

Fish Roe Concentrates의 제조과정 중에 발생하는 Processed Waters의 식품기능성과 생리활성

윤인성^{1,3} · 이균우^{1,3} · 강상인^{2,3} · 박선영^{2,3} · 김진수^{2,3} · 허민수^{1,3*}

¹경상대학교 식품영양학과/해양산업연구소, ²경상대학교 해양식품생명 의학과/해양산업연구소, ³경상대학교 수산식품산업화 기술지원센터

Food Functionality and Biological Activity of Processed Waters Produced during the Preparation of Fish Roe Concentrates by Cook-dried Process

In Seong Yoon^{1,3}, Gyoon-Woo Lee^{1,3}, Sang In Kang^{2,3}, Sun Young Park^{2,3}, Jin-Soo Kim^{2,3} and Min Soo Heu^{1,3*}

¹Department of Food and Nutrition/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

²Department of Seafood and Aquaculture Science/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

³Research Center for Industrial Development of Seafood, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

This study evaluated the protein recovery and functional properties and biological activity of boiled and steamed process water (BPW and SPW, respectively) generated from the preparation of concentrated roe of bastard halibut (BH; *Paralichthys olivaceus*), skipjack tuna (ST; *Katsuwonus pelamis*), and yellowfin tuna (YT; *Thunnus albacares*) using the cook-dry process. The protein loss from the water extracts (EXT) of 100 g of roe protein was 15.05-19.71% and was significantly ($P < 0.05$) higher than that of BPW (5.47-10.34%) and SPW (3.88-8.18%). The foam capacity of BPW (166-203%) and SPW (15-194%) was better than that of EXT. The emulsifying activity index of the original samples was lower than those (15.40-107.86 m²/g) of diluted protein samples. The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and the reducing power of BPW and SPW were stronger than those of EXT. The 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS⁺) radical scavenging activity of EXT (0.028-0.045mg/mL) was significantly higher those of BPW and SPW. The angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of SPW was the highest for BH (1.04 mg/mL), followed by YT and ST. The predominant amino acids in SPW were Glu, Ala, Leu, and His. These results demonstrate that processing water containing diluted organic components, including protein, can be consumed directly by humans as a functional reinforcing material after appropriate concentration processes.

Key word: Fish roe concentrate, Processed water, Food functionality, Biological activity, Tunas

서론

어류, 갑각류, 패류, 연체류 등의 원료 수산물의 가공과정 중에는 “process wastewaters”라는 수세수, 가열처리수(또는 자숙수), 압착수 등의 액상의 가공부산물(100 tons의 수산물 원료에 대해 평균유속 1100 tons/h의 가공처리수를 사용)이 대량으로 발생 한다(Afonso and Borquez, 2002; Dumay et al., 2008). 이

러한 수산식품 가공과정에서 발생 가공처리수(process waters)는 유기물 부하가 높기 때문에 환경에 부정적인 영향을 미치지 않도록 효과적인 처리 없이 배출하는 것은 환경오염의 원인이 된다. 그러나 이러한 가공처리수는 잠재적으로 이용가치가 높은 유기성분 및 단백질 성분이 다량 함유되어있다.

수산 가공처리수중에 수세수(wash water)는 surimi 제조 시 어육 중의 지질 성분과 수용성 물질(비타민 및 색소)과 단

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0506>



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(5) 506-519, October 2017

Received 18 August 2017; Revised 10 September 2017; Accepted 18 September 2017

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

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

백질 성분(sarcoplasmic protein, amines, enzymes)의 대부분이 제거 될 때까지 수세와 탈수하는 과정에서 다량 발생하며 (Afonso and Borquez, 2002; Dumay et al., 2008), Watanabe et al. (1982)은 surimi 제조시 어육 중량당 약 10-20배의 수세수가 발생하고, 이들 중에는 2-5 g/L의 수용성 단백질이 함유되어 있으며, 수세 및 탈수과정에서 총 단백질의 30% 정도가 손실된다고 하였다. 어육 fillet 가공 시에는 원료 중량에 대해 10-30배의 가공처리수가 사용되고, 이 과정에서 어육 단백질의 5-12%가 손실되며, 특히 어육과 직접 물이 닿는 fillet machine내에서의 초기 가공처리수의 단백질함량이 높다고 하였다(Afonso and Borquez, 2002). Lobster의 자숙수에는 0.11%의 단백질 성분과 0.025%의 지질성분이 함유되었다고 보고하였다(Dumay et al., 2008). 새우가공 중에는 가공원료 중량당 50배의 가공수가 사용되며, 희석상태의 단백질성분이 0.1-0.6 g/L 함유되어 있어, 이를 가열 농축하여 새우향미 소재로 이용하고자 한 보고 (Dumay et al., 2008), 굴 수세액 (Kim and Heu, 2001b; Kim et al., 2001a) 및 자숙액(Kim and Heu 2001a; 2001b)을 농축 및 분말화한 인스턴트 수프의 제조 및 품질안정성에 대하여 연구가 있으며, 대합의 3차 수세수를 clam juice (Hood et al., 1976)와 탈수 clam flavour (Joh and Hood, 1979)로 이용하고자 연구, 굴, 참치 및 문어 자숙액의 식품 성분 특성과 건강기능 특성에 대한 보고(Oh et al., 2007) 그리고 붉은 대게 자숙액 및 효소가수분해물의 영양성분과 건강기능 특성에 대한 연구(Kang et al., 2007) 그리고 오징어 자숙액(Cho et al., 2000)의 타우린 함량에 관한 연구 등이 있다. 이상의 연구보고에 따르면 가공처리수로부터 유용 성분의 회수 방안에 대한 연구가 대부분이며, 일부 분말화하여 향미소재나 인스턴트 수프의 첨가물로 이용하고자 하는 연구와 농축 가공처리수로부터 제조한 효소가수분해물의 건강기능성에 대한 연구가 있을 뿐이다. 따라서 수산가공 공정에서 가공처리수 자체의 식품기능성 및 건강기능성에 초점을 맞춘 효용성 및 그 가치에 대한 연구는 거의 없으며, 이에 대한 연구가 요구된다.

한편, 수산가공산업에서 수산물의 가공 중에 머리, 껍질, 비늘, 내장, 그리고 알과 같은 다양한 고품형상의 가공부산물이 다량으로 발생하며, 전체중량의 30-60%를 차지한다(Narsing Rao et al., 2014; Klomklao and Benjakul, 2016). 이러한 수산가공 부산물은 그 일부만이 어유(fish oil), 어분(fish meal), 동물사료, 질소성분 비료 등으로 이용되고 있을 뿐이다(Dong and Bechtel, 2010). 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 재자원이지만, 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 단백질자원 및 식품소재로서의 이용을 위하여, 어류 알로부터 분말농축물의 제조(Lee et al., 2016)

와 그 식품기능특성(Park et al., 2016)에 대해 연구를 수행한 바 있지만, 이의 제조과정에도 2차가공부산물인 가열처리 가공수가 발생하였다.

따라서 이 연구에서는 넙치(BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*), 가다랑어(ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*) 및 황다랑어(YT, yellowfin tuna *Thunnus albacare*) 알로부터 분말농축물의 제조 시 발생하는 가열처리 가공수(boiled process water 및 steamed process water)에 대하여 거품 및 유화형성능에 따른 식품기능특성과 항산화 활성 및 항고혈압활성에 대하여 살펴 봄으로서, 수산가공산업에서 가공처리수의 하나의 모델로서 식품 및 건강기능적인 측면의 가치에 대해 조명하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

넙치(BH, *Paralichthys olivaceus*) 알은 통영시 소재 수산시장에서 구입하였으며, 가다랑어(ST, *Katsuwonus pelamis*) 및 황다랑어(YT, *Thunnus albacares*) 알은 창원시 소재 동원산업(Dongwon F&B Co., Ltd. Changwon, Korea)으로부터 동결상태의 알을 분양을 받아 사용하였다. 동결된 알은 4℃에서 24 h동안 부분 해동하여 약 1.5 cm 크기로 세절하고 food grinder (SFM-555SP, Shinil Industrial Co., Ltd., Seoul Korea)로 마쇄하였다. 마쇄한 알은 다시 -20℃에 보관하면서 실험에 사용하였다.

