



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년04월04일
(11) 등록번호 10-2381965
(24) 등록일자 2022년03월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 27/10 (2016.01) A23D 7/005 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01) A23L 13/40 (2016.01)
A23L 2/66 (2006.01) A23L 27/26 (2016.01)
A23L 5/20 (2022.01) C12G 3/04 (2019.01)
- (52) CPC특허분류
A23L 27/10 (2016.08)
A23D 7/005 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7021561
- (22) 출원일자(국제) 2014년01월13일
심사청구일자 2019년01월08일
- (85) 번역문제출일자 2015년08월10일
- (65) 공개번호 10-2015-0105650
- (43) 공개일자 2015년09월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2014/011361
- (87) 국제공개번호 WO 2014/110539
국제공개일자 2014년07월17일
- (30) 우선권주장
61/751,816 2013년01월11일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
KR1020090009990 A*
J. Agric. Food Chem.. Vol.54, pp.1518-1522,
2006년*
Meat. Sci. vol.77, pp.63-80, 2007년*
US03870801 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
임파서블 푸즈 인크.
미국 94063 캘리포니아 레드우드 시티 새기노 드
라이브 400
- (72) 발명자
별릭, 마리아
미국 94403 캘리포니아주 산 마테오 웨스트 25쓰
에비뉴 461
솔로마틴, 세르게이
미국 94040 캘리포니아주 마운틴 뷰 힐우드 코트
422
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 김보림

(54) 발명의 명칭 소비재를 위한 방법 및 조성물

(57) 요약

비-육류 소비재 제품의 제조를 위한 방법 및 조성물이 본원에 기재되어 있다. 근육 유사물, 지방 유사물, 및 결합 조직 유사물로 구축된 육류 대응물이 기재되어 있다.

(52) CPC특허분류

A23L 13/426 (2016.08)
A23L 2/66 (2013.01)
A23L 27/26 (2016.08)
A23L 33/185 (2016.08)
A23L 5/27 (2016.08)
C12G 3/04 (2021.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2250/1842 (2013.01)
A23V 2250/548 (2013.01)

(72) 발명자

프레이저, 레이첼

미국 94110 캘리포니아주 샌 프란시스코 24쓰 스트리트 3653 아파트먼트 2

브라운, 패트릭 오' 레일리

미국 94305 캘리포니아주 스탠포드 피터 코츠 씨클 76

카르, 제시카

미국 94107 캘리포니아주 샌 프란시스코 칸사스 스트리트 456

홀츠-샤이팅게르, 셀레스테

미국 94303 캘리포니아주 이스트 팔로 알토 세이지 스트리트 1159

아이젠, 마이클

미국 94703 캘리포니아주 버클리 맥기 애비뉴 2408

바라단, 란자니

미국 94536 캘리포니아주 프레몬트 스킨톤 코트 1580

(30) 우선권주장

13/941,211 2013년07월12일 미국(US)
61/908,634 2013년11월25일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

소비재 제품에 헴-함유 단백질을 첨가하여 헴-함유 소비재 제품을 만드는 것을 포함하며,
 여기서 상기 헴-함유 소비재 제품을 조리하는 것이 상기 헴-함유 소비재 제품에 소고기-유사 풍미를 부여하고,
 상기 소비재 제품이 가금류, 돼지고기, 또는 어류 조성물이고,
 상기 헴-함유 단백질이 비-동물 공급원으로부터의 것인,
 소비재 제품에 소고기 유사 풍미를 부여하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 소비재 제품이 가금류인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 소비재 제품이 분쇄 닭고기인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 소비재 제품이 돼지고기인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 소비재 제품이 어류 조성물인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소비재 제품에 헴-함유 단백질을 첨가하는 것이 헴-함유 단백질 포함 용액을 소비재 제품에 주사하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헴-함유 단백질이 비-소고기 포유동물, 식물, 진균, 박테리아, 조류 또는 원충으로부터의 것인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헴-함유 단백질이 헤모글로빈 또는 레그헤모글로빈의 비-공생 유형인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헴-함유 단백질이 안드로글로빈, 시토글로빈, 글로빈 E, 글로빈 X, 글로빈 Y, 헤모글로빈, 레그헤모글로빈, 플라보헤모글로빈, 헬스 게이트 글로빈 I, 미오글로빈, 에리트로 크루오린, 베타 헤모글로빈, 알파 헤모글로빈, 프로토클로빈, 시아노글로빈, 시토글로빈, 히스토글로빈, 뉴로글로빈, 클로로크루오린, HbN 및 HbO를 포함하는 말단절단형 헤모글로빈, 말단절단형 2/2 글로빈, G1b3을 포함하는 헤모글로빈 3, 시토크롬 또는 퍼옥시다제인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헴-함유 단백질이 서열 1-27에 기재된 아미노산 서열 중 어느 하나를 갖는 것인 방법.

청구항 11

소비재 제품에 헴-함유 단백질을 첨가하는 것을 포함하며,
 여기서 상기 헴-함유 소비재 제품을 조리하는 것이 상기 소비재 제품에 소고기 유사 풍미를 부여하고,
 상기 소비재 제품이 가금류, 돼지고기, 또는 어류 조성물이고,
 상기 헴-함유 단백질이 레그헤모글로빈인,
 소비재 제품에 소고기 유사 풍미를 부여하는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 레그헤모글로빈이 재조합 레그헤모글로빈인 방법.

청구항 13

소비재 제품에 헴-함유 단백질을 첨가하는 것을 포함하며,
 여기서 상기 헴-함유 소비재 제품을 조리하는 것이 상기 소비재 제품에 소고기 유사 풍미를 부여하고,
 상기 소비재 제품이 가금류이고,
 상기 헴-함유 단백질이 레그헤모글로빈인,
 소비재 제품에 소고기 유사 풍미를 부여하는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 가금류가 분쇄 닭고기를 포함하는 것인 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 레그헤모글로빈이 재조합 레그헤모글로빈인 방법.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 소비재 제품이 적어도 0.01%의 헴-함유 단백질을 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 소고기 유사 풍미가 프로판알, 부탄알, 2-에틸-푸란, 헵탄알, 옥탄알, 트랜스-2-(2-펜텐일)푸란, (Z)-2-헵텐알 (E)-2-옥텐알 피롤, 2,4-도데카디엔알, 1-옥탄알, (Z)-2-데칸알, 및 2-운데센알 중 하나 이상을 포함하는 것인 방법.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본원은 2013년 7월 12일에 출원된 미국 출원 일련 번호 13/941,211, 2013년 11월 25일에 출원된 미국 출원 일련 번호 61/908,634, 및 2013년 1월 11일에 출원된 미국 출원 일련 번호 61/751,816을 우선권 주장하고; 하기 동시-계류 중인 특허 출원: 출원 일련 번호 PCT/US12/46560; 출원 일련 번호 PCT/US12/46552; 2013년 9월 11일에 출원된 출원 일련 번호 61,876,676; 2013년 1월 11일에 출원된 출원 일련 번호 61/751,818, 및 2012년 3월 16일에 출원된 출원 일련 번호 61/611,999에 관한 것이며, 이들은 모두 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 기술분야
- [0004] 본 발명은 소비재 제품, 보다 특히, 일부 실시양태에서 비-동물 물질을 그의 구성 부분으로 파단하고 그 부분을 소비재로 재어셈블리함으로써 제조할 수 있는, 동물-기반 식제품의 비-동물 기반 모조물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0005] 동물 사육은 심각한 부정적 환경 영향을 갖는다. 현재, 지구 지표면의 30%가 동물 사육 전용으로 사용되고, 가축이 총 육상 동물 바이오매스의 20%를 차지하는 것으로 추정된다. 이러한 거대한 규모로 인해 동물 사육은 순온실 가스 배출의 18% 초과를 차지한다. 동물 사육은 가장 큰 인간 물 오염원일 수 있고, 동물 사육은 단연 생물다양성에 대한 세계의 가장 큰 위협이다. 세계 인구가 육류 함유 식이에서 동물 제품 무함유 식이로 이동할 수 있다면, 지구 지표면의 26%가 다른 용도로 사용될 것으로 추정된다. 또한, 채식 식이로의 이동은 물 및 에너지 소비를 크게 감소시킬 것이다.
- [0006] 육류의 소비는 인간 건강에 대해 심각한 부정적 영향을 갖는다. 채식 식이의 건강 이익은 널리 확립되어 있다. 인구가 더욱 채식 식이로 이동한다면, 건강 관리 비용이 감소될 것이다.
- [0007] 세계 4대 주요 상품 작물 (대두, 옥수수, 밀 및 벼)이 이미 칼로리 및 모든 필수 아미노산을 비롯한 단백질에 대한 인구의 요구량을 100% 초과하여 공급되고 있음에도 불구하고, 기아는 전세계적 문제이다.
- [0008] 식물 기반 육류 대용물은 채식 식이로의 이동을 거의 유발하지 못했다. 육류 대용 조성물에 대한 최신 기술 현황은 대두/곡물 혼합물의 압출을 수반하며, 이는 육류의 조리 및 섭취 경험을 거의 모조하지 못한 제품을 생성한다. 이들 제품의 공통적 한계는 동등한 육류 제품보다 더 균질한 텍스처 및 구강촉감이다. 또한, 제품이 거의 인공 풍미 및 향미를 가미하여 미리-조리된 상태로 판매되어야 하기 때문에, 이들은 향미, 풍미, 및 조리 육류와 연관된 다른 주요 특징을 모조하지 못한다. 그 결과, 이들 제품은 주로 이미 채식주의/완전 채식주의 입장에 있는 제한된 소비자 기반의 마음을 끌었으나, 육류 섭취에 익숙한 보다 큰 소비자 계열의 마음을 끌지는 못했다.
- [0009] 식품은 영양 또는 즐거움을 위해 인간을 비롯한 임의의 동물에 의해 섭취되거나 음용되는 임의의 물질이다. 이는 통상적으로 식물 또는 동물 기원이고, 탄수화물, 지방, 단백질, 비타민 또는 미네랄과 같은 필수 영양소를 함유한다. 물질은 유기체에 의해 섭취되고, 에너지를 생산하거나, 삶을 유지하거나, 또는 성장을 자극하기 위해 유기체의 세포에 의해 동화된다.
- [0010] 식품은 전형적으로 광합성 유기체에서, 전형적으로는 식물로부터 그의 기원을 갖는다. 일부 식품은 식물로부터 직접 수득되지만; 식품 공급원으로서 사용되는 동물조차도 식물로부터 유래된 식품을 공급받아 사육된다. 식용 진균 및 박테리아는 식물 또는 동물로부터의 물질을 다른 식제품, 버섯, 빵, 요구르트 등으로 변환시키는데 사용된다.
- [0011] 대부분의 경우에, 식물 또는 동물은 식품의 목적에 따라 다양한 다른 부분으로 분할된다. 종종, 식물의 특정 부분, 예컨대 종자 또는 과일은 다른 것들보다 인간에 의해 더 높은 가치로 평가되고, 다른 덜 바람직한 부분,

예컨대 화본의 줄기는 전형적으로 동물에의 공급에 사용되는 반면에 이들은 인간 소비를 위해 선택된다.

- [0012] 동물은 전형적으로 소비 전 특정 풍미 및 취급 특성에 의해 더 작은 육류 조각으로 도축된다.
- [0013] 많은 식품이 미가공인 채로 섭취될 수 있지만, 많은 식품은 또한 안전성, 식미성, 텍스처 또는 풍미의 이유로 몇몇 제조 형태를 거친다. 가장 간단한 수준에서, 이는 세척, 절단, 트리밍, 또는 다른 식품 또는 성분 첨가를 수반할 수 있다. 이는 또한 혼합, 가열 또는 냉각, 또는 발효를 수반할 수 있고, 개개의 식품은 목적하는 특성의 혼합체를 달성하기 위해 다른 식제품과 조합될 수 있다.
- [0014] 최근 몇 해, 식품 과학 및 분자 요리학 분야에서 식품 제조 과정에 과학적 엄격성을 부여하기 위한 시도가 이루어져 왔다. 식품 과학은 넓게는 식품 제조의 안전성, 미생물학, 보존, 화학, 공학 및 물리학을 연구하는 것인데 비해, 분자 요리학은 식제품을 예상치 못한 형태로 변환시키기 위한 과학적 도구, 예컨대 액체 질소, 유화제, 예컨대 대두 레시틴 및 겔화제, 예컨대 알긴산칼슘의 사용에 초점을 둔다.
- [0015] 그러나, 원료는 전형적으로 전체 유기체 (식물 또는 동물) 또는 단리된 조직, 예컨대 스테이크, 진균의 자실체, 또는 식물의 종자이다. 일부 경우에, 단리된 조직은 식품 제조, 예컨대 밀가루 제조 또는 종자로부터의 오일 및 벌크 단백질 단리 전 변형된다.
- [0016] 이러한 모든 품목이 단백질, 탄수화물, 지방, 비타민 및 미네랄의 혼합물을 포함한다는 사실에도 불구하고, 원래의 식물 또는 동물 내 이들 물질의 물리적 배열은 식물 또는 동물 조직이 놓이게 될 용도를 결정한다. 본원은 소비재의 제조를 위한 개선된 방법 및 조성물을 개시한다.

발명의 내용

- [0017] 본원은 소비재 제품 및 그를 제조하는 방법을 제공한다. 소비재는 예를 들어 주로 식물 또는 완전 식물 기반 단백질 및/또는 지방을 함유하는 비-동물 기반 소비재 물품일 수 있고, 음료 (예를 들어, 알콜 음료, 예컨대 크림 리큐어 또는 단백질 드링크), 단백질 보충제, 베이킹 제품 (예를 들어, 빵 또는 쿠키), 조미료 (예를 들어, 마요네즈, 머스타드), 육류 제품 또는 육류 대응 제품 (예를 들어, 분쇄 소고기 제품) 형태일 수 있다. 예를 들어, 단백질 드링크는 식사 대응 음료, 단백질로 보충된 맥주, 또는 단백질로 보충된 증류 알콜 음료 (예를 들어, 보드카 또는 럼)일 수 있다. 조미료는 마요네즈일 수 있다. 육류 제품은 근육 모조물, 식물-기반 지방 및/또는 결합 조직을 포함할 수 있는 파테, 소시지 또는 육류 대응물일 수 있다. 1종 이상의 단백질을 포함하는 코아세르베이트는 소비재 제품 (예를 들어, 분쇄 소고기 제품)에서 성분이 서로 결합되도록 돕는데 사용될 수 있다.
- [0018] 따라서, 본원은 단리 및 정제된 식물 단백질을 포함하는 소비재 제품을 제공하며, 여기서 단리 및 정제된 식물 단백질은 (i) 약 2°C 내지 약 32°C의 온도에서 적어도 25 g/L의 용액 중 용해도를 가지며, 여기서 용액은 3 내지 8의 pH를 갖고, 0 내지 300 mM의 염화나트륨 함량을 갖는 것이거나 또는 (ii) 90°C 내지 110°C의 온도에서 적어도 1 mg/ml의 용액 중 용해도를 가지며, 여기서 용액은 5 내지 8의 pH를 갖고, 0 내지 300 mM의 염화나트륨 함량을 갖는 것이다. 일부 실시양태에서, 소비재 제품은 음료, 단백질 보충제, 베이킹 제품, 조미료, 육류 제품 또는 육류 대응 제품이다. 일부 실시양태에서, 음료는 알콜 음료 또는 단백질 드링크이다. 일부 실시양태에서, 알콜 음료는 크림 리큐어이다. 크림 리큐어는 비-낙농 지질 에멀전을 추가로 포함할 수 있으며, 여기서 크림 리큐어는 동물 제품 무함유이다. 일부 실시양태에서, 단백질 드링크는 식사 대응 음료, 상기 단백질로 보충된 맥주, 또는 단백질로 보충된 증류 알콜 음료이다. 조미료는 마요네즈 모조물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 육류 제품은 파테, 소시지 모조물 또는 육류 대응물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 적어도 10 kDa 크기이다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 완전 변성된 것이 아니다. 일부 경우에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 대두로부터 유래된 것이 아니다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 루비스코, 녹두 8S 글로불린, 완두 글로불린, 완두 알부민, 렌틸 단백질, 제인 또는 올레오신 중 1종 이상을 포함한다.
- [0019] 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 데히드린, 히드로필린, 고유 무질서 단백질, 또는 식품에 필적하는 pH 및 염 농도에서 비등한 후에 가용성을 유지하는 그의 능력을 기반으로 하여 확인된 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 소비재 제품은 식물 유래 지질 또는 미생물-유래 지질을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 소비재 제품은 제2의 단리 및 정제된 단백질 및/또는 조미제, 풍미제, 유화제, 겔화제, 당, 또는 섬유를 추가로 포함한다.
- [0020] 본 개시내용은 또한 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질을 포함하는 코아세르베이트를 포함하는 소비재 제품을

제공한다. 일부 실시양태에서, 소비재 제품은 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 소비재 제품은 식물 유래 지질 또는 미생물-유래 지질을 추가로 포함한다. 식물 유래 지질 또는 미생물-유래 지질은 레시틴 및/또는 오일을 포함할 수 있다. 제품은 최대 약 1 중량%의 레시틴을 포함할 수 있다. 제품은 레시틴 및 오일을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 오일은 카놀라 오일, 팜 오일 또는 코코아 버터이다. 제품은 약 1% 내지 약 9%의 오일을 포함할 수 있다. 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 식물 단백질을 포함할 수 있다. 1종 이상의 식물 단백질은 1종 이상의 완두 단백질, 병아리콩 단백질, 렌틸 단백질, 루핀 단백질, 다른 콩과식물 단백질 또는 그의 혼합물을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 완두 단백질은 레구민, 비실린, 콘비실린 또는 그의 혼합물이다.

[0021] 본 개시내용은 또한 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질을 포함하는 근육 모조물, 결합 조직 모조물, 지방 조직 모조물, 및 코아세르베이트를 포함하는 육류 모조물을 제공한다. 코아세르베이트는 식물-유래 지질 또는 미생물-유래 지질을 추가로 포함할 수 있다. 식물 유래 지질 또는 미생물-유래 지질은 레시틴 및/또는 오일일 수 있다. 육류 모조물은 분쇄 소고기 모조물일 수 있다.

[0022] 또한, 비-동물 공급원으로부터의 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질 및 염을 포함하는 저온 경화 겔을 포함하는 소비재 제품이 제공된다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 루비스코, 녹두 8S 글로불린, 완두 글로불린, 완두 알부민, 렌틸 단백질, 제인 또는 올레오신 중 1종 이상을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 데히드린, 히드로필린 또는 고유 무질서 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 저온 경화 겔은 식물 유래 지질 또는 미생물 유래 지질을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 식물 유래 지질 또는 미생물 유래 지질은 레시틴 및/또는 오일이다.

[0023] 본 개시내용은 1종 이상의 단리된 식물 단백질, 1종 이상의 식물 또는 조류 유래 오일, 및 임의로 인지질을 포함하는 지방 조직 모조물을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 인지질은 레시틴이다. 일부 실시양태에서, 식물 기반 오일은 옥수수 오일, 올리브 오일, 대두 오일, 땅콩 오일, 호두 오일, 아몬드 오일, 참깨 오일, 목화씨 오일, 평지씨 오일, 카놀라 오일, 홍화 오일, 해바라기 오일, 아마씨 오일, 팜 오일, 팜핵 오일, 코코넛 오일, 바바수 오일, 시어 버터, 망고 버터, 코코아 버터, 밀 배아 오일, 쌀겨 오일, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물의 지방 방출 온도는 23°C 내지 33°C, 34°C 내지 44°C, 45°C 내지 55°C, 56°C 내지 66°C, 67°C 내지 77°C, 78°C 내지 88°C, 89°C 내지 99°C, 100°C 내지 110°C, 111°C 내지 121°C, 122°C 내지 132°C, 133°C 내지 143°C, 144°C 내지 154°C, 155°C 내지 165°C, 166°C 내지 167°C, 168°C 내지 169°C, 170°C 내지 180°C, 181°C 내지 191°C, 192°C 내지 202°C, 203°C 내지 213°C, 214°C 내지 224°C, 225°C 내지 235°C, 236°C 내지 246°C, 247°C 내지 257°C, 258°C 내지 268°C, 269°C 내지 279°C, 280°C 내지 290°C 또는 291°C 내지 301°C이다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물의 지방 방출 퍼센트는 조리 시 0 내지 10%, 10% 내지 20%, 20% 내지 30%, 30% 내지 40%, 40% 내지 50%, 50% 내지 60%, 60% 내지 70%, 70% 내지 80%, 80% 내지 90% 또는 90% 내지 100%이다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 루비스코, 녹두 8S 글로불린, 완두 글로불린, 완두 알부민, 렌틸 단백질, 제인 또는 올레오신 중 1종 이상을 포함한다.

[0024] 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 약 40% 내지 약 90%의 오일을 포함한다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 약 1% 내지 약 6%의 단리 및 정제된 식물 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 약 0.05 내지 약 2%의 인지질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물의 경도는 소고기 지방 조직의 경도와 유사하다.

[0025] 또한, 헴-함유 단백질 및 (i) 일산화탄소 및/또는 (ii) 아질산염을 포함하는 소비재 제품이 제공되며, 여기서 소비재 제품은 육류를 포함하지 않는다. 일부 실시양태, 헴-함유 단백질은 조성물의 적어도 0.01%를 차지한다. 일부 실시양태에서, 소비재 제품은 1종 이상의 암모늄, 나트륨, 칼륨 또는 칼슘 염을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 가교된다.

[0026] 또한, 겔화 에멀전을 포함하는 소비재 제품이 제공되며, 여기서 겔화 에멀전은

[0027] a) 단리 및 정제된 단백질;

[0028] b) 소비재 제품 내에 있지 않은 경우에, 선택된 온도 범위에서 고체인 제1 지질; 및

[0029] c) 소비재 제품 내에 있지 않은 경우에, 상기 선택된 온도 범위에서 액체인 제2 지질을 포함하며;

[0030] 여기서 제1 및 제2 지질의 혼합물의 용융 온도는 육류에서 발견되는 지질의 용융 온도와 유사하고, 제1 및 제2

지질은 식물 유래 지질 또는 미생물 유래 지질이다.

- [0031] 본 개시내용은 또한
- [0032] a) 단리 및 정제된 식물 단백질을 포함하는 용액을 제조하는 단계로서, 여기서 단리 및 정제된 식물 단백질은 (i) 약 2°C 내지 32°C의 온도에서 적어도 25의 용액 중 용해도를 가지며, 여기서 용액은 3 내지 8의 pH를 갖고, 0 내지 300 mM의 염화나트륨 함량을 갖는 것이거나 또는 (ii) 90°C 내지 110°C의 온도에서 적어도 1 mg/ml의 용액 중 용해도를 가지며, 여기서 용액은 5 내지 8의 pH를 갖고, 0 내지 300 mM의 염화나트륨 함량을 갖는 것인 단계; 및
- [0033] b) 상기 용액을 음료에 첨가하는 단계
- [0034] 를 포함하는 소비재 제품을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0035] 일부 실시양태에서, 용액은 2종 이상의 단리 및 정제된 식물 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 음료는 투명하다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 용액 중 적어도 1 중량%의 농도로 존재한다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 루비스코, 녹두 글로불린, 대두 글로불린, 완두 글로불린, 완두 알부민, 프롤라민, 렌틸 단백질, 데히드린, 히드로필린 및 고유 무질서 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 상기 용액의 제조 전에 동결건조된다. 일부 실시양태에서, 음료는 단리 및 정제된 단백질이 없는 상응하는 음료와 비교하여 개선된 구강촉감을 갖는다.
- [0036] 또한, 육류-무함유 소비재 제품에 헴-함유 단백질을 첨가하는 것을 포함하며, 여기서 헴 함유 단백질은 동등한 저장 조건 하에서 미오글로빈보다 더 천천히 산화하는 것인, 육류-무함유 소비재 제품의 보관-수명을 연장하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 헴-함유 단백질은 서열 1-27 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0037] 또한,
- [0038] a) 비-동물 공급원으로부터의 적어도 1종의 단리 및 정제된 단백질을 포함하는 용액을, 상기 단리 및 정제된 단백질이 용액으로부터 침전되지 않는 조건 하에서 변성시키는 단계;
- [0039] b) 변성 단백질 용액에 임의의 열-불안정성 성분을 임의로 첨가하는 단계;
- [0040] c) 변성 단백질 용액의 이온 강도를 증가시킴으로써 약 4°C 내지 약 25°C에서 상기 용액을 겔화시켜 저온 경화 겔을 형성하는 단계; 및
- [0041] d) 저온 경화 겔을 육류 모조물에 혼입시키는 단계
- [0042] 를 포함하는, 저온 경화 겔을 포함하는 육류 모조물을 제조하는 방법이 제공된다.
- [0043] 일부 실시양태에서, 겔화는 5 내지 100 mM 염화나트륨 또는 염화칼슘을 사용하여 유도된다. 일부 실시양태에서, 열-불안정성 성분은 단백질 또는 지질 또는 그의 혼합물이다. 일부 실시양태에서, 단백질은 헴-함유 단백질이다. 일부 실시양태에서, 저온 경화 겔은 동결-정렬된 식물 단백질을 포함하는 매트릭스로 형성된다.
- [0044] 일부 실시양태에서, 비-동물 공급원으로부터의 단리 및 정제된 단백질은 식물 단백질이다. 일부 실시양태에서, 식물 단백질은 루비스코, 녹두 글로불린, 대두 글로불린, 완두 글로불린, 완두 알부민, 프롤라민, 렌틸 단백질, 데히드린, 히드로필린 및 고유 무질서 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0045] 또한,
- [0046] a) 단리 및 정제된 비-동물 단백질;
- [0047] b) 비-동물 지질; 및
- [0048] c) 비-동물 공급원으로부터 유래된 섬유를 포함하는 3차원 매트릭스로서, 상기 지질 및 상기 단백질이 3차원 매트릭스 내에 분산되고, 3차원 매트릭스는 지방 조직 모조물의 구조를 안정화시키는 것인 3차원 매트릭스
- [0049] 를 포함하는 지방 조직 모조물이 제공된다.
- [0050] 또한, 용액 방사 공정에 의해 섬유성 구조로 어셈블리된 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질을 포함하는 결합 조직 모조물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 섬유성 구조는 가교제에 의해 안정화된다.

- [0051] 본원은 소비재 조성물에 햄-함유 단백질을 첨가하는 것을 포함하며, 여기서 조리 후 소고기-유사 풍미가 소비재 조성물에 부여되는 것인, 소비재 제품에 소고기 유사 풍미를 부여하는 방법을 제공한다.
- [0052] 또한, 가금류 또는 어류 조성물에 각각 햄 단백질을 첨가하는 것을 포함하는, 소고기와 유사한 맛의 가금류 또는 어류 조성물을 제조하는 방법이 제공된다.
- [0053] 일부 실시양태에서, 햄-함유 단백질은 서열 1-27에 기재된 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해 적어도 70% 상동성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다.
- [0054] 또한,
- [0055] a) 1종 이상의 식물 단백질의 용액을 3.5 내지 5.5의 pH로 산성화시키며, 여기서 상기 용액은 100 mM 이하의 염화나트륨을 포함하는 것인 단계; 및
- [0056] b) 상기 용액으로부터 코아세르베이트를 단리하는 단계
- [0057] 를 포함하는, 코아세르베이트를 제조하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, pH는 4 내지 5이다. 일부 실시양태에서, 식물 단백질은 1종 이상의 완두 단백질, 병아리콩 단백질, 렌틸 단백질, 루핀 단백질, 다른 콩과식물 단백질 또는 그의 혼합물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 완두 단백질은 단리 및 정제된 레구민, 단리 및 정제된 비실린, 단리 및 정제된 콘비실린 또는 그의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 완두 단백질은 단리 및 정제된 비실린 및 단리 및 정제된 콘비실린을 포함한다. 일부 실시양태에서, 산성화시키는 단계는 식물 유래 지질 또는 미생물 유래 지질의 존재 하에 실시된다. 일부 실시양태에서, 식물 유래 지질 또는 미생물 유래 지질은 오일 및/또는 인지질을 포함한다.
- [0058] 본원은 1종 이상의 단리된 식물 단백질, 1종 이상의 식물 또는 조류 유래 오일, 및 임의로 인지질을 포함하는 에멀전을 형성하는 것을 포함하는, 지방 조직 모조물을 제조하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 인지질이 포함되는 경우에, 이는 레시틴이다. 일부 실시양태에서, 식물 기반 오일은 옥수수 오일, 올리브 오일, 대두 오일, 땅콩 오일, 호두 오일, 아몬드 오일, 참깨 오일, 목화씨 오일, 평지씨 오일, 카놀라 오일, 홍화 오일, 해바라기 오일, 아마씨 오일, 팜 오일, 팜핵 오일, 코코넛 오일, 바바수 오일, 시어 버터, 망고 버터, 코코아 버터, 밀 배아 오일, 쌀겨 오일, 및 그의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물의 지방 방출 온도는 23°C 내지 33°C, 34°C 내지 44°C, 45°C 내지 55°C, 56°C 내지 66°C, 67°C 내지 77°C, 78°C 내지 88°C, 89°C 내지 99°C, 100°C 내지 110°C, 111°C 내지 121°C, 122°C 내지 132°C, 133°C 내지 143°C, 144°C 내지 154°C, 155°C 내지 165°C, 166°C 내지 167°C, 168°C 내지 169°C, 170°C 내지 180°C, 181°C 내지 191°C, 192°C 내지 202°C, 203°C 내지 213°C, 214°C 내지 224°C, 225°C 내지 235°C, 236°C 내지 246°C, 247°C 내지 257°C, 258°C 내지 268°C, 269°C 내지 279°C, 280°C 내지 290°C 또는 291°C 내지 301°C이다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물의 지방 방출 퍼센트는 조리 시 0 내지 10%, 10% 내지 20%, 20% 내지 30%, 30% 내지 40%, 40% 내지 50%, 50% 내지 60%, 60% 내지 70%, 70% 내지 80%, 80% 내지 90% 또는 90% 내지 100%이다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 식물 단백질은 루비스코, 녹두 8S 글로불린, 완두 글로불린, 완두 알부민, 렌틸 단백질, 제인 또는 올레오신 중 1종 이상을 포함한다. 일부 실시양태에서, 에멀전은 약 40% 내지 약 90%의 오일을 포함한다. 일부 실시양태에서, 에멀전은 약 1% 내지 약 4%의 단리 및 정제된 식물 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 약 0.05 내지 약 1%의 인지질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 에멀전은 고압 균질화, 초음파처리 또는 수동 균질화에 의해 형성된다.
- [0059] 또한, 식물 단백질을 포함하는 조성물을 1종 이상의 리폭시게나제에 대해 친화도를 갖는 리간드와 접촉시키는 것을 포함하는, 상기 조성물에서 바람직하지 않은 냄새 또는 풍미를 최소화하는 방법이 제공된다.
- [0060] 또한, 식물 단백질을 포함하는 조성물을 활성탄과 접촉시킨 다음에 조성물로부터 활성탄을 제거하는 것을 포함하는, 상기 조성물에서 바람직하지 않은 냄새 또는 풍미를 최소화하는 방법이 제공된다.
- [0061] 또한, 식물 단백질을 포함하는 조성물에 리폭시게나제 억제제 및/또는 항산화제를 첨가하는 것을 포함하는, 상기 조성물에서 바람직하지 않은 냄새 또는 풍미를 최소화하는 방법이 제공된다.
- [0062] 본 개시내용은
- [0063] a) 당,
- [0064] b) 초콜릿 풍미제, 및

- [0065] c) 식물 기반 유액으로부터의 크림 분획
- [0066] 을 포함하는 초콜릿 풍미 스프레드를 추가로 제공한다.
- [0067] 본원은 낮은 변성 온도를 갖는 1종 이상의 식물 단백질을 소비재 내에 혼입시키는 것을 포함하는, 조리 동안 또는 조리 후의 소비재의 텍스처를 변경시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 식물 단백질 중 적어도 1종이 단리 및 정제된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 식물 단백질은 루비스코, 완두 단백질, 렌틸 단백질 또는 다른 콩과식물 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 완두 단백질은 완두 알부민 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 소비재는 조리 동안 또는 조리 후에 보다 더 경질로 된다.
- [0068] 또한, 동결-정렬된 비-동물 단백질을 포함하는 조직 모조물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 비-동물 단백질은 식물 단백질이다. 일부 실시양태에서 비-동물 단백질은 단리 및 정제된다. 일부 실시양태에서 조직 모조물은 근육 조직 모조물이다.
- [0069] 본 개시내용은 또한 동결-정렬된 비-동물 단백질을 포함하는 조직 모조물을 포함하는 육류 모조물을 제공한다.
- [0070] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명을 수행하는데 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질을 하기에 기재한다. 본원에서 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허, 및 다른 참고문헌은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 상충되는 경우에, 정의를 비롯하여 본 명세서가 우선할 것이다. 추가로, 물질, 방법 및 실시예는 단지 예시하기 위한 것이며 제한하고자 의도되는 것은 아니다.
- [0071] 본 발명의 하나 이상의 실시양태의 상세사항은 첨부 도면 및 하기 설명에 기재된다. 본 발명의 다른 특징, 목적 및 이점은 설명 및 도면으로부터, 그리고 청구범위로부터 명백해질 것이다. 청구범위에서 단어 "포함하는"은 특허법의 표준 관례에 따라 "본질적으로 이루어지는" 또는 "이루어지는"으로 대체될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0072] 도 1은 예시적인 헴-함유 단백질의 아미노산 서열을 함유한다.
- 도 2a는 레시틴의 양을 기초로 하여 지방 방출 퍼센트를 도시한 막대 그래프이다.
- 도 2b는 레시틴의 양을 기초로 하여 지방 방출의 온도를 도시한 막대 그래프이다.
- 도 2c는 레시틴의 양을 기초로 하여 지방조직 모조물의 경도를 도시한 막대 그래프이다.
- 도 3은 다양한 오일 (카놀라 오일, 코코아 버터, 코코넛 오일 또는 짚겨 오일)을 함유하는 지방조직 모조물의 지방 방출 퍼센트를 도시한 막대 그래프이다.
- 도 4는 다양한 오일 (카놀라 오일, 코코아 버터, 코코넛 오일 또는 짚겨 오일)을 함유하는 지방조직 모조물의 지방 방출 온도를 도시한 막대 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0073] I. 소비재
- [0074] 소비재를 제조하기 위한 방법 및 조성물이 본원에 기재되어 있다. 일부 경우에, 소비재는 비-동물 물질을 그의 구성 부분으로 파단하고 그 부분을 소비재로 제어셀블리함으로써 제조할 수 있는, 동물-기반 식제품의 비-동물 기반 모조물이다. 특정 경우에, 소비재는 동물-기반 식품을 모조하도록 의도되지 않고, 대신에 식품으로서 바람직한 그 자신의 고유의 특성을 갖는다. 추가로, 소비재는, 일부 경우에, 식품으로서 주요 기능을 제공하기 보다는 기능식품 또는 제약 조성물용 담체로서 작용할 수 있다.
- [0075] 본원에 기재된 소비재의 이점은, 예를 들어 유사한 식제품에 비해 소비재의 제조 시 에너지 또는 물을 덜 사용한다는 것, 소비재의 제조 시 어떠한 동물도 사용하지 않는다는 것, 더 건강한 제품을 제조한다는 것, 달리 폐기될 원료를 사용한다는 것, 또는 소비재로부터 특정 성분 (예를 들어, 알레르겐)의 제거 (또는 혼입의 부재)를 가능하게 한다는 것을 포함할 수 있다. 또한 소비재는 제품의 개선된 품질 관리를 가능하게 하는 더 높은 정도의 제조 일관성을 가질 수 있다. 또 다른 이점은 소비재가 전통적인 식제품보다 우수한, 식품 제조를 위한 바람직한 특성을 갖도록 의도적으로 설계될 수 있다는 것이다.

- [0076] 소비재는 인간 소비를 비롯하여 동물 소비를 위한 것일 수 있다. 소비재는 가축용 (예를 들어, 개 사료가 본 발명에 따라 제조될 수 있음) 또는 야생 동물용 (예를 들어, 비-가축화 육식 동물용 사료) 사료일 수 있다.
- [0077] 소비재는 이미 존재하는 인간 식품과 유사하게, 식료품점, 편의점, 대량 판매점, 및 클럽 상점에서 판매될 수 있거나, 또는 패스트 푸드 레스토랑, 학교, 이벤트 지역, 병원, 군사 시설, 감옥, 보호소, 또는 장기 관리 시설을 비롯한 레스토랑에서 제조될 수 있다.
- [0078] 소비재는 적합한 규제 기관에 의해 승인될 수 있다. 예를 들어, 소비재는 미국 식품 의약품국에 적합하도록 제조될 수 있다. 본 발명의 방법은 규제청을 납득시키는데 필요한 단계를 포함할 수 있다.
- [0079] 본 발명의 소비재는 통상의 식제품 (본원에서 "식제품"으로 지칭됨)을 모조하거나, 그와 경쟁하거나, 보충하거나, 또는 대체할 수 있다. 식제품은 현존하는 임의의 식품일 수 있다. 본 발명의 소비재는 식제품, 예를 들어 동등한 육류 제품을 모조하도록 제조될 수 있다. 동등한 육류 제품은 백색 육류 또는 암색 육류일 수 있다. 동등한 육류 제품은 임의의 동물로부터 유래될 수 있다. 동등한 육류 제품이 유래되도록 사용되는 동물의 비제한적 예는 농장 동물, 예컨대 예를 들어 소, 양, 돼지, 닭, 칠면조, 거위, 오리, 말, 개 또는 수렵 동물 (야생 또는 농장 동물에 관계없음), 예컨대 예를 들어 토끼, 사슴, 들소, 버팔로, 비거세수돼지, 뱀, 꿩, 메추라기, 곰, 엘크, 영양, 비둘기, 산비둘기, 뇌조, 여우, 야생 돼지, 염소, 캥거루, 예뮬, 엘리게이터, 악어, 거북, 우드척, 마멋, 주머니쥐, 자고새, 다람쥐, 라쿤, 고래, 바다표범, 타조, 카피바라, 뉴트리아, 기니 피그, 래트, 마우스, 들쥐, 임의의 다양한 곤충 또는 다른 절지동물, 또는 해산물, 예컨대 예를 들어 어류, 게, 바다가재, 굴, 홍합, 가리비, 전복, 오징어, 문어, 성게, 멍게 등을 포함한다.
- [0080] 많은 육류 제품은 전형적으로 동물의 골격근으로부터 유래되지만 육류가 또한 동물의 다른 근육 또는 기관으로부터 비롯될 수 있음을 이해한다. 일부 실시양태에서, 동등한 육류 제품은 골격근으로부터 유래된 육류의 조각이다. 다른 실시양태에서, 동등한 육류 제품은 기관, 예컨대 예를 들어 신장, 심장, 간, 담낭, 장, 위, 골수, 뇌, 흉선, 폐, 또는 혀이다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 골격근 또는 기관과 유사한 소비재이다.
- [0081] 소비재 (예를 들어, 육류 대용물)는 근육 조직 모조물을 포함하는 제1 조성물, 지방 조직 모조물을 포함하는 제2 조성물, 및/또는 결합 조직 모조물을 포함하는 제3 조성물 중 1종 이상을 포함할 수 있으며, 여기서 1종 이상의 조성물은 육류의 물리적 편성을 재현하는 방식으로 조합된다. 본 발명은 또한 근육 조직 모조물 (본원에서 "근육 모조물"로 지칭됨), 지방 조직 모조물 (본원에서 "지방조직 모조물" 또는 "지방 모조물"로 지칭됨), 및 결합 조직 모조물 (본원에서 "결합 조직 모조물"로 지칭됨)과 별개의 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 이들 조성물은 주로 또는 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된 성분으로 구성된다 (예를 들어, 10% 이하의 성분이 동물 공급원으로부터의 것임). 대안적 실시양태에서, 근육, 지방, 및/또는 결합 조직 모조물, 또는 모조물 중 1종 이상을 포함하는 육류 대용 제품은 부분적으로 동물 공급원으로부터 유래되지만, 비-동물 공급원으로부터 유래된 성분으로 보충된다. 일부 실시양태에서, 식제품의 90%만큼의 양은 동물 공급원으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서 식제품의 약 75%는 동물 공급원으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서 식제품의 약 50%는 동물 공급원으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서 식제품의 약 10%는 동물 공급원으로부터 유래된다. 또 다른 대안적 실시양태에서, 본 발명은 근육 조직 모조물, 지방 모조물, 및/또는 결합 조직 모조물 중 1종 이상으로 보충된, 실질적으로 동물 공급원으로부터 유래된 육류 제품 (예를 들어, 소고기, 닭고기, 칠면조, 또는 돼지고기 제품)을 제공하며, 여기서 모조물은 실질적으로 또는 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된다. 이러한 육류 제품의 비제한적 예는 동물 지방이 낮은 소비재의 건강 이익을 보존하면서 텍스처 및 구강촉감을 개선한 비-동물 유래 지방 모조물로 보충된 초-저지방 분쇄 소고기 제품이다. 이러한 대안적 실시양태는 육류의 제조 및 소비와 연관된 주요 특성을 보다 근접하게 재현하지만, 비용이 덜 들고 환경 영향과 덜 연관되거나, 동물 복지 영향이 덜하거나, 또는 소비자를 위한 건강 이익이 개선된 특성을 갖는 제품을 생성할 수 있다.
- [0082] 소비재가 모조하거나 대체할 수 있는 다른 식제품의 예는 음료 (예를 들어, 크림 리큐어 또는 유액), 단백질 드링크 (예를 들어, 루비스코는 맥주, 증류 알콜 음료, 예컨대 보드카, 과즙류, 식사 대용 음료 또는 물에서 단백질 보충제로서 사용될 수 있음), 페이스트 (예를 들어 누텔라(Nutella)TM, 크림, 나초 치즈 또는 마요네즈 모조물), 파테, 혈액 소시지, 육류 증량제, 계란, 어류, 소시지, 텐더, 스펀 또는 냉장 식품 (예를 들어, 아이스크림, 요구르트, 케피어, 사우어 크림 또는 버터 모조물)을 포함한다.
- [0083] 소비재는 육류 모조물일 수 있다. 소비재는 육류의 조각 또는 외관을 모방하도록 제조될 수 있다. 예를 들어, 소비재는 분쇄 소고기 또는 소고기의 특정한 조각과 육안으로 유사하거나 구별불가능할 수 있다. 예시적 실시양태에서, 모조물은 천연 분쇄 육류 (예를 들어, 분쇄 소고기, 분쇄 닭고기, 또는 분쇄 칠면조고기)의 물리적

편성과 가까운 방식으로 조합된다. 다른 실시양태에서, 모조물은 소고기의 다양한 조각, 예컨대 예를 들어 특히, 립-아이, 필레미뇽, 런던 브로일과 가까운 방식으로 조합된다. 대안적으로, 소비재는 고유의 외양 또는 외관으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 소비재는 소비재의 구조로부터 형성된 패턴 (예를 들어 레터링 또는 픽처)을 함유할 수 있다. 일부 경우에, 소비재는 그것이 제조된 후 전통적인 식제품과 유사하게 보인다. 예를 들어, 소비재는 전통적인 소고기 조각보다 더 크게 제조될 수 있지만, 소비재가 슬라이스 및 조리된 후에는 전통적인 조리된 육류와 동일하게 보인다. 일부 실시양태에서, 소비재는 2차원적으로 전통적인 식제품 형상과 유사하지만, 3차원적으로는 그렇지 않을 수 있다. 예를 들어, 소비재는 2차원적으로 (예를 들어 위에서 봤을 때) 육류의 조각과 유사할 수 있지만, 전통적인 조각보다 훨씬 더 길 (또는 두꺼울) 수 있다. 이러한 예에서, 조성물은 전통적인 육류 형상 제품으로 반복적으로 절단될 수 있다.

[0084] 소비재는 현지 산물로부터 제조될 수 있다. 예를 들어, 소비재는 궁극적 소비자의 특정 반경 내에서 재배된 식물로부터 제조될 수 있다. 그러한 반경은 예를 들어 1, 10, 100 또는 1000 마일일 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 1, 10, 100 또는 1000 마일 너머에서 수송된 산물을 함유하지 않는 소비재를 제조하는 방법을 제공한다.

[0085] 본 발명은 다양한 공급원으로 제조되는 경우에 소비재로부터 일관된 특성을 제조하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 미국 아이오와주의 현지 식물로부터 제조된 식물 기반 육류 모조물은 프랑스 로레인의 현지 식물로부터 제조된 식물 기반 육류 모조물과 실질적으로 유사한 맛, 냄새 및 텍스처를 가질 것이다. 이러한 일관성은 일관된 특성을 갖는 현지 재배 식품을 광고하는 방법을 가능하게 한다. 일관성은 상이한 위치에서의 유사한 성분의 농축 또는 정제로부터 비롯될 수 있다. 이들 성분은 미리 결정된 비로 조합되어 일관성을 보장할 수 있다. 일부 실시양태에서, 고도의 특징적 일관성은 동일한 식물 종으로부터 유래된 성분 (예를 들어, 단리 또는 농축된 단백질 및 지방)을 사용함으로써 가능해진다. 일부 실시양태에서, 고도의 특징적 일관성은 상이한 식물 종으로부터 유래된 성분 (예를 들어, 단리 또는 농축된 단백질 및 지방)을 사용함으로써 가능해진다. 일부 실시양태에서, 동일한 단백질은 다양한 식물 종으로부터 단리될 수 있다 (즉, 상동 단백질). 일부 실시양태에서, 본 발명은 상이한 위치에서 식물 공급원으로부터 유사한 식물 성분을 단리하고, 양쪽 위치에서 본원에 제공된 조성물을 어셈블리하고, 조성물을 판매하는 것을 포함하는 방법을 제공하며, 여기서 상이한 지리적 위치에서 어셈블리되고 판매된 조성물은 일관된 물리적 및 화학적 특성을 갖는다. 일부 실시양태에서, 단리된 성분은 상이한 위치에서의 상이한 식물 집단으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 단리된 성분 중 1종 이상은 별개의 지리적 위치로 수송된다.

[0086] 소비재는 제조를 위해서 가축화 동물로부터 제조된 소비재보다 더 적은 자원을 필요로 할 수 있다. 따라서, 본 발명은 제조를 위해서 육류보다 더 적은 물 또는 에너지를 필요로 하는 육류 모조물을 제공한다. 예를 들어, 본원에 기재된 소비재는 소비재 파운드당 약 10, 50, 100, 200, 300, 500, 또는 1000 갤런 미만의 물을 필요로 할 수 있다. 비교를 위해, 소고기를 제조하는 데는 육류 파운드당 2000 갤런이 넘는 물을 필요로 할 수 있다.

[0087] 소비재는 제조를 위해서 유사한 단백질 함량을 함유하는 육류 제품보다 더 적은 토지 면적을 필요로 할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 소비재는 유사한 단백질 함량을 함유하는 육류 제품을 제조하는데 필요한 토지 면적의 30% 이하를 필요로 할 수 있다.

[0088] 소비재는 동물 제품과 비교하여 식이에서 이를 대체할 경우에 건강 이익을 가질 수 있다. 예를 들어, 이는 유사한 육류 제품보다 콜레스테롤을 덜 가질 수 있거나 또는 보다 낮은 수준의 포화 지방을 가질 수 있다. 미국 심장 협회 및 국립 콜레스테롤 교육 프로그램은 식품으로부터의 콜레스테롤 섭취를 하루에 300 mg으로 제한할 것을 권고하며, 이는 소고기 12 온스 또는 난황 2개의 소비에 해당한다. 동물 제품, 예컨대 분쇄 소고기와 구별불가능하고, 감소된 콜레스테롤 함량을 갖거나 콜레스테롤을 함유하지 않는 본원에 기재된 소비재는 저 콜레스테롤 식이를 유지하는데 도움이 될 수 있다. 또 다른 예에서, 본원에 기재된 소비재는 콜레스테롤을 함유하지 않을 수 있거나, 또는 그것이 대체하는 동물 제품에 비해 보다 높은 수준의 다중-불포화 지방산을 함유할 수 있다.

[0089] 소비재는 그것이 식이에서 대체하는 동물 제품과 비교하여 동물 복지 이익을 가질 수 있다. 예를 들어, 이는 육류를 위한 동물의 감금, 강제 급식, 조기 이유, 어미-새끼 상호작용의 두절 또는 도살의 필요없이 제조될 수 있다.

[0090] 소비재는 그것이 대체하는 육류 제품보다 더 작은 "탄소 발자국"을 가질 수 있다. 예를 들어, 소비재는 그것이 대체하는 동물 제품에 기인하는 온실 가스 배출의 1%, 5%, 10%, 25%, 50% 또는 75%의 순 온실 가스 배출을 야기할 수 있다. 예로서, [Environmental Working Group (2011) "meat eaters guide to Climate Change and

Health"]에 따르면, 소고기의 제조는 소비되는 소고기의 킬로그램당 27 kg에 해당하는 이산화탄소의 배출을 유발하고, 양고기의 제조는 소비되는 양고기의 킬로그램당 39 kg에 해당하는 이산화탄소의 배출을 유발한다.

[0091] 본원에 기재된 소비재는 종교적 신념에 의해 소비가 금지된 동물 제품 또는 동물 제품의 조합물에 대한 대안을 제공할 수 있다. 예를 들어, 소비재는 코셔 모조 폭잡일 수 있다.

[0092] 소비재는 또한 성분으로 수송되어 상이한 위치에서 제조 또는 어셈블리될 수 있다. 입수가능한 경우에, 현지 성분이 소비재의 제조에 사용될 수 있다. 현지 성분은 현지에서 입수가능하지 않은 성분으로 보충될 수 있다. 이는 수송에 있어서 육류에 필요한 것보다 적은 에너지를 사용하여 소비재, 예를 들어 육류 모조물을 제조하는 방법을 가능하게 한다. 예를 들어, 현지 물이 소비재의 다른 성분을 제공하는 키트와 조합되어 사용될 수 있다. 현지 물을 사용하는 것은 수송 중량을 감소시켜 비용 및 환경 영향을 감소시킨다.

[0093] 본원에 기재된 소비재는 동물 사육이 불가능하거나 허용되지 않는 지역에서 전체적으로 또는 부분적으로 제조 또는 어셈블리될 수 있다. 소비재는 도시 환경 내에서 제조 또는 어셈블리될 수 있다. 예를 들어, 사용자가 소비재를 제조할 수 있도록 하는 키트가 사용자에게 제공될 수 있다. 사용자는, 예를 들어 상하이에서 현지 물을 사용하거나 옥상 정원에서부터의 식물을 사용할 수 있다. 또 다른 예에서, 소비재는 우주선, 우주 정거장 또는 달 기지에서 제조될 수 있다. 따라서, 본 발명은 우주 여행 또는 그를 위한 훈련에 사용하기 위한 육류 모조물의 제조 방법 및 시스템을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 우주 여행을 위한 지구 기반 훈련에 사용될 수 있다. 소비재는 또한 가족의 보유가 어렵거나 금지된 섬에서 또는 해상의 인공 플랫폼 상에서 제조될 수 있다.

[0094] II. 소비재의 특성

[0095] 본원에 기재된 소비재는 전형적으로 식제품, 예를 들어 육류 섭취 경험을 모조하기 위해 설계된다. 소비재의 외양, 텍스처, 및 맛은 식제품, 예를 들어 육류와 유사하거나 구별가능하게 될 수 있다. 소비재는 또한 다른 바람직하지 않은 특성의 혼입없이 식제품의 바람직한 특성을 갖도록 제조될 수 있다. 예를 들어, 소비재는 서술된 식제품에서 전형적으로 소비되지 않는 물렁뼈 또는 다른 성분을 갖지 않는 모조 스테이크일 수 있다.

[0096] 본 발명은, 특정 실시양태에서, 예를 들어 동물 또는 인간이 소비재를 서술된 식제품, 예를 들어 특정한 육류와 구별할 수 있는지 여부를 결정함으로써 소비재가 식제품의 모조물로서 알맞은지 적합성을 결정하는 방법을 제공한다. 소비재가 식제품 (예를 들어 육류)에 필적하는지 여부를 결정하는 하나의 방법은 a) 육류의 특성을 규정하고, b) 소비재가 유사한 특성을 갖는지 여부를 결정하는 것이다.

[0097] 식제품 또는 소비재를 비교 또는 기재하기 위해 시험되거나 사용될 수 있는 특성은 기계적 특성, 예컨대 경도, 응집력, 취성, 씹힘성, 점착성, 점도, 탄성 및 접착력을 포함한다. 시험될 수 있는 식제품의 특성은 또한 기하학적 특성, 예컨대 입자 크기 및 형상, 및 입자 형상 및 배향을 포함한다. 입자의 3차원 편성이 또한 시험될 수 있다. 추가의 특성은 수분 함량 및 지방 함량을 포함할 수 있다. 이들 특성은 경도를 기재하는 "연질", "경질" 또는 "단단한"; 응집력을 기재하는 "부서지기 쉬운", "아삭아삭한", "잘 부러지는", "잘 씹히지 않는", "부드러운", "질긴", "파삭파삭한", "퍼석퍼석한", "무른" 또는 "진득진득한"; 점도를 기재하는 "성긴" 또는 "점성의"; 탄성을 기재하는 "가소성의" 또는 "탄성적인"; 접착력을 기재하는 "끈적끈적한", "달라붙는" 또는 "쫄깃한"; 입자 형상 및 크기를 기재하는 "깔깔한", "거친" 또는 "조잡한"; 입자 형상 및 배향을 기재하는 "섬유성", "세포상" 또는 "결정질"; 수분 함량을 기재하는 "건조한", "촉촉한", "습한" 또는 "물기가 많은"; 또는 지방 함량을 기재하는 "유성" 또는 "기름진"과 같은 용어를 사용하여 기재될 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서 한 그룹의 사람들에게 식제품을 기재하는 특성에 따라 특정 식제품, 예를 들어 분쇄 소고기를 등급화하도록 요청할 수 있다. 본원에 기재된 소비재는 동일한 사람들에게 의해 등급화되어 등가물을 결정할 수 있다.

[0098] 식제품의 풍미가 또한 평가될 수 있다. 풍미는 식제품의 유사성에 따라, 예를 들어 "계란맛," "생선맛," "버터맛," "초콜릿맛," "과일맛," "후추맛," "베이컨맛," "크림맛," "밀크맛," 또는 "소고기맛"으로 등급화될 수 있다. 풍미는 7가지 기본적인 맛, 즉 단맛, 신맛, 쓴맛, 짠맛, 우마미 (감칠맛), 특쓰는맛 (또는 탁쓰는맛), 및 금속맛에 따라 등급화될 수 있다. 풍미는 화학물질, 예를 들어 디아세틸 (버터맛), 3-히드록시-2 부타논 (버터맛), 노나-2E-엔알 (기름진맛), 1-옥텐-3-올 (버섯), 헥산산 (땀맛), 4-히드록시-5-메틸 푸라논 (HMF, 육류맛), 피라진 (건과맛), 비스(2-메틸-3-푸릴) 디설피드 (로스트 육류), 데카논 (곰팡이맛/과일맛), 이소아밀 아세테이트 (바나나), 벤즈알데히드 (쓴 아몬드), 신남산 알데히드 (시나몬), 에틸 프로피오네이트 (과일맛), 메틸 안트라닐레이트 (포도), 리모넨 (오렌지), 에틸 데카디에노에이트 (배), 알릴 헥사노에이트 (파인애플), 에틸 말톨 (당, 솜사탕), 에틸바닐린 (바닐라), 부탄산 (산패), 12-메틸트리데칸알 (소고기맛), 또는 메틸 살리실레이트

(원터그린)에 의해 유발되는 경험에의 유사성에 따라 기재될 수 있다. 이들 등급화는 식제품 특성의 지표로서 사용될 수 있다. 이어서, 본 발명의 소비재는 식제품과 비교하여 소비재가 식제품과 얼마나 유사한지 결정될 수 있다. 일부 경우에, 이어서, 소비재의 특성은 소비재가 식제품과 더 유사해지도록 변경된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 소비재는 인간 평가에 따라 식제품과 유사하게 등급화된다. 일부 실시양태에서, 소비재는 인간에 의해 실제 육류와 구별불가능하다.

