이형접합 *Pinb-D1* 유전자형이 밀가루 이화학적 특성 및 가공 적성에 미치는 영향

최창현^{1†} · 박진희^{1†} · 모영준¹ · 김경민¹ · 김경훈¹ · 강천식¹ · 박태일¹ · 조성우² · 박철수^{3*}

¹국립식량과학원, ²경남과학기술대학교 농학 · 한약자원학부, ³전북대학교 작물생명과학과

Effect of Heterozygous Genotypes at the *Pinb-D1* Loci on Physicochemical Properties of Flour and End-Use Quality

Chang-Hyun Choi^{1†}, Jin Hee Park^{1†}, Youngjun Mo¹, Kyung-Min Kim¹, Kyung-Hoon Kim¹, Chon-Sik Kang¹, Tae-Il Park¹, Seong-Woo Cho², and Chul Soo Park^{3*}

¹National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Wanju, 55365, Republic of Korea

²Department of Agronomy and Medicinal Plant Resources, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju, 52725, Republic of Korea

³Department of Crop Science & Biotechnology, Chonbuk National University, Jeonju, 54896, Republic of Korea

Abstract An advanced F₈ population was derived from a cross between the hard wheat cultivar “Keumkang” carrying *Pinb-D1b* and the soft wheat cultivar “Olgeuru” carrying *Pinb-D1a*. A breeding line named “Hetero”, which exhibited the heterozygous-like *Pinb-D1a/Pinb-D1b* genotype, was selected by sequence analysis and KASP (Kompetitive Allele Specific PCR) assay. Physicochemical and processing characteristics of flour were tested in the Hetero line and compared with the two parental cultivars for two years. Hetero display a *Glu-1* composition similar to Keumkang and a *Glu-3* composition intermediate between Keumkang and Olgeuru. Contrary to the expectation that Hetero carrying the *Pinb-D1a/Pinb-D1b* genotype would exhibit an intermediate phenotype between the two parents, its overall flour physicochemical characteristics were more similar to Keumkang than to Olgeuru. The flour yield of Hetero (71.6%) was lower than that of Keumkang (74.5%). However, the flour particle size (73.3 μ m) and damaged starch content (4.6%) of Hetero were similar to those of Keumkang (71.9 μ m and 4.5%). The protein content (16.5%) and sodium dodecyl sulfate-sedimentation volume (72.8 mL) of Hetero were higher than those of Keumkang (14.0% and 57.5 mL) and Olgeuru (11.4% and 45.5 mL). The mixograph water absorption (68.7%) and mixing tolerance (17.7 mm) values of Hetero were higher than those of Keumkang (65.6% and 15.9 mm) with the same mixing time of 3.9 min. The bread loaf volume of Hetero was lower than that of Keumkang (866.7 vs. 894.7 mL). The cooked noodles hardness of Hetero was higher than that of Keumkang (5.9 vs. 4.7 N).

Keywords Korean wheat, puroindolines, physicochemical properties, end-use quality

Received on April 23, 2020. Revised on May 2, 2020. Accepted on May 15, 2020.

* Corresponding Author (E-mail: pcs89@jbnu.ac.kr, Tel: +82-63-270-2533, Fax: +82-63-270-2640)

† These authors contributed equally.

서 언

종실 경도는 제분율에 영향을 미칠 뿐만 아니라 밀가루 입도와 가공 적성을 결정하는 중요한 요인 중 하나이다(Morris & Bhawe 2008, Pasha et al. 2010). 종실 경도에 따라서 밀은 경질과 연질밀로 구분이 되는데, 경질밀은 제분율이 높지만 제분과정에서 연질밀에 비해 기계적인 저항을 많이 받기 때문에 밀가루 입자가 거칠고 손상 전분 함량이 높은 특성을 지니며, 대부분 단백질 함량이 높은 경우가 많기 때문에 빵 용에 적합한 것으로 알려져

있다. 제분율은 낮지만 밀가루 입자가 곱고 손상 전분 함량이 적은 연질밀은 단백질 함량이 경질밀에 비해 낮기 때문에 주로 국수류와 과자류 제조에 많이 이용된다.

전분 입자(starch granule)와 단백질 매트릭스(protein matrix)의 접착 정도에 의해서 종실 경도가 결정이 되기 때문에 종자의 등숙 환경에 영향을 받지만 주로 이러한 접착력을 결정하는 단백질인 friabilin에 의해서 결정된다(Morris & Bhawe 2008). 전분 입자의 표면에 존재하는 수용성 단백질인 friabilin은 분자량이 15 kDa 정도로 5D 염색체 단위에 존재하기 때문에, 듀럼밀

에는 존재하지 않고 경질밀에는 적은 양이 있으며 연질밀에 양이 많다(Morris & Bhavé 2008). 이러한 friabilin의 주요 구성 단백질은 전분 및 호분층의 거품 형성, 미생물 감염 억제 및 식물의 저항성 기작에 관여하는 시스테인과 트립토판이 많은 구조인 막 단백질로 알려진 puroindoline이다(Pasha et al. 2010).

종실 경도를 결정하는 puroindoline 유전자는 5D 염색체 단위에 존재하는 *Hardness (Ha)* 유전자 좌와 밀접하게 연관되어 있으며, 연질밀은 야생형인 *Pina-D1a*과 *Pinb-D1a* 유전자를 가진다(Morris & Bhavé 2008, Pasha et al. 2010). 경질밀은 연질밀의 유전자의 돌연변이로 발생을 하는데 현재까지 *Pina-D1* 유전자좌에서는 8개의 대립유전자가 보고되었고(*Pina-D1b*, *f*, *k-n*, *p*, *q*), *Pinb-D1* 유전자좌에서는 염기서열에서 돌연변이가 발생한 13개 대립유전자(*Pinb-D1b-g*, *l*, *q*, *t*, *v*, *w*, *aa*, *ab*)와 4개의 frame shift 돌연변이(*Pinb-D1p*, *r*, *s*, *u*)가 보고되었다(Morris & Bhavé 2008). 흔하게 발생하는 경질밀은 *Pina-D1b*나 *Pinb-D1b*를 지니고, 이러한 유전적 조성을 지닌 경질밀은 제분율, 밀가루 입자 크기, 손상 전분, 단백질 및 회분 함량 등을 포함한 밀가루의 이화학적 특성과 가수량과 빵 볼륨을 포함한 반죽과 제빵 적성에 도 영향을 미친다(Cane et al. 2004, Chen et al. 2007).

