치한다.

이렇게 Ovotransferrin은 난 단백질의 주요 단백질이긴 하지만 또한 다른 생리적 조건에서 다른 많은 조류의 세포에서 생성된다. Ovotransferrin을 포함한 트랜스페린의 주요



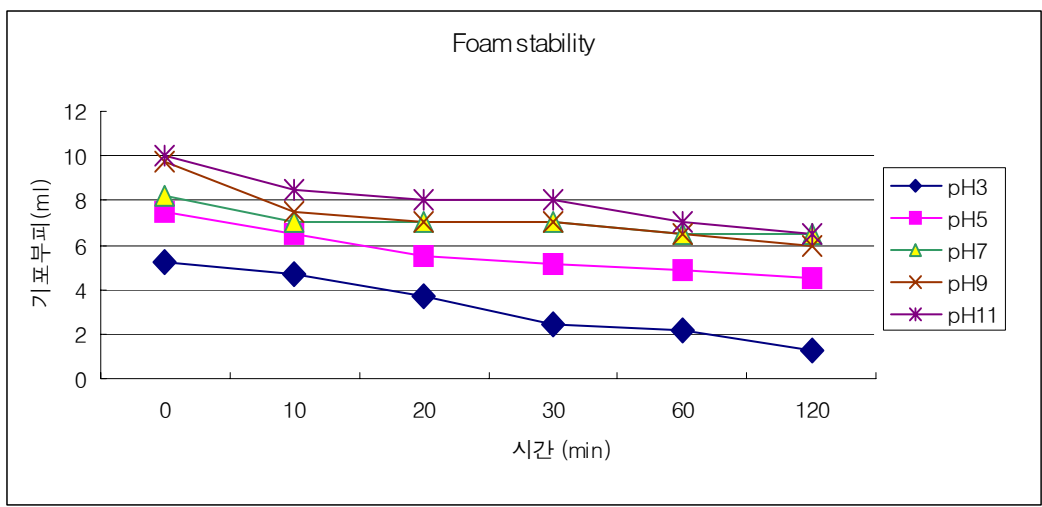


Fig. 4-12. Foaming capacity and stability of separated ovotransferrin in different pH range

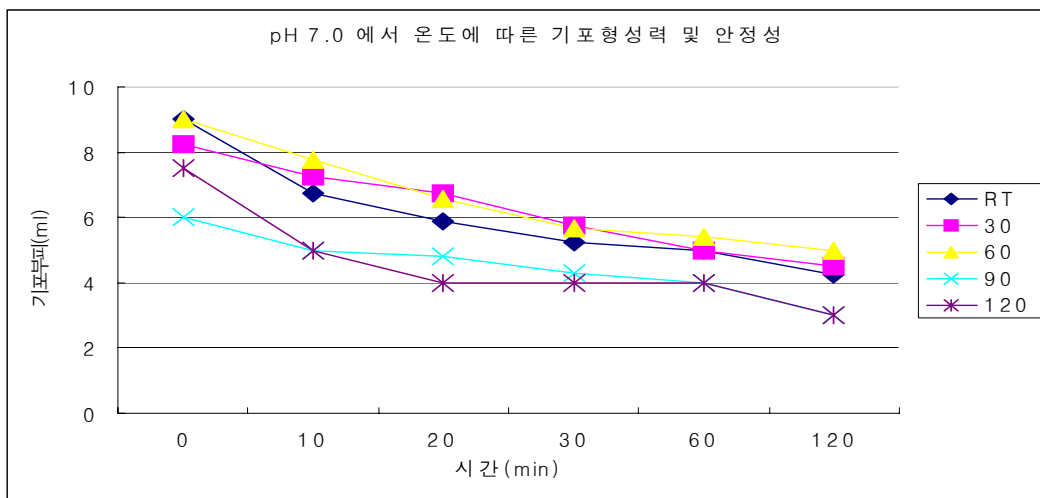


Fig. 4-13. Foaming capacity and stability of separated ovotransferrin in different temperature

Table 4-2. 항균효과 항 곰팡이 효과

bacteria concentration	E.Coli	S.typhi	P.aerug.	B.sereus	L.mono	C. albicans (yeast)	S. cerevisiae (yeast)	aspergilus oryzae (fungi)
3.08	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6.25	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
12.5	nd	+	nd	nd	nd	+	nd	nd
25	+	+	+	nd	nd	+	nd	nd

++: very sensitive

+: sensitive

nd: not detected

생리학적 기능은 철과 결합하고 세포로 수송하는 것이다(Mizutani 등, 2001; Boffi and Congju-Castellano, 2001). 이런 철의 수거 특징이 또한 미생물억제 및 저해에 영향을 준다. 또한 트랜스페린이 직접적으로 미생물의 막에 손상을 주는 경우도 있다(Aguilera 등, 2003).

Ovotransferrin은 미생물의 성장에 필수적인 철을 제거시킴으로서 주요 항미생물 특성을 보이는 것으로 알려지고 있다. 하지만, 난 알부민과 포유동물의 혈액의 serum에서는 미생물성장을 위한 free iron의 이용이 불가능하다. 더군다나, 철이온으로 충전된 ovotransferrin은 알부민을 E.coli의 성장을 위한 최적의 배양물질로 전환시키지는 않고 staphylococcus aureus 나 다른 미생물에 대한 실험실에 미생물억제 효과에 영향을 미치지 않는다(Ibrahim 등, 2000)는 연구 결과도 있다.

라 미생물 저해 특성 상승조건

Giansanti 등 (2002)은 lactoferrin 이 lysozyme과 항생제 등과 함께 항 미생물 역할의 상승효과를 준다고 보고 하였다. 따라서 본 실험에서도 ovotransferrin과 lysozyme, avidin 의 항 미생물 효과를 측정하였다.

#### 1) avidin과 ovotransferrin의 상승효과

Table 4-3은 avidin과 ovotransferrin의 혼합사용이 항균 및 항곰팡이 기능에 상승효과를 주는지를 나타내는 표이다. ovotransferrin에 알부민을 혼합하였을 때 25mg/ml의 농도에서 s.typhi가 억제 효과를 보였으나 12.5, 6.25, 3.08의 농도에서는 항균 효과를 보이지 않았다. 곰팡이류에서는 역시 candida에서 항균 활성을 보였으며 12.5mg/ml의 농도에서도 약한 항균활성을 보였다.

Table 4-4는 ovotransferrin의 항균 및 항곰팡이 활성의 상승요인으로 lysozyme이 작용할 수 있는지를 나타내는 표이다. 위의 표 2와 비슷한 경향을 보였지만 s.typhi가 12.5mg/ml의 농도에서도 약한 저해 효과를 보였으나 P.aerug 에 대해서는 오히려 효과를 보이지 않았다. 곰팡이류에서는 Candida의 억제 효과가 보였다. 본실험결과에 의하면, ovotransferrin의 항균 및 항 곰팡이 활성을 상승시키기 위해 lysozyme과 avidin의 역할이 그리 크지 않은 것으로 판단되었지만 유기산의 적정 적용이 앞으로 필요한

것으로 생각되어 차기연도의 연구에서 이어서 수행할 것이다.

### 3. Ovotransferrin 단백질의 용도 개발

#### 가. 생분해성 필름의 항균·항곰팡이 활성 측정

2차 년도에 수행된 연구의 결과에서 ovotransferrin이 약한 항균·항곰팡이 활성을 나타낸 Staph. aureus(ATCC 12692), E. coli(KFRI 00174) 및 Candida albicans(ATCC 10231)에 대하여 생분해성 필름의 항균활성을 측정하였으며, 그 결과는 Table 4-5와 같다.

생분해성 필름의 세균과 곰팡이에 대한 저해효과를 측정하였는데 유의적인 저해 효과는 볼 수 없었다. 다만 ovotransferrin과 착염제로서 EDTA를 함께 첨가한 처리구(T2)에서 E.Coli에 대하여 저해 효과를 나타내었다 (Fig. 4-14).

착염제(chelator)인 EDTA는 양이온들의 이용가능성을 제한함으로써 항균활성을 가질 수 있으며, 세균의 lipopolysaccharide들과 같은 세포막 거대분자들 간의 염 가교역할을 하는 2가 양이온들과 복합체를 형성하여 세포막을 불안정하게 한다. 착염제들과 함께 처리하면 Gram 음성균의 외세포막 투과성을 바꿀 수 있다(Padgett 등, 1998; Boziaris and Adams, 1999; Grill and Holley, 2000). 생분해성 필름에 ovotransferrin만을 첨가한 처리구(T1)는 항균활성이 나타나지 않았으나, Fig. 2에서과 같이 ovotransferrin과 착염제로서 EDTA를 함께 첨가한 처리구(T2)가 대장균에 대하여 항균활성을 나타낸 것은 이와 같은 이유일 것으로 사료된다.

소르브산(Sorbic acid)과 그것의 더욱 수용성인 염들은 치즈나 음료와 같은 다양한 제품에 보존료로써 광범위하게 사용된다. 그것들은 효모, 곰팡이, 선택적 세균들과 같은 수많은 미생물들을 0.05~0.30g/100ml의 효과적인 농도에서 저해하거나 성장을 지연시킨다. Potassium sorbate의 분자량은 150.22이고, 소르브산의 가장 용해성 있는 형태를 구성한다(Sofos and Busta, 1993). 그러나 생분해성 필름에 potassium sorbate를 첨가한 처리구(T3)는 뚜렷한 항균활성을 보이지 않았다.

Table 4-3. 항균 및 항곰팡이 효과에 대한 avidin과 ovotransferrin의 상승효과

bacteria concentration	E.Coli	S.typhi	P.aerug.	B.sereus	L.mono	C. albicans (yeast)	S. cerevisiae (yeast)	Aspergillus oryzae (fungi)
3.08	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6.25	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
12.5	nd	nd	+	nd	nd	+	nd	nd
25	nd	++	+	nd	nd	++	nd	nd

++: very sensitive

+: sensitive

nd: not detected

Table 4-4. 항균 및 항 곰팡이 효과에 대한 lysozyme과 ovotransferrin의 상승효과

bacteria concentration	E.Coli	S.typhi	P.aerug.	B.sereus	L.mono	C. albicans (yeast)	S. cerevisiae (yeast)	Aspergillus oryzae (fungi)
3.08	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6.25	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
12.5	nd	+	nd	nd	nd	+	nd	nd
25	nd	++	+	nd	nd	++	nd	nd

++: very sensitive

+: sensitive

ND: not detected

Table 4-5. Antimicrobial activity of biodegradable packaging films

Treatment \ bacteria	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Control	nd	nd	nd
T1*	nd	nd	nd
T2	nd	+	nd
T3	nd	nd	nd
T4	nd	nd	nd

\*refer to Table 1 for each treatment

nd : not detected

+ : sensitive



GFSE는 광범위한 미생물의 생육 저해를 나타내는 천연 항균제로 알려져 있다(Cho 등, 1995). 그러나 생분해성 필름에 첨가한 처리구(T4)에서는 뚜렷한 항균활성을 보이지 않았다.

#### 나. 생분해성 필름을 이용한 저장성 실험

가금류는 털, 날개, 분뇨에 많은 미생물이 존재하고 있고, 도계 공정 중 탕침, 탈모, 내장적출, 수세, 냉장과 냉동 과정 등에서 미생물이 오염되기 쉽다(이성기, 1999). 도계 과정에서 피부에 일단 오염된 미생물들은 그 후 물이나 살균액으로 씻어내더라도 잘 제거되지 않고 유통 중에 계속적으로 남아 생육하게 된다. 내장 적출 후 가장 위생적으로 분무 수세를 실시하더라도 일단 부착된 균을 101마리 이상 감소시킬 수가 없다고 한다. 이것은 수세방법으로 표면에 부착된 미생물을 제거하기가 힘들다는 의미이고, 또 부착된 세균들이 용액에 첨가한 염소수에 저항성이 크다는 것을 의미하는 것이다.