[0099] 소비재는 소비재 성분의 공급원과 연관된 특성이 제거되도록 제조될 수 있다. 예를 들어, 소비재는 콩으로부터 수득된 성분으로 제조될 수 있지만, "콩비린내" 풍미 또는 텍스처가 부재하도록 제조될 수 있다. 이를 달성할 수 있는 하나의 방법은 성분 공급원 물질을 단리 및 정제된 성분으로 과단하고, 공급원의 바람직하지 않은 특징적 특성을 유발하는 성분을 사용하지 않는 것이다. 또한, 본원에 기재된 바와 같이, 단리 및/또는 정제된 성분 내의 잡미 또는 이취 (예를 들어, 바람직하지 않은 풍미 또는 향미)는 활성탄으로 탈취하는 것에 의해, 또는 미량으로 존재할 수 있고 불포화 트리아실글리세리드 (예컨대 리놀레산 또는 리놀렌산)을 더 작고 더 휘발성인 분자로 전환시킬 수 있는 리폭시게나제 (LOX)와 같은 효소를 제거하는 것에 의해 최소화할 수 있다. LOX는 콩과 식물, 예컨대 완두, 대두, 및 땅콩, 뿐만 아니라 버, 감자, 및 올리브에 자연적으로 존재한다. 콩과 식물 가루가 분리된 단백질 분획으로 분획화될 때, LOX는 숙성 또는 저장 시 바람직하지 않은 풍미 또는 향미를 유발할 수 있는 바람직하지 않은 "시한-폭탄"으로 작용할 수 있다. 실시예 34에 제시된 바와 같이, 식물 단백질 (예를 들어, 분쇄된 식물 종자로부터의 것)을 함유하는 조성물은, 예를 들어 LOX에 결합하여 단백질 샘플로부터 그것을 제거하는 친화도 수지를 사용한, LOX를 제거하기 위한 정제를 거칠 수 있다. 친화도 수지는 고체 지지체, 예컨대 비드 또는 수지에 부착된 리놀레산, 리놀렌산, 스테아르산, 올레산, 프로필 갈레이트 또는 에피갈로카테킨 갈레이트일 수 있다. 예를 들어, W02013138793을 참조한다. 또한, 단백질 성분에 따라, 단백질 용액 중의, 특히 지방 및 오일의 존재 하의 잡미 또는 이취 생성을 최소화하기 위해 항산화제 및/또는 LOX 억제제의 특정 조합물을 효과적인 작용제로서 사용할 수 있다. 이러한 화합물은, 예를 들어 β -카로틴, α -토코페롤, 카페인산, 프로필 갈레이트 또는 에피갈로카테킨 갈레이트 중 1종 이상을 포함할 수 있다. 이들은 단백질-기반 식품 내의 잡미 또는 이취의 생성을 완화하기 위해 단백질의 정제 동안 또는 후속 식품 가공 단계 동안 포함될 수 있다.

[0100] 일부 조성물에서, 소비재를 확인할 것을 요청받은 대상체는 그것을 식제품의 형태로서 또는 특정한 식제품으로서 확인하고, 예를 들어 대상체는 소비재를 육류로서 확인할 것이다. 예를 들어, 일부 조성물에서, 인간은 소비재가 육류와 동등한 특성을 갖는 것으로서 확인할 것이다. 일부 실시양태에서, 소비재의 하나 이상의 특성은 인간의 지각에 따르면 육류의 상응하는 특성과 동등하다. 이러한 특성은 시험될 수 있는 특성을 포함한다. 일부 실시양태에서, 인간은 본 발명의 소비재를 관련 기술분야에서 발견되는 임의의 육류 대용물보다 더 육류와 유사한 것으로 확인한다.

[0101] 실험은 소비재가 소비자에게 허용될 수 있는지 입증할 수 있다. 패널을 사용하여 본원에 기재된 다양한 소비재를 스크리닝할 수 있다. 수많은 인간 패널리스트들은 다중 소비재 샘플, 즉 천연 육류 대 본원에 기재된 소비재 조성물, 또는 육류 대용물 대 본원에 기재된 소비재 조성물을 시험할 수 있다. 변수, 예컨대 지방 함량은 저지방 및 지방 육류 믹스를 사용하여 예를 들어 20% 지방까지 표준화할 수 있다. 지방 함량은 육류 방법에 대한 배브콕(Babcock)을 사용하여 결정할 수 있다 (S. S. Nielson, Introduction to the Chemical Analysis of Foods (Jones & Bartlett Publishers, Boston, 1994)). 본원에 기재된 절차에 따라 제조된 본 발명의 분쇄 소고기 및 소비재의 혼합물이 제제화될 수 있다.

[0102] 패널리스트는 공개 소비자 패널에서 적색 광 하에 또는 백색 광 하에 (예를 들어 부스 내에서) 샘플을 제공받을 수 있다. 샘플에 무작위 3자리 숫자를 배정하고, 편견을 방지하기 위해 투표 위치를 회전시킬 수 있다. 패널리스트에게 1=매우 나쁨으로부터 9=매우 좋음까지, 중앙값 5=좋지도 나쁘지도 않음의 기호 척도를 사용하여 부드러움, 다즙성, 텍스처, 풍미, 및 전반적 허용가능성에 대해 샘플을 평가하도록 요청할 수 있다. 패널리스트에게 샘플 사이마다 물로 입을 헹구도록 권장하고, 각각의 샘플에 대한 의견을 말할 기회를 제공할 수 있다.

[0103] 이 실험의 결과는 전통적인 육류와 본 발명의 조성물 사이의 유의차 또는 유사성을 보여줄 수 있다.

[0104] 이들 결과는 본원에 기재된 조성물이 실제 육류 제품과 허용가능하게 동등한 것으로 판단된다는 것을 입증할 수 있다. 추가로, 이들 결과는 본원에 기재된 조성물이 다른 상업적으로 입수가능한 육류 대용물에 비해 패널리스트에게 바람직하다는 것을 입증할 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서 본 발명은 전통적인 육류와 유사하고 이전에 공지된 육류 대안보다 더 육류와 유사한 소비재를 제공한다.

[0105] 본 발명의 소비재는 또한 식제품, 예를 들어 전통적인 육류와 유사한 물리적 특성을 가질 수 있다. 한 실시양

태에서, 본 발명의 소비재로 만든 1 인치 두께 구조 (예를 들어, 패티)를 고정 직경의 강철 막대로 관통하는데 요구되는 힘은 1 인치 두께의 유사한 식제품 구조 (예를 들어, 분쇄 소고기 패티)를 유사한 고정 직경의 강철 막대로 관통하는데 요구되는 힘과 유의하게 다르지 않다. 따라서, 본 발명은 육류와 유사한 물리적 강도 특성을 갖는 소비재를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 샘플을 100 mm²의 단면적으로 떼어내는데 요구되는 힘은 동물 조직 샘플 (근육, 지방 또는 결합 조직)을 동일한 방식으로 측정된 100 mm²의 단면적으로 떼어내는데 요구되는 힘과 유의하게 다르지 않다. 힘은 예를 들어 TA.XT 플러스 텍스처 분석기 (텍스처 테크놀로지스 코퍼레이션(Texture Technologies Corp.))를 사용하여 측정될 수 있다. 따라서, 본 발명은 육류와 유사한 물리적 강도 특성을 갖는 소비재를 제공한다.

[0106] 본원에 기재된 소비재는 식제품, 예를 들어 육류와 유사한 조리 손실 특성을 가질 수 있다. 예를 들어, 소비재는 분쇄 소고기와 유사한 지방 및 단백질 함량을 가질 수 있고, 실제 분쇄 소고기를 조리할 때와 동일한 크기 감소를 가질 수 있다. 크기 손실 프로파일에서의 유사성은 다양한 육류에 매칭되는 본원에 기재된 다양한 소비재 조성물에 대해 달성될 수 있다. 소비재의 조리 손실 특성은 또한 식제품보다 우수하도록 제작될 수 있다. 예를 들어 소비재는 조리 동안 덜 손실되지만 조리된 제품과 유사한 맛과 텍스처 품질을 달성하도록 제조될 수 있다. 이를 달성하는 하나의 방법은 용융 온도를 기초로 하여 소비재 조성물 내의 지질의 비율을 변경시키는 것에 의한다. 이를 달성하는 또 다른 방법은 단백질 농도를 제어하거나 조직 모조물이 형성되는 메카니즘에 의해 소비재의 단백질 조성을 변경시키는 것에 의한다.

[0107] 일부 실시양태에서, 소비재는 후각측정기 판독을 기반으로 하여 동물 기반 식제품 (예를 들어, 육류)과 비교된다. 다양한 실시양태에서, 후각측정기를 사용하여 냄새 농도 및 냄새 역치, 또는 참조 기체와 비교한 냄새 역치상, 판단의 정도를 결정하기 위한 기호 척도 점수, 또는 냄새의 상대적 강도를 평가할 수 있다. 일부 실시양태에서, 후각측정기는 전문가 패널의 훈련 및 자동 평가를 허용한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 소비재는 유사하거나 동일한 후각측정기 판독을 유발하는 제품이다. 일부 실시양태에서, 차이는 인간 지각의 검출 역치 미만으로 충분히 작다.

[0108] 기체 크로마토그래피-질량 분광측정법 (GCMS)은 시험 샘플 내의 다양한 물질을 분리하고 확인하기 위한, 기체-액체 크로마토그래피 및 질량 분광측정법의 특성을 조합한 방법이다. 일부 실시양태에서, GCMS는 소비재의 특성을 평가하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 휘발성 화학물질을 육류 주위의 헤드 스페이스로부터 분리할 수 있다. 이들 화학물질은 GCMS를 사용하여 확인할 수 있다. 이로써, 육류 주위의 헤드스페이스에서 휘발성 화학물질의 프로파일이 생성된다. 일부 경우에, GCMS의 각각의 피크를 추가로 평가할 수 있다. 예를 들어, 인간은 특정 피크의 원인이 되는 화학물질의 냄새를 맡아본 경험을 등급화할 수 있다. 이 정보는 프로파일을 추가로 정밀화하는데 사용될 수 있다. 이어서, GCMS는 소비재의 특성을 평가하는데 사용될 수 있다. GCMS 프로파일은 소비재를 정밀화하는데 사용될 수 있다.

[0109] 특징적 풍미 및 방향 성분은 대부분 식물 뿐만 아니라 육류에서 발견되는 아미노산, 지방 및 당을 비롯한 화학 반응 분자에 의해 조리 과정 동안 생성된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 소비재는 조리 동안 또는 조리 후에 육류와의 유사성에 대해 시험된다. 일부 실시양태에서, 인간 등급화, 인간 평가, 후각측정기 판독 또는 GCMS 측정, 또는 그의 조합을 사용하여 조리된 육류의 후각 맵을 생성한다. 유사하게, 소비재, 예를 들어 육류 모조물의 후각 맵이 생성될 수 있다. 이들 맵을 비교하여 조리된 소비재가 육류와 얼마나 유사한지를 평가할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조리 동안 또는 조리 후의 소비재의 후각 맵은 조리된 또는 조리 중인 육류의 후각 맵과 유사하거나 또는 구별불가능하다. 일부 실시양태에서, 유사성은 인간 지각의 검출 역치를 넘어서기에 충분하다. 소비재는 그의 특성이 조리 후 식제품과 유사하게 생성될 수 있지만, 비조리 소비재는 조리 전 서술 식제품과 상이한 특성을 가질 수 있다.

[0110] 보관 수명은 소비재가 판매, 사용 또는 소비에 부적합한 것으로 간주되기 전에 주어지는 시간 길이이다. 일반적으로, 육류 제품은 보관 수명이 더 높은 온도에 노출되면 감소되기 때문에 약 2°C에서 유지하는 것이 중요하다.

[0111] 육류의 보관 수명은 시간에 걸친 육류 제품의 감각 신호 (냄새, 포장의 시각적 외관, 색, 맛 및 텍스처) 연구를 통해, 그리고 제품이 얼마나 오래 안전하고, 위생적이고, 향유할 수 있게 유지되는지 결정하기 위해 제어된 조건 하에서의 실험실 분석을 통해 결정된다. 분쇄 소고기가 예로서 사용되고 있지만, 유사한 조건을 다른 육류 유형으로부터의 스테이크, 찜 및 로스트에 적용할 것이다. 소고기는 그의 천연 상태에서 암청빛-자주색이다. 그러나, 산소가 육류에 투과될 수 있고, 육류 내의 미오글로빈과 화학 반응을 유발하여 적색을 낸다. 산소에의 지속적인 노출은 미오글로빈의 산화를 유발하고, 적색 육류가 갈색이 되게 하고, "잡"미가 생기게 한다. 이러

한 산화를 제어하기 위해, 육류 제품을 저장하고 진열하여 육류 제품의 보관 수명을 증가시키기 위한 다양한 방법에 대한 유의한 연구가 있었다. 이는 진공 충전, 가스 치환 충전 (높은 산소), 가스 치환 충전 (일산화탄소를 동반한 낮은 산소), 및/또는 고압 저온살균 (HPP)의 사용을 포함한다.

[0112] 육류의 색의 주요 결정자는 육류 내 철 운반 단백질의 농도이다. 육류 제품의 골격근 성분에서, 주요 철-운반 단백질 중 하나는 미오글로빈이다. 백색 육류인 닭고기는 0.05% 미만의 미오글로빈을 갖고; 돼지고기 및 송아지고기는 0.1-0.3% 미오글로빈을 갖고; 어린 소고기는 0.4-1.0% 미오글로빈을 갖고; 늙은 소고기는 1.5-2.0% 미오글로빈을 갖는 것으로 추정된다. 정상적으로, 육류 내 미오글로빈은 3종의 상태로 존재한다: 옥시미오글로빈 (Fe^{2+}) (산소화된 것 = 밝은 적색); 미오글로빈 (Fe^{2+}) (비-산소화된 것 = 자주빛/마젠타색); 및 메트미오글로빈 (Fe^{3+}) (산화된 것 = 갈색). 산소의 존재 하에 옥시미오글로빈에서 메트미오글로빈으로의 전이는 분쇄육의 적색에서 갈색으로의 색 변화의 원인인 것으로 생각된다. 육류 보관 수명 연장제는 육류 제품의 적색의 수명을 연장하기 위해 개발되었고, 일산화탄소, 아질산염, 메타중아황산나트륨, 붐발(Bombal), 비타민 E, 로즈마리 추출물, 녹차 추출물, 카테킨 및 다른 항산화제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0113] 그러나, 고유하게 더 안정한 헴 단백질, 예컨대 아퀴펙스 아에오리쿠스(Aquifex aeolicus)로부터 단리된 헤모글로빈 (서열 3) 또는 메틸아시디필룸 인페르노룸(Methylacidiphilum infernorum)으로부터 단리된 헤모글로빈 (서열 2)은 미오글로빈과 같은 중온 헤모글로빈보다 더 천천히 산화할 것이다. 본원에 기재된 헴 단백질 (예를 들어, 도 1 참조)은 또한 육류 보관 수명 연장제, 예컨대 일산화탄소 및 아질산나트륨에 의해 연장된 환원 헴- Fe^{2+} 상태의 수명을 가질 수 있다. 헴 단백질은 목적하는 색 보유 특성에 대해 선택될 수 있다. 예를 들어 저온 수비드 조리 경우, 비교적 불안정한 헴 단백질, 예컨대 호르테움 불가레(Hordeum vulgare)로부터의 헴 단백질은 미오글로빈이 그의 적색, 비조리 외관을 보유할 조건 하에서 조리된 것으로 보이는 갈색 제품을 제공할 수 있다. 일부 실시양태에서, 헴 단백질은 예를 들어 육류 모조물이 식품 안전상 완벽하게 조리되었음에도 불구하고 고 매력적인 미디움 레어 외관을 보유할 수 있는 증가된 안정성을 갖도록 선택될 수 있다.

[0114] 산패 및 잡미 또는 이취 생성의 주요 결정자는 지방을 포함하나 이에 제한되지는 않는 소비재 성분의 산화이다. 예를 들어, 불포화 지방산의 산화는 공지되어 있는 산패 냄새의 원인이다. 일부 실시양태에서, 육류 모조물은, 맛, 텍스처, 냄새, 및 화학적 특성이 산소와 반응하여 잡미 또는 이취를 생성하지 않도록 육류 모조물의 화학적 특성의 구성이 제어되기 때문에, 연장된 보관 수명을 갖는다. 일부 실시양태에서, 육류 모조물은 소고기에 존재하는 것보다 더 높은 정도의 불포화 지방산의 존재로 인해 산화에 덜 감수성이다. 일부 실시양태에서, 육류 모조물은 불포화 지방산을 함유하지 않는다. 다른 실시양태에서, 육류 모조물은 항산화제, 예컨대 글루타티온, 비타민 C, 비타민 A, 및 비타민 E 뿐만 아니라 효소, 예컨대 카탈라제, 슈퍼옥시드 디스무타제 및 다양한 퍼옥시다제를 육류에 존재하는 것보다 더 높은 수준으로 함유한다. 다른 실시양태에서, 잡미 또는 이취 생성 성분, 예컨대 리폭시게나제는 존재하지 않는다.

[0115] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 소비재는 상업적 포장 조건 하에 증가된 안정성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 개선된 보관 수명은 증가된 산화 안정성을 갖는 성분, 예컨대 감소된 수준의 불포화 지방산을 갖는 지질을 사용하는 것에 의해, 및/또는 보다 안정한 헴 단백질, 예컨대 아퀴펙스 아에오리쿠스로부터 단리된 헤모글로빈 (서열 3) 또는 메틸아시디필룸 인페르노룸으로부터 단리된 헤모글로빈 (서열 2)을 사용하는 것에 의해 개선된다. 일부 실시양태에서, 개선된 보관 수명은 소비재에 사용되는 성분의 조합으로 인한 것이다. 일부 실시양태에서, 소비재는 목적하는 포장 방법에 특이적으로 설계된다.

[0116] III. 소비재의 조성

[0117] 본원에 기재된 소비재는 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질을 포함한다. "단리 및 정제된 단백질"은 단일 단량체 또는 다량체 단백질 중일 수 있는 명시된 단백질 이외의 단백질 성분의 질량 기준 누적 존재비가, 명시된 단백질이 단리된 공급원 물질과 비교하여 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상, 100배 이상 또는 1000배 이상만큼 감소된 제제를 지칭한다. 명확성을 위해, 단리 및 정제된 단백질은 그의 출발 물질 (예를 들어, 식물 또는 다른 비-동물 공급원)과 비교하여 단리 및 정제된 것으로서 기재된다. 일부 실시양태에서, 용어 "단리 및 정제된"은 단백질 제제가 적어도 60% 순수, 예를 들어 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 초과로 순수함을 나타낼 수 있다. 이러한 정의는 전형적으로 조성물에서의 첨가 전 단백질에 대해 적용되기 때문에, 소비재가 단리 및 정제된 단백질에 더하여 물질을 포함할 수 있다는 사실은 단리 및 정제된 단백질의 속성을 변화시키지 않는다.

[0118] 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 중량 기준으로 소비재의 단백질 함량의 적어도 1%, 적

어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 또는 적어도 50%를 차지한다. 일부 실시양태에서, 각각의 1종 이상의 단리된 단백질은 개별적으로 단리 및 정제된다.

[0119] 본원에 기재된 소비재는 실질적으로 또는 전적으로, 비-동물 공급원, 예를 들어 식물, 진균 또는 미생물 기반 공급원으로부터 유래된 성분으로 구성될 수 있다. 식물 공급원은 유기 재배 공급원일 수 있다. 단백질은 공급원 물질로부터 추출될 수 있거나 (예를 들어, 동물 조직, 또는 식물, 진균, 조류, 또는 박테리아 바이오매스로부터, 또는 분비된 단백질의 경우에는 배양 상청액으로부터 추출됨) 또는 공급원 물질의 조합물 (예를 들어, 다중 식물 종)로부터 추출될 수 있다. 소비재는 또한 식물 기반 및 동물 기반 공급원의 조합물로부터 제조될 수 있다. 예를 들어, 소비재는 본 발명의 식물 기반 제품으로 보충된 분쇄 소고기 제품일 수 있다.

[0120] A. 소비재의 성분의 공급원

[0121] 상기 기재된 바와 같이, 단리 및 정제된 단백질은 비-동물 공급원, 예컨대 식물, 조류, 진균 (예를 들어, 효모 또는 사상 진균), 박테리아 또는 고세균으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 유전자 변형 유기체, 예컨대 유전자 변형 박테리아 또는 효모로부터 획득될 수 있다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 화학적으로 합성되거나 시험관내 합성을 통해 획득된다.

[0122] 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 식물 공급원으로부터 유래된다. 단리 및 정제된 단백질은 단일 식물 공급원으로부터 단리될 수 있거나, 또는 대안적으로 다중 식물 공급원이 단백질의 단리 및 정제를 위한 출발 물질로서 제공될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 단리 및 정제된 식물 단백질은 용액 중에 용해된다. 용액은 EDTA (0 - 0.1M), NaCl (0-1M), KCl (0-1M), NaSO₄ (0 - 0.2M), 인산칼륨 (0-1M), 시트르산 나트륨 (0-1M), 탄산나트륨 (0-1M), 수크로스 (0-50%), 우레아 (0-2M) 또는 그의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 용액은 3 내지 11의 pH를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 식물 단백질은 약 2°C 내지 약 32°C (예를 들어, 3°C 내지 8°C, 10°C 내지 25°C, 또는 18°C 내지 25°C)의 온도에서 >25 g/L (예를 들어, 적어도 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 또는 225 g/L)의 용액 중 용해도를 가질 수 있으며, 여기서 용액은 3 내지 8의 pH (예를 들어, 3-6, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 또는 8의 pH)를 갖고, 0 내지 300 mM (예를 들어, 50, 100, 150, 200, 250, 또는 300 mM)의 염화나트륨 함량을 갖는 것이다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 10, 15, 20, 25, 50, 100, 150, 200, 또는 250g/L 초과로 용액 중에 용해된다.

[0123] 통상의 기술자는 식물계의 임의의 유기체로부터 단리될 수 있는 단백질이 본원에 기재된 소비재를 제조하는데 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 식물 공급원의 비제한적 예는 곡실 작물, 예컨대 예를 들어, 옥수수, 귀리, 벼, 밀, 보리, 호밀, 기장, 소르굼, 메밀, 아마란스, 퀴노아, 트리티케일 (밀 호밀 잡종), 테프 (에라그로스티스 테프(*Eragrostis tef*)); 목화씨, 해바라기 종자, 홍화 종자, 크람베(*Crambe*), 카멜리나(*Camelina*), 겨자, 평지씨 (브라시카 나푸스(*Brassica napus*))를 비롯한 유지종자 작물; 아카시아(*Acacia*), 또는 콩과식물 패밀리로부터의 식물, 예컨대 예를 들어, 클로버, 스틸로산테스(*Stylosanthes*), 세스바니아(*Sesbania*), 베치 (비시아(*Vicia*)), 아라키스(*Arachis*), 인디고페라(*Indigofera*), 류카에나(*Leucaena*), 시아몹시스(*Cyamopsis*), 완두, 예컨대 동부, 영국 완두, 황색 완두, 또는 녹색 완두, 또는 콩, 예컨대 예를 들어, 대두, 잠두, 리마콩, 강남콩, 가르반조 콩, 녹두, 핀토콩, 렌틸, 루핀, 메스키투, 캐롭, 대두, 및 땅콩 (아라키스 히포가에아(*Arachis hypogaea*)); 잎 채소, 예컨대 예를 들어, 상추, 시금치, 케일, 콜라드 잎, 순무 잎, 근대, 겨자 잎, 민들레 잎, 브로콜리 또는 양배추; 또는 바이오매스 작물, 예컨대 스위치그래스 (파니쿰 비르가툼(*Panicum virgatum*)), 미스칸투스(*Miscanthus*), 아룬도 도낙스(*Arundo donax*), 에너지 수수, 소르굼, 또는 다른 화분, 알팔파, 옥수수 대, 켈프 또는 다른 해조를 비롯한, 통상적으로 인간에 의해 소비되지 않은 녹색 물질, 수확된 식물로부터 통상적으로 폐기되는 녹색 물질, 사탕수수 잎, 나뭇잎, 뿌리 작물, 예컨대 카사바, 고구마, 감자, 당근, 비트 또는 순무; 또는 코코넛을 포함한다.

[0124] 단백질은 뿌리, 줄기, 잎, 꽃, 또는 종자를 비롯한 식물의 임의의 부분으로부터 단리될 수 있다. 예를 들어, 리블로스-1,5-비스포스페이트 카르복실라제/옥시게나제 (루비스코)는 예를 들어 알팔파, 당근 상단, 옥수수 대, 사탕수수 잎, 대두 잎, 스위치그래스, 미스칸투스, 에너지 수수, 아룬도 도낙스, 해조, 켈프, 조류 또는 겨자 잎으로부터 단리될 수 있다.

[0125] 식물에 풍부한 단백질은 1종 이상의 공급원 식물로부터 대량으로 단리될 수 있고, 따라서 임의의 본원에 제공되는 조성물 (예를 들어, 근육, 지방, 또는 결합 조직 모조물, 육류 대용 제품 또는 기타)에 사용하기 위한 경제적 선택이 된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 식물에서 높은 수준으로 발견되고 대량으로 단리 및 정제될 수 있는 풍부한 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 풍부한 단백질은 공급원 식물 물질의 총 단백질 함량의 약 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%,

35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 또는 70%를 차지한다. 일부 실시양태에서, 풍부한 단백질은 공급원 식물 물질의 총 단백질 함량의 약 0.5-10%, 약 5-40%, 약 10-50%, 약 20-60%, 또는 약 30-70%를 차지한다. 일부 실시양태에서, 풍부한 단백질은 공급원 식물 물질의 건조 물질의 총 중량의 약 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 또는 50%를 차지한다. 일부 실시양태에서, 풍부한 단백질은 공급원 식물 물질의 건조 물질의 총 중량의 약 0.5-5%, 약 1-10%, 약 5-20%, 약 10-30%, 약 15-40%, 또는 약 20-50%를 차지한다.

[0126] 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 식물의 잎에서 높은 수준으로 발견되는 풍부한 단백질을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 풍부한 단백질은 공급원 식물의 잎의 총 단백질 함량의 약 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 80%를 차지한다. 일부 실시양태에서, 풍부한 단백질은 공급원 식물의 잎의 총 단백질 함량의 약 0.5-10%, 약 5%-40%, 약 10%-60%, 약 20%-60%, 또는 약 30-70%를 차지한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리된 단백질은, 높은 용해도 및 인간 영양상 필수 아미노산의 최적 비율과 가까운 아미노산 조성으로 인해 육류 모조물에 특히 유용한 단백질인 루비스코를 포함한다. 특정한 실시양태에서, 1종 이상의 단리된 단백질은 리블로스-1,5-비스포스페이트 카르복실라제 옥시게나제 악티바제 (루비스코 악티바제)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 영양 저장 단백질 (VSP)을 포함한다.

[0127] 1종 이상의 단리된 단백질은 식물의 종자에서 높은 수준으로 발견되는 풍부한 단백질을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 풍부한 단백질은 공급원 식물의 종자의 총 단백질 함량의 약 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% 또는 90% 또는 그 초과를 차지한다. 일부 실시양태에서, 풍부한 단백질은 공급원 식물의 종자의 총 단백질 함량의 약 0.5-10%, 약 5%-40%, 약 10%-60%, 약 20%-60%, 또는 약 30-70% 또는 >70%를 차지한다. 식물의 종자에서 높은 수준으로 발견되는 단백질의 비제한적 예는 종자 저장 단백질, 예를 들어, 알부민, 글리시닌, 콘글리시닌, 레구민, 글로불린, 비실린, 콘알부민, 글리아딘, 글루텔린, 글루텐, 글루테닌, 호르데인, 프롤라민, 과세올린 (단백질), 단백질체, 세칼린, 트리티세아에 글루텐 또는 제인, 또는 오일 바디 단백질, 예컨대 올레오신, 칼올레오신 또는 스테롤레오신을 포함한다.

[0128] 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 고도의 가용성 단백질, 예컨대 데히드린, 히드로필린, 천연 언폴딩 단백질 (또한 고유 무질서 단백질로도 지칭됨), 또는 후기-배아발생 풍부 (LEA) 패밀리와 다른 단백질을 포함할 수 있다. LEA 단백질은 동물, 식물 및 미생물에서 발견되고, 삼투보호제 및 스트레스 반응 단백질로서 작용하는 것으로 생각된다. 예를 들어, 문헌 [Battaglia, et al., Plant Physiol., 148:6-24 (2008)]을 참조한다. 이러한 단백질은 또한 열 안정성이다. 이러한 LEA 단백질은 90°C 내지 110°C (예를 들어, 95°C 내지 105°C, 95°C, 또는 100°C)의 온도에서 적어도 1 g/L (예를 들어, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 150, 200, 또는 250g/L)의 용액 중 용해도를 가질 수 있으며, 여기서 용액은 5 내지 8의 pH (예를 들어, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 또는 8의 pH)를 갖고 0 내지 300 mM (예를 들어, 50, 100, 150, 200, 250, 또는 300 mM)의 염화나트륨 함량을 갖는 것이다. 일부 경우에, LEA 단백질은 단백질 추출물을 90°C-110°C (예를 들어, 95°C 또는 100°C)로 가열하고, 불용성 물질의 원심분리 또는 여과 후, 예를 들어 한외여과에 의해 LEA 단백질 분획을 농축시킴으로써 단리할 수 있다. 일부 경우에, 등이온 pH 침전, 트리클로로아세트산 침전 및/또는 황산암모늄 침전 단계를 가열 단계 전 또는 후에 행하여 비-LEA 단백질을 추가로 제거할 수 있다. 용액을 90°C-110°C로 가열하는 것은 대부분의 단백질을 변성시키고, 대다수의 단백질이 용액으로부터 제거되게 한다.

[0129] B. 단백질

[0130] 이론에 얽매어는 것은 아니지만, 비-동물 단백질 (예를 들어, 식물 단백질)을 단리 및 정제하는 것에 의해, 소비재는 소비재의 특성보다 더 큰 일관성 및 더 큰 제어를 가지고 제조될 수 있는 것으로 여겨진다. 일부 실시양태에서, 약 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 그 초과 소비재의 단백질 성분이 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질로 구성된다. 단리 및 정제된 단백질은 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 초과로 순수할 수 있다.

[0131] 단리 및 정제된 단백질은 1종 이상의 다른 비-동물 공급원의 성분으로부터 단리될 수 있다. 예를 들어, 단백질 분획은 식물의 단리물로부터 단리될 수 있다. 일부 경우에 단리된 단백질은 정제될 수 있으며, 여기서 특정 종류의 단백질이 비-동물 공급원에서 발견되는 다른 성분과 분리된다. 단백질은 그의 분자량을 기초로 하여, 예를 들어 크기 배제 크로마토그래피, 막을 통한 한외여과, 또는 밀도 원심분리에 의해 분리될 수 있다. 일부 실

시양태에서, 단백질은 그의 표면 전하를 기초로 하여, 예를 들어 등전 침전, 음이온 교환 크로마토그래피, 또는 양이온 교환 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다. 단백질은 또한 그의 용해도를 기초로 하여, 예를 들어 황산암모늄 침전, 등전 침전, 계면활성제, 세제 또는 용매 추출에 의해 분리될 수 있다. 단백질은 또한 또 다른 분자에 대한 그의 친화도에 의해, 예를 들어 소수성 상호작용 크로마토그래피, 반응성 염료, 또는 히드록시아파타이트를 사용하여 분리될 수 있다. 친화성 크로마토그래피는 또한 관심 단백질에 대해 특이적 결합 친화도를 갖는 항체, His-태그부착된 재조합 단백질의 경우에 니켈 NTA, 당단백질의 당 모이어티에 결합하는 렉틴, 또는 관심 단백질에 특이적으로 결합하는 다른 분자를 사용하는 것을 포함할 수 있다.

[0132] 단백질을 단리하는 것은 원치않는 물질의 제거를 가능하게 한다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 식물의 종자, 잎, 줄기 또는 다른 부분에서 원치않는 물질 (예를 들어, 핵산, 예컨대 RNA 및 DNA, 지질 막, 인지질, 지방, 오일, 탄수화물, 예컨대 전분, 셀룰로스, 및 글루칸, 페놀계 화합물, 폴리페놀 화합물, 방향족 화합물 또는 안료)로부터 실질적으로 분리된 단백질이다.

[0133] 단리 및 정제된 단백질은 또한 폴리펩티드 발현 기술 (예를 들어, 박테리아 세포, 곤충 세포, 진균 세포, 예컨대 효모 세포, 식물 세포 또는 포유동물 세포를 사용한 이중 발현 기술)을 사용하여 재조합적으로 생산될 수 있다. 일부 경우에, 표준 폴리펩티드 합성 기술 (예를 들어, 액체-상 폴리펩티드 합성 기술 또는 고체-상 폴리펩티드 합성 기술)은 단백질을 합성적으로 생산하는데 사용될 수 있다. 일부 경우에, 세포-무함유 번역 기술이 단백질을 합성적으로 생산하는데 사용될 수 있다.

[0134] 소비재에 혼입된 단백질 또는 단백질들은 영양적 기능을 제공할 수 있다. 일부 경우에, 단백질은 또한 소비재의 특성, 예를 들어 소비재의 풍미, 색, 냄새, 및/또는 텍스처를 변경시키는 역할을 한다. 예를 들어, 육류 대용 제품은 미가공 상태에서 조리된 상태로의 조리 진행을 나타내는 단백질 지시제를 포함할 수 있으며, 여기서 육류 대용 제품은 비-동물 공급원으로부터 유래된 것이다.

[0135] 단리 및 정제될 수 있고 본원에 기재된 소비재에 사용될 수 있는 단백질의 예는 리보솜 단백질, 액틴, 핵소키나제, 락테이트 데히드로게나제, 프룩토스 비스포스페이트 알돌라제, 포스포프룩토키나제, 트리오스 포스페이트 이소머라제, 포스포글리세레이트 키나제, 포스포글리세레이트 뮤타제, 엔올라제, 피루베이트 키나제, 프로테아제, 리파제, 아밀라제, 당단백질, 렉틴, 뮤신, 글리세르알데히드-3-포스페이트 데히드로게나제, 피루베이트 데카르복실라제, 액틴, 번역 신장 인자, 히스톤, 리볼로스-1,5-비스포스페이트 카르복실라제 옥시게나제 (루비스코), 리볼로스-1,5-비스포스페이트 카르복실라제 옥시게나제 악티바제 (루비스코 악티바제), 알부민, 글리시닌, 콘글리시닌, 글로불린, 비실린, 콘알부민, 글리아딘, 글루텔린, 글루텐, 글루테닌, 호르데인, 프롤라민, 파세올린 (단백질), 단백질체, 세칼린, 익스텐신, 트리티세아에 글루텐, 콜라겐, 제인, 카피린, 아베닌, 데히드린, 히드로필린, 후기 배아발생 풍부 단백질, 천연 언폴딩 단백질, 임의의 종자 저장 단백질, 올레오신, 칼올레오신, 스테롤레오신 또는 다른 오일 바디 단백질, 영양 저장 단백질 A, 영양 저장 단백질 B, 녹두 종자 저장 8S 글로불린, 글로불린, 완두 글로불린 및 완두 알부민을 포함한다.

[0136] 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 지질과 상호작용하여 구조 내에서 지질의 안정화를 돕는 단백질이거나, 지질에 결합하여 지질 구조의 가교를 돕는 단백질이거나, 또는 지질에 결합하여 지질 구조와 비-지질 상호작용 단백질의 가교를 돕는 단백질일 수 있다. 특정한 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 본원에 기재된 소비재 내에 이러한 단백질을 사용하는 것은 지질 및/또는 지방 모조물과 육류 대용 제품의 다른 성분의 통합을 개선하여, 최종 제품의 개선된 구강촉감 및 텍스처를 야기할 수 있다. 지질-상호작용 식물 단백질의 비제한적 예는 올레신 패밀리의 단백질을 포함한다. 올레신은 식물의 오일 바디에서 발견되는 지질-상호작용 단백질이다. 지질과 상호작용하고 에멀전을 안정화할 수 있는 식물 단백질의 다른 비제한적 예는 그레이트 노던 콩으로부터의 종자 저장 단백질, 완두로부터의 알부민, 완두로부터의 글로불린, 녹두로부터의 8S 글로불린, 강낭콩으로부터의 8S 글로불린, 프롤라민 및 지질 전달 단백질을 포함한다.

[0137] 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질 중 1종 이상은 철-운반 단백질, 예컨대 헴-함유 단백질일 수 있다. 본원에 사용된 용어 "헴 함유 단백질"은 "헴 함유 폴리펩티드" 또는 "헴 단백질" 또는 "헴 폴리펩티드"와 상호 교환적으로 사용될 수 있고, 헴 모이어티에 공유적으로 또는 비공유적으로 결합할 수 있는 임의의 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 헴-함유 폴리펩티드는 글로빈이고, 일련의 7 내지 9개의 알파 헬릭스를 포함하는 글로빈 폴드를 포함할 수 있다. 글로빈 유형 단백질은 임의의 클래스 (예를 들어, 클래스 I, 클래스 II, 또는 클래스 III)일 수 있고, 일부 실시양태에서, 산소를 수송하거나 저장할 수 있다. 예를 들어, 헴-함유 단백질은 헤모글로빈 또는 레그헤모글로빈의 비-공생 유형일 수 있다. 헴-함유 폴리펩티드는 단량체, 즉 단일 폴리펩티드 채일 수 있거나, 이량체, 삼량체, 사량체 및/또는 더 고차수의 올리고머일 수 있다. 헴-함유 단백질의

산소화 Fe²⁺ 상태의 수명은 미오글로빈의 그것과 유사할 수 있거나, 또는 헴-단백질-함유 소비재가 제조, 저장, 취급 또는 소비를 위해 준비되는 조건 하에 10%, 20%, 30% 50%, 100% 이상 초과할 수 있다. 헴-함유 단백질의 무산소화 Fe²⁺ 상태의 수명은 미오글로빈의 그것과 유사할 수 있거나, 또는 헴-단백질-함유 소비재가 제조, 저장, 취급 또는 소비를 위해 준비되는 조건 하에 10%, 20%, 30% 50%, 100% 이상 초과할 수 있다.

[0138] 헴-함유 폴리펩티드의 비제한적 예는 안드로글로빈, 시토글로빈, 글로빈 E, 글로빈 X, 글로빈 Y, 헤모글로빈, 레그헤모글로빈, 플라보헤모글로빈, 헬스 게이트 글로빈 I, 미오글로빈, 에리트로크루오린, 베타 헤모글로빈, 알파 헤모글로빈, 프로토클로빈, 시아노글로빈, 시토글로빈, 히스토글로빈, 뉴로글로빈, 클로로크루오린, 말단 절단형 헤모글로빈 (예를 들어, HbN 또는 HbO), 말단절단형 2/2 글로빈, 헤모글로빈 3 (예를 들어, G1b3), 시토크롬 또는 퍼옥시다제를 포함할 수 있다.

[0139] 본원에 기재된 소비재에 사용될 수 있는 헴-함유 단백질은 포유동물 (예를 들어, 가축, 예컨대 소, 염소, 양, 말, 돼지, 황소, 또는 토끼), 조류, 식물, 조류, 진균 (예를 들어, 효모 또는 사상 진균), 섬모충 또는 박테리아로부터의 것일 수 있다. 예를 들어, 헴-함유 단백질은 포유동물, 예컨대 가축 (예를 들어, 소, 염소, 양, 돼지, 황소, 또는 토끼) 또는 조류, 예컨대 칠면조 또는 닭으로부터의 것일 수 있다. 헴-함유 단백질은 식물, 예컨대 니코티아나 타바쿰(*Nicotiana tabacum*) 또는 니코티아나 실베스트리스(*Nicotiana glauca*) (담배); 제아 메이스(*Zea mays*) (옥수수), 아라비도시스 탈리아나(*Arabidopsis thaliana*), 콩과식물, 예컨대 글리신 맥스(*Glycine max*) (대두), 키케르 아리에티눔(*Cicer arietinum*) (가르반조 또는 병아리 완두), 피숨 사티BUM(*Pisum sativum*) (완두) 품종, 예컨대 완두 또는 당 스넵 완두, 파세올루스 불가리스(*Phaseolus vulgaris*) 품종의 강낭콩, 예컨대 녹색콩, 검정콩, 흰강낭콩, 노던콩, 또는 핀토콩, 비그나 운구이쿨라타(*Vigna unguiculata*) 품종 (동부), 비그나 라디아타(*Vigna radiata*) (녹두), 루피누스 알부스(*Lupinus albus*) (루핀), 또는 메디카고 사티바(*Medicago sativa*) (알팔파); 브라시카 나푸스(*Brassica napus*) (카놀라); 트리티쿰(*Triticum*) 종 (밀알을 비롯한 밀, 및 나맥); 고시피움 히르수툼(*Gossypium hirsutum*) (목화); 오리자 사티바(*Oryza sativa*) (벼); 지자니아(*Zizania*) 종 (야생벼); 헬리안투스 안누스(*Helianthus annuus*) (해바라기); 베타 불가리스(*Beta vulgaris*) (사탕무); 펜니세툼 글라우쿰(*Pennisetum glaucum*) (진주 기장); 케노포디움(*Chenopodium*) 종 (퀴노아); 세사뮴(*Sesamum*) 종 (참깨); 리눔 우시타티시뮴(*Linum usitatissimum*) (아마); 또는 호르데움 불가레 (보리)로부터의 것일 수 있다. 헴-함유 단백질은 진균, 예컨대 사카로미세스 세레비지아에(*Saccharomyces cerevisiae*), 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*), 마그나포르테 오리자에(*Magnaporthe oryzae*), 푸사리움 그라미네아룸(*Fusarium graminearum*) 또는 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*)으로부터 단리될 수 있다. 헴-함유 단백질은 박테리아, 예컨대 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 바실루스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 바실루스 메가테리움(*Bacillus megaterium*), 시네코시스티스(*Synechocystis*) 종, 아퀴팩스 아에오리쿠스, 메틸아시디필룸 인페르노룸 또는 고온성 박테리아 (예를 들어, 45°C보다 높은 온도에서 성장함), 예컨대 써모필루스(*Thermophilus*)로부터 단리될 수 있다. 헴-함유 단백질은 조류, 예컨대 클라미도모나스 에우가메토스(*Chlamydomonas eugametos*)로부터 단리될 수 있다. 헴-함유 단백질은 원충, 예컨대 파라메시움 카우다툼(*Paramecium caudatum*) 또는 테트라히메나 피리포르미스(*Tetrahymena pyriformis*)로부터 단리될 수 있다. 일부 실시양태에서, 박테리아 헤모글로빈은 아퀴팩스 아에오리쿠스, 써모비피다 푸스카(*Thermobifida fusca*), 메틸아시디필룸 인페르노룸 (헬스 게이트), 시네코시스티스 종, 또는 바실루스 서브틸리스로 이루어진 균으로부터 선택된다. 많은 헴-함유 단백질의 서열 및 구조가 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Reedy, et al., *Nucleic Acids Research*, 2008, Vol. 36, Database issue D307-D313] 및 월드 와이드 웹 <http://hemeprotein.info/heme.php>에서 입수가 가능한 헴 단백질 데이터베이스를 참조한다.

[0140] 예를 들어, 비-공생 헤모글로빈은 대두, 발아 대두, 알팔파, 골든 아마, 검정콩, 검은 눈을 가진 완두, 노던, 가르반조, 녹두, 동부, 핀토콩, 꼬투리 완두, 건조 완두, 퀴노아, 참깨, 해바라기, 밀알, 나맥, 보리, 야생벼 또는 벼로 이루어진 균으로부터 선택된 식물로부터의 것일 수 있다.

[0141] 소비재를 제조하는데 사용될 수 있는 본원에 기재된 임의의 헴-함유 단백질은 헴-결합 모티프를 함유하는 상응하는 야생형 헴-함유 단백질 또는 그의 단편의 아미노산 서열에 대해 적어도 70% (예를 들어, 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%) 서열 동일성을 가질 수 있다. 예를 들어, 헴-함유 단백질은 비-공생 헤모글로빈, 예컨대 비그나 라디아타 (서열 1), 호르데움 불가레 (서열 5), 제아 메이스 (서열 13), 오리자 사티바 아종 자포니카(*Oryza sativa* subsp. *japonica*) (벼) (서열 14), 또는 아라비도시스 탈리아나 (서열 15)로부터의 것, 헬스 게이트 글로빈 I, 예컨대 메틸아시디필룸 인페르노룸 (서열 2)로부터의 것, 플라보헤모단백질, 예컨대 아퀴팩스 아에오리쿠스 (서열 3)로부터의 것, 레그헤모글로빈, 예컨대 글리신 맥스 (서열 4), 피

숨 사티봄 (서열 16), 또는 비그나 운구이쿨라타 (서열 17)로부터의 것, 헵-의존성 퍼옥시다제, 예컨대 마그나 포르테 오리자에, (서열 6) 또는 푸사리움 옥시스포룸 (서열 7)으로부터의 것, 푸사리움 그라미네아룸 (서열 8)으로부터의 시토크롬 c 퍼옥시다제, 클라미도모나스 모에우시(*Chlamydomonas moewusii*) (서열 9), 테트라히메나 피리포르미스 (서열 10, 그룹 I 말단절단형), 파라메시움 카우다툼 (서열 11, 그룹 I 말단절단형)으로부터의 말단절단형 헤모글로빈, 아스페르길루스 니거(*Aspergillus niger*) (서열 12)로부터의 헤모글로빈, 또는 포유동물 미오글로빈 단백질, 예컨대 보스 타우루스(*Bos taurus*) (서열 18) 미오글로빈, 수스 스크로파(*Sus scrofa*) (서열 19) 미오글로빈, 또는 에쿠스 카발루스(*Equus caballus*) (서열 20) 미오글로빈, 니코티아나 벤틀미아나 (*Nicotiana benthamiana*) (서열 21), 바실루스 서브틸리스 (서열 22), 코리네박테리움 글루타미쿰 (*Corynebacterium glutamicum*) (서열 23), 시네코시스티스(*Synechocystis*) PCC6803 (서열 24), 시네코코쿠스 (*Synechococcus*) 종 PCC 7335 (서열 25), 노스톡 코뮤네(*Nostoc commune*) (서열 26), 또는 바실루스 메가테리움 (서열 27)으로부터의 헵-단백질을 비롯한, 도 1에 기재된 아미노산 서열에 대해 적어도 70% 서열 상동성을 가질 수 있다. 도 1을 참조한다.

[0142] 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 다음과 같이 결정될 수 있다. 먼저, 아미노산 서열을 BLASTP 버전 2.0.14를 함유하는 BLASTZ의 독립형 버전으로부터의 BLAST 2 서열 (B12seq) 프로그램을 사용하여 정렬한다. 이러한 BLASTZ의 독립형 버전은 피셔 & 리처드슨(Fish & Richardson) 웹 사이트 (예를 들어, www.fr.com/blast/) 또는 미국 정부의 국립 생물 정보 센터 웹 사이트 (www.ncbi.nlm.nih.gov)에서 수득할 수 있다. B12seq 프로그램 사용법을 설명한 지침은 BLASTZ에 첨부된 리드미 파일에서 찾아볼 수 있다. B12seq는 BLASTP 알고리즘을 사용하여 2개의 아미노산 서열 사이의 비교를 수행한다. 2개의 아미노산 서열을 비교하기 위해, B12seq의 옵션을 다음과 같이 설정한다: -i는 비교할 제1 아미노산 서열을 함유하는 파일로 설정되고 (예를 들어, C:\seq1.txt); -j는 비교할 제2 아미노산 서열을 함유하는 파일로 설정되고 (예를 들어, C:\seq2.txt); -p는 blastp로 설정되고; -o는 임의의 목적하는 파일명으로 설정되고 (예를 들어, C:\output.txt); 모든 기타 옵션은 그의 디폴드 설정으로 남겨진다. 예를 들어, 2개의 아미노산 서열 사이의 비교를 함유하는 출력 파일을 생성하기 위해 하기 명령어가 사용될 수 있다: C:\B12seq -i c:\seq1.txt -j c:\seq2.txt -p blastp -o c:\output.txt. 2개의 비교 서열이 상동성을 공유하면, 지정된 출력 파일은 정렬된 서열에 따라 상동성 영역을 제시할 것이다. 2개의 비교 서열이 상동성을 공유하지 않으면, 지정된 출력 파일은 정렬된 서열을 제시하지 않을 것이다. blastn이 사용되는 것을 제외하고 핵산 서열에 대해 유사한 절차가 이어질 수 있다.

[0143] 정렬되면, 매칭 개수는 동일한 아미노산 잔기가 양쪽 서열에 존재하는 위치의 개수를 계수하는 것에 의해 결정된다. 퍼센트 동일성은 매칭 개수를 전장 폴리펩티드 아미노산 서열의 길이로 나눈 다음 결과값에 100을 곱하는 것에 의해 결정된다. 퍼센트 동일성 값은 최근접 10분의 1로 반올림됨에 주목한다. 예를 들어, 78.11, 78.12, 78.13, 및 78.14는 78.1로 반내림되고, 78.15, 78.16, 78.17, 78.18, 및 78.19는 78.2로 반올림된다. 또한 길이 값은 항상 정수일 것임에 주목한다.

[0144] 다수의 핵산이 특정한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩할 수 있음을 인식할 것이다. 유전자 코드의 축중성은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고; 즉, 많은 아미노산에 대해, 아미노산에 대한 코돈으로서의 역할을 하는 1개 초과 뉴클레오티드 트리플렛이 존재한다. 예를 들어, 주어진 효소에 대한 코딩 서열 내 코돈은 특정한 중 (예를 들어, 박테리아 또는 진균)에서의 최적 발현이 수득되도록, 그 중에 대한 적절한 코돈 편재 표를 사용하여 변형될 수 있다.

[0145] 헵-함유 단백질은 공급원 물질로부터 추출될 수 있거나 (예를 들어, 동물 조직, 또는 식물, 진균, 조류, 또는 박테리아 바이오매스로부터, 또는 분비된 단백질의 경우에는 배양 상청액으로부터 추출됨) 또는 공급원 물질의 조합물 (예를 들어, 다중 식물 종)로부터 추출될 수 있다. 레그헤모글로빈은 범용 콩과식물 작물 (예를 들어, 대두, 알팔파, 또는 완두)의 미사용 부산물로서 용이하게 입수가 가능하다. 미국에서 이들 작물의 뿌리 내에 있는 레그헤모글로빈의 양은 미국에서 소비되는 모든 적색 육류의 미오글로빈 함량을 초과한다.

[0146] 일부 실시양태에서, 헵-함유 단백질의 추출물은 공급원 물질 (예를 들어, 다른 동물, 식물, 진균, 조류, 또는 박테리아 단백질)로부터의 또는 공급원 물질의 조합 (예를 들어, 다양한 동물, 식물, 진균, 조류, 또는 박테리아)로부터의 1종 이상의 비-헵-함유 단백질을 포함한다.

[0147] 일부 실시양태에서, 헵-함유 단백질은 상기 기재된 기술을 사용하여 공급원 물질의 다른 성분 (예를 들어, 다른 동물, 식물, 진균, 조류, 또는 박테리아 단백질)으로부터 단리 및 정제된다. 본원에 사용된 용어 "단리 및 정제된"은 헵-함유 단백질 제제가 적어도 60% 순수, 예를 들어 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 초

과로 순수함을 나타낸다.

- [0148] 헴-함유 단백질은 또한 폴리펩티드 발현 기술 (예를 들어, 박테리아 세포, 곤충 세포, 조류 세포, 진균 세포, 예컨대 효모 세포, 식물 세포 또는 포유동물 세포를 사용한 이중 발현 기술)을 사용하여 재조합적으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 헴-함유 단백질은 이. 콜라이(E. coli) 세포에서 발현될 수 있다. 헴-함유 단백질은 단백질을 정제하는데 도움이 되는 이중 아미노산 서열, 예컨대 FLAG, 폴리히스티딘 (예를 들어, 핵사히스티딘, HIS 태그), 헤마글루티닌 (HA), 글루타티온-S-트랜스퍼라제 (GST) 또는 말토스-결합 단백질 (MBP)로 태그부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, HIS-태그 및 HIS-태그의 절단을 허용하는 프로테아제 (예를 들어, TEV) 부위를 포함하는 재조합 헴 함유 단백질이 이. 콜라이에서 발현되고, His-태그 친화성 크로마토그래피 (탈론(Talon) 수지, 클론테크(CloneTech))를 사용하여 정제될 수 있다. 일부 경우에, 표준 폴리펩티드 합성 기술 (예를 들어, 액체-상 폴리펩티드 합성 기술 또는 고체-상 폴리펩티드 합성 기술)을 사용하여 헴-함유 단백질을 합성적으로 생산할 수 있다. 일부 경우에, 세포-무함유 번역 기술을 사용하여 헴-함유 단백질을 합성적으로 생산할 수 있다.
- [0149] 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 실질적으로 그의 천연 폴드로 존재하고 수용성이다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 50, 60, 70, 80, 또는 90% 초과로 그의 천연 폴드로 존재한다. 일부 실시양태에서, 단리 및 정제된 단백질은 50, 60, 70, 80, 또는 90% 초과로 수용성이다.
- [0150] 소비재에 사용되는 단백질은 변경 (예를 들어, 가수분해, 절단, 가교, 변성, 중합, 압출, 전기방사, 분무 건조 또는 동결건조, 또는 유도체화 또는 화학적으로 변형)될 수 있다. 예를 들어, 단백질은 당, 지질, 보조인자, 펩티드, 또는 포스페이트, 아세테이트, 메틸을 비롯한 다른 화학적 기, 및 다른 천연 또는 비천연 분자의 공유 부착에 의해 변형될 수 있다. 예를 들어, 단백질의 펩티드 백본은 산 또는 프로테아제의 노출 또는 다른 수단에 의해 절단될 수 있다. 예를 들어, 단백질은 변성될 수 있으며, 즉 그의 2차, 3차, 또는 4차 구조는 열 또는 저온에의 노출, pH에서의 변화, 세제, 우레아 또는 다른 카오트로픽제와 같은 변성제에의 노출, 또는 전단을 비롯한 기계적 응력에 의해 변경될 수 있다. 용액, 콜로이드, 또는 고체 어셈블리로의 단백질의 정렬은 인장 강도, 탄성, 변형성, 경도 또는 소수성을 비롯한 기계적 특성에 영향을 미치기 위해 제어될 수 있다.
- [0151] 단백질은 또한 조성물용 구조를 위한 매트릭스를 형성할 수 있는 섬유로 어셈블리될 수 있다. 단백질 섬유의 3-차원 매트릭스는, 예를 들어 분자-간 디설피드 가교의 형성을 촉진하는 화학물질 (혼합 글루타티온, 디티오프레이톨 (DTT), 베타-메르캅토에탄올 (BME))을 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 화학물질은 단백질 (티오레독신, 글루타레독신)이다. 일부 실시양태에서, 단백질은 효소 (디설피드 이소머라제)이다. 일부 실시양태에서, 섬유는 N-히드록시수스인이미드 (NHS) 에스테르, 이미도에스테르, 아릴 플루오라이드, 알데히드, 말레이미드, 피리딜디티올, 할로아세틸, 아릴 아지드, 디아지린, 카르보디이미드, 히드라지드 및 이소시아네이트로 이루어진 군으로부터 선택된 2개의 반응성 기를 갖는 화학 가교제에 의해 가교된다.
- [0152] 일부 실시양태에서, 1종 이상의 식물 단백질을 함유하는 코아세르베이트가 형성될 수 있고, 예를 들어 육류 또는 다른 모조물에서 결합제로서 사용될 수 있다. 코아세르베이션은 하전된 중합체의 균질 용액이 상 분리를 거쳐 중합체-풍부 밀집 상 ('코아세르베이트') 및 용매-풍부 상 (상청액)을 생성하는 동안의 과정이다. 단백질-폴리사카라이드 코아세르베이트는 생체물질의 개발에서 사용되어 왔다. 예를 들어, 문헌 [Boral and Bohidar (2010) Journal of Physical Chemistry B, Vol 114 (37): 12027-35; 및 Liu et al., (2010) Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol 58:552-556]을 참조한다. 이러한 코아세르베이트의 형성은 반대로 하전된 중합체 사이의 회합 상호작용에 의해 유도된다. 그러나, 본원에 기재된 바와 같이, 코아세르베이트는 단백질 (예를 들어, 1종 이상의 완두 단백질, 병아리콩 단백질, 렌틸 단백질, 루핀 단백질, 다른 콩과식물 단백질, 또는 그의 혼합물을 포함하는 식물 단백질)을 사용하여 형성될 수 있다. 일반적으로, 코아세르베이트는 1종 이상의 단리 및 정제된 식물 단백질, 예컨대 완두 레구민 또는 비실린 (예를 들어, 콘비실린을 포함하는 비실린 분획), 비실린 및 레구민 둘 다의 조합물, 또는 미분획 완두 단백질을 포함하는 낮은 이온 강도 용액 (예를 들어, 100 mM 이하의 염화나트륨의 완충 용액)을 3.5 내지 5.5의 pH (예를 들어, 4 내지 5의 pH)로 산성 화함으로써 형성될 수 있다. 이들 조건 하에, 단백질은 용액과 분리되고, 혼합물은 원심분리되어 코아세르베이트로 깨끗하게 분리될 수 있다. 이러한 코아세르베이트는, 침전물과는 달리, 당김에 의해 신장될 수 있고 가열 시 용융되는 점성 물질이다. 과정은 오일 (최대 70%, 예를 들어, 팜 또는 다른 오일)의 존재 하에 수행되어 크림같은 물질을 형성할 수 있다. 용액의 조성 (비실린: 레구민의 비, 사용된 오일의 유형 및 양)을 달리함으로써, 코아세르베이트의 결합 특성을 원하는 바에 따라 조정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 겔 (예를 들어, 아카시아 겔 또는 크산탄 겔)을 사용하여 코아세르베이트를 형성할 수 있다. 코아세르베이트는 지방-, 근육- 및 결합 조직 모조물에 결합하여 이를 함께 유지하기 위해 소고기 패티 모조물 내에서 결합제로서 사용

될 수 있다.

