

# 어류 알로부터 알칼리 가용화공정을 통해 회수한 Collagenous Protein 획분의 식품 기능특성

윤인성<sup>1</sup> · 김진수<sup>1,2</sup> · 허민수<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 수산식품산업화 기술지원센터, <sup>2</sup>경상대학교 해양식품생의학과/해양산업연구소, <sup>3</sup>경상대학교 식품영양학과/해양산업연구소

## Food Functionality of Collagenous Protein Fractions Recovered from Fish Roe by Alkaline Solubilization

In Seong Yoon<sup>1</sup>, Jin-Soo Kim<sup>1,2</sup> and Min Soo Heu<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Research Center for Industrial Development of Seafood, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

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

<sup>3</sup>Department of Food and Nutrition/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

This study investigated the potential of collagenous protein fractions (CPFs) as functional foods. The specific CPFs studied were recovered from the roe of bastard halibut (BH), *Paralichthys olivaceus*; skipjack tuna (ST), *Katsuwonus pelamis*; and yellowfin tuna (YT), *Thunnus albacares* through the alkaline solubilization process at pH 11 and 12. The buffer capacity, water-holding capacity and solubility of CPFs with pH-shift treatment were significantly better at alkaline pH (10-12) than at acidic pH (2.0). At pH-shift treatment (pH 2 and 12), the foaming capacities of CPFs from ST and YT were improved compared to those of controls, but they were unstable compared to BH CPFs. The emulsifying activity index (EAI, m<sup>2</sup>/g protein) of CPFs (controls) was 16.0-21.1 for BH, 20.1-23.9 for ST and 9.3-13.7 for YT (P<0.05). CPFs adjusted to pH 12 showed improved EAI and YT CPFs showed significantly greater emulsifying ability than those from BH and ST. CPFs recovered from fish roe are not only protein sources but also have a wide range of food functionalities, confirming the high availability of fish sausage and surimi-based products as protein or reinforcing materials for functional foods and alternative raw materials.

Key words: Collagenous protein fractions, Functionality, Fish roes, Alkaline solubilization

### 서 론

유엔식량농업기구(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)의 통계에 따르면, 2015년의 총 어업생산량은 약 2억톤이라고 하였으며(FAO, 2015), 최근 10년간, 우리나라의 총어업생산량은 평균 327만톤 수준이다(MOF, 2017). 이들 어업생산물의 가공 및 제품 제조 시 발생하는 머리, 껍질, frame, 비늘, 내장, 알 등의 비가식 가공부산물이 총 어류 생산량의 약 30-60%을 차지하고(Narsing Rao et al., 2014; Klomklao and Benjakul, 2016), 가공과정 중에서는 수세수 및 자숙수와 같은 가공처리수들이 원료 처리량의 약 10배 이상이 발생한다(Lee et al., 2017; Yoon et al., 2017). 수산가공부산물 및 가공처리수의 영양적 가치는 해양생물자원의 단백질 급원으로서 높

은 잠재력을 가지고 있지만, 극히 일부분만이 비료나 동물사료 용으로 이용될 뿐, 가공처리수와 함께 대부분 폐기물로 처리됨으로서 환경문제를 야기하게 된다. 따라서 수산가공 부산물로부터 주요구성분인 단백질을 회수하고자 하는 노력은 산업적 이용을 위한 저비용의 새로운 단백질을 생산하는 것이 가능하기 때문에 매우 중요하다(Heu et al., 2006; Kang et al., 2007; Kang et al., 2015; Kim et al., 2015; Lee et al., 2016b; Lee et al., 2017; Yoon et al., 2017). 수산가공부산물 및 가공처리수로부터 단백질자원의 회수와 이용에 관한 연구는 효소(Kim et al., 2014) 및 저해제(Lee et al., 2016a), 콜라겐 및 젤라틴(Heu et al., 2010; Lee et al., 2016b), 가공처리수(Lee et al., 2017; Yoon et al., 2017)와 같은 유용 기능성분의 회수, 단백질 농축물(Lee et al., 2016a; Binsi et al., 2017; Yoon et al., 2018b),

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0351>



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 51(4) 351-361, August 2018

Received 25 May 2018; Revised 13 June 2018; Accepted 6 July 2018

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

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

분리물(Lee et al., 2016c), 효소 가수분해물(Noh et al., 2013; Intarasirisawat et al., 2014)의 제조 및 식품기능성(Park et al., 2016; Binsi et al., 2017; Yoon et al., 2018b), 항산화성 그리고 이의 생리활성(Heu et al., 2009; Intarasirisawat et al., 2014)에 대하여 많은 연구가 이루어졌다.

이들 연구에서 단백질 회수를 위한 주요 공정에는 추출을 통한 회수(Kim et al., 2014; Lee et al., 2016b), 건조(Binsi et al., 2017), 가열처리(Lee et al., 2016; Yoon et al., 2018b), 단백질의 용해도 특성을 이용한 유기용매 및 염을 이용한 분획(Kim et al., 2012; Kim et al., 2014), 산/알칼리 가용화 및 침전(Kristinson et al., 2005; Lee et al., 2016c) 등을 포함하고 있다. 특히, 알칼리 가용화공정은 가공부산물 원료의 지방, 내인성 효소의 불활성화, 불순물 및 연구목적 이외의 가용성 단백질을 제거할 목적으로 적용하여, 알칼리 불용성의 잔사로부터 collagen이나 gelatin을 회수하는데 응용하고 있으며, 이와 달리 등전점 가용화/침전공정은 다양한 원료로부터 산/알칼리를 이용하여 단백질 성분을 가용화한 후 (불용성 잔사가 발생), 가용화획분에 대하여 단백질의 용해도가 최소가 되는 등전점 부근에서 단백질을 침전시켜 회수하는 방법이다(Nolsoe and Underland, 2009; Lee et al., 2016c; Alvarez et al., 2018). 그러나 원료의 단백질 성분은 사용하는 알칼리 또는 산의 농도와 사용량에 따라 가용화 공정 중에 30-60% 정도가 가용화 되고, 나머지 부분은 불용성의 잔사로 남게 된다(Nolsoe and Underland, 2009; Lee et al., 2016c; Yoon et al., 2018a).

한편, 수산가공부산물 중에서 어류 알(fish roe)은 알과 알집을 포함한 것을 말하며, 알부민(11%), 오보글로불린(75%) 및 콜라겐(13%) 등 단백질(Sikorski, 1994; Heu et al., 2006) 및 필수 지방산(Mahmoud et al., 2008)이 풍부한 고영양성의 식품 재자원이지만, 연어나 철갑상어 알의 캐비어(caviar), 명란, 대구알 젓 등 직접적인 수산가공품으로의 이용은 몇몇 어종의 알에 대해 국한 되어있다.

우리나라의 대표 양식어류인 넙치(BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*), 원양어획 어류로서 대표적인 통조림 가공 원료인 가다랑어(ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*)와 황다랑어(YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*)는 영양적인 면과 기호적인 면에서 우리나라를 비롯한 세계에서 널리 소비되는 어류이다. 이러한 다소비 어류는 섭취 및 가공 시에 다량의 가공부산물이 발생하게 되며, 특히 영양가가 높은 알의 발생량도 전체중량의 1.5-3%를 차지한다(Intarasirisawat et al., 2011; Chalamaiah et al., 2013).

