J Korean Soc Food Sci Nutr
45(9), 1279~1284(2016)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2016.45.9.1279

효소 분해순서를 달리하여 제조한 탈지대두박효소 분해물의 이화학적 및 관능적 특성

신명곤[1] · 이규희[2]

[1]우송대학교 외식조리영양학부
[2]우송대학교 조리과학연구센타

Physicochemical and Sensory Characteristics of Hydrolyzed Vegetable Protein Manufactured by Various Enzyme Reaction Order of Defatted Soybean Meal

Myung-Gon Shin[1] and Gyu-Hee Lee[2]

[1]*Department of Food Science & Biotechnology and* [2]*Culinary Science Research Center, Woosong University*

ABSTRACT To obtain enzyme hydrolyzed vegetable protein (EHVP) with a salty and umami taste, defatted soybean meal was treated with proteases such as Flavourzyme® (F), Neutrase® (N), Alcalase® (A), and Protamex® (P) in various reaction orders. The highest soluble solid content of EHVP was 5.60% in enzyme reaction order NAFP although there was no significant difference. Amino type nitrogen was highest in ANFP (102.76 mg%) and APNF (102.85 mg%). In the sensory descriptive analysis, salty taste was highest in PNFA (11.81), followed by NPAF (10.14), FPNA (10.00), APNF (9.80), NAFP (9.76), AFNP (9.57), APFN (9.52), and NPFA (9.50) with no significant difference among treatment. Umami taste was not significantly different among the various enzyme treatments. Bitter aftertaste was highest in AFPN (5.67) and lowest in FAPN (2.38), PNAF (2.62), and NAPF (2.48). In the principle component analysis, EHVPs of PNFA, NAFP, APFN, NPAF, FPNA, NPFA, and APNF showed a strong salty and umami taste. Therefore, the PNFA, NAFP, APFN, NPAF, FPNA, NPFA, and APNF are desirable methods for making EHVP with a salty and umami taste.

Key words: enzyme hydrolyzed vegetable protein (EHVP), defatted soybean meal, umami, salty, principle component analysis

서 론

곡류나 두류의 부산물 혹은 그 자체는 상당히 높은 양의 단백질 급원으로 가수분해 방법을 통해 식물성 단백질 가수분해 물질(hydrolyzed vegetable protein, HVP) 형태로 다양하게 활용되고 있다. HVP는 주로 산 분해법, 미생물 발효법 및 효소 분해법으로 가수분해된다. 산 분해법으로 제조한 HVP는 단백질 가수분해도가 높아 많은 양의 아미노산을 함유하여 관능적 특성은 좋지만, 산 분해 과정에서 3-chloropropane-1,2-diol과 같은 발암물질이 생성된다는 보고(1,2)가 있어 현재 산 분해 방법이 개량되고는 있지만 여전히 단점으로 지적되고 있다. 미생물 발효법으로 제조된 HVP는 산 분해 HVP에서 발생하는 단점이 없는 대신에 발효를 위한 장기간의 숙성 과정과 발효에 필요한 부대설비를 필요로 한다는 단점이 있다(3). 효소 분해법으로 제조한 HVP는 산 분해법과 발효법으로 제조했을 경우 발생하는 문제점이 없으며 미생물 발효법으로 제조된 HVP보다는 속성으로 제조할 수 있고 산 분해법으로 제조된 HVP보다는 안전성이 높다는 장점을 갖고 있다(4). 효소 분해법에 의해 제조된 HVP는 단백질을 부분적으로 가수분해하여 수용성을 증가시키고 식품의 기능성을 변화시켜 단백질 음료, 아이스크림 및 기타 가공 제품 등 다양하게 사용되고 있다(5). 또한, HVP는 그 자체로 간장이나 조미료의 기본 물질로 사용되기도 하고, meat like flavor 등 반응향(reaction flavor)의 원료로 사용되기도 한다(6,7).

기존에 연구되어온 효소법에 의해 제조된 HVP는 주로 단백질의 특성을 변화시켜 식품 가공에 이용하거나 reaction flavor의 기본원료로 사용하기 위한 연구들이 주를 이루었다. 본 연구에서는 산 분해법으로 제조된 HVP보다는 안전하고 미생물 발효법보다는 빠른 시간에 제조할 수 있는 효소 분해법을 이용하여 짠맛과 감칠맛을 내는 HVP를 제조하는 방법을 찾고자 하였다. 본 연구에 사용된 효소로는 endo-type protease로 Alcalase®와 Neutrase®를 선택하였고, exo-type protease로 Protamex®와 Flavourzyme®을 선택하였다(3). Alcalase®는 heterocyclic amino ester를 함유하는 amino ester를 분해하는 효소이고, Neutrase®는

Received 21 April 2016; Accepted 10 August 2016
Corresponding author: Gyu-Hee Lee, Culinary Science Research Center, Woosong University, Daejeon 34518, Korea
E-mail: gyuhee@wsu.ac.kr, Phone: +82-42-630-9744

endo type protease로 무작위로 peptide 결합을 분해하는 효소로 판매되고 있으며, Protamex®와 Flavourzyme®은 육가공품에서 소금 이용량을 줄이는 데 효과가 있으며 meat 향을 높이기 위해 사용할 수 있는 식품산업용 효소로 판매되고 있다(8).