[0153] 밀 글루텐 (0-20%) 및 완두 단백질 분획 (0-50%)을 가소제, 예컨대 글리세롤 (0-30%) 또는 폴리에틸렌 글리콜의 존재 하에 조합함으로써 상이한 접착 및 조리 특성을 갖는 결합 물질을 제조할 수 있다. 필요에 따라 레그헤모글로빈 또는 다른 헴-함유 단백질을 혼합물에 첨가할 수 있다. 임의의 덩어리를 제거하기 위해 혼합하자마자, 상기 물질을 소고기 패티 모조물에 혼입할 수 있다.

[0154] 일부 실시양태에서, 단백질은 압출 없이 단백질을 텍스처화하기 위해 동결 정렬될 수 있다. 상기 방법은 단백질 포함 물질을 천천히 동결시켜 얼음 결정이 형성되게 하는 것을 수반한다. 한쪽 측면에서부터 냉각될 때, 얼음 결정은 냉각된 측면에 대해 수직인 방향으로 우세하게 형성된다. 동결 후, 얼음은 동결-건조기 내에서 여러 층을 갖는 물질을 남기고 물질로부터 제거될 수 있다. 구조는 이어서 가압, 습윤 조건 하에 가열하는 것에 의해 안정화되어 육류 모조물에 사용될 수 있는 물질이 제조될 수 있다. 대두 단백질의 동결-정렬은 문헌 [Lugay and Kim (1981)]에 기재되어 있다 (문헌 [Freeze alignment: A novel method for protein texturization. Page 177-187, Chapter 8 in: D.W. Stanley, E.D. Murray and D.H. Lees eds. 1981. Utilization of Protein Resources. Westport, CT: Food & Nutrition Press, Inc] 참조). 동결-정렬된 단백질은 추가로 가공되고 (소고기 풍미 및/또는 레그헤모글로빈을 포함하는 용액 중에 담그는 것에 의함) 지방- 및 결합-조직 모조물과 조합되어 사용되어 소고기 모조물을 형성할 수 있다. 모조물은 또한 지방- 및 결합-조직과의 조합 전에 형성될 수 있는 저온 경화 겔 (예를 들어, 완두 단백질 및 미오글로빈을 포함) 또는 가교된 겔 (예를 들어, 완두 단백질 및 레그헤모글로빈을 포함)을 둘러싸는 구조로서 사용될 수도 있다.

[0155] C. 지질

[0156] 본원에 기재된 소비재는 지질 성분을 포함할 수 있다. 지질은 단리 및/또는 정제될 수 있고, 트리글리세리드, 모노글리세리드, 디글리세리드, 유리 지방산, 스펡고시드, 당지질, 인지질 또는 오일, 또는 이러한 지질의 어셈블리 (예를 들어, 막, 레시틴, 리소레시틴, 또는 벌크 수상 내에 소량의 지질을 함유하는 지방 액적)의 형태로 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 지질 공급원은 유전자 조작된 박테리아, 조류, 고세균 또는 진균을 비롯한 비-동물 공급원으로부터 취득된 오일이다 (예를 들어, 식물, 조류, 진균, 예컨대 효모 또는 사상 진균, 해조, 박테리아, 또는 고세균으로부터 취득된 오일). 식물 오일의 비제한적 예는 옥수수 오일, 올리브 오일, 대두 오일, 땅콩 오일, 호두 오일, 아몬드 오일, 참깨 오일, 목화씨 오일, 평지씨 오일, 카놀라 오일, 홍화 오일, 해바라기 오일, 아마씨 오일, 팜 오일, 팜핵 오일, 코코넛 오일, 바바수 오일, 시어 버터, 망고 버터, 코코아 버터, 밀 배아 오일 또는 쌀겨 오일; 또는 마가린을 포함한다. 오일은 수소화될 수 있거나 (예를 들어, 수소화 식물성 오일) 또는 비-수소화될 수 있다.

[0157] 일부 실시양태에서, 지질은 트리글리세리드, 모노글리세리드, 디글리세리드, 유리 지방산, 스펡고시드, 당지질, 레시틴, 리소레시틴, 인지질, 예컨대 포스파티드산, 리소포스파티드산, 포스파티딜 콜린, 포스파티딜 이노시톨, 포스파티딜 에탄올아민 또는 포스파티딜 세린; 스펡고지질, 예컨대 스펡고미엘린 또는 세라미드; 스테롤, 예컨대 스티그마스테롤, 시토스테롤, 캄페스테롤, 브라시카스테롤, 시토스타놀, 캄페스타놀, 에르고스테롤, 지모스테롤, 페코스테롤, 디노스테롤, 라노스테롤, 콜레스테롤 또는 에피스테롤; 지질 아마이드, 예컨대 N-팔미토일 프롤린, N-스테아로일 글리신, N-팔미토일 글리신, N-아라키도노일 글리신, N-팔미토일 타우린, N-아라키도노일 히스티딘 또는 아난다미드; 유리 지방산, 예컨대 팔미톨레산, 팔미트산, 미리스트산, 라우르산, 미리스톨레산, 카프로산, 카프르산, 카프릴산, 펠라르곤산, 운데칸산, 리놀레산 (C18:2), 에이코산 (C22:0), 아라키돈산 (C20:4), 에이코사펜탄산 (C20:5), 도코사펜타엔산 (C22:5), 도코사헥산산 (C22:6), 에루산 (C22:1), 공액 리놀레산, 리놀렌산 (C18:3), 올레산 (C18:1), 엘라이드산 (올레산의 트랜스 이성질체), 트랜스-바센산 (C18:1 트랜스 11), 또는 공액 올레산; 또는 이러한 지방산의 모노아실글리세리드 에스테르, 디아실글리세리드 에스테르, 및 트리아실글리세리드 에스테르를 비롯한 이러한 지방산의 에스테르일 수 있다.

[0158] 지질은 인지질, 지질 아마이드, 스테롤 또는 중성 지질을 포함할 수 있다. 인지질은 지방산 (예를 들어, 상기 참조), 글리세롤 및 극성 기를 포함하는 다수의 양친매성 분자를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 극성 기는 예를 들어 콜린, 에탄올아민, 세린, 포스페이트, 글리세롤-3-포스페이트, 이노시톨 또는 이노시톨 포스페이트이다. 일부 실시양태에서, 지질은 예를 들어 스펡고지질, 세라미드, 스펡고미엘린, 세레브로시드, 강글리오시드, 에테르 지질, 플라σμα로젠 또는 PEG화 지질이다.

[0159] 일부 실시양태에서, 소비재에 사용되는 지질은 해바라기 종자, 홍화 종자, 참깨 종자, 평지 종자, 아몬드, 마카다미아, 그레이프프루트, 레몬, 오렌지, 수박, 호박, 코코아, 코코넛, 망고, 버터넛 스위시, 캐슈, 브라질넛, 밤, 헤이즐넛, 땅콩, 피칸, 호두 및 피스타치오를 포함하나 이에 제한되지는 않는 종자, 견과류 및 콩과식물로

부터 생성된 크림 분획이다. 본원에 사용된 용어 "크림 분획"은 지질, 단백질 및 물을 포함하는 단리된 에멀전을 지칭할 수 있다.

[0160] 종자, 견과류 및 콩과식물로부터 크림 분획을 수득하기 위해, 하기 단계 중 하나 이상을 수행할 수 있다. 종자, 견과류 또는 콩과식물을 1분에서 30분까지 블렌딩할 수 있다. 예를 들어, 종자, 견과류, 또는 콩과식물을 4분에 걸쳐 속도를 서서히 최대 속도로 증가시켜 블렌딩한 다음, 최대 속도에서 1분 동안 블렌딩할 수 있다. 종자, 견과류 또는 콩과식물을 물, 또는 하기: EDTA (0 - 0.1M), NaCl (0-1M), KCl (0-1M), NaSO₄ (0 - 0.2M), 인산칼륨 (0-1M), 시트르산나트륨 (0-1M), 탄산나트륨 (0-1M), 및/또는 수크로스 (0-50%) 중 모두 또는 일부를 함유하는 3 내지 11의 pH 용액 중에서 블렌딩하여 슬러리를 수득할 수 있다. 슬러리를 20℃ 내지 50℃로 가열하고 원심분리하여 크림 분획을 수득할 수 있다 (상층, 또한 "크림"으로도 지칭됨). 크림 분획을 0.1M 내지 2M 우레아 용액으로 세척한 후 원심분리에 의해 크림 분획을 재-단리함으로써 크림 분획의 추가 정제를 달성할 수 있다. 물 중 단백질을 포함하는 용액인 잔류 액체 ("탈지" 층으로 지칭됨)가 또한 사용될 수 있다.

[0161] "크림"은 그대로 사용될 수 있거나, 또는 추가 정제 단계를 거칠 수 있다. 예를 들어, 세척 및 가열은 색 및 풍미 분자 (예를 들어, 원치않는 분자), 또는 원치않는 거친 입자를 제거하여 구강 촉감 및 크림성을 개선할 수 있다. 특히, 높은 pH 완충제 (pH >9)에 의한 세척은 쓴 맛을 내는 화합물을 제거하여 구강 촉감을 개선할 수 있고/거나, 우레아에 의한 세척은 저장 단백질을 제거할 수 있고/거나, pH 9 미만으로의 세척에 이은 pH 9 초과의 pH로의 세척은 원치않는 색 분자를 제거할 수 있고/거나, 염에 의한 세척은 맛 화합물을 감소시킬 수 있다. 가열은 거친 입자, 색 및 풍미 화합물의 제거를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 크림 분획은 0-24시간, 25℃ 내지 80℃ 범위의 온도에서 가열될 수 있다. 일부 실시양태에서, 생성된 크림같은 분획은 종자 저장 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 종자 저장 단백질은 생성된 크림같은 분획으로부터 실질적으로 제거된다.

[0162] D. 섬유

[0163] 섬유는 본원에 기재된 소비재에의 함유를 위해 단리 및/또는 정제될 수 있다. 섬유는 임의의 식물 공급원으로부터의 비-전분 폴리사카라이드, 예컨대 아라비녹실란, 셀룰로스, 및 기타 식물 성분, 예컨대 저항성 전분, 저항성 텍스트린, 이눌린, 리그닌, 왁스, 키틴, 펙틴, 베타-글루칸, 및 올리고사카라이드를 지칭할 수 있다.

[0164] 섬유는 본원에 기재된 바와 같은 압출 및 용액 방사된 단백질을 지칭할 수 있다.

[0165] E. 당

[0166] 일부 실시양태에서, 소비재는 또한 당을 포함할 수 있다. 예를 들어 소비재는 글루코스 (텍스트로스), 프룩토스 (레블로스), 갈락토스, 만노스, 아라비노스, 크실로스 (D- 또는 L-크실로스), 및 리보스를 포함하나 이에 제한되지는 않는 모노사카라이드, 수크로스, 락토스, 멜리비오스, 트레할로스, 셀로비오스 또는 말토스를 포함하나 이에 제한되지는 않는 디사카라이드, 당 알콜, 예컨대 아라비톨, 만니톨, 들시톨, 또는 소르비톨, 당산, 예컨대 갈락투로네이트, 글루쿠로네이트, 또는 글루코네이트, 올리고사카라이드 및 폴리사카라이드, 예컨대 글루칸, 전분, 예컨대 옥수수 전분, 감자 전분, 펙틴, 예컨대 사과 펙틴 또는 오렌지 펙틴, 라피노스, 스타키오스, 또는 텍스트란; 식물 세포 벽 분해 산물, 예컨대 살리신, 및/또는 당 유도체, 예컨대 N-아세틸글루코사민을 포함할 수 있다.

[0167] F. 겔 형성

[0168] 조성물의 성분은 겔로 형성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 겔은 단백질을 포함하며, 여기서 단백질은 비-동물 공급원 (예를 들어, 식물 공급원 또는 다른 비-동물 공급원, 예컨대 유전자 변형된 효모 또는 박테리아)으로부터 유래된 것이다. 겔은 다양한 방법을 사용하여 형성될 수 있다. 단백질 농도, 효소 농도, pH 및/또는 공정 온도는 겔 형성의 속도 및 최종 조직 모조물의 품질에 영향을 미칠 것이다.

[0169] 겔은 전적으로 성분 사이의 물리적 가교에 의해 안정화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 겔은 가열/냉각 사이클에 의해 제조될 수 있고, 이러한 경우에 겔은 단백질 분자 사이의 물리적 상호작용 (얽힘, 수소성 상호작용)에 의해 안정화된다. 예를 들어, 겔은 단백질 용액을 적어도 40℃, 45℃, 50℃, 60℃, 70℃, 80℃, 90℃ 또는 100℃의 온도로 가열한 다음 실온 또는 40℃ 미만의 온도로 냉각시킴으로써 형성될 수 있다.

[0170] 일부 실시양태에서, 겔은 단백질 및 임의의 다른 성분 (예를 들어, 지질)을 함유하는 조성물을 고압 가공함으로써 형성될 수 있다.

[0171] 일부 실시양태에서, 겔은 용액의 pH를 조정함으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 염산 또는 다른 산 또는 수산

화나트륨 또는 다른 염기를 첨가함으로써 농축된 단백질 용액의 pH를 주요 단백질 성분의 등전 pH에 근접하게 조정할 수 있다.

- [0172] 일부 실시양태에서, 겔은 단백질 분말을 용액에 담금으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 단백질 분말은 적어도 1%, 5%, 10%, 20% (wt/v) 또는 그 초과와 진한 수산화나트륨 용액으로 담길 수 있다. 다른 예에서, 단백질 분말은 혼합된 물/에탄올 용액 중에 담길 수 있다.
- [0173] 일부 실시양태에서, 저온 경화 겔은 임의의 열-불안정성 성분의 변성 또는 파단 (예를 들어, 햄 모이어티 내의 철의 산화 또는 바람직하지 않은 풍미의 생성)을 회피하기 위해 형성된다. 저온 경화 겔을 형성하는 일반적 방법론에 대해 문헌 [Ju and Kilara A. (1998) J. Food Science, Vol 63(2): 288-292; 및 Maltais et al., (2005) J. Food Science, Vol 70 (1): C67-C73]을 참조한다. 일반적으로, 저온 경화 겔은 먼저 단백질 용액을 그의 최소 겔화 농도 미만으로 열 변성시키는 것에 의해 형성된다 (단백질의 pH 및 유형에 의존함, 구상 식물 단백질, 예컨대 완두 단백질의 경우에 전형적으로 pH 6-9에서 <8% (w/v)). 단백질 용액은 단백질이 용액 (예를 들어, 0-500 mM 염화나트륨, pH 6-9)으로부터 침전되지 않는 조건 하에 단백질의 변성 온도를 초과하는 온도로 가열될 수 있다. 용액을 다시 실온 이하로 냉각시킬 수 있고, 용액이 충분히 냉각되었지만 겔화되기 전에 임의의 열-불안정성 성분 (예를 들어, 햄-함유 단백질 및/또는 오일)을 그 중에 혼합시킬 수 있다. 겔화는 염화나트륨 또는 염화칼슘 (예를 들어, 5 내지 100 mM)을 첨가하는 것에 의해 유도될 수 있고, 용액은 겔이 형성되도록 실온 이하에서 인큐베이션될 수 있다 (전형적으로 수분-수시간). 생성된 겔은 그 자체로 육류 모조물에 사용될 수 있거나, 또는 육류 모조물에의 혼입 전에 추가로 가공될 (예를 들어, 안정화될) 수 있다.
- [0174] 일부 실시양태에서, 겔은 적어도 부분적으로 가교 효소를 포함할 수 있거나 또는 그에 의해 제조될 (예를 들어 그에 의해 안정화될) 수 있다. 가교 효소는, 예를 들어 트랜스글루타미나제, 티로시나제, 리폭시게나제, 단백질 디설피드 리덕타제, 단백질 디설피드 이소머라제, 술프히드릴 옥시다제, 퍼옥시다제, 헥소스 옥시다제, 리실 옥시다제 또는 아민 옥시다제일 수 있다.
- [0175] 일부 경우에, 겔은 단백질 사이에 분자간 디설피드 가교의 형성을 촉진하는 화학물질을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 화학물질은 단백질 (예를 들어, 티오레독신, 글루타레독신)이다. 일부 실시양태에서, 단백질은 효소 (디설피드 이소머라제)이다.
- [0176] 겔은 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 에스테르, 이미도에스테르, 아릴 플루오라이드, 알데히드, 말레이미드, 피리딜디티올, 할로아세틸, 아릴 아지드, 디아지린, 카르보디이미드, 히드라지드 및 이소시아네이트로 이루어진 군으로부터 선택된, 2개의 반응성기를 갖는 화학 가교제에 의한 화학적 가교에 의해 안정화될 수 있다.
- [0177] 일부 실시양태에서, 겔은 전분 및 겔의 첨가에 의해 안정화될 수 있다.
- [0178] 일부 실시양태에서, 이들 접근법 중 하나 초과가 조합되어 사용된다. 예를 들어, 트랜스글루타미나제 가교 겔은 가열/냉각 처리에 의해 추가로 안정화될 수 있다.
- [0179] G. 근육 모조물
- [0180] 수많은 육류 제품은 높은 비율의 골격근을 포함한다. 따라서, 본 발명은 동물 골격근의 주요 특성을 모조하거나 그와 가까운, 비-동물 공급원으로부터 유래될 수 있는 조성물을 제공한다. 동물 골격근을 모조하거나 그와 가까운, 비-동물 공급원으로부터 유래된 조성물은 소비재, 예를 들어 육류 모조물의 성분으로서 사용될 수 있다. 이러한 조성물은 "근육 모조물"로서 본원에 표지될 것이다. 일부 실시양태에서, 근육 모조물 및/또는 근육 모조물을 포함하는 육류 대응 제품은 부분적으로 동물 공급원으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 근육 모조물 및/또는 근육 모조물을 포함하는 육류 대응 제품은 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된다.
- [0181] 근육 조직 모조물은 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질을 포함하는 단백질 함량을 포함할 수 있으며, 여기서 근육 조직 모조물은 동물 공급원으로부터 유래된 동등한 근육 조직의 맛, 텍스처 또는 색과 가깝다.
- [0182] 많은 육류 제품은 개개의 근섬유가 주로 이방성 방식으로 편성된 가로무늬 골격근을 높은 비율로 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육 모조물은 어느 정도 이방성으로 편성된 섬유를 포함한다. 섬유는 단백질을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 섬유는 약 1% (wt/wt), 약 2%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 99% (wt/wt) 또는 그 초과와 단백질 성분을 포함한다.
- [0183] 골격근의 결합 조직 성분은 육류 제품의 텍스처, 구강 촉감 및 조리 행동에 실질적으로 기여한다. 결합 조직은 0.1 - 20 마이크로미터 범위의 단백질 (콜라겐, 엘라스틴) 섬유로 구성된다. 일부 실시양태에서, 동물 결합 조

직의 섬유 조성을 모조하기 위해 <1-10 마이크로미터 및 10-300 마이크로미터 직경의 섬유의 혼합물이 제조된다. 일부 실시양태에서, 동물 결합 조직의 인장 강도를 모조하기 위해 단백질 가교에 의해 섬유의 3차원 매트릭스가 안정화된다. 일부 실시양태에서, 섬유의 3차원 매트릭스는 단리, 정제된 가교 효소를 함유한다. 가교 효소는, 예를 들어 트랜스글루타미나제, 티로시나제, 리폭시게나제, 단백질 디설피드 리덕타제, 단백질 디설피드 이소머라제, 술프히드릴 옥시다제, 퍼옥시다제, 핵소스 옥시다제, 리실 옥시다제 또는 아민 옥시다제일 수 있다.

[0184] 일부 단백질 (예를 들어, 녹두 종자로부터의 8S 글로불린, 또는 완두 종자의 알부민 또는 글로불린 분획)은 동물 근육 또는 지방 조직과 유사한 텍스처를 갖는 겔을 형성하는 그의 능력으로 인해 육류 모조물을 구축하는데 바람직한 특성을 갖는다. 섹션 III A 및 B에서 확인되는 단백질을 또한 참조한다. 단백질은 동물 근육 조직의 물리적 특성을 모방하기 위해 인위적으로 설계될 수 있다.

[0185] 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 육류 모조물의 중량을 기준으로 단백질 성분의 약 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 그 초과를 차지한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 소비재의 단백질 함량의 약 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 그 초과를 차지한다.

[0186] 동물, 예컨대 육우의 골격근은 전형적으로 도살의 시점에 근육 조직 질량의 대략 1%를 구성할 수 있는 글리코젠을 상당량 함유한다. 도살 후, 이러한 글리코젠의 일부는 계속 대사되어 락트산을 비롯한 산물을 만들고, 이는 근육 조직의 pH를 낮추어 육류를 바람직한 품질로 만드는데 기여한다. 글리코젠은, 선형 쇠에서 알파 (1->4) 글리코시드 결합에 의해 함께 연결되고 분지 점이 알파 (1->6) 글리코시드 결합을 포함하는 것인 글루코스의 분지형 중합체이다. 식물로부터의 전분, 특히 아밀로펙틴은 또한 선형 쇠에서 알파 (1->4) 글리코시드 결합에 의해 함께 연결되고 분지 점이 알파 (1->6) 글리코시드 결합을 포함하는 것인 글루코스의 분지형 중합체이며, 따라서 육류 모조물을 구축하는데 글리코젠의 유사물로서 사용될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육 또는 육류 모조물은 전분 또는 펙틴을 포함한다.

[0187] 동물 근육 조직의 추가의 성분은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 및 다른 금속 이온, 락트산, 및 다른 유기 산, 유리 아미노산, 펩티드, 뉴클레오티드 및 황 화합물을 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 근육 모조물은 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 다른 금속 이온, 예컨대 철, 아연, 구리, 니켈, 리튬 또는 셀레늄, 락트산, 및 다른 유기 산, 예컨대 지방산, 유리 아미노산, 펩티드, 뉴클레오티드 및 황 화합물 글루타티온, 베타 메르캅토에탄올, 또는 디티오프레이톨을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 근육 모조물 또는 소비재 중의 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 다른 금속 이온, 락트산, 다른 유기 산, 유리 아미노산, 펩티드, 뉴클레오티드 및/또는 황 화합물의 농도는 모조되는 근육 또는 육류에서 발견되는 농도의 10% 이내이다.

[0188] 본 발명은 또한 근육 모조물을 제조하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 방법은 조성물을 비대칭 섬유로 형성한 후 소비재로 혼입시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이들 섬유는 근섬유를 모조한다. 일부 실시양태에서, 섬유는 방사 섬유이다. 다른 실시양태에서, 섬유는 압출 섬유이다. 따라서, 본 발명은 비대칭 또는 방사 단백질 섬유를 제조하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 섬유는 압출기를 통한 단백질 성분의 압출에 의해 형성된다. 압출 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 6,379,738, 미국 특허 번호 3,693,533 및 미국 특허 공개 번호 20120093994에 기재되어 있다. 이들 방법은 본원에 제공된 조성물을 제조하는 방법에 적용될 수 있다.

[0189] 압출은 예를 들어 라이스트리츠(Leistritz) 나노-16 이축 스크류 동시-회전 압출기 (아메리칸 라이스트리츠 익스트루더 코퍼레이션(American Leistritz Extruder Corp.), 미국 뉴저지주 줘머빌)를 사용하여 수행될 수 있다. 배럴 섹션의 능동 냉각은 단백질의 변성을 제한하는데 사용될 수 있다. 다이 섹션의 능동 냉각은 압출 생성물의 팽창 및 과다 수분 손실을 제한하는데 사용될 수 있다. 단백질 공급물 및 액체는 개별적으로 첨가된다: 단백질은 용적식 플런저 공급기 또는 연속식 오거-유형 공급기에 의해 공급되고, 액체는 고압 액체 주사 시스템을 통해 배럴에 첨가될 수 있다. 압출물 압력, 냉각 속도 및 생성물 팽창의 정밀 제어를 위해 다양한 내부 직경 및 채널 길이를 갖는 다이 노즐이 사용될 수 있다. 일부 예에서, 압출 파라미터는 다음과 같다: 스크류 속도 100-200 rpm, 다이 직경 3 mm, 다이 길이 15 cm, 다이 말단에서의 생성물 온도 50°C, 공급 속도 2 g/분, 및 물-유량 3 g/분. 압출 동안 다이에서의 생성물 온도는 열전쌍에 의해 측정된다.

[0190] 방사 섬유는 농축된 단백질 용액 또는 침전된 단백질에 수산화나트륨을 첨가하는 것에 의해 고점성 단백질 "도

프"를 제조하고, 용액을 플러저-유형 장치 (일부 예에서, 시린지 펌프가 달린 시린지)로 작은 강철 모세관 (일부 예에서, 27 게이지 피하 바늘)을 통해 응고 조로 밀어넣는 것에 의해 제조될 수 있다. 일부 예에서, 조는 진한 산성 용액 (예를 들어 3 M 염산)으로 채워진다. 일부 예에서, 조는 단백질의 등이온점과 거의 동등한 pH의 완충 용액으로 채워진다. 응고 단백질 용액 제트는 섬유를 형성하며, 이는 조의 바닥에서 수집된다.

[0191] 방사 섬유 다발은 단백질 "도프"를 많은 작은 구멍을 갖는 방적돌기를 통해 밀어넣는 것에 의해 제조될 수 있다. 일부 예에서, 방적돌기는 cm^2 당 대략 25,000개의 구멍을 갖고, 각각의 구멍의 직경이 대략 200 마이크로미터인 스테인레스 스틸 플레이트이다. 일부 실시양태에서 근육 조직 모조물은 섬유의 3차원 매트릭스 (결합 조직 모조물)를 단백질 용액 중에 침지시키고 섬유의 3차원 매트릭스에 혼입되는 단백질 겔을 생성함으로써 제조된다.

[0192] H. 지방 모조물

[0193] 동물 지방은 조리된 육류의 섭취 경험을 위해 중요하고, 육류의 일부 영양적 가치를 위해 중요하다. 따라서, 본 발명은, 예를 들어 분쇄 소고기의 화학적 조성 및 물리적 특성을 모방한 성분을 사용함으로써, 텍스처 및/또는 풍미를 비롯한 동물 지방의 주요 특성을 재현한 비-동물 공급원으로부터 유래된 조성물을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 동물 지방을 재현한 비-동물 공급원으로부터 유래된 조성물을 포함하는 육류 대응 제품을 제공한다. 이러한 조성물은 "지방조직 모조물" 또는 "지방 모조물"로서 본원에 표지될 것이다. 일부 실시양태에서, 지방조직 모조물 및/또는 지방조직 모조물을 포함하는 육류 대응 제품은 부분적으로 동물 공급원으로부터 유래된다. 소비재는 또한 텍스처, 풍미, 경도, 지방 방출 퍼센트, 및/또는 지방 방출 온도를 비롯한 비-동물 지방의 주요 특성을 재현한 지방조직 모조물을 포함할 수 있다. 소비재의 지방 함량은 적어도 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 95% 지방일 수 있다.

[0194] 분쇄 소고기는 전형적으로, 저지방 소고기를 스테이크로부터 잘라낸 지방조직 (지방)과 혼합하는 것에 의해 제조되며, 지방 조직은 16-30% 첨가된다 (Cox 1993). 지방조직 없이 분쇄기를 통과한 육류는 질기고, 부서지기 쉽고, 빨리 건조된다. 지방은, 조리 동안 방출된 지방이 조리를 돕고 대부분이 지방산의 생성물인 주요 소고기 풍미를 생성하는 액체 표면을 제공하도록, 저지방 소고기에 첨가된다. 식물-기반 분쇄 소고기의 텍스처 및 풍미에서 동일한 주요 역할을 하는 지방 조직 모조물을 제작하는 것은 텍스처 및 풍미를 위한 중요한 동인이다.

[0195] 본원에 기재된 지방 조직 모조물은 포화 지방의 양이 감소될 수 있도록 지방산 조성이 제어될 수 있기 때문에 소고기 지방 조직보다 큰 건강 이익을 갖는다. 따라서, 식물-기반 지방조직 모조물은 콜레스테롤 무함유이다. 식물-기반 지방조직 모조물은 더 낮은 퍼센트의 총 지방을 함유할 수 있고, 목적하는 조리 특성, 풍미 및 텍스처를 위해 방출 또는 보유될 동일한 지방량을 갖는다.

[0196] 본원에 기재된 바와 같이, 식물-유래 지질 및 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질의 에멀전을 포함하는 지방조직 모조물은 조성 (예를 들어, 지방산 조성), 조리 특성 (예를 들어, 지방 방출 온도 또는 지방 방출 퍼센트), 및 물리적 특성 (예를 들어, 경도)이 제어되어 식물 기반 조성물이 동물 기반 지방조직을 모방할 수 있도록 제조될 수 있다. 지방 조직 모조물은 (1) 지방산의 트리아실글리세리드를 함유하는 식물성 오일; (2) 비-동물 공급원으로부터의 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질 (예를 들어, 식물 단백질); 및 (3) 인지질, 예컨대 레시틴을 포함한다. 단백질은 상기 기재된 바와 같은 식물 또는 미생물 단백질일 수 있다 (예를 들어, 루비스코, 올레오신, 알부민, 글로불린 또는 다른 종자 저장 단백질). 또한 섹션 III A 및 B에 기재된 단백질을 참조한다. 식물성 오일은 본원에 기재된 오일 중 임의의 것일 수 있다. 예를 들어, 섹션 III C를 참조한다.

[0197] 지방 모조물은 겔화 에멀전일 수 있다. 일부 실시양태에서, 겔은 단백질 및 임의로 탄수화물을 포함하는 연질 탄성 겔이다. 겔화 에멀전은 다중 단백질, 예를 들어, 1-5 또는 1-3 단리 및 정제된 단백질을 포함하는 단백질 용액을 포함할 수 있으며, 여기서 단백질 용액은 에멀전의 부피의 1-30%를 차지한다. 겔화 에멀전은 지방 액적을 포함할 수 있으며, 여기서 지방 액적은 에멀전의 부피의 70-99%를 차지한다. 겔화 에멀전은 단리, 정제된 가교 효소를 포함할 수 있으며, 여기서 가교 효소는 부피 기준으로 에멀전 중량의 0.0005% 내지 0.5%, 부피 기준으로 에멀전 중량의 0.5-2.5%, 또는 부피 기준으로 에멀전 중량의 0.001% 이하를 차지한다. 단백질 용액 중 지방 액적의 에멀전은 가교 효소, 예를 들어 트랜스글루타미나제에 의해 에멀전을 겔로 형성하거나, 단백질 용액의 가열 및 냉각을 통해 단백질을 겔화시키거나, 저온 경화 겔을 형성하거나, 코아세르베이트를 형성하거나, 또는 섹션 C의 코아세르베이트 및 섹션 F의 겔 형성에 대해 기재되어 있는 이들 기술을 조합함으로써 안정화될 수 있다.

[0198] 일부 실시양태에서, 지방 모조물은 단백질 사이에 공유 가교를 일으키는 반응을 촉매하는 가교 효소를

포함한다. 가교 효소는 동등한 목적하는 동물 지방의 목적하는 텍스처를 모방하기 위해, 지방 조직 모조물의 목적하는 구조 및 텍스처를 생성하거나 안정화시키는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 가교 효소는 비-동물 공급원으로부터 단리 및 정제되며, 그의 예 및 실시양태가 본원에 기재되어 있다. 일부 실시양태에서, 지방 모조물은 적어도 0.0001%, 적어도 0.001%, 적어도 0.01%, 적어도 0.1%, 또는 적어도 1% (wt/vol)의 가교 효소를 포함한다. 가교 효소는, 예를 들어 트랜스글루타미나제, 티로시나제, 리폭시게나제, 단백질 디설피드 리덕타제, 단백질 디설피드 이소머라제, 술프히드릴 옥시다제, 퍼옥시다제, 핵소스 옥시다제, 리실 옥시다제 및 아민 옥시다제로부터 선택될 수 있다. 일부 실시양태에서, 가교 효소는 트랜스글루타미나제, 리실 옥시다제 (예를 들어, 피키아 파스토리스 리실 옥시다제) 또는 다른 아민 옥시다제이다.

[0199] 지방 모조물은 지방의 액적이 내부에 현탁되어 있는 겔을 포함할 수 있다. 본 발명의 일부 실시양태에 사용된 지방 액적은 다양한 공급원으로부터의 것일 수 있다. 일부 실시양태에서, 공급원은 비-동물 공급원 (예를 들어, 식물 공급원)이다. 예를 들어, 그 예가 섹션 III C에 제공된다. 일부 실시양태에서, 지방 액적은 동물 제품 (예를 들어, 버터, 크림, 라드, 및/또는 수이트)으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 지방 액적은 펄프 또는 중차 오일로부터 유래된다. 다른 실시양태에서, 공급원은 조류, 효모, 유성 효모, 예컨대 야로위아 리폴리티카(*Yarrowia lipolytica*) 또는 곰팡이일 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 모르티에렐라 이사벨리나(*Mortierella isabellina*)로부터 유래된 트리글리세리드가 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 지방 액적은 합성 또는 부분 합성 지질을 함유한다.

[0200] 일부 실시양태에서, 지방 액적은 인지질, 레시틴 및 지질 막을 포함하나 이에 제한되지 않는 계면활성제의 첨가에 의해 안정화된다. 지질 막은 조류, 진균 또는 식물로부터 유래될 수 있다. 일부 실시양태에서 계면활성제는 지방 모조물의 5% 미만을 차지한다. 지방 액적은 일부 예에서 직경이 100 nm 내지 150 μ m의 범위일 수 있다. 이들 안정화된 액적의 직경은 균질화, 고압 균질화, 압출 또는 초음파처리에 의해 수득될 수 있다.

[0201] 일부 실시양태에서, 식물 오일은 동물 지방과 유사하도록 변형된다. 식물 오일은 조리 동안 및 조리 후의 육류의 맛과 냄새를 재현하기 위해 풍미제 또는 다른 작용제, 예컨대 헵 단백질, 아미노산, 유기 산, 지질, 알콜, 알데히드, 케톤, 락톤, 푸란, 당 또는 다른 풍미 전구체로 변형될 수 있다. 따라서, 본 발명의 일부 측면은 동물 지방의 조리 특성과 소비재 내의 식물 오일의 조리 특성 사이의 질적 유사성을 시험하는 방법을 수반한다.

[0202] 일부 실시양태에서, 아마씨 폴리사카라이드 및 크산탄 검을 비롯한 추가의 폴리사카라이드가 지방 모조물에 첨가될 수 있다.

[0203] 식물-기반 지방조직 모조물의 생성은 수중유 에멀전의 안정화를 필요로 한다. 전형적으로 동물 지방 조직은 ~95% 지방을 함유하고, 인지질 이중층 및 회합 단백질에 의해 안정화된다. 본원에 기재된 지방조직 모조물은 동물 지방의 특성을 모방하는 한편 일부 경우에 최대 95% 지방, 많은 조건 하에 80% 지방, 또는 더 낮은 양의 지방 (예를 들어, 50% 이하)으로 생성될 수 있다. 높은 퍼센트의 지방을 달성하는 것은 에멀전의 안정화에 의해 제어된다.

[0204] 조성 (예를 들어, 지방산 조성), 조리 특성 (예를 들어, 지방 방출 온도 또는 지방 방출 퍼센트), 및 물리적 특성 (예를 들어, 경도)은 지방의 유형 및 양, 단백질의 양, 레시틴의 유형 및 양, 첨가제의 존재, 및 겔화 방법을 제어하는 것에 의해 조작될 수 있다.

[0205] 일부 실시양태에서, 단백질 성분은 건조 중량 또는 총 중량을 기준으로 지방 모조물의 약 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 또는 20%, 25%, 또는 그 초과를 차지한다. 일부 실시양태에서, 단백질 성분은 건조 중량 또는 총 중량을 기준으로 지방 모조물의 약 0.1-5% 또는 약 0.5-10% 또는 그 초과를 차지한다. 일부 실시양태에서, 단백질 성분은 건조 중량 또는 총 중량을 기준으로 지방 모조물의 0.5 내지 3.5% 또는 1 내지 3%이다. 일부 실시양태에서, 단백질 성분은 1종 이상의 단리, 정제된 단백질을 함유하는 용액을 포함한다. 단백질의 유형은 에멀전의 안정성에 영향을 미칠 수 있고, 루비스코 및 완두 알부민은 지방 모조물이 90% 초과로 지방으로 제조되게 한다. 아마씨 및 크산탄 검을 비롯한 폴리사카라이드의 첨가는 지방 함량의 증가를 허용하면서 혼합물의 유화를 돕는다.

[0206] 지방의 유형 및 양은 지방의 공급원 및 그의 지질 조성을 선택함으로써 제어될 수 있다. 일반적으로, 보다 높은 양의 포화 지방산을 함유하는 오일일수록 보다 낮은 단백질 농도에서 더 잘 유화될 수 있고, 보다 많은 불포화 지방산을 함유하는 오일일수록 유화를 위해 보다 높은 단백질 농도를 필요로 한다. 에멀전을 안정화시키기 위해 단백질이 요구되고, 단백질 함량의 증가는 안정성을 증가시킨다. 첨가된 단백질의 양이 너무 적어서 지방의 양을 유화할 수 없는 경우에, 혼합물은 층으로 분리될 것이다.

- [0207] 레시틴은 또한 에멀전의 조절제이고, 존재하는 단백질의 양 및 사용된 오일의 유형에 따라 에멀레이션을 안정화시키거나 교란시킬 수 있다. 예를 들어, 레시틴은 단백질/지방 매트릭스를 교란시켜 덜 안정한 에멀전을 생성할 수 있지만, 다른 물리적 특성을 조절하기 위해 낮은 수준으로 첨가될 수 있다. 보다 높은 양의 불포화 지방을 함유하는 오일로 제조된 에멀전은 에멀전이 고체화되지 않도록 높은 양의 레시틴 (1%)에 의해 탈안정화될 수 있다. 보다 높은 양의 포화 지방을 함유하는 오일로 제조된 에멀전은 높은 양의 레시틴 (1%)에 의해 고체화될 수 있지만, 매우 연질이다.
- [0208] 본원에 기재된 지방조직 모조물은 매우 연질에서 매우 경질의 범위일 수 있도록 제조될 수 있다. 지방의 조성 및 양은 모조물의 경도를 제어한다. 장쇄 포화 지방을 더 많이 함유하는 보다 경질의 오일은 보다 경질의 겔을 생성한다. 보다 연질 겔을 생성하는 오일은 전형적으로 불포화 지방산 또는 단쇄 포화 지방산을 더 많이 함유한다. 일반적으로, 겔의 경도는 에멀전이 유지되고 분리되지 않는 한, 총 지방 퍼센트가 증가할수록 증가된다. 단백질의 양도 모조물의 경도에 기여한다. 일반적으로, 단백질 농도의 증가는 모조물 경도를 증가시킨다. 레시틴의 양은 모조물 경도의 조절제이다. 겔이 높은 퍼센트의 단백질 (3%)로 형성된 경우에, 보다 높은 양의 레시틴 (1%)은 보다 낮은 양의 레시틴 (0.05%)보다 훨씬 연질하게 한다. 단백질이 감소된 (1.8%) 경우에, 모든 겔은 더 연질하게 되고, 에멀전이 유지된다면 낮은 수준의 레시틴 (0.05%)과 높은 수준 (1%) 사이에 경도에 있어서의 차이는 거의 존재하지 않는다.
- [0209] 크산탄 검 및 아마씨 페이스트를 포함하나 이에 제한되지는 않는 폴리사카라이드의 모조물에서의 첨가는 지방조직-모조물 겔의 경도를 증가시킬 수 있다.
- [0210] 지방조직 모조물이 조리될 때, 구조화된 모조물이 조리됨에 따라 그로부터 지방이 누출된다. 종종, 조리된 제품 내에 잔류하는 지방이 존재하고; 조리를 돕기 위해 방출된 지방과 텍스처 및 맛을 위해 보유되는 지방 사이에 균형을 달성하는 것은 중요하다. (총 지방당) 방출된 지방 퍼센트는 조리 완료 시까지 방출된 지방의 양을 측정하는 것에 의해 결정될 수 있다. 방출된 지방 퍼센트는 모조물의 총 지방당 방출된 지방의 중량으로 보고된다. 예를 들어, 본원에 기재된 지방 조직 모조물의 지방 방출 퍼센트는 조리 시 0 내지 10%, 10% 내지 20%, 20% 내지 30%, 30% 내지 40%, 40% 내지 50%, 50% 내지 60%, 60% 내지 70%, 70% 내지 80%, 80% 내지 90%, 또는 90% 내지 100%일 수 있다. 지방조직 모조물은 전형적으로 표준 조리 조건 하에 0- 90% 지방을 방출한다. 비교상, 소고기 지방 조직은 전형적으로 동등한 조건 하에 40-55% 지방을 방출한다.
- [0211] 식물성 오일은 설정된 용융 온도를 갖지만, 지방조직 모조물이 지방을 방출하도록 제조될 수 있는 온도 범위는 넓다. 지방 방출 온도는 조리 중인 표면에서 지방이 모조물로부터 시각적으로 방출되는 온도이다. 본원에 기재된 지방조직 모조물의 지방 방출 온도는 지방의 유형 및 양, 단백질의 양, 레시틴의 유형 및 양, 첨가제의 존재, 유화 방법, 및 겔화 방법을 기반으로 하여 조정될 수 있다. 생성된 지방조직 모조물은 23℃ 내지 33℃, 34℃ 내지 44℃, 45℃ 내지 55℃, 56℃ 내지 66℃, 67℃ 내지 77℃, 78℃ 내지 88℃, 89℃ 내지 99℃, 100℃ 내지 110℃, 111℃ 내지 121℃, 122℃ 내지 132℃, 133℃ 내지 143℃, 144℃ 내지 154℃, 155℃ 내지 165℃, 166℃ 내지 167℃, 168℃ 내지 169℃, 170℃ 내지 180℃, 181℃ 내지 191℃, 192℃ 내지 202℃, 203℃ 내지 213℃, 214℃ 내지 224℃, 225℃ 내지 235℃, 236℃ 내지 246℃, 247℃ 내지 257℃, 258℃ 내지 268℃, 269℃ 내지 279℃, 280℃ 내지 290℃, 또는 291℃ 내지 301℃의 지방 방출 온도를 가질 수 있다. 소고기 지방은 100-150℃에서 지방을 방출하는 것으로 측정되었다.
- [0212] 유화는 또한 지방 방출 온도를 제어하는 인자이며: 일단 지방이 단백질, 또는 단백질 및 레시틴과 함께 모조물에 혼입되면, 지방이 방출되는 온도는 지방 단독이 용융되는 온도를 유의하게 초과하여 증가된다.
- [0213] 지방산 조성은 또한 지방 방출 온도 및 지방 방출 퍼센트에서의 인자이다. 불포화 지방산을 더 높은 비율로 함유하는 식물성 오일은 낮은 용융 온도를 갖고, 다수는 실온에서 액체이다. 포화 지방산을 더 높은 비율로 함유하는 식물성 오일은 더 높은 용융 온도를 갖고, 실온에서 고체이다. 보다 많은 양의 불포화 지방을 함유하는 모조물은 보다 많은 포화 지방산으로 제조된 동일한 모조물보다 더 높은 지방 누출 온도를 갖는다. 불포화 지방산을 더 높은 양으로 함유하는 오일 75%, 높은 단백질 함량 (3%), 및 최소 레시틴 함량 (0.05%)으로 제조된 겔 (혼합물은 휴대용 균질화기에 의해 유화되고 가열-냉각 방법을 사용하여 겔화됨)은 거의 또는 전혀 지방 방출없이 200℃로 가열될 수 있다. 장쇄의 포화 지방을 더 많이 함유하는 오일을 함유하는 모조물은 전형적으로 높은 단백질 함량에서 더 많은 지방을 방출하지만, 단쇄의 지방을 더 많이 함유하는 오일을 함유하는 모조물 및 낮은 단백질 퍼센트에서와 비교하여 더 적은 퍼센트의 총 지방을 방출한다. 단쇄의 포화 지방산을 더 높은 비율로 함유하는 오일, 높은 단백질 함량 (3%), 및 최소 레시틴 함량 (0.05%)으로 제조된 겔은 거의 지방 방출없이 200℃로 가열될 수 있다.

- [0214] 지방조직 모조물이 조리됨에 따른 지방 방출 퍼센트는 또한 단백질의 양 및 레시틴의 양의 함수이다. 전형적으로, 지방조직 모조물은 질량 기준으로 단백질을 1-3% 함유한다. 단백질 함량을 증가시키는 것은 지방 방출의 온도를 증가시키고, 방출되는 지방의 분율을 감소시킨다. 레시틴 함량을 1% 증가시키는 것은 지방 방출 온도를 60-115°C로 감소시킬 수 있고, 방출되는 지방의 분율을 증가시킬 수 있다 (예를 들어, 25-30%). 사용되는 레시틴의 공급원 또는 조성은 지방 방출의 양 및 지방 방출에 대한 온도 역치를 조정할 수 있다. 특정한 메카니즘에 얽매는 것은 아니지만, 레시틴은 단백질-단백질 상호작용을 교란시킴으로써 에멀전을 탈안정화시키는 것으로 생각된다. 한 실시양태에서, 3%의 높은 단백질 농도에서, 레시틴 함량을 1%로 증가시키는 것은 지방 방출 온도를 55-60°C로 감소시키고, 누출되는 지방 퍼센트를 60-65%로 증가시켰다.
- [0215] 에멀전을 제조하는 방법이 또한 지방 방출의 양을 결정하는데 있어서의 인자이다. 유화는 단백질 및 레시틴의 매트릭스 내에 유지되는 지방의 균질 혼합물을 형성한다. 유화 방법은 고압 균질화, 초음파처리, 또는 수동 균질화를 포함할 수 있다. 대안적 방법은 에멀전 내 오일 액적의 크기에 특징적인 차이를 야기하며, 이는 생성되는 에멀전의 안정성 및 안정한 에멀전이 형성될 수 있는 최대 지방 농도에 영향을 미친다.
- [0216] 모조물을 겔화시키는 방법이 또한 지방 방출의 양을 결정하는데 있어서의 인자이다. 지방조직 모조물은 겔 형성 없이 형성될 수 있지만, 겔화는 보다 경질이고 보다 안정한 에멀전을 생성한다. 겔화 방법은 상기에 기재되어 있고, 예를 들어 가교 효소, 예컨대 트랜스글루타미나제 (TG)를 첨가하는 것, 또는 에멀전을 가열/냉각 사이클에 두는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, TG 처리 또는 가열/냉각 방법은 에멀전을 상기 기재된 바와 같이 겔로 전환시킬 수 있다. 또한, TG에 의해 촉매된 가교에 의해 형성된 겔화 에멀전은 전형적으로 가열/냉각 기술에 의해 겔화된 에멀전이 지방을 방출하는 온도보다 더 높은 온도에서 지방을 방출한다. TG에 의한 가교에 의해 형성된 겔은 또한 전형적으로 가열-냉각 기술에 의해 형성된 겔이 지방을 방출하는 것보다 덜 지방을 방출한다.
- [0217] 일부 실시양태에서, 지방 모조물은 단백질 함량 <1.5% 및 최소 레시틴 함량 (0.05%)으로 제조될 수 있고, 45-65°C의 지방 방출 온도, 및 높은 양의 방출되는 지방 (예를 들어, 70-90%)을 갖는다. 이들 겔은 방출되는 지방 퍼센트가 최고 수준이다.
- [0218] 일부 실시양태에서, 지방 모조물은 더 낮은 단백질 함량 (<1.5%) 및 높은 레시틴 (>1%)으로 제조될 수 있고, 더 낮은 지방 방출 온도 (예를 들어, 30-50°C, 예를 들어, 30 내지 45°C)를 가지며, 지방 퍼센트가 중간 정도로 누출된다 (45-65%). 따라서, 단쇄 지방산 또는 장쇄 지방산을 함유하는 오일로 낮은 단백질 농도에서 형성된 겔에서, 레시틴은 에멀전을 안정화시키는 역할을 할 수 있다.
- [0219] 일부 실시양태에서, >2% 루비스코 또는 완두 알부민은 70%보다 많은 지방을 함유하는 지방조직 모조물을 제조하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, > 3% 단리 및 정제된 단백질로 형성된 겔은 70%보다 많은 지방을 함유하는 지방조직 모조물을 생성할 수 있다.
- [0220] 일부 실시양태에서, 장쇄 포화 지방산을 더 높은 비율로 함유하는 오일, 3%의 단백질 함량, 및 최소 레시틴 함량 (0.05%)으로 제조된 지방조직 모조물은 소고기 지방이 지방을 방출하는 온도와 유사한 온도에서 지방을 방출할 수 있고 (50-100°C), 낮은 정도 내지 중간 정도 수준의 지방 (15-45%)을 방출할 수 있다.
- [0221] 일부 실시양태에서, 더 높은 단백질 농도 (> 3%), 및 레시틴 함량 > 1%를 함유하는 지방조직 모조물은 50-70°C의 지방 방출 온도, 및 더 높은 양의 지방 방출 (50-80%)을 가질 수 있다. 높은 단백질 및 낮은 레시틴 농도에서, 더 높은 포화 지방산을 함유하는 겔은 전형적으로 불포화 지방으로 형성된 상응하는 겔보다 약 10% 더 많은 지방을 누출한다.
- [0222] 일부 실시양태에서, 겔 형성 전 단백질 성분의 프로테아제 처리는 지방 방출의 증가를 야기할 수 있다.
- [0223] 일부 실시양태에서, 가교 효소에 의해 안정화된 지방 조직 모조물 매트릭스는 가열/냉각 단백질 변성에 의해 안정화된 지방 조직 모조물 매트릭스보다 더 많은 지방을 방출한다. 한 실시양태에서, 녹두 8S 단백질, 및 카놀라 오일, 또는 코코넛, 코코아, 올리브 및 팜 오일의 동등 혼합물로 구성된 지방 조직 매트릭스는 효소에 의한 가교에 의해 형성되었을 때보다 가열/냉각 변성으로 형성되었을 때 더 큰 질량을 보유한다. 한 실시양태에서, 루비스코 및 코코아 버터를 함유하는 사전형성된 단백질-오일 에멀전의 가열/냉각 변성에 의해 형성된 지방 조직 매트릭스는 가교 효소에 의해 안정화된 유사한 조성의 지방조직 모조물보다 더 높은 용융 온도를 갖는다.
- [0224] 일부 실시양태에서, 90% v/v 카놀라 오일을 함유하는 1.4% wt/v 녹두 8S 단백질 및 0.45% wt/v 대두 레시틴으로 구축된 지방 조직 모조물은 가변 농도의 해바라기 올레오신의 존재 하에 균질화될 수 있다. 올레오신의 농도는

올레오신:트리글리세리드의 1:10 내지 1:10⁶ 몰비로 달라질 수 있다. 지방 조직 모조물 내 올레오신의 농도가 증가됨에 따라 조리 후 질량 보유의 증가가 관찰된다.

- [0225] 안정화된 단백질-지방 에멀전으로서 구축된 지방 조직 모조물의 경도는 지방 조직 모조물 매트릭스 내 단백질의 농도를 변경함으로써 변형될 수 있다. 예를 들어, 70-80% v/v 해바라기 오일을 함유하는 다양한 농도의 루비스코로 형성된 일련의 지방 조직 모조물은 경도가 다양하였다. 0% 및 0.18% (wt/vol) 루비스코를 함유하는 지방 조직 모조물은 매우 연질인 반면에, 1.6% (wt/vol) 루비스코로 형성된 모조물은 연질이었고, 1.9% (wt/vol) 루비스코로 형성된 모조물은 경도가 중간이었다.
- [0226] 한 실시양태에서, 단백질 오일 에멀전을 안정화함으로써 형성된 지방조직 모조물의 경도는 지방조직 모조물 내 단백질의 양을 변경함으로써 변형될 수 있다. 한 실시양태에서, 루비스코 및 70% 해바라기 오일로 제조된 지방 조직 모조물은 지방 조직 모조물 내의 더 높은 농도의 루비스코, 예컨대 3%에서보다 더 낮은 농도의 루비스코, 예컨대 1%에서 더 연질이다.
- [0227] 또 다른 측면에서, 본 발명은 지방 모조물을 제조하는 방법을 제공한다. 지방은 단리되고 균질화될 수 있다. 예를 들어 유기 용매 혼합물은 겔 내에서 액체를 안정화하는 것을 돕는데 사용된 후 제거되어 최종 겔을 제공할 수 있다. 이 시점에서, 지질은 동결, 동결건조, 또는 저장될 수 있다. 따라서 한 측면에서, 본 발명은 동물 지방과 유사한 특성을 갖도록 선택된 지질을 단리 및 저장하는 방법을 제공한다. 이어서, 지질 필름 또는 케이클 수화시킬 수 있다. 수화는 교반 또는 온도 변화를 사용할 수 있다. 수화는 전구체 용액에서 겔로 발생할 수 있다. 수화 후, 지질 현탁액을 초음파처리하거나, 균질화시키거나, 고압 균질화시키거나, 또는 압출시켜, 용액 중 지질의 특성을 추가로 변경할 수 있다.
- [0228] 일부 실시양태에서, 지방 모조물은 육류의 지방 조직의 편성과 가깝게 어셈블리된다. 일부 실시양태에서, 지방 모조물의 성분의 일부 또는 전부는 겔 (예를 들어, 단백질성 겔) 내에 현탁된다. 다른 실시양태에서, 겔은 히드로겔, 오르가노겔 또는 크세로겔일 수 있다. 일부 실시양태에서, 겔은 폴리사카라이드 또는 단백질을 기초로 하는 작용제를 사용하여 목적하는 점조도로 증점될 수 있다. 예를 들어, 녹말, 애로루트, 옥수수 전분, 카타쿠리 전분, 감자 전분, 사고, 타피오카, 알기닌, 구아 검, 로커스트 빈 검, 크산탄 검, 콜라겐, 난백, 푸르셀라란, 젤라틴, 한천, 카라기난, 셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드록시메틸셀룰로스, 아카시아 검, 곤약, 전분, 펙틴, 아밀로펙틴, 또는 콩과식물, 곡물, 견과류, 다른 종자, 잎, 조류, 박테리아, 또는 진균으로부터 유래된 단백질을 단독으로 또는 조합하여 사용함으로써 겔을 증점시켜, 소비자에 대한 아키텍처 또는 구조를 형성할 수 있다.
- [0229] 일부 실시양태에서, 지방 모조물의 인장 강도는 지방 조직의 인장 강도를 모방한다. 겔화 에멀전의 인장 강도는 섬유의 혼입에 의해 증가될 수 있다. 섬유는 수박, 잭 프루트, 스쿼시, 코코넛, 녹색 머리카락 조류, 옥수수 및/또는 목화를 포함하나 이에 제한되지 않는 비-동물 공급원으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시양태에서, 섬유는 단백질, 예를 들어 올레오신 및 프롤라민의 자기-중합으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서 섬유는 전기방사 또는 압출 단백질로부터 유래된다. 섬유는 각각의 섬유가 직경이 1 mm 미만일 수 있는 3차원의 메쉬 또는 가닥을 형성할 수 있다.
- [0230] 지방조직 모조물은 1종 이상의 단백질 용액 및 액적으로서 내부에 현탁된 1종 이상의 지방을 포함하는 에멀전일 수 있다. 수성 상에 유상을 천천히 첨가하는 것은 보다 강건한 에멀전을 제공할 수 있고, 이따금의 유화 실패를 방지한다. 레시틴을 첨가하는 것은, 일부 상황에서, 단백질-안정화된 에멀전을 탈안정화시켜 모조물을 조리할 때 지방 누출이 증가되게 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 에멀전은 1종 이상의 가교 효소에 의해 겔로 안정화된다. 일부 실시양태에서, 에멀전은 가열-냉각 기술 또는 저온-경화-겔 기술에 의해 겔로 유도되는 단백질에 의해 형성된 매트릭스에 의해 안정화된다. 단백질-안정화 에멀전을 가열하는 것은 단백질을 열 변성시켜 지방조직 모조물의 경도를 증가시킬 수 있다. 충분한 온도로 가열하는 것은 또한 천연 마이크로플로라의 생존율을 적어도 100x만큼 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 에멀전은 1종 이상의 단백질 가교 효소 및 가열/냉각 기술 또는 저온-경화 겔 기술의 조합에 의해 형성된 겔화 단백질 매트릭스에 의해 안정화된다. 에멀전이 충분히 냉각된 후 겔화가 완료되기 전, 1종 이상의 임의적인 성분, 예컨대 햄-함유 단백질을 첨가하여 (예를 들어, 최대 약 0.4%, 예컨대 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 또는 0.4%) 지방조직에 보다 천연인 것으로 보이는 핑크색 및/또는 최종 제품에 개선된 풍미를 제공하기 위한 1종 이상의 풍미 화합물, 예컨대 아미노산, 당, 티아민, 또는 인지질을 부여할 수 있다.
- [0231] 용액 중 1종 이상의 단백질은 단리 및 정제된 단백질, 예를 들어 정제된 완두 알부민 풍부 분획, 정제된 완두 글로불린 풍부 분획, 정제된 녹두 8S 글로불린 풍부 분획, 및/또는 루비스코 풍부 분획을 포함할 수 있다. 다

른 실시양태에서, 1종 이상의 지방은 식물-유래 오일 (쌀겨 오일 또는 카놀라 오일)로부터 유래된다. 예를 들어, 섹션 III C를 참조한다. 일부 경우에 조성물은 가교 효소, 예컨대 트랜스글루타미나제, 리실 옥시다제 또는 다른 아민 옥시다제를 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 1종 이상의 단백질을 단리 및 정제하고; 1종 이상의 단백질을 포함하는 용액을 제조하고; 용액 중에 1종 이상의 지방을 유화시키고; 1종 이상의 가교 시약을 사용하여 용액을 겔화 유화물로 안정화시키는 것에 의해 제조될 수 있다.

