



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0103846
(43) 공개일자 2021년08월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12P 19/18 (2006.01) A21D 2/18 (2006.01)

A21D 8/04 (2017.01)

(52) CPC특허분류

C12P 19/18 (2013.01)

A21D 2/18 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0018527

(22) 출원일자 2020년02월14일

심사청구일자 2020년02월14일

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

한국식품연구원

전라북도 완주군 이서면 농생명로 245

(72) 발명자

심재훈

강원도 춘천시 지석로 67, 210동 201호

우승혜

경기도 구리시 검배로 142, 203동 1602호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태동

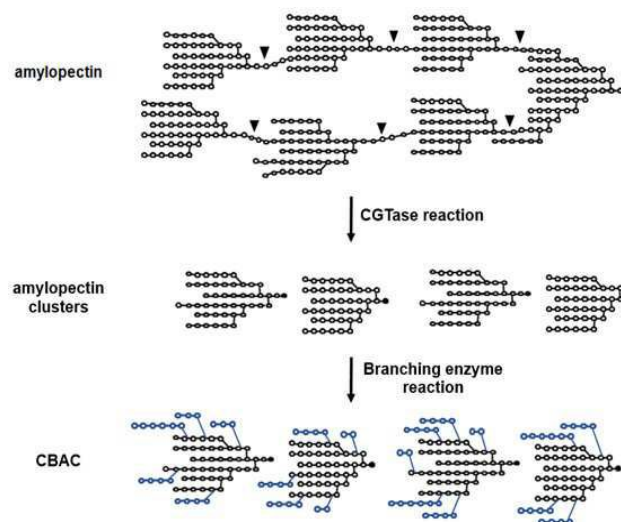
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **복합적 효소 처리를 통한 아밀로펙틴 클러스터 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 복합적 효소 처리를 통한 아밀로펙틴 클러스터의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 옥수수 전분(corn starch)에 복합적 효소 처리를 하여 수분 보유력이 증대된 아밀로펙틴 클러스터 제조방법에 관한 것이다. 본 발명은 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)와 브랜칭엔자임(branching enzyme)을 이용한 복합적 효소 처리를 통해 수분 보유력이 증대된 아밀로펙틴 클러스터를 제공할 수 있다. 또한, 본 발명의 아밀로펙틴 클러스터를 첨가된 생지를 이용한 제빵에 적용할 시, 높은 제빵능, 냉해동 안정성 및 높은 수분 보유력을 발휘할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A21D 8/04 (2013.01)

(72) 발명자

김지수

강원도 춘천시 수풍골길 13번길 5, 301호

최희돈

경기도 용인시 기흥구 기흥역로 63, 205동 4505호

홍정선

전라북도 전주시 완산구 삼천천변2길 51, 102동 611호

김병목

강원도 강릉시 화부산로111번길 24, 203동 501호

이민혁

전라북도 완주군 이서면 갈산1로 17, 201호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호

E0164800-05

부처명

과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명

국가과학기술연구회

연구사업명

기관고유임무형사업

연구과제명

전분질 식품의 노화억제 기술개발

기 여 율

1/1

과제수행기관명

한국식품연구원

연구기간

2019.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

전분에 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)와 브랜칭엔자임(branching enzyme)을 복합 처리하여 반응시키는 것을 특징으로 하는 아밀로펙틴 클러스터의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 전분은,

호화된 전분인 것을 특징으로 하는 아밀로펙틴 클러스터의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 반응은,

50~70℃에서 2~4시간 수행하는 것을 특징으로 하는 아밀로펙틴 클러스터의 제조방법.

청구항 4

제1항의 방법에 의해 제조한 아밀로펙틴 클러스터가 첨가된 생지.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 제1항의 방법에 의해 제조한 아밀로펙틴 클러스터는

생지 전체 중량에 3~7 중량% 함유되는 것을 특징으로 하는 생지.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 복합적 효소 처리를 통한 아밀로펙틴 클러스터의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 옥수수 전분(corn starch)에 복합적 효소 처리를 하여 수분 보유력이 증대된 아밀로펙틴 클러스터 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 냉동 반죽에 대한 관심은 주로 중앙 집중식 제조 및 유통 과정의 경제적 이점, 제품 품질의 표준화에 의해 증가되어 왔다. 하지만 냉동 반죽으로 제조된 베이커리 제품은 일반적으로 신선한 반죽으로 제조된 빵보다 부피가 작고 품질이 낮으며 전분의 노화가 더 빨리 진행된다는 문제가 있다.

[0003] 한편, 반죽을 냉해동 시 전분 또는 단백질과 결합하지 못한 반죽으로부터 분리되는 물에 의해 발생하는 얼음 결

정이 반죽의 글루텐 네트워크를 약화시키고 효모의 생존율을 감소시켜 빵의 품질에 악영향을 끼치게 된다. 또한, 글루텐 네트워크가 약화됨에 따라 빵은 효모가 방출하는 가스를 유지하기 어려워 부피가 감소하는 현상이 나타난다.

