

## 삼치 어육 가수분해물의 항산화 및 ACE 저해 활성

백다현<sup>1\*</sup> · 김인용<sup>2\*</sup> · 정윤희<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>단국대학교 식품영양학과

<sup>2</sup>단국대학교 천연물식의약소재산업화연구센터

### Antioxidant and ACE Inhibitory Activities of Japanese Spanish Mackerel (*Scomberomorus niphonius*) Hydrolysates

Dahyun Baek<sup>1\*</sup>, Inyong Kim<sup>2\*</sup>, and Yoonhwa Jeong<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition and

<sup>2</sup>Research Center for Industrialization of Natural Neutralization, Dankook University

**ABSTRACT** This study examined the antioxidant and ACE inhibitory activities of Japanese Spanish mackerel hydrolysates treated with different defatting methods. The methods were divided into defatted raw meat, cooked meat after defatting, and defatted meat after cooking. These samples were hydrolyzed by Alcalase® for different hydrolysis times (30, 60, 120, and 180 min). The degree of hydrolysis increased with increasing hydrolysis time and followed by cooked meat after defatting raw meat, cooked meat after defatting, and defatted meat after cooking. The DPPH radical scavenging activity increased significantly with increasing hydrolysis time at 5 mg/mL and the highest points for each defatting method were 63.16% at 5 mg/mL of 180 min defatted meat after cooking and 89.47% at 20 mg/mL of 180 min in cooked meat after defatting. The hydrolysates of all defatting treatments increased significantly up to 120 min at 20 mg/mL and 50 mg/mL; the highest SOD-like activity was 58.90% at 50 mg/mL defatted meat after cooking for 180 min. The reducing power of the hydrolysates increased with increasing hydrolysis time after 60 min. Among all the results, 50 mg/mL cooked meat after defatting for 180 min produced the highest result. The nitrite scavenging activity of hydrolysates was higher at lower pH and was not active at pH 6, and the highest point was 95.33% of 50 mg/mL cooked meat after defatting for 120 min. The ACE inhibition activity, defatted meat after cooking was highest and the highest ACE inhibition activity was 90.20% at 18 min.

**Key words:** *Scomberomorus niphonius*, hydrolysates, protein, antioxidant activities, ACE inhibition

## 서 론

인간의 대사과정 중 superoxide radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide 등의 free radical(유리라디칼)은 미토콘드리아 내 TCA cycle,  $\beta$ -oxidation, NADPH oxidation, 세포질에서의 purine metabolism 및 리소좀에서 과산화수소의 분해과정 등을 통해 체내에 생성된다(1-3). 이 외에도 자외선이나 방사선, 화학물질, 흡연 등의 외부 스트레스에 의해서 유발된다. 이러한 유리라디칼은 면역시스템 과정에 필요한 요소로 효소 활성화에 관여하는 등 긍정적인 효과를 보이기도 하지만 동맥경화, 암, 염증성 질환, 류마티스 관절염 및 알츠하이머 등과 같은 질환의 원인으로 나타나

기도 한다(4). 고혈압은 대표적 심혈관 질환으로 혈압조절 및 전해질 균형을 조절하는 RAS(rennin-angiotensin system)에 의해 작동되는데 angiotensin I-converting enzyme(ACE)은 angiotensin I 이 His-Leu에 있는 C-말단을 제거하여 angiotensin II로 전환되며 혈관을 수축시키고 부신피질을 자극하여 알도스테론을 분비하게 하여 혈압을 높게 된다(5). 또한 지방산의 산화를 촉진하고 과산화를 촉진한다(6).

삼치(*Scomberomorus niphonius*)는 농어목 고등어과로 서해, 남해, 동중국해, 일본 및 러시아 등의 북서태평양 온대 해역에 분포하며 봄, 여름에는 먹이와 산란을 위해 연안 또는 북쪽으로 이동하는 산란회유(spawning migration)를 하며 가을부터 겨울까지는 남쪽으로 색이회유(feeding migration)를 한다. 삼치는 성장 속도가 빠르며 성어의 경우 최대 1 m, 7 kg까지 성장하며 먹이는 주로 갑각류 및 어류 등을 섭취한다(7).

단백질 분해효소에 의한 가수분해는 단백질의 구조를 변화시키고 저분자화하여 free amino acid 및 펩타이드를 생

Received 30 November 2018; Accepted 10 January 2019

Corresponding author: Yoonhwa Jeong, Department of Food Sci & Nutrition, Cheonan, Chungnam 31116, Korea  
E-mail: yjeong@dankook.ac.kr, Phone: +82-41-550-3477

\*These authors contributed equally to this work.

Author information: Dahyun Baek (Graduate student), Inyong Kim (Researcher), Yoonhwa Jeong (Professor)

성하며 이러한 가수분해로 인해 본래 단백질과 다른 물리화학적 특성 및 기능성을 생성한다(8). 일반적으로 가수분해물은 용해성 증가 및 점도 감소의 가공특성이 생성되며 일정 분자량의 펩타이드는 유화능이 생성되기도 한다(9,10). 단백질 가수분해에 관한 연구로는 단백질 종류, 분해조건 및 정제방법을 조절한 특정 펩타이드의 효율적인 생산방법(11), 메밀 가수분해물의 항산화 활성(12), 카제인, 참치 등뼈, 명태, 멸치 및 돼지 근육의 가수분해물의 ACE 저해 활성 등이 있다(13-16).