어류 알 concentrate는 Lee et al. (2016)의 방법에 따라 가열-건조공정(boiled 및 steamed process)을 통해 제조하였으며, 이때 발생하는 processed waters로서 boiled process water (BPW)와 steamed process water (SPW)를 본 실험의 재료로 사용하였다. 즉, 100 g의 마쇄한 알을 파우치 type tea bag (polyethylene polypropylene, 16 × 14.5 cm)에 담아 5배량의 탈 이온수에 침지한 다음, 시료의 중심온도가 80℃가 되는 시점부터 20 min동안 삶기(boiled process)를 하였으며, 또한 동일하게 준비한 다른 시료는 수증기로 찌기(steamed process)를 중심온도가 80℃가 되는 시점부터 20 min동안 실시하였다. 이 과정을 통해 액상의 가공부산물인 BPW와 SPW를 각각 얻었다. 아울러 마쇄한 알 100 g에 5 배량의 탈 이온수를 가하여 균질화한(POLYTRON® PT 1200E, KINEMATICA AG, Luzern, Switzerland) 다음, 원심분리(Supra 22K, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Incheon, Korea, 12,000 g, 4℃, 20 min)하여 얻은 상층액을 대조구로서 알 추출물(EXT, water extract)을 제조하였다.

단백질

가열처리 공정 중에 발생하는 가공수(processed water)로서 BPW와 SPW의 단백질 농도는 Lowry et al. (1951)의 방법에

따라 표준단백질로서 bovine serum albumin을 사용하여 구한 검량선을 통해 측정하였다. 또한 넵치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알(Roe)의 단백질함량은 semi-micro Kjeldahl법(AOAC, 1995)으로 측정하였다.

전기영동

시료의 단백질 분자량 분포는 Laemmli (1970)의 방법에 따라 sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 측정하였다. 즉, 시료액은 SDS-PAGE 시료조제용 완충액[2% SDS (w/v), 10% glycerol (v/v), 2% β-mercaptoethanol (v/v) 및 0.002% bromophenol blue (w/v)을 함유하는 62.5 mM Tris-HCl buffer pH (6.8)]과 4:1 (v/v) 비율로 혼합한 후, 100℃에서 3 min 동안 가열하여 조제하였다. 이렇게 준비한 시료(20 μg의 단백질)는 10% Mini-PROTEAN® TGX™ Precast gel (Bio-Rad Lab., Inc., California, USA)에 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.

총 아미노산

각 시료의 총 아미노산분석은 AOAC 법(AOAC 1995)에 따라 측정하였다. 즉, 각 액상의 시료(2.5 mL)는 진한 염산(12 N HCl)과 동량으로 혼합한 후, 110℃의 heating block (HF21; Yamoto Science Co, Tokyo, Japan)에서 24 h동안 가수분해를 실시하였다. 시료의 가수분해물은 glass filter를 장착한 감압여과장치(ASPIRATOR A-3S, EYELA, Tokyo, Japan)로 여과한 다음, sodium citrate buffers (pH 2.2)로 50 mL로 정용 하였다. 이렇게 제조한 시료는 0.2 μm syringe filter (13HP020AN, Hydrophilic type, AVANTEC, Tokyo, Japan)로 여과하여 아미노산 분석기(model 6300; Biochrom 30, Biochrom Ltd., Cambridge, UK)로 총 아미노산을 분석하였으며, 분석 결과는 100 g 단백질에 대한 개별 아미노산의 mg 함량으로 나타내었다.

거품성 및 거품안정성

시료의 거품성(FC, forming capacity)과 거품안정성(FS, form stability)은 Thiansilakul et al. (2007)의 방법을 다소 수정한 Park et al. (2016)에 따라 측정하였다. 즉, 10 mL 시료용액은 25 mL의 메스실린더에 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.

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

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

이때 VT는 균질후 총 부피, V₀는 균질전의 총 부피, FT는 균질 직후 거품의 부피, Ft와 Vt는 주어진 시간(t = 15, 30 and 60 min) 경과 후의 거품부피 및 총 부피를 각각 나타낸다.

유화능과 유화안정성

유화능(EAI, emulsifying activity index)과 유화안정성(ESI, emulsion stability index)은 Pearce and Kinsella (1978)의 방법을 다소 수정한 Park et al. (2016)에 따라 측정하였다. 각 시료는 식용유 (soybean oil, Ottogi Co., Ltd., Seoul, Korea)와 1:3 (v/v)의 비율로 혼합하여 균질화한(12,500 rpm, 1 min) 다음, 균질액이 담긴 메스실린더의 아래쪽에서 일정량(50 μL)의 emulsion을 취하여 5 mL of 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) 용액과 혼합하였다. 이 혼합액은 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)를 사용하여 500 nm 파장에서 균질화한 직후의 흡광도(A0min)와 10분경과 후의 흡광도(A10min)를 측정하여 아래의 식으로 각각 EAI (m²/g protein)와 ESI (min)를 구하였다.

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

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

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

여기서 ΔA는 A_{0min}에 대한 A_{10min}의 흡광도의 차이, Δt는 10 min를 의미한다.

DPPH 라디칼 소거활성

각 시료의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성은 Blois (1958)의 방법을 수정하여 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, IC₅₀ 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(control517)는 시료용액 대신 탈이온수를 가하여, 측정된 흡광도를 나타낸다.

ABTS⁺ 라디칼 소거 활성

2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS⁺) 라디칼 소거활성은 Binsan et al. (2008)의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 먼저 각각 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulfate 용액을 제조한 다음, 동량 혼합하여 실온의 암소에서 12 h 동안 반응시킨 용액을 사용하였다. 이 실험용액(2 mL)은 50 mL의 ethanol과 혼합한 다음, 파장 734 nm (UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)에서의 흡광도가 1.00 ± 0.02 units이 되도록 하여, ABTS⁺ 용액을 최종적으로 제조하였으며, 이 용액은 실험 직전에 바로 제조하여 사용하였다. 각 시료용액(1 mL)은 3 mL의 ABTS⁺ 용액과 혼합하여, 실온의 암소에서 30 min 동안 반응시킨 후, 파장 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS⁺ 라디칼 소거활성(%)은 아래의 식으로 계산하였으며, IC₅₀ value (mg/mL)는 50%의 ABTS⁺ 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(control₇₃₄)는 시료용액 대신 탈이온수를 가하여, 측정된 흡광도를 나타낸다.

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성

SOD 유사활성은 Marklund and Marklund (1974)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 500 μ L의 각 시료용액은 500 μ L of 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 μ L of 1 N HCl를 가하여 반응정지 시키고, 파장 420 nm (UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)에서 흡광도를 측정하여 아래의 식을 통해 SOD 유사활성(%)을 계산하였다.

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

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 흡광도를 나타낸다.

환원력

각 시료용액의 환원력(RP, reducing power)은 Oyaizu (1988)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 각 시료용액(1 mL)은 1 mL의 0.2 M sodium phosphate 완충액 (pH 6.6)과 1 mL의 1% (w/v) potassium ferricyanide을 혼합하여 50°C의 항온수조에서 20 min 동안 반응시켰다. 이어서 1 mL의 10% (w/v) trichloroacetic acid (TCA)를 가해 반응정지하고, 원심분리(1,890 g, 10 min)하였다. 1.5 mL의 상층액은 1.5 mL의 탈이온수와 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 EC₅₀값(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 μ L의 시료용액은 900 μ L의 mushroom tyrosinase (50 Unit/mL)와 1.5 mL of 50 mM phosphate buffer (pH 6.8)을 혼합하여 실온에서 30 min 동안 전 단계 반응을 실시한 후, 300 μ 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.

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

여기서 대조구(control₄₇₅)는 시료 대신 탈이온수 가하여 측정된 흡광도를 의미한다.

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) 저해활성

ACE 저해활성은 Cushman and Cheung (1971)의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 100 μ L의 시료용액, 50 μ L의 ACE extracts (rabbit lung acetone powder, Sigma-Aldrich Co. LLC, St. Louis, MO) 그리고 50 μ L의 0.05 M sodium borate 완충액(pH 8.3)을 혼합한 반응액은 실온에서 30 min 동안 전 단계 반응을 실시한 다음, 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 min 동안 반응을 진행하였다. 효소반응의 정지는 250 μ L of 1 N HCl을 가하여 실시하였으

며, 이어서 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 1 h동안 ethyl acetate를 완전히 증발시킨 다음, 유리된 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, IC₅₀값(mg/mL)은 ACE 활성의 50%를 저해하는 시료의 농도로 정의하였다.