앞서의 연구(Lee et al., 2016c; Yoon et al., 2018a)에서 어류 알의 알칼리 가용화 공정 중에서 회수한 알칼리 불용성획분의 식품성분 특성은 주요 구성분이 단백질로서 영양적으로 우수하였으며, 아미노산 조성분석을 통해 어류 알 보다 Gly, Pro 및 Ala의 조성비가 2-4배가량 높아 콜라겐(Heu et al., 2010; Lee et al., 2016b)의 아미노산 조성비와 유사하여 collagenous pro-

tein fraction이라고 보고한 바 있다.

따라서 이 연구에서는 대부분 식품소재로 이용되지 못하는 넙치, 가다랑어 및 황다랑어 알의 알칼리 가용화공정을 통해 회수한 알칼리 불용성획분으로서 collagenous protein fraction (CPF, 콜라겐성 단백질획분)에 대하여, pH-shift 처리에 따른 완충능, 보수력, 거품 형성능 및 유화 형성능 등의 식품기능특성을 분석하고, 어육 소시지 또는 연제품과 같은 수산가공식품을 비롯한 다양한 식품가공품의 단백질 강화 또는 대체 가공소재로서의 이용 가능성에 대해 구명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

넙치(BH, *Paralichthys olivaceus*)는 통영시 소재 수산시장에서 살아있는 채로 구입하여, 실험실로 운반한 후, 알을 적출하여 실험에 사용하였으며, 가다랑어(ST, *Katsuwonus pelamis*)와 황다랑어(YT, yellowfin tuna *Thunnus albacares*) 알은 동원산업(Dongwon F&B Co. Ltd., Changwon, Korea)으로부터 동결상태로 분양을 받아 사용하였다. 실험에 사용하기 전까지 polyethylene bag에 밀봉하여 -70°C에서 보관하였다.

### Collagenous protein fraction (CPF)의 회수

어류 알로부터 CPFs의 회수는 Lee et al. (2016c)의 단백질 분리 회수공정 중의 알칼리 가용화공정에 따라 제조하였다. 즉, 동결된 알 100 g에 대하여 6배량(w/v)의 탈이온수를 가하고 균질기(Polytron® PT 1200E, Kinematica AG, Luzern, Switzerland)로 균질화(12,500 rpm, 3 min)한 다음, 2 N NaOH을 사용하여 각각 pH 11 (최종농도 2.2-4.9 mM NaOH)과 12 (최종농도 3.3-5.9 mM NaOH)로 조절하였다. 이어서 알칼리 가용화(4°C, 1 h)과정을 거친 다음, 원심분리를 실시하였다(Supra 22K, Hanil Science Industrial Co. Ltd., Incheon, Korea; 12,000 g, 4°C, 30 min). 이때 얻어진 원심분리 잔사는 동결건조를 통해 분말화하여, CPFs로서 각각 BHCPF-11, BHCPF-12, STCPF-11, STCPF-12, YTCPF-11 및 YTCPF-12로 표시하고, 식품기능성의 분석에 사용하였다.

### 단백질농도

식품기능성을 측정을 위한 1% (w/v) CPFs 분산액의 단백질 농도는 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 표준단백질로서 bovine serum albumin을 사용하여 구한 검량선을 통해 측정하였다.

### 완충능

CPFs의 완충능(buffer capacity)은 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 300 mg의 시료에 30 mL의 탈이온수를 가하여 1% (w/v)의 분산액을 조제한 다음, 소량의 0.5 N NaOH 또는 HCl을 첨가하면서, pH 2-12범위에서 1 단위씩의 pH를 변

화하는데 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 1 단위의 pH를 변화하는데 필요한 평균 mM NaOH 또는 HCl의 농도로 나타내었다.

**보수력**

CPFs의 보수력(WHC, water holding capacity)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(대조군)을 조제하였으며, 아울러 0.5 N NaOH 또는 HCl을 첨가하면서 pH 2-12 범위에서 2단위씩의 pH를 조정한 각 pH별 분산액도 조제하였다. 이어서 이들 분산액을 원심분리(12,000 g, 20 min, 4°C)한 다음, 그 잔사의 무게를 측정하여 대조군과 각 pH별 실험구에 대한 보수력을 아래의 식을 통하여 나타내었다.

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

여기서 C는 단백질 함량(%)를 의미하였다.

**용해도**

CPFs의 단백질 용해도(protein solubility)는 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 30 mL의 탈이온수에 300 mg 시료를 혼합하여 1% 분산액을 조제한 다음, 0.5 N HCl 또는 NaOH로 분산액의 pH를 2-12 범위에서 2단위씩 pH를 조정하였다. 이들 분산액은 실온에서 30 분 동안 안정화시킨 다음, 원심분리(12,000 g, 20 min)를 실시하였다. 시료만 분산시킨 대조군(control)과 각 pH별 분산액의 상층액에 대한 단백질의 농도는 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 측정하고, 분산액의 부피를 곱하여 단백질함량을 계산하였다. 각 시료의 총 단백질 함량은 20 mg의 시료에 0.5 N NaOH를 사용하여 완전히 가용화한 후, 이의 단백질농도와 부피를 측정하여 구하였다. 이를 통해 시료의 단백질 용해도는 다음의 식에 따라 계산하고, 측정결과는 최소 3회 반복하여 실시하여 평균±표준편차로 나타내었다. 아울러 대조군과 pH 조정한 실험구간의 단백질 용해도를 상호 비교하였다.

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

**거품형성능**

CPFs의 거품성(FC, foaming capacity)과 거품안정성(FS,

foam stability)은 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 25 mL의 메스실린더에 10 mL의 1% 시료 분산액을 옮겨 담고, 균질기(Polytron® PT 1200E, Kinematica AG, Luzern, Switzerland)로 균질화(12,500 rpm, 1 min)하였다. 거품이 형성된 시료는 주어진 시간(0, 15, 30 및 60 min)동안 실온에서 정지하면서, 총 부피와 거품의 부피를 측정하여 아래의 식에 따라 FC와 FS를 구하였다. 아울러 1% 시료 분산액에 대해 2단위씩 pH를 조정한 시료들에 대해서도 거품형성능(FC 및 FS)을 측정하여 pH를 조정하지 않은 대조군(control)와 상호 비교하여 나타내었다.

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

$$\text{Foam stability (\%)} = \frac{(FtVt)}{(FTVT)} \times 100$$

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

**유화형성능**

CPFs의 유화능(EAI, emulsifying activity index)과 유화안정성(ESI, emulsion stability index)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 균질기로 균질화(12,500 rpm, 1 min)한 다음, 균질액이 담긴 메스실린더의 아래쪽에서 일정량(50 µL)의 emulsion을 취하여 5 mL의 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) 용액과 혼합한 다음, 분광광도계(UV-2900, Hitachi, Kyoto, Japan)를 사용하여 500 nm 파장에서 균질화한 직후의 흡광도(A<sub>0min</sub>)와 10분경과 후의 흡광도(A<sub>10min</sub>)를 측정하여 아래의 식으로 각각 EAI (m<sup>2</sup>/g protein)와 ESI (min)를 구하였다.

$$EAI (m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times A \times DF}{l \times \phi \times C} \times 100$$

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 나타내었다.

