

동결건조 어류 알 농축물의 식품기능성 및 생리활성

윤인성¹ · 김형준² · 강상인¹ · 김도엽³ · 이창영¹ · 정우철⁴ · 김진수^{1,4} · 허민수^{4,5*}

¹경상대학교 해양식품생명과학과/해양산업연구소, ²식품의약품안전처, ³덕화푸드 기업부설연구소, ⁴경상대학교 수산식품산업화 기술지원센터, ⁵경상대학교 식품영양학과/해양산업연구소

Food Functionality and Bioactivity of Vacuum Freeze-dried Fish Roe Concentrates

In Seong Yoon¹, Hyeung Jun Kim², Sang In Kang¹, Do Youb Kim³, Chang Young Lee¹, U-Cheol Jeong⁴, Jin-Soo Kim^{1,4} and Min Soo Heu^{4,5*}

¹Department of Seafood and Aquaculture Science/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

²Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju 28159, Korea

³Research and Development Institute, Deok-Hwa Food, Busan 49277, Korea

⁴Research Center for Industrial Development of Seafood, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

⁵Department of Food and Nutrition/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

The purpose of this study was to evaluate the food functional properties and in vitro bioactivity of vacuum freeze-dried fish roe concentrates (FRCs) prepared from Alaska pollock *Theragra chalcogramma* (AP), bastard halibut *Paralichthys olivaceus* (BH) and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* (ST). All three species showed better buffering capacity on the alkaline side (pH 10-12) than on the acidic side. The water-holding capacities of the FRCs were 3.5, 8.5 and 4.2 g/g protein for AP, BH and ST, respectively, and were significantly higher than that of commercial egg white. The protein solubilities of the FRCs were 42.5% (AP), 50.0% (BH) and 13.9% (ST). The foaming capacities of the FRCs were not significantly different among the species (128.0% for AP, 128.3% for BH, and 143.3% for ST; P>0.05), and their foam stability was maintained at 53.0-74.2% for 60 minutes. The oil-in-water emulsifying activity indexes of AP and BH (19.5 and 20.2 m²/g protein, respectively) were significantly superior to that of ST (P<0.05). The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radical-scavenging activities (IC₅₀, mg/mL) of the FRCs were in the ranges of 1.05-3.26 and 0.13-0.18 mg/mL, respectively, and the angiotensin I converting enzyme inhibitory activity was in the range of 0.97-1.89 mg/mL.

Keywords: Fish roe concentrate, Food functionality, Bioactivity, Freeze-drying, Anti-oxidative activity

서론

식품의 건조는 전통적인 저장방법 하나로서 건조방법, 온도, 시간, 태양광선의 존재 여부 등 다양한 조건하에서 널리 이용되어 왔으며, 건조 조건에 따라 원료나 가공품의 색, 질감, 영양성분을 변화시킬 뿐 아니라, 식품에 함유된 생리활성 물질이나 기능에도 영향을 미친다(Kurozawa et al., 2014). 건조 방법에는 진공 동결건조, 동결건조, 냉풍건조, 열풍건조 등이 산업적으로

이용되고 있으며, 이 중 진공 동결건조는 열에 민감한 영양소의 파괴를 최소화시키는 장점이 있다(Ezhilarasi et al., 2013). 또한 수산물의 건조는 곰팡이 및 박테리아 등 미생물 생육에 필요한 수분을 제거함으로써, 중량과 부피를 현저히 감소시켜 보관안정성을 높이고, 수분감소로 인해 가수분해효소의 활성을 불활성화하기 때문에 원료나 가공제품의 품질과 영양적 손실을 최소화한다(Duan et al., 2011). 한편, 가공공정에 따른 원료 구성분의 물성 변화로 인해, 품질에 영향을 주는 식품기능성에는 완충

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

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



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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0403>

Korean J Fish Aquat Sci 53(3), 403-416, June 2020

Received 6 May 2020; Revised 25 May 2020; Accepted 8 June 2020

저자 직위: 윤인성(대학원생), 김형준(주무관), 강상인(대학원생), 김도엽(대리), 이창영(대학원생), 정우철(연구교수), 김진수(교수), 허민수(교수)

능, 보수력, 용해도, 거품 및 유화 형성능 등이 있다. 가공원료의 완충능(buffer capacity)이 높거나 강하다는 것은 외부환경(가공조건이나 공정)의 pH 변화에 대해 영향을 받지 않아, 물성 안정성이 유지되어 다양한 가공환경에 적용 가능해진다. 따라서 분리단백질의 회수 또는 효소 가수분해물의 대량처리 공정의 설계에 기여할 수 있다(Narsing et al., 2012; Park et al., 2016). 보수력(water holding capacity)은 수화(hydration)와 관련한 단백질 기능성으로서 단백질과 함께 물 또는 기름 간의 상호작용으로 식품의 향 및 texture에 영향을 미쳐 식품시스템에 있어 매우 중요하다(Mohamed et al., 2012). 특히 단백질 용해도는 거품, 유화 및 겔 형성능 등과 같은 식품단백질 기능성에 영향을 미치는 주요인자이다(Kristinsson and Rasco, 2000; Mohan et al., 2007; Azadian et al., 2012). 거품성(foaming capacity) 및 거품안정성(foam stability)은 식품의 신선감(refreshment), 부드러운 촉감(softening) 그리고 방향성분의 분산과 같은 독특한 특성을 부여하여, 거품이 형성되는 동안 계면(interface)에서 단백질의 되폴림(unfolding) 및 단백질분자의 재배치를 거치게 되고, 소수성 잔기의 노출로 인해 표면장력을 감소시켜 거품형성능이 향상된다(Mutilangi et al., 1996; Damodaran, 1997; Klompong et al., 2007). 아울러 유화능(emulsifying activity index, EAI)은 water-oil 계면에서 단백질이 oil을 흡착하여 유화층을 형성하는 능력이며, 유화 안정성(emulsion stability index, ESI)은 형성된 유화층이 일정시간 동안 이를 유지시키는 능력으로 정의된다(Can Karaca et al., 2011). 이와 같은 유화형성능은 펩타이드의 분자량이 크거나 소수성 펩타이드의 함량이 많으면 유화층의 안정성에 기여할 뿐만 아니라 저분자량의 펩타이드는 양친매성(amphipathic)이 아니더라도 우수한 유화 특성을 나타낸다(Chobert et al., 1988; Mutilangi et al., 1996).

식품원료와 관련한 생리활성(bioactivity)에는 대표적으로 항산화 및 항고혈압 활성이 있다. DPPH 라디칼 소거활성은 유리 라디칼 소거 또는 수소공여체로서 화합물의 항산화능을 평가하는데 널리 이용되며(Klompong et al., 2007), ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 친유성(oleophilic) 및 친수성(hydrophilic) 화합물 모두에 적용할 수 있는 항산화 분석방법이다(You et al., 2009). 이 외에 SOD 유사활성(superoxide dismutase-like activity)과 환원력(reducing power) 등이 항산화 활성의 측정에 이용하고 있다. 한편 ACE (angiotensin-I converting enzyme)는 혈압 및 고혈압 조절에 중요한 역할을 하며, 비활성 angiotensin-I이 강력한 혈관 수축 작용을 하는 angiotensin-II로의 전환을 촉매하는 효소이며, 혈관확장 작용을 하는 펩타이드인 bradykinin을 불활성화 하는 작용을 한다.

최근 수산가공 부산물의 식량자원화를 위해, 고 영양원이면서 저 활용 식품자원인 어류 알의 식품기능성 소재에 관한 연구를 통해 식품기능성과 생리활성에 관심이 높아지고 있다(Intarasirisawat et al., 2011; Park et al., 2016; Yoon et al., 2017; Cha et al., 2020).

어류 알(fish roe)은 어종 및 계절(산란기)에 따라 다양하지만 대체로 전 어체 중량의 1.5-30%를 차지하며, 단백질(Sikorski, 1994; Heu et al., 2006; Lee et al., 2016; Park et al., 2016) 및 필수지방산(Heu et al., 2006; Mahmoud et al., 2008) 등의 영양 성분이 풍부한 식품 자원이다. 명태, 대구, 연어 및 청어 알 가공품은 영양 발효식품인 알젓의 형태로 판매되고 있어, 소비에 있어서도 한정적일 뿐만 아니라, 대부분의 어류 알은 식품소재로 이용되지 못하고 있다. 그러나 어류 알에 관한 연구는 영양성분(Heu et al., 2006; Intarasirisawat et al., 2011), lectin 및 protease inhibitor와 같은 유효성분(An et al., 1996; Ji et al., 2011), 분리단백질 회수(Cha et al., 2020) 및 식품 가공소재(Lee et al., 2016; Yoon et al., 2018b) 그리고 그 식품기능특성(Park et al., 2016; Yoon et al., 2018b)에 대한 연구 등 다양하게 이루어져 왔다. 아울러 앞서의 연구(Kim et al., 2020)에서는 명태, 넙치 및 가다랑어 알을 대상으로 하여, 보관 안전성 및 가공적성을 확대하는 진공 동결건조법을 통해, 품질 및 영양적 손실을 최소화한 농축분말을 제조하고, 이의 식품성분 특성에 대해 검토한 바 있다.

