



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 29/219 (2016.01) **A23L 29/00** (2016.01) **A23L 3/44** (2006.01) **A23L 7/10** (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23L 29/219 (2016.08) **A23L 29/06** (2016.08)

(21) 출원번호

10-2021-0002364

(22) 출원일자

2021년01월08일

심사청구일자

2021년01월08일

(65) 공개번호

10-2022-0100211

(43) 공개일자

2022년07월15일

(56) 선행기술조사문헌

KR101532025 B1*

김양 외 4인, '4 a GT를 처리한 쌀가루로 만든 떡의 식감 특성 및 구조적 관계', FOOD

SCI.BIOTECHNOL. 21(6): 1707-1714 (2012)*

INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL

MACROMOLECULES 87:466-72

JPW02012111327 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(45) 공고일자 2024년09월30일

(11) 등록번호 10-2711483

(24) 등록일자 2024년09월24일

(73) 특허권자

(주)세준에프앤비

강원도 홍천군 남면 흥성길 53

(72) 발명자

심재훈

강원도 춘천시 지석로 67, 210동 201호 (석사동, 현진에버빌2차)

김지수

강원도 춘천시 수풍골길13번길 5, 301호 (뒷면에 계속)

(74) 대리인

허창영

전체 청구항 수 : 총 3 항

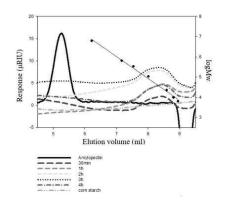
심사관 : 김영림

(54) 발명의 명칭 **야생형 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼레이즈를 이용한 변성전분의 제조방법 및 이를 함** 유하는 떡

(57) 요 약

본 발명은 전분을 야생형 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼레이로 가수분해하여 효소적 변성전분을 제조하고, 이를 떡류 등의 전분질 식품에 이용하는 것에 관한 것이다. 본 발명에 의할 경우, 야생형 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제 (cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)를 이용하여 CD는 생산하지 않고, 저분자 (10³-10⁴ Da) 변성전분을 생산할 수 있는데, 이를 식품 및 전분 소재 산업에 효과적으로 활용할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

박숭용

강원도 홍천군 남면 흥성길 53

A23L 3/44 (2013.01)

A23L 7/10 (2016.08)

A23L 7/198 (2016.08)

(72) 발명자

김은아

강원도 홍천군 내면 덕두원길 370-8

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1425147963 과제번호 S2913682 부처명 중소벤처기업부 과제관리(전문)기관명 한국산업기술진흥원 연구사업명 지역특화산업육성+(R&D)

연구과제명 클로스터 전분을 활용한 떡 소재 HMR 제품 개발

기 여 율 50/100

과제수행기관명 (주)세준에프앤비

연구기간 2020.05.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1425158015 과제번호 S2913682 부처명 중소벤처기업부 과제관리(전문)기관명 한국산업기술진흥원 연구사업명 지역특화산업육성+(R&D)

연구과제명 클로스터 전분을 활용한 떡 소재 HMR 제품 개발

기 여 율 50/100

과제수행기관명 (주)세준에프앤비

연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

옥수수 전분을 50 mM, pH 6.0의 버퍼에 10%(w/v) 첨가한 후 녹여 호화시키는 단계 (a);

상기 단계 (a)에서 호화시킨 전분을 60℃의 항온 교반기에 넣고 5분간 예열하는 단계 (b);

상기 단계 (b)의 예열 후, 사이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼라아제를 0.645 U/mg substrate 첨가하고 반응을 유도하여 60℃에서 효소 반응을 0.5 내지 4시간 동안 수행하여 α-싸이클로텍스트린의 생산없이 5×10³ Da의 크기를 갖는 변성전분을 제조하는 단계 (c);