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

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

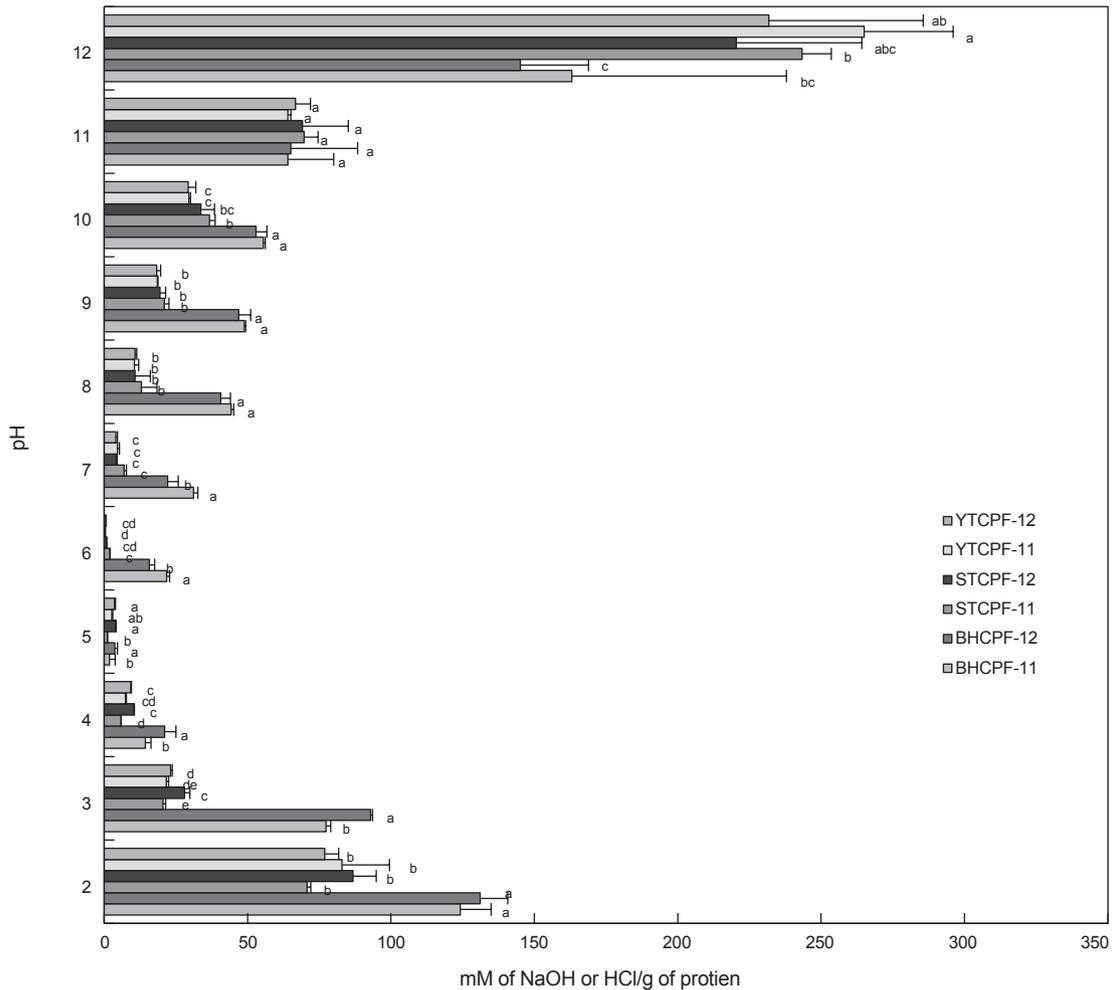


Fig. 1. Buffer capacity of collagenous protein fractions (CPFs) recovered from bastard halibut (BH) *Paralichthyus olivaceus*, skipjack tuna (ST) *Katsuwonus pelamis* and yellowfin tuna (YT) *Thunnus albacares* roe by alkaline solubilization. Data are means±standard deviation of triplicate determinations. Values with different letter within the pHs are significantly different at  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

## 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 다중 위검정법으로 최소유의차검정( $P < 0.05$ )을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 완충능

어류 알로부터 알칼리 가용화과정을 통해 회수한 콜라겐성 단백질획분(CPFs)의 완충능(buffer capacity)에 대한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 먼저, pH-shift 처리 전 1% 분산액(controls)의 pH는 5.2-6.2범위를 나타내었다. pH 2-6 범위의 pH-shift 처

리에서, BHCPF-11와 12의 완충능은 1 단위의 pH를 변화시키는데 각각 평균 36.5 및 36.7 mM HCl/g protein가 소요되었다. 또한 pH 6-12의 범위에서, BHCPF-11은 1 단위의 pH를 변화시키는데 평균 27.2 mM NaOH/g protein이 필요하였으며, BHCPF-12의 요구량 (24.2 mM NaOH/g protein)이 상대적으로 낮은 것으로 확인되었다. 한편 STCPF-11과 12의 경우, 1 단위의 pH를 변화시키는데 pH 2-6범위에서는 각각 평균 17.7 및 21.7 mM HCl/g protein이 소요되었으며, pH 6-12의 범위에서는 각각 평균 40.6 및 36.7 mM NaOH/g protein이 필요하였다. YTCPF-11의 완충능은 20.8 mM HCl/g protein (pH 2-6) 과 44.2 mM NaOH/g protein (pH 6-12)이 1 단위의 pH를 변화시키는데 필요하였으며, YTCPF-12의 완충능(19.2 mM HCl 및 38.6 mM NaOH/g protein)에 비해 산 및 알칼리의 요구량이 많은 것으로 나타났다. 이상의 결과를 통해, 산성 pH영역에

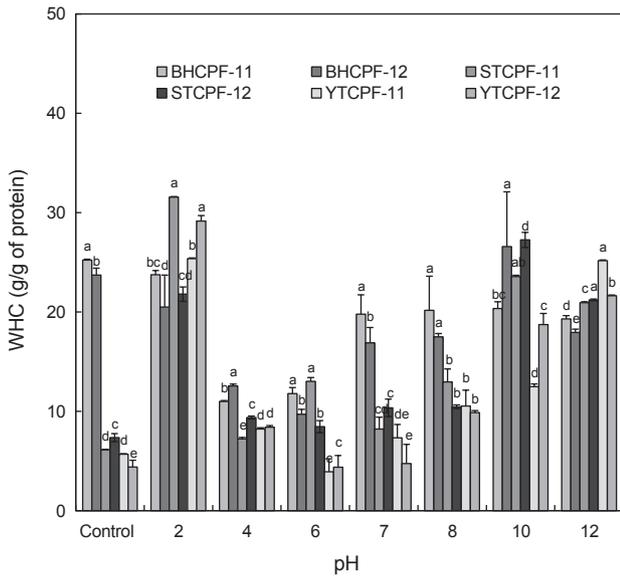


Fig. 2. Water holding capacity (WHC) of collagenous protein fractions (CPFs) recovered from bastard halibut (BH) *Paralichthys olivaceus*, skipjack tuna (ST) *Katsuwonus pelamis* and yellowfin tuna (YT) *Thunnus albacares* by alkaline solubilization. Data are means±standard deviation of triplicate determinations. Values with different letter within the pHs are significantly different at  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

서 BH의 완충능이 ST 및 YT에 비하여 강한 것으로 나타난 반면에 알칼리성 pH영역에서는 ST 및 YT의 완충능이 BH에 비하여 높은 것으로 확인되었다. 그러나 ST와 YT간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $P > 0.05$ ). 또한 알칼리 가용화조건에 있어서도 CPFs-11의 완충능은 CPFs-12에 비하여 알칼리 pH영역에서 강한 반면에 산성영역에서는 낮았다. 아울러 공통적으로 알칼리성 pH에서의 완충능이 산성 pH에 비해 우수하였다. 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. 또한 1 단위의 pH를 변화시키는데 소요되는 산과 알칼리의 평균필요량이 각각 0.65 mM HCl 및 1.22 mM NaOH/g으로, 이 실험의 CPFs의 완충능에 비해 현저히 낮았다. Mrigal (Chalamaiah et al., 2013), *Cyprinus carpio*와 *Epinephelus tauvina* (Narsing Rao, 2014), 황다랑어 알(Park et al., 2016) 및 가다랑어 알(Yoon et al., 2018b) 농축분말, 그리고 gum karaya seed 분말(Narsing Rao and Govardhana Rao, 2010)의 알칼리 pH의 완충능이 산성에 비해서 유의적으로 높다고 하여, CPFs의 실험결과와 일치하였다.