이 연구에서는 진공 동결건조 명태(Alaska pollack *Theragra chalcogramma*, AP), 넙치(bastard halibut *Paralichthys olivaceus*, BH) 그리고 가다랑어(skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, ST) 알 농축물(fish roe concentrates, FRCs)에 대한 완충능(buffering capacity), 보수력(water holding capacity), 단백질 용해도(protein solubility), 거품성(foaming property) 및 유화성(emulsifying property)과 같은 식품기능성에 관하여 살펴봄으로써 식품 가공소재로서 산업적 활용과, 아울러 *in vitro* 항산화성과 항고혈압과 같은 생리활성에 대해 측정하여 기능성 소재로서 이용가능성에 대해서도 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

명태(*Theragra chalcogramma*, AP) 알은 덕화푸드(주) (Busan, Korea)에서, 넙치(*Paralichthys olivaceus*, BH) 알은 통영시 소재 수산시장에서, 가다랑어(*Katsuwonus pelamis*, ST) 알은 창원시 소재 동원산업(Dongwon F&B Co., Ltd., Changwon, Korea)으로부터 동결상태의 알을 분양을 받아 사용하였다. 진공 동결건조법을 통한 어류 알 농축물(FRCs, fish roe concentrates)의 제조는 300 g의 마쇄한 알을 파우치형 티백(tea bag, polyethylene polypropylene, 16×14.5 cm)에 담아 -55°C에서 동결한 다음, 진공 동결건조기(FDU-8612, Operon Co., Ltd., Gimpo, Korea)에 넣어건조 시킨 후, 식품분쇄기(SFM-555SP, Shinil Industrial Co., Ltd., Seoul, Korea)로 분쇄하여 분말상태로 식품기능성 및 생리활성 실험에 사용하였다. 아울러 식품기능성 및 생리활성 측정용 시료는 각각 1% (w/v) 및 4% (w/v)의 진공 동결건조 FRCs를 탈 이온수에 분산시켜 제조

하였다.

시약

2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), bovine serum albumin (BSA), citric acid, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), ferric chloride, hippurly-his-leu acetate salt (HHL), lung acetone powder (rabbit), potassium ferricyanide, potassium hydroxide, potassium persulfate, pyrogallol, sodium carbonate, sodium hydroxide 그리고 sodium L-tartrate는 Sigma-Aldrich Co., LLC. (St. Louis, MO, USA)의 제품을 그리고 그 외의 시약들은 분석급 시약을 구입하여 사용하였다.

단백질농도

식품기능성 및 생리활성의 측정을 위한 진공 동결건조 FRCs 분산액의 단백질 농도는 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 표준 단백질로서 BSA를 사용하여 구한 검량선을 통해 측정하였다.

pH 완충능

진공 동결건조 FRCs의 완충능(buffer capacity)은 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 먼저, 300 mg의 시료에 30 mL의 탈이온수를 가하여 제조한 1% (w/v)의 분산액에 소량의 0.5 N NaOH 또는 HCl을 첨가하면서, pH 2-12범위에서 1 단위씩의 pH를 변화하는데 소요되는 NaOH 및 HCl의 부피를 기록하였다. 이때 각 pH별 조정을 위해 첨가한 알칼리와 산의 양과 분산액의 부피를 측정하여 각 pH별 분산액의 NaOH와 HCl의 최종농도를 계산하였다. 이를 통해 각 시료별 완충능은 1 g의 시료에 대하여 1단위의 pH를 변화하는데 필요한 평균 mM NaOH 또는 HCl의 농도로 나타내었다.

보수력

진공 동결건조 FRCs의 보수력(water holding capacity, WHC)은 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 50 mL의 원심관에 300 mg의 시료와 30 mL의 탈이온수를 가해 실온에서 10분간 vortex mixer로 격렬하게 혼합하여 1% 분산액(controls)을 조제하였으며, 아울러 0.5 N NaOH 또는 HCl을 첨가하면서 pH 2-12범위에서 2단위씩의 pH를 조정하여 각 pH별 분산액도 조제하였다. 이어서 이들 분산액을 원심분리(12,000 g, 20 min, 4°C)하고, 그 잔사의 무게를 측정하여 대조군과 각 pH별 실험군에 대한 보수력을 1 g의 단백질이 흡수한 물(g)무게로 아래의 식을 통하여 나타내었다.

$$\text{WHC (g/g protein)} = \frac{\text{Weight of pellet (g)} - \text{Weight of sample (g)}}{\text{Weight of sample (g)} \times C}$$

여기서 C는 단백질 함량(%)을 의미하였다.

단백질 용해도

진공 동결건조 FRCs의 단백질 용해도(protein solubility)는 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 30 mL의 탈이온수에 300 mg 시료를 혼합하여 1% FRCs 분산액을 제조하고, 0.5 N HCl 또는 NaOH로 분산액의 pH를 2-12 범위에서 2 단위씩 pH를 조정하였다. 이들 각 pH별 분산액은 실온에서 30 분 동안 안정화시킨 다음, 원심분리(12,000 g, 20 min)를 실시하였다. 시료만 분산시킨 대조구와 각 pH별 분산액의 상층액에 대한 단백질의 농도는 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 측정하고, 분산액의 부피를 곱하여 단백질함량을 계산하였다. 마찬가지로 각 시료의 총 단백질 함량은 20 mg의 시료에 20 mL의 0.5N NaOH를 사용하여 완전히 가용화 한 후, 이의 단백질농도와 부피를 측정하여 구하였다.

$$\text{Solubility (\%)} = \frac{\text{Protein content in supernatant}}{\text{Total protein content in sample}} \times 100$$

거품성 및 거품안정성

진공 동결건조 FRCs의 거품성(foaming capacity)과 거품안정성(foam stability)은 Park et al. (2016)에 따라 측정하였다. 즉, 25 mL의 메스실린더에 10 mL의 1% FRCs 분산액을 옮겨 담고, 균질기(POLYTRON® PT 1200E, KINEMATICA AG, Luzern, Switzerland)로 12,500 rpm에서 1분 동안 균질화 하였다. 거품이 형성된 시료는 주어진 시간(60 min)동안 실온에서 정지하면서, 총 부피와 거품의 부피를 측정하여 아래의 식에 따라 거품성과 거품안정성을 구하였다. 아울러 1% 분산액에 대해 2단위씩 pH를 조정하여 실험구에 대해서도 거품형성능을 측정하여 pH를 조정하지 않은 대조구와 상호비교 하여 나타내었다.

$$\text{Foaming capacity (\%)} = \frac{VT}{V_0} \times 100$$

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

이때 VT는 균질 후 총 부피, V₀는 균질 전의 총 부피, FT는 균질 직후 거품의 부피, Ft와 Vt는 주어진 시간(t=60 min) 경과 후의 거품부피 및 총 부피로 각각 나타내었다.

유화능과 유화안정성

진공 동결건조 FRCs의 유화능(emulsifying activity index, EAI)과 유화안정성(emulsion stability index, ESI)은 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료(10 mL의 1% 분산액)는 식용유(soybean oil, Ottogi Co., Ltd., Seoul, Korea)와 1:3 (v/v)의 비율로 혼합하여 균질화(12,500 rpm, 1 min)하고, 균질화 액이 담긴 메스실린더의 아래쪽에서 일정량(50 µL)의 emulsion을 취하여 5 mL의 0.1% sodium dodecyl sulfate

(SDS) 용액과 혼합하였다. 이 혼합액은 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)를 사용하여 파장 500 nm에서 균질화한 직후의 흡광도(A_{0min})와 10분경과 후의 흡광도(A_{10min})를 측정하여 아래의 식으로 각각 EAI (m^2/g protein) 및 ESI (min)를 구하였다.

$$EAI \frac{m^2}{g} = \frac{2 \times 2.303 \times A \times D}{l \times \Phi \times C}$$

이때, A는 파장 500 nm에서의 흡광도, D는 희석비(100), l은 빛이 통과하는 cuvette의 폭 (1 cm), Φ 는 혼합액 중에 식용유가 차지하는 비율(0.25) 그리고 C는 단백질의 농도(g/mL)를 각각 나타내었다.

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

여기서 ΔA 는 A_{0min} 에 대한 A_{10min} 의 흡광도의 차이, Δt 는 10 min를 의미하였다.

DPPH 라디칼 소거활성

생리활성을 측정하기 위한 시료는 25 mL의 탈 이온수에 1 g 시료를 혼합하여 4% (w/v) FRCs분산액을 제조한 다음, 원심 분리(12,000 g, 20 min, 4°C)한 상층액을 항산화성 및 항고혈압 활성을 측정하기 위한 시료로 사용하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 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, 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)로 흡광도(517 nm)를 측정하여, 아래의 식에 따라 DPPH 라디칼 소거활성(%)을 계산하였다. IC_{50} (mg/mL)은 50%의 DPPH 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

$$DPPH \text{ radical scavenging activity (\%)} = \frac{(Control_{517} - Sample_{517})}{Control_{517}} \times 100$$

이때, 대조구(control₅₁₇)는 시료용액 대신 탈 이온수에 대해 측정된 흡광도를 나타내었다.

ABTS+ 라디칼 소거활성

진공 동결건조 FRCs의 ABTS⁺ 라디칼 소거활성은 Yoon et al. (2017)의 방법에 따라 측정하였다. 먼저 각각 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulfate 용액을 제조한 다음, 동량 혼합하여 실온의 암소에서 12시간동안 반응시킨 용액을 사용하였다. 이 실험용액(2 mL)을 50 mL의 ethanol과 혼합한 다음, 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)로 흡광도(734 nm)를 측정, 흡광도가 1.00 ± 0.02 units이 되도록 하여,

ABTS⁺ 용액을 최종적으로 제조하였다. 각 시료용액(1 mL)에 3 mL의 ABTS⁺ 용액과 혼합하여, 실온의 암소에서 30 min 동안 반응시킨 후, 파장 734 nm에서 측정하여, 아래의 식에 따라 ABTS⁺ 라디칼 소거활성(%)을 계산하였다. IC_{50} (mg/mL)은 50%의 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

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

$$\frac{(Control_{734} - Sample_{734})}{Control_{734}} \times 100$$

이때의 대조구(control₇₃₄)는 시료용액 대신 탈 이온수에 대해 측정된 흡광도를 나타내었다.

