



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0178042
(43) 공개일자 2024년12월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 27/00 (2016.01) A23L 27/30 (2016.01)
A23L 29/00 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 27/88 (2016.08)
A23L 27/30 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2023-0079710
(22) 출원일자 2023년06월21일
심사청구일자 2023년06월21일

(71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 덕진구 농생명로 300 (중동)
(72) 발명자
김현진
경상남도 진주시 초북로 77, 301동 903호 (초전동, 진주초장 엠코타운 더 이스턴파크)
김동신
제주특별자치도 제주시 월대1길 8 (외도이동)
(74) 대리인
최규환

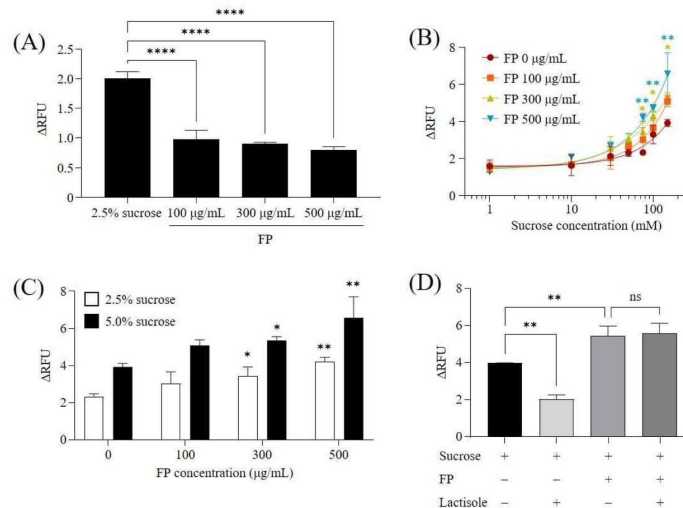
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 페룰로일 푸트레신을 유효성분으로 함유하는 감미료의 단맛 증진용 조성물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 유효성분으로 함유하는 감미료의 단맛 증진용 조성물, 상기 조성물을 포함하는 단맛 증진용 가공식품과 감미료가 포함된 식품에 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합하여 제조하는 것을 특징으로 하는 단맛이 증진된 가공식품의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 단맛이 증진된 가공식품에 관한 것이다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A23L 29/03 (2016.08)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/16 (2013.01)

(72) 발명자

정성만

경상남도 진주시 진주역로73번길 33, 101동 3204호
 (가좌동, 센트럴웰가)

조성호

경상남도 진주시 금산면 금산로 123, 106동 1505호
 (금산흥한골든빌)

안지현

부산광역시 금정구 학산로21번길 20, B동 302호 (남산동, 남산빌라)

이선

경상남도 진주시 진주대로500번길 34, 204호 (가좌동)

안정현

울산광역시 남구 왕생로 87, 4층 (달동)

김보경

경상남도 진주시 진주대로 859, 8동 805호 (주약동, 한주럭키아파트)

이제은

경상남도 진주시 평거로39번길 9, 107동 206호 (평거동, 들말한보타운)

최누리

경상남도 창원시 마산회원구 석전남8길 40, 102동 2904호 (석전동, 창원 메트로시티 석전)

김상숙

제주특별자치도 서귀포시 남원읍 하례광장로 107

박석만

제주특별자치도 서귀포시 남원읍 하례광장로 107

박요섭

제주특별자치도 서귀포시 남원읍 하례광장로 107

한승갑

제주특별자치도 서귀포시 남원읍 하례광장로 107

윤수현

제주특별자치도 서귀포시 남원읍 하례광장로 107

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2023
과제번호	PJ014969032023
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	수요자맞춤형육종자원대량신속발굴기술개발
연구과제명	감귤 주요 형질 평가 객관화 기술 개발(3공동)
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경상국립대학교
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 감미료의 단맛 증진용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 감미료는 설탕, 꿀, 물엿, 과당, 포도당, 메이플시럽, 아가베시럽, 조청, 올리고당, 아세설팜칼륨, 아스파탐, 수크랄로스, 소르비톨, 사카린, 스테비아, 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 에리스리톨, 알룰로스, 나한과, 커쿨린, 모델린 또는 글리시리친인 것을 특징으로 하는 감미료의 단맛 증진용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)은 감미료 총 중량 기준으로 0.001~10%로 포함되는 것을 특징으로 하는 감미료의 단맛 증진용 조성물.