- [0232] 일부 실시양태에서, 지방 모조물은 40-80% 쌀겨 오일에 의해 유화되고 0.5-5% (wt/vol) 트랜스글루타미나제에 의해 겔로 안정화된, 정제된 완두 알부민의 단백질 용액을 포함하는 고 지방 에멀전이다.
- [0233] 일부 실시양태에서, 지방 모조물은 40-80% 쌀겨 오일 또는 40-80% 카놀라 오일에 의해 유화되고 0.5-5% (wt/vol) 트랜스글루타미나제에 의해 겔로 안정화된, 단리된 녹두 8S 글로불린의 단백질 용액을 포함하는 고 지방 에멀전이다.
- [0234] 지방은 식물 조직으로부터 단리되고 유화될 수 있다. 유화는 고속 블렌딩, 균질화, 고압 균질화, 초음파처리, 전단, 교반 또는 온도 변화를 사용할 수 있다. 지질 현탁액을 초음파처리하거나 압출시켜 용액 중 지질의 특성을 추가로 변경할 수 있다. 이 시점에서, 일부 실시양태에서, 용액에 소비재의 다른 성분을 첨가한 후 겔화제를 첨가한다. 일부 실시양태에서, 소비재의 성분을 결합시키기 위해 가교제 (예를 들어, 트랜스글루타미나제 또는 리실 옥시다제)를 첨가한다. 다른 실시양태에서, 겔화제를 첨가한 후, 지질/겔 현탁액을 소비재의 추가의 성분과 조합한다.
- [0235] 지방 조성의 제어에 의한 용점의 제어
- [0236] 육류를 조리하는 과정은 육류를 사용하고 즐기는 경험에 필수불가결하다. 육류의 한가지 중요한 특성은 육류를 가열함에 따라 육류로부터 지방이 방출된다는 것으로, 이는 조리 표면을 윤활시키고, 열 전달을 증가시키며, 육류를 조리하는 시각적, 청각적 및 후각적 경험을 구성한다. 조리 동안 보유되는 것 대비 방출되는 지방의 양은 요리 온도에 의해 달라지고, 육류를 조리하는 시각적, 청각적 및 후각적 경험에 기여한다.
- [0237] 인지질 머리의 비와 더불어 트리글리세리드 및 인지질 내 지방산의 조성 및 비는 조리된 육류의 독특한 풍미 프로파일의 생성에 기여한다. 예를 들어, 지방 내 증가된 수준의 포스파티딜콜린 및 포스파티딜에탄올아민은 보다 강렬한 소고기 풍미를 제공한다. 상기 논의된 바와 같이, 육류 모조물의 풍미는 육류 모조물을 구성하는 다양한 오일 및 인지질의 비 및 유형을 변경함으로써 변형될 수 있다. 예를 들어, 조리된 육류 모조물의 풍미는 인지질, 스테롤 및 지질의 양을 변경함으로써 (예를 들어, 0.2-1% wt/wt) 제어될 수 있다. 한 실시양태에서, 조리된 육류 모조물의 풍미는 다양한 인지질 머리의 비를 변경함으로써 제어될 수 있다.
- [0238] 일부 실시양태에서, 인지질은 지방산, 글리세롤 및 극성기를 포함하는 다수의 양친매성 분자를 포함한다. 예를 들어, 지방산, 인지질, 극성기, 및 인지질과 회합된 스테롤의 예에 대해 섹션 III C를 참조한다. 또한 유용한 식물 오일의 예에 대해 섹션 III C를 참조한다.
- [0239] 육류의 다양한 조각에서, 지방은 베이컨에서 지방의 구조적으로 중요한 속성에서부터 와규 소고기에서 마블링 지방의 부드러운 용융 거동에 이르기까지의 다양한 특성을 갖는다.
- [0240] 소비재 내 지방 조직 모조물의 용점을 제어하는 것에 의해, 다양한 육류 유형의 조리 경험을 모조하는 것이 가능하다. 예를 들어, 23°C 내지 27°C의 용점을 갖는 지방으로 생성된 지방 조직 모조물은 와규 소고기로부터의 지방 조직과 유사한 용점을 가질 수 있고; 35°C 내지 40°C의 용점을 갖는 지방으로 생성된 지방 조직 모조물은 규칙적 분쇄 소고기로부터의 지방 조직과 유사한 용점을 가질 수 있고; 36°C 내지 45°C의 용점을 갖는 지방으로 생성된 지방 조직 모조물은 베이컨으로부터의 지방 조직과 유사한 용점을 가질 수 있다. 지방 조직 모조물은, 조리 동안 지방 조직 모조물에 의해 방출되는 지방의 비 및 보유되는 지방의 비가 예를 들어 분쇄 소고기로부터의 육류의 지방 특성과 유사하도록 생성되어 소비재 내에 혼입될 수 있다.
- [0241] 일부 실시양태에서, 지방 모조물의 지방 방출 온도는 트리아실글리세리드 및 인지질 (예를 들어, 레시틴)을 함유하는 식물성 오일을 다양한 비로 혼합함으로써 제어될 수 있다. 지방의 용점은 지방산의 화학적 구성에 의해 좌우된다. 일반적으로, 포화 지방산을 포함하는 지방 (예를 들어, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0)은 냉장 온도 (예를 들어, 약 1°C 내지 약 5°C) 및 실온 (예를 들어, 약 20°C 내지 25°C)에서 고체이다. 조리 시 지방 조직 모조물 내 지방 방출 온도를 제어함으로써, 냉장 동안 (예를 들어, 약 1.5°C 내지 약 4°C) 및 주위 온도 (예를 들어, 약 20°C 내지 25°C)에서 지방 조직 모조물의 경도를 제어할 수 있다. 단일 불포화 지방산을 포함하는 지방 (예를 들어, C16:1 또는 C18:1)은 일반적으로 냉장 온도에서 고체이고 실온에서 액체이다. 다중불포화 지방산을 포함하는 지방 (예를 들어, C18:2, C18:3, C20:5, 또는 C22:6)은 일반적으로

냉장 온도 및 실온에서 액체이다. 예를 들어, 버진 코코넛 오일은 약 24℃에서 용융되는 반면에, 수소화 코코넛 오일은 36-40℃에서 용융된다.

- [0242] 예를 들어, 실온 (약 20℃ 내지 25℃)에서 액체인 트리글리세리드 및 인지질을 함유하는 지방 조직 모조물은 냉장 온도에서 고체인 트리글리세리드 및 인지질을 함유하는 지방 조직 모조물보다 더 연질일 것이다.
- [0243] 지방 조직 모조물은 냉장 및 주위 실온 둘 다에서 액체인 단일 또는 다중 공급원으로부터의 오일을 함유할 수 있다 (예를 들어, 카놀라 오일, 해바라기 오일, 및/또는 헤이즐넛 오일). 한 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 냉장 온도에서는 고체이지만 실온에서는 액체인 단일 또는 다중 공급원으로부터의 오일을 함유한다 (예를 들어, 올리브 오일, 팜 오일, 및/또는 쌀겨 오일). 한 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 실온에서는 고체이지만 구강-온도 (약 37℃)에서는 액체인 단일 또는 다중 공급원으로부터의 오일을 함유한다 (예를 들어, 팜핵 오일, 코코넛 오일, 및/또는 코코아 버터). 한 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 구강-온도 (약 37℃)에서 고체인 단일 또는 다중 공급원으로부터의 오일을 함유한다 (예를 들어, 망고 버터로부터의 오일).
- [0244] 한 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 높은 비의 포화 지방산을 함유하는 트리글리세리드 및 인지질을 포함하고, 더 높은 비의 단일불포화 및 다중불포화 트리글리세리드 및 지질을 함유하는 지방 조직 모조물보다 더 경질이다. 예를 들어, 해바라기 오일을 함유하는 지방 조직 모조물은 코코아 버터를 함유하는 지방 조직 모조물보다 더 연질이다. 지방 조직 모조물은 70%, 80%, 또는 90% v/v 해바라기 또는 코코아 버터를 함유하는 0%, 0.18%, 1.6%, 또는 2.4% wt/v 루비스코로 형성될 수 있다. 코코아 버터를 함유하는 각각의 지방 조직 모조물은 해바라기 오일로 형성된 모조물보다 더 경질이었다.
- [0245] 한 실시양태에서, 해바라기 오일을 함유하는 녹두 8S 단백질의 안정적인 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물은 녹두 8S 단백질 및 코코아 버터의 안정적인 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물보다 더 연질이다. 지방 조직 모조물은 70%, 80% 또는 90% v/v 해바라기 또는 코코아 버터를 함유하는 2%, 1% 또는 0.5% wt/v 녹두 8S 단백질로 형성된다. 코코아 버터를 함유하는 각각의 지방 조직 모조물은 해바라기 오일로 형성된 모조물보다 더 경질이었다.
- [0246] 한 실시양태에서, 카놀라 오일을 함유하는 녹두 8S 단백질의 안정적인 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물은 코코넛, 코코아, 올리브 및 팜 오일의 동등 혼합물을 함유하는 녹두 8S 단백질의 안정적인 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물보다 더 연질이다. 지방 조직 모조물은 50%, 70% 또는 90% v/v 해바라기 또는 오일 혼합물을 함유하는 1.4% wt/v 녹두 8S 단백질로 형성될 수 있다. 오일 혼합물을 함유하는 각각의 지방 조직 모조물은 해바라기 오일로 형성된 모조물보다 더 경질이었다.
- [0247] 한 실시양태에서, 해바라기 오일을 함유하는 대두 단백질의 안정적인 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물은 대두 단백질 및 코코아 버터의 안정적인 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물보다 더 연질이다. 지방 조직 모조물은 50%, 70%, 80% 또는 90% v/v 해바라기 또는 오일 혼합물을 함유하는 0.6%, 1.6% 또는 2.6% wt/v 대두로 형성되었다. 오일 혼합물을 함유하는 각각의 지방 조직 모조물은 해바라기 오일로 형성된 모조물보다 더 경질이었다.
- [0248] 일부 실시양태에서, 70%, 80% 및 90% v/v 코코아 버터를 함유하는 0%, 0.18%, 1.6% 및 2.4% wt/v 루비스코를 포함하는 지방 조직 모조물은 실온에서 고체이지만, 거의 구강 온도에서 용융된다. 일부 실시양태에서, 50%, 70%, 80% 및 90% v/v 코코아 버터를 함유하는 0.6%, 1.6% 및 2.6% wt/v 대두를 포함하는 지방 조직 모조물은 실온에서 고체이지만, 거의 구강 온도에서 용융된다. 일부 실시양태에서, 코코넛, 코코아, 올리브 및 팜 오일의 동등 혼합물의 50%, 70% 및 90% v/v를 함유하는 1.4% wt/v 녹두 8S 단백질을 포함하는 지방 조직 모조물은 실온에서 고체이지만, 거의 구강 온도에서 용융된다. 한 실시양태에서, 지방 조직 모조물의 용융 온도는 소고기 지방과 유사할 것이다. 일부 실시양태에서 지방 모조물은 포화 지방산 대 불포화 지방산의 1:1 비를 갖는 오일을 포함한다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 동등량의 코코아 및 망고 버터를 함유한다. 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 동등량의 코코넛 오일, 코코아 버터, 올리브 오일 및 팜 오일을 함유한다.
- [0249] 한 실시양태에서, 트리글리세리드 및 인지질을 포함하는 지방 조직 모조물은 소고기에서 발견되는 것과 유사한 지방산의 비를 함유할 것이다 (C14:0 0-5% wt/wt, C16:0 0-25%, C18:0 0-20%, C18:1 0-60%, C18:2 0-25%, C18:3, 0-5%, C20:4 0-2%, 및 C20:6 0-2%). 예를 들어 지방 조직 모조물은 동등 비율의 올리브 오일, 코코아 버터, 코코넛 오일 및 망고 버터를 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 지방 조직 모조물은 동등 비율의 올리브 오일 및 쌀겨 오일을 포함할 수 있다.
- [0250] 한 실시양태에서, 지방 조직 모조물의 용융 온도는 와규 소고기 지방과 유사할 것이다. 일부 실시양태에서 지

방 모조물은 포화 지방산 대 불포화 지방산의 1:2 비를 갖는 오일을 포함한다 (예를 들어, 예를 들어 1 부 코코넛 오일 대 2 부 해바라기 오일). 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 동등량의 올리브 오일, 짙겨 오일, 코코아 버터 및 망고 버터를 함유한다.

[0251] I. 결합 조직 모조물

[0252] 동물 결합 조직은 육류 섭취 경험의 중요한 성분인 주요 텍스처 특성을 제공한다. 따라서, 본 발명은 동물 결합 조직의 주요 특성을 재현한 비-동물 공급원으로부터 유래된 조성물을 제공한다. 본 발명은 추가로 동물 결합 조직의 중요한 텍스처 및 시각적 특성을 재현한 비-동물 공급원으로부터 유래된 조성물을 포함하는 육류 대용 제품을 제공한다. 이러한 조성물은 "결합 조직 모조물"로서 본원에 표지될 것이다. 일부 실시양태에서, 결합 조직 모조물 및/또는 결합 조직 모조물을 포함하는 육류 대용 제품은 부분적으로 동물 공급원으로부터 유래된다.

[0253] 동물 결합 조직은 일반적으로 근막-유형 및 연골-유형 조직으로 나뉘어질 수 있다. 근막-유형 조직은 고도로 섬유성이고, 연장에 대해 저항성이며 (높은 탄성 계수를 가짐), 높은 단백질 함량, 중간 정도의 물 함량 (약 50%) 및 저-내지-무 지방 및 폴리사카라이드 함량을 갖는다. 따라서, 본 발명은 근막 유형 조직의 주요 특성을 재현한 결합 조직 모조물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 결합 조직 모조물은 총 중량 기준으로 약 50% 단백질, 액체 중량 기준으로 약 50%를 포함하고, 낮은 지방 및 폴리사카라이드 성분을 갖는다.

[0254] 근막 유형 결합 조직의 섬유성 속성은 거의 콜라겐 섬유로 구성된다. 콜라겐 섬유는 폭 1-20 마이크로미터의 끈 또는 테이프 형상의 종인 것으로 관찰된다. 이들 섬유는 30 내지 100 나노미터 두께의 밀접하게 채워진 얇은 콜라겐 피브릴로 이루어진다. 이들 피브릴은 또한 200 나노미터 두께일 수 있는 개개의 섬유와 함께 탄성 및 세망 섬유성 네트워크로 회합된다.

[0255] 한 실시양태에서, 근막-유형 결합 조직 모조물은 섬유성, 또는 단백질로 이루어질 수 있는 섬유성-유사 구조로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 단백질 함량은 비-동물 공급원 (예를 들어, 식물 공급원, 조류, 박테리아, 또는 진균, 예를 들어 섹션 IIIA 및 B 참조)으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 단리된 단백질은 중량 기준으로 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90% 또는 그 초과와 단백질 함량을 차지한다. 일부 실시양태에서, 다중의 단리된 단백질이 개별적으로 단리 및 정제되고, 이는 총 단백질 함량을 차지한다.

[0256] 근막-유형 결합 조직에서, 단백질의 프롤라민 패밀리는 개별적으로 또는 그의 조합으로 고도로 풍부하고, 전반적 아미노산 조성이 콜라겐 (높은 분율의 프롤린 및 알라닌)과 유사하고, 필름으로 가공되기 쉽기 때문에, 단백질 성분에 대한 적합성을 입증한다. 일부 실시양태에서, 프롤라민 패밀리 단백질은 제인 (옥수수에서 발견됨), 보리로부터의 호르테인, 밀로부터의 글리아딘, 호밀로부터의 세칼린, 익스텐신, 소르굼으로부터의 카피린, 또는 귀리로부터의 아베닌으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질은 제인이다. 일부 실시양태에서, 물리화학적 및 영양적 특성을 위한 표적 사양을 달성하기 위해 다른 단백질이 프롤라민을 보충하는데 사용될 수 있다. 임의의 주요 종자 저장 단백질, 동물-유래 또는 재조합 콜라겐, 또는 익스텐신 (세포벽 예를 들어 아라비도시스 탈리아나에 풍부한 히드록시프롤린-풍부 당단백질, 그의 단량체는 "콜라겐-유사" 막대-유사 가요성 분자임)을 비롯하여 섹션 III A 및 B의 목록을 참조한다.

[0257] 단백질은 동결-건조되고, 밀링되고, 1종 이상의 다른 성분 (예를 들어, 밀 글루텐, 섬유, 예컨대 대나무 섬유, 또는 대두 단백질 단리물)과 조합될 수 있다.

[0258] 섬유성 또는 섬유성-유사 구조는 압출에 의해 형성될 수 있다. 일부 실시양태에서 압출은 라이스트리츠 나노-16 이축 스크류 동시-회전 압출기 (아메리칸 라이스트리츠 익스트루더 코퍼레이션, 미국 뉴저지주 줌머빌)를 사용하여 수행된다. 배럴 섹션의 능동 가열 및 냉각은 섬유의 기계적 특성, 팽화 정도 및 물 함량을 최적화하는데 사용된다. 예를 들어, 물 함량은 경질 결합 조직 모조물을 제조하기 위해 약 50%로 조정될 수 있다. 단백질 공급물 및 액체는 개별적으로 첨가된다: 단백질은 용적식 플러저 공급기에 의해 공급되고, 액체는 고압 액체 주사 시스템을 통해 배럴에 첨가된다. 일부 예에서, 압출 파라미터는 다음과 같다: 스크류 속도 200 rpm, 다이에서의 생성물 온도 120°C, 공급 속도 2.3 g/분, 및 물-유량 0.7 g/분. 압출 동안 다이에서의 생성물 온도는 열전쌍에 의해 측정된다.

[0259] 섬유성 또는 섬유성-유사 구조는 섬유성 구조를 생성하기 위한 필라멘트 및 멀티-필라멘트 다이를 통한 압출에 의해 형성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 10-300 마이크로미터 범위의 다중의 다양한 오리피스 크기를 갖춘 다이를 사용하여 섬유의 치수 및 조성을 정밀 제어하면서 혼합된 섬유성 조직 모조물을 생성할 수 있다. 다양한 크기의 섬유를 조성물에 혼입시켜 조성물의 특성을 제어할 수 있다.

- [0260] 전기방사는 <1-10 마이크로미터 범위의 섬유를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 전기방사는 <1-10 마이크로미터 직경 범위의 섬유를 생성하기 위해 사용된다. 예를 들어, 400 mM 염화나트륨을 함유하는 녹두 글로불린 (140 mg/ml)의 농축 용액을 폴리(비닐 알콜) 또는 폴리(에틸렌 옥시드) (9% w/v) 용액과 혼합하여 22.5 mg/ml 녹두 글로불린 및 6.75% w/v의 각각의 중합체를 함유하는 혼합 용액을 수득할 수 있다. 생성된 용액을 시린지 펌프를 사용하여, 5 ml 시린지로부터 테플론 튜브 및 무딘 21게이지 바늘을 통해 천천히 (예를 들어, 3 μ l/분으로) 펌핑한다. 바늘은 고전압 공급기 (예를 들어, 스펬만(Spellman) CZE 30 kV)의 양극 단자에 연결되고 집전 전극으로부터 20-30 cm에 고정된다. 집전 전극은 알루미늄 호일로 랩핑된 알루미늄 드럼이다 (약 12 cm 길이, 5 cm 직경). 드럼은 IKA RW20 모터에 의해 약 600 rpm으로 회전되는 스피들에 부착된다. 스피들은 고전압 공급기의 접지 단자에 연결된다. 단백질/중합체 섬유는 호일 상에 축적되고, 전기방사가 완료된 후, 호일로부터 제거되어 조직 모조물에 첨가된다.
- [0261] 본 발명의 방법에 의해 제조된 섬유의 치수 및 조성은 조직 모조물의 맛, 텍스처 및 기계적 특성에 영향을 갖는다. <1-10 마이크로미터 범위의 섬유를 1 내지 50%, 및 10-300 마이크로미터 범위의 섬유를 10 내지 50% 포함하는 조직은 맛, 구강촉감 및 기계적 특성의 면에서 동물 결합 조직에 가장 근접한다.
- [0262] 연골-유형 조직은 거시적으로 균질하고, 압축에 대해 저항성이며, 보다 높은 물 함량 (최대 80%), 보다 낮은 단백질 (콜라겐) 함량 및 보다 높은 폴리사카라이드 (프로테오글리칸) 함량 (각각 약 10%)을 갖는다. 조성상, 연골-유형 결합 조직 모조물은 근막-유형 조직 모조물과 유사하고, 각각의 상대비는 '육류' 결합 조직을 보다 근접하게 모방하기 위해 조정된다. 압출 동안, 연질 결합 조직 모조물을 제조하기 위해 물 함량은 약 60%로 조정될 수 있다.
- [0263] 연골-유형 결합 조직을 형성하는 방법은 근막-유형 결합 조직을 형성하는 방법과 유사하지만, 등방성 비-섬유성 겔을 제조하는 방법이 바람직하다.
- [0264] 결합 조직 모조물은 1종 이상의 단백질을 단리 및 정제하고; 1종 이상의 단백질을 침전시킴으로써 제조될 수 있으며, 여기서 침전은 1종 이상의 단백질이 결합 조직의 물리적 편성과 가까운 물리적 구조를 형성하게 한다. 침전은 1종 이상의 단백질을 제1 용액 중에 가용화하고; 제1 용액을 제2 용액으로 압출시키는 것을 포함할 수 있으며, 여기서 1종 이상의 단백질은 제2 용액 중에 불용성이고, 압출은 1종 이상의 단백질의 침전을 유도한다.
- [0265] 일부 실시양태에서, 소비재의 성분의 일부 또는 전부는 겔 (예를 들어, 단백질성 겔) 중에 현탁된다. 다양한 실시양태에서, 겔은 히드로겔, 오르가노겔 또는 크세로겔일 수 있다. 겔은 폴리사카라이드 또는 단백질을 기초로 하는 작용제를 사용하여 증점될 수 있다. 예를 들어, 녹말, 애로루트, 옥수수 전분, 카타쿠리 전분, 감자 전분, 사고, 타피오카, 알기닌, 구아 검, 로커스트 빈 검, 크산탄 검, 콜라겐, 난백, 푸르셀라란, 젤라틴, 한천, 카라기난, 셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드록시메틸셀룰로스, 아카시아 검, 곤약, 전분, 펙틴, 아밀로펙틴, 또는 콩과식물, 곡물, 견과류, 다른 종자, 잎, 조류, 박테리아, 또는 진균으로부터 유래된 단백질을 단독으로 또는 조합하여 사용함으로써 겔을 증점시켜, 소비재에 대한 아키텍처 또는 구조를 형성할 수 있다. 단백질 사이에 공유 가교를 일으키는 반응을 촉매하는 효소가 또한 단독으로 또는 조합되어 사용되어 소비재에 대한 아키텍처 또는 구조를 형성할 수 있다. 예를 들어, 트랜스글루타미나제, 티로시나제, 리실 옥시다제 또는 다른 아민 옥시다제 (예를 들어, 피키아 파스토리스 리실 옥시다제 (PPL0))가 단독으로 또는 조합되어 사용되어 성분 단백질을 가교함으로써 소비재에 대한 아키텍처 또는 구조를 형성할 수 있다. 일부 실시양태에서, 다양한 성분을 갖는 다중 겔이 조합되어 소비재를 형성한다. 예를 들어, 식물-유래 단백질을 함유하는 겔은 식물-유래 지방을 함유하는 겔과 회합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 단백질의 섬유 또는 스트링은 서로 평행하게 배향되고, 이어서 식물 기반 지방을 함유하는 겔의 적용에 의해 제자리에 고정된다.
- [0266] 본 발명의 조성물은 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 따라, 가열, 예컨대 프라잉, 베이킹, 마이크로웨이브 가열, 강제 통풍 시스템에서의 가열, 통풍 터널에서의 가열 등에 의해 팽화 또는 확대될 수 있다.
- [0267] 일부 실시양태에서, 다양한 성분을 갖는 다중 겔이 조합되어 소비재를 형성한다. 예를 들어, 식물-유래 단백질을 함유하는 겔은 식물-유래 지방을 함유하는 겔과 회합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 단백질의 섬유 또는 스트링은 서로 평행하게 배향되고, 이어서 식물 기반 지방을 함유하는 겔의 적용에 의해 제자리에 고정된다.
- [0268] J. 조성물에서의 생략
- [0269] 소비재는 규정된 성분으로부터 제조될 수 있고, 그 자체가 단리 및 정제될 수 있기 때문에, 특정 성분을 함유하지 않고 소비재를 제조하는 것이 가능하다. 일부 경우에, 이는 소비재에 바람직하지 않을 수 있는 성분이 부재하는 소비재의 제조를 가능하게 한다 (예를 들어, 일부 인간에서 알레르기성인 단백질은 생략 또는 첨가될 수

있음). 일부 실시양태에서, 소비재는 동물 제품을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 밀 글루텐을 함유하지 않거나 1% 미만으로 함유한다. 일부 실시양태에서 소비재는 메틸셀룰로스를 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 카라기난을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 카라멜 색소를 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 곤약 가루를 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 아라비아 검(또한 아카시아 검으로도 공지됨)을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 밀 글루텐을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 대두 단백질 단리물을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 두부를 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 5% 미만의 탄수화물을 함유한다. 일부 실시양태에서 소비재는 1% 미만의 셀룰로스를 함유한다. 일부 실시양태에서 소비재는 5% 미만의 셀룰로스를 함유한다. 일부 실시양태에서 소비재는 5% 미만의 불용성 탄수화물을 함유한다. 일부 실시양태에서 소비재는 1% 미만의 불용성 탄수화물을 함유한다. 일부 실시양태에서 소비재는 합성 색소를 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서 소비재는 인공 풍미제를 함유하지 않는다.

[0270] 일부 실시양태에서 소비재는 하기 특성 중 하나 이상을 함유한다: 무 동물 제품; 무 메틸셀룰로스; 무 카라기난; 무 곤약 가루; 무 아라비아 검; 1% 미만 밀 글루텐; 무 밀 글루텐; 무 두부; 약 5% 탄수화물; 5% 미만 셀룰로스; 5% 미만 불용성 탄수화물; 1% 미만 불용성 탄수화물; 무 식용 착색제, 예컨대 카라멜 색소, 파프리카, 시나몬, 비트 색소, 당근 오일, 토마토 리코펜 추출물, 라즈베리 분말, 카르민, 코치닐 추출물, 안나토, 강황, 사프란, F.D&C 적색 3호, 황색 5호, 황색 6호, 녹색 3호, 청색 2호, 청색 1호, 바이올렛 1호, FD&C 적색 40호 - 알루라 레드(Allura Red) AC, 및/또는 E129 (적색 색조); 및/또는 무 인공 풍미제. 일부 실시양태에서 소비재는 대두 단백질 단리물을 함유하지 않는다. 다른 실시양태에서, 소비재는 대두 단백질 또는 단백질 농축물을 함유하지 않는다.

[0271] 일부 실시양태에서, 근육 조직 모조물은 추가로 10% 미만, 5% 미만, 1% 미만, 또는 0.1% 미만의 밀 글루텐을 함유한다. 일부 실시양태에서, 근육 조직 모조물은 밀 글루텐을 함유하지 않는다.

[0272] IV. 성분의 조합

[0273] A. 육류 모조물

[0274] 육류 대응 제품 (대안적으로 육류 모조물)은 본원에 기재된 조성물을 포함할 수 있다. 예를 들어 육류 모조물은 근육 모조물; 지방 조직 모조물; 및 결합 조직 모조물 (또는 그의 하위-조합)을 포함할 수 있다. 근육 모조물, 지방 조직 모조물, 및/또는 결합 조직 모조물은 육류의 물리적 편성과 가까운 방식으로 어셈블리될 수 있다. 일부 실시양태에서, 모조물이 서로 결합되도록 돕기 위해 코아세르베이트와 같은 결합제가 사용된다.

[0275] 다양한 성분의 백분율이 또한 제어될 수 있다. 예를 들어, 근육, 지방 조직, 결합 조직 및 혈액 성분에 대한 비-동물-기반 대응물은 육류의 외양 및 촉감과 가장 가까워지도록 다양한 비 및 물리적 편성으로 조합될 수 있다. 다양한 성분은 소비재를 베어 먹는 사이의 일관성이 보장되도록 배열될 수 있다. 성분은 소비재로부터 어떠한 폐기물도 생성되지 않는 것을 보장하도록 배열될 수 있다. 예를 들어, 전통적인 육류의 조각은 전형적으로 섭취하지 못하는 부분을 가질 수 있지만, 육류 모조물은 이들 비식용 부분 (예를 들어, 골, 연골, 결합 조직, 또는 통상적으로 물렁뼈로 지칭되는 다른 물질)을 포함하지 않음으로써 육류를 개선할 수 있다. 이러한 개선은 소비되도록 제조 또는 수송된 모든 제품에 있어서 폐기 및 수송 비용이 절감되도록 한다. 대안적으로, 육류 모조물은 육류 소비의 경험을 모방하기 위해 비식용 부분을 포함할 수 있다. 이러한 부분은 골, 연골, 결합 조직, 또는 통상적으로 물렁뼈로 지칭되는 다른 물질, 또는 이들 성분을 모의하여 포함되는 물질을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 소비재는 부차적 기능을 제공하도록 설계된 육류 제품의 모의 비식용 부분을 함유할 수 있다. 예를 들어, 모의 골은 조리 동안 열을 분산시키도록 설계되어, 육류보다 더 빠르게 또는 더 균일하게 소비재가 조리되도록 할 수 있다. 다른 실시양태에서, 모의 골은 또한 수송 동안 소비재가 일정한 온도에서 유지되도록 기능할 수 있다. 다른 실시양태에서, 모의 비식용 부분은 생분해성 (예를 들어, 생분해성 플라스틱)일 수 있다.

[0276] 일부 실시양태에서, 육류 대응 조성물은 10-30% 단백질, 5-80% 물, 및 5-70% 지방을 포함하며, 1종 이상의 단리 및 정제된 단백질을 포함한다. 이러한 육류 대응물은 동물 단백질을 포함할 수 없다. 일부 실시양태에서, 육류 대응 조성물은 트랜스글루타미나제를 포함한다.

[0277] 일부 실시양태에서, 육류 대응 제품은 근육 모조물, 지방 조직 모조물, 및 결합 조직 모조물을 포함하며, 여기서 근육 모조물은 중량 기준으로 제품의 40-90%를 차지하고, 지방 조직 모조물은 중량 기준으로 제품의 1-60%를 차지하고, 결합 조직 모조물은 중량 기준으로 제품의 1-30%를 차지한다.

- [0278] 일부 실시양태에서, 육류 대응 제품은 60-90% 물; 5-30% 단백질 함량; 및 1-20%의 지방을 포함하며; 여기서 단백질 함량은 1종 이상의 단리 및 정제된 식물 단백질을 포함한다.
- [0279] 일부 실시양태에서, 소비재는 육류의 성분을 모조하는 성분을 함유한다. 육류의 주요 성분은 전형적으로 골격근이다. 골격근은 전형적으로 대략 75 퍼센트 물, 19 퍼센트 단백질, 2.5 퍼센트 근육내 지방, 1.2 퍼센트 탄수화물 및 2.3 퍼센트의 다른 가용성 비-단백질 물질로 이루어진다. 이들은 유기 산, 황 화합물, 질소함유 화합물, 예컨대 아미노산 및 뉴클레오티드, 및 무기 물질, 예컨대 미네랄을 포함한다. 따라서, 본 발명의 일부 실시양태는 이러한 조성의 근사치를 모조하는 소비재를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 소비재는 대략 75% 물, 19% 단백질, 2.5% 지방, 1.2% 탄수화물; 및 2.3 퍼센트 다른 가용성 비-단백질 물질을 포함하는 식물-기반 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 소비재는 60-90% 물, 10-30% 단백질, 1-20% 지방, 0.1-5% 탄수화물; 및 1-10 퍼센트 다른 가용성 비-단백질 물질을 포함하는 식물-기반 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 소비재는 60-90% 물, 5-10% 단백질, 1-20% 지방, 0.1-5% 탄수화물; 및 1-10 퍼센트 다른 가용성 비-단백질 물질을 포함하는 식물-기반 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 소비재는 0-50% 물, 5-30% 단백질, 20-80% 지방, 0.1-5% 탄수화물; 및 1-10 퍼센트 다른 가용성 비-단백질 물질을 포함하는 식물-기반 육류 모조물이다.
- [0280] 일부 실시양태에서, 육류 모조물은 0.01 중량% 내지 5 중량%의 헴 함유 단백질을 함유한다. 일부 실시양태에서, 모조물은 0.01 중량% 내지 5 중량%의 레그헤모글로빈을 함유한다. 일부 육류는 또한, 일부 육류의 대부분의 적색 및 철 함량을 차지하는 헴 함유 단백질인 미오글로빈을 함유한다. 이들 백분율은 육류에서 달라질 수 있고 육류 모조물은 육류에서의 천연 변이와 가깝게 제조될 수 있음을 이해한다. 헴-함유 단백질 및 임의적인 풍미를 포함하는 실시양태에서, k-카라기난은 분쇄된 조직이 과도하게 습해지지 않도록 풍미 및 헴 용액으로부터 기인하는 액체의 일부를 흡수하기 위해 사용될 수 있다. 풍미 헴 믹스 용액의 첨가 동안, 최종 분쇄 제품에서 균질성을 보장하기 위해 k-카라기난 분말이 조직 혼합물 상에 고르게 분포된다.
- [0281] 단백질이 용액으로서 공급되는 경우에, 단백질을 농축시키기 위해 물 제거 기술, 예컨대 동결-건조 또는 분무 건조가 임의로 사용될 수 있음이 인식될 것이다. 단백질은 이어서 분쇄된 조직이 과하게 습윤되지 않도록 방지하는 액체의 양으로 재구성될 수 있다.
- [0282] 추가로, 일부 경우에, 본 발명은 이들 성분을 비천연 백분율로 포함하는 개선된 육류 모조물을 제공한다. 헴 함유 단백질의 농도는 육류 풍미 및 향미의 중요한 결정자이다. 따라서 예를 들어 육류 모조물은 전형적인 소고기보다 더 높은 헴 단백질 함량을 가질 수 있다. 예를 들어, 육류 모조물은 전형적인 평균 지방 함량보다 더 높게 제조될 수 있다. 이들 성분의 백분율은 또한 다른 바람직한 특성을 증가시키기 위해 변경될 수 있다.
- [0283] 일부 경우에, 육류 모조물은 조리 시 성분의 백분율이 조리된 육류와 유사하도록 설계된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 비조리 소비재는 비조리 육류와 상이한 백분율의 성분을 갖지만, 조리 시, 소비재는 조리된 육류와 유사하다. 예를 들어, 육류 모조물은 미가공 육류의 전형적인 물 함량보다 더 높게 제조될 수 있지만, 마이크로웨이브에서의 조리 시, 생성된 제품은 불에서 조리된 육류와 유사한 성분의 비-전분 폴리사카라이드, 예컨대 아라비녹실란, 셀룰로스, 및 많은 다른 식물 성분, 예컨대 저항성 전분, 저항성 텍스트린, 이눌린, 리그닌, 왁스, 키틴, 펙틴, 베타-글루칸, 및 올리고사카라이드 백분율을 갖는다.
- [0284] 일부 실시양태에서, 소비재는 육류의 전형적인 물 함량보다 더 낮은 물 함량을 갖는 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 육류 모조물이 육류와 유사한 물 함량을 갖도록 육류 모조물을 수화시키는 방법을 제공한다. 예를 들어, 육류보다 낮은, 예를 들어 1%, 10%, 20%, 30%, 40% 또는 50% 물의 물 함량을 갖는 육류 모조물은 대략 75% 물까지 수화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 일단 수화되면 육류 모조물은 이어서 인간 소비를 위해 조리된다.
- [0285] 소비재는 단백질 성분을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 소비재의 단백질 함량은 10%, 20%, 30% 또는 40%이다. 일부 실시양태에서, 소비재의 단백질 함량은 육류와 유사하다. 일부 실시양태에서, 소비재 내의 단백질 함량은 육류의 단백질 함량보다 더 높다. 일부 실시양태에서, 소비재는 육류보다 단백질을 덜 갖는다.
- [0286] 소비재 내의 단백질은 다양한 공급원 또는 그의 조합으로부터 비롯될 수 있다. 비-동물 공급원은 소비재 내의 단백질의 일부 또는 전부를 제공할 수 있다. 비-동물 공급원은 채소, 비 식품 바이오매스, 예컨대 당근 상단 및 미스칸투스, 해조, 과일, 견과류, 곡물, 조류, 박테리아 또는 진균을 포함할 수 있다. 예를 들어 섹션 III A 및 B를 참조한다. 단백질은 이들 공급원 중 하나 이상으로부터 단리되거나 농축될 수 있다. 일부 실시양태에서, 소비재는 비-동물 공급원으로부터만 수득된 단백질을 포함하는 육류 모조물이다.

- [0287] 일부 실시양태에서, 단백질은 소비재로의 혼입을 위한 비대칭 섬유로 형성된다. 일부 실시양태에서, 이들 섬유는 근섬유를 모조한다. 일부 실시양태에서, 단백질은 방사 섬유이다. 따라서, 본 발명은 비대칭 또는 방사 단백질 섬유를 제조하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 소비재는 인간 영양에 필수적인 단백질에서 발견되는 모든 아미노산을 갖는 단백질 또는 단백질들을 함유한다. 일부 실시양태에서, 소비재에 첨가되는 단백질은 아미노산으로 보충된다.
- [0288] 물리적 편성은 조리에 대한 육류 대용물의 반응의 결정자일 수 있다. 예를 들어, 육류의 풍미는 입자의 크기에 의해 변형된다. 페이스트로 감소된 분쇄된 육류는 조리 시 보다 투박하게 분쇄된 소고기와는 상이한 풍미를 제공한다. 개개의 조직 모조물의 상대적 크기 및 배향을 제어하는 능력은 조리 동안 소비재의 풍미 및 향미 프로파일이 변형되게 할 수 있다. 예를 들어, 근육 조직 모조물 및 지방 조직 모조물은 독립적 조리 시 또는 혼합 시 상이한 풍미 프로파일을 제공한다. 풍미 프로파일에서의 추가의 변화는 상이한 조직 모조물을 섞는 방법을 기반으로 하여 관찰된다.
- [0289] 육류 대용 제품의 물리적 편성은 본원에 기재된 근육, 지방 및/또는 결합 조직 모조물의 국제화, 편성, 어셈블리 또는 배향을 제어함으로써 조작될 수 있다. 일부 실시양태에서, 제품은 본원에 기재된 모조물이 육류에서와 같이 서로 회합되는 방식으로 설계된다. 일부 실시양태에서, 소비재는 본원에 기재된 모조물이 조리 후에 조리 육류에서와 같이 서로 회합되도록 설계된다.
- [0290] 육류의 특징적 풍미 및 방향 성분은 대부분 식물 뿐만 아니라 육류에서 발견되는 아미노산, 지방 및 당의 기질에 대한 화학 반응에 의해 조리 과정 동안 생성된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 소비재는 조리 동안 또는 조리 후에 육류와의 유사성에 대해 시험된다. 일부 실시양태에서, 인간 등급화, 인간 평가, 후각측정기 판독 또는 GCMS 측정, 또는 그의 조합을 사용하여 조리된 육류의 후각 맵을 생성한다. 유사하게, 소비재, 예를 들어 육류 모조물의 후각 맵이 생성될 수 있다. 이들 맵을 비교하여 조리된 소비재가 조리된 육류와 얼마나 유사한지를 평가할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조리 동안 또는 조리 후의 소비재의 후각 맵은 조리된 또는 조리 중인 육류의 후각 맵과 유사하거나 구별불가능하다. 일부 실시양태에서 차이는 인간 지각의 검출 역치 미만으로 충분히 작다.
- [0291] 일부 실시양태에서 개개의 조직 모조물은 규정된 위치 및 배향으로 층, 시트, 블록 및 스트링으로 어셈블리된다.
- [0292] 일부 실시양태에서, 모조물은 1/2 인치 미만으로 (예를 들어, 1/4 인치로) 설정된 구멍을 갖는 육류 분쇄기의 플레이트를 통과하는 과정에서 조합된다. 분쇄기는 입자 크기를 감소시키고, 추가의 혼합 또는 작업을 제공하고, 물질을 전형적으로 분쇄 소고기에 대해 행하는 것과 유사한 원통형 부분으로 형성하는 다중 기능을 제공한다. 어셈블리, 분쇄 및 형성 동안, 미생물 성장을 제어하고, 풍미 반응을 제한하고, 또한 지방조직을 고체 상태로 유지하여 지방조직의 이산 조각이 분쇄 과정을 통해 유지되도록 모조물 조직을 차갑게 (예를 들어, 4 - 15°C) 유지하는 것이 중요하다.
- [0293] 분쇄 전, 모조물 조직은 통상적으로 몇몇 방식으로 규정된 입자 크기로 파단된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 개개의 조직 모조물은 1 cm 미만의 직경 또는 5 mm 미만의 직경의 작은 조각으로 형성된 후 다른 조직 모조물과 조합될 수 있다. 지방 조직은 약 3 - 7 mm 입자로 바스러질 수 있다. 이는 최종 물질의 외관 및 조리 동안 지방 누출 거동 둘 다를 위해 중요하다. 이러한 크기 범위는 최종 미가공 제품에서 지방조직 얼룩의 천연 외관을 가능하게 한다. 지방 조직이 너무 작은 경우에 (예를 들어, 2 mm 미만), 조리 시 제품으로부터 누출되는 지방의 양은 불충분할 것이다.
- [0294] 연질 결합 조직 모조물은 약 1 - 3 mm 길이의 가장자리를 갖는 조각으로 파단될 수 있다. 조각이 너무 큰 경우에 (예를 들어, 약 4 mm 초과), 최종 제품의 텍스처는 너무 반짝거릴 수 있다.
- [0295] 각각 무정형 또는 긴 누들 유사 조직 모조물 조각으로 구성된 점착성 조직 또는 누들 조직 모조물, 및 미가공 조직 모조물은 손으로 약 1 - 3 cm 직경의 조각으로 파단될 수 있다. 이러한 크기 범위의 입자를 달성하는 것은 충분한 혼합 및 최종 분쇄 물질로의 적합한 균질성을 가능하게 한다.
- [0296] 일부 실시양태에서, 경질 결합 조직 모조물은 3가지 수준으로 세단될 수 있다 (예를 들어, 조대, 중간, 및 미세). 3가지 수준으로의 세단은 단일 단계 세단 과정보다 더 큰 양의 이질성을 제공하고, 최종 제품의 구강촉감을 분쇄 소고기와 더 유사하게 한다.
- [0297] 글루텐을 함유하는 제제에서, 식품 분쇄기의 추가의 기능은 글루텐에 작용하고 정렬된 글루텐 분자의 글루텐 네

트위크를 발생시키는 것이다. 글루텐 함유 제제의 경우에, 지방조직과 글루텐 네트워크의 상호작용을 최소화하는 것이 중요하다. 이는 지방조직 모조물 및 분쇄된 조직 모조물을 조합 전 사전냉각시키는 것에 의해, 및 또한 지방조직 첨가 후 조작성을 최소화하는 것에 의해 이루어진다. 지방조직 모조물의 글루텐으로의 과다작용은 글루텐 네트워크를 과단하거나 "단축"시킬 것이다.

- [0298] 마지막으로 글루텐 함유 제제의 경우에 패티는 조리 전 실온에서 30분 동안 또는 밤새 4℃에 놓여진다. 이는 글루텐 네트워크가 완화되도록 시간을 허용하여 전반적으로 더 우수한 텍스처를 제공한다.
- [0299] 일부 실시양태에서, 결합 조직 모조물은 근육 조직 모조물의 형성 전에 단백질 용액에 혼입된다.
- [0300] 일부 실시양태에서, 결합 조직 모조물은 지방 조직 모조물의 형성 전에 에멀전에 직접 혼입된다.
- [0301] 일부 실시양태에서, 지방 조직 모조물은 근육 조직 모조물에 가닥 및 시트 형태로 첨가되어 "마블링," 또는 줄무늬 베이컨의 효과를 모조한다.
- [0302] 혼합 육류 조직 모조물은 풍미 감각을 증가시킬 수 있고, 이러한 풍미는 과일향/꽃콩/금속향, 견과향/꽃내, 땅콩 버터/곰팡내, 생감자/로스팅향/흙내, 식초향, 매운내/카라멜/아몬드, 크림향, 단내, 과일향/김빠진 맥주, 곰팡내/견과향/쿠마린/감초/호두/빵, 코코넛/나무향/단내, 날카로운 냄새/역한 냄새, 민트향, 또는 구운 카라멜 향미와 연관된 다중 방향족 화합물을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0303] 일부 실시양태에서 혼합 육류 모조물은 휘발성 부취제, 예컨대 2-펜틸-푸란; 4-메틸티아졸; 에틸 피라진; 2,3-디메틸피라진, 아세트산; 5-메틸-2-푸란카르복스알데히드; 부티로락톤; 2,5-디메틸-3-(3-메틸 부틸) 피라진; 2-시클로펜텐-1-온, 2-히드록시-3-메틸; 3-아세틸-1h-피롤린; 판톨락톤; 1-메틸 1(H)-피롤-2-2카르복스알데히드; 카프로락탐; 2,3-디히드로-3,5-디히드록시-6-메틸-4(H)-피란-4-온의 존재를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 가솔린-유사, 석유, 신내/부패취/생선-유사, 밋밋한/나무향/요구르트, 기름기/꿀/시트러스, 톱쏘는/단내/카라멜 향 및 견과향/탄내 꽃내 향미를 포함하나 이에 제한되지는 않는 바람직하지 않는 풍미는 단지 개개의 조직 모조물에서만 형성되고, 혼합 육류 모조물 내에 축적되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 개개의 조직 모조물은 노난, 2,6-디메틸, 3-메틸 3-헥센; 피리딘; 아세트인; 옥탄알; 1-히드록시-2-프로판올; 및/또는 에틸 피라진을 포함하나 이에 제한되지는 않는 휘발성 부취제의 존재를 증가시킨다. 일부 실시양태에서 조리 동안 모든 상기 화합물이 축적되는 수준은 조직 모조물 단위의 크기 및 그들이 어떻게 혼합되었는지 (조대, 미세, 또는 블렌딩)에 좌우된다.
- [0304] 일부 실시양태에서, 혼합 육류 조직 모조물은 과일향/꽃콩/금속향, 견과향/꽃내, 땅콩 버터/곰팡내, 생감자/로스팅향/흙내, 식초향, 매운내/카라멜/아몬드, 크림향, 단내, 과일향/김빠진 맥주, 곰팡내/견과향/쿠마린/감초/호두/빵, 코코넛/나무향/단내, 날카로운 냄새/역한 냄새, 민트향, 또는 구운 카라멜 향미와 연관된 다중 방향족 화합물을 포함하나 이에 제한되지는 않는 풍미 감각을 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 혼합 육류 모조물은 페닐아세트알데히드, 1-옥텐-3-온, 2-n-헵틸푸란, 2-티오펜카르복스알데히드, 3-티오펜카르복스알데히드, 부티로락톤, 2-운데센알, 메틸-피라진, 푸르푸랄, 2-데카논, 피롤, 1-옥텐-3-올, 2-아세틸티아졸, (E)-2-옥텐알, 데칸알, 벤즈알데히드, (E)-2-노넨알, 피라진, 1-헥산올, 1-헵탄올, 디메틸 트리술피드, 2-노나논, 2-펜타논, 2-헵타논, 2,3-부탄디온, 헵탄알, 노난알, 2-옥타논, 1-옥탄올, 3-에틸시클로펜타논, 3-옥텐-2-온, (E,E)-2,4-헵타디엔알, (Z)-2-헵텐알, 2-헵타논, 6-메틸-, (Z)-4-헵텐알, (E,Z)-2,6-노나디엔알, 3-메틸-2-부텐알, 2-펜틸-푸란, 티아졸, (E, E)-2,4-데카디엔알, 헥산산, 1-에틸-5-메틸시클로펜텐, (E,E)-2,4-노나디엔알, (Z)-2-데센알, 디히드로-5-펜틸-2(3H)-푸라논, 트랜스-3-노넨-2-온, (E,E)-3,5-옥타디엔-2-온, (Z)-2-옥텐-1-올, 5-에틸디히드로-2(3H)-푸라논, 2-부텐알, 1-펜텐-3-올, (E)-2-헥센알, 포름산, 헵틸 에스테르, 2-펜틸-티오펜, (Z)-2-노넨알, 2-헥실-티오펜, (E)-2-데센알, 2-에틸-5-메틸-피라진, 3-에틸-2,5-디메틸-피라진, 2-에틸-1-헥산올, 티오펜, 2-메틸-푸란, 피리딘, 부탄알, 2-에틸-푸란, 3-메틸-부탄알, 트리클로로메탄, 2-메틸-부탄알, 메타크롤레인, 2-메틸-프로판알, 프로판알, 아세트알데히드, 2-프로필-푸란, 디히드로-5-프로필-2(3H)-푸라논, 1,3-헥사디엔, 4-데신, 펜탄알, 1-프로판올, 헵탄산, 트리메틸-에탄티올, 1-부탄올, 1-펜텐-3-온, 디메틸 술피드, 2-에틸 푸란, 2-펜틸-티오펜, 2-프로펜알, 2-트리데센-1-올, 4-옥텐, 2-메틸 티아졸, 메틸-피라진, 2-부타논, 2-펜틸-푸란, 2-메틸-프로판알, 부티로락톤, 3-메틸-부탄알, 메틸-티이란, 2-헥실-푸란, 부탄알, 2-메틸-부탄알, 2-메틸-푸란, 푸란, 옥탄알, 2-헵텐알, 1-옥텐, 포름산 헵틸 에스테르, 3-펜틸-푸란, 및 4-펜텐-2-온을 포함하나 이에 제한되지는 않는 휘발성 부취제의 존재를 증가시킨다. 일부 실시양태에서 조리 동안 모든 상기 화합물이 축적되는 수준은 조직 단위의 크기 및 그들이 어떻게 혼합되었는지 (조대, 미세, 또는 블렌딩)에 좌우된다.
- [0305] 휘발성 부취제의 생성은 지방조직, 근육 및 결합 조직 모조물이 서로 접촉될 경우에 증진될 수 있다. 일부 실

시양태에서, 휘발성 부취제의 생성은 지방조직, 근육 및 결합 조직이 5 mm의 개개의 조직 모조물의 평균 크기로 친밀하게 혼합될 경우에 증진된다. 일부 실시양태에서, 휘발성 부취제의 생성은 지방, 근육 및 결합 조직이 2 mm의 개개의 조직 모조물의 평균 크기로 친밀하게 혼합될 경우에 증진된다. 일부 실시양태에서, 상기 휘발성 부취제의 생성은 지방, 근육 및 결합 조직 모조물이 1 mm의 개개의 조직 모조물의 평균 크기로 친밀하게 혼합될 경우에 증진된다.

- [0306] 일부 실시양태에서, 육류 대용물은 특정한 조리 방법을 위해 최적화된다 (마이크로웨이브 오븐에서의 조리를 위해 최적화되거나, 또는 스투로의 조리를 위해 최적화됨).
- [0307] 일부 실시양태에서, 육류 대용물은 탈수를 위해 최적화된다.
- [0308] 일부 실시양태에서, 상기 육류 대용물은 탈수된 육류 모조물의 물에의 노출 시 신속한 재수화를 위해 최적화된다.
- [0309] 일부 실시양태에서, 상기 육류 대용물은 구급 식품, 캠핑 식품 또는 우주비행 식품으로서의 사용을 위해 최적화된다.
- [0310] 본원에 기재된 방법은 규정된 조리 특성을 갖는 육류 모조물을 제공하여 특정한 조리 기술에 대해 최적화된 육류 모조물의 제조가 가능하도록 하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 스투는 육류 내 결합 조직이 젤라틴화되도록 느린 조리를 필요로 하지만, 육류 모조물은 결합 조직 모조물이 보다 용이하게 젤라틴화되어 스투가 신속하게 제조되도록 설계될 수 있다.
- [0311] B. 조리 육류의 지시제
- [0312] 소비재는 소비재가 조리 중이거나 조리되었음을 나타낼 수 있는 조성물을 포함할 수 있다. 조리 시 부취제의 방출은 육류 소비의 중요한 측면이다. 일부 실시양태에서, 소비재는 조리 시 인간에 의해 전형적인 조리 소고기로서 인식될 수 있는 향미를 생성하는, 전적으로 비-동물 제품으로 구성된 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 소비재는 조리 시 인간에 의해 전형적인 조리 돼지고기, 베이컨, 닭고기, 양고기, 생선 또는 칠면조고기로서 인식될 수 있는 향미를 생성한다. 일부 실시양태에서, 소비재는 조리 시 방출되거나 또는 조리 시 일어나는 화학 반응에 의해 생성되는 부취제를 함유하는, 주로 또는 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된 성분으로 구성된 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 소비재는 단백질, 펩티드, 아미노산, 뉴클레오티드, 당 및 폴리사카라이드 및 지방의 혼합물을, 조리 동안 이들 화합물이 화학 반응을 거쳐 부취제 및 풍미-생성 화합물을 생성할 수 있게 하는 조합 및 공간 배열로 함유하는, 주로 또는 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된 성분으로 구성된 육류 모조물이다.
- [0313] 일부 실시양태에서, 소비재는 조리 시 방출되는 휘발성 또는 불안정성 부취제를 함유하는, 주로 또는 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된 성분으로 구성된 육류 모조물이다.
- [0314] 일부 실시양태에서, 지시제는 조리 진행 동안 육류 제품의 색 전이를 정확하게 모방하는 시각적 지시제이다. 색 전이는 조리 진행 동안 예를 들어 적색에서 갈색, 핑크색에서 백색 또는 황갈색, 또는 투명에서 불투명한 색일 수 있다.
- [0315] 일부 실시양태에서, 지시제는 조리 진행을 나타내는 후각적 지시제이다. 한 실시양태에서, 상기 후각적 지시제는 조리 동안 방출되는 1종 이상의 휘발성 부취제이다.
- [0316] 일부 실시양태에서, 지시제는 1종 이상의 단리, 정제된 철-함유 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리, 정제된 철-함유 단백질 (예를 들어, 헴-함유 단백질, 섹션 III B 참조)은 조리 전 환원된 상태로 존재한다. 일부 실시양태에서, 환원 또는 산화된 상태로 존재하는 1종 이상의 단리 및 정제된 철 운반 단백질은 동물 공급원으로부터 유래된 미오글로빈 단백질과 동등한 환원 또는 산화 상태에 있는 경우에 유사한 UV-VIS 프로파일을 갖는다. 아퀴팩스 아에오리쿠스 헤모글로빈은 413 nm에서 피크 흡광도 파장을 갖고; 메틸아시디필름 인페르노름 헤모글로빈은 412 nm에서 피크 흡광도 파장을 갖고; 글리신 맥스 레그헤모글로빈은 415 nm에서 피크 흡광도 파장을 갖고; 호르데움 불가레 및 비그나 라디아타 비-공생 헤모글로빈은 각각 412 nm에서 피크 흡광도 파장을 갖는다. 보스 타우루스 미오글로빈은 415 nm에서 피크 흡광도 파장을 갖는다.
- [0317] 일부 실시양태에서, 1종 이상의 단리 및 정제된 철-함유 단백질의 피크 흡광도 파장 및 동물 공급원으로부터 유래된 미오글로빈의 피크 흡광도 파장 사이의 차이는 5% 미만이다.
- [0318] 육류의 조리 동안 방출되는 부취제는 반응물로서 지방, 단백질, 아미노산, 펩티드, 뉴클레오티드, 유기 산, 황

화합물, 당 및 다른 탄수화물이 관여할 수 있는 반응에 의해 생성된다. 일부 실시양태에서, 육류의 조리 동안 조합되는 부취제를 확인하고 소비재 내에서 서로 가까이 위치시켜, 소비재의 조리 시에 부취제가 조합되도록 한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 특징적 풍미 및 방향 성분은 식물 뿐만 아니라 육류에서 발견되는 아미노산, 지방 및 당이 관여하는 화학 반응에 의해 조리 과정 동안 생성된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 특징적 풍미 및 방향 성분은 대부분 식물 뿐만 아니라 육류에서 발견되는 1종 이상의 아미노산, 지방, 펩티드, 뉴클레오티드, 유기 산, 황 화합물, 당 및 다른 탄수화물이 관여하는 화학 반응에 의해 조리 과정 동안 생성된다.

