

발 간 등 록 번 호

11-1543000-001419-01

고부가가치식품기술개발 R&D Report

비만억제 기능성 원료 사이코스 시럽의 개별인정 및 제품화 연구 최종보고서

2016. 11. 04.

주관연구기관 / (주)삼양사
협동연구기관 / 가톨릭대학교
성빈센트병원

농림축산식품자료실



0025079

농림축산식품부

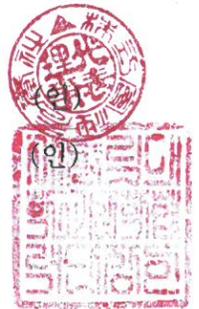
제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “비만억제 기능성 원료 사이코스 시럽의 개별인정 및 제품화연구”(개발기간 : 2013 . 07 . ~ 2016 . 07 .)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016 . 11 . 04.

주관연구기관명 : (주) 삼양사 (대표자) 문성환
협동연구기관명 : 가톨릭대학교 산학협력단 (대표자) 산학협력단장 (인)



주관연구책임자 : 김 혜 정
협동연구책임자 : 송 상 욱

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

050321481008303



329421481091878



보고서 요약서

과제고유번호	113035-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2015.07.16~ 2016.07.15	단 계 구 분	3차년/ 3차년
연구사업명	중 사업명	교부가가치식품기술개발사업			
	세부 사업명	교부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과제명	비만억제 기능성 원료 사이코스 시럽의 개별인정 및 제품화 연구			
	세부 과제명	비만억제 기능성 원료 사이코스 시럽의 개별인정 및 제품화 연구			
연구책임자	김혜정	해당단계 참 여 연구원 수	총: 20 명 내부: 20 명 외부: 명	해당단계 연 구 개 발 비	정부:200,000천원 민간:150,000천원 계:350,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 54 명 내부: 54 명 외부: 명	총 연구개발비	정부:600,000천원 민간:450,000천원 계:1,050,000천원
연구기관명 및 소 속 부 서 명	주관기관 : (주)삼양제넥스 식품연구소 협동기관 : 가톨릭대학교 성빈센트병원			참여기업명 (주)삼양제넥스 식품연구소	
위 탁 연 구	연구기관명:			연구책임자:	
요약	<p>1. 인체시험</p> <ul style="list-style-type: none"> - 사이코스 복용 12주 후 DEXA로 측정한 체지방률 변화량이 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보임. - 기저시점 대비 12주 시점의 허리둘레 변화량 또한 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보임. - 이는 사이코스의 내장지방을 감소 및 복부비만을 개선하는 효과를 시사하는 것임. - 간 CT, Alkaline phosphatase , γ-GTP, ALT 등의 혈액검 			보고서 면수	

사 결과와 종합하면 비만으로 인한 비알콜성지방간염의 진행을 억제하는 사이코스의 효과를 기대할 수 있음.

2. 동물실험

- ob/ob 마우스를 통한 사이코스의 체지방 축적억제 기작 증명

- 정상 체중을 가진 실험동물에서 포도당 섭취 후의 혈당 상승 정도를 감소 및 체중 및 체지방 무게의 감소를 유도할 증명. 지방 분해와 관련된 지표가 증가로 인한 체지방 축적 억제 효과 및 당 대사 조절 기능 개선 효과 증명

- 정상 체중 실험동물에서 고과당식이를 공급한 연구에서 사이코스의 지방조직 축적 억제 효과는 지방산화 활성화에 기인하는 것으로 세부기작 증명

3. 알룰로스 제품화

- 건강기능식 : 구미제형 1종

- 체중조절식품 : 시리얼바 1종

- 체과체팽용 식품 : 쿠키 2종

- 음료 : 일반음료, 커피 1종, 발효유 3종

- 크림 및 유지류 2종

요약문

		코드번호	D-01
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ● 액상 과당을 원료로 생물학적 방법에 의해 생산된 사이코스 시럽의 기능성 연구를 통하여 비만 억제 효과를 검증하고, 그 기작을 밝힘으로써 개별인정 원료 신청. - 인체시험에서 과체중 혹은 비만인 성인을 대상으로 12주간의 사이코스 (12, 6g 두 가지 용량군) 섭취가 체내 지방 감소에 미치는 효과를 비교 - 고용량군의 경우 사이코스 12g을 섭취하였으며, 저용량군의 경우 사이코스 6g과 무수 포도당 6g을 섭취, 대조군의 경우 무수 포도당 12g을 12주간 섭취하였다. 섭취 12주 후 유효성 및 안전성에 대한 평가를 시행. - 동물시험에서 사이코스의 항비만 효능 평가 및 그와 연관된 기작을 규명하는 것임. 본 연구자는 혈중 포도당 및 축적된 체지방을 항비만 효능인자 중 하나로 확인하였고 이와 관련된 기작에 대해서 알아보기로 함. - 1차년도 연구의 목적은 유전적으로 비만이 유도된 동물에서 사이코스의 항비만 효능을 확인하는 것임. - 3차년도 연구의 목적은 일반 실험동물에서 사이코스의 보충이 체지방 축적 및 당 대사 조절 기능에 주는 영향을 확인하는 것임. <p>또한 고과당 식이를 공급한 동물에게 사이코스의 대체가 미치는 항비만 효과를 확인하고 그와 관련된 기전을 규명함.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 유효성 및 안정성을 입증 된 함량의 사이코스 시럽을 건강기능식, 체중 조절 식 식품 및 프리미엄 식품군에 적용하여 prototype 제작 		
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ● 인체시험 - 사이코스 복용 12주 후 DEXA로 측정된 체지방률 변화량이 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였으며 대조군은 12주 후에 평균 1.20 ± 2.24 %가 증가하였으나 사이코스 복용군은 체지방률의 증가를 보이지 않음. - 체지방량 변화량의 경우 대조군은 12주 후에 평균 0.95 ± 1.65 kg가 증가하였으나 사이코스 복용군은 체지방량의 증가를 보이지 않음. - 기저시점 대비 12주시점의 허리둘레 변화량 또한 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보임. - 사이코스 복용군은 12주 후에 고용량 복용군이 평균 -2.37 ± 2.64 cm, 저용량 복용군이 -1.56 ± 2.56 cm 감소하였으나 대조군은 허리둘레의 변화를 보이지 않음. - 이는 사이코스의 내장지방을 감소 및 복부비만을 개선하는 효과를 시사하는 것으로 사료됨. - 간 CT로 확인한 지방간 여부는 대조군에서 12주 후 지방간이 악화되는 소견을 보였으나 사이코스 복용군에서는 12주 전후로 차이를 보이지 않음. Alkaline phosphatase, γ-GTP, ALT 등의 혈액검사 결과와 종합하면 비만으로 인한 비알콜성지방간염의 진행을 억제하는 효과를 기대할 수 있음. 		

연구개발성과

● 동물실험

- 유전적으로 비만이 유도된 동물에서 물질 공급군 특히 5.0% 순수 분말 사이코스 공급은 체중 감소, 체지방 무게 감소와 지방구 크기 감소를 유도하는 것으로 보이고, 지방 조직에서 지방 분화와 관련된 지표가 감소되어 체지방 축적 억제 효과가 있다고 사료됨.

- 정상 체중을 가진 실험동물에 5.0% 순수 분말 사이코스를 보충하면 포도당 섭취 후의 혈당 상승 정도를 감소시키고, 체중 및 체지방 무게의 감소를 유도하며, 지방 조직에서 지방 분해와 관련된 지표가 증가되어 체지방 축적 억제 효과 및 당 대사 조절 기능 개선 효과가 있다고 사료됨.

- 정상 체중 실험동물에서 15%의 과당과 15%의 순수 분말 사이코스를 공급하면 대조군 혹은 30%의 고과당식이를 공급한 군 대비 포도당 섭취 후 혈당 상승 정도가 완화되었고 체중, 체지방 부피, 지방구의 크기 감소도 유도되었음. 특히 지방 분해에 관여하는 유전자 발현 증가가 두드러지게 관찰되었음. 지방 합성에 관여하는 유전자는 대조군 대비 고과당 및 과당과 사이코스 혼합식이 군에서 증가하였으나 PPAR- γ 를 제외한 유전자는 과당군과 차이가 나타나지 않는 것으로 보아 사이코스의 지방조직 축적 억제 효과는 지방산화 활성화에 기인하는 것으로 사료됨.

● Protptype 제작

- 건강기능식 : 구미제형 1종

- 체중조절식품 : 시리얼바 1종

- 체과제빵용 식품 : 쿠키 1종, 초콜렛 2종, 브라우니 1종

- 음료 : 탄산음료 1종, 커피 1종, 발효유 3종

- 크림 및 유지류 2종

		코드번호	D-01		
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> ● 사이코스 시럽의 동물 실험, 인체 임상 실험을 통한 비만 억제 효과 기작을 밝힘으로써 사이코스 시럽의 기능성을 검증 할 수 있으며, 이 연구 결과를 바탕으로 개별인정 기능성 소재로 등재 추진. ● 본 과제 수행의 도출 결과를 활용하여 비만 억제 기능이 강조 된 사이코스 시럽 제품 개발을 추진 할 것이며, 사이코스 시럽 적용 일반 식품군의 저 칼로리화와 감미도는 있으며, 비만 억제 기능의 특징을 살려 체중 조절 식품의 감미도를 부과하여 기호도를 증진 시킬 수 있는 소재로 적용 할 것임. ● 미래 지향적 식품산업에서 식품을 통하여 비만을 예방 할 수 있는 제품군을 주도할 수 있는 소재로 자리매김 하여, 세계적 소비자 욕구를 충족 시켜 글로벌한 식품소재로 발전할 수 있음. ● 비만 억제를 특징으로 하는 기능성 당의 개발은 고 에너지 당 섭취 시 문제가 되고 있는 비만에 의한 성인병 유발을 감소하는데 영향을 주어 국민건강을 향상 시키는데 일조 할 수 있음 				
중심어 (5개 이내)	사이코스	비만억제	기능성원료	제품화	

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose & Contents	<ul style="list-style-type: none"> ● The overall objective of this study was to verify the anti-obesity activity of D-psicose and elucidate the underlying mechanisms of action of D-psicose. <ul style="list-style-type: none"> - D-Psicose is one of the monosaccharide sugar, which has 70% of the sweet taste of sucrose but almost zero calories. Although some studies have reported a weight loss in animal models, the changes in body composition and hepatic steatosis beyond weight loss remain unexplored. - We conducted a randomized, controlled study to examine the effect of D-psicose on visceral and hepatic fat in obesity. - We performed a 12-wk randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel group trial. Subjects were randomly assigned to receive placebo, low dose D-psicose (6g/day), and high dose D-psicose (12g/day) on a 1:1:1 ratio. Anthropometric measurements, laboratory investigations, dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA) and abdominal CT scan were performed at randomization (baseline) and at wk 12. Liver attenuation value, liver to spleen attenuation difference and liver-to-spleen attenuation ratio were measured as a measure of hepatic fat. - We evaluated serum glucose concentrations and excess body fat deposition in response to D-psicose both in ob/ob and wild-type mice. We also investigated the effect of D-psicoes substitution for high-fructose diet on anti-obesity activity and its related mechanisms. ● Prototype <ul style="list-style-type: none"> - functional food, weight control food, baked products, beverage, modified fat and fat based cream. 		
Results	<ul style="list-style-type: none"> ● Human study <p>Baseline demographic, anthropometric, and clinical characteristics were similar among the groups. There was no significant difference in body weight and BMI among the groups. However, the D-psicose group showed significantly less increase of body fat mass from baseline than in placebo group ($P = 0.035$). Although overall changes in lean body mass were not significantly different among the groups ($P = 0.088$), the reduction in waist circumference and visceral adipose tissue at week 12 was significant compared with placebo for all doses of D-psicose ($-12.25 \pm 17.58 \text{ cm}^2$ in 12g D-psicose, and $-6.27 \pm 11.02 \text{ cm}^2$ in 6g D-psicose, $p=0.001$). Consistent with the decreased visceral fat, D-psicose treatment showed increased liver attenuation value, liver to spleen attenuation difference and liver-to-spleen attenuation ratio, which is indicative of an improvement in hepatic steatosis. D-psicose treatment was also associated with improvements in serum levels of alanine aminotranferase ($p=0.001$) and glutamic pyruvic transaminase ($p=0.042$).</p>		

Results	<p>● Animal study</p> <p>In ob/ob mice, 5% D-psicose supplementation decreased body weight, fat mass, lipid droplet size, and the expression of adipocyte differentiation-related markers, suggesting that it possesses the anti-obesity effect. In addition, the transcriptomic analysis showed that <i>Fos</i>, <i>Mmp3</i>, <i>Fgf21</i>, and <i>Abcd2</i> might be key target genes associated with D-psicose-induced changes in lipid metabolism and further chronic inflammatory responses in adipose tissue of ob/ob mice. In wild-type mice, 5% D-psicose substitution for sucrose also decreased oral glucose tolerance, body weight gain and fat mass, while it increased the expression of lipolysis-related markers in adipose tissue. These results indicate that D-psicose prevents excess fat deposition and improves glucose homeostasis.</p> <p>Furthermore, 15% D-psicose + 15% fructose group lowered oral glucose tolerance, body weight gain, fat mass, and lipid droplet size compared to 30% high-fructose group, whereas it increased the expression of lipolysis-related genes compared to the control group. The levels of lipogenesis-related genes was increased compared to control group, but there were no significant differences between D-psicose and high-fructose group except PPARγ. Taken together, our data suggest that D-psicose-induced anti-obesity effect would be associated with the activation of lipolysis and β-oxidation.</p> <p>● Prototype</p> <ul style="list-style-type: none"> - functional food : Gumi shape 1type - weight control food : serial bar 1type - baked products : cookie 1 types, chocolate 1 types, brownie 1 type - beverage : carbonate beverage 1 types, coffee 1 type, yogurt 3types - modified fat and fat based cream 2 type 			
Expected Contribution	<p>To our knowledge, the present study is the first to demonstrate the effect of D-psicose on body composition and hepatic steatosis in obesity. We found a significantly decreased abdominal visceral fat, and not fat-free body mass, including muscle. Furthermore, D-allulose improved hepatic steatosis. D-Psicose may be useful as a supplement for preventing and improving obesity and obesity-related disorders.</p> <p>We observe anti-obesity effect in mouse related to obesity and supply baseline data that investigate its role, and these can be competitive research material in related fields. Through verifying related psicose's effectiveness by animal experiment, we produced results that can be applied in the industrial world. Especially, we investigate relationship between human gut microbime and colitis providing information that involves high research interest. Identification of gut microbial profile and inflammatory marker difference between patient and normal controls, can be utilized as useful information for later intervention study.</p>			
Keywords	D-Psicose	Anti-obesity	Functional food	Manufactured goods

