

황다랑어(*Thunnus albacares*) 알의 분리단백질로부터 제조한 효소 가수분해물의 식품기능특성

강상인 · 윤인성 · 김현재¹ · 이정석 · 허민수^{1*}

경상국립대학교 해양식품공학과/해양산업연구소, ¹경상국립대학교 식품영양학과/해양산업연구소

Food Functionalities of Enzymatic Hydrolysates Prepared from Protein Isolate of Yellowfin Tuna *Thunnus albacares* Roe

Sang in Kang, In Seong Yoon, Hyeun Jae Kim¹, Jung Suck Lee and Min Soo Heu^{1*}

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

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

Roe protein hydrolysates were prepared from protein isolate recovered via isoelectric solubilization/precipitation of yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe using proteases. Their bioactivity and functional properties were investigated. The hydrolysate with the highest free and releasable amino acid content, obtained via enzymatic hydrolysis, was flavourzyme (4,395.1 mg/100 g-RPI), followed by pantidase NP-2 (3,592.8 mg/100 g-RPI), which was significantly higher than the other enzymatic hydrolysates (285.8–739.3 mg/100 g-RPI). The foaming capacity (154–218%) and foam stability of papain, chymotrypsin and bromelain hydrolysates were significantly better than those (100–135%) of other hydrolysates. Similarly, the emulsifying activity index of papain (58.8 m²/g) and bromelain (27.6 m²/g) hydrolysates were superior to other hydrolysates (3.7–10.3 m²/g). Only the ABTS⁺ [2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammouium salt] radical scavenging activity (IC₅₀, µg/mL) of flavourzyme (82.4 µg/mL) was superior to that of the control (82.9 µg/mL). However, the hydrolysate content (except trypsin hydrolysate) exhibited superior ABTS⁺ radical scavenging activity compared to the control. The hydrolysates that demonstrated superior tyrosinase inhibitory activity compared to that of the control (1.4%) were flavourzyme (21.8%), aroase AP-10 (21.8%), and protamex (16.7%). Moreover, the angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities of all enzyme hydrolysates (51.3–84.1%) were stronger than those of the control (35.7%).

Keywords: Enzymatic hydrolysates, Food functionality, Protein isolate, Yellowfin tuna roe

서 론

황다랑어(*Thunnus albacares*)는 태평양, 인도양, 대서양에서 서식하는 대형어종으로 전 세계 참치어업에 있어서 대표적인 어종으로 주로 생선회 및 통조림으로 소비하고 있다(Heu et al., 2006; Intarasirisawat et al., 2011). 우리나라의 다랑어류는 원양어업, 연근해어업 및 해면양식어업을 통해 가다랑어(201천톤), 황다랑어(60천톤), 눈다랑어(25천톤), 참다랑어(1.4천톤), 날개다랑어(1.2천톤) 그리고 기타 다랑어류 등, 290천톤

이 어획되고, 이들은 주로 원형동결 냉동품(15.7천톤) 및 통조림(33.8천톤)으로 가공되고 있다(MOF, 2024). 수산물의 조리 및 가공 시 발생하는 수산부산물(머리, frame, 비늘, 내장, 껍질 및 알 등으로 비가식 부산물이 총 어류 생산량의 약 30–60%를 차지할 정도로 다량 발생하고 있다(Klomklao and Benjakul, 2016; Kang et al., 2023, 2024a). 수산부산물 중에서 어류 알(fish roe)은 알과 이를 둘러싼 알집을 포함한 것으로, 어종에 따라 다양하지만 전 어체 중량의 1.5–10%를 차지하고, 단백질

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

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



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

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2026.0012>

Korean J Fish Aquat Sci 59(1), 12-26, February 2026

Received 11 December 2025; Revised 27 January 2026; Accepted 2 February 2026

저자 직위: 강상인(교수), 윤인성(대학원), 김현재(학부), 이정석(교수), 허민수(교수)

et al., 2023) 및 필수지방산(Heu et al., 2006; Intarasirisawat et al., 2011)이 풍부한 식품소재 자원이다. 어류 알의 영양적 가치는 단백질 급원으로서, 이를 회수하고자 하는 노력을 통해 저비용의 새로운 단백질을 생산하는 것이 가능하기 때문에 식품소재 자원으로써 산업적 활용도가 높다고 할 수 있다(Lee et al., 2016a, 2016b; Kang et al., 2023, 2024a).

수산부산물의 식품소재로서 이용하기 위하여, 농축분말(Chalamaiah et al., 2013a; Lee et al., 2016a; Yoon et al., 2018b), 분리 단백질(Lee et al., 2016b; Yoon et al., 2019; Cha et al., 2020), 효소 가수분해물(Intarasirisawat et al., 2012, 2013, 2014; Chalamaiah et al., 2015; Kang et al., 2024b, 2025)의 제조 및 식품기능성(Chalamaiah et al., 2015; Park et al., 2016; Yoon et al., 2018b), 항산화성 그리고 이의 생리활성(Intarasirisawat et al., 2012, 2013, 2014)에 대하여 연구가 이루어졌다. 이러한 연구를 통하여 단백질 영양강화용 식품소재화 한다면, 5배 이상 부가가치가 증가할 것이라고 예상하였다(Liu et al., 2015).

현재 단백질 가수분해물의 생산에는 동물(trypsin, chymotrypsin 및 pepsin), 식물(papain 및 bromelain) 그리고 미생물(proteinase K, alcalase, protamex, flavourzyme, neutrase, aroase AP-10 그리고 pantidase NP-2) 기원의 proteases를 이용하여 가수분해물을 제조하고 있다(Intarasirisawat et al., 2012, 2013, 2014; Sampath Kumar et al., 2012; Kang et al., 2024b, 2025). 이러한 효소적 가수분해는 생성된 peptides 및 유리된 아미노산과 관련이 있으며, 이는 주로 저분자화, 소수성 잔기의 노출 그리고 이온성의 증가에 기인하여, 보수력, 용해도, 조직감, 겔화능, 유화 및 거품 형성능을 포함한 식품기능성을 개선하는 것으로 알려져 있다(Shahidi, 1994; Intarasirisawat et al., 2012; Liu et al., 2015; Kang et al., 2024b). 따라서 이들 단백질 가수분해물들은 잠재적인 생리활성과 필수영양소를 회수하는데 효과적인 방법이며, 영양특성 및 생리적인 가치를 잃지 않으면서 식품 단백질의 기능적인 특성을 개선시킬 수 있는 수단이다(Chalamaiah et al., 2013a, 2013b, 2015; Kang et al., 2024b, 2025).

이상의 연구 배경을 통해, 이 연구에서는 세계적인 다소비 어종인 황다랑어의 통조림 가공 중에 발생하는 수산부산물인 황다랑어 알로부터 등전점 용해/침전공정(isoelectric solubilization/precipitation, ISP)을 통해 회수한 분리단백질(roe protein isolate, RPI; Lee et al., 2016b; Yoon et al., 2019)을 대상으로 시판 proteases의 기질특이성에 따른 가수분해물(roe protein hydrolysate)을 제조하여 식품기능 특성의 개선 및 생리활성에 대해 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

황다랑어(yellowfin tuna *T. albacares*) 알은 경상남도 창원시

소재 Dongwon F&B Co. Ltd.로부터 동결상태의 알을 분양받아 실험실로 운반 후, 흐르는 물에 부분 해동하면서 간단히 수세하고, 파우치형 티백(tea bag, polyethylene polypropylene, 16×14.5 cm)에 300 g씩 소분하여 밀봉상태로 -55°C에서 보관하였다.

황다랑어 알(yellowfin tuna roe, YTR)의 RPI로부터 가수분해물의 제조에 사용한 효소들은 동물기원의 trypsin (TR; porcine pancreas) 및 α -chymotrypsin (CH; bovine pancreas), 식물기원의 bromelain (BR; pineapple stem) 그리고 papain (PA; papaya latex)은 Sigma-Aldrich Chemical Co., LLC. (St. Louis, MO, USA)의 제품을, 미생물기원의 Alcalase® 2.5 L type DX (AL; *Bacillus licheniformis*), Flavourzyme® 500 MG (FL; *Aspergillus oryzae*), Neutrase® 0.8 L (NE; *Bacillus amyloliquefaciens*) 그리고 Protamex® (PR; *Bacillus* sp.)는 Novozymes (Bagsvaerd, Denmark)의 제품을, Aroase AP-10 (AA; *Bacillus subtilis*) 그리고 Pantidase NP-2 (PN; *Aspergillus oryzae*)은 Yakult Pharmaceutical Co., Ltd. (Tokyo, Japan)의 제품을 각각 구입하였으며, 이외의 실험에 사용한 화학시약은 분석용 특급(guaranteed reagents)시약을 구입하여 사용하였다.

YTR로부터 분리단백질의 회수

YTR로부터 ISP를 통한 RPI의 회수는 Lee et al. (2016b)의 방법에 따라 제조하였다. 일정량의 동결상태로 보관한 YTR은 부분 해동(4°C, 12 h)하고, 6배량의 탈이온수를 가해, 균질기(POLYTRON® PT 1200E; Kinematica AG, Luzern, Switzerland)로 균질화(25,000 rpm, 5 min)하였다. 여기에 2 N sodium hydroxide 용액을 사용하여 pH 11로 조정하여 알칼리 용해과정(4°C, 1 h)을 통해 단백질의 용해를 유도하였다. 이어서 냉동 원심분리기(Supra 22K; Hanil Science Industrial Co., Ltd., Incheon, Korea)로 원심분리(12,000 g, 4°C, 30 min)하였다. 원심분리 상층액(알칼리 가용성획분)에 대해 2 N HCl을 가하여 pH 4.5가 되도록 재조정하여 산 침전과정(4°C, 1 h)을 진행하였다. 이렇게 목적 pH로 조정된 현탁액을 원심분리(12,000 g, 4°C, 30 min)하고, 이때의 잔사(RPI)는 ISP 공정을 통해 생성된 NaCl의 제거를 위해 탈이온수로 수세한 다음, 동결 건조하여 최종 YTR로부터 RPI를 회수하였다. ISP 공정을 통해 회수한 RPI 일정량씩 소분하여 용기에 담아 보관(-20°C)하면서 효소 가수분해물의 제조에 사용하였다.

