(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2016 년 11 월 17 일 (17.11.2016)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2016/182235 A1

(51) 국제특허분류:
A23L 27/10 (2016.01) *A23L 1/09* (2006.01)
A23L 27/30 (2016.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2016/004474

(22) 국제출원일: 2016 년 4 월 28 일 (28.04.2016)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2015-0066926 2015 년 5 월 13 일 (13.05.2015) KR

(71) 출원인: **주식회사 삼양사 (SAMYANG CORPORATION)** [KR/KR]; 03129 서울시 종로구 종로 33 길 31, Seoul (KR).

(72) 발명자: **김고은 (KIM, Go-Eun)**; 61271 광주시 북구 유림로 175, 112 동 101 호, Gwangju (KR). **박성원 (PARK, Sung Won)**; 34121 대전시 유성구 문지로 22, 102 동 302 호, Daejeon (KR). **임수연 (LIM, Su Youn)**; 16330 경기도 수원시 장안구 만석로 20 번길 28, 636 동 1501 호, Gyeonggi-do (KR). **김혜정 (KIM, Hye Jung)**; 34055 대전시 유성구 대덕대로 730, Daejeon (KR). **박종진 (PARK, Chong Jin)**; 34049 대전시 유성구 엑스포로 448, 102 동 1204 호, Daejeon (KR). **이강표 (LEE, Kang Pyo)**; 02023 서울시 중랑구 신내로 21 길 16, 512 동 104 호, Seoul (KR).

(74) 대리인: **팬코리아특허법인 (PANKOREA PATENT AND LAW FIRM)**; 06234 서울시 강남구 논현로 85 길 70, 13 층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

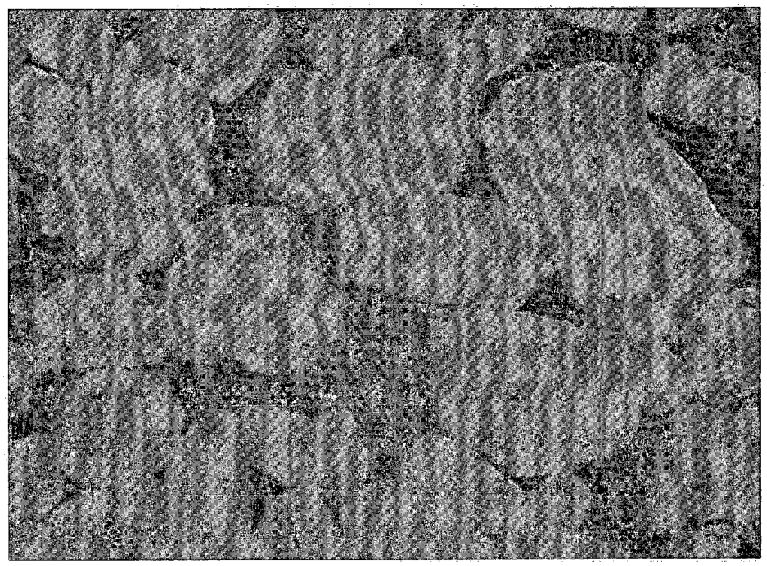
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),

[다음 쪽 계속]

(54) Title: MIXED SUGAR GRANULAR POWDER AND METHOD FOR PREPARING SAME

(54) 발명의 명칭 : 혼합당 과립 분말 및 이의 제조방법

[Fig. 4]



(57) Abstract: The present invention relates to a granular form of a mixed sugar composition having, as a main component, mixed sugar containing psicose, and to a method for preparing the same and, more specifically, to granules of psicose-containing mixed sugar with improved sweetness and physical properties, and to a method for preparing the same.

(57) 요약서: 본 발명은 사이코스가 함유된 혼합당을 주성분으로 하는 과립형태의 혼합당 조성물 및 그의 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 자세하게는 감미질 및 물성이 개선된 사이코스 함유 혼합당의 과립 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

WO 2016/182235 A1

OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

【명세서】

【발명의 명칭】

혼합당 과립 분말 및 이의 제조방법

【기술분야】

본 발명은 사이코스가 함유된 혼합당을 주성분으로 하는 과립형태의 혼합당 조성물 및 그의 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 자세하게는 감미질 및 물성이 개선된 사이코스 함유 혼합당의 과립 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

【발명의 배경이 되는 기술】

설탕은 음식에 첨가하여 단맛을 내는 대표적인 감미료 중의 하나이다. 설탕은 뛰어난 감미도를 지니고 있어 과거부터 여러 음식 및 가공 식품 등에 첨가되어 음식의 맛을 좋게 하고 입맛을 돋우는 가장 선호되는 감미료로 여겨져 왔다. 그러나, 최근 설탕의 유해성이 계속하여 밝혀짐에 따라 다양한 문제점이 제기되고 있으며, 구체적으로, 설탕의 과잉 섭취가 충치는 물론 비만, 당뇨병 등 각종 질환의 원인으로 지적되고 있다. 따라서, 설탕을 대체할 만한 감미료 개발의 필요성이 전세계적으로 대두되고 있는 실정이다.

이에 따라, 설탕을 대체할 만한 감미도를 지니면서도 저칼로리이고, 나아가 단순히 당류의 흡수를 저해하는 것만으로 당의 과잉 섭취를 차단하는 감미료가 아닌, 보다 개선된 대체 감미료의 개발이 지속적으로 요구되고 있다.

D-사이코스는 당밀이나 이성화당 중에 미량 포함되어 있는데, D-과당으로부터 에피메라제에 의해 효소적으로 생산 가능한 희소당의 일종으로, 체지방 축적 억제 등의 생리기능이 기대되고, 더욱이 감미도가 설탕의 70%에 이름에도 불구하고 칼로리가 거의 없고 용해성이 우수하기 때문에 다양한 식품에 응용이 기대된다.

그러나, D-사이코스를 식품 감미료로 사용할 경우, 사이코스가 설탕에 비해 상대적으로 낮은 감미도를 갖는다는 점에서 필요한 정도의 감미를 얻고자 D-사이코스의 사용량이 많아지고 있고, 사이코스가 농후감이 지나치게 높거나 늦은 감미 상승 등의 문제점이 있어 혼합 사용이 더욱 바람직하다.

이에, 사이코스에 다른 종류의 당류를 첨가하여 혼합당을 제조하거나

화학적 결합을 형성함으로써 목적하는 감미질을 달성하는 방법이 시도되고 있으며, 예를 들면, 스테비올 배당체, 수크랄로스, 아스파탐, 나한과 추출물, 감초 추출물, 쏘마틴 및 아가베 시럽과 같은 고감미도 감미료를 첨가하는 방법 등이 있다.

혼합당을 제조하는 방법의 일 예는, 설탕에 자일로스를 첨가하는 방법으로서 결정형태의 설탕과 분말상의 자일로스를 단순 '혼합'하는 방식을 일견하여 착안할 수 있다. 그러나 두 가지 이상의 성분이 혼합되어 조성되는 입자상 또는 분말상의 식품 조성물에 있어서는 '구성성분의 균일한 혼합 여부' 및 '혼합 후 재분리 여부'가 상당히 중요한 문제이다. 혼합 당류제품에서 전반적으로 균일하지 못하거나 재분리가 일어나, 자칫 특정 부위에서는 일정 성분이 많이 분포되고, 또 다른 부위에서는 다른 성분이 많이 분포되어 있으면, 전체적으로 의도했던 배합비가 그 특정의 부위에서는 달성할 수 없어 예상치 못하는 부작용을 불러일으킬 수가 있기 때문이다.

이와 같은 당류의 혼합물에 있어서 균일성 유지 및 재분리 방지의 문제는 입자상 또는 분말상 제품의 제조자에게는 중요한 문제이고, 그에 대한 해결책이 반드시 수반되어야지만 입자상 또는 분말상의 식품으로서 유통시킬 수 있을 것이다.

【발명의 내용】

【해결하고자 하는 과제】

상기 종래 기술의 문제점 중 하나로서 당분말 입자가 미세할수록 흐름성이 좋지 않아 가공면에서 사용 편리성이 저하되며, 사이코스의 흡습성으로 인해 분말 상태를 유지하기 어려우며, 불균일 혼합 또는 재분리 발생을 해결한, 사이코스를 포함하는 혼합당 과립 및 이의 제조방법을 목적으로 한다.

본 발명의 또 다른 목적은 단독 사이코스의 물성 및 감미질이 보다 개선된, 사이코스를 포함하는 혼합당 과립 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 수분의 영향을 적게 받으면서 균일한 분포의 혼합당 과립을 형성할 수 있고, 분산성과 흐름성이 향상되어 다양한 포장을 가능하게 하는, 혼합당 과립 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

【과제의 해결 수단】

본 발명의 일 예는 (a) 사이코스를 함유하는 제1 당분말과, (b) 제1 당분말의 평균입경 100을 기준으로 평균입경 30 내지 170, 바람직하게는 90 내지 170의 비율을 가지며, 사이코스를 제외한 단당류 및 이당류로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 제2 당분말을 포함하는 혼합당 과립 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명에 따른 혼합당 과립의 흡습도는, 사이코스 분말의 흡습도 100을 기준으로 90 이하, 예를 들면 50 내지 90이다. 또한, 혼합당 과립의 흐름성은, 사이코스 분말의_100을 기준으로 120 내지 200, 120 내지 195, 120 내지 190, 120 내지 185, 바람직하게는 120 내지 180 이다. 상기 혼합당 과립의 흡습도 및 흐름성은 본 기술분야에서 다양한 방법으로 특정할 수 있으며 특별한 방법으로 한정되는 것은 아니다.

본 발명의 또 다른 일 예는, (a) 사이코스를 함유하는 제1 당분말과, (b) 제1 당분말의 평균입경 100을 기준으로 평균입경 30 내지 170의 비율을 가지며, 사이코스를 제외한 단당류 및 이당류로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 제2 당분말에 결합제를 첨가하여 과립화하는 단계를 포함하는, 혼합당 과립의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명의 추가 일 예는 상기 혼합 과립당을 포함하는 식품 조성물로서, 감미가 부여된 식품, 의약품, 구강용 조성물 등이며, 식품의 예로는 음료, 캔디, 빙과, 요구르트, 초콜릿 등 전반적인 감미 제품의 조성물을 포함한다. 특히, 분말형태의 식품(인스턴트형 분말 식품), 분말 제제 (비타민, 유산균 분말, 추출물 분말 등)에 효과적인 사용이 가능하다.

과립화(Granules)라 함은 의약품이나 식품을 입상으로 만든 것으로, 입상의 분말 혼합물을 그대로, 또는 결합제를 가해서 균등하게 혼합하고 건조하여 큰 입경의 입자를 제조하는 것을 말한다. 본 발명의 혼합당 과립은 당분말 입자가 미세할수록 흐름성이 좋지 않아 가공적인 측면에서 발생하는 사용 편리성의 저하, 사이코스의 흡습성으로 인해 분말 상태를 유지하기 어려움, 및 불균일 혼합 또는 재분리가 발생하는 문제점을 해결하였으며, 단독 사이코스에서의 물성 및 감미질이 보다 개선된 사이코스를 제공할 수 있다. 또한, 본 발명의 혼합당 과립은 수분의 영향을 적게 받으면서 균일한 분포의 혼합당 과립을 형성할 수

있고, 분산성과 흐름성이 향상되어 다양한 포장을 가능하게 하는 장점이 있다.

이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

본 발명을 (a) 사이코스를 함유하는 제1 당분말과, (b) 제1 당분말의 평균입경 100을 기준으로 평균입경 30 내지 170, 바람직하게는 90 내지 170 의 비율을 가지며, 사이코스를 제외한 단당류 및 이당류로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 제2 당분말을 포함하는 혼합당 과립에 관한 것이다.

본 발명에 따른 혼합당 과립의 흡습도는, 사이코스 분말의 흡습도 100을 기준으로 90 이하, 예를 들면 50 내지 90이다. 또한, 혼합당 과립의 흐름성은, 사이코스 분말의 100을 기준으로 120 내지 200, 120 내지 195, 120 내지 190, 120 내지 185, 바람직하게는 120 내지 180 이다. 상기 혼합당 과립의 흡습도 및 흐름성은 본 기술분야에서 다양한 방법으로 특정할 수 있으며 특별한 방법으로 한정되는 것은 아니다.

상기 혼합당 과립의 평균입경이 제1 당분말인 사이코스의 평균입경 100을 기준으로의 100 내지 250 일 수 있다. 또한, 상기 제1당분말의 평균입경은 50 내지 300 ㎛ 단위 이고, 제2당분말의 평균입경은 50 내지 700 ㎛ 단위일 수 있다. 상기 제1 당분말과 제2 당분말은 과립화 하기 전에 분급처리를 수행하여 평균입경의 표준편차를 감소시킨 것일 수 있다.