본 연구에서는 이들 효소를 작용시켰을 때 식물성 단백질 급원에서도 짠맛을 낼 가능성이 있는지를 확인해 보고자 하였다. 따라서 짠맛을 낼 수 있는 peptide는 아미노산의 결합 순서가 매우 중요하기 때문에 네 가지 효소를 따로따로 순서대로 분해하면서 짠맛을 가장 많이 낼 수 있는 효소처리 방법을 찾고자 하여 다음의 결과를 얻었다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 탈지대두박은 미국에서 수입한 것을 사용하였으며, 단백질 분해 효소는 Novozyme사(Novozyme, Bagsvaerd, Denmark)의 Flavourzyme®, Neutrase®, Protamex® 및 Alcalase®를 구입하여 사용하였다.

Enzyme hydrolyzed vegetable protein(EHVP) 제조

원료로 사용된 탈지대두박의 조단백질 함량은 micro-Kjeldahl법을 이용해 분석하여 43.7%임을 알 수 있었다. EHVP의 제조는 탈지대두박 2% 수용액을 121°C에서 15분간 살균한 후 상온에서 50°C까지 냉각하여 효소 반응액으로 사용하였다(9). 각 효소액의 농도는 탈지대두박 단백질량의 0.25%가 되도록 첨가하여 네 개의 효소를 factorial design으로 효소처리 순서를 달리하여 각각의 효소는 순서만 달리하고 한 번씩은 처리될 수 있도록 24개의 처리구로 제조하였다. 24가지 조합 중 한 예로써 1차 효소처리를 Flavourzyme®(F), 2차 효소처리를 Neutrase®(N), 3차 효소처리를 Alcalase®(A), 4차 효소처리를 Protamex®(P)로 실시하였을 때 효소 처리구를 FNAP로 표시하였다. 각각의 효소처리는 진탕 배양기를 이용하여 온도 50°C, 회전속도 80 rpm의 조건에서 4시간 동안 반응시키고, 반응이 끝나면 끓는 물에 10분 가열하여 효소를 불활성화하고 50°C 상온에서 냉각시킨 후 두 번째 효소를 처리하였다. 세 번째 및 네 번째 효소처리는 두 번째 처리와 같은 방법으로 시행하였다. 네 번의 효소처리가 끝난 분해액은 끓는 물에 10분 가열하여 효소를 불활성화하고 원심분리기(Union 32R, Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 4,000 rpm으로 20분 원심분리 한 후 상등액을 취하여 고형분, 아미노태 질소 함량 및 관능특성을 분석하였다.

고형분 함량

EHVP의 고형분 함량은 상압가열건조법으로 수분 함량을 측정한 후 100%에서 수분 함량을 뺀 값을 고형분 함량으로 하였다.

아미노태 질소 함량

아미노태 질소 측정은 Formol법(10)을 이용하여 각각의 효소 분해액 2 g을 취해 증류수를 이용해 100 mL로 정용하고 1분 동안 균질화한 후 4,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상등액을 시료로 하였다. 상등액 5 mL에 중성 formalin 용액 10 mL를 가하고 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.3이 되도록 중화적정 하였다. 공시험은 상등액 5 mL 대신 증류수를 넣어 시료에서와 같은 방법으로 실험을 시행하여 아미노태 질소 함량을 구하였다.

관능검사

묘사분석을 이용하여 EHVP의 맛 강도를 측정하였다. 묘사분석에 참여한 관능요원은 20~28세 범위의 대학생 10명(남학생 4명, 여학생 6명)으로 구성된 훈련된 요원을 활용하였다. EHVP의 묘사분석을 위한 용어, 정의 및 표준점은 Table 1에 표시하였다. 결과의 객관성을 높이기 위해 짠맛과 감칠맛(umami)은 농도를 두 개로 나누어 훈련을 시행하였다. 묘사분석은 1시간씩 2회에 걸친 모임에서 용어와 표준시료를 결정하였고, 결정된 표준시료를 중심으로 1시간씩

Table 1. Descriptors, definitions, and standard point for sensory evaluation of various enzyme treatment order of defatted soybean meal paste

Attribute	Descriptors	Definitions	References	Standard point
Odor	Soy sauce	Fermented soy sauce flavor in house fermented soy sauce	20% soy sauce soln.	7
Taste	Salty	Salty taste in NaCl solution	1% NaCl soln.	5
			1.2% NaCl soln.	13
	Umami	Umami taste in MSG solution	0.02% MSG soln.	4
			0.04% MSG soln.	9
	Astringency	Astringent taste in alum solution	0.2% alum soln.	7
Aftertaste	Bitterness	Bitter aftertaste in caffeine solution	0.05% caffeine soln.	6
	Salty	Salty aftertaste in NaCl solution	0.5% NaCl soln.	3
			1.2% NaCl soln.	12
	Umami	Umami aftertaste in MSG solution	0.05% MSG soln.	4
			0.1% MSG soln.	11
	Astringency	Astringent aftertaste in alum solution	0.2% alum soln.	8

