

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2025년 1월 2일 (02.01.2025)



(10) 국제공개번호
WO 2025/005696 A1

- (51) 국제특허분류:
C12P 13/08 (2006.01) *C07C 229/08* (2006.01)
C07C 227/42 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2024/009022
- (22) 국제출원일: 2024년 6월 27일 (27.06.2024)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2023-0083411 2023년 6월 28일 (28.06.2023) KR
- (71) 출원인: 씨제이제일제당 (주) (CJ CHEILJEDANG CORPORATION) [KR/KR]; 04560 서울특별시 중구 동호로 330, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 정재윤 (JEONG, Jae Yun); 04560 서울특별시 중구 동호로 330, Seoul (KR). 강승훈 (KANG, Seung Hoon); 04560 서울특별시 중구 동호로 330, Seoul (KR). 김수민 (KIM, Sumin); 04560 서울특별시 중구 동호로 330, Seoul (KR). 강지훈 (KANG, Ji-hun); 04560 서울특별시 중구 동호로 330, Seoul (KR).

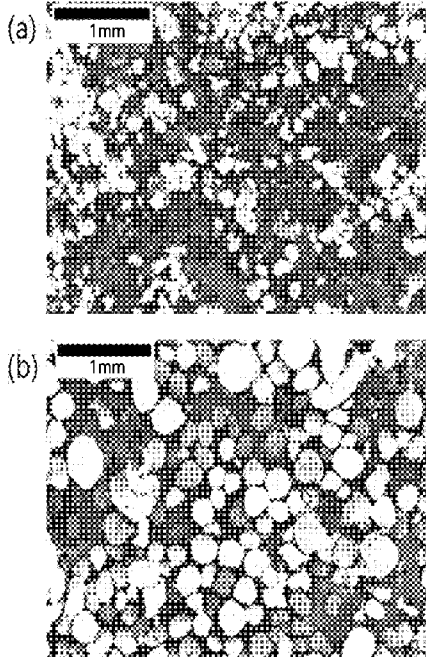
- (74) 대리인: 특허법인한얼 (HANOL INTELLECTUAL PROPERTY AND LAW); 05836 서울특별시 송파구 법원로 135, 6층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: METHOD FOR PREPARING L-VALINE CRYSTALS AND/OR GRANULES USING PH ADJUSTMENT AND PVA ADDITION

(54) 발명의 명칭: PH 조절 및 PVA 첨가를 이용한 L-발린 결정 및/또는 과립의 제조방법

(57) Abstract: The present application relates to a method for preparing valine crystals and/or valine granules using pH adjustment and PVA addition.

(57) 요약서: 본 출원은 pH 조절 및 PVA 첨가를 이용한 발린 결정 및/또는 발린 과립 제조방법에 관한 것이다.



WO 2025/005696 A1

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: PH 조절 및 PVA 첨가를 이 용한 L-발린 결정 및/또는 과립의 제조방법

기술분야

- [1] 본 출원은 수분 함량이 적은 발린 결정 및 혼합 과립을 형성함으로써 발린 과립 생성 중 필요한 스팀의 양을 줄이고, 발린 과립 생성 효율을 향상시킬 수 있는, 발린 결정 및 과립 제조방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 발효를 통해 고순도 아미노산을 수득하기 위해서는 발효 공정 단계 이후 부산물을 제거하기 위한 아미노산의 분리 또는 정제 단계가 필수적으로 필요하다.
- [4] 하지만 사료용 아미노산 제품에서는 아미노산 고함량(98% 이상) 제품이 필요하지 않으며 발효액 내 포함된 기타 영양상 가치 있는 성분을 포함하면서 정제단계에서 폐기물이 발생하지 않고도 높은 함량(70% 이상)을 갖는 과립제품을 만드는 것이 더 적절할 수 있다.
- [5] 기존 기술(US 7,514,111 B2)에서는 사료첨가제용 아미노산 과립제품을 제조하기 위해 발효액 내 많은 수분을 증발시킨 후 유동층 과립기(fluidized bed granulator)를 사용하여 과립을 제조한다. 용해도가 높은 아미노산의 경우 고형분 함량 약 60~65%(수분 함량 35~40%)까지 수분을 증발시켜도 결정이 생성되지 않으므로 노즐(nozzle)을 통해 발효액이 분사되는 유동층 과립방법으로 과립화가 가능하다. 그러나, 발린은 용해도가 낮아 발효액 내 고형분 함량이 약 12~15%(수분 함량 85~88%) 수준으로 낮은 경우에도 결정이 생성되므로, 결정 생성을 방지하기 위해 발효액의 수분 함량을 낮출 수 없다. 따라서 건조 과정에서 많은 양의 물을 증발시켜야 하므로 건조시 많은 양의 에너지 소모가 필요하다.

[6]

[7] [선행기술문헌]

[8] [특허문헌]

[9] (특허문헌 1) US 7,514,111 B2

[10] (특허문헌 2) US 10,072,278 B2

[11]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [12] 본 출원은 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계; 상기 발효액의 pH를 조절하는 단계; 상기 발효액에 폴리비닐알콜(polyvinyl alcohol; PVA)을 첨가하는 단계; 및 상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계를 포함하는, 발린 결정 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[13] 또한, 본 출원은 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계; 상기 발효액의 pH를 조절하는 단계; 상기 발효액에 폴리비닐알콜을 첨가하는 단계; 상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계; 상기 발린 결정을 시드와 혼합하여 혼합과립을 제조하는 단계; 및 상기 발린 혼합과립을 건조하는 단계를 포함하는, 발린 과립 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[14]

과제 해결 수단

[15] 본 출원은 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계; 상기 발효액의 pH를 조절하는 단계; 상기 발효액에 폴리비닐알콜(polyvinyl alcohol; PVA)을 첨가하는 단계; 및 상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계를 포함하는, 발린 결정 제조방법을 제공한다.

[16] 또한, 본 출원은 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계; 상기 발효액의 pH를 조절하는 단계; 상기 발효액에 폴리비닐알콜을 첨가하는 단계; 상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계; 상기 발린 결정을 시드와 혼합하여 혼합과립을 제조하는 단계; 및 상기 발린 혼합과립을 건조하는 단계를 포함하는, 발린 과립 제조방법을 제공한다.

[17]

발명의 효과

[18] 본 출원에 따르면, 발린을 포함하는 발효액의 pH 조절 및 PVA 첨가를 통해 발린 결정 또는 발린 혼합과립 내 수분 함량을 낮추어 건조에 필요한 에너지를 줄일 수 있다.

[19]

도면의 간단한 설명

[20] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 발린 결정의 SEM 이미지를 나타낸 도이다. (a) 및 (b)는 각각 배양액에 PVA를 미첨가 또는 2wt% 첨가하여 제조한 발린 결정을 나타낸다.

[21]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[22] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 출원에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 출원의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.