본 발명의 일 예에서, 상기 혼합당 과립은 제1당분말과 제2당분말의 혼합 중량비 (제1 당분말: 제2 당분말)는 사이코스의 생리 활성 효과 부여 및 과립의 흐름성과 감미질의 향상을 고려하여 70:30 내지 5:95, 예를 들면 50:50 내지 10:90 일 수 있다.

상기 분말원료는 사이코스를 포함하는 제1 당분말과, 사이코스를 제외한 단당류 및 이당류로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 제2 당분말을 포함할 수 있다.

상기 사이코스는 분말, 또는 다른 당류와의 혼합당 형태로 추가될 수도 있다. 상기 사이코스는 사이코스 분말, 예컨대 순도 90% 이상의 사이코스를 분말로 사용되거나, 또는 추가의 다른 당류를 포함하는 혼합당일 수 있으며, 혼합당의 예는 과당, 포도당, 및 올리고당으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 포함할 수 있다. 상기 혼합당은, 전체 고형분 함량 100 중량부를 기준으로 1 내지 99.9 중량부의 사이코스를 함유할 수 있으며, 추가적으로 과당,

포도당, 및 올리고당으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 포함할 수 있다.

상기 사이코스 함유 혼합당의 구체적인 예는, 혼합당의 전체 고형분 함량 100 중량부를 기준으로, 사이코스 2 내지 55 중량부, 과당 30 내지 80 중량부 및 포도당 2 내지 60 중량부, 및 올리고당 0 내지 15 중량부를 포함하는 것일 수 있으며, 올리고당은 포함하지 않을 수도 있다. 상기 사이코스, 과당 및 포도당은 바람직하게는 모두 D형-이성질체인 것이다.

상기 사이코스는 화학적 합성, 또는 사이코스 에피머화 효소를 이용한 생물학적 방법으로 수행할 수 있으며, 바람직하게는 생물학적 방법으로 수행할 수 있다. 이에, 상기 사이코스는 사이코스 에피머화 효소, 상기 효소를 생산하는 균주의 균체, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물, 및 상기 파쇄물 또는 배양물의 추출물로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 사이코스 생산용 조성물을, 과당-함유 원료와 반응하여 제조된 것일 수 있다.

본 발명의 일 예에서, 생물학적 방법에 따라 사이코스를 제조하는 방법은, 사이코스 에피머화 효소를 생산하는 균주 또는 사이코스 에피머화 효소를 암호화하는 유전자가 도입된 재조합 균주를 배양하고, 이로부터 얻어진 사이코스 에피머화 효소를 과당-함유 원료와 반응하여 사이코스를 제조하는 것일 수 있다. 상기 사이코스 에피머화 효소와 과당-함유 원료와의 반응은 액상 반응 또는 고정화 효소를 이용한 고상 반응으로 수행될 수 있다.

또는, 사이코스 에피머화 효소를 생산하는 균주 또는 사이코스 에피머화 효소를 암호화하는 유전자가 도입된 재조합 균주를 얻고, 균주의 균체, 상기 균주의 배양물, 상기 균주의 파쇄물, 및 상기 파쇄물 또는 배양물의 추출물로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 사이코스 생산용 조성물을, 과당-함유 원료와 반응하여 사이코스를 제조하는 것일 수 있다. 사이코스 에피머화 효소를 생산하는 균주의 균체를 이용하여 사이코스를 제조하는 경우 액상 반응 또는 고정화 균체를 이용한 고상 반응으로 수행될 수 있다.

본 발명의 구체적 일 예에서, 사이코스 에피머화 효소를 생산하는 균주로는 높은 안정성을 가지면서도 고수율로 사이코스 에피머화 효소를 생산할 수 있는 균주일 수 있다. 상기 재조합 균주는 다양한 숙주세포, 예컨대, 대장균, 바실러스속 균주, 살모넬라속 균주 및 코리네박테리움속 균주 등을 사용할 수

있으나, 바람직하게는 GRAS 균주인 코리네박테리움속 균주일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 코리네박테리움 글루타리쿰일 수 있다.

재조합 균주를 이용한 경우 사이코스 에피머화 효소는 다양한 균주에서 유래된 효소의 암호화 유전자를 사용할 수 있으며, 예를 들면, 한국특허공개 2014-0021974에 기재된 트리포네마 프리미티아 유래 효소, 한국특허공개 2014-0080282에 기재된 루미노코코스 토르크 유래 효소, 한국등록특허 10-1318422호에 기재된 클로스티리디움 신댄스 유래 효소일 수 있으며, 또는 엔시퍼 아드해렌스 유래 효소일 수 있다.

구체적인 일 예에서, 본 발명에 따른 사이코스 에피머화 효소는 클로스티리디움 신댄스 유래 효소일 수 있다. 상기 클로스티리디움 신댄스 유래 효소는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있으며, 서열번호 8 또는 서열번호 9의 핵산서열을 포함하는 염기서열에 의해 암호화되는 것일 수 있다. 서열번호 8의 핵산서열은 대장균 최적화 핵산서열이고, 서열번호 9는 코리네박테리움에 적합하게 변형된 핵산서열이다.

본 발명의 일 예에 따른 재조합 균주의 제조에 있어서, 상기 사이코스 에피머화 효소를 암호화하는 핵산서열의 상부에 위치하는 조절 서열을 사용하여 효소의 발현을 조절할 수 있으며, 조절서열은 전사 프로모터를 필수적으로 포함하며, 추가로 리보솜 결합 영역 및/또는 스페이서 서열 등을 포함할 수 있다. 상기 조절 서열을 구성하는 요소들은 직접 연결되거나 1개 내지 100개의 염기, 예를 들면, 5개 내지 80 염기를 가지는 핵산서열의 링커를 하나 이상 포함하여 연결될 수 있다.

일 구체예에서, 상기 전사 프로모터는 코리네박테리움속 균주에서 사이코스 에피머화 효소를 암호화하는 핵산서열을 발현하는 핵산분자일 수 있으며, 예를 들어, tac1, tac2, trc, sod 프로모터일 수 있다.

상기 sod 프로모터는 코리네박테리움 글루타리쿰 유래 프로모터로서, 바람직하게는 서열번호 1의 핵산서열을 코어영역으로 포함하는 것일 수 있다. Trc 프로모터는 대장균 유래 프로모터로서 trp 프로모터와 lac UV5 프로모터의 조합으로 제조된 것이다. Tac1 프로모터는 대장균 유래 프로모터로서, trp 프로모터와 lac UV5 프로모터의 조합으로 제조된 것이다. Tac2 프로모터는 대장균 유래 프로모터로서 trp 프로모터와 lac UV5 프로모터의 조합으로 제조된 것으로서

상기 Tac1 프로모터의 서열을 변형하여 최적화한 형태이다.

상기 리보좀 결합 영역과 스페이서는 화학적으로 직접 연결되거나 그 중간에 링커 핵산서열을 개재하여 간적접으로 연결될 수 있다. 본 발명의 일 예에서 리보좀 결합 영역(ribosome binding region) 및 스페이서 서열은 5'부터 3'순으로 순차적으로 연결된 하나의 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 본 발명의 일 예에 따른 프로모터 서열, 리보좀 결합 영역(ribosome binding region) 및 스페이서 서열의 핵산서열을 하기 표 1에 나타낸다. 하기 표 1에서 진하게 밑줄로 표시된 부분은 조절서열 중, 리보솜결합영역, 스페이서 서열, 링커서열 등을 나타낸다.

【표 1】

서열 번호	서열(5'→3')	명명
1	aagcgcctcatcagcggtaaccatcacgggttcgggtgcgaaaaaccatgccataacaggaatgttcctttcgaaaa ttgaggaagccttatgcccttcaaccctacttagctgccaattattccgggcttgtgacccgctacccgataaataggtc ggctgaaaaatttcgttgcaatatcaacaaaaaggcctatcattgggaggtgtcgcaccaagtacttttgcgaagcgc catctgacggattttcaaaagatgtatatgctcggtgcggaaacctac **gaaaggatttttttacccatggctgtatacgaactcccagaactcgactacgcatacgac gaaaggattacaaa**	Sod promoter
2	tgacaattaatcatcggctcgtatattgt**gtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaacagaattccc ggggaaaggattacaaa**	tac1 promoter
3	tgacaattaatcatccggctcgtataatgt**taacaatttgtggaattgtgagcggacacacaggaaacagaccat ggaattcgagctcggtacccggggaaaggattacaaa**	Tac2 promoter
4	tgacaattaatcatcggcctcgtataatgt	trc promoter
5	gaaagga	Ribosome binding region
6	ttacaaa	Spacer sequence

본 발명에 따른 사이코스 에피머화 효소는 효소활성 및 열안정성이 우수한 것이 바람직하고, 이에 본 발명의 구체예에서, 전사 프로모터 또는 조절서열은 사이코스 에피머화 효소를 코딩하는 유전자와의 조합이 중요하며, 본 발명에 사용된 사이코스 에피머화 효소와는 tac1, tac2, trc, sod 프로모터 모두 적정 이상의 단백질 발현을 제공할 수 있으며, 특히 sod 프로모터를 사용한 경우에는 단백질의 폴딩(folding)이 견고하여 열안정성이 높게 나타나는 결과를 얻을 수 있어 더욱 바람직하다.

재조합 균주를 이용한 사이코스 생산방법 등은 한국특허공개 2014-0021974,

한국특허공개 2014-0080282 및 한국등록특허 10-1318422호에 기재된 방법에 따라 수행될 수 있으나 특별히 한정되지 않는다.

상기 사이코스 생산 방법에 있어서, 효율적인 사이코스 생산을 위하여, 기질로서 사용되는 과당의 농도는 전체 반응물 기준으로 40 내지 75%(w/v), 예컨대, 50 내지 75%(w/v)일 수 있다. 과당의 농도가 상기 범위보다 낮으면 경제성이 낮아지고, 상기 범위보다 높으면 과당이 잘 용해되지 않으므로, 과당의 농도는 상기 범위로 하는 것이 좋다. 상기 과당은 완충용액 또는 물(예컨대 증류수)에 용해된 용액 상태로 사용될 수 있다.

본 발명에 따른 상기 제2 당분말은 구체적으로 포도당, 설탕, 유당, 말토스, 갈락토오스, 타가토스, 자일로스, 만노스, 알로스 및 과당으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 감미질을 고려할 때, 제2당 분말은 설탕과 포도당이 바람직하며, 용도 또는 기능성을 고려할 때는 다양한 당류를 추가로 포함할 수 있다. 상기 제 2당분말은 결정 또는 분말 형태로 존재하므로, 본 발명에서 제시하는 입경 조건에 적합하다면 혼합당을 제조하는 데에는 무리가 없다. 예를 들면, 상기 포도당은 무수 포도당 또는 함수 포도당일 수 있다. 상기 설탕은 정제도에 따라 백설탕, 황설탕 등일 수도 있고, 평균입경에 따라 정백당, 세립당, 미립당, 분당일 수도 있다.

본 발명에 따른 혼합당 과립은 당분말의 결합제를 추가로 포함할 수 있으며, 최종 얻어진 혼합당 과립의 총 중량 중 결합제 함량이 0.1 내지 5 중량%일 수 있다. 상기 결합제의 예는 물, C1-C6 알코올, C1-C6 알코올의 수용액, 말토덱스트린, 난소화성 말토덱스트린, HPMC(Hydroxypropyl methylcellulose) 및 전분으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

상기 과립화 단계는 제1 당분말과 제2 당분말을 혼합하고 건조하여 수행하거나, 유동층 과립기에서 유동시켜 수행할 수 있으며, 과립화 공정에서는 혼합당 과립의 총 중량 중 결합제의 함량이 0.1 내지 5 중량%가 되도록, 결합제를 첨가할 수 있다.

상기 결합제는 원료 분말에 분사하여 첨가할 수 있으며, 결합제를 분사하면서 원료 분말을 혼합하거나, 원료 분말을 혼합한 후에 분사할 수도 있으나, 특별히 제한되는 것은 아니다. 일 예로서, 휘발성 알코올 또는 이를 포함하는 수용액의 경우 잔량이 크지 않으므로, 결합제의 잔량이 0.1 내지 5

중량%가 되도록 처리량을 증가시킬 수 있으며, 예를 들면 첨가량을 혼합당 과립의 총 중량 중 10 내지 20중량%로 첨가할 수 있다.

