

## 등전점 용해/침전 공정으로 어류 알 분리단백질의 제조과정에서 발생하는 가공처리수에 대한 식품기능성 및 생리활성

이균우<sup>1,3</sup> · 윤인성<sup>1,3</sup> · 강상인<sup>2,3</sup> · 이수광<sup>2,3</sup> · 김재일<sup>4</sup> · 김진수<sup>2,3</sup> · 허민수<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 식품영양학과/해양산업연구소, <sup>2</sup>경상대학교 해양식품생명의학과/해양산업연구소, <sup>3</sup>경상대학교 수산식품산업화 기술지원센터, <sup>4</sup>부경대학교 식품영양학과

## Functionality and Biological Activity of Isolate Processed Water Generated During Protein Isolate Preparation of Fish Roes Using an Isoelectric Solubilization and Precipitation Process

Gyoon-Woo Lee<sup>1,3</sup>, In Seong Yoon<sup>1,3</sup>, Sang In Kang<sup>2,3</sup>, Su Gwang Lee<sup>2,3</sup>, Jae-Il Kim<sup>4</sup>, Jin-Soo Kim<sup>2,3</sup> and Min Soo Heu<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea  
<sup>2</sup>Department of Seafood and Aquaculture Science/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea  
<sup>3</sup>Research Center for Industrial Development of Seafood, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea  
<sup>4</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48315, Korea

This study evaluated the protein recovery, functional properties and biological activity of isolate processed water (IPW) generated in the preparation of protein isolates from fish roes (BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*) by an isoelectric solubilization and precipitation process. The IPWs contained 2.7-5.4 mg/mL of protein, and the protein losses were 8-21% ( $P < 0.05$ ). The form capacity of IPW-3 for BH and ST, and IPW-4 for YT was 155, 194, and 164%, respectively. The emulsifying activity index (27-43 m<sup>2</sup>/g) of the YT-IPWs was the strongest, followed by ST (7-29 m<sup>2</sup>/g) and BH (10-19 m<sup>2</sup>/g). The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging activities of IPW-1 and -3 were higher than those of IPW-2 and -4. The 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid scavenging activity (IC<sub>50</sub>, mg/mL) of IPW-2 and -4 was 0.03 mg/mL for BH, 0.04-0.08 mg/mL for ST, and 0.04-0.07 mg/mL for YT. BH IPW-3 had the strongest reducing power (0.41 mg/mL) and superoxide dismutase-like activity (1.68 mg/mL). The angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of IPW-3 was the highest for ST (1.52 mg/mL), followed by BH and YT. The common predominant amino acids in the IPWs were the essential amino acids Val, Leu, Lys, and Arg and the non-essential amino acids Ser, Glu, and Ala.

Key words: Roe protein isolates, Isolate processed water, Food functionality, Bastard halibut, Tunas

### 서 론

등전점 가용화/침전(ISP, isoelectric solubilization/precipitation) 공정은 수산 및 육상동물의 가공 시 발생하는 가공부산물로부터 단백질의 회수율을 높일 수 있는 처리방법이다. 이 ISP 공정은 1999년대 미이용/저활용 어류 원료와 그 부산물로부터,

기능성 분리단백질(protein isolates)을 경제적으로 생산하고자 개발된 주요 기술이다(Hultin and Kelleher, 1999). 이러한 어류 분리단백질의 제조는 pH 조절에 따른 단백질 가용성의 변화를 이용하여 원치 않는 성분으로부터 목적하는 어류 단백질의 분리 및 회수를 가능하게 한다(Underland et al., 2002; Mohan et al., 2007; Lee et al., 2016b). 그러나 이 공정을 통해서 목적하는 분

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0694>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 50(6) 694-706, December 2017

Received 1 November 2017; Revised 5 December 2017; Accepted 6 December 2017

\*Corresponding author: Tel: +82. 55. 772. 1440 Fax: +82. 55. 772. 1430

E-mail address: minsheu@gnu.ac.kr

리단백질을 회수한 다음, 원료 처리량에 대해 5-10배량의 가공처리수(IPW, isolate processed water)도 대량 발생하게 된다(Chen and Jaczynski, 2007a; Tahergorabi and Jaczynski, 2012a; Lee et al., 2016b). 또한 어류, 갑각류, 연체류 등의 원료 수산물의 가공 중에는 “가공폐수(process wastewaters)” 라는 수세수, 가열처리수(또는 자숙수), 압착수 등, 액상의 가공부산물(100 tons의 수산물 원료에 대해 시간당 10배량의 가공처리수를 사용)이 대량으로 발생 한다(Afonso and Borquez, 2002; Dumay et al., 2008). 이러한 수산식품 가공공정에서 발생하는 가공처리수는 유기물 부하가 높기 때문에 적절한 처리를 하지 않은 채로 방류를 하게 되면 환경오염의 원인이 된다. 그러나 이들 액상 가공부산물인 가공처리수에는 sarcoplasmic protein, 효소, 혈액 등의 잠재적으로 이용 가치가 높은 유기성분 및 단백질 성분이 다량 함유되어 있다(Dumay et al., 2008; Yoon et al., 2017). 이와 관련한 수산가공 처리수에 관한 정보로는, surimi 제조 시 수세와 탈수과정에서 어육 중량당 약 10-20배량의 수세수가 발생하며, 이 과정을 통해서 어육 단백질의 30%가 손실되고(Watanabe et al., 1982), 어육 fillet 가공 시에는 10-30배량의 수세수가 발생하여 어육 단백질의 5-12%가 손실된다(Afonso and Borquez, 2002). 또한 수산가공원료의 가열처리 공정에서 발생하는 lobster 및 shrimp (Dumay et al., 2008), 굴(Kim and Heu, 2001a; 2001b), 대합(Joh and Hood, 1979) 등의 자숙 가공처리수는 중량당 30-50배량이 발생하고, 이들 자숙수 중에는 단백질 성분이 0.1-0.6 g/L 함유되어 있어, 이를 농축하여 분말 인스턴트 제조 및 향미소재로서 이용하고자 하였다(Oh et al., 2007). 한편, 수산물의 가공 중에 머리, 껍질, 비늘, 내장, 그리고 알과 같은 다양한 가공부산물이 다량으로 발생하고, 전체중량의 30-60%를 차지한다(Klomklao and Benjakul, 2016; Narsing Rao et al., 2014). 이러한 가공부산물 중에서 어류 알(fish roe)은 알집(skeins)에 둘러싸인 알을 말하며, 단백질(Sikorski, 1994) 및 필수지방산(Mahmoud et al., 2008)이 풍부한 고영양성의 식품 재료이지만, 연어나 철갑상어 알의 캐비어(caviar), 명란 등 직접적인 이용은 매우 한정적이다. 대부분 식품소재로 이용되지 못하는 어류 알에 대한 선행연구(Heu et al., 2006)를 바탕으로 보다 효율적인 유용 단백질원 등 식품소재로서의 이용을 위하여, 어류 알로부터 분말농축물의 제조(Lee et al., 2016a) 및 분리단백질(Lee et al., 2016b) 그리고 그 식품기능특성(Park et al., 2016)에 대해 연구를 수행 한 바 있지만, 이의 제조 과정에서도 각각 액상 가공부산물인 자숙 가공처리수(Yoon et al., 2017)와 isolate processed water (IPW)가 발생하였다. 따라서 이 연구에서는 넙치(BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*), 가다랑어(ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*) 및 황다랑어(YT, yellowfin tuna *Thunnus albacare*) 알로부터 등전점 용해/침전 공정을 통한 분리단백질의 회수과정에서 발생하는 가공처리수(IPW)에 대하여 거품성 및 유화 형성능과 같은 식품기능특성, 항산화 특성 및 항고혈압활성에 대하여 살펴 봄으로

서, 수산가공산업에 있어서 발생하는 다양한 가공처리수의 하나의 모델로서 식품 및 건강기능적인 측면의 가치에 대해 조명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

넙치(BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*)는 통영시 소재 수산시장에서 살아있는 채로 구입하여, 실험실로 운반한 후, 알을 적출하여 실험에 사용하였으며, 가다랑어(ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*) 및 황다랑어(YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*) 알은 창원시 소재 동원산업(Dongwon F&B Co., Ltd. Changwon, Korea)으로부터 동결상태의 알을 분양을 받아 사용하였다. 이 알들은 실험에 사용하기 전까지 polyethylene bags에 밀봉상태로 -70℃에서 보관하였다.

어류 알 분리단백질(roe protein isolate)은 Lee et al. (2016b)의 방법에 따라 제조하였다. 즉, 각 어종의 동결 된 알에 100 g에 대하여 6배량(w/v)의 탈 이온수를 가해 균질화(POLYTRON® PT 1200E, KINEMATICA AG, Luzern, Switzerland)하고, 2 N NaOH을 사용하여 각각 pH 11과 12로 조절하여, 알칼리 가용화(4℃ for 1 h) 과정을 거친 다음, 이어서 원심분리를 실시하였다(Supra 22K, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Incheon, Korea, 12,000 g, 4℃, 30 min). 원심분리 후, pH 11과 12의 알칼리 가용화 상층액에 대하여 2 N HCl을 사용하여 어류 단백질의 등전점 부근인 pH 4.5 및 5.5로 각각 조정한다. 원심분리(12,000 g, 4℃, 30 min) 하였다. 이때의 원심분리 잔사는 어류 알 분리단백질로 회수하고, 원심분리 상층액은 등전점 용해/침전공정을 통해 발생한 가공처리수(IPWs)로서 각각 IPW-1 (pH 11/4.5), IPW-2 (pH 11/5.5), IPW-3 (pH 12/4.5) 그리고 IPW-4 (pH 12/5.5)로 표시하였다.

### 단백질

등전점 용해/침전 공정을 통해 발생한 IPWs의 단백질 농도는 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 표준단백질로서 bovine serum albumin을 사용하여 구한 검량선을 통해 측정하였다.