6회에 걸친 훈련을 한 후 본 실험을 시행하였다. 묘사분석 본 실험에 사용된 시료는 10 mL disposable test tube에 각각의 효소 분해 방법을 달리하여 제조한 EHVP 5 mL를 넣고 40°C의 항온수조에 넣어 10분 동안 두었다가 평가자가 평가할 수 있도록 제공하였다. 이때 평가해야 하는 시료가 24개나 되므로 한꺼번에 다 평가할 수 없어서 한 번 평가할 때 6개의 시료가 평가되도록 균형불완전블록계획법(balanced incomplete block design, BIBD)을 이용하였고, 각 시료에 세 자리 code를 부쳐 시료를 제시하였다. 평가 시에는 용어의 정의에 따라 표준시료를 제공하여 비교 평가하도록 하였다. 시료와 시료 사이에는 생수를 제공하여 입안의 잔미를 충분히 제거하도록 약 3분간의 휴식시간을 두었다. 질문지의 평가척도는 평가자들의 평가 범위를 넓히기 위해 15점 척도법을 활용하여 평가하였다(11).

통계분석

실험 결과는 3회 측정한 결과를 그리고 관능평가 묘사분석의 결과는 10명의 평가 결과를 평균±표준편차로 표시하였다. 각 처리군 간의 유의성 검증은 SPSS(ver. 23, Statistical Package for Sciences, IBM Co., Armonk, NY, USA)를 이용하여 ANOVA 분석 후 $P<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정을 시행하였다. 관능특성은 주성분 분석(principal component analysis, PCA)을 실시하였고(Minitab 14, Minitab Inc., State College, PA, USA), 그 결과를 plot으로 표시하였다.

결과 및 고찰

EHVP의 고형분 및 아미노태 질소 함량 측정 결과

효소처리 방법을 달리하여 제조한 EHVP의 고형분 함량은 FPNA 처리구에서 4.86%로 통계적으로 유의차를 나타내며 가장 낮은 값을 나타내었으며, NAFP 처리구에서 5.60%로 가장 높은 값을 나타내었다. 나머지 처리구에서는 고형분 함량이 통계적으로 유의차를 나타내지 않았다(Table 2). 고형분 함량에서는 효소의 처리 순서가 큰 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다. Chae 등(3)은 endo protease로써 Neutrase와 Alcalase를 혼합하여 사용하는 것이 단독으로 사용하는 것보다 가수분해도가 높았으며, exo protease인 Flavourzyme을 이용하여 2차 가수분해함으로써 60% 이상의 가수분해도를 높일 수 있었다고 보고하였는데, 본 실험에서는 endo protease와 exo protease 모두를 순서만 달리하여 처리하였기 때문에 고형분 함량은 처리 간에 큰 차이가 없었던 것으로 판단된다.

효소처리 방법을 달리하여 제조한 EHVP의 아미노태 질소 함량 측정 결과는 Table 2와 같다. 24개의 처리구들 중에서 ANFP(102.76±10.60 mg%)와 APNF(102.85±14.72 mg%)가 통계적으로 높은 값을 나타내었다. FPNA(71.01±11.22 mg%)는 고형분 함량도 낮았고 아미노태 질소 함량도 낮아 이와 같은 효소처리 방법은 탈지대두박을 제조할 때 유리한 방법은 아닌 것으로 판단되었다.

Table 2. Soluble solid contents and amino type nitrogen contents of various enzyme treatment order of defatted soybean meal paste

Enzyme treatment	Soluble solid content (%)	Amino type nitrogen content (mg%)
FNAP[1)]	5.29±0.20[ab2)3)]	73.29±7.40[ab]
FNPA	5.18±0.18[ab]	90.37±11.31[ab]
FANP	5.13±0.45[ab]	73.22±10.46[ab]
FAPN	5.19±0.11[ab]	87.84±21.78[ab]
FPNA	4.86±0.54[b]	71.01±11.22[b]
FPAN	5.18±0.30[ab]	78.27±15.39[ab]
PFNA	5.06±0.39[ab]	86.21±6.48[ab]
PFAN	5.19±0.08[ab]	75.02±17.05[ab]
PNFA	5.14±0.01[ab]	88.26±9.89[ab]
PNAF	5.10±0.02[ab]	88.51±7.54[ab]
PANF	5.12±0.20[ab]	86.23±6.62[ab]
PAFN	5.40±0.32[ab]	86.21±6.45[ab]
AFNP	5.24±0.31[ab]	77.03±15.61[ab]
AFPN	5.01±0.49[ab]	92.53±4.25[ab]
ANFP	5.12±0.33[ab]	102.76±10.60[a]
ANPF	5.03±0.37[ab]	92.67±18.11[ab]
APFN	5.28±0.25[ab]	88.06±22.14[ab]
APNF	5.33±0.28[ab]	102.85±14.72[a]
NFAP	5.39±0.33[ab]	92.78±11.43[ab]
NFPA	5.14±0.27[ab]	90.29±15.04[ab]
NAFP	5.60±0.76[a]	85.38±18.85[ab]
NAPF	5.30±0.34[ab]	85.50±23.62[ab]
NPFA	5.44±0.27[ab]	90.24±22.25[ab]
NPAF	5.27±0.37[ab]	97.74±10.95[ab]

[1)]FNAP means firstly Flavourzyme® (F) treatment, secondly Neutrase® (N) treatment, thirdly Alcalase® (A) treatment, and finally Protamex® (P) treatment.
[2)]Mean±standard deviation of sensory attribute scores (n=10).
[3)]The comparable values ($\alpha<0.05$) of same column are indicated by same superscript alphabets.