본 발명의 또 다른 일 예는 (a) 사이코스를 함유하는 제1 당분말과, (b) 제1 당분말의 평균입경 100을 기준으로 평균입경 30 내지 170의 비율을 가지며, 사이코스를 제외한 단당류 및 이당류로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 제2 당분말에 결합제를 첨가하여 과립화하는 단계를 포함하는 혼합당 과립의 제조방법에 관한 것이다.

상기 얻어진 혼합당 과립의 특성은 상술한 바와 같다. 구체적으로, 상기 제조된 혼합당 과립의 평균입경이 상기 제1 당분말의 평균입경 100을 기준으로, 100 내지 200 이거나, 혼합당 과립의 흡습도가 사이코스 분말의 흡습도 100을 기준으로 90 이하, 예컨대 50 내지 90이거나, 상기 혼합당 과립의 흐름성이, 사이코스 분말의 흐름성 100을 기준으로 120 내지 200일 수 있다.

본 발명의 일 예에서, 상기 과립화 공정은 혼합기에서 원료 분말을 혼합 및 건조하여 과립화를 수행하거나, 유동층 과립기에서 원료 분말을 유동화시켜서 수행할 수 있다. 유동층 과립기는 분말이 아래에서 위로 이동하고 있는 상태에서 결합제를 첨가하면, 원료 분말이 아래 위로 이동하려는 힘(마찰력)에 의해 많은 유동 분말의 표면이 녹아 분말끼리 결합하게 됨에 따라 과립이 이루어지며, 또한 과립된 유동 분말들이 마찰에 의해 표면이 매끄러워지면서 흐름성이 더욱 개선되게 되므로, 유동층 과립기를 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

본 발명의 일 예에서, 혼합기에서 원료 분말을 혼합 및 건조하여 과립화를 수행하는 경우에는 상기 제1 당분말과 제2 당분말을 혼합 및 40 내지 70℃ 온도범위 (예를 들어, 45℃(실시예 3))에서 열풍 건조하여 수행할 수 있다.

또 다른 일 예에서, 유동층 과립기에서 제1 당분말과 제2 당분말을 유동화시켜 결합제를 분무하면서 과립화를 수행하는 경우, 예를 들면 25 내지 50% RH, 온도 40 내지 70℃, 압력 30 내지 150 m^3/h 인 공기를 유동층 과립기에 공급하여 원료 분말을 유동시킬 수도 있다.

본 발명의 또 다른 일 예에서, 상기 혼합당 과립을 포함하는 식품 조성물을 제공할 수 있으며, 상기 혼합당 과립은 흡습성이 낮고, 흐름성이 개선될 뿐만 아니라, 단독 사이코스에 비해 감미질이 향상된 장점이 있어 설탕이나 감미료와 동일한 용도로 사용될 수 있으며, 다양한 식품에 적용 가능하다.

구체적으로, 음료, 캔디, 빙과, 요구르트, 초콜릿 등 감미가 부여된 식품 전반에 사용할 수 있고, 특히 분말 형태의 식품군에서 감미 부여용 조성물로서 적합하게 사용될 수 있다. 상기 식품 조성물 중 혼합당 과립의 함량은 0.01 내지 50 중량%로 포함될 수 있다.

【발명의 효과】

본 발명은 사이코스를 다른 당류와 혼합당 과립으로 제조함으로써 과립 감미질 및 특성의 균일성을 유지 및 재분리 방지를 할 수 있고, 흐름성 및 흡습성을 개선시킴으로써 분말상 제품의 포장, 유통, 또는 장기 보관 시에 발생할 수 있는 문제점을 보완할 수 있다. 또한, 관능적으로 사이코스가 갖는 감미상승이 늦다는 문제와 후미에서의 쓴맛(이미)이 느껴지는 문제를 보완하여, 감미질이 개선된 사이코스 혼합 조성물을 제공할 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명의 제조예 1에서 얻어진 사이코스 분말을 배율 X100으로 측정한 주사전자현미경(SEM) 사진이다.

도 2은 본 발명의 제조예 1에서 얻어진 사이코스 분말을 배율 X400으로 측정한 실체 현미경 사진이다.

도 3은 본 발명의 제조예 1에서 얻어진 사이코스 결정의 X선 회절 패턴 그래프이다.

도 4은 본 발명의 일 실시예에 따른 사이코스와 무수포도당의 혼합당 과립을 배율 X400으로 측정한 실체 현미경 사진이다.

도 5은 본 발명의 일 실시예에 따른 사이코스와 설탕의 혼합당 과립의 관능 평가결과를 나타내는 감미 프로파일 그래프이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 사이코스와 포도당의 혼합당 과립의 관능 평가결과를 나타내는 감미 프로파일 그래프이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 사이코스-함유 혼합당 과립의 흐름성 증가량을 나타내는 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 사이코스-함유 혼합당 과립의 시간에 따른 흡습 증가량을 나타내는 그래프이다.

도 9은 본 발명의 일 실시예에 따른 사이코스-함유 혼합당 과립의 흡습성을 비교한 그래프이다.

도 10은 본 발명 사용되는 사이코스 시럽 제조를 위한 발현 재조합 벡터(pCES_sodCDPE)의 일 예를 도시한 도면이다.

【발명을 실시하기 위한 구체적인 내용】

본 발명을 하기 예시적인 실시예를 들어 더욱 자세히 설명할 것이나, 본 발명의 보호범위가 하기 실시예로 한정되는 의도는 아니다.

제조예 1: 사이코스의 제조

1-1: 사이코스 생산 균주의 제조

크로스트리디움 신댄스(*Clostridiuim scindens* ATCC 35704)로부터 유래된 사이코스 에피머화 효소의 암호화 유전자(DPE gene; Gene bank: EDS06411.1)를, 대장균에 최적화하여 변형한 형태의 폴리뉴클리오티드로 합성하고 CDPE라 명명하다. 대장균에 최적화된 폴리뉴클리오티드(서열번호 2)와 pET21a 벡터로부터 확보한 sod 프로모터와 T7 터미네이터를 피씨알(PCR)을 통해 각각의 주형으로 확보하였고, 이를 오버랩 피씨알 법으로 하나의 주형으로 연결하여 T-vector cloning을 통해 pGEM T-easy vector에 클로닝하여, sod 프로모터(서열번호 1), 최적화 CDPE 서열(서열번호 8) 및 T7-터미네이터를 포함하는 폴리뉴클레오티드의 서열을 확인하였다.

상기 확인된 전체 폴리뉴클레오티드를 제한효소 NotI과 XbaI(NEB)을 사용하여 발현벡터인 pCES208(J. Microbiol. Biotechnol., 18:639-647, 2008)의 동일한 제한효소 부위에 삽입하여 재조합 벡터 pCES208/사이코스 에피머화 효소(pCES_sodCDPE)를 제조하였다. 상기 제조된 재조합 벡터(pCES_sodCDPE)의 개열지도를 도 10에 개시하였다.

상기 제조된 재조합 벡터(pCES_sodCDPE) 플라스미드를 전기천공법(electroporation)을 사용하여 코리네박테리움 글루타리쿰을 형질전환시켰다. 콜로니를 picking하여 카나마이신(Kanamycin)을 최종농도 15ug/ml로 첨가한 LB 배지(트립톤 10g/L, NaCl 10g/L, 효모 추출물 5g/L) 4ml에 접종한 후, 배양조건 30℃ 및 250rpm에서 약 16시간 동안 배양하고, 상기 배양액

중 1ml을 수득하여 15ug/ml의 카나마이신을 포함하고 있는 100ml LB 배지에 접종하여 본 배양을 16시간 이상 진행하였다.

그 다음 Beadbeater를 이용하여 배양한 세포를 용해(lysis)시킨 후, 상등액만 취득하여 샘플버퍼와 1 : 1로 혼합 후 100℃에서 5분간 가열하였다. 준비된 샘플을 12% SDS-PAGE gel (조성: running gel - 3.3 ml H2O, 4.0 ml 30% acrylamide, 2.5 ml 1.5M Tris buffer(pH 8.8), 100 ㎕ 10% SDS, 100 ㎕, 10% APS, 4 ㎕ TEMED / stacking gel - 1.4 ml H_2O, 0.33 ml 30% acrylamide, 0.25 ml 1.0M Tris buffer(pH 6.8), 20 ㎕ 10% SDS, 20 ㎕ 10% APS, 2 ㎕ TEMED)에 180V로 약 50 분 동안 전기영동하여 단백질(CDPE) 발현을 확인하였다.

CDPE의 발현을 SDS-PAGE gel상에서 확인 후 정확한 발현량의 측정을 위해 Ni-NTA resin을 이용한 His-tag정제 진행하여, 계산식(발현율(%) = (Purified protein(mg) / Total soluble protein(mg)) * 100)을 이용하여 발현율 계산하였다. 상기 제조된 형질전환 코리네박테리움 글루타리쿰은 전체 수용성 단백질을 16.62 mg 및 정제된 효소 단백질 1.74 mg을 생산하였다.

1-2: 사이코스 시럽의 제조

제조예 1-1에서 얻어진 사이코스 에피머화 효소를 생산하는 재조합 균주를 이용하여 과당으로부터 사이코스를 제조하고자, 균주 배양에서 원심분리로 세포를 회수하였다. 그 다음 상기 세포 현탁액에 최종 부피에 유화제(M-1695)를 0.05% (w/v) 처리하여 35℃(±5℃)에서 60 분간 처리하였다. 반응이 완료된 균체는 다시 원심분리기를 이용하여 유화제가 포함된 상등액은 제거한 뒤 균체를 회수하였다.

고정화 비드 제조를 위하여, 상기 회수된 균체는 D.W.와 혼합하여 최종 균체 농도 5% (w/v)로 맞추고, 물에 용해된 4% (w/v) 알긴산과 회수된 균체 5%(w/v)를 1:1로 혼합하고, 혼합 시 생성된 기포를 제거하기 위해 4℃ 냉장 보관하였다. 상기 냉장 보관된 혼합액은 Neddle(내경 0.20 내지 0.30mm)을 통해 혼합액이 사출되어 방울 형태로 형성되며 무게에 의해 낙하하게 되며, 낙하된 혼합액은 미리 제조된 100mM 염화칼슘 ($CaCl_2$) 용액으로 떨어뜨려 경화시켜 구형 또는 타원형의 비드를(지름 2.0 내지 2.2mm) 형성하였다. 상기 형성된 비드들은 100mM 염화칼슘 용액에 담그어 교반기에 의해 골고루 섞어지면서 더욱 경화되도록 하였다.

상기 혼합액이 모두 사출된 후에, 4 내지 6시간 냉장 보관하면서 비드를 더욱 경화시킨 뒤에 새로운 100mM 염화칼슘 용액과 교체하여 냉장 상태에서 약 6시간 정도 경화를 시켰다. 경화가 완료된 비드는 걷어내 물기를 완전히 제거한 후, 비드 부피 대비 3배 부피의 물을 투입한 후 10분간 교반하고, 이러한 과정을 3회 처리하여 염화칼슘 용액을 제거하였다.

세척된 비드들은 망간 소킹을 위하여 물기를 완전히 제거한 후, 10mM 망간이 포함된 40 brix (%) 반응 기질을 비드 부피 대비 3 배 부피로 투입한 후 10분간 교반하고, 이러한 처리를 3회 이상 처리하여 10mM 망간이 포함된 반응 기질로 교체하였다. 반응 기질은 pH 6.8 내지 7.2로 3N NaOH에 의해 조절되며, 생산물의 종류에 따라 액상 과당 또는 결정 과당이 반응 기질이 될 수 있다. 10mM 망간이 포함된 반응 기질로 교체된 비드들은 반응조로 옮겨진 뒤, 반응 온도 50℃에서 약 30 내지 60분간 반응하여 망간 및 과당으로 비드의 소킹 작업을 완료하였다. 소킹이 완료된 비드는 지름이 약 1.6 내지 1.8mm로 줄어들며 강도 또한 증가하게 된다. 소킹이 완료된 비드들의 기질을 제거한 후 고정화 반응 컬럼에 충진한 후 사이코스 시럽 생산에 이용하였다.

<고정화 컬럼 반응조건>

반응 온도: 컬럼 자켓 내부 온도 50℃

기질 유속: 0.5 SV (space velocity L. h^{-1})

반응 기질: 결정 과당 40brix, pH 6.8 내지 7.2,

비드 제조: 2.5%(w/w) 균체, 2%(w/w) 알긴산 혼합 및 10mM Mn^{2+} soaking

상기 고정화 반응 컬럼에, 원료 용액이 75 %의 고형분을 포함하고, 전체 고형분 함량이 100 중량부 일 때, 과당의 함량이 92 중량부로 포함하는 원료를 제공하여 사이코스 시럽을 제조하였다. 상기 반응액으로부터 포도당:과당:사이코스:올리고당의 중량비로 6:67:25:2인 25(w/w)% 사이코스 시럽을 수득하였다.