RPI 효소 가수분해물 제조

ISP 공정을 통해 회수한 YTR의 RPI는 4% (w/v) 분산용액으로 제조하여 상온(20±2°C)에서 2시간 동안 전 단계반응을 실시하였다. 이어서 Kang et al. (2025)의 방법에 따라, serine proteases인 TR과 CH의 첨가 비율은 RPI 분산용액의 단백질 함량(4% w/v)에 대해 이들 효소농도가 0.8% (E/S, 1/125)이 되도록 첨가하여 효소 반응액을 제조하였다. 또한 cysteine proteases인 BR과 PA, 그리고 food-grade proteases인 AL, NE, PR, FL, AA

그리고 PN의 최종 첨가농도는 4% 분산용액의 단백질 함량에 대하여 이들의 최종 효소농도가 4% (w/w, E/S, 1/25)가 되도록 효소 반응액을 각각 제조하였다. 효소 반응액은 진탕 항온수조 (50°C)에서 150 min 반응(가수분해)하고, 반응 정지는 80°C에서 20 min 진행하였다. 이들 효소 반응액을 원심분리(1,890 g, 4°C, 30 min)하여 얻은 상층액은 각각의 효소 가수분해물로서 -20°C에서 보관하면서 이후 식품 기능성 및 생리활성의 측정을 위한 시료로 사용하였다.

단백질 농도

RPI 및 이의 효소 가수분해물의 단백질 농도(mg/mL) 및 함량은 Lowry et al. (1951) 방법에 따라 표준단백질로서 bovine serum albumin을 사용하여 구한 검량선을 통해 측정하였다.

가수분해율

먼저, YTR의 RPI는 시료 0.2 g과 40 mL의 1 N NaOH 용액을 사용하여 완전 용해시켜 시료용액의 단백질 농도(mg/mL)를 Lowry et al. (1951) 방법으로 측정한다. 다음, 4% 분산용액 중의 총 단백질함량(RPI protein, mg)을 구하였다. 다음으로, 효소 가수분해물들은 단백질농도와 총 부피를 측정하여 가수분해물의 총 단백질 함량(hydrolysate protein, mg)을 측정하였다. 가수분해율은 아래의 주어진 식에 따라, RPI의 총 단백질함량에 대한 가수분해물들의 단백질 함량비로서 가수분해율을 계산하였다.

$$DH (\%) = \frac{[\text{hydrolysate protein (mg)} - \text{control protein (mg)}]}{\text{RPI protein (mg)} \times 100}$$

이때의 control은 효소 처리하지 않은 동일 조건 반응혼합액의 단백질함량(control protein, mg)을 의미하였다.

SDS-PAGE

RPI 및 효소 가수분해물의 단백질 분자량 분포는 Laemmli (1970)의 방법에 따라 sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 분석하였다. 먼저, 1 mL의 효소 가수분해물(10 mg/mL)과 0.25 mL의 SDS-PAGE 시료조제용 완충액($\times 5$ sample buffer, pH 6.8)을 혼합하고, 100°C에서 3 min 동안 가열하여 전기영동 시료를 조제하였다. 이렇게 준비한 시료(20 μ g의 단백질)는 AnyKDa Mini-PROTEAN® TGX™ Precast gel (Bio-Rad Lab. Inc., Hercules, CA, USA)에 주입하고, Mini-PROTEAN® Tetra cell (Bio-Rad Lab. Inc.)에 장착한 다음, 일정한 전류(10 mA per gel)를 통하게 하여 전기영동 실시하였다. 전기영동을 끝낸 겔은 0.125% (w/v) coomassie brilliant blue R-250 용액에 15 min 동안 염색을 실시한 다음, 25% methanol 및 10% acetic acid 혼합 용액에서 바탕이 투명해질 때까지 탈색을 실시하였다.

단백질의 분자량 분포는 Precision Plus Protein™ standards (2-250 K; Bio-Rad Lab. Inc.)를 사용하여 확인하였다.

유리 및 방출된 아미노산

RPI 및 효소 가수분해물의 유리된 아미노산분석은 2.5 mL의 각 효소 가수분해물 시료용액에 0.25 mL의 6% (w/v) 5-sulfosalicylic acid dihydrate를 가하여 단백질을 제거하기 위해 원심분리(1,890 g, 20 min, 4°C)하였다. 원심분리 상층액(1.5 mL)은 0.20 μ m syringe filter (hydrophilic type)를 사용하여 여과한 다음, lithium form 칼럼이 장착된 아미노산 분석기(Biochrom 30; Biochrom Ltd., Cambridge, UK)로 분석하였으며, 효소 가수분해에 따른 유리 및 방출된 아미노산(free and released amino acid, FRAA)의 분석결과는 100 g의 RPI 단백질 함량에 대한 개별 아미노산의 조성비(%)로 나타내었다. 아울러 아미노산의 단맛(sweetness), 쓴맛(bitterness) 및 감칠맛(umami)에 따른(Chen et al., 2016) 각 가수분해물의 맛 분포에 대하여도 검토하였다.

거품형성능

RPI 효소 가수분해물들의 거품성(foaming capacity, FC)과 거품안정성(foam stability, FS)은 Cha et al. (2020)에 따라 측정하였다. 즉, 25 mL의 메스실린더에 10 mL의 효소 가수분해물을 옮겨 담고, 균질기(POLYTRON® PT 1200E; Kinematica AG)로 12,500 rpm에서 1 min동안 균질화 하였다. 거품이 형성된 시료는 주어진 시간(15, 30, 60 min)동안 실온(20 \pm 2°C)에서 정치하면서, 총 부피와 거품의 부피를 측정하여 아래의 식에 따라 FC와 FS를 구하였으며, 효소 처리하지 않은 control과 상호비교 하였다.

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

$$\text{Foam stability (\%)} = \frac{(F_t/V_t)}{(F_t/V_T)} \times 100$$

이때 VT는 균질 후 총 부피, V₀는 균질 전의 총 부피, FT는 균질 직후 거품의 부피, Ft와 Vt는 주어진 시간(t=15, 30, 60 min) 경과 후의 거품부피 및 총 부피를 의미하였다.

유화 형성능

효소 가수분해물의 유화능(emulsifying activity index, EAI)과 유화안정성(emulsion stability index, ESI)은 Cha et al. (2020)의 방법에 따라 측정하였다. 각 15 mL의 효소 가수분해물에 5 mL의 식용유(soybean oil; Ottogi Co., Ltd., Seoul, Korea)를 3:1 (v/v)의 비율로 25 mL의 메스실린더에 담고, 균질화(12,500 rpm, 1 min)하여, 균질액이 담긴 메스실린더의 아래쪽에서 일정량(50 μ L)의 emulsion을 취한 다음, 5 mL의 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) 용액과 혼합하였다. 이 혼합액은 분광광도계(UV-2900; Hitachi, Kyoto, Japan)를 사용하여 파장 500 nm에서 균질화한 직후의 흡광도(A_{0min})와 10분경과

후의 흡광도(A_{10min})를 측정하여 아래의 식으로 각각 EAI (m^2/g protein) 및 ESI (min)를 구하였다.

$$EAI (m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times A \times DF}{1 \times \Phi \times C}$$

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

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

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

ABTS⁺ 라디칼 소거 활성

ABTS⁺ [2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt] 라디칼 소거활성은 Cha et al. (2020)의 방법에 따라 측정하였다. 각 효소 가수분해물(1 mL)에 3 mL의 ABTS⁺ 용액과 혼합하여, 실온의 암소에서 30 min 동안 반응시킨 후, 파장 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS⁺ 라디칼 소거활성(%)은 아래의 식으로 구하였으며, IC₅₀ value ($\mu g/mL$)는 50%의 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 나타내는 가수분해물의 농도로 정의하였다.

$$ABTS^+ \text{ radical scavenging activity (\%)} = \frac{Control_{734} - Sample_{734}}{Control_{734}} \times 100$$

이때의 control은 가수분해물 대신 탈이온수에 대해 측정된 흡광도를 나타내었다.

Tyrosinase 저해활성

각 효소 가수분해물의 tyrosinase 저해활성은 Cha et al. (2020)의 방법에 따라 측정하였다. 먼저, 300 μL 의 효소 가수분해물, 900 μL 의 mushroom tyrosinase (50 Unit/mL) 그리고 1.5 mL의 50 mM phosphate buffer (pH 6.8)을 혼합하여 실온에서 30 min 동안 전 단계 반응을 실시하였다. 이어서 300 μL of 10 mM 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) 용액을 가하여, 파장 475 nm에서 20 min동안 1 min 간격으로 생성되는 dopachrome의 흡광도를 모니터링하면서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성(%)은 아래의 식을 통하여 계산하였다.

$$Tyrosinase \text{ inhibitory activity (\%)} = \frac{Control_{475} - Sample_{475}}{Control_{475}} \times 100$$

여기서 control은 효소 가수분해물 대신 탈이온수를 가하여 측정된 흡광도를 의미하였다.

ACE 저해활성

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) 저해활성은 Cha et al. (2020)의 방법에 따라 측정하였다. 100 μL 의 시료용액, 50 μL 의 ACE 용액 그리고 50 μL 의 0.05 M sodium borate 완충액 (pH 8.3)을 혼합한 반응용액은 실온에서 30 min 전 단계 반응을 실시하였다. 여기에 기질로서 50 μL 의 5 mM hippuric acid (HHL) acetate salt를 함유한 0.05 M sodium borate 완충액 (pH 8.3)을 가하고 37°C의 항온수조에서 60 min동안 반응을 진행하였다. 이어서 250 μL of 1 N HCl을 가해 반응을 정지하고, 반응액 중의 유리된 hippuric acid의 추출을 위하여, 1.5 mL의 ethyl acetate를 가한 다음, 원심분리(1,890 g, 10 min, 4°C)하였다. 1.0 mL의 상층액을 시험관에 옮기고 100°C의 heating block에서 ethyl acetate를 완전히 증발시킨 다음, 1 mL의 탈이온수로 용해시켜, 파장 228 nm (UV-2900; Hitachi)에서 흡광도를 측정하였다. ACE 저해활성(%)은 아래의 식에 따라 구하였다.

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

이때의 sample blank는 시료에 1 N HCl을 가하여 불활성화한 시료에 HHL을 첨가해 측정된 흡광도이며, control blank는 시료 대신 탈이온수와 1 N HCl을 혼합한 다음, HHL을 가하여 측정된 흡광도를 나타내었다.

통계처리

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

결과 및 고찰

가수분해율

ISP (pH 11/4.5)을 통해 YTR로부터 회수한 RPI에 대한 효소 가수분해물들의 단백질 함량(hydrolysate protein, HP) 및 가수분해율(degree of hydrolysis, DH)은 Table 1과 같다. 먼저, RPI의 4% 분산액의 총 단백질 함량(total protein)은 3,032 mg/100 mL이었으며, 이에 대해 효소 처리하지 않은 control의 유리된 단백질 함량(HP)은 114.2 mg/100 mL이었다. Serine protease 가수분해물인 TR과 CH의 DH는 각각 1.0와 1.1%로서 RPI에 대한 효소 가수분해물 중에서 가장 낮은 수준의 DH를 나타내어, 이는 상대적으로 낮은 효소/기질비에 기인하였으

며, 아울러 이들 효소의 기질 특이성이 한정된 것과 효소 반응액(pH 4.2–4.6부근)이 효소의 최적 pH (pH 8 부근)보다 산성측에서 이루어짐에 따른 결과를 반영한 것으로 판단되었다(Kang et al., 2025).