상업적으로 가금육을 저장시키는 방법으로 포장하여 냉장 또는 냉동시키는 것이 가장 일반적이다. 본 실험에서는 생분해성 필름을 이용하여 계육 안심부위를 밀착포장하고, PE 진공포장지를 이용하여 진공포장한 후 냉장저장 중에 생분해성 필름이 미생물의 생육에 미치는 영향을 관찰하였다.

계육 안심부위의 총균수의 변화는 생분해성 필름의 종류에 관계없이 저장기간이 증가할수록 총균수도 증가하는 경향을 나타내었으나, ovotransferrin과 착염제로서 EDTA를 함께 첨가한 처리구(T2)에서는 저장 1일차부터 유의적으로 낮은( $p < 0.05$ ) 총균수를 나타내었다. 그리고 ovotransferrin을 첨가한 처리구(T1)와 potassium sorbate를 첨가한 처리구(T3)는 저장 7일 후에 대조구에 비하여 유의적으로 낮은( $p < 0.05$ ) 총균수를 나타내었다(Fig. 4-15).

또한 대장균수의 변화에서도 ovotransferrin과 EDTA를 함께 첨가한 T2에서는 저장기간이 증가하여도 대장균수의 유의적인 변화가 나타나지 않았으며, 다른 처리구들에 비하여 유의적으로 낮은( $p < 0.05$ ) 대장균수를 보여, 대장균의 생육을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다. 그리고 ovotransferrin을 첨가한 처리구(T1)와 potassium

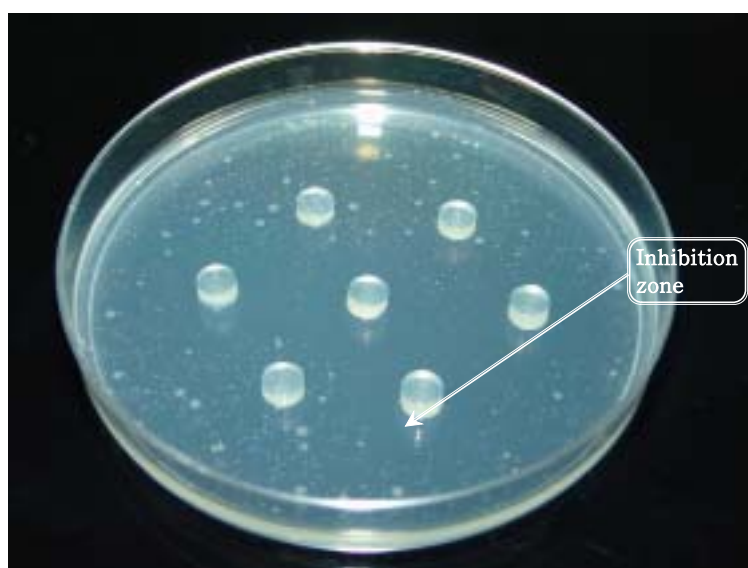


Fig. 4-14. Antimicrobial activity of biodegradable packaging films treated with ovotransferrin and EDTA(T2) on *E. coli*(KFRI 00174)

sorbate를 첨가한 처리구(T3)에서도 저장기간이 증가함에 따라 대조구에 비하여 유의적으로 낮은( $p < 0.05$ ) 대장균수의 증가를 보였다(Fig. 4-16).

이와 같은 결과는 선행한 생분해성 필름의 항균·항곰팡이 활성측정의 결과 처리구 T2에서 *E. coli*에 대하여 저해효과를 나타낸 결과와 유사하다고 할 수 있을 것이며, ovotransferrin을 포함한 트랜스페린의 주요 생리학적 기능이 철과 결합하여 세포로 수송하고, 이런 철의 수거 능력이 미생물억제 및 저해에 영향을 미치며, 또한 트랜스페린이 직접적으로 미생물의 막에 손상을 주는 경우도 있다는 Aguilera 등(2003)의 보고와도 일치한다.

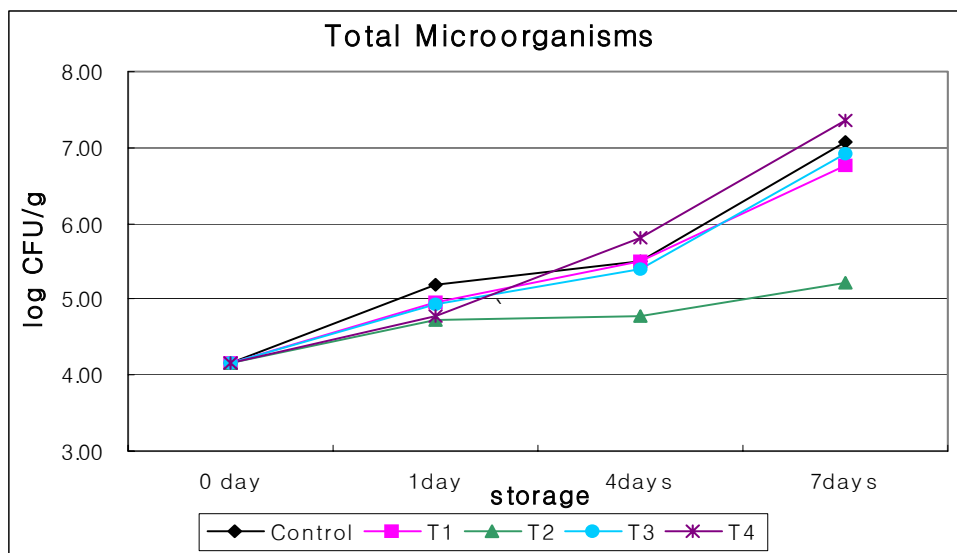


Fig. 4-15. Antimicrobial activity of biodegradable packaging films on total microorganisms of chicken file during storage.

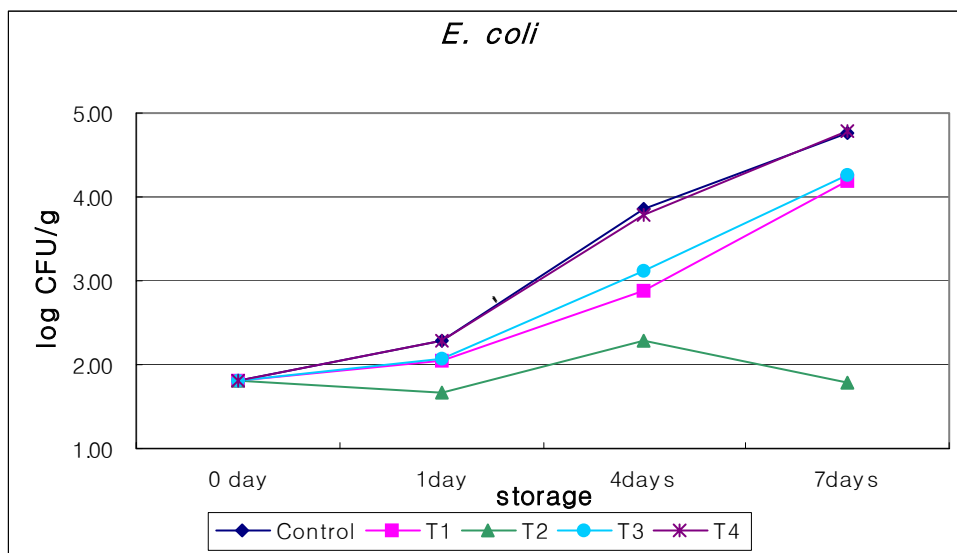


Fig. 4-16. Antimicrobial activity of biodegradable packaging films on *E. coli* of chicken filet during storage.

## 참고문헌

- 이성기. (1999). 계란과 닭고기의 과학. 유한문화사. p. 187-202.
- Aguilera, O., Quiros, L.M., Fierro, J.F. Transferrins selectively cause ion efflux through bacterial and artificial membranes. *FEBS Letters*, 548:5-10 (2003)
- Akihiro Handa and Namio Kuroda. Functional Improvements in Dried Egg White Through the Maillard Reaction. *J. Agric. Food Chem*, 47, 1845-1850 (1999)
- Beuchat, L.R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins. *J. Agric. Food Chem*. 46:71 (1981)
- Boffi, F., Congju-Castellano, A., Varoli-Piazza, A., Della longa, S., Girasole, S.M., Yalovoega, G., Soldatov, A.V. Iron and copper K-edge XAS study of serotransferrin and ovotransferrin. *J. Synchrotron Radiation*, 8:196-198 (2001)
- Bozianis, I.S. and Adams, M.R. Effect of chelators and nisin produced in situ on inhibition and inactivation of Gram negatives. *International Journal of Food Microbiology*, 53:105-113 (1999)
- Burley, R.W. and Vadehra, D.V. *The Avian Egg: Chemistry and Biology*. John Wiley and Sons, Inc. New York. (1989)
- Chen, M.C., Yeh, G.H.C. and Chiang, B.H. Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative. *Journal of Food Processing and Preservation*, 20:279-390 (1996)
- Cheuk, M.S., Keimg, W.M. and Loh, T.T. The effect of pH on the kinetics of iron release from diferric ovotransferrin induced by pyrophosphate. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 30(2): 121-131 (1987)
- Cho, S.H., Lee, S.Y., Kim, J.W., Ko, G.H. and Seo, I.W. Development and natural antimicrobial agent isolated from grapefruit seed extract-antimicrobial activities of grapefruit seed extract. *Korean Journal of Food Hygiene Safety*, 10: 33-39 (1995)
- Choi, J.H., Choi, W.Y., Cha, D.S., Chinnan, M.J., Park, H.J., Lee, D.S., Park J.M.,

- Diffusivity of Potassium sorbate in  $\kappa$ -carrageenan based antimicrobial film. *LWT*, 38:417-423 (2005)
- Garibaldi, J.A. Factors in egg white which control growth of bacteria. *Food Res.* 25(3):337-344 (1960)
- Giansanti, F., Rossi, P., Massucci, M.T., Botti, D., Antonini, G., Valenti, P. and Seganti, L. Antiviral activity of ovotransferrin discloses an evolutionary strategy for the defensive activities of lactoferrin. *Biochem Cell Biol.* 80(1):125-130 (2002)
- Grill, A.O. and Holley, R.A. Inhibition of bacterial growth on ham and bologna by lysozyme, nisin and EDTA. *Food Research International*, 33:83-90 (2000)
- Ibrahim, H.R., Sugimoto, Y. and Aoki, T. Ovotransferrin antimicrobial peptide (OTAP-92) kills bacteria through a membrane damage mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1523:196-205 (2000)
- Kuser, Paula; Hall, David R; Haw, Mei Ling; Neu, Margarete; Evans, Robert W; Lindley, Peter F. The Mechanism of iron uptake by transferrin: the X-ray structures of the 18kDa NII domain fragment of duck ovotransferrin and its nitrilotriacetate complex. 2002. *Acta Crystallographica. Section D, Biological Crystallography.* 58:777-783 (2002)
- Lechevalier, V., Croguennec, T., Pezennec, S., Guérin-Dubiard, C., Pasco M. and Nau, F. Evidence for synergy in the denaturation at the air - water interface of ovalbumin, ovotransferrin and lysozyme in ternary mixture. *Food Chemistry*, 92(1):79-87 (2005)
- MacLowry, J.D., Jaqua, M.J. Detailed methodology and implementation semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl. Microbiol.* 20:46-53 (1970)
- Matsudomi, N., Oka H. and Sonoda, M. Inhibition against heat coagulation of ovotransferrin by ovalbumin in relation to its molecular structure. *Food Research International*, 35(9):821-827 (2002)

