

황다랑어(*Thunnus albacares*) 알 농축분말로부터 제조한 효소 가수분해물의 식품기능성 및 생리활성

강상인 · 윤인성 · 김현재¹ · 김연희¹ · 김은희¹ · 허민수^{1*}

경상국립대학교 해양식품공학과/해양산업연구소, ¹경상국립대학교 식품영양학과/해양산업연구소

Food Functionalities of Enzymatic Hydrolysates Prepared from Yellowfin Tuna *Thunnus albacares* Roe Concentrate and Their Bioactivities

Sang in Kang, In Seong Yoon, Hyeun Jae Kim¹, Yeon Hui Kim¹, Eun Hee Kim¹ 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

Enzymatic hydrolysates were prepared from steam-dried yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe concentrate using various proteases, after which their biological activities and functional properties were examined. Aroase AP-10 (AA), protamex (PR), alcalase and neutrase showed the highest degree of hydrolysis (19.4–20.0%). Papain (PA) and bromelain (BR) hydrolysates exhibited excellent foaming activities (221% and 187%, respectively) and maintained 63% foam stability for 60 min. In addition, PA showed the highest emulsifying activity index (52.7 m²/g), whereas those of the other enzymatic hydrolysates ranged from 1.4 to 5.7 m²/g. The 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid radical scavenging activities (IC₅₀ values) were strongest in the control (64.6 µg/mL), followed by Flavorzyme (FL, 89.2 µg/mL), Pantidase NP-2 (93.8 µg/mL) and chymotrypsin (CH, 101.9 µg/mL). Tyrosinase inhibition was notable in AA (35.2%), FL (30.0%) and PR (27.3%). Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity was high in all hydrolysates (71.4–86.5%), with bromelain exhibiting the strongest effect (86.5%). Overall, the hydrolysates produced using CH, BR and AA demonstrated superior bioactivity and functional properties. These results reveal their potential as functional food ingredients in seafood and food processing industries.

Keywords: Bioactivity, Enzymatic hydrolysates, Functionality, Steam-dried concentrate, Yellowfin tuna roe

서론

우리나라의 원양어업(288.043톤), 연근해어업(1,720톤) 및 해면양식어업(41톤)을 통해 290천톤 생산되는 다랑어류는 가다랑어(201천톤), 황다랑어(60천톤), 눈다랑어(25천톤), 참다랑어(1.4천톤), 날개다랑어(1.2천톤) 그리고 기타 다랑어류 등 태평양(273.22천톤), 대서양(1.72천톤) 그리고 인도양(14.24천톤)에서 어획되고 있다(MOF, 2024). 우리나라의 다랑어류는 주로 원형동결 냉동품(15.7천톤) 및 통조림(33.8천톤)으로 가공되고 있으며, 특히 황다랑어는 다랑어류(290천톤)의 어획량의 21%를 차지하고, 생선회용 및 통조림 가공원료 중 하나이다

(MOF, 2024). 황다랑어(*Thunnus albacares*)는 태평양, 인도양, 대서양에서 서식하는 대형어종으로 전 세계 참치어업에 있어서 대표적인 어종으로 주로 생선회 및 통조림으로 소비하고 있다(Intarasirisawat et al., 2011). 수산물의 가공공정에서 발생하는 가공부산물은 머리, 껍질, 골격, 비늘, 내장, 알 등으로 고형 부산물이 총 어류 생산량의 약 30–60%를 차지한다(Galla, 2014; Klomklao and Benjakul, 2016; Kang et al., 2024). 이러한 수산 가공부산물 중에서 어류알(fish roe)은 알과 이를 둘러싼 알집을 포함한 것으로, 어종에 따라 다양하지만 전 어체 중량의 1.5–10%를 차지하고, albumin (11%), ovoglobulin (75%) 및 collagen (13%) 등과 vitellogenin 및 vitellogenin derivatives와

*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.2025.0683>

Korean J Fish Aquat Sci 58(6), 683-696, December 2025

Received 15 September 2025; Revised 10 November 2025; Accepted 21 November 2025

저자 직위: 강상인(교수), 윤인성(대학원생), 김현재(대학생), 김연희(대학생), 김은희(대학생), 허민수(교수)

같은 기능성 단백질(Heu et al., 2006; Park et al., 2016; Kwon et al., 2022; Yoon et al., 2023) 및 필수지방산(Heu et al., 2006; Intarasirisawat et al., 2011)이 풍부한 식품소재 자원이다. 이러한 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.

최근 어류 알을 식품소재 자원으로 활용하기 위한 연구로는 가열 및 건조처리 공정(cook-dried process)을 통해 단백질 농축분말을 제조함으로써 소화성(digestibility)과 기호성(palatability) 향상, 그리고 유해 세균이나 기생충을 사멸하여 위생 안전성 및 보관안정성을 부여하고자 한 연구들이 있다(Lee et al., 2016; Yoon et al., 2018, 2023; Kwon et al., 2022; Kang et al., 2024). 한편 단백질 가수분해물은 수산 가공부산물과 저이용 어종으로부터 가수분해 공정을 통해 생산되며(Klomklao and Benjakul, 2016; Kang et al., 2024), 특히 효소적 가수분해는 보수력, 조직감, 겔화능, 용해도, 유화 및 거품 형성능을 포함한 식품 기능성을 개선한다(Intarasirisawat et al., 2012; Liu et al., 2015). 또한 효소를 이용한 어류 단백질 가수분해물은 개선된 식품 및 건강기능 특성을 갖는 peptides를 얻기 위해 반응조건을 조절하여 제조할 수 있으며, 이들 어류 단백질 가수분해물은 잠재적인 생리활성과 필수영양소를 회수하는데 효과적인 방법이기도 하다(Souissi et al., 2007; Chalamaiah et al., 2015). 이를 통해 항산화제(Thiansilakul et al., 2007; Sarmadi and Ismail, 2010; Galla et al., 2012) 및 항고혈압활성(Park, 2009; Ghassem et al., 2011; Kim et al., 2016)과 같은 다양한 생리활성을 가진 peptides를 생산하는 것이 가능하여 기능식품(nutraceuticals) 및 의약품소재로 개발 가능성이 높다.

이 연구에서는 원양어업을 통해 다량 어획되고 원형동결 및 통조림의 가공 중에 발생하는 황다랑어 알(yellowfin tuna roe, YTR)로부터 제조한 증자-건조처리 농축분말(steam-dried concentrates, SDC) (Lee et al., 2016; Park et al., 2016)에 대해 시판 proteases 가수분해물을 제조하고, 효소의 기질 특이성에 따른 식품기능 특성의 개선 및 생리활성에 대해 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

황다랑어(yellowfin tuna *T. albacares*) 알은 Dongwon F&B Co. Ltd. (Changwon, Korea)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. YTR로부터 가수분해물의 제조에 사용한 시판 proteases는 Kang et al. (2024)과 같이 serine proteases인 trypsin

(TR; porcine pancreas)과 α -chymotrypsin (CH; bovine pancreas), 그리고 cysteine proteases인 bromelain (BR; pineapple stem)과 papain (PA; papaya latex)은 Sigma-Aldrich Chemical Co., LLC. (St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. 또한 food-grade proteases인 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.)은 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, 실험에 사용한 화학시약은 특급(guaranteed reagents)을 사용하였다.

증자-건조처리 농축분말의 제조

SDC는 Lee et al. (2016)의 방법에 따라 제조하였다. 즉, 일정량(300 g)의 YTR을 티백에 담아 준비하고, 증자용기(3 L)에 시료의 6배량의 탈이온수를 가해, 수증기로 시료의 중심온도가 80°C가 되는 시점부터 20 min 증자처리 실시하고, 이어서 열풍 건조기(VS-1203P3V; Vision Scientific, Co., Ltd., Seoul, Korea)에서 건조과정(70±1°C, 15 h)을 실시하였다. 이렇게 증자-건조처리한 YTR은 식품분쇄기(SFM-555SP; Shinil Industrial Co., Ltd., Seoul Korea)로 분쇄하고, 180 mesh의 거름채로 걸러 효소 가수분해물 제조를 위한 SDC를 제조하였다.

SDC 효소가수분해물의 제조

Kang et al. (2024)에 따른 10종의 시판 protease를 이용한 SDC 가수분해물의 제조는 식품기능성 및 생리활성의 개선을 목적으로, YTR의 SDC로부터 4% (w/v) 분산용액은 상온(20±2°C)에서 120 min 동안 전 단계반응을 실시하였다. 이어서 4% SDC 분산용액(w/v)의 단백질 함량에 대한 TR과 CH의 비율은 효소농도가 0.8% (E/S, 1/125)가 되도록 첨가하여 효소반응액을 제조하였다. 또한 BR, PA, AL, NE, PR, FL 및 AA 그리고 PN은 4% 분산용액(SDC)의 단백질 함량에 대하여 이들의 최종 효소농도가 4% (w/w, E/S, 1/25)가 되도록 첨가하여 효소반응액을 각각 제조하였다. 효소반응은 진탕 항온수조(50°C)에서 150 min 동안 진행하였으며, 이어서 반응 정지는 80°C에서 20 min간 진행하였다. 이들 효소분해 반응액은 원심 분리(1,890 g, 30 min, 4°C)하고, 각각의 효소 가수분해물로서 상층액은 -20°C에서 보관하면서 이후 식품 기능성 및 생리활성 측정을 위한 시료로 사용하였다.

