

명세서

발명의 명칭: 알룰로스 제조용 조성물 및 이를 이용한 알룰로스의 제조 방법

기술분야

- [1] 본 출원은 알룰로스 제조용 조성물 및 이의 이용 방법에 관한 것이다.
[2]

배경기술

- [3] 당류를 안정적으로 보관, 유통하기 위해, 당류의 제조를 위한 전구체의 개발(활용)에 대한 연구가 수행되어 왔다. 일 예로, 국제공개특허 WO2012-113405 A1호에서는 화학적 또는 효소적 방법으로 합성하거나 정제하기 어려운 모유 올리고당 성분을 고순도로 제조하기 위한 전구체 조성물을 개시하고 있다. 그러나 최근 저칼로리 당류로 각광받는 소재인 알룰로스를 제조하기 위한 전구체 조성물에 대한 연구는 전무한 실정이다.
[4]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 신규한 화합물을 알룰로스 제조의 전구체로 사용할 수 있음을 확인함으로써 본 출원을 완성하였다.
[6]

과제 해결 수단

- [7] 본 출원은 신규한 알룰로스 제조용 조성물, 및 이를 이용한 알룰로스 제조방법을 제공하는 것이다.
[8]

발명의 효과

- [9] 본 출원의 알룰로스 전구체는 간편하게 알룰로스로 전환시킬 수 있으며, 알룰로스 외 다른 물질로 전환되는 수준이 낮으므로 알룰로스를 포함하는 식품 조성물의 품질안정성을 개선하는 데에 유용하게 사용될 수 있다.
[10]

도면의 간단한 설명

- [11] 도 1은 알룰로스 제조 과정에서 생성된 이당류의 크기배제컬럼(Biorad Aminex HPX-87C)으로 분석한 HPLC 크로마토그램이다.
[12] 도 2는 알룰로스 제조 과정에서 생성된 이당류의 크기배제컬럼으로 분취한 혼합물 형태의 물질을 순상계컬럼(YMC Pack Polyamine II)로 분석한 D1 및 D2의 HPLC 크로마토그램이다.
[13] 도 3은 알룰로스 이당류인 D1의 입체구조를 나타낸 것이다.

[14] 도 4는 알룰로스의 구조와 탄소 넘버링을 나타낸 것이다.

[15]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[16] 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.

[17] 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.

[18]

[19] 본 출원의 하나의 양태는 신규한 알룰로스 전구체를 제공한다.

[20] 본 출원의 알룰로스 전구체는, 알룰로스 이당류를 포함하는 것일 수 있다. 본 출원의 알룰로스 전구체는 알룰로스 이당류의 구조를 갖는 것일 수 있다.

[21] 본 출원의 "알룰로스 이당류"는, "알룰로스 2분자가 글리코시드 결합으로 연결된 화합물"을 의미한다. 용어 "알룰로스 이당류"는, "알룰로스 이량체(dimer)", "알룰로스 이배체", "이당류 알룰로스" 로도 지칭될 수 있다.

[22] 구체적으로 상기 알룰로스 이당류는 알룰로스 2분자가 글리코시드 결합(glycosidic bond)으로 연결되며, 상기 글리코시드 결합은 상기 알룰로스 2분자 중 알룰로스 1분자의 2번 탄소(C2)의 히드록시기가 다른 알룰로스 1분자의 1번 내지 6번(C1 내지 C6) 탄소 중 어느 하나의 탄소의 히드록시기에 글리코시드 결합(glycosidic bond)된 것 일 수 있다.

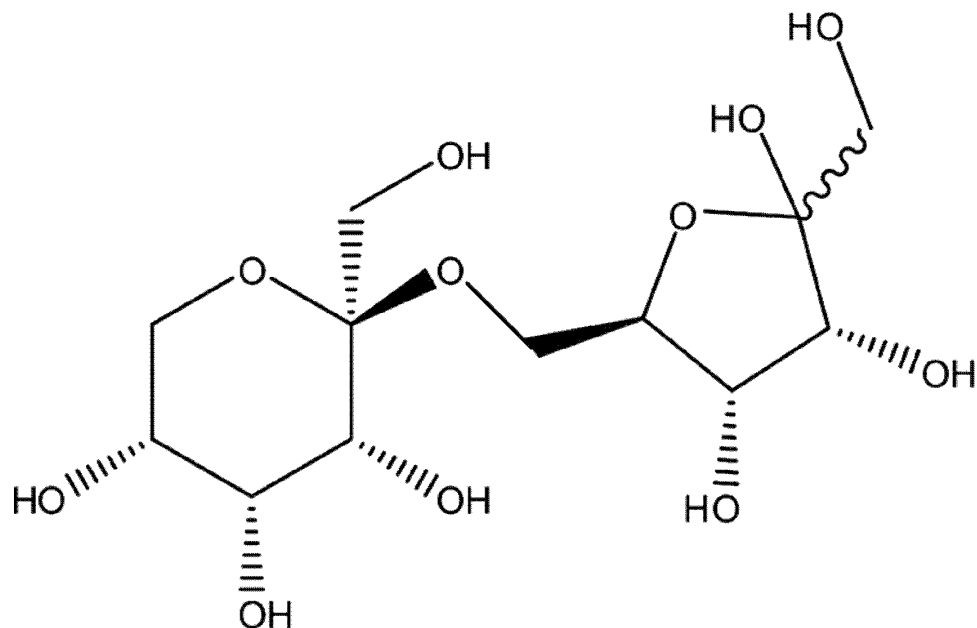
[23] 구체적으로는, 알룰로스 2분자 중 적어도 1분자가 고리형 알룰로스이고, 상기 고리형 알룰로스의 2번 탄소의 히드록시기와 다른 알룰로스 1분자의 1번 내지 6번 탄소 중 어느 하나의 탄소의 히드록시기 사이에 글리코시드 결합으로 연결되어 있는 화합물일 수 있다. 상기 글리코시드 결합은 1개 내지 2개일 수 있으며, 구체적으로 1개일 수 있다.