**보수력**

어류 알로부터 회수한 CPFs의 보수력(WHC, water holding

capacity)에 대한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. WHC는 수화(hydration)와 관련한 단백질 기능성으로서 단백질과 함께 물 또는 오일간의 상호작용으로 식품의 향 및 texture에 영향을 미친다(Mohamed et al., 2012). pH-shift 처리하지 않은 대조군(control)으로서, 1% BHC PF-11과 12 분산액의 WHC는 각각 25.2과 23.7 g/g protein이었으며, STCPFs (6.1 및 7.4 g/g protein) 그리고 YTCPFs (5.7 및 4.4 g/g protein)의 WHC에 비하여 월등히 높은 보수력을 나타내었다( $P < 0.05$ ). 아울러 어종 및 알칼리 가용화조건 간에도 유의적인 차이를 나타내었다. tilapia로부터 회수한 단백질 분리물(protein isolate)의 WHC는 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 CPFs가 현저히 높았다. Narsing Rao et al. (2012)와 Chalamaiah et al. (2013)는 어류 알 단백질 농축물이 기름보다 많은 수분을 흡수하며, 이것은 단백질 농축물의 극성기(COO<sup>-</sup> 및 NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)의 존재로 인해 보다 쉽게 물 분자와 결합하는 특성에 기인한다고 보고하였고, Park et al. (2016)은 황다랑어 알 농축분말의 WHC가 4.1-4.7 g/g protein으로, *Labeo rohita* (Balaswamy et al., 2007) 알 농축단백질보다 우수하다고 보고한 바 있으며, 가다랑어 알 농축분말(Yoon et al., 2018b)의 경우(3.7-3.9 g/g protein)도 이 실험의 결과에 비해 낮은 보수력을 나타내었다.

한편, pH-shift 처리에 따른 WHCs의 변화에 대해서는, 산성(pH 2)에서, BHC PF-11과 12의 WHC는 각각 23.8 및 20.5 g/g protein이었으나, STCPF-11과 12 (31.6 및 21.8 g/g protein) 그리고 YTCPF-11과 12 (25.4 및 29.2 g/g protein)에 비하여 다소 낮은 경향이였다. BHC PFs (20.3 및 26.6 g/g protein)와 STCPFs (23.6 및 27.3 g/g protein)는 pH 10에서 그리고 YTCPFs (25.2 및 21.6 g/g protein)는 pH 12의 알칼리성 pH영역에서 최대의 WHC를 나타내었다. 그리고 BH와는 달리 ST와 YT는 이들의 대조구에 비하여 pH-shift 처리에 의해 pH 2와 10-12범위에서 우수한 보수력이 확인됨으로서 보수력의 개선효과도 인정되었다. 각 pH별 WHC에 있어서도 유의적인 차이가 인정되었으며( $P < 0.05$ ), 전체적으로 BH가 ST와 YT에 비하여 보수력에 있어 우수한 경향을 나타내었다. 이는 정전기적 반발력(electrostatic repulsion)의 증가에 기인한 것으로, 등전점(pH 4 및 6) 부근보다 더 낮은 pH (< pH 4) 또는 높은 pH (> pH 10)로 조정된 후의 WHC가 증가하였다(Azadian et al., 2012).

따라서 pH-shift 처리로 인하여 CPFs의 입체 구조 변화가 일어남으로서 표면에 노출되는 친수성 아미노산이 주변 물에 쉽게 접근하여 WHC가 증가하는 것으로 보인다. 한편, 어류 알의 등전점 부근인 pH 4-6범위에서 세 어종 모두의 WHC는 최소를 나타내었는데 이는 pH 4-6에서, CPFs의 단백질의 응집(protein aggregation) 또는 침전(precipitation)으로 인해 WHC가 현저히 감소하는 결과를 초래하였으며, Azadian et al. (2012)은 silver carp 단백질 분리물의 최소 WHC는 등전점 부근인 어류

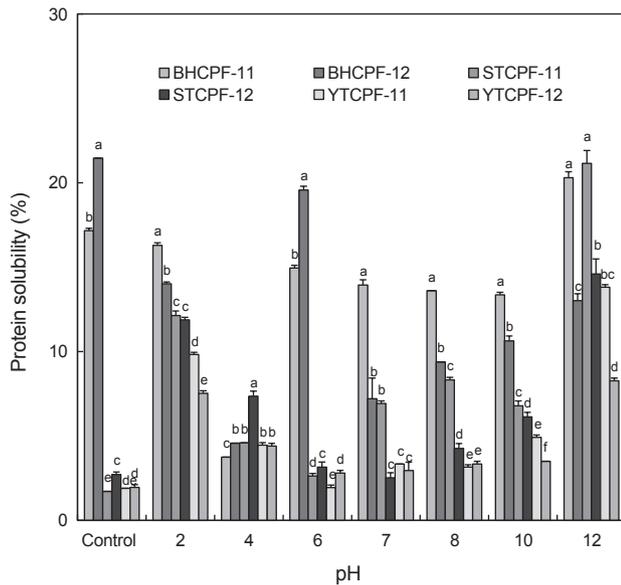


Fig. 3. Protein solubility of collagenous protein fractions (CPFs) recovered from bastard halibut (BH) *Paralichthys olivaceus*, skipjack tuna (ST) *Katsuwonus pelamis* and yellowfin tuna (YT) *Thunnus albacares* roe by alkaline solubilization. Data are means±standard deviation of triplicate determinations. Values with different letter within the pHs are significantly different at  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

육(pH 6.3)의 pH에서 관찰되었다고 보고하였다. 이러한 WHC의 감소는 단백질과 물(protein-water)간의 상호작용에 있어, 단백질 및 아미노산의 극성기(polar groups)의 존재가 중요한 역할을 하기 때문에, 특히 등전점부근에서는 단백질 응집이나 침전으로 극성기의 노출이나 존재가 감소되어 나타난 결과이다 (Tan et al., 2014).

### 단백질 용해도

pH 2-12 범위의 pH-shift 처리 유무에 따른 어류 알 CPFs의 용해도(protein solubility)를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 단백질 용해도는 거품 형성능, 유화 형성능 및 겔 형성능 등과 같은 단백질 기능성에 영향을 미치는 중요한 매개변수(parameters)이다 (Kinsella 1976; Mohan et al., 2007; Azadian et al., 2012).

pH-shift 처리하지 않은 대조구(control)의 경우, BHCPF-11과 12의 용해도는 각각 17.2% 및 21.5%로 상호간에는 유의적인 차이를 나타내었으며, pH 2 및 12의 pH-shift 처리한 BHCPF-11의 단백질 용해도는 각각 16.3 및 20.3%로서 BHCPF-12 (14.0 및 13.0%)보다 유의하게 높았다( $P < 0.05$ ).