EHVP의 관능평가 결과

정량묘사분석 결과 쿰쿰한 발효취(soy sauce flavor)는 AFNP(7.76±2.51)가 가장 높은 값을 나타내었고, PNAF(4.52±3.36)로 가장 낮은 값을 나타내었다(Table 3). 냄새의 경우에도 효소의 반응순서가 크게 영향을 미치지는 않는 것으로 판단되었다.

짠맛(salty taste)은 PNFA(11.81±2.06)로 통계적으로 유의차를 나타내며 높은 값을 나타내었고, NPAF(10.14±3.50), FPNA(10.00±2.81), APNF(9.80±3.37), NAFP(9.76±3.21), AFNP(9.57±3.30), APFN(9.52±3.34), NPFA(9.50±3.22) 처리구가 처리구 간에 통계적으로 유의차를 나타내지 않으며 다음으로 높은 값을 나타내었다. Nakata 등(12)은 펩타이드 합성품인 Asp-Asp-Asp, Glu-Asp-Asp, Glu-Asp-Glu peptides의 sodium 염에 대한 짠맛의 역치가 각각 3.23 mM, 3.23 mM, 3.09 mM이라고 보고하였으며 oligopeptide의 서열이 짠맛과 감칠맛에 중요한 영향을 미

친다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서 효소처리를 하였을 때 효소처리 작용 순서에 따라 형성될 수 있는 oligopeptide의 형태에 따라 짠맛이 다르게 느껴질 수 있을 것으로 판단된다.

감칠맛(umami taste)은 모든 처리구에서 통계적으로 유의차를 나타내지 않았다. Rhyu와 Kim(13)은 콩 발효물인 된장에서 수용성 물질 중 분자량 500~1,000 사이의 peptides 중 glutamic acid와 aspartic acid 결합형태의 peptides가 다량 포함되어 있었으며, 이들은 umami taste를 나타내는 중요한 기여자일 것이라고 하였다. Lioe 등(14)은 발효과정 중 형성되는 peptides가 감칠맛에 영향을 주는 것도 있지만 aspartic acid뿐만 아니라 단맛을 내는 아미노산이 일본 간장에서 감칠맛 성분을 나타내는 주요인자라고 보고하였다. 본 연구에서 감칠맛이 처리 방법에 따라 유의차가 나타나지 않은 것은 탈지대두박효소 분해물들이 peptide에 의해 생성된 감칠맛도 있지만 아미노산 형태의 성분들이 다량 형성되어 차이를 느끼지 못한 것으로 판단된다.

관능특성 중 바람직하지 못한 특성으로 알려진 떫은맛(astringent taste)은 PFAN(5.10±3.45)과 AFPN(5.05±2.29) 처리구에서 통계적 유의차를 나타내며 높은 값을 나타내었다. 통계적으로 유의차를 나타내며 낮은 값을 나타낸 처리구로는 FAPN(2.52±1.66), PNAF(2.67±2.06), PANF(2.67±2.63), NPFA(2.70±2.36) 등이 있었다.

관능특성 중 쓴맛은 금방은 느끼지 못하였으나 후미로 느껴진다는 평가자들의 의견에 따라 후미의 쓴맛을 측정하였다. 쓴맛 후미는 AFPN(5.67±2.76) 처리구가 가장 높은 값을 나타내었으며, FAPN(2.38±2.85), PNAF(2.62±2.60), NAPF(2.48±2.68) 처리구에서 낮은 값을 나타내었다. 단백질을 분해하였을 때 쓴맛의 형성은 모체 단백질의 특성, peptide sequence, 효소처리 공정이나 step 등에 의해 영향을 받으며, 구조에 포함된 소수성(hydrophobicity)의 특징이 중요한 역할을 한다고 보고된 바 있다(15,16). 쓴맛에 영향을 주는 또 다른 인자로는 가수분해 정도, bitter taste residues의 농도 및 위치, branched chain amino acids의 R group에서 탄소의 숫자, 아미노산의 conformation 등이 있다(17). 쓴맛은 단백질 가수물에서 감칠맛과 짠맛과 같은 유용한 맛을 내는 peptide 제조에 있어서는 바람직하지 못한 특성이 있다. 따라서 peptides의 쓴맛을 줄이기 위한 많

Table 3. Means and significance of sensory descriptive evaluation results among the EHVPs and principal component factors for sensory descriptors