[24] 일 구현예로, 상기 고리형 알룰로스의 2번 탄소의 히드록시기와 다른 알룰로스의 6번 탄소의 히드록시기 사이의 글리코시드 결합일 수 있다.

[25] 일 구현예로, 상기 알룰로스 전구체에서 알룰로스 2분자 중 1분자는 사이코퓨라노스(psicofuranose) 형태이고, 다른 1분자는 사이코피라노스(psicopyranose) 형태일 수 있다. 일 구현예로, 알룰로스 전구체는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물일 수 있다.

[26] [화학식 1]

[27]



[28] 일 구현예로, 본 출원의 알룰로스 전구체는,
 2-(히드록시메틸)-2-((3,4,5-트리히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로퓨란-2-일)메톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올
 (2-(hydroxymethyl)-2-((3,4,5-trihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)methoxy)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol)로 명명되는 화합물일 수 있고, 보다 구체적으로
 (2S,3R,4R,5R)-2-(히드록시메틸)-2-(((2R,3S,4R)-3,4,5-트리하이드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로퓨란-2-일)메톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올
 ((2S,3R,4R,5R)-2-(hydroxymethyl)-2-(((2R,3S,4R)-3,4,5-trihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)methoxy)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol)로 명명되는 화합물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[29] 상기
 (2S,3R,4R,5R)-2-(히드록시메틸)-2-(((2R,3S,4R)-3,4,5-트리하이드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로퓨란-2-일)메톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올은, 사이코푸라노스의 형태에 따라
 6-O-β-D-사이코피라노실-α-D-사이코푸라노스(6-O-β-D-Psicopyranosyl-α-D-psicofuranose) 또는
 6-O-β-D-사이코피라노실-β-D-사이코푸라노스(6-O-β-D-Psicopyranosyl-β-D-psicofuranose)로 명명되는 화합물을 총칭할 수 있다.

[30] 상기
 (2S,3R,4R,5R)-2-(히드록시메틸)-2-(((2R,3S,4R)-3,4,5-트리하이드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로퓨란-2-일)메톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올은,

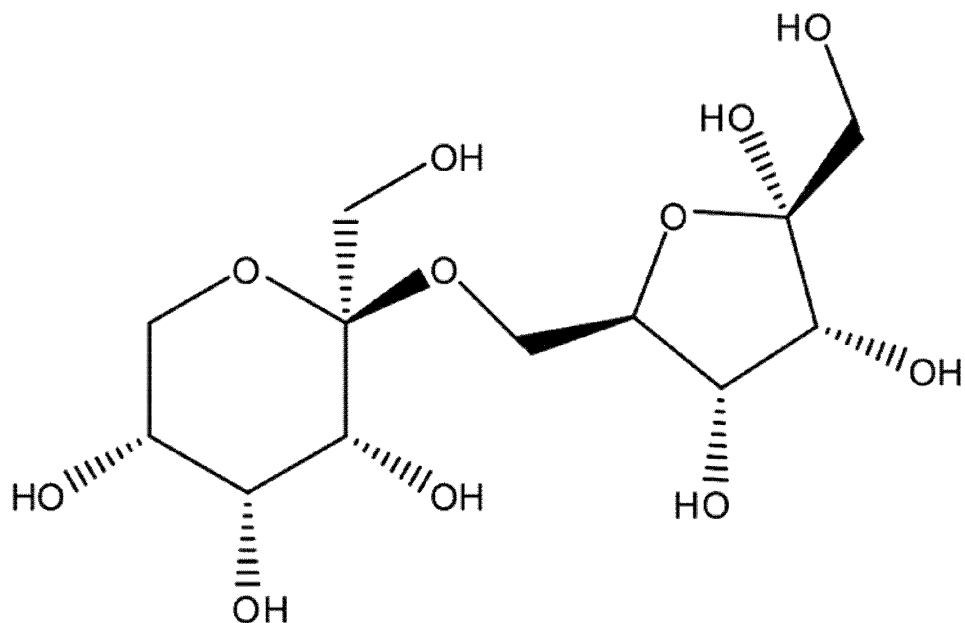
(2S,3R,4R,5R)-2-(히드록시메틸)-2-(((2R,3S,4R,5S)-3,4,5-트리히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로퓨란-2-일)메톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올((2S,3R,4R,5R)-2-(hydroxymethyl)-2-(((2R,3S,4R,5S)-3,4,5-trihydroxy-5-(hydroxymethyl) tetrahydrofuran-2-yl)methoxy)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol)로 명명되는 화합물일 수 있고, 또는

(2S,3R,4R,5R)-2-(히드록시메틸)-2-(((2R,3S,4R,5R)-3,4,5-트리히드록시-5-(히드록시메틸)테트라히드로퓨란-2-일)메톡시)테트라히드로-2H-피란-3,4,5-트리올((2S,3R,4R,5R)-2-(hydroxymethyl)-2-(((2R,3S,4R,5R)-3,4,5-trihydroxy-5-(hydroxymethyl) tetrahydrofuran-2-yl)methoxy)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol)로 명명되는 화합물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[31] 구체적으로, 상기 화학식 1의 화합물은, 하기 화학식 2 및/또는 3의 2가지 형태로 존재할 수 있다.