본 연구에서는 양질의 단백질 자원인 삼치 어육을 효소 처리하여 제조한 가수분해물의 탈지 조건, 가수분해 시간 및 가수분해물의 농도에 따른 항산화 및 ACE 저해 활성을 비교 분석하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

삼치는 이마트 죽전점에서 10월 초 어획된 국내산(Jeju, Korea)으로 내장과 두부가 제거된 것을 구입하여 껍질과 뼈를 제거한 후 시료로 사용하였다. 단백질 분해효소는 Novozymes North America, Inc.(Franklinton, NC, USA)의 Alcalase®를 구입하여 사용하였다. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), sodium phosphate, sodium borate, potassium ferricyanide는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다.

### 일반성분 측정

수분은 적외선 수분측정기(FD-720, Kett Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였으며, AOAC법(17)에 따라 조단백의 경우 micro Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법, 조회분 함량은 550°C에서 직접 회화법으로 측정하였다. 탄수화물 함량은 전체 100%에서 수분 함량, 조단백 함량, 조지방 함량 및 조회분 함량을 제외한 나머지 부분으로 계산하였다.

### 탈지 방법

지질을 제거하기 위하여 어육 4배량의 0.05% NaCl (Merck Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA), 0.1% NaHCO<sub>3</sub> 용액(Merck Co., Inc.)을 첨가하고 균질기를 이용하여(HG-15D, Daihan Scientific Co., Ltd., Wonju, Korea) 30초간 800 rpm에서 균질화하였다. 4°C, 7,520×g에서 20분간 원심분리(SMART R17, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Incheon, Korea) 후 어육 잔사를 제조하였다. ‘생어육 탈지’는 익히지 않은 어육을 시료로 사용하여 탈지하였고, ‘탈지 후 익힘’은 탈지한 어육을 찹솔에서 20분간 익힌 후 방랭하여 800 rpm에서 5분간 균질화하였다. ‘익힌 후 탈지’는 어육을 찹솔에서 20분간 익힌 후 탈지하였다. 탈지가 완료된 삼치 어육 일부는 수분측정 및 질소 정량을 하였으며 나머지는

가수분해에 사용하였다.

### 효소 가수분해

탈지한 어육의 4배수의 pH 8 용액을 제조하여 800 rpm, 30초간 균질화하였다(HG-15D, Daihan Scientific Co., Ltd.). 가수분해는 기질 양의 1% Alcalase®(Novozymes North America, Inc.)를 첨가하여 60°C, 120 rpm으로 Air shaking bath(BS-06/11/21/31, Jeio Tech Co., Ltd., Daejeon, Korea)에서 30, 60, 120, 180분간 반응시켰다. 가수분해 후 15분간 90°C water bath에 방치하여 반응을 정지시키고 즉시 방랭하였다. 4°C, 7,520×g에서 20분간 2회 원심분리 후(SMART R17, Hanil Science Industrial Co., Ltd.) 잔사를 제거하고 상등액을 회수하였으며, NaOH (Merck Co., Inc.)를 이용하여 pH 7로 조정하였다. 상등액 일부는 가수분해율 측정용으로 사용하였으며, 나머지는 동결건조 후 삼치 가수분해물 분말로 제조하였다.

### 가수분해도

가수분해도(degree of hydrolysis)는 Hoyle과 Merritt (18)의 방법에 따라 측정하였다. 가수분해물에 동량의 20% trichloroacetic acid(TCA)를 가하고 4°C, 2,560×g, 15분에서 원심분리(SMART R17, Hanil Science Industrial Co., Ltd.) 하여 잔사를 제거하였다. Micro Kjeldahl법을 이용하여 TCA 가용성 질소량 및 총 질소 함량을 측정하였으며 다음 식을 이용하여 가수분해율을 계산하였다.

$$\text{Degree of hydrolysis (\%)} = \frac{20\% \text{ TCA-Soluble nitrogen}}{\text{Total nitrogen}} \times 100$$

### DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Xie 등(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 농도별(5, 20 mg/mL)로 희석한 가수분해물 1.8 mL에 1.2 mL DPPH 용액(150 mM)(Sigma-Aldrich Co.)을 10초간 혼합하여 37°C 항온수조(BS-06/11/21/31, Jeio Tech Co., Ltd.)에서 30분간 정치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 가하였으며 양성 대조구는 ascorbic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = 100 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \times 100$$

### Superoxide dismutase(SOD) 유사 활성

가수분해물의 SOD 유사 활성은 superoxide에 의해 산화되는 pyrogallol의 산화 속도를 억제하는 원리로 Kim 등(20)의 방법을 이용하여 측정하였다. 농도별(5, 20, 50 mg/mL)로 희석한 가수분해물 0.2 mL에 Tris-HCl buffer(pH 8.5) 3 mL(Merck Co., Inc.), pyrogallol 0.2 mL(Merck

Co., Inc.)를 가하고 실온에서 10분간 정치하였다. 1 N HCl 을 가하여 반응을 정지한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 buffer(Sigma-Aldrich Co.)를 가하였으며 양성 대조구는 ascorbic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였다. SOD 유사 활성은 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{SOD like activity (\%)} = 100 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \times 100$$

#### 환원력(reducing power)

가수분해물의 환원력은 Oyaizu(21)의 방법을 변형하여 측정하였다. 농도별(20, 30, 50 mg/mL)로 희석한 가수분해물 0.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 0.5 mL(Sigma-Aldrich Co.)와 1% potassium ferricyanide 1 mL(Sigma-Aldrich Co.)를 가한 혼합물을 50°C 항온수조에 20분간 정치하고 10% TCA 0.5 mL(Sigma-Aldrich Co.)를 가하였다. 혼합물 2 mL에 증류수 2 mL와 0.1% ferric chloride 0.4 mL(Sigma-Aldrich Co.)를 가하고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 buffer를 가하였고 양성 대조구는 ascorbic acid를 사용하였다.