### 전기영동

시료의 단백질 분자량 분포는 Laemmli (1970)의 방법에 따라 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 측정하였다. 즉, 시료액은 SDS-PAGE 시료조제용 완충액과 4:1 (v/v) 비율로 혼합한 후, 100℃에서 3 min 동안 가열하여 조제하였다. 10% Mini-PROTEAN® TGX™ Precast gel (Bio-Rad Lab., Inc., California, USA)에 준비한 시료(20 µg 단백질)를 주입하고, Mini-PROTEAN® Tetra cell (Bio-Rad Lab. Inc., California, USA)에 장착한 다음, 일정한 전류(10 mA per gel)를 통하게 하여 전기영동 실시하였다. 단백질의

분자량 분포는 Precision Plus Protein™ standards (10-250 K, Bio-Rad Lab., Inc., California, USA)를 사용하여 확인하였다.

### 아미노산

각 시료의 아미노산분석은 2.5 mL의 IPWs에 0.25 mL of 6% (w/v) 5-sulfosalicylic acid dihydrate를 가하여 제 단백질 실시하고, 원심분리(1,890 g, 20 min, 4°C) 하였다. 원심분리 상층액 (1.5 mL)은 0.20 µm syringe filter (hydrophilic type)를 사용하여 여과한 다음, lithium form 칼럼이 장착된 아미노산 분석기 (model 6300; Biochrom 30, Biochrom Ltd., Cambridge, UK)로 taurine 및 아미노산 함량을 분석하였으며, 분석결과는 100 g 단백질에 대한 개별 아미노산의 조성비(%)로 나타내었다.

### 거품성 및 거품안정성

시료의 거품성(FC, foaming capacity)과 거품안정성(FS, foam stability)은 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 25 mL의 메스실린더에 10 mL의 시료용액을 옮겨 담고, 균질기(POLYTRON® PT 1200E, KINEMATICA AG, Luzern, Switzerland)로 12,500 rpm에서 1 min동안 균질화 하였다. 거품이 형성된 시료는 주어진 시간(0, 15, 30 및 60 min)동안 실온에서 정치하면서, 총 부피와 거품의 부피를 측정하여 아래의 식에 따라 FC와 FS를 구하였다.

$$\text{Foaming capacity (\%)} = \text{VT}/\text{V}_0 \times 100$$

$$\text{Foam stability (\%)} = (\text{Ft}/\text{Vt})/(\text{FT}/\text{VT}) \times 100$$

이때 VT는 균질 직후 총 부피, V<sub>0</sub>는 균질 전의 총 부피, FT는 균질 직후 거품의 부피, Ft와 Vt는 주어진 시간(t=15, 30 and 60 min) 경과 후의 거품부피 및 총 부피를 의미하였다.

### 유화능과 유화안정성

유화능(EAI, emulsifying activity index)과 유화안정성(ESI, emulsion stability index)은 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료(10 mL)는 식용유(soybean oil, Ottogi Co., Ltd., Seoul, Korea)와 1:3 (v/v)의 비율로 혼합하여 균질화한 (12,500 rpm, 1 min) 다음, 균질화 액이 담긴 메스실린더의 아래쪽에서 일정량(50 µL)의 emulsion을 취하여 5 mL의 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) 용액과 혼합한 다음, 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)를 사용하여 500 nm 파장에서 균질화한 직후의 흡광도(A<sub>0min</sub>)와 10분경과 후의 흡광도(A<sub>10min</sub>)를 측정하여 아래의 식으로 각각 EAI (m<sup>2</sup>/g protein)와 ESI (min)를 구하였다.

$$\text{EAI (m}^2\text{/g protein)} = \frac{2 \times 2.303 \times A \times \text{DF}}{l \times \Phi \times C}$$

이때, A는 500 nm에서의 흡광도, DF는 희석비(100), l은 빛

이 통과하는 cuvette의 폭 (1 cm), Φ는 혼합액 중에 식용유가 차지하는 비율(0.25) 그리고 C는 단백질의 농도(g/mL)를 각각 나타내었다.

$$\text{ESI (min)} = \frac{A_0 \times \Delta t}{\Delta A}$$

여기서 ΔA는 A<sub>0min</sub>에 대한 A<sub>10min</sub>의 흡광도의 차이, Δt는 10 min를 의미하였다.

### DPPH 라디칼 소거활성

각 시료의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성은 Blois (1958)의 방법을 다소 수정한 Yoon et al. (2017)에 따라 측정하였다. 각 시료액(1.5 mL)에 대하여 동량의 0.4 mM DPPH radical ethanolic solution (1.5 mL)과 혼합하고, 실온의 암소에서 30 min동안 반응시킨 후, 파장 517 nm (UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성(%)은 아래의 식에 따라 구하였으며, IC<sub>50</sub> value (mg/mL)는 50%의 DPPH 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} =$$

$$\frac{(\text{Control}_{517} - \text{Sample}_{517})}{\text{Control}_{517}} \times 100$$

이때, 대조구(control<sub>517</sub>)는 시료용액 대신 탈 이온수를 가하여, 측정된 흡광도를 나타내었다.

### ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성

2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS<sup>+</sup>) 라디칼 소거활성은 Binsan et al. (2008)의 방법을 다소 수정한 Yoon et al. (2017)에 따라 측정하였다. 각 시료용액(1 mL)은 3 mL의 ABTS<sup>+</sup> 용액과 혼합하여, 실온의 암소에서 30 min 동안 반응시킨 후, 파장 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성(%)은 아래의 식으로 계산하였으며, IC<sub>50</sub> value (mg/mL)는 50%의 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

$$\text{ABTS}^+ \text{ radical scavenging activity (\%)} =$$

$$\frac{(\text{Control}_{734} - \text{Sample}_{734})}{\text{Control}_{734}} \times 100$$

이때의 대조구(control<sub>734</sub>)는 시료용액 대신 탈 이온수를 가하여, 측정된 흡광도를 나타내었다.

### SOD 유사활성

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성은 Marklund and

Marklund (1974)의 방법을 일부 수정한 Yoon et al. (2017)에 따라 측정하였다. 500  $\mu$ L의 각 시료용액은 500  $\mu$ L의 7.2 mM pyrogallol (10 mM HCl에 용해)과 3 mL의 1 mM EDTA를 함유하는 50 mM Tris-HCl 완충액 (pH 8.5)을 혼합하여, 30 min 동안 반응시켰다. 이어서 100  $\mu$ L of 1N HCl를 가하여 반응정지 시키고, 파장 420 nm (UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)에서 흡광도를 측정하여 아래의 식을 통해 SOD 유사활성(%)을 계산하였다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = \left[ 1 - \frac{(\text{Sample}_{420} - \text{Sample Blank}_{420})}{(\text{Control}_{420} - \text{Control Blank}_{420})} \right] \times 100$$

이때의 sample blank는 시료에 1 N HCl을 가해 반응 정지 시킨 후, pyrogallol을 첨가하여 측정된 흡광도이며, control blank는 시료 대신 탈 이온수와 1 N HCl을 혼합한 다음, pyrogallol을 첨가해 측정된 흡광도를 나타내었다.

#### 환원력

각 시료용액의 환원력(RP, reducing power)은 Oyaizu (1988)의 방법을 일부 수정한 Yoon et al. (2017)에 따라 측정하였다. 각 시료용액(1 mL)는 1 mL의 0.2 M sodium phosphate 완충액 (pH 6.6)과 1 mL의 1% (w/v) potassium ferricyanide을 혼합하여 50 $^{\circ}$ C의 항온수조에서 20 min 동안 반응시켰다. 이어서 1 mL의 10% (w/v) trichloroacetic acid를 가해 반응정지하고, 원심분리(1,890 g, 10 min)하였다. 1.5 mL의 상층액은 동량의 탈 이온수와 0.3 mL의 0.1% (w/v) ferric chloride 용액을 혼합하여, 10 min 동안 반응 후, 파장 700 nm (UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)에서 흡광도를 측정하였다. 환원력의 EC<sub>50</sub>값 (mg/mL)은 흡광도 0.5를 나타내는데 필요한 시료의 농도로 정의하였다.

#### Tyrosinase 저해활성

각 시료용액의 tyrosinase 저해활성은 Iida et al. (1995)의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 즉, 300  $\mu$ L의 시료용액은 900  $\mu$ L의 mushroom tyrosinase (50 Unit/mL)와 1.5 mL의 50 mM phosphate buffer (pH 6.8)을 혼합하여 실온에서 30 min 동안 전단계 반응을 실시한 후, 300  $\mu$ L of 10 mM 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) 용액을 가하여, 파장 475 nm에서 20 min 동안 1 min 간격으로 생성되는 dopachrome의 흡광도를 모니터링하면서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성(%)은 아래의 식을 통하여 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibitory activity (\%)} = \frac{(\text{Control}_{475} - \text{Sample}_{475})}{\text{Control}_{475}} \times 100$$

여기서 대조구(control<sub>475</sub>)는 시료 대신 탈 이온수가 가하여 측정

한 흡광도를 의미하였다.

#### ACE 저해활성

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) 저해활성은 Cushman and Cheung (1971)의 방법을 다소 수정한 Yoon et al. (2017)에 따라 측정하였다. 100  $\mu$ L의 시료용액, 50  $\mu$ L의 ACE 그리고 50  $\mu$ L의 0.05 M sodium borate 완충액(pH 8.3)을 혼합한 반응액은 실온에서 30 min 동안 전단계 반응을 실시한 다음, 50  $\mu$ L의 5 mM hippuric acid (HHL) acetate salt를 함유한 0.05 M sodium borate 완충액(pH 8.3)을 가하여 37 $^{\circ}$ C의 항온수조에서 60 min 동안 반응을 진행하였다. 효소반응의 정지는 250  $\mu$ L of 1 N HCl을 가하여 실시하였으며, 이어서 반응액 중의 유리된 hippuric acid의 추출을 위하여 1.5 mL의 ethyl acetate를 가한 다음, 원심분리(1890 g, 10 min, 4 $^{\circ}$ C)하였다. 1.0 mL의 상층액을 시험관에 옮기고 100 $^{\circ}$ C의 heating block에서 ethyl acetate를 완전히 증발시킨 다음, 남아있는 hippuric acid는 1.0 mL의 탈 이온수로 용해시킨 후, 파장 228 nm (UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)에서 흡광도를 측정하였다. ACE 저해활성(%)은 아래의 식에 따라 구하였으며, IC<sub>50</sub>값(mg/mL)은 ACE 활성의 50%를 저해하는 시료의 농도로 정의 하였다.

$$\text{ACE inhibitory activity (\%)} = \left[ 1 - \frac{(\text{Sample}_{228} - \text{Sample Blank}_{228})}{(\text{Control}_{228} - \text{Control Blank}_{228})} \right] \times 100$$

이때의 sample blank는 시료에 1 N HCl을 가하여 반응정지 시킨 후, HHL을 첨가해 측정된 흡광도이며, control blank는 시료 대신 탈 이온수와 1 N HCl을 혼합한 다음, HHL을 가하여 측정된 흡광도를 나타내었다.