상기 단계 (c) 후, 반응액을 20분 끓여 효소반응을 정지시키는 단계 (d); 및

상기 단계 (d) 후, 액상의 변성전분을 -40℃에서 동결건조하는 단계 (e)를 포함하는 것을 특징으로 하는 떡 제조용 변성전분의 제조방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항의 방법에 의해 제조된 크기가 5×10^3 Da인 떡 제조용 변성전분을 쌀가루에 첨가하고, 물을 첨가한 후, 반 죽하고, 증자하여 제조된 떡.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 떡은,

떡 제조용 변성전분과 쌀가루의 무게합을 기준으로, 변성전분이 0.1~30 중량%, 쌀가루가 70~99.9 중량%로 배합되어 제조된 것을 특징으로 하는 떡.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 야생형 사이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼레이즈를 이용하여 변성전분을 제조하는 방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 전분을 야생형 사이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼레이즈로 가수분해하여 효소적 변성전분을 제조하고, 이를 떡류 등의 전분질 식품에 이용하는 것에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 전분은 식물이 지닌 결정형의 저장성 탄수화물로서 다양한 종류의 곡류, 서류의 주성분이며 인간을 비롯한 생명체의 주요 에너지원이다. 인체 안전성으로 인해 전분은 식품산업뿐만 아니라 다양한 산업에서 활용되고 있으며,

전분의 특성을 변화시키기 위해 물리적, 화학적, 생물전환적 기법이 사용되고 있다.

[0004] 대한민국 특허등록번호 제10-0868329호 (등록일자 2008년 11월 05일)에는, 효소를 이용한 고분지 아밀로펙틴 클러스터 및 고분지 아밀로오스의 제조방법이 기재되어 있다. 이 문헌에 의하면, 알파글루카노트랜스퍼라이제 또는 브랜칭엔자임이 전분에 존재하는 아밀로펙틴 클러스터 간의 연결사슬들을 가수분해하여 아밀로펙틴 클러스터를 생산하는 동시에 브렌칭엔자임이 아밀로오스에 분지측쇄사슬을 부착시켜 분지 아밀로오스를 제조하고, 여기에 말토제닉 아밀라아제를 처리하여 상기로부터 생성된 아밀로펙틴 클러스터 및 분지 아밀로오스의 긴 측쇄를 절단하여 짧은 측쇄로 만드는 동시에 측쇄에 알파-1,6-결합으로 당을 전이시킴으로써 전분으로부터분지아밀로펙틴 클러스터, 고분지 아밀로오스 또는 분지 올리고당을 효과적으로 제조할 수 있는 방법이 기재되어 있다.

또한, 대한민국 특허등록번호 제10-1532025호 (등록일자 2015년 06월 22일)에는, 신규한 싸이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼라아제 (CGTase)를 처리하여 $10^4 \sim 10^5$ Da 분자량을 지닌 아밀로펙틴 클러스터를 제조하는 방법이 기재되어 있다. 이 문헌에 의하면, 아미노산 3곳을 인위적으로 변형시킨 돌연변이형 CGTase를 이용하여 싸이클로텍스트린 (CD)을 생산하지 않고 분자량이 낮은 아밀로펙틴 클러스터를 제조할 수 있다.

발명의 내용

[0005]