- Mizutani, K., Muralidhara, B.K., Yamashita, H., Tabata, S., Mikami, B., Hirose, M., Anion-mediated  $\text{Fe}^{3+}$  release mechanism in ovotransferrin C-lobe: a structurally identified  $\text{SO}_4^{(2-)}$  binding site and its implications for the kinetic pathway. *J. Biological Chemistry*, 276:35940-35946 (2001)
- Padgett, T., Han, I.Y. and Dawson, P.L. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. *Journal of Food Protection*, 61:1330-1335 (1998)
- Robinson, D.S. The chemical basis of albumen quality. In *Egg Quality- current problems and recent advances*(Wella, R.G. and Belyavin, C.G. ed.). Butterworths and Co., Ltd. London. (1987)
- Sofos, J.N. and Busta, F.F. Sorbic acid and sorbates. In P. M. Davis, and A. L. Branen (Eds.), *Antimicrobials in foods* (pp. 49-94). New York: Marcel Dekker, (1993)
- Wang, C. and Shelef, L.A. Factors contributing to antilisterial effects of raw egg albumen. *J. Food Sci.* 56(5):1251-1254 (1991)
- Wang, J.C. and Kinsella, J.E. Functional properties of novel proteins; alfalfa leaf protein. *J. Food. Sci.* 41:286 (1976)
- Yoshinori Mine. 1998. Adsorption Behavior of Egg Yolk Low-Density Lipoproteins in Oil-in-Water Emulsion. *J. Agric, Food Chem.* 46, 36-41



## 제 5 장 기술개발의 경제성 분석

### 제 1 절 계란의 소비 및 가격 추세

#### 1. 계란의 소비추세

일반적으로 경제가 발전함에 고급식품에 대한 수요가 증가한다. 즉 신선식품이나 축산물 등에 대한 수요는 증가하고, 곡물류 등에 수요는 감소한다. 계란도 소득이 증가함에 따라 수요가 증가하는 품목이다. Table 5-1에는 계란의 국내생산량과 일인당 소비량이 나와 있다. 이 표를 보면 우리나라의 계란 생산량은 1985년에는 309천톤, 1990년에는 393천톤, 1995년에는 454천톤, 2000년에는 479천톤, 그리고 2003년에는 503천톤으로 꾸준히 증가해 왔다. 1인 1일 계란소비량을 보면 1985년에는 17.0g, 1990년에는 21.6g, 1995년에는 23.5g, 2000년에는 23.5g, 2003년에는 24.2 g으로 꾸준히 증가해 왔다. 인구증가와 소득증가에 따라 우리나라의 계란 소비량과 생산량은 꾸준히 증가해 왔지만, 그러나 그 증가추세는 전체적으로 완화되고 있다.

우리나라의 계란소비량이 앞으로 어떻게 변할 것인가를 파악하기 위해 다른 나라와 경우와 비교해 보기로 한다. Table 5-2는 1인 1일당 계란류 단배질 공급량 실태를 나타내고 있다. 2002년의 경우를 보면 한국은 3.3g, 일본은 6.7g, 미국은 4.3g, 영국은 3.6g, 캐나다는 3.5g, 프랑스는 4.8g, 그리고 독일은 4.0g으로 대부분의 선진국은 우리나라보다 1인당 소비량이 많다. 반면에 우리나라보다 소득이 낮은 나라를 보면 중국이 5.5g 으로 우리나라보다 많지만 칠레는 1.5g, 인도는 0.5g, 필리핀은 2.1g으로 우리나라보다 적다.

그리고 연도별 증가추세를 보면 선진국의 경우 약간 증가하거나 정체상태를 나타내고 있고, 일부 국가의 경우 감소추세를 나타내고 있다(Table 5-3). 반면에 발전도상국의 경우 계란소비추세는 계속 증가하고 있다. 이상에서 우리나라의 경우도 소득이 증가함에 따라 당분간은 계란소비량이 증가하지만, 일정 기간 경과 후에는 계란 소비가 정체될 것으로 예측된다.

Table 5-1. 계란 소비추세

	1985	1990	1995	2000	2001	2002	2003
계란 국내생산량 (1,000 ton)	309	393	454	479	490	537	503
1인 1일당 계란 소비량(g)	17.0	21.6	23.5	23.5	23.9	26.0	24.2

자료 : 『2003 식품수급표』, 한국농촌경제연구원, 2004.

Table 5-2. 1인 1일당 계란류 단백질 공급량

단위 : g

	1972 -74	1974 -76	1976 -78	1979 -81	1982 -84	1984 -86	1986 -88	1989 -91	1992 -94	1995 -97	1998 -00	2002
한국	1.2	1.3	1.4	1.7	1.9	2.0	2.2	2.4	2.5	2.6	2.6	3.3
일본	4.5	4.4	4.5	4.6	4.7	4.8	5.1	5.3	5.6	5.5	5.4	6.7
미국	4.9	4.7	4.6	4.6	4.4	4.3	4.2	3.9	3.9	4.0	4.2	4.3
영국	4.6	4.4	4.4	4.3	3.9	3.8	3.7	3.2	3.2	3.1	3.0	3.6
캐나다	4.0	3.9	3.8	3.8	3.6	3.5	3.5	3.1	3.1	3.1	3.3	3.5
프랑스	3.9	4.0	4.2	4.5	4.7	4.8	4.9	4.6	4.6	4.9	5.0	4.8
독일	5.3	5.2	5.3	5.3	5.2	5.1	5.0	4.6	3.9	3.9	3.9	4.0
중국	0.7	0.7	0.7	0.8	1.0	1.4	1.7	2.0	3.0	4.5	4.9	5.5
칠레	1.7	1.5	1.3	1.4	1.4	1.5	1.5	1.7	1.5	1.3	1.4	1.5
인도	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5
필리핀	1.1	1.3	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.6	1.5	2.1	2.1	2.1

자료 : 『2003 식품수급표』, 한국농촌경제연구원, 2004.

Table 5-3. 주요 국가별 1인당 계란 소비변화(개/인/년)

연 도 국 가	1992	1995	1999
한 국	181	179	178
일 본	340	342	347
캐 나 다	185	177	182
미 국	232	238	251
영 국	179	172	165
대 만	244	294	370
폴 란 드	179	174	211

## 2. 계란의 가격변화 추세

농가수입을 결정하는 것은 농산물의 생산량과 가격이다. 양계농가의 수입을 결정하는 것은 계란의 생산량과 가격이다. 앞에서 계란의 소비 추세를 고찰하였는데 여기서는 계란의 가격변화 추세를 고찰하기로 한다. Table 5-4은 계란 산지가격 변화추세를 나타내고 있다. 가격변화는 상대적인 것이기 때문에 계란의 가격변화를 보기 위해 도매물가지수의 변화와 비교해보기로 한다.

계란산지가격과 도매물가의 변화를 보면 1990년과 2004년 사이에 계란산지가격은 85%, 도매물가는 51% 상승하였다. 계란의 가격은 2004년에 일시 급등하였기 때문에 1990년과 2003년의 가격을 비교하면 계란산지가격은 32% 상승했으나 도매물가지수는 42% 상승했다.

축산물은 다른 재화에 비해 가격 진폭이 크기 때문에 어느 해를 기준으로 하느냐에 따라 가격의 변화율이 달라진다. 대체로 볼 때 계란 산지가격의 상승률은 도매물가지수와 비슷하다고 할 수 있다. 일반적으로 농업은 타 부문에 비해 생산성 증가율이 낮은 것으로 인식된다. 따라서 비슷한 가격 상승 추세가 계속될 경우 농가소득은 비농가소득에 비해 훨씬 낮게 된다.

국내의 양계산업이 발전하기 위해서는 양계농가의 소득이 비농업가구의 소득 이상으로 유지될 필요가 있다. 양계 농가의 소득 증대를 위해서는 계란의 수요증대와 가격 상승이 필요하다. 계란 수요를 증대시키기 위해서는 계란을 활용도를 높일 필요가 있다. 이렇게 하기 위해서는 계란 성분을 분리하여 소비자의 기호에 맞는 다양한 제품을 개발할 필요가 있다. 이 연구에서는 계란의 성분 분리를 위한 일관공정 개발에 대한 경제성 분석을 하는 것이 그 목적이다. 즉 새로운 공정이 기존 공정에 비해 얼마나 경제성이 있는가를 분석하기로 한다.

## 3. 계란의 수요함수 추정

이제 계란의 수요함수를 추정하여 계란의 수요가 어떤 요인에 의해 어느 정도 영향을

Table 5-4. 계란 산지가격 변화추세

	1990	1993	1995	1998	2000	2001	2002	2003	2004
계란산지가격 (원/10개)	576	486	681	859	698	860	749	762	1,068
도매물가지수	71.2	77.4	83.2	100.1	100.0	99.5	99.2	101.4	107.6

자료 : 『축산물가격 및 수급자료』, 농협중앙회, 2004.

받는지를 분석하기로 한다. 일반적으로 한 상품의 수요에 영향을 미치는 요인으로 먼저 그 상품의 가격을 들 수 있다. 가격이 상승하면 수요량이 감소하고, 가격이 하락하면 수요량이 증가한다. 다음으로 한 상품의 수요에 영향을 미치는 요인으로 소득을 들 수 있다. 열등재가 아닌 정상재의 경우 소득의 증가하면 수요량이 증가한다. 다음으로 한 상품의 수요에 영향을 미치는 요인으로 대체재와 보완재의 가격을 들 수 있다. 대체재의 가격이 상승하면 수요량이 증가하고, 보완재의 가격이 상승하면 가격이 하락한다.

계란도 타 상품과 마찬가지로 그 수요에 영향을 미치는 요인으로 계란의 가격, 소득, 그리고 대체재의 가격을 들 수 있다. 계란은 대체재가 뚜렷하지 않으므로 여기서는 계란 수요함수의 독립변수로 계란의 가격, 소득을 사용하기로 한다. 추정한 결과는 (3-1)식과 같다.

$$\ln(EGGCON) = 9.025 - 0.194 \ln(EGGPRI) + 0.255 \ln(PERGNI)$$

$$(0.196)^{**} \quad (0.070)^{*} \quad (0.032)^{**}$$

(3-1)

$$R^2 = 0.95$$

$$N = 20$$

( )안은 표준오차

\*은 5% 수준에서 유의 \*\*은 1% 수준에서 유의

(3-1)식에서 *EGGCON*은 1인당 계란수요량을 나타내고, *EGGPRI*는 계란의 가격을 나타내고, *PERGNI*는 일인당 국민총소득(per capita GNI)을 나타낸다. 여기서 *EGGPRI*와 *PERGNI*는 명목가격을 GDP디플레이터로 조정한 실질가격을 나타낸다. 이용한 자료는 1985년부터 2004년까지 20년간의 시계열자료이다.