단백질 농도

YTR의 SDC 및 효소 가수분해물에 대한 단백질 농도는 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 표준단백질로서 bovine serum albumin을 사용하여 구한 검량선을 통해 측정하였다.

가수분해율

먼저, SDC 0.2 g을 40 mL의 1 N NaOH을 사용하여 완전 용해한 다음, 이들 용액의 단백질 농도를 Lowry et al. (1951) 방법으로 측정하고, 4% SDC 분산용액에 대한 단백질량으로 환산하여 총 단백질 함량(total protein, 2,984 mg/100 mL)을 구하였다. 마찬가지로 효소 가수분해물의 단백질 농도도 Lowry et al. (1951) 방법으로 측정하여 각 효소 가수분해물들의 단백질량(hydrolysate protein, mg/100 mL)을 구하였다. 가수분해율은 아래의 식에 따라, SDC의 총 단백질량에 대한 효소 가수분해물의 단백질량의 백분율로서 가수분해율(degree of hydrolysis, DH)을 구하였다.

$$DH (\%) = \frac{[(\text{Hydrolysate protein}) - (\text{Control protein})]}{\text{SDC total protein content}} \times 100$$

이때의 control은 효소 처리하지 않은 동일조건 반응혼합액의 단백질량을 의미하였다.

유리 및 방출된 아미노산

효소 가수분해물의 아미노산분석은 각 효소가수분해 시료용액 2.5 mL 중의 단백질 제거를 위해 0.25 mL의 6% (w/v) 5-sulfosalicylic acid dihydrate 용액을 가하여 원심분리(1,890 g, 20 min, 4°C) 하였다. 단백질을 제거한 원심분리 상층액(1.5 mL)은 구연산나트륨 완충액(pH 2.2)를 이용하여 50 mL로 정용하고, 0.20 µm syringe filter (13HP020AN, hydrophilic type; AVANTEC, Tokyo, Japan)를 사용하여 여과한 다음, lithium form 칼럼이 장착된 아미노산 분석기(model 6300; Biochrom Ltd., Cambridge, UK)로 분석하였다. 효소 가수분해에 의한 유리 및 방출된 아미노산(free and released amino acids, FRAA)의 분석 결과는 100 g의 SDC 단백질 량에 대한 개별 아미노산의 조성비(%)로 나타내었다. 또한 아미노산의 단맛(sweetness), 쓴맛(bitterness) 및 감칠맛(umami)에 따른(Chen et al., 2016) 각 가수분해물의 맛 분포에 대하여도 검토하였다.

단백질 분자량분포

효소가수분해물의 단백질 분자량 분포는 Laemmli (1970)의 방법에 따라 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 측정하였다. 먼저, 1 mL의 각 가수분해물 시료(1 mg/mL)와 0.25 mL의 SDS-PAGE 시료조제용 완충액(pH 6.8)을 4:1 (v/v) 비율로 혼합한 후, 100°C에서 3 min 동안 가열하여 전기영동용 시료를 조제하였다. 이렇게 준비한 시료(20 µg의 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 흘려 전기영동 실시하였다. 전기영동을 완료한 겔은 0.125% (w/v) coomassie brilliant blue R-250 용액에 15 min 염색하고, 이어서 25% metha-

nol 및 10% acetic acid 혼합용액에서 바탕이 투명해질 때까지 탈색하였다. 단백질의 분자량 분포는 Precision Plus Protein™ standards (2-250 K; Bio-Rad Lab., Inc.)를 사용하여 확인하였다.

거품형성능

각 효소가수분해물의 거품성(foaming capacity, FC)과 거품안정성(foam stability, FS)은 Park et al. (2016)에 따라 측정하였다. 즉, 각 10 mL의 효소가수분해물은 25 mL의 메스실린더에 옮겨 담고, 균질기(POLYTRON® PT 1200E; Kinematica AG, Luzern, Switzerland)로 12,500 rpm에서 1 min 균질화하였다. 거품이 형성된 시료는 주어진 시간(15, 30, 60 min)동안 실온(20±2°C)에서 정치하면서, 총 부피와 거품의 부피를 측정하여 아래의 식에 따라 FC와 FS를 구하였으며, control과 상호 비교 하였다.

$$FC (\%) = \frac{VT}{V_0} \times 100$$

$$FS (\%) = \frac{(F/V_t)}{(FT/VT)} \times 100$$

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

유화능 형성능

가수분해물의 유화능(emulsifying activity index, EAI)과 유화안정성(emulsion stability index, ESI)은 Park et al. (2016)의 방법에 따라 측정하였다. 각각 15 mL의 효소가수분해물과 5 mL의 식용유(soybean oil; Ottogi Co., Ltd., Seoul, Korea)는 3:1 (v/v)의 비율로 25 mL의 메스실린더에 옮겨 담고, 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 용액과 혼합하였다. 이 혼합액은 분광광도계(UV-2900; Hitachi Ltd., Kyoto, Japan)를 사용하여 파장 500 nm에서 균질화한 직후의 흡광도(A₀ min)와 10 min 경과 후의 흡광도(A₁₀ min)를 측정하여 아래의 식으로 각각 EAI (m²/g protein) 및 ESI (min)를 구하였다.

$$EAI \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \times 2.303 \times A \times DF}{1 \times \phi \times C}$$

이때, A는 파장 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.

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

여기서 ΔA 는 A_0 min에 대한 A_{10} min의 흡광도의 차이, Δt 는 10 min 의미하였다.

ABTS⁺ 라디칼 소거 활성

각 효소 가수분해물의 항산화 활성과 관련한 ABTS⁺ [2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) di-ammonium salt] 라디칼 소거활성은 Cha et al. (2020)의 방법에 따라 측정하였다. 1 mL의 가수분해물과 3 mL의 ABTS⁺ 용액을 혼합하고, 실온의 암소에서 30 min 반응시킨 후, 파장 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS⁺ 라디칼 소거활성(%)은 아래의 식으로 계산하였으며, IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)은 50%의 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 나타내는 시료의 농도로 정의하였다.

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

이때의 control은 시료용액 대신 탈이온수에 대해 측정한 흡광도를 나타내었다.

Tyrosinase 저해활성

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

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

여기서 control은 시료 대신 탈이온수를 가하여 측정한 흡광도를 의미하였다.

ACE 저해활성

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) 저해활성은 Cha et al. (2020)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 100 μL 의 가수분해물, 50 μL 의 ACE 용액 그리고 50 μL 의 0.05 M sodium borate 완충액(pH 8.3)을 혼합하고 실온에서 30 min 전 단계 반응을 실시하였다. 이어서 50 μL 의 5 mM hippuric acid (HHL) acetate salt를 함유한 0.05 M sodium borate 완충액(pH 8.3)

을 가하여 37°C의 항온수조에서 60 min 반응을 진행하였다. 여기에 250 μL of 1 N HCl을 가하여 효소반응을 정지시키고, 1.5 mL의 ethyl acetate를 가해 hippuric acid를 추출 및 원심분리 (1,890 g, 10 min, 4°C) 하였다. 1.0 mL의 상층액을 시험관에 옮겨 100°C의 heating block에서 ethyl acetate를 완전히 증발시키고, 1.0 mL의 탈 이온수로 용해하여, 파장 228 nm (UV-2900; Hitachi Ltd.)에서 흡광도를 측정하였다. ACE 저해활성(%)은 아래의 식에 따라 구하였다.

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

이때의 sample blank는 시료에 1 N HCl을 가하여 불활성화한 시료에 HHL을 첨가해 측정한 흡광도이며, control blank는 시료 대신 탈이온수와 1 N HCl을 혼합한 다음, HHL을 가하여 측정한 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 최소 유의차 검정($P < 0.05$)을 실시하였다.

결과 및 고찰

SDC 효소가수분해물의 단백질 분자량 분포

YTR로부터 제조한 SDC에 대한 시판 proteases 가수분해물의 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) 결과에 따른 단백질 분자량 분포는 Fig. 1에 나타내었다. 진공 동결건조 농축분말로서 FDC는 75–100 kDa 범위 2개, 50–75 kDa 범위 1개, 37–50 kDa 범위 1개, 25–37 kDa 범위 1개 그리고 25–37 kDa 범위에서 단백질 밴드는 아니지만 단백질 분포가 확인되었으며, SDC에서도 FDC와 유사한 단백질 분포 확인되었다. 그러나 SDC는 FDC에서는 관찰되지 않은 250 kDa에서의 단백질 분포도 확인되어, 이는 증자-건조처리 과정에서 단백질의 응고로 인한 결과라고 판단되었다. 아울러 증자-건조처리 과정에서 발생하는 가공처리수(steamed processed drip)에는 37–50 kDa에서 2개, 25–37 kDa에서 2개, 5–15 kDa에서 단백질 분포가 관찰되었다. 한편 효소 처리하지 않은 대조구(control)는 SDC로부터 유리된 가용성 단백질 분포에 대해 알아보기 위한 것으로 5–10 kDa의 단백질 분포가 확인되었다.