국산밀에 대해서도 puroindoline 유전자 조성의 이들이 밀가루 및 가공 적성에 미치는 영향에 대한 연구가 수행되었다(Park et al. 2010, Kang et al. 2012, Shin et al. 2012) 경질밀 조성을 지닌 국산밀 품종의 경우 제분율이나 밀가루의 이화학적 특성은 경질밀 특성을 보이지만 반죽과 제빵 특성은 연질밀과 비슷한 특성을 나타내었다. 본 연구에서는 국내 육종 집단에서 *Pinb-D1* 유전자좌에서 *Pinb-D1a*과 *Pinb-D1b*가 동시에 발현되는 이형접합체가 선발되어 이 계통에 대한 품질 특성을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시 재료

본 연구에 이용된 이형접합체 계통은 금강과 올그루를 교배하여 세대 진전 후 생산력 검정(F₈)의 특성 평가 과정에서 유전자형을 평가한 결과 *Pinb-D1*의 유전자형이 이형접합 계통이 발견되었다. 계통 증식 과정에서 *Pinb-D1*의 유전자형은 지속적으로 평가하였고(Gautier et al. 1994), *Pinb-D1a*과 *Pinb-D1b* 유전자형이 동시에 나타나는 것을 확인하였다(Fig. 1A). 모본과 *Pinb-D1* 이형접합인 계통을 농촌진흥청 국립식량과학원 증식 포장에서 전작 조건으로 농업 과학 기술 조사 분석 기준(RDA 2012)에 따라 2016년과 2017년에 재배하였다. 콤바인으로 수확

Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of PCR amplified *Pinb-D1* allele cut with *BsrBI* of wheat line carrying Heterozygote *Pinb-D1* allele and parental varieties (A). Alignment of nucleotide sequences between Heterozygote *Pinb-D1* allele and *Pinb-D1a* and *Pinb-D1b* alleles. Box indicates heterozygous sequence at 223 bp of *Pin-D1* gene. Reverse triangular markers indicate the sites for *BsrBI* restriction enzyme (129bp, 223bp) (B). Scatter plots for KASP (Kompetitive allele specific PCR) assay for *Pinb-D1* alleles showing *Pinb-D1a* allele on the x-axis (FAM RFU) and *Pinb-D1b* allele on the y-axis (Yakima™ Yellow RFU) (C). M, molecular DNA size marker; O, Olgeuru; K, Keumkang; H, wheat line (Hetero) carrying Heterozygote *Pinb-D1* allele.

하고 정선하여 수분 함량이 14%가 되도록 상온에서 건조 한 다음, 10℃ 저온실에 보관하였다. 본 연구에서는 이형접합체 계통을 Hetero로 명명하였다.

Genomic DNA 추출 및 PCR 분석

모본과 Hetero를 온실에 파종하여 3주 간 생육 시켰다. 어린 식물체의 잎을 채취하여 액체 질소로 급속 냉동 시킨 후 유발을 이용하여 미세 분말로 분쇄한 뒤 -70℃에 보관하였다. Genomic DNA는 잎 분말(100 mg)로부터 식물용 genomic DNA 분리 시약(Solgent, 한국)을 이용하여 추출하였다. *Pinb-D1* 유전자 검정을 위한 프라이머는 5'- ATG AAG ACC TTA TTCCTC CTA -3'과 5'- TCA CCA GTA ATA GCC ACT AGG GAA -3'를 이용하였으며, PCR은 Gautier et al. (1994)에 준하여 실시 하였다. 글루텐인 유전자 조성을 위한 *Glu-A1* 유전자 분석은

Liu et al. (2008)의 방법, *Glu-B1* 유전자는 Ma et al. (2003)과 Lei et al. (2006)의 방법, *Glu-D1* 유전자 분석은 Liu et al. (2008) 방법을 이용하여 수행하였다. *Glu-A3*, *Glu-B3*와, *Glu-D3* 유전자 분석은 각각 Wang et al. (2010), Wang et al. (2009)과 Appelbee et al. (2009)의 방법에 따랐다.

Pinb-D1 유전자형 검사 및 염기서열 분석

Pinb-D1 유전자형 분석을 위하여 모부분과 Hetero의 genomic DNA를 PCR 하여 1% agarose 젤을 통해 전기영동 함으로써 447bp의 PCR product를 얻었다. 염기서열 분석을 위하여 PCR product를 pLUG-Prime TA-Cloning 벡터(GenetBio, 한국)를 이용하여 클로닝하였다. 계통 별 5개 클론으로부터 벡터를 추출하고 M13 forward와 reverse 프라이머를 이용하여 염기서열 분석을 수행하였다(ABI PRISM 3730 xl, Applied Biosystems, 미국). 분석된 염기서열은 CLC sequence viewer Ver. 7.7 (CLC Bio, Cambridge, MA)를 이용하여 assemble 하였고, multiple alignment (ClustalW2, Kyoto University Bioinformatics Center)를 수행하여 PCR product의 Hetero 여부를 판단하였다. 또한 모부분 및 Hetero의 genomic DNA로부터 얻은 PCR product 20 μ l를 이용해 *Bsr*BI (recognition site: CCGCTC) 제한효소 (New England BioLabs, 영국) 1 μ l, 10 X buffer 1 μ l을 섞어 최종 30 μ l의 반응물을 만들어 37°C에서 1시간 반응 후 동일하게 전기영동 하여 *Pinb-D1a* (올그루, 223bp에 염기 G, cut)와 *Pinb-D1b* (금강, 223bp에 염기 A, uncut)를 구분하였다.