SOD 유사활성

진공 동결건조 FRCs의 superoxide dismutase (SOD) 유사활성은 Yoon et al. (2017)의 방법에 따라 측정하였다. 500 μ L의 각 시료용액은 500 μ 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 min동안 반응시켰다. 이어서 100 μ L의 1 N HCl를 가하여 반응정지 시키고, 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)로 흡광도(420 nm)를 측정하여 아래의 식을 통해 SOD 유사활성(%)을 계산하였다. IC_{50} (mg/mL)은 50%의 SOD라디칼 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

$$SOD\text{-like activity (\%)} =$$

$$\left[1 - \frac{Sample_{420} - Sample\ Blank_{420}}{Control_{420} - Control\ Blank_{420}} \right] \times 100$$

이때의 sample blank는 시료에 1 N HCl을 가해 반응 정지시킨 후, pyrogallol을 첨가하여 측정된 흡광도이며, control blank는 시료 대신 탈이온수와 1 N HCl을 혼합한 다음, pyrogallol을 첨가해 측정된 흡광도로 나타내었다.

환원력

진공 동결건조 FRCs의 환원력(reducing power, RP)은 Yoon et al. (2017)에 따라 측정하였다. 각 4% FRCs 분산액의 원심 분리 상층액(1 mL)에 1 mL의 0.2 M sodium phosphate 완충액 (pH 6.6)과 1 mL의 1% (w/v) potassium ferricyanide을 혼합하여 50°C의 항온수조에서 20 min동안 반응시켰다. 이어서 1 mL의 10% (w/v) trichloroacetic acid를 가해 반응정지하고, 원심분리(1,890 g, 10 min)하였다. 이의 1.5 mL의 상층액에 동량의 탈 이온수와 0.3 mL의 0.1% (w/v) ferric chloride 용액을 혼합하여, 10 min동안 반응 후, 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)로 흡광도(700 nm)를 측정하여 아래의 식을 통

해 환원력의 흡광도를 측정하였다. 환원력의 EC_{50} 값(mg/mL)은 흡광도 0.5를 나타내는데 필요한 시료의 농도로 정의하였다.

ACE 저해활성

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) 저해활성은 Cushman and Cheung (1971)의 방법을 다소 수정한 Yoon et al. (2017)에 따라 측정하였다. 먼저 100 μ L의 시료용액, 50 μ L의 ACE 용액 그리고 50 μ L의 0.05 M sodium borate 완충액(pH 8.3)을 혼합한 반응용액은 실온에서 30 min동안 전 단계 반응을 실시하였다. 여기에 50 μ L의 5 mM hippurly-his-leu (HHL) acetate salt를 함유한 0.05 M sodium borate 완충액(pH 8.3)을 가하여 37°C의 항온수조에서 60 min동안 반응을 진행하였다. 효소반응의 정지는 250 μ L of 1 N HCl을 가하여 실시하였으며, 이어서 반응용액 중의 유리된 hippuric acid의 추출을 위하여, 1.5 mL의 ethyl acetate를 가한 다음, 원심분리(1890 g, 10 min, 4°C)하였다. 1.0 mL의 상층액을 시험관에 옮기고 100°C의 heating block에서 1시간동안 ethyl acetate를 완전히 증발시킨 다음, 시험관에 남아있는 hippuric acid는 1.0 mL의 탈 이온수로 용해시켜, 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)로 흡광도(228 nm)를 측정하였다. ACE 저해활성(%)은 아래의 식에 따라 구하였으며, IC_{50} 값(mg/mL)은 ACE 활성의 50%를 저해하는 시료의 농도로 정의하였다.

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 반응정지시킨 후, HHL을 첨가해 측정한 흡광도이며, control blank는 시료 대신 탈 이온수와 1 N HCl을 혼합한 다음, HHL을 가하여 측정된 흡광도를 나타내었다.

통계처리

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

결과 및 고찰

pH 완충능

명태(AP), 넙치(BH) 및 가다랑어(ST) 알로부터 진공 동결건조를 통해 제조한 어류 알 농축물(fish roe concentrates, FRCs)의 완충능(buffer capacity)에 대한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 먼저, pH-shift 처리 전 1% 분산액(controls)의 pH는 5.8-6.6범

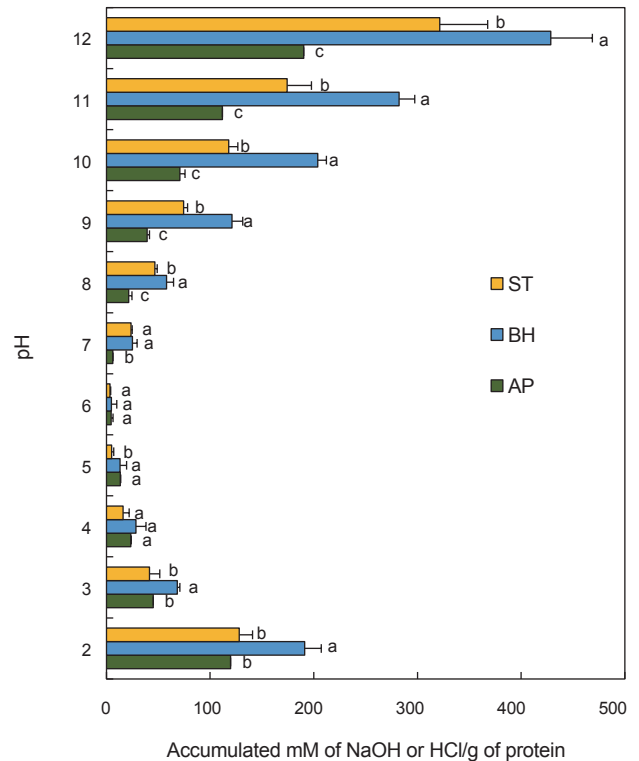


Fig. 1. Buffer capacity of fish roe concentrates prepared by vacuum freeze-dried process. AP, Alaska pollock; BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna. Values represent the mean \pm SD of n=3. Data with different letters within the samples are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

위를 나타내었다(데이터 미제시). Park et al. (2016)은 황다랑어 알(YT) 가열-건조처리 농축분말과 난백(egg white, EW)의 1% 분산액의 초기 pH는 각각 pH 5.9와 7.4라고 하였다.

AP의 완충능은 pH 2-6 범위의 pH-shift 처리에서 119.1 mM HCl/g protein이 소요되어, 1단위의 pH를 변화시키는데 평균 30.0 mM HCl/g protein이 필요하였으며, 이어서 pH 6-12의 범위(190.2 mM NaOH/g protein)에서는 평균 31.7 mM NaOH/g protein이 소요되었다. BH의 경우, 1단위의 pH를 변화시키는데 pH 2-6범위(191.1 mM HCl/g protein)에서는 평균 47.8 mM HCl/g protein이 소요되었으며, pH 6-12의 범위(428.6 mM NaOH/g protein)에서는 평균 71.4 mM NaOH/g protein이 필요하였다. 한편 ST의 완충능은 pH 2-6범위의 pH-shift 처리에서 총 128.0 mM HCl/g protein이 소요되어, 1단위의 pH를 변화시키는데 평균 32.0 mM HCl/g protein이 필요하였으며, pH 6-12범위(321.4 mM NaOH/g protein)에서는 평균 53.6 mM NaOH/g protein이 소요되었다.

YT와 EW (Park et al., 2016)의 완충능은 1단위의 pH를 변화시키는데 pH 2-6범위의 pH-shift 처리에서는 각각 25.2 및 19.5 mM HCl/g protein, 그리고 pH 6-12범위에서는 각각 49.45 및 14.5

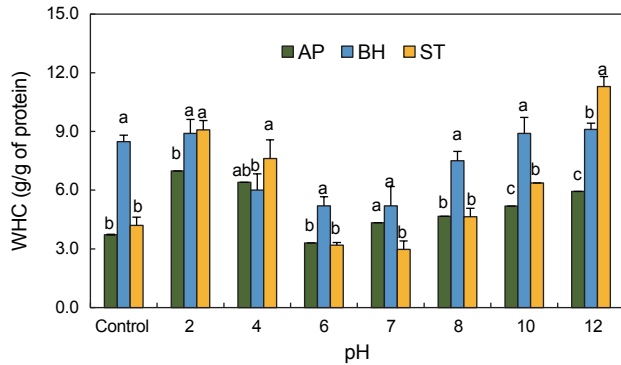


Fig. 2. Water holding capacity of fish roe concentrates prepared by vacuum freeze-dried process. AP, Alaska pollock; BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna. Values represent the mean±SD of n=3. Data with different letters within the samples are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

mM NaOH/g protein이 소요되어, 이 실험의 세 어종의 완충능이 YT 및 EW에 비해 우수한 것으로 확인되었다.