SDC로부터 10종 시판 protease 가수분해물의 분자량 분포는 SDC를 구성하고 있는 고분자량 단백질을 저분자의 펩타이드로 분해된 것으로 확인되었다 (Fig. 1). CH, PA 및 BR 가수분

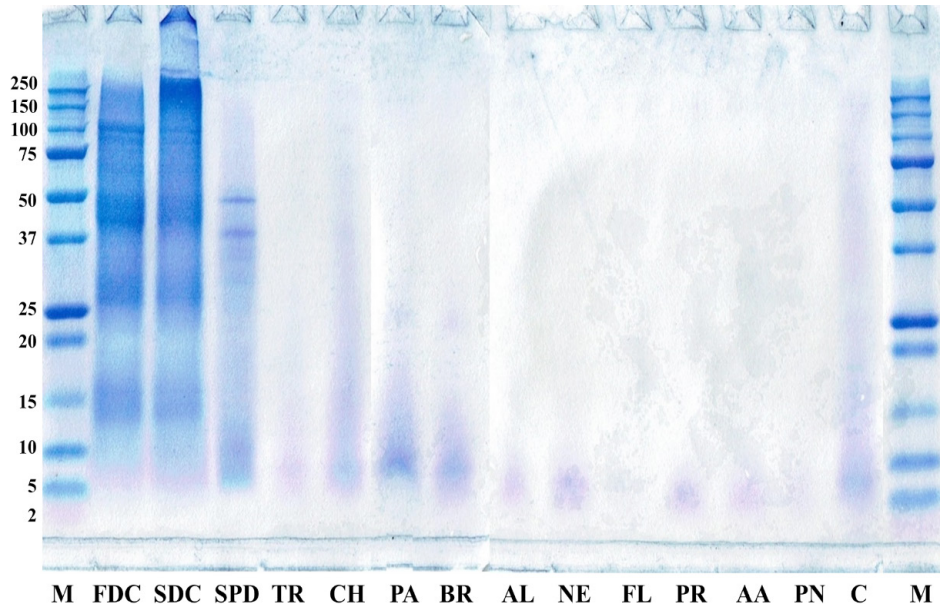


Fig. 1. SDS-PAGE pattern of commercial proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe concentrate by steamed-dried process. M, Protein maker; FDC, Freeze-dried concentrate; SDC, Steam-dried concentrate; SPD, Steamed process drip; TR, Trypsin; CH, Chymotrypsin; PA, Papain; BR, Bromelain; AL, Alcalase; NE, Neutrase; FL, Flavourzyme; PR, Protamax; AA, Aroase AP-10; PN, Pantidase NP-2; C, Control.

해물은 5–10 kDa 범위의 단백질 분포가 일부 확인되었을 뿐이었으며, 이를 제외한 효소 가수분해물은 SDC를 구성하는 단백질들이 시판 proteases에 의해 2 kDa 이하의 저분자량 펩타이드로 가수분해 되어 단백질분포가 전기영동 겔 상에서는 관찰되지 않았다. 넙치 알 농축분말의 10종 효소 가수분해물(Kang et al., 2024)의 경우에서도 이 연구의 결과와 유사한 것으로 확인되었으며, rohu roe의 pepsin 및 TR 가수분해물(Chalamaiah et al., 2013), mrigal egg 단백질 가수분해물(Chalamaiah et al., 2010), 그리고 가자미(sole) 및 오징어의 젤라틴 가수분해물(Giménez et al., 2009)의 SDS-PAGE patterns은 주로 10 kDa 이하의 저분자량 peptide만이 일부 관찰될 뿐이며, 기질 특이성에 따른 차이는 전기영동 상으로 관찰되지 않았다고 하였다. 이는 단백질의 기원과 사용한 효소에 따른 가수분해물의 전기영동 패턴에는 차이가 없으며, 이는 효소의 기질 특이성에 따른 단백질분해가 진행된다고 하더라도 사용한 전기영동 겔의 분자량 한계 이하로 저 분자화된 peptide로 인해 전기영동 상에서 확인되지 않은 것에 기인하였다(Kang et al., 2024).

가수분해율

YTR의 증자-건조처리 SDC는 기질 특이성이 다양한 10종의 시판 protease를 사용하여 제조한 효소가수분해물의 단백질량(mg/100 mL) 및 가수분해율(DH, %)을 Table 1에 나타내었다. 먼저, 4% (w/v) SDC 분산액의 총 단백질량(total protein, mg/100 mL)은 2,984 mg/100 mL으로, 효소처리 하지 않

Table 1. Degree of hydrolysis of commercial proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe concentrate by steamed-dried process

Commercial proteases	Steam-dried roe concentrate			
	Total protein (mg/100 mL)	Hydrolysate protein (mg/100 mL)	Degree of hydrolysis (%)	End pH
Control	2,984.0	162.7±1.7 ^f	0.0	5.8
Trypsin (TR)	-	528.9±14.8 ^{cd}	12.3±0.3 ^{cd}	5.7
Chymotrypsin (CH)	-	392.4±4.4 ^e	7.7±0.1 ^e	5.7
Papain (PA)	-	530.3±16.5 ^{cd}	12.3±0.4 ^{cd}	5.7
Bromelain (BR)	-	535.2±12.1 ^c	12.5±0.3 ^c	5.6
Alcalase (AL)	-	757.6±39.4 ^a	19.8±1.0 ^a	5.6
Neutrase (NE)	-	745.0±25.6 ^a	19.4±0.7 ^a	5.5
Flavourzyme (FL)	-	506.9±11.5 ^d	11.4±0.3 ^d	5.4
Protamax (PR)	-	761.5±22.4 ^a	19.9±0.6 ^a	5.4
Aroase AP-10 (AA)	-	763.2±19.7 ^a	20.0±0.5 ^a	5.3
Pantidase NP-2 (PN)	-	637.2±16.2 ^b	15.7±0.4 ^b	5.8

Degree of hydrolysis (%)=(each enzyme hydrolysate protein-control hydrolysate protein)/total protein×100. Control was the supernatant of 4% (w/v) steam-dried concentrate dispersion under the same reaction conditions without the 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.

은 control의 유리된 단백질량은 162.7 mg/100mL이었다. 이에 대해 각 효소 가수분해물의 단백질량(hydrolysate protein, mg/100 mL)은 CH (392.4 mg/100 mL)이 가장 낮은 수준으로 이때의 DH는 7.7%이었으며, TR (528.9 mg/100 mL, 12.3%)에 비하여 유의적으로 낮은 수준이었다($P < 0.05$). 또한 PA와 BR의 DH는 각각 12.3 및 12.5%이며, 4% SDC 분산용액으로부터 효소에 의해 유리된 단백질량은 각각 530.3 및 535.2 mg/100 mL로서 이들 상호간에는 유의적으로 차이가 없었다($P > 0.05$).

Food-grade protease인 AA 가수분해물(20.0%)의 DH가 가장 높은 것으로 나타났으며, 다음으로 PR (19.9%), AL (19.8%), 그리고 NE (19.4%)의 순이었으며, 이들의 단백질량은 745.0–763.2 mg/100 mL 범위이었으나, 이들 간의 유의적인 차이는 인정되지 않았다($P > 0.05$). 그러나, FL (11.4%)은 앞서의 TR, PA 및 BR에 비해 유의적으로 낮은 수준의 가수분해율을 나타내었다.

Serine protease인 TR과 CH은 각각 염기성 아미노산(Lys 및 Arg)과 방향족 아미노산(Tyr, Phe 및 Trp)의 C-말단을 절단하는 제한된 아미노산 잔기에 대한 기질 특이성을 가지고 있다. 넙치(Kwon et al., 2022), 가다랑어(Yoon et al., 2018) 그리고 황다랑어(Lee et al., 2016) 알 및 이들로부터 제조한 농축분말의 아미노산 조성에서 Lys (8.0–8.5%)과 Arg (6.0–6.7%)의 조성비가 Phe (4.1–4.6%) 그리고 Tyr (2.5–4.0%)에 비해 높아, 이들 기질 특이성이 반영되어 TR의 가수분해율이 CH에 비해 상대적으로 높은 원인일 것으로 추정되었다. 또한 시판 food-grade protease의 가수분해율이 serine 및 cysteine protease에 비해 높은 것은 동일 반응조건에서 이들에 비해 기질 특이성이 상대적으로 광범위하기 때문으로 판단되었다. 이 연구 결과와 넙치 알의 농축분말에 대한 다양한 효소 가수분해물은 가수분해율과 단백질량이 어종간의 차이를 감안하더라도 기질특이성이 반영되어 유사한 결과를 나타내었다(Kang et al., 2024).