[23] 또한, 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

- [24] 또한, 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 통상의 실험만을 사용하여 본 출원에 기재된 본 출원의 특정 양태에 대한 다수의 등가물을 인지하거나 확인할 수 있다. 또한, 이러한 등가물은 본 출원에 포함되는 것으로 의도된다.
- [25] 본 출원의 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수형 관사 ("a", "an", 및 "the")에는 문맥상 명백하게 다르게 언급되지 않는 한 복수의 참조 대상이 포함된다. 문맥상 달리 언급되지 않는 한, 단수형 용어는 복수형을 포함하고 복수형 용어는 단수형을 포함한다. 본 출원의 명세서 및 첨부된 청구범위에서, 달리 언급되지 않는 한, "또는"의 사용은 "및/또는"을 포함하는 의미로 사용될 수 있다.
- [26] 본 출원에서, 용어 "약(about)"은 특정 숫자 값 앞에 제시될 수 있다. 본 출원에서 사용되는 용어 "약"은 용어 뒤에 기재되는 정확한 숫자뿐만 아니라, 거의 그 숫자이거나 그 숫자에 가까운 범위까지 포함한다. 그 숫자가 제시된 문맥을 고려하여, 언급된 구체적인 숫자와 가깝거나 거의 그 숫자인지 여부를 결정할 수 있다. 일 예로, 용어 "약"은 숫자 값의 -10% 내지 +10% 범위를 지칭할 수 있다. 다른 예로, 용어 "약"은 주어진 숫자 값의 -5% 내지 +5% 범위를 지칭할 수 있다. 그러나 이에 제한되지 않는다.
- [27]
- [28] 본 출원에 따른 발린 결정 제조방법은 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계; 상기 발효액의 pH를 조절하는 단계; 상기 발효액에 폴리비닐알콜(polyvinyl alcohol; PVA)을 첨가하는 단계; 및 상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계를 포함한다. 이하, 각 단계에 대하여 자세히 살펴본다.
- [29]
- [30] 발효액을 준비하는 단계는 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계이다. 발효액에 포함된 발린은 물에 대한 용해도가 낮은 아미노산이다. 이때 용해도가 낮다는 것은 용해도가 특정 기준 이하인 것을 의미하지는 않는다. 상기 단계에서 준비되는 발효액은 균주의 대사에 의해 준비된 발효물일 수 있다. 본 출원에서 용어 "발효물"은 미생물, 예컨대, 발린을 생산하는 미생물을 이용한 유기물질의 효소적 또는 대사적 분해의 결과물을 의미할 수 있다. 예를 들면, 발효물은 미생물을 배양배지에 배양하여 수득된 배양물 자체, 또는 이로부터 균주를 제거하여 수득된 배양물의 농축물, 건조물 또는 동결건조물을 포함할 수 있다. 아울러, 이 경우에 발효액은 발린을 포함하는 발효물 전체를 포함하거나 발린을 포함하는 발효물로부터 불순물이 제거된 것일 수 있다.
- [31] 발효액은 발린을 주요 성분으로 하되 기타 성분을 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 발효액 내에는 발린 외 다른 아미노산, 유기산 및 무기물이 더 제공될 수 있으며, 이들은 물(water)에 용해된 상태일 수 있다. 발효액 내 발린의 농도는 약 1g/L 내지 약 200 g/L일 수 있다. 다만, 상술한 발린의 농도는 예시적인 것에 불과하며 상술한 범위의 농도 외 농도의 발효액도 본 출원의 일 양태에 따른 발린 결정 제조 방법에 이용할 수 있다.

- [32] 본 출원의 발효액을 준비하는 단계에서 이용되는 "발린을 생산하는 미생물" 또는 "발린 생산능을 갖는 미생물"은 자연적으로 발린 생산능을 가지고 있는 야생형 미생물이나 자연적 또는 인위적으로 유전적 변형이 일어난, 발린 생산능이 없는 모균주에 발린 생산능이 부여된 미생물을 모두 포함하며, 외부 유전자가 삽입되거나 내재적 유전자의 활성이 강화되거나 불활성화되는 등의 원인으로 인해서 특정 기작이 약화되거나 강화된 미생물로서, 아미노산 즉, 발린의 생산을 위하여 유전적 변형(modification)을 포함하는 미생물일 수 있다. 구체적으로, 본 출원에서 발린을 생산하는 미생물, 또는 발린 생산능을 갖는 미생물은, 목적산물인 발린의 생합성 경로 내 유전자 일부가 강화 또는 약화되거나, 발린 분해 경로 내 유전자 일부가 강화 또는 약화된 미생물 일 수 있다. 본 출원 미생물의 발린 생산능이 "강화" 또는 "증가"한다는 것은, 본 출원 미생물 이외의 다른 미생물, 모균주 또는 비변형 미생물과 비교하여 본 출원 미생물의 발린 생산능이 향상된 것을 의미한다. 일 예로, 본 출원 미생물은 다른 미생물의 발린 생산능에 비하여 약 1% 이상, 10% 이상, 100% 이상 200% 이상 500% 이상 1000% 이상, 1100% 이상, 1200% 이상, 1300% 이상 향상된 것일 수 있으며, 약 1.01배 이상, 2배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 11배 이상, 12배 이상, 13배 이상 향상된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 용어 "약(about)"은 ± 0.5 , ± 0.4 , ± 0.3 , ± 0.2 , ± 0.1 등을 모두 포함하는 범위로, 약 이란 용어 뒤에 나오는 수치와 동등하거나 유사한 범위의 수치를 모두 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [33] 본 출원의 발효액을 준비하는 단계에서 사용되는 상술한 미생물은 효모인 캔디다 파마타(*Candida famata*), 자낭균류인 에레모테시움 에쉬비(*Eremothecium ashbyii*)와 에쉬비아 고시피(*Ashbyagossypii*), 세균인 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 및 코리네박테리움 속(*Corynebacterium sp.*) 미생물로 이루어진 군에서 선택된 적어도 하나일 수 있다.
- [34] 예컨대, 본 출원의 발효액을 준비하는 단계에서 사용되는 미생물이 코리네박테리움 속 미생물인 경우, 상기 미생물은 구체적으로 코리네박테리움 글루타미쿰(*Corynebacterium glutamicum*), 코리네박테리움 크루디락티스(*Corynebacterium crudilactis*), 코리네박테리움 데세르티(*Corynebacterium deserti*), 코리네박테리움 이피시엔스(*Corynebacterium efficiens*), 코리네박테리움 칼루네(*Corynebacterium callunae*), 코리네박테리움 스테이션리스(*Corynebacterium stationis*), 코리네박테리움 싱굴라레(*Corynebacterium singulare*), 코리네박테리움 할로톨레란스(*Corynebacterium halotolerans*), 코리네박테리움 스트리아툼(*Corynebacterium striatum*), 코리네박테리움 암모니아게네스(*Corynebacterium ammoniagenes*), 코리네박테리움 폴루티솔리(*Corynebacterium pollutisoli*), 코리네박테리움 이미탄스(*Corynebacterium imitans*), 코리네박테리움 테스트디노리스(*Corynebacterium testudinoris*) 코리네박테리움 크레나툼(*Corynebacterium crenatum*), 또는 코리네박테리움 플라베스센스(*Corynebacterium flavescens*)일 수 있고, 더욱 구체적으로

는 코리네박테리움 글루타미쿰(*Corynebacterium glutamicum*) 일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [35] 코리네박테리움 속(the genus *Corynebacterium*) 미생물, 특히 코리네박테리움 글루타미쿰(*Corynebacterium glutamicum*)은 L-아미노산 및 기타 유용물질 생산에 많이 이용되고 있는 그람 양성 미생물이다. 상기 L-아미노산 및 기타 유용물질을 생산하기 위하여, 고효율 생산 미생물 및 발효공정기술 개발을 위한 다양한 연구들이 수행되고 있다. 예를 들어, L-발린의 생합성에 관여하는 효소를 코딩하는 유전자의 발현을 증가시키거나 또는 생합성에 불필요한 유전자를 제거하는 것과 같은 목적 물질 특이적 접근 방법이 주로 이용되고 있다. 본 출원에서도 코리네박테리움 속의 균주를 이용하여 아미노산을 포함하는 발효액을 준비할 수 있다.