또한 YTR로부터 회수한 RPIs의 아미노산 조성(Lee et al., 2016b) 중에서 Lys (8.5–8.9%) 및 Arg (6.4–6.6%)의 아미노산 조성비가 Tyr (3.1–3.4%) 및 Phe (4.5–4.9%)에 비해 높아, TR의 기질 특이성(Lys 및 Arg의 C-말단 절단)에 따른 가수분해가 CH (Phe, Trp 및 Tyr의 C-말단 절단)보다 더 잘 일어날 것으로 예상됨으로써, 기질 특이성이 반영된 결과라고 판단되었다(Kang et al., 2025).

Cysteine proteases 가수분해물인 PA와 BR은 각각 5.0과 5.9%의 DH를 나타내었으며, food-grade proteases인 PN (9.4%)이 RPI 가수분해물 중에서 가장 높은 DH를 나타내었고, 그 다음으로 AA (7.6%), PR (6.5%), NE (6.4%) 순이었으며, 그 외 가수분해물의 DH는 3.8–5.4% 범위이었다. cysteine protease와 food-grade proteases의 DH가 serine protease에 비해 상대적으로 높은 것은 효소 반응액 중의 효소/기질비가 5배 높은 것과 이들의 기질 특이성이 광범위한 것에 기인하였다. 또한 넙치 알 RPI의 효소 가수분해물들(Kang et al., 2025)의 결과와 기질 특이성 측면에서 유사하였다.

Table 1. Degree of hydrolysis of proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe protein isolate by iso-electric solubilization/precipitation

Commercial proteases	Roe protein isolate (pH 11/4.5)			
	Total protein (mg/100 mL)	Hydrolysate protein (mg/100 mL)	Degree of hydrolysis (%)	End pH
Control	3,032.0	114.2±0.9 ^h	0.0	4.3
Trypsin (TR)	-	143.2±1.8 ^g	1.0±0.0 ^h	4.2
Chymotrypsin (CH)	-	145.3±2.7 ^g	1.1±0.0 ^h	4.2
Papain (PA)	-	263.5±5.3 ^e	5.0±0.1 ^f	4.2
Bromelain (BR)	-	291.3±10.7 ^d	5.9±0.2 ^d	4.4
Alcalase (AL)	-	227.9±11.6 ^f	3.8±0.2 ^g	4.4
Neutrase (NE)	-	309.0±5.4 ^c	6.4±0.1 ^c	4.5
Flavourzyme (FL)	-	280.5±10.9 ^d	5.4±0.2 ^e	4.5
Protamex (PR)	-	313.4±6.3 ^c	6.5±0.1 ^c	4.5
Aroase AP-10 (AA)	-	345.9±15.5 ^b	7.6±0.3 ^b	4.5
Pantidase NP-2 (PN)	-	402.5±12.7 ^a	9.4±0.3 ^a	4.6

Degree of hydrolysis (%)=(each enzyme hydrolysate protein - control hydrolysate protein)/total protein× 100. Control was the supernatant of a 4% (w/v) roe protein isolate dispersion under the same reaction conditions, without enzyme treatment. Values represent the mean±SD of n=3. Values with different letters within the same column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

이 연구에서는 각 효소의 측면에서 최적의 반응조건을 반영하여, 효소 가수분해물을 제조한 것이 아니라, 넙치 알의 RPI (Kang et al., 2025)와 같이 기질인 YTR의 RPI 산업적 이용 대상 측면에서 기질이 기본적으로 가지고 있는 pH (pH 조절에 따른 가공조건을 최소화), 온도(에너지의 사용을 최소화) 및 반응 시간 등을 고려하여 동일한 반응조건에서 효소의 기질 특이성을 바탕으로 한 가수분해물을 제조하고자 하였기에 전반적으로 낮은 가수분해율을 나타낸 것으로 판단되었다(Kang et al., 2024b, 2025).

한편 이 연구의 동물(trypsin 및 chymotrypsin) 또는 식물기원의 효소(papain 및 bromelain)와 달리, 미생물기원의 효소(food-grade proteases)는 다양한 기질 특이성뿐만 아니라 광범위한 pH 및 온도 안정성을 포함한 여러 장점이 있어, 산업적으로 널리 이용하고 있다(Diniz and Martin, 1997). 이러한 일면에서 넙치 알 농축분말(Kang et al., 2024b) 및 RPI (Kang et al., 2025)에 대한 10종의 시판 proteases 가수분해물들은 기질 특이성이 상대적으로 넓은 food-grade proteases가 serine 및 cysteine protease에 비해 가수분해율이 높다고 하였다.

Meriga 알의 alcalase 가수분해물이 papain에 비해 월등히 높은 가수분해율을 나타내었으며(Chalamaiiah et al., 2010), sardinella *Sardinella aurita* 가공부산물에 대한 alcalase와 chymotrypsin 가수분해물의 가수분해율은 각각 8%와 6.5% (Bougatef et al., 2010)이며, flying squid의 alcalase, papain 및 trypsin 가수분해율은 13–17%범위, 10% 이하의 가수분해율을 보이는 가수분해물은 pepsin과 flavourzyme이라고 하여 이 연구의 결과와 유사한 가수분해율을 보였다(Fang et al., 2012). Ovis-sipour et al. (2013)은 anchovy sprat의 alcalase, flavourzyme, protamex, papain, bromelain 그리고 Promo 가수분해물들의 가수분해율은 30.5–55.8% 범위, 그리고 Liu et al. (2015) 가다랑어 육에 대한 alcalase, flavourzyme, neutrase, protamex 그리고 trypsin 가수분해물은 기질 특이성에 따라 2.43–78.33% 범위의 다양한 가수분해율을 나타낸다고 하였다.

이상의 결과와 연구보고를 통해, 효소에 따른 가수분해율은 사용한 효소의 종류, 효소/기질비, 기질 단백질(대상 시료), 반응조건 그리고 기질 특이성에 따라 다양하였으며, 가수분해에 사용한 proteinaous materials (효소, 또는 대상시료)에 따른 가수분해율의 차이는 기질 단백질(대상시료)와 이들의 아미노산 조성에 의해 결정된다고 하였다(Sathivel et al., 2003; Chalamaiiah et al., 2010; Kang et al., 2025).

RPI 가수분해물의 단백질 분자량 분포

등전점 용해/침전(ISP, pH 11/4.5) 공정을 통해 YTR로부터 회수한 RPI의 시판 proteases 가수분해물들의 sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)에 의한 단백질분포(2–250 kDa)는 Fig. 1에 나타내었다.

YTR의 진공 동결건조 농축분말과 이로부터 회수한 RPI의 단

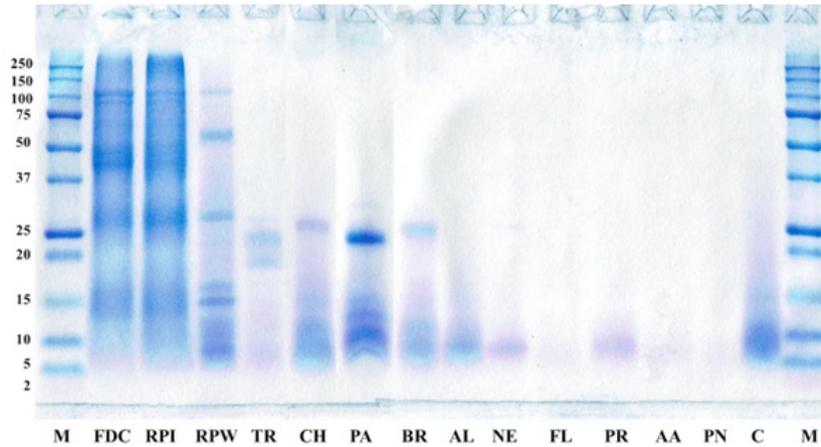


Fig. 1. SDS-PAGE pattern of protease hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe protein isolate by isoelectric solubilization/precipitation. M, Protein maker; FDC, Freeze-dried concentrate; RPI, Roe protein isolate; RPW, Roe process water; TR, Trypsin; CH, Chymotrypsin; PA, Papain; BR, Bromelain; AL, Alcalase; NE, Neutrase; FL, Flavourzyme; PR, Protamax; AA, Aroase AP-10; PN, Pantidase NP-2; C, Control.

백질 밴드들의 분포는 75–100 kDa에서 2개, 37–50 kDa에서 2개, 20–37 kDa에서 1개 그리고 10–20 kDa에서 2개의 명확한 단백질 밴드가 관찰되었으나, RPI의 경우는 37–50 kDa에서 2개 밴드 중 상대적으로 분자량이 큰 밴드 1개가 관찰되지 않은 차이가 있었다.

또한 ISP 공정에서 RPI를 회수한 다음, 발생한 가공처리수(roe processed water)에서 관찰된 단백질 분포는 100 kDa 부근, 50–75 및 37–50 kDa에서 각각 1개의 희미한 밴드였으며, 15 kDa 부근에서 2개 그리고 5–10 kDa에서 3개 이상의 단백질 밴드가 관찰되었다. 효소 처리하지 않은 control에는 5–15 kDa 분자량 범위의 단백질 분포만이 확인되었다.

YTR의 RPI로부터 10종 시판 proteases에 의한, 효소 가수분해물들의 단백질 분포는 RPI의 고분자량 단백질이 효소의 가수분해로 인해 저분자량의 펩타이드로 전환된 것으로 확인되었다(Fig. 1). Serine protease 가수분해물들(TR 및 CH)은 일부 기질 특이성에 따른 차이가 관찰되어, TR의 경우, 25 kDa과 20 kDa 부근의 단백질 밴드가 관찰된 반면에, CH의 단백질 밴드는 27 kDa 및 15–5 kDa 부근에서 단백질 분포가 확인되었다. Cysteine protease 가수분해물들(PA와 BR)의 단백질 밴드의 분포는 거의 유사하였으나, PA의 경우, 25 kDa 부근의 밴드가 그리고 15–5 kDa에서 단백질 분포가 확인된 반면에, BR은 25 kDa 부근의 밴드는 희미하게 나타나, 이들 단백질은 BR이 보다 잘 분해한다는 것이 확인되어, 가수분해물의 결과와 일치하는 경향이었다(Table 1).