#### 아질산염 소거능(nitrite scavenging activity)

가수분해물의 아질산염 소거능은 Gray와 Dugan(22)의 방법으로 측정하였다. 1 mM NaNO<sub>2</sub> 1 mL(Sigma-Aldrich Co.)를 농도별(20, 50 mg/mL)로 희석한 가수분해물에 2 mL씩 가한 후, pH에 따른 소거능을 확인하기 위해 0.1 N HCl(Merck Co., Inc.), 0.2 N citrate buffer(pH 3과 pH 6)(Sigma-Aldrich Co.)를 넣어 각각 pH 1.2, pH 3, pH 6으로 맞추고 혼합액의 최종 부피를 10 mL로 하였다. 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 1 mL를 취하여 2% acetic acid 4 mL(Sigma-Aldrich Co.), Griess reagent 0.4 mL(Sigma-Aldrich Co.)를 가하여 혼합한 다음 15분간 실온에서 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 buffer를 가하여 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 다음의 식에 따라 가수분해물 희석액 첨가 전후의 아질산염 백분율로 표기하였다.

$$\text{Nitrite scavenging activity (\%)} = 100 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \times 100$$

#### ACE 억제 효과(ACE inhibition activity)

ACE 조효소액은 토끼의 허파로부터 얻은 아세톤 침전분말 0.5 g(Sigma-Aldrich Co.)에 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3, containing 0.3 M NaCl)(Sigma-Aldrich Co.)를 가하여 10 mL로 정용한 뒤 4°C에서 24시간 교반 후 1,940×g에서 40분간 원심분리(SMART R17, Hanil Science Industrial Co., Ltd.) 하여 얻은 상정액으로 하였다. 기질은 25 mg의 HHL(Hippuryl-His-Leu, Sigma-Aldrich Co.)을 acetic acid 0.5 mL에 녹여 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)(Sigma-Aldrich Co.)를 넣고 NaOH(Merck

Co., Inc.)를 가해 pH 8.3으로 조정한 후 최종 부피를 40 mL로 하여 제조하였다. 가수분해물의 ACE 저해 활성은 Cushman과 Cheung(23)의 방법에 따라 농도별(5, 10, 30 mg/mL)로 희석한 가수분해물 50 µL에 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3, containing 0.3 M NaCl) 100 µL(Sigma-Aldrich Co.)와 ACE 조효소액 50 µL를 가한 다음 37°C에서 10분간 예비반응 시킨 후 HHL 기질용액 200 µL를 가하고 37°C에서 60분간 반응시켰다. 1 N HCl 250 µL(Merck Co., Inc.)를 가하여 반응을 정지시킨 후 ethyl acetate 1.5 mL(Merck Co., Inc.)를 넣고 15초간 교반 후 4°C, 1,940×g에서 10분간 원심분리(SMART R17, Hanil Science Industrial Co., Ltd.) 하였다. 상정액 1 mL는 test tube에 넣고 90°C에서 약 30분간 완전히 건조한 후 증류수 3 mL를 넣고 교반 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 가수분해물 대신 buffer를 가하였으며 양성 대조구는 captopril을 사용하였다. ACE 저해 활성은 다음과 같은 방법으로 계산하였다.

$$\text{ACE inhibitory activity (\%)} = 100 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \times 100$$

#### 통계분석

모든 분석은 3회 반복하여 평균±표준편차로 표현하였으며, 통계분석은 SAS(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 사용하였다. 일원분산분석(one-way ANOVA)을 이용하였으며 Fisher's LSD 방법을 이용하여 *P*값이 0.05 미만을 유의한 것으로 판단하여 유의차를 검증하였다.

## 결과 및 고찰

#### 삼치 어육의 일반성분

삼치 어육의 일반성분은 Table 1과 같다. Moon 등(24)의 연구에서 삼치의 단백질과 지방은 각각 18.0%, 13.9%로 나타났는데, 단백질 함량은 큰 차이를 보이지 않았지만 지방 함량은 삼치의 어획 시기에 따라 차이를 나타내었다. 본 연구의 결과 지방 함량은 9.52%로 Moon 등(24)의 연구 결과(13.9%) 및 Jeong 등(25)의 연구 결과(4.93%)와 차이를 보였으나, 단백질 함량은 각 연구에서 18.8%, 18.0%, 19.6%로 유사하게 분석되었다. 이러한 결과는 시료의 채취시기에

**Table 1.** General composition of Japanese Spanish mackerel

Japanese Spanish mackerel	
Moisture	70.18
Crude protein	18.79 (63.01) <sup>1)</sup>
Crude fat	9.52 (31.92)
Crude ash	0.97 (3.25)
Carbohydrate <sup>2)</sup>	0.54 (1.81)

<sup>1)</sup>Dry weight basis.

<sup>2)</sup>Carbohydrate content was calculated value by subtracting sum of moisture, crude protein, crude fat, crude ash from total percentage (100%).

**Table 2.** Effect of hydrolysis time on degree of hydrolysis for Japanese Spanish mackerel hydrolysates treated with different defatting methods

Sample	Hydrolysis time (min)	Degree of hydrolysis (%)
Defatted raw meat	30	32.04 <sup>g1)</sup>
	60	39.93 <sup>f</sup>
	120	43.25 <sup>ef</sup>
	180	44.79 <sup>ef</sup>
Cooked meat after defatting	30	53.73 <sup>cd</sup>
	60	61.27 <sup>b</sup>
	120	65.30 <sup>ab</sup>
	180	68.82 <sup>a</sup>
Defatted meat after cooking	30	47.66 <sup>de</sup>
	60	49.60 <sup>de</sup>
	120	53.20 <sup>cd</sup>
	180	58.82 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup>Values with different letters within the same column differ significantly ( $P<0.05$ ).