#### 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하여, 평균(average)과 표준편차(standard deviation)로 나타내었다. 데이터는 SPSS 12.0 K (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계프로그램을 이용하여 ANOVA test를 통해 분산분석을 실시하고, Duncan의 다중위 검정법으로 최소유의차검정(P<0.05)을 실시하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 단백질 회수율

넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알로부터 등전점용해/침전(ISP, isoelectric solubilization/precipitation) 공정을 통한 roe protein isolates (RPIs)의 회수과정 중에 발생하는 가공처리수(IPWs, isolate processed waters)의 단백질 회수율(시료의 기준에서는 단백질 손실율)에 대하여 Table 1에 나타내었다. 먼저, 시료인 어류 알의 단백질 함량은 BH가 15.98, ST

는 18.16 그리고 YT는 18.27 g/100 g이었다. 이들 어류 알에 대해 6배량의 탈 이온수를 가해 균질화 한 다음, ISP 공정을 통해 발생한 IPWs의 양은 어류 알 100 g 처리시 BH는 590-613 mL, ST는 548-675 mL 그리고 YT는 535-548 mL 수준이었다. 넙치알(BH) 단백질에 대하여, IPWs의 단백질 회수율(어류 알 기준으로는 손실율)은 18.44-20.68% 범위이었으며, IPW-1 (pH 11/4.5)의 회수율이 가장 높은 결과를 나타내어, 처리공정에 따른 유의적인 차이가 있었다( $P < 0.05$ ). ST의 경우 IPWs의 단백질 회수율은 10.94-15.73% 범위이었으며, IPW-2 (pH 11/5.5)의 회수율이 유의적으로 높았으나( $P < 0.05$ ), 이외의 IPWs 간에는 차이가 없었다. 한편, YT의 경우 7.97-10.73% 범위의 단백질 회수율을 나타내었으며, IPW-4 (pH 12/5.5)의 단백질 회수율이 유의적으로 높았다. 이상의 결과로 ISP 공정의 pH 조절에 따른 어류 알 분리단백질의 회수과정 중에 발생하는 IPWs의 단백질 회수율(손실율)은 어종 별, 알칼리 용해 및 산 침전 과정에

Table 1. Protein recovery (% w/v) of isolate processed waters (IPW) obtained from fish roe during isoelectric solubilization and precipitation (ISP) process

Sample	Volume (mL/100 g roe)	Protein <sup>1</sup> (mg/mL)	Total protein (g/100 g roe)	Protein loss (%)
Roe			15.98	-
BH				
IPW-1	613.10	5.39	3.30 <sup>a</sup>	20.68 <sup>a</sup>
IPW-2	549.34	5.36	2.94 <sup>a</sup>	18.43 <sup>b</sup>
IPW-3	602.38	4.98	3.00 <sup>a</sup>	18.77 <sup>b</sup>
IPW-4	590.63	5.27	3.11 <sup>a</sup>	19.48 <sup>ab</sup>
ST				
Roe			18.16	-
IPW-1	557.92	3.59	2.00 <sup>b</sup>	11.03 <sup>b</sup>
IPW-2	557.99	5.12	2.86 <sup>a</sup>	15.73 <sup>a</sup>
IPW-3	547.51	3.63	1.99 <sup>b</sup>	10.94 <sup>b</sup>
IPW-4	674.75	3.15	2.13 <sup>b</sup>	11.70 <sup>b</sup>
YT				
Roe			18.27	-
IPW-1	547.55	2.66	1.46 <sup>c</sup>	7.97 <sup>c</sup>
IPW-2	547.40	2.83	1.55 <sup>b</sup>	8.48 <sup>bc</sup>
IPW-3	546.54	2.92	1.60 <sup>b</sup>	8.74 <sup>b</sup>
IPW-4	535.09	3.54	1.89 <sup>a</sup>	10.37 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Based on Lowry method (1951). Values represent the mean  $\pm$  SD of  $n=3$ . Means with different small letters within same column in each sample are significantly different at  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range test. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; IPW-1 and IPW-2, isolate processed waters adjusting pH 4.5 and 5.5, respectively, after alkaline solubilization at pH 11; IPW-3 and IPW-4, isolate process waters adjusting pH 4.5 and 5.5, respectively, after alkaline solubilization at pH 12.

따른 유의적인 차이가 있는 것이 확인 되었다( $P < 0.05$ ). 또한 백색육 어류인 넙치가 회유성 혈합육 어류인 다랑어류에 비해 단백질 손실율이 높은 것으로 나타났다.

Yoon et al. (2017)의 어류 알 농축물 제조과정에서 얻어진 자숙 가공처리수는 넙치가 다랑어류 알 보다 단백질 회수율(4-10%)이 유의적으로 높다고 하여, 이 실험의 결과와 유사한 경향을 나타내었으며, 이는 넙치 알이 다랑어류 알에 비하여 가용성의 유기성분 함량이 많은 것에 기인하는 것이라 판단되었다.

Cho et al. (2000)은 오징어 탈피 수세수와 자숙수에는 각각 1.1%와 0.6%의 단백질성분이 존재하여, 오징어 단백질의 5.5% 및 3.0%를 차지했으며, Kim et al. (2001b)은 굴 가공처리수의 단백질함량은 0.4%-0.8%이라고 하였다. 또한 수산가공 원료로서 가다랑어, 문어 및 굴 자숙 가공처리수에는 1.4-3.6% 범위의 단백질을 함유하고(Oh et al., 2007), 붉은 대게 자숙 가공처리수의 단백질함량이 12.2%라고 하였다(Kang et al., 2007). 수세 및 가열처리 공정 중에 원료 중량당 단백질의 손실은 5-30% (Watanabe et al., 1982; Afonso and Borquez, 2002)에 이르고, 원료 중량당 10-50배의 가공처리수가 발생하며, 가용성 단백질성분 및 지질성분이 2-5 g/L (약 0.2-0.5%)이 함유되어 있다고 보고하였다(Watanabe et al., 1982; Dumay et al 2008). 이상의 연구보고에 따르면, 수산물 원료의 가공을 위하여 사용되는 수세수와 자숙수 등 원료의 처리공정에 따른 가공처리수에는 다양한 농도의 단백질이 함유되어 있고, 원료 단백질로부터 상당량의 손실이 가공과정 중에 발생하는 것이 확인되었다. ISP 공정에 따른 어류 알 분리단백질의 제조 및 회수한 이후에도 이들 IPWs에는 이상의 연구보고의 수세수 또는 자숙수에 비해, 단백질 함량이 높은 것을 확인할 수 있었으며, 어류 알 100 g 처리 시 1.5-3.3 g의 단백질성분이 함유되어 있어 단백질 함량 기준으로 약 8-21%가 손실되는 것으로, 이 실험과정을 통해 확인되었다. 따라서 이들 IPWs의 식품기능성 및 생리활성에 대한 분석을 통해 ISP 공정에 따른 가공처리수의 식품소재로서의 이용 방안에 대해 살펴보고자 하였다.

#### 단백질 분자량 분포(SDS-PAGE)

넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알의 ISP 공정을 통해 발생하는 IPWs의 SDS-PAGE에 의한 단백질분자량 분포는 Fig. 1에 나타내었다. 넙치(BH) 알의 단백질분포(Lane 1)는 75-50 K 범위에서 3개, 50-25 K 범위에서 3개 그리고 15-10 K 범위에서 2개의 단백질밴드가 관찰되었다. ISP 공정을 통해 발생한 IPWs 중에서 IPW-1 (Lane 2)과 IPW-2 (Lane 4)는 각각 pH 11과 12에서 알칼리 가용화 과정을 거친 후, pH 4.5에서 산 침전과정을 거쳐 분리단백질을 회수한 다음 발생한 가공처리수로서, 이들 IPW 간에는 단백질 밴드의 분포에는 거의 차이가 없는 것으로 확인 되었으며, 37 K 부근에 희미한 단백질 밴드와 15 K 부근에서 하나의 단백질 밴드가 관찰되었다. 한편 IPW-3 (Lane 3)과 IPW-4 (Lane 5)의 경우, pH 5.5에서 산 침전

과정을 거쳐 생킨 가공처리수로서, 37-25 K 범위, 15 K 부근에서 하나의 밴드 그리고 15 K 이하에서 진한 단백질 분포가 관찰되었으며, 이들 IPW 간에는 단백질 분포에 있어서 차이가 확인 되지 않았다.

