효소가수분해 및 한외여과 처리에 따른 대두단백 펩타이드의 품질 특성 및 항산화 활성

오현빈1·라하나1·김경미2·장현욱1·황 영1·심현정1·조용식1

¹농촌진흥청 국립농업과학원 발효가공식품과 ²농촌진흥청 국립농업과학원 기술지원과

Properties and Antioxidant Activity of Ultrafiltered Soybean Peptides Using Enzymatic Hydrolysis

Hyeonbin Oh¹, Ha-Na Ra¹, Kyung-Mi Kim², Hyun-Wook Jang¹, Young Hwang¹, Hyun-Jeong Shim¹, and Yong Sik Cho¹

¹Fermented and Processed Food Division and ²Technology Services Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration

ABSTRACT This study aimed to analyze the physicochemical properties and antioxidant activity of low molecular weight peptides produced by the enzymatic hydrolysis of soy protein. Soy protein isolate was treated with 0.1% and 0.3% protease (w/w), and then each hydrolyzate was ultrafiltered using 3 kDa and 10 kDa membranes. The pH value of the hydrolyzate was significantly lower at higher enzyme concentrations, but there was no difference according to the molecular weight cut-off. The salinity did not show a significant variation in any of the treatment groups, and the total dissolved solids were the highest at 0.3% in the 10 kDa sample. The enzyme concentration of hydrolyzate affects its color more significantly than the molecular weight cut-off. The DPPH and ABTS radical scavenging activities were the highest in the sample, with 0.3% enzyme concentration and 10 kDa cut-off. Peptides under 3 kDa also had a significant effect on the antioxidant activity. The principal component analysis of the electronic tongue (e-tongue) data significantly distinguished 3 kDa and 10 kDa fractions with a 0.1% enzyme concentration. Based on these results, using the 0.3% enzyme for the enzymatic hydrolysis of soy protein can be an efficient method to produce seasoning materials that have functional properties from plant protein.

Key words: antioxidant, e-tongue, peptide, soy protein, ultrafiltration

서 론

대두(Glycine max Merr.)는 한반도 북부 및 만주지역이 원산지인 콩과 식물로서 한국에서는 오래전부터 재배되어 전통적으로 두부, 콩나물 및 간장, 된장 등 장류의 형태로 섭취해왔던 곡물이다(Cha 등, 2020). 대두에 들어 있는 이소플라본, 레시틴 등의 생리활성 물질은 항암, 항동맥경화, 혈당조절 등의 기능성 효과를 가지고 있다고 알려져 있다(Ashaolu, 2020; Lee 등, 2005; Messina와 Redmond, 2006). 또한 대두에는 glycinin과 β-conglycinin으로 주로 구성된 식물성 단백질이 대두 건조 중량의 35%에 달하여 동물성 단백질의 대체재 및 영양 공급원으로서 이용되고 있

다(Sanjukta와 Rai, 2016). 특히 분리대두단백은 대두로부터 분리, 농축하여 단백질의 함량이 90% 이상 되도록 제조한 식물성 단백질로, 수화력이 뛰어나고 생산 비용이 적어식품의 증량제, 증점제, 환자용 유동식, 우유 단백질 대체품등 다양한 범위에서 사용되고 있다(Jo 등, 2014; Oh 등, 2012).

식품 단백질의 물성 및 용해도 등의 가공적성을 개선하고 식품 폐기분을 줄여 이용도를 증가시키기 위한 방법으로 단백질 가수분해가 널리 이용되고 있다(Ashaolu, 2019). 단백질 가수분해를 통해 생성되는 생리활성 펩타이드는 3~20개의 아미노산으로 구성되고 생리활성을 갖는 분자량 10,000 Da 이하의 펩타이드로 정의된다(Kitts와 Weiler, 2003). 이

Received 27 August 2021; Revised 27 September 2021; Accepted 28 September 2021

Corresponding author: Yong Sik Cho, Fermented and Processed Food Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Nongsaengmyeong-ro 166, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeonbuk 55365, Korea, E-mail: yscho@korea.kr

