명세서

발명의 명칭: 포도당 전이 스테비아를 포함하는 감미질이 개선된 조성물

기술분야

[1] 본 출원은 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료 조성물, 상기 감미료 제조용 조성물, 스테비올 배당체 부산물을 이용한 감미료 제조방법, 및 감미질 개선 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

[3] 현대인의 당 과량 섭취에 따른 질병 우려 및 이에 대한 세계보건기구(WHO) 권고에 따라, 선진국을 중심으로 당류 섭취량을 감소시키기 위한 정책이 활발히 논의 중이며, 시장에서도 다양한 대체 감미료 소재가 지속적으로 개발되고 있다. 관련하여, 최근 상당한 주목을 받는 대체 감미료 소재인 스테비아(stevia)는 천연의 고감미료이면서 설탕의 200-300배의 감미도를 가지고 있으며, 열량을 내지 않고 인체의 부작용도 없는 것으로 보고되어 잠재성을 인정받고 있다.

[4] 상용화된 스테비아 감미료 중 가장 상품성이 우수한 제품은 순도 95 내지 97%의 고순도 리바우디오사이드 A로 알려져 있다. 그러나, 스테비아 고감미료를 고순도로 제조하기 위해서는 결정화 공정이 필요하며, 이후 고형분을 분리할 경우 발생하는 액상 부산물에는 감미 품질이 저조한 성분들이 다량 포함되어 있는 한계를 가지고 있다. 부산물의 성분은 대표적으로 스테비오사이드, 리바우디오사이드 C 등이며, 이러한 부산물은 쓴 맛이 강하여 상품성이 부족하므로 건조하여 저가의 비료 또는 사료로 이용되거나 낮은 가치로 판매되는 실정이다.

[5] 이와 같은 문제를 해결하기 위하여, 레바우디오사이드 A 함량을 인위적으로 증가시키거나, 레바우디오사이드 A 고함량 식물 품종을 육종하여 대량의 레바우디오사이드 A를 생산하는 시도가 있다(미국공개특허 제2009-0214753호). 그러나, 이와 같은 방법도 대부분 효율성이 부족하고 비용 및 품질 측면에서 한계가 있으므로, 스테비아 감미료 생산 효율을 높여 부산물을 감소시키거나 부산물의 상품성을 증진시킬 수 있는 방법의 필요성이 대두되고 있다.

[6]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[7] 본 발명자들은 스테비올 생산 공정에서 발생한 부산물에 락토바실러스 말리 배양액을 조효소액으로 사용할 경우, 특정 조성의 포도당 전이 스테비아 조성물을 제조할 수 있으며, 이와 같은 특정 조성의 포도당 전이 스테비아

조성물이 감미질이 개선된 고부가가치 산물이 될 수 있음을 확인하였다.

[8]

과제 해결 수단

[9] 본 출원의 하나의 목적은 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료 조성물을 제공하는 것이다.

[10] 본 출원의 다른 하나의 목적은 스테비올 배당체 부산물을 포함하는 감미료 제조용 조성물을 제공하는 것이다.

[11] 본 출원의 또 다른 하나의 목적은 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료 조성물 제조방법을 제공하는 것이다.

[12] 본 출원의 또 다른 하나의 목적은 감미질 개선 방법을 제공하는 것이다.

[13] 본 출원의 또 다른 하나의 목적은 감미료 제조 용도에 관한 것이다.

[14] 본 출원의 또 다른 하나의 목적은 감미료 개선 용도에 관한 것이다.

[15]

발명의 효과

[16] 본 출원의 감미질 개선 방법 및 감미료 제조방법을 이용할 경우, 스테비올 생산 공정에서 발생한 부산물을 원료로 하여 특정 조성의 감미료 조성물을 제조할 수 있다. 또한, 이와 같은 특정 조성의 감미료 조성물 및 감미료 제조용 조성물은 감미질이 우수하므로, 식품 또는 사료 등 다양한 산업에서 고부가가치화 방법으로 활용될 수 있다.

[17]

도면의 간단한 설명

[18] 도 1 내지 3은 스테비올 배당체 부산물을 이용하여 제조한, 포도당 전이 스테비올 배당체를 포함하는 조성물의 HPLC 결과를 나타낸 도이다.

[19]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[20] 이하, 본 출원 내용에 대하여 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 출원에서 개시한 일 양태의 설명 및 실시형태는 공통된 사항에 대하여 다른 양태의 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 또한, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 더불어, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 출원의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.

[21]

[22] 본 출원의 일 양태는 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료 조성물을 제공한다. 구체적으로, 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이

스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는, 감미료 조성물을 제공한다.

[23] 상기 감미료 조성물은 상용화된 고순도 리바우디오사이드 A에 비해 감미질이 향상된 것일 수 있으며, 구체적으로, 상기 감미료 조성물은 순도 95% 이상의 리바우디오사이드 A에 비해 감미질이 향상된 것일 수 있고, 보다 구체적으로 상기 감미질 향상은 단맛 개선, 이미 저감 및/또는 이취 저감인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[24] 상기 감미료 조성물은 일반적인 스테비올 배당체 부산물에 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 처리하여 one-pot으로 상기 특정 조성의 감미료 조성물을 제공할 수 있는 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[25] 상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물의 안정성을 높일 수 있는 보조인자를 추가로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 보조인자의 예로는 금속 이온, 금속 염, 부형제, 보존제 등이 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

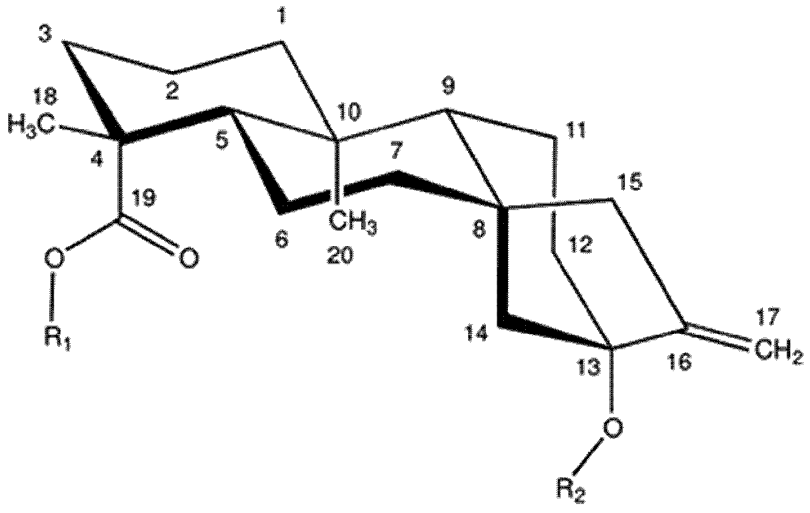
[26]

[27] 상기 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C는 포도당 전이 스테비올 배당체의 일종이며, 스테비올 배당체의 일종인 리바우디오사이드 A, 스테비오사이드, 및 리바우디오사이드 C에 각각 포도당이 전이된 것일 수 있다.

[28] 본 출원에서 "스테비올 배당체"는 천연 감미료의 하나로서, 하기 화학식 1로 표시되는 것일 수 있다.