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼레이즈로 전분을 가수분해하여 효소적 변성전분을 제조하고 이를 떡류 등의 전분질 식품에 이용하는 것으로, 본 발명에 의하면 싸이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼레이 즈로 전분을 부분적 가수분해하여 물성이 변형된 전분을 제조하고, 이를 떡에 첨가하여 즉석 떡류의 제품 적성을 변형하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은 전분을 버퍼에 녹여 호화시키는 단계 (a); 상기 단계 (a)에서 호화시킨 전분을 항온 교반기에 넣고 예열하는 단계 (b); 상기 단계 (b)의 예열 후, 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제를 첨가하고 반응을 유도하는 단계 (c); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 변성전분의 제조방법을 제공한다.
- [0010] 본 발명 변성전분의 제조방법에 있어서, 상기 변성전분의 제조방법은, 바람직하게 상기 단계 (c) 후, 반응액을 끓여 효소반응을 정지시키는 단계 (d); 상기 단계 (d) 후, 액상의 변성전분을 동결건조하는 단계 (e);를 더 포함하는 것이 좋다.
- [0011] 본 발명 변성전분의 제조방법에 있어서, 상기 변성전분은, 바람직하게 크기가 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ Da일 수 있다.
- [0012] 본 발명은 상기 본 발명의 방법에 의해 제조된 크기가 $1\times10^3 \sim 1\times10^4$ Da인 변성전분을 쌀가루에 첨가하고, 물을 첨가한 후, 반죽하고, 증자하여 제조된 떡을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 떡에 있어서, 상기 떡은 바람직하게 변성전분과 쌀가루의 무게합을 기준으로, 변성전분이 0.1~30 중량%. 쌀가루가 70~99.9 중량%로 배합되어 제조된 것이 좋다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 의할 경우, 야생형 사이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼라아제 (cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)를 이용하여 저분자 변성전분을 효과적으로 제조할 수 있다. 기존 연구에서는 10^4 - 10^5 Da 분자량의 아밀로펙틴 클러스터 생산을 위하여 4- a -GTase 또는 돌연변이 CGTase를 사용하였는데, 이들은 상용화 효소가 아니므로 산업적 활용도가 매우 낮다. 하지만, 본 발명에서 개발한 효소 반응 조건을 적용할 경우, 일반 야생형 CGTase를 이용하여 CD는 생산하지 않고, 저분자 (10^3 - 10^4 Da) 변성전분을 생산할 수 있다. 또한, 이 변성전분을 식품 및 전분 소재 산업에 효과적으로 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제 효소처리 시간대별 전분의 분자량 변화 분석 결과이다.

도 2는 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제 효소처리 4시간 후 전분의 SEC 분석 결과이다.