청구항 4

감미료와 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합한 혼합물을 유효성분으로 함유하는 단맛 증진용 조성물.

청구항 5

제4항의 조성물을 포함하는 단맛 증진용 가공식품.

청구항 6

감미료가 포함된 식품에 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합하여 제조하는 것을 특징으로 하는 단맛이 증진된 가공식품의 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 감미료는 설탕, 꿀, 물엿, 과당, 포도당, 메이플시럽, 아가베시럽, 조청, 올리고당, 아세설팜칼륨, 아스파탐, 수크랄로스, 소르비톨, 사카린, 스테비아, 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 에리스리톨, 알룰로스, 나한과, 커쿨린, 모델린 또는 글리시리친인 것을 특징으로 하는 단맛이 증진된 가공식품의 제조방법.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 혼합은 감미료가 포함된 식품에 식품 대비 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 0.001~10 중량% 혼합하는 것을 특징으로 하는 단맛이 증진된 가공식품의 제조방법.

청구항 9

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 단맛이 증진된 가공식품.

청구항 10

감미료가 포함된 식품에 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합하는 것을 특징으로 하는 가공식품의 단맛을 증진시키는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 유효성분으로 함유하는 감미료의 단맛 증진용 조성물 및

이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 설탕은 예전부터 음식물의 감미료로서 널리 이용되고 있으며, 식품에서 단맛을 내기 위해 사용되고 있다. 그러나 최근 건강상의 이점 그리고 저칼로리를 지향하는 인식에 맞추어 비만, 당뇨병 등의 원인이 되는 설탕 대신 고감미도를 나타내는 감미료나 저칼로리 감미료와 같은 대체감미료의 사용이 요구되고 있다. 현재 설탕을 대체하기 위해 사용되고 있는 대체 감미료로는 크게 아스파탐, 사카린 등을 포함한 인공감미료와 감미단백질, 당알콜, 올리고당 등을 포함한 천연감미료로 나눌 수 있다.
- [0003] 그러나, 이들에 대한 문제점들이 꾸준히 제기되면서 단맛을 대체할 새로운 물질들에 대한 요구가 커지고 있다. 이들 중 하나가 감미 증진제(강화제)이다. 감미 증진제 자체는 단맛을 제공하지 않지만 일반적인 감미료의 단맛을 증가시킨다. 각종 단맛 물질은 혀의 미각세포에 있는 PCR(G-protein coupled receptor) 단맛 수용체인 T1R2-T1R3와 결합을 시작으로 개시되는 신호 전달에 의해 단맛이 인지된다. 감미 증진제는 혀에 존재하는 이들 단맛 수용체와 상호 작용하여 작용한다. 일단 감미료에 의해 스위치가 켜진 이 수용체는 감미 증진제로 인해 수용체가 낮은 농도의 감미료에 반응하도록 하기 때문에 활성화된 상태로 유지된다. 이러한 수용체의 구조를 조절하는 수십 가지의 합성 또는 자연 증진제가 약리학적으로 연구되어졌는데, T1R3의 막관통 도메인에 작용하는 감미제는 사이클라메이트 및 네오헤스페리딘 다이하이드로 칼콘(NHDC)이고, 수크로오스, 수크랄로스 및 아스파탐은 T1R2 또는 T1R3에 결합하여 단맛을 내는 걸로 알려져 있다. 그러나, 기존의 감미 증강제나 인공 감미제는 이러한 수용체에 다양한 방법으로 결합하여 그 효능을 나타내었지만, 불쾌한 맛을 갖고 있거나 합성하여 만든 감미제로서 부작용을 야기할 수 있다.