[29]

[30] [화학식1]



[31]

[32] 상기 화학식 1에서 R_1에는 수소(H)가 결합되어 있거나, 포도당(Glucose)이 β 결합으로 1 개 내지 3 개 결합되어 있을 수 있으며, R_2에는 포도당(Glucose) 내지 자일로스(Xylose) 내지 람노스(Rhamnose)가 β 결합으로 1 개 결합하고 여기에 포도당(Glucose)이 β 결합으로 0 개 내지 2 개 결합되어 있을 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[33] 상기 스테비올 배당체는 스테비오사이드(stevioside), 루부소사이드, 둘코사이드(dulcoside) A, 리바우디오사이드 A(rebaudioside A), 리바우디오사이드 C(rebaudioside C), 리바우디오사이드 D(rebaudioside D), 리바우디오사이드 E(rebaudioside E), 리바우디오사이드 F(rebaudioside F), 및 리바우디오사이드 M(rebaudioside M)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[34] 이와 같은 스테비올 배당체는 포도당 전이 활성을 갖는 조효소액, 상기 포도당 전이 효소, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물, 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물 및 포도당 공여체 존재 하에, 포도당 전이 스테비올 배당체로 변형될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

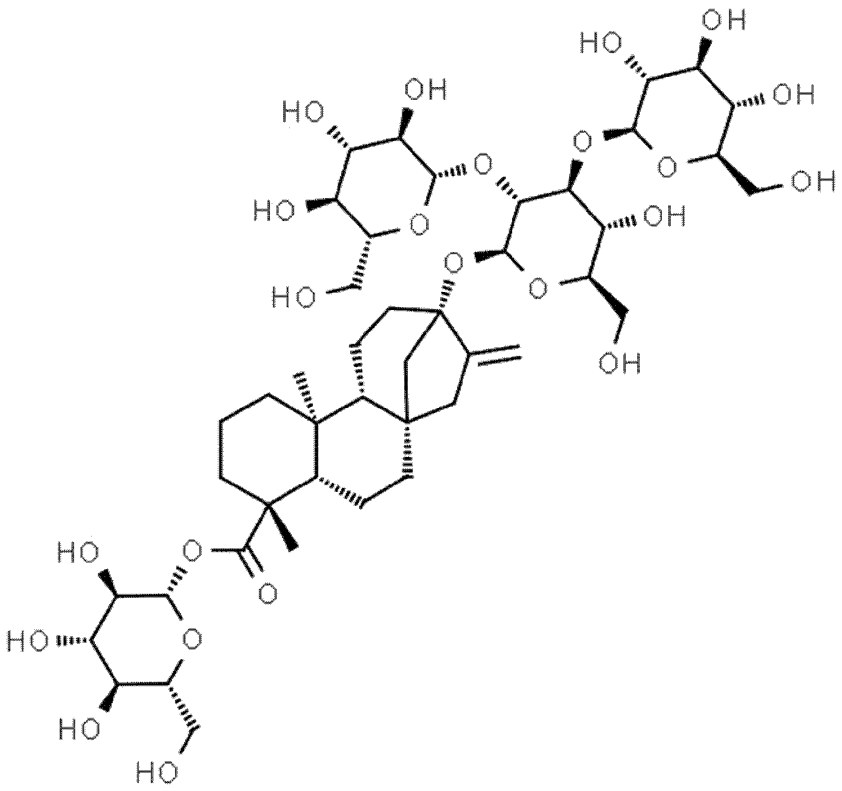
[35] 본 출원에서 "포도당 공여체"는 하나 이상의 포도당이 스테비올 배당체에 전이되도록 포도당 전이 효소의 존재 하에 반응될 수 있는, 포도당의 올리고머, 포도당의 중합체 및 이의 사이클릭 형태 중 임의의 것일 수 있으며, 구체적으로 설탕일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[36]

[37] 본 출원에서 "리바우디오사이드 A", "스테비오사이드", 및 "리바우디오사이드 C"는 스테비올 배당체의 일종이므로 상기 화학식 1 구조의 특징을 공유할 수 있다. 구체적으로, 상기 리바우디오사이드 A는 하기 화학식 2로 표시되는 것일 수 있고, 상기 스테비오사이드는 하기 화학식 3으로 표시되는 것일 수 있으며, 상기 리바우디오사이드 C는 하기 화학식 4 또는 화학식 5로 표시되는 것일 수 있다.

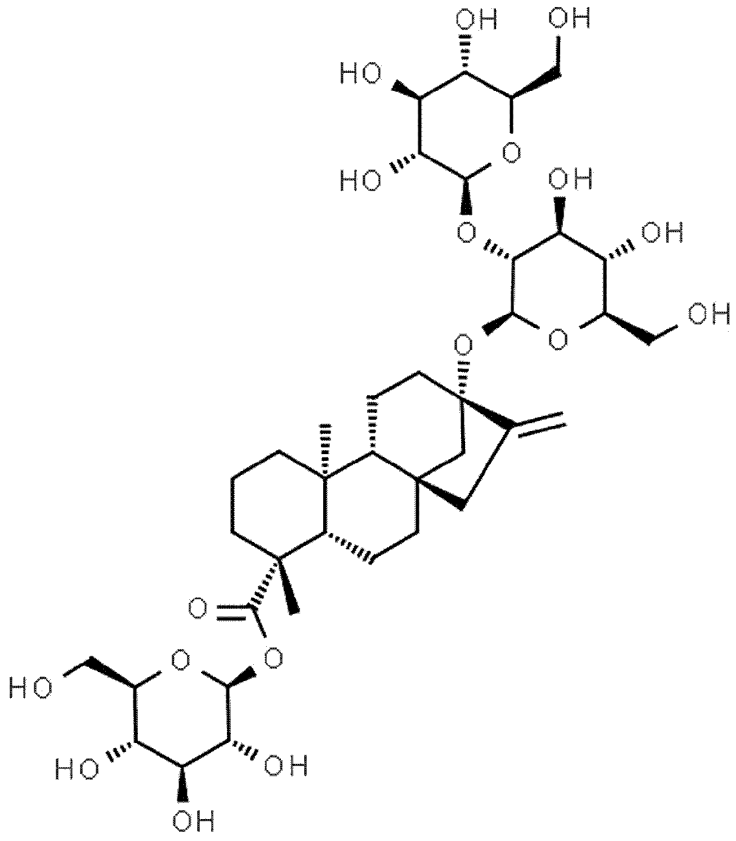
[38]

[39] [화학식2]



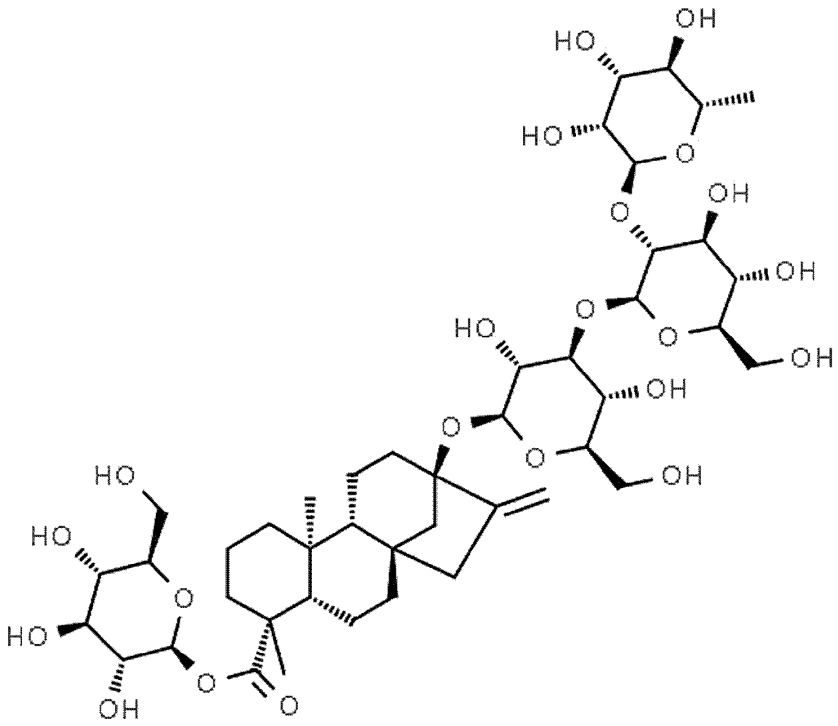
[40]

[41] [화학식3]