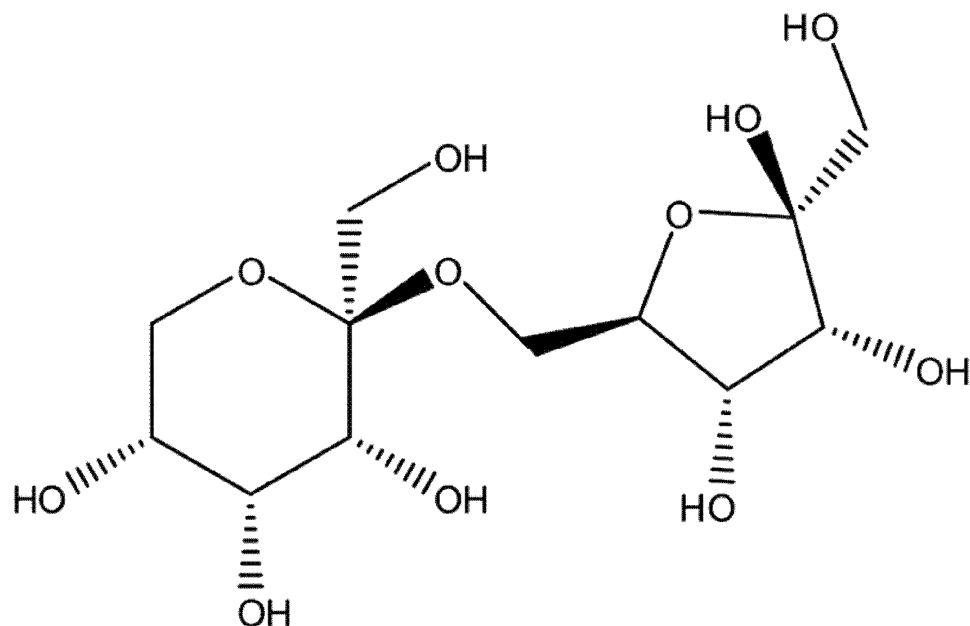
[32] [화학식 2]

[33]



[34] [화학식 3]

[35]



[36] 상기 화학식 2의 화합물은

6-O-β-D-사이코피라노실-α-D-사이코퓨라노스(6-O-β-D-Psicopyranosyl-α-D-psico furanose)로, 화학식 3의 화합물은

6-O-β-D-사이코피라노실-β-D-사이코퓨라노스(6-O-β-D-Psicopyranosyl-β-D-psico furanose)로 칭해질 수 있다.

[37] 본 출원의 알룰로스 전구체는 가열에 의해 알룰로스로 전환 될 수 있다.

[38] 상기 가열은 60°C 이상 100°C 이하의 온도에서 수행되는 것일 수 있고, 보다 구체적으로는 60°C 이상 95°C 이하, 65°C 이상 95°C 이하, 70°C 이상 95°C 이하의 온도에서 수행되는 것일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[39] 상기 가열은 0시간 초과 108시간 이하의 시간 동안 수행되는 것일 수 있고, 구체적으로는 10분, 20분, 30분, 40분, 50분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 9시간, 10시간, 11시간, 또는 12시간 이상 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[40] 본 출원의 알룰로스 전구체가 알룰로스로 전환되는 경우 초기 알룰로스 전구체 100 중량부 대비 20 중량부 이상이 알룰로스로 전환될 수 있다. 구체적으로 초기 알룰로스 전구체 100 중량부 대비 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90, 95, 또는 99 중량부 이상 전환될 수 있고, 또는 100 중량부, 즉 모든 알룰로스 전구체가 알룰로스로 전환 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[41] 한편 상기 전환은 0시간 초과 108시간 이하의 시간 동안 수행되는 것일 수 있고, 구체적으로는 10분, 20분, 30분, 40분, 50분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 9시간, 10시간, 11시간, 또는 12시간 이상 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [42] 본 출원의 알룰로스 전구체가 알룰로스로 전환되는 경우 목적하는 알룰로스 이외에 생성되는 부산물의 양은 전체 조성물 100 중량부 기준으로 10 중량부 이하 일 수 있다. 구체적으로 10, 9, 8, 7.5, 7, 6.5, 6, 5.5, 5, 4.5, 4, 3.5, 3, 2.5, 2, 1.5, 또는 1 중량부 이하일 수 있다. 또는, 전체 조성물 100 중량부 기준으로 0 중량부 즉 부산물이 생성되지 않을 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.
- [43]
- [44] 본 출원의 다른 하나의 양태는 알룰로스 이당류의 알룰로스 전구체로서의 용도를 제공한다.
- [45] 본 출원의 다른 하나의 양태는 알룰로스 이당류를 포함하는 알룰로스 전구체 조성물을 제공한다.
- [46] 본 출원의 다른 하나의 양태는 알룰로스 이당류의 알룰로스 제조에 사용하기 위한 용도를 제공한다.
- [47] 본 출원의 다른 하나의 양태는 알룰로스 이당류를 포함하는 알룰로스 제조용 조성물을 제공한다.
- [48] 본 출원의 다른 하나의 양태는 알룰로스 이당류를 가열하는 것을 포함하는 알룰로스 제조방법을 제공한다.
- [49]
- [50] 전술한 대로 본 출원의 알룰로스 이당류는 알룰로스로 전환될 수 있는 것인바, 알룰로스 이당류를 알룰로스 제조에 적용할 수 있다. 알룰로스 이당류, 전구체 및 가열에 대해서는 전술한 바와 같다.
- [51] 본 출원의 다른 하나의 양태는 알룰로스 이당류를 포함하는 조성물을 가열하는 것을 포함하는, 알룰로스의 제조방법을 제공한다.
- [52] 전술한 대로 본 출원의 알룰로스 이당류는 알룰로스로 전환될 수 있는 것인바, 알룰로스 이당류를 포함하는 조성물을 알룰로스의 제조에 적용할 수 있다. 알룰로스 이당류, 전구체 및, 가열에 대해서는 전술한 바와 같다.
- [53] 상기 알룰로스 이당류를 가열하는 것은 알룰로스 이당류가 알룰로스로 전환되는 것이거나 알룰로스가 생성되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다
- [54]
- [55] 상기 조성물은 당류를 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로는, 알룰로스를 추가로 포함하는 것일 수 있다. 그러나, 이에 제한되지 않는다.
- [56]
- [57] 상기의 알룰로스 이당류를 포함하는 조성물에서 알룰로스 이당류의 함량은, 조성물에 함유된 전체 당류 100 중량부 대비 알룰로스 이당류를 0 초과 15 중량부 이하의 함량으로 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 전체 당류 100 중량부 대비 알룰로스 이당류를 0.0001 중량부 초과, 0.001 중량부 초과, 0.01 중량부 초과, 0.1 중량부 초과, 또는 0.15 중량부 초과 이면서 15 중량부 이하 함량으로 포함하는 것일 수 있고, 및/또는, 전체 당류 100 중량부 대비 알룰로스 이당류를 15 중량부 이하, 13 중량부 이하, 11 중량부 이하, 10 중량부 이하, 9