Food-grade proteases의 경우, 모든 효소 가수분해물들이 5–10 kDa 저분자량 peptides의 분포만이 관찰되어 기질특이성에 따른 단백질 분포에 있어서 차이가 거의 없으며, 이들 효소의 상대적으로 높은 가수분해율과 일치하는 결과이었다(Table

1). FL, AA와 PN은 전기영동 상에 어떠한 단백질 밴드의 흔적도 관찰되지 않았다. 이상의 결과는 유사한 ISP공정을 통해 회수한 넙치알 RPI의 효소가수분해물에 대한 단백질 분포와 거의 일치함으로써 어류알 단백질의 기원이 다름에도 불구하고 효소의 기질 특이성이 반영된 결과로 판단되었다(Kang et al., 2025).

Rohu roe의 pepsin 및 trypsin 가수분해물(Chalamaiah et al., 2013b), meriga egg 가수분해물(Chalamaiah et al., 2010) 그리고 가자미(sole) 및 오징어의 젤라틴 가수분해물(Gimenez et al., 2009)은 효소의 기질 특이성에 따른 차이가 거의 없었으며, 10 kDa 이하의 저 분자량 peptide만이 관찰될 뿐, 단백질 분자량 분포가 유사하다고 하였다. 이는 사용한 효소에 따른 가수분해물의 전기영동 패턴과 단백질의 기원 간에는 거의 차이가 없어, 효소의 기질 특이성에 따라 단백질 분해가 진행된다고 하더라도 전기영동 겔의 분자량 한계 이하로 저분자화 되어, 전기영동 상에서 관찰되지 않은 것 때문이었다(Kang et al., 2025). 그러나 다양한 proteases로 제조한 대구 육 가수분해물의 분자량 분포는 기질 특이성에 따라 1–100 kDa, 4–17 kDa, 4–208 kDa 및 4–53 kDa로 다양하며, flavourzyme 가수분해물이 peptide 분자량의 감소가 현저하였다고 하여 일부 기질 특이성이 반영되었다고 하였다(Gilmartin and Jervis, 2002).

이상의 결과와 보고를 통해서, 효소의 기질 특이성에 따른, 어류알 RPI 가수분해물의 단백질 분자량 분포의 차이는 한정된 기질 특이성과 상대적으로 낮은 가수분해율을 나타낸 serine 및 cysteine proteases 가수분해물들이 기질 특이성이 상대적으로 광범위하고 가수분해율이 높은 미생물기원의 food-grade proteases 가수분해물들과는 전기영동 상에서도 단백질 분자량 분포의 차이가 확인되었다(Kang et al., 2025).

RPI로부터 유리 및 방출된 아미노산 조성

YTR의 ISP (pH 11/4.5)를 통해 회수한 RPI로부터 10종의 시판 proteases를 이용하여 제조한 가수분해물들과 control의 유리 및 효소에 의해 방출된 아미노산(free and released amino acid, FRAA)의 조성은 Table 2에 나타내었다. Control에 대해 효소에 의한 각 아미노산 조성의 순증가율을 알아보기 위해, 이 표에 나타낸 결과(g/100 g protein)는 각 아미노산의 백분율(%)로 나타내었으며, 효소 가수분해물의 단백질 함량(hydrolysate protein, HP)를 제시함으로써 각 아미노산의 조성비(%)를 곱하면, 각 아미노산 함량도 환산할 수 있도록 하였다.

먼저, RPI에 대한 모든 효소 가수분해물들의 주요 아미노산은 필수 아미노산으로서 Val (6.6–15.4%), Leu (9.1–15.0%), Phe (5.2–14.6%), Lys (6.2–11.9%), 그리고 Arg (4.1–10.0%)

이었으며, 비 필수 아미노산으로서 Ser (4.8–22.3%), Glu (7.1–11.0%) 및 Ala (5.5–8.9%)으로, 효소의 기질 특이성이 반영되어 아미노산의 조성비에서 차이를 보일 뿐만 아니라, 이들의 아미노산함량에 있어서도 효소에 의한 단백질분해로 전체적으로 증가하였다.

필수아미노산의 조성은 효소 처리하지 않은 control (69.5%)이 가장 높았으나, 효소 가수분해물들은 이 보다 낮은 45.4–68.9% 범위였으며, 비 필수아미노산의 조성은 이와 역 상관관계를 나타내었다. 비 필수 아미노산조성에 대한 필수 아미노산 조성비(EAA/NEAA)는 RPI가 1.08이었으나 이를 효소 처리하지 않은 control의 경우, 2.28로서, RPI로부터 유리된 필수아미노산의 양이 월등히 높은 수준이었다. 이는 넵치알 농축분말 (Kang et al., 2024b)과 이의 RPI (Kang et al., 2025)의 control에 비해서도 높아, 차이가 있었다. BR 가수분해물의 EAA/

Table 2. Free and released amino acid composition (g/100 g protein, %) of proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe protein isolate by isoelectric solubilization/precipitation

	Taste ¹	RPI ²	Control	TR	CH	PA	BR	AL	NE	FL	PR	AA	PN
Thr	S	5.1	2.9	2.6	2.0	2.2	2.1	2.4	4.8	5.8	3.8	3.4	3.7
Val ³	B	6.5	8.4	8.2	8.3	6.6	11.0	15.4	10.5	8.4	10.3	11.7	9.8
Met ³	B	2.9	-	-	0.8	0.6	6.5	3.2	0.8	2.1	2.4	2.2	2.5
ILe ³	B	5.8	3.7	3.0	3.6	2.7	4.0	4.9	3.9	6.0	3.3	3.4	5.8
Leu ³	B	8.8	12.1	11.1	11.3	9.1	11.7	14.9	12.8	12.6	15.0	12.6	14.6
Phe ³	B	4.5	13.8	14.6	14.1	8.6	15.9	5.2	14.7	5.4	12.6	11.8	6.5
His	B	3.2	8.5	7.4	9.6	4.3	4.4	7.3	5.6	3.8	6.3	7.7	4.6
Lys	S	8.5	10.1	10.1	9.6	6.2	9.0	7.8	9.0	9.1	6.9	6.5	11.9
Arg	B	6.6	10.1	10.0	9.5	5.1	8.6	6.8	6.1	7.9	4.1	5.3	9.5
EAA (%)		51.9	69.5	66.9	68.8	45.4	73.4	67.9	68.3	61.2	64.6	64.6	68.9
Asp	U	9.3	2.0	3.0	1.5	2.5	1.7	2.4	4.5	6.4	3.9	3.6	6.1
Ser	S	5.2	8.2	7.1	6.6	22.3	7.5	9.3	6.9	8.9	6.0	4.8	8.2
Glu	U	12.7	5.5	11.0	10.6	6.9	7.8	9.6	10.4	7.3	10.3	10.9	7.1
Pro ³	S	5.7	2.0	-	-	-	-	-	-	2.0	2.7	-	-
Gly ³	S	4.5	3.0	3.1	3.0	14.7	2.6	2.6	2.7	2.3	2.4	3.6	1.8
Ala ³	S	6.7	9.5	8.9	8.8	8.2	7.1	8.2	7.2	6.1	5.5	7.2	5.6
Cys	-	0.8	-	-	-	-	-	-	-	1.7	4.6	5.4	-
Tyr	B	3.2	0.3	-	0.6	-	-	-	-	4.2	-	-	2.4
NEAA (%)		48.1	30.5	33.1	31.2	54.6	26.6	32.1	31.7	38.8	35.4	35.4	31.2
EAA/NEAA		1.08	2.28	2.03	2.20	0.79	2.75	2.12	2.15	1.58	1.83	1.82	2.21
FRAA (mg/100 g-RPI)		-	238.6	285.8	301.4	624.0	532.1	404.6	698.6	4,395.1	739.3	713.9	3,592.8
HP (mg/100 g-RPI)		-	2,856	3,580	3,634	6,588	7,284	5,696	7,725	7,014	7,835	8,647	10,064
FRAA/HP (%)		-	8.4	8.0	8.3	9.3	7.3	7.1	9.0	62.7	9.4	8.3	35.7
HAA (%)		45.4	52.5	48.9	49.9	50.5	55.8	54.4	52.6	44.9	54.0	52.5	46.6

¹Taste were obtained by citing the taste classification of amino acids (Chen et al., 2016). ²Quoted from Lee et al. (2016b). ³Hydrophobic amino acid (HAA). Control, The supernatant of 4% (w/v) roe protein isolate (RPI) dispersion obtained under the same reaction conditions without the enzyme treatment; TR, Trypsin; CH, Chymotrypsin; PA, Papain; BR, Bromelain; AL, Alcalase; NE, Neutrase; FL, Flavourzyme; PR, Protamax; AA, Aroase AP-10; PN, Pantidase NP-2. EAA, Total essential amino acids; NEAA, Total non-essential amino acids; FRAA, Total free and released amino acids; HP, Total hydrolysate protein content; -, Not detected under this analytical condition.

NEAA는 2.75로서, control에 비해 높았으며, 그 외의 가수분해물들은 control에 비해 낮은 수준(0.79–2.20)을 나타내었다. PA만이 비 필수아미노산 조성의 증가가 두드러졌으며, 그 중에서도 serine (22.3%)의 증가가 월등히 높았다. 넙치알 농축분말 (Kang et al., 2024b)과 RPI (Kang et al., 2025)의 papain 가수분해물에서도 이 연구결과와 유사하여, 효소의 기질특이성의 영향이라 판단되었다.

한편, 효소 처리하지 않은 control의 FRAA (mg/100 g-RPI)는 238.6 mg/100 g-RPI이었으며, 효소의 가수분해로 인해 가장 많은 FRAA 함량을 나타낸 가수분해물은 FL (4,395.1 mg/100 g)이었고, 그 다음으로 PN (3,592.8 mg/100 g)으로, 다른 효소 가수분해물들(285.8–739.3 mg/100 g-RPI)과는 현저히 많은 함량이었다. Serine proteases로서 TR과 CH의 FRAA는 각각 285.8 및 301.4 mg/100 g-RPI이었으며, cysteine 단백질 분해효소인 PA (624.0 mg/100 g-RPI) 및 BR (532.1 mg/100 g-RPI) 그리고 food-grade proteases인 AL, NE, PR 및 AA는 404.6–739.3 mg/100 g 범위의 FRAA 함량을 나타내어, 기질 특이성이 극히 제한 적인 serine protease의 가수분해물이 가장 낮은 수준으로 Table 1의 가수분해물과 일치하는 결과이었다.