도 3은 시간대별 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제 처리 효소반응액 상의 소당류 분석 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 본 발명은 사이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼레이즈로 전분을 가수분해하여 효소적 변성전분을 제조하고 이를 떡류 등의 전분질 식품에 이용하는 것이다. 기존 발명 (제10-1532025호)은 짧은 시간 동안 효과적으로 CD를 생산하지 않으면서 아밀로펙틴 클러스터를 제조할 수 있으나, 돌연변이형 효소를 이용하여야 하므로 산업적 활용에 제약이 있다. 하지만, 본 발명에서는 야생형 싸이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼레이즈로 전분을 부분적 가수분해하여 물성이 변형된 전분을 제조할 수 있고, 떡에 첨가하여 즉석 떡류의 제품 적성을 변형할 수 있는 것이다.
- [0019] 이를 바탕으로 본 발명은 전분을 버퍼에 녹여 호화시키는 단계 (a); 상기 단계 (a)에서 호화시킨 전분을 항온 교반기에 넣고 예열하는 단계 (b); 상기 단계 (b)의 예열 후, 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제를 첨가 하고 반응을 유도하는 단계 (c); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 변성전분의 제조방법을 제공한다.
- [0020] 이하, 본 발명에 대해 각 단계별로 세분화하여 구체적으로 설명하고자 한다.
- [0022] <단계 (a): 호화>
- [0023] 본 단계는 전분을 버퍼에 녹여 호화시키는 과정이다. 전분은 곡류, 서류 유래의 다양한 전분을 사용할 수 있는데, 바람직하게는 옥수수 전분을 사용하는 것이 좋다. 버퍼는 pH 5.0~7.0 (바람직하게 6.0)의 것이라면 어느 것을 사용하여도 무방하나, 바람직하게는 소디움 아세테이트 버퍼 (sodium acetate buffer, 50 mM, pH 6.0)를 사용하는 것이 좋다. 전분 (바람직하게 옥수수 전분)은 버퍼 (바람직하게 소디움 아세테이트 버퍼)에 10%(w/v) 참가한 후, 호화시키는 것이 좋다. 호화는 통상의 방법을 사용할 수 있다.
- [0025] <단계 (b): 예열>
- [0026] 본 단계는 상기 단계 (a)에서 호화시킨 전분을 항온 교반기에 넣고 예열하는 과정이다. 예열은 50~70℃ (바람직하게 60℃)의 항온 교반기에서 4~6분 (바람직하게 5분) 동안 수행하는 것이 좋다. 예열을 함으로써 효소 반응을 고르게 되며 효소 반응의 재현성이 높아지는 것을 본 발명을 통해 확인할 수 있었다.
- [0028] <단계 (c): 효소 반응>
- [0029] 본 단계는 상기 단계 (b)의 예열 후, 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제를 첨가하고 반응을 유도하는 과 정이다. 사이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼라아제는 0.640~0.650 U/mg substrate (바람직하게 0.645 U/mg substrate) 첨가해 주는 것이 좋다. 이때, 1 unit(U)은 1분간 1 mol의 글리코시드 결합(glycosidic bond)을 가 수분해하는 효소의 양으로 정의한다.
- [0030] 사이클로텍스트린 글루카노트랜스퍼라아제 효소는, 바람직하게 Novozyme 사 제조의 'Toruzyme 300L'을 사용하는 것이 좋다. 이 효소는 알파-사이클로텍스트린(a-CD) 생산효소인데, 본 발명에서는 극히 적은 양을 사용하여, a-CD의 생산이 아닌, 전분의 일부분을 선택적으로 가수분해할 수 있게 되었다. 이로 말미암아 본 발명에서는 a-CD의 생산없이 $1\times10^3 \sim 1\times10^4$ Da의 크기를 갖는 변성전분을 제조할 수 있었던 것이다.
- [0031] 본 단계에서 효소 반응은 55~65℃ (바람직하게 60℃)에서 수행하는 것이 좋은데, 바람직하게 0.5~4시간 동안 수행하는 것이 좋다.
- [0033] <단계 (d): 효소 반응 종료>
- [0034] 본 단계는 상기 단계 (c) 후, 반응액을 끓여 효소반응을 정지시키는 과정이다. 반응액을 10~30분 (바람직하게 20분) 끓임으로써 효소를 불활성화하여 반응을 정지시키게 된다.
- [0036] <단계 (e): 동결건조>
- [0037] 본 단계는 상기 단계 (d) 후, 액상의 변성전분을 동결건조하는 과정이다. 동결건조를 통해 본 발명의 변성전분을 분말형태로 회수할 수 있다. 동결건조는 통상의 방법을 사용하여 수행할 수 있다.
- [0039] 상기의 단계를 거쳐 본 발명에서는 $1\times10^3 \sim 1\times10^4$ Da의 크기를 갖는 변성전분을 제조할 수 있었으며, 4시간의 반응을 통해서도 소당류가 거의 검출되지 않음을 확인할 수 있었다. 소당류가 생성되지 않은 것은 효소반응이

전분의 endo-type 가수분해에 집중되어 CD를 포함한 소당류 생성에 미치지 못함을 확인시켜주는 결과이다.

[0040] 본 발명은 야생형 CGTase의 전분가수분해 반응조건을 개발하여 부산물인 CD는 생산하지 않고 $10^3 \sim 10^4$ Da 저분자 변성전분을 생산할 수 있음을 확인하였는데, 본 발명에서 생산된 저분자 변성전분은 전분질 식품 첨가제로 활용할 수 있다. 바람직한 예로서, 본 발명은 상기 본 발명의 방법에 의해 제조된 크기가 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ Da인 변성 전분을 쌀가루에 첨가하고, 물을 첨가한 후, 반죽하고, 증자하여 제조된 떡을 제공한다. 본 발명의 변성전분을 포함하여 제조된 떡은 수분 40% 이하로 냉장건조하여 보관하다가, 섭취시 끓는물에 5분간 넣을 경우, 일반 떡에 비해 호화속도가 빨라 경도가 20% 가량 급감하여 본래의 씹힘성을 지니게 되는 특징이 발휘된다. 이러한 특성은 간편조리 식품 등에 활용하여 전자레인지가 없는 상황에서도 끓는물 만을 이용하여 손쉽게 떡볶이 등을 조리하여 먹을 수 있는 편리성을 제공하는 것이다.