[36]

- [37] 본 출원의 일 구체예에 따르면, 발린을 포함하는 발효액을 준비하는데 활용되는 코리네박테리움 글루타미쿰은 코리네박테리움 글루타미쿰 ATCC13032를 형질전환시켜, L-발린 생합성 조절부위가 불활성화된 L-발린 생합성 과발현 균주일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또는 상기 코리네박테리움 글루타미쿰은 코리네박테리움 글루타미쿰 KCCM11201P, 코리네박테리움 글루타미쿰 KCCM11336P, 코리네박테리움 글루타미쿰 KCCM11337P, 코리네박테리움 글루타미쿰 KCCM11338P, 코리네박테리움 글루타미쿰 KCCM11201P_DvalA의 염색체를 주형으로 하여 pDZDvalL, pDZDvalP, pDZDvalS 벡터로 형질전환된 균주일 수 있다. 다른 예시에 따르면, 상기 코리네박테리움 글루타미쿰은 코리네박테리움 글루타미쿰 ATCC13032_DvalL, 코리네박테리움 글루타미쿰 ATCC13032_DvalP, 또는 코리네박테리움 글루타미쿰 ATCC13032_DvalS 균주일 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 발린을 포함한 발효액을 생산할 수 있는 미생물을 제한없이 포함한다(US 10,072,278 B2).

- [38] 발효액을 준비하는 단계는 "발린을 생산하는 미생물"을 배양하는 단계를 더 포함할 수 있다. 미생물의 배양은 당업계에 알려진 적당한 배지와 배양조건에 따라 이루어질 수 있다. 이러한 배양 과정은 선택되는 균주에 따라 당업자가 용이하게 조정하여 사용할 수 있다. 구체적으로 상기 배양은 회분식, 연속식 및 유가식일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [39] 본 출원에서 용어, "배지"는 상기 미생물을 배양하기 위해 필요로 하는 영양물질을 주성분으로 혼합한 물질을 의미하며, 생존 및 발육에 불가결한 물을 비롯하여 영양물질 및 발육인자 등을 공급한다. 구체적으로, 본 출원의 미생물의 배양에 사용되는 배지 및 기타 배양 조건은 통상의 미생물의 배양에 사용되는 배지라면 특별한 제한 없이 어느 것이나 사용할 수 있으나, 본 출원의 미생물을 적당한 탄소원, 질소원, 인원, 무기화합물, 아미노산 및/또는 비타민 등을 함유한 통상의 배지 내에서 호기성 조건 하에서 온도, pH 등을 조절하면서 배양할 수 있다.

- [40] 본 출원의 용어 "발린을 포함하는 발효액"은 "발린 함유 발효액" 또는 "발린 발효액"과 혼용되어 사용될 수 있다.
- [41]
- [42] 다음으로, 발효액의 pH를 조절하는 단계가 수행된다. 여기에서 발효액의 pH는 약 3.0 초과 내지 6.0 미만으로 조절될 수 있다. 경우에 따라, 발효액의 pH는 약 3.5 내지 6.0 미만, 약 4.0 내지 6.0 미만, 약 4.5 내지 6.0 미만, 약 5.0 내지 6.0 미만, 약 5.5 내지 6.0 미만, 약 3.0 초과 내지 5.5, 약 3.5 내지 5.5, 약 4.0 내지 5.5, 약 4.5 내지 5.5, 약 5.0 내지 5.5, 약 3.0 내지 5.0, 약 3.5 내지 5.0, 약 4.0 내지 5.0, 약 4.5 내지 5.0, 약 3.0 초과 내지 4.5, 약 3.5 내지 4.5, 약 4.0 내지 4.5, 약 3.0 초과 내지 4.0, 약 3.5 내지 4.0 또는 약 3.0 초과 내지 3.5로 조절될 수 있다.
- [43] 발효액의 pH를 조정함으로써 이어지는 농축 단계에서 형성되는 발린 결정의 크기와 정도를 조절할 수 있다. 구체적으로, 상술한 범위로 발효액의 pH를 조정 한 후 농축을 수행했을 때 크고 단단한 발린 결정이 형성될 수 있으며, 이에 따라 분리된 발린 결정의 수분 함량을 낮출 수 있다. 발효액의 pH가 상술한 범위 밖에 있을 경우, 농축 후 석출되는 발린 결정의 결정 크기가 작아 발효액 모액으로부터 발린 결정을 분리하기 어려울 수 있다. 또한, 발린 결정과 함께 상대적으로 많은 양의 수분이 함께 분리되기 때문에 이후 건조에 많은 에너지가 필요하다.
- [44] 발효액의 pH를 조절하는 단계에서 pH 조정은 통상적인 산성 물질 또는 염기성 물질을 이용하여 수행할 수 있다. 다만, pH 조정을 위해 발효액에 첨가되는 물질은 발효액에 포함된 발린의 물성 또는 화학적 구조에 영향을 미치지 않는 한에서 결정할 수 있다. 또한, 식품 또는 사료용으로 발린 제품이 사용될 것을 고려하여, 식용 가능한 산성 물질 또는 염기성 물질을 첨가할 수도 있다.
- [45] 상술한 pH 조정 후 필요에 따라 발효액 내 석출되어 있을 수 있는 발린을 완전히 용해하기 위해 발효액을 가열하는 등의 절차가 수행될 수 있다. 예를 들어, 발효액은 약 60°C 내지 약 90°C로 가열될 수 있다.
- [46]
- [47] 발효액의 pH를 조절하는 단계 수행 후 준비된 발효액에 폴리비닐알콜 (polyvinyl alcohol; PVA)을 첨가하는 단계가 수행된다. 예컨대, 본 출원의 제조방법에 있어서, 상기 폴리비닐알콜의 첨가는 생성되는 L-발린 결정의 결정성을 조절하기 위한 것으로, 상기 폴리비닐알콜의 첨가에 의해 농축시 농축 속도에 영향받지 않고 균일하고도 우수한 결정 특성을 갖는 L-발린 결정을 생성할 수 있다.
- [48] 이때, 상기 폴리비닐알콜은 발효액 총 중량에 대하여 0.1wt% 내지 5wt%로 첨가할 수 있다. 경우에 따라, 상기 폴리비닐알콜은 0.3wt% 내지 4wt%, 0.5wt% 내지 3wt%, 0.5wt% 내지 2.5wt%, 1wt% 내지 3wt%, 1wt% 내지 2.8wt%, 1.5wt% 내지 3wt%, 1.5wt% 내지 2.5wt%, 1wt% 내지 2.5wt%, 또는 1.8wt% 내지 2.3wt%로 첨가할 수 있다.