이상의 결과에서 산성 및 알칼리성 측의 pH 변화에 있어서 세 어종 모두 알칼리성 측에 대한 완충능이 산성측에 비하여 우수한 것으로 나타났으며, mrigal (Chalamaiah et al., 2013), *Cyprinus carpio*와 *Epinephelus tauvina* (Narsing, 2014), 황다랑어 알(Park et al., 2016) 및 가다랑어 알(Yoon et al., 2018b) 가열-건조처리 농축분말, 그리고 gum karaya seed 분말(Narsing and Govardhana, 2010)은 알칼리성 측의 완충능이 산성측에 비해서 유의적으로 높다고 하여, 이 실험의 결과와 일치하는 경향이였다. 또한 진공동결건조 FRCs는 가열-건조처리 어류 알 농축분말(Park et al., 2016; Yoon et al., 2018b), 등전점 용해/침전공정을 통해 분리 회수한 어류 알 분리단백질(Yoon et al., 2018a; Cha et al., 2020) 그리고 어류 알로부터 알칼리 가용화 공정에서 회수한 불용성의 콜라겐성 단백질획분(Yoon et al., 2018c)의 완충능보다 우수하였으며, 이는 어류 알에 대해 어떠한 가공처리 공정을 거치지 않은 진공동결건조 FRCs에는 완충능에 영향을 주는 가용성의 단백질성분이나 지방성분이 가공공정중에 소실되거나 변성되지않고 그대로 유지되었기 때문이라 판단되었다.

한편, FRCs 중에서는 BH가 ST와 AP에 비하여 완충능이 가장 우수하였다($P<0.05$). BH가 상대적으로 완충능이 우수한 이유는 FRCs의 일반성분 중에 지방함량이 상대적으로 높아(Kim et al., 2020), 이들 지방성분이 pH를 변화시키는 산이나 알칼리의 요구량이 많은데 기인하는 것으로 판단되었다(Lee et al., 2016). Chalamaiah et al. (2013)에 의하면, mrigal egg 농축분말은 탈지한 농축분말에 비하여 완충능이 우수하며, 이는 농축분말 중의 지질성분이 산과 알칼리 요구량을 높여 완충능에 영향을 미친 결과라고 보고하였다.

이상의 결과 및 보고에서 진공동결건조 FRCs는 가열-건조처

리나 산/알칼리처리 공정에서 얻어진 농축분말이나 분리단백질에 비해 상대적으로 완충능이 우수하여, 가공공정 중에 pH 조절에 의한 변화에 대해 영향을 받지 않을 것으로 예상되었다. 또한 식품소재의 완충능력은 농축단백질, 분리단백질 및 가수분해물의 스케일 업(scale-up) 공정설계에 기여할 것이라 기대되었다(Narsing et al., 2012; Park et al., 2016; Yoon et al., 2018c). 따라서, 완충 능력이 우수한 FRCs는 다양한 가공 및 제조 환경에 적용 가능한 식품소재로서 단백질 강화식품의 개발에 이용을 고려할 수 있을 것이다.

보수력

진공 동결건조 FRCs의 보수력(water holding capacity, WHC)에 대한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. pH-shift 처리하지 않은 대조군으로써, FRCs의 보수력은 AP가 3.5, BH는 8.5 그리고 ST가 4.2 g/g protein이었으며, BH가 월등히 높은 수치를 나타내었다($P<0.05$). YT와 EW (Park et al., 2016)는 각각 4.4 및 0.3 g/g protein를 나타내어, 시판제품인 EW에 비하여 진공 동결건조 FRCs의 보수력이 월등히 높은 것을 알 수 있었다. Yoon et al. (2018b)은 가열-건조처리 가다랑어 알 농축분말의 보수력은 3.7-3.9 g/g protein, 그리고 Park et al. (2016)의 가열-건조처리 황다랑어 알 농축분말은 4.1-4.7 g/g protein의 보수력을 나타낸다고 하였다. *Tilapia*로부터 회수한 분리단백질의 보수력은 2.63-2.51 mL/g (Mohamed et al., 2012)으로, *Labeo rohita* (Balaswamy et al., 2007), 그리고 mrigal (1.79 g/g, Chalamaiah et al., 2013) 알 단백질 농축물에 비해, 이 연구의 FRCs가 현저히 높았다. Narsing et al. (2012)와 Chalamaiah et al. (2013)는 어류 알 단백질 농축물이 기름보다 많은 수분을 흡수하며, 이것은 단백질 농축물의 극성기(COO⁻ 및 NH₃⁺)의 존재로 인해 보다 쉽게 물 분자와 결합하는 특성에 기인한다고 보고한 바 있다.

한편, FRCs의 pH-shift 처리에 따른 보수력의 변화는 먼저 AP의 경우, pH 2-4구간에서 6.4-7.0 g/g protein을 나타내었고, pH 7-12범위에서 4.3-6.4 g/g protein으로 대조군에 비해 보수력이 개선되었으나, pH 6 (3.3 g/g protein)에서 오히려 감소하였다. BH는 대조군(8.5 g/g protein)에 비해 보수력이 개선된 pH 범위는 pH 2 (9.1 g/g protein)와 pH 10-12구간 이었으나, 나머지 pH-shift 처리 구간에서는 이보다 낮은 5.2-7.5 g/g protein의 보수력을 나타내었다. 한편 ST의 경우, pH 6-7구간에서 대조군보다 낮은 3.0-3.2 g/g protein이었으나, pH 2-4구간(7.6-9.1 g/g protein) 그리고 pH 8-12구간(4.6-11.3 g/g protein)에서는 pH-shift 처리에 따른 보수력이 개선된 것으로 확인 되었다. 따라서 AP와 ST는 pH 2-4 및 pH 8-12구간에서, BH는 pH 2 및 pH 10-12구간에서 각각의 대조군에 비해 보수력 개선이 확인되어 다소 차이가 있었다. 그러나 공통적으로 pH 6-7구간에서 가장 낮은 보수력을 보였다. 이상의 결과를 통해 어종 별 FRCs의 pH-shift 처리에 따른 보수력 차이는 앞서의 연구(Kim et al.,

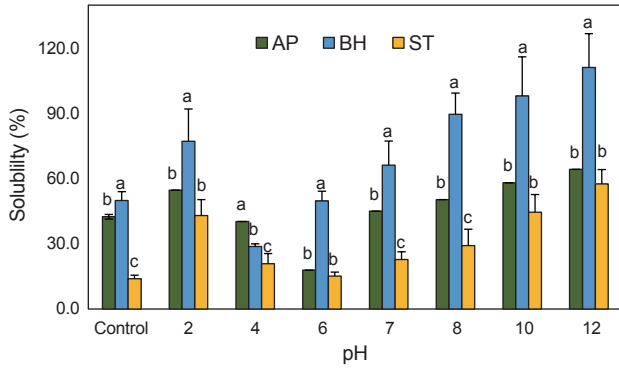


Fig. 3. Protein solubility of fish roe concentrates prepared by vacuum freeze-dried process. AP, Alaska pollock; BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna. Values represent the mean±SD of n=3. Data with different letters within the samples are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

2020)에서 완충능, 보수력 및 단백질 용해도에 직접적인 영향을 미치는 아미노산의 조성 및 함량 그리고 SDS-PAGE에 따른 단백질의 분자량 분포에 있어 차이를 반영한 결과라고 추정되었다.

pH-shift 처리에 따른 보수력과 관련한 연구보고에서, 진공 동결건조 YT (Park et al., 2016)는 pH 6을 제외한 전 구간에서 보수력(6.1-15.9 g/g protein)이 개선된 것으로 확인되었으나, EW는 pH 2와 12에서 보수력(1.4 및 1.0 g/g protein) 개선이 확인되었을 뿐이었으며, FRCs에 비해 현저히 낮은 보수력을 나타내었다. 또한 가열-건조처리 황다랑어 알(Park et al., 2016) 및 가다랑어 알 농축분말(Yoon et al., 2018b)의 경우도 pH 4-8구간(4-6 g/g protein)에서는 대조구와 유사하여 개선 효과가 거의 없다고 하였으나, pH 2 (7-8 g/g protein) 및 pH 10-12 (17-18 g/g protein)에서는 보수력이 유의적으로 증가하여, 알칼리성측이 산성측 비해 보수력 개선이 우수하다고 하였다. 이러한 pH-shift 처리에 따른 보수력의 증가 또는 개선은 정전기적 반발력(electrostatic repulsion)의 증가로 인해 보수력이 최소가 되는 pH 4-8범위를 제외한 pH에서 관찰되었다(Azadian et al., 2012).

이러한 결과들은 알칼리나 산 처리에 의한 단백질 구조의 변화가 단백질의 동결 및 열변성에 의한 변화보다 많이 일어난 결과에 기인하는 것으로 판단되었다. 따라서, pH-shift 처리로 인하여 단백질 입체 구조 변화가 일어남으로써 표면에 노출되는 친수성 아미노산이 주변 물에 쉽게 접근하여 보수력이 증가하는 것으로 보인다. 한편, 어류 알의 등전점 부근인 pH 4-6범위에서 세 어종 모두의 보수력은 최소를 나타내었으며, Azadian et al. (2012)은 silver carp 분리단백질의 최소 보수력은 등전점 부근인 어류 육(pH 6.3)의 pH에서 관찰되었다고 보고하였다. 이러한 보수력의 감소는 단백질과 물(protein-water)간의 상호작용에 있어, 단백질 및 아미노산의 극성기(polar groups)의 존

재가 중요한 역할을 하기 때문에, 특히 등전점 부근에서는 단백질 응집(protein aggregation)이나 침전(precipitation)으로 극성기의 노출이나 존재가 감소되어 나타난 결과이다(Tan et al., 2014).