가다랑어(ST) 알(Lane 6)의 경우, 250-100 K 범위에서 단백질의 분포가 확인되었으나 밴드를 형성하지는 않았으며, 75 K 부근에서 뚜렷한 2개의 밴드, 37 K, 25 K 및 15 K 부근에서 그리고 15-10 K에서도 하나의 밴드가 관찰되었다. 가다랑어(ST)의 IPWs 중에서 Lane 7 (pH 11/4.5)는 15-10 K사이의 하나의 밴드와 10 K 미만의 단백질 밴드만이 관찰될 뿐이었으나, Lane 9 (pH 12/4.5)의 경우, 50-37 K범위에서 희미한 하나의 밴드, 37-25 K 범위, 25 K 부근, 15 K 부근, 15-10 K 사이에 각각 하나의 밴드 그리고 10 K 미만의 분자량을 가지는 단백질의 분포가 확인되었다. 그리고 Lane 8 (pH 11/5.5)과 Lane 10 (pH 12/5.5)은 단백질밴드의 분포는 거의 유사하였으나, Lane 8의 15-10 K 사이에 분포하는 단백질밴드에 차이가 관찰되었다. 한편, 황다랑어(YT) 알(Lane 11)은 가다랑어 알(Lane 6)과 유사한 단백질밴드의 분포가 확인되었으나, 37 K 부근에서 2개의 단백질밴드가 관찰된 것에 차이가 있었다. pH 4.5에서 산 침전과정을 거친 IPW-1 (Lane 12, pH 11/4.5) 및 IPW-3 (Lane 14, pH 12/4.5) 그리고 pH 5.5에서 산 침전과정을 거친 IPW-2 (Lane 13, pH 11/5.5) 및 IPW-4 (Lane 15, pH 12/5.5)는 상호 유사한 단백질 분포를 보였으며, Lane 13과 15가 Lane 12와 14에 비하여 15-10 K 범위의 단백질밴드가 진하게 보임으로써 이 분자량 범위의 단백질이 다량 분포하고 있음이 확인 되었다. 이상의 SDS-PAGE에 따른 어류 알의 단백질의 분자량분포는 어종 간의 차이가 있었으나, 등전점 용해/침전 공정에 의해 생킨 IPWs에는 공통적으로 15 K 이하의 저 분자량의 단백질 성분이 다량 분포하고 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 단백질의 하전 특성을 이용한 ISP 공정을 통해 어류 알로부터 분리단백질의 회수가 가능하였으며, 아울러 IPWs의 단백질 분포를 관찰함으로써 단백질의 분자량에 따른 분획효과도 확인되었다. 넙치(Lane 1), 가다랑어(Lane 6) 및 황다랑어(Lane 11) 알의 100-75 K 범위에서 관찰된 단백질 밴드는 skipjack, tongol 및 bonito roes 그리고 egg yolk에서 확인된 97 K의 단백질 분자량을 갖는 vitellin like protein, 50-37K 범위와 15 K 부근의 단백질 밴드는 각각 actin, troponin-T 및 myosin light chain (MLC)으로 추정되었으며(Intarasirisawat et al., 2011), 15 K 이하의 단백질밴드는 ISP 공정의 가공처리수로 유리된 가용성 단백질일 것으로 판단되었다. 따라서 15 K 이하의 저분자량의 가용성 단백질이 분포하는 것이 관찰된 IPWs에는 거품성 및 유화능과 같은 식품기능성이 기대되었다.

### 거품 형성능

Table 2는 넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알 분리단백질의 회수과정 중에 발생한 IPWs의 식품기능성으로

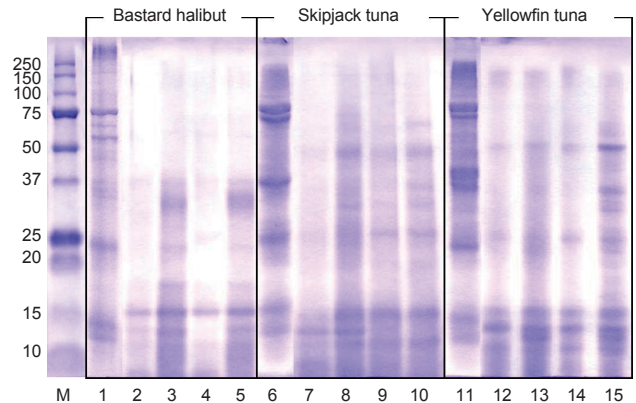


Fig. 1. SDS-PAGE pattern of isolate processed waters obtained from fish roe during isoelectric solubilization and precipitation (ISP) process. M, molecular weight maker; Lane 1, 6 and 11 for fish roes; Lane 2, 7 and 12 for IPW-1; Lane 3, 8 and 13 for IPW-2; Lane 4, 9 and 14 for IPW-3; Lane 5, 10 and 15 for IPW-4. IPW-1 and IPW-2, isolate processed water adjusting pH 4.5 and 5.5, respectively, after alkaline solubilization at pH 11; IPW-3 and IPW-4, isolate processed water adjusting pH 4.5 and 5.5, respectively, after alkaline solubilization at pH 12.

서 거품 및 유화 형성능에 대한 결과를 나타낸 것이다. 거품성 (FC, foaming capacity)의 경우, BH와 ST의 IPW-3 (각각 155 및 194%) 그리고 YT의 IPW-4 (164%)로서 각 시료별 IPW에서 가장 높은 거품형성능을 나타내었으며, 동일 시료내의 처리방법에 따른 유의적인 차이가 인정 되었다(P<0.05). 이러한 차이는 IPW의 단백질 농도에 기인 하지만, 본 실험 결과 단백질 농도에 의존적으로 거품 형성능이 유의적인 증가를 나타내지는 않았다(Yoon et al., 2017). 전반적으로 ST의 IPWs (119-194%)가 BH (125-155%)와 YT의 IPWs (107-163%)에 비하여 거품성이 우수한 경향을 나타내었다. 또한 어류 알로부터 pH 12에서의 알칼리 가용화를 거친 IPW-3 및 IPW-4가 상대적으로 거품 형성능이 우수한 경향을 보였으며, 이어서 진행되는 어류 알 분리단백질을 회수하는 산 침전과정에서는 BH와 ST는 pH 4.5에서, 그리고 YT는 pH 5.5에서 거품성이 유의적으로 우수한 결과를 나타내어, 어종간의 차이도 일부 인정되었다.

한편, 거품형성 후, 60분까지 거품 안정성(FS, foam stability)에 있어서는 먼저 BH의 IPW-1과 4가 각각 45%와 24%의 거품이 유지되었으며, YT의 IPW-2와 4가 각각 38% 및 67%의 거품 안정성인 인정된 반면에 ST의 경우, IPW-4에서만 30분간의 거품이 유지되었을 뿐이었다. Yoon et al. (2017)은 어류 알 지속 가공처리수는 단백질농도가 높을수록 거품성이 우수하며, 시료중의 단백질 농도가 식품기능성으로서 거품성에 있어 중요한 인자라고 보고하였다. 그러나 이 실험의 결과의 IPWs에서는 단백질 농도에 따른 거품성의 유의적인 차이는 인정되지 않았으

며, 이는 단백질 하전(charge)에 따른 기포성 및 용해도 특성을 이용한 등전점 가용화/침전 공정을 통해 발생한 IPWs는 시료로부터 유리 및 용해되는 자숙 가공처리수와는 다른 아미노산 및 단백질 조성에 기인하는 것으로 판단되었다. Intarasirisawat et al. (2012)은 탈지 skipjack roe의 단백질 가수분해물이 효소 작용으로 인한 단백질의 저분자화로 용해도가 증가하여 거품성이 개선되었다고 하였으며, Chalamaiah et al. (2015)은 carp roe protein의 효소 가수분해물은 소수성 (hydrophobic) 아미노산의 증가로 인해 물-공기 계면에서 급속히 흡착되어 거품성이 개선된다고 보고한 바 있다. 따라서 저분자량의 단백질 및 peptides가 많이 분포하는 것으로 확인된 IPWs에는 이상의 연구보고에 언급된 어류 알 단백질 가수분해물에 준하는 거품형성능을 나타내는 것이 확인되었다. 거품이 형성되는 동안, 새로 생성된 공기-액상 계면(interface)에 신속히 흡착되는 단백질들은 계면에서 단백질의 되풀림(unfolding) 및 단백질분자의 재배치를 거치게 되어, 거품형성능이 향상된다(Damodaran, 1997). 따라서 이 연구의 pH 조절에 의한 등전점 용해 및 침전공정으로 인해 구성 단백질의 하전에 변화가 일어나 단백질의 되풀림 및 단백질분자의 재배치가 일어나게 되어, 침전단백질이 회수되고 남은 IPWs에는 저분자의 peptide들이 다량 함유되어 있어 식품기능성으로서 거품형성능이 우수한 것으로 판단되었다.

### 유화 형성능

유화 형성능(emulsifying activity)은 water-oil 계면에서 단백질이 oil을 흡착하여 emulsion을 형성하는 능력이며, 유화 안정성(emulsion stability)은 형성된 emulsion이 일정시간 동안 emulsion을 유지시키는 능력으로 정의된다(Can Karaca et al., 2011). 이러한 유화성(EAI, emulsifying activity index) 및 유화안정성(ESI, emulsion stability index)에 있어서(Table 2), 먼저 BH의 경우, IPWs의 유화성(EAI, m<sup>2</sup>/g)은 pH 5.5에서 산 침전과정을 거친 IPW-2와 IPW-4가 각각 19.13 및 17.44로서 상호간에는 유의적인 차이가 없었으나(P>0.05), pH 4.5에서 산 침전과정을 거친 IPW-1 및 IPW-3과는 유의적인 차이를 나타내었다(P<0.05). ST의 경우, IPW-3과 IPW-4의 유화성은 각각 26.05 및 28.64 m<sup>2</sup>/g로서 IPW-1과 IPW-2에 비하여 유화성이 유의적으로 우수하였으나(P<0.05), YT의 경우는 IPW-1과 IPW-2의 유화성이 IPW-3과 4에 비하여 유의적으로 높은 유화성을 나타내어, 어종간의 차이가 인정되었다. 전반적으로 IPWs의 유화성은 YT (26.84-43.09 m<sup>2</sup>/g)가 가장 우수하였으며, ST 그리고 BT의 순이었다. 이상의 결과는 어류 알 추출물(45-107 m<sup>2</sup>/g)과 자숙 가공처리수(15-47 m<sup>2</sup>/g)에 비하여 IPW의 유화성이 유사하거나 다소 낮은 수준임을 확인 할 수 있었다(Yoon et al., 2017).