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

들 펩타이드는 소화된 후 장에서 바로 흡수되어 생체이용률이 좋고 항당뇨, 항고혈압, 항암 등의 생리활성을 보여 기능적인 측면에서 단백질 가수분해물에 대한 관심이 높아지고 있다(Elias 등, 2008; Erdmann, 2008; Jang 등, 2016; Liu 등, 2016). 또한 저분자 펩타이드는 아미노산의 조성이나서열, 분자량에 따라 다양한 맛을 나타내어 적절하게 처리할시 식품소재의 맛 개선에도 영향을 준다(Ogasawara 등, 2006). Karangwa 등(2016)은 1,000 Da 미만의 작은 분자량 펩타이드가 풍부한 맛, 진한 맛으로 대표되는 "Kokumi"를 강화하는 데 영향을 준다고 보고하였고, Yu 등(2018)은 1,000~3,000 Da 분자량의 peptide가 감칠맛 및 기름진 맛과 연관성이 있다고 보고하였다.

일반적으로 단백질의 가수분해는 화학적 또는 효소적 처리 방법에 의해 수행되는데, 그중 효소적 가수분해는 단백질의 영양가를 유지하면서 화학적 방법보다 lysinoalanin, 3-chloro-1,2-propanediol, 1,3-dichloro-2-propanal 등의 독성 물질 생성이 거의 없으며 생성되는 염의 양도 적어식품 소재화에 큰 장점을 지니고 있다(Finley 등, 1982; Velisek 등, 1991a; Velisek 등, 1991b). 그러나 반응 중메티오닌, 류신, 페닐알라닌 등의 아미노산을 포함하는 소수성 펩타이드가 생성되어 가수분해물의 쓴맛이 강해지는 단점이 있어 효소 적용 조건 등의 반응조절을 통해 적절한 가수분해도를 설정하는 것이 중요하다(Alder-Nissen, 1979; Maehashi와 Huang, 2009).

따라서 본 연구에서는 효소 처리 농도를 다르게 한 콩단백가수분해물을 제조하였고, 그것을 분자량에 따라 3 kDa 및 10 kDa 이하로 cut-off 한 저분자 펩타이드 분획물의 항산화 활성을 측정하여 콩 단백질을 이용한 건강기능성 식품소재의 활용 방안을 모색하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에 사용된 분리대두단백은 SUPRO[®] 661(Dupont Danisco, Itasca, IL, USA)을 사용하였으며, 가수분해를 위한 단백질 분해효소로 Protease from *Bacillus* sp.(1.5AU-N/g, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 구매하여 사용하였다.

분리대두단백 가수분해물의 제조 및 분획

분리대두단백을 증류수(1:10, w/v)에 분산시키고 효소를 기질 대비 0.1% 및 0.3%(w/w) 첨가하여 55°C shaking water bath에서 180분 동안 가수분해하였다. 이후 효소반응을 중지시키기 위해 95°C 수조에서 30분 동안 반응시켰다. 반응물을 상온(25°C)에서 냉각시킨 후 8,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하고 상층액을 Whatman No. 6 여과지 (Whatman International Ltd., Kent, UK)로 여과하여 가수분해물을 제조하였다. 이때 가수분해도는 각각 8.03%,

10.61%로 측정되었다(data not shown). 효소 농도별로 제조한 가수분해물은 각각 3 kDa 및 10 kDa 한외여과막 (Amicon Ultra-15 Centrifugal Filter, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)을 통해 여과하여 저분자 펩타이드 분획물을 획득하였다.

이화학적 특성

대두단백 가수분해물의 pH는 pH meter(Easy pH titrator, Metter Toledo, Columbus, OH, USA)를 이용하여 측정하였고, 염도는 salt meter(PAL-SALT, Atago, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 총 용존 고형물(total dissolved solids, TDS%)은 시료 10 g을 동결건조하고 남은 잔사물 무게의 비율로 계산하였다.