단백질 용해도

진공 동결건조 FRCs의 단백질 용해도(protein solubility)는 Fig. 3에 나타내었다. 대조군의 경우, 진공 동결건조 FRCs의 단백질 용해도는 각각 42.5% (AP), 50.0% (BH) 그리고 13.9% (ST)로서 BH가 가장 우수한 용해도를 나타내었으며, 어종 간에도 유의적인 차이를 보였다($P<0.05$). YT와 EW (Park et al., 2016)의 용해도는 각각 14.2 및 80.3%로 시판 제품인 EW가 매우 우수한 용해도를 보인다고 보고한 바 있으나, 어류 알 가열-건조처리 농축분말은 4.0-6.0%의 용해도를 나타내어 단백질의 열변성에 의해 용해도가 감소하였다고 보고한 바 있다(Park et al., 2016; Yoon et al., 2018b). 따라서 진공 동결건조 FRCs의 용해도가 가열-건조처리 농축분말(Park et al., 2016; Yoon et al., 2018b)보다 우수하였으나, egg white에 비하여는 현저히 낮은 용해도를 보였다.

한편 pH-shift 처리에 따른 FRCs의 용해도는 AP는 pH 6 (17.9%)에서, BH는 pH 4 (28.7%), 그리고 ST는 pH 4 (15.1%)에서 가장 낮은 단백질 용해도를 나타내었으며, 최소 용해도를 보인 pH 4-6구간을 제외한 pH-shift 처리구간에서 세 어종 모두 대조군에 비해 단백질 용해도가 개선되었다. YT 및 EW (Park et al., 2016)는 각각 pH 4-6 (14.5%)구간과 pH 6 (79.5%)에서 최소 용해도이었으나, EW의 경우는 대조군 자체의 용해도가 우수하여 pH-shift 처리에 따른 용해도 개선은 12%내외라고 하였다. pH 2 및 12의 pH-shift 처리한 AP의 단백질 용해도는 각각 54.8% 및 64.4%, BH는 77.2% 및 111.3% 그리고 ST는 43.1% 및 57.5%으로, 알칼리성 측에서의 용해도가 산성측에 비하여 우수하였고, BH가 pH-shift 처리에서도 다른 어종에 비하여 유의적으로 우수한 용해도를 나타내었다($P<0.05$).

가열-건조처리 어류 알 농축분말의 pH 2와 12에서의 용해도는 황다랑어(Park et al., 2016)는 각각 4-6% 및 8.6-9.5%, 그리고 가다랑어(Yoon et al., 2018b)는 5-7% 및 12.9-14.2%로 EW (86.2 및 92.6%)에 비해 현저히 낮았다고 보고하였으며, 이 연구의 진공 동결건조 FRCs에 결과에 비해서도 용해도가 낮은 것으로 확인되어, 이는 가열-건조처리로 단백질의 소수성잔기의 노출과 열 변성으로 인해 단백질 용해도가 감소했기 때문이었다(Sikorski and Nacz, 1981). 따라서, pH-shift 처리에 따른 진공 동결건조 FRCs는 가열-건조처리 농축분말(Park et al., 2016; Yoon et al., 2018b)에 비하여 용해도가 월등히 우수하였으며, BH가 AP와 ST보다 상대적으로 높은 용해도를 보이는 것으로 확인되었다.

어류 알 농축분말 그리고 egg white은 단백질의 기원(origin), 제조방법에 따른 용해도의 차이는 있지만, 공통적으로 산-알칼

리에 대한 단백질의 가용성이 제한되는 등전점 부근인 pH 4-6에서 가장 낮은 단백질 용해도를 나타내었다(Kinsella 1976).

이상의 결과와 보고에 따르면, pH 2 및 12와 같은 극단적인 pH-shift 처리는 단백질 주변의 물에 더 많은 하전을 띠게 하거나, 보다 많은 극성기를 노출시켜 단백질 용해도를 개선 또는 향상시킬 수 있음을 의미하였다(Kristinsson et al., 2005). 또한 단백질의 pH 의존적 용해도는 식품 시스템(food system)과 관련한 기능적 특성 및 응용에 있어서, 특히 pH 4 이하 또는 7 이상인 경우에 중요하며(Kinsella, 1976), 단백질-단백질 또는 단백질-용매 간의 상호작용 및 단백질의 표면 친수성-소수성의 균형에 영향을 받는다고 하였다(Gbogouri et al., 2004; Mohan et al., 2006; Horax et al., 2011). 따라서, 수산동물 단백질의 높은 용해도는 거품 형성능 및 유화 특성과 같은 다른 식품 기능특성에 영향을 미치기 때문에 식품 응용 분야에 있어 중요하다고 하였다(Kristinsson and Rasco, 2000).

거품 형성능

진공 동결건조 FRCs의 식품 기능특성으로서 거품 형성능에 대한 결과는 Table 1과 같다. 대조군의 거품성(foaming capacity, FC)은 AP 128.0%, BH 128.3% 그리고 ST 143.3%로 ST가 상대적으로 거품성이 우수한 것으로 나타났으나 유의적 차이는 인정되지 않았다($P>0.05$). YT 및 EW (Park et al., 2016)의 경우, 각각 156.8% 및 126.6%의 거품성을 나타내어 이 실험의 결과와 비교하여 ST와 YT는 시판 제품인 EW에 비해 우

수한 거품성을 보인 반면에 AP와 BH는 EW와 유사한 거품성을 보였다. 이들 대조군의 거품안정성(foam stability, FS)은 거품형성 후 60분까지 53.0-74.2%의 거품이 유지되었으며, YT와 EW의 경우, 각각 58.8% 및 84.9%의 거품층(60분까지)을 유지하였다.

pH-shift 처리에 따른 FRCs의 거품성은 AP와 BH의 경우, pH 2-8구간에서 각각 127.4-131.7% 및 120.7-130.9%범위, 그리고 ST는 pH 2-12구간에서 133.6-156.6%범위를 나타내어, 대조군과 거의 유사한 수준이었으며, 또한 어종 및 pH-shift 처리에 따른 유의적인 차이는 없었다($P>0.05$). 다만, pH 10-12구간에서 BH (192.0-199.0%)가 AP (133.6-144.0%) 및 ST (141.8-150.8%)에 비하여 거품성이 우수한 것으로 나타나 pH-shift 따른 어종간의 유의적인 차이가 인정되었다($P<0.05$).

한편 pH-shift 처리에 따른 거품안정성은 세 어종 모두 pH 2-4구간(AP 56.3-70.2%, BH 0-48.9%, ST 27.3-36.5%)에서 각각의 대조군에 비하여 다소 낮아진 것으로 나타났을 뿐, 그외 구간(pH 6-12)에서는 AP가 67.7-85.0%, BH는 50.9-67.6%, 그리고 ST가 58.6-61.5%로서 대조군과 유사한 안정성을 나타내어 pH-shift 처리에 따른 거품안정성의 차이는 인정되지 않았다.

가열-건조처리 황다랑어 알 농축분말의 경우, 109% 내외의 거품성을 보일 뿐이었으며, 거품 형성 직후, 곧바로 거품층이 사라짐으로써 안정성 또한 인정되지 않아, 가열처리에 따른 단백질응고로 인해 용해도가 감소함으로써 나타난 결과라 하였다(Park et al., 2016). 가다랑어 알 가열-건조처리 농축분말(Yoon

Table 1. Foaming capacity (FC, %) and foam stability (FS, min) of fish roe concentrates prepared by vacuum freeze-dried process

Sample	AP	BH	ST	YT ¹	
FC (%)	Control	128.0±1.8 ^{aC}	128.3±4.3 ^{aB}	143.3±25.3 ^{aA}	156.8±8.1
	pH 2	131.7±0.8 ^{aBC}	125.4±10.8 ^{aB}	156.6±29.6 ^{aA}	152.1±38.8
	pH 4	129.5±2.2 ^{aBC}	120.7±12.8 ^{aB}	133.6±21.4 ^{aA}	137.1±27.3
	pH 6	127.4±2.4 ^{aC}	122.0±9.4 ^{aB}	143.7±29.8 ^{aA}	154.4±24.1
	pH 7	129.8±1.0 ^{aBC}	130.9±16.1 ^{aB}	143.7±36.2 ^{aA}	147.1±35.0
	pH 8	133.6±3.0 ^{aB}	129.4±9.4 ^{aB}	150.1±35.6 ^{aA}	146.6±28.8
	pH 10	129.5±4.3 ^{bBC}	192.0±22.6 ^{aA}	141.8±21.8 ^{bA}	162.8±37.7
	pH 12	144.0±1.0 ^{bA}	199.0±22.4 ^{aA}	150.8±24.2 ^{bA}	161.2±38.1
	FS (60 min)	Control	74.2±6.1	53.0±17.8	14.8±27.4
pH 2		56.3±1.1	48.9±17.9	27.3±7.0	51.6±7.8
pH 4		70.2±5.5	-	36.5±1.4	-
pH 6		85.0±7.8	68.6±15.1	30.9±6.4	56.7±8.8
pH 7		76.1±0.6	66.0±9.3	61.5±5.5	61.6±7.5
pH 8		79.0±10.7	50.9±15.0	58.6±4.6	68.6±4.1
pH 10		67.7±0.8	56.9±10.5	40.0±7.8	57.8±10.6
pH 12		75.2±3.4	54.0±10.6	56.7±7.8	61.9±6.5

¹Quoted from Park et al., 2016. AP, Alaska pollock; BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna. Values represent the mean±SD of n=3, Means with different small letters same row and capital letters within same column are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

et al., 2018b)은 107.9-111.7%의 거품성을 나타내었으며 이때의 거품안정성은 관찰되지 않았다고 하였다. 또한 pH-shift 처리에 있어서도 거품성은 104.0-119.0%정도로 pH-shift 처리 전과 유사하다고 보고하였다.