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

이때의 sample blank는 시료에 1 N HCl을 가하여 반응정지시킨 후, HHL을 첨가해 측정할 흡광도이며, control blank는 시료 대신 탈이온수와 1 N HCl을 혼합한 다음, HHL을 가하여 측정할 흡광도를 나타낸다.

통계처리

모든 실험은 3회 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 다중위검정법으로 최소유의차검정(P<0.05)을 실시하였다.

결과 및 고찰

단백질 회수율

Table 1은 넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알 농축물(roe concentrate)의 제조과정 중에 발생하는 가공처리수(processed water)의 단백질 회수율(시료의 기준에서는 단백질 손실율)에 대하여 나타낸 것이다. 먼저, 시료인 어류 알의 단백질 함량은 BH가 18.21, ST는 20.42 그리고 YT는 18.27 g/100 g이었다. 이들 어류 알로부터 5배량의 탈 이온수를 가해 얻어진 알 추출물인 EXTs는 581-669 mL의 범위 이었으며, 삶기 공정(boiled process)에서 얻어진 BPWs의 경우는 83-105 mL 수준 그리고 찌기 공정(steamed process)에서 얻어진 SPWs는 95-103 mL 수준이었다.

100 g 어류 알에 대하여 EXTs의 총 단백질함량은 각각 3.59 (BH), 3.11 (ST) 그리고 2.75 g/100 g (YT) 이었으며, 이때, 단백질의 회수율 또는 손실율(Protein loss, %)은 각각 19.1(BH), 15.23(ST) 그리고 15.05% (YT)이었다. 백색육 어류인 넙치가 회유성 혈함육 어류인 다랑어류에 비해 단백질의 손실율이 높은 것으로 나타났다.

한편, 삶기 공정의 BPWs는 1.11-1.88 g/100 g의 단백질 함량 범위를 나타내었으며, 찌기 공정의 SPWs (0.71-1.49 g/100 g)

Table 1. Protein recovery (% w/v) of processed waters obtained from fish roe during cook-dried process

| Sample | Volume (mL/100 g roe) | Protein ¹ (mg/mL) | Total protein (g/100 g roe) | Protein loss (%) |
|--------|-----------------------|------------------------------|-----------------------------|--------------------|
| BH Roe | | | 18.21 | 0.00 |
| EXT | 669.03 | 5.36 | 3.59 ^a | 19.71 ^a |
| BPW | 105.11 | 17.91 | 1.88 ^b | 10.34 ^b |
| SPW | 97.79 | 15.27 | 1.49 ^c | 8.18 ^c |
| ST Roe | | | 20.42 | 0.00 |
| EXT | 646.44 | 4.81 | 3.11 ^a | 15.23 ^a |
| BPW | 95.29 | 13.52 | 1.28 ^b | 6.31 ^b |
| SPW | 103.32 | 8.10 | 0.84 ^c | 4.11 ^c |
| YT Roe | | | 18.27 | 0.00 |
| EXT | 581.64 | 4.72 | 2.75 ^a | 15.05 ^a |
| BPW | 83.08 | 12.02 | 1.00 ^b | 5.47 ^b |
| SPW | 95.83 | 7.40 | 0.71 ^c | 3.88 ^c |

¹Based on Lowry et al. method (1951). BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; EXT, water extract; BPW, boiled process water; SPW, steamed process water. Values are mean of triplicate determination. Means with different letters within the same sample are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

에 비하여 유의적으로 높았다 (P<0.05). 이는 삶기 공정(BPW)이 찌기 공정(SPW)에 비해 시료와 가공처리수가 접촉되는 표면적이 상대적으로 넓어, 용해되어 유리되는 아미노산 및 단백질 등의 유기성분의 함량이 많아진 것에 기인하는 것으로 판단되었다.

가공처리수의 이용측면에서 단백질성분의 회수율(어류 알의 측면에서는 단백질 손실율)은 EXTs (15.05-19.71%)에 비하여 가열처리 공정(BPWs 및 SPWs)이 상대적으로 조직 단백질의 가열 변성 및 응고로 인한 유리되는 단백질성분의 함량이 적어 손실율(3.88-10.43%)이 낮은 것으로 확인되었다. 이 실험결과 어종 및 가열처리 공정에 따라 단백질 성분의 농도 및 함량에는 차이가 있었으며, 이들 가공처리수에는 약 4% 이상의 단백질이 함유되어 있는 것으로 확인되었다. 수산원료의 처리에 있어서, 어획 단계에서의 간단한 수세 및 가공공장에서 원료의 전처리 및 수세공정 등에서 수세수가 발생하게 되고, 가열처리 공정에서 발생하는 가공수 등 다양한 액상의 가공부산물(liquid byproducts)이 발생한다. 이들 가공부산물에는 주로 sarcoplasmic protein, 효소, 혈액 등의 단백질성분 및 지질성분을 함유하고 있다(Dumay et al., 2008). Cho et al. (2000)은 오징어 탈피 수세수와 자숙수의 단백질 함량은 각각 1.1%와 0.6%라고 하였으며, 오징어 단백질의 5.5% 및 3.0%를 차지하였다. Kim et al. (2001b)은 식품소재로서 굴 수세수 및 자숙수

의 단백질함량은 0.4% 및 0.8%이었고 자숙수의 단백질 함량이 높다고 보고하였다. 가다랑어, 문어 및 굴 자숙수의 단백질함량은 각각 3.64, 1.48 및 1.36 g/100 mL이었으며(Oh et al., 2007), 붉은 대게 자숙수의 단백질함량은 12.2%라고 보고한 바 있다(Kang et al., 2007).

수산가공산업에서의 가열처리 공정은 참치, 굴, 대합 등과 같은 통조림 원료의 경우 주로 레토르트를 이용하여 살균공정을 동반한 고온가압의 찌기 공정을 통해 가열처리가 이루어지며(Hood et al., 1976; Yeo et al., 1998; Kim and Heu, 2001a; Oh et al., 2007), 갑각류의 경우도 찌솥을 이용한 찌기 공정(Kang et al., 2007)을, 일부 문어와 오징어 등의 연체류는 원료를 찌지하여 삶기 공정(Cho et al., 2000; Oh et al., 2007)을, 건멸치의 경우 선상에서 해수로 직접 단시간 삶기 공정을 통한 가열처리(Ji et al., 2002)를 하게 된다. 또한 수세 및 가열처리공정을 통해 원료 중량당 단백질의 손실은 5-30% (Watanabe et al., 1982; Afonso and Borquez, 2002)에 이른다. 이 공정에서 원료 중량당 10-50배의 수세수 및 가열처리 가공수가 발생하고 가용성 단백질성분 및 지질성분이 2-5 g/L (약 0.2-0.5 %)이 함유되어 있다(Watanabe et al., 1982; Dumay et al., 2008). 이상의 실험결과와 연구보고에 따르면, 어류 알 가열처리 공정에서 발생하는 가공처리수(BPWs와 SPWs)에는 단백질성분의 이용 가능성이 높은 것으로 판단되었으며, 이를 이용하고자하는 노력이 절실하다. 따라서 이 연구에서는 이들 가공처리수의 식품기능성 및 생리활성에 초점을 맞춰 그 이용가치에 대해 살펴보고자 하였다.

단백질 분자량 분포(SDS-PAGE)

넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알의 가공처리수의 SDS-PAGE에 의한 단백질분자량 분포는 Fig. 1에 나타내었다. 넙치 알 (roe)의 단백질분포(Lane 1)은 100-10 K 범위에서 9개의 단백질밴드의 분포가 확인되었으며, 각각 100-75 K에서 3개의 밴드, 75-50 K 사이에서 3개의 밴드가, 그리고 25-10 K 범위에서 3개의 밴드가 관찰되었다. 넙치 EXT의 단백질분포(Lane 2)은 100-75 K 범위에 3개의 밴드, 75-25 K 사이의 범위에서 5개의 밴드가 그리고 20-10 K 범위에서 밴드를 형성 하지 않았다. BH 알과 EXT간의 단백질 분포는 50-25 K와 15-10 K 범위에서 다소 차이가 있었다. BH의 BPW (Lane 3) 및 SPW (Lane 4)의 단백질분포는 250 K에서 하나의 가늘고 명확한 밴드가 확인되었으며, 37-20 K 범위에는 희미하게 단백질의 분포가 인지되었고, 20-10 K 및 10 K 이하에서 진하게 단백질 분포가 확인되었다. 또한 BPW와 SPW 간에는 단백질의 분포에는 거의 차이가 없었으며, 이들의 단백질농도 차이에 따른 단백질의 발색 정도에서 차이가 있을 뿐이었다.