KASP (Kompetitive Allele Specific PCR) 마커 이용 대립유전자형 분석

전체 447bp의 *Pinb-D1* 염기서열 중 223bp자리의 SNP를 구별하기 위한 KASP genotyping-용 프라이머를 제작하기 위하여 (주제너 (Geneer, 한국)에 의뢰하였다. *Pinb-D1a*는 프라이머 5' 단말에 FAM fluorophore quencher (녹색 형광)의 상보적 염기서열을 추가하였으며(5'-rhAmp-F/ATGCTCACAGCCGCCrCTTCC/GT4-3'), *Pinb-D1b*는 Yakima™ Yellow fluorophore quencher (노랑 형광)의 상보적 염기 서열을 추가하여 대립유전자 특이 프라이머를 제작하였다(5'-rhAmp-Y/ATGCTCACAGCCGCTrCTTCC/GT4-3'). 유전자좌 특이 프라이머는 5'-GCGCGATGTTTCAATGAAGGATTTTCCAGT/GT3-3'와 같이 제작하여 사용하였다. 모부분 및 Hetero의 genomic DNA를 25 ng/ μ l로 준비하여 rhAmp® SNP Assay kit protocol (Integrated DNA Technologies, 미국)에 따라 3반복으로 하여 PCR 반응물을 준비하였다(Combined Master

Mix and Reporter Mix 10.6 μ l, 20X rhAmp SNP Assay 1 μ l, Template gDNA 2 μ l, Nuclease Free Water 6.4 μ l). Quantitative PCR 조건은 Rotor-Gene Q (QIAGEN, 미국)를 사용하여, denaturation을 위하여 95°C에서 10초간 수행하였고, annealing을 위하여 60°C에서 30초간 수행하였으며, extension을 위하여 68°C에서 30초 조건으로 45회 수행하였다(Broccanello et al. 2018).

밀가루 및 가공 적성 평가

제분은 Bühler mill (MLU-202, 스위스)을 이용하여 AACCI Approved Methods 26-31.01 (AACCI 2010) 방법에 따라 제분 수율 60% 수준으로 제분하였고, 제분 된 밀가루는 10°C 저온실에 보관하여 실험에 사용하였다. 밀가루의 수분, 회분, 단백질 함량과 침전가는 AACCI Approved Methods 44-15.02, 08-01.01, 46-30.01과 56-70.01에 따라 측정하였다(AACCI 2010). 밀가루의 색깔은 11-mm 측정 조리개를 가지고 있는 colorimeter (CM-2002, Minolta Camera, Osaka, 일본)를 이용하여 측정하였다. 밀가루의 백도는 Nguimbou et al. (2012)의 방법에 따라 계산하였다. 손상 전분 함량은 Gibson et al. (1992)의 방법에 따라 enzymatic assay kits (Megazyme, Bray, 아일랜드)를 이용하여 측정하였다. 반죽 가수량, 반죽 시간 및 안정도는 AACCI Approved Method 54-40.02A에 따라 10 g Mixograph (National Manufacturing Co., Lake Forest, CA, 미국)를 이용하여 측정하였다(AACCI 2010).

제면 평가는 Park & Baik (2002)에 따라 생면을 만들어 평가하였는데, 국수를 위한 최적 가수량 결정은 34% 가수량으로 제조한 시중 중력분을 비교하여 결정하였다. 밀가루 100 g에 소금물을 넣고 pin mixer (National Mfg. Co., 미국)에서 4분간 혼합하여 반죽을 형성하였으며, 최종 소금물 농도는 2.0%가 되도록 조절하였다. 형성된 반죽은 3 mm 간격의 noodle machine (Ohtake Noodle Machine Mfg. Co., 일본)의 롤러를 65 rpm의 속도로 통과하여 면대를 생성하였다. 생성된 면대는 상온에서 1시간 숙성한 후, 순차적으로 롤러 간격을 2.6, 2.0과 1.5 mm 줄여 면대를 생성하였다. 최종적으로 생성된 면대의 두께는 micrometer dial thickness gauge (Peacock Dial Thickness Gauge G, Ozaki Mfg. Co., 일본)를 이용하여 측정하였다. 국수 면대 색은 Minolta CM-2002 (Minolta Co., Ramsey, NJ, 미국)을 이용하여 측정하였으며, 국수 면대의 백도는 밀가루와 마찬가지로 Nguimbou et al. (2012)의 방법에 따라 계산하였다. 국수 면발을 만들기 위해서 25번 절단 롤러를 이용하였다. 생면 (20 g)을 500 ml의 끓는 물에 5분 동안 삶은 후, 찬물에 행구고 TA-XT2 texture

analyzer (Stable Micro Systems, Haslemere, 영국)을 이용하여 국수 식미를 분석하였다. 삶은 국수의 식미 검정은 5가닥의 면발을 이용하여 삶은 후 5분 이내에 최소 3반복을 실시하였다. 국수 식미 검정은 3.175 mm 금속날을 이용하여 1.0 mm/sec의 속도로 원형 면발 높이의 70%를 압축하여 경도(hardness), 탄성(springiness) 및 점성(cohesiveness)을 측정하였다.

제빵 평가는 AACCI Approved Method 10-10.03 (AACCI 2010), straight-dough-bread-making 제조 방법에 따라 식빵을 만들어 평가하였다. 밀가루 100 g (14% 수분함량 기준), 설탕 6 g, 쇼트닝 3 g, 소금 1.5 g, 생효모 5.0 g, 아스코르빈산 50 mg, 그리고 보리 맥아 0.25 g (약 50 DU/g, 20°C)를 사용하였다. 반죽 가수량과 반죽 시간은 반죽의 감촉과 외관에 의해 결정하였으며, 30°C와 상대습도 85%에서 70분 동안 발효 후, 가스 빼기(punching), 60분간 발효를 마친 다음, 210°C에서 18분 동안 오븐에서 구운 후 2시간 동안 상온에서 식혔다. 식힌 빵은 rapeseed displacement 방법에 따라 부피를 측정하였고, 빵의 중심부에서 2.0 cm 두께로 잘라 TA-XT2 texture analyzer (Stable Micro Systems, Haslemere, 영국)을 이용하여 경도(firmness)를 측정하였다. 속질의 경도 측정은 2.5 cm 직경의 플라스틱 plunger로 빵 두께의 25% strain, 1.0 mm/sec 속도로 측정하였다.

통계 분석

모든 시험은 최소 3회 이상 반복을 두어 실시하였으며, 시험 성적은 SAS 프로그램(SAS Institute, Cary, NC, 미국)을 이용하여 분산분석을 실시하고 최소유의차(Least significant difference, LSD) 검정으로 평균을 비교하였다. 품종 및 연차 간 변이 상호작용은 GLM 을 이용한 ANOVA (Analysis of variance) 성분 분석의 오차항 이용하였다. 상관관계는 피어슨의 상관 계수를 이용하였으며, 통계적 유의 수준은 $p < 0.05$ 으로 실시하였다.