중량부 이하, 8 중량부 이하, 7 중량부 이하, 6 중량부 이하, 5 중량부 이하, 4 중량부 이하, 3 중량부 이하, 2 중량부 이하, 또는 1 중량부 이하이면서 0 중량부 초과 함량으로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[58]

[59] 상기 조성물은, 식품 조성물 일 수 있다.

[60] 상기 식품 조성물은, 알룰로스가 사용될 수 있는 식품이면 제한 없이 포함된다. 구체적으로, 일반식품, 건강식품 및 의료용(또는, 환자용) 식품 조성물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 구체적으로, 본 출원의 식품 조성물은 음료(예컨대, 탄산음료, 과즙음료, 과채음료,식이섬유 음료, 탄산수, 미숫가루, 차, 커피 등), 알코올 음료, 베이커리, 소스(예컨대, 케첩, 돈까스 소스 등), 유가공품(예컨대, 발효유, 가공유 등), 육류가공품(예컨대, 햄, 소시지, 육포 등), 초콜릿가공품, 껌, 캔디, 젤리, 아이스크림, 시럽, 드레싱, 스낵(예컨대, 쿠키, 크래커, 비스킷 등), 과채절임(예컨대, 청, 당침과일, 홍삼진액 또는 홍삼절편 등), 식사대용식(예컨대, 냉동식품, 레토르트 식품 및 HMR(home meal replacement) 등) 또는 가공식품일 수 있다. 다만 이는 일 예시로, 이에 제한되지 않는다.

[61]

[62] 본 출원의 식품 조성물은 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당, 및 알룰로스 및 같은 모노사카라이드, 말토오스 및 수크로오스와 같은 디사카라이드, 덱스트린 및 시클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨 및 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴 및 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 수크랄로스, 사카린 및 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.

[63]

상기 외에 본 출원의 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙틴 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 산도제 및 염도제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 출원의 식품 조성물은 천연 과일쥬스, 과일쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 또한, 식품 조성물에 통상 포함될 수 있는 물질을 당업자가 적절히 선택하여 첨가할 수 있으며 이러한 첨가제의 비율은 본 출원의 식품 조성물 100 중량부 당 0.001 내지 1 중량부, 또는 0.01 내지 0.20 중량부의 범위에서 선택될 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[64]

[65] 본 출원의 다른 하나의 양태는 알룰로스 이당류를 포함하는 식품 조성물을 가열하는 것을 포함하는, 식품의 품질 안정성 증진 방법을 제공한다.

[66] 상기 식품은 알룰로스가 포함된 것일 수 있다.

[67] 상기 "품질 안정성 증진"이란 유통, 보관 및 가공 과정에서 일어날 수 있는 일체의 변성, 이로 인한 품질의 저하를 억제하거나, 이미 일어난 변성 및 품질

저하의 수준을 낮추는 것을 의미한다. 구체적으로 상기 변성은, 결정화, 갈변, 산화/환원반응 등 알룰로스가 알룰로스 외의 물질로 변화하거나 그 물성 등이 변하는 현상을 포함할 수 있다.

[68] 알룰로스 또는 이를 포함하는 조성물을 장기간 저장하는 경우, 알룰로스의 결정화 등의 변성으로 인하여 식품의 품질이 저하되는 문제가 발생할 수 있으나, 본 출원의 알룰로스 전구체를 식품에 첨가하는 경우, 이를 가열하여 원하는 시기에 알룰로스를 수득함으로써 식품의 품질 안정성을 증진시키는 용도로도 사용 될 수 있다.

[69] 상기 식품에 대해서는 전술한 바와 같다.

[70]

발명의 실시를 위한 형태

[71] 이하 본 출원을 실시예 및 실험예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 실험예는 본 출원을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 출원의 범위가 이들 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[72]

[73] 실시예 1. 알룰로스 전구체의 분리

[74] US 2018-0327796 A1에서 공지된 알룰로스 제조 과정에서, HPLC를 통하여 신규한 물질을 분리하였다.

[75] 구체적으로 하기 표 1의 HPLC 크로마토그램 분석 조건대로 목적하는 이당류 성분이 생성되는 것을 확인하였으며, 원액으로부터 도 1과 같이 알룰로스 외에 기존 알려지지 않은 신규한 물질(unknown)이 생성되는 것을 확인하였다. 알룰로스는 21.1분, 신규한 물질은 31.7분에서 확인되었다.

[76] [표1]

Equipment	Agilent technologies 1200 series
Column	Biorad Aminex HPX-87C (7.8 X 300mm, 9um)
Eluent	Water
Flow rate	0.6mL/min
Temperature	80°C
RI cell temperature	30°C

[77]

[78] 생성된 신규한 물질을 분리하기 위하여 HPLC 및 순상계 컬럼을 이용하여 표 2의 조건으로 다시 정밀하게 분리하였다.