1-3: 사이코스 분말의 제조

제조예 1-2에서 얻어진 사이코스 시럽을 유색 및 이온 성분 등의 불순물을 제거하기 위해 양이온 교환수지, 음이온 교환수지 및 양이온과 음이온교환수지가 혼합된 수지로 충진된 상온의 컬럼에 시간 당 이온교환수지 2배(1 내지 2배)

부피의 속도로 통액 시켜 탈염시킨 후, 칼슘(Ca^{2+}) 타입의 이온교환수지로 충진된 크로마토그래피를 이용하여 고순도의 사이코스 용액으로 분리 수득하였다. 상기 고순도 사이코스 시럽을 82Bx(%,w/w)(80 내지 83Bx) 농도로 농축시키고, 과포화 상태가 되는 온도 35℃(35 내지 40℃)에서 서서히 온도 10℃(10 내지 15℃)까지 냉각시켜 결정을 생성시켰다. 이 때 사이코스 종정을 첨가하지 않고, 상기 결정화 단계에서 수득된 사이코스 결정은 원심 탈수에 의해 모액을 제거하고 결정을 냉각수로 세척한 후, 건조하여 회수 하였다.

상기 얻어진 사이코스 결정 분말의 평균 입도는 237㎛이고, 입경 범위는 74 내지 428㎛에 분포되어 있으며, 결정 구조는 사방정계로 긴 직육면체 모양을 갖는다. 직육면체 결정의 가로 X 세로 직경 비율은 평균 1 X 4 이며, 1 X 1.5 내지 6.9 직경 범위를 가진다. 본 발명에 따른 사이코스 결정의 주사전자현미경(SEM)사진과 사이코스 결정 실체 현미경 사진(X400배 확대)을 도 1과 도 2에 나타내었으며, 결정으로부터 X선 회절 패턴을 분석하여 주된 회절각(θ)은 15.35°, 18.83°, 30.95°, 47.15°임을 확인하였고, 이것은 도 3에 나타내었다.

실시예 1: 사이코스와 포도당의 혼합 과립 제조

1-1: 평균 입도가 295㎛ 인 무수포도당 사용

제조예 1-3에서 제조된 사이코스 분말과 평균 입도가 295㎛ 인 무수포도당 분말을 각 150g씩 1:1 중량비(w/w)가 되게 혼합한 후, InLet 온도 50℃, OutLet 온도 40℃, Air 압력 30㎥/h 조건으로 셋팅된 유동층 과립 건조기(FBS, HÜTTLIN 제조, 독일)에 분말을 투입하여 과립을 제조하고 건조하였다. 이때, 과립이 잘 이루어지도록 결합액을 순도 95% 이상의 발효 주정으로 전체 혼합 분말 무게의 총 중량의 10 내지 20% 부피만큼 10rpm의 속도로 15분간 분사시켜 주었다. 주정은 분사되면서 휘발되어 분말에는 존재하지 않아 함량에 영향을 주지 않는다는 장점이 있다. 주정이 모두 분사되면 내부 온도를 30℃ 이하로 서서히 냉각시킨 후, 과립 분말을 장비에서 꺼내어 회수하였다. 상기 얻어진 사이코스와 무수포도당 혼합 과립 분말 실체 현미경 사진 (X400배 확대)을 도 4에 나타냈다.

1-2: 평균 입도가 261㎛가 되는 함수포도당 이용

제조예 1-3에서 제조된 사이코스 분말과 평균 입도가 261㎛가 되는 함수포도당을 각 150g씩 1:1 비율(w/w)이 되게 혼합한 후, 실시예 1-1과 실질적으로 동일한 방법으로 과립을 제조하였다.

실시예 2: 사이코스와 설탕의 혼합 과립 제조

2-1: 평균 입도가 72㎛인 분당 사용

제조예 1-3에서 제조된 사이코스 분말과 평균 입도가 72㎛가 되는 분당(설탕을 분쇄하여 제조한 것으로서 표 1에 기재된 것임)을 각 150g씩 1:1 중량비(w/w)이 되게 혼합한 후, 실시예 1과 동일한 방법으로 과립 분말을 제조하였다.

2-2: 평균 입도가 230㎛인 미립당 사용

제조예 1-3에서 제조된 사이코스 분말과 평균 입도가 230㎛가 되는 미립당(설탕)을 각 150g씩 1:1 중량비(w/w)이 되게 혼합한 후, 실시예 1과 동일한 방법으로 과립 분말을 제조하였다.

2-3: 평균 입도가 392㎛인 세립당 사용

제조예 1-3에서 제조된 사이코스 분말과 평균 입도가 392㎛가 되는 세립당(설탕)을 각 150g씩 1:1 중량비(w/w)이 되게 혼합한 후, 실시예 1과 동일한 방법으로 과립 분말을 제조하였다.

2-4: 평균 입도가 684㎛인 정백당 사용

제조예 1-3에서 제조된 사이코스의 분말과 평균 입도가 684㎛가 되는 정백당(일반설탕)을 각 150g씩 1:1 중량비(w/w)이 되게 혼합한 후, 실시예 1과 동일한 방법으로 과립 분말을 제조하였다.

실시예 3: 결합제를 이용한 사이코스 및 설탕 혼합 과립 제조

분말 입자 간에 고르게 과립이 이루어지도록 결합제로서, DE12 말토덱스트린, 천연 수용성 식이섬유, 변성 전분, 및 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(Hydroxypropyl methylcellulose, HPMC)을 준비하였다. 말토덱스트린을

30Bx 농도가 되게 물에 용해하여 용액을 준비하고, 천연 수용성 식이섬유로서 난소화성 말토덱스트린 30Bx 농도가 되게 물에 용해하여 용액을 제조하고, 변성 전분으로서 알파-전분을 10% 농도가 되게 물에 용해하여 용액을 준비하고, HPMC를 5 중량% 농도가 되게 순도 95% 발효주정에 용해하여 용액으로 제조하였다.

제조예 1-3에서 제조한 사이코스 분말을, 평균 입도가 230㎛인 설탕 미립당을 각각 50g씩 1:1 중량비율이 되도록 혼합하였다. 상기 혼합물에 준비된 결합제 용액을 적가한 후, 20mesh의 체에 통과시켜 분말 상의 입자들을 결합시켰다. 이 상태로 45℃에서 30 내지 60분간 열풍 건조 후 과립을 고르게 체질하여 수득하였다. 상기 준비된 결합제 용액으로서, 말토덱스트린, 난소화성 말토덱스트린 및 HPMC는 과립제의 총 중량 중 결합제의 최종 함량이 1 중량%가 되도록 첨가하고, 알파-전분은 과립제의 총 중량 중 결합제의 최종 함량이 0.5 중량%가 되도록 첨가하였다.

시험예 1: 분말 입도분석

입도 분석 장비 (장비명 Mastersizer 2000, 제조사 Malvern)는 레이저 회절 기술을 이용하여 입자의 크기를 측정하는 것으로, 레이저 광선이 분산된 미립자 시료를 통과할 때 산란되는 빛의 세기를 측정해서 입자크기를 계산하는 방식으로 분석된다. 이 장비를 이용하여 각 혼합 성분 간의 입자 크기를 측정하였고, 결과는 하기 표 2에 기재하였다.

【표 2】

당류	평균 입도 (㎛)	평균 입도 비율 (사이코스 대비)	입자 크기 분포(㎛)
사이코스 결정	237	1.0 (기준)	74-428
설탕 (정백당)	684	2.9	336-1125
설탕 (세립당)	392	1.7	235-580
설탕 (미립당)	230	0.9	126-356
설탕 (분당)	72	0.3	9-142
포도당 (무수)	295	1.2	75-530
포도당 (함수)	261	1.1	79-512

시험예 2: 혼합당 과립의 혼합도 분석

실시예 1-5에서 제조한 과립 분말을 봉지에 담아 진동기에서 10분간 진동 후, 상중하 3부분의 과립을 부분 채취하여 고속 액체크로마토그래피로 분석하여, 각 샘플의 당 조성을 확인하였다. 그 결과는 표 3과 표 4에 나타내었다. 과립 분말에서 혼합 성분간의 당 조성 편차가 1% 이하 수준까지 과립당의 혼합이 균일하게 잘 이루어진 것으로 결정하였다.

【표 3】

당 조성 (%)	실시예 1-1	실시예 1-2
사이코스	49.1	50.7
포도당	50.9	49.3
당 조성 편차	±0.4	±0.2
혼합도	◎	◎

(혼합도: 매우 높음 -◎, 높음-○, 낮음- (X))

표 3에 나타낸 것과 같이 실시예 1에서는 혼합되는 두 성분의 평균 입도 비율이 사이코스:포도당 = 1.0 : 1.1 내지 1.2 (표 2 참고)로, 두 성분간의 입자 크기가 유사하기 때문에 결합액에 의해 과립이 잘 이루어져, 단순히 "믹싱"혼합하는 방법보다 조성 편차가 적고 균일한 조성의 과립 분말 입자를 제조할 수 있음을 확인 하였다.

【표 4】

성분조성(중량%)	실시예 2				실시예 3			
	2-1	2-2	2-3	2-4	3-1	3-2	3-3	3-4
사이코스	50.9	49.3	51.0	40.1	51.4	50.2	51.0	50.6
설탕	49.1	50.7	49.0	59.9	47.8	49.6	48.8	48.9
결합제	-	-	-	-	0.8	0.2	0.2	0.5
당조성 편차	±0.9	±0.3	±1.0	±4.3	±0.8	±0.1	±0.5	±0.4
혼합도	○	◎	○	X	○	◎	○	◎

(혼합도: 매우 높음 -◎, 높음-○, 낮음- (X))

실시예 2-4에서는 설탕 평균 입도 크기가 사이코스 보다 4배 이상 크기 때문에 결합액을 사용하더라도 균일한 조성의 혼합 과립 분말을 제조하기 힘들었다. 하지만, 실시예 2-4를 제외하고, 혼합되는 두 성분의 평균 입도 비율이 사이코스:설탕 = 1.0 : 0.3~1.7 범위 내에 있는 혼합 과립 분말(실시예 2-1, 2-2,

2-3)에서는 조성 편차가 적고 균일한 조성의 과립 분말을 제조할 수 있음을 확인하였다.

또한, 실시예 3에서 결합액 종류별로 사이코스와 설탕 혼합 과립을 제조한 결과, 결합제의 종류별로 약간의 차이는 있으나 대부분 과립이 잘 이루어져 균일한 조성의 과립 분말을 제조할 수 있음을 확인하였다.

시험예 3: 사이코스 혼합 과립 분말 관능 평가

사이코스와 설탕의 혼합당 과립 관능 평가를 위한 과립 분말 샘플은, 결합액을 발효주정으로 하여 단순 과립 방법에 의해 제조하였다. 실시예 1-3의 사이코스의 분말을 설탕 미립당과 9:1, 7:3, 5:5(w/w) 비율이 되게 각각 혼합한다. 각 100g씩을 혼합하여 순도 95% 이상의 발효 주정을 중량의 5~10%로 적가한 후, 20mesh의 체에 통과시켜 분말 상의 입자를 서로 결합 시켜준다. 이 상태로 45℃에서 30~60분간 열풍 건조 후 과립된 입자 분말을 고르게 체질하여 수득한다. 상기 수득된 혼합당은 사이코스의 분말을 설탕의 혼합 비율에 따라, 9:1, 7:3, 5:5(w/w) 비율에 따라 SP91, SP73 및 SP55로 명명하였다.

사이코스와 포도당의 혼합당 과립 관능 평가를 위한 과립 분말 샘플은, 결합액을 발효주정으로 하여 단순 과립 방법에 의해 제조하였다. 실시예 1에서 사용한 사이코스의 분말을 무수포도당과 7:3, 5:5 3:7(w/w) 비율이 되게 각각 혼합한다. 각 100g씩을 혼합하여 순도 95% 이상의 발효 주정을 중량의 5~10%로 적가한 후, 20mesh의 체에 통과시켜 분말 상의 입자를 서로 결합 시켜준다. 이 상태로 45℃에서 30~60분간 열풍 건조 후 과립된 입자 분말을 고르게 체질하여 수득하였다. 상기 수득된 혼합당은 사이코스의 분말을 무수포도당과 7:3, 5:5, 3:7 (w/w) 비율에 따라 GP73, GP55 및 GP37로 명명하였다.