결과 및 고찰

이형접합 *Pinb-D1*의 염기 서열 분석

모부분과 Hetero의 글루테닌과 puroindolines의 유전적 조성은 Table 1에서 보는 바와 같다. 종실 경도를 결정하는 *Pina-D1*와 *Pinb-D1*의 조성을 살펴보면, 다목적용으로 국내에서 재배 면적이 많은 금강은 *Pina-D1a*와 *Pinb-D1b*로 경질밀의 유전적 조성을 나타냈으며, 부드러운 국수용 밀가루로 이용되는 올그루는 *Pina-D1a*와 *Pinb-D1a*로 연질밀의 조성으로 나타났다. *Pinb-D1a* 유전자의 경우 번역개시점으로부터 129번 염기서열에서 *BsrBI* 자리가 존재하기 때문에 *Pinb-D1*을 증폭한 PCR 산물을 *BsrBI*으로 잘랐을 경우 318bp와 129bp로 잘리게 된다(Giroux & Morris 1997). *Pinb-D1a*유전자를 가진 올그루의 경우는 전체 447bp 크기의 PCR 산물이 318bp와 129bp로 잘린 패턴을 보인 반면, 금강은 올그루와 마찬가지로 129bp가 존재하지만, *Pinb-D1b*에서 존재하는 224번 염기서열 위치에 *BsrBI*자리에서 한번 더 잘려 318bp가 223bp와 95bp로 나뉘는 밴드 패턴을 보였다(Fig. 1A). 그러나, Hetero의 *Pinb-D1* 유전자의 조성은 PCR 산물을 *BsrBI* 제한효소로 잘랐을 때 모부분의 유전자형인 *Pinb-D1a*와 *Pinb-D1b*가 동시에 존재하는 이형접합체로 나타났다(Fig. 1A). 구체적인 염기서열을 확인하기 위하여 PCR 산물을 클로닝한 후 각각 5개의 DNA 시료를 염기서열을 분석한 결과 223번 염기서열에서 차이가 나타나는 것을 확인하였는데, 3개 시료는 *Pinb-D1a*와 마찬가지로 223번 위치에서 구아닌(G)이었지만, 2개 시료는 *Pinb-D1b*와 같은 223번 위치에서 아데닌(A)으로 나타났다(Fig. 1B). 이러한 결과는 puroindolines의 돌연변이를 정리한 Morris & Bhav (2008) 보고와 일치하였다. Hetero에서 *Pinb-D1*의 223 번째 염기서열이 *Pinb-D1a*와 *Pinb-D1b* 유전자가 혼재하여 나오는 것은 세대를 거듭하였음에도 불구하고 이형접합으로 존재한다고 판단된다. Hetero에서 *Pinb-D1* 유전자가 *Pinb-D1a*와 *Pinb-D1b*의 두 유전자형을 지니고 있는지 확인하기 위하여 Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) 마커를

Table 1. Allelic composition of glutenin and puroindolines of wheat line carrying heterozygote *Pinb-D1* allele and parental varieties.

Line	Glutenin						Puroindolines	
	<i>Glu-1</i>			<i>Glu-3</i>			<i>Pin-D1</i>	
	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	<i>Glu-A3</i>	<i>Glu-B3</i>	<i>Glu-D3</i>	<i>Pina-D1</i>	<i>Pinb-D1</i>
Keumkang	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
Olgeuru	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>f</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>a</i>
Hetero	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>ab</i>

이용하여 분석한 결과 예상과 같이 Hetero 계통에서 모부본인 올그루(*Pinb-D1a*, G)와 금강(*Pinb-D1b*, A)의 유전자형을 모두 지니고 있음이 확인되었다(Fig. 1C). 금강과 올그루는 동형 상동 염색체이기 때문에 각각 x-와 y-축에 관련 spot이 존재하였지만, Hetero는 중앙에 spot이 위치하였다. 금강에 존재하는 *Pinb-D1b* 유전자는 46번째 아미노산 Glycine이 Serine으로 바뀌어 *Pinb-D1* 유전자 기능이 상실되었으며, 첫번째로 보고된 puroindolines 돌연변이다(Giroux & Morris 1997). Hetero는 *Pinb-D1a* 형과 *Pinb-D1b*형을 가지고 있는 밀 종자의 중간 형질의 종실 경도를 지녔을 것으로 예상할 수 있다. Hetero의 *Pina-D1*은 기존 마커 분석을 통해 모부본과 동일한 *Pina-D1a* 유전자 형을 지니고 있었기 때문에 *Pinb-D1* 유전자형에 따른 가공 특성에 미치는 영향에 관한 연구 재료로 이용하였다.

밀가루 반죽 특성 및 가공 적성에 영향을 미치는 글루텐닌의 유전적 조성을 살펴보기 위해서 고분자량과 저분자량 글루텐닌 조성도 분석하였다(Table 1). 고분자량 글루텐닌 조성을 보면, 금강은 *Glu-D1d* 유전자를 지녔고, 올그루는 국내 면용 품종에서 흔히 나타나는 *Glu-D1f* 유전자를 지닌 것으로 나타났다(Park et al. 2009a, b). 저분자량 글루텐닌 조성의 경우, *Glu-A3* 유전자좌에서는 *b*, *d*와 *f* 유전자가 다른 대립유전자에 비해 점탄성이 강하고, *Glu-B3* 유전자좌에서는 *d*, *b*, *f*와 *g* 유전자 순서로 점탄성이 강하게 나타나며, *Glu-D3* 대립유전자간에는 차이가 없는 것으로 알려져 있다(Peña et al. 2004, Bonafede et al. 2015). 이러한 특성을 근거로 저분자량 글루텐닌 조성의 점탄성 정도는 올그루가 금강보다 강하다고 할 수 있지만, 글루텐 전체 점탄성에서는 고분자량 글루텐닌의 특성이 중추적인 역할을 하고, 저분자량 글루텐닌은 보조적인 역할을 하기 때문에(Peña et al. 2004,

Bonafede et al. 2015), 금강이 올그루보다 강한 점탄성을 지니므로 빵을 포함한 다목적용 밀가루에 적합하다고 보고한 바 있다(Park et al. 2009a). 본 연구에서도 올그루와 금강밀의 글루텐 조성 분석을 수행한 결과 Table 1에서 보는 바와 같이 Park et al. (2009a)이 보고한 것과 동일한 유전형을 나타내었다. Hetero의 고분자량 글루텐닌 조성은 금강과 같았으며, 저분자량 글루텐닌 조성은 *Glu-A3*는 금강과 *Glu-B3*는 올그루와 같았다. 단백질 함량이 영향을 미치겠지만 글루텐의 질적 특성만으로 평가했을 때 Hetero는 금강보다 약간 우수한 특성을 지닌 것으로 보인다.