- [0004] 일반적으로 페놀 화합물(phenolic compounds), 테르페노이드(terpenoids), 알칼로이드(alkaloids)를 포함하는 식물의 2차대사산물들은 주로 과일, 식품, 음료 등에서 쓴맛이나 떼은맛을 나타내는 것으로 알려져 있다. FP(Feruloyl putrescine)는 식물의 2차대사산물인 페놀 화합물 중 하이드록시신남산(hydroxycinnamic acid)의 유도체 계열의 화합물로서, 페룰산(ferulic acid)과 푸트레신(putrescine)이 결합된 형태이며, 감귤류, 아보카도, 옥수수, 감자 등에서 발견되는 성분으로 FP 계열의 성분은 항균, 항산화 등의 활성이 있다고 알려져 있으나, 맛 관련된 연구는 보고된 적이 없다.
- [0005] 한국공개특허 제2017-0102897호에는 단맛을 조정하기 위한 화합물, 조성물 및 방법이 개시되어 있고, 한국등록특허 제1758332호에는 L-라이신 및 L-글루타민산을 포함하는 감미증강용 아미노산 조미료 조성물이 개시되어 있으나, 본 발명의 페룰로일 푸트레신을 유효성분으로 함유하는 감미료의 단맛 증진용 조성물과는 상이하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자는 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)의 경우 그 자체는 단맛이 없으나, 감미료와 혼합 시 단맛을 증진시키는 효과가 있다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0007] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine) 또는 이의 식품학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 감미료의 단맛 증진용 조성물을 제공한다.
- [0008] 또한, 본 발명은 감미료와 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합한 혼합물을 유효성분으로 함유하는 단맛 증진용 조성물을 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는 단맛 증진용 가공식품을 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 감미료가 포함된 식품에 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합하여 제조하는 것을 특징으로 하는 단맛이 증진된 가공식품의 제조방법을 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 단맛이 증진된 가공식품을 제공한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 감미료가 포함된 식품에 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합하는 것을 특징으로 하는 가공식품의 단맛을 증진시키는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0013] 기존의 단맛을 내는데 주로 사용되는 설탕 등의 감미료는 비만, 당뇨병 등의 원인으로 알려져 있고, 이를 대체하기 위한 대체 감미료의 경우 설탕의 단맛을 충족시키기엔 부족하거나 인체에 대한 유해성으로 인해 사용을 꺼리는 문제점이 있다.
- [0014] 본 발명은 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 감미료와 혼합한 후 관능검사와 사람 단맛 수용체를 이용하여 분석한 결과, 페룰로일 푸트레신 자체의 단맛은 없지만 감미료와 혼합 시 관능검사와 단맛 수용체에서 모두 감미료 단독의 단맛보다 페룰로일 푸트레신을 처리했을 때 단맛이 더 증가하는 것으로 확인하였다. 또한, 단맛억제제인 락티솔(lactisole)을 감미료 및 페룰로일 푸트레신과 혼합하여 단맛을 분석한 결과, 감미료와 락티솔을 혼합한 경우 단맛이 줄어드는 것이 확인되었지만, 락티솔, 감미료 및 페룰로일 푸트레신을 혼합할 경우 락티솔에 의한 단맛 감소 효과가 없었으며, 감미료 및 페룰로일 푸트레신 혼합액 단맛의 강도가 그대로 유지되는 것을 확인하였다.
- [0015] 따라서, 기존 단맛을 내는 대체 감미료의 위해성 대신 페룰로일 푸트레신의 소량 사용으로도 감미료를 포함하는 식품의 단맛을 증진시킬 수 있을 것으로 기대되어, 단맛을 증가시키는 식품첨가물 시장, 건강기능식품 및 의약품의 첨가물 소재 등으로 이용이 가능하고 친자연적인 소비자들의 트렌드에 부합하여 시장성 및 사업화 전망이 상당히 높을 것으로 판단된다.