식품 기능성에서 거품성 및 거품안정성은 식품의 신선감(refreshment), 부드러운 촉감(softening) 그리고 방향성분의 분산과 같은 독특한 특성을 부여한다. 또한 거품이 형성되는 동안, 새로 생성된 공기-액상 계면(interface)에 신속히 흡착되는 단백질들은 계면에서 단백질의 되풀림(unfolding) 및 단백질분자의 재배치를 거치게 되어, 단백질이 유연해짐으로서 거품 형성능이 향상된다(Halling and Walstra, 1981; Damodaran, 1997; Klompong et al., 2007). Mutilangi et al. (1996)은 단백질의 거품성은 단백질내의 소수성 잔기노출 증가나 표면장력(surface tension)의 감소를 통하여, 보다 유연성(flexibility)을 증가시킴으로써 개선된다고 하였다. 따라서 이 연구의 진공동결건조 FRCs의 거품 형성능은 가열-건조처리 농축분말에 비해서는 우수하였으며, 한편 이들의 pH-shift 처리에 따른 결과에서도 어종 및 적용 pH에 대한 차이가 일부 인정되기도 하였으나, 대체로 pH 7-12구간이 pH 2-4구간보다 거품성 및 거품안정성이 우수한 것으로 나타났다.

유화 형성능

진공 동결건조 FRCs의 유화능(EAI) 및 유화안정성(ESI)은

Table 2에 나타내었다. pH-shift 처리하지 않은 대조구의 경우, AP 및 BH (19.5 및 20.2 m²/g protein)는 ST (9.98 m²/g protein)에 비하여 유의적으로 우수한 유화능을 나타내었다(P<0.05). Park et al. (2016)과 Yoon et al. (2018b)은 황다랑어 및 가다랑어 알 가열-건조처리 농축분말의 유화능은 각각 2.3-2.5 및 3.1-3.7 m²/g protein 범위이며, egg white (14.7-15.2 m²/g protein)에 비해 현저히 낮은 유화능을 보인다고 하였다.

한편, pH-shift 처리(pH 2-12)에 따른 유화능의 변화는 AP는 pH 2-8구간에서, BH는 pH 4에서, 그리고 ST는 pH 4-8구간에서 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았으나(P>0.05), 그 외의 구간에서는 대조군에 비해 유의적으로 우수한 유화능을 나타내었다(P<0.05). 또한 세 어종 모두 pH 10-12구간에서의 유화능(22.5-62.7 m²/g protein)이 pH 2 (14.3-21.8 m²/g protein)에서 보다 유의적으로 높은 유화능을 보였다. 따라서 진공 동결건조 FRCs 중에서는 대조군과 마찬가지로 pH-shift 처리에서도 BH가 AP 및 ST에 비하여 유의적으로 유화능에 있어서 우수한 것으로 확인되었다.

황다랑어(Park et al., 2016)와 가다랑어 알(Yoon et al., 2018b) 가열-건조처리 농축분말의 경우도 알칼리 pH-shift 처리에서(15.4-21.9 m²/g protein)의 유화능이 산성(5.2-5.9 m²/g protein)에서보다 높은 유화능을 나타낸다고 하여, 이 실험의 결과와 유사하였다. 이상의 결과와 보고를 통해 pH-shift 처리에 따른 유화능은 알칼리성(pH 10-12)측이 산성(pH 2)측에서 보

Table 2. Emulsifying activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of fish roe concentrates prepared by vacuum freeze-dried process

Sample		AP	BH	ST	YT ¹
EAI (m ² /g protein)	Control	19.5±3.1 ^{aC}	20.2±7.2 ^{aCD}	9.98±0.9 ^{bD}	12.2±2.1
	pH 2	14.3±0.6 ^{bC}	21.8±2.6 ^{aC}	17.5±1.8 ^{bC}	15.6±1.5
	pH 4	15.2±1.3 ^{aC}	11.5±5.5 ^{aD}	11.0±3.0 ^{aD}	10.7±2.0
	pH 6	17.3±4.6 ^{bC}	27.9±2.5 ^{aC}	12.0±1.0 ^{bD}	14.2±2.0
	pH 7	19.1±3.9 ^{aC}	23.9±2.3 ^{aC}	11.1±1.3 ^{bD}	10.8±1.5
	pH 8	19.9±0.9 ^{bBC}	39.0±7.2 ^{aB}	13.7±1.5 ^{bD}	12.6±1.7
	pH 10	25.0±4.1 ^{bAB}	62.7±6.7 ^{aA}	22.5±2.2 ^{bB}	21.6±1.7
	pH 12	30.1±2.7 ^{cA}	59.2±2.3 ^{aA}	38.7±3.2 ^{bA}	37.2±2.8
ESI (min)	Control	11.6±0.5	15.5±2.9	17.3±2.7	15.7±4.1
	pH 2	18.2±2.4	14.8±1.9	14.1±2.1	13.9±1.3
	pH 4	14.8±1.3	13.6±1.0	11.5±0.3	15.2±2.6
	pH 6	11.7±0.3	12.4±0.4	14.3±1.5	18.1±4.1
	pH 7	18.4±2.4	16.9±1.8	13.9±1.5	16.9±3.1
	pH 8	16.6±1.5	20.3±5.6	14.9±1.6	19.2±4.4
	pH 10	23.3±3.5	47.0±13.1	17.1±2.4	18.1±1.8
	pH 12	33.2±1.3	19.5±3.2	27.1±6.7	25.0±3.5

¹Quoted from Park et al., 2016. AP, Alaska pollock; BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna. Values represent the mean±SD of n=3, Means with different small letters same row and capital letters within same column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

다 우수하였으며, 가공처리 방법 및 어종 간의 차이는 있지만 대체로 pH 4-7사이의 유흡능이 상대적으로 대조군보다 낮은 것으로 나타났다. 이는 어종 간의 알의 특성 및 등전점 부근(pH 4-6)에서 완충능, 보수력, 단백질 용해도가 최소가 되어, 단백질의 응집이나 침전으로 인해, 거품 및 유흡 형성능에 영향을 미친 결과였다.

한편, 생성된 유흡층이 유지되는 시간으로 나타낸 대조구의 유흡안정성(ESI; min)은 AP는 11.6 min, BH의 경우 15.5 min 그리고 ST는 17.3 min으로, ST가 생성된 유흡층의 유지력이 더 오래 가는 것으로 나타났다. pH-shift 처리에 따른 유흡 안정성은 AP는 pH 6 (11.7 min)에서, BH는 pH 2-6 (12.4-14.8 min) 구간에서, 그리고 ST는 pH 2-10 (11.5-17.1 min) 구간에서 대조군과 유사하거나 다소 낮은 안정성을 보였으며, 그 외의 구간에서 AP는 14.8-33.2 min, BH는 20.3-47 min, 그리고 ST는 17.1-27.1 min으로 BH가 상대적으로 우수한 유흡안정성을 나타내었다.

pH-shift 처리에 따른 유흡안정성에 관한 보고에서, Park et al. (2016)은 15 mg/g protein 이상의 유흡능을 보이는 황다랑어 알 가열-건조 농축분말의 유흡 안정성은 18.2-20.3 min 그리고 양성 대조군으로서 egg white (16.3-26.2 mg/g of protein)의 경우 20.2-26.3 min의 유흡안정성을 나타낸다고 하였으며, 가다랑어 알 가열-건조 농축분말(Yoon et al., 2018b)의 경우는 18.1-20.1 min이라고 보고하였다. 아울러 분자량이 상대적으로 큰 peptide가 차지하는 비율이 높거나 소수성 peptide의 함량이 많을수록 유흡층의 안정성에 기여하게 되며, 균질화 과정에서 새로 형성된 oil 방울의 표면에 단백질과 peptide가 흡착됨으로써, oil 방울끼리의 결합을 방지하는 보호막들이 만들어져 유흡층이 형성된다(Dickinson and Lorient, 1994; Mutilangi et al., 1996). 또한, 저 분자량의 peptides는 양친매성(amphipathic)이 아니더라도 좋은 유흡 특성을 나타낼 수 있다(Chobert et al., 1988). 따라서 양친매성의 단백질 및 아미노산의 하전(charge)과 관련된 친수성(hydrophilic) 및 소수성(hydrophobic) 잔기의 작용으로 수중 유적형(oil in water)의 emulsion을 생성하는 것

으로 판단되었다.

어류 알로부터 진공 동결건조 농축분말(FRCs)은 어종에 따른 차이가 존재하기는 하지만, 완충능, 보수력, 용해도, 거품 및 유흡 형성능이 우수하여, 이러한 식품기능성이 적용 가능한 식품 가공 및 수산가공분야에 특히 제면, 제과제빵, 어육 소시지 또는 연제품의 단백질강화 및 식품기능성 개선소재 또는 대체소재로서의 이용이 가능할 것이다.