다른 차이로 본 연구에 사용된 삼치는 10월산, Moon 등(24)이 사용한 삼치는 2월산, Jeong 등(25)이 사용한 삼치는 8월산으로, 삼치의 생장 특성상 빠른 속도로 성장하며 봄철 산란기 전까지 지방이 증가하기 때문이다.

### 삼치 어육의 가수분해도

탈지 방법 및 가수분해 시간을 조절하여 제조한 가수분해물의 가수분해도는 Table 2와 같다. 모든 실험군에서 가수분해 시간이 증가함에 따라 가수분해도가 증가하였으며 동일 가수분해 시간에서 탈지 방법에 의한 가수분해도는 탈지 후 익힘> 익힘 후 탈지> 생어육 탈지 순으로 나타났다. 탈지 후 익힘의 경우 균질화하는 과정에서 어육이 물리적으로 소단위로 분리된 뒤 익힘 과정을 거쳐 단백질 열변성이 일어나, 열변성이 일어난 뒤 분쇄된 익힘 후 탈지 과정에 비해 단백질의 반응면적이 커 가수분해가 용이했던 것으로 판단된다. 탈지 과정에서 삼치 어육의 가열 여부가 가수분해도를 높이는 데 기여한 것으로 보이며, 이는 단백질의 변성으로

3, 4차 구조가 재구성되고 반응기 표면이 노출되어 다른 작용기와 반응이 용이해져 이를 통한 효소와의 반응표면 증가로 가수분해도가 향상되었기 때문이다(18,26).

### DPPH 라디칼 소거능

삼치 어육 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거능은 Table 3과 같다. 모든 가수분해 시간에서 가수분해물 농도 20 mg/mL는 5 mg/mL보다 DPPH 라디칼 소거능이 유의적으로 높았다. 전반적으로 가수분해 시간이 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가함을 보였으나 20 mg/mL에서 ‘생어육 탈지’와 ‘익힘 후 탈지’에서 120분 및 180분에서 유의적인 차이를 나타내지 않았는데, 이는 DPPH의 결과값이 임계점 근처에 측정되어 군 간의 차이를 보이지 못한 것으로 여겨진다. 가수분해물 농도 5 mg/mL에서는 ‘익힘 후 탈지’ 180분 가수분해물에서 DPPH 라디칼 소거능이 63.16%로 가장 높았으며 가수분해물 20 mg/mL 농도에서 ‘탈지 후 익힘’ 180분 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거능이 89.47%로 가장 높았다. Kim 등(20)은 단백질이 가수분해 되면 free amino acids 및 저분자 펩타이드가 생성되며 이들의 크기, 함량, 구조나 구성하고 있는 아미노산의 종류, 배열순서 등 복합적인 작용에 의하여 항산화 효과를 나타낸다고 하였다. Foh 등(26)의 연구에서 기질의 익힘 여부에 따라 가수분해물의 분자량 분포가 달랐으며, Jao와 Ko(27)는 가수분해 조건에 따라 DPPH 라디칼 소거능이 다르다고 보고하였다. 본 연구에서는 가수분해 시간이 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거능이 증가하는 경향을 보였는데, 이는 항산화 활성을 나타내는 펩타이드 생성량이 많아져 DPPH 라디칼 소거능이 높아지는 것으로 사료된다. 그러나 탈지 방법, 익힘 여부, 가수분해 시간 등 가수분해 조건의 영향에 의한 가수분해 생성물이 다르기 때문에 각각 다른 가수분해 조건에서 제조된 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거능이 다르게 나타나며 최적 항산화 활성을 나타내는 가수분해 시간이 다른 것으로 사료된다. Ascorbic acid 5 µg/mL에서는 52.10%의 DPPH 라디칼 소거능(Table 4)을 보였는데, 이는 탈지조건과 관계

**Table 3.** The DPPH radical scavenging activity of Japanese Spanish mackerel hydrolysates treated with different hydrolysis conditions (%)

Sample	Concentration (mg/mL)	Hydrolysis time (min)			
		30	60	120	180
Defatted raw meat	5	17.61 <sup>ed1)</sup>	25.80 <sup>ec</sup>	49.01 <sup>cb</sup>	54.86 <sup>da</sup>
	20	68.30 <sup>ad</sup>	79.13 <sup>ac</sup>	89.06 <sup>aa</sup>	86.46 <sup>bb</sup>
Cooked meat after defatting	5	19.95 <sup>ed</sup>	26.82 <sup>dc</sup>	45.50 <sup>db</sup>	52.42 <sup>ea</sup>
	20	52.21 <sup>bc</sup>	59.03 <sup>cb</sup>	86.87 <sup>abA</sup>	89.47 <sup>aA</sup>
Defatted meat after cooking	5	30.79 <sup>dc</sup>	29.52 <sup>dc</sup>	37.51 <sup>eb</sup>	63.16 <sup>ca</sup>
	20	38.17 <sup>cc</sup>	65.70 <sup>bb</sup>	85.04 <sup>ba</sup>	86.92 <sup>ba</sup>
Ascorbic acid	0.0025		23.90		
	0.005		52.10		
	0.01		93.22		

<sup>1)</sup>Values with different letters within the same column (a-e) and row (A-D) differ significantly ( $P<0.05$ ).