- [0004] 상기와 같은 문제들을 개선하기 위해 수분 보유력이 높은 검(gum)류나 하이드로콜로이드(hydrocolloids)와 같은 화학적 첨가물 및 당류, 저온에도 생육이 가능한 효모가 다양한 식품 첨가물로 연구되어 왔지만 본질적으로 전분 소재에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서, 수분 보유력이 증대되면서, 실제 식품에 적용하여 냉해동 후에도 제품의 품질이 유지될 수 있는 전분 소재를 개발하는 것이 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0005] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-0868329호(등록일자: 2008.11.05)는, 효소를 이용한 고분지 아밀로오스 및 아밀로펙틴클러스터의 제조방법에 관한 것으로, 말토제닉 아밀레이즈와 알파글루카노트랜스퍼레이즈 또는 브랜칭엔자임을 이용하여 신규 기능성 물질인 고분지 아밀로펙틴 클러스터와 고분지 아밀로오스의 제조방법에 대해 기재되어 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 옥수수 전분(corn starch)에 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)와 브랜칭 엔자임(branching enzyme)을 이용한 복합적 효소 처리를 통해 수분 보유력이 증대된 아밀로펙틴 클러스터 제조방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0007] 본 발명은 전분에 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)와 브랜칭 엔자임(branching enzyme)을 복합 처리하여 반응시키는 것을 특징으로 하는 아밀로펙틴 클러스터의 제조방법을 제공한다.
- [0008] 한편, 본 발명에 있어서, 상기 전분은, 바람직하게는 호화된 전분인 것일 수 있다.
- [0009] 한편, 본 발명에 있어서, 상기 반응은, 바람직하게는 50~70℃에서 2~4시간 수행하는 것일 수 있다.
- [0010] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조한 아밀로펙틴 클러스터가 첨가된 생지를 제공한다.
- [0011] 한편, 본 발명에 있어서, 상기 방법에 의해 제조한 아밀로펙틴 클러스터는, 바람직하게는 생지 전체 중량에 3~7 중량% 함유되는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명은 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)와 브랜칭 엔자임(branching enzyme)을 이용한 복합적 효소 처리를 통해 수분 보유력이 증대된 아밀로펙틴 클러스터를 제공할 수 있다.
- [0013] 또한, 본 발명의 아밀로펙틴 클러스터를 첨가된 생지를 이용한 제빵에 적용할 시, 높은 제빵능, 냉해동 안정성 및 높은 수분 보유력을 발휘할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0014] 도 1은 CGTase 반응 시간에 따른 1% 옥수수 전분 용액의 혼탁도 변화를 나타낸 그림이다.
- 도 2는 본 발명의 CGTase와 브랜칭 엔자임을 이용한 아밀로펙틴 클러스터, 즉, CBAC의 제조 과정을 나타낸 모식도이다.
- 도 3은 본 발명의 CBAC의 전분 측쇄 구조를 비교 분석한 결과 그래프이다.

도 4는 본 발명의 CBAC의 전분 측쇄 구조를 비교 분석한 결과 그래프이다.

도 5는 본 발명의 CBAC의 냉해동 주기가 증가함에 따른 전분 용액의 혼탁도 변화를 나타낸 그림이다. 비교구로 일반 옥수수 전분을 사용하였다.

도 6은 본 발명의 CBAC가 첨가된 냉동 생지를 이용한 제빵의 부피를 측정한 결과 그래프다. 비교구로 대조구 및 냉해동 안정 전분(clean label)을 사용하였다.

도 7은 본 발명의 CBAC가 첨가된 냉동 생지를 이용한 제빵의 물성을 측정한 결과 그래프이다. 비교구로 대조구 및 냉해동 안정 전분(clean label)을 사용하였다.