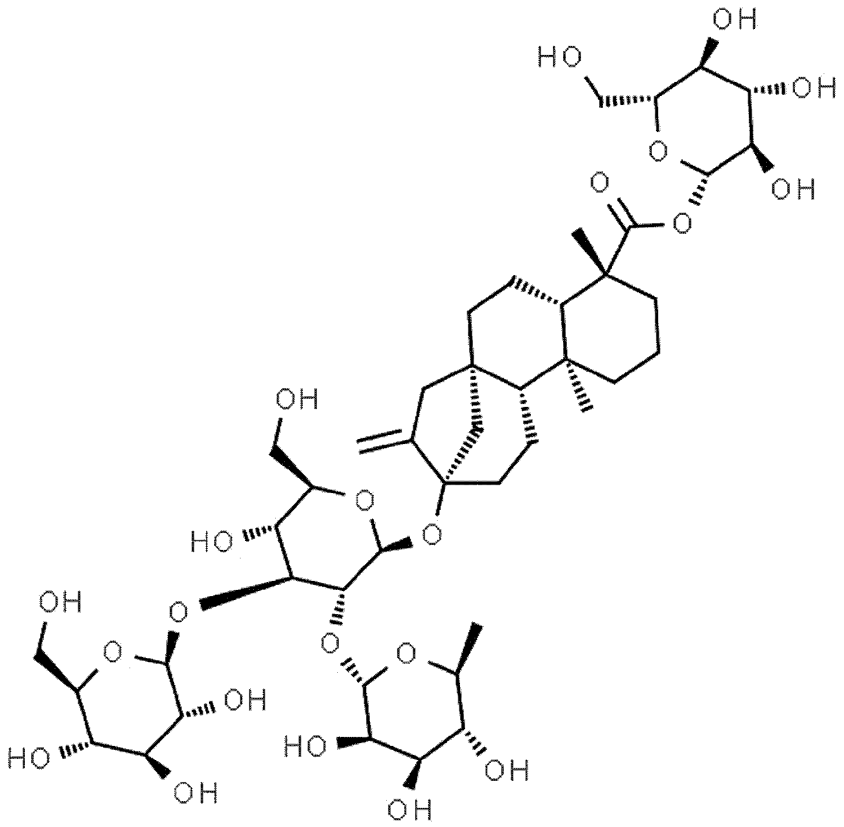
[42]

[43] [화학식4]



[44]

[45] [화학식5]



[46]

[47] 본 출원에서 "포도당 전이 스테비올 배당체(glucosylated steviol glycoside)"는 상기 스테비올 배당체에 포도당이 부가된 것일 수 있다.

[48] 상기 포도당 전이 스테비올 배당체의 19-OH(상기 화학식 1에서 R_1이 H일 때, C_{19}에 결합된 -OH) 위치에 α-결합을 통해 포도당이 1개 내지 4개가 부가된 형태일 수 있고, 보다 구체적으로는 스테비올 배당체의 19-OH 위치에 결합된 포도당에 α-(1,6) 결합을 통해 포도당이 1 개 내지 4개 부가된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

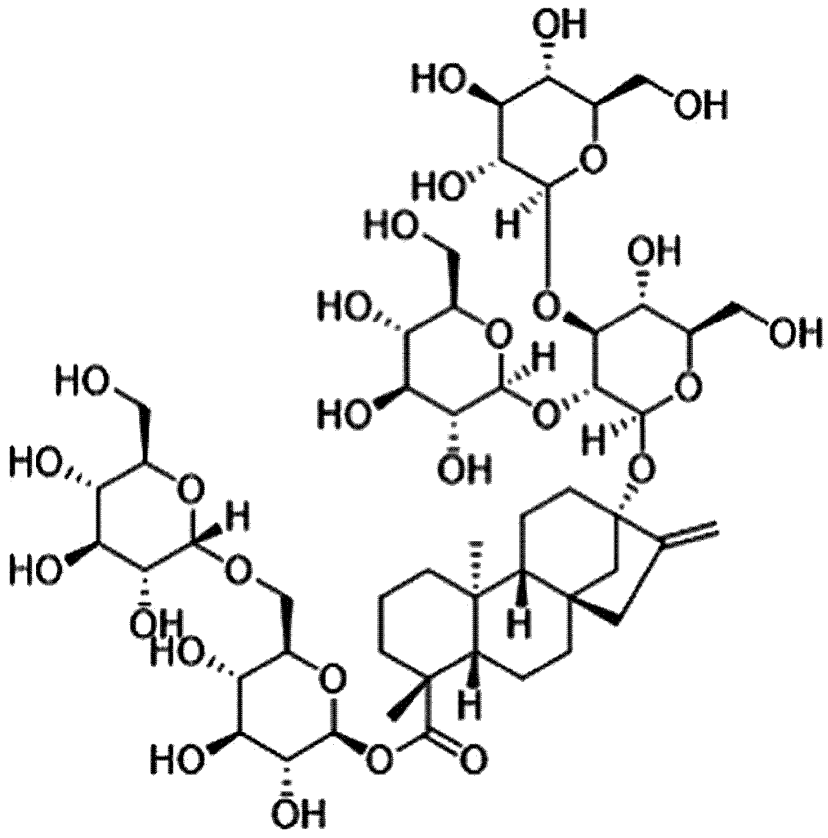
[49] 상기 포도당 전이 리바우디오사이드 A는 예를 들어 19번의 탄소 위치에 결합한 포도당의 6번 위치에 α-(1,6) 결합을 통하여 포도당이 부가된 형태일 수 있으며, 화학식 6과 같이 13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]ent-kaur-16-en-19-oic acid 6-O-α-D-glucopyranose-β-D-glucopyranosyl ester일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[50] 상기 포도당 전이 스테비오사이드는 예를 들어 19번의 탄소 위치에 결합한 포도당의 6번 위치에 α-(1,6) 결합을 통하여 포도당이 부가된 형태일 수 있으며,

보다 구체적으로 화학식 7의
13-[(2-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]ent-kaur-16-en-19-oic acid 6-O-α-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl ester일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

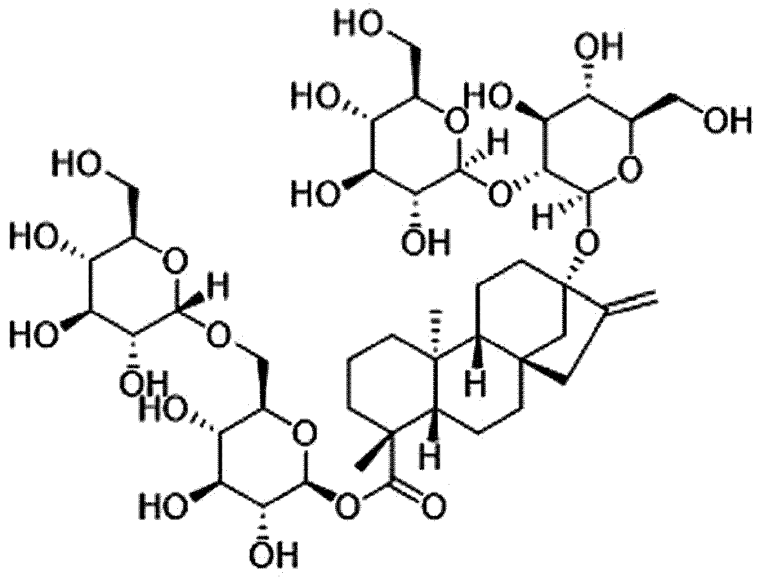
[51]

[52] [화학식6]



[53]

[54] [화학식7]



[55]

[56] 상기 포도당 전이 스테비올 배당체는 설탕과 스테비올 배당체를 기질로 하여, 포도당 전이 효소, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물에 의해, 스테비올 배당체에 포도당이 부가된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[57] 상기 "포도당 전이 리바우디오사이드 A"는 리바우디오사이드 A에 포도당이 부가된 것일 수 있고, "포도당 전이 스테비오사이드"는 스테비오사이드에 포도당이 부가된 것일 수 있으며, "포도당 전이 리바우디오사이드 C"는 리바우디오사이드 C에 포도당이 부가된 것일 수 있다.