한편, 생성된 emulsion이 유지되는 시간으로 나타난 유화안정성(ESI, min)은 YT의 IPWs가 12-18 min, ST가 12-15 min 그리고 BH가 12-14 min으로 어종간의 유화안정성에는 거의 차이가 없었다. 분자량이 상대적으로 큰 peptide가 존재하거나 소수성 peptide의 함량이 높을수록 emulsion의 안정성에 기여하게 되며, 균질화 과정에서 새로 형성된 oil 방울의 표면에 peptide가 흡착됨으로서, oil 방울끼리의 결합을 방지하는 보호

Table 2. Foam capacity (FC), foam stability (FS), emulsifying activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of isolate process water (IPW) obtained from fish roe by ISP process (Sample)

Sample	Protein <sup>1</sup> (mg/mL)	FC (%)	FS (%) 30 min	FS (%) 60 min	EAI (m <sup>2</sup> /g)	ESI (min)	
BH	IPW-1	5.39	133.70±2.03 <sup>b</sup>	73.29±1.81	45.08±5.08	9.71±1.00 <sup>b</sup>	12.21±0.15
	IPW-2	5.36	124.84±4.89 <sup>b</sup>	25.65±6.69	-	19.13±1.20 <sup>a</sup>	13.58±0.19
	IPW-3	4.98	155.28±13.79 <sup>a</sup>	-	-	9.64±1.35 <sup>b</sup>	11.90±0.46
	IPW-4	5.27	124.74±0.00 <sup>b</sup>	43.44±6.47	24.40±3.84	17.44±1.65 <sup>a</sup>	14.00±0.72
ST	IPW-1	3.59	121.59±4.46 <sup>c</sup>	-	-	6.76±0.68 <sup>c</sup>	15.05±0.23
	IPW-2	5.12	145.53±0.00 <sup>b</sup>	-	-	15.82±0.85 <sup>b</sup>	11.97±0.27
	IPW-3	3.63	194.19±0.86 <sup>a</sup>	-	-	26.05±1.18 <sup>a</sup>	14.02±1.06
	IPW-4	3.15	119.06±0.31 <sup>c</sup>	91.02±6.11	-	28.64±1.61 <sup>a</sup>	12.28±0.58
YT	IPW-1	2.66	106.98±0.80 <sup>c</sup>	-	-	31.36±1.74 <sup>b</sup>	18.15±0.90
	IPW-2	2.83	122.27±3.49 <sup>b</sup>	56.21±0.06	37.96±6.14	43.09±1.79 <sup>a</sup>	13.52±1.14
	IPW-3	2.92	120.29±3.15 <sup>b</sup>	-	-	28.34±0.84 <sup>c</sup>	12.24±0.21
	IPW-4	3.54	163.85±3.49 <sup>a</sup>	74.10±2.63	66.68±2.92	26.84±0.68 <sup>c</sup>	15.65±0.51

<sup>1</sup>Based on Lowry method (1951). Values represent the mean±SD of n=3. Means with different small letters within same column in each sample are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; IPW-1 and IPW-2, isolate processed water adjusting pH 4.5 and 5.5, respectively, after alkaline solubilization at pH 11; IPW-3 and IPW-4, isolate processed water adjusting pH 4.5 and 5.5, respectively, after alkaline solubilization at pH 12. '-', not detected.

막들이 만들어지면서 emulsion의 형성이 이루어진다(Dickinson and Lorient 1994). 또한, 저 분자량의 peptides는 양친매성(amphipathic)이 아니라도 좋은 유화 특성을 나타낼 수 있어(Chobert et al., 1988), 이 연구의 IPWs 중에는 저분자 단백질, peptide 및 아미노산의 하전(charge)과 관련된 친수성 및 소수성의 작용기에 의해 수중 유적형의 emulsion이 생성되는 것으로 추정되었다.

### 항산화 활성

Table 3은 넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알 분리단백질의 제조과정 중에 발생하는 IPWs의 산업적 이용 가능성을 알아보기 위하여 살펴본 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성에 대한 결과를 나타낸 것이다.

먼저 DPPH 라디칼 소거 활성(DPPH, mg/mL)의 경우, IPWs의 IC<sub>50</sub> 값은 먼저 BH는 0.22-1.18 mg/mL의 범위였으며, ST는 0.13-0.44 mg/mL의 범위, 그리고 YT는 0.10-1.43 mg/mL 범위로서, ST의 IPWs가 상대적으로 우수한 소거활성을 보였다. 어종 별 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타낸 IPW

는 BH가 IPW-3 (0.22 mg/mL), ST는 IPW-1 (0.13 mg/mL) 그리고 YT는 IPW-3 (0.10 mg/mL) 이었다. 그리고 세 어종의 IPWs 모두 IPW-1과 3이 DPPH 라디칼 소거활성이 유의적으로 높은 것으로 확인되었다(P<0.05). 붉은 대게 자숙수(Kang et al., 2007), yellow stripe trevally (Klompong et al., 2007) 및 sardinella (Bougatef et al., 2010) byproducts 및 rohu roe (Chalamaiah et al., 2013)의 단백질 가수분해물의 DPPH 소거활성(IC<sub>50</sub>)은 0.5-1.0 mg/mL 수준으로 이 실험의 결과와 비교하여 유사하거나 오히려 낮은 소거활성을 나타내어, IPWs의 DPPH 소거활성이 효소처리 가수분해물 보다 우수하였다.

한편, ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성(ABTS<sup>+</sup>, mg/mL)에 있어서는 DPPH 라디칼 소거 활성과는 달리 세 어종의 IPWs 모두 IPW-2와 4가 IPW-1 및 3에 비하여 유의적으로 강력한 소거활성을 나타내었다(P<0.05). 항산화 활성에 있어서 IC<sub>50</sub>값으로 살펴본 IPWs는 ABTS<sup>+</sup> 라디칼이 DPPH 라디칼에 비하여 상대적으로 민감하게 반응하는 것으로 확인되었다. Li et al. (2012)의 보고에 따르면, grass carp 가수분해물의 ABTS<sup>+</sup> 소거활성이 DPPH의 소거 활성 비해 강하다고 하였으며, zein (Tang et al., 2010)와 rohu roe (Chalamaiah et al., 2013)의 가수분해물의 결과에서도 유사한 결과를 나타내었다. 이상의 결과와 연구보고에서 라디칼 소거 활성은 효소 가수분해물이나 가공처리수에 존재하는 아미노산 소수성, 조성 및 서열과 밀접한 관련이 있다고 판단되었다(Bougatef et al., 2010; Chalamaiah et al., 2013).

Table 4는 넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT)의 IPWs에 대한 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성(Table 3) 결과에 비추어 IPW-1 (pH 11/4.5)과 IPW-3 (pH 12/4.5)을 대상으로 환원력(Reducing power)과 SOD 유사활성에 대한 결과를 나타낸 것이다. 먼저 환원력(EC<sub>50</sub>, mg/mL)에 있어서는 BH의 IPW-3 (0.41 mg/mL)이 가장 강력한 환원력을 나타내었고 ST의 IPW-3 (0.51 mg/mL) 그리고 IPW-1 (0.60 mg/mL) 순이었으며, YT가 BH 및 ST에 비하여 약한 환원력을 보였다(P<0.05). SOD 유사활성(IC<sub>50</sub>, mg/mL)에 있어서는 BH의 IPW-3 (1.15 mg/mL)이 가장 강한 활성을 보였고, 이어서 YT의 IPW-1 (1.68 mg/mL) 그리고 ST의 IPW-1 (1.94 mg/mL)의 순이었다. 이상 IPWs의 항산화 활성은 ABTS<sup>+</sup> 라디칼에 대해 가장 민감하게 반응하였으며, 다음으로 DPPH, 환원력 그리고 SOD 유사활성 순이었다. Yoon et al. (2017)은 어류 알 자숙 가공처리수의 항산화 활성 관련 연구에서 ABTS<sup>+</sup> 라디칼, 환원력, DPPH 라디칼 그리고 SOD 유사활성 순으로 예민하게 반응한다고 보고한 바 있어, 어류 알 가공처리 방법(가열처리 및 산/알칼리처리)간에 차이가 있지만, 이들 가공처리수는 유사한 항산화 활성의 경향을 나타내었다. 따라서 어류 알로부터 등전점 가용화/침전 공정을 통해 분리단백질을 회수하는 과정에 발생하는 가공처리수는 다양한 항산화 활성을 나타냄으로써, 산업적 응용 가능성을 기대할 수 있을 것으로 판단되었다.

Table 3. DPPH and ABTS radical scavenging activities of isolate processed waters (IPWs) obtained from fish roe by ISP process (Sample)

Sample	Protein <sup>1</sup> (mg/mL)	DPPH (IC <sub>50</sub> , mg/mL)	ABTS (IC <sub>50</sub> , mg/mL)
BH	IPW-1	1.97	0.34 <sup>b</sup>
	IPW-2	2.17	1.54 <sup>d</sup>
	IPW-3	1.86	0.22 <sup>a</sup>
	IPW-4	1.97	1.18 <sup>c</sup>
ST	IPW-1	1.56	0.13 <sup>a</sup>
	IPW-2	2.01	0.28 <sup>c</sup>
	IPW-3	1.68	0.16 <sup>b</sup>
	IPW-4	3.15	0.44 <sup>d</sup>
YT	IPW-1	2.66	0.59 <sup>c</sup>
	IPW-2	2.83	1.43 <sup>d</sup>
	IPW-3	2.92	0.10 <sup>a</sup>
	IPW-4	1.40	0.37 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Based on Lowry method (1951). Values represent the means of n=3. Means with different small letters within same column in each sample are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; ABTS, 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; IPW-1 and IPW-2, isolate processed water adjusting pH 4.5 and 5.5, respectively, after alkaline solubilization at pH11; IPW-3 and IPW-4, isolate processed water adjusting pH 4.5 and 5.5, respectively, after alkaline solubilization at pH 12.