영문목차

1. Introduction of Research -----	1
2. Current Status of Domestic and Global Technical Development -----	7
3. Contents and Results of Research and Development -----	10
4. Level of Achievement and Contribution -----	108
5. Outcome of Reasearch and Plan for Practical Use -----	112
6. Obtained Global Scientific and Technical Information During The Research Process -----	113
7. Security Levels of Research Development Results -----	114
8. Current Status of Registered research facilities and Equipment on National Science and Technology Information System -----	114
9. Performance Lab Safety Management Implementation -----	114
10. Outcome of Research -----	143
11. Etcetera -----	171
12. Reference -----	172

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	1
2. 국내외 기술개발 현황	7
3. 연구수행 내용 및 결과	10
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	108
5. 연구결과의 활용계획 등	112
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	113
7. 연구개발성과의 보안등급	114
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	114
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	114
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	143
11. 기타사항	171
12. 참고문헌	172

<별첨> 자체평가의견서

8. 뒷면지

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 00000사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 00000사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

1장. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

1절. 연구개발 목적

- 액상 과당을 원료로 생물학적 방법에 의해 생산된 사이코스 시럽의 기능성 연구를 통하여 비만 억제 효과를 검증하고, 그 기작을 밝힘으로써 개별인정원료 신청.
- 유효성 및 안정성을 입증 된 함량의 사이코스 시럽을 체중 조절식 식품 및 프리미엄 식품군에 적용하여 prototype 제품 제작

2절. 연구개발의 필요성

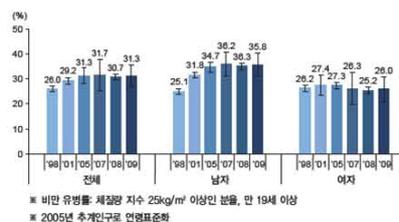
1. 국내외 현황 및 문제점

- 비만은 신체 내에 정상보다 과도하게 지방이 축적되어 건강에 문제를 나타내는 상태로 신체의 에너지 대사를 비롯하여 호르몬 및 신체 내 물질을 무질서하게 만들어 복잡한 만성적인 질병상태임.
- WHO (World Health Organization)에 따르면 체질량지수가 25이상인 비만인구는 전세계 성인 인구 중 9.8%이며, 체질량지수가 23이상인 과체중 인구도 전체의 23.3%로 전세계 인구의 약 1/3 가량이 과체중 또는 비만으로 인해 합병증 발생에 노출되어 있는 상황임을 알 수 있음. 미국의 경우에도, 성인 66.9 %가 체질량지수 25 이상으로 과다체중과 비만상태이며, 체질량지수가 30이상인 비만 인구는 33.9 %를 차지하고 있음.



전세계 체질량지수 25이상 인구(성인) 비율 지도, <http://apps.who.int/bmi/index.jsp>

- 국내의 경우 질병관리본부에서 최근 발표한 2009년 국민건강·영양조사결과에 의하면 체질량지수가 25 이상인 비만인 한국성인은 31.3%로 나타났으며, 이는 우리나라 성인 10명 가운데 3명 이상 비만이며 이로 인해 각종 만성 소모성 질환에 노출될 가능성이 있다는 것을 의미함.



비만 유병률 추이(체질량지수(BMI)≥25) 출처: 질병관리본부, 2009 국민건강통계

- 비만의 원인은 과다한 열량 섭취 또는 열량 소모의 감소로 여분의 열량이 체내에 축적되는 것이므로 비만을 치료하기 위해서는 근본적인 원인을 제거 할 수 있도록 생활습관을 개선할 필요가 있음.
- 그러나, 생활 습관을 개선하는 과정 특히, 식습관을 개선하는 것은 매우 어려우므로 탄수화물이나 지질의 대사를 증가시켜 열량을 소모시키거나 영양분의 흡수를 막아 배출을 증진시키는 약물 혹은 기능성 식품에 대한 요구가 증가되고 있으나 이에 대한 효능과 안전성에 관한 과학적인 내용이 부족하며 특히 합성의약품의 경우 서양의학이 한계를 보임에 따라 천연에서 유래한 기능성 소재의 개발이 절실히 요구되는 실정임.
- 미국 다이어트 시장은 비만인구 증가와 건강에 대한 관심 증가로 매년 급성장하고 있으며, 2005년 약 486억달러의 시장규모를 형성하며, 2008년에는 약 610억 달러로 추정됨. 2005년 미국 시장조사 전문기관인 '마켓데이터 엔터프라이즈(Marketdata Enterprise, Inc)'가 발표한 '미국 체중감량 및 다이어트 시장(The U.S. Weight Loss & Diet Control Market)' 보고서에 따르면, 전체 인구에 25%에 달하는 미국인들이 현재

미국 체중감량 및 다이어트 관련 세부 시장규모

(단위 : US\$ 10억)

구 분	2002	2003	2004	2005	2008 F
다이어트 음료 (Diet Soft Drinks)	14,86	16,58	17,08	18,00	22,98
인공 감미료 (Artificial Sweeteners)	1,79	1,99	2,06	2,17	2,77
헬스 클럽 (Health Club)	13,1	14,1	15,1	16,3	19,72
상업용 체중감량 센터 (Commercial Weight Loss Center)	1,71	1,71	1,83	2,02	2,60
저 칼로리 식품 (Low cal/diet food)	2,40	2,23	2,21	2,37	2,69
식사 대용품 (Meal Replacements)	1,41	1,11	1,05	1,18	1,51
메디컬 프로그램 (Medical Program)	1,73	1,76	1,84	1,95	2,56
- 체중감량 수술(Bariatric surgery)	1,57	2,57	3,50	2,97	4,12
- 다이어트 약물 (Diet Drugs)	0,505	0,434	0,413	0,415	0,715
- 저열량 식이요법 다이어트 프로그램 (VLCD/LCD programs)	0,277	0,310	0,343	0,384	0,501
관련 서적, 비디오(Diet book/video)	1,38	1,47	1,57	1,67	20,1
전체 시장 규모	39,84	43,68	46,35	48,63	60,96

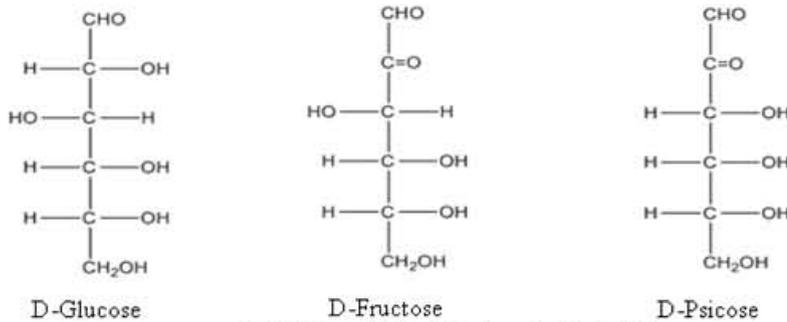
주 : Marketdata Enterprises, Inc.

체중감량 시도 및 다이어트를 하고 있는 것으로 파악되었음. 시장규모가 큰 시장은 '다이어트 음료' 시장으로 180억 달러 규모의 시장을 형성하고 있으며, '저 칼로리 식품'과 '다이어트용 인공감미료' 시장도 각각 20억 달러 이상의 시장규모를 기록하고 있음.

- 일본의 기능성 식품 시장에서는 2006년 다이어트식품이 기능성 건강식품의 최대 규모(2006년 1,071억 엔, 2004년 대비 4.7% 증가)를 차지함. 맛을 희생시키지 않으면서 저당, 저지방화와 함께 새로운 맛을 만들어낸 상품이 시장에서 성공을 거두고 있음. 저당 가운데 서도 최고에 있는 sugarless 식품의 시장이 최근에 급속히 성장하고 있음

2. 전망

- 사이코스는 사탕무, 밀, 이테아(Itea plant) 등에 존재하나, 자연계에 존재하는 양이 매우 적어 희소당(rare sugar)으로 분류되었기 때문에, 생물학적 기능 및 생리학적인 영향 등과 관련된 연구들은 거의 이루어 지지 않음.
- 화학적인 구조는 과당(D-fructose)의 C-3에서 epimer (분자량: 180.156)를 이루었으나, 설탕과 비교하여 감미는 70% 정도인데 비해 대사에너지는 약 0.3%로 매우 낮으므로 대체당으로 이용 시 함비만, 항당뇨 등의 기능성에 효능이 있을 것으로 기대함.



포도당, 과당, 사이코스의 구조

- 본 연구팀은 이전 연구에서 과당에서 사이코스 시럽을 생산하는 균주를 자연계에서 스크리닝 하여 활성이 뛰어난 신규한 균주를 확보 하고 있음.
- 현재 생물학적 반응인 균체 반응 최적화 연구를 통하여 실험실 수준에서 사이코스 시럽을 생산 하는 연구 역량을 가지고 있음.
- 산업화를 앞당기기 위해서는 기능성 인증을 받기 위한 연구를 동시에 실시하여야 함. 기능성 인정으로 건강 기능식 제품 적용 시 사이코스 시럽의 특징인 비만억제 효과와 감미 기능을 부각시켜 제품의 응용측면에서 제한점이 없는 제품 형태로써 비만 어린이 또는 다이어트를 원하는 여성의 기호에 맞는 형태의 시럽형, 분말형 (우유나 디저트류에 첨가하여 섭취 할 수 있음)이나 츄어블정 형태로 제품을 개발 할 수 있음.

● 제중조절용 조제식품

- 웨이크, 시리얼, 바에서 약 10%, 쿠키에서 약 30~50%, 음료에서 약 5%를 차지하는 당류를 사이코스 시럽으로 대체함으로써 관능 품질을 동등 이상의 수준으로 유지하되 칼로리를 낮춰 개선

- 제한적 칼로리를 구현하기 위하여 관능, 포만감이 부족했던 기존 제중조절용 조제식품의 한계점을 사이코스 시럽으로 대체 및 개선하여 극복하고, 지방생성 억제 기능성으로 차별화된 제품을 개발할 것으로 기대됨

● 프리미엄 디저트 홈메이드 프리믹스 제품

- 아이스크림, 브라우니 두 제품의 2011년 2월 출시 이후, 현재(2013년 4월)까지 매출액은 각각 브라우니 2종은 35.1억원, 아이스크림 4종은 36.8억원으로 당사 프리믹스 매출액의 큰 비중을 차지함

- 아이스크림, 브라우니 두 제품 배합에 약 30~35% 차지하는 당을 사이코스 시럽으로 대체함으로써 관능 품질은 동등 이상의 수준으로 유지하되 칼로리는 낮추고, 체지방 축적을 억제하는 프리미엄 디저트용 프리믹스는 소비자의 니즈에 부합할 수 있음
- 기존 디저트류에 대한 부정적인 측면을 개선한 프리미엄 디저트용 프리믹스는 체중관리에 민감한 소비자층까지 어필할 수 있는 제품군으로 성장할 것으로 기대됨
- 우리사 제품적용을 발판으로 식품 적용 시장을 넓힐 수 있으므로 비만억제 기능성 인정 원료의 시장에 판도를 바꿀 수 있다고 기대됨.

3. 국내 연구 개발의 필요성

건강 기능식, 체중 조절식, 저칼로리 식품에도 맛을 포기 할 수 없음.

- 비만억제를 위한 건강 기능식 식품용 제품 원료 중 다이어트 기능을 가진 것으로 발표된 식품 소재는 가르시니아 캄보지아, 오메가 3, 녹차 추출물 등이 있음. 이들은 이미감 있는 분말, 기름, 쓴맛을 지닌 분말로써 제품 적용에 한계성이 있는 원료임
- 사이코스 함유 시럽은 감미도가 과당과 비슷하므로 기존 제품의 맛에 대한 한계점을 극복 할 수 있으며, 어린이, 여성용 타겟으로 복용이 편리한 형태로 출시 할 수 있음.
 - 제품 제형으로 시럽류, 분말류, 츄어블 정제류로 개발.



- 체중 조절식 식품 또는 저 열량 식품 섭취 시 미국 유럽과는 차별적으로 일본이나 우리나라는 맛에 대한 기초도가 크므로 맛을 해치지 않는 범위 내에서 저당화, 저지방화가 이루어진 식품이 시장에서 큰 성장을 이룸.
- 식품의 저당화에 의한 저칼로리 식품화를 추구했을 때 저칼로리당으로 현재까지 아스파탐 혼합제제, D-말티톨 혼합제제, 슈크라로스, 당알콜(sorbitol, isomalt, xylitol, mammitol, maltitol syrup, lactitol 등)등이 사용되고 있음. 당알콜은 감미도가 설탕보다 떨어지는 단점이 있으나 저칼로리이며, 이외의 당은 고감미 감미료이나 감미질이 설탕에 비하여 떨어지며, 부작용등을 가지고 있음.
- 현재 소비자들의 요구는 설탕, 과당과 감미질에서 비슷하며, 칼로리가 적은 대체당이 필요하며, 소재 자체의 칼로리 뿐 만 아니라 건강지향적인 기능성을 원하고 있음

명확한 기전 설명으로 비만을 예방할 수 있는 기능성당 소재를 원함.

- 회소당으로 산업화 되어진 타가토스는 감미질도 우수하며, 칼로리가 거의 없는 특징이 사이코스와 비슷함. 타가토스는 당 분해 효소를 억제 시켜 혈당을 억제하는 기전으로 당뇨병에 효과적인 당으로 알려져 있음.
- 이와 같이 기전의 정확성은 소비자가 식품을 선택하는데 매우 중요 함. 사이코스 역시 혈당 억제는 물론이고 체지방 억제 효과에 효능이 있다고 보고 되어져있으나 그 기전이 정확히 밝혀져 있지 않아 아직 학계에서도 여러 의견이 나오고 있음.
- 이러한 이유로 본 연구팀은 사이코스의 기능성을 정립하기 위하여 동물, 인체 실험을 통하여 체지방 억제 효과의 기전을 밝히고, 식품산업에서 대사성당의 비만에 대한 대책의 한 부분을 사이코스 개발에 의해 해결하고자 함.
- 기존의 항비만 효능 평가 논문의 경우, 단순히 체중 감소 및 체지방 감소에 대한 내용만 실험하였으므로, 체중 감소 기전에 대한 연구가 이루어지지 않음. 본 연구과제에서는 인체적용시험을 통해 생물학적인 연관성(biological relevance) 확인을 통해 명확한 확립을 정립함. 본 연구를 통해 건강기능식품 개별인정을 획득할 수 있는 명확한 근거를 제시할 수 있음.