도 8은 본 발명의 CBAC가 첨가된 냉동 생지의 freezable water를 측정한 결과 그래프이다. 비교구로 대조구 및 냉해동 안정 전분(clean label)을 사용하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 냉동 반죽에 대한 관심은 주로 중앙 집중식 제조 및 유통 과정의 경제적 이점, 제품 품질의 표준화에 의해 증가되어 왔지만 반죽을 냉해동 시 전분 또는 단백질과 결합하지 못한 반죽으로부터 분리되는 물에 의해 발생하는 얼음 결정이 반죽의 글루텐 네트워크를 약화시키고 효모의 생존율을 감소시켜 빵의 품질에 악영향을 끼칠 수 있다는 문제가 있다. 또한, 글루텐 네트워크가 약화됨에 따라 빵은 효모가 방출하는 가스를 유지하기 어려워 부피가 감소하는 현상이 나타나는 문제가 있다. 따라서 본 발명에서는 수분 보유력이 증대되면서, 실제 식품에 적용하여 냉해동 후에도 제품의 품질이 유지될 수 있는 전분 소재를 개발하였다.
- [0016] 이에, 본 발명은 전분에 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)와 브랜칭 엔자임(branching enzyme)을 복합 처리하여 반응시키는 것을 특징으로 하는 아밀로펙틴 클러스터의 제조방법을 제공한다.
- [0017] 아밀로펙틴(amylopectin)은 식물에서 존재하는 다당류의 일종으로 아밀로오스와 함께 녹말을 구성하는 주요 성분이다. 아밀로펙틴은 알파-1,4(α -1,4) 글리코시드 결합을 통해 서로 결합되어 있는 구조를 이루고 있으며, 24~30개의 포도당마다 알파-1,6(α -1,6) 글리코시드 결합으로 이루어진 많은 가지를 가지는 수용성 고분자 중합체이다. 여러 개의 가지 끝에는 환원 가능한 당이 존재하여 아밀로오스와 비교하여 빨리 가수 분해되는 장점이 있다.
- [0018] 한편, 본 발명에 있어서, 상기 전분은, 바람직하게 호화된 전분인 것일 수 있으며, 전분의 호화는 전분에 물을 첨가하고 끓임으로써 제조할 수 있다. 전분의 종류는 당 업계에서 사용하는 전분이면 어느 것이나 사용할 수 있으며, 본 발명에서는 1%의 옥수수 전분을 사용하였다.
- [0019] 한편, 본 발명에 있어서, 상기 반응은, 바람직하게 50~70℃에서 2~4시간 수행하는 것이 좋은데, 이는 사용하는 효소들의 최적 활성이 나타나는 조건이다. 상기 반응조건에서 벗어날 경우, 측쇄 구조가 변화하므로 수분 보유력 증대를 특징으로 하는 아밀로펙틴 클러스터를 형성하지 않을 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조한 아밀로펙틴 클러스터가 첨가된 생지를 제공한다.
- [0021] 한편, 본 발명에 있어서, 상기 방법에 의해 제조한 아밀로펙틴 클러스터는, 바람직하게 생지 전체 중량에 3~7 중량% 함유되는 것일 수 있다.
- [0022] 한편, 하기 실험에 의하면, 본 발명에서 전분의 DP30 이상의 긴 사슬 비율과 DP10 이하의 비율이 높아 분지가 짧은 아밀로펙틴 클러스터(CBAC)가 대량으로 제조되었고, 제조된 아밀로펙틴 클러스터(CBAC)의 짧은 분지는 겔 네트워크 형성을 통해 수분이 이수되는 것을 제한하므로 일반 전분과 CGTase 단독 처리 전분보다 높은 수분 보유력을 가질 수 있었다. 또한, CBAC는 수분과의 친화도가 높아 액상 형태에서 냉해동 안정성이 높았다. 또한, CBAC를 첨가한 냉동 생지를 제빵에 적용할 시, 대조구 및 시중에 판매되는 냉해동 안정 전분보다 높은 부피 유지능을 나타내고, 빵의 물성도 뛰어났으며, freezable water의 양이 가장 적어 빵의 품질을 유지하는데 높은 효능이 있음을 확인할 수 있었다. 이를 통해 본 발명에서는 수분 보유력이 증대된 전분 소재인 CBAC를 개발함으로써, 냉해동 후에도 제품의 품질을 유지할 수 있다는 특징점을 통해 식품 및 전분 소재 산업에서 활용 가능성을 확인할 수 있었다.
- [0023] 이하, 본 발명의 내용을 하기 실시예 및 실험예를 통해 더욱 상세히 설명하고자 한다. 다만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에만 한정되는 것은 아니고, 그와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 포함한다.

[0025] [실시예 1: 복합적 효소 처리를 통한 아밀로펙틴 클러스터(amylopectin cluster) 제조]

[0026] 본 실시예에서는 복합적 효소 처리(사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)+브랜칭엔자임(branching enzyme))을 통한 아밀로펙틴 클러스터(amylopectin cluster)를 제조하고자 하였다.

[0028] 1) 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)를 이용한 아밀로펙틴 클러스터 amylopectin cluster) 제조

[0029] 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)는 사이클로덱스트린(cyclodextrin)을 형성하는 기능 이외에 아밀로펙틴(amylopectin)을 클러스터(cluster) 단위로 가수분해하는 기능을 가지고 있다. 1% 옥수수 전분(corn starch)로 아밀로펙틴 클러스터를 제조할 수 있게 최적의 조건으로 CGTase를 반응시키고자 하였다.

[0030] 50mL의 1% 옥수수 전분을 50 mM 소듐 아세테이트 버퍼(sodium acetate buffer)(pH 6.0)에 넣고, 10분간 끓여 호화시켰다. 호화전분을 냉각 후 0.000001872 u/mg 기질의 CGTase 효소를 넣어 항온교반기에서 60℃로 24시간 반응하였다. 효소 반응은 10분간 100℃로 끓여 반응을 정지시켰다. 효소 반응에 따른 1% 옥수수 전분의 혼탁도 변화는 각각의 효소 반응 전분액 1,000 μ l를 큐벳(cuvet)에 담아 분광광계도(spectrophotometer)로 600 nm에서 측정하였다.(Optizen POP, Mecasys Co. Ltd.; Daejeon, Korea)

[0031] CGTase 효소 반응 시간에 따른 1%의 옥수수 전분 용액의 혼탁도 변화를 측정한 결과, 도 1과 같이 CGTase 효소 반응 시간이 증가함에 따라 용액의 투명도가 증가하였고, 하기 표 1과 같이 용액의 투명도가 증가하여 흡광도 값이 감소하였다.