설탕 또는 포도당과 사이코스가 혼합된 과립 분말 시료의 관능 평가를 실시하였다. 각 시료는 각각 0.7g씩 채취하여 제공하였으며, 난수표를 이용하여 무작위로 추출한 세 자리 숫자로 표시하였다. 시료 제시 순서는 항상 무작위로 정하였고, 검사요원에게는 입을 가실 수 있는 미지근한 물을 함께 제공하였다. 관능검사실은 일정 온도(25±1℃)와 냄새가 없는 상태를 유지하였다.

관능검사원은 관능검사에 대한 이해도가 높고 관능 시험 경험이 있는 패널 15명을 선정하였다. 훈련은 1주일에 3회씩 1개월간 이루어졌으며, 훈련

1회당 평균 30분씩 소요되었다. 평가 내용 및 방법은, 사이코스 혼합당의 관능적 특성은 단맛, 신맛, 쓴맛, 청량감, 단맛 지속성을 평가하였고, 15cm 선척도를 사용하였다.

상기 관능 평가 결과 수치를 하기 표 5 및 6에 나타냈으며, 관능 평가 결과의 감미 프로파일 그래프는 도 5 및 도 6에 나타내었다. 표 5는 사이코스/설탕 혼합당 관능 평가 결과이고, 표 6은 사이코스/포도당 혼합당 관능 평가 결과이다.

【표 5】

	단맛	이미	신맛	쓴맛	청량감	단맛지속성
설탕	10.0	1.5	1.5	1.5	5.0	5.0
사이코스	7.3	6.0	4.2	5.1	10.0	8.2
SP91	9.8	5.1	2.7	3.6	4.5	9.5
SP73	9.2	5.4	3.0	3.8	6.5	8.7
SP55	8.3	5.6	3.0	4.4	8.9	8.6

【표 6】

	단맛	이미	신맛	쓴맛	청량감	단맛지속성
포도당	8.6	5.3	3.4	3.3	4.1	7.3
사이코스	7.3	6.0	4.2	5.1	10.0	8.2
GP73	9.4	4.9	3.3	4.0	5.3	9.0
GP55	8.8	5.1	4.0	4.3	7.0	8.3
GP37	7.8	5.0	3.8	4.6	8.2	8.6

사이코스는 설탕의 70%에 해당하는 감미도를 가지만, 감미 상승의 늦음이나 후미에 쓴맛 또는 이미를 갖고 있어 감미질의 개선이 필요하다. 따라서 설탕 또는 포도당과 일정 비율로 혼합함으로써, 사이코스가 갖는 감미질의 단점을 보완하고 맛이 개선된 감미료를 제공할 수 있다. 관능 평가 결과 표에서 나타낸 바와 같이, 사이코스와 설탕 의 혼합으로 인해 사이코스 단독보다 단맛이 상승하고 이미와 쓴맛이 완화되며, 특히 단맛의 지속성이 기존 설탕보다도 훨씬 증가됨을 알 수 있었다. 또한 사이코스와 포도당의 혼합으로 인해 사이코스, 포도당 각각 단독일 때보다 단맛이 더 강하게 느껴졌으며, 이미와 쓴맛 또한 기존 포도당과 유사한 수준으로 사이코스 단독에 비해 완화됨을 확인하였다. 특히 단맛의 지속성이 기존 설탕과 포도당 보다도 훨씬 증가되는 것을 확인하였다.

이는 사이코스 혼합당 분말 자체로 섭취하였을 때, 사이코스가 갖는 청량감이 섭취 즉시 부각되면서 사이코스의 특유의 이미와 쓴맛을 보완해주고 뒤늦은 감미의 상승이 설탕 또는 포도당의 단맛과 시너지를 일으켜 단맛이 길게 지속되면서 단맛 또한 강하게 느껴지는 것이라 판단된다.

시험예 4: 사이코스 혼합당 과립의 물성

(1) 흐름성 평가

시료 20g을 정확히 칭량하여 측정용 Funnel (Orifice 1.55mm)에 넣고, 칭량 저울 위로 시료 20g이 모두 흘러 내린 시간(초)를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 7 및 도 7 나타냈다. (예, Flow Properties Tests -flow through an orifice, angle of repose, shear cell)

【표 7】

샘플	흐름성 평균값 (g/sec)	편차 (g/sec)	백분율 (%)
사이코스	3.78	±0.37	100.0
실시예 1-1	5.81	±0.23	153.8
실시예 1-2	4.54	±0.19	120.1
실시예 2-2	5.97	±0.15	158.1
실시예 2-3	5.72	±0.21	151.5

단독 사이코스 분말 대비 혼합 과립 분말의 흐름성이 사이코스 보다 120 내지 159% 이상 수준까지 좋아짐을 확인하였다. 흐름성이 개선됨으로써, 입자상 또는 분말상 제품을 출하하는 회사 입장에서는 제품 포장 및 유통 단계에서의 많은 이점을 제공받을 수 있다.

(2) 흡습성 평가

각 시료 3g씩 접시에 담아 온도 40℃와 상대습도 60±3% 조건의 항온항습기에서 150분간 보관하여, 50분, 70분 및 150분 경과한 후에 각각 시료의 무게를 측정하였으며, 그 결과를 도 8 및 도 9에 나타내었다. 또한, 동일 시간에서의 흡습성 증가율을 비교하고자, 항온항습기에 동일한 조건에서 보관한 후에, 각 시료의 무게를 측정하고 흡습 증가량을 단독 사이코스 분말 100% 기준으로 흡습성을 환산하여 하기 표 8에 나타냈다.

【표 8】

시료	흡습 증가량 (g)	백분율 (%)	백분율 편차 (%)
사이코스	0.3356	100.0	-
실시예 1-1	0.2850	85.2	±1.26
실시예 1-2	0.2580	77.0	±3.56
실시예 2-2	0.2952	88.2	±5.47
실시예 2-3	0.2011	60.4	±10.09

도 8의 흡습 증가량 그래프에서 각 시료의 흡습성을 비교해 본 결과, 혼합당 과립의 흡습성이 단독 사이코스 분말 100% 기준으로, 84 내지 56% 이하의 낮은 흡습성을 보였다. 여기서 흡습성이 낮다는 것은, 분말상 제품의 출하 및 장기간 보관 시, 주변 환경에 따라 분말이 굳는 Caking 현상이나 축축해질 수도 있는 위험성이 낮아짐을 의미한다.

시험예 5: 혼합당 과립 및 구성 당분말의 시차주사열량계 (DSC) 분석

상기 제조된 혼합당 과립이 혼합당의 구성 당분말의 화학적 특성이 그대로 유지되는 당분말의 혼합 과립상임을 확인하고자, 실시예 1-1 및 실시예 2-2에서 제조된 혼합당 과립과 이를 구성하는 각 구성성분 단독 물질의 분석대상 시료와 표준물질에 제공된 에너지로부터 얻은 온도, 열량변화 데이타(피크의 위치, 모양, 개수, 면적 등)로부터 시료의 물리적 및 화학적 성질을 알 수 있는 시차주사열량계 (Differential Scanning Caloimeter, DSC) 분석법을 수행하였다. DSC 측정에 사용한 시료는 하기와 같다.

【표 9】

분석 시료	상세설명
사이코스 분말	제조예 1-3
포도당 분말	실시예 1-1 의 혼합당 과립의 제조에 사용된 평균 입도가 295㎛ 인 무수포도당 분말
설탕 분말	실시예 2-2의 혼합당 과립의 제조에 사용된 평균 입도가 230㎛가 되는 미립당 분말
사이코스 및 포도당의 혼합당 과립	실시예 1-1에서 얻은 혼합당 과립
사이코스 및 설탕의 혼합당 과립	실시예 2-2에서 얻은 혼합당 과립

하기와 같은 DSC (시차주사열량계) 장비 및 분석 정보를 사용하였으며, 그 결과를 표 10에 나타내었다.

- 장비명: DSC[differential scanning calorimetry]
- 제조사: Perkin Elmer(퍼킨엘머)

- 모델명: Diamond DSC

- 분석조건: 상온(RT) 내지 250℃ 10℃/min 승온, N2 gas purge, (기준방법: 미국의 표준시험법 ASTM D 3418 참고.)

【표 10】

분석 시료	흡열피크온도(Tg, ℃)
사이코스 분말	109.0
포도당 분말	162.2
설탕 분말	192.2
사이코스 및 포도당의 혼합당 과립 (실시예 1-1)	사이코스: 109.4 포도당: 159.4
사이코스 및 설탕의 혼합당 과립 (실시예 2-2)	사이코스: 109.4 설탕: 159.4

상기 표 10에서 확인할 수 있듯이, 본원발명의 혼합당 과립들의 경우(실시예 1-1 및 실시예 2-2), 두 개의 혼합 성분의 고유 흡열 피크가 검출됨을 확인할 수 있었다. 즉, 본원 발명의 혼합당 과립에 포함된 당분말을 단독으로 분석한 결과와 혼합당에 포함된 구성성분으로서의 결과가 모두 동일한 흡열 피크 온도를 나타내며, 이러한 사실은 혼합당 과립 내에서도 각 구성성분의 물리/화학적 성질을 그대로 유지하고 있음을 의미한다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

(a) 사이코스를 함유하는 제1 당분말; 및 (b) 제1 당분말의 평균입경 100을 기준으로 평균입경 30 내지 170의 비율을 가지며, 사이코스를 제외한 단당류 및 이당류로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 제2 당분말;을 포함하는 혼합당 과립으로서,

상기 혼합당 과립의 흡습도는 사이코스 분말의 흡습도 100을 기준으로 90 이하인 것인 혼합당 과립.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 혼합당 과립의 흐름성은 사이코스 분말의 흐름성 100을 기준으로 120 내지 200인 것인, 혼합당 과립.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 제1당분말과 제2당분말의 혼합 중량비 (제1 당분말: 제2 당분말)는 70:30 내지 5:95 인 것인, 혼합당 과립.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 혼합당 과립의 평균입경은 상기 제1당분말의 평균입경 100을 기준으로 100 내지 250인 것인, 혼합당 과립.

【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 제1당분말의 평균입경은 50 내지 300 이고, 상기 제2당분말의 평균입경은 50 내지 700인 것인, 혼합당 과립.

【청구항 6】

제1항에 있어서, 상기 제2 당분말은 설탕, 유당, 말토스, 갈락토오스, 타가토스, 자일로스, 만노스, 알로스 및 과당으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 당류인 것인, 혼합당 과립.

【청구항 7】

제1항에 있어서, 상기 혼합당 과립은 제1 당분말과 제2 당분말을 혼합 및 건조하여 과립화한 것인, 혼합당 과립.

【청구항 8】

제7항에 있어서, 상기 혼합 및 건조는 유동층 과립기에서 수행되는 것인, 혼합당 과립.

【청구항 9】

제1항에 있어서, 상기 혼합당 과립은 당분말의 결합제를 추가로 포함하는 것인, 혼합당 과립.

【청구항 10】

제9항에 있어서, 상기 결합제는 물, C1-C6 알코올, C1-C6 알코올의 수용액, 말토덱스트린, 난소화성 말토덱스트린, Hydroxypropyl methylcellulose(HPMC) 및 전분으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상인 것인, 혼합당 과립.

【청구항 11】

제9항에 있어서, 상기 혼합당 과립은, 과립의 총 중량 중 결합제를 0.1 내지 5 중량%로 포함하는 것인, 혼합당 과립.

【청구항 12】

제1항에 있어서, 상기 사이코스는 혼합당의 총고형분 함량 100 중량부 기준으로 사이코스 1 내지 99.9 중량부로 포함하고, 과당, 포도당 및 올리고당으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 당류를 추가로 포함하는 혼합당인 것인, 혼합당 과립.

【청구항 13】

(a) 사이코스를 함유하는 제1 당분말; 및 (b) 제1 당분말의 평균입경 100을 기준으로 평균입경 30 내지 170의 비율을 가지며, 사이코스를 제외한 단당류 및 이당류로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상의 제2 당분말;을 과립화하여 혼합당 과립을 제조하는 단계를 포함하며,

상기 제조된 혼합당 과립의 평균입경은 상기 제1 당분말의 평균입경의 100을기준으로 100 내지 200이고,

상기 혼합당 과립의 흡습도는, 사이코스 분말의 흡습도 100을 기준으로 90이하인 것인, 혼합당 과립의 제조방법.

【청구항 14】

제13항에 있어서, 상기 과립화 단계에서 결합제를 첨가하여 수행하는 것인, 혼합당 과립의 제조방법.

【청구항 15】

제13항에 있어서, 상기 과립화 단계는 상기 제1 당분말과 제2 당분말을 혼합 및 40 내지 70℃ 온도범위에서 열풍 건조하여 수행하는 것인, 혼합당 과립의

제조방법.

【청구항 16】

제13항에 있어서, 상기 과립화 단계는 유동층 과립기에서 제1 당분말과 제2 당분말을 유동화시켜 결합제를 분무하면서 수행하는 것인, 혼합당 과립의 제조방법.