STCPF-11 및 12의 pH-shift 처리하지 않은 control의 용해도는 각각 1.7% 및 2.7%로 상호간에는 두드러진 차이가 없었으나, pH 2와 12에서 STCPF-11의 단백질 용해도가 각각 12.1 및 21.1%로서 STCPF-12 (11.9 및 14.6%)에 비하여 유의하

게 높은 용해도를 나타내었다( $P < 0.05$ ). YTCPF-11 (1.9%)와 12(2.0%)의 control 용해도는 STCPFs와는 차이가 없었으나, BHCPFs에 비하여 현저히 낮아 어종 간의 차이가 인정되었다. 한편 pH-shift 처리 pH 2와 12에서, YTCPF-11의 단백질 용해도는 각각 9.8 및 13.8%로서 YTCPF-12 (7.8 및 8.3%)보다 유의하게 높았다( $P < 0.05$ ). 따라서 세 어종 모두 산성 (pH 2) 및 알칼리성 (pH 12)의 pH-shift 처리에서는 CPFs-11이 상대적으로 CPFs-12에 비하여 단백질 용해도가 우수하였다. 이러한 결과는 pH 2와 pH 12와 같은 극단의 pH-shift 처리로 물 주변의 단백질이 더 많은 하전을 띠게 되거나, 보다 많은 극성기가 노출됨으로서 단백질 용해도를 향상시킬 수 있음을 의미하였다. 아울러 단백질 용해도는 단백질-단백질 및 단백질-용매 간의 상호작용에 의해 영향을 받으며, 단백질의 표면 소수성-친수성 균형에 의해 영향을 받는다고 하였다 (Mohan et al., 2006; Horax et al., 2011). 황다랑어 알 (Park et al., 2016)과 가다랑어 알 (Yoon et al., 2018b)의 가열-건조(cook-dried) 공정을 통해 제조한 단백질 농축분말의 용해도는 pH 12-shift 처리를 통해 각각 8.9-9.5% 및 12.9-14.2%로서, 이 실험결과에 비추어, CPFs의 용해도보다 높은 것으로 확인되었다. 이러한 차이는 가열-건조 과정에서 단백질의 가열변성에 비해 알칼리 가용화과정으로 소수성 잔기의 노출이 보다 많이 일어남에 따른 용해도 감소가 반영된 것이라 판단되었다(Sikorski and Naczka, 1981). 따라서 등전점부근(pH 4-6)의 pH를 제외한 pH-shift 처리는 단백질의 용해도를 개선하는 것으로 나타났다(Kinsella, 1976).

### 거품 형성능

Table 1은 넙치(BH), 가다랑어(ST), 그리고 황다랑어(YT) 알의 가용화과정에서 회수한 CPFs의 식품 기능특성으로서 거품형성능에 대한 결과를 나타낸 것이다. 먼저 거품성(FC, foaming capacity)의 경우, 대조구는 BHCPF-11 (145.8%), BHCPF-12 (159.5%) 그리고 STCPF-12 (120.7%)에서만 거품성이 유의적으로 인정되었으나( $P < 0.05$ ), 거품안정성(FS, foam stability)의 경우 BHCPFs만이 거품형성 후 60분까지 41.9-69.9%의 거품이 유지되었다. pH 2-shift 처리에서, STCPFs (144.5 및 150.1%) 그리고 YTCPFs (151.4 및 127.2%)의 FCs가 BHCPFs (111.0 및 103.2%)에 비하여 유의적으로 강한 거품성을 나타내었으나, 이들의 FSs는 STCPF-11과 YTCPF-11에서만 일부 인정되었을 뿐이었다. 또한 BHCPFs는 pH 4에서 그리고 STCPFs 및 YTCPFs는 pH 6에서 거품성을 나타내지 않았으며, 이는 등전점 부근인 pH 4와 6에서의 보수력(WHC, Fig. 2) 그리고 단백질 용해도(Fig. 3)의 결과와 일치하였다. 따라서 보수력 및 용해도가 거품성과 밀접한 관련이 있음을 시사하고 있다. BHCPFs의 FCs 및 FSs는 pH 6-12범위의 pH-shift 처리에서 거품성 및 거품안정성이 유지되었으나, STCPF-12의 FCs 및 FSs는 pH 8-12범위에서 일부 인정되었을 뿐이었다. 세 어종 모두 pH 12-shift 처리에서 FCs 및 FSs가 유의적으로 우

수한 결과를 나타내었으며, 전체적으로 거품성 및 거품안정성의 결과를 토대로 BHCPFs가 ST와 YT에 비하여 거품 형성능에 있어서 우수하였다( $P<0.05$ ). 식품 기능성에서 거품성 (FC) 및 거품안정성(FS)은 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(Damodaran, 1997; Klomping et al., 2007). Lee et al. (2017)과 Yoon et al. (2017)은 단백질농도가 높을수록 거품성이 우수한 경향을 나타내며, 시료중의 단백질 농도가 식품기능성으로서 거품형성에 있어 중요한 인자라고 보고하였다. Intarasirisawat et al. (2012)과 Chalamaiah et al. (2015)은 어류 알 단백질 가수분해물이 효소작용으로 인한 단백질의 저분자화로 용해도가 증가하

여 거품성이 개선되었다고 하였으며, 소수성(hydrophobic) 아미노산의 증가로 인해 물-공기 계면에서 급속히 흡착되어 거품성이 개선된다고 보고한 바 있다. 이와 같이 효소처리를 통해 CPFs의 단백질 용해도를 보다 개선시킨다면 거품 형성능도 개선될 것이라 판단되었다. 한편 Park et al. (2016)과 Yoon et al. (2018b)은 가열-건조처리 어류 알 농축분말은 107.9-111.7%의 거품성을 나타내었고, pH 4-6범위를 제외한 pH-shift 처리에 의해 일부 용해도 개선을 통한 거품성도 개선되었다고 하였다. 그러나 이 실험결과에 비하여 거품 형성능에 있어서는 현저히 낮은 것으로 확인되었다. 따라서 어류 알에서 알칼리 가용화공정을 통해 회수한 CPFs는 가열-건조 농축분말에 비해 거품 형성능으로서의 식품기능성이 우수하였다.

유화 형성능

유화능(EAI, emulsifying activity index)은 water-oil 계면에서 단백질이 oil을 흡착하여 emulsion을 형성하는 능력이며, 유

Table 1. Foaming capacity (FC, %) and foam stability (FS, %) of collagenous protein fractions (CPFs) recovered from bastard halibut (BH) *Paralichthys olivaceus*, skipjack tuna (ST) *Katsuwonus pelamis* and yellowfin tuna (YT) *Thunnus albacares* roe by alkaline solubilization