표 1

시간(h)	흡광도 값(600 nm)
1h	0.550
2h	0.320
3h	0.251
5h	0.232
7h	0.194
24h	0.138

[0034] 2) 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)와 브랜칭엔자임(branching enzyme)을 동시에 이용한 아밀로펙틴 클러스터 amylopectin cluster) 제조

[0035] 1% 옥수수 전분에 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)와 브랜칭엔자임(branching enzyme, EC 2.4.1.18)을 동시에 반응시켜 아밀로펙틴 클러스터를 제조하였다. 브랜칭엔자임은 전분 사슬에 알파-1,6(α -1,6) 결합을 더하여 전분 사슬의 가지를 증가시키게 된다.

[0036] 50mL의 1% 옥수수 전분을 50 mM 소듐 아세테이트 버퍼(sodium acetate buffer)(pH 6.0)에 넣고, 10분간 끓여 호화시켰다. 호화전분을 냉각 후 0.000001872 u/mg 기질의 CGTase 효소와 0.645 u/mg 기질의 브랜칭엔자임 효소를 넣어 항온교반기에서 60℃로 3시간 동안 반응하였다. 효소 반응은 20분간 100℃로 끓여 반응을 정지시켰다.

[0038] 상기와 같이 CGTase를 이용하여 아밀로펙틴을 클러스터 단위로 가수분해한 뒤, 브랜칭엔자임으로 아밀로펙틴 클러스터에 가지를 덧붙여 수분 보유력이 향상된 아밀로펙틴을 제조하였고, 이로 인해 제조된 전분을 CBAC라고 명명하였다. CBAC의 제조과정은 도 2에 나타내었다. 하기에서는 본 발명의 CBAC의 효능을 실험을 통해 확인하였다.

[0040] [실험예 1: 복합적 효소 처리를 통해 제조된 CBAC의 전분 측쇄 구조변화 분석]

[0041] 본 실험예에서는 본 발명의 CBAC의 전분 측쇄 구조를 분석하였다. 이를 위해 하이 퍼포먼스 아ни온 익스체인지 크로마토그래피(High Performance Anion Exchange Chromatography, HPAEC)를 이용하였다. HPAEC로 측쇄 구조를 분석하기에 앞서, 효소 반응으로 생성된 소당류들을 에탄올(ethanol) 침전법에 의해 모두 제거한 다음, 전분에 아이소아밀레이스(isoamylase)를 반응시켜 전분의 알파-1,6(α-1,6) 결합을 가수분해하여 각각의 전분 사슬을 분석하였다.

[0043] 구체적으로 설명하자면, CBAC 이외에 효소 반응 산물로써 생성된 소당류들을 제거하기 위해 반응액 2배 부피의 에탄올을 첨가하여 -25℃의 냉동실에서 1시간 침전시킨 후, 침전된 물질을 원심분리기 (5,590×g, 20분, 4℃)로 회수 후 건조하였다. 건조된 아밀로펙틴 클러스터를 100 mM 소듐 아세테이트(sodium acetate) 완충 용액(pH 4.0)에 녹인 뒤, 10분간 끓여 호화된 상태로 준비하였다. 호화 전분을 냉각 후 아이소아밀레이스를 전분 용액의 1%로 첨가하여 40℃에서 4일간 반응시켰다. 효소 반응은 5분간 끓여 반응을 정지시켰다. 이후, HPAEC를 이용하여 전분의 측쇄 구조를 분석하였다. HPAEC 시스템은 CarboPac PA1 가드 컬럼(4x 50 mm; Dionex, Sunnyvale, CA, USA), CarboPac PA1 컬럼 (4-250 mm; Dionex) 및 펄스 전류 측정 검출기 (ED40; Dionex)로 구성되었다. 샘플은 20 μl 주입하고 이동상 (150 mM NaOH, 600 mM sodium acetate)은 1 mL/min의 속도로 이동하였다. 이동상인 600 mM sodium acetate는 0-10 분 동안 10-30 %, 10-16 분 동안 30-40 %, 16-27 분 동안 40-50 %, 27-44 분 동안 50-60 %, 44-63 분 동안 60-65 %, 63-70 분 동안 65-66 %, 70-71 분 동안 66-100 %로 구성되었다.

[0044] CBAC의 측쇄 구조를 비교한 결과, 도 3과 같이 일반 옥수수 전분과 CGTase처리한 전분보다 DP30-42의 전분의 긴 사슬의 비율이 높게 나타났다. 상기 결과를 통해 CGTase 반응으로 B3 또는 C chain에 해당하는 아밀로펙틴의 사슬이 가수분해되어 아밀로펙틴 클러스터 형태로 제조됨을 확인하였다.