이형접합 *Pinb-D1*의 계통의 품질 특성

모부본과 Hetero의 밀가루 이화학적 특성은 Table 2에서 보는 바와 같다. 종실 경도와 관련된 밀가루 특성을 살펴보면, 제분율(FY), 밀가루 입자 크기(PSI)와 손상 전분 함량(DS)은 연차간 차이가 없는 것으로 나타났으며, Hetero의 제분율은 71.6%로 금강(74.5%)과 올그루(66.7%)의 중간 값이었고, 밀가루 입자 크기와 손상 전분 함량은 73.3 μm 과 4.6%로 금강(71.9 μm 과 4.5%)과 비슷하였지만 올그루(58.4 μm 과 2.9%)보다는 밀가루 입자가 거칠고 손상 전분 함량이 높았다. 회분 함량은 2016년이 0.45%로 2017년 보다 약간 높았지만 밀가루 백도(WIF)는 차이가 없었다. 회분 함량은 Hetero가 0.47%로 가장 높았고, 올그루가 0.40%로 가장 낮았으며, 백색도는 올그루가 89.1로 가장 높고, 금강과 Hetero는 각각 87.1, 86.8로 차이가 없었다. 연질밀은 배유가 쉽게 부서져 나오는 반면, 초자질이 높은 경질밀은 배유 분리를 위해 더 많은 힘을 가해야 하기 때문에 손상전분 함량이 높다. 종실 경도가 높은 경질밀일수록 밀가루 입자가 거칠고, 회분과 손상전분 함량이 증가할수록 밀가루 색의 밝기가

Table 2. Flour and dough properties of wheat line carrying heterozygote *Pinb-D1* allele and parental varieties.

Year/Flour	Flour and dough properties ^z									
	FY (%)	Ash (%)	PSI (μm)	DS (%)	WIF	Protein (%)	SDSS (ml)	MWA (%)	MTM (min)	MTO (mm)
<i>Year</i>										
2016	71.0a ^y	0.45b	68.1a	4.1a	87.9a	14.2a	60.4a	65.7a	3.5a	15.9a
2017	70.8a	0.43a	67.7a	3.8a	87.5a	13.8a	56.8b	64.8b	3.3b	15.1b
<i>Flour</i>										
Keumkang	74.5a	0.45ab	71.9a	4.5a	87.1b	14.0b	57.5b	65.6b	3.9a	15.9b
Olgeuru	66.7c	0.40c	58.4c	2.9b	89.1a	11.4c	45.5c	61.5c	2.3b	12.8c
Hetero	71.6b	0.47a	73.3a	4.6a	86.8b	16.5a	72.8a	68.7a	3.9a	17.7a

^zFY, flour yield; PSI, average of particle size of flour; DS, damaged starch; WIF, whiteness index of flour; SDSS, SDS-sedimentation volume; MWA, water absorption of mixograph; MTM, mixing time of mixograph; MTO, mixing tolerance of mixograph.

^yValues followed by the same letters within same are not significantly different at $p < 0.05$.

어둡다(Shin et al. 2012).

단백질 함량과 침전가(SDSS)는 2016년이 2017년 보다 높게 나타났으며, 이들 특성이 환경의 영향을 받는 것은 국내 품종에서도 보고되었으며, 재배 환경이 비슷한 일본과 외국에서도 보고되었다(Martin et al. 2001, Park et al. 2003, Takayama et al. 2006, Rozbicki et al. 2015). Hetero의 단백질 함량은 16.5%로, 금강(14.0%), 올그루(11.4%)보다 높았고, 단백질 함량의 영향을 받는 침전가도 Hetero가 72.8 mL로 가장 높았으며, 금강과 올그루가 각각 57.5와 45.5 mL 이었다. 밀 품질은 단백질의 양적 및 질적인 측면에 의해 크게 좌우되는데, 단백질 함량이 높을수록 침전가가 높으며, 이와 같은 결과는 단백질의 질적 특성이 조직감 특성 요인과 높은 상관관계를 보여 밀가루 품질을 판단하는 중요한 요인이 된다(Weiser & Seimeier 1998). 밀가루의 호화 및 반죽특성을 분석하는 믹소그래프 결과 역시 단백질 함량과 마찬가지로 2016년이 2017년 보다 높게 나타났다. 반죽 가수량은 Hetero가 68.7%로 금강(65.6%)이나 올그루(61.5%)보다 높았으며, 반죽 시간은 Hetero와 금강은 3.9분으로 같았고, 올그루는 2.3분으로 짧았으며, 반죽 안정도는 Hetero가 17.7 mm로 가장 높았고, 금강과 올그루는 각각 15.9와 12.8 mm로 나타났는데, 전체적인 믹소그래프를 보면 Hetero는 올그루보다는 금강에 가까운 것을 알 수 있다(Fig. 2A). 국내 환경에 재배된 밀에서도 외국과 마찬가지로 단백질 함량과 질적 특성은 침전가와 반죽 특성에 영향을 미치는데, 단백질 함량이 높을수록 침전가가 높아지고 반죽 가수량이 커지지만, 단백질의 질적 특성에 영향을 주로 받는 반죽 시간과 반죽 안정도는 영향을 받지 않는다(Park et al. 2009, Kang et al. 2010a). Hetero는 금강보다 2.5% 이상

단백질 함량이 높았는데 이러한 특성이 금강보다 높은 침전가와 반죽가수량으로 나타난 것으로 보인다. 반죽 시간과 안정도는 차이가 없게 나타났다. 이는 Table 1에서 확인한 바와 같이 금강과 Hetero 간의 고분자 글루테닌 단백질 조성이 동일하기 때문에 판단된다. *Pinb-D1*의 유전적 조성에서 이형 접합을 지닌 Hetero가 금강과 올그루의 중간 정도의 밀가루의 물리적 특성을 보일 것으로 예상 했지만, 밀가루 입자가 거칠고 회분 함량이 높았으며, 높은 단백질 함량과 빵 용에 적합한 HMW-GS 조성으로 금강에 가까운 밀가루 이화학적 특성을 나타내었다.