회소당 시장 진출시 사이코스 시럽은 가격적으로 유리

- 기존의 회소당은 원료 물질이 매우 비싸기 때문에 높은 가격으로 생산 될 수밖에 없었음. 그러나 회소당 연구에 의하여 생산방법에서 비교적 저렴한 기질을 이용할 수 있는 능력을 가진 전환 효소들이 연구 발견되고 있음.
- 그 중 활성이 뛰어난 L-arabinose isomerase를 이용하여 갈락토스를 기질로 타가토스를 생산하는 생산방법이 처음으로 산업화되었음. 그러나 갈락토스의 원료가 되는 유당 역시 식품산업에 적용하기에는 고가인 원료로써 타가토스의 원가를 올리는 원인이 되어 기능성 식품소재로 적용시 가격적인 측면에서 불리한 측면에 있음.
- 사이코스의 개발은 이러한 전례를 바탕으로 본사의 주력 생산품인 액상과당을 원료로 사용하여 분리 결정 공정을 생략한 시럽 형태의 사이코스 함유 시럽을 개발 하고 있음. 이러한 제품 컨셉은 시장 가격을 약 1000~2000원/kg 정도에 형성시킬 수 있으며, 이는 타가토스 8000원/kg 시장과 비교해서 광범위한 적용 분야를 가능하게 하는 기능성 소재 산업화에 가능성이 큼.
- 사이코스 시럽의 경제적 이점과 증명된 기능성을 모두 이용한다면 비만 억제 기능성 소재로써 넓은 시장에 응용할 수 있을 것임.

3절. 연구개발 범위

1. 사이코스의 지방축적 억제기능 평가를 위한 인체시험수행

- 과체중 혹은 비만인 성인에서 12주간의 사이코스 섭취가 체내 지방 감소에 미치는 효과를 평가하고 이차적으로 체중, 허리둘레, BMI 등의 감소와 지질 농도에 미치는 영향을 평가하고 이상반응, 임상병리 검사 등에 대한 안전성을 평가함

2. 동물시험에 의한 사이코스 지방축적 억제 기작설명

가. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 6주령 C57BL/6J-ob/ob 마우스 30마리를 분양 받아 사육함. 사육환경에 적응시키기 위해 7일 동안 예비사육한 후 난괴법에 의해 총 3군으로 나누어 총 12주간 사육함. 실험군은 일반식이군(비만대조군), 시료저농도군(실험군I), 시료고농도군(실험군II)으로 나누며 시료는 사이코스 시럽으로 제공량은 고형분으로 100 mg/kg BW 와 200mg/kg BW에 해당되도록 하여 경구공급함. 실험동물의 기본(일반)식은 AIN-93G를 사용함. 실험기간 동안 체중은 매주 1회, 식이섭취량은 매주 3회 일정한 시간에 측정함.

나. 지방조직 무게, 지방세포 크기 측정

복강 지방조직, 부고환지방조직, 신장후복막하지방을 적출한 후 이들의 무게 및 지방세포 크기 등을 측정함.

다. 간조직의 TG 함량 및 지방산 조성 측정

간조직에 축적된 중성지방 함량과 지방산 조성을 측정함. 이를 위해 간조직을 취하여 균질화한 후 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}(2:1)$ 용액을 이용하여 지질을 추출함. 추출한 지질의 TG 함량은 상업용 enzymatic kit(Asan Co., Korea)를 사용하여 비색 정량함. 추출한 지질의 지방산 조성은 GC를 이용하여 분석함.

3. 사이코스 제품화연구

가. 사이코스 시럽의 기능성 연구를 진행하기 위하여 다양한 함량의 시럽 형태별 대량생산 조건 구축

나. 사이코스 시럽 제품 적용 및 개발

2장. 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

1절. 사이코스(D-psychose)의 항비만 효능

○ 사이코스의 체중 및 당대사에 대한 선행연구들이 일부 보고된 바 있으나 대부분 동물을 대상으로 한 연구들이며 사람을 대상으로 장기간의 체중변화 및 안전성을 평가한 연구는 아직까지 없다. 또한, 체성분 및 지방간에 대한 변화를 영상학적으로 분석한 연구도 아직까지 보고된 바 없다. 지금까지 보고된 사이코스의 항비만, 안정성에 대한 연구들은 아래와 같다.

1. Chung 등 (2012)에 의하면, Sprague-Dawley종의 흰쥐에 5%의 사이코스를 고지방 식이에 혼합하여 4주간 공급 후, 체중증가량과 내장지방량이 감소한 것을 관찰하였는데, 이는 지방세포의 분화를 저해 하는 것에 기인한 것으로 사료하였다. 이를 뒷받침하는 근거로, 사이코스를 처리한 C57BL/6 mouse로 부터 분리한 지방전구세포 (Mesenchymal Stem Cell) 의 분화를 저해하는 것을 확인하였다.

2. Matsuo 등 (2001)은 수컷의 Wistar rat에서 5 %의 cellulose, D-glucose, 과당, 사이코스를 각각 28일간 섭취 시켰다. 그 결과, 식이 사이코스는 체중 변화에는 영향을 미치지 못하였으나, 복부 주위 지방량이 유의적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 간의 지방합성효소(hepatic lipogenic enzyme activity)인 glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH, EC1.1.8), fatty acid synthase (FAS, EC2.3.1.85)의 감소로 인해 지방축적을 감소시킨 것으로 예측하였다.

3. 간의 지방합성효소 (Hepatic lipogenic enzyme) 활성의 감소; Yamada 등 (2010)의 연구에 의하면 수컷의 Wistar rat에서 22.1% high fructose corn syrup diet (HFCS) 또는 0, 1.3, 2.6, 3.9, 5.2% 사이코스를 5주 동안 섭취시킨 결과, HFCS군과 비교하여 총 지방 및 신장 주변 지방의 함량이 감소하는 것을 확인하였다. 이와 달리 Matsuo 등 (2004)의 연구에서는 5 % 사이코스를 고지방과 함께 16주간 섭취한 결과, 체지방뿐만 아니라, 렙틴, 아디포넥틴, TNF- α 와 같은 아디포카인 호르몬에는 차이가 없는 것을 확인하였다. 그러나, 본 연구에서 사용된 일반식이(총 에너지의 5%가 지방)와 고지방식이(총 에너지의 25%가 지방)는 비만을 유도하기 위한 고지방식이로는 불충분하였기 때문이라고 판단된다. 왜냐하면 ICLAS(International Committee for Laboratory Animal Science)에서 권장하는 일반식이인 AIN-93(American Institute of Nutrition)에서 제시하는 일반식은 지방이 총 에너지의 약 19 %인데 반해 본 시험에서 사용한 식이는 지방이 5%로 매우 낮기 때문이다. 이에 반해, Hossain 등 (2012)의 연구에서는 Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats에서 렙틴과 아디포넥틴을 측정 결과, 사이코스 섭취군에서 렙틴이 유의적으로 감소한 것을 확인하였다.

- 위의 연구들을 토대로 요약하면, 사이코스는 간의 지방합성효소(hepatic lipogenic enzyme activity)인 glucose 6-phosphate dehydrogenase와 fatty acid synthase의 활성을 저해함으로써, 지방의 생성의 감소하였으며, 지방 생성 감소로 인해, 아디포카인 호르몬인 렙틴의 함량도 감소한 것으로 예측할 수 있다. 따라서 사이코스는 이성화당에 대해 체지방축적 억제효과를 가지며 우수한 항비만작용을 가진 소재로서 유용하다고 생각된다.

2절. 사이코스(D-psicose)의 안전성 평가

- 사이코스 경구섭취의 안전성에 대한 선행연구 결과를 표 1에 제시하였다. 치사량을 알아보기 위해 흰쥐를 대상으로 8~20g/kg 일회 경구 투여 후 관찰한 연구에서 본 연구에서 투여하는 사이코스 용량의 80 배에 달하는 15.8~16.3g/kg 이 치사량(LD50)으로 추정되었다. 장기적인 안전성을 관찰한 또 다른 연구들에서 18개월 동안 1,280mg/kg을 매일 섭취하여도 간독성, 신장독성 등의 혈액학적 검사에 이상소견을 보이지 않았다. 사람에서 과당과 함께 식품첨가물로 복용한 후 경미한 두드러기가 발생한 증례가 보고된 바 있으나 건강한 성인을 대상으로 한 연구에서 12주간 하루 15g의 사이코스를 복용하여도 혈압, 혈당, 간기능, 콩팥기능, 인슐린 저항성, 소변검사에 이상소견이 보이지 않았다.

사이코스(D-Psicose) 안전성에 대한 선행연구 결과

No	시험물질	시험동물	투여 방법	섭취량	기간	관찰항목	주요결과	Ref
1	D-psicose , Sucrose	Wistar rats(3wk old, Male)	oral	3% D-psicos e, 1.67 g/kg	90일	BW, weight gain, , tissue weight, food intake, CBC with differential count, blood glucose, Triglyceride, total cholesterol, HDL, LDL, AST, ALT, BUN, Cr, protein, albumin	대조군, 실험군 모두에서 사이코스 투여 후 이학적 검사 및 생화학검사에 이상소견이 관찰되지 않음	1
2	D-psicose , Sucrose	Wistar rats(3wk old, Male)	oral	3% D-psicos e, 1.28 g/kg	12~18 개월	BW, weight gain, , tissue weight, Abdominal adipose tissue weight, food intake, CBC with differential count, blood glucose, Triglyceride, total cholesterol, HDL, LDL, AST, ALT, BUN, Cr, protein, albumin, FFA	대조군(Sucrose) 과 비교하여 체중과 내장지방은 감소하였으나 이학적 검사 및 생화학검사에 이상소견이 관찰되지 않음	2
3	D-psicose	Wistar rats(3wk old, Male)	oral	8, 11, 14, 17, and 20g/kg	1회	LD50 values - The calculated LD50 values were 16.3g/kg by the Behrens-Karber method and 15.8g/kg by the Litchfield-Wilcoxon method	- Three rats receiving 14g/kg, three rats receiving 17g/kg - eight rats receiving 20g/kg of D-psicose died within 2d after administration	3
4	D-psicose , D-glucos e	Human (healthy, n=30)	oral	15g/day	12주	Fasting blood glucose, SBP, DBP, blood biochemical parameters, hematological parameters, urinary parameters, insulin	대조군, 실험군 모두에서 사이코스 투여 후 이학적 검사 및 생화학검사에 이상소견이 관찰되지 않음	4

[D-Psicose safty Reference]

- 1) Matsuo T, Ishii R, Shirai Y. [The 90-day oral toxicity of d-psicose in male Wistar rats.](#) J Clin Biochem Nutr. 2012 Mar;50(2):158-61.
- 2) Yagi K, Matsuo T. [The study on long-term toxicity of d-psicose in rats.](#) J Clin Biochem Nutr. 2009 Nov;45(3):271-7.
- 3) Matsuo T, Tanaka T, Hashiguchi M, Izumori K, Suzuki H. [Effects of oral acute administration and subchronic feeding of several levels of D-psicose in rats.](#) J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 2002 Dec;48(6):512-6.
- 4) Hayashi N, Iida T, Yamada T, Okuma K, Takehara I, Yamamoto T, Yamada K, Tokuda M, 2010 [Study on the postprandial blood glucose suppression effect of D-psicose in borderline diabetes and the safety of long-term ingestion by normal human subjects,](#) Biosci Biotechnol Biochem 74(3):510-9
- 5) [Kiyoshi Nishioka, Ichiro Katayama, Shigeharu Sano. URTICARIA INDUCED BY D-PSICOSE.](#) 1983 Dec;322(8364), Pages 1417-1418

3장. 연구수행 내용 및 결과

코드번호

D-05

1절. 인체시험

○ 과체중 혹은 비만인 성인을 대상으로 사이코스 섭취로 인한 체지방 감소에 대한 효과와 안전성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중 맹검, 위약 대조 인체적용시험

1. 인체적용시험목적

가. 1차 목적

과체중 혹은 비만인 성인을 대상으로 12주간의 사이코스(12, 6g 두 가지 용량군) 섭취가 체내 지방 감소에 미치는 효과 비교.

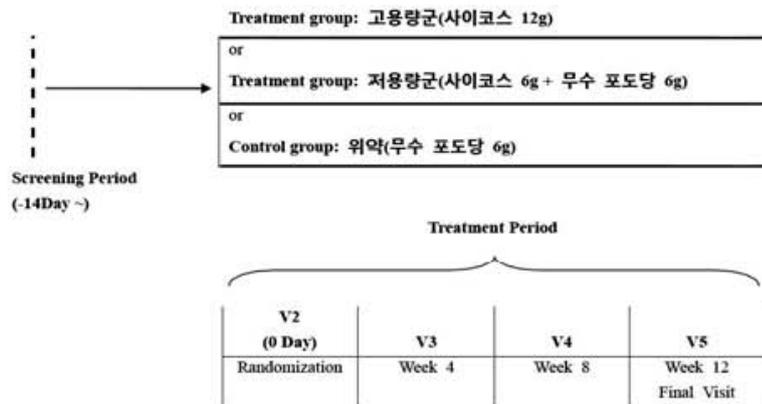
나. 2차 목적

- (1) 12주간의 사이코스 섭취를 통한 BMI(Body mass index), 체중, WHR(Waist Hip Ratio) 변화 평가.
- (2) 12주간의 사이코스 섭취를 통한 체지방량의 변화 평가.
- (3) 12주간의 사이코스 섭취를 통한 Total/HDL/LDL-Cholesterol, TG의 변화평가.
- (4) 12주간의 사이코스 섭취를 통한 당지표(FBS, Insulin, HbA1c)의 변화 평가.
- (5) 12주간의 사이코스 섭취를 통한 Leptin, Adiponectin의 변화 평가.

2. 인체적용시험방법

- 본 연구의 목적과 연구방법 등에 대한 상세한 설명을 듣고 서면 동의한 자를 대상으로 스크리닝 검사를 실시한 후 선정/제외 기준에 적합한 자를 선정하였다.
- 스크리닝을 통해 대상자로 선정된 자를 고용량군, 저용량군 또는 대조군으로 무작위 배정하였다. 고용량군의 경우 사이코스 12g을 섭취하였으며, 저용량군의 경우 사이코스 6g과 무수 포도당 6g을 섭취, 대조군의 경우 무수 포도당 12g을 섭취하였다.
- 무작위배정일(0Day) 다음날부터 섭취하도록 하였으며, 12주 동안 식사와 함께 아침, 저녁 2회 음용수와 함께 섭취하도록 하였다.
- 무작위배정일(0Day)에 DXA 측정 등의 유효성 평가 항목 및 안전성 평가 항목들을 실시하였으며, 인체적용시험용 제품 섭취 시작 시점을 기준으로 4주, 8주와 12주에 외래방문을 통하여 해당 방문에 대한 평가 항목들을 실시하였다.
- 또한 인체적용시험 기간 동안 한국어판 국제 신체활동설문지(IPAQ)를 이용하여 대상자들의 평소 신체활동량을 조사하였다.

- 본 인체적용시험 기간 동안 평상시 신체활동량과 비슷하게 활동량을 유지하도록 교육을 실시하였다. 각 방문 시 대상자들이 기록한 일지를 이용하여 식사섭취량을 조사하였다. 식사섭취량은 역시 평소 식사와 비슷하게 섭취하되 과식하지 않도록 교육을 실시하였다.