색도

대두단백 가수분해물의 색도는 색차계(Ultrascan pro, Hunterlab, Reston, VA, USA)를 사용하여 L값(명도), a값 (적색도), b값(황색도)을 측정하였다. 표준백판으로 색 좌표가 L=99.98, a=0.00, b=-0.03인 백색판을 사용하였다. 갈색도는 Spectrophotometer(Cary 3500, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

항산화 활성

항산화 활성 측정을 위해 각 시료를 동결건조한 후 증류수 로 10배 희석한 것을 사용하였다. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능은 Molyneux(2004)의 방법을 응용하여 측정하였다. 즉 시료 100 μL에 0.2 mM DPPH(Sigma-Aldrich) 용액 100 μL를 첨가하고 암실(25 °C)에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader(Infinite M200, Tecan, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) 라디칼 소거능 은 Re 등(1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. 7.4 mM ABTS(Sigma-Aldrich) 용액에 2.6 mM potassium persulfate(Sigma-Aldrich)를 첨가하여 4°C의 암소에서 12시 간 방치하여 ABTS 라디칼을 형성시켰고 그 후 414 nm에서 흡광도가 1.4~1.5가 되도록 증류수로 희석하였다. 희석한 ABTS 라디칼 용액 200 μL에 시료 10 μL를 넣어 60분간 암소에서 반응시킨 후 414 nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자혀 분석

가수분해물의 맛 성분 분석을 위해 Alpha MOS사의 전자혀 시스템(Astree V, Alpha MOS, Toulouse, France)을 사용하여 측정하였다. 시료는 0.45 µm 필터(Corning Inc., Corning, NY, USA)를 통해 여과한 후 vial에 담아 오토샘플러(autosampler)를 이용하여 분석하였다. AHS(신맛, 8025-05-676), NMS(감칠맛, 12564-01-036), CTS(짠맛, 12564

Table 1. Physicochemical properties of soy protein hydrolysates according to enzyme concentration and molecular weight cut-off

Samples ¹⁾	рН	Salinity	Total dissolved solids (%)
E0.1%, 3 kDa	6.77±0.01 ^{b2)}	0.86±0.02 ^{NS3)}	7.77±0.06 ^d
E0.1%, 10 kDa	6.78 ± 0.00^{a}	0.86 ± 0.02	8.47 ± 0.06^{b}
E0.3%, 3 kDa	6.69 ± 0.01^{c}	0.86 ± 0.00	8.23 ± 0.06^{c}
E0.3%, 10 kDa	6.68 ± 0.01^{c}	0.88 ± 0.01	8.97 ± 0.06^{a}

¹⁾E0.1%, sample treated with 0.1% enzyme; E0.3%, sample treated with 0.3% enzyme; 3 kDa, ultrafiltered through 3 kDa cut-off membrane; 10 kDa, ultrafiltered through 10 kDa cut-off membrane.

-01-005), PKS(단맛, 12564-02-495), ANS(쓴맛, 12564-02-563) 등 5개 맛 센서를 사용하였으며, standard로 SCS (0825-06-225)와 CPS(12564-02-593) 센서를 사용하였다. 각 시료는 5회 반복하여 실험하였으며, 각각의 시료 분석 후 센서 세척(cleaning) 과정으로 오염을 방지하였다.

통계처리

실험 결과는 SPSS(12.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였다. 실험값은 mean±standard deviation으로 표시하였으며, 각 측정 평균값 간의 유의성이 있을 경우 P<0.05 수준으로 Duncan's multiple range test를 실시하여 유의수준을 검증하였다.