Chalamaiah et al. (2010)은 meriga 알로부터 AL의 가수분해율(62%)이 PA (17.1%)에 비해 월등히 높으며, AL이 소수성 아미노산 잔기를 우선적으로 가수분해하는 기질 특이성을 나타낸다고 보고하였다(Klompong et al., 2007). 가다랑어 육에 대한 AL, FL, NE, PR 그리고 TR의 가수분해율은 2.43–78.33% 범위이며, TR이 가장 낮았고, 기질 특이성에 따라 다양한 가수분해율을 나타낸다고 하였다(Liu et al., 2015). Fang et al. (2012)은 flying squid의 AL, PA 및 TR의 가수분해율은 각각 16.98%, 15.61% 및 13.54%이라고 하였으며, 이와 달리 10% 이하의 가수분해율을 보인 가수분해물은 pepsin과 FL이라고 하였다. 또한 Sardinella (*Sardinella aurita*) 가공부산물에 대한 AL과 CH 가수분해물의 가수분해율은 각각 8%와 6.5% (Bougatef et al., 2010)라고 하여 이 연구의 결과와 유사하였다.

이상의 결과로부터 serine protease에 의한 DH가 다른 효소들에 비하여 낮은 것은 정제 효소(TR 및 CH)를 사용하면서 효소

와 기질비를 상대적으로 낮고, 이들효소의 기질특이성이 제한적이며, 그리고 효소별 최적반응조건이 아닌 기질(SDC) 중심으로 동일한 반응조건을 적용함으로써, 전반적으로 낮은 가수분해율을 나타낸 것으로 판단되었다(Kang et al., 2024).

효소 가수분해로 방출된 아미노산 조성

YTR의 농축분말인 SDC에 대한 10종의 시판 proteases 가수분해물과 효소처리 하지 않은 control의 FRAA 조성은 Table 2에 나타내었다. 이 표에 제시한 결과(g/100 g protein)는 효소 가수분해물에 대한 각 아미노산의 백분율(%)로 나타낸 것으로, 이는 효소 가수분해에 의한 각 아미노산의 조성의 순증가율을 알아보기 위한 것이었다. 아울러 효소 가수분해물의 단백질 함량(hydrolysate protein, HP)도 함께 제시함으로써, 각 아미노산의 조성비(%)를 곱하면, 각 아미노산 함량도 환산할 수 있도록 하였다.

먼저, SDC와 control의 총 비필수 아미노산에 대한 필수 아미노산의 비율(EAA/NEAA)은 각각 1.01 및 1.07이었고, AL (2.33), TR (2.03) 그리고 NE (1.99) 가수분해물이 2배가량 높은 수준이었다. 또한 모든 가수분해물(1.15–2.03)은 control에 비해 효소 가수분해로 인한 필수 아미노산을 증가가 두드러졌다.

효소 처리하지 않은 control의 FRAA는 1,108 mg/100 g SDC이었으며, 효소에 의한 단백질의 가수분해로 인해, 모든 효소 가수분해물의 FRAA 및 개별 아미노산 함량들은 증가하였다. 효소 가수분해물 중에서 가장 많은 FRAA 함량을 생산한 가수분해물은 FL (7,432 mg/100 g SDC)이었고, 그 다음으로 PN (6,436 mg/100 g SDC)이었으며, 다른 효소 가수분해물들(1,240–2,329 mg/100 g SDC)에 비하여 현저히 높은 수준이었다.

한편, SDC의 100 g 중의 총 단백질 함량은 74,600 mg으로, 이의 효소 가수분해물들의 HP(mg/100 g SDC)는 AA과 PR이 각각 19,080 및 19,038 mg/100 g SDC로 가장 높았으며, control (4,067 mg/100 g SDC)에 비하여 효소 가수분해에 의해 약 4.68 배가량 증가하였다. Serine protease인 TR과 CH의 HP는 각각 13,223 그리고 9,809 mg/100 g SDC이었고, cysteine protease로서 PA와 BR은 각각 13,257 그리고 14,026 mg/100 g SDC이었다. 또한 food-grade protease의 경우는 12,673–19,080 mg/100 g SDC 범위를 나타내어 가수분해로 인해 control에 비해 큰 폭으로 HP가 증가하였다.

SDC로부터 시판 protease의 HP에 대한 유리 및 방출된 아미노산함량의 비(FRAA/HP)는 FL (58.6)과 PN (40.4)이 control (27.2)에 비해 높은 것으로 나타냄으로써, SDC 단백질로부터 효소 작용으로 가용성의 polypeptide 또는 oligopeptide 뿐만 아니라 저분자량의 peptides 및 아미노산함량을 증가시켜, 고분자량의 단백질 성분들이 저분자량 peptides로 전환되었음을 시사하였다. 그러나 이외의 효소 가수분해물(10.8–13.7)들은 con-

trol보다 낮아, 이는 효소에 의한 단백질의 peptides화는 control에 비해 잘 일어나는 반면에, 이로부터 유리 및 방출되는 아미노산함량이 상대적으로 제한적이라는 것을 의미하였다. 따라서, 이러한 차이는 이 연구에 사용한 시판 proteases의 기질 특이성이 반영된 것이라 판단되었다.

Control에 대비해 순 증가율을 보인 TR의 아미노산은 Phe, His 및 Asp이었으며, CH의 경우는 Thr, Val, Met, Phe 및 Asp이었다. 이는 TR 및 CH의 기질 특이성이 각각 염기성(Lys 및 Arg) 및 방향족 아미노산(Tyr, Phe 및 Trp)의 C-말단에 한정되어 있어, 이들 아미노산 주위에 순증가율을 보인 아미노산이 상대적으로 많이 분포하고 있는 것을 의미하였다.

PA 가수분해물의 순증가율을 보인 아미노산은 Met, Phe, Asp

및 Ser이며, BR은 Met, Phe 및 Asp이었다. 식물기원의 cysteine protease인 PA 및 BR은 Val, Met, Ile, Leu, Phe, Pro, Gly 및 Ala (Table 2)과 같은 소수성 아미노산 잔기의 C-말단에 주위의 아미노산을 절단하는 비교적 넓은 기질 특이성을 가지고 있다. 따라서 순증가율을 보인 이들 아미노산이 절단 부위의 주변에 분포하고 있다는 것을 반영한 것이라 추정되었다. 미생물 기원의 food-grade protease 가수분해물들의 공통적인 특성은 Thr, Val, Met, Leu, Phe, His, Asp 그리고 Pro의 순증가율이 두드러졌으며, serine 및 cysteine protease 가수분해물에 비해 현저하게 넓은 기질 특이성을 나타내었다.

결과적으로 SDC로부터 10종의 시판 protease 가수분해물 중에서 공통적으로 순증가율을 나타낸 아미노산은 Met, Phe 및

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

Amino acids	Taste ¹	SDC ²	Control	TR	CH	PA	BR	AL	NE	FL	PR	AA	PN
Threonine	S	5.2	3.4	2.7	3.5	-	2.9	2.7	3.2	6.6	3.5	3.2	5.1
Valine ³	B	6.4	6.8	5.0	6.9	6.3	5.8	12.5	8.7	0.7	1.9	1.6	9.5
Methionine ³	B	2.8	0.7	0.7	1.6	2.3	2.0	5.7	1.9	2.6	2.5	2.5	1.4
IsoLeucine ³	B	5.4	4.1	2.7	4.0	3.4	3.0	3.9	3.5	6.2	4.1	4.3	2.4
Leucine ³	B	8.5	8.3	5.3	7.8	6.7	5.9	7.0	8.7	13.1	11.9	10.7	6.3
Phenylalanine ³	B	4.6	5.7	28.9	11.6	15.8	25.7	15.9	19.2	7.4	15.9	18.9	10.5
Histidine	B	3.2	5.7	7.0	5.1	5.7	5.5	9.7	8.0	4.3	7.2	10.5	5.5
Lysine	S	8.5	9.5	8.7	8.5	7.9	8.5	8.3	8.3	7.4	7.0	8.3	8.8
Arginine	B	6.5	7.7	6.1	6.8	5.3	6.8	4.3	5.1	8.6	5.3	4.8	8.8
EAA (%)	-	51.1	51.7	67.0	55.7	53.5	66.1	70.0	66.6	56.8	59.4	64.8	58.3
Aspartic acid	U	9.2	3.1	3.3	4.5	3.7	3.2	3.2	3.1	3.5	3.6	3.4	4.7
Serine	S	5.4	8.0	4.7	6.8	12.7	5.3	6.0	4.3	10.6	5.2	4.4	11.2
Glutamic acid	U	13.2	17.9	11.4	15.9	12.0	11.2	7.7	9.7	9.0	13.1	11.5	9.3
Proline ³	S	5.8	-	-	-	-	-	0.4	4.0	3.0	5.2	4.0	0.0
Glycine ³	S	5.1	4.0	2.8	3.8	6.4	2.9	2.4	2.9	3.5	3.5	3.3	3.2
Alanine ³	S	6.4	11.4	7.3	10.3	8.7	7.5	6.9	5.9	7.4	7.1	6.8	7.4
Cysteine	-	0.8	-	-	-	-	-	-	0.2	0.4	0.8	0.4	-
Tyrosine	B	3.0	3.8	3.5	3.1	3.1	3.8	3.4	3.4	5.8	2.1	1.4	6.1
NEAA (%)	-	48.9	48.3	33.0	44.3	46.5	33.9	30.0	33.4	43.2	40.6	35.2	41.7
EAA/NEAA	-	1.04	1.07	2.03	1.26	1.15	1.95	2.33	1.99	1.32	1.46	1.84	1.40
FRAA (mg/100 g SDC)	-	-	1,108	1,735	1,240	1,818	1,922	2,209	2,335	7,432	2,049	2,329	6,436
HP (mg/100 g SDC)	-	-	4,067	13,223	9,809	13,257	14,026	18,939	18,624	12,673	19,038	19,080	15,930
FRAA/ HP (%)	-	-	27.2	13.1	12.6	13.7	13.7	11.7	12.5	58.6	10.8	12.2	40.4
HAA (%)	-	45.0	40.9	52.6	45.9	49.6	52.8	54.7	54.8	43.8	52.1	52.1	40.6