가다랑어(ST) 알의 단백질분포(Lane 5)는 250-100 K 범위에서 단백질의 분포가 확인되었으나 밴드를 형성하지는 않았다. 100-75 K 범위에 명확한 2개의 밴드, 37 K, 25 K 및 15 K 부근에

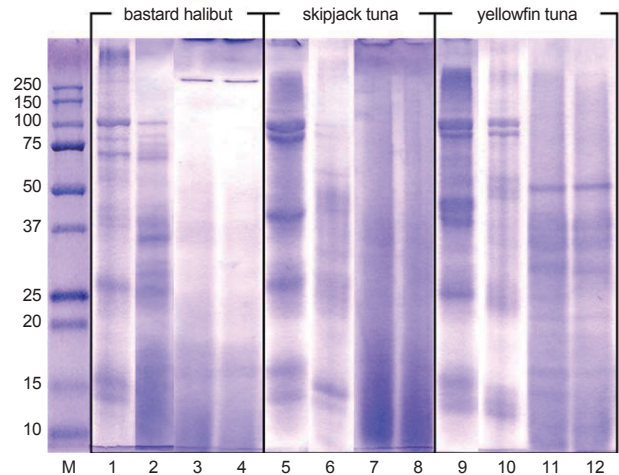


Fig. 1. SDS-PAGE pattern of processed waters obtained from fish roe during cook-dried process. M, molecular weight maker; Lane 1, 5 and 9 for fish roes; Lane 2, 6 and 10 for water extract (EXT); Lane 3, 7 and 11 for boiled process water (BPW); Lane 4, 8 and 12 for steamed process water (SPW).

서 각각 하나의 밴드가 관찰되었고, 15-10 K 범위에서도 2개의 밴드가 확인되었다. 가다랑어(ST) EXT의 단백질분포(Lane 6)는 100-75 K 범위에 희미한 2개의 밴드, 50 K 부근의 희미한 2개의 밴드가 확인 되었으며, 50-37 K 및 25 K 부근에서 단백질 분포가 관찰되었고, 15 K 범위에서 희미한 2개의 단백질 밴드가 확인되었다. ST의 BPW (Lane 7) 및 SPW (Lane 8)의 단백질 밴드는 37-20 K 범위에는 희미하게 단백질의 분포가 인지되었고, 20-10 K 및 10 K 이하에서 진하게 단백질 분포가 확인 되었다. 또한 BPW와 SPW 간에는 단백질의 분포에는 거의 차이가 없었다.

황다랑어(YT) 알의 단백질분포(Lane 9)는 250-100 K 범위에서 넓은 단백질 밴드의 분포가 관찰되었으며, ST (Lane 5)와 마찬가지로 100-75 K 범위에 명확한 2개의 밴드가 관찰되었으나, 50-37 K 범위에서 2개의 명확한 밴드가 확인되어 ST (Lane 5)와는 다소 차이를 보였다. 그러나 ST (Lane 5)와 같이 저 분자량 25 K 및 15 K 부근에서 각각 하나의 밴드가 관찰되었고, 15-10 K 범위에서도 2개의 희미한 밴드가 확인되었다. YT의 EXT (Lane 10)는 YT 알(Lane 9)과 유사한 단백질밴드의 분포를 보였으며, 100-75 K 범위에서 2개의 밴드가 선명하게 관찰되었다. YT의 BPW (Lane 11) 및 SPW (Lane 12)의 단백질분포는 50 K 부근에서 명확한 하나의 밴드가 확인되었으며, 37-25 K 범위에는 희미하게 3개의 단백질밴드가 인지되었고, 25-20 K, 15 K 및 10 K 부근에서 희미한 단백질 밴드가 관찰되었다. 이들 BPW와 SPW간에는 단백질밴드의 분포에는 두드러진 차이가 없었다. 이상의 SDS-PAGE에 따른 단백질의 분자량분포는 어종 간의 차이가 확인되었으며, 어종 별 가공처리수간에도 확

연한 차이가 관찰되었다. 또한 250 K이상의 단백질분포는 가열 처리 공정 중에 일어난 알 단백질의 응집(agggregation)이나 응고(coagulation)에 의한 것이라 판단되었다. 한편 100-75 K 범위에서 관찰된 단백질 밴드는 skipjack, tongol 및 bonito roes 그리고 egg yolk (Intarasirisawat et al., 2011)에서 확인된 97 K의 단백질 분자량을 갖는 vitellin like protein이라 추정되었다. 아울러 50-37K 범위와 15 K 부근의 단백질 밴드는 각각 actin, troponin-T 및 myosin light chain (MLC), 추정되었으며, 10 K 이하의 단백질분포는 어류 알의 가열처리 공정 중에 유리된 가용성 단백질 일 것으로 판단되었다. Balaswamy et al. (2011)은 carp의 roe protein concentrates는 저 분자량 및 중간 분자량의 단백질 분포를 나타낸다고 하였으며, 이들의 주요 밴드의 분포는 45-116 K 사이라고 보고하였다. Sathivel et al. (2009)은 분무 건조한 catfish roe 단백질분말은 40-100 K 범위에 분자량 분포를 보이는 단백질이 존재한다고 하였다. 이상의 결과와 보고를 통해서 어류 알의 단백질 분포는 어종의 간의 차이는 있지만, 100-37 K 분자량 범위에 주요 단백질이 분포하고 있다는 사실을 확인할 수 있었다. 그리고 가공처리수의 경우 15 K 이하의 저 분자량의 가용성 단백질이 분포하는 것이 관찰되어, 거품성 및 유화능과 같은 식품기능성이 기대되었다.

거품 형성능

넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알 농축물의 제조과정 중에 발생하는 가공처리수(processed water)의 식품 기능성으로서 거품 및 유화 형성능에 대한 결과는 Table 2에 나타내었다. 거품성(FC, foaming capacity)의 경우, 어류 알의 EXTs는 각각 116.67% (BH), 152.36% (ST) 그리고 161.16% (YT)이었으며, BPWs는 각각 166.32% (BH), 203.90% (ST) 및 181.20% (YT)이었고, SPWs는 각각 158.74% (BH), 194.91% (ST) 및 183.57% (YT)로서 동일 시료내의 처리방법에 따른 유의적인 차이가 인정 되었다($P<0.05$). 이러한 차이는 가공 수의 단백질 농도에 기인하는 것으로, 각 시료를 유사농도 수준으로 희석하여 측정된 결과에서도 유사한 경향을 나타내었으나($P<0.05$), 단백질의 희석에 따른 거품성의 감소가 확인되었다.

BH의 EXT가 가장 낮은 거품성을 나타내긴 하였지만, 모든 추출물에 비하여 가공처리수가 모든 시료에서 거품성이 높은 것으로 나타났는데, 이는 추출물에서 유리될 수 있는 비교적 고분자의 유기성분들이 가열처리 공정에서 열 변성으로 인하여 유리되지 못하였거나, 응고되어 용해되지 못한 것에 기인하는