[0041] 본 발명의 떡에 있어서, 상기 떡은 바람직하게 변성전분과 쌀가루의 무게합을 기준으로, 변성전분이 0.1~30 중량%, 쌀가루가 70~99.9 중량%로 배합되어 제조된 것이 좋다. 또한, 물은 '변성전분과 쌀가루 혼합물'의 중량대비 50~60 중량% 정도되는 양의 물을 '변성전분과 쌀가루 혼합물'에 첨가하는 것이 좋다. 이때, 물은 흩뿌려주는 것이 좋다. 반죽을 스팀으로 증자하면 본 발명의 떡을 제조할 수 있다.

[0043] 이하, 본 발명의 내용을 하기 실시예 및 실험예를 통해 더욱 상세히 설명하고자 한다. 다만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예 및 실험예에만 한정되는 것은 아니고, 그와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 포함한다.

[실시예 1: 야생형 CGTase를 이용한 저분자 변성전분의 제조]

[0045]

[0046]

[0048]

[0049]

[0050]

[0051]

[0053]

[0054]

옥수수 전분 (10%, w/v)을 소디움 아세테이트 버퍼 (sodium acetate buffer, 50 mM, pH 6.0)에 녹여 호화시켰다. 호화시킨 전분 용액을 60℃ 항온교반기에서 5분 동안 예열한 후, 사이클로덱스트린 글루카노트랜스 퍼라아제 (0.645 U/mg substrate)를 첨가해주었다. 60℃에서 일정 시간 (각각 0.5, 1, 2, 3, 4 시간) 동안 교반해준 후, 20분 동안 끓여 효소 반응을 정지하였다. 상기 방법으로 제조된 액상 변성전분을 -40℃에서 동결 건조하여 분말 형태로 제조하였다. 이때, 효소의 가수분해 역가 측정은 노보자임 (Novozyme)의 알파-아밀라아제 (α-amylase) 측정 표준 방법에 따라 시간 당 5.26 g의 전분을 분해하는 효소의 양으로 정의되었다.

[실험예 1: 상기 실시예 1에서 제조한 변성전분의 분자량 측정]

상기 실시예 1의 효소처리 전분을 시간대별로 견본 추출 (sampling)하여 SEC (Size exclusion chromatography)으로 분석하였다. 먼저 10% 농도의 분석 시료는 완전히 용해 후 이동상 용매로 5 mg/mL 희석하고 필터링 (filterling)하여 분석 시료로 사용하였다. 유속 (Flow rate)은 0.5 ml/min 으로 0.5% 브로민화 리튬 (Lithium Bromide, TCI, Japan)과 50% 다이메틸 설폭사이드 (dimethyl sulfoxide, JUNSEI, Japan)를 용매로 이동상 조성을 시간대별로 변화하는 방법을 사용하여 시차 굴절계 (RI detector)로 측정하였다. 결과값 계산은 Pullulan molecular weight standards (Shodex pullulan standard P-82, Showa Denko K.K., Tokyo, Japan; P-5, Mw=6.3kDa; P-10, Mw=9.8; P-20, Mw=22kDa; P50, Mw=49.4kDa; P-100, Mw=106kDa; P-200, Mw=201kDa; P-400, Mw=334kDa; P-800, Mw=642kDa), Dextran standard (Mw=6100KDa)와 같이 계산하였다.