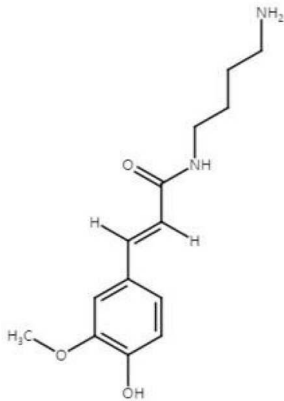
도면의 간단한 설명

- [0016] 도 1은 페룰로일 푸트레신(FP) 합성물의 사진(A)과 Amberlite XAD-2 resin에 의한 FP의 분획 크로마토그램이다.
- 도 2는 Semi-prep-HPLC에 의해 정제된 페룰로일 푸트레신(FP)을 PDA 검출기로 검출한 크로마토그램(A) 및 정제된 FP 동결건조물 사진(B)이다.
- 도 3은 페룰로일 푸트레신(FP) 표준물질과 정제된 FP의 UPLC-Q-TOF MS 크로마토그램(A) 및 MS 스펙트럼(B)으로 비교한 결과이다.
- 도 4는 설탕(sucrose)과 페룰로일 푸트레신(FP) 농도별 단맛 강도에 대한 관능평가 결과(A)와 FP 농도에 따른 설탕 및 FP 혼합물의 단맛 강도에 대한 관능평가 결과(B)이다.
- 도 5는 사람의 미각수용체가 유도된 세포(hT1R2/hT1R3-expressing cell) 내 칼슘이온농도로 단맛 증가 효과를 평가한 것으로, 단맛 강도는 상대형광단위(Δ RFU)로 비교한 그래프이다(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$, ****: $p < 0.0001$).
- 도 5의 (A) 설탕(sucrose) 또는 페룰로일 푸트레신(FP) 농도별 비교, (B) 농도별 FP 혼합에 의한 설탕의 단맛 변화, (C) 설탕 및 FP의 혼합 농도별 비교, (D) 설탕에 락티솔(lactisole) 및 FP 첨가에 따른 비교를 의미한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0017] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine) 또는 이의 식품학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 감미료의 단맛 증진용 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명의 감미료의 단맛 증진용 조성물에서, 상기 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)은 식물의 2차대사산물인 페놀 화합물 중 하이드록시신남산(hydroxycinnamic acid)의 유도체 계열의 화합물로서, 페룰산(ferulic acid)과 푸트레신(putrescine)이 결합된 형태이며, 화학식은 하기와 같다.

화학식 1



[0019]

[0020]

본 발명의 감미료의 단맛 증진용 조성물에서, 상기 감미료는 구체적으로는 설탕, 꿀, 물엿, 과당, 포도당, 메이플시럽, 아가베시럽, 조청, 올리고당, 아세설팜칼륨, 아스파탐, 수크랄로스, 소르비톨, 사카린, 스테비아, 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 에리스리톨, 알룰로스, 나한과, 커쿨린(curculin), 모넨린(monellin) 또는 글리시리친(glycyrrhizin)일 수 있으며, 더욱 구체적으로는 설탕일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0021]

또한, 본 발명의 감미료의 단맛 증진용 조성물에서, 상기 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)은 감미료 총 중량 기준으로 0.001~10% 농도로 포함될 수 있으며, 더욱 바람직하게는 0.001~1% 농도로 포함될 수 있다.

[0022]

본 발명에서 '식품학적으로 허용가능한 염'은, 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않는, 화합물의 제형을 의미한다. 이러한 염은 당업계에 공지된 다양한 유기 및 무기 반대이온으로부터 유래할 수 있으며, 이러한 염으로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등의 무기산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등의 술폰산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 카프릭산, 이소부탄산, 말론산, 숙신산, 프탈산, 글루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리실산 등과 같은 유기 카본산과 반응시켜 얻어질 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물을 염기와 반응시켜, 암모늄염, 나트륨 또는 칼륨염 등의 알칼리 금속염, 칼슘 또는 마그네슘염 등의 알칼리 토금속염 등의 염, 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(히드록시메틸)메틸아민 등의 유기염기들의 염, 및 아르기닌, 리신 등의 아미노산 염을 형성함으로써 얻어질 수도 있으며, 이에 제한되지 않는다.