또한 효소 가수분해물들의 HP (mg/100 g-RPI)는 PN이 10,064 mg/100 g-RPI으로 가장 높았으며, control (2,856 mg/100 g-RPI)에 비하여 가수분해로 인해 약 3.5배가량 증가하였다. TR은 3,580 mg/100 g-RPI 그리고 CH가 3,634 mg/100 g-RPI로서 가수분해물 중에 가장 낮은 수준이었으나, PA (6,588 mg/100 g-RPI), BR (7,248 mg/100 g-RPI) 그리고 PN을 제외한 food-grade proteases 가수분해물들의 경우, 5,696–8,647 mg/100 g-RPI 범위이었다. 따라서 효소에 의한 단백질 가수분해로 인해, 모든 효소 가수분해물의 total 및 개별 아미노산 함량들은 증가하였다.

가수분해물의 맛, 용해도, 거품 및 유화 형성에 영향을 주는 소수성 아미노산 조성(hydrophobic amino acid, HAA)의 변화 (Kang et al., 2024b, 2025)는 모든 효소 가수분해물들이 control (52.5%)을 포함하여 44.9–55.8% 범위이었으며, 이들 중에는 BR의 HAA (55.8%)가 가장 많이 증가한 반면, FL (44.9%)이 가장 낮은 수준을 나타내었다. 넙치알 RPI의 가수분해물들은 control (38.2%)에 비하여 43.1–49.2% 범위로 증가하였으며, 이들 중에는 AA 가수분해물의 HAA가 가장 많이 증가하여 (Kang et al., 2025), 효소 가수분해에 따른 소수성 아미노산은 증가하는 경향을 보임으로써 맛, 용해도 그리고 식품기능성에도 영향이 있을 것으로 추정되었다.

가수분해물들의 아미노산에 조성에 있어서, TR의 경우, control에 비해 Phe, Lys, Asp, Glu과 Gly만이 순증가율을 나타내었으며, 이는 trypsin의 기질특이성과 관련하여 염기성 아미노산인 Lys 및 Arg의 C-말단 주위에 이들 순증가율을 보인 아미노산이 분포한다는 것을 반영하고 있다. CH의 경우, TR과 마찬가지로 가수분해율은 낮았으나(Table 1), control에 비해 Phe, His,

Glu, Gly 그리고 Tyr이 순증가율을 보였다. 이는 chymotrypsin의 기질특이성과 관련하여 방향족 아미노산인 Tyr, Phe 및 Trp의 C-말단 주위에 이들 아미노산들이 상대적으로 많이 분포하고 있다는 것을 시사하고 있다. TR 및 CH는 serine proteases로서 그 기질특이성이 각각 염기성 및 방향족 아미노산들에 한정되어 있어, 전반적으로 가수분해율이 낮은 뿐만 아니라, 유리되는 아미노산 함량도 상대적으로 낮았다(Kang et al., 2025).

PA의 경우, 순증가율을 나타낸 아미노산들은 Leu, Asp, Ser, Glu, 그리고 Gly이었으며, BR은 Val, Met, Ile, Phe, Ser, Glu 및 Gly이었다. 식물기원의 cysteine protease인 papain 및 bromelain은 Phe 및 Arg와 소수성 아미노산 잔기들의 C-말단 아미노산을 절단하는 비교적 넓은 기질특이성을 가지고 있다. 따라서 순증가율을 보인 이들 아미노산들이 절단부위의 주변에 분포하고 있다는 것을 반영한 것이라고 추정되었다.

미생물기원의 food-grade protease 가수분해물들의 공통적인 특성은 Val, Met, Ile, Leu, Asp 그리고 Glu의 증가가 두드러졌으나, 가수분해물의 FRAA에는 차이가 있어 각 효소의 기질 특이성이 다르다는 것을 알 수 있었다. 또한 serine 및 cysteine proteases 가수분해물에 비해 현저하게 넓은 기질특이성을 나타내었다(Kang et al., 2025). 전반적으로 RPI에 대한 효소 가수분해물들의 FRAA/HP의 비(%)에 있어서, FL (62.7%)과 PN (35.7%)을 제외한 효소 가수분해물들은 7.1–9.4%의 범위로서, 이는 RPI로부터 효소 가수분해에 의해 가용성의 oligopeptide 또는 polypeptide 함량은 증가하는 반면에, 저분자량의 amino acids 또는 dipeptide로의 전환이 상대적으로 낮은 것을 시사하고 있다(Kang et al., 2025).

한편, 효소 가수분해물의 아미노산 조성은 항산화 활성에 있어, 잠재적인 영향요인으로(Klompong et al., 2007), 특히 Phe, His 및 Tyr을 포함한 방향족 아미노산, Val, Leu, Pro 및 Ala과 같은 소수성 아미노산, 그리고 Met은 free 라디칼을 제거효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(Rajapakse et al., 2005; Sarmadi and Ismail, 2010). 많은 연구에서 강력한 ACE 저해활성을 갖는 peptide는 C-말단에 Trp, Phe, Tyr 또는 Pro를 포함하고, N-말단에는 Val을 포함하는 극성 및 소수성 아미노산을 함유하는 것으로 보고되고 있다(Ghassem et al., 2011). 또한 황다량어(Lee et al., 2016b), 가다랑어(Cha et al., 2020) 및 넙치알(Kang et al., 2023) RPI의 방향족 및 소수성 아미노산의 조성비가 45.4–46.4%인 것을 감안한다면, 이 연구의 효소 가수분해물의 경우(Table 2)도 유사한 아미노산 조성(44.9–55.8%)을 나타내어, 천연의 생리활성 peptide 소재의 이용가능성이 높을 것으로 판단되었다. 따라서, 기질특이성에 따른 효소 가수분해물의 아미노산 조성의 차이가 식품 기능성, 항산화성, 생리활성 등에 다양한 영향을 미칠 것으로 예상되었다.

가수분해물의 맛과 관련한 아미노산의 분포

Table 2의 FRAA로부터 가수분해물의 맛, 용해도, 거품 및 유

화 형성능에 영향을 주는 HAA와 Chen et al. (2016)이 제시한 개별 아미노산의 맛(sweetness, S; bitterness, B; umami, U)에 따른 FRAA의 조성(%) 및 함량(mg/100 g-RPI)은 Table 3에 나타내었다. 먼저 모든 효소 가수분해물의 HAA 조성비(%)는 control (52.5%)에 비하여 BR, AL, NE, PR 그리고 PN은 52.5–55.8% 범위수준에서 순증가율을 나타낸 반면에, 이를 제외한 가수분해물들은 44.9–50.5%범위로서 상대적으로 그 조성비가 감소하였다. 그러나 이들의 HAA 함량은 control (125.3 mg/100 g-RPI)에 비해 모든 가수분해물들(139.6–1,974.0 mg/100 g-RPI 범위)이 1.11–15.8배 가량 효소의 가수분해 작용으로 증가하였으며, 이들 중에는 FL 및 AL가 소수성 아미노산 함량의 증가가 두드러졌다.

한편, Chen et al. (2016)이 분류한 단맛(S), 쓴맛(B) 그리고 감칠맛(U) 아미노산 맛에 대한 조성비(%)는 효소의 기질특이성에 따라 S가 control (36.6%)에 대해 23.5–53.6%범위이었고, B는 control (57.0%)에 대해 37.0–62.2% 범위였으나, U는 control (7.4%)에서 9.4–14.4%범위로 증가한 것으로 나타났다. 또한 아미노산의 맛에 따른 함량(mg/100 g-RPI)은 조성비의 변화와 상관없이 가수분해로 control에 비해 그 함량은 증가하였다. 먼저 S의 경우, PA (53.6%)만이 control에 비해 증가하였으나, 그 외 가수분해물들은 감소하여 AA (23.5%)가 가장 낮은 수준이었다. B의 경우는 control에 비해 높은 가수분해물은 BR (62.2%), CH (57.8%) 그리고 AL (57.7%)이었으나, 그 외 가수분해물들은 감소하였으며, PA (37.0%)가 가장 낮은 수준이었다. U의 조성비에 있어서는 모든 가수분해물이 control에 비해 증가하였으며, 특히 PA (9.4%)와 BR (9.5%)을 제외한 가수분해물들은 약 1.6–2.0배가량 감칠맛 아미노산들이 조성비가 증가하였다.

한편 FL (601.3 mg/100 g) 및 PN (474.1 mg/100 g) 가수분해물의 U 함량은 다른 가수분해물(36.5–105.3 mg/100 g)에 비해 감칠맛 아미노산들의 분포가 4.5–16.5배가량 많은 것으로 나타남으로써, 효소 가수분해를 통해 감칠맛의 향상 또는 강화에 도움이 될 것으로 판단되었다. 이 연구결과에서 효소가수분해물들의 아미노산 맛에 대한 균형 측면에서는 TR, FL 및 PN이 우수하였으며, 상대적으로 쓴맛이 강한 가수분해물은 CH, BR 그리고 AL이었다. Kim et al. (2014)은 casein에 대해 trypsin으로 쓴맛 가수분해물 제조 그리고 Yoon et al. (2021)은 멸치에 대해 trypsin, alcalase, neutrase 및 protamex의 가수분해물이 쓴맛이 강하다고 보고한 바 있다. 따라서 이 연구의 황다랑어 알(YTR)의 분리단백질(RPI)에 대한 시판 protease 가수분해물의 제조에 있어 단맛과 감칠맛을 고려한다면 그 조성비 및 함량이 높은 PA, NE, FL, 그리고 PN의 사용을 고려할 수 있을 것이다.

거품성 및 거품안정성

YTR로부터 ISP 공정을 통해 회수한 분리 단백질인 RPI에 대한 시판 proteases 가수분해물의 FC와 FS에 대한 결과는 Table 4와 같다.

먼저, 효소 처리하지 않은 control의 FC는 126.1%이었으며, 이때의 FS는 거품 형성 직후 60분까지 29.9%가 유지되었다. Control에 비해 FC가 향상된 가수분해물들(135.1–218.1%)은 PA, BR, CH 그리고 TR의 순이었으며, AA, NE 및 PN는 117.7–124.7% 범위의 FC로서 control보다는 낮은 수준이었다. 아울러 이외 다른 가수분해물들의 FC (100.0–108.1%)가 관찰되지 않았다.