Table 2. Foam capacity (FC), foam stability (FS), emulsifying activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of processed wastewater obtained from fish roe during cook-dried process

| Sample | Protein ¹ (mg/mL) | FC (%) | FS (%) 30 min | FS (%) 60 min | EAI (m ² /g) | ESI (min) |
|------------------|------------------------------|--------------------------|---------------|---------------|--------------------------|------------|
| BH EXT | 5.36 | 116.67±3.29 ^d | 67.37±0.31 | 58.54±6.94 | 10.32±0.86 ^d | 12.21±0.23 |
| EXT ² | 1.88 | 113.31±1.46 ^d | - | - | 45.26±0.00 ^a | 14.63±0.43 |
| BPW | 17.91 | 166.32±0.00 ^a | 56.52±1.29 | 44.57±0.27 | 7.14±0.31 ^e | 15.04±0.66 |
| BPW ² | 2.20 | 133.40±2.46 ^c | 59.49±2.57 | 49.20±4.83 | 32.13±2.41 ^b | 26.44±2.80 |
| SPW | 15.27 | 158.74±3.98 ^b | 88.74±0.48 | 61.54±0.09 | 4.72±0.51 ^f | 13.89±0.44 |
| SPW ² | 2.36 | 137.70±3.63 ^c | 67.71±2.95 | 52.07±1.24 | 15.40±0.68 ^c | 18.33±9.39 |
| ST EXT | 4.81 | 152.36±0.17 ^d | 74.36±0.20 | 69.25±0.15 | 51.56±1.78 ^b | 28.96±3.65 |
| EXT ² | 1.93 | 141.51±4.83 ^e | 65.71±0.65 | 62.43±0.01 | 107.86±2.15 ^a | 26.86±2.68 |
| BPW | 13.52 | 203.90±0.86 ^a | 56.28±0.51 | 51.71±0.48 | 3.94±0.19 ^f | 19.64±2.50 |
| BPW ² | 1.85 | 146.69±0.46 ^e | 42.89±3.61 | 34.16±3.00 | 47.47±4.52 ^c | 16.28±0.77 |
| SPW | 8.10 | 194.91±3.56 ^b | 71.83±1.72 | 65.35±0.19 | 13.76±0.74 ^e | 14.42±0.99 |
| SPW ² | 2.16 | 157.47±0.81 ^c | 57.50±2.69 | 42.20±1.86 | 39.18±1.22 ^d | 15.06±0.53 |
| YT EXT | 4.72 | 161.16±1.23 ^c | 70.86±3.42 | 62.41±0.23 | 38.45±0.89 ^c | 34.18±8.66 |
| EXT ² | 2.09 | 153.09±0.34 ^d | 67.98±1.48 | 61.02±2.71 | 66.64±3.39 ^a | 30.37±4.32 |
| BPW | 12.02 | 181.20±0.57 ^b | 62.07±3.36 | 58.74±2.50 | 4.90±0.55 ^f | 13.19±0.35 |
| BPW ² | 1.90 | 135.14±0.00 ^e | 63.95±1.19 | 55.59±0.82 | 30.79±1.99 ^d | 18.81±1.30 |
| SPW | 7.40 | 183.57±1.80 ^a | 73.54±0.94 | 59.17±0.12 | 16.03±0.51 ^e | 14.74±1.26 |
| SPW ² | 2.08 | 152.06±1.34 ^d | 63.17±2.83 | 57.04±5.80 | 44.38±1.49 ^b | 13.99±0.57 |

¹Based on Lowry et al. method (1951). ²Diluted sample with 2.00±0.20 mg/mL protein concentration. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; EXT, water extract, BPW, boiled process water; SPW, steamed process water. Values represent the mean ± SD of n=3. Means with different letters within the sample are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. -, not detected.

것으로 Table 1의 단백질 손실율(회수율)이 낮은 이유를 설명해 주고 있다. 전반적으로 ST의 시료들이 다른 시료에 비하여 거품성이 우수한 경향을 나타내었으며, BPWs와 SPWs 간에는 유의적인 차이가 인정되지는 않았다.

이상의 결과에서 단백질농도가 높을수록 거품성이 우수하였으며, 이는 시료중의 단백질 농도가 식품기능성으로서 거품성에 있어 중요한 인자인 것으로 확인할 수 있었다. Intarasirisawat et al. (2012)은 탈지 skipjack roe의 효소가수분해에 의한 단백질 저분자화로 용해도가 증가하여 거품성(200%)이 개선되었다고 하였으며, Chalamaiah et al. (2015)은 carp roe protein의 가수분해로 인해 소수성 아미노산을 함유하는 peptide의 증가로 물-공기 계면에서 급속히 흡착되어 거품성이 개선된다고 보고하였다. 따라서 저분자량의 단백질이 많이 분포하는 것으로 확인된 BPW와 SPW는 알 단백질 가수분해물에 준하는 거품성을 나타내는 것이 확인되었다.

한편, 거품 안정성(FS, foam stability)은 일정시간 후, 형성된 거품의 유지 정도를 나타낸 것으로, BH의 희석 EXT를 제외한 모든 시료는 거품 안정이 인정되었다. 먼저 BH의 경우, 거품형성 30 min 지나서도 56-89%의 거품이 유지되었고, 60 min 경과에서도 44-62%의 거품안정성을 나타내었다. ST의 경우, EXT와 SPW는 60 min 경과에서 각각 69%와 65%의 거품안정성이 유지되었으나, BPW는 51% 정도의 안정성이 유지되었다. YT의 경우, 60 min 경과에서 각각 62% (EXT), 59% (BPW) 그리고 59% (SPW)의 거품안정성이 확인되었다. 전반적으로 유사한 단백질농도로 희석한 시료의 경우, 단백질농도의 감소와 더불어 거품성이 감소하는 경향을 나타내었으며, 거품안정성에 있어서도 감소하는 것으로 나타났다. EXT와 SPW의 거품안정성은 상호 유사한 수준이었으며, BPW에 비하여 우수하였다.

거품이 형성되는 동안, 새로 생성된 공기-액상 계면(interface)에서 급속히 흡착되는 단백질은 계면에서 단백질의 unfolding 및 단백질분자의 재배치를 거치게 되어, 거품 형성능이 향상된다(Damodaran, 1997). 따라서 가열처리공정으로 인해 단백질 변성이 일어난 가공처리수(BPW 및 SPW)가 단순 물 추출물(EXT)에 비해 단백질의 unfolding 및 단백질분자의 재배치가 용이하게 일어남으로서 거품형성이 우수한 것으로 판단되었다.

유화 형성능

유화활성(emulsifying activity)은 oil-water 계면에서 oil을 흡착시켜 emulsion을 형성하는 단백질의 능력을 말하며, 유화안정성(emulsion stability)은 일정시간 동안 유착(coalescence) 및 응집(flocculation)을 형성하지 않고 emulsion을 안정화시키는 능력으로 정의된다(Can Karaca et al., 2011). 이러한 유화성(EAI) 및 유화안정성(ESI)에 있어서(Table 2), 먼저 EXTs의 유화성(EAI, m^2/g)은 각각 10.32 (BH), 51.56 (ST) 그리고 38.45 m^2/g (YT)이었으나, 유사 단백질농도로 희석하여 측정

한 결과는 45.26-107.86 m^2/g 의 수준으로 유화성이 향상되었다. 또한 BPWs의 경우 3.94-7.14 m^2/g 범위 및 SPWs의 경우 4.72-16.03 m^2/g 수준의 유화성을 나타내었으나, 이들의 희석 시료들은 각각 30.79-47.47 m^2/g (BPWs)와 15.40-44.39 m^2/g (SPWs)로 유화성(EAI)이 EXTs의 경우와 마찬가지로 향상되었다. 또한 유화안정성(ESI, min)에 있어서도 희석된 시료가 유사하거나 향상되는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 이 실험 측정 조건에서 희석 전 원시료의 단백질농도가 상대적으로 높아서, 과잉의 단백질이 오히려 유화층 형성을 방해하는 것으로 추정되었다.

한편, 유화안정성(ESI, min)은 희석을 통해 유화성이 개선된 EXTs가 각각 14.63 (BH), 26.86 (ST) 그리고 30.37 min (YT)이었으며, BPWs는 16.28-26.44 min의 범위 그리고 SPWs는 13.99-18.33 min의 범위를 나타내었다. 전반적으로 단순 물 추출물(EXTs)이 가열처리 공정에서 발생하는 가공처리수(BPWs 및 SPWs)에 비하여 유화성 및 유화안정성에 있어서 우수한 것으로 확인되었다. 또한, 어종별에 따른 시료 중에서는 ST가 가장 우수하였으며, 그 다음으로 YT 그리고 BH의 순이었다.

큰 분자량 펩타이드 또는 보다 많은 소수성 펩타이드의 함량이 높을수록 emulsion의 안정성에 기여하며, emulsion을 형성하는 메커니즘은 균질화 과정에서 새로 형성된 oil 방울의 표면에 peptide가 흡착되어, oil 방울끼리의 결합을 방지하는 보호막을 형성하여 이루어진다(Dickinson and Lorient, 1994). 또한, 저 분자량의 peptides는 양친매성(amphiphatic)이 아니더라도 좋은 유화 특성을 나타낼 수 있다(Chobert et al., 1988). 따라서 EXTs, BPWs 그리고 SPWs 중에는 양친매성의 단백질 및 아미노산의 하전(charge)과 관련된 친수성(hydrophilic) 및 소수성(hydrophobic) 잔기의 작용으로 수중 유적형(oil in water)의 emulsion을 생성하는 것으로 판단되었다.