[0023]

본 발명은 또한, 감미료와 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합한 혼합물을 유효성분으로 함유하는 단맛 증진용 조성물을 제공한다.

[0024]

본 발명의 단맛 증진용 조성물에서, 상기 감미료 종류 및 혼합량은 전술한 바와 같다.

[0025]

본 발명은 또한, 상기 조성물을 포함하는 단맛 증진용 가공식품을 제공한다.

[0026]

상기 가공식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 조성물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 떡류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 가공식품을 모두 포함한다.

[0027]

본 발명은 또한, 감미료가 포함된 식품에 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합하여 제조하는 것을 특징으로 하는 단맛이 증진된 가공식품의 제조방법.

[0028]

본 발명의 가공식품의 제조방법에서, 상기 감미료는 구체적으로는 설탕, 꿀, 물엿, 과당, 포도당, 메이플시럽, 아가베시럽, 조청, 올리고당, 아세설팜칼륨, 아스파탐, 수크랄로스, 소르비톨, 사카린, 스테비아, 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 에리스리톨, 알룰로스, 나한과, 커쿨린(curculin), 모넨린(monellin) 또는 글리시리친(glycyrrhizin)일 수 있으며, 더욱 구체적으로는 설탕일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0029]

또한, 본 발명의 가공식품의 제조방법에서, 상기 혼합은 감미료가 포함된 식품에 식품 대비 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 0.001~10 중량% 혼합할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 0.001~1% 혼합할 수 있으나,

이에 제한되지 않는다.

[0030] 본 발명은 또한, 상기 방법으로 제조된 단맛이 증진된 가공식품을 제공한다.

[0031] 본 발명은 또한, 감미료가 포함된 식품에 페룰로일 푸트레신(feruloyl putrescine)을 혼합하는 것을 특징으로 하는 가공식품의 단맛을 증진시키는 방법을 제공한다.

[0032] 본 발명의 가공식품의 단맛을 증진시키는 방법에서, 상기 감미료 종류 및 혼합량은 전술한 바와 같다.

[0034] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0036] 실험 방법

[0037] 1. FP(feruloyl putrescine) 합성 및 정제

[0038] 페룰산(ferulic acid) 5.25 g과 N-Boc-1,4-뷰테인디아민(N-Boc-1,4-butanediamine) 4.8 g을 무수 디클로로메탄(anhydrous dichloromethane) 1 L에 녹인 뒤 얼음수조에서 교반하였다. 교반 도중 N,N'-디시클로헥실카르보디이미드(N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide, 8.91 g in 1 L dichloromethane)을 적하하여 혼합하였으며, 혼합이 끝난 후 상온에서 2일간 교반하여 반응하였다. 반응 후 t-부틸 카바메이트(t-butyl carbamate)기를 보호하기 위해 20% TFA(trifluoroacetic acid) 150 mL(in dichloromethane)을 가한 뒤 상온에서 40분간 교반하였으며, 그 뒤 농축기를 사용하여 용매를 완전히 제거하였다. 용매 제거 후 회수한 반응물은 증류수 25 mL에 현탁시킨 뒤 Amberlite XAB-2 resin으로 충전된 오픈칼럼(2×50 cm)으로 분획하였다. 샘플 주입량은 5 mL였으며, 250 mL의 물, 20% 에탄올, 100% 에탄올 순서로 흘려주어 분리하였다. 회수된 20% 에탄올 분획물은 농축 후 100% 에탄올로 용해하였다. FP는 YMC-Triart C18 semi-prep column(10 × 250 mm, S-5 μ m, pore size: 12 nm)가 장착된 HPLC를 사용하여 정제하였다. 이동상은 물(solvent A)과 아세트나이트릴(solvent B)였으며, 분리를 위한 용매 구배는 0분, 0% B; 5분, 0% B; 30분, 30% B; 32분, 100% B; 37분, 100% B; 39분, 0% B였다. 분리된 FP는 PDA 검출기에 의해 320 nm에서 검출되었다. 최종 정제된 FP는 농축 후 동결건조하였으며, UPLC-Q-TOF MS에 의해 불순물 혼합 여부를 판단하였다.