- [49] 예컨대, 본 출원의 제조방법에 따라 배양액에 PVA를 투입하여 농축시켜 제조한 L-발린 결정은 상기 제2단계에 PVA를 투입하지 않는 제조방법에 따라 제조된 결정에 비해 결정 내 수분 함량이 8% 내지 40% 감소된 결정일 수 있다.
- [50]
- [51] 예컨대, 본 출원의 제조방법에 있어서, 상기 발효액에 폴리비닐알콜을 첨가하는 단계 이후 농축하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 농축하는 단계는 L-발린 결정을 생성하기 위한 것으로, 상기 농축은 고형분 함량 15 내지 30%로 수행할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [52] 농축 단계에서는 발효액 내 수분을 제거하여 발린을 결정 형태로 석출시킨다. 농축은 다양한 방법으로 수행될 수 있다. 농축은 당업자의 적의 선택에 의하여 통상의 농축기(예컨대, 패들 건조기(paddle dryer), 슬러리(slurry) 건조설비, 감압 농축기, 강제순환농축기, 박막농축기, 또는 로타리 농축기 등) 내에서 수행될 수 있다.
- [53] 농축 단계에서 농축은 상기 발효액 내 수분을 30 g/L/hr 내지 150 g/L/hr의 속도로 제거하여 수행될 수 있다(발효액 1 리터 당 수분 30g 내지 150g을 1시간 동안 제거한다는 의미). 경우에 따라, 농축은 발효액 내 수분을 90 g/L/hr 내지 150 g/L/hr, 120 g/L/hr 내지 150 g/L/hr, 60 g/L/hr 내지 120 g/L/hr, 90 g/L/hr 내지 120 g/L/hr 또는 60 g/L/hr 내지 90 g/L/hr의 속도로 제거하여 수행될 수 있다. 본 출원에서 농축 속도는 발린 결정 크기에 영향을 미치는 인자이다. 상술한 속도로 농축했을 때 상대적으로 큰 크기의 발린 결정이 형성되며, 발효액 모액으로부터 발린 결정을 쉽게 분리할 수 있다. 또한, 이에 따라 발린 결정 내 수분이 줄어든다.
- [54]
- [55] 다음으로, 상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계가 수행된다. 상기 발린 결정은 농축에 의해 결정 내 수분이 줄어든 발린 결정일 수 있다.
- [56] 분리 단계에서는 발효액으로부터 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는데, 이때 감압 막여과 장치, 가압 막여과 장치, 원심분리 장치 등의 고액분리기를 사용할 수 있다. 다만, 상술한 수단들은 예시적인 것이며, 분리 단계를 수행하는 수단은 상술한 예시로 제한되지는 않는다.
- [57]
- [58] 분리 단계에서 발린 결정 분리 후 남은 모액을 다시 농축에 활용할 수 있다. 이에 따라, 농축 단계에서 수분을 포함하는 결정을 형성하지 못한 발린 또는 일정 크기 이하의 결정으로 석출되어 발린 결정 분리 단계에서 분리되지 않고 모액에 남아있는 발린이 재활용될 수 있다. 또한, 모액 순환 후에는 필요에 따라 미립 결정 형태로 석출된 발린을 다시 발효액 내에 용해하기 위해 발효액을 가열하는 등의 공정이 추가로 수행될 수 있다.

- [59] 상술한 본 출원의 일 양태에 따른 발린 결정 제조방법에 따르면, 발린을 포함하는 발효액의 pH를 조절하고 적정량의 PVA를 발효액에 첨가함으로써 수분 함량이 적고 분리가 용이한 발린 결정을 수득할 수 있다.
- [60] 본 출원의 일 양태에 따라 제조된 발린 결정은 점도가 0 초과 내지 80 cp 미만일 수 있다. 경우에 따라, 발린 결정의 점도는 20 초과 내지 80 cp 미만, 40 초과 내지 80 cp 미만, 60 초과 내지 80 cp 미만, 0 초과 내지 70 cp, 20 초과 내지 70 cp, 40 초과 내지 70 cp, 60 초과 내지 70 cp, 0 초과 내지 50 cp, 20 초과 내지 50 cp, 40 초과 내지 50 cp, 0 초과 내지 30 cp, 20 초과 내지 30 cp 또는 0 초과 내지 10 cp일 수 있다. 상술한 범위의 점도를 갖는 발린 결정은 수분 함량이 적고 적절한 크기를 갖기 때문에 모액으로부터 용이하게 분리할 수 있다.
- [61] 본 출원의 일 양태에 따라 제조된 발린 결정은 10 중량% 내지 55 중량%의 수분을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 발린 결정은 20 중량% 내지 55 중량%, 30 중량% 내지 55 중량%, 40 중량% 내지 55 중량%, 50 중량% 내지 55 중량%, 10 중량% 내지 50 중량%, 20 중량% 내지 50 중량%, 30 중량% 내지 50 중량%, 40 중량% 내지 50 중량%, 10 중량% 내지 40 중량%, 20 중량% 내지 40 중량%, 30 중량% 내지 40 중량%, 10 중량% 내지 30 중량%, 20 중량% 내지 30 중량%, 또는 10 중량% 내지 20 중량%의 수분을 포함할 수 있다. 상술한 함량의 수분을 갖는 발린 결정은 수분 함량이 상대적으로 적기 때문에 별도의 건조 단계 없이 바로 사용할 수 있거나 약간의 건조만을 거쳐 사용할 수 있기 때문에, 공정에 소요되는 에너지를 절감할 수 있다.
- [62]
- [63] 또한, 본 출원의 제조방법은 상기 L-발린 결정을 분리하는 단계 이후, 건조하는 단계, 사별하는 단계, 또는 둘 모두를 추가로 포함할 수 있다. 상기 각 단계는 당 업계에 공지된 방법(예컨대, US 2021-0094903 A1)을 제한없이 사용하여 수행할 수 있다. 나아가 공정의 최적화를 위하여 구체적인 조건을 적절히 변경할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [64]
- [65] 본 출원에 따른 폴리비닐알콜 및 L-발린을 포함하고, 농축시 폴리비닐알콜을 사용하지 않고 제조한 L-발린 결정에 비해 분리 결정 중의 수분량이 5 내지 40% 만큼 감소된, L-발린 결정을 제공한다.
- [66] 예컨대, 상기 L-발린 결정은 구형 입자 형태를 가질 수 있다.
- [67] 구체적으로, 본 출원의 L-발린 결정은 전술한 방법에 의해 제조된 것일 수 있다. 나아가, 본 출원의 L-발린 결정은 사료 또는 사료 첨가용으로 사용될 수 있으나, 그 용도는 이에 제한되지 않는다.
- [68]
- [69] 발린 과립 제조 방법은 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계; 상기 발효액의 pH를 조절하는 단계; 상기 발효액에 폴리비닐알콜을 첨가하는 단계; 상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계; 상기 발린 결정을 시드와

혼합하여 혼합과립을 제조하는 단계; 및 상기 발린 혼합과립을 건조하는 단계를 포함한다.