항산화 활성

진공 동결건조 FRCs의 항산화 및 항고혈압 활성에 대한 결과는 Table 3에 나타내었다. 항산화 및 항고혈압 활성을 측정하기 위한 4% FRCs 분산액의 단백질 농도는 4.5-5.6 mg/mL 범위였다. 먼저 DPPH 라디칼 소거활성(IC₅₀, mg protein/mL)은 YT (1.05 mg/mL)가 가장 강한 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으며, ST (1.34 mg/mL), BH (2.61 mg/mL) 및 AP (3.26 mg/mL) 순으로 어종별로 유의적인 차이가 있었다(P<0.05). Yoon et al. (2017)은 어류 알 가열처리 공정에서 발생한 자숙 가공처리수의 DPPH 라디칼 소거활성은 IC₅₀ 값이 0.54-0.82 mg/mL의 범위로서 어류 알 추출액(0.88-1.50 mg/mL)에 비하여 우수하다고 하였으며, Lee et al. (2017)의 등전점 용해/침전 공정에서 발생한 가공처리수의 경우, 알칼리 가용화에 이은 산 침전 조건 및 어종에 따라 소거활성에 차이가 있지만, 0.1-1.43 mg/mL 범위이라고 보고하여, 항산화 물질이 어류 알 가공처리 과정에서 가공처리수로 유리되는 것을 의미하였다. 붉은 대게 자숙수의 2단 효소 가수분해물의 DPPH 소거활성은 70.8%이었으며(Kang et al., 2007), yellow stripe trevally (Klompong et al., 2007) 및 sardinella (Bougatef et al., 2010)의 가공부산물, rohu 알(Chalamaiah et al., 2013)의 효소 가수분해물(0.5-1.0 mg/mL)의 DPPH 소거활성은 가공처리수의 DPPH 소거활성이 효소 가수분해물 보다 우수하다고 하였다(Yoon et al., 2017). 그러나 이들 보고들에 비하여 이 연구의 진공동결건조 FRCs의 소거활성은 상대적으로 낮은 수준이었다.

한편, ABTS⁺ 라디칼 소거활성(IC₅₀, mg protein/mL)에 있어서는 네 어종 모두 유의적인 차이를 보여 0.13-0.18 mg/mL 범위

Table 3. DPPH and ABTS radical scavenging, SOD-like activities, reducing power (RP) and angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of fish roe concentrates prepared by vacuum freeze-dried process

Sample	Protein ¹ (mg/mL)	IC ₅₀ (mg/mL)			EC ₅₀ (mg/mL)	IC ₅₀ (mg/mL)
		DPPH	ABTS	SOD-like	RP	ACE
AP	4.8±0.3 ^b	3.26±0.00 ^a	0.18±0.00 ^a	9.11±0.12 ^a	1.40±0.00 ^a	1.89±0.01 ^a
BH	5.6±0.2 ^a	2.61±0.00 ^b	0.13±0.00 ^d	5.69±0.40 ^c	0.53±0.00 ^d	1.80±0.02 ^b
ST	4.6±0.2 ^b	1.34±0.02 ^c	0.15±0.00 ^c	5.03±0.05 ^c	0.54±0.00 ^c	0.97±0.00 ^c
YT	4.5±0.1 ^b	1.05±0.00 ^d	0.17±0.00 ^b	7.82±1.24 ^b	0.85±0.00 ^b	0.92±0.01 ^d

¹Based on Lowry method (1951); IC₅₀, the half maximal inhibitory concentration; EC₅₀, effective concentration at which the absorbance is 0.5; AP, Alaska pollock; BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna; YT, yellowfin tuna; DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; ABTS, 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; SOD, superoxide dismutase-like activity; Data with different letter within the same column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

의 소거활성을 나타내었으며, 이들 중에서 BH가 가장 강한 소거활성을 나타내었다($P < 0.05$). 이 연구의 진공 동결건조 FRCs는 황다랑어(0.082 mg/mL; Yoon et al., 2018a) 및 가다랑어 알 분리단백질(0.103 mg/mL; Cha et al., 2020), 새우가공부산물의 효소가수분해물(0.16-0.17 mg/mL; Kim et al., 2016), 어류 알의 가공 중에 발생하는 가공처리수(0.033-0.16 mg/mL; Lee et al., 2017), 그리고 물 추출물(0.028-0.045 mg/mL) 및 자숙수(0.055-0.11 mg/mL; Yoon et al., 2017)에 비해서는 유사하거나 다소 낮은 소거활성을 나타내었다.

또한 SOD 유사활성(IC_{50} , mg/mL)의 경우, ST는 5.03 mg/mL로 가장 강한 활성을 나타내었으며, 다음으로 BH (5.69 mg/mL), YT (7.82 mg/mL) 그리고 AP (9.11 mg/mL)의 순으로 어종별 유의차는 인정되었다($P < 0.05$). 그러나 이들의 SOD 유사활성은 이 실험에 사용한 4% FRCs 분산액의 단백질 농도(4.5-5.6 mg/mL)에 비해 높은 수준의 실험값을 나타내었다. Yoon et al. (2017)은 어류 알 추출액(0.82-1.71 mg/mL)은 자숙 가공처리수(2.83-3.25 mg/mL)에 비하여 우수한 활성을 나타내어, 이러한 차이는 가열처리 과정에서의 단백질 변성에 의한 결과라고 보고한 바 있으며, Lee et al. (2017)의 어류 알 분리단백질 제조과정에서 발생한 가공처리수들은 1.15-2.91 mg/mL 범위의 활성을 나타내어, 이 연구의 FRCs에 비해 SOD 유사활성이 우수한 것으로 확인되었다.

환원력(EC_{50} , mg/mL)에 있어서도 BH와 ST (각각 0.53 및 0.54 mg/mL)가 YT (0.85 mg/mL) 및 AP (1.40 mg/mL)에 비해 우수한 환원력을 나타내었으며, 어종간의 유의적인 차이가 있었다($P < 0.05$). Yoon et al. (2017)의 어류 알 자숙 가공처리수(0.21-0.55 mg/mL)는 추출액(0.71-0.75 mg/mL)에 비하여 환원력이 우수하였고, Lee et al. (2017)은 어류 알 분리단백질 회수공정의 가공처리수는 0.51-0.85 mg/mL의 환원력을 나타낸다고 하여, 이 연구의 FRCs의 환원력에 비해 유사하거나 오히려 우수한 것으로 확인되었다.

이 연구에서의 50%의 라디칼 소거활성이나 저해활성을 나타내는 단백질농도로 나타낸 FRCs의 항산화 관련 활성은 ABTS⁺ 라디칼에 대해 가장 민감하게 반응하는 것으로 나타났으며, 그 다음으로 환원력, DPPH 라디칼 그리고 SOD 유사활성 순이었다. 어류 알 가공처리수(Lee et al., 2017; Yoon et al., 2017)의 경우에도 가공처리 방법(가열처리 및 산/알칼리처리)간에 유의적인 차이가 있지만, ABTS⁺ 라디칼, 환원력, DPPH 라디칼 그리고 SOD 유사활성 순으로 예민하게 반응한다고 보고한 바 있어, 이 연구 결과와 일치하였다. 또한 Li et al. (2012)의 보고에서, grass carp 가수분해물의 ABTS⁺ 소거활성이 DPPH의 소거 활성 비해 민감하다고 하였으며, zein (Tang et al., 2010)와 rohu 알(Chalamaiah et al., 2013)의 가수분해물의 결과에서도 유사한 경향이었다. 라디칼 소거 활성에 있어서는 아미노산 조성, 서열 및 소수성과 관련이 있으며, 환원력에 있어서는 아미노산 및 peptide의 조성, peptide의 길이, 아미노산 서열 등의

차이로 인해 환원력에 영향을 준다고 하였다(Wu et al., 2003).

ACE 저해활성

명태(AP), 넙치(BH), 가다랑어(ST) 및 황다랑어(YT) 알로부터 진공 동결건조를 통해 제조한 FRCs의 항고혈압 활성(ACE IC_{50} , mg protein/mL)은 YT가 0.92 mg/mL로 가장 강하였으며, ST (0.97 mg/mL), BH (1.80 mg/mL) 그리고 AP (1.89 mg/mL) 순으로 어종 간 유의적인 차이를 나타내었다(Table 3). 황다랑어(Yoon et al., 2018a) 및 가다랑어 알 분리단백질(Cha et al., 2020)의 ACE 저해활성은 각각 35.7% (1.3 mg/mL에서) 및 44.0% (1.5 mg/mL에서)의 저해활성을 나타내어 이 연구의 FRCs보다 저해활성이 유사하거나 다소 약한 것으로 확인되었다.

어류 알 추출액의 ACE 저해활성(IC_{50})은 1.12-1.63 mg/mL 범위로 ST와 YT가 상대적으로 BH에 비하여 ACE 저해활성이 우수한 반면에 자숙 가공처리수(1.04-1.31 mg/mL)의 경우는 BH (1.04 mg/mL)가 가장 저해활성이 강하다고 하였다(Yoon et al., 2017). 또한 Lee et al. (2017)의 어류 알로부터 등전점 용해/침전 공정을 통해 회수한 어종별 가공처리수는 1.52-2.00 mg/mL의 저해활성을 보인다고 하였으며, 가다랑어와 황다랑어 자숙수(Yeo et al., 1998) 및 멸치 자숙수(Ji et al., 2002)로부터 chromatography를 통한 active fraction의 ACE 저해능(IC_{50})은 각각 0.62 및 1 mg/mL라고 하여, 가공처리수의 분획 및 정제과정을 통해 ACE 저해활성이 개선된다고 하였다. 반면에 Oh et al. (2007)은 가다랑어, 문어 및 굴 자숙수의 가열처리 농축액의 ACE 저해활성은 매우 약하거나 나타나지 않았다는 보고도 있었다.