[58] 상기 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C는, 19-OH 위치에 결합된 포도당을 통하여 포도당이 α-(1,6) 결합에 의해 연결되어 부가된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[59] 상기 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C는, 포도당을 1 내지 4개 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[60]

[61] 구체적으로, 상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 6 내지 30 중량부, 7 내지 30 중량부, 8 내지 30 중량부, 9 내지 30 중량부, 10 내지 30 중량부, 11 내지 30 중량부, 11.33 내지 30 중량부, 12 내지 30 중량부, 13 내지 30 중량부, 13.09 내지 30 중량부, 14 내지 30 중량부, 14.4 내지 30 중량부, 5 내지 28 중량부, 6 내지 28

중량부, 7 내지 28 중량부, 8 내지 28 중량부, 9 내지 28 중량부, 10 내지 28 중량부, 11 내지 28 중량부, 11.33 내지 28 중량부, 12 내지 28 중량부, 13 내지 28 중량부, 13.09 내지 28 중량부, 14 내지 28 중량부, 14.4 내지 28 중량부, 5 내지 20 중량부, 6 내지 20 중량부, 7 내지 20 중량부, 8 내지 20 중량부, 9 내지 20 중량부, 10 내지 20 중량부, 11 내지 20 중량부, 11.33 내지 20 중량부, 12 내지 20 중량부, 13 내지 20 중량부, 13.09 내지 20 중량부, 14 내지 20 중량부, 14.4 내지 20 중량부, 5 내지 15 중량부, 6 내지 15 중량부, 7 내지 15 중량부, 8 내지 15 중량부, 9 내지 15 중량부, 10 내지 15 중량부, 5 내지 15 중량부, 6 내지 15 중량부, 7 내지 15 중량부, 8 내지 15 중량부, 9 내지 15 중량부, 10 내지 15 중량부, 11 내지 15 중량부, 11.33 내지 15 중량부, 12 내지 15 중량부, 13 내지 15 중량부, 13.09 내지 15 중량부, 5 내지 14.4 중량부, 6 내지 14.4 중량부, 7 내지 14.4 중량부, 8 내지 14.4 중량부, 9 내지 14.4 중량부, 10 내지 14.4 중량부, 11 내지 14.4 중량부, 11.33 내지 14.4 중량부, 12 내지 14.4 중량부, 13 내지 14.4 중량부, 13.09 내지 14.4 중량부, 5 내지 13.09 중량부, 6 내지 13.09 중량부, 7 내지 13.09 중량부, 8 내지 13.09 중량부, 9 내지 13.09 중량부, 10 내지 13.09 중량부, 11 내지 13.09 중량부, 11.33 내지 13.09 중량부, 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[62] 상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 6 내지 30 중량부, 7 내지 30 중량부, 8 내지 30 중량부, 9 내지 30 중량부, 10 내지 30 중량부, 11 내지 30 중량부, 11.41 내지 30 중량부, 12 내지 30 중량부, 13 내지 30 중량부, 14 내지 30 중량부, 15 내지 30 중량부, 16 내지 30 중량부, 17 내지 30 중량부, 18 내지 30 중량부, 19 내지 30 중량부, 20 내지 30 중량부, 20.12 내지 30 중량부, 21 내지 30 중량부, 22 내지 30 중량부, 23 내지 30 중량부, 24 내지 30 중량부, 25 내지 30 중량부, 26 내지 30 중량부, 26.6 내지 30 중량부, 5 내지 27 중량부, 6 내지 27 중량부, 7 내지 27 중량부, 8 내지 27 중량부, 9 내지 27 중량부, 10 내지 27 중량부, 11 내지 27 중량부, 11.41 내지 27 중량부, 12 내지 27 중량부, 13 내지 27 중량부, 14 내지 27 중량부, 15 내지 27 중량부, 16 내지 27 중량부, 17 내지 27 중량부, 18 내지 27 중량부, 19 내지 27 중량부, 20 내지 27 중량부, 20.12 내지 27 중량부, 5 내지 26.6 중량부, 6 내지 26.6 중량부, 7 내지 26.6 중량부, 8 내지 26.6 중량부, 9 내지 26.6 중량부, 10 내지 26.6 중량부, 11 내지 26.6 중량부, 11.41 내지 26.6 중량부, 12 내지 26.6 중량부, 13 내지 26.6 중량부, 14 내지 26.6 중량부, 15 내지 26.6 중량부, 16 내지 26.6 중량부, 17 내지 26.6 중량부, 18 내지 26.6 중량부, 19 내지 26.6 중량부, 20 내지 26.6 중량부, 20.12 내지 26.6 중량부, 5 내지 25 중량부, 6 내지 25 중량부, 7 내지 25 중량부, 8 내지 25 중량부, 9 내지 25 중량부, 10 내지 25 중량부, 11 내지 25 중량부, 11.41 내지 25 중량부, 12 내지 25 중량부, 13 내지 25 중량부, 14 내지 25 중량부, 15 내지 25 중량부, 16 내지 25 중량부, 17 내지 25 중량부, 18 내지 25 중량부, 19 내지 25 중량부, 20 내지 25 중량부, 5 내지 20.12 중량부, 6 내지 20.12 중량부, 7 내지 20.12 중량부, 8 내지 20.12 중량부, 9 내지 20.12

중량부, 10 내지 20.12 중량부, 11 내지 20.12 중량부, 11.41 내지 20.12 중량부, 12 내지 20.12 중량부, 13 내지 20.12 중량부, 14 내지 20.12 중량부, 15 내지 20.12 중량부, 16 내지 20.12 중량부, 17 내지 20.12 중량부, 18 내지 20.12 중량부, 19 내지 20.12 중량부, 20 내지 20.12 중량부 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[63] 상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부, 6 내지 20 중량부, 7 내지 20 중량부, 7.12 내지 20 중량부, 8 내지 20 중량부, 9 내지 20 중량부, 9.26 내지 20 중량부, 10 내지 20 중량부, 10.24 내지 20 중량부, 5 내지 15 중량부, 6 내지 15 중량부, 7 내지 15 중량부, 7.12 내지 15 중량부, 8 내지 15 중량부, 9 내지 15 중량부, 9.26 내지 15 중량부, 10 내지 15 중량부, 10.24 내지 15 중량부, 5 내지 11 중량부, 6 내지 11 중량부, 7 내지 11 중량부, 7.12 내지 11 중량부, 8 내지 11 중량부, 9 내지 11 중량부, 9.26 내지 11 중량부, 10 내지 11 중량부, 10.24 내지 11 중량부, 5 내지 10.24 중량부, 6 내지 10.24 중량부, 7 내지 10.24 중량부, 7.12 내지 10.24 중량부, 8 내지 10.24 중량부, 9 내지 10.24 중량부, 9.26 내지 10.24 중량부, 10 내지 10.24 중량부, 5 내지 10 중량부, 6 내지 10 중량부, 7 내지 10 중량부, 7.12 내지 10 중량부, 8 내지 10 중량부, 9 내지 10 중량부, 9.26 내지 10 중량부, 5 내지 9.26 중량부, 6 내지 9.26 중량부, 7 내지 9.26 중량부, 7.12 내지 9.26 중량부, 8 내지 9.26 중량부, 9 내지 9.26 중량부 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[64]