[0040] 2. UPLC-Q-TOF MS 분석에 의한 FP 확인

[0041] 분획물 및 정제한 FP(feruloyl putrescine)는 Acquity UPLC BEH C18 column(2.1 mm×100 mm, 1.7 μ m; Waters)이 장착된 UPLC-Q-TOF MS(ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry)에 의해 확인되었다. 이동상은 0.1% 포름산을 함유하고 있는 물(A)과 0.1% 포름산을 함유하고 있는 아세트나이트릴(B)이고, 유속은 0.35 mL/분, 컬럼온도는 40℃였다. 컬럼에서 통과하여 나온 FP는 Q-TOF MS-positive electrospray ionization(ESI) mode로 분석하였다. Q-TOF MS 데이터는 100~1,000 m/z의 scan range, 0.2 s의 scan time, 3 kV의 capillary voltage, 30 V의 sampling cone voltage, 800 L/h의 탈용매화(desolvation) 유속, 350℃의 탈용매화(desolvation) 온도, 120℃의 source 온도 조건에서 분석하였다. 기기로 분석된 대사산물의 질량 측정의 정확성을 확보하기 위하여 lock mass로 leucine-enkephalin([M+H]⁺=556.2771)을 사용하였고 20 μ L/분의 유속으로 10초 주기마다 주입하였다. MS/MS spectra는 collision energy ramp 10~30 eV 조건하에서 얻었다. FP는 UNIFI version 1.8.2.169(Waters)에 연결된 ChemSpider databases와 METLIN database(metlin.scripps.edu), 그리고 FP 표준물질의 머무름 시간 및 MS/MS spectra와 비교하여 확인하였다.

[0043] 3. 관능평가에 의한 FP의 감미특성 분석

[0044] 관능평가에 의한 FP(feruloyl putrescine)의 감미특성 분석은 8명의 훈련된 패널에 의해 평가되었다. 개별 수크로스(sucrose) 용액 및 FP 용액의 단맛 강도인 경우 15 cm line scale test를 통해 나타내었다. FP 농도 증가에 따른 수크로스 용액의 단맛 증가는 크기 추정 척도법에 의해 평가하였으며, 10% 수크로스 용액의 단맛 강도를 10으로 기준으로 하여 2.5%와 5%의 단맛 강도를 평가한 뒤, 2.5%와 5% 수크로스 용액에 FP를 농도별로(100, 300, 500 μ g/mL) 혼합하여 단맛이 증가하는 정도를 평가하였다.

[0046] **4. hT1R2/hT1R3-expressing cell에 의한 FP의 감미특성 규명**

[0047] hT1R2, hT1R3 및 Gna가 유도된 HEK293T 세포(hT1R2/hT1R3-expressing cell)는 hT1R2, hT1R3 및 Gna에 대한 플라스미드를 Lipofectamine 3000을 사용하여 HEK293T 세포에 형질주입하여 준비되었다. 형질주입 24시간 후, hT1R2, hT1R3 및 Gna가 유도된 세포는 세포반응을 측정하는데 사용하였다. 모든 세포는 37℃에서 10% FBS가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 배양하였다.

[0048] 세포 내 칼슘 유입 측정은 다음과 같이 측정하였다. hT1R2/hT1R3-expressing cell은 96-well black plate에 24~48시간 동안 seeding한 후, 세포를 HEPES 완충액(pH 7.4)으로 세척하였다. 그 후 5 μ M Fluo-3가 함유된 HEPES buffer를 가한 뒤 37℃에서 30분간 배양하였다. 세포를 HEPES 완충액으로 씻어준 후 HEPES 완충액에서 15분 동안 반응하였다. 그 뒤 FP 및 락티솔(hT1R2/hT1R3 길항제)의 존재 또는 부재하에 수크로스를 처리하였다. Fluo-4의 형광 정도는 형광 플레이트 리더(fluorescence plate reader, excitation 494 nm; emission 506 nm)에 의해 3초 간격으로 120초 동안 모니터링하여 측정되었다. 각 웰에 대한 강도는 상대형광단위(Δ RFU)로 나타내었다.