결과 및 고찰

이화학적 특성

효소 농도 및 분자량별 가수분해물의 이화학적 특성은 Table 1에 나타내었다. 가수분해물의 pH는 효소 농도 0.1%를 사용한 시료들이 효소 농도 0.3%를 사용한 시료들에 비해 유의적으로 높게 측정되었으며 분자량 분획에 따른 차이는 나타나지 않았다(P<0.05). 염도는 모든 처리구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 총 용존 고형물은 효소 농도가높고 분자량이 클수록 유의적으로 증가하여 효소 농도 0.3%, 10 kDa 분획물이 가장 높게 나타났다. 효소 농도에 따른

대두단백 가수분해물의 pH 차이는 가수분해를 통해 유리되는 산성 아미노산에 의한 것으로 추측된다. Belitz 등(2009)에 따르면 대두의 주요 아미노산은 글루탐산, 아스파트산등의 산성 아미노산이며 이들 아미노산이 유리되는 정도에따라 가수분해물의 pH가 낮아진 것으로 생각된다. 본 연구에서도 가수분해물의 효소 농도가 높아짐에 따라 가수분해가 더 많이 일어나게 되어 글루탐산 등의 아미노산이 유리되는 양이 증가함에 따라 pH가 감소한 것으로 추측된다.

색도

효소 처리 농도를 다르게 한 가수분해물의 색도는 Table 2에 나타내었다. 가수분해물의 L값은 효소 농도가 높고 분자량이 클수록 증가하는 경향을 보였다(P≺0.05). a값은 10 kDa 여과물에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 3 kDa 한외여과 처리구에서는 효소 농도가 0.1%일 때 유의적으로 더 높게 나타났다(P≺0.05). b값은 효소 농도 0.3%, 3 kDa 한외여과 처리구만 다른 시료에 비해 소폭 낮게 나타났다. 갈색도의 경우 효소 농도에 따라 갈색도가 높게 나타났으며 10 kDa 한외여과 처리구가 3 kDa 한외여과 처리구보다유의적으로 더 높게 나타났다(P≺0.05). Shahidi 등(1994)은 가수분해도가 클수록 더 밝은 색상의 단백질 가수분해물이 만들어진다고 하였으며, 본 연구에서 효소 처리 농도에따라 L값이 증가하는 것과 유사한 결과를 보였다.

항산화 분석

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성 측정법은 항산화 물질과 반응하는 자유라디칼의 색 변화를 통해 항산화 활성을 측정하는 방법으로, 시험법이 간단하고 재현성이 좋아 천연소재의 항산화 활성을 측정하는 데 널리 이용되고 있으며, 생리활성 펩타이드의 항산화 활성 측정에도 이용되고 있는 측정법이다(Jang 등, 2019; Park과 Yoon, 2018). 대두단백가수분해물의 항산화 활성 측정 결과는 Table 3에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거 활성 측정 결과 효소 농도 0.3%, 분자량 10 kDa일 때 가장 높게 나타났다. ABTS 라디칼 소거활성은 효소 농도에 따라 증가하였는데, 효소 농도 0.1% 및 3 kDa 한외여과 처리구에서는 가장 낮게 나타났다. 가수분해를 통해 생성되는 히스티딘, 티로신 등을 포함한 다수의생리활성 펩타이드들은 가수분해물의 항산화 용량에 기여하는 것으로 알려져 있다(Chen 등, 1988; Hartmann과

Table 2. Color and brownness of soy protein hydrolysates according to enzyme concentration and molecular weight cut-off

	2 1		•	<u> </u>
Samples ¹⁾	L	a	b	Brownness
E0.1%, 3 kDa	48.62±0.01 ^{c2)}	-0.05 ± 0.03^{a}	13.70 ± 0.01^{a}	0.72±0.01 ^a
E0.1%, 10 kDa	51.73 ± 0.02^{b}	-0.33 ± 0.02^{c}	13.49 ± 0.03^{b}	0.65 ± 0.00^{b}
E0.3%, 3 kDa	51.71 ± 0.01^{b}	-0.19 ± 0.02^{b}	12.95 ± 0.04^{c}	0.54 ± 0.01^{c}
E0.3%, 10 kDa	54.95 ± 0.01^{a}	-0.30 ± 0.01^{c}	13.73 ± 0.01^{a}	$0.48 \pm 0.00^{\rm d}$

¹⁾E0.1%, sample treated with 0.1% enzyme; E0.3%, sample treated with 0.3% enzyme; 3 kDa, ultrafiltered through 3 kDa cut-off membrane; 10 kDa, ultrafiltered through 10 kDa cut-off membrane.