¹Taste were obtained by citing the taste classification of amino acids (Chen et al., 2016). U, Umami; S, Sweetness; B, Bitterness. ²Quoted from Lee et al. (2016). ³Hydrophobic amino acid (HAA). Control, The supernatant of 4% (w/v) steam-dried concentrate (SDC) 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 acid; HP, Total hydrolysate protein content; -, Not detected under this analytical condition.

Asp이었으며, 광범위한 기질 특이성을 나타낸 시판 protease는 FL, PR 및 PN이었다. 시판 protease 처리에 따른 필수 아미노산 함량이 control에 비해 증가하여 단백질 영양가를 강화하는 것으로 확인되었다. Kang et al. (2024)은 넙치 알 농축분말에 대한 효소 가수분해물들이 공통적으로 순증가율을 보인 아미노산은 Thr, Phe, His 및 Pro이었으며, PN, FL 그리고 NE 가수분해물이 가장 넓은 기질 특이성을 나타낸다고 하여, 이 연구의 결과와 다소 차이가 있었다. 이는 기질인 넙치알과 YTR의 아미노산 조성의 차이가 반영된 결과로 넙치알과 YTR에 대한 시판 proteases의 기질 특이성 측면에서는 유사하였다.

효소 가수분해물은 기질로서 초기 단백질 공급원, 사용된 효소 및 적용한 가공조건으로 인해, 기질 특이성에 따라 유리 또는 방출된 peptide는 생리활성에 있어서 서로 다른 양상을 나타내게 된다(Ishak and Sarbon, 2017). 비극성 지방족 그룹을 갖는 소수성 아미노산인 Val, Trp, Tyr, Leu, Ile, His 및 Pro 등은 다중 불포화 지방산(PUFA)과 반응하며, 고지질함유 식품에서 라디칼 소거활성에 영향을 미치며(Zhang et al., 2012), Pro, Tyr, Leu, Ala, Lys 및 Met은 항산화 peptide의 항산화 활성에 미친다고 보고한 바 있다(Wiriyaphan et al., 2012). 방향족 아미노산 Phe, Trp 및 Tyr은 라디칼 소거에 있어 안정한 반응성 산소 종(ROS)을 형성하기 위해 양성자를 전자-결핍 라디칼(electron-deficient radicals)에 제공한다고 하였다(Sarmadi and Ismail, 2010).

아울러 많은 연구에서 강력한 ACE 저해활성을 갖는 peptide에는 C- 말단에 Trp, Phe, Tyr 또는 Pro 아미노산을 포함하고, N- 말단에 Val을 포함하는 극성 및 소수성 아미노산을 함유하는 것으로 보고되고 있으며(Ghassem et al., 2011), Mahmoodani et al. (2014)은 peptide의 C- 말단에 Tyr, Phe, Trp, Ala, Gly 및

Pro의 존재는 ACE 억제 활성에 기여한다고 하였다. 따라서, 기질 특이성에 따른 효소 가수분해물의 아미노산 조성의 변화와 차이는 식품 기능성, 항산화성 및 생리활성 등에 다양한 영향을 미칠 것으로 예상되었다.

가수분해물의 맛과 관련한 아미노산의 분포

Table 2의 FRAA로부터 가수분해물의 맛, 용해도, 거품 및 유화 형성능에 영향을 주는 소수성 아미노산 조성(hydrophobic amino acid, HAA)과 Chen et al. (2016)이 제시한 개별 아미노산의 맛(단맛, 쓴맛, 감칠맛)에 따른 FRAA의 조성(%) 및 함량(mg/100g SDC)은 Table 3에 나타내었다. 먼저 모든 효소 가수분해물의 HAA 조성비(%)는 PN (40.6%)을 제외하고 control (40.9%)에 비하여 43.8–54.8% 범위로 증가하였으며, 이들 중에는 AL (54.7%) 및 NE (54.8%)가 소수성 아미노산 조성의 증가가 두드러졌다. 또한 효소 처리하지 않은 control의 HAA 함량은 453 mg/100 g SDC이며, 모든 가수분해물들의 HAA (567–3,257 mg/100 g SDC)는 1.25–7.18배가량 가수분해로 인해 증가하였다.

한편, Chen et al. (2016)이 분류한 단맛, 쓴맛 그리고 감칠맛 아미노산 맛에 대한 조성비(%)는 효소의 기질 특이성에 따라 단맛은 control (36.3%)에 비해 26.2–38.4%범위이었고, 쓴맛은 control (42.7%)에서 46.7–62.5% 범위로 증가하였으나, 감칠맛은 control (21.0%)에서 10.9–20.4%범위로 감소한 것으로 나타났다. 또한 아미노산의 맛에 따른 함량(mg/100 g SDC)은 조성비의 변화와 상관없이 가수분해로 인해 그 함량은 증가하였다. 먼저 단맛의 경우, control (36.3%)을 포함한 PA (35.7%), FL (38.4%) 그리고 PN (35.7%)은 가수분해에 의해서도 단맛 아미노산의 조성비는 유지되었으나, 쓴맛의 경우는 control

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

Hydrolysate	FRAA (mg/100 g SDC)	Composition (%)				Content (mg/100 g SDC)			
		HAA	S ¹	B ¹	U ¹	HAA	S ¹	B ¹	U ¹
Control	1,108.0	40.9	36.3	42.7	21.0	453.2	402.0	472.9	233.1
TR	1,735.1	52.6	26.2	59.1	14.7	911.8	454.9	1,024.9	255.4
CH	1,239.9	45.9	32.9	46.7	20.4	568.6	407.8	579.5	252.6
PA	1,817.8	49.6	35.7	48.6	15.7	902.1	648.7	884.2	284.9
BR	1,922.0	52.8	27.0	58.6	14.4	1,015.6	519.4	1,125.5	277.1
AL	2,208.7	54.7	26.6	62.5	10.9	1,208.7	587.6	1,380.7	240.4
NE	2,335.4	54.8	28.6	58.4	12.7	1,280.7	668.0	1,365.0	297.1
FL	7,431.5	43.8	38.4	48.6	12.6	3,256.6	2,853.6	3,614.2	934.2
PR	2,049.0	52.1	31.7	50.9	16.7	1,067.9	648.9	1,042.3	341.3
AA	2,329.4	52.1	30.1	54.6	14.9	1,213.7	701.1	1,272.4	346.2
PN	6,435.7	40.6	35.7	50.4	13.9	2,614.1	2,294.8	3,245.3	895.6

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.

(42.7%)에 비해 모든 효소 가수분해물이 조성비 및 그 함량이 증가하여, AL (62.5%), TR (59.1%), BR (58.6%), 그리고 NE (58.4%)가 가수분해로 인한 쓴맛의 증가가 두드러졌다. 한편 효소 가수분해물의 감칠맛 함량은 FL (934 mg/100 g) 및 PN (896 mg/100 g)이 다른 가수분해물(240–346 mg/100 g)에 비해 3배 이상 많은 감칠맛 아미노산들이 분포함으로써 가수분해물의 감칠맛의 향상에 도움이 될 것으로 판단되었다.