Treatment	Soy sauce flavor	Salty taste	Umami taste	Astringency	Bitter aftertaste	Salty aftertaste	Umami aftertaste	Astringent aftertaste
FNAP[1)]	5.62±2.78$^{abcd2)3)}$	8.95±3.49^{b}	7.10±2.74^{a}	3.57±2.71^{abc}	5.19±3.17^{abcd}	7.81±3.78^{bcd}	6.86±2.78^{ab}	4.00±2.90^{abcd}
FNPA	5.33±2.59^{bcd}	9.14±3.15^{b}	7.00±3.36^{a}	4.62±3.19^{ab}	3.76±1.87^{abcdefg}	8.14±3.41^{bcd}	6.38±2.80^{ab}	4.71±3.04^{abc}
FANP	6.43±2.89^{abcd}	8.05±2.94^{b}	7.24±2.70^{a}	3.19±2.89^{bc}	3.81±3.09^{abcdefg}	6.71±2.87^{d}	6.43±3.61^{ab}	4.29±2.69^{abcd}
FAPN	4.81±2.79^{cd}	7.95±3.26^{b}	6.76±4.09^{a}	2.52±1.66^{c}	2.38±2.85^{g}	8.24±3.10^{bcd}	6.14±3.15^{b}	3.00±2.02^{bcd}
FPNA	6.19±3.70^{abcd}	10.00±2.81^{ab}	8.19±3.03^{a}	2.71±1.95^{bc}	3.71±2.03^{abcdefg}	10.24±2.72^{ab}	7.10±3.22^{ab}	3.10±2.61^{bcd}
FPAN	5.39±4.45^{bcd}	8.78±3.51^{b}	7.00±3.90^{a}	3.00±2.17^{bc}	3.44±3.09^{bcdefg}	7.78±3.61^{bcd}	6.33±2.43^{ab}	3.50±2.36^{abcd}
PFNA	7.10±2.39^{abc}	9.86±2.87^{b}	9.05±3.64^{a}	3.71±2.19^{abc}	5.48±3.37^{abc}	9.14±3.76^{abcd}	8.62±3.34^{a}	4.19±2.16^{abcd}
PFAN	6.29±2.65^{abcd}	8.86±3.28^{b}	7.33±3.14^{a}	5.10±3.45^{a}	4.71±3.54^{abcdef}	8.10±3.82^{bcd}	6.71±3.02^{ab}	4.57±2.87^{abc}
PNFA	7.52±2.77^{ab}	11.81±2.06^{a}	7.76±2.53^{a}	3.19±2.73^{bc}	3.33±2.67^{cdefg}	10.76±3.11^{a}	6.71±2.59^{ab}	3.29±1.93^{bcd}
PNAF	4.52±3.36^{d}	8.10±3.22^{b}	7.33±4.18^{a}	2.67±2.06^{c}	2.62±2.60^{fg}	8.29±2.83^{abcd}	6.29±3.69^{ab}	2.86±2.06^{cd}
PANF	5.24±3.78^{bcd}	8.90±4.71^{b}	6.90±3.28^{a}	2.67±2.63^{c}	3.14±2.13^{defg}	8.76±4.12^{abcd}	5.95±3.51^{b}	3.10±2.72^{bcd}
PAFN	5.95±3.52^{abcd}	8.95±3.54^{b}	7.32±3.38^{a}	2.95±2.50^{bc}	3.42±2.91^{bcdefg}	8.95±3.21^{abcd}	7.26±1.97^{ab}	3.47±3.04^{abcd}
AFNP	7.76±2.51^{a}	9.57±3.30^{ab}	7.52±3.43^{a}	4.14±2.46^{abc}	4.90±3.30^{abcde}	7.90±3.96^{bcd}	7.19±2.82^{ab}	4.90±3.00^{ab}
AFPN	5.33±3.12^{bcd}	8.10±3.96^{b}	6.76±3.49^{a}	5.05±2.29^{a}	5.67±2.76^{a}	7.38±3.63^{cd}	6.14±3.02^{b}	5.24±2.47^{a}
ANFP	7.10±2.32^{abc}	9.00±2.70^{b}	7.67±2.92^{a}	4.10±2.77^{abc}	4.67±3.53^{abcdef}	8.00±2.47^{bcd}	6.81±3.30^{ab}	4.62±2.50^{abc}
ANPF	5.90±3.51^{abcd}	8.48±3.11^{b}	7.52±3.82^{a}	3.19±1.86^{bc}	3.05±3.15^{defg}	8.71±3.04^{abcd}	6.62±2.75^{ab}	2.95±1.94^{bcd}
APFN	5.71±3.26^{abcd}	9.52±3.34^{ab}	8.43±3.25^{a}	3.10±2.23^{bc}	3.71±2.31^{abcdefg}	8.95±3.31^{abcd}	7.38±3.17^{ab}	3.24±2.34^{bcd}
APNF	4.85±3.59^{cd}	9.80±3.37^{ab}	7.80±3.83^{a}	3.25±1.94^{bc}	3.45±3.05^{bcdefg}	9.55±3.50^{abc}	7.30±2.34^{ab}	3.70±2.23^{abcd}
NFAP	7.00±2.81^{abcd}	8.19±2.82^{b}	6.86±3.07^{a}	2.81±2.34^{bc}	5.52±3.11^{ab}	7.67±2.73^{cd}	7.10±3.08^{ab}	3.14±2.61^{bcd}
NFPA	5.95±2.94^{abcd}	8.62±3.14^{b}	7.76±3.65^{a}	4.43±3.30^{abc}	4.10±2.10^{abcdefg}	7.24±3.37^{cd}	7.05±2.99^{ab}	4.14±2.69^{abcd}
NAFP	6.86±2.65^{abcd}	9.76±3.21^{ab}	8.05±3.58^{a}	3.05±2.44^{bc}	4.05±3.25^{abcdefg}	9.10±3.18^{abcd}	7.52±3.67^{ab}	3.76±2.32^{abcd}
NAPF	5.05±2.84^{cd}	8.52±3.14^{b}	7.33±3.95^{a}	2.86±2.65^{bc}	2.48±2.68^{g}	8.38±3.06^{abcd}	6.19±3.54^{b}	2.48±2.64^{d}
NPFA	6.20±4.62^{abcd}	9.50±3.22^{ab}	7.95±3.56^{a}	2.70±2.36^{c}	3.20±3.19^{defg}	8.90±3.31^{abcd}	7.10±3.93^{ab}	3.10±2.97^{bcd}
NPAF	5.57±3.25^{abcd}	10.14±3.50^{ab}	7.90±3.60^{a}	3.10±2.62^{bc}	2.86±2.56^{efg}	9.76±3.83^{abc}	7.38±2.50^{ab}	3.67±3.09^{abcd}
PC 1[4)]	0.413	0.435	0.466	0.118	0.244	0.286	0.490	0.166
PC 2	0.155	0.233	0.169	0.489	-0.436	-0.436	-0.026	0.508