²⁾All values are expressed as the mean±SD of triplicate determinations. Means with different superscripts (a-d) within a column are significantly different.

³⁾NS: Not significant.

²⁾All values are expressed as the mean±SD of triplicate determinations. Means with different superscripts (a-d) within a column are significantly different.

Table 3. Antioxidation of soy protein hydrolysates according to enzyme concentration and molecular weight cut-off

·	chizyine concentration	and morecard	weight cut off
	Samples ¹⁾	DPPH (%)	ABTS (%)
	E0.1%, 3 kDa	6.53 ± 2.47^{d2}	15.24 ± 1.10^{c}
	E0.1%, 10 kDa	57.93 ± 0.83^{b}	57.23 ± 1.10^{a}
	E0.3%, 3 kDa	51.51 ± 1.57^{c}	49.46 ± 3.30^{b}
	E0.3%, 10 kDa	65.51 ± 1.51^{a}	56.45 ± 2.20^{a}

¹⁾E0.1%, sample treated with 0.1% enzyme; E0.3%, sample treated with 0.3% enzyme; 3 kDa, ultrafiltered through 3 kDa cut-off membrane; 10 kDa, ultrafiltered through 10 kDa cut-off membrane.

Meisel, 2007). Chen 등(1998)은 콩 단백질 효소가수분해 물에서 leu-leu-pro-his-his 펩타이드 등 1,000 Da 이하 의 펩타이드가 항산화 활성을 갖는다고 하였고, Hartmann 과 Meisel(2007)은 히스티딘을 포함하는 펩타이드의 아미 노말단부에 류신 또는 프롤린 잔류물이 존재함으로써 펩타 이드의 항산화 용량이 향상되었다고 보고하였다. 또한 페닐 알라닌, 티로신 등의 방향족 아미노산의 고리 구조도 항산화 용량에 기여한다(Nimalaratne 등, 2011). Olagunju 등 (2018)은 비둘기콩 단백질을 가수분해한 후 분자량 분포에 따른 가수분해물의 항산화 활성을 측정하여 1~3 kDa의 펩 타이드가 다른 분자량 분획물보다 높은 항산화 활성을 보였 다고 보고하였는데, 본 연구에서는 효소 농도 0.1%, 3 kDa 한외여과 처리구에서 다른 처리구에 비해 항산화 활성이 현 저하게 낮게 나타난 이유는 항산화 활성이 높은 1~3 kDa의 저분자 펩타이드가 0.1%의 효소 농도 조건에서 0.3%의 효 소 농도에 비해 더 적게 생성되었기 때문으로 추정된다. 0.1% 및 0.3% 효소 농도에서 10 kDa 분획물의 DPPH 소거

활성에 비하여 ABTS의 소거 활성은 유의적인 차이를 보이지 않았는데, DPPH 측정법은 라디칼에 대한 전자공여능을 측정하는 방법인 반면, ABTS 측정법은 수소 원자 공여능을 측정하는 방법으로 측정법의 작용 기전에 따른 차이로 해석된다(Badarinath 등, 2010). 따라서 효소 농도 0.3% 이상처리했을 때 항산화 활성을 띠는 펩타이드를 다량 함유한단백 가수분해물을 제조할 수 있을 것으로 사료된다.