[70] 여기서 발효액을 준비하는 단계, 발효액의 pH를 조절하는 단계, 발효액에 폴리비닐알콜을 첨가하는 단계 및 발린 결정 분리 단계는 앞서 설명한 발린 결정 제조방법에서와 동일하게 수행될 수 있는바, 이하에서는 설명의 중복을 피하기 위해 발린 결정을 시드와 혼합하여 혼합과립을 제조하는 단계; 및 혼합과립을 건조하는 단계를 중심으로 설명한다.

[71]

[72] 혼합과립 제조 단계에서 발린 결정 분리 단계에서 수득된 발린 결정은 발린 과립 제조를 위하여 시드와 혼합된다.

[73] 혼합과립 제조 단계에서 사용되는 시드(Seed)는 종결정 또는 종정으로도 불리우며, 액체의 결정화 또는 과립화를 위해 촉매제로 사용되는 물질을 의미할 수 있다. 본 출원에서 시드는 발린 결정일 수 있다. 상기 시드는 발효액과 접촉시 발효액 내에 존재하는 고형 성분이 시드와 결합하면서 응집이 이루어짐으로써 과립을 형성할 수 있다.

[74] 혼합과립 제조 단계에서 사용되는 시드는 150 내지 300 μm 의 평균 입도를 갖는 것일 수 있다. 구체적으로, 150 내지 250 μm , 200 내지 300 μm , 또는 200 내지 250 μm 의 평균 입도를 갖는 시드를 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 사용되는 시드의 입도는 결과적으로 본 출원에 따른 과립의 제조의 생산성에 영향을 줄 수 있는바, 원하는 수분 함량 등을 고려하여 당업자가 적절히 선택할 수 있다.

[75] 혼합과립 제조 단계에서 혼합형 과립기를 이용할 수 있다. 혼합형 과립기는 혼합형 과립기에 피더를 통해 시드를 일정한 속도로 주입하는 동시에 앞서 분리 단계에서 수득된 발린 결정을 공급함으로써 과립을 수득하는 것일 수 있다. 혼합형 과립기는 시드를 내부로 공급하는 피더와 발린 결정을 공급하는 부재를 각각 포함할 수 있다. 또한, 혼합형 과립기 내부에는 챔버 내부에 공기 유동을 발생시키기 위한 가스 노즐, 챔버 내 제공된 시드와 발린 결정을 혼합하기 위한 패들 등이 제공될 수 있다. 챔버 내 유입된 시드와 발린 결정이 서로 뭉치면서 발린 혼합과립이 형성될 수 있다.

[76]

[77] 본 출원의 일 양태에 따르면, 시드와 수분을 포함한 발린 결정의 혼합에 의해 수분 함량이 적고 결정 크기가 큰 발린 혼합과립이 제조될 수 있다. 앞서 검토한 것과 같이 본 출원에 따르면 결정의 크기가 큰 발린 결정이 석출되고, 결정 크기가 큰 발린 결정은 발효액으로부터 쉽게 분리할 수 있기 때문에, 발린 결정 내 수분 함량이 상대적으로 적다. 또한, 혼합과립 제조 단계에서 수분 함량이 적은 발린 결정과 시드를 혼합형 과립기에서 과립화함에 따라, 제조되는 발린 혼합과립 역시 수분 함량이 적고 크기가 크다.

- [78] 여기서 "과립(granules)"은 분말(powder)과 같은 작은 입자들이 모여서 이루어진 보다 큰 크기의 영구적 응집체인 거시적 입자(macroscopic particles)로서, 평균 입자 직경이 50 μm 내지 5 mm, 75 μm 내지 4 mm 또는 100 μm 내지 3 mm 크기의 입자일 수 있다.
- [79] 혼합과립 제조 단계에서 수득된 발린 혼합과립은 10 중량% 내지 50 중량%의 수분을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 발린 혼합과립은 20 중량% 내지 50 중량%, 30 중량% 내지 50 중량%, 40 중량% 내지 50 중량%, 10 중량% 내지 40 중량%, 20 중량% 내지 40 중량%, 30 중량% 내지 40 중량%, 10 중량% 내지 30 중량%, 20 중량% 내지 30 중량% 또는 10 중량% 내지 20 중량%의 수분을 포함할 수 있다. 이는 종래 기술에 따라 수득된 발린 과립과 비교했을 때 낮은 수분 함량이다. 따라서, 본 출원에 따라 수득된 발린 혼합과립을 건조하는데 필요한 에너지량을 절감할 수 있다.
- [80] 다음으로, 발린 혼합과립을 건조하는 건조 단계가 수행된다.
- [81] 건조 단계에서는 앞서 수득한 발린 혼합과립을 건조하는데, 건조 방법에는 제한이 없다.
- [82] 본 출원의 일 양태로, 본 출원은 발린 혼합과립을 포함하는 발린 제품을 제공할 수 있다. 본 출원의 용어, "발린 제품"은 발효액에 포함된 발린을 다양한 제형으로 제품화한 것을 의미한다. 예를 들어, 발린 제품은 과립(granule) 형태의 발린 함유 혼합물을 의미할 수 있다. 다만, 필요에 따라서는 발린 제품의 제형은 본 출원의 발명의 사상을 변경하지 않는 한에서 달리할 수 있다. 또한, 상술한 것과 같이 다양한 발린 제품의 제형을 구현하기 위해 후속 공정을 더 수행할 수 있다. 상술한 발린 제품은 동물 사료의 첨가제 등으로 이용될 수 있으며, 용도에는 제한이 없다.
- [83] 본 출원에 따르면, 발린을 포함하는 발효액을 농축하여 발린 결정을 분리하고, 분리된 발린 결정과 시드를 혼합하여 크기가 크고 수분 함량이 적은 발린 혼합과립을 제조할 수 있다. 수분 함량이 적은 발린 혼합과립은 건조에 필요한 에너지량이 적다는 장점이 있다. 일례로, 본 출원에 따르면, 발효액의 pH를 조정하거나 농축 속도를 조절하여 발린 혼합과립 내 수분 함량을 더욱 낮출 수 있다.
- [84]
- [85] 본 출원의 L-발린 결정 또는 과립은 사료 첨가제로서 동물 사료의 제조에 사용하기에 적합할 수 있다. 예컨대, 상기 사료 첨가제로서 L-발린 결정은 동물 사료 프리믹스(premix)의 일부 또는 동물 사료의 전구물질로서, 그 자체로 사료 물질과 혼합할 수 있다. 상기 L-발린 결정 또는 과립을 포함하는 사료 조성물은 동물에게 단독으로 투여하거나 식용 담체 중에서 다른 사료 첨가제와 조합하여 투여할 수도 있다. 또한, 상기 사료 조성물은 탑 드레싱으로서 또는 이들을 동물 사료에 직접 혼합하거나 또는 사료와 별도의 경구 제형으로 용이하게 동물에게 투여할 수 있다.
- [86]

발명의 실시를 위한 형태

[87] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 출원을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 출원을 예시하기 위한 것일 뿐 본 출원의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다. 한편, 본 출원에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

[88]

[89] **실험예 1: 코리네박테리움 미생물 배양을 통한 발린 발효액의 제조**

[90]

[91] 본 실험예에서 L-발린을 포함하는 과립을 제조하기 위하여, L-발린을 생산하는 균주 중 하나인 코리네박테리움 글루타미쿰 KCCM11338P(US 10072278 B2)를 포도당 5%, 황산암모늄 2%, 제1인산칼륨 0.1%, 황산마그네슘 7수염 0.05%, CSL(옥수수 침지액) 2.0%, 비오틴 200 µg/L, pH 7.2 조성의 배지에서 약 30°C 조건 하 72시간 배양하여 하기 조성을 갖는 발효액을 수득하였다. 상기 발효액은 배양된 배지 및 미생물을 포함하고 있으며, 이로부터 수분 측정 및 조성을 분석하였다. 표 1은 발린 발효액 조성 분석 결과이다.