| Sample   | Control | pH 2                     | pH 4                    | pH 6                    | pH 7                    | pH 8                     | pH 10                    | pH 12                   |                         |
|----------|---------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| BHCPF-11 | FC (%)  | 145.8±3.7 <sup>Bb</sup>  | 111.0±7.5 <sup>Dc</sup> | 100.0±0.0 <sup>Eb</sup> | 119.1±4.7 <sup>Ca</sup> | 117.0±1.2 <sup>Cab</sup> | 119.4±1.3 <sup>Cb</sup>  | 142.3±2.5 <sup>Bb</sup> | 188.7±2.2 <sup>Aa</sup> |
|          | 15 min  | 88.0±0.7                 | -                       | -                       | 98.0±0.2                | 84.0±3.5                 | 83.7±8.3                 | 80.1±9.0                | 87.8±0.8                |
|          | 30 min  | 79.7±1.9                 | -                       | -                       | 92.5±1.3                | 74.7±5.3                 | 77.5±3.5                 | 72.5±5.6                | 83.6±2.0                |
|          | 60 min  | 69.9±0.8                 | -                       | -                       | 70.7±1.7                | 63.2±1.1                 | 59.4±1.8                 | 61.4±4.9                | 77.8±0.8                |
| BHCPF-12 | 0 min   | 159.5±7.5 <sup>Ba</sup>  | 103.2±1.5 <sup>Dd</sup> | 100.0±0.0 <sup>Db</sup> | 119.1±9.4 <sup>Ca</sup> | 116.7±5.8 <sup>Cab</sup> | 125.9±2.5 <sup>Ca</sup>  | 156.5±6.0 <sup>Ba</sup> | 188.6±4.8 <sup>Aa</sup> |
|          | 15 min  | 67.4±0.3                 | -                       | -                       | 58.1±0.1                | 83.1±5.0                 | 76.4±8.6                 | 84.3±7.3                | 89.5±2.2                |
|          | 30 min  | 55.1±0.4                 | -                       | -                       | -                       | 66.3±4.5                 | 64.5±5.3                 | 78.4±9.7                | 86.4±3.8                |
|          | 60 min  | 41.9±0.0                 | -                       | -                       | -                       | 51.3±1.8                 | 45.2±3.9                 | 67.2±7.3                | 79.1±1.5                |
| STCPF-11 | FC (%)  | 100.0±0.0 <sup>Dd</sup>  | 144.5±0.1 <sup>Aa</sup> | 118.0±0.0 <sup>Db</sup> | 100.0±0.0 <sup>Db</sup> | 116.9±0.1 <sup>Cab</sup> | 120.1±0.2 <sup>BcA</sup> | 100.0±0.0 <sup>Dd</sup> | 121.7±6.6 <sup>Ba</sup> |
|          | 15 min  | -                        | 61.8±11.7               | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | 78.3±7.5                |
|          | 30 min  | -                        | 58.4±2.3                | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | 68.1±3.7                |
|          | 60 min  | -                        | 54.3±0.9                | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | -                       |
| STCPF-12 | FC (%)  | 120.7±0.5 <sup>Cdc</sup> | 150.1±8.3 <sup>Aa</sup> | 115.4±2.8 <sup>Da</sup> | 100.0±0.0 <sup>Eb</sup> | 121.5±1.2 <sup>Ca</sup>  | 124.3±1.6 <sup>Ca</sup>  | 122.3±2.0 <sup>Cc</sup> | 131.3±0.7 <sup>Bb</sup> |
|          | 15 min  | -                        | 37.8±0.0                | -                       | -                       | -                        | 48.9±0.5                 | 87.8±1.9                | 70.9±0.2                |
|          | 30 min  | -                        | -                       | -                       | -                       | -                        | 52.3±6.3                 | 86.8±0.4                | 62.5±0.9                |
|          | 60 min  | -                        | -                       | -                       | -                       | -                        | -                        | 83.4±1.3                | -                       |
| YTCPF-11 | FC (%)  | 100.0±0.0 <sup>Dd</sup>  | 151.4±0.7 <sup>Aa</sup> | 118.7±4.4 <sup>Ca</sup> | 100.0±0.0 <sup>Db</sup> | 117.4±1.5 <sup>Cab</sup> | 100.0±0.0 <sup>Dd</sup>  | 100.0±0.0 <sup>Dd</sup> | 131.0±8.2 <sup>Bb</sup> |
|          | 15 min  | -                        | 85.3±13.0               | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | 84.9±3.2                |
|          | 30 min  | -                        | 84.2±10.3               | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | 77.4±0.4                |
|          | 60 min  | -                        | 76.3±7.9                | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | 67.8±0.5                |
| YTCPF-12 | FC (%)  | 100.0±0.0 <sup>Ed</sup>  | 127.2±3.5 <sup>Ab</sup> | 100.0±0.0 <sup>Eb</sup> | 100.0±0.0 <sup>Eb</sup> | 112.6±5.5 <sup>Cb</sup>  | 107.5±1.0 <sup>Dc</sup>  | 100.0±0.0 <sup>Ed</sup> | 122.1±4.8 <sup>Bc</sup> |
|          | 15 min  | -                        | 45.6±1.1                | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | 75.6±2.2                |
|          | 30 min  | -                        | -                       | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | 69.1±0.7                |
|          | 60 min  | -                        | -                       | -                       | -                       | -                        | -                        | -                       | 60.5±0.7                |

Values represent the mean±SD of n=3. Means with different capital letters within the same row and small letters within same column are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range test. -, Not detected.

화 안정성(ESI, emulsion stability index)은 형성된 emulsion이 일정시간 동안 이를 유지시키는 능력으로 정의된다(Can Karaca et al., 2011). 수중 유적형(oil in water) EAI ( $m^2/g$  of protein)는 단백질 중량 당 안정화 된 계면의 면적의 단위로 표시하며, 이는 새로 생성된 emulsion의 형성 및 안정성을 돕는 단백질의 능력을 평가하는 것으로 500 nm에서 탁도에 의해 결정된다(Pearce and Kinsella, 1978). 어류 알 CPFs의 유화능(EAI) 및 유화안정성(ESI)은 Table 2에 나타내었다. pH-shift 처리 하지 않은 대조구(control)의 경우, STCPF-11과 12 ( $20.1$  및  $23.9 m^2/g$  of protein)는 BHCPFs ( $16.0$  및  $21.1 m^2/g$  of protein)와 YTCPFs ( $9.3$  및  $13.7 m^2/g$  of protein)에 비하여 유의적으로 우수한 유화능을 나타내었으며, CPFs-12가 CPFs-11에 비하여 유의적으로 높은 유화능을 나타내어( $P<0.05$ ), 어종 및 알칼리 가용화공정에 따른 차이도 인정되었다. Park et al. (2016)과 Yoon et al. (2018)은 황다랑어 및 가다랑어 알 가열-건조 농축분말의 EAI는 각각  $2.3-2.5$  및  $3.1-3.7 m^2/g$  of protein 범위이며, egg white ( $14.7-15.2 m^2/g$  of protein)에 비해 현저히 낮은 유화능을 보인다고 하였다. 이 실험결과에 비추어 CPFs는 농축분말에 비해 월등히 우수한 유화능을 보일 뿐만 아니라 egg white에 비하여도 유사하거나 우수한 유화능을 나타냄으로서 유화제로서의 이용가능성이 높을 것으로 판단되었다. pH-shift 처리(pH 2-12)에 따른 EAI의 변화는 등전점 부근인 pH 4에서 모든 CPFs ( $0.9-4.2 m^2/g$  of protein)가 완충능(Fig.

1), 보수력(Fig. 2), 용해도(Fig. 3) 및 거품성(Table 1)의 결과와 마찬가지로 가장 낮은 유화능을 나타내어, 전형적인 단백질의 식품기능성을 나타내는 것으로 확인되었다. 또한 세 어종 모두 pH 12-shift 처리에서의 EAI ( $18.8-30.2 m^2/g$  of protein)는 pH 2-shift 처리( $6.7-12.3 m^2/g$  of protein) 보다 높은 유화능을 보였다. 황다랑어(Park et al., 2016)와 가다랑어 알(Yoon et al., 2018) 농축분말의 경우도 알칼리 pH-shift 처리에서  $15.4-21.9 m^2/g$  of protein 범위의 유화능을 나타내어 산성( $5.2-5.9 m^2/g$  of protein)에서보다 높은 유화능을 나타낸다고 하여, 이 실험의 결과와 유사하였다.