[0319] 육류의 조리 동안 방출되는 부취제를 생성하는 일부 반응은 철, 특히 미오글로빈의 헴 철에 의해 촉매될 수 있다. 따라서 일부 실시양태에서, 특징적 풍미 및 방향 성분의 일부는 조리 과정 동안 철에 의해 촉매된 화학 반응에 의해 생성된다. 일부 실시양태에서, 특징적 풍미 및 방향 성분의 일부는 조리 과정 동안 헴에 의해 촉매된 화학 반응에 의해 생성된다. 일부 실시양태에서, 특징적 풍미 및 방향 성분의 일부는 조리 과정 동안 레그 헤모글로빈 내의 헴 철에 의해 촉매된 화학 반응에 의해 생성된다. 일부 실시양태에서, 특징적 풍미 및 방향 성분의 일부는 조리 과정 동안 헴 단백질 내의 헴 철에 의해 촉매된 화학 반응에 의해 생성된다. 예를 들어, 헴단백질 (예를 들어, 아퀴팩스 아에오리쿠스, 메틸아시디필룸 인페르노룸, 글리신 맥스, 호르데움 불가레 또는 비그나 라디아타로부터의 것)은 GC-MS에 의한 분석 시, 3종의 성분의 임의의 하위세트보다 시스테인 및 글루코스의 존재 하에 가열될 때 유의하게 상이한 휘발성 부취제의 프로파일을 제공한다. 이러한 조건 하에 증가되는 휘발성 풍미 성분은 푸란, 아세톤, 티아졸, 푸르푸랄, 벤즈알데히드, 2-피리딘카르복스알데히드, 5-메틸-2-티오펜카르복스알데히드, 3-메틸-2-티오펜카르복스알데히드, 3-티오펜메탄올 및 데칸올을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 조건 하에, 시스테인 및 글루코스는 단독으로 또는 철 염, 예컨대 글루칸산제1철의 존재 하에 아황산 냄새를 생성했지만, 헴 단백질의 첨가는 아황산 냄새를 감소시켰고, 닭고기 브로쓰, 탄 버섯, 당밀 및 빵을 포함하나 이에 제한되지는 않는 풍미로 이를 대체하였다.

[0320] 추가로, 헴단백질 (예를 들어, 아퀴팩스 아에오리쿠스, 메틸아시디필룸 인페르노룸, 글리신 맥스, 호르데움 불가레 또는 비그나 라디아타로부터의 것)은 분쇄된 닭고기의 존재 하에 가열 시 특정 휘발성 부취제를 증가시켰고, 이는 GC-MS에 의한 분석 시 닭고기에 비해 소고기에서 상승된다. 이러한 조건 하에 증가되는 휘발성 풍미 성분은 프로판알, 부탄알, 2-에틸-푸란, 헵탄알, 옥탄알, 트랜스-2-(2-펜테닐)푸란, (Z)-2-헵텐알 (E)-2-옥텐알 피롤, 2,4-도데카디엔알, 1-옥탄알 또는 (Z)-2-데칸알 2-운데센알을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0321] C. 색 지시제

[0322] 육류의 색은 육류의 조리 및 섭취 경험의 중요한 부분이다. 예를 들어, 소고기 조각은 미가공 상태에서 특징적 적색을 갖고 조리 동안 서서히 갈색으로 전이된다. 또 다른 예로서, 백색 육류, 예컨대 닭고기 또는 돼지고기는 그의 미가공 상태에서 특징적 핑크색을 갖고 조리 동안 서서히 백색 또는 갈색빛의 색으로 전이된다. 색 전이량은 소고기의 조리 진행을 나타내고 목적하는 익은 정도의 상태가 생성되도록 하는 조리 시간 및 온도를 적정하는데 사용된다. 일부 측면에서, 본 발명은 조리 진행의 시각적 지시제를 제공하는 비-육류 기반 육류 대응 제품을 제공한다. 일부 실시양태에서, 시각적 지시제는 조리 동안 색 전이를 거치는 색 지시제이다. 일부 실시양태에서, 색 지시제는 육류가 미가공 상태에서 조리된 상태로 진행됨에 따른 육류 조각의 색 전이를 재현한다. 또한 실시양태에서, 색 지시제는 미가공 상태를 나타내기 위해 조리 전 적색을 육류 대응 제품에 부여하고, 육류 대응 제품이 조리 진행 동안 갈색으로 전이되게 한다. 다른 실시양태에서, 색 지시제는 미가공 상태를 나타내기 위해 조리 전 핑크색을 육류 대응 제품에 부여하고, 육류 대응 제품이 조리 진행 동안 백색 또는 갈색으로 전이되게 한다.

[0323] 육류의 색의 영양적 규정의 주요 결정자는 육류 내의 철 운반 단백질의 농도이다. 육류 제품의 골격근 성분에서, 주요 철-운반 단백질 중 하나는 미오글로빈이다. 상기 기재된 바와 같이, 미오글로빈 함량은 백색 육류인 닭고기에서 0.05% 미만으로부터 높은 소고기에서 1.5-2.0%로 다양하다. 따라서, 일부 실시양태에서, 소비재는 철-운반 단백질 (예를 들어, 헴-함유 단백질)을 포함하는 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 육류 모조물은 건조 중량 또는 총 중량 기준으로 약 0.05%, 약 0.1%, 약 0.2%, 약 0.3%, 약 0.4%, 약 0.5%, 약 0.6%, 약 0.7%, 약 0.8%, 약 0.9%, 약 1%, 약 1.1%, 약 1.2%, 약 1.3%, 약 1.4%, 약 1.5%, 약 1.6%, 약 1.7%, 약 1.8%, 약 1.9%, 약 2%, 또는 약 2% 초과인 철-운반 단백질 (예를 들어, 헴-함유 단백질)을 포함한다. 일부 경우에, 철 운반 단백질은 공급원으로부터 단리 및 정제된다. 다른 경우에, 철 운반 단백질은 단리 및 정제되지 않는다. 일부 경우에, 철-운반 단백질의 공급원은 동물 공급원, 또는 비-동물 공급원, 예컨대 식물, 진균 또는 유전자 변형 유기체, 예컨대, 예를 들어 식물, 조류, 박테리아 또는 진균이다. 일부 경우에, 철-운반 단백질은 미오글로빈이다. 일부 실시양태에서, 소비재는 동물 미오글로빈이 첨가된 식물 기반 육류 모조물이다.

따라서, 예를 들어 어린 소고기의 모조물은 약 0.4-1% 미오글로빈을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 소비재는 레그헤모글로빈 또는 시토크롬이 첨가된 식물 기반 육류 모조물이다. 따라서, 예를 들어 어린 소고기의 모조물은 약 0.4-1% 레그헤모글로빈 또는 시토크롬을 가질 수 있다.

- [0324] 철-운반 단백질의 또 다른 예는 척추동물의 적혈구 내의 철-함유 산소-결합 단백질인 헤모글로빈이다. 헤모글로빈은 미오글로빈과 색이 유사하다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 소비재의 색을 보충하기 위해 동물 사육으로부터 혈액을 확보하고 재활용하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 혈액은 도살장으로부터 확보되고, 혈액으로부터 헤모글로빈은 소비재의 색을 증진시키는데 사용된다. 일부 측면에서, 소비재는 헤모글로빈을 함유하는 식물-기반 육류 모조물이다.
- [0325] 추가의 철 함유 단백질이 자연에 존재한다. 일부 실시양태에서, 소비재는 미오글로빈이 아닌 철 함유 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 소비재는 미오글로빈을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서, 소비재는 헤모글로빈을 함유하지 않는다. 일부 실시양태에서, 소비재는 미오글로빈 또는 헤모글로빈 이외의 철 함유 단백질을 포함하는 육류 모조물이다. 예를 들어, 헴-함유 단백질의 예에 대해 섹션 III B, 뿐만 아니라 도 3을 참조한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서 소비재는 헤모단백질 (예를 들어, 헤모글로빈, 미오글로빈, 뉴로글로빈, 시토크롬, 레그헤모글로빈, 비-공생 헤모글로빈, 헬스 게이트 글로빈 I, 박테리아 헤모글로빈, 섬모충 미오글로빈, 플라보헤모글로빈)을 포함한다.
- [0326] 미오글로빈과 구조 및 물리적 특성이 유사한 레그헤모글로빈은 범용 콩과식물 작물 (예를 들어, 대두 또는 완두)의 미사용 부산물로서 용이하게 입수가능하다. 미국에서 이들 작물의 뿌리 내에 있는 레그헤모글로빈은 미국에서 소비되는 모든 적색 육류의 미오글로빈 함량을 초과한다.
- [0327] 일부 실시양태에서, 소비재는 주로 또는 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된 성분으로 구성되고, 헴 단백질 (예를 들어, 레그헤모글로빈 또는 글로빈 단백질 패밀리의 구성원)을 함유하는 육류 모조물이다. 예를 들어, 육류 모조물은 근육 조직 모조물, 지방 조직 모조물, 결합 조직 모조물, 및 헴 단백질을 포함하는, 주로 또는 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된 성분으로 구성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 소비재는 헴 단백질로부터 높은 철 함량을 갖는, 주로 또는 전적으로 비-동물 공급원으로부터 유래된 성분으로 구성된 육류 모조물이다. 일부 실시양태에서, 철 함량은 육류와 유사하다. 일부 실시양태에서, 소비재는 레그헤모글로빈에 의해 제공되는 색인, 육류의 독특한 적색을 갖는다.
- [0328] 헴 단백질 (예를 들어, 섹션 III B에 기재된 헴-함유 단백질)은 소비재가 조리 완료되었다는 지시체로서 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 한 실시양태는 제품이 조리될 때 소비재의 내부로부터 표면으로 이동한 레그헤모글로빈을 검출하는 것을 포함하는, 소비재를 조리하는 방법이다. 본 발명의 또 다른 실시양태는 제품이 조리될 때 적색에서 갈색으로의 색의 변화를 검출하는 것을 포함하는, 소비재를 조리하는 방법이다.
- [0329] 일부 실시양태에서, 증가된 보관 수명은 식제품 (예를 들어, 비-육류 기반 육류 대용물)의 목적하는 적색의 수명의 연장에 의해 제공된다.
- [0330] 한 실시양태에서, 본 발명은 비-육류 육류 대용물에 대해 목적하는 색을 제공하는 헤모단백질을 제공한다. 일부 실시양태에서, 헤모단백질은 비-동물 공급원, 예컨대 식물, 진균 또는 유전자 변형 유기체, 예컨대 예를 들어 식물, 조류, 박테리아 또는 진균으로부터 유래된다. 예를 들어, 섹션 III B를 참조한다. 일부 실시양태에서 헤모단백질의 수명은 육류 보관 수명 연장제 처리에 의해 연장된다.
- [0331] 일부 실시양태에서, 육류 보관 수명 연장제는 일산화탄소, 아질산염, 메타중아황산나트륨, 붐발, 로즈마리 추출물, 녹차 추출물, 카테킨 및 다른 항산화제로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0332] 한 실시양태에서, 본 발명은 식제품 (예를 들어, 비-육류 대용물)에 목적하는 풍미 프로파일을 제공하는 헤모단백질을 제공한다. 일부 실시양태에서, 헤모단백질이 목적하는 풍미 프로파일을 생성하는 능력은 미오글로빈의 능력과 유사하다
- [0333] 일부 실시양태에서, 헤모단백질이 목적하는 풍미 프로파일을 생성하는 능력의 수명은 미오글로빈의 능력의 수명보다 10%, 20%, 30% 50%, 또는 100% 또는 그 초과이다.
- [0334] D. 단리, 정제된 헴 단백질을 포함하는 식제품
- [0335] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 헴 단백질은 육류 또는 소비재의 특성을 증진시키기 위해 육류 또는 본원에 기재된 소비재에 첨가된다. 예를 들어, 헴 단백질 함유 용액은 조리 동안 (예를 들어, 백색 육류, 예컨대 닭고기) "소고기맛" 풍미를 부가하여 육류의 감각수용성 특성을 개선하기 위해 미가공 (예를 들어, 미가공 백색

육류) 또는 조리된 육류에 주사될 수 있다.

- [0336] 또 다른 예에서, 헴 단백질 용액은 외관을 증진시키기 위해 육류 또는 본 발명의 소비재 상에 적하될 수 있다. 한 실시양태에서, 식제품, 예컨대 육류 또는 육류 대용물의 광고, 사진촬영 또는 비디오촬영은 헴 단백질에 의해 증진될 수 있다.
- [0337] 또 다른 실시양태에서, 헴 단백질은 철 보충제로서 소비재에 첨가된다.
- [0338] 본 발명의 하나의 적용에서, 헴단백질은 식품 염료로서 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 헴 단백질은 다양한 적용에서 FD&C 적색 40호-알루라 레드 AC, E129 (적색 색조)의 안전하고 소화가능한 대용물로서 사용될 수 있다. 이러한 잠재적인 용도의 비제한적 목록은 픽처를, 특히 마디-페인팅 또는 가짜 혈액과 같은 형태로 제조하는 것을 포함할 것이다.
- [0339] 일부 실시양태에서, 본 발명은 식물로부터 헴단백질 (예를 들어, 레그헤모글로빈)을 수득하는 방법을 제공한다. 레그헤모글로빈은 다양한 식물로부터 수득될 수 있다. 다양한 콩과식물 종 및 그의 품종 (예를 들어, 대두, 잠두, 리마콩, 동부, 영국 완두, 황색 완두, 루핀, 강낭콩, 가르반조 콩, 땅콩, 알팔파, 베치 건초, 클로버, 레스페데자 및 핀토콩)은 레그헤모글로빈이 산소 농도를 제어하는데 있어서 주요 역할을 갖는 질소-고정 뿌리혹을 함유한다 (예를 들어, 완두 식물로부터의 뿌리혹). 한 실시양태에서 레그헤모글로빈 단백질은 콩과식물 (예를 들어, 대두, 잠두 또는 완두)의 뿌리혹으로부터 이온-교환 크로마토그래피를 사용하여 정제된다. 한 실시양태에서, 레그헤모글로빈은 대두, 잠두 또는 사향 완두 뿌리혹으로부터 정제된다.
- [0340] 식물은, 일부 경우에, 비료를 적용하지 않고 토양이 리조비움(Rhizobium) 속의 천연 질소-고정 박테리아로 풍부화된 것을 제외하고, 표준 농업 방법을 사용하여 재배될 수 있다. 전체 뿌리 또는 뿌리혹은 수확되고, 예를 들어 20mM 인산칼륨 pH 7.4, 100mM 염화칼륨 및 5mM EDTA 중에서 분쇄기-블렌더를 사용하여 용해될 수 있다. 이 과정 동안, 레그헤모글로빈이 완충제로 방출된다. 레그헤모글로빈을 함유하는 뿌리혹 용해물은 5µm 필터를 통한 여과에 의해 세포 파편으로부터 청정화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 여과에 이어 원심분리된다 (7000g, 20분). 레그헤모글로빈을 함유하는 정화된 용해물은 이어서 200nm 필터를 통해 여과되고, 고속 단백질 액체 크로마토그래피 기계 (지이 헬스케어(GE Healthcare) 상의 음이온-교환 크로마토그래피 칼럼 (고성능 정제용 Q; 고성능 정제용 DEAE, 지이 헬스케어)에 적용된다. 레그헤모글로빈은 플로우스루 분획 중에서 수집되고, 3kDa 여과 막 상에서 목적하는 농도로 농축된다. 정제된 레그헤모글로빈의 순도 (부분 존재비)는 SDS-PAGE 겔에 의해 분석되고: 용해물 중에서 레그헤모글로빈은 20-40%로 존재하는 반면에, 음이온-교환 정제 후에 이는 70-80%로 존재한다. 또 다른 실시양태에서, 음이온-교환 크로마토그래피로부터의 대두 레그헤모글로빈 플로우스루는 크기-배제 크로마토그래피 (세파크릴(Sephacryl) S-100 HR, 지이 헬스케어)에 적용된다. 대두 레그헤모글로빈은 이량체 및 단량체 중에 해당하는 2개의 분획으로 용리된다. 레그헤모글로빈의 순도 (부분 존재비)는 SDS-PAGE에 의해 분석되었고 ~ 90-100%인 것으로 결정되었다.
- [0341] 콩과식물 뿌리혹 용해물 중의 단백질은 10 mM 탄산나트륨 pH 9.5, 50mM 염화나트륨 완충제로 옮겨지고, 200nm 필터를 통해 여과되고, 고속 단백질 액체 크로마토그래피 기계 (지이 헬스케어) 상의 음이온-교환 크로마토그래피 칼럼에 적용될 수 있다. 레그헤모글로빈은 음이온-교환 크로마토그래피 매트릭스에 결합될 수 있고, 염화나트륨 구배를 사용하여 용리될 수 있다. 레그헤모글로빈의 순도 (부분 존재비)는 SDS-PAGE에 의해 분석될 수 있고 ~ 60-80%인 것으로 결정될 수 있다.
- [0342] 콩과식물 뿌리로부터의 바람직하지 않은 소분자는 용액 중의 레그헤모글로빈을 음이온-교환 수지 상에 통과시킴으로써 정제된 레그헤모글로빈으로부터 제거될 수 있다. 이들 소분자는 뿌리-뿌리혹 용해물에 다양한 갈색 색조를 부여하여, 레그헤모글로빈 용액의 색 품질을 감소시킨다. 한 실시양태에서, 음이온-교환 수지는 FFQ, DEAE, 앰버라이트(Amberlite) IRA900, 다우엑스(Dowex) 22, 또는 다우엑스 1x4이다. 황산암모늄 분획화 (60% wt/v 및 90% wt/v 황산암모늄) 또는 음이온-교환 크로마토그래피에 의해 정제된 레그헤모글로빈은 20mM 인산칼륨 pH 7.4, 100mM 염화나트륨으로 완충제 교환되고, 용액은 상기 언급된 음이온-교환 수지 중의 하나 상을 통과한다. 플로우스루가 수집될 수 있고, 그의 색은 음이온-교환 수지 상을 통과하기 전의 용액의 색과 비교될 수 있다. 육안 검사에 의해 평가되는 바와 같이 정제된 레그헤모글로빈 용액으로의 색 개선이 관찰되지만 (황색/갈색에서 더 선명한 적색), 그러나 옅은 황색-갈색의 제거가 상이한 정도로 관찰될 수 있다.
- [0343] 대안적으로, 헴-함유 단백질은 섹션 III B에 기재된 바와 같이 재조합적으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 녹두로부터의 비-공생 헤모글로빈은 이. 콜라이에서 재조합적으로 발현되고, 음이온-교환 크로마토그래피 또는 양이온-교환 크로마토그래피를 사용하여 정제될 수 있다. 세포 용해물은 고속 단백질 액체 크로마토그래피 기계

(지이 헬스케어) 상의 FF-Q 수치 상에 로딩될 수 있다. 녹두 비-공생 헤모글로빈이 플로우스루 분획에서 용리되었다. 녹두 비-공생 헤모글로빈의 순도 (부분 존재비)는 SDS-PAGE에 의해 분석되었고, 총 단백질의 분획으로서: 이. 콜라이 용해물 중 12%, 및 FFQ 상에서 정제 후 31%인 것으로 결정되었다. 정제된 단백질의 UV-Vis 분석은 헴 결합된 단백질의 스펙트럼 특성을 제시하였다.

[0344] 대안적으로, 세포 용해물은 고속 단백질 액체 크로마토그래피 기기 (지이 헬스케어) 상의 FF-S 수치 상에 로딩될 수 있다. 녹두 비-공생 헤모글로빈은 FF-S 칼럼에 결합될 수 있고, 염화나트륨 구배 (50mM- 1000mM)를 사용하여 용리될 수 있다. 녹두 비-공생 헤모글로빈의 순도 (부분 존재비)는 SDS-PAGE에 의해 분석될 수 있고, 이. 콜라이 용해물 13%, FFQ 상에서의 정제 후 35%인 것으로 결정될 수 있다. 정제된 단백질의 UV-Vis 분석은 헴 결합된 단백질의 스펙트럼 특성을 제시할 수 있다.

[0345] 일부 실시양태에서, 헴 단백질은 혈액 풍미를 목적으로 하는 식제품 중의 성분으로서 사용된다. 본 발명의 헴-함유 단백질은 지원자 패널에 의해 시식되었고, 각각의 경우에 혈액과 유사한 맛인 것으로 기재되었다.

[0346] 헴 단백질, 예를 들어 레그헤모글로빈은 다른 식물 기반 육류 모조물 성분과 조합될 수 있다. 일부 실시양태에서 헴 단백질은 다른 성분, 예를 들어 지질 및 또는 다른 단백질을 함유하는 겔 중에 포획된다. 일부 측면에서, 다중 겔이 비-겔 기반 헴 단백질과 조합된다. 일부 실시양태에서, 헴 단백질 및 소비재의 다른 화합물의 조합은 헴 단백질이 소비재를 통해 확산될 수 있다는 것을 보장하도록 수행된다. 일부 실시양태에서, 소비재는 헴-단백질 함유 용액, 예를 들어 레그헤모글로빈 용액 중에, 예를 들어 1, 5, 10, 15, 30, 또는 45분 동안 또는 1, 5, 10, 15, 20 또는 30시간 동안 담긴다.

[0347] 소비재를 착색하기 위한 헴 단백질의 유용성을 고려해 볼 때, 제품이 특정한 헴 단백질을 함유하는지 여부를 검출하는 것이 유용하다. 따라서, 본 발명은 일부 실시양태에서 제품이 헴 단백질을 함유하는지 여부를 결정하는 방법을 포함한다. 예를 들어, ELISA, 근접-라이게이션 검정, 루미넥스 검정, 또는 웨스턴 블롯 분석은 레그헤모글로빈 또는 다른 헴-함유 단백질이 식제품, 예컨대 육류 또는 육류 모조물에 존재하는지 여부를 결정하기 위해 수행될 수 있다. 한 실시양태에서, 검출 방법은 육류가 레그헤모글로빈 또는 다른 헴-함유 단백질에 의해 변경되었는지 여부를 결정하기 위해 수행된다.

[0348] E. 마요네즈 스프레드 모조물.

[0349] 마요네즈는 농후한, 크림같은 소스이다. 전통적인 마요네즈는 오일 및 난황의 안정한 에멀전이다. 레시틴 및 난황으로부터의 단백질이 에멀전을 안정화시키는 것으로 생각된다. 전통적인 상업적 마요네즈는 전형적으로 70-80% (wt/wt) 지방 및 5% (wt/wt)의 난황을 함유한다. 보다 저지방의 상업적 제품은 ~ 20% wt/wt 지방을 함유할 수 있다. 소비재는 마요네즈와 유사한 특성을 갖는 조성물을 포함할 수 있다.

[0350] 한 실시양태에서, 시각적 및 구강-촉감 외관이 전통적인 마요네즈와 유사한 안정한 크림같은 단백질-지방 에멀전을 제조하기 위해, 정제된 식물 단백질이 계란 단백질의 대용물로서 사용될 수 있다. 지방 (~ 20- 80% wt/wt)은 본원에 기재된 바와 같은 단일 공급원으로부터 또는 다중 공급원으로부터의 것일 수 있다. 비-전통적인 마요네즈 제품은 전통적인 마요네즈가 사용되는 모든 요리 적용에 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 식초 및/또는 레몬 및/또는 라임 주스가 풍미 첨가제로서 첨가된다. 한 실시양태에서, 정제된 식물 단백질은 대두 단백질이 아니다. 한 실시양태에서, 풍미는 겨자, 향신료, 허브, 및/또는 피클의 첨가에 의해 변형될 수 있다.

[0351] 마요네즈 모조물은 비-동물 단백질의 혼합물을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 마요네즈 모조물은 50% (wt/v) 짙겨 오일 및 7% (wt/v) 녹두 8S 단백질의 혼합물이다. 한 실시양태에서, 마요네즈 모조물은 70% (wt/v) 해바라기 오일 또는 코코아 버터, 2.4% (wt/v) 루비스코, 0.29% (wt/wt) 대두 레시틴, 및 임의로 8 μM 올레오신의 혼합물이다.

[0352] 혼합물은 유화될 수 있고, 에멀전의 안정성은 고압 균질화 또는 초음파처리에 의해 오일-물-단백질 입자의 크기를 변형시킴으로써 제어될 수 있다. 오일은 액체로서 첨가될 수 있다. 단백질은 완충제 중 용액으로서 첨가될 수 있다. 대두 레시틴은 물 중에 재현탁되고 초음파처리된 후 오일 및 단백질 용액과 혼합될 수 있다. 생성된 오일, 단백질 및 레시틴 용액은 예를 들어, 먼저 5000psi에서, 이어서 8000psi에서 균질화될 수 있거나, 또는 40% 듀티 사이클에서 2분 동안 최대 설정으로 초음파처리될 수 있다. 생성된 제품의 두께, 텍스처, 크림성 및 시각적 외관은 전통적인 마요네즈의 그것과 유사하다. 일부 경우에 (예를 들어 녹두 8S 단백질 및 짙겨 오일을 사용), 제품은 연한 회백색이다.

[0353] F. 크림 리큐어 모조물

- [0354] 전통적으로, 크림 리큐어는 그의 기재로서 낙농 크림 및 리큐어를 함유한다. 리큐어의 예는 위스키, 아이리시 위스키, 스카치 위스키, 럼, 보드카, 그라파 또는 발효된 과일주 (예를 들어, 체리 리큐어), 자두 브랜드, 데킬라 또는 허브주를 포함한다. 크림 리큐어 모조물은 크림 리큐어 중의 낙농 크림을 식물 공급원으로부터의 비-낙농 크림 분획으로 대체함으로써 제조될 수 있다. 한 실시양태에서, 크림 리큐어 중의 낙농 크림은 낙농 크림과 유사한 점조도의 식물 지방 및 단리되거나 정제된 단백질의 안정한 에멀전에 의해 대체될 수 있다. 한 실시양태에서, 정제된 식물 단백질 및/또는 식물 지방은 본원에 기재된 바와 같은 단일 또는 다중 공급원으로부터의 것일 수 있다. 예를 들어, 크림 리큐어는 해바라기 크림 분획, 루비스코 및 위스키, 및 1종 이상의 임의의 풍미제 (예를 들어, 바닐라, 초콜릿, 및 또는 커피)를 포함할 수 있다.
- [0355] G. 단백질 풍부 알콜 음료
- [0356] 전통적으로, 알콜 음료는 무시할 만한 내지는 적은 양의 단백질을 함유한다. 다양한 알콜 음료에의 식물 단백질의 첨가는 그의 풍미, 구강촉감, 물리적 상태를 긍정적으로 변형시키고 그의 영양적 단백질 함량을 증가시킬 것이다. 또한, 칵테일에 사용되는 다양한 알콜 음료 중의 단백질의 존재는 칵테일의 풍미, 구강촉감, 물리적 상태를 긍정적으로 변형시키고 그의 영양적 단백질 함량을 증가시킬 것이다. 다양한 부류의 알콜 음료는 다양한 양의 알콜을 함유한다. 예를 들어, 와인 콜러는 약 4-7% 알콜을 함유하고, 맥주는 약 ~ 3-10% 알콜을 함유하고, 와인은 약 8-14% v/v 알콜을 함유하고, 디저트 와인은 약 17-20% 알콜을 함유하고, 위스키는 약 ~ 40% 알콜을 함유하고, 보드카는 약 35-50% 알콜을 함유한다. 또한, 일부 전통적인 알콜 음료는 당을 함유한다 (예를 들어, 바카디 라즈(Bacardi Razz)는 10% wt/v로).
- [0357] 따라서, 알콜을 함유하는 음료는 예를 들어 0.1-5% wt/v의 정제된 식물 단백질 및 임의로 당 (1-15% wt/v)의 첨가에 의해 보충될 수 있다. 당은, 예를 들어 사탕수수당, 갈색당, 수크로스 또는 글루코스일 수 있다. 예를 들어, 정제된 루비스코가 20mM K-포스페이트 pH 7.0, 150mM NaCl 중 180mg/ml로 위스키에 첨가될 수 있다. 5% wt/v 루비스코로 보충된 제임슨 위스키는 전통적인 젤로 샷과 유사한 점조도를 갖는 연결 겔을 형성하였다.
- [0358] 예를 들어, 루비스코, 녹두 8S, 및 완두 글로불린 풍부 알콜 음료는 정제된 루비스코, 녹두 8S 및 완두 글로불린 단백질을 각각 0.5%, 1% 및 5% wt/v의 최종 단백질 농도로 코로나 맥주, 피노 그리지오 와인 및 제임슨 위스키에 첨가함으로써 제조되었다. 제임슨은 0.5%, 1% 및 5% wt/v로 물 중 60% 에탄올, 5% 수크로스 용액에 첨가되었다.
- [0359] 완두 단백질은 완두 가루로부터, 가루를 물 중 5%, 20% 또는 40% 에탄올, 5% 수크로스 용액에 재현탁시킨 다음 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시킴으로써 추출되었다. 임의의 미용해 고체는 5000g에서 10분 동안의 원심분리에 의해 제거되었다. 생성된 상정액 용액은 외관이 투명하였다. 5% 에탄올 용액이 특히 유용하였다.
- [0360] 감각 패널은 모든 단백질 풍부 알콜 음료를, 단백질 비-풍부 음료와 상이한 향미 및 풍미를 갖는 것으로 평가하였다. 일부 경우에, 생성된 향미 및 풍미는 중성적인 것으로서 판단되었고, 일부 경우에는 대조군보다 더 매력적인 것으로서, 그리고 일부 경우에는 덜 매력적인 것으로서 판단되었다. 특정한 예에서, 제임슨 위스키에의 녹두 8S 단백질 0.5% wt/v 및 1% wt/v 둘 다의 첨가는 제임슨의 향미 및 구강촉감을 연결화하였다. 제임슨 위스키에의 녹두의 0.5% wt/v의 첨가는 전통적인 화이트 러시아 칵테일과 유사한 향미와 함께, 제임슨에 약간 크림같은 풍미를 부가하였다. 제임슨 위스키에의 5% wt/v 제임슨의 첨가는 곰팡이 핀 콩 및 생감자와 같은 특징적인 향미 및 풍미를 생성하였다.
- [0361] 코로나 맥주가 0.5% wt/v 완두 글로불린에 의해 풍부화된 또 다른 예에서, 향미는 홉향으로 변하고, 인디안 페일 에일의 향미와 유사해졌고, 풍미는 완두 노트를 보유한 것으로 변하였다. 녹두 8S 단백질의 0.5% wt/v 및 5% wt/v의 첨가는 코로나 향미를 강화된 홉 향미를 갖는 달콤한 작약 꽃향으로 변화시켰다. 0.5% wt/v 녹두 8S의 경우에 풍미는 중성적이었고, 5% wt/v 녹두 8S의 경우에 식물향-견과향 노트를 보유하였다.
- [0362] 피노 그리지오 와인이 1% wt/v 녹두 8S 단백질에 의해 풍부화된 또 다른 예에서, 달콤하고 시트러스한 추가의 향미 노트가 검출되었고, 풍미는 땅콩-버터 노트를 보유한 것으로 변하였다. 1% wt/v의 완두 글로불린의 첨가는 향미를 강한 곰팡이 핀 오크 및 젖은 낙엽 향미로 변형시켰다. 풍미는 진흙 노트를 보유한 것으로 변형되었다. 5% wt/v의 루비스코의 첨가는 젖은 견초 향미 및 풍미를 생성하였다.
- [0363] 제임슨 풍부 60% 에탄올, 5% 수크로스 용액은 제임슨이 없는 상응하는 용액과 비교하여 탄 또띠아 칩 향미 노트를 보유하였다. 풍미에서는 어떠한 차이도 없었다.
- [0364] 완두 단백질 풍부 5%, 20% 및 40% 에탄올, 5% 수크로스 용액은 단백질 무함유 대조군과 비교하여 모두 홉 향미

및 풍미를 발생시켰다. 또한, 더 높은 알콜 함량에서 완두의 풍미가 검출되었고, 쓴 풍미가 증가되었다.

[0365] H. 초콜릿 스프레드

[0366] 초콜릿 스프레드는 그의 전통적인 주요 성분이 코코아 분말, 낙농유, 식물 오일 및 당인, 초콜릿 풍미가 나는 스프레드이다. 전통적인 초콜릿 스프레드는 주위 실온에서 경질 또는 연질 고체이고, 코코아 버터의 온도보다 낮은 온도에서 용융된다. 제품은 빵, 크레페, 팬케이크, 케이크 및 쿠키의 당의, 초콜릿 과자용 충전제, 또는 비-낙농 초콜릿 케이크 충전제로서 사용될 수 있다.

[0367] 한 실시양태에서, 낙농유 및 낙농유제품, 예컨대 아이스크림, 유청, 크림, 요구르트, 사우어 크림 또는 버터 지방은 본원에 기재된 바와 같이 제조된 비-낙농 크림 분획에 의해 대체된다. 한 실시양태에서, 비-낙농 크림 분획은 본원에 기재된 단일 공급원 또는 다중 공급원으로부터의 것이다. 한 실시양태에서, 낙농유 및 낙농유제품은 본원에 기재된 임의의 비-낙농유에 의해 대체된다. 한 실시양태에서, 낙농유 및 낙농유제품은 본원에 기재된 정제된 식물 단백질에 의해 대체된다. 한 실시양태에서, 낙농유 및 낙농유제품은 단일 또는 다중 식물 오일 및 단일 또는 다중 정제된 식물 단백질로 제조된 연질 고체인 안정한 에멀전에 의해 대체된다.

[0368] I. 기타 적용:

[0369] 한 실시양태에서, 비-낙농 식물 크림 분획은 비-낙농유 초콜릿 바 또는 비-낙농유 초콜릿 과자를 제조하는데 낙농유 및 낙농유제품의 대용물로서 사용될 수 있다.

[0370] 한 실시양태에서, 비-낙농 식물 크림 분획 및 정제된 식물 단백질은 비-낙농유 초콜릿 바 또는 비-낙농유 초콜릿 과자를 제조하는데 낙농유 및 낙농유제품의 대용물로서 사용될 수 있다.

[0371] 한 실시양태에서, 비-낙농 식물 크림 분획 및 식물 단백질은 초콜릿 무스를 제조하는데 사용될 수 있다. 전통적인 주요 초콜릿 무스 성분은 달콤씹쓸하거나 약간 단 초콜릿, 낙농 버터 및 계란이다. 한 실시양태에서, 낙농 버터는 비-낙농 식물 크림 분획에 의해 대체될 수 있다. 한 실시양태에서, 낙농 버터 및 계란은 비-낙농 식물 크림 분획 및 식물 종자 저장 단백질, 예컨대 완두 알부민을 안정화하는 발포체에 의해 대체될 수 있다.

[0372] 한 실시양태에서, 비건 소비재, 예컨대 파테 유사물이 제조될 수 있다. 비건 파테 유사물은 10 g의 지방 모조물을 미세하게 세단하고, 이것을 후라이팬 상에서 미세하게 세단된 샐롯과 함께 2-3분 동안 가열함으로써 제조될 수 있다. 결합 조직 모조물 섬유 없이 제조된 근육 모조물 (20 g)은 1/2-인치 입방체로 세단될 수 있고, 추가로 3-5분 동안 지방 및 샐롯 믹스는 갈색으로 될 수 있다. 혼합물은 균질화될 때까지 체를 통해 밀어넣어질 수 있다. 팬은, 여전히 가온되어 있는 동안, 한 테이블스푼의 마테이라로 그것이 완전히 증발되지 않게 하면서 행귀질 수 있다. 팬의 액체는 균질화된 믹스에 첨가되고, 향신료 (소금, 후추)가 맛에 첨가되고, 믹스는 다시 체를 통해 밀어넣어진다. 냉장고에서 (예를 들어, 15분 동안) 냉각시킨 후, 파테는 제공될 준비가 된다.

[0373] 일부 실시양태에서, 더 저지방인 또는 더 기름진 파테를 생성하기 위해 다른 지방-대-근육 모조물 비가 사용된다. 예를 들어, 파테는 0.5-10%, 약 5%-40%, 약 10%-60%, 또는 약 30-70%, 또는 >70%의 지방 조직 모조물을 함유할 수 있다.

[0374] 일부 실시양태에서, 보다 높은 철 함량을 갖는 근육 조직 모조물은 파테를 돼지 또는 조류 간 파테의 모방물과 더 근접하게 만드는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 근육 조직 모조물은 약 1%, 약 1.5%, 약 2%, 또는 >2%의 헴 단백질을 함유할 수 있다.

[0375] 일부 실시양태에서, 보다 낮은 철 함량을 갖는 근육 조직 모조물은 파테를 조류 육류 또는 어류 파테의 모방물과 더 근접하게 만드는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 근육 조직 모조물은 약 1%, 약 0.5%, 약 0.2%, 또는 <0.2%의 헴 단백질을 함유할 수 있다.

[0376] 한 실시양태에서, 비건 소비재, 예컨대 혈액 소시지 유사물이 제조될 수 있다. 비건 혈액 소시지는 헴 단백질 및 정제된 식물 단백질의 용액을 혼합함으로써 생성된 혈액 유사물로 제조된다. 예를 들어, 혈액의 조성과 가까운 레그헤모글로빈 (120 mg/ml) 및 완두 알부민 (100 mg/ml)의 혼합 용액 35 ml를 염 물 중의 옥수수 가루 슬러리 (6:5 w/v 가루 대 물 비)와 조심스럽게 혼합할 수 있다. 한 테이블스푼의 세단된 양파를 10 g의 세단된 지방 조직 모조물과 프라잉하고, 약간의 건포도와 혼합하고, 실온으로 냉각시킨 후, 혈액/가루 믹스와 혼합할 수 있다. 혼합물에 맛을 조미하고 (예를 들어, 소금, 후추, 파슬리 및/또는 시나몬을 사용), 채식 소시지 케이싱에 로딩하고, 거의-비등된 물 중에서 약 45분 동안 졸일 수 있다. 조리 후, 소시지는 그대로 소비되거나 추가로 조리될 수 있고, 예를 들어 훈연되거나, 오븐에서 바삭하게 구워지거나, 또는 로스팅될 수 있다.

- [0377] 일부 실시양태에서, 근육 모조물은 육류/혈액 소시지를 모방하기 위한 레시피에 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 보리, 메밀, 귀리, 벼, 호밀, 소르굼, 밀 또는 다른 곡물이 혈액 소시지에 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 빵, 밥, 감자, 고구마, 전분 또는 다른 충전제가 첨가될 수 있거나, 또는 혈액 소시지에서 곡물을 대체할 수 있다.
- [0378] 실시예
- [0379] 실시예 1: 단백질 단리.
- [0380] 모든 단계는 4°C 또는 실온에서 수행하였다. 원심분리 단계는 20분 동안, 4°C 또는 실온, 8000 g에서 수행하였다. 가루를 특정한 완충제 중에 현탁시키고, 현탁액을 원심분리하고, 상청액을 0.2 마이크로미터 PES 막을 통해 마이크로여과한 다음, 스펙트럼 랩스 크로스플로(Spectrum Labs KrosFlo) 중공 섬유 접선 흐름 여과 시스템 상에서 3 kDa, 5 kDa, 또는 10 kDa 분자량 컷오프 PES 막 상의 한외여과에 의해 농축시켰다.
- [0381] 분획화되면, 관심 대상의 모든 황산암모늄 침전 분획을 추가 사용 시까지 -20°C에서 저장하였다. 실험에서의 그의 사용 전에, 침전물을 10 부피의 50 mM K 포스페이트 완충제, pH 7.4, + 0.5 M NaCl 중에 재현탁시켰다. 현탁액을 원심분리하고, 상청액을 0.2 마이크로미터 PES 막을 통해 마이크로여과한 다음, 스펙트럼 랩스 크로스플로 중공 섬유 접선 흐름 여과 시스템 상에서 3 kDa, 5 kDa, 또는 10 kDa 분자량 컷오프 PES 막 상의 한외여과에 의해 농축시켰다. 개개의 분획화 단계에서의 단백질 조성물을 SDS-PAGE에 의해 모니터링하고, 단백질을 농도를 표준 UV-Vis 방법에 의해 측정하였다.
- [0382] (i) 완두-알부민: 건조 녹색 또는 황색 완두 가루를 완두 알부민의 공급원으로서 사용하였다. 가루를 10 부피의 50 mM 아세트산나트륨 완충제 pH 5 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리(8000 g, 20분) 또는 5 마이크로미터 필터를 통한 여과에 의해 미추출된 단백질 및 완두 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액 또는 여과물 각각을 수집하였다. 이 조 단백질 추출물에, 고체 황산암모늄을 50% wt/v 포화도로 첨가하였다. 용액을 1시간 동안 교반한 다음, 원심분리하였다. 이 단계로부터의 상청액에, 황산암모늄을 90% wt/v 포화도에 이르도록 첨가하였다. 용액을 1시간 동안 교반한 다음, 원심분리하여 펠릿 내의 완두 알부민 단백질을 수집하였다. 펠릿을 추가 사용 시까지 -20°C에서 저장하였다. 단백질을 펠릿으로부터 회수하고, 상기 기재된 바와 같은 사용을 위해 제조하였으며, 단 최종 완충제가 0-500 mM 염화나트륨을 함유할 수 있다.
- [0383] 일부 실시양태에서, 가루를 10 부피의 50 mM NaCl, pH 3.8 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리(8000 g, 20분)에 의해 미추출된 단백질 및 완두 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액을 수집하고, 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.
- [0384] (ii) 완두-글로불린: 건조 녹색 완두 가루를 사용하여 완두 글로불린 단백질을 추출하였다. 가루를 10 부피의 50 mM 인산칼륨 완충제 pH 8 및 0.4M 염화나트륨 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리에 의해 완두 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액을 50% 및 80% 포화도에서 2 단계로 황산암모늄 분획화에 적용시켰다. 관심 글로불린을 함유하는 80% 펠릿을 추가 사용 시까지 -20°C에서 저장하였다. 단백질을 펠릿으로부터 회수하고, 상기 기재된 바와 같은 사용을 위해 제조하였다.
- [0385] iii) 대두 7S 및 11S 글로불린: 대두 가루로부터의 글로불린을, 먼저 저지방/탈지 대두 가루를 4-15 부피의 10 (또는 20) mM 인산칼륨 pH 7.4 중에 현탁화시킴으로써 단리하였다. 슬러리를 20분 동안 8000 rcf에서 원심분리하거나 또는 5 마이크로미터 여과에 의해 청정화시키고, 상청액을 수집하였다. 조 단백질 추출물은 7S 및 11S 글로불린 둘 다를 함유하였다. 이어서, 용액을 실험에서의 사용 전에 0.2 마이크로미터 여과하고, 스펙트럼 랩스 크로스플로 중공 섬유 접선 흐름 여과 시스템 상에서 10 kDa 분자량 컷오프 PES 막을 사용하거나 또는 음이온-교환 수지를 통해 통과시킴으로써 농축시켰다. 11S 글로불린을 등전 침전에 의해 7S 단백질로부터 분리하였다. 조 단백질 추출물의 pH를 묽은 HCl을 사용하여 6.4로 조정하고, 30분-1시간 동안 교반한 다음, 원심분리하여 상청액 중의 11S 침전물 및 7S 단백질을 수집하였다. 11S 분획을 10mM 인산칼륨 pH 7.4를 사용하여 재현탁시키고, 단백질 분획을 사용 전에 마이크로여과하고, 농축시켰다.
- [0386] 대두 단백질을 또한, 탈지 대두 가루를 4-15 부피 (예를 들어, 5 부피)의 20 mM 탄산나트륨, pH 9 (또는 물, 가루의 첨가 후에 9로 조정된 pH) 또는 20 mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4 및 100 mM 염화나트륨 중에 현탁시킴으로써 추출하여 정제된 단백질에서의 불쾌한 풍미를 감소시킬 수 있다. 슬러리를 1시간 동안 교반하고, 20분 동안 8000 xg에서 원심분리하였다. 추출된 단백질을 한외여과한 다음, 상기와 같이 또는 대안적으로 가공하고, 상청액을 수집하고, 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.

- [0387] (iv) 녹두 8S 글로불린: 녹두 가루를 사용하여, 먼저 4 부피의 50mM K포스페이트 완충제 pH 7 (실험실 규모 정제의 경우 + 0.5M NaCl) 중에 가루를 현탁시킴으로써, 8S 글로불린을 추출하였다. 원심분리 후, 상청액 중의 단백질을 각각 50% 및 90% 포화도에서 2 단계로 황산암모늄의 첨가에 의해 분획화하였다. 90% 분획으로부터의 침전물은 8S 글로불린을 함유하며, 추가 사용 시까지 -20°C에서 저장하였다. 단백질을 펠릿으로부터 회수하고, 상기 기재된 바와 같은 사용을 위해 제조하였다.
- [0388] 녹두 글로불린을 또한, 가루를 4 부피의 20 mM 탄산나트륨 완충제, pH 9 (또는 녹두 가루의 첨가 후에 pH 9로 조정된 물) 중에 현탁시킴으로써 추출하여 정제된 단백질 분획에서의 불쾌한 풍미를 감소시킬 수 있다. 슬러리를 원심분리 (또는 여과)하여 고형분을 제거하고, 한외여과한 다음, 상기 기재된 바와 같이 가공하였다.
- [0389] (v) 후기 배아발생 풍부 단백질: 가루 (녹두 및 대두 가루를 포함하나 이에 제한되지는 않음)를 20 mM 트리스-HCl, pH 8.0, 10 mM NaCl 중에 현탁시키고, 1시간 동안 실온에서 교반한 다음, 원심분리하였다. 산 (HCl 또는 아세트산)을 5% 농도 (v/v)로 상청액에 첨가하고, 실온에서 교반한 다음, 원심분리하였다. 상청액을 15분 동안 95°C로 가열한 다음, 원심분리하였다. 상청액을 트리클로로아세트산을 25%로 첨가함으로써 침전시키고, 원심분리한 다음, 아세톤으로 세척하였다. 가열 및 산 세정 단계를 또한 역 방향으로 수행할 수 있다.
- [0390] (vi) 완두-프롤라민: 건조 녹색 완두 가루를 5x (w/v) 60% 에탄올 중에 현탁시키고, 1시간 동안 실온에서 교반한 다음, 원심분리 (7000g, 20분)하고, 상청액을 수집하였다. 상청액 중 에탄올을 용액을 85°C로 가열한 다음, 실온으로 냉각시킴으로써 증발시켰다. 빙냉 아세톤을 첨가 (1:4 v/v)하여 단백질을 침전시켰다. 이어서, 용액을 원심분리 (4000g, 20분)하고, 단백질을 담베이지색 펠릿으로 회수하였다.
- [0391] (vii) 제인-프롤라민: 옥수수 단백질 농축물 또는 가루를 5x (w/v) 60% 에탄올 중에 현탁시키고, 1시간 동안 실온에서 교반한 다음, 원심분리하였다. 상청액 중 에탄올을 열로 증발시킨 다음, 용액을 원심분리하고, 단백질을 펠릿으로 회수하였다.
- [0392] (viii) 루비스코를 알팔파 생초로부터, 먼저 블렌더에서 잎을 4 부피의 차가운 50 mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4 완충제 (0.5M NaCl + 2mM DTT + 1mM EDTA)와 함께 분쇄함으로써 분획화하였다. 생성된 슬러리를 원심분리하여 과편을 제거하고, 상청액 (조 용해물)을 추가의 정제 단계에 사용하였다. 황산암모늄을 30% (wt/v) 포화도로 첨가하여 조 용해물 내의 단백질을 분획화하였다. 용액을 1시간 동안 교반한 다음, 원심분리하였다. 이 단계로부터의 펠릿을 폐기하고, 추가의 황산암모늄을 50% (wt/v) 황산암모늄 포화도로 상청액에 첨가하였다. 용액을 1시간 동안 교반한 후 다시 원심분리하였다. 이 단계로부터의 펠릿은 루비스코를 함유하며, 이를 사용 시까지 -20°C에서 유지시켰다. 단백질을 펠릿으로부터 회수하고, 상기 기재된 바와 같은 사용을 위해 제조하였다.
- [0393] 루비스코는 또한 조 용해물을 0.1M NaCl로 조정하고 음이온 교환 수지에 적용시킴으로써 정제할 수 있다. 약하게 결합된 단백질 오염물을 50 mM K포스페이트 완충제 pH 7.4 완충제 + 0.1M NaCl로 세척하였다. 이어서, 루비스코를 높은 이온 강도 완충제 (0.5M NaCl)로 용리시켰다.
- [0394] 루비스코 용액을 활성탄으로 패키징된 칼럼으로 통과시켜 탈색시켰다 (pH 7-9). 착색제는 칼럼에 결합하는 반면에, 루비스코는 여과물 중에 단리되었다.
- [0395] 루비스코 용액을 또한 대안적으로 칼럼 (또는 배치 모드)에 패키징된 FPX66 (다우 케미칼스(Dow Chemicals)) 수지와 함께 용액을 인큐베이션함으로써 탈색시켰다. 슬러리를 30분 동안 인큐베이션한 다음, 액체를 수지로부터 분리하였다. 착색제는 수지에 결합하고, 루비스코는 칼럼 플로우-스투에서 수집하였다.
- [0396] 일부 실시양태에서, 루비스코를, 먼저 블렌더에서 시금치 잎을 4 부피의 20mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4 완충제 + 150 mM NaCl + 0.5 mM EDTA와 함께 분쇄함으로써 시금치 잎으로부터 단리하였다. 생성된 슬러리를 원심분리하여 과편을 제거하고, 상청액 (조 용해물)을 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.
- [0397] 일부 실시양태에서, 루비스코를 알팔파 또는 개밀 주스 파우더로부터, 블렌더에서 파우더를 4 부피의 20mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4 완충제 + 150 mM NaCl + 0.5 mM EDTA와 혼합함으로써 추출하였다. 생성된 슬러리는 원심분리하여 과편을 제거하고, 상청액 (조 용해물)을 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.
- [0398] (ix) 레그헤모글로빈. 대두 뿌리혹을 분쇄기-블렌더를 사용하여 20 mM 인산칼륨 pH 7.4, 100mM 염화칼륨 및 5mM EDTA 중에 현탁시키고 용해시켰다. 이 과정 동안 레그헤모글로빈이 완충제로 방출되었다. 레그헤모글로빈을 함유하는 뿌리혹 용해물을 5 마이크로미터 필터를 통한 여과에 의해 세포 과편으로부터 제거해내었다. 일부

실시양태에서, 여과에 이어서 원심분리 (7000g, 20분)를 수행하였다. 이어서, 레그헤모글로빈을 함유하는 청정화된 용해물을 0.2 마이크로미터 필터로 여과하고, 고속 단백질 액체 크로마토그래피 기기 (지이 헬스케어) 상의 음이온-교환 크로마토그래피 칼럼 (고성능 정제용 Q; 고성능 정제용 DEAE, 지이 헬스케어)에 적용시켰다. 레그헤모글로빈을 플로우스루 분획으로 수집하고, 스펙트럼 랩스 크로스로 중공 섬유 접선 흐름 여과 시스템 상의 3kDa 분자량 컷오프 PES 막 상에서 목적 농도로 농축시켰다. 정제된 레그헤모글로빈의 순도 (부분 존재비)를 SDS-PAGE 겔에 의해 분석하였다: 용해물 중에서 레그헤모글로빈은 20-40%로 존재하는 한편, 음이온-교환 정제 후에 이는 70-80%로 존재하였다. 또 다른 실시양태에서, 음이온-교환 크로마토그래피로부터의 대두 레그헤모글로빈 플로우 스트루를 크기-배제 크로마토그래피 (세파크릴 S-100 HR, 지이 헬스케어)에 적용시켰다. 대두 레그헤모글로빈을 이량체 및 단량체 중에 상응하는 2종의 분획으로서 용리시켰다. 레그헤모글로빈의 순도 (부분 존재비)를 SDS-PAGE에 의해 분석하였으며, 이는 ~ 90-100%인 것으로 결정되었다. UV-VIS 스펙트럼 (250-700nm)의 분석은 헴 로딩된 레그헤모글로빈과 일치하는 스펙트럼 서명을 밝혀내었다.

[0399] (x) 녹두로부터의 비-공생 헤모글로빈을 pJexpress401 벡터 (DNA2.0) 내로 클로닝하고, 이. 콜라이 BL21로 형질 전환시켰다. 세포를 트립톤, 카나마이신, 0.1mM 염화제2철 및 10 µg/ml 5-아미노레볼린산 대신에 소이톤을 함유하는 LB 배지에서 성장시켰다. 발현을 0.2mM IPTG 및 세포를 30°C에서 20시간 동안 성장시키는 것에 의해 유도하였다. 녹두 비-공생 헤모글로빈을 발현시키는 이. 콜라이 세포를 수집하고, 20mM MES 완충제 pH 6.5, 50mM NaCl, 1mM MgCl₂, 1mM CaCl₂ 중에 재현탁시켰다. 소량의 DNAaseI 및 프로테아제 억제제를 첨가하였다. 세포를 초음파처리에 의해 용해시켰다. 용해물을 20분 동안 16,000g에서의 원심분리에 의해, 이어서 200nm 필터 상에서의 여과에 의해 세포 파편으로부터 제거해내었다. 이어서, 세포 용해물을 고속 단백질 액체 크로마토그래피 기기 (지이 헬스케어) 상의 FF-S 수지 상에 로딩하였다. FF-S 칼럼에 결합된 녹두 비-공생 헤모글로빈을 염화나트륨 구배 (50mM-1000mM)를 사용하여 추출하였다. 녹두 비-공생 헤모글로빈의 순도 (부분 존재비)를 SDS-PAGE에 의해 분석하였으며, 하기인 것으로 결정되었다: 이. 콜라이 용해물 13%, FFQ 상에서의 정제 후 35%. 정제된 단백질의 UV-Vis 분석은 헴 결합된 단백질의 스펙트럼 특성을 제시하였다.

[0400] (xi) 헴단백질을 N-말단 His6 에피토프 태그 및 TEV 절단 부위로 합성하고, pJexpress401 벡터 (DNA2.0) 내로 클로닝하고, 이. 콜라이 BL21로 형질전환시켰다. 형질전환된 세포를 트립톤, 카나마이신, 0.1 mM 염화제2철 및 10 µg/ml 5-아미노레볼린산 대신에 소이톤을 함유하는 LB 배지에서 성장시켰다. 발현을 0.2mM IPTG 및 세포를 30°C에서 20시간 동안 성장시키는 것에 의해 유도하였다. 헴 단백질을 발현시키는 이. 콜라이 세포를 수집하고, 50 mM 인산칼륨 pH 8, 150 mM NaCl, 10 mM 이미다졸, 1 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂, DNAaseI 및 프로테아제 억제제 중에 재현탁시켰다. 세포를 초음파처리에 의해 용해시키고, 9000 x g에서의 원심분리에 의해 청정화시켰다. 용해물을 NiNTA 수지 (MCLAB)와 함께 인큐베이션하고, 5 칼럼 부피 (CV)의 50 mM 인산칼륨 pH 8, 150 mM NaCl, 10 mM 이미다졸로 세척하고, 50 mM 인산칼륨 pH 8, 150 mM NaCl, 500 mM 이미다졸로 용리시켰다. SDS-PAGE 및 UV-vis 스펙트럼은 각각 예상 분자량 및 완전 헴-로딩을 확인하였다.