도 1은 효소처리 시간대별 전분의 분자량 변화 분석 결과이다. 효소 반응시간이 지남에 따라 피크 (peak)의 위치가 변화하는 것을 볼 수 있는데, 이러한 변화는 효소 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라아제 (CGTase)반응에 의해 아밀로펙틴 (amylopectin)이 아밀로펙틴 클러스터 (amylopectin cluster) 단위로 가수분 해됨을 나타낸다. 또한, 가수분해가 일어남에 따라 분자량이 낮아지는 것을 알 수 있다.

도 2는 효소처리 4시간 후 전분의 SEC 분석 결과이다. 생성된 변성전분은 평균분자량이 약 5×10^3 Da 임을 확인할 수 있었다.

[실험예 2: 실시예 1의 반응산물 내 소당류의 분석]

실시예 1의 효소 반응 후 소당류 생성량을 분석하기 위해 HPAEC (High-perfprmance anion exchange chromatography)를 사용하였다. 사용 전에는 반응물의 전처리 과정이 필요하다. 먼저 효소처리 전분의 5배에 해당하는 물을 넣어 준 후 잘 섞어 (vortexting)준다. 잘 섞어준 전분액을 원심분리하여 상층 액을 회수하였다. 회수한 상층 액을 물에 10배 희석해준 후 0.45 µm disposable syringe filter (Advantec, Dublin, CA, USA)에 여과하였다. 20 µL의 분석물을 컬럼 (CarboPac PA1 column, 4 × 250 mm; Dionex)에 주입하고, 1 mL/min의 유속으로 분석하였다. 분석에 사용된 용매는 용매 A (150 mM NaOH), 용매 B (600 mM NaOH)를 사용하여 시간대별로 함량을 조절하였다. 시간대별 용매 함량은 0-10 min, 10-30% B; 10-16 min, 30-40% B; 16-27 min, 40-50% B;

27-32 min, 50-100% B; 32-42 min, 100-10% B의 분석 조건을 적용하였다.

[0055]

도 3은 시간대별 효소반응액 상의 소당류 분석 결과이다. 효소 반응시간이 4시간 동안 진행되었음에도 불구하고 소당류의 peak가 4시간 반응까지는 매우 작음을 확인하였다. 효소반응이 전분의 endo-type 가수분해에 집중되어 CD를 포함한 소당류 생성에 미치지 못함을 확인할 수 있었다.

[0057]

[실시예 2: 실시예 1에서 제조한 저분자 변성전분을 첨가한 가래떡의 제조]

[0058]

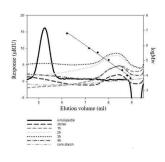
상기 실시예 1에서 제조한 저분자 변성전분을 첨가한 가래떡 제조를 위하여, 실시예 1 제조의 저분자 변성전분이, '쌀가루와 변성전분 합'의 0.1 ~ 30 중량%가 되도록 쌀가루에 첨가하고, 전체 혼합물 (쌀가루와 변 성전분 합)의 중량대비 50 ~ 60%의 수분을 흩뿌려 주며 혼합하여 반죽하였다. 균일하게 혼합된 반죽을 100℃ 이 상의 스팀을 이용하여 10~30분 동안 주입하여 증자 후 반죽을 압출 성형기에 넣고 가래떡으로 성형한 뒤 숙성용 판에 옮겨 담고 냉각기를 이용하여 24시간 이상 숙성 후 80% 주정에 침지한 후 포장하였다.

[0060]

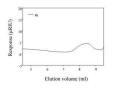
본 발명은 "한국연구재단 LINC+사업"의 지원을 받아 수행된 "전분함유 천연물을 위한 추출공정 개발" 과제 (연구기간 2020.07.01 ~ 2021.01.31)의 성과물임을 밝혀두는 바이다.

도면

도면1



도면2



도면3