[79] [표2]

Equipment	Shimadzu LC 10A
Column	YMC Pack Polyamine II (4.6 X 250mm, 5um, 12nm)
Eluent	Acetonitrile / Water (80/20)
Flow rate	1mL/min
Temperature	30°C
RI cell temperature	30°C

[80]

[81]

[82] 그 결과 표 1의 HPLC 조건에서 1개의 피크로 나타난 물질이 표 2의 분리조건에서 2개의 피크로 나타나는 것을 확인하여 분리하였으며(도 2) 22.5분에서 확인된 피크의 물질을 D1, 17.7분에서 확인된 피크의 물질을 D2라고 명명하였다.

[83]

[84] D1에 대해 ESI-MS, ¹H NMR, 및 ¹³C NMR의 추가 분석을 수행하였다.

[85] Major 6-O-β-D-Psicopyranosyl-α-D-psicofuranose은, 백색무정형가루, ESI-MS m/z 365 [M+Na]⁺; ¹H NMR (850 MHz, D₂O) δH 3.44 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.47 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.56 (1H, dd, J = 11.0, 5.0 Hz), 3.60 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.62 (1H, dd, J = 11.0, 2.5 Hz), 3.70 (1H, br d, J = 12.5 Hz), 3.75 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.75 (1H, br ma), 3.82 (1H, br d, J = 12.5 Hz), 3.84 (1H, br s), 3.92 (1H, t, J = 3.0 Hz), 3.97 (1H, d, J = 5.5 Hz), 4.09 (1H, t, J = 5.5 Hz), 4.13 (1H, br m) [D₂O signal δH 4.70]; ¹³C NMR signalsb δC 57.6, 60.4, 62.9, 64.7, 64.9, 69.1, 68.9, 70.2, 70.3, 81.2, 101.8, 103.4.

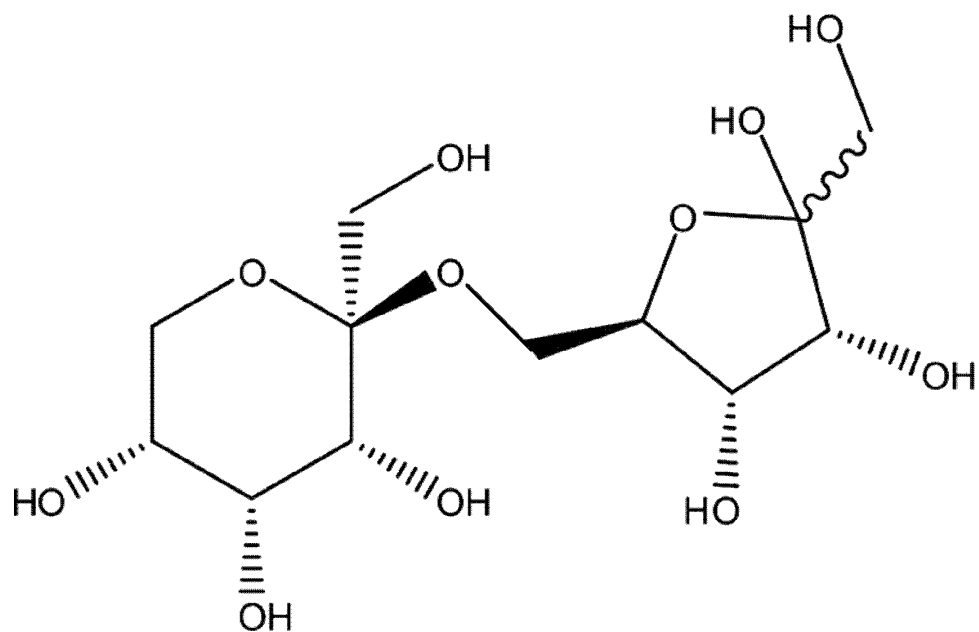
[86] Minor 6-O-β-D-Psicopyranosyl-β-D-psicofuranose는, 백색무정형가루, ESI-MS m/z 365 [M+Na]⁺; ¹H NMR (850 MHz, D₂O) δH 3.49 (1H, d, J = 13.0 Hz), 3.73 (1H, d, J = 13.0 Hz), 3.58 (1H, ma), 3.68 (1H, dd, J = 11.0, 2.5 Hz), 3.62 (1H, ma), 3.71 (1H, br d, J = 12.0 Hz), 3.82 (1H, br d, J = 12.0 Hz), 3.76 (1H, br ma), 3.78 (1H, ma), 3.87 (1H, br s), 3.98 (1H, t, J = 3.0 Hz), 3.95 (1H, d, J = 4.5 Hz), 4.00 (1H, br m), 4.34 (1H, dd, J = 8.0, 4.5 Hz) [D₂O signal δH 4.70]; ¹³C NMR signalsb δC 57.7, 61.4, 62.2, 64.7, 64.8, 69.0, 69.2, 70.8, 74.4, 80.8, 101.8, 105.9.

[87]

[88] 그 결과, D1이 알룰로스 2분자가 결합한 신규한 화합물이며 하기 화학식 1의 구조를 갖는 것을 확인하였다.