수요함수가 로그-로그 형태인 경우 수요함수의 계수는 탄력성을 나타낸다. 계란수요의 가격탄력성은 -0.194이다. 즉 계란의 가격이 1% 상승하면 계란의 수요는 0.194%

감소한다는 것을 나타낸다. 그리고 계란수요의 소득탄력성은 0.255이다. 즉 소득이 1% 증가하면 계란수요는 0.255% 증가한다는 것을 나타낸다.

## 제 2 절 기술의 개요 및 관련 제품의 시장 현황

### 1. 기술 분석의 개요

이 기술은 계란의 난황으로부터 각 성분을 계통적으로 분리하는 공정을 개선하는 것이다. 기존의 기술은 한 가지 목적성분만을 분리하는 방법이기 때문에 한 가지 성분을 분리하면 나머지 성분은 활용되지 않는다. 그러나 이 기술은 기존 기술의 단점을 개선하여 계란으로부터 여러 성분을 동시에 분리할 수 있게 하여 계란의 활용도를 높여 줄 수 있다. 화학적 분류법에 의한 난의 구성성분들은 무수히 많으며, 모두 기능적 특성을 가지고 있으나, 현재의 기술적 한계에 따른 경제적 분석대상은 제한이 있을 수밖에 없다.

따라서 경제성 분석의 대상으로 삼는 분리 성분들은 현재 기본적인 수요와 공급체계가 이루어져 있거나, 가까운 시일 내에 이루어질 가능성이 큰 성분들을 경제성 분석의 대상으로 삼았다. 또한 특수한 용도로 사용되는 고도의 정제품들은 일반적인 수요, 공급의 법칙에 의해 가격형성이 이루어지기 어려워 경제성 분석대상에서 제외하였다. 국내·외에서 생산하여 쓰이고 있는 계란의 주요성분들과 그 대체품들의 시장 현황을 Table 5-5에 나타내었다. 계통적 분리에 의한 성분들의 분리와 정제기술의 가장 큰 장점은 가장 효율적인 규모의 경제를 이룰 수 있다는 점으로 미루어 볼 때, 일정한 규모의 전 세계적인 수요의 확대가 이루어 질 경우 얻을 수 있는 경제적 이점은 막대하다고 볼 수 있다. 이러한 점에서 현재 분석되어 나타나는 경제적 이점(제 3절)은 얻을 수 있는 최소한의 수치로 이해하여도 무리는 없을 것으로 판단된다.

경제성 분석을 위한 구체적인 공정과 분리 대상물은 Fig. 5-1과 같다.



Table 5-5. 계란성분분리제품 및 대체품현황

성분	제품명	용도	성분함유량(%)	중량	가격(원)	생산지
Egg protein	Ovoalbumin	시약급	98	1Kg	96,000	미국
	Egg yolk aceton powder	시약급	98	10g	54,000	미국
	Albumin	시약급	98	1g	54,000	미국
	globulins	시약급	98	1g	346,000	미국
	난백분	식품첨가제	90 이상	1Kg	12,700	덴마크
Soybean protein	분리대두단백	식품첨가제	95 이상	1Kg	5,100	미국
IgY	로타 IgY-VP8	식품첨가제	100	1Kg	42,000	국내
	헬리코 닥터 IgY	식품첨가제	100	1Kg	42,000	국내
	닥터 IgY	기능성식품	80	360g	138,000	국내
	IgY	사료첨가제				국내
	I-D One(IgG, IgM, 우유)	경구투여제	5.05, 0.4	100mL	35,000	미국
Egg Phospholipids	Phosphatidylcholines(PC)	시약급	95	1000	100,000	국내
	Phosphatidylcholines(PC)	시약급	95	1000	150,000	국내
	Phosphatidylethanolamine(PE)	시약급	95	500	180,000	국내
	Phosphatic acid(PA)	시약급	95	1000	500,000	국내
	Phosphatidylglycerols(PG)	시약급	95	500	300,000	국내
	Lysophosphatidylcholines(LPC)	시약급	95	500	150,000	국내
	Lysophosphatidylethanolamine(LPE)	시약급	95	500	360,000	국내
	Lysophosphatidylglycerol(LPG)	시약급	95	500	120,000	국내
	Phospholipid 30%(bulk)	식품첨가물	30	1Kg	50,000	국내
	Phospholipid 60%(bulk)	식품첨가물	60	1Kg	200,000	국내
	Phospholipid 95%(bulk)	식품첨가물	95	1Kg	300,000	국내
Soybean Phospholipids	Phosphatidylcholines(PC)	시약급	95	1000	190,000	국내
		시약급	98	100	100,000	미국
	Phosphatidylethanolamine(PE)	시약급	95	500	250,000	국내
		시약급	98	25	100,000	미국
	Phosphatic acid(PA)	시약급	95	500	280,000	국내
		시약급	98	50	100,000	미국
	Phosphatidylglycerols(PG)	시약급	95	500	360,000	국내
		시약급	98	50	100,000	미국
	Lysophosphatidylcholines(LPC)	시약급	95	500	180,000	국내
		시약급	98	100	100,000	미국
Lysophosphatidylethanolamine(LPE)	시약급	95	500	360,000	국내	
Egg Yolk Lipids	1,2-Diglycerides	시약급	99	500	180,000	국내
	1,3-Diglycerides	시약급	99	100	24,000	국내
기타	Egg yolk emulsion	시약급	30%, Egg yolk	100mL	61,000	미국
	Egg yolk	시약급	Egg yolk powder	100g	18,000	미국

\*조사내용 중 특징적인 사례이며, 일본, 유럽등지에서도 다양한 종류의 성분을 상품화하고 있음

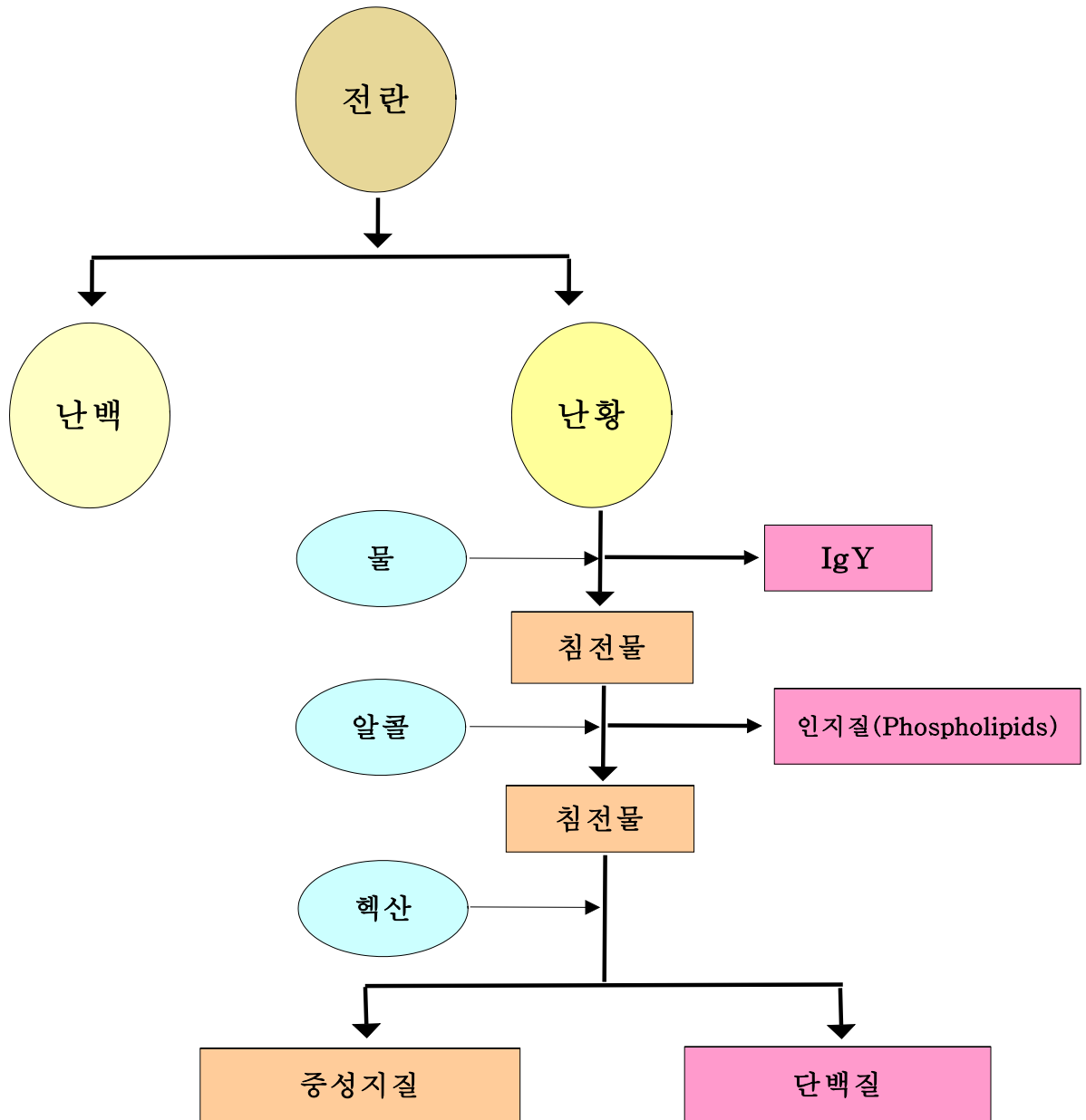


Fig. 5-1. 난황으로부터 성분별 분리 모형

## 2. IgY

### 가. 기술성

현재 국내의 IgY 생산 기술 수준은 산란계 면역을 통해 생산하는 방식이다. 즉 인체 및 동물에게 유용한 면역 단백질을 계란 난황에 축적하게 하여 생산하는 방식을 이용한다. 이것은 별도의 정제과정을 거치지 않고 순도가 낮은 식품 첨가물 용도로 사용하고 있다. 이것은 주로 장내기관 면역을 위한 건강보조식품 및 동물 사육용 사료 첨가물로 주로 사용되고 있으며, 향후 산란계 면역 범위를 넓혀 인체의 다양한 기관의 면역에 도움을 주는 건강식품 및 의약품으로 사용될 것으로 생각된다. 본 연구에서는 액상난황에서 물 추출 후 여과 및 정제의 방법을 거쳐 회수율 순도 88%의 의약품 및 식용 IgY를 생산하는 기술을 개발하는 것이다.

### 나. 경제성

현재는 IgY의 생산과 소비가 소량으로 이루어지고 있으나 차츰 증가추세를 나타내고 있다. 국내의 IgY의 생산업체는 (주)단바이오텍과, (주)씨트리, 그리고 (주)알찬바이오텍 등인데, 가장 규모가 큰 (주)씨트리의 경우 연간 61억원 정도의 IgY관련 매출을 기록하고 있으며, 전반적으로 매출액과 이윤이 증가추세를 나타내고 있다. 현재 이들 업체에서는 IgY 분리 이전 단계인 농축난황분말을 첨가한 제품을 출시하고 있다.

IgY 관련제품은 앞으로 식품재료뿐만 아니라 동물항생제, 화장품의 용도로 사용될 수 있도록 개발되기 때문에 수요가 증가할 것으로 예상된다. 2004년의 경우 국내의 사료 첨가용 항생물질 생산액은 1,600억원 정도이다. 이 중에서 일부는 IgY 로 대체가능하기 때문에 앞으로의 IgY 시장의 전망은 상당히 밝다고 할 수 있다..