[1)]These abbreviations correspond to Table 2 and Fig. 1.
[2)]Mean±standard deviation of sensory scores (n=10).
[3)]The comparable values ($\alpha<0.05$) of same column are indicated by same superscript alphabets.
[4)]PC represents principal component factor loading for sensory descriptors.

은 연구가 진행된 바 있다. Komai 등(18)은 효소적 가수분해를 통해 쓴맛을 줄이는 연구를 진행하였고, Cheison 등(19)은 가공 방법을 이용하여 쓴맛을 줄이는 연구를 진행하였다. Ogawa 등(20)은 쓴맛을 나타내는 peptide는 bioactive 특성을 갖는 hydrophobic 특성이 있는 경우가 많으므로 기능성을 살리고 쓴맛을 줄이는 방법으로는 bitter taste receptor cell(T2R)과 쓴맛 물질에 인식되지 못하게 inhibitor를 이용하는 방법에 대하여 연구하기도 하였다. 본 연구에서 쓴맛을 내는 peptide는 아미노산 서열 및 hydrophobic 특성에 따라 달라지므로 효소처리 방법을 달리하여 쓴맛 peptide 형성을 줄이거나 다른 물질을 이용하여 은폐할 방법에 대한 연구가 필요함을 알 수 있었다.

짠맛 후미에서는 PNFA(10.76±3.11)가 가장 통계적으로 유의차를 나타내며 높은 값을 나타내었고, FPNA(10.24±2.72), NPAF(9.76±3.83), APNF(9.55±3.50) 처리구가 다음으로 높은 값을 나타내어 짠맛이 높으면 짠맛 후미도 높아짐을 알 수 있었다.

감칠맛 후미에서는 PFNA(8.62±3.34)가 통계적으로 유의차를 나타내며 가장 높은 값을 나타내었고, FAPN(6.14±3.15), PANF(5.95±3.51), AFPN(6.14±3.02), NAPF(6.19±3.54) 처리구에서는 낮은 값을 나타내었다.

떫은맛 후미에서는 AFPN(5.24±2.47) 처리구에서 가장 높은 값을 나타내었으며 NAPF(2.48±2.64) 처리구에서 가장 낮은 값을 나타내었다. 떫은맛 후미 또한 떫은맛의 평가 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

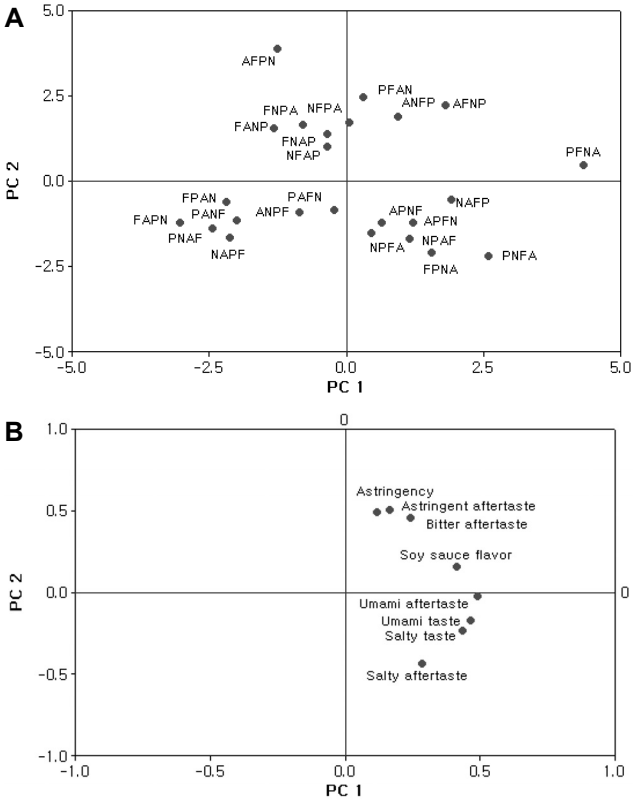

Fig. 1. Plot of PCA results of sensory analysis according to various enzyme treatment. PC1 compared to PC2 scatter plot of the enzyme treatment (A) between sensory descriptors (B). Abbreviations correspond to Tables 2 and 3.