Table 4. Reducing power and SOD-like activities of isolate processed waters (IPWs) obtained from fish roe by ISP process (Total)

Sample		Protein <sup>1</sup> (mg/mL)	Reducing power (EC <sub>50</sub> , mg/mL)	SOD (IC <sub>50</sub> , mg/mL)
BH	IPW-1	1.97	0.79 <sup>e</sup>	2.88 <sup>d</sup>
	IPW-3	1.86	0.41 <sup>a</sup>	1.15 <sup>a</sup>
ST	IPW-1	1.56	0.60 <sup>c</sup>	1.94 <sup>c</sup>
	IPW-3	1.68	0.51 <sup>b</sup>	2.95 <sup>d</sup>
YT	IPW-1	2.66	0.72 <sup>d</sup>	1.68 <sup>b</sup>
	IPW-3	2.92	0.85 <sup>f</sup>	2.91 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>Based on Lowry method (1951). Values represent the means of n=3. Means with different small letters within the same column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. SOD, superoxide dismutase. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; IPW-1 and IPW-3, isolate process waters adjusting pH 4.5 after alkaline solubilization at pH 11 and 12, respectively

### Tyrosinase 및 ACE 저해활성

식품기능성 및 항산화성에 대한 이상의 결과를 토대로 넙치 (BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알의 IPW-3에 대하여 tyrosinase 저해활성(%)으로 살펴 본 미백효과와 ACE 저해활성(IC<sub>50</sub>, mg/mL)으로 살펴 본 항고혈압 효과에 대한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 태양광 노출은 keratinocytes에 의한 멜라닌 생성 인자의 방출을 유도하여 과잉 색소 침착을 유발하는 tyrosinase 합성을 자극하게 되어(Chlapanidas et al., 2013), 태양광의 자외선으로 인해 활성산소종(ROS, reactive oxygen species)을 발생 시킴으로서 피부의 색소침착에 영향을 주게 된다(Masaki, 2010). 최근 tyrosinase inhibitors는 색소침착의 제어 및 억제와 관련한 의약 및 화장품 분야에 관심이 증가하고 있다(Schurink et al., 2007). IPW-3의 tyrosinase 저해활성(%)은 각각 14.58 (BH), 15.28 (ST) 그리고 20.83% (YT)로서 YT가 가장 강한 저해활성을 나타내었다(Fig. 2 top). Yoon et al. (2017)은 어류 알 추출물의 tyrosinase 저해활성은 7.5-14.2% 수준이었으나, 가열처리 공정을 통해 얻어진 자숙 가공처리수의 경우는 0.4-2.5% 수준의 저해활성만을 나타내어 가열처리에 의한 단백질 성분의 응고 및 변성으로 인해 저해활성이 감소하였다고 보고하였다. Choi et al. (2011)은 참치 자숙 가공처리수의 tyrosinase 저해활성은 31.5% 수준이며, 감마선 조사를 통해 저해활성이 증가한다고 하였다. 또한 아임계수로 가수분해한 멸치가수분해물의 tyrosinase 저해활성은 14.7%라고 하여 (Choi et al., 2017), 이 실험의 IPW-3의 tyrosinase 저해활성은 어류 알 추출물 및 자숙 가공처리수 그리고 아임계수 멸치 가수분해물에 비하여는 유사한 수준이거나 우수한 반면에, 참치 자숙액에 비하여는 낮은 수준의 저해활성을 보였다. 이상의 결과

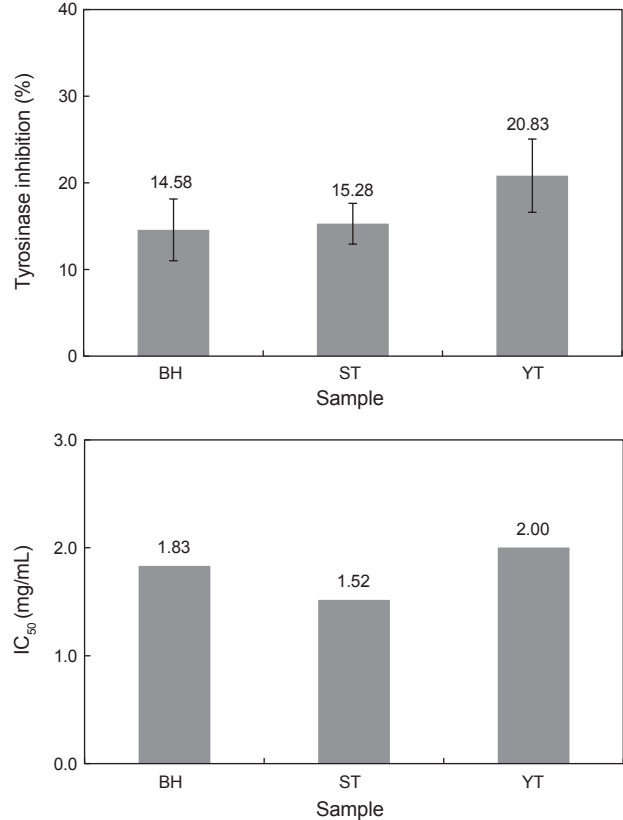


Fig. 2. Tyrosinase (top) and ACE inhibitory activity (bottom) of isolate process water (IPW-3) obtained from fish roe by ISP process. IPW-3 of isolate processed waters adjusting pH 4.5 after alkaline solubilization at pH 12. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*. Values represent the means of n=3. Means with different small letters within the sample are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

와 연구보고를 통해 저 분자량의 단백질, peptide 또는 아미노산을 함유하는 가공처리수의 단백질성분이 tyrosinase 저해활성을 나타낸다는 것은 인정되었으나, 그 저해활성은 강하지 않은 것으로 확인(30% 미만)되어 tyrosinase 저해를 통한 미백효과는 기대하기 어려울 것으로 판단되었다.

한편, IPW-3의 ACE 저해활성(IC<sub>50</sub>, mg/mL)으로 살펴 본 항고혈압 효과(Fig. 2 bottom)는 각각 1.83 (BH), 1.52 (ST) 그리고 2.00 mg/mL (YT)이었으며, ST가 BH 및 YT에 비하여 상대적으로 우수한 ACE 저해활성을 나타내었다. Yoon et al. (2017)에 따르면, 어류 알 추출물의 ACE 저해활성은 IC<sub>50</sub>값이 1.14-1.63 mg/mL수준이라고 하였으며, 이들 자숙 가공처리수는 1.04-1.31 mg/mL로서 가열 처리에 따른 ACE 저해활성에는 차이가 거의 없었다고 보고하였다. 또한 이 실험과 관련한 수산가공 자숙수의 ACE 저해활성에 관한 보고에서, 가

다랑어, 문어 및 굴 자숙수에는 거의 저해활성을 나타내지 않은(Oh et al., 2007) 반면에, 가다랑어와 황다랑어 자숙수(Yeo et al., 1998) 및 멸치 자숙수(Ji et al., 2002)의 chromatography active fraction에는 0.62-1.00 mg/mL의 저해활성을 나타내어, 가공처리수의 분획 및 정제과정을 통해 ACE 저해활성이 개선된다고 하였다. ACE 제어와 관련한 천연의 peptide에 대한 현재의 연구는 수산식품의 가식부 자원에서 수산가공 부산물의 단백질 자원으로 그 연구범위가 확대 되었다. 이러한 수산가공 부산물의 단백질자원인 yellow sole frame (Jung et al., 2006), Pacific cod skin (Himaya et al., 2012) 그리고 skipjack roe (Intarasirisawat et al., 2013)의 효소 가수분해물들은 35-86%의 ACE 저해활성을 나타내었다. 또한 다양한 효소를 이용한 굴 가수분해물은 1.5-16.3 mg/mL (IC<sub>50</sub>) 수준의 저해활성을 보였으며, 특히 Protamex 가수분해물이 가장 우수하다고 보고하였다 (Chung et al., 2006). 붉은 대게 자숙수(Kang et al., 2007)에 대한 효소 가수분해물의 ACE 저해능(IC<sub>50</sub>)은 1.4-1.7 mg/mL 수준이었다. 이 실험결과와 연구보고를 통해, 어류 알 가공처리수(IPW)의 ACE 저해활성은 연구보고들의 가수분해물과 활성획분 보다 강하거나 유사한 활성을 나타내었다.

아미노산 조성

어류 알의 등전점 용해/침전 공정에서 발생하는 IPW-3s의 아미노산 조성에 대한 분석결과는 Table 5에 나타내었다. 이 표에는 어류 알 100 g에 대하여 IPW-3의 총 단백질 함량(mg/100 g protein)과 각 아미노산 조성비(g/100 g protein)를 제시하여, 총 단백질 함량에 각 아미노산의 조성비를 곱하면, 각각의 아미노산함량도 환산 할 수 있도록 나타내었다. 먼저 어류 알 IPW-3의 총 단백질함량은 100 g의 어류 알에 대하여 각각 BH가 3,058.3 mg, ST가 1,987.6 mg 그리고 Y, 1,587.2 mg으로 어중에 따른 유의적인 차이를 보였다(P<0.05). 이들 어종의 추출물(2750.4-3594.4 mg)에 비하여는 다소 낮은 수준이었으나, 자숙가공처리수(712.9-1490.4 mg/100 g)에 비하여는 높은 아미노산 함량을 나타내었다(Yoon et al., 2017). 유리아미노산인 Tau의 조성비는 BH (5.85%)와 Y (5.79%)간에는 유의적인 차이가 없었으나(P>0.05), ST (5.34%)와는 유의적인 차이를 보였다(P<0.05). 그러나 각각 아미노산 조성비에 총 단백질함량을 곱한 절대적인 함량은 세 어종 모두 유의적인 차이를 나타내었다(P<0.05).