[0045] 도 4에서는, 일반 옥수수 전분과 CGTase처리한 전분과 시중에 판매 중인 냉해동 안정 전분보다 DP10 이하 및 DP31~47 사슬의 비율이 높게 나타났다. 상기 결과를 통해 CGTase와 브랜칭 엔자임의 복합적인 처리로 인해 아밀로펙틴 클러스터에 많은 짧은 사슬이 덧붙여진 형태로 제조되었다.

[0046] 따라서 이러한 구조적 변화로 인해 본 발명의 CBAC는 전분의 짧은 분지 비율이 높아 겔 네트워크가 형성되어 수분의 이수를 제한하므로 냉해동시 이수되는 수분의 양이 적어 냉해동시 제품의 품질 유지에 유리할 것으로 판단된다.

[0048] [실험예 2: 복합적 효소 처리를 통해 제조된 CBAC의 용해도 확인]

[0049] 본 실험예에서는 본 발명의 CBAC의 용해도를 측정하고자 하였다. 상기 실시예에서 복합적 효소 처리를 통해 생성된 효소반응액에서 CBAC 이외의 반응산물인 소당류를 에탄올 침전법으로 제거하였다. 반응액 2배 부피의 에탄올을 첨가하여 -25℃의 냉동실에서 1시간 침전시킨 후, 침전된 CBAC를 원심분리기(5,590 x g, 20분, 4℃)로 회수 후 건조하였다. 건조된 CBAC를 물에 녹인 뒤, 10분간 끓여 호화된 상태로 준비하였다. 이후, -45℃의 딥프리즈(deep freezer)에 샘플(sample)을 24시간 냉동한 뒤, 3일간 동결건조(freeze dryer)하여 분말형태로 회수하였다(Operon, Kimpo, Korea). CBAC 전분 분말을 10% 농도로 물에 녹인 뒤, 5분간 끓여 호화된 액상 형태로 준비하였다. 원심분리기 (11,200 x g, 20 분, 4℃)를 이용하여 녹지 않은 CBAC 전분을 가라앉히고, 상층액의 완전히 용해된 CBAC 전분을 1000배 희석된 요오드 용액과 1:1 비율로 상온에서 5분간 반응시켰다. 반응 후 분광광도계 (spectrophotometer)를 이용하여 550 nm의 파장으로 흡광도를 측정하였다.

[0050] 효소 반응 시간에 따른 변성 전분의 용해도 변화를 측정한 결과, 하기 표 2와 같이 효소 반응 3시간일 때 용해도가 가장 높게 나타났다. 많은 분지들로 구성된 아밀로펙틴 클러스터는 수소결합 용매 분자와 쉽게 접촉할 수 있으므로 물에 쉽게 용해될 수 있다. 또한 상기 방법으로 제조된 아밀로펙틴 클러스터는 많은 짧은 분지 사슬이 형성되었기 때문에 용해도가 높다고 판단된다.

표 2

시간(h)	수 용해도(mg/mL)	상대적 용해도
일반 옥수수 전분	12.4±0.00	1
CBAC 0.5h	57.6±0.24	4.65
CBAC 1h	65.5±0.35	5.28

CBAC 3h	97.6±0.43	7.87
CBAC 5h	89.4±0.16	7.21
CBAC 7h	83.4±0.28	6.73

[0053] [실험예 3: 복합적 효소 처리를 통해 제조된 CBAC의 액상 형태에서 냉해동 안정성 확인]

[0054] 본 실험예에서는 본 발명의 CBAC의 액상 형태에서 냉해동 안정성을 확인하고자 하였다. 상기 실시예에서 복합적 효소 처리를 통해 생성된 효소반응액에서 CBAC 이외의 반응산물인 소당류를 에탄올 침전법으로 제거하였다. 반응액 2배 부피의 에탄올을 첨가하여 -25℃의 냉동실에서 1시간 침전시킨 후, 침전된 CBAC를 원심분리기(5,590×g, 20분, 4℃)로 회수 후 건조하였다. 건조된 CBAC를 물에 녹인 뒤, 10분간 끓여 호화된 상태로 준비하였다. 이후, -45℃의 딥프리즈(deep freezer)에 샘플(sample)을 24시간 냉동한 뒤, 3일간 동결건조(freeze dryer)하여 분말형태로 회수하였다.(Operon, Kimpo, Korea) 회수된 분말 CBAC 1%를 물에 녹인 뒤, 10분간 끓여 호화된 액상 형태로 준비하였다. 호화된 액상 전분을 냉각시킨 후 3일 동안 -25℃의 냉동실에 보관하고, 30℃에서 3시간 해동하는 과정을 총 4회 반복하였다. 반복되는 냉해동 과정에 의해 전분이 침전되며 이로 인해 전분 용액의 혼탁도가 변화한다. 1회 진행될 때마다 전분액의 혼탁도 변화를 측정하였다. 전분액 1000 μ l를 큐벳(cuvet)에 담아 분광광계도(spectrophotometer)로 600 nm에서 측정하였다.