EHVP의 관능평가 주성분 분석 결과

관능평가 묘사분석 결과에서 변수가 많아 주성분 분석을 하여 주성분 1(PC 1)과 주성분 2(PC 2)로 변수를 줄여 결과를 분석하였다. PC 1의 기여율은 39%, PC 2의 기여율은 37%였으며 PC 2까지 누적기여율은 77%로 두 개의 주성분을 분석하기로 하였다. PC 1에 높은 양의 상관성을 갖는 용어로는 soy sauce flavor, salty taste, umami taste, umami aftertaste 등이 있으며, PC 2에 양의 상관성이 높은 용어로는 astringency와 astringency aftertaste, bitter aftertaste가 있고 음의 상관성이 높은 용어로는 salty aftertaste가 있다. 주성분과 효소 처리구 사이의 관계를 plot하여 Fig. 1A에 표시하였고, 주성분과 용어 사이의 관계를 plot 하여 Fig. 1B에 표시하였다. 따라서 1사분면에 속하는 EHVP는 쓰고 떫은 특징이 강하고, 2사분면과 3사분면에 있는 시료들은 특징이 잘 정해지지 않는 EHVP임을 알 수 있으며, 4사분면에 있는 EHVP는 짜고 감칠맛을 갖는 특징을 갖는다. 따라서 PNFA, NAFP, APFN, NPAF, FPNA, NPFA, APNF 처리구는 짜고 감칠맛 나는 맛을 낼 수 있는 효소처리법임을 알 수 있었다. Kim 등(21)은 콩에서 분리된 감칠맛 성분인 Glu-Asp, Glu-Glu, Glu-Ser, Asp-Glu-Ser, Glu-Gly-Ser과 같은 umami peptides는 쓴맛을 인지하는 bitter taste receptors에 noncompetitive manner를 나타내며 쓴맛을 감소시키는 역할을 하였다고 보고하였다. 본 실험에서도 4사분면에 있는 용어는 umami와 salty가 주 용어이며 bitter에 대해서는 상관성이 없는 것으로 보아 PNFA, NAFP, APFN, NPAF, FPNA, NPFA, APNF 처리에 의해 지미 성분과 짠 성분의 peptide가 다량 형성되었거나, 생성된 지미 성분들이 쓴맛을 감소시켰을 것으로 판단된다.

관능특성 분석에서 PNFA(11.81±2.06)가 통계적으로 유의차를 나타내며 높은 값을 나타내었고, FPNA(10.00±2.81), APNF(9.80±3.37), NAFP(9.76±3.21), APFN(9.52±3.34), NPFA(9.50±3.22), NPAF(10.14±3.50)는 짠맛이 강하게 나타나는 처리구였는데 AFNP(9.57±3.30)는 관능특성에서 강한 짠맛을 나타냈으나 떫고 쓴맛도 강한 특성을 나타내어 바람직한 효소처리 방법은 아닌 것으로 판단된다.

이번 연구에서는 효소처리 방법을 달리하였을 때 짠맛을 생성할 수 있는 효소 분해 방법을 확인하기 위한 실험이었으며 앞으로 이때 발생된 짠맛 성분이 무엇인지 확인하는 실험이 더 연구될 필요가 있다.

요 약

식물성 단백질 급원인 탈지대두박에 Flavourzyme®(F),

Neutrase®(N), Alcalase®(A), Protamex®(P)의 단백질 분해효소를 작용시켰을 때 짠맛을 많이 생성하는 조건을 확인하고자 하였다. 효소처리 순서를 달리하여 제조한 enzyme hydrolyzed vegetable protein의 고형분 함량은 1차 Neutrase®(N), 2차 Alcalase®(A), 3차 Flavourzyme®(F), 4차 Protamex®(P)를 처리한 NAFP 처리구에서 5.60%로 가장 높은 값을 나타내었으나 고형분 함량에서는 효소의 처리 순서가 큰 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다. 아미노태 질소 함량은 24개의 처리구들 중에서 ANFP(102.76 mg%)와 APNF(102.85 mg%) 처리구가 통계적으로 높은 값을 나타내었다. 정량묘사분석 결과 짠맛은 PNFA(11.81) 처리구가 통계적으로 유의차를 나타내며 높은 값을 나타내었고, NPAF(10.14), FPNA(10.00), APNF(9.80), NAFP(9.76), AFNP(9.57), APFN(9.52), NPFA(9.50) 처리구가 처리구간에 통계적으로 유의차를 나타내지 않으며 다음으로 높은 값을 나타내었다. 감칠맛은 모든 처리구에서 통계적으로 유의차를 나타내지 않았다. 쓴맛 후미는 AFPN(5.67) 처리구가 가장 높은 값을 나타내었으며 FAPN(2.38), PNAF(2.62), NAPF(2.48) 처리구에서 낮은 값을 나타내었다. 관능평가 묘사분석 결과를 주성분 분석한 결과 PNFA, NAFP, APFN, NPAF, FPNA, NPFA, APNF 처리구는 짜고 감칠맛 나는 맛을 낼 수 있는 효소처리법이었다. 따라서 이들 효소의 처리 순서가 짜고 감칠맛 나는 식물단백효소 분해물의 제조에 바람직한 방법임을 알 수 있었다.