FC가 향상된 가수분해물 중에 FS가 유지된 것은 CH, PA 및 BR 가수분해물이 거품형성 직후 60 min에 이르기까지 40.4–

Table 3. Distribution of amino acid composition (%) and content (mg/100 g-RPI) in protease hydrolysates related to the taste of amino acids

Hydrolysate	FRAA (mg/100 g-RPI)	Composition (%)				Content (mg/100 g RPI)			
		HAA	S ¹	B ¹	U ¹	HAA	S ¹	B ¹	U ¹
Control	238.6	52.5	36.6	57.0	7.4	125.3	85.0	135.9	17.7
TR	285.8	48.9	31.8	54.2	13.9	139.6	91.0	155.0	39.8
CH	301.4	49.9	30.1	57.8	12.1	150.5	90.7	174.2	36.5
PA	624.0	50.5	53.6	37.0	9.4	315.1	334.5	230.7	58.8
BR	532.1	55.8	28.3	62.2	9.5	313.0	150.7	330.9	50.5
AL	404.6	54.4	30.3	57.7	12.0	220.0	122.4	233.5	48.7
NE	698.6	52.6	30.7	54.4	14.9	367.2	214.6	380.1	103.9
FL	4,395.1	44.9	34.2	50.4	13.7	1,974.0	1,303.9	2,215.1	601.3
PR	739.3	54.0	27.2	53.9	14.2	399.6	201.4	398.5	105.3
AA	713.9	52.5	23.5	54.6	14.4	374.5	182.0	390.0	103.1
PN	3,592.8	46.6	31.2	55.6	13.2	1,672.8	1,122.0	1,996.7	474.1

¹Taste (S, B, and U) were obtained by citing the taste classification of amino acids (Chen et al., 2016). FRAA (free and released amino acids), HAA (hydrophobic amino acids), S (sweetness), B (bitterness), and U (umami) were quoted from Table 2. TR, Trypsin; CH, Chymotrypsin; PA, Papain; BR, Bromelain; AL, Alcalase; NE, Neutrase; FL, Flavourzyme; PR, Protamax; AA, Aroase AP-10; PN, Pantidase NP-2.

57.3% 범위의 거품이 유지되었다. Food-grade protease 가수분해물들 중에서 NE만이 FC가 123.7% 그리고 FS가 거품형성 직후 30 min까지 29.4%의 거품이 유지되었다.

Kang et al. (2025)은 넙치 알 RPI의 PA, BR 그리고 NE 가수분해물이 FC 및 FS가 우수하다고 하여, 이 연구 결과와 유사하였다.

어류 알의 거품 형성능에 관한 연구보고를 통해, 황다랑어 (Yoon et al., 2019), 가다랑어(Cha et al., 2020) 그리고 넙치 (Kang et al., 2024a) 알 RPI의 거품 형성능은 115–147%범위, 알칼리 불용성의 콜라겐 유사 단백질획분(Yoon et al., 2018a)은 121–160%범위를 나타내었으며, 양성대조군인 egg white 127% (Park et al., 2016), hemoglobin 120.9% 및 casein 109.4%라고 보고한 바 있다(Lee et al., 2016b). 따라서 효소를 활용한 가수분해물의 거품 형성능은 효소 처리하지 않은 control에 대해 기질특이성에 따라 일부 효소에 대해서만 개선 효과가 나타남을 알 수 있었다.

Pacheco-Aguilar et al. (2008)은 Pacific whiting *Merluccius productus* 근육으로부터 제조한 alcalase, trypsin 및 pepsin 가수분해물은 가수분해율, 용해도에 따라 각기 FC가 다르게 관찰된다고 하였으며, 이는 가수분해물 중의 peptide들이 효소들의 기질특이성에 따른 peptide의 조성, 크기, 순 전하(net charge) 변화로 인한 차이에 기인하였다. 또한 가수분해율이 높은 어류 단백질 가수분해물의 FC가 낮은 것은 과도한 가수분해로 친수

성 peptide의 증가와 저분자량의 peptide로 인해 기포 주위에 안정한 막의 생성을 방해하기 때문이며, 가수분해정도 및 pH의 증가에 따라 거품 형성능은 감소하는 경향을 나타낸다고 하였다(Souissi et al., 2007; Naqash and Nazeer, 2013). 따라서 효소에 의한 단백질 가수분해는 peptide의 크기가 작으면 작을수록 안정한 거품을 유지하는데 요구되는 표면장력을 갖지 못하기 때문에 FS를 감소시키게 되고, 과도한 가수분해로 생긴 저분자의 peptide는 계면활성이 낮아져 FC 및 FS의 감소로 이어지게 된다(Mutilangi et al., 1996).

이 연구의 효소 가수분해물은 효소 처리하지 않은 control에 비해, CH, PA 및 BR이 FC와 FS가 우수한 것으로 나타났으나, food-grade proteases 가수분해물은 상대적으로 높은 가수분해율(Table 1)로 인해 FC 및 FS가 관찰되지 않았다.

유화능 및 유화안정성

YTR로부터 ISP 공정을 통해 회수한 분리 단백질인 RPI에 대한 시판 proteases 가수분해물의EAI와 ESI에 대한 결과는 Table 5와 같다.

효소 처리하지 않은 control의 EAI는 10.0 m²/g protein으로 이의 ESI는 20.9 min이었다. Serine protease인 TR과 CH의 EAI는 각각 9.0 및 10.3 m²/g protein으로 control과 유의적인 차이가 없었으며(P>0.05), 이때의 ESI는 27.2 및 23.5 min이었다. Cysteine proteases인 PA의 EAI와 ESI는 각각 58.8 m²/g

Table 4. Foaming capacity (FC) and foam stability (FS) of proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe protein isolate by isoelectric solubilization/precipitation

Enzyme hydrolysates	FC (%)	15 min FS (%)	30 min FS (%)	60 min FS (%)
Control	126.1±1.0 ^d	60.0±0.2	52.0±0.9	29.9±1.3
TR	135.1±0.0 ^c	-	-	-
CH	154.0±0.3 ^b	71.4±0.4	65.5±1.5	40.4±0.4
PA	218.1±9.3 ^a	66.5±1.1	61.0±0.2	57.3±0.9
BR	157.8±4.9 ^b	65.3±3.3	60.5±1.1	46.0±0.5
AL	100.0±0.0 ^g	-	-	-
NE	123.7±1.5 ^d	46.6±2.5	29.4±0.1	-
FL	108.1±1.0 ^f	-	-	-
PR	100.0±0.0 ^g	-	-	-
AA	124.7±0.0 ^d	-	-	-
PN	117.7±3.5 ^e	-	-	-

Control, The supernatant obtained under the same reaction conditions without the enzyme; TR, Trypsin; CH, Chymotrypsin; PA, Papain; BR, Bromelain; AL, Alcalase; NE, Neutrase; FL, Flavourzyme; PR, Protamax; AA, Aroase AP-10; PN, Pantidase NP-2; -, Not detected. Values represent the mean±SD of n=3. Values with different letters within the same column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 5. Emulsifying activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe isolate by isoelectric solubilization/precipitation

Enzyme hydrolysates	EAI (m ² /g)	ESI (min)
Control	10.0±1.1 ^c	20.9±0.5
TR	9.0±0.3 ^c	27.2±2.6
CH	10.3±0.8 ^c	23.5±1.8
PA	58.8±2.7 ^a	22.0±0.5
BR	27.6±0.4 ^b	10.9±0.1
AL	5.3±0.2 ^{de}	16.0±0.5
NE	5.1±0.5 ^{de}	19.4±0.4
FL	5.8±0.9 ^d	14.5±0.3
PR	4.2±0.2 ^{de}	17.8±0.8
AA	4.1±0.1 ^{de}	21.3±0.7
PN	3.7±0.2 ^e	18.8±1.0

Control, The supernatant obtained under the same reaction conditions without the enzyme; TR, Trypsin; CH, Chymotrypsin; PA, Papain; BR, Bromelain; AL, Alcalase; NE, Neutrase; FL, Flavourzyme; PR, Protamax; AA, Aroase AP-10; PN, Pantidase NP-2; -, Not detected. Values represent the mean±SD of n=3. Values with different letters within the same column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

protein 및 22.0 min으로 가장 우수한 유화 형성능을 나타내었으며, 다음으로 BR가수분해물이었다. 한편 food-grade proteases 가수분해물 중에서는 FL, AL 그리고 NE (5.1–5.8 m²/g protein)가 상대적으로 우수한 EAI를 나타내었으며, 이들의 ESI는 14.5–19.4 min 수준이었다. 따라서 cysteine 및 serine proteases의 가수분해물이 food-grade proteases 가수분해물보다 유의적으로 우수한 유화 형성능을 나타내었다(P<0.05).

Kang et al. (2025)은 넙치 알 RPI의 CH, TR, PA 및 BR 가수분해물의 유화 형성능(9.5–30.9 m²/g protein)이 control 및 food-grade protease 가수분해물(2.0–8.6 m²/g protein)에 비해 우수하다고 보고하였으며, Kang et al. (2024b)은 넙치 알의 증자-건조처리 농축분말로부터 제조한 serine 및 cysteine proteases 가수분해물의 EAI (9.0–34.3 m²/g protein)이 food-grade proteases (1.4–5.3 m²/g protein)에 비해 유의적으로 우수한 EAI를 나타내어, 이 연구의 황다랑어 RPI에 대한 효소 가수분해물들에 대한 기질특이성결과도 유사하였다.

잉어 알의 pepsin, trypsin 및 alcalase 가수분해물(Chalamaiiah et al., 2015)은 이들 효소 기질특이성에 따른 아미노산과 peptide 조성의 차이가 가수분해물 내의 순 전하의 차이를 유도하여 EAI와 ESI에도 차이를 가져올 수 있다고 하였다. 또한 가수분해율이 높은 효소 가수분해물은 EAI가 현저히 감소하거나 상실될 수 있으며(Kristinsson and Rasco, 2000; Gbogouri et al., 2004), 어류알 단백질 가수분해물의 낮은 유화성은 효소작용으로 단백질의 4차 구조(Sathivel et al., 2003)와 입체(steric) 효과의 상실에 기인한다고도 하였다(Klompong et al., 2007). 이러한 유화 형성능은 가수분해율과 peptide 농도에 따라 다양하게 측정되고, 알 단백질 가수분해물의 농도, 아미노산 조성 및 사슬 길이에 따라 계면에서 ESI에 차이를 나타내는 요인이라고 하였다(Intarasirisawat et al., 2012).

이상의 결과와 연구보고로부터 단백질 기원, 회수-가공처리 방법 및 조건에 따라 식품 기능성으로서 다양한 거품 및 유화 형성능을 나타내었으며, 특히 효소 가수분해물의 경우, 효소의 기질특이성이 광범위하고, 가수분해율이 높을수록 거품 및 유화 형성능 공통적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이 연구에서 황다랑어 RPI에 대한 효소 가수분해물의 식품기능성은 기질 특이성이 제한적이고, 상대적으로 가수분해율(Table 1)이 낮은 TR, CH, PA 및 BR이 우수하였다.

항산화 및 항고혈압 활성

YTR로부터 ISP 공정을 통해 회수한 RPI에 대한 시판 proteases 가수분해물의 항산화 및 항고혈압 활성은 Table 6에 나타내었다.