IgY의 사업화는 그동안 연구를 주도해왔던 캐나다, 일본이 적극성을 보이고 있는데, 한국도 상당히 적극적인 편이다. 그러나 한국에서는 난황에서 IgY를 추출하기보다는 난황분말을 그대로 활용하는 단계에 지나지 않아 부가가치가 낮은 편이다. Table 5-6은 IgY 분리기전에 농축난황분말을 사용하여 만든 제품의 현황을 나타낸다.

Table 5-6. 국내 IgY 생산현황과 수입제품

제품명	성분	성분 (%)	중량(g)	가격(원)	생산회사	원료공급	기타
로타 IgY-VP8	IgY난황분		1Kg	42,000	(주)씨트리	국내	식품첨가제
헬리고박터 IgY	IgY난황분	68(난황)	120g	9,000	(주)씨트리	국내	기능성식품
닥터 IgY	IgY난황분	80(난황)	360g	138,000	(주)씨트리	국내	기능성식품
헬리카어골드	IgY난황분	40(난황)	270g		(주)알찬바이오	국내	기능성식품
Coli-lock	IgY난황분				(주)단바이오텍	국내	사료첨가제
Ulcer-lock	IgY난황분				(주)단바이오텍	국내	사료첨가제
ID-One	IgG(젓소초유)	99(IgG)	120mL	35,000	(주)대동신약	미국	경구투여제

IgY는 시약용으로 개발될 수 있는데, 현재 국내외에서 난황에서 추출되는 시약용 IgY의 생산수준은 미미한 실정이다. 현재 사용되고 있는 시약은 동물과 인간의 혈청 및 골수에서 추출되는 것이 주류를 이루고 있다. 쥐 혈청에서 분리한 면역단백질(IgG)의 가격은 순도 95% 이상이 10mg당 125,400원(2005년도 기준)이며, 순도 80% 이상일 경우 10mg당 75,700원이다(2005년도 기준). 이처럼 대체품의 가격이 높기 때문에 시약용 IgY의 개발은 상당한 경제성을 지닌다고 할 수 있다. 그러나 현재는 대부분 장내 면역을 위해 IgY 제품이 시판되고 있으며, 이것의 경쟁품으로는 현재 시판중인 유산균 요구르트가 될 수 있다.

### 3. 인지질

#### 가. 기술성

국내의 인지질 생산은 대부분 수입된 난황 분말을 가지고 유기용매를 사용하여 목표 성분인 인지질을 유기용매로 추출한 후, 고순도 성분 분리를 통하여 순도 99%의 phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine 등을 생산하는 방법을 사용하고 있다. 이것은 시약용 및 의약품용으로 주로 사용되고 있다. 앞으로 시약, 의약품 용도 뿐 아니라 저순도로 가공할 경우 화장품 및 식용으로도 사용 가능할 것으로 생각된다. 본 연구에서는 액상 난황에서 수용성 단백질인 IgY를 추출한 후 유기용매를 사용하여 인지질을 추출하는 계통적 분리 방법을 사용하고자 하는데, 이렇게 할 경우 순도 86% 이상의 인지질을 얻을 수 있다.

#### 나. 경제성

국내의 경우 인지질은 현재 (주)두산바이오텍에서 독점적으로 공급하고 있다. 현재 (2004년) 인지질의 국내생산량은 연간 60톤, 금액은 120억원 정도이다. 이 중에서 국내에서 소비되고 있는 것은 난황 인지질 시장규모는 약 50억 규모로 추정되고 있는데, 주로 식품, 화장품, 의약품 등의 원료로 사용되고 있다. 나머지 70억 원 정도는 수출되고 있다. 인지질에 대한 앞으로의 인지질의 수요량과 가격은 당분간 현재와 비슷한 추세를 유지할 것으로 예상된다. Table 5-7는 인지질 관련 제품의 가격 실태를 나타낸다.

Table 5-7. 인지질 관련 제품의 가격실태

제품명	성분 함유 (%)	중량(mg)	가격	생산회사	기타
L-3-Phosphatidylcholines(PC)	95%이상	1g	75 \$	(주)두산 바이오텍	시약 등급
L-3-Phosphatidylethanolamine(PE)	95%이상	1g	400 \$	(주)두산 바이오텍	시약 등급
L-3-Phosphatic acid(PA)	95%이상	1g	300 \$	(주)두산 바이오텍	시약 등급
L-3-Phosphatidylglycerols(PG)	95%이상	1g	300 \$	(주)두산 바이오텍	시약 등급
L-3-Lysophosphatidylcholines(LPC)	95%이상	1g	210 \$	(주)두산 바이오텍	시약 등급
L-3-Lysophosphatidylethanolamine(LPE)	95%이상	1g	500 \$	(주)두산 바이오텍	시약 등급
L-3-Lysophosphatidylglycerols(LPG)	95%이상	100mg	80 \$	(주)두산 바이오텍	시약 등급
L-3-Lysophosphatic acid(LPA)	95%이상	25mg	135 \$	(주)두산 바이오텍	시약 등급
Phospholipid 30%(bulk)	30%	1Kg	50,000원	(주)두산 바이오텍	식품첨가물
Phospholipid 60%(bulk)	60%	1Kg	200,000원	(주)두산 바이오텍	식품첨가물
Phospholipid 90%(bulk)	90%	1Kg	300,000원	(주)두산 바이오텍	식품첨가물
Egg yolk emulsion	30%, egg yolk	100mL	61,000원	Sigma	시약등급
Egg yolk		100g	18,000원	Sigma	시약등급

#### 4. 중성지질

##### 가. 기술성

현재 난황 중성지질은 국내에서 거의 생산되고 있지 않다. 따라서 이제까지는 중성지질 생산방법이 개발되지 않았다. 향후 식용유지 분야에 난황 중성지질 생산 기술의 적용이 가능할 것으로 생각된다. 본 연구에서 개발하고 있는 방법이 국내에서 처음으로 개발되는 난황 중성지질 분리방법인데, 이 방법을 이용하면 IgY, 인지질 분리 후 헥산을 이용한 순차적 분리를 통하여 순도 94%의 중성지질을 얻을 수 있다.

##### 나. 경제성

현재 국내외에서 시장이 거의 형성되고 있지 않으며, 생산도 이루어지지 않고 있는 것으로 판단된다. 따라서 앞으로 중성지질을 사용할 수 있는 용도를 개발할 필요가 있다. 중성지질을 식용유지 용도로 사용할 경우 경쟁품으로 현재 시판중인 동물성 및 식물성 유지가 될 것이다. 따라서 가격은 Table 5-8과 Table 5-9의 대체품과 비슷한 수준으로 책정 되어야 할 것이다. Table 5-8은 대체 동물성 지질의 수입현황을 나타내고, Table 5-9은 대체 식물성 지질의 수입현황을 나타낸다.

#### 5. 단백질

##### 가. 기술성

계란 단백질의 생산은 국내에서 거의 이루어지지 않고 있다. 단 난백을 건조한 알부민만 생산되고 있다. 본 연구에서 개발된 단백질은 항균단백질을 생산할 수 있는 기술인데, 국내에서 현재 사용되지 있지 않은 기술이다.

##### 나. 경제성

현재 계란단백질의 대표적인 생산품은 난백알부민이다. 국내 알부민의 수입실태는 Table 5-10과 같다.

Table 5-8. 대체 동물성 지질 수입현황

	2001년		2002년		2003년		2004년	
	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)
돈지 (리드포함)	-	-	-	-	590	1,876,809	90	263,007
전 체					590	1,876,809	90	263,007



Table 5-9. 대체 식물성 지질 수입현황

	2001년		2002년		2003년		2004년	
	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)
대두유 (정제)	2,025	3,024,097	2,047	1,755,468	4,160	5,295,587	1,420	1,904,966
팜유 (조유)	-	-	-	-	14	9,450	91	120,343
아마인유 (조유)	322	721,920	911	1,743,000	442	532,680	132	159,789
옥수수유 (조유)	7,184	17,777,297	7,654	14,944,679	4,373	6,356,218	11,641	14,863,073
전 체	9,531	21,523,314	10,612	18,443,147	8,989	12,193,935	13,284	17,048,171

식품 가공용으로 쓰일 수 있는 난황단백질의 대체품은 대두단백이 주가 되는데, 이것의 국내 수입가격은 분리대두단백(ISP, 단백질 함량 90%이상)이 Kg당 5,100원 수준이다 (Table 5-11).

다른 알부민으로는 혈액 알부민이 있는데 이것의 국내생산현황을 보면 국내 혈액 알부민의 전체 원료비용은 300억원대이고(생산업체: 대한적십자사 등), 국내 혈액 알부민의 최종제품비용은 1000억원대이다(2004년도 녹십자피디 435억원, 동신제약 256억원 등). Table 5-12은 기타 대체 단백질의 수입현황을 나타낸다.

## 6. 난백

### 가. 기술성

난백 분말은 주로 수입에 의존하고 있으면 일부 식품 첨가용으로 국내에서 생산되고 있다. 난백 분말은 주로 수산연제품, 어묵, 햄, 소시지, 케익, 비스킷 등의 제품에 식품 첨가제로 사용되고 있다. 요즘 웰빙 현상에 힘입어 유청 단백질과 혼합하여 몸을 건강하게 하는 영양보충제로에 만들어져 판매되고 있는데 이것은 Kg 당 20,000 ~ 100,000원 이상을 호가하는 가격에 판매되고 있다.

### 나. 경제성

난백의 수입가격은 해마다 다르다. Table 5-13는 난백의 수입금액과 수입량을 나타내고, Table 5-14은 난백의 국내가격을 나타낸다. Table 5-13를 보면 수입량과 수입금액은 연도마다 많이 다르다. 2004년의 난백의 수입가격은 Kg당 9,000원정도이다(환율을 달러당 1,100원으로 함).

Table 5-10. 알부민 수입실태

	2001년도		2002년도		2003년도		2004년도	
	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)
알부민	3,356	107,252	3,371	90,287	3,350	104,499	1,480	26,653
알부민 유도체	47	10,076	-	-	-	-	-	-
전 체	3,403	117,328	3,371	90,287	3,350	104,499	1,480	26,653

Table 5-11. 대두 단백질 가격(2005년 현재)

제품명	성분	성분함유(%)	중량(g)	가격(원)	생산회사	원료공급	기타
분리대두 단백(수입)	PROTEIN	90	1Kg	5,100	(주)광일	미국	식품첨가제

Table 5-12. 기타 대체단백질 수입현황

	2001년		2002년		2003년		2004년	
	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)
카제인	10,195	2,020,580	10,242	2,302,465	8,100	1,994,513	10,727	2,082,240
카제인 글루	30	6,689	18	4,035	28	5,648	48	7,000
카제인 유도체	19,221	3,303,349	16,335	3,017,330	15,848	3,235,807	23,637	4,088,956
웹톤	388	42,266	587	94,720	739	76,593	762	65,634
웹톤 유도체	27	1,520	2	112	63	1,593	30	455
밀크 알부민	8,089	1,573,569	7,074	1,250,153	5,375	976,060	6,813	1,420,752
핵산 단백질	36	440	45	440	7	50	14	220
단백질 물질계	27,829	4,604,405	30,927	5,451,125	27,063	4,813,172	18,519	2,718,156
전 체	65,815	11,552,818	65,230	12,120,380	57,223	11,103,436	60,550	10,383,413

Table 5-13 난백분말 수입량과 수입금액

2001년		2002년		2003년		2004년	
수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)
1,367	240,529	1,819	328,250	1,525	252,120	1,485	183,705

Table 5-14. 난백분말 가격(2005년 현재)

제품명	성분	중량(g)	가격(원)	생산(판매)회사	용도
난백 분말 (국산)	PROTEIN	1Kg	11,000	(주)풍림	식품첨가제
난백 분말 (국산)	PROTEIN	1Kg	15,500	(주)씨에스에프	식품첨가제
난백 분말 (수입)	PROTEIN	1Kg	10,000	(주)풍림	식품첨가제

### 제 3 절 난황의 계통적 분리 방법의 경제성 분석

#### 1. 기술평가의 방법

경제성장의 중요한 요인으로 기술진보를 들 수 있다. 기술진보를 달성하기 연구개발(R&D)이 필요하다. 연구개발과 제품의 개발에는 많은 비용이 소요된다. 좋은 기술을 개발했다 하더라도 그 기술의 개발에 많은 비용이 소요되고, 그리고 그 기술을 제품화하는데 많은 비용이 소요된다면 그 기술은 실용화되는데 많은 어려움이 있다. 이런 면에서 어떤 기술을 개발하는 경우 그 기술의 경제성을 분석하는 것이 무엇보다 필요하다(강효석 등, 2001; 구본식, 2000; 기술신용보증기금, 2000).