REFERENCES

1. Nagodawithana T. 1992. Yeast-derived flavors and flavor enhancers and their probable mode of action. *Food Technol* 46: 138-144.
2. Chen J, Wang Z. 2006. Determination of 3-monochloropropane-1,2-diol in hydrolyzed vegetable proteins and soy by solid phase extraction and gas chromatography/negative chemical ionization-mass spectrometry. *Chin J Chromatogr* 24: 447-450.
3. Chae HJ, In MJ, Kim MH. 1997. Optimization of enzymatic treatment for the production of hydrolyzed vegetable protein. *Korean J Food Sci Technol* 29: 1125-1130.
4. Sano A, Satoh T, Oguma T, Nakatoh A, Satoh J, Ohgawara T. 2007. Determination of levulinic acid in soy sauce by liquid chromatography with mass spectrometric detection. *Food Chem* 105: 1242-1247.
5. Lee CH, Kim CS, Lee SP. 1984. Studies on the enzymatic partial hydrolysis of soybean protein isolates. *Korean J Food Sci Technol* 16: 228-234.
6. Yoon SH, Lee JK, Nam HS, Lee HJ. 1994. Formation of meatlike flavors by Maillard reaction using hydrolyzed vegetable protein (HVP). *Korean J Food Sci Technol* 26: 781-786.
7. Wu YF, Beak HH, Gerard PD, Cadwallader KR. 2000. Development of meat-like process flavoring from soybean-based enzyme-hydrolyzed vegetable protein (E-HVP). *J Food Sci* 65: 1220-1227.
8. http://www.novozymes.com/en/solutions/food-and-beverages/meat-processing (accessed Apr 2016).
9. Park MK. 2011. Effect of enzymatic hydrolysis by proteases on antioxidant activity of *Chungkukjang*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 327-333.
10. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KY, Oh MH, Oh SH. 2000. *Standard food analytics*. Jigu Publishing Co., Seoul, Korea. p 460-463.
11. Stone H, Sidel JL. 1993. *Sensory evaluation*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA, USA. p 202-242.
12. Nakata T, Takahashi M, Nakatani M, Kuramitsu R, Tamura M, Okai H. 1995. Role of basic and acidic fragments in delicious peptides (Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala) and the taste behavior of sodium and potassium salts in acidic oligopeptides. *Biosci Biotechnol Biochem* 59: 689-693.
13. Rhyu MR, Kim EY. 2011. Umami taste characteristics of water extract of Doenjang, a Korean soybean paste: Low-molecular acidic peptides may be a possible clue to the taste. *Food Chem* 127: 1210-1215.
14. Lioe HN, Takara K, Yasuda M. 2006. Evaluation of peptide contribution to the intense umami taste of Japanese soy sauces. *J Food Sci* 71: S277-S283.
15. Ishibashi N, Ono I, Kato K, Shigenaga T, Shinoda I, Okai H, Fukui S. 1988. Role of the hydrophobic amino-acid residue in the bitterness of peptides. *Agric Biol Chem* 52: 91-94.
16. Ishibashi N, Kouge K, Shinoda I, Kanehisa H, Okai H. 1988. A mechanism for bitter taste sensibility in peptides. *Agric Biol Chem* 52: 819-827.
17. Shinoda I, Fushimi A, Kato H, Okai H, Fukui S. 1985. Bitter taste of synthetic C-terminal tetradecapeptide of bovine beta-casein, H-PRO196-Val-Leu-Gly-Pro-Val-Arg-Gly-Pro-Phe-Pro-Ile-Ile-Val209-OH, and its related peptides. *Agric Biol Chem* 49: 2587-2596.
18. Komai T, Kawabata C, Tojo H, Gocho S, Ichishima E. 2007. Purification of serine carboxypeptidase from the hepatopancreas of Japanese common squid *Todarodes pacificus* and its application for elimination of bitterness from bitter peptides. *Fisheries Sci* 73: 404-411.
19. Cheison SC, Wang Z, Xu SY. 2007. Preparation of whey protein hydrolysates using a single- and two-stage enzymatic membrane reactor and their immunological and antioxidant properties: characterization by multivariate data analysis. *J Agric Food Chem* 55: 3896-3904.
20. Ogawa T, Hoshina K, Haginaka J, Honda C, Tanimoto T, Uchida T. 2005. Screening of bitterness-suppressing agents for quinine: the use of molecularly imprinted polymers. *J Pharm Sci* 94: 353-362.
21. Kim MJ, Son HJ, Kim Y, Misaka T, Rhyu MR. 2015. Umami-bitter interactions: the suppression of bitterness by umami peptides via human bitter taste receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 456: 586-590.