이 연구결과에서 시판 protease 가수분해물들의 아미노산 맛의 균형 측면에서는 상대적으로 CH, FL 및 PN이 우수하였으며, 쓴맛이 강한 것은 TR, BR, AL 그리고 NE 가수분해물이었다. Kim et al. (2014)은 casein에 대해 그리고 Yoon et al. (2021)은 멸치에 대해 TR, AL, NE 및 PR의 가수분해물이 쓴맛이 강하다고 보고한 바 있다. 따라서 가수분해물의 제조에 있어 맛을 고려한다면 TR, BR, AL 그리고 NE의 사용에 유의해야 할 것으로 판단되었다.

거품 형성능

YTR로부터 제조한 SDC에 대한 시판 protease 가수분해물들의 식품 기능성으로서 FC 및 FS에 대하여 Table 4에 나타내었다. 먼저, 효소 처리하지 않은 control의 FC는 110.4%이었으며, 이때의 FS는 거품형성 직후 감소하여 15 min까지 약 44.5%의 거품이 유지되었다. 모든 가수분해물의 FC (109–221%)는 control과 유사하거나 우수한 FC를 보여 가수분해에 따른 개

선효과가 인정되었다. serine proteases인 TR과 CH의 FC는 각각 176.7 및 165.5%이었으며, 이들의 FS는 거품 형성 직후, 15 min까지 17% 정도의 거품만이 유지되었다. cysteine protease인 PA 및 BR의 경우, FC는 각각 221.2 및 187.1%로 가장 강한 거품 형성능을 나타내었으며, FS에서도 60 min까지 60% 정도의 거품이 유지되었다. food-grade proteases로서 NE의 FC 및 FS는 173%와 41% (30 min)의 FS이 유지되었다. 한편 AL, 그리고 FL 가수분해물은 FC (127 및 118%)와 30 min이내의 FS (33 및 52%)가 관찰되었으나, PR, AA 및 PN은 거품형성 직후 FS가 거의 관찰되지 않았다. 이상의 결과로부터 YTR의 SDC 가수분해물 중에서 PR 그리고 AA를 제외한 모든 가수분해물의 FC와 거품 안정성이 효소 처리하지 않은 control에 비해, 개선되었음을 확인할 수 있었다.

명태, 광어 및 가다랑어(Yoon et al., 2020) 및 황다랑어(Park et al., 2016)알로부터 제조한 동결건조 농축분말의 FC이 128–157% 범위, 황다랑어(Park et al., 2016) 및 가다랑어(Yoon et al., 2018) 가열-건조처리 농축분말은 108–112% 범위라고 하여, 이 연구의 시판 protease 가수분해물들이 효소처리에 따른 거품 형성능을 개선하는 것으로 확인되었다. 넙치알 농축분말의 가수분해물은 FC이 TR, CH, BR 및 NE가 control에 비해 우수하였으며, BR 가수분해물만이 거품 안정성이 관찰되었을 뿐, control을 포함하여 다른 가수분해물에서는 거의 관찰되지 않았다고 하였다(Kang et al., 2024).

Intarasirisawat et al. (2012)은 탈지 가다랑어알의 AL 가수분해물은 200%의 FC를 나타낸다고 하였으며, Pacheco-Aguilar et al. (2008)은 Pacific whiting *Merluccius productus* 육으로부터 제조한 AL, TR 및 pepsin 가수분해물은 pH 4, 7 및 10에서의 가수분해율, 용해도에 따라 각기 FC이 다르며, 효소처리로 인해 FC이 개선된다고 하였다. 이는 가수분해물 중의 peptide들이 효소들의 기질특이성에 따른 peptide의 조성, 크기, 순 전하(net charge) 변화로 인한 차이에 기인하기 때문이었다. 또한 가수분해율이 높은 어류 단백질 가수분해물의 FC이 낮은 것은 저분자량의 peptide로 인해 기포 주위에 안정한 거품 막의 생성을 방해하고, 과도한 가수분해로 친수성 peptide의 증가도 그 이유로서, 가수분해 정도 및 pH의 증가에 따라 거품 형성능은 감소하는 경향을 나타낸다(Souissi et al., 2007).

유화 형성능

Table 5는 YTR의 SDC로부터 제조한 시판 proteases 가수분해물의 식품 기능성으로서 EAI 그리고 ESI에 대해 나타낸 것이다. 먼저, 효소 처리하지 않은 control의 EAI는 12.4 m²/g protein으로 이때의 ESI는 16.7 min이었다. control에 비하여 유사하거나 우수한 EAI를 보인 가수분해물들은 cysteine proteases인 PA (52.7 m²/g protein) 그리고 BR (12.9 m²/g protein)이었으며, 가수분해에 의한 개선효과가 인정되었다. 그러나 serine proteases인 TR과 CH의 EAI (5.7 및 5.6 m²/g protein)는 food-

Table 4. Foaming capacity (FC) and foam stability (FS) of commercial proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe concentrate by steamed-dried process

Enzyme hydrolysates	FC (%)	FS (%) 15 min	FS (%) 30 min	FS (%) 60 min
Control	110.4±1.0 ^h	44.5±2.3	-	-
TR	176.7±0.0 ^c	17.7±0.5	9.4±0.3	5.8±0.1
CH	165.4±1.3 ^d	17.4±1.7	13.3±1.2	3.4±0.3
PA	221.2±1.2 ^a	70.9±2.1	68.6±2.3	60.6±2.7
BR	187.1±0.0 ^b	72.0±1.1	66.3±1.3	62.7±1.1
AL	127.2±1.9 ^f	64.9±2.0	33.2±1.1	32.4±0.4
NE	173.6±4.3 ^c	60.3±1.1	41.1±5.7	-
FL	118.5±5.9 ^g	67.8±4.3	52.4±4.5	-
PR	109.8±1.5 ^h	-	-	-
AA	145.5±0.0 ^e	-	-	-
PN	124.7±0.0 ^f	67.4±4.2	-	-

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.

grade protease 가수분해물들($1.4\text{--}2.7\text{ m}^2/\text{g protein}$)에 비해 유의하게 우수하였으나($P<0.05$), control에 비해 낮아 효소처리에 따른 개선효과가 인정되지 않았다.

한편, 3종의 진공 동결건조 어류알 농축분말(Yoon et al., 2020)의 EAI는 $10.0\text{--}20.2\text{ m}^2/\text{g protein}$ 범위, 황다랑어(Park et al., 2016)와 가다랑어(Yoon et al., 2018) 알 가열-건조처리 농축물은 $2.3\text{--}3.7\text{ m}^2/\text{g protein}$ 범위라고 하여, 이 연구의 시판 proteases 가수분해물들에 비해 유사하거나 낮은 유화 형성능을 보여, 가수분해로 인해 전반적으로 유화 형성능은 증가한 것으로 확인되었다.

Kang et al. (2024)은 넙치알 농축분말에 대한 10종 가수분해물들 중에서 TR, CH, PA 및 BR 가수분해물의 유화 형성능이 control에 비해 유사하거나 우수하여 가수분해에 따른 효과가 있다고 하였으며, 가수분해율이 높은 가수분해물이 상대적으로 낮은 유화 형성능을 보인다고 하였다. Chalamaiiah et al. (2015)은 잉어알의 pepsin, TR 및 AL 가수분해물은 효소의 기질특이성이 반영되어, 서로 다른 아미노산 조성을 나타냄으로써, 이러한 peptide 조성의 차이는 순 전하의 차이를 유도하여 EAI와 ESI에 영향을 줄 수 있다고 하였으며, 가수분해율이 높으면 유화 형성능이 상실될 수도 있다고 하였다(Kristins-son and Rasco, 2000; Gbogouri et al., 2004). 또한 Naqash and Nazeer (2013)은 pink perch의 TR 가수분해물이 다른 효소 가수분해물에 대비해 유화 특성이 우수하다고 하여, 이는 효소 기

질특이성에 따른 영향에 기인한다고 하였다.

이상의 결과와 연구보고를 통해, PA 및 BR이 유화 형성능에 있어 개선효과가 인정되었으며, 어종, 가공처리 방법 및 조건에 따라 다양한 유화 형성능을 나타내었다. 특히 효소처리 가수분해물의 경우, 가수분해율이 높을수록 유화 형성능이 감소하는 경향을 나타내어, 식품 기능성을 고려한 효소 처리는 과도한 가수분해가 일어나지 않는 것이 유화 형성능의 개선에 고려되어야 할 것으로 판단되었다.