[92] [표1]

조성	함량(g/L)
발린	80.0
기타 아미노산	8.8
유기산	0.7
무기물	11.0
수분(%)	89.0

[93]

[94] **실험예 2: 발효액의 pH에 따른 발린 결정 내 수분 함량 비교**

[95]

[96] 앞서 실험예 1에서 준비한 L-발린 농도가 80 g/L인 발효액을 2 L씩 분할한 후 황산을 첨가하여 pH(7.5 내지 3.0)별 공정액을 제조하였다. 제조된 공정액에서 발린 결정을 석출하기 위해서 감압농축기를 활용해서 공정액의 발린 농도가 200 g/L가 될 때까지 진공도 120 torr에서 시간당 60 g/L/hr 속도로 농축하였다. 발린 결정을 포함하는 농축 결정 슬러리를 바스켓 분리기로 고액 분리하여 L-발린 결정과 모액을 수득하였다.

[97] 발효액의 pH에 따른 발린 결정 내 수분 함량은 LOD분석을 통해 비교하였다(표 2).

[98] [표2]

발효액의 pH	7.0	6.0	5.0	4.0	3.0
슬러리 점도(cP)	89	80	20.5	16.0	90
결정 내 수분함량(wt%)	45	40	32	30	39

[99] LOD 수분측정 결과 발효액의 pH가 3.0 초과 내지 6.0 미만일 때 발린 결정 내 수분 함량이 가장 낮음을 확인하였다. 또한, 농축 슬러리의 점도를 분석하였을 때에도 발효액의 pH가 3.0 초과 내지 6.0 미만일 때 농축 슬러리 점도가 현저히 낮은 것을 확인하였다. 농축 슬러리의 점도가 낮다는 것은 농축 슬러리 내 포함된 발린 결정의 크기가 크고, 미립 결정이 많이 형성되지 않은 것을 의미한다. 이에 비해 농축 슬러리 점도가 높게 나타난 pH 7.0, pH 6.0 및 pH 3.0인 발효액의 경우 발린 미립 결정이 다수 형성되어 슬러리 점도가 높게 나타난 것으로 분석된다.

[100] 따라서, 발효액의 pH가 발린 결정 형성에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 구체적으로, 특정 pH 범위에서 크기가 큰 발린 결정이 형성되어 농축 슬러리 점도가 낮고, 분리 결정의 수분도 적은 것을 확인했다.

[101]

[102] 실험예 3: 첨가제의 종류에 따른 발린 결정 내 수분 함량 비교

[103]

[104] 발린 포함 배양액으로부터의 발린 결정 제조 공정 중 첨가제의 유무 및/또는 종류에 따른 효과를 확인하기 위하여, 실험예 1에서 제조한 발효액에 황산을 첨가하여 pH 3.8로 조절한 L-발린 배양액에 2wt%(L-발린 중량 기준)의 폴리비닐알콜(polyvinyl alcohol; PVA), 폴리비닐피롤리돈(polyvinylpyrrolidone; PVP) 및 글루탐산 소듐염(monosodium glutamate; MSG)을 각각 첨가한 배양액을 준비하였다. 이들 배양액을 감압농축기를 활용하여 농도 200 g/L까지 진공도 120 torr에서 30 g/L/hr 속도로 농축하였다. 이어서 바스켓 분리기를 사용하여 1800 rpm에서 10분 동안 고액을 분리하여 상기 수득한 농축 배양액으로부터 L-발린 결정을 획득하고, 분리된 L-발린 결정의 수분 함량을 LOD 분석으로 산출하여 비교하였다(표 3).

[105] [표3]

첨가제	발린 결정 내 수분함량(wt%)
무첨가(대조군)	58.21
PVA	40.12
PVP	57.89
MSG	59.34

[106] 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 다른 첨가제 사용시에는 유의미한 결정 내 수분 함량의 변화를 나타내지 않았으나, PVA를 사용한 공정으로부터 획득한 결정은 무첨가 대조군에 비해 30% 이상 감소된 결정 내 수분 함량을 나타냄을 확인하였다. 이는 농축에 앞서 배양액에 PVA를 첨가하는 것이 최종 수득한 발린 결정에 함유된 수분량을 낮추는데 효과적임을 나타내는 것이다.

[107]

[108] 실험예 4: PVA의 사용량에 따른 발린 결정 내 수분 함량 비교

[109]

[110] 상기 실험예 3에서 가장 우수한 효과를 나타낸 PVA를 이용하여 투입량을 변화시키면서 첨가제 사용량에 따른 효과를 확인하였다. 구체적으로, 0.5, 1.5, 2.0 및 2.5wt%(L-발린 중량 기준)로 투입량을 달리하여 준비한 배양액을 상기 실험예 3과 같이 농축 및 분리하여 결정을 획득하고, LOD 분석으로 분리된 L-발린 결정의 수분 함량을 산출하였다(표 4).

[111]

[112] [표4]

PVA 첨가량(wt%)	0	0.5	1.5	2.0	2.5
결정 내 수분 함량(wt%)	58.21	53.07	47.23	38.02	48.23

[113] 테스트한 전체 PVA 투입량 범위의 시료에서 미투입 대조군 시료(0wt%)에 비해 감소된 결정 내 수분 함량을 나타내었으며, 약 9.1%로부터 34.7%의 감소율을 확인할 수 있었다.

[114]

[115] 나아가, PVA 2wt% 시료 및 미투입 대조군에서 생성된 결정의 형태를 SEM($\times 30$ 배, JEOL社, JCM-6000PLUS)으로 관찰하였다. 그 결과, PVA 미투입 대조군은 판형의 미분 형태의 결정이 생성된 반면, 2wt% PVA 투입군은 구형에 가까운 보다 큰 크기의 입자로 형성되었다(도 1).

[116]

[117] 실험예 5. 분리된 결정에서 발린 과립의 제조

[118]

[119] 실험예 4에서와 같은 방법으로 발린 결정을 제조하였으며, 분리된 발린 결정과 미리 건조된 발린 시드(발린 함량 75%)를 혼합하여 각각 수분 15% 내지 47%의 결정을 제조한 후 혼합형 과립기를 통해 발린 혼합과립 결정을 제조하였다.