[0055] 전분 용액의 혼탁도를 측정한 결과, 도 5와 같이 일반 전분은 냉해동 2회시 침전되는 전분의 양이 많아 흡광도 측정이 불과하였다(n.d). 반면, CBAC의 경우 냉해동 주기가 증가함에 따라 침전되는 전분의 양이 일정하며, 일반 전분에 비해 매우 적게 측정되었다. 상기 결과를 통해 효소적 기법으로 생성된 CBAC는 수분과의 친화도가 높아 액상 형태에서 냉해동을 유지하는데 적합하다고 판단된다.

[0057] [실험예 4: 복합적 효소 처리를 통해 제조된 CBAC의 제품 적용 및 분석]

[0058] 본 실험예에서는 본 발명에서 제조된 액상 형태의 CBAC를 냉동 생지에 적용하여, CBAC의 냉해동 안정성 효과 및 이를 이용한 제빵능과 제빵 제품의 물성을 확인하고자 하였다.

[0060] 1) CBAC를 첨가한 냉동 생지의 제조

[0061] 생지는 시중에 판매하는 식빵 믹스 제품을 사용하고(밀가루 376g, 효모(yeast) 4g, 물 220mL), 제빵기(Cuchen)를 이용하여 30분 반죽, 120분 발효를 통해 제조되었다. CBAC가 첨가된 생지의 경우, CBAC는 액상 형태이므로 생지를 제조할 때, CBAC이 첨가되는 양을 제외하고, 물의 양을 조절하여 총 용량을 동일하게 맞추었다. 비교구로 사용되는 냉해동 안정성을 갖는 클린 라벨(clean label) 전분(Ingredion 사, Novation prima 300)은 생지를 제조할 때 첨가되는 양을 제외하고 밀가루의 양을 조절하여 총 용량을 동일하게 맞추었다. 냉동 생지의 제조용량은 하기 표 3과 같았다. 이후, 제조된 생지를 폴리에틸렌 백(polyethylene bag)에 밀봉하여 22시간 동안 -25℃의 냉동실에 보관한 뒤, 30℃에서 해동하는 과정을 총 3회 거치는 가혹 조건을 실시하였다.

표 3

[0062] 냉동 생지 제조 용량

	대조구	CBAC 5% 처리구	냉해동 안정전분 10% 처리구
밀가루(g)	376	376	316
CBAC(g)	-	30	60
효모(g)	4	4	4
물(mL)	220	190	220

[0064] 2) 상기 가혹조건에서 보관된 냉동 생지의 냉해동 안정성 효과 및 이를 이용한 제빵능과 제빵 제품의 물성 확인

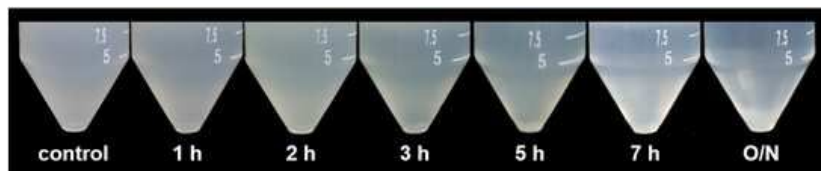
[0066] 먼저 가혹 조건에서 보관된 냉동 생지가 첨가된 빵의 부피를 측정하여 제빵능을 비교하였다. 가혹 조건에서 보관된 냉동생지를 제빵기로 90분 발효 후 40분 구워 제빵하였고, 제조된 빵은 3시간 동안 방냉한 뒤, 부피 치환법을 이용하여 부피를 측정하였다. 빵의 부피를 비교한 결과, 도 6과 같이 CBAC를 첨가한 냉동 생지로 제조한 빵의 부피가 가장 크게 나타났으며, 시중에 판매 중인 냉해동 안정성이 높은 전분과 비교하여도 부피가 약 18% 높게 나타났다. 이를 통해 CBAC는 일반 전분 대비 유의적인 가공적성을 보인다는 것을 확인할 수 있었다.

[0068] 다음으로, 가혹 조건에서 보관된 냉동 생지의 제빵 후 물성을 확인하였다. 제빵한 빵을 폴리에틸렌 백(polyethylene bag)에 밀봉한 뒤, 7일간 4℃에서 냉장 보관하여 가속 저장하였다. 빵의 물성은 TPA(TMS-Pro Texture Analyzer, Food Technology co., VA, USA)를 이용하여 측정하였다. TPA 측정을 위해 빵 단면의 길이를 각각 20 mm로 잘라 준비하였고, 25 N 로드 셀(load cell)이 장착된 시험기에서 2회 반복 주기로 압축 시험을 수행하였다. 빵은 50 mm 프로브(probe)에 의해 60 mm/min의 속도로 12 mm(60%) 압축되었다. 결과는 3회 측정 후 평균 및 표준 편차로 나타내었다. 빵의 물성을 측정한 결과, 도 7과 같이, CBAC를 첨가한 냉동 생지로 제조한 빵의 경도가 대조구 대비 36% 낮게 측정되었으며, 시중에 판매 중인 냉해동 안정 전분보다도 낮은 수치를 나타내었다. 이를 통해 냉해동 안정 전분은 10% 첨가시 냉동 생지에서 냉해동 안정성의 효과를 나타낼 수 있지만 CBAC는 5% 첨가 시에도 냉해동 안정성의 효과를 나타낼 수 있으며, 제조된 제품의 물성을 비교하였을 때에도 더 효과적이라는 것을 확인할 수 있었다. CBAC 전분은 수분이 적게 이수되므로, 제빵 후 저장 동안에도 수분이 물을 보유하고 있어 전분 사슬 간의 결합이 어려워져 경도가 낮게 측정되는 것으로 판단된다.