현재의 항고혈압 활성과 관련한 연구는 천연 ACE 억제 peptide에 대해 수산식품의 가식부에서 수산가공 부산물의 단백질 자원으로 그 연구범위가 확대되었다. 이러한 수산가공부산물의 단백질자원인 yellow sole 프레임(Jung et al., 2006), 가다랑어 알(Intarasirisawat et al., 2013) 그리고 태평양 대구 껍질(Himaya et al., 2012)의 효소가수분해물은 35-86%의 ACE 저해활성을 나타낸다고 보고하였다. 굴의 다양한 효소가수분해물의 경우, 1.49-16.31 mg/mL 범위로서, protamex 가수분해물이 가장 우수하다고 하였고(Chung et al., 2006), 효소분해 붉은 대게 자숙수(Kang et al., 2007)의 ACE 저해능은 1.40-1.74 mg/mL 범위라고 하였다.

이 연구결과와 보고를 통해, 진공 동결건조 FRCs의 ACE 저해활성은 어류 알 분리단백질, 가공처리수, 효소가수분해물과 이들의 부분정제 active fraction들보다 강하거나 유사한 활성을 나타내어, 앞서의 식품기능성과 더불어 항산화성 및 항고혈압 활성을 가지는 단백질 식품소재로서 이용가능성이 확인되었다.

사 사

이 논문은 2019년 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진

홍원의 지원을 받아 수행된 연구임(해역별 특성을 고려한 전통 수산가공식품 개발 및 상품화).

References

- An H, Peters MY and Seymour TA. 1996. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. *Trends Food Sci Technol* 7, 321-326. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)10035-2](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10035-2).
- Azadian M, Nasab MM and Abedi E. 2012. Comparison of functional properties and SDS-PAGE patterns between fish protein isolate and surimi produced from silver carp. *Eur Food Res Technol* 235, 83-90.
- Balaswamy K, Jyothirmayi T and Rao DG. 2007. Chemical composition and some functional properties of fish egg (roes) protein concentrate of rohu *Labeo rohita*. *J Food Sci Technol* 44, 293-296.
- 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. <https://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.
- Cha JW, Yoon IS, Lee GW, Kang SI, Park SY, Kim JS and Heu MS. 2020. Food functionalities and bioactivities of protein isolates recovered from skipjack tuna roe by isoelectric solubilization and precipitation. *Food Sci Nutr* 8, 1-14. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1470>.
- Chalamaiah M, Balaswamy K, Narsing Rao G, Prabhakara Rao P and Jyothirmayi T. 2013. Chemical composition and functional properties of mrigal *Cirrhinus mrigala* egg protein concentrates and their application in pasta. *J Food Sci Technol* 50, 514-520. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0357-5>.
- 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.
- 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. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(71\)90292-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(71)90292-9).
- Damodaran S. 1997. Protein-stabilised foams and emulsions. *Food proteins and their applications*. Marcel Dekker, New York, NY, U.S.A., 57-110.
- Dickinson E and Lorient D. 1994. Emulsions. In: E. Dickinson and D. Lorient (Eds.). *Food macromolecules and colloids*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, London, U.K., 201-274.
- Duan ZH, Jiang LN, Wang JL, Yu-XY and Wang T 2011. Drying and quality characteristics of tilapia fish fillets dried with hot air-microwave heating. *Food Bioprod Process* 89, 472-6. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.11.005>.
- Ezhilarasi PN, Indrani D, Jena BS and Anandharamakrishnan C. 2013. Freeze drying technique for microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality. *J Food Eng* 117, 513-520. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.009>.
- Gbogouri GA, Linder M, Fanni J and Parmentier M. 2004. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproduct hydrolysates. *J Food Sci* 69, 615-622. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09909.x>.
- Halling PJ and Walstra P. 1981. Protein stabilized foams and emulsions. *Crit Rev Food Sci Nutr* 15, 155-203.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.020>.
- Horax R, Hettiarachchy N, Kannan A and Chen P. 2011. Protein extraction optimisation, characterisation, and functionalities of protein isolate from bitter melon *Momordica charantia* seed. *Food Chem* 124, 545-550.
- Intarasirisawat R, Benjakul S and Visessanguan W. 2011. Chemical compositions of the roes from skipjack, tongol and bonito. *Food Chem* 124, 1328-1334.
- Intarasirisawat R, Benjakul S, Wu J, Visessanguan W. 2013. Isolation of antioxidative and ACE inhibitory peptides from protein hydrolysate of skipjack *Katsuwana pelamis* roe. *J Funct Foods* 5, 1854-1862.
- 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.
- Ji SJ, Lee JS, Shin JH, Park KH, Kim JS, Kim KS and Heu MS. 2011. Distribution of protease inhibitors from fish eggs as seafood processing byproducts. *Korean J Fish Aquat Sci* 44, 8-17.
- 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 hyperten-

- sive rats. *Food Chem* 94, 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.048>.
- 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 HJ, Yoon IS, Park SY, Kang SI, Kim JS and Heu MS. 2020. Food component characteristics of fish roe concentrates prepared by vacuum freeze-drying. *Korean J Fish Aquat Sci* in press.
- Kim SB, Yoon NY, Shim KB, Lim CW. 2016. Antioxidant and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities of northern shrimp *Pandalus borealis* by-products hydrolysate by enzymatic hydrolysis. *Fish Aquat Sci* 19, 1-6.
- Kinsella JE. 1976. Functional properties of proteins in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 7, 219-225.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>.
- Kristinsson HG and Rasco BA. 2000. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon *Salmo salar* muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *J Agric Food Chem* 48, 657-666.
- Kristinsson HG, Theodore AE, Demir N and Ingadottir B. 2005. A comparative study between acid-and alkali-aided processing and surimi processing for the recovery of proteins from channel catfish muscle. *J Food Sci* 70, 298-306. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07177.x>.
- Kurozawa LE, Terng I, Hubinger MD and Park KJ. 2014. Ascorbic acid degradation of papaya during drying: Effect of process conditions and glass transition phenomenon. *J Food Eng* 123, 157-164. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.08.039>.
- Lee GW, Yoon IS, Kang SI, Lee SG, Kim JI, Kim JS and Heu MS. 2017. Functionality and biological activity of isolate processed water generated during protein isolate preparation of fish roes using an isoelectric solubilization and precipitation process. *Korean J Fish Aquat Sci* 50, 694-706. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0694>.
- Lee HJ, Lee GW, Yoon IS, Park SH, Park SY, Kim JS and Heu MS. 2016. Preparation and characterization of protein isolate from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe by isoelectric solubilization/precipitation process. *Fish Aquat Sci* 19, 1-10. <https://doi.org/10.1186/S41240-016-0014-Z>.
- 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. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4574>.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.01.011>.
- Mohamed BKF, Xia W, Issoufou A and Qixing J. 2012. Influence of pH shift on functional properties of protein isolated of tilapia *Oreochromis niloticus* muscles and of soy protein isolate. *Food Bioprocess Tech* 5, 2192-2200.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.04.005>.
- Mutilangi WAM, Panyam D and Kilara A. 1996. Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. *J Food Sci* 61, 270-274.
- Narsing Rao G and Govardhana Rao D. 2010. Chemical and functional characterization of Gum karaya (*Sterculia urens* L.) seed meal. *Food Hydrocoll* 24, 479-485.
- Narsing Rao G, Prabhakara Rao P, Satyanarayana A and Balaswamy K. 2012. Functional properties and in vitro antioxidant activity of roe protein hydrolysates of *Channa striatus* and *Labeo rohita*. *Food Chem* 135, 1479-1484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.098>.
- Narsing Rao G. 2014. Physico-chemical, functional and antioxidant properties of roe protein concentrates from *Cyprinus carpio* and *Epinephelus tauvina*. *J Food Pharm Sci* 2, 15-22.
- 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.
- 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. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0242-0>.
- Sikorski ZE and Naczki M. 1981. Modification of technological properties of fish protein concentrates. *Crit Rev Food Sci Nutr* 14, 201-230.
- Sikorski ZE. 1994. Seafood proteins. The contents of proteins and other nitrogenous compounds in marine animals. Sikorski ZE, Pan BS, Shahidi F editors. Chapman and Hall; New York, NY, U.S.A., 6-12.
- Tan ES, Ngho YY and Gan CY. 2014. A comparative study of physicochemical characteristics and functionalities of pinto bean protein isolate (PBPI) against the soybean protein isolate (SPI) after the extraction optimisation. *Food Chem* 152,

- 447-455. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.008>.
- Tang XY, He ZY, Dai YF, Xong YL, Xie MY and Chen J. 2010. Peptide fractionation and free radical scavenging activity of zein hydrolysate. *J Agric Food Chem* 58, 587-593. <https://doi.org/10.1021/jf9028656>.
- Wu HC, Chen HM and Shiau CY. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel *Scomber austriasicus*. *Food Res Int* 36, 949-957. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00104-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00104-2).
- 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, Kang SI, Park SY, Cha JW, Kim DY, Kim JS and Heu MS. 2018a. Physicochemical properties of alkaline-insoluble fractions recovered from bastard halibut *Paralichthys olivaceus* and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* roes by alkaline solubilization. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 230-237. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0230>.
- Yoon IS, Kim JS and Heu MS. 2018c. Food functionality of collagenous protein fractions recovered from fish roe by alkaline solubilization. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 351-361. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0351>.
- 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>.
- Yoon IS, Lee GW, Kang SI, Park SY, Lee JS, Kim JS and Heu MS. 2018b. Chemical composition and functional properties of roe concentrates from skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* by cook-dried process. *Food Sci Nutr* 6, 1276-1286. <https://doi.org/10.1002/fsn3.676>.
- You L, Zhao M, Cui C, Zhao H and Yang B. 2009. Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach *Misgurnus anguillicaudatus* protein hydrolysates. *Innovative Food Sci Emerging Technol* 10, 235-240. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.08.007>.