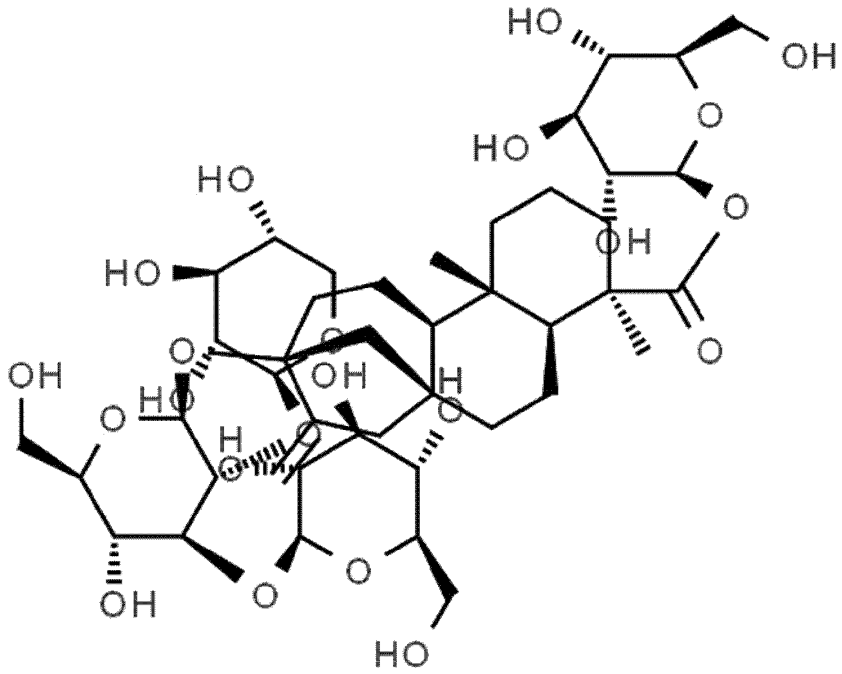
[65] 하나의 구체예에서, 상기 감미료 조성물은 포도당 전이 리바우디오사이드 F를, 포도당 전이 둘코사이드 A (Dulcoside A), 포도당 전이 루부소사이드 (Rubusoside) 더 포함하는 것인, 감미료 조성물일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[66] 본 출원에서 "포도당 전이 리바우디오사이드 F"는 포도당 전이 스테비올 배당체의 일종이며, "리바우디오사이드 F"에 포도당이 부가된 것일 수 있다.

[67] 본 출원에서 "리바우디오사이드 F"는 스테비올 배당체의 일종이며, 화학식 1 구조의 특징을 공유할 수 있고, 하기 화학식 8로 표시되는 것일 수 있다.

[68]

[69] [화학식8]



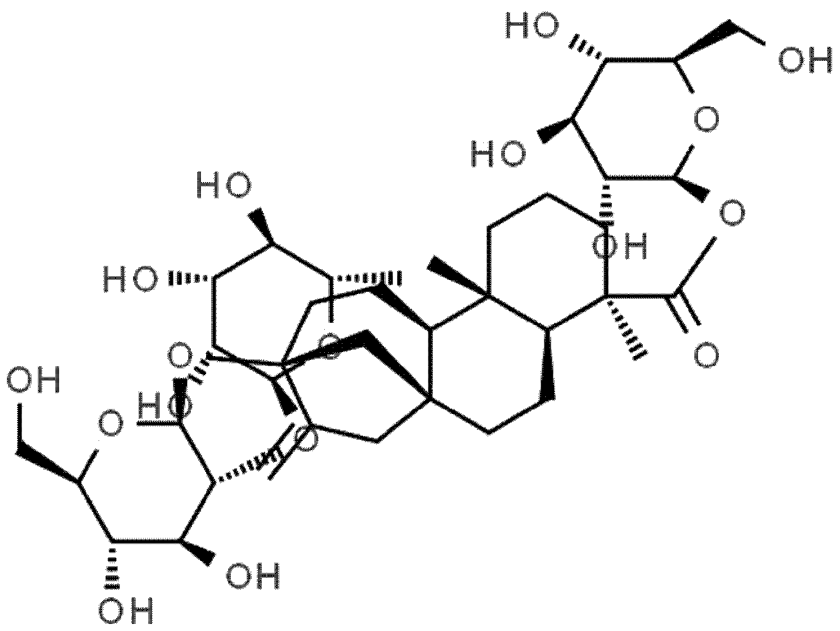
[70]

[71] 본 출원에서 "포도당 전이 둘코사이드 A"는 포도당 전이 스테비올 배당체의 일종이며, "둘코사이드 A"에 포도당이 부가된 것일 수 있다.

[72] 본 출원에서 "둘코사이드 A"는 스테비올 배당체의 일종이며, 화학식 1 구조의 특징을 공유할 수 있고, 하기 화학식 9로 표시되는 것일 수 있다.

[73]

[74] [화학식9]



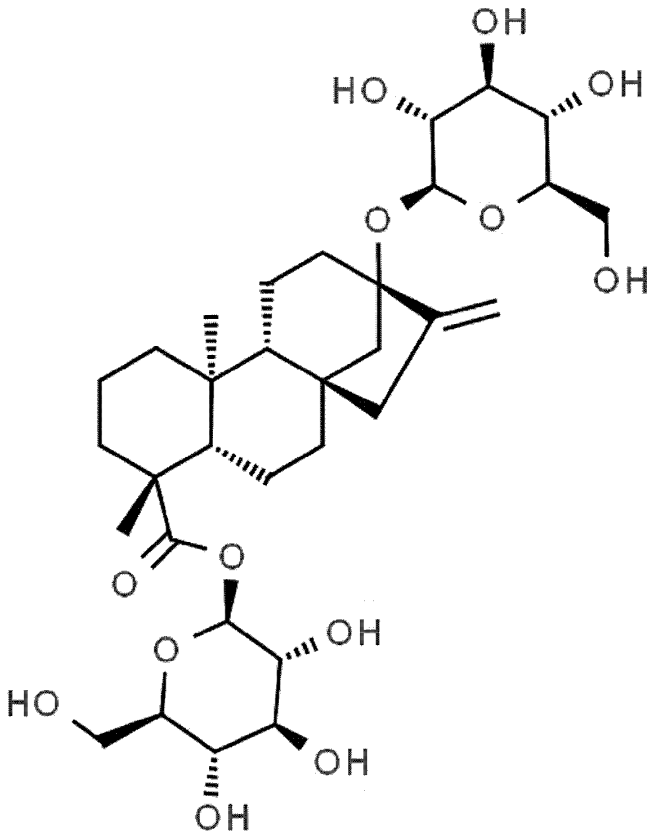
[75]

[76] 본 출원에서 "포도당 전이 루부소사이드"는 포도당 전이 스테비올 배당체의 일종이며, "루부소사이드"에 포도당이 부가된 것일 수 있다.

[77] 본 출원에서 "루부소사이드"는 스테비올 배당체의 일종이며, 화학식 1 구조의 특징을 공유할 수 있고, 하기 화학식 10으로 표시되는 것일 수 있다.

[78]

[79] [화학식10]



[80]

[81] 상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 F 0.5 내지 3 중량부, 포도당 전이 둘코사이드 A 0.5 내지 3 중량부, 및 포도당 전이 루부소사이드 0.5 내지 5 중량부로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 추가로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[82] 구체적으로, 상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 F를 0.5 내지 3 중량부, 0.5 내지 2 중량부, 0.5 내지 1.5 중량부, 1 내지 3 중량부, 1 내지 2 중량부, 1.03 내지 1.5 중량부, 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[83] 상기 감미료 조성물은 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 둘코사이드 A를 0.5 내지 3 중량부, 0.5 내지 2 중량부, 0.5 내지 1.93 중량부, 0.5 내지 1.23 중량부, 1 내지 3 중량부, 1 내지 2 중량부, 1 내지 1.93 중량부, 1 내지 1.23 중량부, 1.08 내지 3 중량부, 1.08 내지 1.93 중량부, 1.08 내지 1.23 중량부, 1.23 내지 1.93 중량부 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[84] 상기 감미료 조성물은 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이

루부소사이드를 0.5 내지 5 중량부, 0.5 내지 4 중량부, 0.5 내지 3 중량부, 0.5 내지 2.42 중량부, 0.5 내지 1.52 중량부, 1 내지 5 중량부, 1 내지 4 중량부, 1 내지 3 중량부, 1 내지 2.42 중량부, 1 내지 1.52 중량부, 1.27 내지 5 중량부, 1.27 내지 4 중량부, 1.27 내지 3 중량부, 1.27 내지 2.42 중량부, 1.27 내지 1.52 중량부, 1.52 내지 5 중량부, 1.52 내지 4 중량부, 1.52 내지 3 중량부, 1.52 내지 2.42 중량부 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[85] 상기 "스테비올 배당체" 및 "포도당 전이 스테비올 배당체"는 전술한 바와 같다.

[86]

[87] 상기 포도당 전이 스테비올 배당체, 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 포도당 전이 리바우디오사이드 C, 또는 이를 포함하는 감미료 조성물은 스테비오 배당체 부산물로부터 제조된 것일 수 있다.