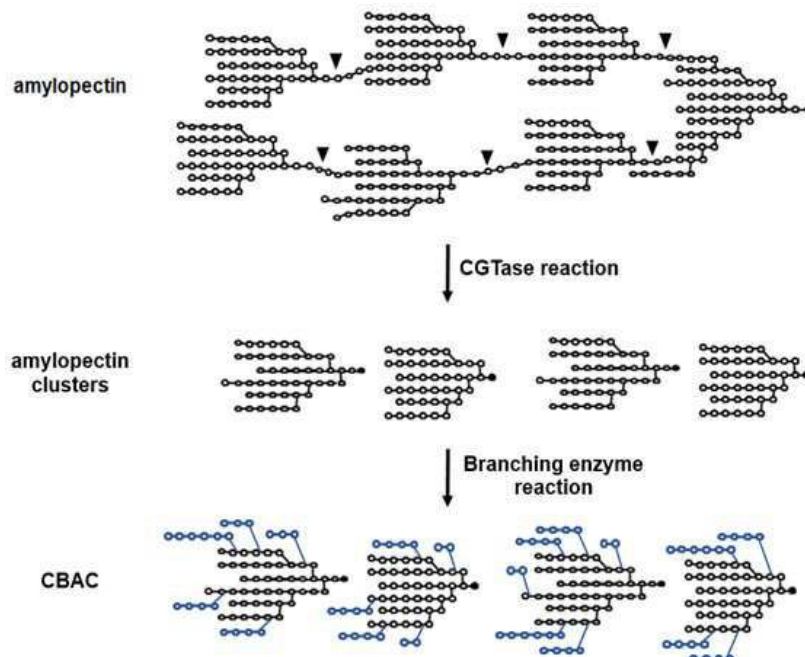
[0070] 다음으로, 가혹 조건에서 보관된 냉동 생지의 프리저블 워터(freezable water)를 측정하였다. 냉동 생지 내 전분 또는 단백질과 결합하지 못하여 분리된 물의 양을 측정하는 것으로, 시차 주사 열량 측정(DSC, Perkinelmer, MA, USA)으로 수행되었다. 냉동 생지 샘플을 5 mg 칭량하고 알루미늄 팬으로 밀봉하였다. 빈 팬을 레퍼런스(reference)로 사용하였으며, 팬을 5 ℃/min의 속도로 -50℃부터 20℃까지 가열하였다. freezable water의 양은 -25℃부터 -4℃까지의 흡열 피크 면적으로 측정하였다. freezable water의 양을 측정한 결과, 도 8과 같이 냉해동 3회 반복 후 CBAC를 첨가한 냉동 생지의 freezable water의 양이 가장 적었고 대조구 대비 약 19% 낮게 측정되었으며, 시중에 판매 중인 냉해동 안정 전분보다도 약 30% 적게 측정되었다. 상기 결과를 통해 CBAC는 효소 반응으로 많이 형성된 짧은 사슬에 의해 겔 네트워크가 형성되어 수분이 이수되지 않게 하므로 생지 제조 후 freezable water의 양이 시중에 판매 중인 기존의 냉해동 안정 전분보다 적게 측정되었다는 것으로 판단된다.