가. 대상자수

과체중 혹은 비만인 성인 남녀 99명(고용량군: 33명, 저용량군: 33명, 대조군: 33명)

ITT 분석대상군: 99명(고용량군: 33명, 저용량군: 33명, 대조군: 33명),

PP 분석대상군: 89명(고용량군: 30명, 저용량군: 29명, 대조군: 30명)

나. 선정기준

- (1) 만 19세 이상 65세 이하의 성인 남녀
- (2) BMI가 23kg/m²이상 30kg/m²미만의 과체중 성인 남녀
- (3) 가임기 여성의 경우, 스크리닝 시 임신반응검사서 음성인 자
- (4) 조절이 가능한 환자(당뇨 혹은 고혈압 등)
- (5) 본 인체적용시험에 대하여 자세한 설명을 들은 후, 자의로 참여를 결정하고 주의사항을 준수하기로 서면 동의한 자

다. 제외기준

- (1) 스크리닝 이전 3개월 이내에 4kg 이상 감소한 환자
- (2) 갑상선 기능 저하증 등 기질적 비만 원인 환자
- (3) 스크리닝 이전 6개월 이내에 심질환(심부전, 협심증, 심근경색, 관상동맥, 우회로술, 혈관확장술)이 있는 환자
- (4) 스크리닝 시, 심한 간질환(ALT, AST, alkaline phosphatase= 정상 상한치의 3배)이 있는 환자
- (5) 스크리닝 시, 심한 신장질환(creatinine > 2.0mg/dL)이 있는 환자

- (6) 스크리닝 이전 1년 이내에 신석증(nephrolithiasis)의 병력이 있는 환자
 - (7) 현재 췌장질환이 있거나 병력이 있는 환자
 - (8) 만성 흡수 불량 증후군 환자 또는 담즙분비정지 환자
 - (9) 제 1형 당뇨병인 환자
 - (10) 최근 3개월 이내에 병용금지약물을 복용한 환자
 - 중추 신경계용약 또는 중추성 체중감량제
 - Fish oil supplements, 경구용 레티노이드 제제, 항응고제 (아스피린은 복용 가능), 디곡신, 부정맥치료제
 - 체중에 영향을 미칠 수 있는 약물 (체중감소제, 식이보조제, 인슐린, 경구용혈당강하제, 경구용 스테로이드, 갑상선호르몬, 싸이프로헵타딘, 페노다이아진, 경구용 피임제)
 - 암페타민, 심환제 항우울제, 신경이완제, 항세로토닌약, 바비투레이트, 항정신병약
 - 약물의 흡수, 대사 또는 배설에 영향을 줄 수 있는 약물
 - (11) 스크리닝 이전 3개월 이내에 각각 일주일에 5~6일 이상을 고혈압 치료로서 β -blocker 또는 이뇨제를 복용한 경험이 있는 환자
 - (12) 체중감량을 위해 위장관 수술을 받은 경험이 있는 환자
 - (13) 수술 후 장유착의 경험이 있는 환자
 - (14) 악성종양 환자 또는 기왕력이 있는 환자(단, 성공적으로 제거된 기저세포 피부암 환자 제외)
 - (16) 신경 또는 정신학적으로 중요한 병력이 있거나 현재 질환을 앓고 있는 환자
 - (17) 다식증(bulimia)이 있거나 완하제를 남용하는 환자
 - (18) 알코올 및 약물 남용의 과거력이 있는 환자
 - (19) 사이코스 또는 구성성분에 과민증이 있는 환자
 - (20) 시험기간 중 효과적인 피임방법을 사용할 것을 동의하지 않은 가임기 여성(단, 경구용 피임제의 복용은 불가)
 - (21) 임부 또는 수유부
 - (22) 최근 3개월 이내에 다른 인체적용시험에 참여한 경험이 있는 환자
 - (23) 인체적용시험담당자의 소견으로 볼 때, 인체적용시험 참여에 부적합하다고 판단한 자
- 라. 시험방법:** 1일 2회 물 100ml에 타서 경구 섭취
- 사이코스 고용량: 사이코스 12g/d

- 사이코스 저용량: 사이코스 6g/d, 무수 포도당 6g/d

- Placebo: 무수 포도당 12g/d

마. 투약기간: 12주

사. 유효성 평가기준

(1) 1차 유효성 평가변수

(가) DXA로 측정된 체지방률(Body fat(%)): 기저 시점 대비 12주 후의 변화량

(나) 방문 2(Visit2)와 종료 방문(Visit5) 시점에서 미국 Lunar사의 prodigy DXA를 사용하여 체지방률(Body fat ratio)과 체지방량(Body fat)을 측정하였다

(2) 2차 유효성 평가변수

(가) DXA로 측정된 체지방량(Body fat(kg)) 변화

(나) 체중

기저 시점 대비 각 방문시점의 체중의 변화율과 변화량, 기저치 대비 체중이 5% 이상 감소된 대상자의 비율

(다) BMI(Body mass index), Waist/Hip ratio(WHR)의 변화율

스크리닝 방문(Visit1) 시점에서 체중(Body weight)과 신장을 측정하였으며, 방문 2(Visit2), 방문3(Visit3), 방문 4(Visit4)와 종료 방문(Visit5) 시점에서 체중, 허리둘레 및 엉덩이둘레를 측정하였다. WHR은 측정된 허리둘레와 엉덩이둘레로 계산하였으며, 신장은 스크리닝 방문에서만 측정된 후 체중과 신장을 이용하여 BMI(Body mass index)를 구했다. 또한 대상자를 평평한 바닥에 세운 후 줄자를 이용하여 허리와 엉덩이 둘레를 측정하였다. 허리둘레의 경우 대상자의 늑골 하단부와 장골능 상부의 중간부위 지나게 하여 둘레를 측정하였으며(WHO 권고기준), 엉덩이 둘레의 경우 엉덩이에서 가장 돌출된 부위를 지나 둘레(가장 넓은 부위의 둘레)를 측정하였다.

(라) 당지표의 변화

(마) CT: 내장지방량 및 간내 지방침착 정도의 변화율 - 방문 2(Visit2)와 방문 5(Visit5) 시점에서 내장지방 면적, 피하지방 면적, 총 복부지방 면적, 내장지방/피하지방 면적비를 측정하기 위해 복부 CT 검사를 실시하였다. 복부 CT 영상의 요추 4~5번 위치를 기준으로 Hounsfield number -190~-30에 속하는 부위에서 내장지방 면적과 복부 총 지방면적을 측정하였다. 복부와 배부의 근육을 경계로 안쪽을 내장지방 조직으로, 바깥쪽을 복부피하지방 조직으로 나누며, 복부피하지방 면적은 총 복부지방 면적에서 내장지방 면적을 차감하여 계산하였다. 또한 간 내 지방침착 정도를 평가하기 위해 기저시점 대비 12주 후의 간의 HU, 비장의 HU, 간과 비장의 HU 차이(Liver minus Spleen), 간과 비장의 HU비(Ratio Between Liver and Spleen)을 측정하였다. 간과 비장을 모두 포함한 1개의 비조영증강 복부 CT 영상에서 간의 우엽과 비장에서 혈관을 피해 균질적인 곳으로 선택한 관심영역(regions of interest, ROI)에서 CT attenuation

values(Hounsfield units)를 3회 측정하여 그 평균값을 각각의 CT attenuation number 로 하였다(Siegelman and Rosen 2001; Boyce, Pickhardt et al. 2010). 이때 각 관심영역의 크기는 120mm²으로 동일하게 지정하였다(Azuma, Kadowaki et al. 2009).

(바) Leptin: 기저 시점 대비 12주 후의 Leptin의 변화

(사) Adiponectin: 기저 시점 대비 12주 후의 Adiponectin의 변화

아. 통계분석방법

(1) 유효성 평가

기저 시점 대비 12주 후의 변화량을 산출한 후 기술통계량(평균, 표준편차, 중앙값, 최솟값, 최댓값)을 정리하고, 자료의 정규분포 여부를 검정하여 ANOVA 또는 Kruscal-Wallis test를 이용하여 세 군간 비교 검정하였다.

군간 유의한 차이가 있는 경우 Tukey-Kramer 방법을 통해 다중비교를 실시하며, 기저 시점과 비교 시점에서의 군내 평균 변화량에 차이가 있는지 알아보하고자 paired t-test 또는 Wilcoxon's signed rank test를 이용하여 비교 분석하였다. 범주형 자료의 경우 기술통계량(빈도, 백분율)을 제시하고, Chi-square test 또는 Fisher's exact test를 이용하여 세 군간 비교 검정하였다.

(2) 안전성 평가

(가) 이상반응

시험기간 중 발생한 모든 이상반응에 대하여 MedDRA(medical dictionary for regulatory activities)를 이용하여 코드화하고, 이상반응의 발현율(primary terms & system organ classes), 중대한 이상반응의 발현율을 처리군별로 빈도, 백분율을 제시하였고, 군간 이상반응 발현율에 차이를 보이는지 알아보하고자 Chi-square test 또는 Fisher's exact test를 통하여 비교하였다.

(나) 활력징후, 이학적 검사 및 실험실적 검사

유효성 평가 변수와 동일하게 분석을 진행하였다.

인체적용시험 일정표

Visit 항목	Screening*	Baseline	Treatment Period		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4	Visit 5
	-14Day ~	0Day	4W [†]	8W [†]	12W [†]
서면동의서	●				
인구학적 조사	●				
병력 조사	●				
신체활동량 기록 방법 교육 및 평가 [‡]		●	●	●	●
식사섭취량 기록 방법 교육 및 평가 [§]	●	●	●	●	●

대상자 적합성 평가	●					
임신검사(가임기 여성만 해당)	●	●			●	
심전도 검사	●					
유효성 평가	신체계측	●	●	●	●	●
	DXA ¹⁾		●			●
	혈중지질 검사 ²⁾	●	●			●
	당지표 검사 ³⁾	●	●			●
	CT ⁴⁾		●			●
	Leptin ⁵⁾		●			●
	Adiponectin ⁵⁾		●			●
안전성 평가	이학적 검사	●	●	●	●	●
	활력징후	●	●	●	●	●
	실험실적 검사 ⁶⁾	●	●			●
	이상반응 확인		●	●	●	●
무작위배정		●				
선행 및 병용 약물 조사	●	●	●	●	●	
인체적용시험용 제품 제공		●	●	●		
순응도 평가			●	●	●	

*: 스크리닝 기간은 최대 14일까지 허용된다.

†: 지정된 날짜의 ± 7일까지 허용된다.

‡: 한국어판 국제 신체활동설문지(IPAQ)를 이용하여 신체활동량을 조사하며, 평상시 신체활동량을 유지하도록 교육을 실시한다.

§: 식사섭취량 일지를 이용하여 식사섭취량을 조사하며, 식사섭취량은 평소 식사와 비슷하게 섭취하되 과식하거나 굶지 않도록 교육을 실시한다.

1) DXA: Body fat, Body fat ratio

2) 당지표 검사: FBS, Insulin, HbA1c

3) CT: 내장지방량 및 지방간 측정

4) Leptin, Adiponectin: 외부 업체 분석실에 가져가서 분석하도록 한다.

5) 실험실 검사: 대상자는 채혈하기 전날 금식한 상태로 내원해야 한다.

(1) CBC: WBC with diff count(Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil), RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelet

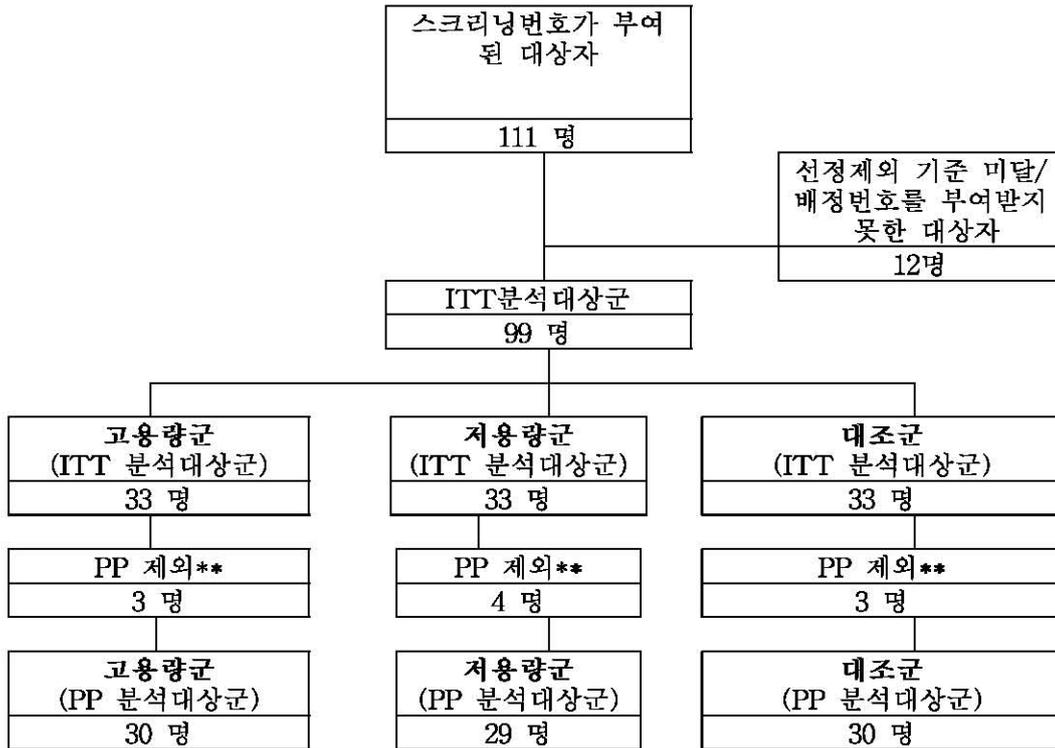
(2) BC: Phosphorus, BUN, Creatinine, Total Bilirubin, Alkaline phosphatase, AST, ALT, LDH, sodium, potassium, chloride, γ-GTP, CRP

소변검사: Color, Glucose, Occult blood, urobilinogen

3. 결과

(가) 대상자

본 인체적용시험은 총 111명의 대상자가 모집되었으며, 스크리닝 탈락된 대상자 12명을 제외한 99명이 ITT 분석대상군이 되었다. 본 연구의 적합성에 만족되고, 인체적용시험 계획서에 순응하여 인체적용시험을 완료한 대상자 89명을 PP 분석대상군으로 하였다.