항산화 활성

넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알 농축물의 제조과정 중에 발생하는 가공처리수(processed water)의 산업적 이용 가능성을 알아보기 위하여 살피본 항산화활성에 대한 결과는 Table 3에 나타내었다. 먼저 DPPH 라디칼 소거활성(DPPH, mg/mL)의 경우, 가열처리 공정에서 발생한 가공수(BPWs와 SPWs)의 IC_{50} 값이 0.54-0.82 mg/mL의 범위로서 EXTs (0.88-1.50 mg/mL)에 비하여 소거활성이 우수한 것으로 나타났다. 환원력(reducing power, mg/mL)에 있어서도 BPWs (0.21-0.41 mg/mL)와 SPWs (0.44-0.55 mg/mL)는 EXTs에 비하여 환원력이 우수하였다. 그러나 DPPH 라디칼 소거활성은 SPWs가 상대적으로 강한 반면에 환원력에 있어서는 BPWs가 유의적으로 강하였다($P < 0.05$). 한편, ABTS⁺ 라디칼 소거활성(ABTS⁺, mg/mL)에 있어서는 EXTs (0.028-0.045 mg/mL)가 BPWs (0.065-0.110 mg/mL)와 SPWs (0.055-0.082 mg/mL)에 비하

Table 3. DPPH and ABTS radical scavenging, SOD-like activities and reducing power of processed water obtained from fish roe during cook-dried process

| Sample | Protein ¹ (mg/mL) | DPPH (IC ₅₀ , mg/mL) | Reducing power (EC ₅₀ , mg/mL) | ABTS (IC ₅₀ , mg/mL) | SOD (IC ₅₀ , mg/mL) |
|--------|------------------------------|---------------------------------|---|---------------------------------|--------------------------------|
| BH EXT | 1.60 | 0.88 ^b | 0.74 ^c | 0.045 ^a | 1.71 ^a |
| BPW | 2.61 | 0.79 ^a | 0.21 ^a | 0.065 ^a | 2.94 ^c |
| SPW | 1.99 | 0.82 ^a | 0.55 ^b | 0.055 ^a | 2.83 ^b |
| ST EXT | 1.89 | 1.35 ^c | 0.75 ^c | 0.033 ^a | 0.86 ^a |
| BPW | 1.45 | 0.81 ^b | 0.39 ^a | 0.110 ^c | 3.25 ^c |
| SPW | 1.58 | 0.60 ^a | 0.49 ^b | 0.073 ^b | 3.15 ^b |
| YT EXT | 1.62 | 1.50 ^c | 0.71 ^c | 0.028 ^a | 0.82 ^a |
| BPW | 1.48 | 0.61 ^b | 0.41 ^a | 0.074 ^b | 3.05 ^b |
| SPW | 1.66 | 0.54 ^a | 0.44 ^b | 0.082 ^b | 2.99 ^b |

¹Based on Lowry at al. method (1951). BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; EXT, water extract; BPW, boiled process water; SPW, steamed process water. DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; ABTS, 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; SOD, Superoxide dismutase. Data with different letter within the same sample are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

여 유의적으로 ABTS⁺ 라디칼 소거활성이 강하였다. 또한 SOD 유사활성 (SOD, mg/mL)의 경우, EXTs의 SOD 유사활성이 각각 1.71 (BH), 0.86 (ST) 그리고 0.82 mg/mL (YT)이었으며, BPWs와 SPWs에 비하여 월등히 강한 활성을 나타내었다. 이 연구에서의 50%의 소거활성이나 저해활성을 나타내는 단백질 농도로 나타낸 가공처리수(processed water)의 항산화 관련 활성은 ABTS⁺ 라디칼에 대해 가장 민감하게 반응하는 것으로 나타났으며, 그 다음으로 환원력, DPPH 라디칼 그리고 SOD 유사활성 순이었다. 따라서 어류 알의 가열처리 공정 중에 발생하는 가공처리수는 다양한 항산화활성을 나타냄으로서, 산업적 응용 가능성을 기대할 수 있을 것으로 판단되었다.

붉은 대게 자숙수의 2단 효소가수분해물(0.2 mg/mL)의 DPPH 소거활성은 70.8%이었으며(Kang et al., 2007), yellow stripe trevally (Klompong et al., 2007) 및 sardinella (Bougatef et al., 2010) byproducts, rohu roe (Chalamaiah et al., 2013)의 단백질 가수분해물(0.5-1.0 mg/mL)의 DPPH 소거활성은 이 실험의 결과와 비교하여 유사하거나 오히려 낮은 소거활성을 나타내어, 가공처리수의 DPPH 소거활성이 효소처리 가수분해물 보다 우수하였다. Li et al. (2012)의 보고에서, grass carp 가수분해물의 ABTS⁺ 소거활성이 DPPH의 소거 활성 비례 강하다고 하였으며, zein (Tang et al., 2010)와 rohu roe (Chalamaiah et al., 2013)의 가수분해물의 결과에서도 마찬가지 이었다. 라디칼 소거 활성에 있어서는 아미노산 조성, 서열 및 소수성과 관련이 있으며, (Bougatef et al., 2010; Chalamaiah et al., 2013), 환원력에 있어서도 아미노산 및 peptide의 조성, peptide의 길이, 아미노산 서열 등의 차이로 인해 환원력에 영향을 준다고 하였다(Wu et al., 2003).

Tyrosinase 저해활성

이상의 결과를 토대로 식품기능성 및 항산화성이 상대적으로 우수한 것으로 판단된 넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알의 물 추출물(EXTs)과 찌기공정에서 얻어진 가공처리수(SPWs)를 대상으로 하여 tyrosinase 저해활성(%)으로 살펴 본 미백효과에 대한 결과는 Fig. 2에 나타내었다.

자외선은 피부의 색소침착에 영향을 주는 활성산소종(ROS, reactive oxygen species)을 발생시킬 수 있으며, 태양광 노출은 keratinocytes에 의한 멜라닌 생성 인자의 방출을 유도하여 과잉 색소 침착을 유발하는 tyrosinase 합성을 자극하게 된다(Chlapanidas et al., 2013). 최근 tyrosinase inhibitors는 과잉 색소침착과 관련한 의약품 및 화장품용 분야에 관심이 증가하고 있다(Schurink et al., 2007). 각 어종의 EXTs의 tyrosinase 저해활성(%)은 각각 7.5 (BH), 14.2 (ST) 그리고 8.7% (YT)이었으나, 가열처리 공정을 통해 얻어진 SPWs의 경우는 0.41-2.5% 수준의 저해활성만을 나타내어 tyrosinase 저해활성을 통한 미백효과는 기대하기 어려울 것으로 판단되었다. 한편 Choi et al. (2011)은 참치 가공 자숙수의 tyrosinase 저해활성은 31.5%이었으며, 감마선 조사를 통해 저해활성은 증가한다고 보고하였다. 아임계수(subcritical water)로 가수분해한 멸치가수분해물의 tyrosinase 저해활성은 14.7%라고 하여(Choi et al., 2017), peptide 또는 아미노산이 함유하는 단백질성분의 tyrosinase 저해활성이 인정되었으나, 그 저해활성은 강하지 않은 것으로 확인되었다.

ACE 저해활성

식품기능성 및 항산화성이 상대적으로 우수한 것으로 판단된 넙치(BH), 가다랑어(ST) 그리고 황다랑어(YT) 알의 물 추출물(EXTs)과 찌기공정에서 얻어진 가공처리수(SPWs)에 대하여 ACE 저해활성(IC₅₀, mg/mL)으로 살펴 본 항고혈압 효과

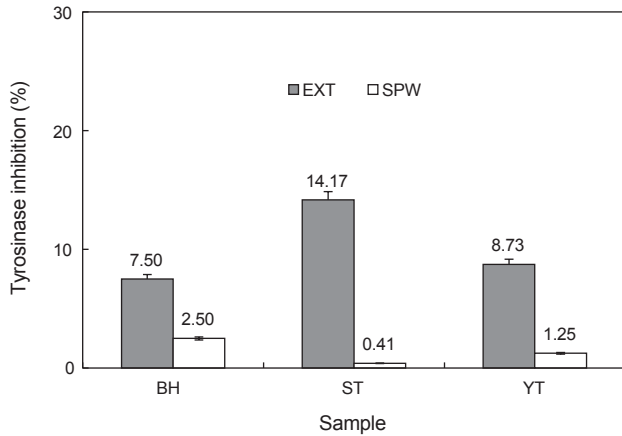


Fig. 2. Tyrosinase inhibitory activity of processed waters obtained from fish roe during cook-dried process. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; EXT, water extract; SPW, steamed process water. Values represent the mean \pm SD of n=3.