한편, 생성된 emulsion이 유지되는 시간으로 나타난 대조구의 유화안정성(ESI, min)은 BHCPFs에 대해  $20.2-30.6$  min, STCPFs의 경우  $27.6-66.4$  min 그리고 YTCPFs에 대해  $38.9-62.0$  min으로 YTCPFs가 생성된 emulsion의 유지력이 더 오래가는 것으로 나타났다. EAI가  $20 m^2/g$  of protein 수준으로 유화능이 우수한 pH 12-shift 처리 CPFs의 ESI는 BHCPFs에 대해  $26.4-28.9$  min, STCPFs의 경우  $24.4-31.5$  min 범위 그리고 YTCPFs에 대해서  $23.5-26.3$  min 범위로 pH-shift 처리에 따른 어종간 ESI의 차이는 인정되지 않았다.

Park et al. (2016)은  $15 m^2/g$  of protein 이상의 EAI를 보이는 황다랑어 알 가열-건조 농축분말의 ESI는  $18.2-20.3$  min 그리고 positive control로서 egg white ( $14.7-26.2 m^2/g$  of protein)의 경우  $19.7-26.3$  min의 유화안정성을 나타낸다고 하였으며,

Table 2. Emulsifying activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of collagenous protein fractions (CPFs) recovered from bastard halibut (BH) *Paralichthys olivaceus*, skipjack tuna (ST) *Katsuwonus pelamis* and yellowfin tuna (YT) *Thunnus albacares* roe by alkaline solubilization.

| Sample                    |         | BHCPF-11             | BHCPF-12            | STCPF-11             | STCPF-12             | YTCPF-11            | YTCPF-12            |
|---------------------------|---------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| EAI<br>( $m^2/g$ protein) | Control | $16.0 \pm 0.7^{Bc}$  | $21.1 \pm 1.3^{Ab}$ | $20.1 \pm 0.3^{Bb}$  | $23.9 \pm 0.5^{Ba}$  | $9.3 \pm 0.9^{De}$  | $13.7 \pm 0.8^{Bd}$ |
|                           | pH 2    | $6.8 \pm 0.7^{Fb}$   | $6.7 \pm 1.0^{Eb}$  | $11.8 \pm 1.1^{Ca}$  | $11.7 \pm 1.4^{Ca}$  | $12.3 \pm 0.8^{Ca}$ | $12.1 \pm 1.2^{Ca}$ |
|                           | pH 4    | $1.7 \pm 0.2^{Gc}$   | $0.9 \pm 0.4^{Gd}$  | $4.2 \pm 0.9^{Ea}$   | $2.4 \pm 0.2^{Db}$   | $2.8 \pm 0.1^{Eb}$  | $1.4 \pm 0.2^{Fcd}$ |
|                           | pH 6    | $7.0 \pm 0.5^{Fb}$   | $3.6 \pm 1.0^{Fc}$  | $10.4 \pm 1.3^{Ca}$  | $4.1 \pm 0.7^{Dc}$   | $10.3 \pm 0.5^{Da}$ | $7.4 \pm 0.5^{Eb}$  |
|                           | pH 7    | $8.2 \pm 0.7^{Ec}$   | $9.5 \pm 1.0^{Cdb}$ | $7.3 \pm 0.3^{Dc}$   | $11.5 \pm 0.3^{Ca}$  | $10.1 \pm 0.3^{Db}$ | $9.3 \pm 0.7^{Db}$  |
|                           | pH 8    | $10.0 \pm 0.4^{Dbc}$ | $8.1 \pm 0.3^{DEc}$ | $10.1 \pm 1.4^{Cbc}$ | $11.9 \pm 2.9^{Cab}$ | $13.0 \pm 1.1^{Ca}$ | $8.0 \pm 0.6^{Ec}$  |
|                           | pH 10   | $11.7 \pm 0.3^{Cde}$ | $10.9 \pm 1.4^{Ce}$ | $21.8 \pm 1.1^{Bb}$  | $24.4 \pm 2.3^{Ba}$  | $17.1 \pm 1.2^{Bc}$ | $13.4 \pm 0.4^{Bd}$ |
|                           | pH 12   | $18.9 \pm 0.6^{Ab}$  | $18.8 \pm 0.8^{Bb}$ | $28.8 \pm 1.0^{Aa}$  | $29.9 \pm 1.4^{Aa}$  | $30.2 \pm 0.6^{Aa}$ | $28.9 \pm 0.9^{Aa}$ |
| ESI<br>(min)              | Control | $30.6 \pm 3.9$       | $20.2 \pm 7.7$      | $66.4 \pm 10.8$      | $27.6 \pm 3.9$       | $38.9 \pm 13.5$     | $62.0 \pm 15.1$     |
|                           | pH 2    | $16.3 \pm 0.2$       | $17.4 \pm 0.3$      | $14.2 \pm 0.7$       | $13.9 \pm 1.8$       | $17.2 \pm 1.4$      | $20.1 \pm 2.1$      |
|                           | pH 4    | $20.9 \pm 2.8$       | $30.3 \pm 5.6$      | $49.6 \pm 23.4$      | $45.8 \pm 9.0$       | $52.7 \pm 15.7$     | $77.5 \pm 7.1$      |
|                           | pH 6    | $15.0 \pm 0.6$       | $18.1 \pm 1.3$      | $35.3 \pm 6.5$       | $26.1 \pm 2.7$       | $53.0 \pm 11.8$     | $72.1 \pm 7.5$      |
|                           | pH 7    | $15.4 \pm 0.7$       | $11.7 \pm 0.4$      | $55.7 \pm 21.9$      | $48.9 \pm 13.5$      | $71.3 \pm 17.4$     | $47.6 \pm 8.0$      |
|                           | pH 8    | $18.0 \pm 0.9$       | $26.6 \pm 2.4$      | $21.7 \pm 3.9$       | $29.5 \pm 12.7$      | $28.7 \pm 5.8$      | $46.6 \pm 12.8$     |
|                           | pH 10   | $16.9 \pm 1.1$       | $15.4 \pm 2.9$      | $28.0 \pm 1.6$       | $18.2 \pm 2.1$       | $34.4 \pm 5.3$      | $52.9 \pm 6.5$      |
|                           | pH 12   | $28.9 \pm 1.2$       | $26.4 \pm 0.7$      | $31.5 \pm 3.0$       | $24.4 \pm 1.4$       | $23.5 \pm 3.6$      | $26.3 \pm 2.6$      |

Values represent the mean  $\pm$  SD of  $n=3$ . Means with different capital letters within the same column and small letters within same row are significantly different at  $P<0.05$  by Duncan's multiple range test.

Yoon et al. (2018)은 10 m<sup>2</sup>/g of protein이상의 EAI를 나타내는 가다랑어 알 가열-건조 농축분말의 ESI는 18.1-20.1 min이라고 보고하였다. 이상의 결과와 보고에 비추어 어류 알 CPFs는 가열-건조 농축분말에 비해 상대적으로 분자량이 큰 불용성 단백질을 함유하고 있어 용해도와 보수력이 낮은 반면에, 우수한 유화능 및 유화안정성을 나타내는 것으로 확인되었다. 이는 분자량이 상대적으로 큰 peptide가 차지하는 비율이 높거나 소수성 peptide의 함량이 많을수록 emulsion의 안정성에 기여하게 되며, 균질화 과정에서 새로 형성된 oil 방울의 표면에 단백질과 peptide가 흡착됨으로서, oil 방울끼리의 결합을 방지하는 보호막들이 만들어져 emulsion이 형성된다(Dickinson and Lorient 1994; Mutilangi et al., 1996). 이 연구의 CPFs 중에는 고분자 단백질 및 peptide의 하전(charge)과 관련된 소수성(hydrophobic) 및 친수성(hydrophilic)의 작용기에 의해 수중 유적형(oil in water)의 emulsion이 생성되는 것으로 추정되었다(Gbogouri et al., 2004). 3종의 어류 알로부터 알칼리 가용화 공정을 통해 회수한 collagenous protein 획분(CPFs)들은 BH-CPFs가 전반적으로 ST와 YT에 비하여 완충능, 보수력, 용해도, 거품 및 유화 형성능이 우수하였으며, STCPFs와 YTCPFs의 경우도 단백질 용해도를 제외하고는 우수한 식품기능성을 나타내었다. 앞서의 연구(Yoon et al., 2018a)의 알칼리 불용성 획분의 이화학적 특성과 이 연구를 통한 식품기능성이 적용 가능한 식품가공 및 수산가공분야에 특히 제면, 제빵, 어육 소시지 또는 연제품의 단백질강화 및 식품기능성 개선소재 또는 대체소재로서의 이용이 가능할 것이다.