Hetero와 대부분의 국수와 식빵 품질 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 국수 면대 특성이나 삶은 국수의 식미와 식빵 특성 모두 연차 간 차이가 없는 것으로 나타났다. 단백질 함량이 높을수록 국수 가수량이 낮아지고, 면대가 두꺼워지며, 면대 밝기는 감소하고, 삶은 국수의 경도와 탄성이 높아지며, 식빵의 부피가 증가한다(Baik et al. 1994, Graybosch et al. 1996, Triboni et al. 2000, Park & Baik 2002). 단백질 함량이 재배 환경의 영향을 받기 때문에 국내 밀 품종의 경우 국수 면대 특성 및 삶은 국수 식미와 빵 부피의 연차 변이가 나타났다(Kang et al. 2010). 본 연구에서는 극히 제한된 시료만을 평가하였기 때문에 기존 연구와 차이가 난 것으로 보인다. 국수 면대 생성을 위한 적합 가수량은 Hetero가 29.5%로, 금강과 올그루(30.0%, 34.0%)보다 낮았으며, 국수의 면대 두께는 Hetero가 2.24 mm로 금강과 올그루(1.95 mm, 1.74 mm) 보다 두꺼웠다. 면대의 밝기는 올그루가 가장 밝았고, Hetero, 금강 순으로 어두워졌다. Hetero의 이러한 면대 특성은 높은 단백질 함량이 영향을 미친 것으로 보인다. Hetero의 높은 단백질 함량은 삶은 국수의 경도에 영향을 주며 5.9 N로 금강(4.7 N)과 올그루(4.0 N) 보다 높았지만 탄성과 점성은 차이가 없었다. 삶은 국수의 경도는 단백질의 질적 특성 보다는 함량에 영향을 많이 받으며, 탄성과 점성은 단백질의 질적 특성과 아밀로스 함량을 포함한 전분의 호화 특성에 영향을 받기 때문에 탄성과 점성에서는 차이가 나타나지 않은 것으로 보인다(Park & Baik 2002, Baik et al. 2003, Park et al. 2003, Kang et al. 2012). 국수의 단백질 함량은 10% 수준이 적합하며, 글루텐의 질적 특성이 연질밀보다는 약간 경질밀에 가까운 밀가루가 국수 식미에 유리한데(Park et al. 2003), Hetero는 너무 높은 단백질 함량으로 인해서 중간질의 중질 경도가 국수 면대 특성 및 식미에 미치는 영향을 평가하기에는 부적합하였다. Hetero의 다양한 시비 조건을 통해서 다양한 단백질 함량에 따른 중간질의 국수 면대 및 식미 평가 관련 후속 연구를 진행할 예정이다.

Fig. 2. Mixograms (A) and crumb structure of pan bread (C) of wheat line carrying Heterozygote *Pinb-D1* allele and parental varieties. Hetero is wheat line carrying Heterozygote *Pinb-D1* allele.

Table 3. End-use quality of wheat line carrying heterozygote *Pinb-D1* allele and parental varieties.

Year/Flour	End-use qualities ^z							
	White Salted Noodles						Pan Bread	
	WA (%)	TN (mm)	WIN	HD (N)	SP (Ratio)	CO (Ratio)	BLV (ml)	CF (N)
<i>Year</i>								
2016	31.0a ^y	1.99a	75.1a	4.9a	0.91a	0.65a	804.2a	3.4a
2017	31.3a	1.97a	75.7a	4.9a	0.91a	0.64a	814.4a	3.4a
<i>Flour</i>								
Keumkang	30.0b ^a	1.95b	74.1c	4.7b	0.91a	0.65a	894.7a	2.1c
Olgeuru	34.0a	1.74c	76.4a	4.0c	0.91a	0.65a	666.7c	5.5a
Hetero	29.5c	2.24a	75.7b	5.9a	0.91a	0.64a	866.7b	2.6b

^zWA, optimum water absorption of noodle; TN, thickness of noodle dough sheet; WIN, whiteness index of noodle dough; HD, Hardness of cooked noodles; SP, springiness of cooked noodles; CO, cohesiveness of cooked noodles; BLV, loaf volume of bread; CF, crumb firmness of bread.

^yValues followed by the same letters are not significantly different at $p < 0.05$.

Hetero의 식빵 부피는 866.7 mL로 올그루(666.7 mL)보다는 훨씬 크지만, 금강(894.7 mL)보다는 약간 작은 것으로 나타났으며, 식빵의 속질은 금강과 Hetero의 차이는 없었다(Fig. 2B). Hetero의 식빵의 속질(crumb) 경도는 2.6 N으로 금강(2.1 N)보다 약간 높았지만 올그루(5.5 N)보다는 매우 낮았다. 식빵의 부피는 단백질 함량이 높고 질적 특성이 양호할수록 높아지며, 식빵 부피가 클수록 속질의 구조가 촘촘하여 부드럽고 촉촉한 식감을 나타낸다(MacRitchie 2016). Hetero는 금강밀과 마찬가지로 빵 제조에 적합한 *Glu-1* 유전적 구성을 지녔고 *Glu-3*의 유전적 구성도 크게 차이가 나지 않았으며 단백질 함량도 높았지만, 식빵 적성은 오히려 금강보다 약간 떨어졌는데 이러한 이유는 Hetero가 지닌 종실 경도의 특성에 기인한 것으로 생각된다. 경질밀은 높은 단백질 함량과 빵에 적합한 글루텐의 질적 특성을 지니고 있으며, 경질밀의 높은 손상전분 함량은 가수량을 높이고 색깔을 어둡게 하는 단점이 있기는 하지만 발효 과정에서 효모의 활성을 증가시키는 효과가 있기 때문에 경질밀이 연질밀보다 식빵 제조에 적합하다(Morris & Bhavé 2008, Pasha et al. 2010). 단백질 관련 특성뿐만 아니라 Hetero가 지닌 종실 정도 특성이 제빵 적성에 미치는 영향을 정확히 평가하기 위해서는 모본과 여교배 유전 집단을 이용한 후대 분석이 필요하다.