**Table 4.** The SOD like activity of Japanese Spanish Mackerel hydrolysates treated with different hydrolysis methods (%)

Sample	Concentration (mg/mL)	Hydrolysis time (min)			
		30	60	120	180
Defatted raw meat	5	ND <sup>1)</sup>	2.66 <sup>dA2)</sup>	2.45 <sup>fA</sup>	3.27 <sup>gA</sup>
	20	18.61 <sup>eC</sup>	26.99 <sup>bB</sup>	30.27 <sup>cdA</sup>	29.65 <sup>eA</sup>
	50	38.65 <sup>abC</sup>	43.97 <sup>aB</sup>	50.10 <sup>bA</sup>	43.76 <sup>cB</sup>
Cooked meat after defatting	5	ND	ND	2.04 <sup>fB</sup>	4.29 <sup>gA</sup>
	20	21.68 <sup>cC</sup>	25.97 <sup>bB</sup>	29.24 <sup>dA</sup>	29.04 <sup>eA</sup>
	50	37.83 <sup>bc</sup>	46.42 <sup>aB</sup>	53.78 <sup>aA</sup>	51.33 <sup>bA</sup>
Defatted meat after cooking	5	ND	1.02 <sup>dB</sup>	6.13 <sup>eA</sup>	9.41 <sup>fA</sup>
	20	21.47 <sup>cd</sup>	25.56 <sup>cC</sup>	31.49 <sup>cB</sup>	34.97 <sup>dA</sup>
	50	40.49 <sup>ad</sup>	46.42 <sup>aC</sup>	51.74 <sup>bB</sup>	58.90 <sup>aA</sup>
Ascorbic acid	0.1		11.98		
	0.5		57.60		
	2.5		98.62		

<sup>1)</sup>ND: not detected.<sup>2)</sup>Values with different letters within the same column (a-g) and row (A-D) differ significantly ( $P<0.05$ ).

없이 모든 가수분해물 5 mg/mL 120분 및 180분의 결과와 유사하였으며 20 mg/mL 농도에서 120분 및 180분의 소거능보다는 낮은 값을 나타내었다.

#### Superoxide dismutase(SOD) 유사 활성

탈지 방법을 달리한 삼치 어육 가수분해물의 SOD 유사 활성에서는 모든 탈지처리군에서 가수분해 시간이 증가함에 따라 활성이 증가하는 경향을 나타내었으며 각 탈지 조건별 SOD 유사 활성의 최대값은 생어육 탈지의 경우 50.10%, 탈지 후 익힘 53.78%, 익힘 후 탈지는 58.90%로 익힌 후 탈지> 탈지 후 익힘> 생어육 탈지 순으로 활성을 나타내었다(Table 4). SOD는 superoxide 라디칼을 제거하여 세포의 산화 환원에 관여하는 효소로 이와 유사한 효능을 갖는 phytochemical 같은 저분자 물질이 superoxide와 유사한 기능을 나타내어 과도하게 생성되는 산화물을 제거하는 효과를 기대할 수 있다(28). SOD 유사 활성의 결과는 가수분

해도와 차이를 보이는데 이는 탈지 방법의 차이에 따른 가수분해로 생성된 펩타이드의 종류가 다르기 때문으로 보인다. Wu 등(29)의 연구에서는 단백질 가수분해 조건에 따라 가수분해물의 성분이 다르며 기질, 효소 종류, 효소량, 가수분해 시간, 온도 등의 요인에 의해 항산화 활성의 차이를 보인다고 하였다.

#### 환원력

삼치 어육 가수분해물의 환원력 측정 결과는 Table 5와 같다. 가수분해 시간에 따라 환원력은 증가하였으며 탈지 조건별 비교 시 가수분해 시간이 180분일 때 모두 최대값을 나타내었다. 가수분해물의 경우 가수분해 시간 증가 시 가수분해도가 증가하였으나 가수분해도가 높은 것이 항산화 효과에 직접적인 영향을 주지는 않았다(30,31). 탈지 처리한 가수분해물의 경우 기질의 가열 여부로 인한 가수분해 전 기질의 단백질 구조 차이에 의해 가수분해물의 조성에 차이

**Table 5.** The reducing power of Japanese Spanish Mackerel hydrolysates treated with different hydrolysis methods (O.D. value at 700 nm)

Sample	Concentration (mg/mL)	Hydrolysis time (min)			
		30	60	120	180
Defatted raw meat	20	0.059 <sup>gD1)</sup>	0.099 <sup>fC</sup>	0.157 <sup>eB</sup>	0.183 <sup>eA</sup>
	30	0.139 <sup>eD</sup>	0.177 <sup>dC</sup>	0.231 <sup>cB</sup>	0.299 <sup>cA</sup>
	50	0.252 <sup>bD</sup>	0.304 <sup>bC</sup>	0.401 <sup>aB</sup>	0.502 <sup>aA</sup>
Cooked meat after defatting	20	0.055 <sup>gC</sup>	0.068 <sup>gC</sup>	0.136 <sup>fB</sup>	0.158 <sup>fA</sup>
	30	0.111 <sup>fC</sup>	0.118 <sup>eC</sup>	0.205 <sup>dB</sup>	0.307 <sup>cA</sup>
	50	0.210 <sup>cC</sup>	0.224 <sup>cC</sup>	0.360 <sup>bB</sup>	0.517 <sup>aA</sup>
Defatted meat after cooking	20	0.109 <sup>fC</sup>	0.101 <sup>fC</sup>	0.130 <sup>fB</sup>	0.155 <sup>fA</sup>
	30	0.165 <sup>dC</sup>	0.180 <sup>dC</sup>	0.206 <sup>dB</sup>	0.277 <sup>dA</sup>
	50	0.321 <sup>aC</sup>	0.320 <sup>aC</sup>	0.365 <sup>bB</sup>	0.430 <sup>bA</sup>
Ascorbic acid	0.01		0.056		
	0.05		0.253		
	0.1		0.562		

<sup>1)</sup>Values with different letters within the same column (a-g) and row (A-D) differ significantly ( $P<0.05$ ).