[88] 상기 포도당 전이 스테비올 배당체, 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 포도당 전이 리바우디오사이드 C, 또는 감미료 조성물은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물, 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 이용하여 제조한 것일 수 있으며, 구체적으로, 스테비아 제조 시 발생하는 스테비오 배당체 부산물에 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물, 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 처리하여 제조한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[89] 상기 락토바실러스 말리 배양액을 사용하는 방법은 한국 공개 특허 제10-2019-0072471호에 개시되어 있으며, 상기 특허는 전체가 본원의 참조로 사용된다. 상기 락토바실러스 말리 배양액은 조효소로 사용되는 것일 수 있고, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소가 포함된 것일 수 있으며, 상기 서열번호 1의 아미노산 서열은 상기 락토바실러스 말리에서 유래한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[90]

[91] 본 출원에서 "스테비올 배당체 부산물"은 스테비아 제조 과정에서 발생하는 부산물일 수 있으며, 상기 감미료 조성물을 제조할 수 있다면 종류, 구성, 함량, 및 제조사 등에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 스테비올 배당체 부산물은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물 처리에 의해 상기 감미료 조성물을 제조할 수 있는 것이라면 그 종류에 제한되는 것은 아니다.

[92]

[93] 구체적으로, 상기 스테비올 배당체 부산물은 스테비오사이드, 루부소사이드, 둘코사이드 A, 리바우디오사이드 A, 리바우디오사이드 C, 리바우디오사이드D,

리바우디오사이드 E, 리바우디오사이드 F, 및 리바우디오사이드 M으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[94] 상기 스테비올 배당체 부산물은 결정화된 리바우디오사이드 A가 분리된 액상 부산물일 수 있으며, 부산물 100 중량부 기준으로 리바우디오사이드 A를 0 초과 30 이하 중량부로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 스테비올 배당체 부산물은 부산물 100 중량부 기준으로 스테비오사이드를 0 초과 45 이하 중량부, 0 초과 43.1 이하 중량부, 0 초과 32 이하 중량부 또는 부산물 100 중량부 기준으로 리바우디오사이드 C를 0 초과 12 이하 중량부 또는 0 초과 11 이하 중량부를 추가로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[95] 상기 스테비올 배당체 부산물은 스테비아 제조과정에서 발생한 부산물로서, 리바우디오사이드 A, 스테비오사이드, 및 리바우디오사이드 C를 1.5 내지 2.5 : 1.5 내지 6 : 1의 중량비로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[96]

[97] 본 출원에서 "포도당 전이 효소"는 포도당 공여체(donor)에서 포도당 수용체(acceptor)로 포도당을 전이시키는 효소를 의미한다. 구체적으로, 상기 포도당 전이 효소는 포도당 공여체에서 스테비올 배당체로 포도당을 전이시켜 포도당 전이 스테비올 배당체를 생산하는 용도를 갖는 것일 수 있다.

[98] 상기 포도당 전이 효소는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 효소일 수 있다. 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소는 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속 유래의 효소일 수 있으며, 구체적으로 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*) 유래의 효소일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[99] 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소는 스테비올 배당체로부터 포도당 전이 스테비올 배당체로의 전환율이 50 % 이상일 수 있으며, 구체적으로 60 % 이상, 보다 구체적으로 70 % 이상, 더욱 구체적으로 80 % 이상, 특히 구체적으로 90 % 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[100] 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물, 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리의 배양물이 설탕과 스테비올 배당체를 기질로 하여 설탕을 포도당으로 분해 및 스테비올 배당체에 선택적으로 1개 내지 4개의 포도당을 α-결합으로 연결시킬 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[101] 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물, 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리의 배양물이 설탕과 스테비아 부산물을 기질로 하여, 상기 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료 조성물로서, 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이

리바우디오사이드 A 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C 5 내지 20 중량부를 포함하는, 감미료 조성물을 제조할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[102] 또한, 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물, 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리의 배양물이 설탕과 스테비아 부산물을 기질로 하여, 상기 감미료 조성물에서 포도당 전이 리바우디오사이드 F를 더 포함하는 것인, 감미료 조성물을 제조할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[103]

[104] 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 효소는 서열번호 1의 아미노산 서열을 가지는 효소, 서열번호 1의 아미노산 서열로 필수적으로 구성되는 효소, 또는 서열번호 1의 아미노산 서열로 구성되는 효소와 혼용되어 사용될 수 있다.

[105] 본 출원에서 포도당 전이 효소는 비록 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 효소라고 정의하였지만, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 1의 아미노산 서열로 필수적으로 구성되거나, 또는 서열번호 1의 아미노산 서열로 구성되는 효소와 서로 동일 또는 상응하는 활성을 가지는 경우라면 본 출원의 포도당 전이 효소에 해당됨은 당업자에게 자명하다. 예를 들어, 본 출원의 포도당 전이 효소는 서열번호 1의 아미노산 서열 또는 이와 80 %, 90 %, 95 %, 또는 97 % 이상의 상동성 또는 동일성을 갖는 아미노산 서열로 구성되는 단백질일 수 있다.

[106] 즉, 본 출원에서 "특정 서열번호의 아미노산 서열을 포함하는 효소, 폴리펩티드 또는 단백질", "특정 서열번호의 아미노산 서열로 이루어진 효소, 폴리펩티드 또는 단백질"이라고 기재되어 있다 하더라도, 해당 서열번호의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드와 동일 혹은 상응하는 활성을 가지는 경우라면, 일부 서열이 결실, 변형, 치환 또는 부가된 아미노산 서열을 갖는 단백질도 본 출원에서 사용될 수 있음은 자명하다. 예를 들어, "서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드"는, 이와 동일 혹은 상응하는 활성을 가지는 경우라면 "서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드"에 속할 수 있음은 자명하다.

[107]

[108] 본 출원에서 용어 "상동성(homology)" 또는 "동일성(identity)"은 두 개의 주어진 아미노산 서열 또는 염기 서열과 관련된 정도를 의미하며 백분율로 표시될 수 있다. 용어 상동성 및 동일성은 종종 상호교환적으로 이용될 수 있다.

[109] 보존된 (conserved) 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 서열 상동성 또는 동일성은 표준 배열 알고리즘에 의해 결정되며, 사용되는 프로그램에 의해 확립된 디폴트 갭 페널티가 함께 이용될 수 있다. 실질적으로, 상동성을 갖거나 (homologous) 또는 동일한 (identical) 서열은 일반적으로 서열 전체 또는 전체-길이의 적어도 약 50 %, 60 %, 70 %, 80 % 또는 90 %를 따라 중간 또는 높은

엄격한 조건(stringent conditions)에서 하이브리드할 수 있다. 하이브리드화는 폴리뉴클레오티드에서 코돈 대신 축퇴 코돈을 함유하는 폴리뉴클레오티드 역시 포함됨이 자명하다.

[110] 임의의 두 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열이 상동성, 유사성 또는 동일성을 갖는지 여부는, 예를 들어, Pearson et al (1988) [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85]: 2444에서와 같은 디폴트 파라미터를 이용하여 "FASTA" 프로그램과 같은 공지의 컴퓨터 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있다. 또는, EMBOSS 패키지의 니들만 프로그램(EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends Genet. 16: 276-277)(버전 5.0.0 또는 이후 버전)에서 수행되는 바와 같은, 니들만-운치(Needleman-Wunsch) 알고리즘(Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453)이 사용되어 결정될 수 있다(GCG 프로그램 패키지 (Devereux, J., et al, Nucleic Acids Research 12: 387 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul, [S.] [F.,] [ET AL, J MOLEC BIOL 215]: 403 (1990); Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, [ED.,] Academic Press, San Diego,1994, 및 [CARILLO ETA/.](1988) SIAM J Applied Math 48: 1073을 포함한다). 예를 들어, 국립 생물공학 정보 데이터베이스 센터의 BLAST, 또는 ClustalW를 이용하여 상동성, 유사성 또는 동일성을 결정할 수 있다.