[0050] **실시예 1. FP 합성물 및 분획**

[0051] FP(feruloyl putrescine)는 유기합성에 의해 합성되었으며, 만들어진 FP의 분리 및 정제를 위해 Amberlite XAD-2 resin을 통해 1차 분획하였으며, UPLC-Q-TOF MS 분석을 통해 20% 에탄올로 회수한 분획물에서 FP가 매우 높게 나타남을 확인하였다(도 1).

[0053] **실시예 2. FP 정제 및 동정**

[0054] 합성된 FP(feruloyl putrescine)는 semi-prep HPLC를 사용하여 정제하였으며, 회수한 FP를 농축 및 동결건조하여 매우 희미한 노란색을 띠는 분말을 회수하였다. 정제한 FP의 순도확인 및 동정은 UPLC-Q-TOF MS에 의해 수행되었으며, 크로마토그램(chromatogram), MS 스펙트럼, 그리고 MS fragment가 FP 표준물질과 일치하였다(도 2 및 3).

[0056] **실시예 3. 관능평가에 의한 FP의 감미특성**

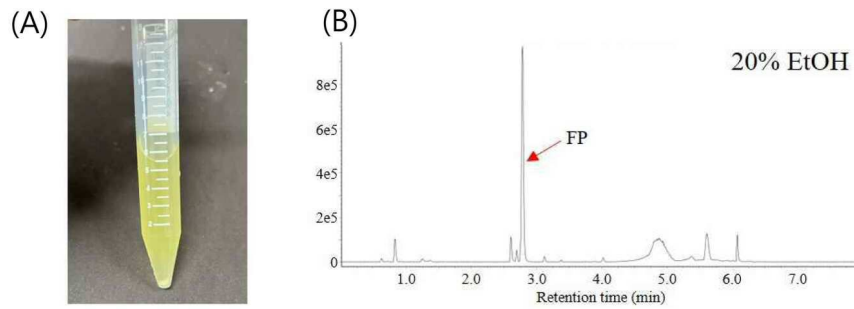
[0057] 합성된 FP(feruloyl putrescine)의 감미특성(관능평가)은 8명의 훈련된 패널에 의해 평가되었으며, 농도범위는 FP의 용해도(5,647 μ g/mL)의 10% 이하 수준 (100~500 ppm 혹은 0.01~0.05%)의 범위에서 수행되었다. 관능평가 결과 FP 자체는 단맛이 거의 없었으나, 설탕과 혼합 시 농도의존적으로 단맛을 크게 증가시키는 것으로 나타났다. 특히, 2.5% 설탕 용액에 500 ppm FP를 혼합하면 단맛이 2배 이상 증가하였으며, 5% 설탕 용액과 비슷한 단맛의 강도를 보였다(도 4).

[0059] **실시예 4. hT1R2/hT1R3-expressing cell에 의한 FP의 감미특성**

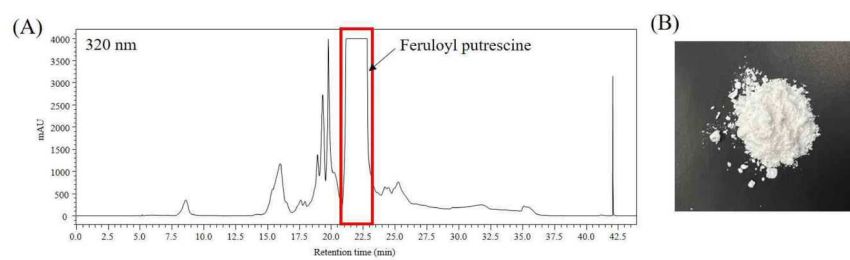
[0060] FP(feruloyl putrescine)의 감미특성을 객관화하기 위해 사람의 미각수용체가 유도된 세포(hT1R2/hT1R3-expressing cell)를 사용하여 FP에 의한 세포질 칼슘이온농도의 변화를 관찰하였다. FP 자체에 의한 미각수용체에서의 칼슘이온 농도의 변화는 없었으며, 설탕에 FP가 혼합되었을 때 농도의존적으로 칼슘이온 농도가 증가하였으며, 이는 실시예 3의 관능평가 결과와 매우 유사하였다. 또한, FP는 단맛억제제인 락티솔(lactisole)에 의한 단맛 억제효과가 없는 것으로 나타났다(도 5).