전자혀 분석

전자혀 분석은 맛 센서들을 이용한 분석을 통해 재현성과 객관성을 갖는 표준값을 제시하여 통상적으로 진행되는 패 널을 활용한 관능검사의 대안으로 활용될 수 있다(Jo 등, 2016). 이에 따라 일반적인 관능적 특성 분석뿐만 아니라 농 산물 원산지 확인 등의 시료 구분에도 이용되고 있다(Dong 등, 2017; Jeon 등, 2017). 효소적 가수분해는 단백질에서 방출되는 소수성 아미노산에 의해 쓴맛이 발현되어 식품에 적용하는 것이 제한되어 왔다(Kim 등, 1999). 본 연구에서 는 쓴맛을 제거하기 위해 제한된 효소 농도 범위에서 효소가 수분해를 진행하였다. 효소 농도별 대두단백 가수분해물의 전자혀 분석을 통해 개별 맛 성분을 감지하는 센서 감응도 정보를 얻었고, 주성분 분석(principal component analysis, PCA)을 진행하여 loading plot을 생성한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 주성분 분석 결과 PC1은 75.69%, PC2는 19.97%의 설명력을 보였으며 누적으로 95.66%의 설명력 을 나타내었다. PC1을 기준으로 하여 감칠맛, 쓴맛, 신맛은 양의 부하도를 보였으며, 단맛 및 짠맛이 음의 부하도를 보 였다. 그에 따라 효소 농도 0.3% 시료는 분자량 분획에 상관 없이 loading plot에서 비슷한 위치에 있으며 효소 농도 0.1%에서는 10 kDa 및 3 kDa 시료가 구분되었다. 효소 농

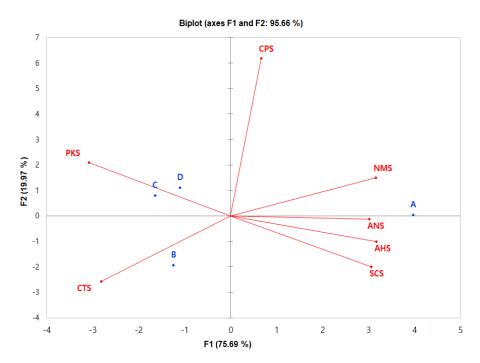


Fig. 1. Loading plot of principal component analysis of e-tongue data with soy protein hydrolysates. A, sample treated with 0.1% enzyme and ultrafiltered through 3 kDa cut-off membrane; B, sample treated with 0.1% enzyme and ultrafiltered through 10 kDa cut-off membrane; C, sample treated with 0.3% enzyme and ultrafiltered through 3 kDa cut-off membrane; D, sample treated with 0.3% enzyme and ultrafiltered through 10 kDa cut-off membrane.

membrane.

²⁾All values are expressed as the mean±SD of triplicate determinations. Means with different superscripts (a-d) within a column are significantly different.

도 0.3% 시료들은 다른 시료보다 단맛이 강하게 나타났는데, 이는 단맛을 내는 글리신, 프롤린, 세린, 알라닌 등의아미노산이 포함된 펩타이드에 의한 것으로 예상된다(Fuke등, 1994; Maehashi등, 1999). 3 kDa 한외여과 처리구에서도 효소 농도에 따라 구분되었는데, 이는 가수분해 조건의차이로 인해 가수분해물의 맛에 관여하는 저분자 펩타이드생성에 차이가 발생했기 때문으로 해석된다.