를 보이는 것으로 나타났다. 단백질 가수분해물의 분자 크기에 따른 항산화 활성 연구에서는 참치 어육 이용 시 390~1,400 Da에서 최대 활성을 나타내었으며(33), 고등어 가수분해물의 경우 1,400 Da에서 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다(28).

### 아질산염 소거능

Nitric oxide synthase(NOS)의 작용으로 생성되는 라디칼인 nitric oxide는 생체 내에서 혈압조절, 면역반응에 관여한다. 그중 nitrate는 nitrite로 전환되어 일정량 이상의 경우 발암물질인 nitrosoamine을 생성할 수 있다(28). 본 실험에서는 산성 조건인 pH 1.2, pH 3, pH 6의 3구간에서 가수분해 조건에 따른 삼치 가수분해물의 아질산염 소거능을 측정하였다(Table 6). pH 6에서는 아질산염 소거능이 측정되지 않았으며, pH 1.2에서 pH 3보다 높은 소거능을 나타내었다. pH 1.2 탈지 후 익힘을 제외한 가수분해물에서 가수분해 시간이 증가할수록 소거능이 증가하였으며, pH 1.2의 탈지 후 익힘 50 mg/mL에서도 120분과 180분에서는 유의적 차이를 보이지 않았다.

가수분해 조건에 따른 단백질의 항산화 활성 연구에서는 단백질 가수분해물에 포함된 저분자 펩타이드의 구조, 아미노산의 종류 및 배열순서 등에 따라 항산화 활성이 다르게 나타나는 결과를 보였다(28,32). 본 연구에서는 pH에 따른

아질산염 소거능의 차이를 나타내었는데, 이는 버섯추출물의 아질산염 소거능(33), 감잎차 및 녹차의 아질산염 소거능(34)과 유사한 결과를 보였다. 일반적으로 아질산염은 pH가 낮은 환경에서 생성 촉진되며 sodium nitrite는 산성 조건에서 쉽게 분해된다(36).

### ACE 저해 활성

삼치 어육 가수분해물의 ACE 저해 활성은 Table 7과 같다. 생어육 탈지 가수분해물 5 mg/mL에서는 가수분해 시간에 따라 ACE 저해 활성이 유의적으로 증가했지만, 10 mg/mL, 30 mg/mL에서는 가수분해 시간 60분까지 유의적으로 증가하다 정체되었다. 탈지 후 익힘 가수분해물의 경우 5 mg/mL 농도에서 120분 가수분해물의 ACE 저해 활성이 68.61%로 가장 높았다. 10 mg/mL에서는 180분 가수분해물이 79.50%로 가장 높게 나타났으며 30 mg/mL에서는 60분 가수분해물이 88.65%로 가장 높게 나타났다. 익힌 후 탈지 가수분해물의 경우 5 mg/mL에서 농도에 비례하여 ACE 저해 활성이 나타났으며, 10 mg/mL, 30 mg/mL에서는 60분 이후 유의적 차이를 나타내지 않았다. 탈지 방법에 따른 ACE 저해 활성은 익힌 후 탈지 가수분해물이 50 mg/mL에서 90.20%로 가장 높았다. 고등어 가수분해물의 경우 저분자 펩타이드에서 ACE 저해 활성을 나타내었으며(15), 닭수어의 ACE 저해 활성 연구(36)에서는 저분자 펩타이드의 길

**Table 6.** The nitrite scavenging activity of Japanese Spanish Mackerel hydrolysates treated with different hydrolysis methods (%)

pH	Sample	Concentration (mg/mL)	Hydrolysis time (min)			
			30	60	120	180
1.2	Defatted raw meat	20	32.58 <sup>cD1)</sup>	46.71 <sup>dC</sup>	65.82 <sup>cB</sup>	77.92 <sup>bA</sup>
		50	69.00 <sup>abC</sup>	85.28 <sup>aB</sup>	93.98 <sup>aA</sup>	94.06 <sup>aA</sup>
	Cooked meat after defatting	20	30.79 <sup>deB</sup>	32.20 <sup>fgB</sup>	61.85 <sup>dA</sup>	68.86 <sup>cA</sup>
		50	65.68 <sup>bC</sup>	74.95 <sup>cB</sup>	95.33 <sup>aA</sup>	93.84 <sup>aA</sup>
	Defatted meat after cooking	20	43.88 <sup>cBC</sup>	40.06 <sup>eC</sup>	51.73 <sup>efB</sup>	64.19 <sup>dA</sup>
		50	71.13 <sup>aD</sup>	80.25 <sup>bC</sup>	88.11 <sup>bB</sup>	94.13 <sup>aA</sup>
3	Defatted raw meat	20	12.58 <sup>fD</sup>	17.88 <sup>hC</sup>	28.82 <sup>hB</sup>	33.69 <sup>fA</sup>
		50	30.18 <sup>deD</sup>	36.01 <sup>fC</sup>	53.36 <sup>eB</sup>	61.08 <sup>dA</sup>
	Cooked meat after defatting	20	7.72 <sup>gB</sup>	10.70 <sup>iB</sup>	26.20 <sup>hA</sup>	29.83 <sup>gA</sup>
		50	26.08 <sup>eD</sup>	31.19 <sup>gC</sup>	48.78 <sup>fB</sup>	55.38 <sup>eA</sup>
	Defatted meat after cooking	20	16.58 <sup>fC</sup>	16.58 <sup>hC</sup>	22.82 <sup>iB</sup>	28.64 <sup>gA</sup>
		50	30.40 <sup>deD</sup>	36.01 <sup>fC</sup>	43.49 <sup>gB</sup>	54.49 <sup>eA</sup>
6	Defatted raw meat	20	ND <sup>2)</sup>	ND	ND	ND
		50	ND	ND	ND	ND
	Cooked meat after defatting	20	ND	ND	ND	ND
		50	ND	ND	ND	ND
	Defatted meat after cooking	20	ND	ND	ND	ND
		50	ND	ND	ND	ND
1.2	Ascorbic acid	1	98.90			
3			94.82			
6			82.56			

<sup>1)</sup>Values with different letters within the same column (a-i) and row (A-D) differ significantly ( $P<0.05$ ).