[111] 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 상동성, 유사성 또는 동일성은, 예를 들어, Smith and Waterman, Adv. Appl. Math (1981) 2:482 에 공지된 대로, 예를 들면, Needleman et al. (1970), J Mol Biol. 48:443과 같은 GAP 컴퓨터 프로그램을 이용하여 서열 정보를 비교함으로써 결정될 수 있다. 요약하면, GAP 프로그램은 두 서열 중 더 짧은 것에서의 기호의 전체 수로, 유사한 배열된 기호(즉, 뉴클레오티드 또는 아미노산)의 수를 나눈 값으로 정의할 수 있다. GAP 프로그램을 위한 디폴트 파라미터는 (1) 이진법 비교 매트릭스(동일성을 위해 1 그리고 비-동일성을 위해 0의 값을 함유함) 및 Schwartz and Dayhoff, eds., Atlas Of Protein Sequence And Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)에 의해 개시된 대로, Gribskov et al(1986) Nucl. Acids Res. 14: 6745의 가중된 비교 매트릭스 (또는 EDNAFULL (NCBI NUC4.4의 EMBOSS 버전) 치환 매트릭스); (2) 각 갭을 위한 3.0의 페널티 및 각 갭에서 각 기호를 위한 추가의 0.10 페널티 (또는 갭 개방 패널티 10, 갭 연장 패널티 0.5); 및 (3) 말단 갭을 위한 무 페널티를 포함할 수 있다.

[112]

[113] 본 출원의 다른 하나의 양태는, 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 포함하는 감미료 제조용 조성물을 제공한다. 구체적으로, 상기 감미료는 상기 감미료 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이

리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는 것인, 감미료 제조용 조성물을을 제공한다.

[114] 본 출원의 감미료 제조용 조성물은 포도당의 스테비올 배당체로의 전이 활성을 유리하게 하거나, 상기 감미료 제조용 조성물의 안정성을 높일 수 있는 보조인자를 추가로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 보조인자의 예로는 금속 이온, 금속 염, 부형제, 보존제 등이 있으나 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.

[115] 상기 감미료 제조용 조성물은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[116] 상기 "스테비올 배당체 부산물", "포도당 전이 리바우디오사이드 A", "포도당 전이 스테비오사이드", 및 "포도당 전이 리바우디오사이드 C"는 전술한 바와 같다.

[117]

[118] 본 출원의 또 다른 하나의 양태는, 포도당 공여체 존재 하에, 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물, 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 반응시키는 단계를 포함하는, 감미료 조성물 제조방법을 제공한다. 구체적으로, 상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는 것인, 제조방법을 제공한다.

[119] 하나의 구체예에서, 상기 스테비올 배당체 부산물은 스테비오사이드, 루부소사이드, 둘코사이드 A, 리바우디오사이드 A, 리바우디오사이드 C, 리바우디오사이드D, 리바우디오사이드 E, 리바우디오사이드 F, 및 리바우디오사이드 M으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[120] 상기 스테비올 배당체 부산물은 스테비아 제조과정에서 발생한 부산물로서, 리바우디오사이드 A, 스테비오사이드, 및 리바우디오사이드 C를 1.5 내지 2.5 : 1.5 내지 6 : 1의 중량비로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[121] 상기 "포도당 공여체", "스테비올 배당체 부산물", "포도당 전이 리바우디오사이드 A", "포도당 전이 스테비오사이드", "포도당 전이 리바우디오사이드 C", 및 "감미료 조성물"은 전술한 바와 같다.

[122]

[123] 본 출원의 또 다른 하나의 양태는, 포도당 공여체 존재 하에, 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의

배양물을 반응시키는 단계를 포함하는, 감미질 개선 방법을 제공한다.
구체적으로, 상기 감미질이 개선된 감미료는 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하며, 상기 감미료 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 7 내지 20 중량부로 포함하는 것인, 감미질 개선 방법을 제공한다.

[124] 상기 "포도당 공여체", "스테비올 배당체 부산물", "포도당 전이 효소", "포도당 전이 리바우디오사이드 A", "포도당 전이 스테비오사이드", 및 "포도당 전이 리바우디오사이드 C"는 전술한 바와 같다.

[125]

[126]

[127] 본 출원의 또 다른 하나의 양태는, 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물의 감미료 조성물 제조 용도를 제공한다.

[128] 상기 "스테비올 배당체 부산물", "포도당 전이 효소", “감미료 조성물” 등은 전술한 바와 같다.

[129]

[130] 본 출원의 또 다른 하나의 양태는, 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물의 감미질 개선 용도를 제공한다.

[131] 상기 "스테비올 배당체 부산물", "포도당 전이 효소", “감미료 조성물” 등은 전술한 바와 같다.

[132]

발명의 실시를 위한 형태

[133] 이하 본 출원을 실시예에 의해 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 출원을 예시적으로 설명하기 위한 것으로, 본 출원의 범위가 이들 실시예에 제한되는 것은 아니다.

[134]

[135] **제조예 1: 포도당 전이 스테비올 배당체를 포함하는 감미료 조성물 제조**

[136] 중국의 스테비올 배당체 제조사로부터 스테비올 배당체 생산 공정 부산물을 확보하여 감미료 조성물 제조를 위한 원료로 사용하였다. 구체적으로, 확보한 공정 부산물은 리바우디오사이드 A(Reb A), 스테비오사이드(STV), 리바우디오사이드 C(Reb C), 및 기타 스테비올 배당체(리바우디오사이드 F, 둘코사이드 A (Dulcoside A), 및 루부소사이드 (Rubusoside))를 포함하는 것을

확인하였다. 공정 부산물을 이용하여 감미료 조성물을 제조하기 위해, 유산균인 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*) 배양액을 조효소액으로 사용하여, 조효소액의 당전이 활성으로 인해 설탕으로부터 포도당을 스테비올 배당체에 부가하는 방법으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료 조성물을 제조하였다. 각각의 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C의 관련 구조는 화학식 2 내지 7에 기재되었으며, 구체적인 효소 반응 조건은 하기 표 1에 나타내었다.

[137] 상기 락토바실러스 말리 배양액을 조효소로 사용하는 방법은 한국 공개특허 제10-2019-0072471호에 개시되어 있으며, 상기 특허는 전체가 본원의 참조로 사용된다. 상기 조효소액은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 전이효소를 포함한다.

[138]

[139] [표1]

스테비올 배당체 원료 농도	10% (w/v)
스테비올 배당체 원료:설탕 중량비	1:1
반응 온도	40℃
반응pH	pH 5.0

[140]

[141] 효소반응 전 후의 스테비올 배당체 및 포도당 전이 스테비올 배당체의 함량을 분석하기 위하여 액체 크로마토그래피 분석(HPLC)을 수행하였다. HPLC 분석을 시행한 스테비올 배당체는 리바우디오사이드 A, 스테비오사이드, 리바우디오사이드 C, 루부소사이드, 둘코사이드 A이며, HPLC 분석을 시행한 포도당 전이 스테비올 배당체는 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C이며, HPLC 분석 결과는 도 1 내지 3에 나타내었다.

[142] 그 결과, 효소반응 전 및 효소 반응 24시간 후 각 성분의 함량 및 전환율이 하기 표 2 및 도 1 내지 3과 같음을 확인하였으며, 효소 반응으로 원료 내 리바우디오사이드 A(Reb A), 스테비오사이드(STV), 및 리바우디오사이드 C(Reb C) 등의 스테비올 배당체에 당전이 반응으로, 상기 스테비올 배당체가 약 94%의 전환율로 전환되어, 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료 조성물이 제조됨을 확인하였다.