[89] [화학식 1]

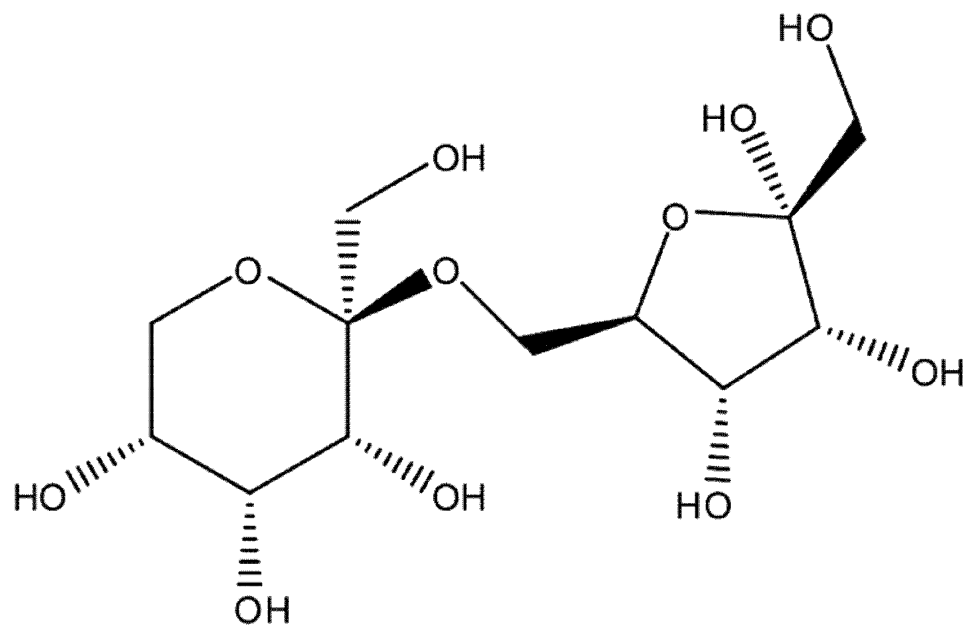
[90]



[91] 또한, D1은 major 또는 minor form의 2가지 형태를 가지며(도 3), major form인 6-O-β-D-Psicopyranosyl-α-D-psicofuranose는 하기 화학식 2, minor form인 6-O-β-D-Psicopyranosyl-β-D-psicofuranose는 하기 화학식 3의 구조를 갖는 것을 확인하였다.

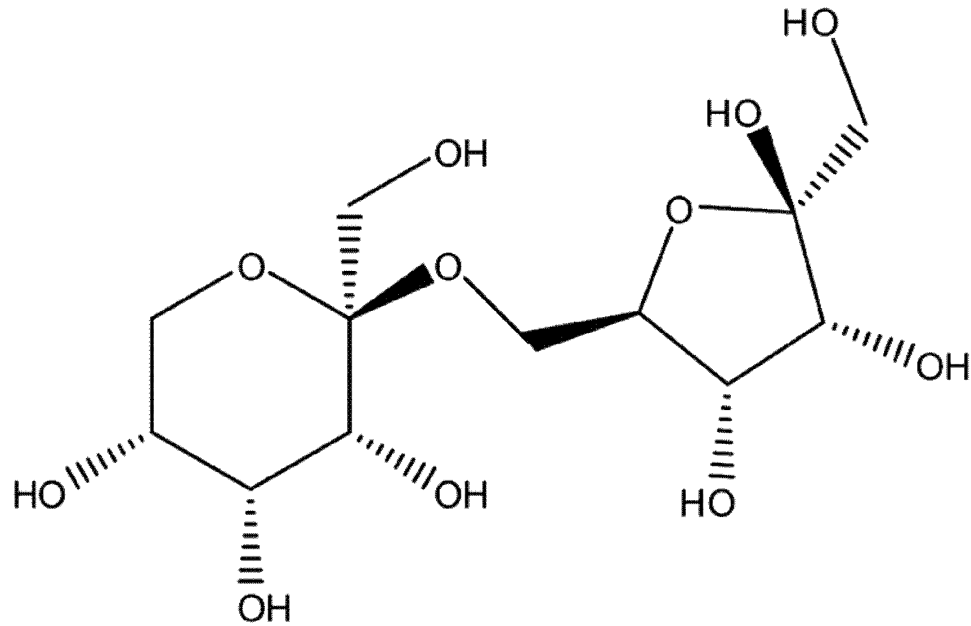
[92] [화학식 2]

[93]



[94] [화학식 3]

[95]



[96] 화학식 2의 화합물(6-O-β-D-Psicopyranosyl-α-D-psicofuranose)을 화합물 A로, 화학식 3의 화합물(6-O-β-D-Psicopyranosyl-β-D-psicofuranose)을 화합물 B로 명명하였다.

[97] 또한, D2는 화학식 1의 화합물과는 구조 이성질체 관계로 알룰로스의 2번 탄소(C2; 도 4의 탄소 넘버링에 따름)의 히드록시기와 다른 알룰로스 1분자의 1번 내지 6번(C1 내지 C6) 탄소 중 어느 하나의 탄소의 히드록시기의 글리코시드 결합(glycosidic bond)인 신규한 알룰로스 이당류됨을 확인하였다.

[98] 이하 실험에서는 신규한 화합물인 D1, D2를 알룰로스 전구체로 이용할 수 있는지 확인하기 위한 실험을 수행하였다.

[99]

[100] 실시예 2, 알룰로스 전구체를 이용한 알룰로스 생성

[101] 실시예 2-1: 알룰로스 이당류의 가열 전환 반응 비교

[102] 앞서 실시예 1에서 분리한 두 종류의 이당류, D1과 D2에 불순물이 없는 초순수를 첨가해 1%(w/w) 농도의 시료로 제조하여 각각 실험예 1과 2로 사용하였다. 가열 조건에 따른 분해반응을 비교하기 위해, 가장 보편적인 이당류(이량체)로서 포도당과 과당 각 1분자로 구성된 설탕(CJ제일제당, 순도 99% 이상)을 선택하였으며, 마찬가지로 초순수를 첨가해 1%(w/w) 농도의 시료로 제조하여 비교예 1로 사용하였다.