【청구항 17】

제16항에 있어서, 상기 유동층 과립기에 제공되는 건조공기는 25 내지 50% RH, 온도 40 내지 70 ℃, 압력 30 내지 150 m^3/h 인 것인, 혼합당 과립의 제조방법

【청구항 18】

제13항에 있어서, 상기 제1당분말과 제2당분말의 혼합 중량비 (제1 당분말: 제2 당분말)는 70:30 내지 5:95 인 것인, 혼합당 과립의 제조방법.

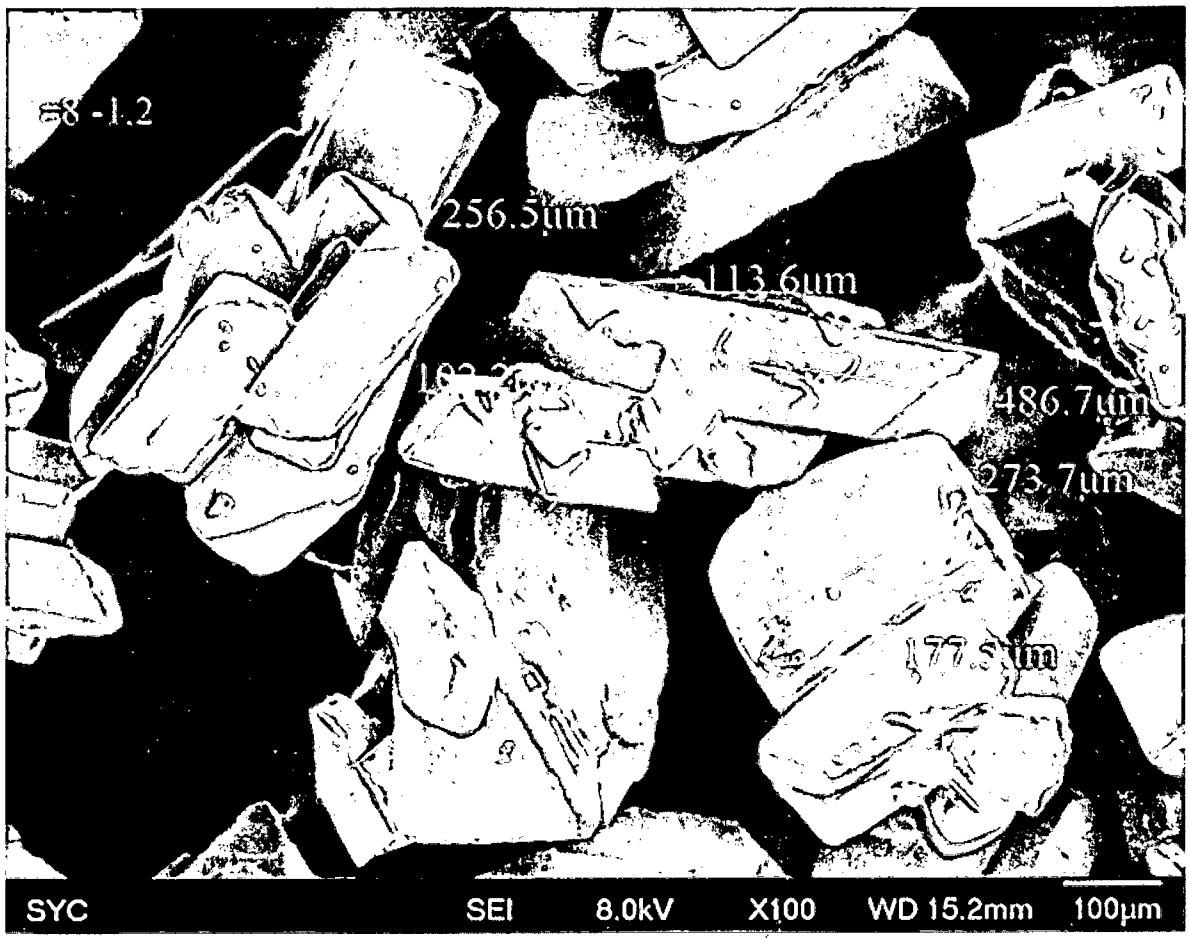
【청구항 19】

제13항에 있어서, 혼합당 과립의 총 중량 중 결합제의 함량이 0.1 내지 5 중량%가 되도록 결합제를 첨가되는 것인, 혼합당 과립의 제조방법.

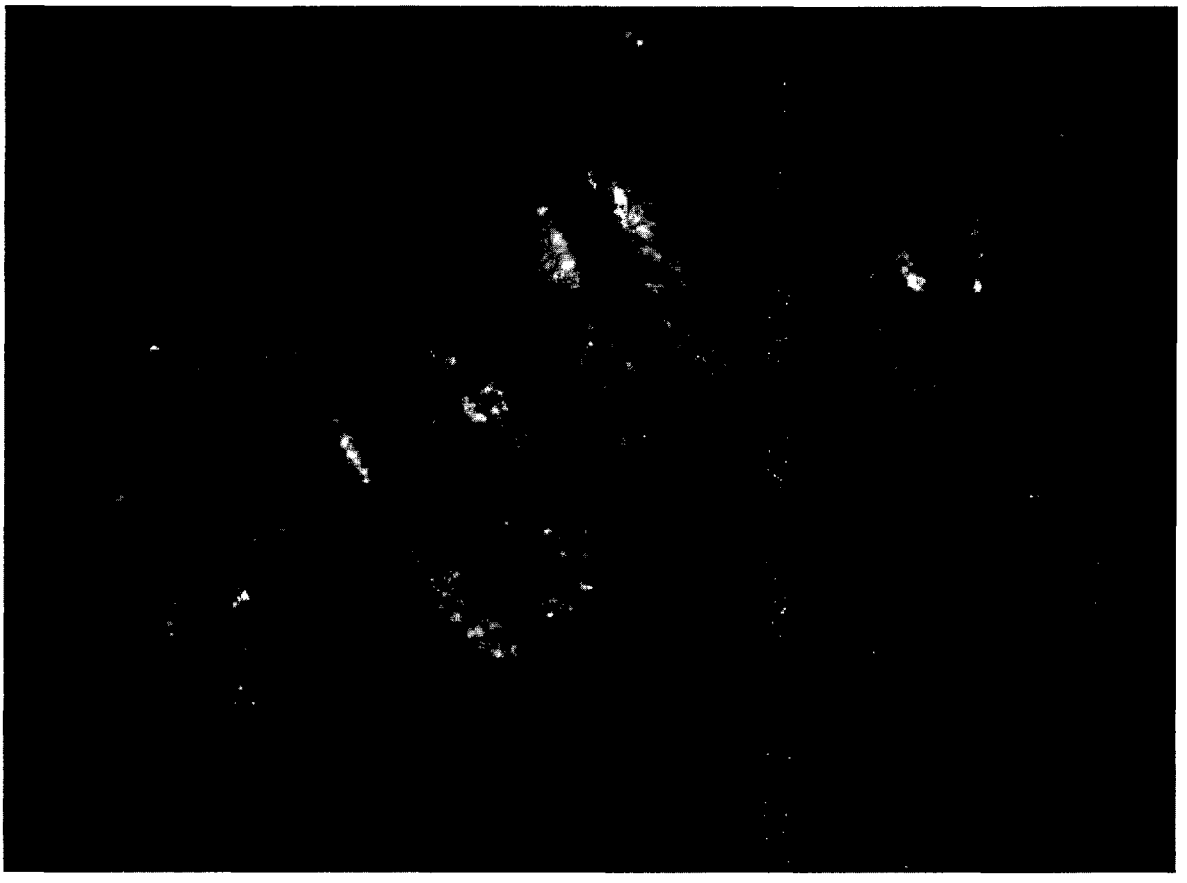
【청구항 20】

제14항에 있어서, 상기 결합제는 물, C_1-C_6 알코올, C_1-C_6 알코올의 수용액, 말토덱스트린, 난소화성 말토덱스트린, Hydroxypropyl methylcellulose(HPMC) 및 전분으로 이루어지는 군에서 선택된 1종 이상인 것인, 혼합당 과립의 제조방법.

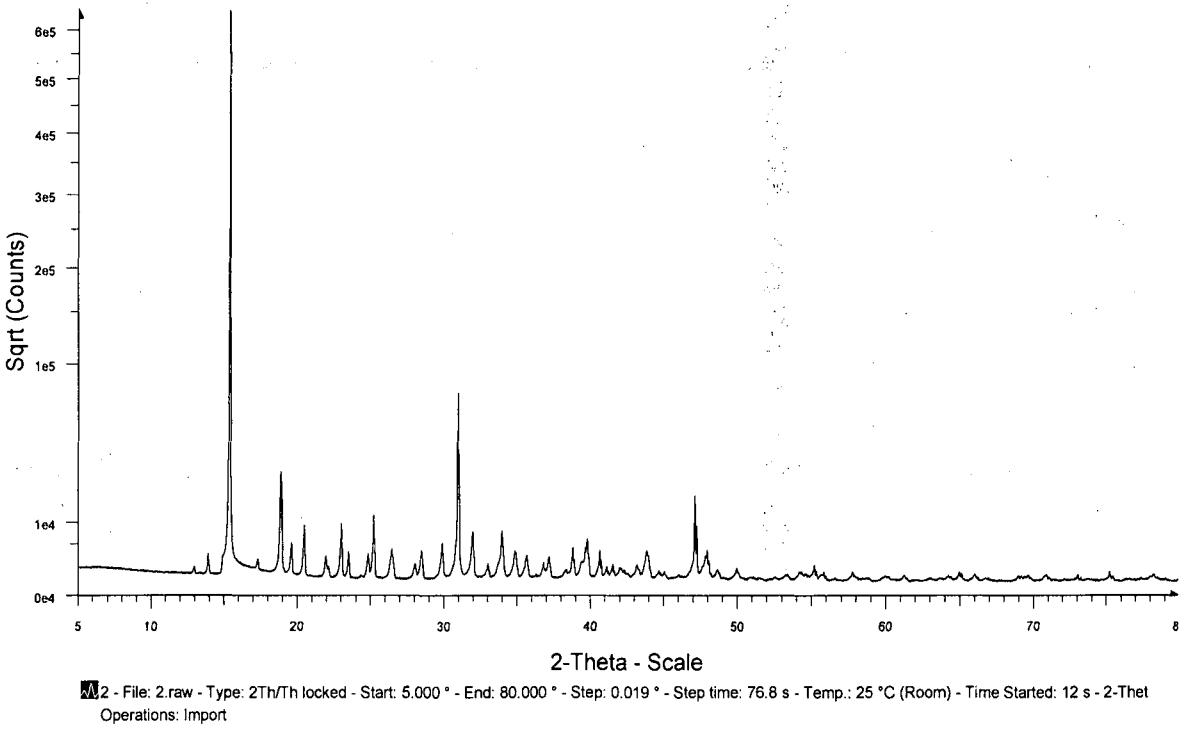
[Fig. 1]