도면

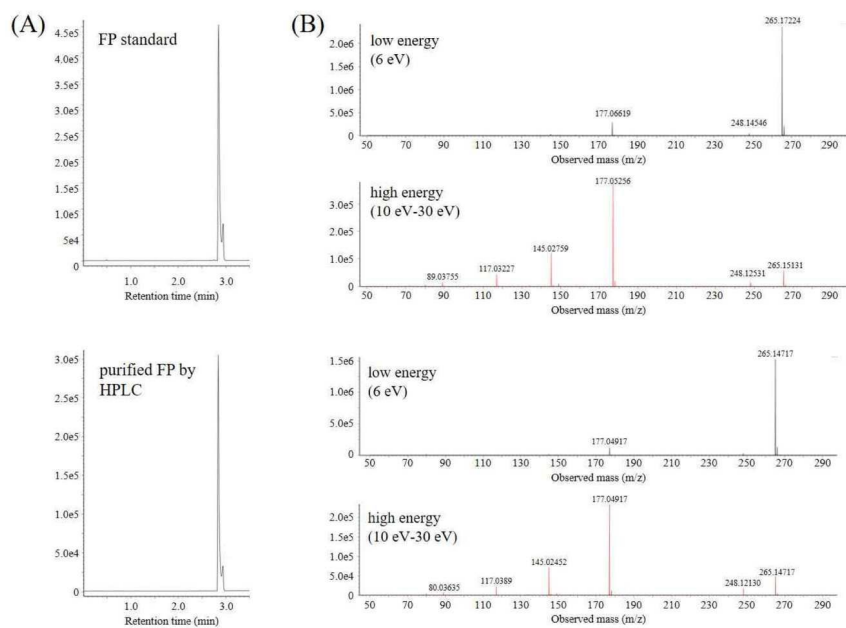
도면1



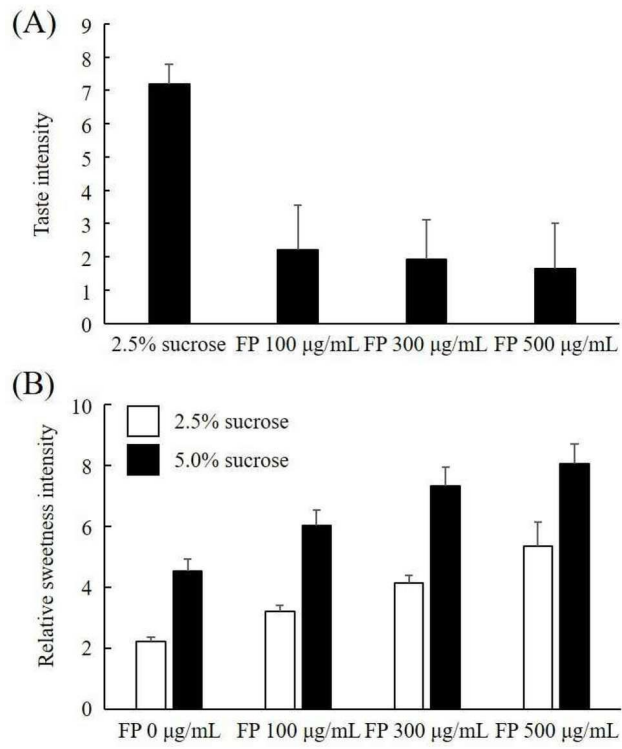
도면2



도면3



도면4



도면5