[103] 제조된 각 시료는 밀폐된 유리 시약병에 담아, 70, 80, 90, 95°C로 예열된 항온수조(Water bath, 대한과학)에서 중탕 가열하였다. 가열된 시료는 12시간 간격으로 회수하여 샘플링하였으며, 이는 HPLC를 이용하여 표 1의 조건에서 그 변화를 분석하였다. 모든 실험은 3반복 수행하였으며, 그 결과는 아래 표 3과

같다.

[104] [표3]

가열 온도 (°C)	가열 시간 (hr)	실험예1			실험예2			비교예1		
		D1, 1%			D2, 1%			설탕, 1%		
		단당류 (%)	이당류 (%)	기타 (%)	단당류 (%)	이당류 (%)	기타 (%)	단당류 (%)	이당류 (%)	기타 (%)
70	0	100			100			100		
	12	6.8	93.2C	0	5.9	94.1B	0	5	95.0A	0
	24	13.9	86.1C	0	12	88.0B	0	8.9	90.9A	0.2
	36	22	77.6C	0.4	17.8	81.9B	0.3	13	87.0A	0
	48	30.6	68.8C	0.6	24.6	74.9B	0.5	15.4	83.9A	0.7
	60	39.6	59.6C	0.8	29.5	69.7B	0.8	17.9	81.0A	1.1
	72	47.1	51.5C	1.4	33.7	65.2B	1.1	20.2	78.3A	1.5
80	0	100			100			100		
	12	23.8	76.2C	0	16.7	82.9B	0.4	10.9	89.1A	0
	24	50.7	49.3C	0	36.6	63.1B	0.3	18.9	81.1A	0
	36	70.3	28.7C	1	45.8	52.2B	2	23.1	76.5A	0.4
	48	81.8	16.5C	1.7	56	41.6B	2.4	25.3	73.4A	1.3
	60	86	12.1C	1.9	64	33.2B	2.8	31	67.4A	1.6
	72	89.5	8.2C	2.3	69.3	25.9B	4.8	35.2	62.8A	2
90	0	100			100			100		
	12	59.4	40.4C	0.2	42.3	57.0B	0.7	18.4	81.0A	0.6
	24	94.3	4.8C	0.9	71.1	27.8B	1.1	31.2	67.9A	0.9
	36	96.9	1.2C	1.9	84.8	11.7B	3.5	43	55.9A	1.1
	48	95.7	0.7C	3.6	90.3	3.6B	6.1	50.8	44.9A	4.3
	60	95.4	0.6C	4	91	2.6B	6.4	61.1	33.8A	5.1
	72	93.9	0.5C	5.6	89.5	1.1B	9.4	68.9	24.8A	6.3
95	0	100			100			100		
	12	73.7	25.8C	0.5	58	40.4B	1.6	23	76.2A	0.8
	24	98.1	0.8C	1.1	89.3	8.0B	2.7	40.1	58.0A	1.9
	36	97.6	0.7B	1.7	95.4	1.1B	3.5	60.1	38.1A	1.8
	48	96.4	0.6C	3	95.4	1.1B	3.5	73.8	22.0A	4.2
	60	95.3	0.5C	4.2	93	1.0B	6	76.8	17.0A	6.2
	72	92.3	0.5B	7.2	87.8	0.9B	11.3	79.3	12.7A	8

[105] ※ 서로 다른 문자열 A,B,C는 가로 방향으로 실험예1, 실험예2, 비교예1 사이의 유의차($p < 0.05$)가 있음을 의미

[106] ※ 단당류 및 이당류의 %는 분석된 당류 전체 중 중량비(% , w/w)를 의미하며, 그 외는 기타 당류로 분류함

[107]

[108] 그 결과, 전반적으로 동일 수준의 열 데미지(온도, 시간)에서 단당류로의 전환율은 D1이 유의적으로 높았으며, 다음으로 D2와 설탕의 순서로 전환율이

높은 것으로 확인되었다.

- [109] 구체적으로 가장 높은 온도조건인 95°C에서는 D1의 경우 12시간 경과 시 약 74%가 목적 성분인 알룰로스(단당류)로 전환되고 24시간 경과 시 98% 이상 전환되어, 알룰로스를 제조한 것이 확인된 반면, D2는 12시간 경과 시 약 58%, 24시간 경과 시 89% 전환되었으며, 설탕은 각 23%와 40% 수준으로 단당류로의 전환이 상대적으로 미미한 것을 확인하였다.
- [110] 기본적으로 실험예 1 내지 2 및 비교예 1 모두 가열 온도가 높을수록, 그리고 가열 시간이 길어질수록 이당류가 분해되어 단당류로 전환되는 것은 동일한 경향이나, 그 중에서도 실험예 1에서 이당류(D1)가 단당류(Allulose)로 전환이 유의적으로 빠르고 전환된 단당류의 순도가 높게 유지되어 그 전환 효율이 높은 것을 확인할 수 있었다.
- [111] 특히 D1의 경우 알룰로스 이당류인 D2와 비교했을 때 알룰로스 전환이 더 빠르고, 높은 순도의 결과물을 확보할 수 있음을 확인하였다.
- [112]
- [113] 실시예 2-2: 알룰로스를 포함하는 식품 모델에서 알룰로스 전구체의 활용
- [114] 전구체 단독이 아닌 혼합물 내에 존재하는 형태로서도 목적 성분으로의 전환이 원활한지, 알룰로스를 주원료로 포함하는 식품 모델에 이당류인 D1을 추가하여 검증하였다.
- [115] 구체적으로 불순물이 최소화된 순수한 알룰로스 결정(CJ제일제당, 순도 99.8% 이상) 및 앞서 분리한 이당류 중 D1을 정수에 용해하여 음료 모델을 제조하였다 (실험예 3). 제조된 실험예 3은 통상의 음료 가공 조건 중 하나인 95°C에서 1시간 가량 가열 처리하였으며, 가열 처리 전후로 실험예 3에 첨가된 이당류가 알룰로스로 전환되는지 여부는 HPLC를 이용하여 표 1의 조건으로 분석하였다. 각 시료의 세부적인 조성 비율과 가열 전후의 변화는 아래 표 4에 나타내었다. 마찬가지로 모든 실험은 3회 반복 수행하였다.
- [116]
- [117] [표4]