Hetero는 이형접합 *Pinb-D1* 유전자형을 지닌 계통이 중간질 특성을 나타낼 것으로 예상하여 밀가루 및 가공 적성을 평가하였지만, 단백질 함량과 질적 특성의 영향으로 경질밀에 가까운 특성을 나타내었다. 이형접합 *Pinb-D1* 유전자형의 영향을 보다 정밀하게 평가하기 위해서는 모본과 교배를 통한 후대검정 및 평가가 필요하고, 다양한 시비 조건에 대한 반응 평가가 필요

하다. 최근에 초연질(super soft)밀이나 puroindolines 발현이 없는 계통 개발(*Pin null*)이 이루어지고 있으며, 관련된 유전체 연구도 활발하게 이루어지고 있다(Martin et al. 2017, Boehm et al. 2017, 2018, Kumar et al. 2019). 국산밀도 새로운 소재 개발을 위해서는 다양한 종실 정도를 지닌 품종 개발에 대한 지속적인 연구가 필요하다.

적 요

빵을 포함하여 국수 등 다목적용으로 이용되며 경질밀(*Pinb-D1b*)인 금강과 국수용으로 이용되며 연질밀(*Pinb-D1a*)인 올그루 교배집단에서 KASP (Kompetitive Allele Specific PCR)마커 검정과 염기서열 분석으로 *Pinb-D1a*와 *Pinb-D1b*가 동시에 발현되는 이형접합체를 선발하였다. 본 연구에서 이형접합체를 Hetero로 명명하였고, Hetero의 밀가루 이화학적 특성과 가공적성을 2년간 모본과 비교 평가하였다. Hetero의 *Glu-1* 조성은 금강과 같았으며, *Glu-3*의 유전적 조성은 모본의 중간 특성을 나타내었다. Hetero의 *Pinb-D1*은 이형접합 조성으로 금강과 올그루의 중간 정도의 밀가루 이화학 특성을 보일 것으로 예상했으나, 올그루보다는 금강에 가까운 밀가루 특성을 보였다. 제분율(71.6%)은 금강밀(74.5%)보다 낮았지만, 밀가루 입자 크기(73.3 μ m)와 손상전분 함량(4.6%)은 금강밀(71.9 μ m과 4.5%)과 비슷하였으며, 금강(14.0%와 57.5 mL)이나 올그루(11.4%와 45.5 mL)보다 높은 단백질 함량(16.5%)과 침전가(72.8 mL)를 나타내었다. Hetero의 반죽 가수량(68.7%)과 안정도(17.7 mm)는 금강밀(65.6%와 15.9 mm)보다 높았으며, 반죽

시간은 3.9분으로 같았다. Hetero의 높은 단백질 함량과 반죽 특성으로 식빵 적성이 금강밀과 비슷할 것으로 예측되었지만, 금강밀(894.7 mL) 보다 낮은 식빵 부피(866.7 mL)를 나타내었고, 국수 적성에서는 높은 단백질 함량으로 인해 금강보다 삶은 국수의 경도가 높았다. Hetero의 이러한 특성이 종실경도의 영향인지 다른 유전적 특성의 영향인지에 대해서는 모부분과 여교배 집단의 품질 및 재배와 관련된 후속 연구가 필요하다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 합성밀의 형질개선을 통한 재해저항성 신소재 창출, 세부과제번호: PJ0124960042020)에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

1. American Association of Cereal Chemists International. 2010. Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Methods 10-10.03, 26-31.01, 46-30.01, 54-40.02, 56-70.01 Available online only. AACCI: St. Paul, MN, USA.
2. Appelbee MJ, Mekuria GT, Nagasandra V, Bonneau JP, Eagles HA, Eastwood RF, Mather DE. 2009. Novel allelic variants encoded at the Glu-D3 locus in bread wheat. J Cereal Sci 49: 254-261.
3. Baik B, Czuchajowska Z, Pomeranz Y. 1994. Role and contribution of starch and protein contents and quality to texture profile analysis of oriental noodles. Cereal Chem 71: 315-20.
4. Baik BK, Park CS, Paszczynska B, Konzak CF. 2003. Characteristics of noodles and bread prepared from double null partial waxy wheat. Cereal Chem 80: 627-633.
5. Boehm JD, Ibba MI, Kiszonas AM, See DR, Skinner DZ, Morris CF. 2017. Identification of genotyping-by-sequence tags associated with milling performance and end-use quality traits in hard red spring wheat (*Triticum aestivum* L.). J Cereal Sci 77: 73-83.
6. Boehm JD, Ibba MI, Kiszonas AM, See DR, Skinner DZ, Morris CF. 2018. Genetic analysis of kernel texture (grain hardness) in a hard red spring wheat (*Triticum aestivum* L.) bi-parental population. J Cereal Sci 79: 57-65.
7. Bonafede MD, Tranquilli G, Pflüger LA, Peña RJ, Dukobsky J. 2015. Effect of allelic variation at the *Glu-3/Gli-1* loci on breadmaking quality parameters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). J Cereal Sci 62: 143-150.
8. Broccanello C, Chiodi C, Funk A, McGrath JM, Panella L, Stevanato P. 2018. Comparison of three PCR-based assays for SNP genotyping in plants. Plant Methods 14: 28.
9. Cane K, Spackman M, Eagles HA. 2004. Puroindoline genes and their effects on grains quality traits in southern Australian wheat cultivars. Aust J Agric Res 55: 89-95.
10. Chen F, He Z, Chen D, Zhang C, Zhang Y, Xia X. 2007. Influence of puroindoline alleles on milling performance and qualities of Chinese noodles, steamed bread and pan bread in spring wheats. J Cereal Sci 45: 59-66.
11. Gautier MF, Aleman ME, Guirano A, Marion D, Joudrier P. 1994. *Triticum aestivum* puroindolines, two basic cysteine-rich seed proteins: cDNA sequence analysis and developmental gene expression. Plant Mol Biol 25: 43-57.
12. Gibson TS, Al Qalla H, McCleary BV. 1992. An improved enzymic method for the measurement of starch damage in wheat flour. J Cereal Sci 15: 15-27.
13. Giroux MJ, Morris CF. 1997. A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch-surface friabilin. Theor Appl Genet 95: 857-864.
14. Graybosch RA, Peterson CJ, Shelton DR, Baenzinger PS. 1996. Genotypic and environmental modification of wheat flour protein composition in relation to end-use quality. Crop Sci 36: 296-300.
15. Kang CS, Jeung JU, Baik BK, Park CS. 2012. Effects of allelic variations in *Wx-1*, *Glu-D1*, *Glu-B3*, and *Pinb-D1* loci on flour characteristics and white salted noodle-making quality of wheat flour. Cereal Chem 89: 296-306.
16. Kang CS, Park CS, Park JC, Kim HS, Cheong YG, Kim KH, Kim KJ, Park KH, Kim JG. 2010a. Flour characteristics and end-use quality of Korean wheat cultivars I. Flour characteristics. Korean J Breed Sci 42: 61-74.
17. Kang CS, Park CS, Park JC, Kim HS, Cheong YG, Kim KH, Kim KJ, Park KH, Kim JG. 2010b. Flour characteristics and end-use quality of Korean wheat cultivars II. End-use properties. Korean J Breed Sci 42: 75-86.
18. Kumar N, Orenday-Ortiz JM, Kiszonas AM, Boehm JD, Morris CF. 2019. Genetic analysis of a unique 'super soft' kernel texture phenotype in soft white spring wheat. J Cereal Sci 85: 162-167.
19. MacRitchie F. Seventy years of reaserch into breadmaking quality. J Cereal Sci 70: 123-131.
20. Martin JM, Frohberg RC, Morris CF, Talbert LE, Giroux