어류 알 IPW-3의 주요 아미노산(6%이상)의 경우, BH는 필수 아미노산에서 Val, Leu Lys 및 Arg, 그리고 비필수 아미노산에서는 Asp, Ser Glu 및 Ala 이었으나, ST와 Y는 필수아미노산에서 Val, Leu, His, Lys 및 Arg, 그리고 비필수 아미노산에서는 Ser, Glu 및 Ala으로 백색육 어류인 넙치(BH)와 혈합육 어류인 가다랑어 (ST) 및 황다랑어 (Y) 간에는 주요 아미노산으로서 His 및 Asp의 조성에 있어서 두드러진 차이가 있음이 확인 되었다. Tau를 제외한 필수와 비필수 아미노산의 비(EAA/NEAA)

Table 5. Amino acid compositions (%) of isolate processed waters (IPW-3) produced from the protein isolates preparation of fish roes by ISP process

Protein (mg/100 g of roe)	BH	ST	YT
	3058.3 <sup>a</sup>	1987.6 <sup>b</sup>	1587.2 <sup>c</sup>
Tau <sup>1</sup>	5.85 <sup>a</sup>	5.34 <sup>b</sup>	5.79 <sup>a</sup>
Thr	3.89 <sup>b</sup>	4.03 <sup>a</sup>	4.03 <sup>a</sup>
Val <sup>2</sup>	6.64 <sup>a</sup>	6.23 <sup>b</sup>	6.13 <sup>b</sup>
Met <sup>2</sup>	1.83 <sup>c</sup>	2.56 <sup>a</sup>	2.33 <sup>b</sup>
ILe <sup>2</sup>	4.00 <sup>b</sup>	4.71 <sup>a</sup>	3.48 <sup>c</sup>
Leu <sup>2</sup>	7.61 <sup>b</sup>	9.00 <sup>a</sup>	7.17 <sup>c</sup>
Phe <sup>2</sup>	3.61 <sup>b</sup>	3.91 <sup>a</sup>	3.62 <sup>b</sup>
His	2.81 <sup>b</sup>	9.36 <sup>a</sup>	7.80 <sup>b</sup>
Lys	10.32 <sup>a</sup>	7.66 <sup>c</sup>	8.54 <sup>b</sup>
Arg	7.33 <sup>b</sup>	6.47 <sup>c</sup>	7.59 <sup>a</sup>
EAA (%)	48.03 <sup>c</sup>	53.93 <sup>a</sup>	50.69 <sup>b</sup>
Asp	6.29 <sup>a</sup>	5.16 <sup>b</sup>	4.24 <sup>c</sup>
Ser	11.79 <sup>a</sup>	9.56 <sup>b</sup>	7.44 <sup>c</sup>
Glu	7.78 <sup>c</sup>	8.73 <sup>b</sup>	11.46 <sup>a</sup>
Pro <sup>2</sup>	1.13 <sup>c</sup>	1.26 <sup>b</sup>	1.66 <sup>a</sup>
Gly <sup>2</sup>	4.39 <sup>a</sup>	3.17 <sup>b</sup>	4.29 <sup>a</sup>
Ala <sup>2</sup>	9.17 <sup>b</sup>	8.32 <sup>c</sup>	9.70 <sup>a</sup>
Cys	0.96 <sup>a</sup>	0.83 <sup>b</sup>	0.96 <sup>a</sup>
Tyr	4.60 <sup>a</sup>	3.69 <sup>b</sup>	3.78 <sup>b</sup>
NEAA (%)	46.12 <sup>a</sup>	40.73 <sup>c</sup>	43.52 <sup>b</sup>
Total (%)	100.00	100.00	100.00
EAA/NEAA	1.04 <sup>c</sup>	1.32 <sup>a</sup>	1.16 <sup>b</sup>
HAA (%)	38.37 <sup>b</sup>	39.17 <sup>a</sup>	38.38 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Free amino acid. <sup>2</sup>Hydrophobic acids. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*. EAA, essential amino acids; NEAA, non-essential amino acids; HAA, hydrophobic amino acid. Values are means of duplicate determination. Means with different letters within the same row are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

에 있어서, IPW-3s는 각각 1.04 (BH), 1.32 (ST) 그리고 1.16 (YT)로서 ST가 가장 높은 비율을 보였다. 넙치 알 추출물의 필수와 비필수 아미노산의 비(1.01)는 이 실험결과와 유사한 반면에 가다랑어(1.58) 및 황다랑어(1.50)와는 차이가 있었다(Yoon et al., 2017). 이러한 등전점 용해/침전 공정을 통해 발생한 가공처리수 IPW-3의 필수 및 비필수 아미노산 비의 감소는 필수 아미노산이 상대적으로 비필수 아미노산에 비해 많이 어류 알 분리단백질로 이행하여 회수되었음을 의미하였다. Cho et al. (2000)는 오징어 탈피 수세수는 Ile, Leu, Tau, Asp, Glu, Pro 및

Ala이 그리고 자숙수에는 Ile, Leu, Tau, Pro 및 Ala이 주요 유리아미노산이라고 하였으며, Oh et al. (2007)은 가다랑어, 굴과 문어 자숙수의 주요 아미노산조성(6% 이상)은 가다랑어는 His, Lys, Arg, Asp, Glu, Pro, Gly, Ala이며, 굴은 His, Lys, Arg, Asp, Glu, 및 Pro, 문어는 Arg, Asp, Glu, Pro, Gly 및 Ala이라고 하였다. 또한 붉은 대게 자숙수는 Phe, Lys, Arg, Asp, Glu, Pro 및 Gly이 주요 아미노산이라고 하였다(Kang et al., 2007). 이상의 결과와 연구보고에서 원료 및 가공처리수간에도 아미노산조성의 차이가 확인되었으며, 이들 가공처리수에는 공통적으로 Leu, Asp, Glu 및 Ala의 조성비가 높은 것으로 나타났다(Yoon et al., 2017).

한편, 맛, 용해도, 거품성 및 유화능과 같은 식품기능성에 영향을 주는 IPW-3의 소수성 아미노산조성은 각각 38.37% (BH), 39.17% (ST) 그리고 38.38% (YT)를 차지하여, ST와 BH 및 YT 간에는 유의적인 차이가 있었다( $P < 0.05$ ). 이는 어류 알 추출물(41.75-53.92%)과 자숙 가공처리수(41.73-56.40%)에 비하여(Yoon et al., 2017)는 낮은 수준으로 등전점 용해/침전 공정을 통한 소수성 아미노산이 분리단백질로 이행되었거나, 친수성 아미노산이 IPW로 이행되었음을 의미하였다. 단백질 자원으로 이러한 아미노산 조성에서의 차이가 식품기능성, 항산화 특성 그리고 ACE 저해활성에도 영향을 미치며, 소수성 및 친수성 아미노산은 수중 유적형 emulsion의 계면활성제로서 작용하여 emulsion의 안정성에 기여하게 된다. 특히 소수성 아미노산(Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe 및 Met)은 강한 항산화 활성에 기여하는 아미노산들이다(Li et al., 2004). Gomez-Ruiz et al. (2008)은 ABTS<sup>+</sup> 라디칼과의 반응성이 뛰어난 아미노산들은 Cys, Trp, Tyr 및 His 등이며, 이들 아미노산을 함유하는 peptides도 강한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성을 나타낸다고 하였다. 또한 Li et al. (2004)는 peptide 서열 내에 친수성 아미노산 잔기가 ACE 활성 부위로의 접근을 방해하여 ACE 제어 활성에 영향을 줄 수 있으며, 아미노산 서열의 C-말단에 Tyr, Phe, Trp, Ala, Gly 및 Pro과 같은 아미노산의 존재가 강한 ACE 저해활성에 기여하는(Mahmoodani et al., 2014) 반면에 Val, Pro, Tyr, Leu, Ala, Lys, 및 Met과 같은 소수성 아미노산은 항산화 peptide에 강한 영향을 미친다고 하였다(Wiriyaphan et al., 2012). 이상의 식품기능성 및 항산화 특성 및 ACE 저해활성에 대한 실험결과와 연구보고에 따르면, 어류 알의 등전점 용해/침전공정에서 발생한 가공처리수는 수산식품 및 그 가공부산물의 가수분해물 보다 유사하거나 우수한 식품기능성 및 생리활성을 나타내어 그 효용성과 가치가 있음이 확인되었다. 따라서 식품가공을 위해 사용되는 가공처리수, 특히 수산물 기원의 가공처리수는 대량처리로 인해 유기성분 및 단백질 성분이 희석된 상태로 발생하지만, 이를 적절히 농축하거나 분획을 통하여 분말 소재화는 방안을 마련한다면, 식품기능성, 항산화 활성 및 생리활성을 강화 소재로서 이용 가능성이 매우 높다고 판단되었다.

## 사 사

이 논문은 2016년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구의 일부임(수산식품산업기술개발사업의 해역별 특성을 고려한 전통수산가공식품 개발 및 상품화). 이 연구는 2015년도 (재)약수학술진흥회 교수학술연구비 지원사업(C-D-2016-0006)에 의해 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

## References

- Afonso MD and Borquez R. 2002. Review of the treatment of seafood processing wastewaters and recovery of proteins therein by membrane separation processes- prospects of the ultrafiltration of wastewaters from the fish meal industry. *Desalination* 142, 29-45. [http://dx.doi.org/10.1016/S0011-9164\(01\)00423-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0011-9164(01)00423-4).
- Binsan W, Benjakul S, Visessanguan W, Roytrakul S, Tanaka M and Kishimura H. 2008. Antioxidative activity of Mun-goong, an extract paste, from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Food Chem* 106, 185-193. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.065>.
- Bliois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199-1200.
- Bougatef A, Nedjar-Arroume N, Manni L, Ravallec R, Barkia A, Guillochon D and Nasri M. 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chem* 118, 559-565. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.021>.
- Can Karaca A, Low N and Nickerson M. 2011. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Res Int* 44, 2742-2750. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>.
- Chalamaiah M, Hemalatha MD, Jyothirmayi T, Diwan PV, Bhaskarachary K, Vajreswari A, Ramesh Kumar R and Dinesh Kumar B. 2015. Chemical composition and immunomodulatory effects of enzymatic protein hydrolysates from common carp (*Cyprinus carpio*) egg. *Nutrition* 31, 388-398. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2014.08.006>.
- Chalamaiah M, Jyothirmayi T, Bhaskarachary K, Vajreswari A, Hemalatha R and Dinesh Kumar B. 2013. Chemical composition, molecular mass distribution and antioxidant capacity of rohu (*Labeo rohita*) roe (egg) protein hydrolysates prepared by gastrointestinal proteases. *Food Res Int* 52, 221-229. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.020>.
- Chen YC and Jaczynski J. 2007. Gelation of protein recovered from Antarctic krill (*Euphausia superba*) by isoelectric solubilization/precipitation as affected by function additives. *J Agric Food Chem* 55, 1814-1822. <http://dx.doi.org/10.1021/>