분류	가열시간 (95 °C)	전체 고형분 중 중량 비율(%)			총 고형분 (g/100g)
		단당류 (Allulose)	이당류 (D1)	기타	
실험예 3	초기값	95.24	4.74	0.02	10.0
	60분 후	98.46	1.53	0.01	10.0

- [118] 그 결과, 알룰로스에 알룰로스 전구체로서 D1을 첨가한 실험예 3의 경우 D1이 목적하는 성분인 알룰로스로 전환되며 알룰로스의 순도가 증가한 것이 확인되었다. 구체적으로 실험예 3의 경우 전체 고형분 중 약 4.7% 비율로 함유된 D1이 가열 처리 후 약 1.5% 비율로 감소(-3.2%)하였으며, 반대로 목적 성분인

알룰로스는 동량 수준으로 증가하였다.

[119] 즉, D1은 일반적인 가공(가열) 처리 조건에서 목적 성분인 알룰로스로 전환되며, 동시에 비의도적인 생성물이 발생되지 않도록하여 전구체로서 적합한 특성을 지님이 확인되었다.

[120] 나아가 전구체로서 D1이 열 에너지를 받아들임에 따라서, 유용 성분인 알룰로스가 과잉한 열 데미지에 노출되어 변성(소실)되는 것을 어느 정도 억제해줄 수 있는 긍정적인 효과도 예상해볼 수 있다.

[121]

[122] 실시예 2-3: 온도 및 고형분 농도 조건별 전구체 활용 비교

[123] D1의 알룰로스로 전환 특성을 보다 다양한 온도와 고형분 농도 조건에서 실험하였다. 앞서 실험한 실시예2-2와 같은 방법으로 순수한 알룰로스 단당류에 분리된 전구체인 D1을 추가하였으며, 정수를 이용해 고형분의 농도를 조절하였다. 제조된 실험예 4 내지 6의 세부적인 조성은 아래 표 5와 6에 나타내었다.

[124]

[125] 먼저 온도 조건을 40, 60, 그리고 80°C로 달리하여 24시간 가열하였을 때 D1의 전환율을 비교하였다(표 5).

[126]

[127] [표5]

시료	분류	가열온도 (°C)	가열시간 (hr)	전체 고형분 중 비율 (%)		총 고형분 (g/100g)
				단량체 (Allulose)	이량체 (D1)	
실험예 4	초기값	-	-	94.3	2.0	20.0
	가열후	40	24	95.1B	1.5A	20.0
		60	24	97.6A	0.6B	20.0
		80	24	96.5C	0.5C	20.0

[128] ※ 세로 방향으로 서로 다른 문자열 A B C는 같은 시료에서 제조시에 비해 유의차(p<0.05)가 있음을 의미

[129]

[130] 앞선 실험과 마찬가지로 모든 온도 조건에서 D1이 목적하는 성분인 알룰로스로 전환되며 알룰로스의 순도가 증가한 것이 확인되었다. 특히 60 내지 80°C의 조건에서 가열하였을 때에는 대부분 알룰로스로 전환된 것을 확인할 수 있었다.

[131]

[132] 다음으로 고형분의 농도를 10, 및 30%(w/w, g/100g)로 달리하여

고온(121°C)에서 단기간(15분) 가열하였을 때 D1의 전환율을 비교하였다(표 6).

[133]

[134] [표6]

시료	분류	총 고형분 (g/100g)	전체 고형분 중 비율 (%)		가열온도 (°C)	가열시간 (hr)
			단량체 (Allulose)	이량체 (D1)		
실험예 5	초기값	10.0	95.2	2.1	-	-
	가열후	10.0	98.6A	0.5B	121	15
실험예 6	초기값	30.0	95.2	2.1	-	-
	가열후	30.0	97.3B	0.8A	121	15

[135] ※ 세로 방향으로 서로 다른 문자열 A B C는 같은 시료에서 제조시에 비해 유의차($p < 0.05$)가 있음을 의미

[136]

[137] 앞선 실험과 마찬가지로 모든 농도 조건에서 가열 처리시, D1이 목적하는 성분인 알룰로스로 전환되며 알룰로스의 순도가 증가한 것이 확인되었다. 특히 총 고형분량이 낮을수록 가열 처리 후에도 D1이 알룰로스로 전환되는 효율이 상대적으로 높게 확인되었다.

[138]

[139] 이와 같은 실험 과정을 통해, 본 출원의 알룰로스 이당류는, 소비자에게 유익한 고부가가치 소재인 알룰로스로 전환되는 전구체로서 고효율의 활용성을 지님을 확인하였다.

[140] 특히 복잡한 전환 반응이 아닌 단순한 가열 반응(통상의 가공 공정 수준)을 통해서 최종 단계의 목적 물질인 알룰로스가 생성되는 것을 확인하였으며, 비의도적인 불순물의 생성이 없고 알룰로스가 과잉한 열 데미지에 노출되지 않도록 보존해줄 수 있는 가능성을 지님을 확인하였다. 이러한 효과를 근간으로 식품료품에서 알룰로스의 순도를 증진하고 보존할 수 있는 전구체로서 D1의 활용을 기대할 수 있다.

[141]

[142] 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.