- MJ. 2001. Milling and bread baking traits associated with puroindoline sequence type in hard red spring wheat. *Crop Sci* 41: 228-234.
21. Martin JM, Hogg AC, Webster RW, Giroux MJ. 2017. Creation and characterization of a double null puroindoline genotype in spring wheat. *Cereal Chem* 94: 805-810.
 22. Morris CF, Bhavé M. 2008. Reconciliation of D-genome puroindoline allele designations with current DNA sequence data. *J Cereal Sci* 48: 277-287.
 23. Nguimbou RM, Njintang NY, Himeda M, Gaiani C, Scher J, Mbofung CMF. 2012. Effect of cross-section differences and drying temperature on the physicochemical, functional and antioxidant properties of giant taro flour. *Food Biotech* 6: 1809-1819.
 24. Park CS, Baik BK. 2002. Flour characteristics related to optimum water absorption of noodle dough for making white salted noodles. *Cereal Chem* 79: 867-873.
 25. Park CS, Hong BH, Baik BK. 2003. Protein quality of wheat desirable for making fresh white salted noodles and its influences on processing and texture of noodles. *Cereal Chem* 80: 297-303.
 26. Park CS, Kang CS, Cheong YK, Jung WS, Woo SH. 2010. Influence of puroindoline genotypes on grain characteristics, physicochemical properties of flour and end-use quality of Korean wheats. *Korean J Breed Sci* 60: 233-242.
 27. Park CS, Kang CS, Park JC, Jung YJ, Cheong YK, Woo SH. 2009a. Association of puroindolines genotypes and grain properties, milling performances and physical properties of flour in Korean wheats. *Korean J Crop Sci* 54: 249-259.
 28. Park CS, Peña RJ, Baik BK, Kang CS, Heo HY, Cheong YK, Woo SH. 2009b. Allelic variation of glutenin, granule-bound starch synthase I and puroindolines in Korean wheat cultivar. *Korean J Crop Sci* 54: 181-191.
 29. Pasha I, Anjum FM, Morris CF. 2010. Grain hardness: A major determinant of wheat quality. *Food Sci Tech Intl* 16: 511-522.
 30. Peña RJ, Gonzalez-Santoyo H, Cervantes F. 2004. Relationship between *Glu-D1/Glu-B3* allelic combinations and bread-making quality-related parameters commonly used in wheat breeding. In: Lafiandra D, Masci S, D'Ovidio R (eds.). *The Gluten Proteins*. Royal Society of Chemistry Royal Society of Chemistry, UK. pp. 156-159.
 31. RDA. 2012. Standard of research and analysis for agricultural technology. pp. 339-365.
 32. Rozbicki J, Ceglińska A, Gozdowski D, Jakubczak M, CacakPietrzak G, Mądry W, Golba J, Piechociński M, Sobczyński G, Studnicki M, Drzazga T. 2015. Influence of the cultivar, environment and management on the grain yield and breadmaking quality in winter wheat. *J Cereal Sci* 61: 126-132.
 33. Shin S, Kang CS, Jeung JU, Baik BK, Woo SH, Park CS. 2012. Influence of allelic variations of glutenin and puroindoline on flour composition, dough rheology and quality of white salted noodles from Korean wheat cultivars. *Korean J Breed Sci* 44: 406-420.
 34. Takayama T, Ishikawa N, Taya S. 2006. The effect to the protein concentration and flour quality of nitrogen fertilization at 10 days after heading in wheat. *Jpn Agric Res Quart* 40: 291-297.
 35. Triboi E, Abad A, Michelena A, Lloveras J, Ollier J L, Daniel C. 2000. Environmental effects on the quality of two wheat genotypes: 1. Quantitative and qualitative variation of storage proteins. *Euro J Agronomy* 13: 47-64.
 36. Wang L, Li G, Pena RJ, Xia X, He Z. 2010. Development of STS markers and establishment of multiplex PCR for *Glu-A3* alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Cereal Sci* 51: 305-312.
 37. Wang LH, Zhao XL, He ZH, Ma W, Appels R, Pena RJ, Xia XC. 2009. Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit *Glu-B3* genes and development of STS markers in common wheat (*Triticum aestivum* L.) *Theor Appl Genet* 118: 525-539.
 38. Wieser H, Seilmeier W. 1998. The influence of nitrogen fertilization on quantities and proportions of different protein types in wheat flour. *J Sci Food Agric* 76: 49-55.