요 약

본 연구는 제한된 조건에서 대두 단백질의 효소가수분해로 생성된 저분자 펩타이드의 물리화학적 특성 및 항산화 활성 을 분석하였다. 대두단백을 0.1% 및 0.3% protease(w/w) 로 처리한 다음 각 가수분해물을 3 kDa 및 10 kDa의 한외여 과막을 이용해 여과하였다. 가수분해물의 pH 값은 효소 농 도가 높을 때 유의하게 낮았으나 분자량에 따른 차이는 없었 다. 염도는 모든 처리구에서 유의적인 차이를 보이지 않았으 며 총 용존 고형물은 효소 농도 0.3%, 10 kDa 분획물에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 가수분해물의 색도에는 펩타 이드의 분자량보다 효소 농도가 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성 측정을 통해 가수분해물의 항산화 활성을 분석한 결과 10 kDa의 분자량 을 나타내었으나 3 kDa 여과물에서는 효소 농도의 영향이 크게 나타났다. 전자혀 데이터의 주성분 분석 결과 효소 농 도에 따라서 저분자 펩타이드의 맛의 변화를 확인하였으며 효소 농도 0.1%에서는 3 kDa 및 10 kDa 여과물의 맛 패턴 이 구별되었다. 효소를 기질 대비 0.3% 첨가하여 반응하였 을 때 항산화성이 뛰어난 가수분해물을 제조할 수 있을 것으 로 기대되며, 대두단백을 활용한 기능성 천연조미소재 개발 에 대한 기초결과로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01450501)의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Adler-Nissen J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. J Agric Food Chem. 1979. 27:1256-1262.
- Ashaolu TJ. Applications of soy protein hydrolysates in the emerging functional foods: a review. Int J Food Sci Technol. 2020. 55:421-428.
- Ashaolu TJ. Protein hydrolysates and their impact on gut microbiota: An editorial. CPQ Med. 2019. 5(4):01-05.
- Badarinath AV, Rao KM, Chetty CMS, Ramkanth STVSR, Rajan TVS, Gnanaprakash K. A review on *in-vitro* antioxidant methods: comparisions, correlations and considerations. Int J PharmTech Res. 2010. 2:1276-1285.
- Belitz DH, Grosch W, Schieberle P. Food chemistry; Legumes. Springer, Berlin, Germany. 2009. p 746-769.

- Cha SH, Shin KO, Han KS. Studies on the characteristics of concentrated soy protein. Korean J Food Sci Technol. 2020. 52:459-466.
- Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Fujimoto K, Nokihara K. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. J Agric Food Chem. 1998. 46:49-53.
- Dong H, Moon JY, Lee SH. Discrimination of geographical origins of raw ginseng using the electronic tongue. Korean J Food Sci Technol. 2017. 49:349-354.
- Elias RJ, Kellerby SS, Decker EA. Antioxidant activity of proteins and peptides. Crit Rev Food Sci Nutr. 2008. 48:430-441.
- Erdmann K, Cheung BWY, Schröder H. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. J Nutr Biochem. 2008. 19:643-654.
- Finley JW, Wheeler EL, Walker Jr HG, Finlayson AJ. Effect of cystine oxidation on lysinoalanine formation in proteins. J Agric Food Chem. 1982. 30:818-820.
- Fuke S, Watanabe K, Konosu S. Enhancing effect of nucleotides on sweetness of heated prawn muscle. In: Kurihara K, Suzuki N, Ogawa H, editors. Olfaction and Taste XI. Springer, Tokyo, Japan. 1994. p 357-360.
- Hartmann R, Meisel H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. Curr Opin Biotechnol. 2007. 18:163-169.
- Jang HL, Liceaga AM, Yoon KY. Purification, characterisation and stability of an antioxidant peptide derived from sandfish (*Arctoscopus japonicus*) protein hydrolysates. J Funct Foods. 2016. 20:433-442.
- Jang HY, Park CE, Lee SO. Comparison of antioxidant capacity of protein hydrolysates from 4 different edible insects. Korean J Food Sci Technol. 2019. 51:480-485.
- Jeon SY, Kim JS, Kim GC, Choi SY, Kim SB, Kim KM. Analysis of electronic nose and electronic tongue and sensory characteristics of commercial seasonings. Korean J Food Cook Sci. 2017. 33:538-550.
- Jo JH, Yang HS, Choi YJ, Lee SC, Choi BS, Park TY, et al. Quality characteristics of protein-enriched fermented milk made with whey and soybean flour. Korean J Dairy Sci Technol. 2014. 32:121-129.
- Jo Y, Gu SY, Chung N, Gao Y, Kim HJ, Jeong MH, et al. Comparative analysis of sensory profiles of commercial cider vinegars from Korea, China, Japan, and US by SPME/GC-MS, E-nose, and E-tongue. Korean J Food Sci Technol. 2016. 48:430-436.
- Karangwa E, Murekatete N, de Dieu Habimana J, Masamba K, Duhoranimana E, Muhoza B, et al. Contribution of crosslinking products in the flavour enhancer processing: The new concept of Mailard peptide in sensory characteristics of Mailard reaction systems. J Food Sci Technol. 2016. 53:2863-2875.
- Kim MR, Choi SY, Lee CH. Molecular characterization and bitter taste formation of tryptic hydrolysis of 11S glycinin. J Microbiol Biotechnol. 1999. 9:509-513.
- Kitts DD, Weiler K. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. Curr Pharm Des. 2003. 9:1309-1323.
- Lee H, Kim J, Kim YS, Kim WJ. Isoflavone and quality improvement of soymilk by using germinated soybean. Korean J Food Sci Technol. 2005. 37:443-448.
- Liu M, Wang Y, Liu Y, Ruan R. Bioactive peptides derived from traditional Chinese medicine and traditional Chinese food: a review. Food Res Int. 2016. 89:63-73.
- Maehashi K, Huang L. Bitter peptides and bitter taste receptors.