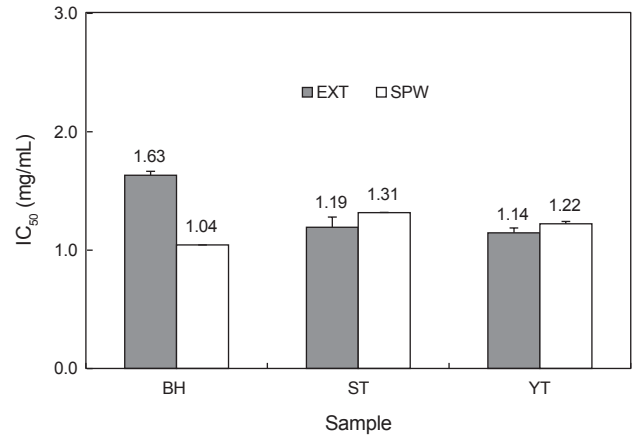


Fig. 3. ACE inhibitory activity of processed waters obtained from fish roe during cook-dried process. BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*; ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*; YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*; EXT, water extract; SPW, steamed process water. Values represent the mean \pm SD of n=3.

에 대한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 물 추출물(EXTs)의 ACE 저해활성(mg/mL)은 각각 1.63 (BH), 1.19 (ST) 그리고 1.14 mg/mL (YT)이었으며, ST와 YT가 상대적으로 BH에 비하여 ACE 저해활성이 우수한 것으로 나타났다. 반면에 가열처리 공정을 통해 얻어진 SPWs의 경우는 BH (1.04 mg/mL)가 가장 저해활성이 강하였으며, 다음으로 YT (1.22 mg/mL) 그리고 ST (1.31 mg/mL)의 순이었다. 본 실험과 관련한 수산가공 자숙수의 ACE 저해활성(IC₅₀, mg/mL)에 관한 보고에서, 가다랑어 (14.1 mg/mL), 문어(49.2 mg/mL), 굴 자숙수에는 저해활성을 보이지 않았다(Oh et al., 2007). 반면에 가다랑어와 황다랑어 자숙수(Yeo et al., 1998) 및 멸치 자숙수(Ji et al., 2002)로부터 chromatography를 통한 active fraction의 ACE 저해능(IC₅₀)은 각각 0.62 및 1 mg/mL라고 하여, 가공처리수의 분획 및 정제과정을 통해 ACE 저해활성이 개선된다고 하였다.

천연 ACE 억제 peptide에 대한 현재의 연구는 수산식품의 가식부 단백질 자원에서 특히 수산가공 부산물로 그 연구범위가 확대 되었다. 이러한 수산가공부산물의 단백질 가수분해물인 yellow sole frame (Jung et al., 2006), skipjack roe (Intarasirisawat et al., 2013) 그리고 Pacific cod skin (Himaya et al., 2012)은 35-86%의 ACE 저해활성을 나타내었다. 또한 굴의 다양한 효소 가수분해물의 경우, 1.49-16.31 mg/mL (IC₅₀) 범위의 저해활성을 나타내었으며, Protamex 가수분해물이 가장 우수하다고 보고하였다(Chung et al., 2006). 효소분해 붉은 대게 자숙수(Kang et al., 2007)의 ACE 저해능(IC₅₀)은 1.40-1.74 mg/mL 범위라고 하였다. 실험결과와 연구보고를 통해, 어류 알 가공처리수의 ACE 저해활성은 연구보고들의 가수분해물과 부분정제 active fraction들보다 강하거나 유사한 활성을 나타내었다.

아미노산 조성

어류 알의 찌기공정에서 발생하는 가공수(SPWs)의 총 아미노산 조성에 대해 물 추출물(EXTs)와 비교하여 Table 4에 나타내었다. 이 표에는 총 단백질 함량(mg/100 g protein)과 각 아미노산 조성비(g/100 g protein)를 제시하였으며, 총 단백질 함량에 각 아미노산의 조성비를 곱하면, 각 아미노산함량도 환산할 수 있도록 하였다. 먼저 어류 알 EXTs의 총 단백질함량은 어류 알 100 g에 대하여 2750.4-3594.4 mg 수준으로 SPWs (712.9-1490.4 mg/100 g)에 비하여 2.4-3.9배가량 월등히 높은 수준이었다(Table 1). 유리아미노산인 Tau의 조성비는 2.29-5.66%의 수준이었으며, BH와 ST의 SPWs (각각 2.29 및 3.30%)는 그 조성비가 EXTs에 비하여 감소하였으나 YT의 경우 오히려 증가하였다. 그러나 조성비에 총 단백질함량을 곱한 절대적인 함량은 세 어종 모두 추출물에서 높았다.

어류 알 EXTs의 주요 아미노산(6%이상)은 어종에 따라 조성비에 차이를 나타내지만, Asp (6.11-7.08%), Glu (9.37-12.6%), Ala (8.71-10.77%), Val (6.97-9.53%), Leu (8.71-11.55%), 그리고 Lys (7.94-10.83%)이었으며, SPWs의 경우, Glu (8.39-14.47%), Ala (8.72-12.25%), Leu (7.67-11.89%) 그리고 His (6.22-6.82%)으로 EXTs와는 다소 차이가 있었다. Tau를 제외한 필수아미노산과 비필수 아미노산간의 비(EAA/NEAA)에 있어서 EXTs는 1.01 (BH), 1.58 (ST) 그리고 1.50 (YT)로서 BH가 가장 낮은 비율을 보인 반면에 SPWs의 경우 BH (1.35)가 ST (1.26)와 YT (1.03)에 비하여 우수한 것으로 나타났다. 따라서 BH는 가열처리 공정을 통해 상대적으로 필수아미노산의 유리가 많은 반면에 ST와 YT는 비필수 아미노산의 증가가 두드러진 것이 확인 되었다.

Table 4. Amino acid compositions (% , g/100 g of protein) of processed waters produced from the preparation of fish roe concentrates by cook-dried process

| | BH | | ST | | YT | |
|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | EXT | SPW | EXT | SPW | EXT | SPW |
| Protein (mg/100 g of roe) | 3594.4 ^a | 1490.4 ^d | 3110.5 ^b | 847.6 ^e | 2750.4 ^c | 712.9 ^f |
| Tau ¹ | 3.85 ^b | 2.29 ^d | 5.60 ^a | 3.30 ^c | 4.02 ^b | 5.66 ^a |
| Thr | 4.09 ^e | 6.64 ^b | 4.64 ^d | 6.43 ^b | 7.06 ^a | 5.44 ^c |
| Val ² | 6.97 ^c | 6.79 ^d | 9.53 ^a | 5.01 ^f | 8.49 ^b | 5.78 ^e |
| Met ² | 2.83 ^c | 5.84 ^a | 4.77 ^b | 2.79 ^c | 4.90 ^b | 2.48 ^d |
| ILe ² | 4.37 ^e | 7.17 ^a | 6.40 ^c | 6.05 ^d | 6.85 ^b | 3.68 ^f |
| Leu ² | 8.71 ^d | 11.89 ^a | 10.87 ^b | 10.14 ^c | 11.55 ^a | 7.67 ^e |
| Phe ² | 3.40 ^c | 3.40 ^c | 5.70 ^a | 4.13 ^b | 5.74 ^a | 3.30 ^c |
| His | 2.66 ^c | 6.50 ^{ab} | 2.59 ^c | 6.82 ^a | 1.13 ^d | 6.22 ^b |
| Lys | 7.94 ^c | 3.91 ^f | 10.83 ^a | 5.52 ^e | 9.36 ^b | 6.82 ^d |
| Arg | 7.27 ^a | 4.00 ^d | 2.45 ^e | 6.99 ^b | 2.43 ^e | 6.44 ^c |
| EAA (%) | 48.25 | 56.13 | 57.77 | 53.88 | 57.52 | 47.82 |
| Asp | 6.89 ^a | 1.95 ^d | 7.08 ^a | 2.89 ^c | 6.11 ^b | 2.53 ^c |
| Ser | 6.89 ^b | 4.89 ^c | 2.80 ^e | 8.25 ^a | 3.27 ^d | 6.77 ^b |
| Glu | 12.60 ^b | 8.39 ^f | 9.37 ^e | 11.47 ^c | 9.91 ^d | 14.02 ^a |
| Pro ² | 3.30 ^a | 1.21 ^e | 1.36 ^d | 1.58 ^c | 1.43 ^{cd} | 2.12 ^b |
| Gly ² | 3.44 ^e | 7.86 ^a | 3.66 ^e | 4.93 ^c | 4.18 ^d | 6.50 ^b |
| Ala ² | 8.72 ^e | 12.25 ^a | 9.36 ^d | 8.72 ^e | 10.77 ^b | 9.84 ^c |
| Cys | 0.73 ^e | 1.50 ^a | 1.02 ^c | 1.09 ^c | 0.91 ^d | 1.30 ^b |
| Tyr | 5.33 ^a | 3.52 ^c | 1.99 ^d | 3.88 ^b | 1.88 ^d | 3.45 ^c |
| NEAA (%) | 47.90 | 41.58 | 36.63 | 42.81 | 38.46 | 46.52 |
| Total (%) | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| EAA/NEAA | 1.01 | 1.35 | 1.58 | 1.26 | 1.50 | 1.03 |
| HAA (%) | 41.75 | 56.40 | 51.63 | 43.37 | 53.92 | 41.37 |