나. 인구학적 조사: Baseline characteristics

수축기 혈압은 고용량군이 평균 $114.90 \pm 12.79\text{mmHg}$, 저용량군이 평균 $125.15 \pm 10.31\text{mmHg}$, 대조군은 평균 $124.21 \pm 11.77\text{mmHg}$, 이완기 혈압은 고용량군이 평균 $74.88 \pm 7.27\text{mmHg}$, 저용량군이 평균 $74.06 \pm 8.17\text{mmHg}$, 대조군은 평균 $76.24 \pm 7.95\text{mmHg}$, 맥박은 고용량군에서 평균 $76.24 \pm 9.02(\text{회/분})$, 저용량군에서 평균 $77.64 \pm 8.16(\text{회/분})$, 대조군은 평균 $75.64 \pm 8.74(\text{회/분})$ 로 나타났다. 모든 항목에서 대상자 분포의 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

키는 고용량군이 평균 $159.69 \pm 9.34\text{cm}$, 저용량군이 평균 $163.17 \pm 8.15\text{cm}$, 대조군은 평균 $162.00 \pm 7.87\text{cm}$ 로 나타났으며, 체중은 고용량군이 평균 $68.72 \pm 11.01\text{kg}$, 저용량군이 평균 $71.21 \pm 8.90\text{kg}$, 대조군은 평균 $69.15 \pm 7.86\text{kg}$, BMI는 고용량군은 $26.68 \pm 1.94\text{kg/m}^2$, 저용량군은 $26.68 \pm 1.97\text{kg/m}^2$, 대조군은 $26.26 \pm 1.28\text{kg/m}^2$ 으로 나타났다. 모든 항목에서 대상자 분포의 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

다. 1차 유효성 평가

(1) 체지방률의 변화

ITT 분석대상군 99명을 대상으로 기저 시점 대비 12주 시점의 체지방률 평균 변화량은 고용량군의 경우 $0.23 \pm 1.64(\%)$ 증가, 저용량군의 경우 $0.14 \pm 1.00(\%)$ 증가, 대조군의 경우 $1.20 \pm 2.24(\%)$ 증가하였으며, 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=0.0111). 다중비교 결과 저용량군과 대조군에서 유의한 차이를 보였으며, 대조군에서 기저 시점 대비 12주 방문 시점에서의 전 후 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=<.0001).

라. 2차 유효성 평가

(1) BMI, 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, WHR 변화량(ITT)

ITT 분석대상군 99명을 대상으로 BMI, 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레, WHR의 변화량을 확인한 결과, 허리둘레 평균 변화량은 기저 시점 대비 12주 시점에서 고용량군은 $2.37 \pm 2.64\text{cm}$ 감소, 저용량군은 $1.56 \pm 2.56\text{cm}$ 감소, 대조군은 $0.52 \pm 3.03\text{cm}$ 감소하였으며, 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=0.0461). 또한, 고용량군과 저용량군의 기저 시점 대비 12주 시점에서 전 후 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=<.0001, <.0001).

WHR 평균 변화량은 기저 시점 대비 12주 시점에서 고용량군은 0.02 ± 0.03 감소, 저용량군은 0.01 ± 0.02 감소, 대조군은 0.00 ± 0.04 로 변화가 없었으며, 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=0.0244). 또한, 고용량군과 저용량군의 기저 시점 대비 12주 시점에서 전 후 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=<.0001, 0.0073). 그 외 다른 항목에서는 기저 시점 대비 12주 시점에서의 평균 변화량의 세 군간 유의한 차이는 나타나지 않았다.

(2) DXA로 측정된 체지방량 (ITT)

ITT 분석대상군 99명을 대상으로 기저 시점 대비 12주 시점의 체지방량 Fat 항목의 평균 변화량은 고용량군의 경우 $0.25 \pm 1.34\text{kg}$ 증가, 저용량군의 경우 $0.16 \pm 0.91\text{kg}$ 증가, 대조군의 경우 $0.95 \pm 1.65\text{kg}$ 증가하였으며, 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=0.0358). 또한, 대조군의 경우 기저 시점 대비 12주 시점에서의 전 후 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=<.0001). Lean 항목의 평균 변화량은 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며, 대조군의 경우 기저 시점 대비 12주 시점에서의 평균 변화량이 $0.61 \pm 1.28\text{kg}$ 감소하여 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=0.0048).

(3) 당지표(ITT)

ITT 분석 대상군 99명을 대상으로 당 지표 검사 결과, Glucose, Insulin, HbA1c 모든 항목에서 기저시점 대비 12주시점의 평균변화량의 세군 간 차이는 유의하지 않았으며, 군내 전후차이도 통계적으로 유의하지 않았다.

(4) 복부 및 간 CT (ITT)

ITT 분석대상군 99명을 대상으로 검사한 복부 및 간 CT 검사 결과, 모든 항목에서 기저 시점 대비 12주 시점의 평균 변화량은 세 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다. 복부 CT 중 내장지방/피하지방 면적비 항목에서는 고용량군과 저용량군에서 모두 감소하여 기저 시점 대비 12주 시점의 전 후 통계적으로 유의한 차이를 보였다 (p-value=0.0018, 0.0072). 또한, 간 CT 중 대조군의 Liver HU 평균값, Liver - Spleen HU, Liver/Spleen HU 항목에서 모두 감소 경향을 보였으며 전 후 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p-value=0.0300, 0.0027, 0.0029).

(5) 복부 및 간 CT (PP)

ITT 분석대상군 99명을 대상 중 선정기준을 위반한 5명(제 2형 당뇨 4명, 고지혈증 약제 복용자 1명)을 제외한 2차 분석에서 내장지방량의 평균 변화량은 기저 시점 대비 12주 시점에서 고용량군은 $12.24 \pm 17.58 \text{ cm}^2$ 감소, 저용량군은 $6.26 \pm 11.01 \text{ cm}^2$ 감소, 대조군은 $2.69 \pm 17.27 \text{ cm}^2$ 증가하였으며, 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였다 (p-value=0.001). 또한, 간 CT 중 사이코스 복용군은 Liver HU 평균값, Liver - Spleen HU, Liver/Spleen HU 항목에서 모두 증가 경향을 보였으며 세 군간 변화량은 통계적으로 유의한 차이를 보였다 (p-value<0.001). 이러한 결과들은 사이코스의 내장지방 및 간내 지방축적을 억제하는 효과를 시사한다.

4. 고찰

가. 기저 시점 대비 12주 시점의 체지방률은 세 군 모두 평균 변화량은 모두 증가하였으나, 세 군에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 특히, 고용량군과 저용량군의 체지방률 증가량이 대조군에 비해 적었으며, 대조군은 기저 시점 대비 12주 시점의 체지방률의 증가가 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 허리둘레는 기저 시점 대비 12주 시점의 변화량에서 세 군 모두 감소하여, 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 고용량군, 저용량군이 대조군에 비해 더 감소한 경향을 보였으며, 전/후 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 허리-엉덩이 둘레 비(WHR)는 고용량군, 저용량군에서 기저시점 대비 12주 시점에 감소한 경향을 보였으나 대조군은 차이가 없었고, 각 군의 변화량은 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이러한 결과는 사이코스의 체지방 축적을 억제하는 효과뿐 아니라 내장지방을 감소시켜 복부비만을 개선하는 효과를 시사하는 것이다.

나. DXA로 측정된 체지방량 Fat 항목은 기저 시점 대비 12주 시점의 변화량이 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 대조군은 체지방량 증가가 전/후 통계적으로 유의한 차이를 보였으나 사이코스 저용량, 고용량군은 약간 증가하였지만 전/후 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

다. 체지방량(lean body mass)은 대조군에서 12주 후에 -0.61 ± 1.28 kg 감소하였으나 사이코스 복용군은 복용 전후로 차이를 보이지 않았다.

라. 실험실적 검사 중 Alkaline phosphatase, γ -GTP 항목이 기저 시점 대비 12주 시점에서 고용량군, 저용량군은 감소, 대조군에서 증가하여 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였으며, 고용량군과 저용량군에서는 전/후 통계적으로 유의한 차이를 보였다. ALT는 고용량군, 저용량군은 감소, 대조군에서 증가하여 세 군간 통계적으로 유의한 차이를 보였으며, 고용량군에서 전/후 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 본 연구에서는 간 기능을 반영하는 혈중 간 효소 지표들이 공통적으로 사이코스 복용 이후에 호전되는 결과를 보였으며 이는 사이코스의 간 기능 개선 효과를 시사한다. 비알콜성지방간염은 비만으로 유발되는 대사증후군의 또 다른 표현형으로 생각되고 있으며 본 연구결과는 사이코스의 간 대사 개선효과를 보여준다.

마. 인체적용 시험 전 후 식사 일지로 분석한 평균 일일 섭취 칼로리는 기저시점 대비 12주에서 세군 모두 감소하였으나 세 군간 변화량의 차이는 없었다.

바. 총 신체활동 점수는 기저시점 대비 12주에 고용량군, 대조군은 감소하는 경향을 보였으나 세 군간 통계적으로 유의미한 차이는 없었다.

사. 결론적으로 이상의 체구성 요소를 분석한 결과들은 사이코스가 체지방 축적 및 근육 조직의 위축을 억제하고 내장지방은 감소시키는 작용을 함으로서 단순한 체중감량 이상의 체구성 성분 개선 작용을 하고 있는 것으로 유추할 수 있다. 본 임상실험에서 신체활동 및 식사섭취량에 대한 중재를 시행하지 않은 점을 고려했을 때 임상적으로 사이코스 복용과 식이요법 및 운동요법 등의 생활습관 개선 프로그램을 동시에 시행할 경우 내장지방 감소로 인한 심혈관위험 예방효과를 기대할 수 있다.

2절. 동물시험

1. 비만실험동물에서 사이코스 시럽 및 순수 분말 사이코스의 지방축적 억제효능 평가

가. 비만 실험동물에서의 사이코스의 지방축적 억제 효능 확인을 위한 실험디자인
실험동물은 6주령의 수컷 C57BL/6J-ob/ob mice를 구입하여 일주일 간 적응시킨 후, 총 74마리를 대상으로 군당 15마리(대조군 14마리)씩 총 다섯군으로 무작위 배정하였다.

실험동물은 일반식이(AIN-93G)를 공급한 대조군과 일반 식이에 사이코스 시럽이 각각 2.5%, 5.0% 함유된 식이를 공급한 2군, 순수 분말 사이코스가 각각 2.5%, 5.0% 함유된 식이를 공급한 두군으로 나누었으며 식이 공급 12주차에 희생하였다.

시험 디자인은 Figure 2-1에 식이조성표는 Table 2-1에 제시하였음. 사이코스 시럽의 조성은 포도당:과당:사이코스:올리고당=6:67:25:2 (고형분 함량 75%)로 구성되어 있다.

Table 2-1. Composition of experimental diets

Ingredients (g/kg)	Control	2.5% D-psyucose syrup	5% D-psyucose syrup	2.5% pure D-psyucose powder	5% pure D-psyucose powder
Cornstarch	397.49	401.90	406.32	421.24	444.99
Casein	200	200	200	200	200
Dextrin	132	132	132	132	132
Sucrose	100	81.4	62.8	75	50
Fructose + glucose	-	13.95	27.9	-	-
D-Psicose	-	4.65	9.3	25	50
Cellulose	50	45.58	41.17	26.25	2.5
Soybean oil	70	70	70	70	70
T-butylhydroquinone ¹⁾	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
Mineral mix ²⁾	35	35	35	35	35
Vitamin mix ³⁾	10	10	10	10	10
L-cystine	3	3	3	3	3
Choline bisfate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Total, g	1000	1000	1000	1000	1000
Carbohydrate	2528	2528	2528	2528	2528
Protein	731	731	731	731	731
Fat	637	637	637	637	637
Total energy, kcal/kg	3896	3896	3896	3896	3896

¹⁾Antioxidant agent : 0.01 g/ 50 g lipids ²⁾AIN-93G mineral mix ³⁾AIN-93G vitamin mix

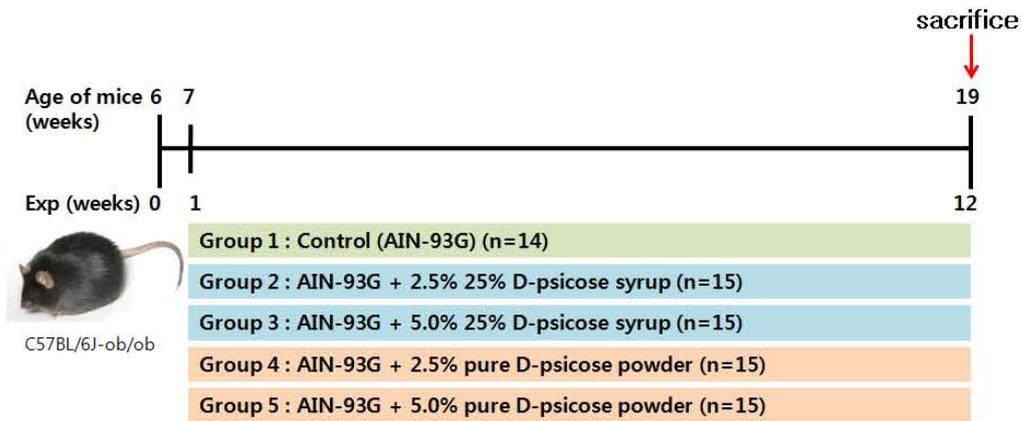


Figure 2-1. Experimental design

나. 사이코스의 지방축적 억제 효능 확인을 위한 비만동물실험 체중 변화

실험종료 시점에 사이코스 시럽과 순수 분말 사이코스가 함유된 식이 공급에 따른 체중변화를 관찰한 결과, 대조군과 비교하여 사이코스가 함유된 실험식이군에서 체중증가량이 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지 않았다.

하지만 각 실험식이군과 대조군의 체중을 비교해본 결과, 5.0% 순수 분말 사이코스가 함유된 실험식이군에서 대조군에 비해 체중 증가량이 약 10% 정도 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. (Figure 2-2-1, 2-2-2)

따라서 대조군과 순수 분말 사이코스 5.0% 실험식이군을 대상으로 사이코스 효능 평가를 위한 분석을 진행하였다.

