

Pretreatment methods of egg yolk for reversed phase HPLC

김지은, 김도현, 김인호*
충남대학교
(ihkim@cnu.ac.kr*)

난황에서 Immunoglobulin Yolk (IgY)를 효과적으로 분리하는 전처리 방법을 찾기 위해서 여러 가지 실험을 하였다. 난황의 주요 성분은 단백질과 지질로 단백질은 난황의 15 ~ 17%를 차지한다. 난황 속의 단백질은 α , β , γ -livetin으로 구성되어 있으며 이 중 γ -livetin이 IgY 면역단백질로 존재한다. 난황에서 IgY를 분리하기 위해 인지질 및 다른 단백질을 침전시키는 전처리 과정을 연구하였다.

인지질을 분리하기 위해 난황과 증류수의 비율을 1 : 2.5로 하여 점도를 낮춘 희석용액에서 1.5 g/L와 0.1 g/L κ -carrageenan 수용액은 희석용액 부피의 두 배로 첨가하였고 PEG 4000은 시료의 최종 부피의 35 g/L만큼, Arabic Gum은 최종 부피의 5 mg/L만큼 첨가하였다. 인지질을 빠르게 침전시키기 위한 원심분리 조건을 찾기 위해 인버터 제어 원심분리기 (Hanil)를 사용해 4 °C에서 30분간 원심 분리하였는데, 이 때 속도를 5000 rpm과 10000 rpm으로 바꾸어 비교하였다. 전처리 된 샘플을 30% acetonitrile 용액을 이동상으로 하여 Zorbax (300SB-C18 5 μ m, 4.6 \times 250 mm, Agilent) 컬럼에서 유속 1.0 mL/min으로 HPLC로 10 분간 분석하였다.

Arabic Gum을 5 mg/L 첨가하고 원심분리 속도를 5000 rpm으로 하면 크로마토그래피 피크가 두 개로 분리되었다. 또한 1.5 g/L κ -carrageenan 수용액을 첨가하고 5000 rpm으로 원심 분리하면 높이가 가장 높은 단일 피크가 나왔다.