먼저, ABTS⁺ radical 소거활성(IC₅₀, µg/mL)은 효소 처리하지 않은 control (82.9 µg/mL)에 비해 효소 가수분해물 중에서 우수한 소거활성을 보인 효소 가수분해물은 food-grade proteases 인 FL (82.4 µg/mL)만이 가수분해로 인한 항산화 활성의 개

선 효과가 인정되었다. 그러나 가수분해로 인해 1.25–3.52배 증가한 가수분해물의 단백질함량(Table 1)을 고려한다면, TR을 제외한 모든 효소 가수분해물이 control에 비해 우수한 ABTS⁺ radical 소거활성을 나타냄으로써 가수분해에 따른 개선효과가 인정되었다.

한편, 넙치 알 RPI에 대한 효소 가수분해물(Kang et al., 2025)의 ABTS⁺ radical 소거활성은 108–210 µg/mL로서, control에 비해 PR, AA, AL, NE 및 FL에 의해 항산화활성이 개선되었다고 하여, 이 연구의 결과에 비해 ABTS⁺ radical 소거활성은 낮은 수준이었으나 가수분해물에 대한 효소의 기질특이성은 유사하였다. 넙치 알 농축분말의 다양한 효소 가수분해물들(69–99 µg/mL, Kang et al., 2024b)은 효소 처리하지 않은 control (60 µg/mL)에 비해 낮은 소거활성을 보였으며, 효소 가수분해물 중에서는 FL 및 PN 가수분해물이 우수한 소거활성을 나타낸다고 하였다.

가다랑어 알(103 µg/mL; Cha et al., 2020) 및 YTR (82 µg/mL; Yoon et al., 2019)의 RPI, 새우가공부산물의 효소 가수분해물(160–170 µg/mL; Kim et al., 2016), 어류 알의 가공 중에 발생하는 가공처리수(33–160 µg/mL; Lee et al., 2017), 그리고 물 추출물(28–45 µg/mL) 및 자숙수(55–110 µg/mL; Yoon et al., 2017)의 ABTS⁺ radical 소거활성에 따른 항산화 활성은 어류 알 RPI이나 새우 효소 가수분해물에 비하여는 이 연구의

Table 6. Anti-oxidative and anti-hypertensive activities of protease hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe protein isolate by isoelectric solubilization/precipitation

Enzyme hydrolysates	ABTS ⁺ IC ₅₀ (µg/mL)	Tyrosinase inhibition (%)	ACE inhibition (%)
Control	82.9±0.9 ^a	1.4±0.0 ^e	35.7±2.2 ^f
TR	104.3±1.0 ^f	-	79.8±2.3 ^b
CH	96.3±0.4 ^e	2.3±1.9 ^e	54.6±0.6 ^e
PA	162.6±1.3 ^h	10.2±1.8 ^c	51.3±2.5 ^e
BR	126.8±0.8 ^g	10.7±1.8 ^c	84.1±0.9 ^a
AL	89.1±0.8 ^c	0.4±2.0 ^e	68.1±1.8 ^{cd}
NE	92.2±0.8 ^d	6.0±1.9 ^d	80.1±2.0 ^b
FL	82.4±0.8 ^a	21.8±1.5 ^a	67.0±2.4 ^d
PR	86.5±1.0 ^b	16.7±1.6 ^b	69.6±2.6 ^{cd}
AA	93.4±0.8 ^d	21.8±1.5 ^a	80.6±3.1 ^{ab}
PN	187.9±0.7 ⁱ	-	71.4±3.0 ^c

IC₅₀, The half maximal inhibitory concentration; ACE, Angiotensin I-converting enzyme; Control, The supernatant obtained under the same reaction conditions without the enzyme; TR, Trypsin; CH, Chymotrypsin; PA, Papain; BR, Bromelain; AL, Alcalase; NE, Neutrase; FL, Flavourzyme; PR, Protamax; AA, Aroase AP-10; PN, Pantidase NP-2. Values represent the mean±SD of n=3. Values with different letters within the same column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

RPI 가수분해물이 우수한 반면에, 물 추출물 및 가공처리수에 비하여는 유사하거나 다소 낮은 소거활성을 나타내었다.

이 연구결과와 보고에 따르면 사용하는 다양한 효소와 기질의 단백질 기원에 따라 효소의 기질 특이성이 반영되어 각기 다른 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 나타내었으나, 효소 가수분해가 모두 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 개선하는 것만 아니었다. Giménez et al. (2009)은 ABTS⁺ 라디칼 소거활성에 기초하여, 가장 강한 소거능을 보이는 아미노산은 Cys이며, 그 다음으로 Trp, Tyr 및 His이라고 하여, 이들 아미노산을 함유하는 peptide가 더 강한 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 나타낸다고 하였다. 이 연구의 FRAA 조성(Table 3)에서도 이들 아미노산 조성 및 함량이 높은 가수분해물들이 radical 소거활성이 우수한 것과 일치하였다. 또한, ABTS⁺ radical 소거활성은 효소의 종류, 가수분해율, 용해도, peptides 종류 및 유리 또는 방출되는 아미노산 조성과 같은 여러 요인에 따라 달라진다고 하여(Bougatef et al., 2010; Chalamaiah et al., 2013b), 이러한 차이가 가수분해물의 항산화능에 영향을 준다고 판단되었다.

YTR로부터 ISP 공정을 통해 회수한 RPI의 시판 proteases 가수분해물들의 tyrosinase 저해활성(Table 6)은 효소 처리하지 않은 control (1.4%)보다 우수한 저해활성을 보인 가수분해물은 FL 및 AA (21.8%) 그리고 PR (16.7%)이었으나, TR 및 PN 가수분해물은 저해활성이 없는 것으로 나타나, 효소의 기질특이성에 따른 차이가 인정되었다. 넙치 알 RPI의 효소 가수분해물들(Kang et al., 2025)은 control (29.3%)을 포함하여 24.2–38.1% 범위로서 AA, FL 및 PR 가수분해물이 control 보다 우수한 저해활성을 나타내었으며, 효소 가수분해의 의한 개선효과가 인정된다고 하였다. 한편 Kang et al. (2024b)은 넙치 알 증자-건조처리 농축분말은 저해활성이 없었으나, 이의 가수분해물인 FL (12.5%), PR (11.1%) 그리고 AA (18.6%)에 의해 tyrosinase 저해활성을 나타내었으며, 다른 효소 가수분해물들에서는 저해활성을 보이지 않았다고 하였다. Zhuang et al. (2009)은 해파리 콜라겐에 대한 trypsin 가수분해물의 tyrosinase 저해활성은 단백질농도가 5 mg/mL에서 50%의 저해활성을 나타내 강한 항산화활성과 Cu²⁺-chelating 활성을 보인다고 하였으며, 일부 연구에서는 꿀, 밀, 우유, 실크 및 집파리와 같은 천연 자원의 단백질 및 peptide가 Cu²⁺-chelating 작용으로 인해 tyrosinase 활성을 억제할 수 있다고 하였다(Schurink et al., 2007).

따라서 이 연구과 보고를 통해 tyrosinase 저해활성은 농축분말(Kang et al., 2024b) 및 RPI (Kang et al., 2025)와 같이 기질에 따른 차이는 있으나, 공통적으로 food-grade proteases인 flavourzyme, protamex 그리고 aroase-AP10에 의해 어류 알의 tyrosinase 저해활성이 개선되었으며, *in vitro* 상의 미백효과가 인정되었다.

YTR로부터 ISP 공정을 통해 회수한 RPI에 대한 시판 proteases 가수분해물의 angiotensin converting enzyme (ACE)

저해활성(Table 6)은 control (35.7%)에 비해 모든 효소 가수분해물이 51.3–84.1%범위의 저해활성을 나타내어, 효소에 의한 가수분해로 ACE 저해활성의 개선 효과가 뚜렷하였다. TR (79.8%) 및 CH (54.6%)은 매우 낮은 가수분해율(각각 1.0 및 1.1%, Table 1)임에도 불구하고 상대적으로 강한 저해활성을 나타내어, 이 효소의 기질특이성(염기성 및 방향족 아미노산의 C-말단을 분해)에 따른 영향이라고 추정되었다(Kang et al., 2025). BR (84.1%)는 가수분해물 중에서 가장 저해활성을 나타내었으며, 다음으로 AA (80.6%) 및 NE (80.1%) 가수분해물이었다.

그러나 Kang et al. (2025)은 넙치 알 RPI에 대한 효소 가수분해물 중에서 PN, FL 그리고 PR 가수분해물(78.7–83.3%)이 강한 저해활성을 보인다고 하였으며, 넙치 알 농축분말의 효소 가수분해물들은 serine proteases에 의한 기질 특이성과 더불어 food-grade proteases에 의한 가수분해율이 높을수록 ACE 저해활성이 강하게 나타나, AL, PR 그리고 AA 가수분해물의 ACE 저해활성(87–89%) 개선효과가 두드러진다고 하였다(Kang et al., 2024b). 이는 어류알의 농축분말(Kang et al., 2024b) 및 RPI (Kang et al., 2025)의 제조과정의 차이로 인해 최종 농축분말(pH 6부근) 및 RPI (pH 4.2부근)에 대한 효소의 작용에 영향을 미쳤을 것으로 판단되었다(Kang et al., 2025). 넙치(Kang et al., 2024a), 황다랑어(Yoon et al., 2019) 및 가다랑어(Cha et al., 2020) 알 RPI의 ACE 저해활성(%)은 각각 30.8%, 35.7% 및 44.0%의 저해활성을 나타내어, 이 연구의 효소에 의한 가수분해로 인해 ACE 저해활성이 강화되는 효과가 있는 것으로 확인되었다.

이상의 연구 결과를 통해 YTR로부터 ISP 공정으로 회수한 RPI의 가수분해물들은 PN 및 AA는 가수분해율에서, FL 및 PN은 효소작용에 따른 FRAA에서, TR, CH, PA 및 BR은 거품형성능에서, PA 및 BR은 유화형성능에서, FL, PR, 및 AA는 항산화, *in vitro* 미백효과 및 항고혈압 활성에서 우수하였다. 따라서, YTR의 분리 단백질에 대한 효소 가수분해물들은 새로운 형태의 기능성 강화 음료, 제과/제빵 및 제면가공 산업에 기능성 수산식품소재로서 응용 가능할 것으로 판단되었다.