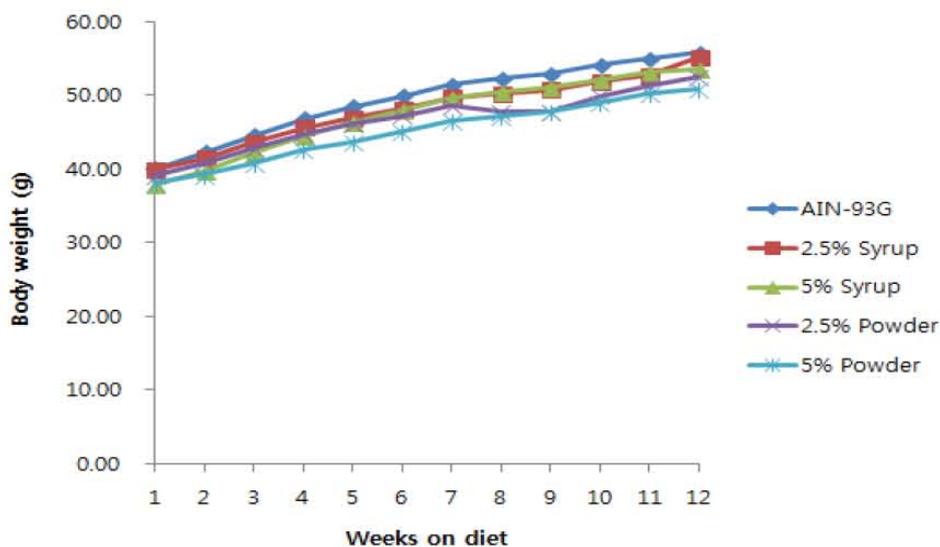


Figure 2-2-1. Changes in body weight

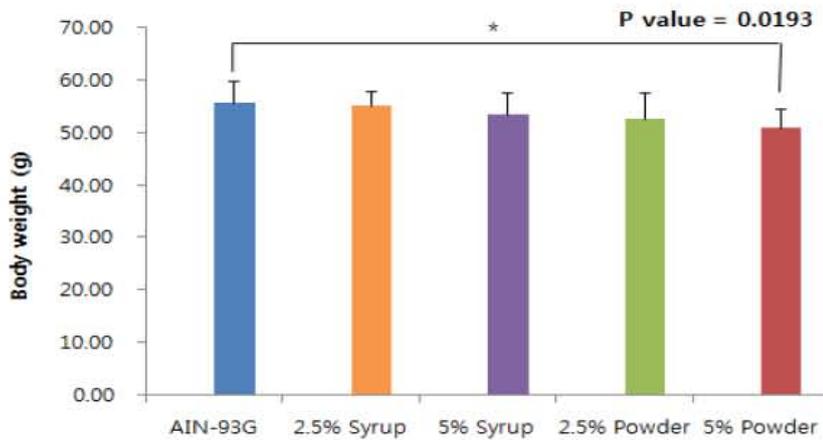


Figure 2-2-2. Comparison of final body weight

*Significantly different from the control, $P < 0.05$.

다. 사이코스의 지방축적 억제 효능 확인을 위한 동물실험 해부 결과

사이코스의 지방축적 억제 효능을 확인하기 위해 해부 후, 지방조직 무게와 지방세포 크기를 비교하였다.

지방조직은 부고환 지방조직(epididymal fat), 장간막 지방조직(mesenteric fat), 신장후 복막하지방조직(perirenal fat)으로 구분하여 채취하였으며, 이 세 지방조직을 통틀어 (백색)지방조직(white adipose tissue)이라 통칭함. 해부결과 대조군에 비하여 순수 분말

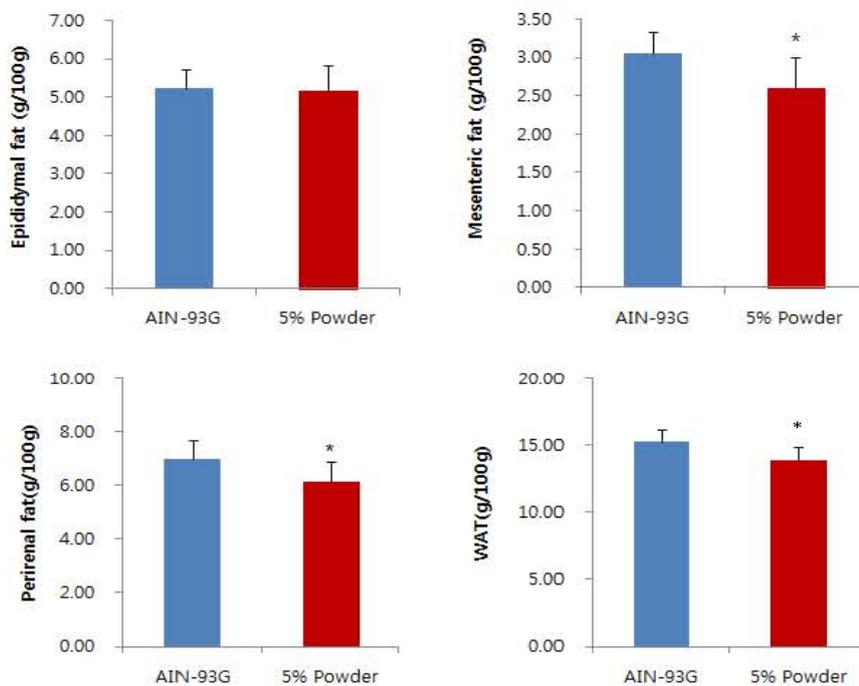


Figure 2-3. Comparison of adipose tissue weight

*Significantly different from the control, $P < 0.05$.

사이코스 5.0% 실험 식이군의 장간막, 신장후복막하지방조직과 (백색)지방조직의 체중 대비 무게가 유의적으로 감소하였다. (Figure 2-3)

라. 사이코스의 지방구 크기 감소 효능 확인을 위한 지방조직 H&E 염색 결과

사이코스의 지방구 크기 감소 효능을 확인하기 위해 해부 후 채취 된 부고환 지방조직(epididymal fat)을 H&E 염색을 통해 관찰하였다.

염색 결과 대조군에 비하여 순수 분말 사이코스 5.0% 실험 식이군의 지방 세포구 크기가 유의적으로 감소되었다. (Figure 2-4-1와 Figure 2-4-2)

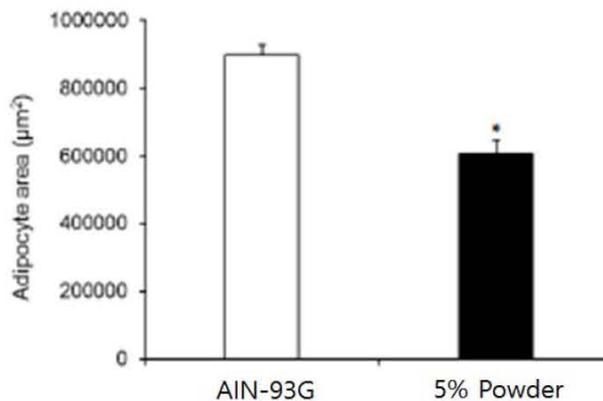


Figure 2-4-1. Adipocyte area

*Significantly different from the control, P<0.05.

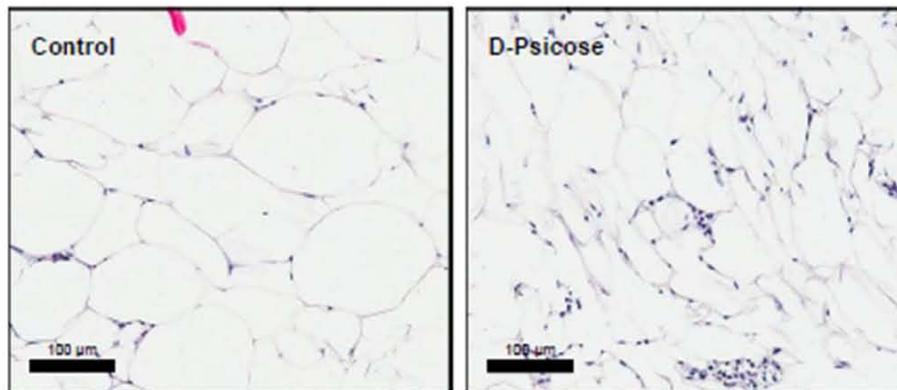


Figure 2-4-2. Comparative histology of adipocyte area

마. 사이코스의 지방축적 억제 효능 확인을 위한 혈청 지질 수준 측정 결과

실험동물의 혈청에서 지방축적과 관련된 biomarker인 혈 중 혈청 중성지방 (triglyceride), 지방산(non esterified fatty acid, NEFA), 총 콜레스테롤(total cholesterol) 농도를 효소법을 이용한 ELISA kit를 이용하여 측정하였다. 이 때 각 kit 는 제조업자의 지침에 따라 실험을 진행하였다.

대조군과 비교하였을 때, 혈청 중성지방과 지방산 농도는 유의적인 차이가 없었으나, 총 콜레스테롤 농도는 5.0% 순수 분말 사이코스 실험식이군에서 유의적으로 감소하였다. (Figure 2-5)

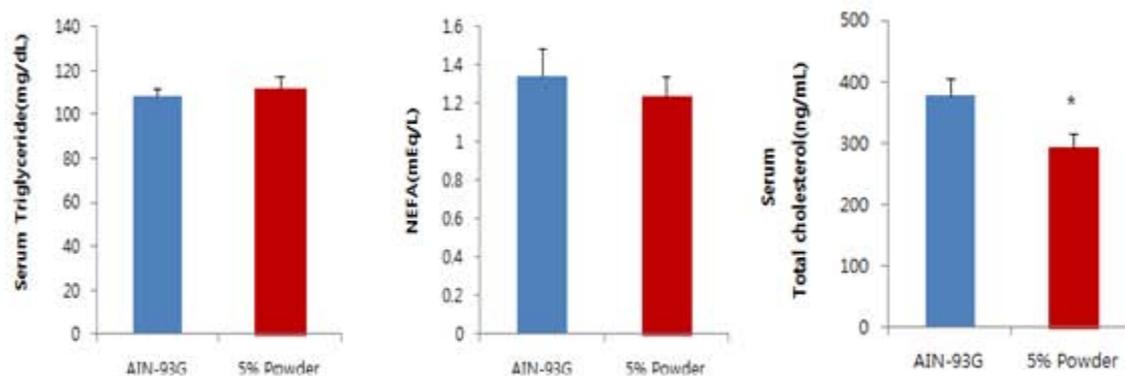


Figure 2-5. Comparison of serum lipids

*Significantly different from the control, $P < 0.05$.

⇒ 이러한 결과를 종합하여 보았을 때, 유전적으로 비만이 유도된 동물에서 물질 공급군 특히 5.0% 순수 분말 사이코스 공급은 체중 감소, 체지방 무게 감소와 지방 구 크기 감소를 유도하는 것으로 보이고, 지방 조직에서 지방 분화와 관련된 지표가 감소되어 체지방 축적 억제 효과가 있다고 사료된다.

2. 일반 실험동물에서 순수 분말 사이코스의 당 흡수 저해 및 지방축적 억제 효능 평가

가. 일반 실험동물에서의 사이코스의 당 흡수 저해 및 지방축적 억제 효능 확인을 위한 실험디자인

실험동물은 5주령의 C57BL/6J 마우스 42마리를 분양 받아 사육함. 사육환경에 적응시키기 위해 7일 동안 예비사육한 후 실험 시작 시점에 난괴법에 의해 여섯 군으로 나누어 총 16주간 사육하였다.

실험동물은 일반식이(AIN-93G)에 각 5% D-glucose, 5% D-fructose, 5% D-psicose, 2.5% D-glucose + 2.5% D-fructose, 2.5% D-glucose + 2.5% D-psicose, 2.5% D-fructose + 2.5% D-psicose가 함유된 식이를 공급한 총 여섯 군으로 구성되었다. 실험 식이와 식수는 자유롭게 섭취하도록 하며 실험기간 동안 체중은 매주 1회, 식이섭취량은 매주 3회 일정한 시간에 측정하였다.

시험 디자인은 Figure 3-1에 식이조성표는 Table 3-1에 제시한다.

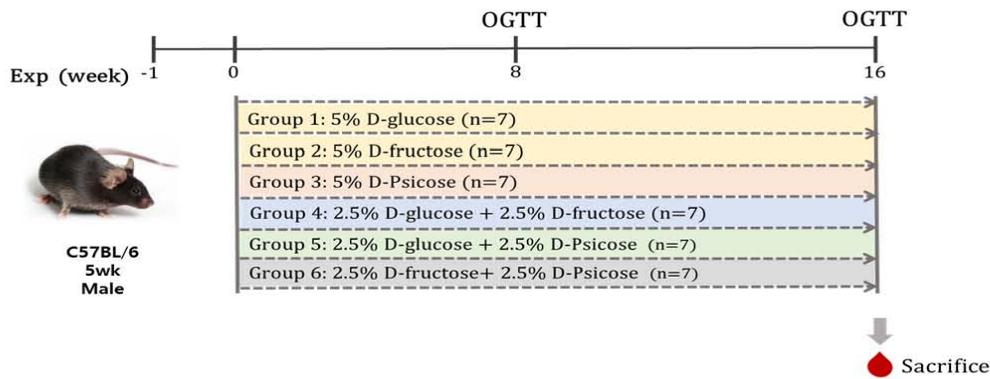
Table 3-1. Composition of experimental diets

The composition of experimental diets (g/kg diet)						
Ingredients (g/kg)	Group 1: 5% D-glucose	Group 2: 5% D-fructose	Group 3: 5% D-Psicose	Group 4: 2.5% D-glucose + 2.5% D-fructose	Group 5: 2.5% D-glucose + 2.5% D-psicose	Group 6: 2.5% D-fructose + 2.5% D-psicose
Comstarch	397.49	397.49	444.99	397.49	421.24	421.24
Casein	200	200	200	200	200	200
Dextrin	132	132	132	132	132	132
Sucrose	50	50	50	50	50	50
D-Glucose	50	-	-	25	25	-
D-Fructose	-	50	-	25	-	25
D-Psicose	-	-	50	-	25	25
Cellulose	50	50	2.5	50	26.25	26.25
Soybean oil		70		70	70	70
T-butylhydroquinone ¹⁾	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
Mineral mix ²⁾	35	35	35	35	35	35
Vitamin mix ³⁾	10	10	10	10	10	10
L-cystine	3	3	3	3	3	3
Choline bisfate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Total (g)	1000	930	930	1000	1000	1000
Carbohydrate	2528	2528	2528	2528	2528	2528
Protein	731	731	731	731	731	731
Fat	637	637	637	637	637	637
Total energy (kcal/kg)	3896	3896	3896	3896	3896	3896

¹⁾Antioxidant agent : 0.01 g/ 50 g lipids ²⁾AIN-93G mineral mix ³⁾AIN-93G vitamin mix

Figure 3-1. Experimental design

Figure 3-1. Experimental design



나. 사이코스의 당 대사 조절 기능 평가를 위한 경구당부하 실험

(OGTT, Oral glucose tolerance test) 결과

실험 식이 공급 8주, 16주차에 각각 12시간 절식 시킨 후, 군 별로 포도당 용액을 2g/kg 체중에 해당하도록 경구 공급한 뒤 0분, 15분, 30분, 60분, 90분, 120분 경과 후에 꼬리정맥을 통해 혈액을 채취함. 채취한 혈액은 혈당측정기(Johnson&Johnson, New Jersey, USA)를 이용하여 혈당을 측정해 변화를 관찰하였다.

분석 결과 8주차에 실시한 경구당부하 실험에서는 5% 사이코스가 함유된 식이를 섭취한 군에서 포도당에 대해 낮은 혈당 수치를 나타내는 경향이 보이나 통계적으로 유의하지 않았다. (Table 3-2-1, Figure 3-2-1와 Figure 3-2-2). 16주차에 실시한 경구당부하 실험에서는 5% 사이코스군과 2.5% 과당 + 2.5% 사이코스가 함유된 식이를 섭취한 군에서 15분과 30분에 통계적으로 유의하게 낮은 혈당을 나타내는 것을 확인하였다. (Figure 3-2-3와 Figure 3-2-4).