256.5μm
113.6μm
486.7μm
273.7μm
SYC
SEI
8.0kV
X100
WD 15.2mm
100μm

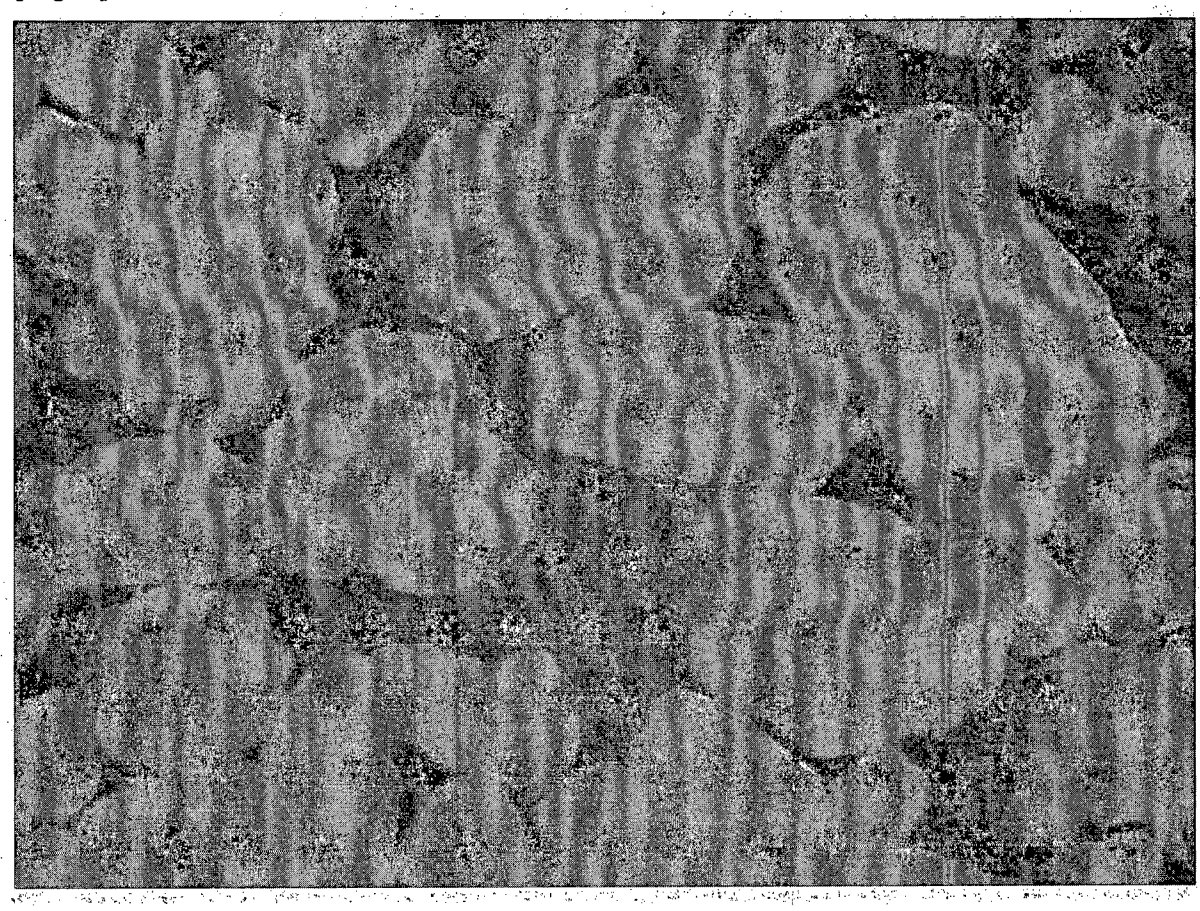
[Fig. 2]



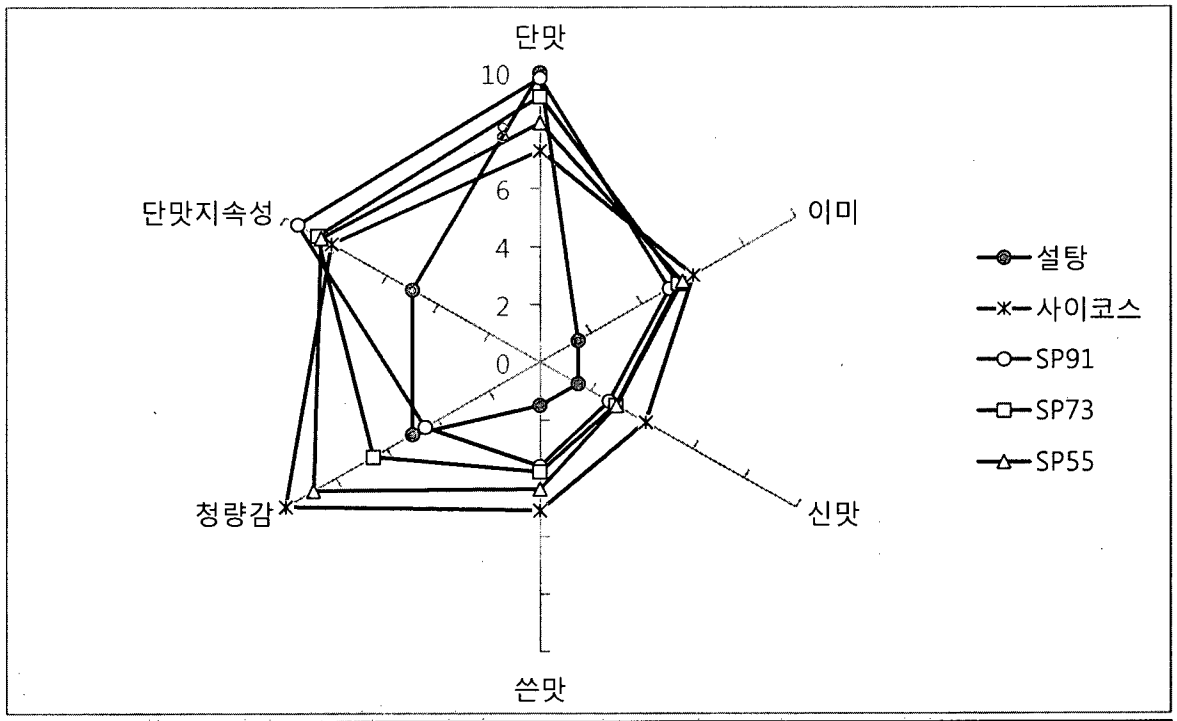
[Fig. 3]


6e5
5e5
4e5
3e5
2e5
1e5
1e4
0e4
Sqrt (Counts)
5
10
20
30
40
50
60
70
2-Theta - Scale
2 - File: 2.raw - Type: 2Th/Th locked - Start: 5.000 ° - End: 80.000 ° - Step: 0.019 ° - Step time: 76.8 s - Temp.: 25 °C (Room) - Time Started: 12 s - 2-Thet
Operations: Import

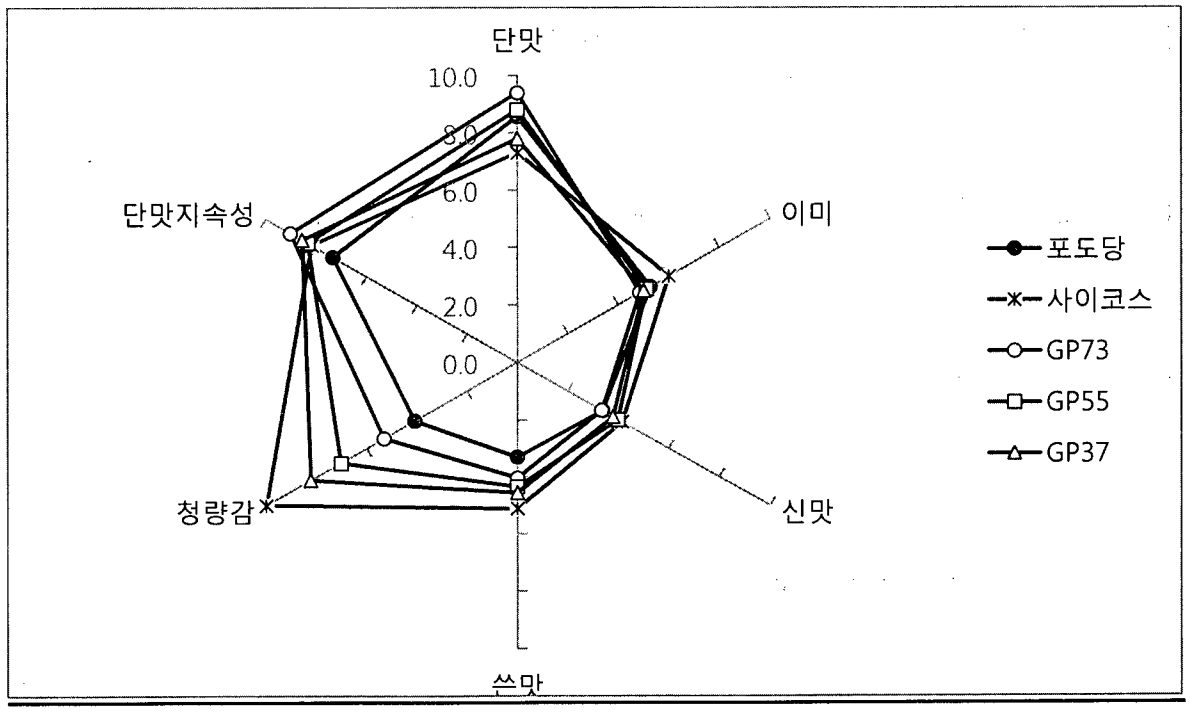
[Fig. 4]



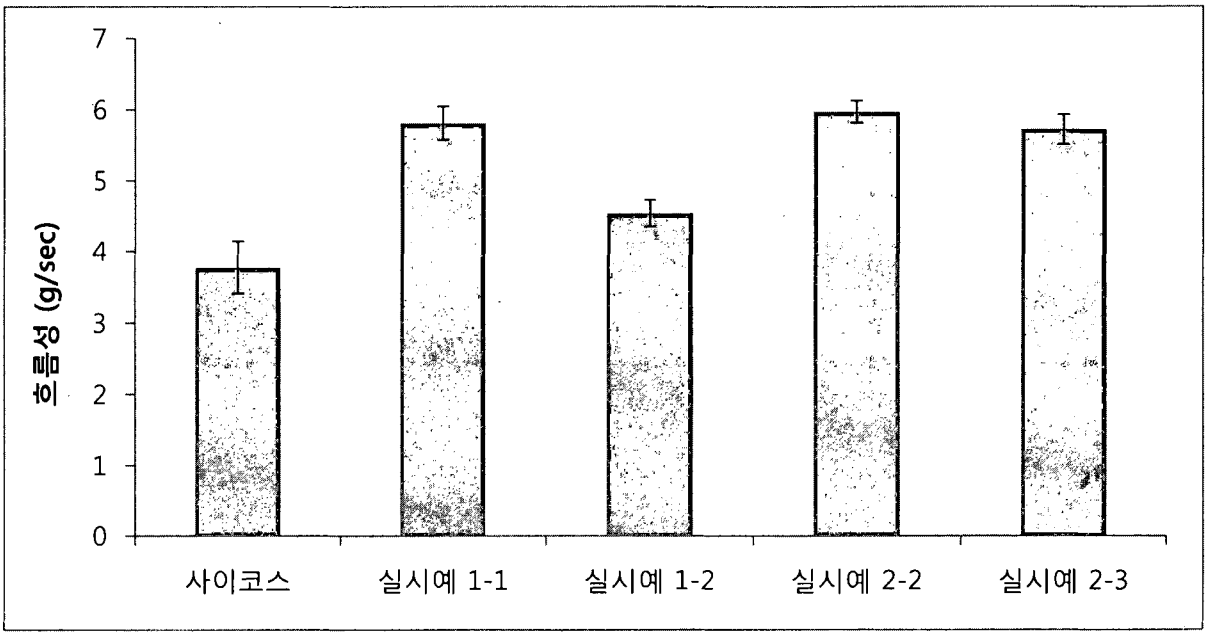
[Fig. 5]


단맛
10
6
4
2
0
이미
신맛
쓴맛
청량감
단맛지속성
설탕
사이코스
SP91
SP73
SP55

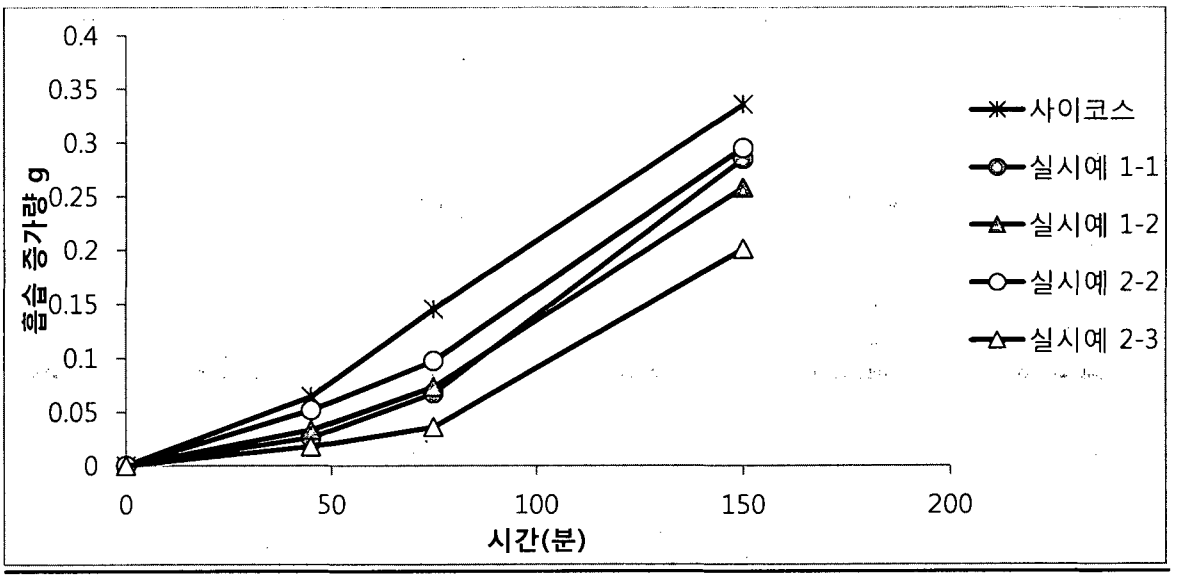
[Fig. 6]