<sup>2)</sup>ND: not detected.

**Table 7.** The ACE inhibitory activity of Japanese Spanish Mackerel hydrolysates treated with different hydrolysis methods (%)

Sample	Concentration (mg/mL)	Hydrolysis time (min)			
		30	60	120	180
Defatted raw meat	5	63.06 <sup>eC1)</sup>	63.70 <sup>gC</sup>	67.41 <sup>fB</sup>	70.19 <sup>fA</sup>
	10	71.70 <sup>dB</sup>	76.79 <sup>dA</sup>	77.95 <sup>dA</sup>	79.56 <sup>dA</sup>
	30	79.43 <sup>bB</sup>	85.88 <sup>bA</sup>	87.30 <sup>bA</sup>	84.91 <sup>bA</sup>
Cooked meat after defatting	5	58.43 <sup>eD</sup>	67.04 <sup>fB</sup>	68.61 <sup>fA</sup>	64.81 <sup>gC</sup>
	10	73.18 <sup>cdB</sup>	74.73 <sup>eB</sup>	78.27 <sup>dA</sup>	79.50 <sup>dA</sup>
	30	87.04 <sup>aB</sup>	88.65 <sup>aA</sup>	88.39 <sup>abA</sup>	86.40 <sup>bB</sup>
Defatted meat after cooking	5	62.50 <sup>eD</sup>	68.52 <sup>fC</sup>	71.02 <sup>eB</sup>	72.13 <sup>eA</sup>
	10	77.43 <sup>bcB</sup>	81.50 <sup>cA</sup>	82.14 <sup>cA</sup>	81.62 <sup>cA</sup>
	30	87.04 <sup>aB</sup>	88.01 <sup>aAB</sup>	89.36 <sup>aAB</sup>	90.20 <sup>aA</sup>
Captopril	0.001		87.24		
	0.005		88.13		
	0.025		87.92		
	0.050		87.82		
	0.100		88.47		

<sup>1)</sup>Values with different letters within the same column (a-g) and row (A-D) differ significantly ( $P < 0.05$ ).

이, 구조, 구성 아미노산 조성, 배열순서 등 복합적 효과에 의해 가수분해물의 ACE 저해 활성이 달라지는 결과를 나타내었다. 펩신에 의한 *Acetes chinensis* 가수분해물의 ACE 저해 활성에서는 본 연구 결과와 달리 240분 가수분해 시간에서 최대 저해 활성을 나타낸 후 감소하였으며, 이는 기질 및 효소의 종류에 의한 것으로 판단된다(37). ACE 저해 활성은 탈지 과정에 따른 기질 단백질의 구조 변화 및 가수분해물의 구성 펩타이드의 변화 때문으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 탈지 방법 및 가수분해 시간에 따른 삼치 어육의 항산화 및 ACE 저해 활성을 비교 분석하였다. 가수분해도는 탈지 후 익힘 > 익힘 후 탈지 > 생어육 탈지 순으로 높게 나타났으며, DPPH 라디칼 소거능은 5 mg/mL 농도에서 익힌 후 탈지 180분 가수분해물이 63.16%로 가장 높게 나타났다. 20 mg/mL에서는 탈지 후 익힘 180분 가수분해물이 89.47%로 가장 높았다. SOD 유사 활성은 가수분해 시간에 따라 활성이 증가하였으며 익힌 후 탈지 180분 가수분해물에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 환원력의 경우 가수분해 전반부(30, 60분)에서 익힌 후 탈지 가수분해물이 가장 높은 활성을 나타내었으며, 2시간 후에는 생어육 탈지 가수분해물에서 높은 활성을 나타내었다. 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 가장 높게 나타났으며, 그중 탈지 후 익힘 120분 가수분해물 50 mg/mL가 95.33%로 가장 높은 값을 나타내었다. ACE 저해 활성은 익힌 후 탈지 가수분해물이 높게 나타났으며, 탈지 후 익힘 처리군의 경우 가수분해도는 높게 나타났으나 익힌 후 탈지 처리군과 비교하여 동일 농도에서 낮은 활성을 나타내었다. 삼치 가수분해물의 경우 단백질가수분해 효소의 활성을 높이기 위해 탈지 과정이 필요하며, 탈지 과정을 가수분해 과정에 포함하고자 할 때 생어육에

비해 가열과정이 필요하다. 따라서 본 실험 결과를 검토하였을 때 탈지 후 가열과정을 거친 어육을 가수분해하는 것이 전반적으로 높은 활성을 나타내었다.