기술의 경제성을 분석하는 방법 (특허청, 2002a, b, c, d), 그 중에서 기술의 가치를 평가하는 방법(황규승, 2001)은 비용접근법, 시장접근법, 그리고 소득접근법 등으로 나눌 수 있다(특허청, 2002b)

#### 가. 비용접근법(cost approach)

비용접근법은 기술 개발에 소요된 비용을 근거로 기술 가치를 평가하는 방법이다(김홍수, 2002; 김동건, 2004; 김태윤 and 김상봉, 2004). 이 방법은 기술을 개발하는데 소요되는 제반 개발비용을 산정한 후 이것에서 경과기간 동안의 가치하락 분, 즉 감가상각 분 을 차감하여 구하는 방식이다. 감가상각의 크기는 경쟁기술의 개발속도가 빨리 기술의 노후화가 빨리 진행될수록 커진다.

비용접근법을 사용하기 위해서는 몇 가지 전제조건이 필요하다. 첫째, 기술개발 비용의 합리적인 산정이 가능해야 한다. 둘째, 개발된 기술이 시간의 흐름에 의한 가치하락을 산정할 수 있어야 한다. 셋째, 신기술을 개발하고 구입하는 비용이 그 기술의 내용연수 기간 중에 얻을 수 있는 편익의 경제적 가치와 일치한다고 가정한다.

기술개발의 비용에는 다음의 것이 포함될 수 있다. 기술개발을 위하여 투입된 인원에 대한 보상, 연구기자재에 대한 간접비, 사무직원 및 기능공의 간접비, 원재료비, 실험기자재 구입비 및 검사비용, 외부평가기관의 평가비용, 시험생산에 소요된 비용 등이

다.

#### 나. 시장접근법(market approach)

시장접근법은 기술자산의 수요자와 공급자 사이의 거래에서 형성되는 시장가격을 이용하여 유사한 기술자산의 가치를 평가하는 방식이다(특허청, 2002b). 이 방법은 공정한 거래를 전제로 하는 것으로 기존의 거래 자료와 당시의 시장상황 및 현재의 시장상황에 대한 평가를 근거로 변동요인을 고려하여 평가한다. 이 방법에서는 유사한 기술의 시장거래 사례가 기술가치 평가의 가장 중요한 기준이 된다. 따라서 시장에서 유사한 기술의 거래 실적이 많을수록 보다 합리적인 기술가치 평가를 할 수 있다. 반면에 기술에 대한 거래 실적이 없거나, 비교가능성이 없는 경우에는 이 방법을 사용하기 힘들다. 이와 함께 기술거래에 대한 정보를 쉽게 이용할 수 있어야 한다.

시장접근법을 이용할 경우 비교가 가능할 정도로 기술자산의 거래가 활발히 이루어지는 시장이 존재해야 되고, 이 시장에서 기술자산에 대한 거래실적이 충분히 많아져야 되고, 기술자산의 거래가격에 대한 정보에 대해 접근이 용이해야 하고, 그리고 거래당사 간 공정한 거래가 이루어져야 한다.

시장접근법은 평가대상기술과 비슷하거나 같은 기술의 시장거래가격을 기준가격으로 하고, 이것에 변동요인을 고려하여 산출한다. 변동요인으로 고려할 수 있는 것은 거래가격 형성시점의 시장성 및 가격수준, 기술의 사용가능 잔여기간, 시장점유율, 대체신기술 개발가능여부, 유사 또는 동일기술과의 우열관계 등이다.

기술자산의 비교가 가능하기 위해서는 우선 업종이 동일하거나 유사하여야 한다. 또한 수익성, 시장점유율, 신기술의 영향, 시장 신규참여에 대한 장벽, 법적 보호범위, 경제적 잔존기간에 대해서도 유사한 조건이 요구된다.

#### 다. 수익접근법(income approach)

수익접근법은 기술자산으로부터 발생하는 미래의 기대수익을 예측하고 이것을 현재가치화 하는 방법으로써 평가대상을 평가하는 방식이다(김홍수, 2002). 장래의 현금 흐름을 적절한 할인율로 나누어 줌으로써 현재가치화 한다. 이 방법의 장점으로서는 보완

재 가치의 고려, 투자위험률 반영, 시장의 크기 및 다양한 투입요소들을 고려할 수 있다는 것이다. 이 방법의 단점으로는 정확한 가정이 되어야 정확한 가치산정을 할 수 있다는 점, 정확한 자료를 구하기가 힘들다는 점, 시장 환경에 대한 전문지식이 필요하다는 것 등이다.

이 방법을 위해 먼저 고려해야 할 사항은 경제적 이익의 가치는 어느 정도까지 예측할 수 있는가, 경제적 이익의 지속기간은 어느 정도인지 예측할 수 있는가, 경제적 이익은 앞으로 증가할 것인가 아니면 감소할 것인가, 경제적 이익을 실현함에 있어 수반되는 위험은 어떠한 것인가 등이다. 즉 시장 및 수익의 크기, 이익 실현기간, 위험요소 등을 고려하여 향후 발생하는 수익을 예측하고 이것을 현재가치화 평가대상을 평가하는 방식이다.

수익접근법을 이용하기 위해서는 순 미래현금흐름, 즉 인플로우(inflow)와 아웃플로우(outflow)의 차이를 할인율로 할인해야 한다. 미래현금흐름에 영향을 주는 요인으로는 경제환경(통화정책, 예산, 소득세법, 인플레이션 등), 수익성, 경쟁, 자본수요 등을 들 수 있다.

미래의 경제적 편익을 현재가치로 바꾸기 위해서는 할인율로 할인해주어야 한다. 할인율은 투자자의 자본투자에 대한 기회비용을 나타낸다. 즉 투자자는 다른 투자를 단념하고 그 특정투자를 했기 때문에 그것에 대한 위험부담이 할인율이라 할 수 있다.

## 2. 단일성분 분리와 계통적 분리에 의한 경제성 비교

여기서는 난황을 각 성분으로 분리하는 방법 중 기존의 단일성분 분리 방법과 본 연구에서 개발한 계통적 분리 방법을 비교하여 새로운 방법의 경제성을 분석하고자 한다. 분석방법은 앞에서 설명한 여러 방법 중 비용접근법을 변형하여 사용하기로 한다. 분석결과는 Table 5-15에 잘 나타나 있다.

먼저 단일 성분분리의 경우를 보면 이 방법에 의한 대량생산 제품은 인지질이 대부분을 차지하며, 국제시세는 95%순도의 경우 Kg당 210\$ (2005년)를 유지하고 있다. 난황 분말 1 Kg으로 인지질 0.2Kg을 생산한 후 나머지를 모두 폐기하고 있다. 인지질의



가격은 (주)두산바이오텍의 중국공장의 수출가격인 Kg당 23만원(환율을 달러당 1,100 원으로 계산)으로 산정하면  $0.2\text{Kg} \times 23\text{만원/Kg} = 4.6\text{만원}$  수입이 나온다. 따라서 난황 200톤을 분리할 경우 92억원의 판매수입이 된다. 다음으로 일관공정을 이용하여 계란을 성분 분리하게 되면 중간에 폐기되는 물질이 없으면서 차례로 IgY, 인지질, 중성지질을 추출할 수 있다.

IgY의 경우 농도를 여러 가지로 조정할 수 있는데, 농도에 따라 비용의 차이가 난다 (IgY는 분말의 형태로 건조한다고 가정하고 단가는 현재 판매중인 IgY 원료단가에 순도를 적용시킴). 난황분말 1Kg을 일관공정 방식으로 분리하게 되면 인지질 0.2Kg, 중성지질 0.4Kg, 단백질 0.3Kg, IgY 0.01Kg(순도 60%시 0.0167Kg)을 생산할 수 있다. 중성지질의 가격은 식용유의 소비자 가격이 리터(L)당 2,000원인 점을 고려하여 제조원가 기준으로 1,000원으로 산정하였다. 단백질의 가격은 대두단백질의 시중판매가격이 수입품 기준으로 Kg당 5,100원인데(2004년도), 계란단백질은 대두단백보다 질적으로 우수하나 수입업체 관련비용을 제외하고 Kg당 4,000원으로 산정하였다. 이 경우 난황분말 1Kg으로 일관공정 방식으로 분리한 경우의 수입은 다음과 같다.

$$0.2\text{Kg} \times 23\text{만원/Kg} + 0.4\text{Kg} \times 0.1\text{만원/Kg} + 0.3\text{Kg} \times 0.4\text{만원/Kg} + 0.01\text{Kg} \times 60\text{만원/Kg} = 5.36\text{만원 수입}$$

즉 난황분말 1Kg 당 5.36만원의 수입이 발생하기 때문에 난황분말 200톤을 가공할 경우 총판매수입은 107.2억원이 된다.

두 방법의 비용과 판매수입의 변화를 보게 되면 단순분리의 경우 비용은 7.1억원 증가하나, 판매수입은 15.2억원 증가한다(Table 5-15). 따라서 계통적 분리 방법이 단순 분리 방법보다 경제성을 가지고 있다.

이 경우는 분석의 편의를 위해 난황 200톤을 처리하는 방법을 적용하고 있는데, 규모가 달라질 경우 이 내용은 일부 조정될 수 있다. 이 경우 일관공정에서 경제성에 미치는 주요인은, 공정부가에 따른 설비투자비, 분리된 성분의 가격, 예상수요에 따른 생산규모 등 세 가지를 들 수 있다(오치주 and 윤선, 2001; 한국과학기술원, 2001; 송

태석, 2003).

### 3. 계란 성분분리 기술과 국민경제

축산농가의 소득을 증가시키기 위해서는 계란의 수요를 증가시킬 필요가 있다. 현재는 난황분말을 주로 수입에 의존하고 있다. 주로 수입에 의존하고 있는 이유는 국산품과 수입품과의 가격 차이 때문이다. 다른 농, 축산물과 마찬가지로 계란 생산비도 국제적으로 높은 편이므로(Table 5-16), 계란의 1차 가공품들도 가격경쟁력이 낮은 상황이다. Table 5-17는 난황분말의 수입량과 수입금액을 나타내고, Table 5-18는 국산 난황분말의 가격을 나타낸다. 난황 수입단가는 Kg당 4,700원이 되기 때문에 국산 제품 가격의 절반 정도이다.