단맛
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
이미
신맛
쓴맛
청량감
단맛지속성
포도당
사이코스
GP73
GP55
GP37

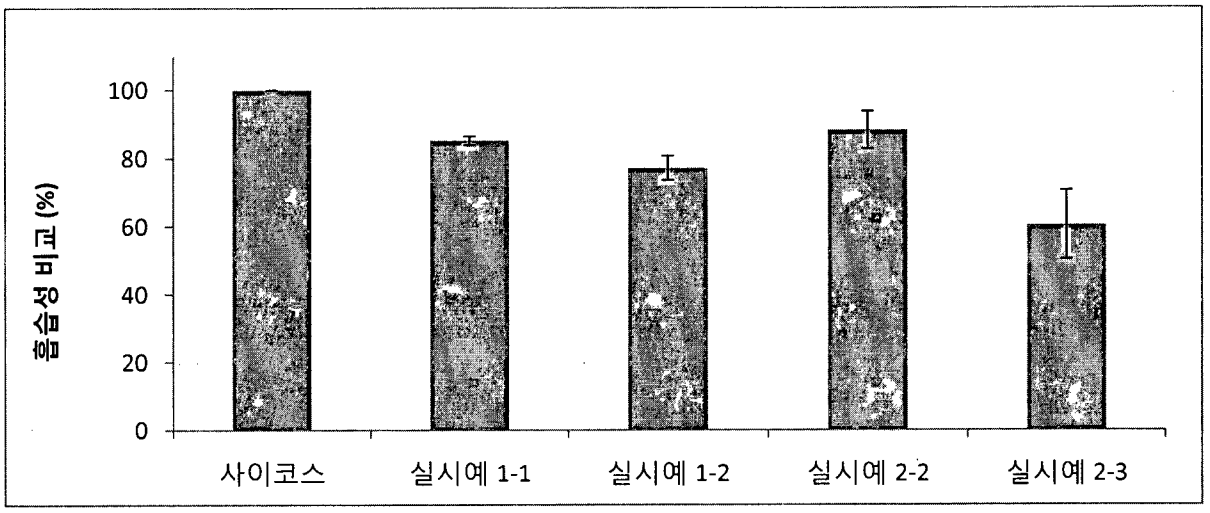
[Fig. 7]


흐름성 (g/sec)
0
1
2
3
4
5
6
7
사이코스
실시예 1-1
실시예 1-2
실시예 2-2
실시예 2-3

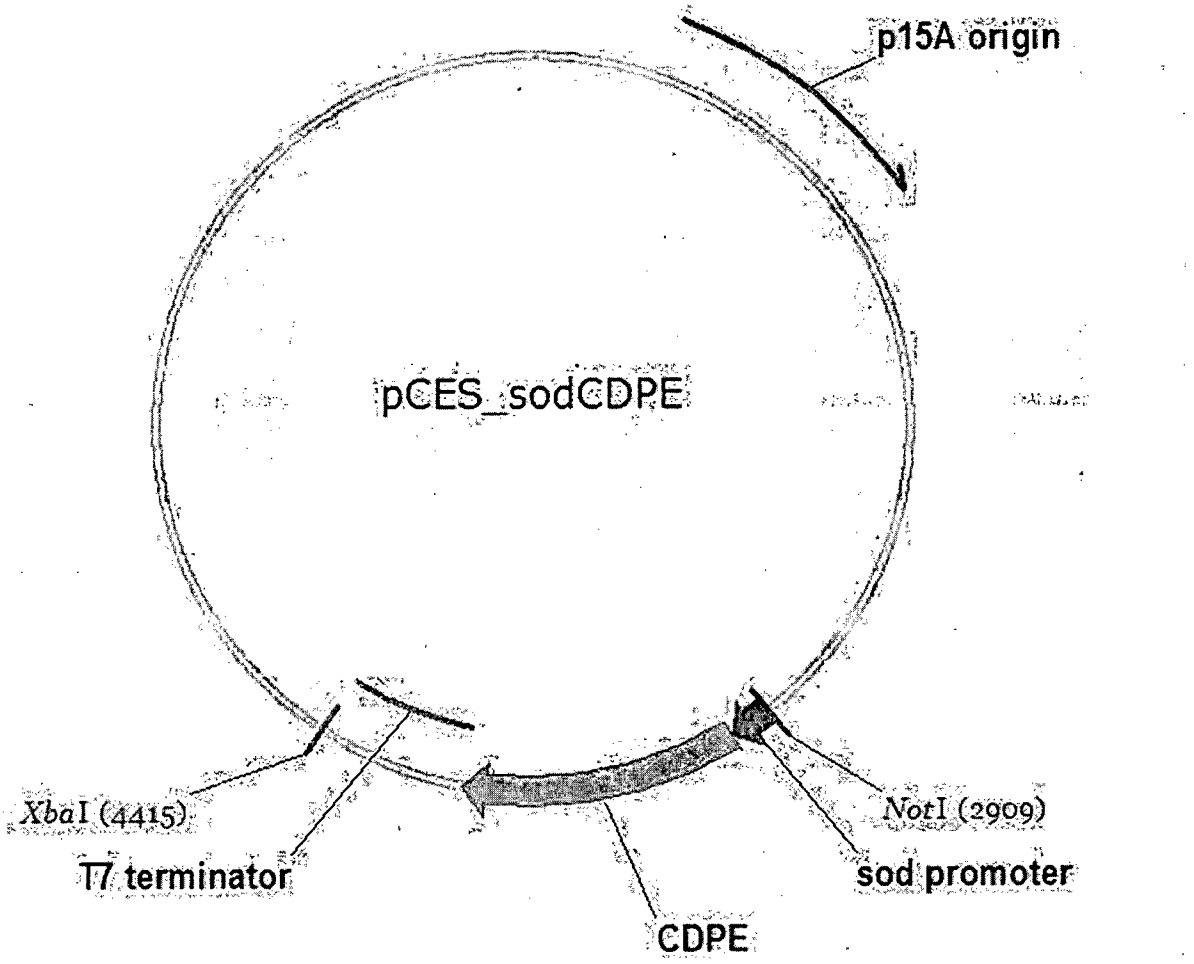
[Fig. 8]


흡습증가량 g
0
0.05
0.1
0.15
0.2
0.25
0.3
0.35
0.4
0
50
100
150
200
시간(분)
사이코스
실시예 1-1
실시예 1-2
실시예 2-2
실시예 2-3

[Fig. 9]


흡습성 비교 (%)
100
80
60
40
20
0
사이코스
실시예 1-1
실시예 1-2
실시예 2-2
실시예 2-3

[Fig. 10]


p15A origin
pCES_sodCDPE
XbaI (4415)
T7 terminator
CDPE
NotI (2909)
sod promoter

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2016/004474

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23L 27/10(2016.01)i, A23L 27/30(2016.01)i, A23L 1/09(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23L 27/10; A23L 27/20; A23L 27/30; A23L 1/09; A23L 27/00; C07H 3/02; A23L 1/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: mixed sugar, granule, powder, psicose, monosaccharide, disaccharide, fructose, dry, spray, coupling agent

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2001-011090 A (HAYASHIBARA BIOCHEM. LAB. INC.) 16 January 2001 See abstract, paragraphs [0011], [0014]-[0017], [0031] and claim 1.	1-10,12-18,20
Y		11,19
Y	JP 2010-527609 A (THE COCA-COLA COMPANY) 19 August 2010 See paragraph [0047].	11,19
A	KR 10-2015-0015030 A (MATSUTANI CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD. et al.) 09 February 2015 See claims 1-24.	1-20
A	KR 10-0750072 B1 (HAN, Ohan Taek) 21 August 2007 See abstract and claim 1.	1-20
A	KR 10-2012-0033282 A (MATSUTANI CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.) 06 April 2012 See paragraphs [0035]-[0041].	1-20

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
08 AUGUST 2016 (08.08.2016)	**08 AUGUST 2016 (08.08.2016)**
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2016/004474

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2001-011090 A	16/01/2001	JP 4473980 B2	02/06/2010
JP 2010-527609 A	19/08/2010	AU 2008-256957 A1	04/12/2008
		AU 2008-256957 B2	27/03/2014
		BR PI0812049 A2	30/09/2014
		CA 2686451 A1	04/12/2008
		CN 101765376 A	30/06/2010
		EP 2154994 A1	24/02/2010
		JP 5725854 B2	27/05/2015
		KR 10-2010-0018580 A	17/02/2010
		KR 10-2014-0056400 A	09/05/2014
		MX 2009012450 A	01/12/2009
		RU 2009145633 A	27/06/2011
		RU 2013106220 A	20/08/2014
		RU 2483584 C2	10/06/2013
		US 2008-292775 A1	27/11/2008
		WO 2008-147723 A1	04/12/2008
KR 10-2015-0015030 A	09/02/2015	EP 2156751 A1	24/02/2010
		JP 5639759 B2	10/12/2014
		KR 10-2010-0018568 A	17/02/2010
		US 2010-0204346 A1	12/08/2010
		US 2013-0274350 A1	17/10/2013
		WO 2008-142860 A1	27/11/2008
KR 10-0750072 B1	21/08/2007	NONE	
KR 10-2012-0033282 A	06/04/2012	CN 102429201 A	02/05/2012
		CN 102429201 B	15/07/2015
		JP 2012-070708 A	12/04/2012
		JP 5859191 B2	10/02/2016
		US 2012-0076908 A1	29/03/2012
		US 2015-0230509 A1	20/08/2015
		US 9049876 B2	09/06/2015

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2016/004474

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A23L 27/10(2016.01)i, A23L 27/30(2016.01)i, A23L 1/09(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A23L 27/10; A23L 27/20; A23L 27/30; A23L 1/09; A23L 27/00; C07H 3/02; A23L 1/22

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드:혼합당, 과립, 분말, 사이코스, 단당류, 이당류, 과당, 건조, 분무, 결합제

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JP 2001-011090 A (HAYASHIBARA BIOCHEM LAB INC.) 2001.01.16 요약, 단락 [0011], [0014]-[0017], [0031] 및 청구항 1 참조.	1-10,12-18,20
Y		11,19
Y	JP 2010-527609 A (THE COCA-COLA COMPANY) 2010.08.19 단락 [0047] 참조.	11,19
A	KR 10-2015-0015030 A (마쓰다니가가꾸고오교가부시끼가이샤 등) 2015.02.09 청구항 1-24 참조.	1-20
A	KR 10-0750072 B1 (한완택) 2007.08.21 요약 및 청구항 1 참조.	1-20
A	KR 10-2012-0033282 A (마쓰다니가가꾸고오교가부시끼가이샤) 2012.04.06 단락 [0035]-[0041] 참조.	1-20

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2016년 08월 08일 (08.08.2016)	2016년 08월 08일 (08.08.2016)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
조기윤
전화번호 +82-42-481-5655

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2016/004474

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2001-011090 A	2001/01/16	JP 4473980 B2	2010/06/02
JP 2010-527609 A	2010/08/19	AU 2008-256957 A1	2008/12/04
		AU 2008-256957 B2	2014/03/27
		BR PI0812049 A2	2014/09/30
		CA 2686451 A1	2008/12/04
		CN 101765376 A	2010/06/30
		EP 2154994 A1	2010/02/24
		JP 5725854 B2	2015/05/27
		KR 10-2010-0018580 A	2010/02/17
		KR 10-2014-0056400 A	2014/05/09
		MX 2009012450 A	2009/12/01
		RU 2009145633 A	2011/06/27
		RU 2013106220 A	2014/08/20
		RU 2483584 C2	2013/06/10
		US 2008-292775 A1	2008/11/27
		WO 2008-147723 A1	2008/12/04
KR 10-2015-0015030 A	2015/02/09	EP 2156751 A1	2010/02/24
		JP 5639759 B2	2014/12/10
		KR 10-2010-0018568 A	2010/02/17
		US 2010-0204346 A1	2010/08/12
		US 2013-0274350 A1	2013/10/17
		WO 2008-142860 A1	2008/11/27
KR 10-0750072 B1	2007/08/21	없음	
KR 10-2012-0033282 A	2012/04/06	CN 102429201 A	2012/05/02
		CN 102429201 B	2015/07/15
		JP 2012-070708 A	2012/04/12
		JP 5859191 B2	2016/02/10
		US 2012-0076908 A1	2012/03/29
		US 2015-0230509 A1	2015/08/20
		US 9049876 B2	2015/06/09