항산화 및 항고혈압 활성

Table 6은 YTR의 SDC로부터 제조한 시판 proteases 가수분해물들의 항산화 활성으로 ABTS⁺ radical 소거활성 및 tyrosinase 저해활성 그리고 항고혈압 활성으로 ACE 저해활성에 대한 결과를 나타낸 것이다. 먼저, ABTS⁺ radical 소거활성(IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)은 효소 처리하지 않은 control이 $64.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 이었으며, 이때의 단백질 농도는 $162.7\text{ mg}/100\text{ mL}$ (Table 1)이었다. 모든 효소 가수분해물의 소거활성은 $89.2\text{--}140.9\text{ }\mu\text{g/mL}$ 범위로서 control에 비해 낮아서 겉보기 소거활성은 개선되지 않은 것으로 나타났다. 그러나 효소에 의한 가수분해로 control에 대비해 2.4–4.7배 증가한 가수분해물의 단백질 농도($392\text{--}763\text{ mg}/100\text{ mL}$)를 고려한다면(Table 1), 실제 모든 가수분해물의 ABTS⁺ radical 소거활성은 가수분해로 인해 개선되었다고 판

Table 5. Emulsifying activity index (EAI), emulsion stability index (ESI) of commercial proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe concentrate by steamed-dried process

Enzyme hydrolysates	EAI (m^2/g)	ESI (min)
Control	12.4 ± 1.6^b	16.7 ± 0.9
TR	5.7 ± 0.3^c	23.6 ± 2.3
CH	5.6 ± 0.3^c	29.6 ± 3.4
PA	52.7 ± 0.7^a	74.6 ± 4.5
BR	12.9 ± 0.7^b	13.7 ± 0.4
AL	1.8 ± 0.2^{de}	22.3 ± 1.1
NE	2.5 ± 0.1^{de}	18.7 ± 0.9
FL	2.7 ± 0.4^d	15.0 ± 0.2
PR	1.4 ± 0.2^e	16.4 ± 0.2
AA	1.7 ± 0.2^{de}	18.2 ± 0.6
PN	2.0 ± 0.2^{de}	23.3 ± 1.1

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 \pm 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 6. Anti-oxidative and anti-hypertensive activities of commercial proteases hydrolysates prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacares* roe concentrate by steamed-dried process

Enzyme hydrolysates	ABTS ⁺ (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)	Tyrosinase inhibition (%)	ACE inhibition (%)
Control	64.6 ± 0.5^a	0.9 ± 1.7^h	58.4 ± 2.7^d
TR	125.1 ± 0.5^j	8.5 ± 2.0^{fg}	84.1 ± 2.2^a
CH	101.9 ± 0.2^d	12.0 ± 1.9^{cde}	73.8 ± 0.9^c
PA	140.9 ± 0.2^i	13.8 ± 1.9^{cd}	35.5 ± 1.8^e
BR	118.7 ± 0.6^h	14.6 ± 1.8^c	86.5 ± 0.9^a
AL	108.3 ± 0.5^f	6.8 ± 2.0^g	71.4 ± 1.2^c
NE	111.5 ± 0.6^g	9.4 ± 2.0^{efg}	74.8 ± 1.2^c
FL	89.2 ± 0.5^b	30.0 ± 1.5^b	54.6 ± 1.5^d
PR	102.0 ± 0.4^d	27.3 ± 1.6^b	76.5 ± 1.0^{bc}
AA	103.2 ± 0.4^e	35.2 ± 1.4^a	82.3 ± 1.9^{ab}
PN	93.8 ± 0.6^c	10.7 ± 1.9^{def}	82.9 ± 2.4^{ab}

IC_{50} , The half maximal inhibitory concentration; 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 \pm 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.

단되었다.

효소 가수분해물 중에서는 FL이 89.2 µg/mL으로 가장 우수하였으며, 다음으로는 PN (93.8 µg/mL)이었다. 그 외의 다른 효소 가수분해물들은 102–141 µg/mL 범위로서, TR (125 µg/mL)과 PA (141 µg/mL)이 다른 가수분해물에 비해 유의적으로 낮은 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 나타내었다.

Yoon et al. (2023)은 넙치 알의 가열-건조처리 농축분말의 ABTS⁺ 라디칼 소거활성(IC₅₀)은 60.4 µg/mL이라고 하였으며, 명태, 넙치, 가다랑어 및 YTR로부터 제조한 진공 동결건조 농축분말의 ABTS⁺ 라디칼 소거활성(IC₅₀)은 130–180 µg/mL 범위로서, 어중에 따른 유의적인 차이를 있으며(P<0.05), 이들 중에서 넙치 알의 진공 동결건조 농축분말이 가장 강한 소거활성을 나타내었다고 하였다(Yoon et al., 2020). 한편 Kang et al. (2024)은 넙치알 농축분말로부터 제조한 효소 가수분해물들의 ABTS⁺ 라디칼 소거활성(IC₅₀)이 68.1–91.6 µg/mL로서, 이 연구의 결과에 대비해 유사하거나 다소 높은 소거활성을 보인 것으로 확인되었다.

Choonpicham et al. (2015)은 틸라피아 껍질에 대한 효소 가수분해물의 ABTS⁺ 소거활성은 FL 및 TR 가수분해물에서 가장 우수하였지만 PA와 Neutrase는 상대적으로 소거활성이 낮았고, Chalamaiha et al. (2013)은 rohu roe의 TR 및 pepsin 가수분해물이 우수한 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 나타내어, 서로 다른 농도에서 TR 가수분해물이 32–91%, 그리고 pepsin은 37–80%의 라디칼 소거활성을 나타낸다고 하였다. Alemán et al. (2011a, 2011b)는 오징어와 참치 껍질에 대한 가수분해물의 항산화 활성은 AL, collagenase, TR 및 pepsin의 경우 가수분해율의 증가에 따라 ABTS⁺ 소거활성이 감소하는 경향이라고 하였으며, ABTS⁺ 라디칼을 소거능력은 효소의 종류, 가수분해율, 용해도, peptides 종류 및 효소에 의해 유리 또는 방출되는 아미노산의 구성과 같은 여러 요인에 따라 달라진다고 하였다(Phanturat et al., 2010).

YTR의 SDC로부터 제조한 시판 protease 가수분해물의 tyrosinase 저해활성(Table 6)은 먼저 효소 처리하지 않은 control (0.9%)을 제외한 모든 가수분해물은 6.8–35.2%범위의 저해활성을 나타내어 미백효과가 일부 확인되었다. 이들 중에서 25% 이상의 우수한 tyrosinase 저해활성을 보인 가수분해물은 AA (35.2%), FL (30.0%) 그리고 PR (27.3%)로서 효소 가수분해를 통해 개선된 것으로 판단되었다. Yoon et al. (2023)은 넙치 알의 농축분말에는 tyrosinase 저해활성이 나타나지 않았으나, 이의 효소 가수분해물 중 AA, FL 및 PR 가수분해물에서 11–18%의 저해활성을 나타내어 효소 가수분해로 인한 일부 미백효과가 있을 것으로 보고하여(Kang et al., 2024), 이 연구와 일치하는 결과를 나타내었다. 황다랑어(Yoon et al., 2019) 및 가다랑어 알(Cha et al., 2020)로부터 회수한 분리 단백질의 tyrosinase 저해활성은 각각 14.0% 및 13.5%라고 하여, 다소의 미백효과가 기대된다고 하였으며, Zhuang et al. (2009)은 해파리로부터

회수한 콜라겐에 대한 TR 가수분해물의 tyrosinase 저해활성은 단백질농도가 5 mg/mL에서 50%의 저해활성을 나타내 강한 항산화활성과 Cu²⁺-chelating 활성을 보인다고 하여, 이 연구의 결과에 비해 상대적으로 우수한 항산화 활성을 나타내었다. 따라서 항산화와 관련한 생리활성으로서 tyrosinase 저해활성으로 살펴본 결과, YTR 농축분말에 대하여 FL, PR 및 AA의 식품급 효소를 이용한 가수분해물을 제조한다면 일부 미백효과를 기대할 수 있을 것으로 판단되었다.

YTR의 SDC로부터 제조한 시판 proteases 가수분해물들의 angiotensin converting enzyme (ACE) 저해활성(Table 6)은 control (58.4%)을 포함하여 모든 효소 가수분해물의 ACE 저해활성은 35.5–86.5%범위의 저해활성을 나타내었으며, control보다 약한 저해활성을 나타낸 효소 가수분해물들은 PA (35.5%) 및 FL (54.6%)이었으며, 나머지 효소 가수분해물들은 70% 이상의 강한 저해활성을 나타내었다. 특히 TR 및 CH는 가수분해율(Table 1)이 낮음에도 불구하고 강한 저해활성을 나타내어, 이들 효소의 기질 특이성(염기성 및 방향족 아미노산의 C-말단을 분해)에 따른 영향이라고 추정되었다. 아울러 가수분해율이 20% 내외의 AL, NE, PR 그리고 AA 가수분해물들이 ACE 저해활성(71.1–82.3)에서도 높은 경향을 나타내었다. 따라서 SDC에 대한 효소처리 가수분해물은 serine protease에 의한 기질 특이성과 더불어 food-grade proteases에 의한 가수분해율이 높을수록 ACE 저해활성이 강해지는 경향이 있으며, 이를 통해 항 고혈압활성을 기대할 수 있었다. Yoon et al. (2020)은 진공 동결건조 어류알 농축물의 ACE 저해활성(IC₅₀, mg protein/mL)은 황다랑어(0.92 mg/mL)가 다른 어중에 비해 유의적으로 강한 저해활성을 나타낸다고 하였으며, 황다랑어(Yoon et al., 2019) 및 가다랑어 알 분리 단백질(Cha et al., 2020)의 ACE 저해활성(%)은 각각 35.7% 및 44.0%의 저해활성을 나타내어, 이 연구의 SDC의 control보다 저해활성이 유사하거나 다소 약한 것으로 확인되었다. Kang et al. (2024)은 넙치 알의 농축분말에 대한 시판 proteases 가수분해물들은 PA (64.6%)와 FL (77.6%)을 제외한 다른 가수분해물이 control (80.9%)과 대비해 CH, PR, AA 및 AL의 ACE 저해활성(80.4–90.7%)이 가수분해로 인해 개선되었다고 하였으며, 이 연구의 결과와 유사한 결과를 나타내어 효소의 기질 특이성이 반영된 결과라 판단되었다.