난황의 국제시세가 상당히 불안하기 때문에 우리도 기술을 개발하고 시장을 개척하면 국산 난황을 사용하게 할 수도 있다. 현재 난황분리 성분에 대해 수요가 증가하고 있는 실정이다. 우리가 기술도 개발하고 시장도 개척하면 수출 증가도 충분히 가능하기 때문에 난황의 계통적 성분분리 기술은 농업의 발전과 연결될 수 있다.

인지질을 기준으로 할 경우 연간 60톤 정도 생산되고 있는데, 장기적으로 국내수요를 개발하고 수출시장을 개척하면 연간 300톤 정도는 충분히 시장을 확보할 수 있다. 계란 1개(60g 기준)당 3g의 인지질을 생산할 수 있기 때문에 인지질 300ton은 계란 6,000톤을 필요로 한다. 이것은 우리나라 계란 생산의 1.2% 정도 되는 생산이다.

현재는 단순분리 방법을 사용하고 있으나 본 연구에서 개발한 계통분리 기술을 이용하게 되면 원가를 절감할 수 있고, 순도가 높은 제품을 생산할 수 있기 때문에 국내 수요를 창출할 수 있고, 수출수요도 창출할 수 있다(황규승, 2001).

Table 5-15. 기존의 방식과 새로운 방식의 비용-수입 분석

(연간 난황분 200ton 처리기준, 단위:억원)

		단순분리(인지질)	계통적 분리	비고
원료가		12	12	국제거래가격 기준
고정비용	설비비용	12	20	
	건물비용	8	12	
고정비용에 대한 감가상각비(5년기준)		4	6.4	
가변비용	전기세 외	5	7.5	
	인건비	2.8	4	
기타비용		3	4	
비용합계		26.8억원	33.9억원	
생산물		인지질 40 ton	인지질 40ton, 중성지질 80ton 단백질 60ton IgY 2ton	현재 시장가격이 형성된 주요 성분을 분석대상으로 고려
생산물 판매액		92억원	107.2억원	'

- 주 1) 단순분리의 비용은 현재 국내에서 가동중인 공장을 기준으로 하였음.
- 2) 단순분리의 시설비는 추출기 2대(20ton 은 의약품, 20ton은 식품용, 각 2억원)에 4억원, 1차 농축기 2대(각 1억5천만원)에 3억원, 2차 농축기 2대(각 5천만원)에 1억원, 탱크, 여과기 등에 4억원, 합이 12억원. 건물비는 공장건물 300평(평당 200만원)에 6억원, 크린룸 15평(의약품 10평, 식품 5평, 평당 1,000만원)에 2억원, 합계 8억원
- 3) 단순분리의 인건비는 품질관리 2명, 전문 생산인력 4명, 공장관리인력 1명을 기준으로 하였음. 인건비를 일인당 4,000만원으로 하였음.  
계통적 분리의 인건비는 품질관리 3명, 전문 생산인력 6명, 공장관리인력 1명을 기준으로 하였음.
- 4) 계통적 분리에서 설비비용이 8억원이 증가한 이유는 IgY 및 중성지질, 단백질 추출시설(원심분리기, 한외여과기 등)에 이 금액이 소요.
- 5) 판매액 계산을 위해서는 kg 당 단가를 인지질 18만원, 중성지질 천원, 단백질 4천원, IgY 60% 농축분말 60만원으로 하였음.
- 3) 위의 비용합계는 식품회사에서 여러 가지 제품을 생산하고 있는 과정에서 난황 분리 공정만 고려한 단순한 제조원가이기 때문에 실제의 경우에는 여러 가지 비용이 추가되어야 함. 예를 들면 회사전체의 관리비, 세금, 유통비용 등이 제외되어 있어 판매가와 직접적으로 비교하는 것은 한계가 있음.

Table 5-16. 각 국 계란 생산비 및 수익성 비교

1\$=1,200원, 1Kg=62.5g\*16개 가정

	생산비 (Cent/Kg)	계란가격 (Cent/Kg)
한 국	82.77	133.33
캐나다	46.57	102.52
미 국	43.56	58.35
멕시코	56.29	78.68
프랑스	55.83	77.19
중 국	74.91	53.20
필리핀	75.65	94.12
일 본	90.69	130.90

출처: 대한계란유통협회 (1998)

Table 5-17. 난황분말 수입량

2001년		2002년		2003년		2004년	
수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)	수입금액 (천불)	중량(Kg)
1,089	293,024	1,383	332,010	1,055	221,767	834	195,541

Table 5-18. 난황분말 가격(2005년 현재)

제품명	성분	중량(g)	가격(원)	생산(판매)회사	용도
난황 분말 (국산)	PROTEIN	1Kg	8,900	(주)씨에스에프	식품첨가제

## 참고문헌

- 강효석 외(2001), 『기업가치평가론』, 홍문사.
- 구본식(2000), 『벤처기업의 기술가치 평가』, 경북대학교 석사학위 논문.
- 기술신용보증기금(2000), 『기업·기술의 평가』.
- 김동건(2004), 『비용·편익분석』, 박영사.
- 김태윤·김상봉(2004), 『비용·편익분석의 이론과 실제』, 박영사.
- 김홍수(2002), “기술가치평가 체제와 발전방향”, *Technology Appraisal Journal*, 제1권 제1호, 49-70.
- 송태석(2003), “발기부전 치료제 신약 관련 기술가치평가 사례”, *Technology Appraisal Journal*, 제2권 제2호, 75-130.
- 오치주·윤선(2001), “수익접근법을 이용한 농업생명기술의 가치 평가 분석”, 『식품유통연구』, 제18권 제3호, 147-162.
- 한국과학기술원(2001), 『2000 신기술창업종합지원사업-기술가치평가모델 개발』.
- 특허청(2002a), 『기술가치 평가 사례 연구』.
- 특허청(2002b), 『특허의 경제적 가치 평가방법』.
- 특허청(2002c), 『회계와 기술가치 평가』.
- 특허청(2002d), 『특허의 경제적 기술가치 평가모델』.
- 황규승(2001), “기술 가치평가 기법과 연구방향”, 『경영학 연구』, 제30권 제2호, 451-473.
- Westland, C. Valuing Technology, John Wiley and Sons.

## 제 6 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

연구계획서에 따른 과제 수행은 항목별로 약간의 완급은 있었으나, 년차별로 계획된 목표에 맞게 충분히 달성된 것으로 생각된다(제3장과 아래 연차별 연구개발목표와 내용 및 연구평가의 착안점 참조). 계란의 이용은 주로 식탁용으로 소비되는 것이 여전히 주류를 이루고 있으나, 란의 기능적 특성에 주목하여 성분분리와 정제, 분해등에 의해 이용성을 점차로 넓혀가고 있다. 난황중의 IgY, 인질, 중성지질, 난황단백질과 난황단백질의 주요 인함유 단백질인 phosvitin을 물과 알코올, 헥산(n-hexane)을 이용하여 계통적으로 분리하는 공정과 현실성 있는 조건을 확립함으로써 식품 또는 의약용으로 적용하는 데 있어서 가장 중요한 사용용매의 안전성에 대한 의구심을 원천적으로 해결할 수 있을 것으로 기대한다. 실제로 최근에 상업적으로 난황에서 인지질을 분리하는 공정에서 사용하는 유기용매는 알코올로 바뀌고 있는 것으로 판단된다. 지질을 분리하고 남은 난황단백질은 그 자체로서도 우수한 단백질자원이 될 뿐만 아니라 효소 분해에 의해 기능성소재로 이용할 수 있는 가능성을 열어 두었다. 난각과 난각막의 칼슘이동에 관여하는 단백질은 동물실험결과 칼슘흡수에 유의적으로 영향을 미치는 것으로 나타나 칼슘흡수와 관련된 기능성물질로 이용될 수 있는 가능성을 보여 주었다. 난백으로부터 항균특성을 지닌 ovotransferrin의 분리, 정제하는 방법을 산업적으로 적용하여 대량생산에 의한 기능성 소재로서의 이용가능성을 증진시킬 수 있을 것이며, 또한 제조된 항균필름은 신선육의 저장에 있어 기존의 진공포장과 함께 병용함으로써 미생물의 생육을 억제하고 저장기간을 연장시킬 수 있을 것으로 기대된다. 이상의 사실들은 연구참여자들에 의한 심포지움과 다양한 기회에 의해 발표됨으로써 관련 산업분야에 영향을 미친 것으로 확신하며, 실제로 그러한 움직임이 나타나고 있다.

난황고형물 200톤을 연속적으로 분리하여 인지질, 중성지질, 단백질을 얻는 경우와 인지질만을 분리하고 잔여물은 폐기하는 경우를 비교분석한 결과를 경제성 분석의 모델로 제시하였다. 비교대상으로 중성지질과 난황단백질은 각각 식물성 정제유지(식용유)와 식물성 분리단백을 택하였으나, 용도와 분리정도에 따라 분리된 난황성분에서 얻을 수 있는 경제적 가치는 더 클 수 있는 여지가 충분히 있을 것으로 판단된다.



연차별 연구개발 목표와 내용

구 분	연구 개발 목표		연구개발 내용 및 범위
1차 년도 ( 2002 )	실용 공정 개발	o주성분군별 분리 공정	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 용해성, 분자량, 비중, 기질 친화도, 극성에 따른 분리 공정과 설비조건 확립</li> <li>· 분리 성분군별 조성을 비교 분석하고 이용성과 그에 따른 가공특성을 조사하여 분리 및 정제 공정을 확립</li> <li>· 공정의 연속성과 일관성검증</li> <li>· 분리성분조성별 특성 및 안정성에 따른 관리항목 결정</li> </ul>
		o 유효 성분 분리	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 액상 난황으로부터 각각 성분분리</li> <li>· 인지질, 중성지질, 추출, 분리</li> <li>· 난황 단백질과 IgY 분리, 정제</li> </ul>
		o 분리 최적 조건 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 유효성분의 물리, 화학적 특성을 활용하여 실험실 조건에서 저순도의 경제적인 분리조건확립</li> <li>· 특히 유효성분의 고유특성(물리, 화학적 특성 및 기능성)의 변화를 최소화할 수 있는 최적조건선정</li> </ul>
	기능성란 단백질 연구	o단백질 성분별 분리 및 정제 방법 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 이온교환 크로마토그래피, 전기영동등의 방법 중 최적 방법선발</li> <li>· 난백 단백질의 항균성 단백질인 오보트랜스웨린의 분리 및 정제방법 확립.</li> <li>· 분리, 정제공정 모델 정립</li> </ul>
경제성 분석	o 제반 기술과 관련제품 분석에 따른 수요 예측 과 시장분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 기술개발 진행정도 측정방법 개발</li> <li>· 전 세계적인 기술동향과 시장현황 분석</li> <li>· 각 성분별 수요 예측</li> <li>· 공정별 비용 분석방법 표준화</li> <li>· 생산여건 분석방법 개발</li> </ul>	