¹Free amino acids. ²Hydrophobic 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; EXT, water extract; SPW, steamed process. Values are mean of duplicate determination. Means with different letters within the same row are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

가다랑어, 굴과 문어 자숙수의 주요 아미노산조성(6% 이상)은 각각 가다랑어는 Asp, Glu, Pro, Gly, Ala, His, Lys 및 Arg 이며, 굴은 Asp, Glu, Pro, His, Lys 및 Arg으로, 문어는 Asp, Glu, Pro, Gly, Ala 및 Arg라고 하였으며(Oh et al., 2007), Cho et al. (2000)는 오징어 탈피 수세수에는 Tau, Asp, Glu, Pro, Ala, Ile 및 Leu이, 그리고 자숙수에는 Tau Pro, Ala, Ile 및 Leu가 주요 유리 아미노산이라고 하였다. 또한 붉은 대게 자숙수는 Asp, Glu, Pro, Gly, Phe, Lys 및 Arg이 주요 아미노산이었다(Kang et al., 2007). 원료에 따른 아미노산조성의 차이뿐만 아니라 가공처리수인 수세수 및 자숙수간에도 아미노산조성에 차이가 확인되었다. 또한 이들 가공처리수에는 공통적으로 Asp, Glu, Ala 및 Leu이 공통적으로 조성비가 높은 것으로 나타났다.

한편, 맛, 용해도, 거품성 및 유효능에 영향을 주는 소수성 아

미노산조성은 EXTs는 각각 41.75% (BH), 51.63% (ST) 그리고 53.92% (YT)이었으나, SPWs의 경우 BH (56.40%)는 증가한 반면, ST (43.37%)와 YT (41.37%)로 증가하였다. 이러한 차이가 식품기능성, 항산화특성 그리고 ACE 저해활성에 영향을 미치리라 추정되었다. 소수성 및 친수성 아미노산은 수중유적형 emulsion의 계면활성제로서 작용하여 emulsion의 안정성에 기여하며, 소수성 아미노산이 수중유적형 emulsion system에서 산화방지 효과가 친수성 아미노산에 비해 효과적일 수 있다. 이러한 소수성 아미노산(Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe, Met)은 강한 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였고(Li et al., 2004), Gomez-Ruiz et al. (2008)은 Cys, Trp, Tyr 및 His 등의 아미노산이 ABTS⁺ 라디칼과의 반응성이 뛰어나다고 하였으며, 이들 아미노산을 함유하는 peptides도 강한 ABTS 라디

칼 소거활성을 나타낼 수 있다고 하였다. peptide 서열 내에 친수성 아미노산 잔기는 ACE 활성 부위로의 접근을 방해함으로써 ACE 억제 활성에 영향을 줄 수 있다고 보고했으며(Li et al., 2004), 아미노산 서열의 C-말단에 Tyr, Phe, Trp, Ala, Gly 및 Pro과 같은 아미노산의 존재는 보다 강한 ACE 저해활성에 기여하는(Mahmoodani et al., 2014) 반면에 Val, Pro, Tyr, Leu, Ala, Lys 및 Met과 같은 소수성 아미노산은 항산화활성에 강한 영향을 미친다고 하였다(Wiriyaphan et al., 2012). 이상의 식품기능성 및 항산화 활성 그리고 ACE 저해활성에 대한 실험결과와 연구보고에 따르면, 어류 알의 가열처리공정에서 발생한 가공수(BPW 및 SPW)는 수산식품 및 그 가공부산물의 가수분해물 보다 유사하거나 우수한 식품기능성 및 생리활성을 나타냄으로서 그 효용성 및 가치가 인정되었다. 따라서 수산물 기원의 가공처리수는 대량처리로 인해 유기성분 및 단백질 성분이 희석된 상태로 발생하지만, 이를 적절히 농축하거나 분말 소재화는 방안을 마련한다면, 식품기능성, 항산화 활성 및 생리활성을 강화 소재로서 이용 가능성이 매우 높다고 하겠다.

사 사

이 논문은 2014년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업의 일부임(NRF-2014R1A1A4A01008620).

이 논문은 2016년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구의 일부임(수산식품산업 기술개발사업의 해역별 특성을 고려한 전통수산가공식품 개발 및 상품화).

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 fishmeal 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).
- AOAC. 1995 Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, U.S.A., 69-74.
- Balaswamy K, Prabhakara Rao PG, Narsing Rao G and Jyothirmayi T. 2011. Functional properties of roe protein hydrolysates from *Catla catla*. *J Environ Agric Food Chem* 10, 2139-2147.
- Binsan W, Benjakul S, Visessanguan W, Roytrakul S, Tanaka M and Kishimura H. 2008. Antioxidative activity of Mungoong, 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>.
- Blois 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>.
- 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 JI, 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\(71\)90001-0](http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952(71)90001-0).

- 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, UK, 201-274.
- Dong FD and Bechtel P. 2010. New fish feeds made from fish by products. Retrieved from <http://www.ars.usda.gov/is/AR/archive/oct10/leftovers1010.htm> on Jul 13, 2017.
- 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>.
- Hood LF, Zall RR and Conway RL. 1976. Conversion of minced clam wash water into clam juice: waste handling or product development. *Food Prod Dev* 10, 86-88.
- 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. 2001a. Quality Stability of Powdered Soup Using Powder from Oyster Wash Water. *Appl Biol Chem* 44, 224-229.
- Kim JS, Heu MS and Yeum DM. 2001b. Component characteristics of canned oyster processing waste water as a food resource. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30, 299-306.
- 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. 2016. Chemical composition of protein concentrate prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacores* roe by cook-dried process. *Fish Aquat Sci* 19:12. <http://dx.doi.org/10.1186/s41240-016-0012-1>.
- 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>.
- Lin TM, Park JW and Morrissey MT. 1995. Recovered protein and reconditioned water from surimi processing waste. *J FoodSci*60,4-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb05594.x>.
- 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>.
- 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/jfps>.
- 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>.
- Pearce KN and Kinsella JE. 1978. Emulsifying properties of proteins. Evaluation of a turbidimetric technique. *J Agric Food Chem* 26, 716-723. <http://dx.doi.org/10.1021/jf60217a041>.
- Sathivel S, Yin H, Bechtel PJ and King JM. 2009. Physical and nutritional properties of catfish roe spray dried protein powder and its application in an emulsion system. *J Food Eng* 95, 76-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.04.011>.
- 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>.
- Sikorski ZE. 1994. Seafood proteins. The contents of proteins and other nitrogenous compounds in marine animals. In: Chapman and Hall. Sikorski ZE, Pan BS and Shahidi F ed., New York, U.S.A., 6-12.
- 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. <http://dx.doi.org/10.1021/jf9028656>.
- Thiansilakul Y, Benjakul S and Shahidi F. 2007. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using Alcalase and Flavourzyme. *J Food Biochem* 31, 266-287. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4514.2007.00111.x>.
- 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>.
- 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. [http://dx.doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00104-2](http://dx.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.