- Cell Mol Life Sci. 2009. 66:1661-1671.
- Maehashi K, Matsuzaki M, Yamamoto Y, Udaka S. Isolation of peptides from an enzymatic hydrolysate of food proteins and characterization of their taste properties. Biosci Biotechnol Biochem. 1999. 63:555-559.
- Messina M, Redmond G. Effects of soy protein and soybean isoflavones on thyroid function in healthy adults and hypothyroid patients: a review of the relevant literature. Thyroid. 2006. 16:249-258.
- Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J Sci Technol. 2004. 26:211-219.
- Nimalaratne C, Lopes-Lutz D, Schieber A, Wu J. Free aromatic amino acids in egg yolk show antioxidant properties. Food Chem. 2011. 129:155-161.
- Ogasawara M, Katsumata T, Egi M. Taste properties of Maillard-reaction products prepared from 1000 to 5000 Da peptide. Food Chem. 2006. 99:600-604.
- Oh HL, Yang KH, Park SY, Yoon JH, Shim EK, Lee KJ, et al. Quality characteristics and antioxidative activities of acorn starch mook added spirulina and soy protein. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2012. 41:1515-1520.
- Olagunju AI, Omoba OS, Enujiugha VN, Alashi AM, Aluko RE. Pigeon pea enzymatic protein hydrolysates and ultrafiltration peptide fractions as potential sources of antioxidant

- peptides: An in vitro study. LWT. 2018. 97:269-278.
- Park BY, Yoon KY. Conditions for hydrolysis of perilla seed meal protein for producing hydrolysates and ultrafiltered peptides and their antioxidant activity. Korean J Food Preserv. 2018. 25:605-612.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999. 26:1231-1237.
- Sanjukta S, Rai AK. Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits. Trends Food Sci Technol. 2016. 50:1-10.
- Shahidi F, Synowiecki J, Balejko J. Proteolytic hydrolysis of muscle proteins of harp seal (*Phoca groenlandica*). J Agric Food Chem. 1994. 42:2634-2638.
- Velisek J, Davidek T, Davidek J, Hamburg A. 3-Chloro-1,2-propanediol derived amino alcohol in protein hydrolysates. J Food Sci. 1991a. 56:136-138.
- Velisek J, Davidek T, Davidek J, Kubelka V, Viden I. 3-Chloro-1,2-propanediol derived amino alcohol in protein hydrolysates. J Food Sci. 1991b. 56:139-142.
- Yu M, He S, Tang M, Zhang Z, Zhu Y, Sun H. Antioxidant activity and sensory characteristics of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate. Food Chem. 2018. 243:249-257.