[0401] 일부 실시양태에서, 형질전환된 세포를 10g/L 글루코스 1수화물, 8g/L 인산일칼륨, 2.5g/L 센시엔트 앰버펄 6400, 2.5g/L 센시엔트 타스톤 154, 2g/L 인산이암모늄, 1mL/L 미량 금속 혼합물 (테크노바 1000x 미량 금속 혼합물 Cat. No. T1001), 1g/L 황산마그네슘, 0.25mL 0.1M 용액 염화제2철, 0.5mL/L 시그마 소포제 204, 1mL/L 카나마이신 술페이트 1000x 용액으로 구성된 시드 배지에서 성장시켰다. 배지 250mL를 각각 글리세롤 스톱 배양물의 단일 바이알로부터의 0.25mL로 집중된 (4)-1L 배플 진탕 플라스크에서 사용하였다. 진탕 플라스크를 37°C에서 250RPM 교반 하에, 5.5시간 동안 성장시켰다. 시드 배지 40L를 100L 생물반응기에서 스티姆-멸균시키고, 37°C로 냉각시키고, 7.0으로 pH-조정하고, 2.5의 진탕 플라스크 OD가 달성되면 진탕 플라스크 배양물 800mL로 집중하였다. 생물반응기에 대한 통기를 40L/m으로 공급하고, 교반은 250RPM이었다. 성장의 2.2시간 후, 2.20의 OD가 달성되었고, 배양물 22L를 최종 4m³ 생물반응기에 전달하였다. 하기 성분으로 구성된 최종 생물반응기를 위한 출발 배지를 정지 스티姆처리하였다: 1775L 탈이온수, 21.75kg 인산일칼륨, 2.175kg 인산이암모늄, 4.35kg 암모늄 시트르산제2철, 8.7kg 황산암모늄, 10.875kg 센시엔트 앰버펄 6400, 10.875kg 센시엔트 타스톤 154. 스티姆처리 30분 후, 배지 성분을 37°C로 냉각시키고, 멸균후 첨가를 하였다: 2.145L의 0.1M 염화제2철 용액, 59.32kg 55%w/w 글루코스 1수화물, 3.9L의 미량 금속 혼합물 (테크노바 1000x 미량 금속 혼합물 Cat. No. T1001), 10.88L의 200g/L 인산이암모늄, 36.14L 1M 황산마그네슘, 및 2.175L 시그마 소포제 204, 2.175L 카나마이신 술페이트 1000x 용액. pH를 30% 수산화암모늄의 첨가를 통해 7.0으로 조절하였다. 통기를 2.175m³/분으로 공급하고, 용존 산소를 60-150RPM 사이에서 교반을 변화시킴으로써 25%로 조절하였다. 2 시점 (EFT=4 및 EFT8)에서, 추가의 영양소의 불루스 첨가를 공급하였다. 각각의 첨가는 오토클레이빙된 용액 (앰버펄 및 타스

톤의 경우에 100g/L 용액, 인산이암모늄의 경우에 200g/L) 중, 센시엔트 앰버펄 6400 5.5kg, 센시엔트 타스톤 154 5.5kg 및 인산이암모늄 4.4kg을 첨가하였다. 55%w/w 글루코스 1수화물의 멸균 글루코스 용액을 생물반응기에 공급하여 2-5g/L의 잔류 글루코스의 수준을 유지하였다. 25의 OD가 도달되면, 온도를 25℃로 낮추고, 배양물을 1M 이소프로필 β-D-1-티오갈락토피라노시드 0.648L에 의해 유도하였다. 배양물을 25시간의 총 시간 동안 성장하도록 하고, 그 시점에 배양물을 탈이온수로 1:1 희석한 다음, 50%v/v 고형분 함량으로 원심분리물을 농축시키면서 원심분리하였다. 세포 원심분리물을 -20℃에서 동결시켰다. 원심분리물을 4℃로 해동시키고, 20 mM 인산칼륨 pH 7.8, 100 mM NaCl, 10 mM 이미다졸 중에 희석시키고, 15,000 PSI에서 균질화시켰다. 균질화된 세포를 접선 흐름 여과 (TFF)에 의해 0.2 um 여과하고, 여과된 용해물을 아연-충전된 아이맥(IMAC) 칼럼 (지이) 상에 직접 로딩하였다. 결합된 단백질을 10 칼럼 부피 (CV) 20 mM 인산칼륨 pH 7.4, 100 mM NaCl, 5 mM 히스티딘으로 세척하고, 10 CV 500 mM 일염기성 인산칼륨, 100 mM NaCl로 용리시켰다. 용리된 레그헤모글로빈을 농축시키고, 3kDa 분자량 컷오프 PES 막 및 TFF를 사용하여 투석여과하였다. 농축된 샘플을 20 mM 아디티온산나트륨으로 환원시키고, G-20 수지 (지이)를 사용하여 탈염시켰다. 탈염된 레그헤모글로빈 샘플을 액체 질소에서 동결시키고, -20℃에서 저장하였다. 레그헤모글로빈 농도 및 순도를 SDS-PAGE 및 UV-vis 분석에 의해 결정하였다.

[0402] (xi) 올레오신. 해바라기 오일 바디를 해바라기 종자로부터 정제하였다. 해바라기 종자를 100 mM 인산나트륨 완충제 pH 7.4, 50mM 염화나트륨, 1 mM EDTA 중에 1:3 wt/v로 블렌딩하였다. 오일-바디를 원심분리 (5000g, 20분)에 의해 수집하고, 50 mM 염화나트륨, 2M 우레아 중에 1:5 (wt/v)로 재현탁시키고, 30분 동안 4℃에서 교반하였다. 2M 우레아 세척 및 원심분리 단계를 반복하였다. 원심분리에 의해 수집된 오일-바디를 100 mM 인산나트륨 완충제 pH 7.4, 50mM 염화나트륨 중에 재현탁시켰다. 원심분리 및 세척 단계는 1회 더 반복하고, 최종 세척된 오일-바디 분획을 최종 원심분리 단계로부터 수득하였다. 오일-바디를 100 mM 인산나트륨 완충제 pH 7.4, 50mM 염화나트륨, 2% wt/v 식물성 오일 지방산 염 중에 10% wt/w로 재현탁시키고, 5000 psi에서 균질화시키고, 4℃에서 12시간 동안 인큐베이션하였다. 용액을 원심분리 (8000g, 30분)하고, 상단 층을 제거하고, 가용성 분획을 수집하였다. SDS-PAGE 분석은 올레오신이 가용성 분획에 존재하는 주요 단백질인 것으로 나타내었다. 올레오신 농도는 2.8 mg/ml였다.

[0403] (xii) 완두 총 단백질: 건조 녹색 또는 황색 완두 가루를 사용하여 총 완두 단백질을 추출하였다. 가루를 10 부피의 20mM 인산칼륨 완충제 pH 8 및 100 mM 염화나트륨 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리에 의해 완두 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액을 수집하고, 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.

[0404] (xiii) 완두 비실린 및 완두 레구민: 건조 녹색 또는 황색 완두 가루를 사용하여 상기 기재된 바와 같이 총 완두 단백질을 추출하였다. 그의 수득된 조 완두 혼합물을 이온-교환 크로마토그래피를 사용하여 완두 비실린 및 완두 레구민으로 분획화하였다. 물질을 Q 세파로스 패스트플로우 수지 상에 로딩하고, 분획을 염 농도를 100 mM 내지 500 mM NaCl로 변화시키면서 수집하였다. 완두 비실린을 350 mM 염화나트륨에서 수집하는 한편, 완두 레구민을 460 mM 염화나트륨에서 수집하였다. 수집된 분획을 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.

[0405] (xv) 렌틸 총 단백질: 공기 분류된 렌틸 가루를 사용하여 렌틸 단백질의 조 혼합물을 추출하였다. 가루를 5 부피의 20 mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4 및 0.5 M 염화나트륨 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리 (8000 g, 20분)에 의해 미추출된 단백질 및 렌틸 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액을 수집하고, 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.

[0406] (xvi) 렌틸 알부민: 공기 분류된 렌틸 가루를 5 부피의 50 mM 염화나트륨, pH 3.8 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리 (8000 g, 20분)에 의해 미추출된 단백질 및 렌틸 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액을 수집하고, 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.

[0407] (xvii) 병아리콩 / 가르반조 콩 총 단백질: 가르반조 콩 가루를 5 부피의 20 mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4 및 0.5 M 염화나트륨 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리 (8000 g, 20분)에 의해 미추출된 단백질 및 병아리콩 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액을 수집하고, 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다.

[0408] (xviii) 병아리콩/ 가르반조 콩 알부민: 가르반조 콩 가루를 5 부피의 50 mM 염화나트륨, pH 3.8 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리 (8000 g, 20분)에 의해 미추출된 단백질 및 렌틸 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액을 수집하고, 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 10 kDa 컷오프 PES 막을

사용하여 농축시켰다.

- [0409] (xix) 아마란스 가루 데히드린: 아마란스 가루를 5 부피의 0.5 M 염화나트륨, pH 4.0 중에 현탁시키고, 1시간 동안 교반하였다. 가용성 단백질을 원심분리 (8000 g, 20분)에 의해 미추출된 단백질 및 렌틸 종자 파편으로부터 분리하였다. 상청액을 수집하고, 0.2 마이크로미터 막을 통해 여과하고, 3 kDa 컷오프 PES 막을 사용하여 농축시켰다. 이 분획으로부터의 데히드린의 추가의 풍부화는 농축된 단백질 물질을 비등시키고, 8000 g에서 10 분 동안 회전시키고, 상청액을 수집함으로써 수득하였다.
- [0410] 실시예 2: 근육 조직 유사물의 구축
- [0411] 근육 조직 모조물을 제조하기 위해, 녹두 단백질 용액 (20 mM 포스페이트 완충제 (pH 7.4) 및 400 mM 염화나트륨 중 114 mg/ml) 8 ml를 레그헤모글로빈 용액 (20 mM 인산칼륨, 400 mM NaCl, pH 7.3 중 6 mg/ml 레그헤모글로빈) 16 ml와 혼합하였다. 생성된 혼합물을 아미콘(Amicon) 스피ن 농축기 (10 kDa 컷-오프)를 사용하여 녹두 8S 글로불린 61 mg/ml 및 레그헤모글로빈 6.5 mg/ml의 최종 농도로 농축시켰다. 트랜스글루타미나제 분말 대략 400 mg을 완전히 혼합된 용액에 첨가하고, 2개의 50 ml 팔콘 튜브로 분배하고, 실온에서 밤새 인큐베이션하였다. 최종 총 단백질 농도는 67.5 mg/ml 총 단백질이었다. 근육 조직 모조물은 소량 (< 1 ml)의 암적색의 정맥혈액 액체의 함유물을 갖는 적색빛-갈색의 불투명 겔을 형성하였다.
- [0412] 실시예 3: 증가된 인장 강도 지방 조직 모조물
- [0413] 째겨 오일의 40 ml 분취액 및 녹두 단백질의 40 ml 분취액 (114 mg/ml)을 250ml 파이프스 비커에서 합하였다. 비커를 수조에 두고, 6분, 출력 수준 5에서의 60% 듀티 사이클 동안 12mm 팁을 갖는 브랜슨 소니파이어 450 소니케이터를 사용하여 유화시켰다.
- [0414] 18cm x 18cm x 2.5cm 합성 고무 이케아(Ikea) 플라스틱 아이스 큐브 트레이에서, 전기방사된 섬유 48 mg (결합 조직 실시예 14로부터)을 1개의 삼각형 13.97cm x 1.27cm x 1.5875cm 금형의 하부를 가로질러 길이방향으로 및 가능한 한 균질하게 놓았다. 이어서, 대략 20 ml의 째겨 오일/녹두 단백질 에멀전을 섬유의 상단에 부었다. 이어서, 추가 20 ml의 에멀전을 대조군으로 사용할 동일한 트레이 상의 유사한 크기의 블랭크 금형에 부었다.
- [0415] 아이스 큐브 트레이를 15분 동안 비등수에서 띄우고, 제거하고, 실온으로 냉각시켰다.
- [0416] 면도날을 사용하여, 각각의 생성된 겔을 각각 4.66cm 길이에 1cm²의 단면적을 갖는 3개의 절편으로 절단하였다. 부착된 TA-96B 프로브를 갖는 스테이블 마이크로 시스템즈 TA 엑스티익스프레스(Stable Micro Systems TA XTEexpress) 증강 텍스처 분석기를 사용하여 인장 강도를 평가하였다. 섬유를 함유하는 지방 모조물은 23 kPa의 인장 강도를 갖는 반면, 섬유를 함유하지 않는 지방 모조물은 20 kPa의 인장 강도를 가졌다.
- [0417] 실시예 4: 높은 백분율 지방 지방조직-모조물
- [0418] 3.3% wt/v 완두 글로불린, 코코넛, 코코아, 올리브 및 팜 오일의 동등 혼합물로 이루어진 70% v/v 오일, 및 0.5% wt/v 레시틴으로 형성된 단백질-오일 유화물을 포함하는 지방 조직 모조물을 2% 트랜스글루타미나제 (아지노모토 악티바(Ajinomoto Activa)® TI)로 가교시켰다. 배수 및 탈수 후, 생성된 겔은 중간 연질이고, 지방 함량은 75% (wt/wt)인 것으로 확인되었다.
- [0419] 단백질-오일 유화물을 포함하는 지방 조직 매트릭스를 1.6% wt/v 루비스코 및 80% v/v 코코아 버터로 형성하였다. 생성된 겔은 연질이었다.
- [0420] 실시예 5: 지방 조직 모조물의 제조 방법
- [0421] 오일을 필요한 경우에 실온으로 가온하거나 완만하게 가열함으로써 용융시켰다. 오일이 실온에서 고체인 경우에, 이들을 나머지 절차 동안 용점 가까이 유지시켰다. 단백질을 명시된 프로토콜 (실시예 1 참조)에 따라 수득하였다. 레시틴을 계량하고, 물 중에 재현탁시킨 다음, 초음파처리하여 균질 용액을 생성하였다. 성분을 명시된 비로 합하고, 필요한 경우에 완충제 (50 mM 염화나트륨을 함유하는 20 mM 인산나트륨 pH 7.4)를 사용하여 부피에 이르게 한 다음, 균질화 또는 초음파처리하여 입자 크기를 에멀전 내에서 제어하였다. 이후에, 에멀전을 (a) 가열/냉각, (b) 트랜스글루타미나제 효소의 가교 또는 (c) 가열/냉각에 이어서 트랜스글루타미나제 효소의 첨가에 의해 겔화시켰다. 대조 샘플 (가열/냉각도 트랜스글루타미나제 가교 처리도 없음)을 비교를 위해 제조하였다. 가열/냉각 처리에 의해 안정화된 에멀전을, 에멀전을 5분 동안 90-100°C 수조에 위치시킴으로써 제조한 다음, 샘플을 실온으로 천천히 냉각하도록 두었다. 트랜스글루타미나제 가교에 의해 안정화된 에멀전을 트랜스글루타미나제를 2% wt/v로 첨가하고 37°C에서 12-18시간 동안 인큐베이션함으로써 제조하였다. 가열/냉각

에 이어서 트랜스글루타미나제 효소의 첨가에 의해 안정화된 에멀전을 먼저 가열/냉각 프로토콜에 적용시킨 다음, 샘플이 실온으로 냉각되면 효소를 첨가함으로써 제조하였다. 모든 유화물을 37℃에서 8-12시간 동안 인큐베이션하였다.

[0422] 실시예 6: 지방 조직 모조물의 분석 방법

[0423] 다양한 겔화 처리 후, 겔화 에멀전을 평가를 위해 실온으로 이동시켰다. 겔화 에멀전의 총 부피 및 물 및/또는 오일 부피를 분리한 상의 부피 (겔화 에멀전이 단일 상으로 존재하지 않는 경우에)를 기록하였다. 지방 조직 모조물의 경도를 겔화 에멀전의 완만한 포킹에 의해 평가하였다. 조리 실험을 덩어리를 가열된 표면으로 이송하고 조리 직후 액체의 온도를 측정함으로써 수행하였다.

[0424] 실시예 7: 소고기 지방의 지방조직 모조물

[0425] 지방 조직 모조물을 동등량의 코코아 버터, 코코넛 버터, 올리브 오일 및 팜 오일로 유화된 정제된 녹두 8S 단백질 용액을 겔화시킴으로써 제조하였다. 녹두 8S 단백질을 실시예 1에 기재된 바와 같이 정제하였으며, 이는 20mM K-포스페이트 pH 7.4, 400mM NaCl 중 140 mg/ml의 농도를 가졌다. 지방 혼합물을 개개의 지방을 45℃에서 30분 동안 고체에서 액체 상태로 용융시킴으로써 제조하였다. 이어서, 액체 상태의 개개의 지방 (코코아 버터, 코코넛 버터, 올리브 오일 및 팜 오일)을 1:1:1 (v/v) 비로 혼합하였다. 단백질-지방 에멀전을 70% v/v 액체 지방 혼합물과 4.2% wt/v 녹두 8S 단백질, 0.4% wt/v 대두 레시틴을 혼합함으로써 형성하고, 30초 동안 불텍싱한 다음, 1분 동안 초음파처리하여 유화시켰다. 균질화 후, 지방-단백질 에멀전은 시각적 관찰에 의해 판단 시 단일 액체 상으로 존재하였다.

[0426] 하나의 지방 조직 모조물 에멀전을 37℃에서 12시간 동안 0.2% wt/v 트랜스글루타미나제 효소로 가교시킴으로써 안정화시켰다. 또 다른 지방 조직 모조물을 수조에서 100℃로 가열한 다음에 주위 실온으로 냉각시킴으로써 단백질을 겔화시켜 안정화시켰다. 생성된 지방 조직 모조물은 단일 상으로 존재하였다. 트랜스글루타미나제에 의해 형성된 지방 조직 모조물 매트릭스는 가열/냉각 유도된 겔화에 의해 형성된 지방 조직 모조물 매트릭스보다 더 연결된 고체였다.

[0427] 실시예 8: 와규 소고기 지방의 지방조직 모조물

[0428] 지방 조직 모조물을 정제된 완두 글로불린 단백질 및 동등량의 코코아 버터, 코코넛 버터, 올리브 오일 및 팜 오일의 에멀전을 겔화시킴으로써 제조하였다. 완두 글로불린 단백질을 실시예 1에 기재된 바와 같이 정제하였으며, 이는 20mM K-포스페이트 pH 8, 400mM NaCl 중 100 mg/ml의 농도를 가졌다. 지방 혼합물을 개개의 지방을 45℃에서 30분 동안 고체에서 액체 상태로 용융시킴으로써 제조하였다. 이어서, 액체 상태의 개개의 지방 (코코아 버터, 망고 버터, 올리브 오일)을 2:1:1 (올리브 오일: 코코아 버터: 망고 버터) v/v 비로 혼합하였다. 단백질-지방 에멀전을 액체 지방 혼합물을 완두 글로불린의 5% wt/v 용액과 1:1 비로 혼합하고 최대 설정으로 30초 동안 휴대용 균질화기를 사용하여 유화시킴으로써 형성하였다. 균질화 후, 지방-단백질 에멀전은 시각적 관찰에 의해 판단 시 단일 액체 상으로 존재하였다. 에멀전을 37℃에서 12시간 동안 0.2% wt/v 트랜스글루타미나제 효소로 가교시킴으로써 안정화시켰다. 생성된 지방 조직 모조물은 단일 상으로 존재하고, 연결 고체로 존재하며, 짠맛 품미였다.

[0429] 실시예 9: 소고기의 지방산 분포를 갖는 지방 조직 모조물:

[0430] 지방 조직 모조물을 정제된 완두 글로불린 단백질 및 동등량의 코코아 버터, 망고 버터, 올리브 오일 및 쌀겨 오일의 에멀전을 겔화시킴으로써 제조하였다. 완두 글로불린 단백질을 실시예 1에 기재된 바와 같이 정제하였으며, 이는 20mM K-포스페이트 pH 8, 400mM NaCl 중 100mg/ml의 농도를 가졌다. 지방 혼합물을 개개의 지방을 45℃에서 30분 동안 고체에서 액체 상태로 용융시킴으로써 제조하였다. 이어서, 액체 상태의 개개의 지방 (코코아 버터, 망고 버터, 올리브 오일 및 쌀겨 오일)을 1:1:1:1 v/v 비로 혼합하였다. 단백질-지방 에멀전을 50% v/v 액체 지방 혼합물을 5% wt/v 완두 글로불린과 혼합하고 최대 설정으로 30초 동안 휴대용 균질화기를 사용하여 유화시킴으로써 형성하였다. 균질화 후, 지방-단백질 에멀전은 시각적 관찰에 의해 판단 시 단일 액체 상으로 존재하였다. 에멀전을 37℃에서 12시간 동안 0.2% wt/v 트랜스글루타미나제 효소로 가교시킴으로써 안정화시켰다. 생성된 지방 조직 모조물은 단일 상으로 존재하고, 연결 고체로 존재하며, 짠맛 품미였다.

[0431] 실시예 10: 냉장 및 주위 온도에서의 지방 조직의 경도가 지방 조직 모조물 중 지방의 용융 온도에 의해 제어되는 지방 조직 모조물.

[0432] 해바라기 오일을 함유하는 루비스코의 안정한 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물은 루비스코 및 코코아 버

터의 안정한 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물보다 더 연질이었다. 지방 조직 모조물을 70%, 80% 및 90% v/v 해바라기 또는 코코아 버터를 함유하는 0.18%, 1.6% 및 2.4% wt/v 루비스코로 형성하였다. 코코아 버터를 함유하는 각각의 지방 조직 모조물은 해바라기 오일로 형성된 상응하는 모조물보다 더 경질이었다. 70%, 80% 및 90% v/v 코코아 버터를 함유하는 0.18%, 1.6% 및 2.4% wt/v 루비스코를 포함하는 지방 조직 모조물은 실온에서 고체였지만, 구강 온도 가까이에서 용융되었다. 가변 농도의 루비스코 (0.18, 1.6, 1.9% wt/v) 및 70-80% v/v 해바라기 오일로 형성된 지방 조직 모조물에서, 모조물은 지방 조직 모조물 매트릭스 중 단백질의 양이 증가함에 따라 보다 더 경질이었다. 0.18% wt/v 루비스코를 함유하는 지방 조직 모조물은 매우 연질이고; 1.6% wt/v 루비스코를 함유하는 지방 조직 모조물은 연질이고; 1.9% wt/v 루비스코를 함유하는 지방 조직 모조물은 중간 경도를 가졌다.

[0433] 해바라기 오일을 함유하는 녹두 8S 단백질의 안정한 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물은 녹두 8S 단백질 및 코코아 버터의 안정한 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물보다 더 연질이었다. 지방 조직 모조물을 70%, 80% 및 90% v/v 해바라기 또는 코코아 버터를 함유하는 2%, 1% 및 0.5% wt/v 녹두 8S 단백질로 형성하였다. 코코아 버터를 함유하는 각각의 지방 조직 모조물은 해바라기 오일로 형성된 상응하는 모조물보다 더 경질이었다.

[0434] 카놀라 오일을 함유하는 녹두 8S 단백질의 안정한 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물은 코코넛, 코코아, 올리브 및 팜 오일의 동등 혼합물을 함유하는 녹두 8S 단백질의 안정한 에멀전으로서 제조된 상응하는 지방 조직 모조물보다 더 연질이었다. 지방 조직 모조물을 50%, 70% 및 90% v/v 해바라기 또는 오일의 혼합물을 함유하는 1.4% wt/v 녹두 8S 단백질로 형성하였다. 오일의 혼합물을 함유하는 각각의 지방 조직 모조물은 해바라기 오일로 형성된 상응하는 모조물보다 더 경질이었다. 코코넛, 코코아, 올리브 및 팜 오일의 동등 혼합물의 50%, 70% 및 90% v/v를 함유하는 1.4% wt/v 녹두 8S 단백질을 포함하는 지방 조직 모조물은 실온에서 고체였지만, 구강 온도 가까이에서 용융되었다.

[0435] 해바라기 오일을 함유하는 대두 단백질의 안정한 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물은 대두 단백질 및 코코아 버터의 안정한 에멀전으로서 제조된 지방 조직 모조물보다 더 연질이었다. 지방 조직 모조물을 50%, 70%, 80% 및 90% v/v 해바라기 또는 오일의 혼합물을 함유하는 0.6%, 1.6% 및 2.6% wt/v 대두로 형성하였다. 오일의 혼합물을 함유하는 각각의 지방 조직 모조물은 해바라기 오일로 형성된 상응하는 모조물보다 더 경질이었다. 50%, 70%, 80% 및 90% v/v 코코아 버터를 함유하는 0.6%, 1.6% 및 2.6% wt/v 대두 단백질을 포함하는 지방 조직 모조물은 실온에서 고체였지만, 구강 온도 가까이에서 용융되었다.

[0436] 실시예 11: 지방 조직 모조물 조리: 지방 조직 매트릭스의 구조는 조리 동안 용점을 제어한다.

[0437] 2% w/v 루비스코 및 50%, 70% 및 90% v/v 코코아 버터로 형성된, 상기 실시예 5 및 실시예 6에 기재된 바와 같이 구축된 안정화된 단백질-오일 에멀전을 포함하는 지방 조직은 가열/냉각 변성 시 형성된 경우보다 더 높은 온도에서 및 트랜스글루타미나제로 가교시킴으로써 형성된 경우보다 더 낮은 온도에서 용융되었다.

[0438] 실시예 12: 조리 지방 조직: 지방 조직 매트릭스 내 단백질 및 지방의 배열 및 구조적 편성은 조리 동안 지방 조직 모조물에 의해 방출된 지방 및 보유된 지방의 양을 제어한다.

[0439] 2% w/v 루비스코 및 50%, 70% 또는 90% v/v 코코아 버터로 형성된 단백질-오일 에멀전을 포함하는 지방 조직 모조물 매트릭스의 조리 동안, 지방 조직 모조물이 트랜스글루타미나제로 가교시킴으로써 형성된 경우보다 가열/냉각 변성 시 형성된 경우에 보다 더 많은 지방 조직 모조물 질량이 조리 후에 보유되었다. 방출된 질량은 액체였으며, 유성인 것으로 보였다.

[0440] 2.6 및 0.6% w/v 대두 단백질 및 50%, 70% 또는 90% v/v 코코아 버터로 형성된 단백질-오일 에멀전을 포함하는 지방 조직 모조물 매트릭스의 조리 동안, 트랜스글루타미나제로 가교시킴으로써 형성된 경우보다 가열/냉각 변성 시 형성된 경우에 보다 더 많은 지방 조직 모조물 물질이 보유되었다. 방출된 질량은 액체였으며, 유성인 것으로 보였다.

[0441] 실시예 13: 지방 조직 모조물 조리: 지방 조직 매트릭스 내 특정한 단백질의 농도는 조리 후 잔류하는 지방 조직 모조물의 질량을 제어한다

[0442] 90% v/v 카놀라 오일 및 0.45% wt/v 대두 레시틴을 보유하는 1.4% wt/v 녹두 8S 단백질로 구축된 일련의 지방 조직 모조물을 균질화시키고, 증가하는 농도의 해바라기 올레오신을 에멀전에 가변 농도로 첨가하였다. 올레오신의 농도는 1:10 내지 1:10⁶ 올레오신 대 트리글리세리드 몰비로 변화하였다. 조리 후에 질량 보유의 증가는 지방 조직 모조물 내 오일에 대한 올레오신의 비가 더 클 때 관찰되었다.

- [0443] 70% v/v 해바라기 오일을 함유하는 가변 농도의 루비스코로 형성된 일련의 지방 조직 모조물은 루비스코의 농도가 증가함에 따라 조리 시 보다 더 많은 질량을 보유하였다. 조리 시 루비스코를 0% wt/v로 함유하는 지방 조직 모조물은 완전히 용융되는 한편, 1.9% wt/v 루비스코를 함유하는 지방 조직 모조물은 10% 질량을 보유하고, 2.4% wt/v 루비스코를 함유하는 지방 조직 모조물은 20% 질량을 보유하였다.
- [0444] 실시예 14: 결합 조직 유사물
- [0445] 결합 조직 섬유 모조물을 400 mM 염화나트륨, 6.75% w/v의 폴리(비닐 알콜) 및 미량의 아지드화나트륨 (0.007% w/v)을 함유하는 녹두 글로불린 (22.5 mg/ml)의 용액을 전기방사함으로써 제조하였다. 생성된 용액을 시린지 펌프를 사용하여, 5 ml 시린지로부터 테플론 튜브 및 무딘 21게이지 바늘을 통해 3 μ l/분으로 펌핑하였다. 바늘을 17kV에서 설정된 스펙만 CZE 30 kV 고전압 공급기의 양극 단자에 연결하고, 알루미늄 호일에 랩핑된 알루미늄 드럼 (약 12 cm 길이, 5 cm 직경)으로부터 12 cm 고정시켰다. 드럼을 IKA RW20 모터에 의해 약 220 rpm으로 회전되는 스피들에 부착시켰다. 스피들을 고전압 공급기의 접지 단자에 연결하였다. 호일 상에 축적된 단백질/중합체 섬유를 스크래핑하고, 결합 조직 모조물로서 사용하였다.
- [0446] 실시예 15: 환원된 (헴-Fe²⁺) 레그헤모글로빈 수명의 연장
- [0447] 말 미오글로빈은 시그마로부터 구입하였다. 미오글로빈을 20 mM 인산칼륨, pH 8.0, 100 mM NaCl 중에 10 mg/ml로 재현탁시켰다. SDS-PAGE 분석은 단백질 순도가 ~ 90%인 것으로 나타내었다.
- [0448] 대두 레그헤모글로빈은 실시예 1에 상술된 바와 같이 황산암모늄 침전 (60%/90% 분획화)을 통해 글리신 맥스 뿌리혹으로부터 정제하였다. 재현탁된 90% 황산암모늄 레그헤모글로빈을 20 mM 인산칼륨, pH 8.0, 100 mM NaCl 중에서 음이온-교환 크로마토그래피 (하이트랩(HiTrap) Q FF 5mL FPLC 칼럼)에 의해 추가로 정제하였다. 레그헤모글로빈을 플로우 스루 분획으로 용리시켰다. SDS-PAGE 분석은 단백질 순도가 ~ 70%인 것으로 나타내었다. 레그헤모글로빈을 20 mM 인산칼륨, pH 7.4, 100 mM NaCl로 완충제 교환하고, 3.5kDa 막 농축기 상에서 10 mg/ml로 농축시켰다.
- [0449] 일산화탄소 처리: 20 mM 인산칼륨, pH 8.0, 100 mM NaCl 중 10 mg/ml의 미오글로빈 및 20 mM 인산칼륨, pH 7.4, 100 mM NaCl 중 10 mg/ml의 레그헤모글로빈을 먼저 4°C에서 1시간 동안 진공 하에 탈기한 다음, 2분 동안 일산화탄소 기체로 관류시켰다. 이어서, 글로빈을 2분 동안 10 mM 아디티온산나트륨, 0.1mM 수산화나트륨을 첨가함으로써 헴-Fe³⁺에서 헴-Fe²⁺ 상태로 환원시켰다. 아디티온산나트륨 및 수산화나트륨을 20 mM 인산칼륨, pH 8.0, 100 mM NaCl 및 20 mM 인산칼륨, pH 7.4, 100 mM NaCl 각각 중에서 크기-배제 크로마토그래피 (PD-10 탈염 칼럼)을 사용하여 단백질 용액으로부터 제거하였다. 글로빈 분획을 가시적 평가에 의해 평가 시 피크 적색 분획으로서 수집하였다. UV-VIS 스펙트럼은 양쪽 단백질에 대한 헴-Fe²⁺ 상태의 존재를 확인하였다. 탈염 후, 용액을 다시 추가로 2분 동안 기체로 관류시켰다. 용액의 색을 나노드롭 분광광도계를 사용하여 20분마다 UV-Vis 스펙트럼 (250nm-700nm)을 취해 평가하였다. 대조 샘플은 일산화탄소로 처리하지 않았다.
- [0450] 아질산나트륨 처리: 20 mM 인산칼륨, pH 8.0, 100 mM NaCl 중 10 mg/ml의 미오글로빈 및 20 mM 인산칼륨, pH 7.4, 100mM NaCl 중 10 mg/ml의 레그헤모글로빈은 2분 동안 10 mM 아디티온산나트륨, 0.1mM 수산화나트륨을 첨가함으로써 헴-Fe³⁺에서 헴-Fe²⁺로 환원시켰다. 아디티온산나트륨 및 수산화나트륨을 20 mM 인산칼륨, pH 8.0, 100 mM NaCl 및 20 mM 인산칼륨, pH 7.4, 100 mM NaCl 각각 중에서 크기-배제 크로마토그래피 (PD-10 탈염 칼럼)을 사용하여 단백질 용액으로부터 제거하였다. 글로빈 분획을 가시적 평가에 의해 평가 시 피크 적색 분획으로서 수집하였다. UV-VIS 스펙트럼은 양쪽 단백질에 대한 헴-Fe²⁺ 상태의 존재를 확인하였다. 이어서, 아질산나트륨을 포스페이트 완충제 pH 7.4 중 100 mM 아질산염으로부터 1 mM의 최종 농도로 첨가하였다. 헴-Fe²⁺ 상태의 수명은 시간의 함수로서 분광광도계를 사용하는 UV-VIS 스펙트럼 (250-700nm)의 기록에 따른다. 대조 샘플은 아질산나트륨으로 처리하지 않았다.
- [0451] 일산화탄소 및 아질산나트륨으로 처리된 미오글로빈 및 레그헤모글로빈 샘플에 대한 헴-Fe²⁺ 수명의 데이터 분석을 540nm 파장에서 흡광도 피크의 진폭을 플랫폼함으로써 마이크로소프트 엑셀에서 실행하였다. 540 nm 흡광도의 "기준선"을 임의의 첨가제의 첨가, 디티오나이트 환원 또는 탈염 전의 글로빈 용액의 UV-vis 스펙트럼의 상태에 의해 결정하였다. 내장 곡선 피트 함수를 이용하여 지수 최적선을 생성하였으며, 그의 지수는 피크 진폭의 반감기와 직접 관련된다.

- [0452] 일산화탄소 및 아질산나트륨의 부재 하의 헴-Fe²⁺ 상태 및 수반하는 미오글로빈 및 레그헤모글로빈 용액의 적색의 수명은 각각 ~ 6시간 및 ~ 4시간이었다. 아질산나트륨의 첨가는 헴-Fe²⁺ 상태 및 수반하는 미오글로빈 및 레그헤모글로빈 용액의 적색의 수명을 7일 초과로 연장하였다. 일산화탄소의 첨가는 헴-Fe²⁺ 상태 및 수반하는 미오글로빈 및 레그헤모글로빈 용액의 적색의 수명을 2주 초과로 연장하였다.
- [0453] 실시예 16: 개별 조직 모조물 유닛의 입자 크기가 조리 동안 향미 생성을 제어하도록 변화된 육류 모조물의 제조.
- [0454] 근육 조직 모조물 및 지방 조직 모조물을 별도로 제조한 다음, 개별 조직 모조물 유닛의 크기가 조리 동안 향미 생성을 제어하기 위해 변화되도록 육류 조직 모조물로 합하였다. 개별 지방, 근육 및 결합 조직 모조물을 하기 방법으로 구축하였다.
- [0455] 근육 조직 모조물을 실시예 2에서와 같이 제조하였다. 근육 조직 모조물은 소량 (< 1 ml)의 암적색의 정맥혈색 액체의 함유물을 함유한, 적색빛-갈색의 불투명 겔을 형성하였다. 결합 조직 모조물을 실시예 14에서와 같이 제조하였다. 지방 조직 모조물을 실시예 7에서와 같이 제조하였다.
- [0456] 제지방-대-지방 비 85/15를 갖는 육류 모조물을 개별 조직 모조물의 입자 크기가 변화되도록 개별 근육, 결합 및 지방 조직을 합함으로써 제조하였다. (a) 5-10 mm 크기의 지방 모조물의 청크 0.9 g을 함유하는 근육 모조물 ("조대 믹스") 2.1 g; (b) 2-3 mm 크기로 세절된 지방 모조물 0.9 g을 함유하는 근육 모조물 ("미세 믹스") 2.1 g; 및 (c) <1 mm 크기로 완전히 블렌딩된 지방 모조물 0.9 g을 함유하는 근육 모조물 ("블렌드") 2.1 g. "오로지 근육" 대조 샘플은 근육 모조물 3 g을 단독으로 함유하였다. "오로지 지방" 대조 샘플은 5-10 mm 크기의 입자로서 지방 모조물 3 g을 단독으로 함유하였다. 육류, 근육 및 지방 조직 샘플을 150°C에서 10분 동안 밀봉된 유리 바이알에서 조리하였다. 샘플의 향미 프로파일을 시험자 패널에 의해, 및 GC-MS에 의해 분석하였다.
- [0457] 시험자 패널에 의해 수행된 육류 모조물 샘플의 관능적 후각 분석은 개별 조직 유닛의 크기 및 육류 조직 모조물 내의 그의 혼합 정도가 상이한 향미의 생성과 상관관계가 있는 것으로 나타내었다. 그 자체만 조리된 근육 조직 모조물은 상점 구입 그레이비, 희미한 시트러스 및 스타 아니스와 연관된 향미를 생성하였다. 그 자체만 조리된 지방 조직 모조물은 곰팡내, 산패 및 단내 향미와 연관된 향미를 생성하였다. 조리된 육류 조직 모조물 (조대 입자 크기)은 상점 구입 그레이비, 단내, 약한 곰팡내 및 스타-아니스의 향미를 생성하였다. 조리된 육류 조직 모조물 (미세 입자 크기)은 간장, 곰팡내, 약한 산패 및 소고기 부용과 연관된 향미를 생성하였다. 조리된 육류 조직 모조물 (극미세 입자 크기)은 단내, 곰팡내 및 간장과 연관된 향미를 생성하였다. 지방 조직 모조물을 제외한 모든 샘플은 탄 육류 냄새와 연관되었지만, 다양한 강도로 향미를 생성하였다.
- [0458] GCMS 데이터의 분석은 개별 조직 유닛의 크기 및 육류 조직 모조물 내의 그의 혼합 정도가 조리 시 방향족 화합물의 생성에 대해 현저한 효과를 갖는 것으로 제시하였다. 특히, 과일향/꽃콩/금속향과 연관된 다중 방향족 화합물 (2-펜틸-푸란); 견과향/꽃내 (4-메틸티아졸); 땅콩 버터/곰팡내 (피라진, 에틸); 생감자/로스팅향/흙내 (피라진, 2,3-디메틸); 식초향 (아세트산); 매운내/카라멜/아몬드 (5-메틸-2-푸란카르복스알데히드); 크림향 (부티로락톤); 단내 (2,5-디메틸-3-(3-메틸 부틸) 피라진); 과일향/김빠진 맥주 (2-시클로펜텐-1-온, 2-히드록시-3-메틸); 곰팡내/견과향/쿠마린/감초/호두/빵 (3-아세틸-1H-피롤린); 코코넛/나무향/단내 (판토락톤); 날카로운 냄새 (1H-피롤-2-카르복스알데히드, 1-메틸); 민트향 (카프로락탐); 구운 카라멜 (4H-피란-4-온, 2,3-디히드로-3,5-디히드록시-6-메틸) 향미는 단지 혼합 육류 모조물에서만 발생하고, 개별 조직 모조물에서는 발생하지 않았다. 예를 들어 가솔린-유사 (노난, 2,6-디메틸), 석유-유사 (3-헥센, 3-메틸); 신내/부패취/생선-유사 (피리딘); 밋밋한/나무향/요구르트 (아세트인); 기름기/꿀/시트러스 (옥탄알); 톡쏘는/단내/카라멜향 (2-프로판논, 1-히드록시) 및 견과향/ 단내 꽃내 (에테닐 피라진) 향미와 연관된 일부 다른 방향족 화합물은 단지 개별 조직 모조물에서만 나타났지만, 혼합 육류 모조물내에 축적되지 않았다. 또한, 모든 상기 화합물이 조리 동안 축적되는 수준은 조직 유닛의 크기 및 이들을 혼합하는 방식 (조대 입자 크기, 미세 입자 크기 또는 극미세 입자 크기 (블렌딩됨))에 따라 달라졌다.
- [0459] 육류 조직 모조물과 유사하게, 소고기 조직의 구조적 편성 및 입자 크기가 조리 시 소고기 조직의 반응을 변형하는 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 육류의 풍미는 입자의 크기에 의해 변형된다. 소고기 샘플을 다음과 같이 제조하였다: 소고기 근육 및 소고기 지방의 샘플은 나이프로 개별적으로 절단하였으며: (a) 나이프-절단 조직 큐브를 표준 육류 분쇄기를 통해 통과시킨 경우에 "분쇄"하였다. 80/20 (wt/wt) 제지방/지방 분쇄 소고기 샘플을 분쇄 전에 근육 및 지방 조직 큐브를 적절한 비로 혼합함으로써 제조하였다. 이 샘플 제제는 "미세 크기 입

자 믹스"로 지칭한다. (b) 분쇄 조직을 액체 질소에서 동결시키고 이를 막자 사발을 사용하여 극미세 분말 (입자 크기 <math><1\text{mm}</math>)로 과쇄함으로써 분쇄 조직 입자 크기를 추가로 감소시켰다. 이 샘플 제제는 "극미세 크기 입자 믹스"로 지칭한다. 모든 샘플을 150°C에서 10분 동안 밀봉된 유리 바이알에서 조리하였다. 샘플의 향미 프로파일을 실시예 1에 기재된 바와 같이 시험자 패널에 의해, 및 GC-MS에 의해 분석하였다. "오로지 근육" 대조 샘플은 근육 조직 3 g을 단독으로 함유하였다. "오로지 지방" 대조 샘플은 지방 조직 3 g을 단독으로 함유하였다. 분쇄 소고기 샘플은 80/20 (wt/wt) 근육/지방 혼합물 3 g을 함유하였다.

[0460] 시험자 패널에 의해 수행된 소고기 샘플의 관능적 후각 분석은 개별 조직 유닛의 크기 및 샘플 내의 그의 혼합 정도가 상이한 향미의 생성과 상관관계가 있는 것으로 나타내었다. 그 자체만 조리된 소고기 근육은 조리된 분쇄 소고기와 연관된 향미를 생성하였다. 그 자체만 조리된 지방 조직 모조물은 약한 단내 향미, 및 탄 버섯과 연관된 향미를 생성하였다. "미세 크기 입자 믹스"를 함유하는 조리된 분쇄 소고기는 조리된 분쇄 소고기와 연관된 전형적인 향미를 생성하였으며, 조리된 지방의 약한 단내 향미 특성도 존재하였다. 조리된 분쇄 소고기와 연관된 "극미세 크기 입자 믹스"는 조리된 분쇄 소고기와 연관된 향미는 생성하였지만, 조리된 지방의 약한 단내 향미 특성은 전혀 검출되지 않았다.

[0461] GCMS 데이터의 분석은 개별 조직 유닛의 입자 크기가 조리 시 방향족 화합물의 생성에 대해 효과를 갖는 것으로 제시하였다. 특히 개별 조직 샘플 또는 분쇄 소고기 샘플에 의한 다중 방향족 화합물의 생성 및/또는 양은 조직의 입자 크기와 상관관계하여 변화시켰다. 근육 조직의 미세 및 극미세 입자 크기 사이에서 상이한 방향족 화합물의 일부: 4H-피란-4-온, 2,3-디히드로-3,5-디히드록시-6-메틸, 3-아세틸-1H-피롤린, 1-(6-메틸-2-피라지닐)-1-에타논, 2,5-디메틸-3-(3-메틸 부틸) 피라진, 2-푸란카르복시알데히드, 5-메틸, 아세트산, 에테닐 피라진, 피라진, 2,3-디메틸, 2-프로파논, 1-히드록시, 옥탄알, 아세트오인, 4-메틸티아졸, 슈도-2-펜틸-푸란, 2-펜틸-푸란. 지방 조직의 미세 및 극미세 입자 크기 사이에서 상이한 방향족 화합물의 일부: 트리에틸렌 글리콜: 4H-피란-4-온, 2,3-디히드로-3,5-디히드록시-6-메틸, 카프로락탐, 1-(6-메틸-2-피라지닐)-1-에타논, 2-시클로펜텐-1-온, 2-히드록시-3-메틸, 부티로락톤, 2-푸란카르복시알데히드, 5-메틸, 에타논, 1(2 푸라닐), 아세트산, 2-에틸-5-메틸 피라진, 피라진, 2,3-디메틸, 피라진, 에틸, 옥탄알, 아세트오인, 4-메틸티아졸, 슈도-2-펜틸-푸란, 피리딘, 노난, 2,6-디메틸. 80/20 근육/지방 샘플의 미세 및 극미세 입자 크기 사이에서 상이한 방향족 화합물의 일부: 4H-피란-4-온, 2,3-디히드로-3,5-디히드록시-6-메틸, 카프로락탐, 1H-1피리딘, 3-카르보 니트릴, 4-에틸-2-옥소-2,5, 1-H-피롤-2-2카르복시알데히드, 1-메틸, 2-시클로펜텐-1-온, 2-히드록시-3-메틸, 2,5-디메틸-3-(3-메틸 부틸) 피라진, 부티로락톤, 2-푸란카르복시알데히드, 5-메틸, 에타논, 1(2 푸라닐), 아세트산, 에테닐 피라진, 2-에틸-5-메틸 피라진, 피라진, 2,3-디메틸; 2-프로파논, 1-히드록시, 옥탄알, 아세트오인, 2-펜틸-푸란.

[0462] 실시예 17: 풍미에 기여하는 레그헤모글로빈

[0463] 소고기 풍미 및 향미는 햄 단백질의 첨가에 의해 비 소고기 소비재에서 생성될 수 있다. 분쇄 닭고기 (90% 제지방, 10% 지방)를 치즈클로스로 거르고 재조합 대두 레그헤모글로빈 또는 재조합 소 미오글로빈과 0.5-1.0% wt/wt의 최종 농도로 혼합하였다. 재조합 햄 단백질을 이. 콜라이에서 발현시키고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 니켈 친화도 정제에 의해 정제하였다. 닭고기와 혼합하기 전에, 햄 단백질을 20 mM Na 디티오나이트로 환원시켰다. Na 디티오나이트를 제바(Zeba) 탈염 칼럼 (써모 사이언티픽(Thermo Scientific))을 사용하여 샘플로부터 제거하였다. 레그헤모글로빈을 20 mM 인산칼륨 pH 7.4, 100 mM NaCl로 탈염시켰다. 미오글로빈을 또한 20 mM 인산칼륨 pH 7.4, 100 mM NaCl 또는 20 mM Na 시트레이트 pH 6.0, 100 mM NaCl로 탈염시켰다. 환원된 햄 단백질 샘플을 2개로 분할하고, 샘플의 절반을 2분 동안 일산화탄소 (CO)로 버블링하였다. 햄 단백질 샘플 및 분쇄 닭고기를 혼합한 후, 혼합물을 너겟-형상 금형에 붓고, 4°C에서 밤새 인큐베이션하였다. 각각의 너겟이 165°C의 내부 온도에 이를 때까지 너겟을 165°C에서 오븐 베이킹하거나 팬 프라이하였다. 판단자 패널은 닭고기 단독, 완충제와 혼합된 닭고기, 레그헤모글로빈 또는 미오글로빈 +/- CO와 혼합된 닭고기, 또는 소고기 (90% 제지방, 10% 지방)를 함유하는 너겟을 시식하였다. 판단자는 각각 너겟의 향미 및 풍미를 평가하기 위해 설문 조사를 기입하였다. 판단자는 다음과 같이 각각 너겟의 향미 및 풍미를 등급을 매겼다: 1 = 닭고기, 2 = 닭고기 + 아주 적은 소고기, 3 = 50/50 닭고기 + 소고기, 4 = 소고기 + 아주 적은 닭고기, 5 = 소고기. 각각의 너겟을 대해 취득된 평균 스코어는 표 2에 제시되어 있다. 백분율은 햄 단백질 wt/wt의 최종 농도를 제시한다 (약어: KP = 20 mM 인산칼륨 pH 7.4, 100 mM NaCl 완충제. NC = 20 mM Na 시트레이트 pH 6.0, 100 mM NaCl 완충제. n/d = 결정되지 않음). 닭고기에 재조합 레그헤모글로빈 또는 미오글로빈을 첨가하는 것은 증가된 소고기 향미 및 풍미를 생성하였다. 소고기 풍미 및 향미의 감지되는 수준은 미오글로빈 및 레그헤모글로빈 함량에 따라 증가하였다. 레그헤모글로빈 및 미오글로빈은 풍미 및 향미에 동일한 이익을 제공한다.

[0464] <표 2>

	오븐에 구운 것		팬에 튀긴 것	
	향미	풍미	향미	풍미
닭고기	1	1	1	1
닭고기 KP	1	1	2.5	1.2
닭고기 NC	1.5	1.5	1.5	1
닭고기 0.5% legH KP	1.5	2.5	3.67	3.2
닭고기 0.5% legH+CO KP	2.5	2.5	2.67	2.2
닭고기 0.5% Myo NC	2	2	1.5	2.4
닭고기 0.5% Myo+CO NC	2	2	2.5	3
닭고기 0.5% Myo+CO KP	2.5	2.5	2.33	2
닭고기 0.8% Myo+CO NC	2	3	4	2.6
닭고기 1% Myo NC	4.5	4	n/d	n/d
닭고기 1% legH NC	4	4	n/d	n/d
소고기	5	5	5	5

[0465]

[0466]

실시예 18: 비-낙농 크림 리큐어의 제조

[0467]

크림 리큐어를 해바라기 크림 분획, 루비스코 및 위스키 (제임슨(Jameson))로부터 제조하였다. 해바라기 크림 분획을 해바라기 종자를 40 mM 인산나트륨 pH 8.0, 400 mM 염화나트륨 완충제 중에 블렌딩함으로써 제조하였다. 종자 파편을 5000g에서 20분 동안 원심분리에 의해 펠릿화시키고, 크림 분획을 수집하였다. 크림 분획을 10 mM 인산칼륨 pH 7.4 완충제 중 재현탁시키고, 5000g에서 20분 동안 원심분리에 의해 수집하였다. 루비스코를 실시예 1에 기재된 바와 같이 정제하고, 20mM K-포스페이트 pH 7.0, 150mM NaCl 중 25mg/ml 원액으로서 사용하였다.

[0468]

한 실시예에서, 크림 리큐어를 다음과 같이 제조하였다: 11.4% wt/v의 해바라기 크림 분획, 40% v/v 제임슨 위스키, 0.4-1.6% wt/v 루비스코, 0.5% wt/v 바닐라 추출물, 0.5% v/v 에스프레소 커피 및 1.5% wt/v 초콜릿 분말. 생성된 혼합물을 5000 psi에서 균질화시켰다.

[0469]

또 다른 실시예에서, 크림 리큐어를 해바라기 크림 분획 및 위스키 (제임슨) 및 당으로 제조하였다: 11.4% wt/v의 해바라기 크림 분획, 40% v/v 제임슨 위스키, 0.5% v/v 바닐라 추출물, 0.5% v/v 에스프레소 커피, 1.5% wt/v 초콜릿 분말 및 8% wt/v 당.

[0470]

음료를 주위 실온에서 또는 칠링하여 서빙하였다. 생성된 음료는 베이지색 내지 연한 초콜릿색이었다. 시식 결과는 음료가 낙농 크림 리큐어와 유사한 매우 크림같은 알콜 풍미를 갖는 것으로 나타내었다. 칠링된 제품이 선호되었다. 에멀전은 실온에서 적어도 1주 (시험된 최대 시간) 동안 안정하였다.

[0471]

실시예 19 -초콜릿 스프레드

[0472]

초콜릿 스프레드를 34% (wt/wt) 사탕수수당, 22% (wt/wt) 코코아 분말, 19% (wt/v) 피스타치오 크림 분획, 12% (v/v) 아몬드 유액으로 제조하였다. 사탕수수당 및 코코아 분말 (기라델리(Ghirardelli))를 상업적으로 구입하였다. 아몬드 탈지유를 하기 방식으로 제조하였다: 아몬드를 30초 동안 100°C 물에 침지시켜 표백하였다. 표백된 아몬드를 회수하고, 빙냉수에 침지시켜 냉각시켰다. 아몬드를 공기 건조시켰다. 이어서, 아몬드를 2°C 물에서 16시간 동안 침지시켜 재수화시켰다. 재수화된 아몬드를 배수시키고, 1:2 wt/v 비로 물과 혼합하고, 5분 동안 비타믹스(Vitamix) 블렌더에서 블렌딩하였다. 블렌딩된 슬러리를 칠링된 용기에 수집하고, 냉각시키기 위해 동결된 쿨링 스틱으로 교반하였다. 슬러리가 10°C로 냉각되면, 슬러리를 12시간 정도 동안 2°C에서 두었다. 아몬드 탈지유 및 크림을 4°C에서 30분 동안 7480g에서 원심분리에 의해 분리하였다. 아몬드 유액을 3개 층, 불용성 고형분의 밀집 펠릿, 투명 내지 반투명 수성 층 (이는 "아몬드 탈지유"로 지칭됨), 및 보다 라이트하고, 크림같은, 불투명 층 (이는 "아몬드 크림"으로 지칭됨)으로 분리하였다. 이어서, 아몬드 유액을 75°C에서 16초 동안 저온살균하고, 칠링하고, 2°C에서 저장하였다.

[0473]

피스타치오 크림 분획을 100 mM 탄산나트륨 pH 9.5 완충제 중 피스타치오를 400 mM 염화나트륨 및 1 mM EDTA와 블렌딩한 다음, 5000xg에서 20분 동안 원심분리함으로써 제조하였다. 크림 분획을 수집하고, 동일한 완충제로

1회 더 세척하였다. 5000g에서 20분 동안 원심분리한 후, 크림 분획을 수집하고, 20 mM 인산나트륨 pH 7.4 완충제와 50 mM 염화나트륨 및 1 mM EDTA로 세척하였다. 5000g에서 20분 동안 원심분리한 후, 크림 분획을 수집하고, 중성 (pH 7.4) 완충제로 1회 더 세척하고, 5000g에서 20분 동안 원심분리하였다. 피스타치오 크림 분획을 수집하고, 4°C에서 저장하였다.

- [0474] 초콜릿 스프레드를 하기 방식으로 제조하였다. 사탕수수당을 아몬드 유액 중에 용융시키고, 코코아 분말을 교반 하에 당-유액 혼합물에 첨가하고, 용융시켰다. 이어서, 당, 유액 및 코코아를 피스타치오 크림 분획에 첨가하고, 함께 휘저었다. 이어서, 생성된 혼합물을 금형에 붓고, 냉장 및 냉동고 온도에서 24시간 동안 정치시켰다.
- [0475] 또 다른 실시예에서, 초콜릿 스프레드를 42% (wt/wt) 사탕수수당, 27% (wt/wt) 코코아 분말, 31% (wt/v) 해바라기 크림 분획, 및 23% (v/v) 아몬드 탈지유로 제조하였다. 해바라기 크림 분획을 제외한 모든 성분 및 절차를 상기 기재된 바와 같이 하였다.
- [0476] 해바라기 크림 분획을 해바라기 종자를 5배 중량 대 부피의 40 mM 인산칼륨 pH 8의 용액과 400 mM NaCl, 1 mM EDTA 중에서 블렌딩함으로써 생성한 다음, 20°C로 냉각시키고, 이어서 슬러리를 원심분리하였다. 상단 크림 층을 제거하고, 동일한 완충제 중에서 블렌딩한 다음, 40°C에서 1시간 동안 가열하였다. 슬러리를 20°C 미만으로 냉각시킨 다음, 원심분리하고; 크림 층을 제거하고, 5배 중량 대 부피의 100 mM 탄산나트륨 pH 10과 400 mM NaCl과 혼합한 다음, 원심분리하였다. 이어서, 상단 층을 5배 중량 대 부피의 물과 혼합하고, 다시 원심분리하였으며, 생성된 크림 분획은 매우 크림같은, 백색의 중성적인 맛이였다.
- [0477] 또 다른 실시예에서, 초콜릿 스프레드를 37% (wt/wt) 사탕수수당, 23% (wt/wt) 코코아 분말, 13% (wt/v) 해바라기 크림 분획, 및 7% (wt/wt) 코코아 버터, 및 20% v/v 아몬드 탈지유로 제조하였다.
- [0478] 또 다른 실시예에서, 초콜릿 스프레드를 37% (wt/wt) 사탕수수당, 23% (wt/wt) 코코아 분말, 13% (wt/v) 해바라기 크림 분획, 및 7% (wt/wt) 코코넛 오일, 및 20% v/v 아몬드 탈지유로 제조하였다.
- [0479] 또 다른 실시예에서 초콜릿 스프레드를 37% (wt/wt) 사탕수수당, 23% (wt/wt) 코코아 분말, 13% (wt/v) 해바라기 크림 분획, 7% (wt/wt) 팜 오일, 및 20% v/v 아몬드 탈지유로 제조하였다.
- [0480] 또 다른 실시예에서 초콜릿 스프레드를 1.8% (wt/wt) 사탕수수당, 1.13% (wt/wt) 코코아 분말, 88% (wt/v) 피스타치오 크림 분획, 및 9% 아몬드 탈지유로 상기 기재된 동등량의 스프레드 및 피스타치오 오일 바다를 휘저음으로써 제조하였다.
- [0481] 또 다른 실시예에서, 초콜릿 스프레드를 8.5% (wt/wt) 사탕수수당, 5.4% (wt/wt) 코코아 분말, 81% (wt/v) 해바라기 크림 분획, 및 4.6% (v/v) 아몬드 탈지유로 상기 기재된 초콜릿 스프레드를 해바라기 크림과 비 2:1로 혼합함으로써 제조하였다.
- [0482] 모든 제품의 시각적 및 텍스처 검사는 그들이 실온에서 안정적인 고체의 크림같은 스프레드를 형성한 것으로 나타내었다. 모든 제품은 냉장 및 냉동고 온도에 단단한 고체였다. 모든 제품의 시식 결과는 감식가에 의해 긍정적으로 검토된 구강에서의 제품 용융과 함께 풍부한 크림같은 텍스처를 나타내었다. 개별 감식가 선호도는 피스타치오 풍미, 코코넛 풍미의 좋음 또는 싫음, 더 많이 또는 더 적게 달콤한 제품 및 또는 더 많은 또는 더 적은 코코아 풍미에 대한 선호도와 관련하여 달라진다. 하나의 특정한 샘플은 해바라기 크림 분획이 중성적인 풍미를 기여하기 때문에 밀크 초콜릿 스프레드와 유사한 것으로 기재되었다.
- [0483] 실시예 20 - 지방 조직 모조물의 생성
- [0484] 지방 조직 모조물은 표 3에 인용된 성분을 사용하여 생성하였다.