- jf0629944.
- Chlapanidas T, Farago S, Lucconi G, Perteghella S, Galuzzi M, Mantelli M and Torre ML. 2013. Sericins exhibit ROS-scavenging, anti-tyrosinase, anti-elastase, and in vitro immunomodulatory activities. *Int J Biol Macromol* 58, 47-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.054>.
- Cho SY, Joo DS, Park SH, Kang HJ and Jeon JK. 2000. Change of taurine content in squid meat during squid processing and taurine content in the squid processing waste water. *Korean J Fish Aquat Sci* 33, 51-54.
- Chobert JM, Bertrand-Harb C and Nicolus MG. 1988. Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *J Agric Food Chem* 36, 883-892. <http://dx.doi.org/10.1021/jf00083a002>.
- Choi JJ, Kim JH and Lee JW. 2011. Physiological properties of tuna cooking drip hydrolysate prepared with gamma irradiation. *Process Biochem* 46, 1875-1878. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.06.005>.
- Choi JS, Jang DB, Moon HE, Roh MK, Kim YD, Cho KK and Choi IS. 2017. Physiological properties of *Engraulis japonicus* muscle protein hydrolysates prepared by subcritical water hydrolysis. *J Environ Biol* 38, 283-289.
- Chung IK, Kim HS, Kang KT, Choi YJ, Choi JD, Kim JS and Heu MS. 2006. Preparation and functional properties of enzymatic oyster hydrolysates. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35, 919-925.
- Cushman DW and Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharm* 20, 1637-1648. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952\(71\)90292-9](http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952(71)90292-9).
- Damodaran S. 1997. Protein-stabilised foams and emulsions. In: *Food Proteins and Their Applications*. Damodaran S, ed. Marcel Dekker, New York, U.S.A., 57-110.
- Dickinson E, Lorient D. Emulsions. 1994. *Food macromolecules and colloids*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, London, U.K., 201-274.
- Dumay J, Radier S, Barnathan G, Berge JP and Jaouen P. 2008. Recovery of valuable soluble compounds from washing waters generated during small fatty pelagic surimi processing by membrane processes. *Environ Technol* 29, 451-461. <http://dx.doi.org/10.1080/09593330801983912>.
- Gomez-Ruiz JA, Lopez-Exposito I, Pihlanto A, Ramos M and Recio I. 2008. Antioxidant activity of ovine casein hydrolysates: identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *Eur Food Res Technol* 227, 1061-1067. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-008-0820-3>.
- Heu MS, Kim HS, Jung SC, Park CH, Park HJ, Yeum DM, Park HS, Kim CG and Kim JS. 2006. Food component characteristics of skipjack (*Katsuwonus pelamis*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) roes. *J Kor Fish Soc* 39, 1-8.
- Himaya SWA, Ngo DH, Ryu B and Kim SK. 2012. An active peptide purified from gastrointestinal enzyme hydrolysate of Pacific cod skin gelatin attenuates angiotensin-1 converting enzyme (ACE) activity and cellular oxidative stress. *Food Chem* 132, 1872-1882. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.020>.
- Hultin HO and Kelleher SD. 1999. Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition. Advanced Protein Technologies Inc., assignee. US Patent 6,005,073.
- Iida K, Hase K, Shimomura K, Sudo S, Kadota S and Namba T. 1995. Potent inhibitors of tyrosinase activity and melanin biosynthesis from *Rheum officinale*. *Planta Med* 61, 425-428. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-958129>.
- Intarasirisawat R, Benjakul S and Visessanguan W. 2012. Antioxidative and functional properties of protein hydrolysate from defatted skipjack (*Katsuwonus pelamis*) roe. *Food Chem* 135, 3039-3048. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.076>.
- Intarasirisawat R, Benjakul S and Visessanguan W. 2011. Chemical compositions of the roes from skipjack, tongol and bonito. *Food Chem* 124, 1328-1334. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.076>.
- Intarasirisawat R, Benjakul S, Wu J and Visessanguan W. 2013. Isolation of antioxidative and ACE inhibitory peptides from protein hydrolysate of skipjack (*Katsuwana pelamis*) roe. *J Funct Foods* 5, 1854-1862. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.09.006>.
- Ji CI, Lee JH, Park DC, Gu YS, Kim IS, Lee TG and Kim SB. 2002. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in peptic hydrolysates of cooking discards from anchovy factory ship. *Korean J Food Sci Technol* 34, 529-532.
- Jung W, Mendis E, Je J, Park P, Son BW, Kim HC, Choi YK and Kim S. 2006. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Food Chem* 94, 26-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.048>.
- Joh Y and Hood LF. 1979. Preparation and properties of dehydrated clam flavor from clam processing wash water. *J Food Sci* 44, 1612-1614.
- Kang KT, Heu MS and Kim JS. 2007. Improvement on the quality and functionality of red tanner crab cooking drip using commercial enzymes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36, 1022-1030.
- Kim IS, Heu MS, Lee JS, Kim PH, Cho ML, Ahn HJ, Shim HD and Kim JS. 2001c. Quality stability of powdered soup using powder from oyster wash water. *Appl Biol Chem* 44, 224-229.
- Kim JS and Heu MS. 2001a. Preparation of instant powdered soup using canned oyster processing waste water and its characteristics. *J Korean Fish Soc* 34, 285-290.
- Kim JS and Heu MS. 2001b. Preparation of instant powdered soup using oyster wash water and its characteristics. *Korean*

- J Food Sci Technol 33, 534-539.
- Klomklao S and Benjakul S. 2016. Utilization of tuna processing byproducts: Protein hydrolysate from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera. J Food Process Preserv 41, e12970. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12970>.
- Klompong V, Benjakul S, Kantachote D and Shahidi F. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. Food Chem 102, 1317-1327. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227, 680-685. <http://dx.doi.org/10.1038/227680a0>.
- Lee HJ, Park SH, Yoon IS, Lee GW, Kim JS and Heu MS. 2016a. Chemical composition of protein concentrate prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe by cook-dried process. Fish Aquat Sci 19:12. <http://dx.doi.org/10.1186/s41240-016-0012-1>.
- Lee HJ, Lee GW, Yoon IS, Park SH, Park SY, Kim JS, Heu MS. 2016b. Preparation and characterization of protein isolate from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe by isoelectric solubilization/precipitation process. Fish Aquat Sci 19, 14:1-10. <http://dx.doi.org/10.1186/S41240-016-0014-Z>.
- Li GH, Le G.W, Shi YH and Shrestha S. 2004. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. Nutr Res 24, 469-486. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2003.10.014>.
- Li X, Luo Y, Shen H and You J. 2012. Antioxidant activities and functional properties of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) protein hydrolysates. J Sci Food Agric 92, 292-298. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.4574>.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193, 265-275.
- Mahmoodani F, Ghassem M, Babji AS, Yusop SM and Khosrokhavar R. 2014. ACE inhibitory activity of pangasius catfish (*Pangasius sutchi*) skin and bone gelatin hydrolysate. J Food Sci Technol 51, 1847-1856. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-012-0742-8>.
- Mahmoud KA, Linder M, Fanni J and Parmentier M. 2008. Characterisation of the lipid fractions obtained by proteolytic and chemical extractions from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) roe. Process Biochem 43, 376-383. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2008.01.011>.
- Marklund S and Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. The FEBS Journal 47, 469-474. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>.
- Masaki H. 2010. Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects. J Dermatol Sci 58, 85-90.
- Mohan M, Ramachandran D, Sankar TV and Anandan R. 2007. Influence of pH on the solubility and conformational characteristics of muscle proteins from mullet (*Mugil cephalus*). Process Biochem 42, 1056-1062. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2007.04.005>.
- Narsing Rao. 2014. Physico-chemical, functional and antioxidant properties of roe protein concentrates from *Cyprinus carpio* and *Epinephelus tauvina*. J Food Pharm Sci 15, 22. <http://dx.doi.org/10.14499/jfpps>.
- Oh HS, Kang KT, Kim HS, Lee JH, Jee SJ, Ha JH, Kim JS and Heu MS. 2007. Food component characteristics of seafood cooking drips. J Korean Soc Food Sci Nutr 36, 595-602.
- Oyaizu N, Yasumizu R, Miyama-Inaba M, Nomura S, Yoshida H, Miyawaki S, Shibata Y, Mitsuoka S, Yasunaga K and Morii S. 1988. (NZW x BXSb) F1 mouse. A new animal model of idiopathic thrombocytopenic purpura. J Exp Med. 167, 2017-2022.
- Park SH, Lee HJ, Yoon IS, Lee GW, Kim JS and Heu MS. 2016. Protein functionality of concentrates prepared from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) roe by cook-dried process. Food Sci Biotechnol 25, 1569-1575. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-016-0242-0>.
- Schurink M, van Berkel WJ, Wichers HJ and Boeriu CG. 2007. Novel peptides with tyrosinase inhibitory activity. Peptides 28, 485-495. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2006.11.023>.
- Tahergerabi R and Jaczynski J. 2012. Physicochemical changes in surimi with salt substitute. Food Chem 132, 1281-1286. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.104>.
- Undeland I, Kelleher SD and Hultin HO. 2002. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process. J Agric Food Chem 50, 7371-7379. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0404445>.
- Watanabe H, Takai R, Sekigawa A and Hasegawa H. 1982. An estimation of the amount of protein lost in the effluent from frozen surimi manufacture. Bull Jpn Soc Sci Fish 48, 869-871. <http://dx.doi.org/10.2331/suisan.48.869>.
- Wiriyaphan C, Chitsomboon B and Yongsawadigul J. 2012. Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from threadfin bream surimi byproducts. Food Chem 132, 104-111. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.040>.
- Yeo SG, Lee TG, Ahn CW, Kim IS, Gu YS, Park YH and Kim SB. 1998. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of skipjack/yellow tuna cooking broth. J Life Sci 8, 312-317.
- Yoon IS, Lee GW, Kang SI, Park SY, Kim JS and Heu MS. 2017. Food functionality and biological activity of processed waters produced during the preparation of fish roe concentrates by cook-dried process. Korean J Fish Aquat Sci 50, 506-519. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0506>.