또한, 굴의 6종 proteases 가수분해물의 경우, 1.49–16.31 mg/mL범위로서, 이들 중에서 PR, AL 그리고 TR 순으로 저해활성이 가장 우수하다고 하였고(Chung et al., 2006), 붉은 대게 자숙수(Kang et al., 2007)의 AL, PR 및 NE 가수분해물은 60–66% 범위, 참치 자숙액(Oh et al., 2007)은 46–57%범위의 저해활성을 나타내었다. 새우 가공부산물에 대한 효소 가수분해물의 ACE 저해활성(Heu et al., 2007; Kim et al., 2016)은 AL 및 PR 가수분해물이 상대적으로 우수한 ACE 저해활성을 보인다고 하였다. 또한 수산 가공부산물의 단백질 자원인 skate 껍

질 gelatin (Ngo et al., 2014), yellow sole 프레임(Jung et al., 2006), 그리고 가다랑어 알(Intarasirisawat et al., 2013)의 효소 가수분해물은 35–86%의 ACE 저해활성을 나타낸다고 보고하여, 이 연구의 결과가 상대적으로 우수한 것으로 확인되었다.

이상의 결과를 통해 YTR로부터 증자-건조처리로 제조한 SDC의 10종 가수분해물들은 동일한 효소반응 조건에서 가수분해율은 AL, NE, PR 및 AA이 상대적으로 우수하였고, 식품 기능성은 TR, CH, PA 및 BR이, 항산화활성은 CH, FL PR 및 PN에서, 그리고 항 고혈압활성은 TR, BR, AA 및 PN이 우수하였다. 아울러 FL, PR 및 AA 가수분해물들은 *in vitro* 미백효과 (30% 내외)가 일부 확인됨으로써, 자외선 protection 화장품 소재로서 이용될 수 있으리라 기대되었다.

전반적으로 식품 기능성 및 생리활성은 TR, BR, PN 및 PR 가수분해물이 우수하였다.

References

- Alemán A, Giménez B, Montero P and Gómez-Guillén MC. 2011a. Antioxidant activity of several marine skin gelatins. *LWT Food Sci Technol* 44, 407-413. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.003>.
- Alemán A, Pérez-Santín E, Bordenave-Juchereau S, Arnaudín I, Gómez-Guillén MC and Montero P. 2011b. Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity. *Food Res Int* 44, 1044-1051. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.010>.
- 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. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1470>.
- 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. 2013. Chemical composition, molecular mass distribution and antioxidant capacity of rohu (*Labeo rohita*) roe (egg) protein hydrolysates prepared by gastrointestinal proteases. *Food Res Int* 52, 221-229. <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. <https://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 pollack roe products in terms of mechanical and biochemical properties. *Food Sci Technol Res* 22, 337-347. <https://doi.org/10.3136/fstr.22.337>.
- Choonpicharn S, Jaturasitha S, Rakariyatham N, Suree N and Niamsup H. 2015. Antioxidant and antihypertensive activity of gelatin hydrolysate from Nile tilapia skin. *J Food Sci Technol* 52, 3134-3139. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1581-6>.
- Chung IK, Kim HS, Kang KT, Choi YJ, Choi JD, Kim JS and Heu MS. 2006. Preparation and functional properties of enzymatic oyster hydrolysates. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35, 919-925. <http://doi.org/10.3746/jkfn.2006.35.7.919>.
- 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>.
- Galla NR, Pamidighantam PR, Akula S and Karakala B. 2012. Functional properties and *in vitro* antioxidant activity of roe protein hydrolysates of *Channa striatus* and *Labeo rohita*. *Food Chem* 135, 1479-1484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.098>.
- Galla NR. 2014. Physico-chemical, functional and antioxidant properties of roe protein concentrates from *Cyprinus carpio* and *Epinephelus tauvina*. *J Food Pharm Sci* 2, 15-22.
- 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>.
- 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, Kang KT, Kim HS, Yeum DM, Lee TG, Park TB and Kim JS. 2007. Preparation and characteristics of functional sauce from shrimp byproducts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36, 209-215.
- 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, 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>.
- Ishak NH and Sarbon NM. 2017. A review of protein hydrolysates and bioactive peptides deriving from wastes generated by fish processing. Food Bioprocess Technol 11, 2-16. <http://doi.org/10.1007/s11947-017-1940-1>.
- Jung W, Mendis E, Je J, Park P, Son BW, Kim HC, Choi YK and Kim S. 2006. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. Food Chem 94, 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.048>.
- Kang KT, Heu MS and Kim JS. 2007. Improvement on the quality and functionality of red tanner crab cooking drip using commercial enzymes. J Korean Soc Food Sci Nutr 36, 1022-1030. <http://doi.org/10.3746/jkfn.2007.36.8.1022>.
- Kang SI, Yoon IS, Kim MG, Lee JS and Heu MS. 2024. 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>.
- 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 Aquatic Sci 19, 29. <https://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. <http://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 HJ, Park SH, Yoon IS, Lee GW, Kim YJ, Kim JS and Heu MS. 2016. Chemical composition of protein concentrate prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacores* roe by cook-dried process. Fish Aquat Sci 19, 12. <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.
- 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).
- Mahmoodani F, Ghassem M, Babji AS, Yusop SM and Khosrokhavar R. 2014. ACE inhibitory activity of pangasius catfish (*Pangasius sutchi*) skin and bone gelatin hydrolysate. J Food Sci Technol 51, 1847-1856. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0742-8>.
- 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.
- Naqash SY and Nazeer RA. 2013. Antioxidant and functional properties of protein hydrolysates from pink perch (*Nemipterus japonicus*) muscle. J Food Sci Technol 50, 972-978. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0416-y>.
- Ngo DH, Ryu B and Kim SK. 2014. Active peptides from skate (*Okamejei kenojei*) skin gelatin diminish angiotensin-I converting enzyme activity and intracellular free radical-mediated oxidation. Food Chem 143, 246-255. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.067>.
- Oh HS, Kim JS, Kim HS, Jee SJ, Lee JH, Chung IK, Kang KT and Heu MS. 2007. Improvement on the quality and functionality of skipjack tuna cooking drip using commercial enzymes. J Korean Soc Food Sci Nutr 36, 881-888. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2007.36.7.881>.
- Pacheco-Aguilar R, Mazorra-Manzano MA and Ramírez-Suárez JC. 2008. Functional properties of fish protein hydro-

- lysates 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>.
- Park YB. 2009. Characteristics of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from Aroase AP10 hydrolysate of octopus. J Korean Soc Food Sci Nutr 38, 177-181. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.2.177>.
- Phanturat P, Benjakul S, Visessanguan W and Roytrakul S. 2010. Use of pyloric caeca extract from bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*) for the production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. LWT Food Sci Technol 43, 86-97. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.010>.
- 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>.
- Souissi N, Bougatef A, Triki-Ellouz Y and Nasri M. 2007. Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. Food Technol Biochem 45, 187-194.
- Thiansilakul Y, Benjakul S and Shahidi F. 2007. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using alcalase and flavourzyme. J Food Biochem 31, 266-287. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2007.00111.x>.
- Wiriyaphan C, Chitsomboon B and Yongsawadigul J. 2012. Antioxidant activity of protein hydrolysates derived from threadfin bream surimi byproducts. Food Chem 132, 104-111. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.040>.
- Yoon IS, Kim HJ, Kang SI, Kim DY, Lee CY, Jeong UC, Kim JS and Heu MS. 2020. Food functionality and bioactivity of vacuum freeze-dried fish roe concentrates. Korean J Fish Aquat Sci 53, 403-416. <http://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0403>.
- 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, Lee JS, Kim JS and Heu MS. 2018. 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 Nutri 7, 412-424. <http://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>.
- Zhang Y, Duan X and Zhuang Y. 2012. Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin. Peptides 38, 13-21. <http://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.08.014>.
- 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. <http://doi.org/10.1631/jzus.B0920081>.