[0485] <표 3>

지방 조직 모조물	
성분	%
코코넛 오일	65
완충제 중 완두콩 비실린 단백질	21.3
코코아 버터	10
완충제	2.7
레시틴 슬러리, 50 mg/ml	1
전체	100

[0486]

[0487] 레시틴 (솔렉(SOLEC)TM F 탈유 대두 레시틴, 더 솔라 캄파니(The Solae Company), 미주리주 세인트)을 20 mM 인산칼륨, 100 mM NaCl, pH 8.0 완충제 중 50 mg/ml의 농도로 제조하고, 30초 동안 초음파처리하였다 (소니파이어 아날로그 셀 디스rupter(Sonifier Analog Cell Disruptor) 모델 102C, 브랜슨 울트라소닉스 코퍼레이션 (BRANSON Ultrasonics Corporation), 코네티컷주 덴버리).

[0488] 완두 비실린 단백질을 20 mM 인산칼륨, 100 mM NaCl, pH 8.0 완충제 중 대략 140 mg/g 완두 비실린을 함유하는 액체로서 공급하였다.

[0489] 코코넛 오일 (샤이 앤 캄파니(Shay and Company), 오리건주 밀워키) 및 코코아 버터 (코코아 패밀리(Cocoa Family), 캘리포니아주 듀아르테)를 50 - 70℃로 가열함으로써 용융시킨 다음, 합하고, 필요 시까지 가운하였다.

[0490] 완충된 단백질 용액, 추가의 완충제, 및 레시틴 슬러리를 32 온스 크기 금속 비커에서 혼합하고, 실온으로 평형 화시켰다. 에멀전을 휴대용 균질화기 (G20-195ST 20mm 발생기 프로브가 장착된 옴니(OMNI) 모델 GLH, 옴니 인터내셔널(OMNI International), 조지아주 케네소)를 사용하여 형성하였다. 균질화기 프로브를 단백질 레시틴 혼합물에 넣고, 속도 4로 켜다. 이어서, 프로브를 혼합물 내에서 연속적으로 이동시키면서 가운된 오일을 약 2 분의 코스에 걸쳐 천천히 첨가하였다.

[0491] 이어서, 에멀전을 금속 비커를 95℃ 수조에 둬으로써 열 경화시켰다. 깨끗한 스페툴라를 사용하여, 에멀전을 총 3분 동안 20초마다 교반하였다. 이어서, 비커를 수조로부터 제거하고, 완전히 냉각될 때까지 수시간 동안 4℃에서 저장하였다.

[0492] 실시예 21 - 미가공 조직 모조물의 생성

[0493] 미가공 조직 모조물을 표 4에 인용된 성분을 사용하여 생성하였다.

[0494] <표 4>

미가공 조직 모조물	
성분	%
완충제	41.6
완충제 중 헴 단백질	26.7
완충제 중 완두콩 레구민, 건조	12.1
완충제 중 완두콩 비실린, 건조	9.4
풍미 전구체 믹스, 17x	6.2
트랜스글루타미나제 제제	4
전체	100

[0495]

[0496] 완충제는 20 mM 인산칼륨, 100 mM NaCl, pH 7.4였다. 헴 단백질을 20 mM 인산칼륨, 100 mM NaCl, pH 7.4 완충제 중 55 mg/g의 농도로 제조하였다. 17x 풍미 전구체 믹스 전구체는 실시예 27에 기재되어 있다. 완두 레구

민을 20 mM 인산칼륨, 500 mM NaCl, pH 8 완충제 중에 제조한 다음, 사용 전에 동결 건조시켰다. 건조된 물질의 최종 단백질 농도는 746 mg/g이었다. 완두 비실린을 20 mM 인산칼륨, 200mM NaCl, pH 8 완충제 중에 제조한 다음, 사용 전에 동결 건조시켰다. 건조된 물질의 최종 단백질 농도는 497 mg/g이었다.

- [0497] 액체 성분 (완충제, 헵, 및 풍미 전구체 믹스)를 플라스틱 비커에서 혼합하였다. 건조 완두 레구민 및 완두 비실린을 첨가한 다음, 실온에서 1시간 동안 온화하게 교반하면서 완전히 재수화되도록 하였다. 건조 트랜스글루타미나제 제제 (악티바® TI, 아지노모토, 뉴저지주 포트 리)를 첨가한 다음, 용해될 때까지 약 5분 동안 교반하였다. 교반을 중지한 다음, 혼합물을 단단해질 때까지 실온에서 겔화되도록 하였다. 겔이 형성된 후 미가공 조직 모조물을 사용될 때까지 냉장 저장하였다.
- [0498] 실시예 22 - 경질 결합 조직 모조물
- [0499] 경질 결합 조직 모조물을 대두 단백질 단리물 (슈프로(Supro) Ex38, 솔래), 밀 글루텐 (카르길(Cargill)), 및 대나무 섬유 (알파-파이버(Alpha-Fiber) B-200, 더 인그리디언트 하우스(The Ingredient House))를 사용하여 하기와 같이 제조하였다. 정제된 단백질을 동결-건조시키고, 표준 커피 분쇄기를 사용하여 밀링하였다. 대두 단백질 단리물 및 밀 글루텐의 상업적으로 입수가 가능한 분말을 제공받은 대로 사용하였다.
- [0500] 결합 조직 모조물은 49% 대두 단백질 단리물, 49% 밀 글루텐 및 2% 대나무 섬유를 함유하였다. 성분을 완전히 혼합하고, 압출기의 배치 공급기의 로딩 튜브에 로딩하였다. 하이-록(Hy-Lok) 2-페룰 튜브 피팅으로 부착된 고압수 분사 펌프 (엘덱스(ElDEX)) 및 주문 제작 다이 노즐 (스테인레스 스틸 튜브, 3 mm ID, 15 cm 길이, 압력 레이팅 3000+ PSI) 및 나사식 노즐 및 10 mm ID, 20 mm 긴 유동 채널을 갖는 주문 제작 다이를 갖는 이축 스�크류 압출기 (나노(Nano) 16, 라이스트리츠 익스트루전 코포레이션(Leistritz Extrusion Corp.))를 사용하였다.
- [0501] 건조 혼합물을 속도 1 g/분으로 압출기에 공급하였다. 물을 펌프에 의해 압출기의 배럴의 제2 구역에 공급하였다. 물 공급 속도는 최종 압출물의 55% 습도 수준을 제공하도록 건조 혼합물 공급 속도로 조절하였다. 온도 구배를 다음과 같이 압출기 배럴을 따라 유지하였다: 공급 구역 - 25°C, 구역 1 - 30°C, 구역 2 - 60°C, 구역 3 - 130°C, 구역 4 - 130°C. 다이 플레이트를 능동적으로 가열하지도 냉각시키지도 않았다. 다이 노즐을 능동적으로 냉각시켜 (습윤 조직 모조물을 적용시킴으로써) 100°C 미만의 압출물 온도를 유지하였다.
- [0502] 이 공정에 의해 수득된 경질 결합 조직 모조물은 동물 결합 조직과 유사한 인장 강도 (3 MPa)를 갖는 3 mm 두께 필라멘트로 성형된 암회백색 ("카푸치노색") 물질이었다.
- [0503] 실시예 23. 연질 결합 조직 모조물
- [0504] 연질 결합 조직 모조물을 물 공급 속도를 최종 압출물의 60% 습도 수준을 제공하도록 건조 혼합물 공급 속도로 조절하는 것을 제외하고는 실시예 22와 같이 제조하였다. 온도 구배를 다음과 같이 압출기 배럴을 따라 유지하였다: 공급 구역 - 25°C, 구역 1 - 30°C, 구역 2 - 60°C, 구역 3 - 115°C, 구역 4 - 115°C. 다이 플레이트를 능동적으로 가열하지도 냉각시키지도 않았다. 다이 노즐을 능동적으로 냉각시켜 (습윤 조직 모조물을 적용시킴으로써) 100°C 미만의 압출물 온도를 유지하였다.
- [0505] 이 공정에 의해 수득된 연질 결합 조직 모조물은 낮은 인장 강도 (< 0.1 MPa)를 갖는 3 mm 두께 필라멘트로 성형된 담회백색 물질이고, 밴드 및 얇은 섬유로 길iero 분할하기 위해 중요한 성향을 가졌다
- [0506] 실시예 24. 얇은 결합 조직 모조물 (제인 섬유) 공정:
- [0507] 얇은 결합 조직 모조물을 제인 단백질 분말, 글리세롤 (FCC 등급), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG 400 또는 PEG3350), 에탄올, 수산화나트륨 (FCC 등급), 및 물을 사용하여 제조하였다. 제인 분말, 및 제인에 대한 35% w/w 비의 PEG3350을 57% w/w의 최종 제인 농도에 이르도록 85% 수성 에탄올 중에 용해시켰다. 용액의 pH를 에탄올 중 수산화나트륨의 1M 용액을 사용하여 7.0으로 조정하였다. 1-12 ml 시린지, 스피닝 노즐 (피하 바늘, 18-27 게이지, 또는 플라스틱 노즐, 18-24 게이지), 히팅 실리кон 테이프, 및 히팅 팬을 갖는 시린지 펌프를, 컬렉터로서 작용하는, 델린(Delrin) 로드를 회전시키는 컴퓨터-제어된 모터를 사용하여 조립된 컬렉터와 함께 사용하였다.
- [0508] 이 용액을 18 게이지 플라스틱 팁이 부착되어 있는, 시린지 펌프에 탑재된 시린지에 로딩하였다. 실리кон 히팅 테이프를 팁 주위에 감아 그것을 승온으로 유지하였다. 용액을 팁 밖으로 압출시켜 점적액을 형성한 후, 이것을 스페큘라를 사용하여 취하고, 조심스럽게 컬렉터 로드 쪽으로 전달하여 팁과 컬렉터 사이에 필라멘트를 형성하였다. 압출 속도는 팁으로부터의 물질의 균일한 유동 (12 ml 시린지 및 18 게이지 팁에 대해 5 ml/시간)을 생성하도록 최적화시켰다. 컬렉터 회전 속도는 3 RPM이었다. 히팅 팬을 스플링 섬유 상에 뜨거운 공기가 불도

록 위치시켰다. 스펀징 후, 섬유를 24시간 동안 120℃ 오븐에서 경화시켰다.

- [0509] 이 공정에 의해 수득된 얇은 결합 조직 모조물은 300-마이크로미터 두께 섬유로 성형된 반투명 황색 물질이고, 동물 결합 조직과 유사한 높은 인장 강도 (6 MPa)를 유지하면서, 물의 존재 하에 매우 가요성 및 탄성으로 되었다.
- [0510] 실시예 25. 누들
- [0511] 누들을 정제된 완두 비실린 (동결-건조됨) 및 대두 단백질 단리물 (솔라에 의한 슈프로 EX38, 솔바(Solbar) Q842 (CHS)) 또는 대두 단백질 농축물 (히솔레이트(Hisolate), 하비스트 이노베이션즈(Harvest Innovations))를 사용하여 제조하였다. 누들을 제조하기 위해, 67% 대두 단백질 농축물 및 단리물, 33% 분쇄 완두 비실린 분말을 완전히 혼합하고, 압출기의 배치 공급기의 로딩 튜브에 로딩하였다. 건조 혼합물을 1-2 g/분 범위의 속도로 압출기에 공급하였다. 물을 압출물 중 최종 수분 함량을 72.5%로 유지하도록 펌프에 의해 비율 3.6-5.3 ml/분의 속도로 압출기의 배럴의 제2 구역에 공급하였다. 온도 구배를 하기와 같이 압출기 배럴을 따라 유지하였다: 공급 구역 - 25℃, 구역 1 - 30℃, 구역 2 - 60℃, 구역 3 - 100℃, 구역 4 - 100℃. 구역 1 온도는 25 - 45℃ 범위로 달라질 수 있다. 구역 2 온도는 45 - 65℃ 범위로 달라질 수 있다. 구역 3 및 4 온도는 95 - 100℃ 범위로 달라질 수 있다. 다이 노즐을 능동적으로 가열하지도 냉각시키지도 않았다. 다이 노즐을 100℃ 미만의 압출물 온도를 보장하면서 주위 공기에 의해 수동적으로 냉각시켰다.
- [0512] 이 공정에 의해 수득된 누들은 낮은 인장 강도 (< 0.1 MPa) 및 적당하게 점착성인 텍스처를 갖는 1.5 mm 두께 필라멘트로 성형된 담황색 물질이었다.
- [0513] 실시예 26. 점착성 조직 모조물 제조
- [0514] 점착성 조직 모조물을 정제된 완두 비실린 (동결건조됨) 및 정제된 완두 레구민 (동결건조됨)을 사용하여 제조하였다. 점착성 조직 모조물을 제조하기 위해, 50% 분쇄 완두 비실린 분말 및 50% 분쇄 완두 레구민 분말을 완전히 혼합하고, 압출기의 배치 공급기의 로딩 튜브에 로딩하였다. 건조 혼합물을 0.4 - 0.8 g/분 범위의 속도로 압출기에 공급하였다. 물을 펌프에 의해 압출물의 최종 수분 함량이 80%로 유지되도록 1.6 - 3.2 ml/분 범위의 속도로 압출기의 배럴의 제2 구역에 공급하였다. 총 처리량이 2 g/분에서 4 g/분로 증가시킴에 따라, 스크류 속도는 100에서 200 RPM으로 증가하였다. 보다 큰 다이 직경 (4 mm 이상)은 또한 보다 높은 처리량에서 역류를 방지하는데 또한 도움이 된다. 온도 구배를 하기와 같이 압출기 배럴을 따라 유지하였다: 공급 구역 - 25℃, 구역 1 - 30℃, 구역 2 - 60℃, 구역 3 - 90℃, 구역 4 - 90℃. 다이 플레이트를 능동적으로 가열하지도 냉각시키지도 않았다. 다이 노즐을 수동적으로 주위 공기에 의해 냉각시켰다. 다이 노즐은 겔 물질의 응고에 의한 폐색이 없도록 유지된다.
- [0515] 이 공정에 의해 수득된 점착성 조직 모조물은 점착성 페이스트-유사 텍스처를 갖는 불규칙한 1-5 cm 크기 별브로 성형된 반투명 무색 물질이었다.
- [0516] 실시예 27. 풍미 전구체 믹스의 제조
- [0517] 풍미 전구체 믹스를 각각의 첨가제의 농축된 원액을 혼합하여 17X 용액을 제조함으로써 제조하였다. 표 5는 믹스의 화학적 조성 및 최종 버거 중 각각의 성분의 mM 농도를 함유한다. 농축된 풍미 전구체 믹스를 멸균 여과하고, NaOH를 사용하여 pH 5.5 - 6.0으로 조정하고, 버거 중 1X 농도로 사용하였다.

[0518] <표 5>

<u>화학 물질</u>	<u>mM</u>
알라닌	5.6
아르기닌	0.6
아스파라긴	0.8
아스파르테이트	0.8
시스테인	0.8
글루탐산	3.4
글루타민	0.7
글리신	1.3
히스티딘	0.6
이소류신	0.8
류신	0.8
리신	0.7
메티오닌	0.7
페닐알라닌	0.6
프롤린	0.9
트레오닌	0.8
트립토판	0.5
티로신	0.6
발린	0.9
글루코스	5.6
리보스	6.7
말토덱스트린	5.0
티아민	0.5
GMP	0.2
IMP	0.6
락트산	1.0
크레아틴	1.0
NaCl	10
KCl	10
Kphos pH 6.0	10

[0519]

[0520] 품미 전구체 믹스의 화학적 조성.

[0521] 실시예 28 - 근육 모조물로서 사용하기 위한 텍스처화 단백질을 생산하기 위한 동결-정렬

[0522] 본 실시예는 육류 모조물에 사용될 수 있는 텍스처화 단백질 물질을 생산하기 위한 비-압출 기반 방법을 기재한다.

[0523] 근육 조직-모조물을, 먼저 20mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4 + 100mM 염화나트륨 중 렌틸 단백질의 4.5% (w/v) 용액을 20% (v/v) 카놀라 오일 (제드워드 인터내셔널(Jedwards International)로부터)과 혼합함으로써 렌틸 단백질의 겔을 제조함으로써 제조하였다. 혼합물을 15분 동안 95°C로 가열함으로써 겔화시키고, 실온에서 서서히 냉각시켰다 (1°C/분의 속도로). 이어서, 겔을 용기에 붓고, 완전히 동결될 때까지 액체 질소 조 위에 둬으로써 -40°C에서 동결시켰다. 이어서, 동결된 물질을 동결-건조기에서 건조시켰다. 물질이 완전히 건조되었을 때, 물질을 오토클레이빙 (121°C, 15분)에 의해 안정화시켰다. 생성된 물질은 식물 단백질로 형성된 텍스처화 근육 조직 모조물이다.

[0524] 이어서, 정렬된 근육 모조물을 5분 동안 물에 예비침지시키고, 길이 3-4mm의 조각으로 절단한 다음, 10g 지방조직-모조물, 10g 결합 조직 모조물 및 5g 저온 경화 겔과 합하여 50g 소고기 패티 모조물을 형성하였다. 사내

관능 패널은 개선된 섬유질 텍스처를 패티에 부여하는 것을 동결-정렬된 조직의 함유물을 결과로 보았다.

[0525] 근육-조직 모조물을 또한, 먼저 상기 기재된 바와 같이 동결-정렬된 물질을 형성함으로써 제조하였다. 조직 모조물 121°C에서 10분 동안 스팀 조리한 후, 물질을 열-변성 완두 비실린의 용액 (20mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4 + 100mM 염화나트륨 중 6% w/v로, 95°C에서 30분 동안 가열함으로써 변성됨), 1% 말 미오글로빈 (w/v) (시그마), 및 40% (v/v) 카놀라 오일 (제드위즈 인터내셔널로부터)에 침지되도록 하였다. 매질의 겔화를 20 mM로의 염화칼슘의 첨가에 의해 유도하였다. 샘플을 겔 형성을 가능하게 하도록 실온에서 5분 동안 정치되도록 하였다. 생성된 근육-모조물은 스테이크에서의 소고기 근육을 연상시키는 저온 경화 겔에 정렬된 물질을 함유하였다.

[0526] 실시예 29 - 육류 용도를 위한 단백질의 저온 겔화

[0527] 한 실시예에서, 미오글로빈을 포함하는 저온 경화 겔을 20mM 인산칼륨 완충제, pH 7.4와 함께 100mM 염화나트륨 중 완두-비실린의 6% (w/v) 용액을 100°C에서 30분 동안 먼저 열 변성시킴으로써 제조하였다. 용액을 실온으로 다시 냉각되도록 하였다. 카놀라 오일 (제드위즈 인터내셔널로부터) 및 말 미오글로빈 (시그마)을 각각 20% (v/v) 및 1% (w/v)의 최종 농도로 첨가하였다. 겔 형성을 염화칼슘을 20mM로 첨가함으로써 유도하였다. 50g 소고기 패티 모조물을 저온 겔 5g을 지방 조직-모조물 10g, 결합 조직-모조물 10g, 및 근육 조직-모조물 25g와 합함으로써 형성하였다. 조 렌틸 단백질의 7% (w/w) 용액 5 ml를 혼합물에 첨가하고, 패티를 형성하였다.

[0528] 실시예 30 - 육류 모조물 내의 결합 물질

[0529] 한 실시예에서, 소고기 모조물을, 먼저 코아세르베이트를 20 mM 인산칼륨 pH 7.4 + 100 mM 염화나트륨 중 완두 비실린 및 레구민 (비실린:레구민 비 3:1)의 3% (w/v) 용액으로부터 제조함으로써 제조하였다. 용융된 팜 오일 (제드위즈 인터내셔널)을 5%의 최종 농도로 용액에 첨가하고, 불택상에 의해 혼합하였다. 이어서, 에멀전을 교반하면서 염산을 첨가함으로써 5의 pH로 산성화시켰다. 이어서, 슬러리를 5000 x g에서 10분 동안 원심분리하고, 액체 상단 층을 코아세르베이트로부터 경사분리하였다.

[0530] 50g 소고기 패티 모조물을 10%의 코아세르베이트를 지방 조직-모조물 (20%), 결합 조직-모조물 (20%) 및 근육 조직-모조물 (50%)과 합함으로써 형성하였다. 조 렌틸 단백질의 7% 용액 5 ml를 혼합물에 첨가하고, 패티를 형성하였다. 결합 물질로서 코아세르베이트를 포함하는 패티는 그렇지 않았던 패티보다 더 응집성인 것으로 관찰되었다.

[0531] 실시예 31 - 점착성 및 누들 유형 분쇄 조직 모조물 및 버거 모조물의 어셈블리

[0532] 분쇄 조직 모조물 및 버거 모조물을 표 6에서의 성분을 사용하여 제조하였다. 모든 예비-가공 단계 동안, 물질의 온도를 저온 (4 - 15°C)으로 유지하였다.

[0533] <표 6>

점착성 및 누들 유형 제제의 조성	
성분	%
지방	26
연질 결합	20.6
점착성	12
미가공	10
누들	10
경질 결합	10
풍미 및 헴 용액	10
k-카라기난	1.4
전체	100

[0534] 실시예 6으로부터의 지방 조직 모조물을 고체 블록으로의 최종 가열-냉각 단계 후에 칠링시켰다. 임의로 0.2 중량%의 헴 단백질은 20 mg/ml 액체 용액으로 첨가되고, 지방조직으로 손으로 작업될 수 있다. 이어서, 지방조직을 직경 3 - 7 mm의 작은 조각으로 손으로 바스러뜨렸다.

[0536] 실시예 23으로부터의 연질 결합 조직 모조물을 압출 공정에 의해 긴 스트링-유사 조각으로 생산하였다. 연질

결합조직을 단일 단계 공정으로 미니 초퍼 (미니-프렙(Mini-Prep)® 플러스 프로세서(Plus Processor) 모델 DLC-2L 퀴진아트(Cuisinart), 코네티컷주 스탬포드)로 초핑하였다. 대략 200g의 연질 결합조직을 미니 초퍼에 두고, 60초 동안 초핑 세팅으로 가공하여 울퉁불퉁한 가장자리를 갖는 1 - 3 mm 길이의 조각을 수득하였다.

[0537] 점착성 조직 모조물 및 누들 조직 모조물 (실시에 25 및 26 참조)을 압출 공정에 의해 각각 긴 누들-유사 조각 또는 무정형 조각으로 생산하였다. 실시에 21의 미가공 조직 모조물을 고체 블록으로서 효소적 가공 공정으로부터 제공하였다. 이들 조직 모조물 중 3종 모두를 1 - 3 cm 직경의 조각으로 손으로 나누었다.

[0538] 실시에 22로부터의 경질 결합 조직 모조물을 압출 공정으로부터 긴 스트링-유사 조각으로 생산하였다. 경질 결합 조직 모조물을 미니 초퍼 (미니-프렙® 플러스 프로세서 모델 DLC-2L 퀴진아트, 코네티컷주 스탬포드)로 조대, 중간 및 미세로 명명되는 3 수준으로 초핑하였다. 경질 결합 조직 모조물 160 - 200 g을 미니 초퍼에 두고, 90초 동안 초핑 세팅으로 가공하였다. 물질의 1/3을 조대 초핑된 분획으로 제거하였다. 이어서, 초퍼에 잔류하는 물질을 추가의 60초 동안 가공하고, 원래 중량의 1/3을 중간 초핑된 분획으로 제거하였다. 이어서, 초퍼에 잔류하는 물질을 추가의 30초 동안 가공하여 미세 분획을 생산하였다.

[0539] 레그헤모글로빈을 동결-건조시킨 다음, 10 N NaOH를 사용하여 pH 6.0으로 조정된 17x 풍미 전구체 믹스 (실시에 27 참조) 중에 재구성하여 풍미 및 헴 단백질 용액을 제조하였다.

[0540] 상기 기재된 예비-가공 후, 연질 결합조직, 점착성, 미가공, 누들, 경질 결합조직, 지방조직 2/3를 보울에서 손으로 혼합하였다. 전형적 배치 크기는 100 g 내지 2000 g이었다. 이어서, 풍미 및 헴 용액을 혼합된 조직 모조물 상에 붓고, 손으로 온화하게 혼합한 다음, k-카라기난 분말을 혼합물 상에 뿌리고, 손으로 안에 혼합하였다. 어셈블리, 분쇄 및 성형 동안, 모든 물질을 저온 (4 - 15°C)으로 유지하였다. 혼합물을 식품 분쇄기 부착물 (키친에이드(KitchenAid)® 프로페셔널 600 시리즈 6 쿼트 보울-리프트 스탠드 믹서(Quart Bowl-Lift Stand Mixer) 모델 KP26MIXER 및 키친에이드® 식품 분쇄기 모델 FGA, 미시간주 세인트 조셉)이 장착된 스탠드 혼합기를 사용하여 속도 세팅 1로 분쇄하였다. 식품 분쇄기 물질을 고정된 홀 플레이트 앞에 설치된 회전 나이프를 지나 스크류 컨베이어에 의해 공급하였다.

[0541] 이어서, 분쇄 조직 모조물 믹스를 보울에 수집하고, 바스러진 지방조직의 나머지 1/3을 분쇄 조직 모조물 믹스에 첨가하고, 손으로 혼합하였다. 이어서, 대략 30 g 또는 90 g 부분의 분쇄 조직 모조물을 둥근 패티 형상으로 손으로 형성하였다. 30 g 패티에 대한 전형적 치수는 50 mm x 12 mm였다. 90 g 패티에 대한 전형적 치수는 70 mm x 18 mm였다. 패티를 조리할 때까지 냉장시켰다. 조리된 패티는 훈련된 관능 패널에 의해 판단되는 바와 같이 분쇄 소고기와 유사한 외관, 텍스처, 및 풍미를 가졌다. 패티 포맷으로 조리하는 것 뿐만 아니라, 분쇄 조직 모조물은 또한 다양한 요리, 예컨대 타코 필링, 캐서롤, 소스, 토핑, 수프, 스투, 또는 로프로 사용될 수 있다.

[0542] 실시에 32 - 분쇄 조직 모조물 및 버거 모조물을 함유하는 밀 글루텐의 어셈블리

[0543] 분쇄 조직 모조물 및 버거를 표 7의 성분을 사용하여 제조하였다.

[0544] <표 7>

밀 글루텐 유형 제제의 조성	
성분	%
지방	25
연질 결합	30
헴 및 풍미를 함유하는 미가공 조직 모조물	35
밀 글루텐	5
경질 결합	5
전체	100

[0545]

[0546] 지방조직, 연질 결합조직 및 경질 결합조직을 실시에 31에 기재된 바와 같이 예비가공하였다. 모든 예비-가공 단계 동안, 물질의 온도를 저온 (4 - 15°C)으로 유지하였다.

[0547] 이어서, 헴 단백질 및 풍미를 함유하는 미가공 근육을 하기와 같이 제조하였다. 동결건조된 완두 비실린 및 완두 레구민을 물 및 16x 풍미 스탁 중에 용해시켰다. 동결건조된 헴 단백질을 이 혼합물 중에 용해시키고, pH를

시트르산으로 5.8로 조정하였다. 이어서, 건조 트랜스글루타미나제 제제 (악티바® TI 아지노모토, 뉴저지주 포트 리)를 첨가하고, 약 5분 동안 혼합하여 완전히 용해시켰다. 이어서, 혼합물을 점도의 일부 증가가 관찰될 때까지 추가의 10분 동안 교반되도록 하였다. 이어서, 연질 결합조직 및 경질 결합조직을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 정치되도록 하여 고체 덩어리르 경화시키고 형성하였다.

[0548] 이어서, 밀 글루텐 분말 (활성 밀 글루텐, 그레이트 노던, 아이템 131100, 쥬스토의 비타-그레인, 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코)을 겔화 미가공 근육에 첨가하고, 혼합하여 분배하였다. 이어서, 이 혼합물을 바로 이전 실시예에 기재된 바와 같이 식품 분쇄기 부착물이 장착된 스탠드 혼합기를 사용하여 분쇄하였다. 이어서, 분쇄 조직 모조물을 -20℃에서 5분 동안 냉각시켰다. 최종적으로, 4℃로 예비-칠링된, 초팽된 지방조직을 칠링된 분쇄 조직 모조물에 첨가하였다.

[0549] 이어서, 첨가된 지방 조직 모조물을 함유하는 분쇄 조직 모조물 믹스를 2개의 90 g 등근 패티로 손으로 형성하였다. 90 g 패티는 전형적으로 70 mm x 18 mm이다. 전형적 배치 크기는 180 - 200 g이고, 2개 패티를 생산하였다. 이어서, 패티를 30분 동안 실온에서 정치되도록 하였다. 정치 후에 패티는 조리되거나 또는 조리가 준비될 때까지 냉장될 수 있다.

[0550] 실시예 33: 햄 및 풍미 전구체의 첨가에 의한 모조 버거의 소고기 풍미의 생성.

[0551] 육류에서의 특징적 풍미 및 방향 성분은 대부분 식물 뿐만 아니라 육류에서 발견되는 아미노산, 지방 및 당을 비롯한 화학 반응 분자 (전구체)에 의해 조리 과정 동안 생성된다. 1% 레그헤모글로빈과 함께 풍미 전구체를 표 8에 제시된 바와 같은 버거 모조물의 근육 성분에 첨가하였다. 3종의 모조물, 전구체를 함유하는 1종, 및 80:20 소고기와 함께, 전구체의 2종의 상이한 혼합물을 조리한 다음, 표 9에 제시된 풍미 속성을 기재하기 위해 훈련된 관능 패널에게 서빙하였다. 전구체의 첨가는 소고기맛 풍미, 피맛 논평, 전체적 풍미 양을 증가시키고, 모조물의 불쾌한 논평을 감소시켰다. 모조물 및 소고기 샘플을 또한 조리되지 않는 모조물 또는 소고기 3 그램을 GCMS 바이알에 첨가함으로써 GCMS에 의해 분석하였다. 모든 샘플을 150℃에서 3분 동안 조리하고, 50℃로 냉각시킨 다음 GCMS (헤드스페이스의 SPME 섬유 샘플링)를 사용하여 12분 동안 추출하였다. 서치 알고리즘은 체류 시간 및 질량 지문 정보를 분석하여 피크에 화학 명칭을 할당하였다. 1% 하지 헤모글로빈, 및 전구체 혼합물 2를 함유하는 모조 버거에서, 136종의 소고기 화합물이 생성되었다. 표 10에, 소고기 샘플에서 GCMS에 의해 또한 확인된 모조 버거에서 생성된 모든 화합물이 제시되어 있다.

[0552] <표 8>

[0553] 조리 전에 소고기 모조물에 첨가된 풍미 전구체.

샘플	767	804	929
첨가제 (mm)	전구체 믹스 1	전구체 없음	전구체 믹스 2
알라닌	5.61		5.61
시스테인	0.83		0.83
글루탐산	3.40		3.40
류신	0.76		0.76
리신	0.68		0.68
메티오닌	0.67		0.67
트립토판	0.49		0.49
티로신	0.55		0.55
발린	0.85		0.85
글루코스	5.55		5.55
리보스	6.66		6.66
락트산	1.00		1.00
크레아틴	1.00		1.00
티아민	0.50		0.50
IMP + GMP	0.40		0.40
수크로스			2.00
프룩토스			2.00
크실로스			2.00
말토덱스트린	0.50%		0.50%

[0554]

[0555] <표 9>

[0556] 모조 버거 및 80:20 소고기 샘플에 대한 관능 패널에 의해 결정된 관능 스코어.

샘플 #		소고기	767	804	929
풍미 품질	평균	7.0	3.8	3.2	4.3
	표준편차	0.0	1.3	1.0	1.2
풍미 강도	평균	4.3	4.2	4.3	4.3
	표준편차	0.8	1.2	1.4	1.2
풍미: 소고기맛	평균	5.8	3.3	2.3	4.2
	표준편차	1.0	1.2	0.8	1.2
풍미: 피맛/금속맛	평균	4.5	2.0	2.2	3.2
	표준편차	1.2	1.0	0.9	1.4
풍미: 감칠맛	평균	3.3	3.8	3.7	4.2
	표준편차	1.2	1.2	1.2	1.8
불쾌한 풍미: 화학약품취/산화취/콩 비린내	평균	1.5	2.3	3.5	2.7
	표준편차	0.8	1.2	1.8	1.0

[0557]

[0558] <표 10>

[0559] GCMS에 의해 검출된 시 1% LegH 및 전구체 믹스 2를 함유하는 모조 버거에서 생성된 소고기 풍미 화합물.

3-옥텐-2-온	옥탄산	(Z)-2-데센알,
1-펜텐-3-올	옥탄	이황화탄소
n-카프로산 비닐 에스테르	옥탄알	부티로락톤
2-아세틸티아졸	노난알	부탄산
티오펜	4,7-디메틸-운데칸,	3-메틸-부탄알,
메틸-티이란,	메틸 에타노에이트	2-메틸-부탄알,
티아졸	메티오날	부탄알
스티렌	메타크롤레인	3,6,6-트리메틸- 비시클로[3.1.1]헵트-2-엔,
	이소발레르산	벤질 알콜
피롤	이소프로필 알콜	1,3-디메틸-벤젠
피리딘	헥산산	벤젠
트리메틸-피라진	2,2,4,4,6,6-헵타메틸-헵탄,	벤즈알데히드
테트라메틸-피라진,	2-메틸-헵탄,	아세트페논
메틸-피라진,	헵탄	아세토니트릴
에틸-피라진	헵탄알	아세톤
3-에틸-2,5-디메틸-피라진	푸르푸랄	아세트인
2,5-디메틸-피라진	푸란올	아세트산 에테닐 에스테르
2,3-디메틸-피라진	3-메틸-푸란	아세트산
2-에틸-5-메틸-피라진	2-프로필-푸란	아세트아미드
2-에테닐-6-메틸-피라진,	2-펜틸-푸란	아세트알데히드
피라진	2-메틸-푸란	4-메틸-5-티아졸에탄올
2-메틸-프로판알,	2-에틸-푸란	6-메틸-5-헵텐-2-온
프로판알	푸란	트랜스-2-(2-펜테닐)푸란
페닐아세트알데히드	포름아미드	(E)-4-옥텐,
페놀	에틸 아세테이트	4-시클로펜텐-1,3-디온
펜탄산	1-(2-푸라닐)-에타논	4-시아노시클로헥센
3-에틸-2,2-디메틸-펜탄	1-(1H-피롤-2-일)-에타논	디히드로-2-메틸-3(2H)-푸라논,
펜탄알	디메틸 트리설피드	(E,E)-3,5-옥타디엔-2-온
p-크레졸	디메틸 설퍼드	3,5-옥타디엔-2-온
옥살산, 부틸 프로필 에스테르	d-리모넨	2,2-디메틸-운데칸

[0560]

1-헵텐	1-옥텐-3-올	톨루엔
1-에틸-5-메틸시클로펜텐	1-옥탄올	1-펜탄올
1-부탄올	1-헥산올	1-옥텐-3-온
1H-피롤-2-카르복스알데히드	2-메틸-1H-피롤	2-부타논
2-노나논	3-메틸-2-부텐알	2-티오펜카르복스알데히드
2-n-부틸아크롤레인	3-에틸시클로펜타논	2-피롤리디논
2-메틸-2-헵텐	2(5H)-푸라논	2-프로페날
(E)-2-헥센알,	디히드로-5-펜틸-2(3H)-푸라논	1-히드록시-2-프로판논
(E)-2-헵텐알,	5-에틸디히드로-2(3H)-푸라논	1-(아세틸옥시)-2-프로판논
6-메틸-2-헵타논	5-아세틸디히드로-2(3H)-푸라논	2-펜타논
2-헵타논	2,6-디메틸피라진	(E)-2-옥텐알
2-푸란메탄올	(E,E)-2,4-노나디엔알	2-옥타논
3-에틸-2-1,4-디옥신	(E,E)-2,4-헵타디엔알	(E)-2-노넨알
3-에틸-2-메틸-1,3-헥사디엔	(E,E)-2,4-데카디엔알	8-메틸-1-운데센
2-부텐알	2,3-디메틸-5-에틸피라진	1-프로판올
1-펜텐-3-온		

[0561]

[0562] 실시예 34 - 식물 단백질 용액으로부터의 불쾌한 풍미 소실의 제거

[0563] i) 리간드 개질된 LOX 제거 수지의 합성

[0564] CM 세파로스 수지 (시그마 알드리치(Sigma Aldrich) 카탈로그 # CCF100)의 1 mL 고정된 부피를 바이오라드 (BioRad) 미니칼럼으로 로딩하였다. 5.5 내지 6의 pH 범위로 존재하는 50 mM MES (2-모르폴리노에탄술폰산) 완충제 3 mL를 수지 층을 통해 통과되도록 하였다. 개별적으로, 동일한 완충제 1 mL에 연속하여, 4,7,10-트리옥사-1,13-트리데칸디아민 0.044 mL, 12 N HCl 0.030 mL, NHS (N-히드록시-숙신이미드) 23 mg, 및 EDC (1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 히드로클로라이드) 38 mg을 첨가하였으며, 각각의 첨가 후에 용해시켰다. 생성된 용액을 칼럼 층의 상단에 첨가하고, 중력 관류되도록 하고, 유출물을 수집하였다. 생성된 유출물을 칼럼 층의 상단으로 반환시켰다. 용액의 첨가, 용리 및 반환의 사이클을 4회 수행하였다. 최종 용리가 완료되었을 때, 5.5 내지 6의 pH로 존재하는 50 mM MES 완충제 3 mL를 칼럼을 통해 중력 관류되도록 하였다. 리놀레산 (0.03 mL)을 0.5 mL DMF (N,N-디메틸포름아미드)에 이어서, 하기 순서로 12 mg NHS, 19 mg EDC, 및 5.5 내지 6의 pH로 존재하는 50 mM MES 완충제 0.5 mL 중에 용해시켰다. NHS/EDC 혼합물을 진탕시켜 혼합하여, 2-상 액체를 생성하였으며, 이를 칼럼의 상단에 적용시키고, 수지 층을 통해 통리시켜 칼럼을 통해 중력 관류되도록 하고, 유출물을 수집하였다. 유출물을 칼럼 층의 상단에 반환시켰다. 용액의 첨가, 용리 및 반환의 사이클을 4회 수행하였다. 최종 수집이 완료되면, 물 중 70% 에탄올의 용액 (5 mL)에 이어서 0.1 M 수산화나트륨 3 mL를 칼럼의 상단에 첨가하였다. 이에 이어서 pH 7 내지 8로 예비조정된 인산칼륨의 0.1 M 완충제를 첨가하였다.

[0565] ii) 리간드 개질된 LOX 제거 수지를 사용하는 완두 단백질로부터 불쾌한 풍미 소실의 제거.

[0566] 완두 단백질 용액 (20 mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4, 100mM 염화나트륨 중 20 mg/ml 단백질 농도로 30 ml)을 상기 기재된 100 ml 수지 층을 통해 통과시켰다. 모든 미결합 물질을 수집하고, 수지를 완충제 200 ml로 추가로 세척하였다. 양쪽 분획을 합하고, 수지를 2 층 부피의 20 mM 인산칼륨, 1M 염화나트륨으로 세척함으로써 결합된 단백질을 스트라이핑하였다. 수지 층을 2 층 부피의 0.1M NaOH에 이어서 3 층 부피의 물로 세척하고, 완충제로 재평형화시킴으로써 재생하였다.

[0567] 풀링된 미결합 분획에서의 LOX 활성의 고갈을 효소 활성에 대해 분석함으로써 확인하였다. 리놀레산나트륨을 LOX에 대한 기질로서 사용하고, 히드رو퍼옥시드 중간체의 형성을 234nm에 흡광도에 의해 모니터링하였다. 검정을 50mM 붕산나트륨 완충제 중 pH9에서 수행하였다. 검정은 풀링된 미결합 분획에서의 LOX 활성의 고갈을 확인하였다. LOX를 0.5M 및 1M 염화나트륨으로의 세척으로 수지로부터 제거하였다.

[0568] LOX 고갈된 단백질 용액 (그 자체 및 10%의 카놀라 오일과 함께 인큐베이션한 것 둘 다) 중 풍미의 개선을 4명 감식가의 패널에 의해 확인하였다. 동일한 농도이지만, LOX가 고갈되지 않은 완두 단백질의 샘플을 대조군으로 사용하였다. 감식가는 LOX-고갈된 샘플을 순한 맛으로서 그리고 대조 샘플을 콩 비린내, 식물같은 맛을 갖는 것으로서 기재하였다. 또한, 샘플의 GC-MS 분석은 LOX-고갈된 샘플에서의 전체 휘발물질의 5X 감소를 제시하였다.

[0569] 투석 및 활성탄을 사용하는 불쾌한 풍미 소실의 감소

[0570] 완두 알부민의 용액 (20mM 인산칼륨 완충제 pH 7.4, 100 mM 염화나트륨 중 40 mg/ml로 30 ml)을 4°C에서 밤새 100 부피의 완충제에 대해 투석하였다. 이어서, 용액을 완충제로 예비습윤화된 활성탄 (100-메쉬, 시그마-알드리치)의 층 상에 부었다. 슬러리를 5000 x g에서 10분 동안 원심분리하고, 단백질을 함유하는 상청액을 경사분리하였다. 이 용액을 맛 및 GC-MS 둘 다에 의해 풍미의 개선에 대해 시험하였다. 개선된 풍미 (덜 쓴맛, 덜 비누같은 풍미)가 감식가에 의해 논평되었고, GC-MS는 휘발성 화합물의 >2X 감소를 확인하였으며; 특히, 활성탄으로 처리된 샘플은 풋내/풀내/식물같은 풍미와 관련 C6- 및 C7 화합물 (예를 들어, 1-헵탄알, 2-헵탄알 또는 2-헵타논)의 감소를 제시하였다.

[0571] 항산화제 및/또는 LOX 억제제를 사용하는 불쾌한 풍미 소실의 감소

[0572] 완두-비실린의 7% 용액은 항산화제 또는 LOX 억제제의 존재 하에 15분 동안 95°C로 코코넛 오일 (20%)과 함께 가열하고, 샘플을 불쾌한 풍미에 대해 임의의 항산화제 또는 LOX 억제제의 부재 하의 대조군과 비교하였다. 유사한 실험에서, 두유를 항산화제 또는 LOX 억제제의 존재 하에 가열하고, 불쾌한 풍미에 대해 사내 시식하였다. 표 11은 감식가에 의해 논평된 불쾌한 풍미를 요약한다. 에피갈로카테킨 갈레이트 및 프로필 갈레이트 둘 다는 완두 샘플에서 불쾌한 풍미를 최소화하는데 효과적이었다. 그러나, 두유의 경우에는, 에피갈로카테킨 갈레이트는 콩 비린내를 감소시킨 것으로 보이지 않았으며; 프로필 갈레이트 및 α-토코페롤은 두유에서 풍미를 약간 개선시킨 것으로 밝혀졌다.

[0573] <표 11>

화합물	두유	완두콩
α-토코페롤	약간 개선된 풍미	산화된 오일
카페인산 (0.02%)	콩 비린내	산화된 오일
에피갈로카테킨 갈레이트	콩 비린내	개선된 풍미
프로필 갈레이트 (0.02%)	약간 개선된 풍미	개선된 풍미
β-카로틴	콩 비린내	산화된 오일

[0574]

[0575] 실시예 35 - 레시틴 구매를 갖는 지방조직 모조물

[0576] 레시틴 (솔렉™ F 탈유 대두 레시틴, 더 솔레 캄파니, 미주리주 세인트 루이스)을 20 mM 인산칼륨, 100 mM NaCl, pH 8.0 완충제 중 50 mg/ml의 농도로 제조하고, 30초 동안 초음파처리하였다 (소니파이어 아날로그 셀 디스rupter 모델 102C, 브랜슨 울트라소닉스 코포레이션, 코네티컷주 덴버리). 녹두 단백질을 20 mM 인산칼륨, 100 mM NaCl, pH 8.0 완충제 중 액체로서 공급하였다. 코코넛 오일을 50 - 70°C로 가열함으로써 용융시킨 다음, 합하고, 필요 시까지 가운하였다. 코코넛 오일, 완충된 단백질 용액, 추가의 완충제, 및 레시틴 슬러리를 70°C에서 혼합하고, 에멀전을 휴대용 균질화기를 사용하여 형성하였다. 이어서, 에멀전을 튜브를 95°C 수조에 총 5분 동안 뚫으로써 열 경화시켰다. 이어서, 튜브를 수조로부터 제거하고, 분석 전에 12시간 또는 그 초과 동안 4°C에서 저장하였다.

[0577] 지방 조직 모조물에 대한 레시틴의 효과를 관찰하기 위해, 레시틴 양을 0%, 0.05%, 0.25%, 0.5% 및 1.0% w/v로부터 증가시키면서, 1% w/v 녹두 단백질 및 75% v/v 코코넛 오일을 함유하는 제제를 제조하였다.

[0578] 지방조직 모조물의 특성을, 소량 분량의 물질을 계량하여 천천히 균일한 둥근 볼을 형성한 다음, 이를 온도를 150°C까지 서서히 올리면서 눌러붙지 않는 팬에서 조리함으로써 측정하였다. 지방이 가시적으로 볼로부터 방출되는 팬의 온도를 지방 방출 온도로서 측정하였다. 조리가 완료된 후, 지방이 더 이상 방출되지 않는 시점에서 총 방출된 지방을 측정하였다.

- [0579] 지방조직 모조물 중 레시틴의 양의 증가는 방출된 지방 퍼센트의 증가 및 지방 방출 온도의 감소와 상관관계가 있었다 (도 2a 및 2b). 0% 레시틴의 경우에, 평균 40% 방출된 지방이 존재하고, 레시틴이 0.05%로 증가된 경우에, 평균 82% 방출된 지방이 존재하였으며, 0.25% 레시틴의 경우에 88%로 추가로 증가되고, 이어서 레시틴의 추가 증가 시 평균 60%의 평균로 수준 저하하였다. 0% 레시틴의 경우에, 217℃의 고온이 지방 방출을 개시하는데 요구되었다. 지방 방출 온도는 0.25% 레시틴의 경우에 122℃로 감소되고, 이어서 레시틴의 추가 증가 시 평균 62℃로 수준 저하하였다.
- [0580] 지방조직 모조물의 경도를 텍스처 분석기 (TA XT 플러스)에 의해 측정하였다. 프로브를 지방조직 모조물의 편평한 표면에 침투시키고, 2 mm 침투에서의 힘을 기록하였다. 소량의 레시틴 (0.05%)은 경도를 증가시키고, 0.25% 이상에서, 지방조직 모조물의 경도는 감소하였다. 도 2c 참조.
- [0581] 실시예 36 - 식물성 오일 유형을 변화시킨 지방조직 모조물
- [0582] 지방조직 모조물에 대한 식물성 오일 유형의 효과를 관찰하기 위해, 실시예 35와 동일한 방법론을 사용하여 1.5% w/v 녹두 단백질 및 0.05% w/v 레시틴 및 75% v/v의 다양한 식물성 오일 (카놀라 오일, 코코아 버터, 코코넛 오일, 및 올리브 오일)을 함유하는 제제를 제조하였다. 지방조직 모조물의 특성은 소량 분량의 물질을 계량하고, 균일한 둥근 볼을 형성한 다음, 이를 온도를 250℃까지 서서히 올리면서 눌러붙지 않는 팬에서 조리함으로써 측정하였다. 지방이 가시적으로 볼로부터 방출되는 팬의 온도를 지방 방출 온도로서 측정하였다. 조리가 완료된 후, 지방이 더 이상 방출되지 않는 시점에서 총 방출된 지방을 측정하였다.
- [0583] 식물성 오일 유형을 변화시키는 것은 지방조직 모조물에 대해 큰 효과를 가졌다. 카놀라 및 쌀겨 오일을 비롯한, 불포화 지방의 보다 높은 양을 함유하는 오일은 매우 적은 지방을 방출하는 반면 (1 및 2% 지방 방출됨, 도 3 참조), 코코아 버터 및 코코넛 오일을 비롯한, 포화 지방의 보다 높은 양을 함유하는 오일은 현저하게 많은 지방을 방출하였다 (30% 및 50% 지방 방출됨, 도 4 참조). 카놀라 및 쌀겨 오일을 함유하는 지방조직 모조물은 용융하기 위해 250℃보다 더 큰 온도 (측정되지 않음)를 필요로 하는 반면, 코코아 버터 및 코코넛 오일을 함유하는 지방조직 모조물은 저온 (82℃ 내지 137℃)에서 지방을 방출하였다.
- [0584] 실시예 37 - 코아세르베이트로 제조된 지방조직 모조물
- [0585] 레시틴 (솔렉™ F 탈유 대두 레시틴, 더 솔래 캄파니, 미주리주 세인트 루이스)을 20 mM 인산칼륨, 100 mM NaCl, pH 8.0 완충제 중 50 mg/ml의 농도로 제조하고, 30초 동안 초음파처리하였다 (소니파이어 아날로그 셀 디스립터 모델 102C, 브랜슨 울트라소닉스 코포레이션, 코네티컷주 덴버리). 20 mM 인산칼륨, 100 mM NaCl, pH 8.0 완충제 중 완두 레구민 및 완두 비실린 단백질을 1:1 비로 혼합하였다. 코코아 버터를 70℃로 가열함으로써 용융시키고, 필요 시까지 가온 유지하였다. 코코아 버터를 단백질 혼합물에 2% 및 10% w/v로 첨가하고, 코코아 버터를 액체 상태로 유지하기 위해 60℃에서 첨가하였다. 용액을 여전히 가온하면서, 코코아 버터 입자가 가시적으로 유화될 때까지, 혼합물을 1-3분 초음파처리하였다. 샘플의 pH를 HCl를 사용하여 5.5로 조정하고, 혼합물이 유백색으로 변한 다음, 이를 5,000xg에서 10분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후, 단백질 및 코코아 버터의 코아세르베이트를 포함하는 펠릿을 수집하였다. 2% 지방 코아세르베이트는 점착성 및 신축성인 반면, 10% 지방 코아세르베이트는 지방성 및 유연성이었다. 코아세르베이트를 플라스틱에 밀봉하고, 고압 가공 (HPP)에 적용시켰다. 샘플을 열-밀봉성 푸드-세이버 플라스틱 백에 밀봉하고, 고압 가공 (아부레 2L 이소스태틱 푸드 프레스(Avure 2L Isostatic Food Press)에서 5분 동안 85k psi)에 적용시켰다. HPP 후, 2% 코아세르베이트 샘플은 반경질의 응집성 물질을 형성하였다. 10% 코아세르베이트 샘플은 바스러지기 쉽고, 연질 및 유성이었다.
- [0586] 가공된 코아세르베이트 샘플의 특성을 소량 분량의 물질을 떼어내어 온도를 250℃까지 서서히 올리면서 눌러붙지 않는 팬에서 조리함으로써 측정하였다. 코아세르베이트 샘플은 이 온도로 조리 시 어떠한 지방도 방출하지 않았다.
- [0587] 다른 실시양태
- [0588] 본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 제시되고 기재되어 있지만, 이러한 실시양태는 오직 실시예로서만 제공된다는 것은 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 본 발명을 벗어나지 않으면서 다수의 변화, 변경 및 치환이 통상의 기술자에게 이제 일어날 것이다. 본원에 기재된 본 발명의 실시양태에 대한 다양한 대안이 본 발명의 실시예 사용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 하기 청구범위는 본 발명의 범위를 한정하고 이들 청구범위 내의 방법 및 구조 및 이들의 등가물이 이에 따라 포괄되도록 의도된다.