[120] 수분 함량이 15% 내지 47%인 결정에 대하여 모두 혼합형 과립기를 이용하여 혼합과립 제조가 가능함을 확인했다.

[121] [표5]

혼합수분(%)		15.0	24.0	30.0	35.0	47.0
설비	Type	CVG Mixer				

	rpm	2000				
혼합 과립유무		○	○	○	○	○

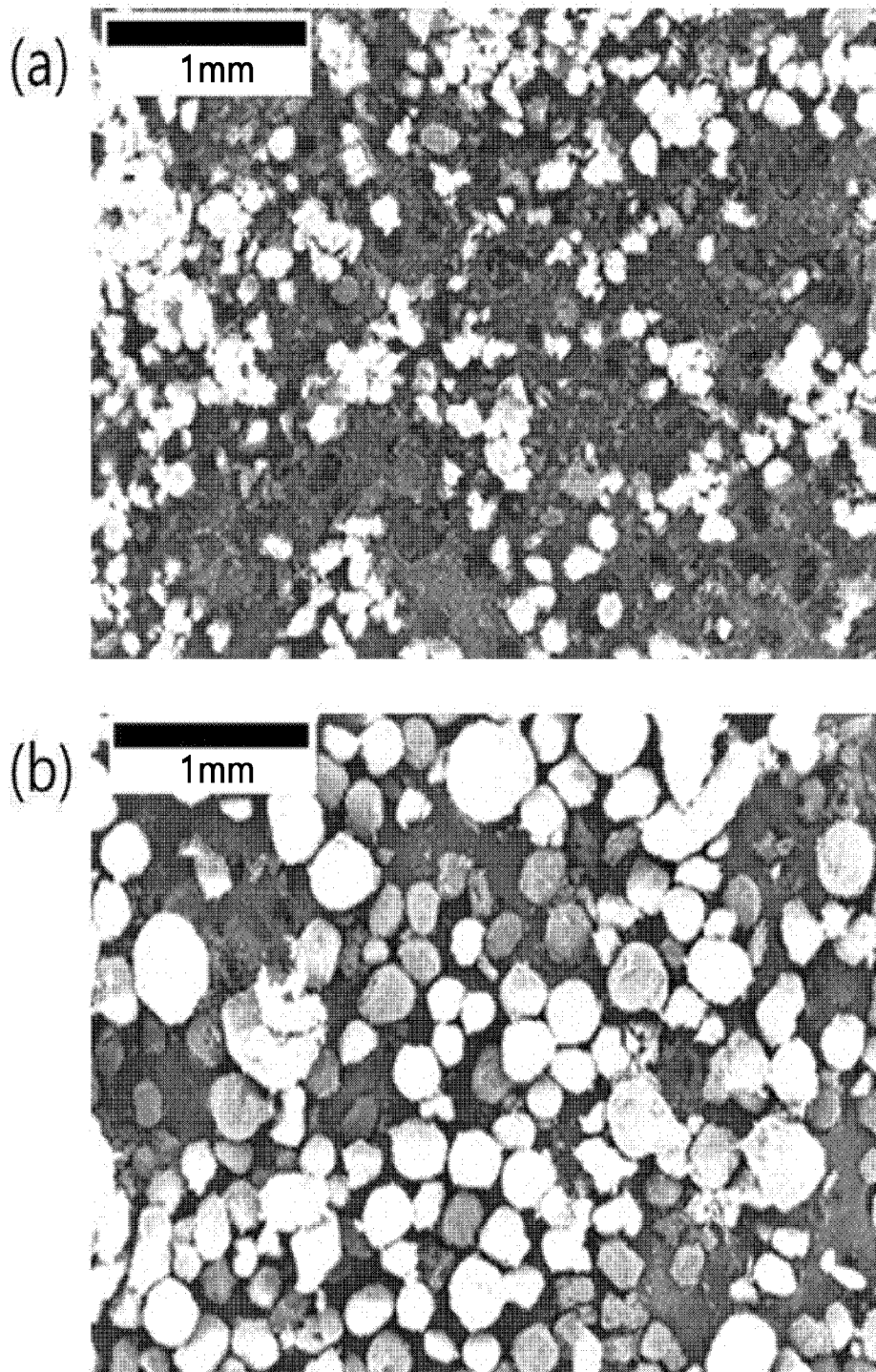
[122]

[123] 이상의 설명으로부터, 본 출원이 속하는 기술분야의 당업자는 본 출원이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 출원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 출원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

- [청구항 1] 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계;
상기 발효액의 pH를 조절하는 단계;
상기 발효액에 폴리비닐알콜(polyvinyl alcohol; PVA)을 첨가하는 단계; 및
상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계를 포함하
는, 발린 결정 제조방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 발효액의 pH를 조절하는 단계에서 상기 발효액의 pH는 3 초과 내지
6 미만으로 조절되는, 발린 결정 제조방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 폴리비닐알콜은 발효액 총 중량에 대하여 0.1wt% 이상 5wt%로 첨가
하는, 발린 결정 제조방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 발효액에 폴리비닐알콜을 첨가하는 단계 이후 발효액을 농축하는
단계를 추가로 포함하는, 발린 결정 제조방법.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
상기 농축은 발효액 내 수분을 30 g/L/hr 내지 150 g/L/hr의 속도로 제거하
여 수행되는, 발린 결정 제조방법.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 발린 결정은 점도가 0 초과 80 cP 미만인, 발린 결정 제조방법.
- [청구항 7] 제6항에 있어서,
상기 발린 결정은 10wt% 내지 55wt%의 수분을 포함하는, 발린 결정 제조
방법.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
상기 발린 결정은 구형의 입자 형태를 갖는, 발린 결정 제조방법.
- [청구항 9] 발린을 포함하는 발효액을 준비하는 단계;
상기 발효액의 pH를 조절하는 단계;
상기 발효액에 폴리비닐알콜을 첨가하는 단계;
상기 발효액에서 수분을 포함하는 발린 결정을 분리하는 단계;
상기 발린 결정을 시드와 혼합하여 혼합과립을 제조하는 단계; 및
상기 발린 혼합과립을 건조하는 단계를 포함하는, 발린 과립 제조방법.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 발효액에 폴리비닐알콜을 첨가하는 단계 이후 발효액을 농축하는
단계를 추가로 포함하는, 발린 과립 제조방법.