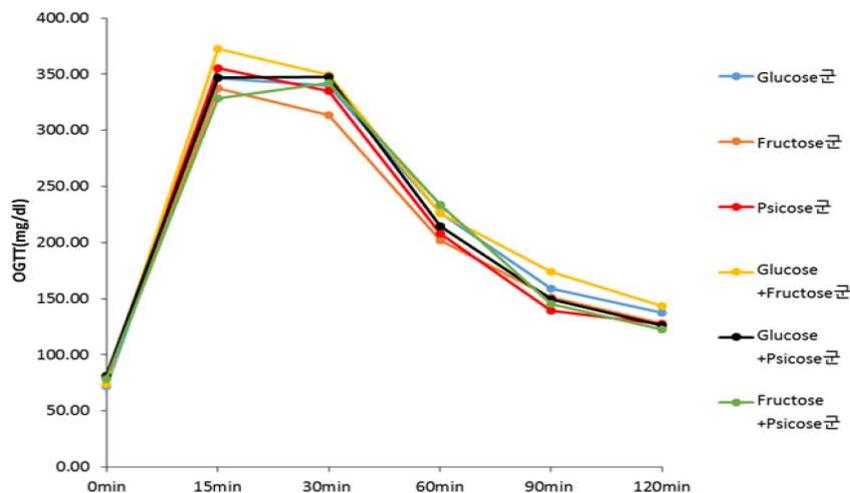


Figure 3-2-1. OGTT at week 8

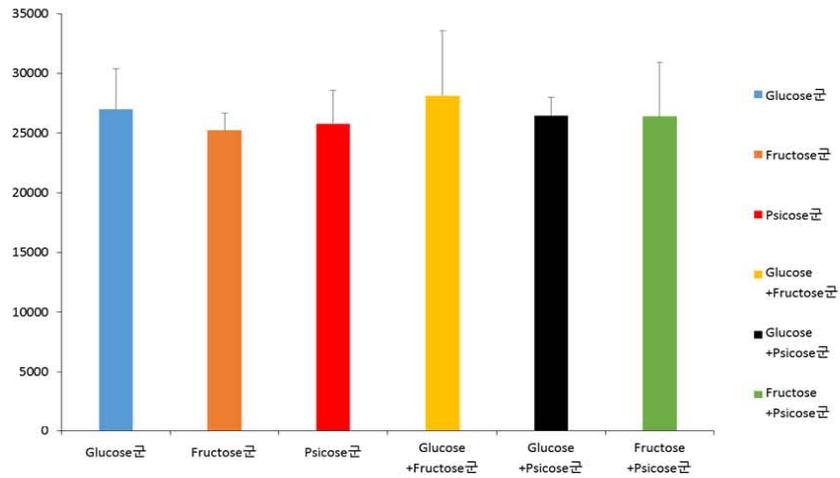


Figure 3-2-2. OGTT Area under curve graph at week 8

(Unit: mg/dl)

* a, b, c, Significantly different between the groups, P<0.05

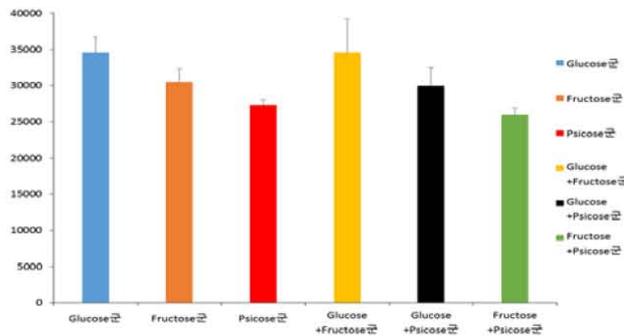


Figure 3-2-4. OGTT area under curve graph at week 16

다. 사이코스의 지방축적 억제 효능 확인을 위한 일반동물실험 체중 변화

실험종료 시점에 사이코스가 함유된 식이 공급에 따른 체중변화를 관찰한 결과, 대조군과 비교하여 사이코스가 함유된 실험식이군에서 체중 증가량이 감소하였다.

대조군에 비해 5.0% 사이코스가 함유된 식이를 공급한 군에서 유의적으로 가장 낮은 체중 증가량을 보였으며, 2.5% 과당+ 2.5% 사이코스가 함유된 군에서 그 다음으로 낮은 체중 증가량을 보였다. (Table 3-3와 Figure 3-3)

Table 3-3. Final body weight

a, b, c, Significantly different between the groups, P<0.05.

Group	Body weight(g)		
Control (n=7)	32.80	±	2.83 ^{abc}
Glucose (n=7)	33.64	±	2.23 ^{ab}
Fructose (n=7)	31.62	±	2.18 ^{abc}
Psicose (n=6)	29.73	±	1.66 ^c
Glu+Fru (n=7)	34.68	±	4.70 ^a
Glu+Psi (n=7)	32.07	±	4.13 ^{abc}
Fru+Psi (n=6)	30.03	±	0.63 ^{bc}
p-value	0.0463		

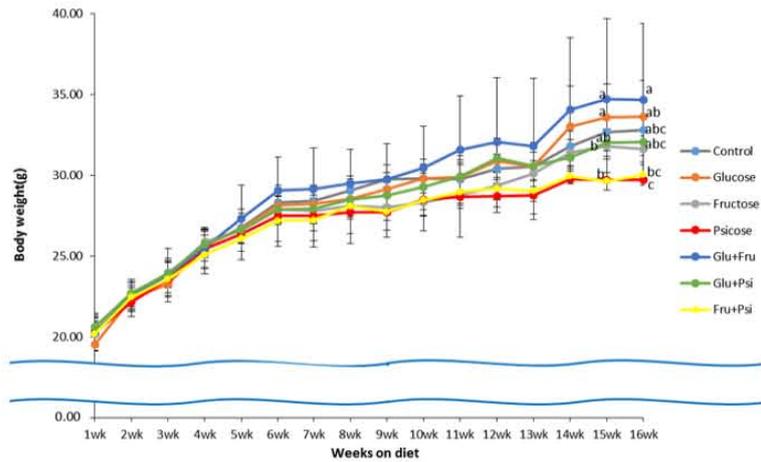


Figure 3-3. Body weight evolution

a, b, c, Significantly different between the groups, $P < 0.05$.

라. 사이코스의 지방축적 억제 효능 확인을 위한 동물실험 해부 결과

사이코스의 지방축적 억제 효능을 확인하기 위해 해부 후, 지방조직 무게를 비교하였다.

해부결과 5% 포도당 식이군의 지방 조직양에 비해서 5.0% 순수 분말 사이코스가 함유된 실험식이군의 부고환 지방 조직, 신장후복막하 지방 조직, 전체 지방 조직양이 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다.

따라서 체중과 지방 조직양에 있어서 유의한 차이를 보인 5% 포도당 식이군과 사이코스 5.0% 실험식이군을 대상으로 사이코스 효능 평가를 위한 분석을 진행하였다.

Table 3-4. Adipose tissue weight

(Unit: g)

Group	Epididymal fat		Mesenteric fat		Perirenal fat		White adipose tissue	
5% Glucose	1.209	± 0.160	0.383	± 0.075	0.509	± 0.066	2.100	± 0.287
5% Psicose	0.695	± 0.138*	0.228	± 0.032	0.275	± 0.059*	1.198	± 0.213
	0.0332		0.0931		0.0234		0.0323	

*Significantly different from the control, $P < 0.05$.

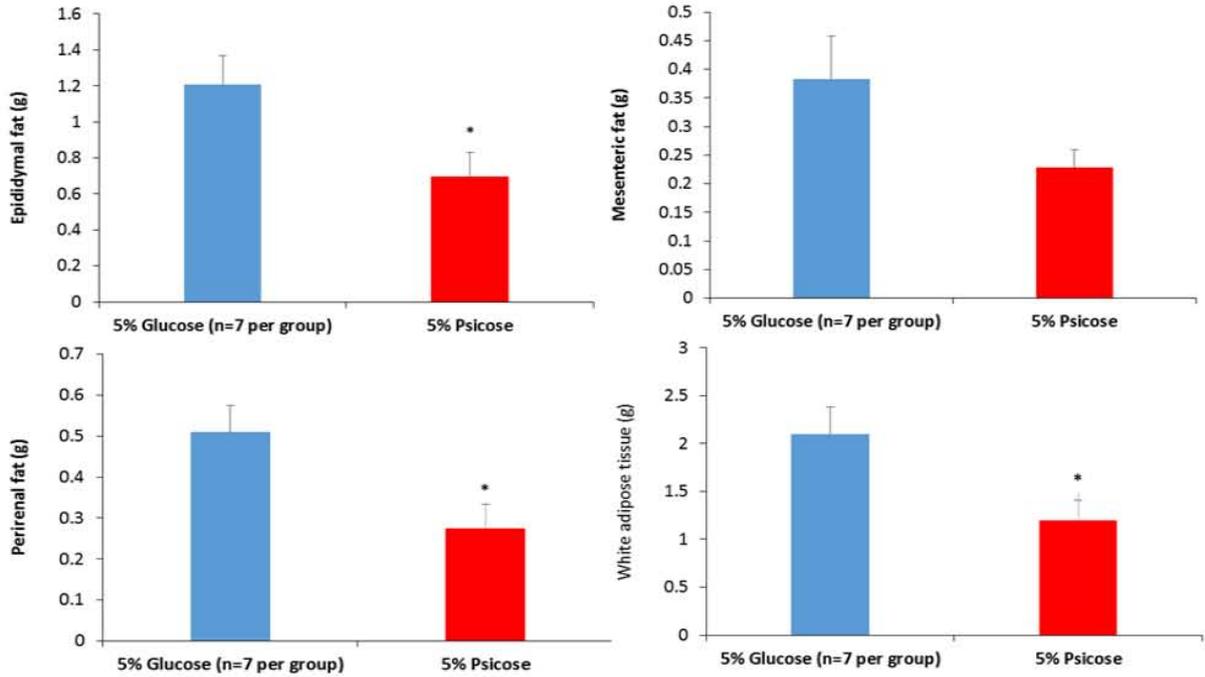


Figure 3-4. Comparison of adipose tissue weight

* Significantly different from the control, $P < 0.05$.

마. 지방 조직 내 지방 분해와 관련된 유전자 발현 측정

지방 조직에서의 peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α), medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (ACADM), carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1), hormone sensitive lipase (HSL)의 mRNA 발현에 대한 결과는 **Figure 5**에 제시하였다.

지방조직에서 지방 조직의 분해에 관여하는 PPAR α , ACADM, CPT1, HSL를 분석한 결과, CPT1의 경우 5% 포도당 식이군에 비해 5.0% 순수 분말 사이코스 실험식이군에서 농도가 통계적으로 유의하게 증가함($P < 0.05$) PPAR α 의 경우 유의하지는 않았으나 사이코스 함유 실험식이군에서 증가하는 경향을 보인다.

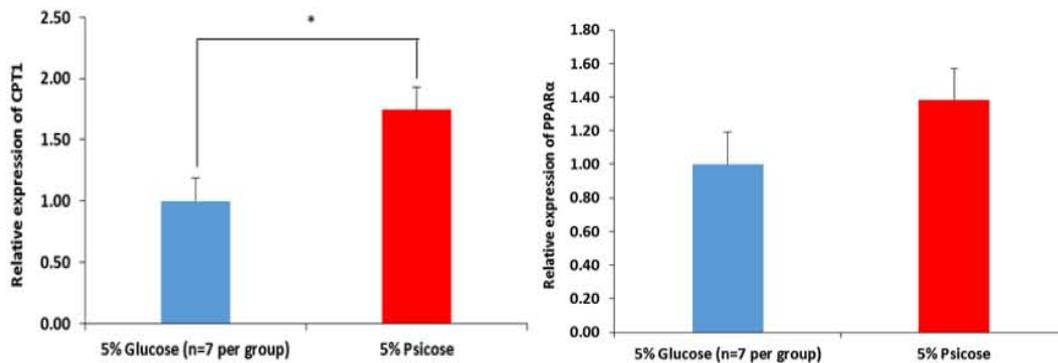


Figure 5. Adipose tissue mRNA expression of genes associated lipolysis and β -oxidation

*Significantly different from the control, P<0.05.

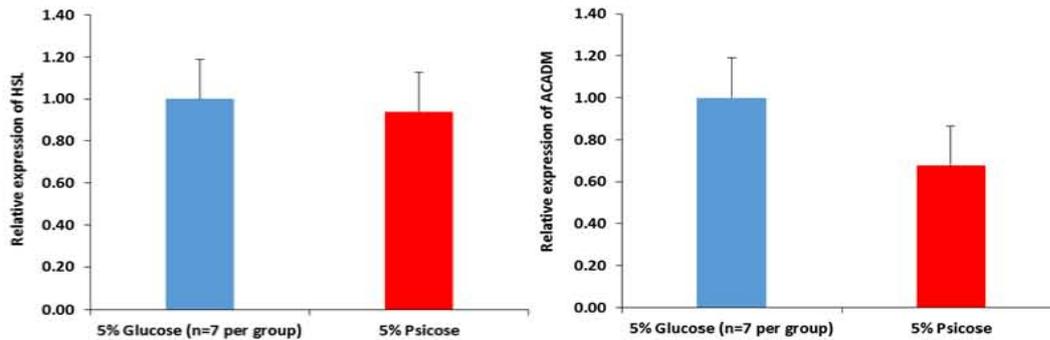


Figure 3-5. Adipose tissue mRNA expression of genes associated lipolysis and β -oxidation

바. 간 조직 내 지방 분해와 관련된 유전자 발현 측정

간 조직에서의 PPAR α , ACADM, CPT1 의 mRNA 발현에 대한 결과는 Figure 6에 제시하였다.

간 조직에서 지방 조직의 분해에 관여하는 PPAR α , ACADM, CPT1 를 분석한 결과, PPAR α , CPT1의 경우 유의하지는 않았으나 사이코스 함유 실험식이군에서 증가하는 경향을 보였다.