## REFERENCES

1. van der Vliet A, Eiserich JP, Shigenaga MK, Cross CE. 1999. Reactive nitrogen species and tyrosine nitration in the respiratory tract: epiphenomena or a pathobiologic mechanism of disease?. *Am J Respir Crit Care Med* 160: 1-9.
2. Marro PJ, Baumgart S, Delivoria-Papadopoulos M, Zirin S, Corcoran L, McGaurn SP, Davis LE, Clancy RR. 1997. Purine metabolism and inhibition of xanthine oxidase in severely hypoxic neonates going onto extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatr Res* 41: 513-520.
3. Davies MJ. 2010. Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention. *J Clin Biochem Nutr* 48: 8-19.
4. Pace GW, Leaf CD. 1995. The role of oxidative stress in HIV disease. *Free Radic Biol Med* 19: 523-528.
5. Byun HG, Kim SK. 2001. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. *Proc Biochem* 36: 1155-1162.
6. Suh HJ, Kim YS, Chung SH, Kim YS, Lee SD. 1996. Functionality and inhibitory effect of soybean hydrolysate on angiotensin converting enzyme. *Korean J Food Nutr* 9: 167-175.
7. Hudson BJF. 1982. *Developments in food protein-1*. Applied Science Publishers Ltd., London, UK. p 30-35.
8. Chobert JM, Bertrand-Harb C, Nicolas MG. 1988. Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *J Agric Food Chem* 36: 883-892.
9. Lu X, Akiyama D, Hirabayashi K. 1994. Production of silk powder and properties. *J Seric Sci Jpn* 63: 21-27.
10. Kim SM, Ha JU. 1995. Utilization of the protein hydrolysates of skipjack tuna viscera. *Korean J Food Sci Technol* 27: 141-146.
11. Lee CH. 1992. Development and application of protein sour-

- ces. *Food Science and Industry* 25(2): 93-100.
12. Amarowicz R, Shahidi F. 1997. Antioxidant activity of peptide fractions of capelin protein hydrolysates. *Food Chem* 58: 355-359.
13. Miguel M, Contreras MM, Recio I, Aleixandre A. 2009. ACE inhibitory and antihypertensive properties of a bovine casein hydrolysate. *Food Chem* 112: 211-214.
14. Je JY, Qian ZJ, Byun HG, Kim SK. 2007. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. *Proc Biochem* 42: 840-846.
15. Sentandreu MA, Toldra F. 2007. Evaluation of ACE inhibitory activity of dipeptides generated by the action of porcine muscle dipeptidyl peptidases. *Food Chem* 102: 511-515.
16. Do JR, Heo IS, Jo JH, Kim DS, Kim HK, Kim SS, Han CK. 2006. Effect of antihypertensive peptides originated from various marine protein on ACE inhibitory activity and systolic blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Korean J Food Sci Technol* 38: 567-570.
17. AOAC International. 1995. *Official methods of analysis of AOAC international*. 16th ed. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA. Vol II, Method 991.20.
18. Hoyle NT, Merritt JH. 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *J Food Sci* 59: 76-79.
19. Xie Z, Huang J, Xu X, Jin Z. 2008. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chem* 111: 370-376.
20. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
21. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
22. Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J Food Sci* 40: 981-984.
23. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
24. Moon SK, Kang JY, Kim IS, Jeong BY. 2012. Changes of nutritional components in Spanish mackerel *Scomberomorus niphonius* by various cooking methods. *Korean J Fish Aquat Sci* 45: 317-327.
25. Jeong BY, Choi BD, Moon SK, Lee JS. 1998. Fatty acid composition of 72 species of Korean fish. *J Fish Sci Tech* 1: 129-146.
26. Foh MBK, Amadou I, Foh BM, Kamara MT, Xia W. 2010. Functionality and antioxidant properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) as influenced by the degree of hydrolysis. *Int J Mol Sci* 11: 1851-1869.
27. Jao CL, Ko WC. 2002. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolysates from tuna cooking juice. *Fish Sci* 68: 430-435.
28. Seo GY, Lee SW, Park SJ, Kim SC, Sohn IC, Hwang SY, Ahn SH. 2010. Biological activities of hominis placenta herbal acupuncture prepared by hydrochloric acid hydrolysis. *J Pharmacopuncture* 13: 5-12.
29. Wu HC, Chen HM, 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.
30. Hsu KC, Lu GH, Jao CL. 2009. Antioxidative properties of peptides prepared from tuna cooking juice hydrolysates with orientase (*Bacillus subtilis*). *Food Res Int* 42: 647-652.
31. Chabeaud A, Dutournié P, Guérard F, Vandanjon L, Bourseau P. 2009. Application of response surface methodology to optimise the antioxidant activity of a saithe (*Pollachius virens*) hydrolysate. *Mar Biotechnol* 11: 445-455.
32. Ranathunga S, Rajapakse N, Kim SK. 2006. Purification and characterization of antioxidative peptide derived from muscle of conger eel (*Conger myriaster*). *Eur Food Res Technol* 222: 310-315.
33. Lim JH, Kim BK, Park CE, Park KJ, Kim JC, Jeong JW, Jeong SW. 2008. Antioxidative and antimicrobial activities of persimmon leaf tea and green tea. *J East Asian Soc Diet Life* 18: 797-804.
34. Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Kim JK, Lim SS. 2010. Physiological activities of extract from edible mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1087-1096.
35. Han JH, Moon HK, Chung SK, Kang WW. 2013. Comparison of antioxidant activities of radish bud (*Raphanus sativus* L.) according to extraction solvents and sprouting period. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1767-1775.
36. Kim TJ, Yoon HD, Lee DS, Jang YS, Suh SB, Yeum DM. 1996. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of hot-water extract and enzymatic hydrolysate of fresh water fish. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 871-877.
37. Matsui T, Matsufuji H, Seki E, Osajima K, Nakashima M, Osajima Y. 1993. Inhibition of angiotensin I -converting enzyme by *Bacillus licheniformis* alkaline protease hydrolysates derived from sardine muscle. *Biosci Biotechnol Biochem* 57: 922-925.