## 사 사

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

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

## References

- Alvarez C, Lelu P, Lynch SA and Tiwari BK. 2018. Optimised protein recovery from mackerel whole fish by using sequential acid/alkaline isoelectric solubilization precipitation (ISP) extraction assisted by ultrasound. *LWT-Food Sci Technol* 88, 210-216. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.045>.
- 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. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1721-z>.
- Balaswamy K, Jyothirmayi T and Rao DG. 2007. Chemical composition and some functional properties of fish egg (roes) protein concentrate of rohu (Labep rohita). *J Food Sci Technol* 44, 293-296.
- Binsi PK, Natasha N, Sarkar PC, Ashraf PM, George N and Ravishankar CN. 2017. Structural, functional and in vitro digestion characteristics of spray dried fish roe powder stabilised with gum arabic. *Food Chem* 221, 1698-1708. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.116>.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>.
- 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>.
- 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>.
- Damodaran S. 1997. Protein-stabilised foams and emulsions. In: *Food proteins and their applications*. Damodaran S and Paraf A, eds. Marcel Dekker, New York, NY, U.S.A., 57-110.
- Dickinson E and Lorient D. 1994. Emulsions. In: *Food macromolecules and colloids*. Dickinson E and Lorient D, eds. The Royal Society of Chemistry, London, U.K., 201-274.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2015. Global aquaculture production (fish stat) [Internet]. Retrieved from <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-captureproduction/en> on Apr 24, 2018.
- 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>.
- Heu MS, Ji SG, Koo JG, Kwon JS, Han BW, Kim JG, Kim HJ and Kim JS. 2009. Improvement on Yield and Functional Properties of Autoclave-Treated Salmon Frame Extracts using Commercial Enzymes. *Korean J Fish Aquat Sci* 42, 537-544. <https://doi.org/10.5657/kfas.2009.42.6.537>.
- 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. <https://doi.org/10.5657/kfas.2006.39.1.001>.
- Heu MS, Lee JH, Kim HJ, Jee SJ, Lee JS, Jeon YJ, Shahidi F

- and Kim JS. 2010. Characterization of acid-and pepsin-soluble collagens from flatfish skin. *Food Sci Biotechnol* 19, 27-33. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0004-3>.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.068>.
- Intarasirisawat R, Benjakul S, Visessanguan W and Wu J. 2014. Effects of skipjack roe protein hydrolysate on properties and oxidative stability of fish emulsion sausage. *LWT-Food Sci Technol* 58, 280-286. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.036>.
- Intarasirisawat R, Benjakul S, Visessanguan W. 2011. Chemical compositions of the roes from skipjack, tongol and bonito. *Food Chem* 124, 1328-1334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.076>
- Kang KT, Heu MS, Jee SJ, Lee JH, Kim HS and Kim JS. 2007. Food component characteristics of tuna livers. *Food Sci Biotechnol* 16, 367-373.
- Kang SI, Heu MS, Choi BD, Kim KH, Kim YJ and Kim JS. 2015. Investigation of food quality characterization of processing by-product (frame muscle) from the sea rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Korean J Fish Aquat Sci* 48, 26-35. <https://doi.org/10.5657/kfas.2015.0026>.
- Kim HJ, Lee HJ, Park SH, Jeon YJ, Kim JS and Heu MS. 2015. recovery and fractionation of serine protease inhibitors from bastard halibut *paralichthys olivaceus* roe. *Korean J Fish Aquat Sci* 48, 178-186. <https://doi.org/10.5657/kfas.2015.0178>.
- Kim JS, Kim MJ, Kim KH, Kang SI, Park SH, Lee HJ and Heu MS. 2014. Debittering of enzymatic hydrolysate using exopeptidase active fractions from the Argentina shortfin squid *Illex argentinus* hepatopancreas. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 135-143. <https://doi.org/10.5657/kfas.2014.0135>.
- Kinsella JE. 1976. Functional properties of proteins in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 7, 219-225.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>.
- 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, C298-C306. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07177.x>.
- 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, Kim HJ, Park SH, Yoon IS, Lee GW, Kim YJ, Kim JS and Heu MS. 2016a. Recovery of serine protease inhibitor from fish roes by polyethylene glycol precipitation. *Fish Aquat Sci* 19, 25. <https://doi.org/10.1186/s41240-016-0016-x>.
- Lee HJ, Lee GW, Yoon IS, Park SH, Park SY, Kim JS, Heu MS. 2016c. Preparation and characterization of protein isolate from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe by isoelectric solubilization/precipitation process. *Fish Aquat Sci* 19, 14:1-10. <http://dx.doi.org/10.1186/S41240-016-0014-Z>.
- Lee HJ, Park SH, Yoon IS, Lee GW, Kim JS and Heu MS. 2016b. Chemical composition of protein concentrate prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacores* roe by cook-dried process. *Fish Aquat Sci* 19, 12:1-8. <http://dx.doi.org/10.1186/s41240-016-0012-1>.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193, 265-275.
- 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>.
- MOF (Ministry of Ocean and Fisheries). 2017. Yearbook of marine resource [Internet]. Retrieved from <http://www.mof.go.kr/article/view.do?articleKey=18346&boardKey=32&menuKey=396&currentPageNo=1> on Apr 24, 2018.
- 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 Technol* 5, 2192-2200. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0496-0>.
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb14174.x>.
- Narsing Rao G and Govardhana Rao D. 2010. Chemical and functional characterization of Gum karaya (*Sterculia urens* L.) seed meal. *Food Hydrocolloids* 24, 479-485.
- 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.
- Noh Y, Park KH, Lee JS, Kim HJ, Kim MJ, Kim KH, Kim JG, Heu MS and Kim JS. 2013. Improvement on yield of extracts from byproducts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* and sea tangle *Laminaria japonica* using commercial enzymes and its food component characterization. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 37-45. <https://doi.org/10.5657/kfas.2013.0037>.
- Nolsoe H and Undeland I. 2009. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the Art. *Food Bioprocess Technol* 2, 1-27. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0088-4>.
- 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. <https://doi.org/10.1021/jf60217a041>.
- Sikorski ZE and Naczek M. 1981. Modification of technological properties of fish protein concentrates. *Crit Rev Food Sci Nutr* 14, 201-230. <https://doi.org/10.1080/10408398109527305>.
- Sikorski ZE. 1994. The contents of proteins and other nitrogenous compounds in marine animals. In: *Seafood proteins*. Sikorski ZE, Pan BS and Shahidi F eds. Chapman and Hall, New York, NY, U.S.A., 6-12.
- Tan ES, Ngoh 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>.
- 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, 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* 00, 1-11. <https://doi.org/10.1002/fsn3.676>.