도면

도면1a

서열 1 비그나 라디아타

MTTTLERGFTEEQEALVVKSWNVMMKKNSEGLGLKFFLKI FEIAPSAQKLF SFLRDSTVP
LEQNPCLKPHAVSVFVMTCD SAVQLRKAGKVTVRESNLKKGATHFRTGVANEHFVTK
FALLETIKEAVPEMWS PAMKNAWGEAYDQLVDAIKYEMKPPSS

서열 2 메틸아사디필룸 인페르노룸

MIDQKEKELIKESWKRIE PNKNEIGLLFYANL FKEEPTVSVLFQNP I SSQSRKLMQVLG
ILVQGIDNLEGLIPTLQDLGRRHKQYGVVDSHYPLVGDCLLKS IQEYLGQGFTEEAKAA
WTKVYGIAAQVMTAE

서열 3 아퀴팩스 아에오리쿠스

MLSEETIRVIKSTVPLLKEHGTEITARMYELLSKYPKTKELFAGASEEQPKKLANAII
AYATYIDRLEELDNAISTIARSHVRRNVKPEHYPLVKECLLQAIIEV LNPGEVVKAW E
EAYDFLAKTLITLEKKLYSQP

서열 4 클리신 맥스

MGAFTEKQEALVSSSF EAFKANI PQYSVVFYTS ILEKAPAAKDLFSFLSNGVDPSNPKL
TGHAEKLFGLVRDSAGQLKANGTVVADAALGSIHAQKAITDPQFVVVKEALLKTIKEAV
GDKWSDELSSAWEVAYDELA AAIKKAF

서열 5 호르테움 불가레

MSAAEGAVVFSEEKEALV LKSWAIMKKDSANLGLRFFLKI FEIAPSARQMFPFLRDS DV
PLETNPCLKTHAVSVFVMTCEAAAQLRKAGKITVRETT LKRLGGTHLKYGVADGHFEVT
RFALLETIKEALPADMWGPEMRNAWGEAYDQLVAAIKQEMKPAE

마그나포르테 오리자에, (서열 6)

1 mdgavrl dwt gldltgheih dgvpiasrvq vmvsfplfkd qhiimsskes psrksstigg
61 strngscqad tqkgqppvg ekpkpvkenp mkkklemqr piptqhgdt yptekklgti
121 gedlkhirgy dvkllamvk sklkgeklkd dktmlmervm qlvarlptes kkraelt dsl
181 inelwesldh pplnylgpeh syrtpdgsyn hpfnpqlgaa gsryarsvip tvtpgalpd
241 pglifdsimg rtpnsyrkhp nnvssilwyw atiihdfw tdprdtntk sssyldapl
301 ygnsgemqds irtfkdgrmk pdcyadkrla gmpggvsvll imfnrfhnhv aenlalineg
361 grfnkpsdll egeareaaaw kyndndifqva rlvtsglyin itlvdyvrni vnlrvdttw
421 tldprqdaga hvgtadgaer gtgnavsae f nlcyrwhsci sekdskfvea qfqnifgkpa
481 sevrpdemwk gfakmeqntp adpgqrtfgg fkrpgdgkfd dddlvr cise avedvaga fg
541 arnvpqamkv vetmgiqgr kwnvaglinef rkhfhlpys tfedinsdpg vaealrlyd
601 hpdnvelypp lvaeedkqpm vpgvgipty tisrvvl sda vclvrqdrfy ttdftprnit

도면 1b

```

661 nwgykevydyd lsvnhgcvfy klfirafpnh fkqnsvyahy pmvvpssenkr ilealgradl
721 fdfeapkyip prvnitsygg aeyiletqek ykvtwheglg flmgeggklf mlsyddplha
781 qqrkcmaagl ykdgwteavk afyagmmeel lvksyflgn nkhrhvdiir dvgnmvvhvf
841 asqvfglplk taknptgvft eqemygilaa ifttiffdld psksfplrtk trevcqklak
901 lveanvclin kipwsrgmfv gkpakdepls iygktmikgl kahglsdydi awshvvtsg
961 amvpngaqvf aqavdyylsp agmhyipeih mvalqpstpe tdalllgyam egirlagtfg
1021 syreaavddv vkedngrqvp vkagdrvfvs fvd aardpkh fpdpevvnp rpakkyihyg
1081 vgp hacigrd asqiaitemf rcifrrrnvr rvpgpqgelk kvprpggyfv ymredwgglf
1141 pfpvtmrvmw dde
    
```

푸사리움 옥시스포름 (서열 7)

```

1 mksatlafa lvqfsaasql vwpskwdeve dllymqggfn krgfadalrt cefgsnvpgt
61 qntaewlrta fhdaithdak agtgglasi ywessrpenp gkafnntfgf fsgfhnprat
121 asdltagtv lavgacngpr ipfragrida ykagpagvpe pstnlkdtfa aftkagftke
181 emtamvacgh aiggvhsvdf peivgikadp nndtnvpfqq dvssfhngiv teylagtskn
241 plvasknatf hsdkrifdnd katmkklstk agfnsncadi ltrmidtvpk svqltpvlea
301 ydvrpyitel slnnknkih f tgsrvrritn nirdndlai nliyvrgrdgk kvtvptqqvt
361 fqqgtsfgag evfanfefdt tmdakngitk ffiqevkpst katvthdnqk tggkvdtdv
421 lyqlqqscav leklnapl v tamvr dara kdaltlr vah kkpvkgsivp rfqtaitnfk
481 atgkksqyt gfqaktmfee qstyfdi vlg gspasgvqfl tsqampsqcs
    
```

푸사리움 그라미네아룸 (서열 8)

```

1 masatrqfar aatrtrngf aiaprqvirq qgrryyssep aqkssawiw ltgaavagga
61 gyyfygnsas satakvnps kedyqkvyne iaarleekdd yddgsygpvl vrlawhasgt
121 ydketgtggs ngatrfape sdhganagla aardflqpvk ekfpwitysd lwilagvai
181 qemlgpaipy rpgsrdrdvs gctpdgrlpd askrqdhlrg ifgrmgfndq eivalsgaha
241 lgrchtdrsg ysgpwtfspt vltndyfrll veekwqwkww ngpaqyedks tkslmlpsd
301 ialiedkkfk pwekyakdn daffkdfs v lrlfelgvp faqgtenqrw tfkpthqe
    
```

서열 9 클라미도모나스 에우가메토스

MSLFAKLGGREAVEAAVDKFYNKIVADPTVSTYFSNTDMKVQRSKQFAFLAYALGGASE
 WKGKDMRTAHKDLVPHLSDVHFQAVARHLSDTLTELGVPPEDITDAMAVVASTRTEVLN
 MPQQ

서열 10 테트라히메나 피리포르미스

MNKPQTIYEKLGGENAMKAAVPLFYKVLADERVKHFFKNTDMDHQTKQQTDFLTMLLG
 GPNHYKGNMTEAHKGMNLQNLHFD AI IENLAATL KELGVTD AVINEAAKVIEHTRKDM
 LGK

도면1c

서열 11 파라메시움 카우다툼

MSLFEQLGGQAAVQAVTAQFYANIQADATVATFFNGIDMPNQTNKTAAFLCAALGGPNA
WTGRNLKEVHANMGVSNAQFTTVIGHLRSALTGAGVAAALVEQTVAVAETVRGDVVTV

서열 12 아스페르길루스 니거

MPLTPEQIKI IKATVPVLQEYGTKITTA FYNMSTVHPELNAVFNTANQVKGHQARALA
GALFAYASHIDDLGALGPAVELICNKHASLYIQADEYKIVGKYLLEAMKEVLGDACTDD
ILDAWGAAYWALADIMINREAALYKQSQG

서열 13 제아 메이스

MALAEADDGAVVFGEEQEALVLKSWAVMKKDAANLGLRFFLKVFEIAPSAEQMFSFLRD
SDVPLEKNPKLKTHAMSVFVMTCEAAAQLRKAGKVTVRETTLKRLGATHLRYGVADGHF
EVTGFALLETIKEALPADMWSLEMKKAWAEAYSQLVAAIKREMKPDA

서열 14 오리자 사티바 아종 자포니카

MALVEGNGVSGGAVSFSEEQEALVLKSWAIMKKDSANIGLRFLLKIFEVAPSASQMFS
FLRNSDVPLEKNPKLKTHAMSVFVMTCEAAAQLRKAGKVTVRDITLKRLGATHFKYGVG
DAHFEVTRFALLETIKEAVPDMWSPAMKSAWSEAYNQLVAAIKQEMKPAE

서열 15 아라비둡시스 탈리아나

MESEKIVFTEEQEALVVKSWSVMKKNSAELGLKLFIKIFEIAPTTKMFSFLRDSPIP
AEQNPCLKPHAMSVFVMCCESAVQLRKTGKVTVRETTLKRLGASHSKYGVVDEHFVAK
YALLETIKEAVPEMWSPEMKVAWGQAYDHLVAAIKAEMNLSN

도면1d

서열 16 피숨 사티룸

MGFTDKQEALVNSSWESFKQNLSGNSILFYTTIILEKAPAAKGLFSFLKDTAGVEDSPKL
 QAHAEQVFGLVRDSAAQLRTKGEVVLGNATLGAIHVQRGVTDPHFVVVKEALLQTIKKA
 SGNNWSEELNTAWEVAYDGLATAIKKAMT

서열 17 비그나 운구이쿨라타

MVAFSDKQEALVNGAYEAFKANI PKYSVVFYTTIILEKAPAAKNLFSFLANGVDATNPKL
 TGHAEKLFGLVRDSAAQLRASGGVVADAALGAVHSQKAVNDAQFVVVKEALVKTLKEAV
 GDKWSEDELGTAVELAYDELAATAIKKAY

서열 18 보스 타우루스

MGLSDGEWQLVLNVAWGKVEADVAGHGQEVLIIRLFTGHPETLEKFDKFKHLKTEAMKAS
 EDLKKHGNTVLTALGGILKKKGHHEAEVKHLAESHANKHKI PVKYLEFISDAI IHVLHA
 KHPDFGADAQAAMSKALELFRNDMAAQYKVLGFHG

서열 19 수스 스크로파

MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADVAGHGQEVLIIRLFKGHPELEKFDKFKHLKSEDEMKA
 EDLKKHGNTVLTALGGILKKKGHHEAELTPLAQSHATKHKI PVKYLEFISEAI IQVLQS
 KH PGDFGADAQGAMSKALELFRNDMAAKYKELGFQG

서열 20 에쿠스 카발루스

MGLSDGEWQQVLNVWGKVEADIAGHGQEVLIIRLFTGHPETLEKFDKFKHLKTEAMKAS
 EDLKKHGTVVLTALGGILKKKGHHEAELKPLAQSHATKHKI PIKYLEFISDAI IHVLHS
 KH PGDFGADAQGAMTKALELFRNDIAAKYKELGFQG

서열 21 니코티아나 펜타미아나

MSSFTEEQEALVVKSWDSMCKNAGEWGLKFLKIFEIAPSAKFLSFLKDSNVPL
 EQNAKLPKPHSKSVFVMTCEAAVQLRKAGKVVRDSTLKKLGATHFKYGVAD
 HFEVTKFALLETIKEAVPEMWSVDMKNAWGAEAFDQLVNAIKTEMK

서열 22 바실루스 서브틸리스

MGQSFNAPYEAIGEELLSQLVDTFYERVASHPLLKPIFPSDLTETARKQKQFLTQY
 LGGPPLYTEEHGHPMLRARHLPFITNERADAWLSCMKDAMDHVGLEGEIREFL
 FGRLELTARHMVNQTEAEDRSS

도면1e

서열 23 코리네박테리움 글루타미쿰

MTTSENFYDSVGGEEFSLIVHRFYEQVPNDLILGPMYPPDDFEGAEQRLKMFLS
 QYWGGPKDYQEQRGHPRLMRHVNYPIGVTAERWLQLMSNALDGVDLTAEQ
 REAIWEHMOVRAADMLINSNPDPHA

서열 24 시네코시스티스 PCC6803

MSTLYEKLGGTTAVDLAVDKFYERVLQDDRIKHFFADVDMAKQRAHQKAFITY
 AFGGTDKYDGRYMREAHKELVENHGLNGEHFDDAVAEDLLATLKEMGVPEDLIA
 EVAAVAGAPAHKRDLNQL

서열 25 시네코코쿠스 종 PCC 7335

MDVALLEKSFEQISPRAIIEFSASFYQNLFHHPKPLFAETSQTIQEKKLIFSLAAI
 IENLRNPDILQPAKSLGARHAEVGTIKSHYPLVGGALIEFAEYLAADWTEQLA
 TAWVEAYDVIASMIEGADNPAAYLEPELTFYEWLDLYGEESPKVRNAIATLTH
 FHYGEDPQDVQRDSRG

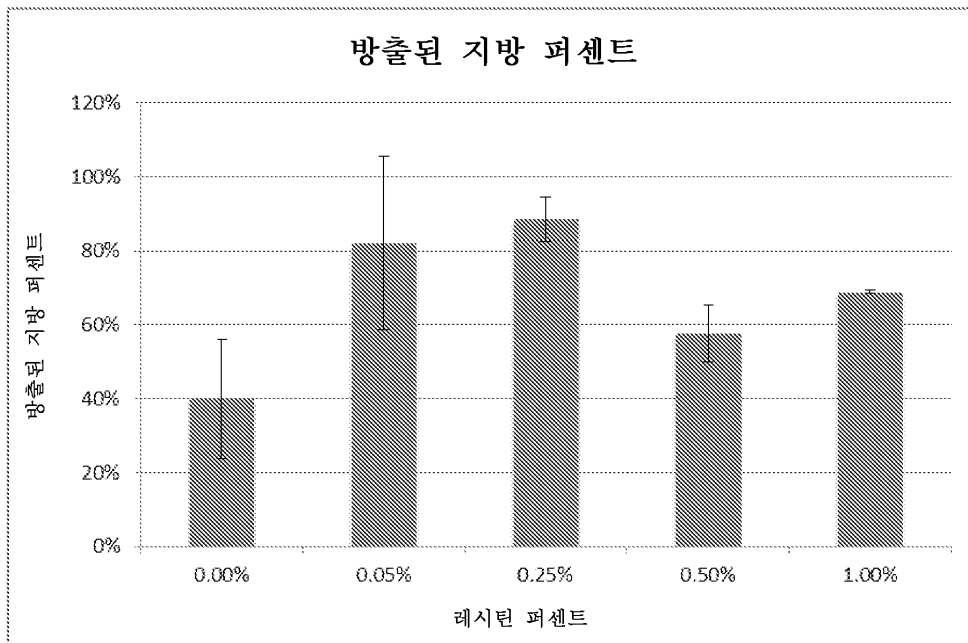
서열 26 노스톡 콤플렉스

MSTLYDNIGGQPAIEQVVDELHKRIATDSSLAPVFAAGTDMVKQRNHLVAFLAQIF
 EGPQYGGRPMDKTHAGLNLQPHFDIAIKHLGERMAVRGVSAENTKAALDR
 VTNMKGAILNK

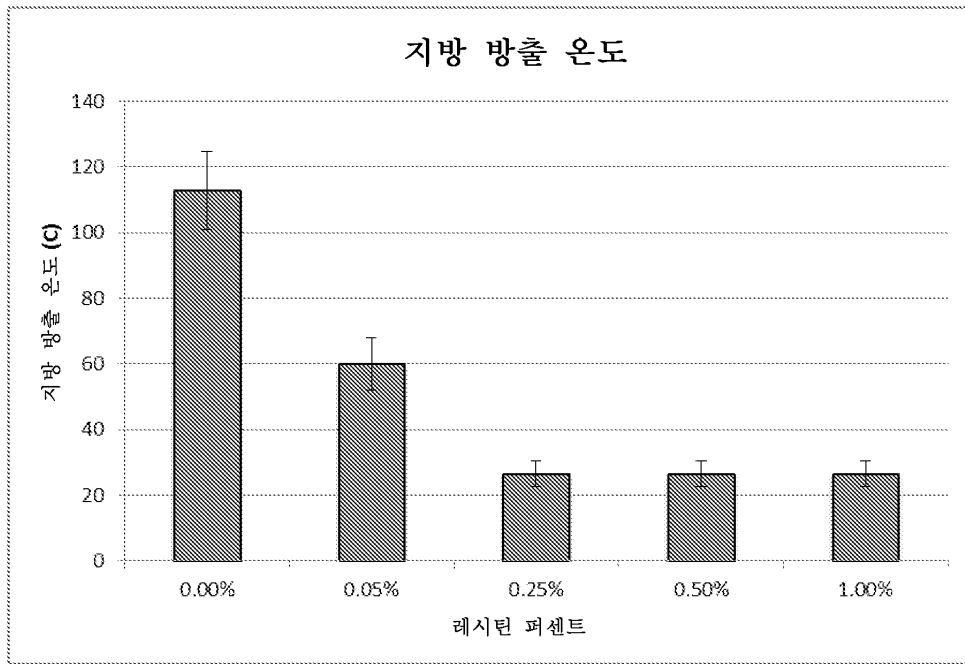
서열 27 바실루스 메가테리움

MREKIHSPYELLGGEHTISKLVDAFYTRVGQHPPELAPIFPDNLTTETARKQKQFLT
 QYLGGPSLYTEEHGHPMLRARHLPFEITPSRAKAWLTCMHEAMDEINLEGP
 DELYHRLILTAQHMINSPQTEKGFSS

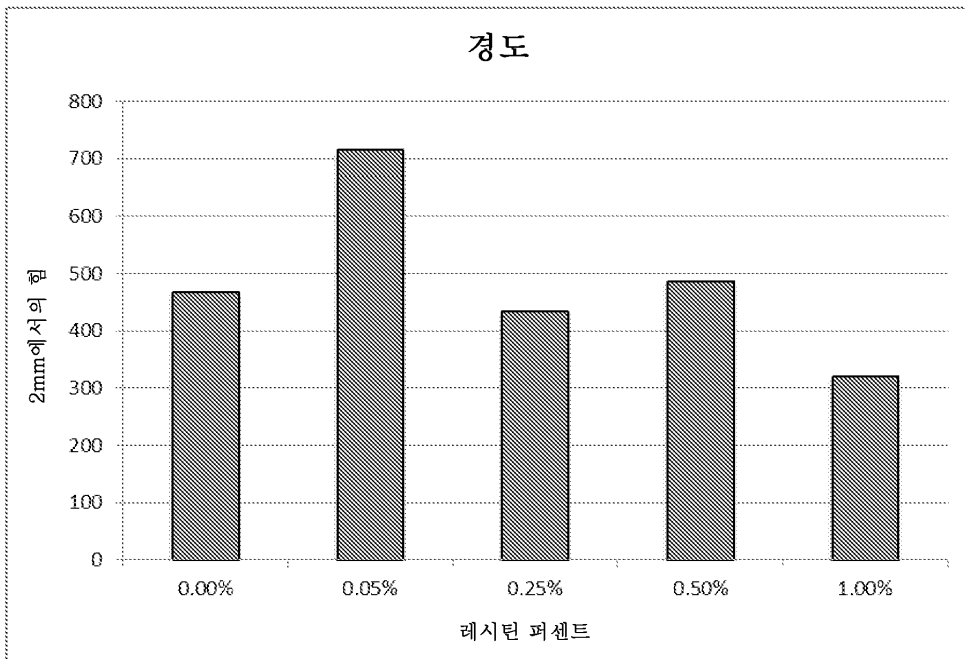
도면2a



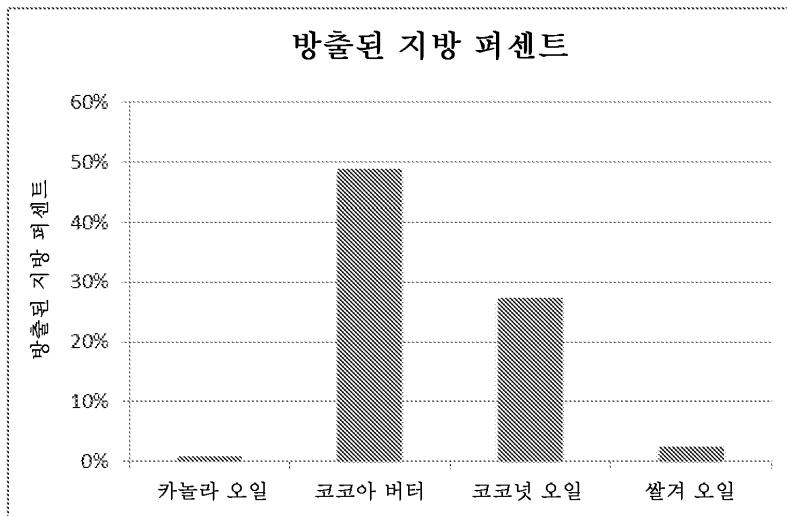
도면2b



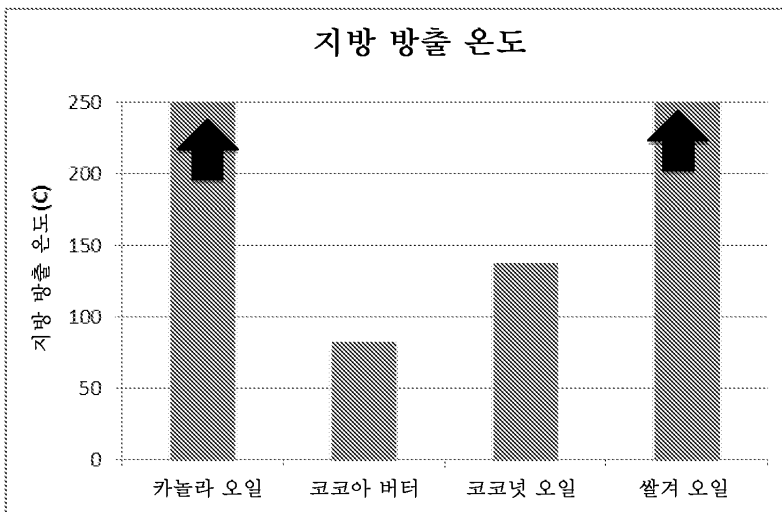
도면2c



도면3



도면4



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Maraxi, Inc.

<120> METHODS AND COMPOSITIONS FOR CONSUMABLES

<130> 38767-0010W01

<140> PCT/US2014/011361

<141> 2014-01-13

<150> 13/941,211

<151> 2013-07-12

<150> 61/908,634

<151> 2013-11-25

<150> 61/751,816

<151> 2013-01-11

<160> 27

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 161

<212> PRT

<213> *Vigna radiata*

<400> 1

Met Thr Thr Thr Leu Glu Arg Gly Phe Thr Glu Glu Gln Glu Ala Leu
 1 5 10 15

Val Val Lys Ser Trp Asn Val Met Lys Lys Asn Ser Gly Glu Leu Gly
 20 25 30

Leu Lys Phe Phe Leu Lys Ile Phe Glu Ile Ala Pro Ser Ala Gln Lys
 35 40 45

Leu Phe Ser Phe Leu Arg Asp Ser Thr Val Pro Leu Glu Gln Asn Pro
 50 55 60

Lys Leu Lys Pro His Ala Val Ser Val Phe Val Met Thr Cys Asp Ser
 65 70 75 80

Ala Val Gln Leu Arg Lys Ala Gly Lys Val Thr Val Arg Glu Ser Asn
 85 90 95

Leu Lys Lys Leu Gly Ala Thr His Phe Arg Thr Gly Val Ala Asn Glu
 100 105 110

His Phe Glu Val Thr Lys Phe Ala Leu Leu Glu Thr Ile Lys Glu Ala
 115 120 125

Val Pro Glu Met Trp Ser Pro Ala Met Lys Asn Ala Trp Gly Glu Ala
 130 135 140

Tyr Asp Gln Leu Val Asp Ala Ile Lys Tyr Glu Met Lys Pro Pro Ser
 145 150 155 160

Ser

<210> 2

<211> 133

<212> PRT

<213> *Methylacidiphilum infernorum*

<400> 2

Met Ile Asp Gln Lys Glu Lys Glu Leu Ile Lys Glu Ser Trp Lys Arg

1 5 10 15

Ile Glu Pro Asn Lys Asn Glu Ile Gly Leu Leu Phe Tyr Ala Asn Leu

20 25 30

Phe Lys Glu Glu Pro Thr Val Ser Val Leu Phe Gln Asn Pro Ile Ser

35 40 45

Ser Gln Ser Arg Lys Leu Met Gln Val Leu Gly Ile Leu Val Gln Gly

50 55 60

Ile Asp Asn Leu Glu Gly Leu Ile Pro Thr Leu Gln Asp Leu Gly Arg

65 70 75 80

Arg His Lys Gln Tyr Gly Val Val Asp Ser His Tyr Pro Leu Val Gly

85 90 95

Asp Cys Leu Leu Lys Ser Ile Gln Glu Tyr Leu Gly Gln Gly Phe Thr

100 105 110

Glu Glu Ala Lys Ala Ala Trp Thr Lys Val Tyr Gly Ile Ala Ala Gln

115 120 125

Val Met Thr Ala Glu

130

<210> 3

<211> 139

<212> PRT

<213> *Aquifex aeolicus*

<400> 3

Met Leu Ser Glu Glu Thr Ile Arg Val Ile Lys Ser Thr Val Pro Leu

1 5 10 15

Leu Lys Glu His Gly Thr Glu Ile Thr Ala Arg Met Tyr Glu Leu Leu

20 25 30

Phe Ser Lys Tyr Pro Lys Thr Lys Glu Leu Phe Ala Gly Ala Ser Glu
 35 40 45
 Glu Gln Pro Lys Lys Leu Ala Asn Ala Ile Ile Ala Tyr Ala Thr Tyr
 50 55 60
 Ile Asp Arg Leu Glu Glu Leu Asp Asn Ala Ile Ser Thr Ile Ala Arg
 65 70 75 80
 Ser His Val Arg Arg Asn Val Lys Pro Glu His Tyr Pro Leu Val Lys
 85 90 95
 Glu Cys Leu Leu Gln Ala Ile Glu Glu Val Leu Asn Pro Gly Glu Glu
 100 105 110
 Val Leu Lys Ala Trp Glu Glu Ala Tyr Asp Phe Leu Ala Lys Thr Leu
 115 120 125
 Ile Thr Leu Glu Lys Lys Leu Tyr Ser Gln Pro
 130 135
 <210> 4
 <211> 145
 <212> PRT
 <213> Glycine max
 <400> 4
 Met Gly Ala Phe Thr Glu Lys Gln Glu Ala Leu Val Ser Ser Ser Phe

 1 5 10 15
 Glu Ala Phe Lys Ala Asn Ile Pro Gln Tyr Ser Val Val Phe Tyr Thr
 20 25 30
 Ser Ile Leu Glu Lys Ala Pro Ala Ala Lys Asp Leu Phe Ser Phe Leu
 35 40 45
 Ser Asn Gly Val Asp Pro Ser Asn Pro Lys Leu Thr Gly His Ala Glu
 50 55 60
 Lys Leu Phe Gly Leu Val Arg Asp Ser Ala Gly Gln Leu Lys Ala Asn

 65 70 75 80
 Gly Thr Val Val Ala Asp Ala Ala Leu Gly Ser Ile His Ala Gln Lys
 85 90 95
 Ala Ile Thr Asp Pro Gln Phe Val Val Val Lys Glu Ala Leu Leu Lys

Ala Glu

<210> 6

<211> 1153

<212> PRT

<213> Magnaporthe oryza

<400> 6

Met Asp Gly Ala Val Arg Leu Asp Trp Thr Gly Leu Asp Leu Thr Gly

1 5 10 15
 His Glu Ile His Asp Gly Val Pro Ile Ala Ser Arg Val Gln Val Met
 20 25 30
 Val Ser Phe Pro Leu Phe Lys Asp Gln His Ile Ile Met Ser Ser Lys
 35 40 45
 Glu Ser Pro Ser Arg Lys Ser Ser Thr Ile Gly Gln Ser Thr Arg Asn
 50 55 60
 Gly Ser Cys Gln Ala Asp Thr Gln Lys Gly Gln Leu Pro Pro Val Gly

65 70 75 80
 Glu Lys Pro Lys Pro Val Lys Glu Asn Pro Met Lys Lys Leu Lys Glu
 85 90 95
 Met Ser Gln Arg Pro Leu Pro Thr Gln His Gly Asp Gly Thr Tyr Pro
 100 105 110
 Thr Glu Lys Lys Leu Thr Gly Ile Gly Glu Asp Leu Lys His Ile Arg
 115 120 125
 Gly Tyr Asp Val Lys Thr Leu Leu Ala Met Val Lys Ser Lys Leu Lys

130 135 140
 Gly Glu Lys Leu Lys Asp Asp Lys Thr Met Leu Met Glu Arg Val Met
 145 150 155 160
 Gln Leu Val Ala Arg Leu Pro Thr Glu Ser Lys Lys Arg Ala Glu Leu
 165 170 175
 Thr Asp Ser Leu Ile Asn Glu Leu Trp Glu Ser Leu Asp His Pro Pro
 180 185 190

Leu Asn Tyr Leu Gly Pro Glu His Ser Tyr Arg Thr Pro Asp Gly Ser
 195 200 205
 Tyr Asn His Pro Phe Asn Pro Gln Leu Gly Ala Ala Gly Ser Arg Tyr
 210 215 220
 Ala Arg Ser Val Ile Pro Thr Val Thr Pro Pro Gly Ala Leu Pro Asp
 225 230 235 240
 Pro Gly Leu Ile Phe Asp Ser Ile Met Gly Arg Thr Pro Asn Ser Tyr
 245 250 255
 Arg Lys His Pro Asn Asn Val Ser Ser Ile Leu Trp Tyr Trp Ala Thr
 260 265 270
 Ile Ile Ile His Asp Ile Phe Trp Thr Asp Pro Arg Asp Ile Asn Thr
 275 280 285
 Asn Lys Ser Ser Ser Tyr Leu Asp Leu Ala Pro Leu Tyr Gly Asn Ser
 290 295 300
 Gln Glu Met Gln Asp Ser Ile Arg Thr Phe Lys Asp Gly Arg Met Lys
 305 310 315 320
 Pro Asp Cys Tyr Ala Asp Lys Arg Leu Ala Gly Met Pro Pro Gly Val
 325 330 335
 Ser Val Leu Leu Ile Met Phe Asn Arg Phe His Asn His Val Ala Glu
 340 345 350
 Asn Leu Ala Leu Ile Asn Glu Gly Gly Arg Phe Asn Lys Pro Ser Asp
 355 360 365
 Leu Leu Glu Gly Glu Ala Arg Glu Ala Ala Trp Lys Lys Tyr Asp Asn
 370 375 380
 Asp Leu Phe Gln Val Ala Arg Leu Val Thr Ser Gly Leu Tyr Ile Asn
 385 390 395 400
 Ile Thr Leu Val Asp Tyr Val Arg Asn Ile Val Asn Leu Asn Arg Val
 405 410 415
 Asp Thr Thr Trp Thr Leu Asp Pro Arg Gln Asp Ala Gly Ala His Val
 420 425 430
 Gly Thr Ala Asp Gly Ala Glu Arg Gly Thr Gly Asn Ala Val Ser Ala

Asn His Phe Lys Gln Asn Ser Val Tyr Ala His Tyr Pro Met Val Val
 690 695 700
 Pro Ser Glu Asn Lys Arg Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Ala Asp Leu

 705 710 715 720
 Phe Asp Phe Glu Ala Pro Lys Tyr Ile Pro Pro Arg Val Asn Ile Thr
 725 730 735
 Ser Tyr Gly Gly Ala Glu Tyr Ile Leu Glu Thr Gln Glu Lys Tyr Lys
 740 745 750
 Val Thr Trp His Glu Gly Leu Gly Phe Leu Met Gly Glu Gly Gly Leu
 755 760 765
 Lys Phe Met Leu Ser Gly Asp Asp Pro Leu His Ala Gln Gln Arg Lys

 770 775 780
 Cys Met Ala Ala Gln Leu Tyr Lys Asp Gly Trp Thr Glu Ala Val Lys
 785 790 795 800
 Ala Phe Tyr Ala Gly Met Met Glu Glu Leu Leu Val Ser Lys Ser Tyr
 805 810 815
 Phe Leu Gly Asn Asn Lys His Arg His Val Asp Ile Ile Arg Asp Val
 820 825 830
 Gly Asn Met Val His Val His Phe Ala Ser Gln Val Phe Gly Leu Pro

 835 840 845
 Leu Lys Thr Ala Lys Asn Pro Thr Gly Val Phe Thr Glu Gln Glu Met
 850 855 860
 Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ile Phe Thr Thr Ile Phe Phe Asp Leu Asp
 865 870 875 880
 Pro Ser Lys Ser Phe Pro Leu Arg Thr Lys Thr Arg Glu Val Cys Gln
 885 890 895
 Lys Leu Ala Lys Leu Val Glu Ala Asn Val Lys Leu Ile Asn Lys Ile

 900 905 910
 Pro Trp Ser Arg Gly Met Phe Val Gly Lys Pro Ala Lys Asp Glu Pro
 915 920 925
 Leu Ser Ile Tyr Gly Lys Thr Met Ile Lys Gly Leu Lys Ala His Gly

930 935 940
 Leu Ser Asp Tyr Asp Ile Ala Trp Ser His Val Val Pro Thr Ser Gly
 945 950 955 960
 Ala Met Val Pro Asn Gln Ala Gln Val Phe Ala Gln Ala Val Asp Tyr

 965 970 975
 Tyr Leu Ser Pro Ala Gly Met His Tyr Ile Pro Glu Ile His Met Val
 980 985 990
 Ala Leu Gln Pro Ser Thr Pro Glu Thr Asp Ala Leu Leu Leu Gly Tyr
 995 1000 1005
 Ala Met Glu Gly Ile Arg Leu Ala Gly Thr Phe Gly Ser Tyr Arg Glu
 1010 1015 1020
 Ala Ala Val Asp Asp Val Val Lys Glu Asp Asn Gly Arg Gln Val Pro

 1025 1030 1035 1040
 Val Lys Ala Gly Asp Arg Val Phe Val Ser Phe Val Asp Ala Ala Arg
 1045 1050 1055
 Asp Pro Lys His Phe Pro Asp Pro Glu Val Val Asn Pro Arg Arg Pro
 1060 1065 1070
 Ala Lys Lys Tyr Ile His Tyr Gly Val Gly Pro His Ala Cys Leu Gly
 1075 1080 1085
 Arg Asp Ala Ser Gln Ile Ala Ile Thr Glu Met Phe Arg Cys Leu Phe

 1090 1095 1100
 Arg Arg Arg Asn Val Arg Arg Val Pro Gly Pro Gln Gly Glu Leu Lys
 1105 1110 1115 1120
 Lys Val Pro Arg Pro Gly Gly Phe Tyr Val Tyr Met Arg Glu Asp Trp
 1125 1130 1135
 Gly Gly Leu Phe Pro Phe Pro Val Thr Met Arg Val Met Trp Asp Asp
 1140 1145 1150
 Glu

<210> 7

<211> 530

<212> PRT

<

213> *Fusarium oxysporum*

<400> 7

Met Lys Gly Ser Ala Thr Leu Ala Phe Ala Leu Val Gln Phe Ser Ala
 1 5 10 15
 Ala Ser Gln Leu Val Trp Pro Ser Lys Trp Asp Glu Val Glu Asp Leu
 20 25 30
 Leu Tyr Met Gln Gly Gly Phe Asn Lys Arg Gly Phe Ala Asp Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Cys Glu Phe Gly Ser Asn Val Pro Gly Thr Gln Asn Thr Ala
 50 55 60

 Glu Trp Leu Arg Thr Ala Phe His Asp Ala Ile Thr His Asp Ala Lys
 65 70 75 80
 Ala Gly Thr Gly Gly Leu Asp Ala Ser Ile Tyr Trp Glu Ser Ser Arg
 85 90 95
 Pro Glu Asn Pro Gly Lys Ala Phe Asn Asn Thr Phe Gly Phe Phe Ser
 100 105 110
 Gly Phe His Asn Pro Arg Ala Thr Ala Ser Asp Leu Thr Ala Leu Gly
 115 120 125

 Thr Val Leu Ala Val Gly Ala Cys Asn Gly Pro Arg Ile Pro Phe Arg
 130 135 140
 Ala Gly Arg Ile Asp Ala Tyr Lys Ala Gly Pro Ala Gly Val Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Ser Thr Asn Leu Lys Asp Thr Phe Ala Ala Phe Thr Lys Ala Gly
 165 170 175
 Phe Thr Lys Glu Glu Met Thr Ala Met Val Ala Cys Gly His Ala Ile
 180 185 190

 Gly Gly Val His Ser Val Asp Phe Pro Glu Ile Val Gly Ile Lys Ala
 195 200 205
 Asp Pro Asn Asn Asp Thr Asn Val Pro Phe Gln Lys Asp Val Ser Ser
 210 215 220
 Phe His Asn Gly Ile Val Thr Glu Tyr Leu Ala Gly Thr Ser Lys Asn

225 230 235 240
 Pro Leu Val Ala Ser Lys Asn Ala Thr Phe His Ser Asp Lys Arg Ile
 245 250 255

 Phe Asp Asn Asp Lys Ala Thr Met Lys Lys Leu Ser Thr Lys Ala Gly
 260 265 270
 Phe Asn Ser Met Cys Ala Asp Ile Leu Thr Arg Met Ile Asp Thr Val
 275 280 285
 Pro Lys Ser Val Gln Leu Thr Pro Val Leu Glu Ala Tyr Asp Val Arg
 290 295 300
 Pro Tyr Ile Thr Glu Leu Ser Leu Asn Asn Lys Asn Lys Ile His Phe
 305 310 315 320

 Thr Gly Ser Val Arg Val Arg Ile Thr Asn Asn Ile Arg Asp Asn Asn
 325 330 335
 Asp Leu Ala Ile Asn Leu Ile Tyr Val Gly Arg Asp Gly Lys Lys Val
 340 345 350
 Thr Val Pro Thr Gln Gln Val Thr Phe Gln Gly Gly Thr Ser Phe Gly
 355 360 365
 Ala Gly Glu Val Phe Ala Asn Phe Glu Phe Asp Thr Thr Met Asp Ala
 370 375 380

 Lys Asn Gly Ile Thr Lys Phe Phe Ile Gln Glu Val Lys Pro Ser Thr
 385 390 395 400
 Lys Ala Thr Val Thr His Asp Asn Gln Lys Thr Gly Gly Tyr Lys Val
 405 410 415
 Asp Asp Thr Val Leu Tyr Gln Leu Gln Gln Ser Cys Ala Val Leu Glu
 420 425 430
 Lys Leu Pro Asn Ala Pro Leu Val Val Thr Ala Met Val Arg Asp Ala
 435 440 445

 Arg Ala Lys Asp Ala Leu Thr Leu Arg Val Ala His Lys Lys Pro Val
 450 455 460
 Lys Gly Ser Ile Val Pro Arg Phe Gln Thr Ala Ile Thr Asn Phe Lys
 465 470 475 480

Ala Thr Gly Lys Lys Ser Ser Gly Tyr Thr Gly Phe Gln Ala Lys Thr
 485 490 495

Met Phe Glu Glu Gln Ser Thr Tyr Phe Asp Ile Val Leu Gly Gly Ser
 500 505 510

Pro Ala Ser Gly Val Gln Phe Leu Thr Ser Gln Ala Met Pro Ser Gln
 515 520 525

Cys Ser
 530

<210> 8

<211> 358

<212> PRT

<213> *Fusarium graminearum*

<400> 8

Met Ala Ser Ala Thr Arg Gln Phe Ala Arg Ala Ala Thr Arg Ala Thr
 1 5 10 15

Arg Asn Gly Phe Ala Ile Ala Pro Arg Gln Val Ile Arg Gln Gln Gly
 20 25 30

Arg Arg Tyr Tyr Ser Ser Glu Pro Ala Gln Lys Ser Ser Ser Ala Trp
 35 40 45

Ile Trp Leu Thr Gly Ala Ala Val Ala Gly Gly Ala Gly Tyr Tyr Phe
 50 55 60

Tyr Gly Asn Ser Ala Ser Ser Ala Thr Ala Lys Val Phe Asn Pro Ser
 65 70 75 80

Lys Glu Asp Tyr Gln Lys Val Tyr Asn Glu Ile Ala Ala Arg Leu Glu
 85 90 95

Glu Lys Asp Asp Tyr Asp Asp Gly Ser Tyr Gly Pro Val Leu Val Arg
 100 105 110

Leu Ala Trp His Ala Ser Gly Thr Tyr Asp Lys Glu Thr Gly Thr Gly
 115 120 125

Gly Ser Asn Gly Ala Thr Met Arg Phe Ala Pro Glu Ser Asp His Gly
 130 135 140

Ala Asn Ala Gly Leu Ala Ala Ala Arg Asp Phe Leu Gln Pro Val Lys

145 150 155 160
 Glu Lys Phe Pro Trp Ile Thr Tyr Ser Asp Leu Trp Ile Leu Ala Gly

 165 170 175
 Val Cys Ala Ile Gln Glu Met Leu Gly Pro Ala Ile Pro Tyr Arg Pro

 180 185 190
 Gly Arg Ser Asp Arg Asp Val Ser Gly Cys Thr Pro Asp Gly Arg Leu

 195 200 205
 Pro Asp Ala Ser Lys Arg Gln Asp His Leu Arg Gly Ile Phe Gly Arg

 210 215 220
 Met Gly Phe Asn Asp Gln Glu Ile Val Ala Leu Ser Gly Ala His Ala

225 230 235 240
 Leu Gly Arg Cys His Thr Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Gly Pro Trp Thr

 245 250 255
 Phe Ser Pro Thr Val Leu Thr Asn Asp Tyr Phe Arg Leu Leu Val Glu

 260 265 270
 Glu Lys Trp Gln Trp Lys Lys Trp Asn Gly Pro Ala Gln Tyr Glu Asp

 275 280 285
 Lys Ser Thr Lys Ser Leu Met Met Leu Pro Ser Asp Ile Ala Leu Ile

 290 295 300
 Glu Asp Lys Lys Phe Lys Pro Trp Val Glu Lys Tyr Ala Lys Asp Asn

305 310 315 320
 Asp Ala Phe Phe Lys Asp Phe Ser Asn Val Val Leu Arg Leu Phe Glu

 325 330 335
 Leu Gly Val Pro Phe Ala Gln Gly Thr Glu Asn Gln Arg Trp Thr Phe

 340 345 350
 Lys Pro Thr His Gln Glu

355

<210> 9

<211> 122

<212> PRT

<213> Chlamydomonas eugametos

<400> 9

Met Ser Leu Phe Ala Lys Leu Gly Gly Arg Glu Ala Val Glu Ala Ala
 1 5 10 15
 Val Asp Lys Phe Tyr Asn Lys Ile Val Ala Asp Pro Thr Val Ser Thr
 20 25 30
 Tyr Phe Ser Asn Thr Asp Met Lys Val Gln Arg Ser Lys Gln Phe Ala
 35 40 45
 Phe Leu Ala Tyr Ala Leu Gly Gly Ala Ser Glu Trp Lys Gly Lys Asp

 50 55 60
 Met Arg Thr Ala His Lys Asp Leu Val Pro His Leu Ser Asp Val His
 65 70 75 80
 Phe Gln Ala Val Ala Arg His Leu Ser Asp Thr Leu Thr Glu Leu Gly
 85 90 95
 Val Pro Pro Glu Asp Ile Thr Asp Ala Met Ala Val Val Ala Ser Thr
 100 105 110
 Arg Thr Glu Val Leu Asn Met Pro Gln Gln
 115 120

<210> 10

<211> 121

<212> PRT

<213> Tetrahymena pyriformis

<400> 10

Met Asn Lys Pro Gln Thr Ile Tyr Glu Lys Leu Gly Gly Glu Asn Ala
 1 5 10 15
 Met Lys Ala Ala Val Pro Leu Phe Tyr Lys Lys Val Leu Ala Asp Glu
 20 25 30
 Arg Val Lys His Phe Phe Lys Asn Thr Asp Met Asp His Gln Thr Lys
 35 40 45
 Gln Gln Thr Asp Phe Leu Thr Met Leu Leu Gly Gly Pro Asn His Tyr

 50 55 60
 Lys Gly Lys Asn Met Thr Glu Ala His Lys Gly Met Asn Leu Gln Asn
 65 70 75 80

Met Pro Leu Thr Pro Glu Gln Ile Lys Ile Ile Lys Ala Thr Val Pro
 1 5 10 15
 Val Leu Gln Glu Tyr Gly Thr Lys Ile Thr Thr Ala Phe Tyr Met Asn
 20 25 30
 Met Ser Thr Val His Pro Glu Leu Asn Ala Val Phe Asn Thr Ala Asn
 35 40 45
 Gln Val Lys Gly His Gln Ala Arg Ala Leu Ala Gly Ala Leu Phe Ala
 50 55 60
 Tyr Ala Ser His Ile Asp Asp Leu Gly Ala Leu Gly Pro Ala Val Glu
 65 70 75 80
 Leu Ile Cys Asn Lys His Ala Ser Leu Tyr Ile Gln Ala Asp Glu Tyr
 85 90 95
 Lys Ile Val Gly Lys Tyr Leu Leu Glu Ala Met Lys Glu Val Leu Gly
 100 105 110
 Asp Ala Cys Thr Asp Asp Ile Leu Asp Ala Trp Gly Ala Ala Tyr Trp
 115 120 125
 Ala Leu Ala Asp Ile Met Ile Asn Arg Glu Ala Ala Leu Tyr Lys Gln
 130 135 140
 Ser Gln Gly
 145
 <210> 13
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> Zea mays
 <400> 13
 Met Ala Leu Ala Glu Ala Asp Asp Gly Ala Val Val Phe Gly Glu Glu
 1 5 10 15
 Gln Glu Ala Leu Val Leu Lys Ser Trp Ala Val Met Lys Lys Asp Ala
 20 25 30
 Ala Asn Leu Gly Leu Arg Phe Phe Leu Lys Val Phe Glu Ile Ala Pro
 35 40 45
 Ser Ala Glu Gln Met Phe Ser Phe Leu Arg Asp Ser Asp Val Pro Leu

50 55 60
 Glu Lys Asn Pro Lys Leu Lys Thr His Ala Met Ser Val Phe Val Met
 65 70 75 80
 Thr Cys Glu Ala Ala Ala Gln Leu Arg Lys Ala Gly Lys Val Thr Val
 85 90 95

 Arg Glu Thr Thr Leu Lys Arg Leu Gly Ala Thr His Leu Arg Tyr Gly
 100 105 110
 Val Ala Asp Gly His Phe Glu Val Thr Gly Phe Ala Leu Leu Glu Thr
 115 120 125
 Ile Lys Glu Ala Leu Pro Ala Asp Met Trp Ser Leu Glu Met Lys Lys
 130 135 140
 Ala Trp Ala Glu Ala Tyr Ser Gln Leu Val Ala Ala Ile Lys Arg Glu
 145 150 155 160

Met Lys Pro Asp Ala
 165

<210> 14

<211> 169

<212> PRT

<213> *Oryza sativa* subsp. *japonica*

<400> 14

Met Ala Leu Val Glu Gly Asn Asn Gly Val Ser Gly Gly Ala Val Ser
 1 5 10 15
 Phe Ser Glu Glu Gln Glu Ala Leu Val Leu Lys Ser Trp Ala Ile Met
 20 25 30
 Lys Lys Asp Ser Ala Asn Ile Gly Leu Arg Phe Phe Leu Lys Ile Phe
 35 40 45

Glu Val Ala Pro Ser Ala Ser Gln Met Phe Ser Phe Leu Arg Asn Ser
 50 55 60
 Asp Val Pro Leu Glu Lys Asn Pro Lys Leu Lys Thr His Ala Met Ser
 65 70 75 80
 Val Phe Val Met Thr Cys Glu Ala Ala Ala Gln Leu Arg Lys Ala Gly
 85 90 95

Lys Val Thr Val Arg Asp Thr Thr Leu Lys Arg Leu Gly Ala Thr His
 100 105 110

Phe Lys Tyr Gly Val Gly Asp Ala His Phe Glu Val Thr Arg Phe Ala
 115 120 125

Leu Leu Glu Thr Ile Lys Glu Ala Val Pro Val Asp Met Trp Ser Pro
 130 135 140

Ala Met Lys Ser Ala Trp Ser Glu Ala Tyr Asn Gln Leu Val Ala Ala
 145 150 155 160

Ile Lys Gln Glu Met Lys Pro Ala Glu
 165

<210> 15

<211> 160

<212> PRT

<213>

> Arabidopsis thaliana

<400> 15

Met Glu Ser Glu Gly Lys Ile Val Phe Thr Glu Glu Gln Glu Ala Leu
 1 5 10 15

Val Val Lys Ser Trp Ser Val Met Lys Lys Asn Ser Ala Glu Leu Gly
 20 25 30

Leu Lys Leu Phe Ile Lys Ile Phe Glu Ile Ala Pro Thr Thr Lys Lys
 35 40 45

Met Phe Ser Phe Leu Arg Asp Ser Pro Ile Pro Ala Glu Gln Asn Pro
 50 55 60

Lys Leu Lys Pro His Ala Met Ser Val Phe Val Met Cys Cys Glu Ser
 65 70 75 80

Ala Val Gln Leu Arg Lys Thr Gly Lys Val Thr Val Arg Glu Thr Thr
 85 90 95

Leu Lys Arg Leu Gly Ala Ser His Ser Lys Tyr Gly Val Val Asp Glu
 100 105 110

His Phe Glu Val Ala Lys Tyr Ala Leu Leu Glu Thr Ile Lys Glu Ala
 115 120 125

Val Pro Glu Met Trp Ser Pro Glu Met Lys Val Ala Trp Gly Gln Ala
 130 135 140

Tyr Asp His Leu Val Ala Ala Ile Lys Ala Glu Met Asn Leu Ser Asn
 145 150 155 160

<210> 16

<211> 147

<212> PRT

<213> Pisum sativum

<400> 16

Met Gly Phe Thr Asp Lys Gln Glu Ala Leu Val Asn Ser Ser Trp Glu
 1 5 10 15

Ser Phe Lys Gln Asn Leu Ser Gly Asn Ser Ile Leu Phe Tyr Thr Ile
 20 25 30

Ile Leu Glu Lys Ala Pro Ala Ala Lys Gly Leu Phe Ser Phe Leu Lys
 35 40 45

Asp Thr Ala Gly Val Glu Asp Ser Pro Lys Leu Gln Ala His Ala Glu
 50 55 60

Gln Val Phe Gly Leu Val Arg Asp Ser Ala Ala Gln Leu Arg Thr Lys
 65 70 75 80

Gly Glu Val Val Leu Gly Asn Ala Thr Leu Gly Ala Ile His Val Gln
 85 90 95

Arg Gly Val Thr Asp Pro His Phe Val Val Val Lys Glu Ala Leu Leu
 100 105 110

Gln Thr Ile Lys Lys Ala Ser Gly Asn Asn Trp Ser Glu Glu Leu Asn
 115 120 125

Thr Ala Trp Glu Val Ala Tyr Asp Gly Leu Ala Thr Ala Ile Lys Lys
 130 135 140

Ala Met Thr
 145

<210> 17

<211> 145

<212> PRT

<213> *Vigna unguiculata*

<400> 17

Met Val Ala Phe Ser Asp Lys Gln Glu Ala Leu Val Asn Gly Ala Tyr

1 5 10 15

Glu Ala Phe Lys Ala Asn Ile Pro Lys Tyr Ser Val Val Phe Tyr Thr

20 25 30

Thr Ile Leu Glu Lys Ala Pro Ala Ala Lys Asn Leu Phe Ser Phe Leu

35 40 45

Ala Asn Gly Val Asp Ala Thr Asn Pro Lys Leu Thr Gly His Ala Glu

50 55 60

Lys Leu Phe Gly Leu Val Arg Asp Ser Ala Ala Gln Leu Arg Ala Ser

65 70 75 80

Gly Gly Val Val Ala Asp Ala Ala Leu Gly Ala Val His Ser Gln Lys

85 90 95

Ala Val Asn Asp Ala Gln Phe Val Val Val Lys Glu Ala Leu Val Lys

100 105 110

Thr Leu Lys Glu Ala Val Gly Asp Lys Trp Ser Asp Glu Leu Gly Thr

115 120 125

Ala Val Glu Leu Ala Tyr Asp Glu Leu Ala Ala Ala Ile Lys Lys Ala

130 135 140

Tyr

145

<210> 18

<211> 154

<212> PRT

<213> *Bos taurus*

<400> 18

Met Gly Leu Ser Asp Gly Glu Trp Gln Leu Val Leu Asn Ala Trp Gly

1 5 10 15

Lys Val Glu Ala Asp Val Ala Gly His Gly Gln Glu Val Leu Ile Arg

20 25 30

Leu Phe Thr Gly His Pro Glu Thr Leu Glu Lys Phe Asp Lys Phe Lys

Lys His Lys Ile Pro Val Lys Tyr Leu Glu Phe Ile Ser Glu Ala Ile
 100 105 110

Ile Gln Val Leu Gln Ser Lys His Pro Gly Asp Phe Gly Ala Asp Ala
 115 120 125

Gln Gly Ala Met Ser Lys Ala Leu Glu Leu Phe Arg Asn Asp Met Ala
 130 135 140

Ala Lys Tyr Lys Glu Leu Gly Phe Gln Gly
 145 150

<210> 20

<211> 154

<212> PRT

<213> Equus caballus

<400> 20

Met Gly Leu Ser Asp Gly Glu Trp Gln Gln Val Leu Asn Val Trp Gly
 1 5 10 15

Lys Val Glu Ala Asp Ile Ala Gly His Gly Gln Glu Val Leu Ile Arg
 20 25 30

Leu Phe Thr Gly His Pro Glu Thr Leu Glu Lys Phe Asp Lys Phe Lys
 35 40 45

His Leu Lys Thr Glu Ala Glu Met Lys Ala Ser Glu Asp Leu Lys Lys
 50 55 60

His Gly Thr Val Val Leu Thr Ala Leu Gly Gly Ile Leu Lys Lys Lys
 65 70 75 80

Gly His His Glu Ala Glu Leu Lys Pro Leu Ala Gln Ser His Ala Thr
 85 90 95

Lys His Lys Ile Pro Ile Lys Tyr Leu Glu Phe Ile Ser Asp Ala Ile
 100 105 110

Ile His Val Leu His Ser Lys His Pro Gly Asp Phe Gly Ala Asp Ala
 115 120 125

Gln Gly Ala Met Thr Lys Ala Leu Glu Leu Phe Arg Asn Asp Ile Ala
 130 135 140

Ala Lys Tyr Lys Glu Leu Gly Phe Gln Gly

145 150

<210> 21

<211> 152

<212> PRT

<213> *Nicotiana benthamiana*

<400> 21

Met Ser Ser Phe Thr Glu Glu Gln Glu Ala Leu Val Val Lys Ser Trp

1 5 10 15

Asp Ser Met Lys Lys Asn Ala Gly Glu Trp Gly Leu Lys Leu Phe Leu

20 25 30

Lys Ile Phe Glu Ile Ala Pro Ser Ala Lys Lys Leu Phe Ser Phe Leu

35 40 45

Lys Asp Ser Asn Val Pro Leu Glu Gln Asn Ala Lys Leu Lys Pro His

50 55 60

Ser Lys Ser Val Phe Val Met Thr Cys Glu Ala Ala Val Gln Leu Arg

65 70 75 80

Lys Ala Gly Lys Val Val Val Arg Asp Ser Thr Leu Lys Lys Leu Gly

85 90 95

Ala Thr His Phe Lys Tyr Gly Val Ala Asp Glu His Phe Glu Val Thr

100 105 110

Lys Phe Ala Leu Leu Glu Thr Ile Lys Glu Ala Val Pro Glu Met Trp

115 120 125

Ser Val Asp Met Lys Asn Ala Trp Gly Glu Ala Phe Asp Gln Leu Val

130 135 140

Asn Ala Ile Lys Thr Glu Met Lys

145 150

<210> 22

<211> 132

<212> PRT

<213> *Bacillus subtilis*

<400> 22

Met Gly Gln Ser Phe Asn Ala Pro Tyr Glu Ala Ile Gly Glu Glu Leu

1 5 10 15
 Leu Ser Gln Leu Val Asp Thr Phe Tyr Glu Arg Val Ala Ser His Pro
 20 25 30

Leu Leu Lys Pro Ile Phe Pro Ser Asp Leu Thr Glu Thr Ala Arg Lys
 35 40 45

Gln Lys Gln Phe Leu Thr Gln Tyr Leu Gly Gly Pro Pro Leu Tyr Thr
 50 55 60

Glu Glu His Gly His Pro Met Leu Arg Ala Arg His Leu Pro Phe Pro
 65 70 75 80

Ile Thr Asn Glu Arg Ala Asp Ala Trp Leu Ser Cys Met Lys Asp Ala
 85 90 95

Met Asp His Val Gly Leu Glu Gly Glu Ile Arg Glu Phe Leu Phe Gly
 100 105 110

Arg Leu Glu Leu Thr Ala Arg His Met Val Asn Gln Thr Glu Ala Glu
 115 120 125

Asp Arg Ser Ser
 130

<210> 23

<211> 131

<212> PRT

<213> *Corynebacterium glutamicum*

<400> 23

Met Thr Thr Ser Glu Asn Phe Tyr Asp Ser Val Gly Gly Glu Glu Thr
 1 5 10 15

Phe Ser Leu Ile Val His Arg Phe Tyr Glu Gln Val Pro Asn Asp Asp
 20 25 30

Ile Leu Gly Pro Met Tyr Pro Pro Asp Asp Phe Glu Gly Ala Glu Gln
 35 40 45

Arg Leu Lys Met Phe Leu Ser Gln Tyr Trp Gly Gly Pro Lys Asp Tyr
 50 55 60

Gln Glu Gln Arg Gly His Pro Arg Leu Arg Met Arg His Val Asn Tyr

<212> PRT

<213> Synechococcus sp.

<400> 25

Met Asp Val Ala Leu Leu Glu Lys Ser Phe Glu Gln Ile Ser Pro Arg

1 5 10 15
Ala Ile Glu Phe Ser Ala Ser Phe Tyr Gln Asn Leu Phe His His His

 20 25 30
Pro Glu Leu Lys Pro Leu Phe Ala Glu Thr Ser Gln Thr Ile Gln Glu

 35 40 45
Lys Lys Leu Ile Phe Ser Leu Ala Ala Ile Ile Glu Asn Leu Arg Asn

 50 55 60
Pro Asp Ile Leu Gln Pro Ala Leu Lys Ser Leu Gly Ala Arg His Ala

65 70 75 80
Glu Val Gly Thr Ile Lys Ser His Tyr Pro Leu Val Gly Gln Ala Leu

 85 90 95
Ile Glu Thr Phe Ala Glu Tyr Leu Ala Ala Asp Trp Thr Glu Gln Leu

 100 105 110
Ala Thr Ala Trp Val Glu Ala Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Met Ile

 115 120 125
Glu Gly Ala Asp Asn Pro Ala Ala Tyr Leu Glu Pro Glu Leu Thr Phe

 130 135 140
Tyr Glu Trp Leu Asp Leu Tyr Gly Glu Glu Ser Pro Lys Val Arg Asn

145 150 155 160
Ala Ile Ala Thr Leu Thr His Phe His Tyr Gly Glu Asp Pro Gln Asp

 165 170 175
Val Gln Arg Asp Ser Arg Gly

180

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> Nostoc commune

<400> 26

Met Ser Thr Leu Tyr Asp Asn Ile Gly Gly Gln Pro Ala Ile Glu Gln

1 5 10 15

Val Val Asp Glu Leu His Lys Arg Ile Ala Thr Asp Ser Leu Leu Ala

20 25 30

Pro Val Phe Ala Gly Thr Asp Met Val Lys Gln Arg Asn His Leu Val

35 40 45

Ala Phe Leu Ala Gln Ile Phe Glu Gly Pro Lys Gln Tyr Gly Gly Arg

50 55 60

Pro Met Asp Lys Thr His Ala Gly Leu Asn Leu Gln Gln Pro His Phe

65 70 75 80

Asp Ala Ile Ala Lys His Leu Gly Glu Arg Met Ala Val Arg Gly Val

85 90 95

Ser Ala Glu Asn Thr Lys Ala Ala Leu Asp Arg Val Thr Asn Met Lys

100 105 110

Gly Ala Ile Leu Asn Lys

115

<210> 27

<211> 136

<212> PRT

<213> Bacillus megaterium

<400> 27

Met Arg Glu Lys Ile His Ser Pro Tyr Glu Leu Leu Gly Gly Glu His

1 5 10 15

Thr Ile Ser Lys Leu Val Asp Ala Phe Tyr Thr Arg Val Gly Gln His

20 25 30

Pro Glu Leu Ala Pro Ile Phe Pro Asp Asn Leu Thr Glu Thr Ala Arg

35 40 45

Lys Gln Lys Gln Phe Leu Thr Gln Tyr Leu Gly Gly Pro Ser Leu Tyr

50 55 60

Thr Glu Glu His Gly His Pro Met Leu Arg Ala Arg His Leu Pro Phe

65 70 75 80

Glu Ile Thr Pro Ser Arg Ala Lys Ala Trp Leu Thr Cys Met His Glu
85 90 95
Ala Met Asp Glu Ile Asn Leu Glu Gly Pro Glu Arg Asp Glu Leu Tyr
100 105 110
His Arg Leu Ile Leu Thr Ala Gln His Met Ile Asn Ser Pro Glu Gln
115 120 125
Thr Asp Glu Lys Gly Phe Ser His
130 135