2차 년도 ( 2003 )	실용 공정 개발	o 성분별 분리공정 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 주요 단위공정별 제한요건 확정</li> <li>· 단위공정간의 연계성 확인</li> <li>· 분리정도와 경제성에 기초한 공정 최적화</li> </ul>
		o 가공적성에 따른 용도다양화	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 성분특성별 가공적성조사</li> <li>· 용도별 가공조건확립</li> <li>· 공정설비 및 조건확립</li> </ul>
		o 고순도 성분의 정제방법 및 이용성 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 고순도 IgY의 정제방법개발</li> <li>· 고순도 인지질의 정제방법개발</li> </ul>
	기능성란 단백질 연구	o 분리, 선발된 단백질의 기능성 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 식품소재로서의 가공적성(기포성, 응고성, 보수성) 연구</li> <li>· 분리 정제된 ovotransferrin의 이화학적 특성을 고려한 항균효과와 항곰팡이 효과 연구</li> <li>· 당, 인, 철 등과 결합한 단백질의 기능성연구</li> <li>· 미생물학적 저해특성 상승 조건 연구</li> </ul>
	경제성 분석	o 단위공정의 경제성 분석 과 조합에 의한 모형 테스트	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 개발된 단위공정의 경제성 분석</li> <li>· 개별성분의 순도별, 용도별, 기능특성별 수요예측에 의한 국내외 국제시장가격 산정</li> <li>· 단위공정의 조합형태별 비용분석</li> <li>· 생산여건 분석에 의한 한계비용과 개발된 모형 테스트</li> </ul>

3차 년도 (2004)	실용 공정 개발	o 분리, 가공, 안정화공정 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 농축, 유화, 건조, 과립화공정을 이용한 2차 가공적성 검증</li> <li>· 각종 부용제 선정</li> <li>· 적정 설비 및 조건</li> <li>· 경제성에 기초한 일관공정확립</li> </ul>
		o 유용성분의 이용성 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 중성지질을 이용한 소세지의 제조</li> <li>· 난황단백질을 이용한 재조합육의 제조와 안정성 검증</li> </ul>
	기능성란 단백질 연구	o 계란 단백질의 기능성 변경 및 효능 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 신선육 저장기간 연장을 위한 생분해성 필름 포장에의 적용 연구</li> <li>· 적절한 효소분해에 의해 기능성을 변화시켜 용도의 다양성 확인</li> <li>· 단백질의 효소적 가수분해로 항산화성, 혈압강하능, 포립성, 유화능 등의 기능성을 가지는 펩타이드검색 및 그 효능 분석</li> </ul>
		o 용도 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 유효성분농도에 따른 효능확인</li> <li>· 효과가 확인된 계란 단백질을 기능성 식품 소재 용도로 개발</li> <li>· 의약품 및 기능성 식품소재활용연구</li> </ul>
	경제성 분석	o 모형별 경제성 분석에 의한 공정 최적화	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 성분의 물리적, 화학적, 기능적 특성에 따라 요구되는 단위공정에 대한 비용분석</li> </ul>
			<ul style="list-style-type: none"> <li>· 용도와 가공형태에 따른 일관공정수립과 비용분석</li> <li>· 공정모형과 생산여건에 따른 비용과 수요예측에 의한 시장형성가격 비교분석으로 경제성 있는 생산공정도출</li> <li>· 개발된 모형과 축적된 자료를 이용하여 실용화할 때 예상되는 국가경제 파급효과 분석</li> </ul>

## 연구평가의착안점

구 분	평가의 착안점 및 척도	
	착 안 사 항	척 도(점수)
1차년도(2002)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 계란의 주성분별 분리와 분리 공정 타당성</li> <li>○ 주요성분별 분석방법의 적절성</li> <li>○ 난황의 유효 성분 분리 최적 조건 확인</li> <li>○ 난백의 분리 및 정제 방법 연구</li> <li>○ 경제성 분석법의 적합성</li> </ul>	15 25 20 20 20
2차년도(2003)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 변형(modification)반응 공정의 합리성</li> <li>○ 산업적 대량생산 체제의 연속공정 시스템 적용</li> <li>○ 분리 선발된 난백의 기능성 연구</li> <li>○ 기술 및 공정의 경제성 분석</li> </ul>	10 40 25 25
3차년도(2004)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 계란 성분의 용도 개발 다양성과 실용성</li> <li>○ 가공 및 안정화 공정의 효율성</li> <li>○ 난백의 기능성 변경 및 효능 분석</li> <li>○ 수요예측에 의한 비용분석으로 경제성 검증</li> </ul>	20 30 30 20
최종 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 신 기능성 난백 단백질의 생산, 가공기술 개발</li> <li>○ 난황성분 분리, 가공기술개발</li> <li>○ 분리, 가공일관 공정확립</li> <li>○ 공정 및 제품의 경제성분석</li> </ul>	25 25 25 25

## 제 7 장 연구개발결과의 활용계획

란에 대한 연구는 생물학적 측면에서 지속적으로 연구되고 있으며, 특히 발생과 분화의 관점에서 좋은 연구대상으로서 학문적인 관심을 끌고 있다고 생각된다. 계란을 중심으로 란의 성분과 그 기능적 특성에 대한 연구는 많이 이루어져 왔다. 각 성분들의 특성과 배아 발생과 조직분화가 일어날 때 개별적인 역할에 대해서도 기본적으로 파악된 것으로 판단된다. 그러나 란의 거의 모든 성분이 성체의 조직으로 변화되며, 변화 과정 중 미생물을 포함한 주위환경으로부터 완벽한 자기방어능력을 보여준다는 점에서 각 성분들의 상호작용과 구체적인 작용기작에 대한 기초연구의 필요성이 절실하다고 본다. 이러한 연구의 바탕위에서 다양한 성분들의 분리, 정제와 활용도 더욱 효과적으로 이루어 질 것으로 기대된다. 난백과 난황에 존재하는 다양한 단백질의 선택적이면서 효율적인 분리, 정제에 의한 기능성 연구와 상호작용에 대한 심층적 연구도 지속적으로 이루어져야 할 것으로 보인다. 난각칼슘의 활용에 대한 연구는 보건복지부의 지원을 받아 국내 기업과 상업화를 위해 계속적으로 추진하고 있다. 또한 Ovotransferrin의 항균활성 peptide의 분리정제기술의 발전과 생산비용의 절감을 통하여 항균소재로서의 이용 가능성을 높이고, 신선육을 포함한 다양한 식품들에의 적용에 대한 지속적인 연구들이 필요할 것으로 생각된다. IgY, 인지질, 중성지질을 분리하고 남은 난황 단백질의 계속적인 분리, 정제와 그이용성에 대한 연구는 더욱 더 체계적으로 지속되어야 하며, 참여업체인 (주)에스앤디와 국내 유일한 난황 인지질생산업체인 두산 바이오텍과 실질적인 활용에 대해 심도 깊은 논의가 이루어 질 것으로 기대한다. 특히 현재 분리한 인단백질인 포스비틴(phosvitin)의 분리수율향상과 더불어 무기이온들(칼슘, 철)과의 결합과 분리기작을 규명하여 활용할 수 있는 가능성에 대해 관심이 크다.

연구과제의 활용과 관련하여 발표하거나 예정중인 내용과 출원한 특허는 아래와 같다.

#### 1. 국제심포지움개최

주제: 계란성분의 생리적 기능과 이용성

장소: 인제대학교(제10회 인제식품과학포럼)

일시: 2003년 4월 11일

발표내용:

김재철(인제대학교), 계란성분의 특성과 이용현황

Gita Cherian(Oregon State Univ., USA), 난황 지질성분의 생체기능특성

김무조(Pharma Foods International Co., Ltd. Japan), IgY의 대량생산과 이용성

안동욱(Iowa State Univ., USA), Transglutaminase를 이용한 난황 단백질의

이용성

이무하(서울대학교), 항균성 난백 단백질의 활용

#### 2. 투고논문(계재승인)

- Sequential separation of main components from chicken egg yolk, Food Science and Biotechnology
- 난백 내 ovotransferrin의 분리방법에 관한 연구, 한국동물자원과학회지
- 분리된 ovotransferrin의 pH 및 온도에 따른 단백질 및 항균특성, 한국동물자원과학회지

#### 3. 특허출원

- 김재철, 안동욱, 이상현, 공병욱. 난황유용성 성분의 연속적 분리 및 정제방법. 출원번호: 1020040062123.

#### 4. 학회발표

이상현, 안동욱, 김재철. 액상추출에 의한 난황 중성지질의 분리. 2005 International Symposium and Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Nutrition. 424p. 용평리조트. 2005. 10. 20

Sang Hyun Lee and Cherl Kim, Dong Uk Ahn. Effective Preparation Procedure for Phosvitin from Egg Yolk. 한국식품과학회 제72차 학술발표회 국제심포지엄 및 정기총회. 126p. 서울Coex. 2005. 06. 16

Sanghyun Lee, Dong Uk Ahn, and Jae Cherl Kim, Separation of phospholipids and neutral lipids from egg yolk using ethanol and hexane. 2004 Annual Meeting and International Symposium. The Korean Society of Food Science and Nutrition. Je-Ju, Korea. 347p, 2004. 11. 18

D.U. AHN, E.J. LEE, J.C. KIM, Efficient and economical separation of neutral lipids and phospholipids from liquid egg yolk, THE IFT 2004 ANNUAL MEETING + FOOD EXPO, 2004.07.12

이상현, 공병욱, 김재철. 난황의 중성지질과 단백질 분리에 있어서 수용액상추출법의 유용성. 한국식품과학회 제71차 학술대회. 199p, 용평리조트, 2004.06.23

Ahn, D.U and K.Y. Ko, Jae C. Kim, Newly Emerging Technology for Egg Processing : Economical separation of value-added components from chicken egg yolk, THE 3RD INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EGG NUTRITION FOR HEALTH PROMOTION(BANFF), 2004.04.18

이광진, 김재철. 난황성분들의 계통적 분리에 있어서 용매종류별 주요성분 분획특성. 한국식품영양과학회 정기총회 및 제 54차 학술대회. 충남대학교, 2003.11.29

##### 5. 저서(출판예정)

Proceedings for Newly Emerging Technology for Egg Processing : Economical separation of value-added components from chicken egg yolk, THE 3RD INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EGG NUTRITION FOR HEALTH PROMOTION(BANFF)

6. 투고예정논문

- Antimicrobial edible film based on  $\kappa$ -carrageenan incorporated with ovotransferrin, EDTA, and potassium sorbate, Journal of Food Protection
- 다수 준비중



## 제 8 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

란에 대한 연구는 전 세계적으로 꾸준히, 지속적으로 이루어지고 있다. 특히 생명공학에 대한 관심의 증가와 함께, 줄기세포를 활용하여 기능성 물질생산의 매개체로 이용하기 위한 시도도 이루어지고 있는 것으로 보인다. 란의 기능성 성분을 분리하여 식품, 의약품, 화장품용으로 이용하려고 하는 시도는 지속적으로 이루어지고 있다. 난백 단백질을 효소로 분해하여 만들어지는 다양한 펩타이드들의 생리활성과 기능성을 이용하려는 연구도 새로운 측면에서 시도되고 있다. Sphingomyelin과 같이 란에는 미량으로 존재하지만 그 생리적 기능성에 주목하여 다른 생물체로부터 분리하여 상용화하는 경우도 있다. 가장 활발히 이용되고 있는 인지질은 식품용 유화제뿐만 아니라, 주사제용으로도 그 이용범위를 넓혀 가고 있다. 또한 난황 인지질의 지방산들을 효소로 분해하여 lecithin을 lysolecithin으로 변형시켜 기능성 피부보호제로 이용되고 있다. 효소처리 된 난황으로 만들어진 마요네즈나 드레싱은 유화안정성이 크게 증가하고, 열안정성도 높아 살균도 가능하여 미생물에 의한 변화도 최소화할 수 있어 보존성이 대단히 좋아진다. 또한 난황에서 인지질을 분리하고 남은 잔류물(주로 난황단백질)을 효소처리하여 건강식품이나 식품소재로 활용하려는 시도도 이루어지고 있다.