[143]

[144] [표2]

시료	성분	효소반응전(%)	효소반응 24시간 후(%)	최종 전환율(%)
A社 부산물	리바우디오사이드 A(Reb A)	21.93	1.96	93
	스테비오사이드(STV)	35.56	1.71	
	리바우디오사이드 C(Reb C)	11.26	0.82	
	그 외(리바우디오사이드 F(Reb F), 둘코사이드 A, 및 루부소사이드)	5.83	-	
B社 부산물	리바우디오사이드 A(Reb A)	22.23	1.96	93.62
	스테비오사이드(STV)	17.42	1.71	
	리바우디오사이드 C(Reb C)	11.60	0.82	
	그 외(리바우디오사이드 F(Reb F), 둘코사이드 A, 및 루부소사이드)	6.76	0.21	
C社 부산물	리바우디오사이드 A(Reb A)	16.54	1.42	94.17
	스테비오사이드(STV)	45.84	2.20	
	리바우디오사이드 C(Reb C)	7.93	0.74	
	그 외(리바우디오사이드 F(Reb F), 둘코사이드 A, 및 루부소사이드)	4.42	-	

[145]

[146] 한편, 효소반응 24시간 후 제조된 조성물의 스테비올 배당체 종류 및 이의 함량은 하기 표 3 내지 5에 나타내었으며, A社 부산물을 이용하여 제조한 조성물은 표 3, B社 부산물을 이용하여 제조한 조성물 함량은 표 4, 및 C社 부산물을 이용하여 제조한 조성물은 표 5의 함량과 같다.

[147]

[148] [표3]

스테비올 배당체 종류	함량(중량%)
포도당 전이 리바우디오사이드 A(Reb A-Glc)	14.4
포도당 전이 스테비오사이드(STV-Glc)	20.12
포도당 전이 리바우디오사이드 C(Reb C-Glc)	9.26
포도당 전이 리바우디오사이드 F	1.26
포도당 전이 둘코사이드 A	1.08
포도당 전이 루부소사이드	1.27
리바우디오사이드 A(Reb A)	1.96
스테비오사이드(STV)	1.71
리바우디오사이드 C(Reb C)	0.82

[149]

[150] [표4]

스테비올 배당체 종류	함량(중량%)
포도당 전이 리바우디오사이드 A(Reb A-Glc)	13.09
포도당 전이 스테비오사이드(STV-Glc)	11.41
포도당 전이 리바우디오사이드 C(Reb C-Glc)	10.24
포도당 전이 리바우디오사이드 F	1.5
포도당 전이 둘코사이드 A	1.93
포도당 전이 루부소사이드	2.42
리바우디오사이드 A(Reb A)	1.91
스테비오사이드(STV)	0.72
리바우디오사이드 C(Reb C)	0.85

[151]

[152] [표5]

스테비올 배당체 종류	함량(중량%)
포도당 전이 리바우디오사이드 A(Reb A-Glc)	11.33
포도당 전이 스테비오사이드(STV-Glc)	26.6
포도당 전이 리바우디오사이드 C(Reb C-Glc)	7.12
포도당 전이 리바우디오사이드 F	1.03
포도당 전이 둘코사이드 A	1.23
포도당 전이 루부소사이드	1.52
리바우디오사이드 A(Reb A)	1.42
스테비오사이드(STV)	2.2
리바우디오사이드 C(Reb C)	0.74

[153]

[154] **실시예 1: 감미료 조성물의 관능평가**

[155] 포도당 전이 스테비올 배당체를 포함한 감미료 조성물을 공지된 고순도 리바우디오사이드 A와 비교하여 관능 평가를 수행하였다. 구체적으로, 상기 제조예 1에서 제조한 표 3 내지 5 중 어느 하나의 감미료 조성물에 대한 관능 선호도 및 상용화 리바우디오사이드 A(순도 97%)의 관능 선호도를 비교하여 평가하였다. 이를 위하여. 설탕 10bx를 기준으로 하여 동일한 당도로 조정하여 시료를 제조하고, 30명을 대상으로 시음 평가를 실시하였다. 기호도 및 이미 이취에 대하여 9점 척도법으로 평가하였으며, 5점 척도법으로 환산한 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

[156]

[157] [표6]

평가항목	제조예 1의 조성물	상용화 RebA(순도97%)	P-value
단맛 기호도	3.39	2.46	0.002
이미/이취	2.22	3.80	0.000005
전반 기호도	3.56	1.85	0.0000002

[158]

[159] 그 결과, 제조예 1의 특정 조성의 구성을 갖는 포도당 전이 스테비올 배당체를 포함한 감미료 조성물은 순도 97%의 리바우디오사이드 A와 대비하여 단맛 기호도는 약 1.4배 개선되고, 이미/이취는 절반 수준으로 감소하여, 전반적인 기호도가 약 2배 개선되는 효과가 있음을 확인하였다.

[160]

[161] 이와 같은 결과들은 스테비올 배당체 생산 공정들을 one-pot 공정으로 락토바실러스 말리 배양액을 조효소액으로 사용할 경우, 특정 조성의 포도당 전이 스테비아 조성물을 제조할 수 있으며, 이와 같은 특정 조성의 포도당 전이 스테비아 조성물이 감미질이 개선된 고부가가치 산물을 제조할 수 있음을 시사하는 것이다.

[162]

[163] 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 것으로 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] 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료 조성물로서, 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는, 감미료 조성물.

[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C는, 19-OH 위치에 결합된 포도당을 통하여 포도당이 α-(1,6) 결합에 의해 연결되어 부가된, 감미료 조성물.

[청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C는, 포도당을 1 내지 4개 포함하는, 감미료 조성물.

[청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 감미료 조성물은 순도 95% 이상의 리바우디오사이드 A에 비해 감미질이 향상된 것인, 감미료 조성물.

[청구항 5] 제3항에 있어서, 상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 F 0.5 내지 3 중량부, 포도당 전이 둘코사이드 A 0.5 내지 3 중량부, 및 포도당 전이 루부소사이드 0.5 내지 5 중량부로 구성되는 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 추가로 포함하는 것인, 감미료 조성물.

[청구항 6] 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 포함하는 감미료 제조용 조성물로서,
상기 감미료는 상기 감미료 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는 것인, 감미료 제조용 조성물.

[청구항 7] 포도당 공여체 존재 하에, 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 반응시키는 단계를 포함하는, 감미료 조성물 제조방법으로서,
상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는 것인, 제조방법.

[청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 스테비올 배당체 부산물은 결정화된 리바우디오사이드 A 가 분리된 액상 부산물인, 감미료 조성물 제조방법.

[청구항 9] 제7항에 있어서, 상기 스테비올 배당체 부산물은, 부산물 100 중량부를 기준으로 리바우디오사이드 A를 0 초과 30 이하로 포함하는, 감미료 조성물 제조방법.

[청구항 10] 제7항에 있어서, 상기 스테비올 배당체 부산물은 스테비아 제조과정에서 발생한 부산물로서, 리바우디오사이드 A, 스테비오사이드, 및 리바우디오사이드 C를 1.5 내지 2.5 : 1.5 내지 6 : 1의 중량비로 포함하는 것인, 제조방법.

[청구항 11] 제7항에 있어서, 상기 포도당 공여체는 설탕인 것인, 감미료 조성물 제조방법.

[청구항 12] 포도당 공여체 존재 하에, 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물을 반응시키는 단계를 포함하는, 감미질 개선 방법으로서,
상기 감미질이 개선된 감미료는 포도당 전이 리바우디오사이드 A, 포도당 전이 스테비오사이드, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 포함하는 감미료이고,
상기 감미료 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는 것인, 감미질 개선 방법.

[청구항 13] 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물의 감미료 조성물 제조 용도로서,
상기 감미료 조성물은 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는 것인, 감미료 조성물 제조 용도.

[청구항 14] 스테비올 배당체 부산물 및 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 포도당 전이 효소, 이를 발현하는 미생물 또는 상기 미생물 또는 락토바실러스 말리(*Lactobacillus mali*)의 배양물의 감미질 개선 용도로서,
상기 감미질이 개선된 감미료는 상기 감미료 조성물 100 중량부를 기준으로 포도당 전이 리바우디오사이드 A를 5 내지 30 중량부, 포도당 전이 스테비오사이드를 5 내지 30 중량부, 및 포도당 전이 리바우디오사이드 C를 5 내지 20 중량부로 포함하는 것인, 감미질 개선 용도.