도면

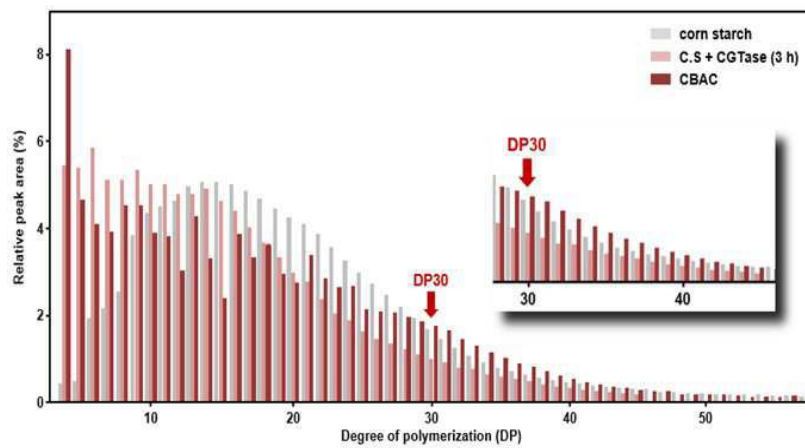
도면1



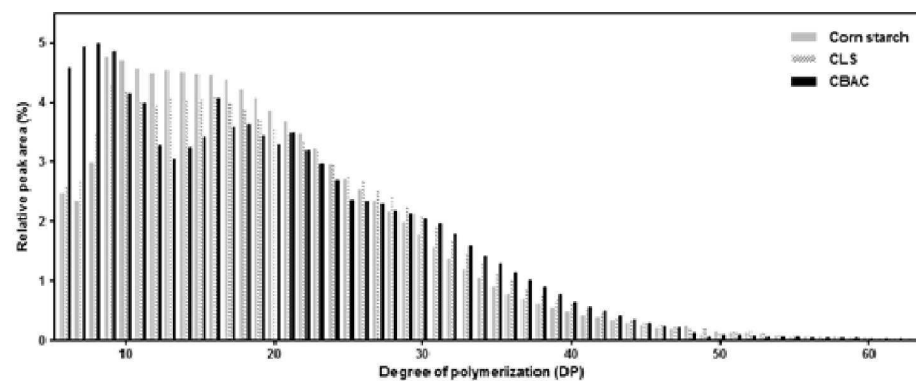
도면2



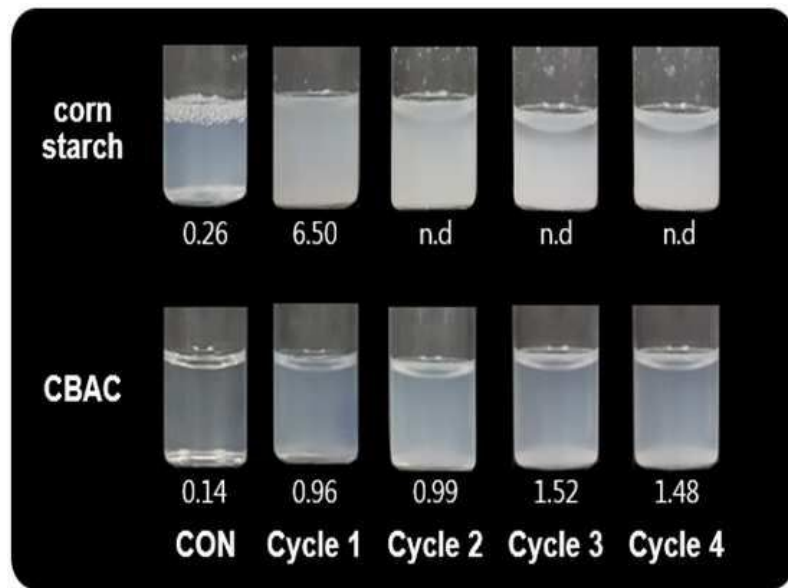
도면3



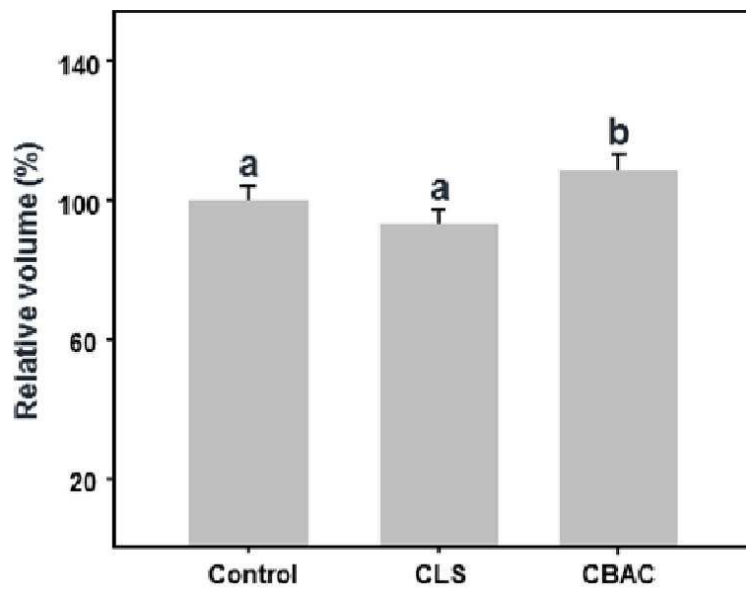
도면4



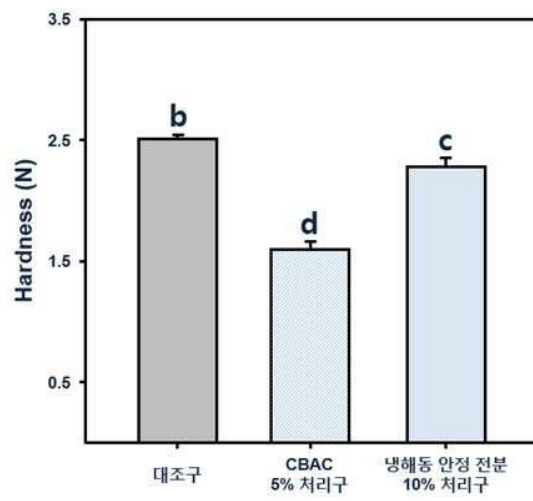
도면5



도면6



도면7



도면8