References

- Bougatef A, Nedjar-Arroume N, Manni L, Ravallec R, Barkia A, Guillochon D and Nasri M. 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. Food Chem 118, 559-565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.021>.
- Cha JW, Yoon IS, Lee GW, Kang SI, Park SY, Kim JS and Heu MS. 2020. Food functionalities and bioactivities of protein isolates recovered from skipjack tuna roe by isoelectric solubilization and precipitation. Food Sci Nutri 8, 1874-1887. <http://doi.org/10.1002/fsn3.1470>.

- Chalamaiah M, Balaswamy K, Rao NG, Rao PPG and Jyothirmayi T. 2013a. 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. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.08.006>.
- Chalamaiah M, Jyothirmayi T, Bhaskarachary K, Vajreswari A, Hemalatha R and Dinesh Kumar B. 2013b. 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.020>.
- Chalamaiah M, Rao GN, Rao DG and Jyothirmayi T. 2010. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chem* 120, 652-657. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.057>.
- Chen C, Okazaki E, Suzuki T, Nguyen HTN and Osako K. 2016. Objective quality evaluation of commercial spicy pollock roe products in terms of mechanical and biochemical properties. *Food Sci Technol Res* 22, 337-347. <https://doi.org/10.3136/fstr.22.337>.
- Diniz FM and Martin AM. 1997. Effects of the extent of enzymatic hydrolysis on functional properties of shark protein hydrolysate. *LWT Food Sci Technol* 30, 266-272. <https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0184>.
- Fang X, Xie N, Chen X, Yu H and Chen J. 2012. Optimization of antioxidant hydrolysate production from flying squid muscle protein using response surface methodology. *Food Bioprod Process* 90, 676-682. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.04.001>.
- 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>.
- Ghassem M, Arihara K, Babji AS, Said M and Ibrahim S. 2011. Purification and identification of ACE inhibitory peptides from Haruan (*Channa striatus*) myofibrillar protein hydrolysate using HPLC-ESI-TOF MS/MS. *Food Chem* 129, 1770-1777. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.051>.
- Gilmartin L and Jervis L. 2002. Production of cod (*Gadus morhua*) muscle hydrolysates. Influence of combinations of commercial enzyme preparations on hydrolysate peptide size range. *J Agric Food Chem* 50, 5417-5423. <https://doi.org/10.1021/jf011466j>.
- Giménez B, Alemán A, Montero P and Gómez-Guillén MC. 2009. Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. *Food Chem* 114, 976-983. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.050>.
- 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>.
- Intarasirisawat R, Benjakul S, Visessanguan W and Wu J. 2012. Antioxidative and functional properties of protein hydrolysate from defatted skipjack (*Katsuwonus pelamis*) roe. *Food Chem* 135, 3039-3048. <https://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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.076>.
- 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, 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. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.09.006>.
- Kang SI, Kwon IS, Kim HJ, Yoon IS, Choe YR, Lee JS, Kim JS and Heu MS. 2023. Food characteristics of protein isolates recovered from olive flounder *Paralichthys olivaceus* roe by isoelectric solubilization and precipitation process. *Korean J Fish Aquat Sci* 56, 162-173. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0162>.
- Kang SI, Kwon IS, Yoon IS, Kim JS, Lee JS, Kim HJ and Heu MS. 2024a. Influence of pH-shift on food functionality of protein isolates recovered by isoelectric solubilization and precipitation from olive flounder *Paralichthys olivaceus* roes. *Korean J Fish Aquat Sci* 57, 1-14. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2024.0001>.
- Kang SI, Yoon IS, Kim MG, Lee JS and Heu MS. 2024b. Food functionalities of various enzyme hydrolysates prepared from olive flounder *Paralichthys olivaceus* steam-dried roe concentrate. *Korean J Fish Aquat Sci* 57, 515-529. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2024.0515>.
- Kang SI, Yoon IS, Kim MK and Heu MS. 2025. Food functionality and bioactivity of enzyme hydrolyzates prepared using protein isolates from olive flounder *Paralichthys olivaceus* roes. *Korean J Fish Aquat Sci* 58, 1-14. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2025.0001>.
- Kim SB, Yoon NY, Shim KB and Lim CW. 2016. Antioxidant and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities of northern shrimp (*Pandalus borealis*) by-products hydrolysate by enzymatic hydrolysis. *Fish Aquat Sci* 19, 29. <https://doi.org/10.1016/j.fish.2016.03.001>.

- doi.org/10.1186/s41240-016-0028-6.
- Kim JS, Kim HS, Lee HJ, Park SH, Kim KH, Kang SI and Heu MS. 2014. Lowering the bitterness of enzymatic hydrolysate using aminopeptidase-active fractions from the common squid (*Todarodes pacificus*) hepatopancreas. Korean J Food Sci Technol 46, 716-722. <https://doi.org/10.9721/kjfst.2014.46.6.716>.
- 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. <https://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 and Rasco BA. 2000. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical and functional properties. Crit Rev Food Sci Nutr 40, 43-81. <https://doi.org/10.1080/10408690091189266>.
- Kwon IS, Yoon IS, Kang SI, Kim JS, Kim HJ and Heu MS. 2022. Food characteristics of olive flounder *Paralichthys olivaceus* roe concentrates prepared using a cook-dried process. Korean J Fish Aquat Sci 55, 791-801. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0791>.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227, 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>.
- Lee GW, Yoon IS, Kang SI, Lee SG, Kim JI, Kim JS and Heu MS. 2017. Functionality and biological activity of isolate processed water generated during protein isolate preparation of fish roes using an isoelectric solubilization and precipitation process. Korean J Fish Aquat Sci 50, 694-706. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0694>.
- Lee HJ, Lee GW, Yoon IS, Park SH, Park SY, Kim JS and Heu MS. 2016b. Preparation and characterization of protein isolate from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe by isoelectric solubilization/precipitation process. Fish Aquat Sci 19, 14. <https://doi.org/10.1186/S41240-016-0014-Z>.
- Lee HJ, Park SH, Yoon IS, Lee GW, Kim YJ, Kim JS and Heu MS. 2016a. Chemical composition of protein concentrate prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe by cook-dried process. Fish Aquat Sci 19, 12. <https://doi.org/10.1186/s41240-016-0012-1>.
- Liu J, Lyu F, Zhou X, Wang B, Wang X and Ding Y. 2015. Preparation of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) protein hydrolysate using combined controlled enzymatic hydrolysis and glycation for improved solubility and emulsifying properties. J Food Nutr Res 3, 471-477. <https://doi.org/10.12691/jfnr-3-7-9>.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193, 265-275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6).
- MOF (Ministry of Ocean and Fisheries). 2024. Yearbook of Marine Resource. Retrieved from <https://www.mof.go.kr/statPortal/stp/cts/anr/statsAnlrpt.do> on Sep 15, 2025.
- 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>.
- Naqash SY and Nazeer RA. 2013. Antioxidant and functional properties of protein hydrolysates from pink perch (*Nemipterus japonicus*) muscle. J Food Technol 50, 972-978. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0416-y>.
- Ovissipour M, Rasco B, Shiroodi SG, Modanlow M, Gholami S and Nemati M. 2013. Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. J Sci Food Agric 93, 1718-1726. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5957>.
- Pacheco-Aguilar R, Mazorra-Manzano MA and Ramírez-Suárez JC. 2008. Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. Food Chem 109, 782-789. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.047>.
- Park SH, Lee HJ, Yoon IS, Lee GW, Kim JS and Heu MS. 2016. Protein functionality of concentrates prepared from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) roe by cook-dried process. Food Sci Biotechnol 25, 1569-1575. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0242-0>.
- Rajapakse N, Mendis E, Byun HG and Kim SK. 2005. Purification and *in vitro* antioxidative effects of giant squid muscle peptides on free radical-mediated oxidative systems. J Nutr Biochem 16, 562-569. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.02.005>.
- Sampath Kumar NS, Nazeer RA and Jaiganesh R. 2012. Purification and identification of antioxidant peptides from the skin protein hydrolysate of two marine fishes, horse mackerel (*Magalaspis corchyla*) and croaker (*Otolithes ruber*). Amino Acids 42, 1641-1649. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0858-6>.
- Sarmadi BH and Ismail A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. Peptides 31, 1949-1956. <http://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020>.
- Sathivel S, Bechtel PJ, Babbitt J, Smiley S, Crapo C, Reppond KD and Prinyawiwatkul W. 2003. Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) by product hydrolysates. J Food Sci 68, 2196-2200. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05746.x>.
- Schurink M, van Berkel WJ, Wichers HJ and Boeriu CG. 2007. Novel peptides with tyrosinase inhibitory activity. Peptides 28, 485-495. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2006.11.023>.

- Shahidi F. 1994. Sea food processing by-products. In: Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality. Shahidi F and Botta JR, eds. Blackie Academic & Professional, London, U.K., 321-334.
- Souissi N, Bougateg A, Triki-Ellouz Y and Nasri M. 2007. Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. Food Technol Biochnol 45, 187-194.
- Yoon IS, Kim JS and Heu MS. 2018a. Food functionality of collagenous protein fractions recovered from fish roe by alkaline solubilization. Korean J Fish Aquat Sci 51, 351-361. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0351>.
- Yoon IS, Kim JS, Lee JS, Kwon IS and Heu MS. 2021. Optimization of reduced bitterness of alcalase-treated anchovy *Engrauris japonica* hydrolysate by aminopeptidase active fraction from common squid *Todarodes pacificus* hepatopancreas. Korean J Fish Aquat Sci 54, 724-732. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0724>.
- Yoon IS, Lee GW, Kang SI, Park SY, Kim JS and Heu MS. 2017. Food functionality and biological activity of processed waters produced during the preparation of fish roe concentrates by cook-dried process. Korean J Fish Aquat Sci 50, 506-519. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0506>.
- Yoon IS, Lee GW, Kang SI, Park SY, Lee JS, Kim JS and Heu MS. 2018b. Chemical composition and functional properties of roe concentrates from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) by cook-dried process. Food Sci Nutr 6, 1276-1286. <https://doi.org/10.1002/fsn3.676>.
- Yoon IS, Lee HJ, Kang SI, Park SY, Kang YM, Kim JS and Heu MS. 2019. Food functionality of protein isolates extracted from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) roe using alkaline solubilization and acid precipitation process. Food Sci Nutr 7, 412-424. <https://doi.org/10.1002/fsn3.793>.
- Yoon IS, Kang SI, Kim JS, Kwon IS Kim HJ and Heu MS. 2023. Food functionality and *in vitro* bioactivity of olive flounder *Paralichthys olivaceus* roe concentrates prepared by cook-dried process. Korean J Fish Aquat Sci 56, 7-20. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0007>.
- Zhuang YL, Zhao X and Li BF. 2009. Optimization of antioxidant activity by response surface methodology in hydrolysates of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) umbrella collagen. J Zhejiang Univ Sci B 10, 572-579. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0920081>.