[도1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/009022

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12P 13/08(2006.01)i; C07C 227/42(2006.01)i; C07C 229/08(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) C12P 13/08(2006.01); A23K 10/12(2016.01); A23K 20/142(2016.01); A23K 40/10(2016.01); C07C 227/42(2006.01); C07C 231/16(2006.01); C12P 13/02(2006.01); C12P 25/00(2006.01) 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: L-발린 (L-valine), 폴리비닐알콜 (polyvinyl alcohol, PVA), 아미노산 과립 (amino acid granule), 발효액 (fermentation broth), 결정 (crystal)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2016-0057462 A (EVONIK OPERATIONS GMBH) 23 May 2016 (2016-05-23) See claims 1, 10 and 14; and paragraphs [0054]-[0061], [0111]-[0117] and [0142].	1-10
Y	US 2014-0228593 A1 (YOSHIURA, H. et al.) 14 August 2014 (2014-08-14) See claims 1 and 2.	1-10
A	KR 10-2016-0075672 A (EVONIK OPERATIONS GMBH) 29 June 2016 (2016-06-29) See claims 1, 2, 8 and 10.	1-10
A	KR 10-2000-0028898 A (EVONIK OPERATIONS GMBH) 25 May 2000 (2000-05-25) See claims 1, 6 and 9.	1-10
A	KR 10-2009-0106543 A (EVONIK OPERATIONS GMBH) 09 October 2009 (2009-10-09) See claims 1 and 9.	1-10
☐ 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 “D” document cited by the applicant in the international application “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 25 October 2024		Date of mailing of the international search report 27 October 2024
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/009022

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2016-0057462	A	23 May 2016	AU	2014-323260	A1	07 April 2016
				AU	2014-323260	A1	26 March 2015
				CN	105555147	A	04 May 2016
				EP	3046424	A1	27 July 2016
				MX	2016-003329	A	11 July 2016
				RU	2016-114480	A	23 October 2017
				US	2016-0227816	A1	11 August 2016
				WO	2015-039939	A1	26 March 2015
				ZA	2016-02424	B	29 November 2017
US	2014-0228593	A1	14 August 2014	BR	11-2014-005784	A2	28 March 2017
				BR	11-2014-005784	B1	16 July 2019
				CN	103889946	A	25 June 2014
				CN	103889946	B	03 June 2015
				EP	2757089	A1	23 July 2014
				EP	2757089	B1	02 November 2016
				JP	6047095	B2	21 December 2016
				US	9227916	B2	05 January 2016
				WO	2013-039094	A1	26 March 2015
				WO	2013-039094	A1	21 March 2013
KR	10-2016-0075672	A	29 June 2016	CN	105658080	A	08 June 2016
				CN	105658080	B	02 October 2020
				DK	2865275	T3	18 May 2020
				EP	2865275	A1	29 April 2015
				EP	2865275	B1	26 February 2020
				ES	2781752	T3	07 September 2020
				RU	2016119348	A	29 November 2017
				US	11723384	B2	15 August 2023
				US	2016-0255862	A1	08 September 2016
				US	2022-0104519	A1	07 April 2022
KR	10-2000-0028898	A	25 May 2000	WO	2015-058951	A1	30 April 2015
				EP	992490	A1	12 April 2000
				EP	992490	B1	28 May 2003
				EP	992490	B2	29 August 2007
				ES	2200450	T3	01 March 2004
				ES	2200450	T5	01 March 2008
				JP	2000-116336	A	25 April 2000
				JP	4588820	B2	01 December 2010
				MX	PA99009235	A	28 October 2004
KR	10-2009-0106543	A	09 October 2009	BR	PI0720672	A2	28 January 2014
				BR	PI0720672	B1	30 January 2018
				CN	101688225	A	31 March 2010
				CN	101688225	B	25 November 2015
				DE	102006061479	A1	26 June 2008
				ES	2587575	T3	25 October 2016
				MX	2009006816	A	25 August 2009
				PL	2102352	T3	31 August 2017
				US	2010-0304449	A1	02 December 2010
				WO	2008-077774	A2	03 July 2008
				WO	2008-077774	A3	12 February 2009

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12P 13/08(2006.01)i; C07C 227/42(2006.01)i; C07C 229/08(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12P 13/08(2006.01); A23K 10/12(2016.01); A23K 20/142(2016.01); A23K 40/10(2016.01); C07C 227/42(2006.01); C07C 231/16(2006.01); C12P 13/02(2006.01); C12P 25/00(2006.01)

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: L-발린 (L-valine), 폴리비닐알콜 (polyvinyl alcohol, PVA), 아미노산 과립 (amino acid granule), 발효액 (fermentation broth), 결정 (crystal)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2016-0057462 A (에보닉 오퍼레이션스 게엠베하) 2016.05.23 청구항 1, 10, 14; 단락[0054]-[0061], [0111]-[0117], [0142]	1-10
Y	US 2014-0228593 A1 (YOSHIURA, H. 등) 2014.08.14 청구항 1, 2	1-10
A	KR 10-2016-0075672 A (에보닉 오퍼레이션스 게엠베하) 2016.06.29 청구항 1, 2, 8, 10	1-10
A	KR 10-2000-0028898 A (에보닉 오퍼레이션스 게엠베하) 2000.05.25 청구항 1, 6, 9	1-10
A	KR 10-2009-0106543 A (에보닉 오퍼레이션스 게엠베하) 2009.10.09 청구항 1, 9	1-10

☐ 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

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 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

2024년10월25일(25.10.2024)

국제조사보고서 발송일

2024년10월27일(27.10.2024)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동,
정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-5373

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2016-0057462 A	2016/05/23	AU 2014-323260 A1	2016/04/07
		AU 2014-323260 A1	2015/03/26
		CN 105555147 A	2016/05/04
		EP 3046424 A1	2016/07/27
		MX 2016-003329 A	2016/07/11
		RU 2016-114480 A	2017/10/23
		US 2016-0227816 A1	2016/08/11
		WO 2015-039939 A1	2015/03/26
		ZA 2016-02424 B	2017/11/29
US 2014-0228593 A1	2014/08/14	BR 11-2014-005784 A2	2017/03/28
		BR 11-2014-005784 B1	2019/07/16
		CN 103889946 A	2014/06/25
		CN 103889946 B	2015/06/03
		EP 2757089 A1	2014/07/23
		EP 2757089 B1	2016/11/02
		JP 6047095 B2	2016/12/21
		US 9227916 B2	2016/01/05
		WO 2013-039094 A1	2015/03/26
		WO 2013-039094 A1	2013/03/21
KR 10-2016-0075672 A	2016/06/29	CN 105658080 A	2016/06/08
		CN 105658080 B	2020/10/02
		DK 2865275 T3	2020/05/18
		EP 2865275 A1	2015/04/29
		EP 2865275 B1	2020/02/26
		ES 2781752 T3	2020/09/07
		RU 2016119348 A	2017/11/29
		US 11723384 B2	2023/08/15
		US 2016-0255862 A1	2016/09/08
		US 2022-0104519 A1	2022/04/07
KR 10-2000-0028898 A	2000/05/25	WO 2015-058951 A1	2015/04/30
		EP 992490 A1	2000/04/12
		EP 992490 B1	2003/05/28
		EP 992490 B2	2007/08/29
		ES 2200450 T3	2004/03/01
		ES 2200450 T5	2008/03/01
		JP 2000-116336 A	2000/04/25
		JP 4588820 B2	2010/12/01
		MX PA99009235 A	2004/10/28
KR 10-2009-0106543 A	2009/10/09	BR PI0720672 A2	2014/01/28
		BR PI0720672 B1	2018/01/30
		CN 101688225 A	2010/03/31
		CN 101688225 B	2015/11/25
		DE 102006061479 A1	2008/06/26
		ES 2587575 T3	2016/10/25
		MX 2009006816 A	2009/08/25
		PL 2102352 T3	2017/08/31
		US 2010-0304449 A1	2010/12/02
		WO 2008-077774 A2	2008/07/03
		WO 2008-077774 A3	2009/02/12