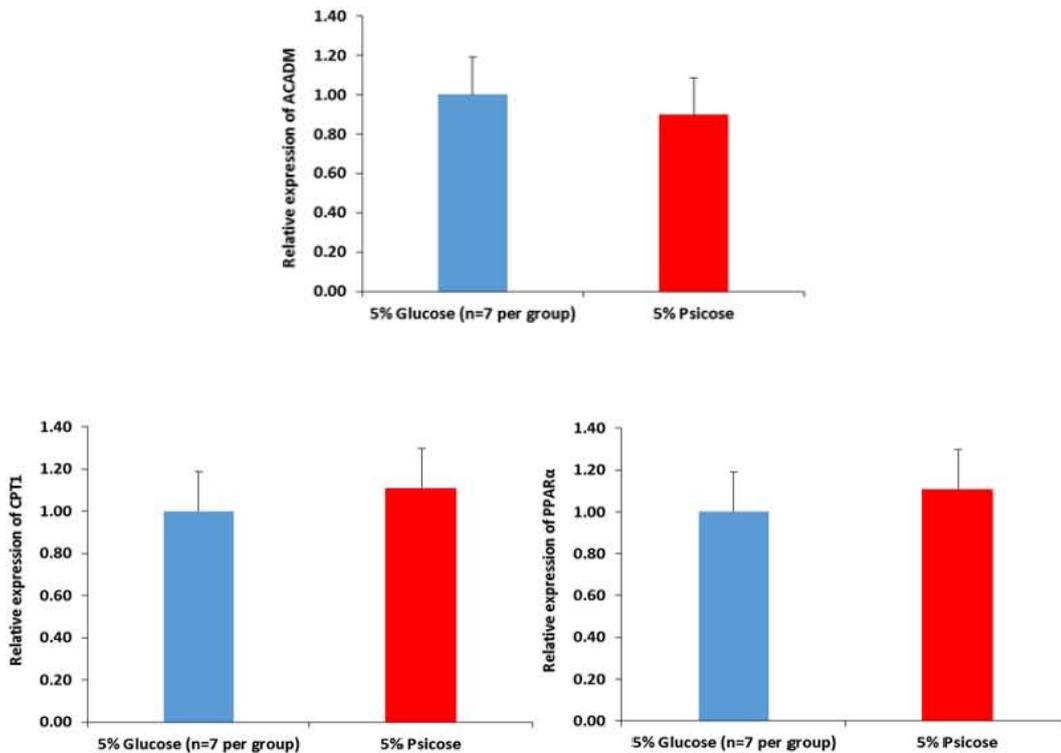


Figure 3-6. Liver mRNA expression of genes associated lipolysis and β -oxidation

⇒ 이러한 결과를 종합하여 보았을 때, 정상 체중을 가진 실험동물에 5.0% 순수 분말 사이코스를 보충하면 포도당 섭취 후의 혈당 상승 정도를 감소시키고, 체중 및 체지방 무게의 감소를 유도하며, 지방 조직에서 지방 분해와 관련된 지표가 증가되어 체지방 축적 억제 효과 및 당 대사 조절 기능 개선 효과가 있다고 사료된다.

3. 고과당식이 섭취 실험동물에서 사이코스의 지질대사 및 당 대사 조절 기능 평가

가. 고과당식이 섭취 실험동물을 이용한 사이코스의 지질대사 및 당 대사 조절 기능 평가를 위한 실험 디자인

실험동물은 5주령의 C57BL/6J 마우스 48마리를 분양 받아 사육함. 사육환경에 적응시키기 위해 7일 동안 예비사육한 후 실험 시작 시점에 난피법에 의해 네 군으로 나누어 총 10주간 사육하였다.

실험동물은 일반식이(AIN-93G)를 공급한 대조군과 30% D-fructose 식이를 공급한 군, 15% D-fructose + D-psychose, 15% D-fructose+ 15% tranose가 함유된 식이를 공급한 총 3군의 실험군으로 구성되었다.

이전 실험과는 달리 사이코스가 열량(0kcal/g)을 거의 내지 않기 때문에 동일한 무게의 식이를 섭취하더라도 동일한 수준의 열량 섭취가 어려운 점이 있다. 이 점을 보완하기 위하여 모든 군이 열량을 동등하게 섭취할 수 있도록 대조군의 평균 섭취량을 측정해 동일한 수준의 열량 제공이 가능하도록 실험군의 식이량을 조절하는 pair feeding 방식을 도입하였다.

실험 식수는 자유롭게 섭취하도록 하며 실험기간 동안 체중은 매주 1회, 식이섭취량은 매주 3회 일정한 시간에 측정하였다. 시험 디자인은 Figure 4-1에 식이조성표는 Table 4-1에 제시하였다.

Table 4-1. Composition of experimental diets

The composition of experimental diets (g/kg diet)				
Ingredients (g/kg)	Group 1: Control (AIN 93G)	Group 2: 30% Fructose	Group 3: 15% Fructose+ 15% Psicose	Group 4: 15% Fructose+ 15% Turanose
Cornstarch	397.49	297.49	297.49	297.49
Casein	200	200	200	200
Dextrin	132	32	32	32
Sucrose	100	-	-	-
D-Fructose	-	300	150	150
D-Psicose	-	-	150	-
Turanose	-	-	-	150
Cellulose	50	50	50	50
Soybean oil	70	70	70	70
T-butylhydroquinone ¹⁾	0.014	0.014	0.014	0.014
Mineral mix ²⁾	35	35	35	35
Vitamin mix ³⁾	10	10	10	10
L-cystine	3	3	3	3
Choline bisfate	2.5	2.5	2.5	2.5
Total (g)	1000	1000.004	1000.004	1000.00
Carbohydrate	2528	2528	1958	1958
Protein	731	731	731	731
Fat	637	637	637	637
Total energy (kcal/kg)	3896	3896	3326	3326

¹⁾Antioxidant agent : 0.01 g/ 50 g lipids ²⁾AIN-93G mineral mix ³⁾AIN-93G vitamin mix

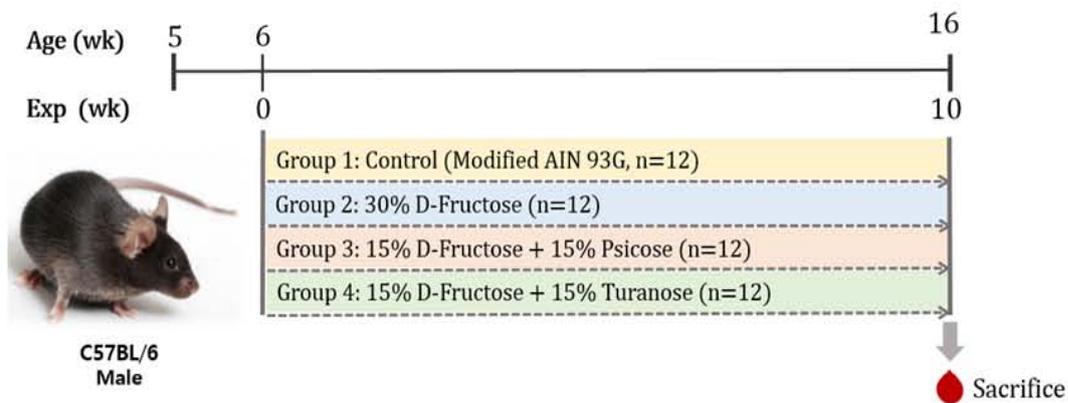


Figure 4-1. Experimental design

나. 고과당식이 섭취 실험동물을 이용한 사이코스의 당 대사 조절 기능 평가를 위한 경구당부하 실험(OGTT, Oral glucose tolerance test) 결과

실험 식이 공급 10주차에 각각 12시간 절식 시킨 후, 군 별로 포도당 용액을 2g/kg 체중에 해당하도록 경구 공급한 뒤 0분, 15분, 30분, 60분, 90분, 120분 경과 후에 꼬리정맥을 통해 혈액을 채취하였다.

채취한 혈액은 혈당측정기(Johnson&Johnson, New Jersey, USA)를 이용하여 혈당을 측정해 변

화를 관찰하였다.

분석 결과 15% fructose + 15% psicose 식이 공급 군이 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 0분을 제외한 모든 시간에서 가장 낮은 혈당을 보였다. 당부하 후 반응곡선 이하 면적으로 계산한 혈당면적 또한 대조군에 비하여 통계적으로 가장 낮은 것을 확인하였다. (Table 4-2, Figure 4-2-1와 Figure 4-2-2).

Table 4-2. Blood glucose concentration at week 10

(Unit: mg/dl, n=12/group)

	0min		15min		30min		60min		90min		120min	
	Mean	± SEM	Mean	± SEM	Mean	± SEM	Mean	± SEM	Mean	± SEM	Mean	± SEM
Control	63.64	± 2.00	320.67	± 14.17 ^a	299.33	± 10.94 ^a	204.28	± 15.26 ^a	159.42	± 8.92 ^a	144.83	± 6.8
Fructose	57.86	± 3.81	292.08	± 15.28 ^a	253.22	± 11.29 ^b	191.11	± 7.22 ^{ab}	154.94	± 8.20 ^a	128.94	± 5.7
Fructose+Psicose	65.75	± 2.39	205.28	± 9.93 ^b	188.50	± 14.94 ^c	120.17	± 6.46 ^c	105.81	± 6.78 ^b	99.39	± 6.7
Fructose+Turanose	57.25	± 3.58	306.00	± 14.74 ^a	248.64	± 15.78 ^b	162.58	± 14.98 ^b	146.08	± 8.00 ^a	129.92	± 8.7
p-value	0.1461		<.0001		<.0001		<.0001		<.0001		0.0002	

a, b, c, Significantly different between the groups, P<0.05.

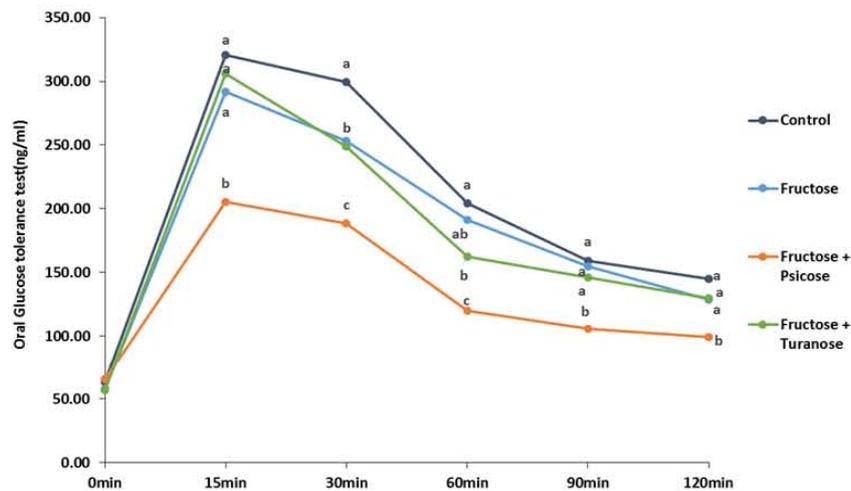


Figure 4-2-1. OGTT at week 10

a, b, c, Significantly different between the groups, P<0.05.

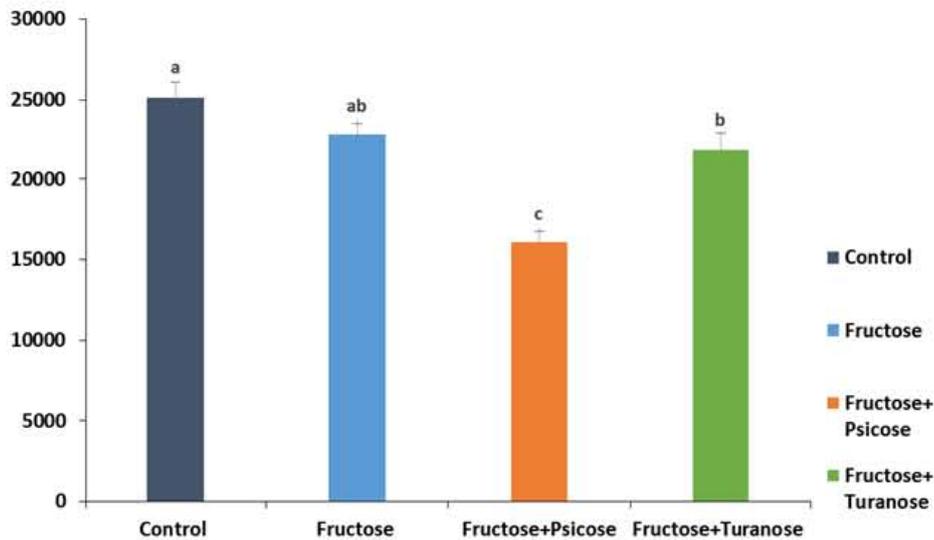


Figure 4-2-2. OGTT area under curve graph at week 10

a, b, c, Significantly different between the groups, $P < 0.05$.

다. 사이코스의 지방축적 억제 효능 확인을 위한 고과당 식이 섭취량 및 동물실험 체중변화

이전 실험과는 달리 사이코스가 열량(0kcal/g)을 거의 내지 않기 때문에 동일한 무게의 식이를 섭취하더라도 동일한 수준의 열량 섭취가 어려움이 있었다.

이 점을 해결하기 위하여 모든 군이 열량을 동등하게 섭취할 수 있도록 대조군의 평균 섭취량에 따라 동일한 수준의 열량 제공이 가능하도록 식이량을 조절하는 pair feeding 방식을 도입하였고, 이에 따른 식이 잔량까지 고려하였다.

10주간 섭취한 열량은 모든 군에서 통계적으로 유의적인 차이가 존재하지 않았다. (Table 4-3-1, Figure 4-3-1) 따라서 체중과 체지방의 변화가 열량 섭취 차이로 인해 기인하지 않음을 확인할 수 있었다

Table 4-3-1. Food intake

Group	Food Intake (Kcal/day/per mouse,6wk)		
	Mean	SE	SD
Control (n=12 per group)	10.636	± 0.409	
Fructose	10.758	± 0.366	
Fructose + Psicose	10.774	± 0.362	
Fructose + Turanose	10.775	± 0.360	
p-value	0.9861		

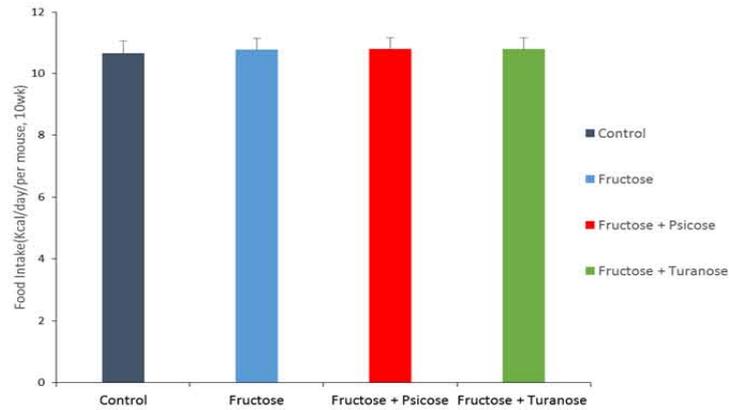


Figure 4-3-1. Food intake

실험종료 시점에 사이코스가 함유된 식이 공급에 따른 체중변화를 관찰한 결과, 대조군에 비하여 사이코스가 함유된 식이를 공급한 군이 유의적으로 가장 낮은 체중 증가량을 보였다. (Table 4-3-2와 Figure 4-3-2)

실험종료 시점에 사이코스가 함유된 식이 공급에 따른 체중변화를 관찰한 결과, 대조군에 비하여 사이코스가 함유된 식이를 공급한 군이 유의적으로 가장 낮은 체중 증가량을 보였다. (Table 4-3-2와 Figure 4-3-2)

Table 4-3-2. Final body weight

Group	Body weight(g)
Control(n=12 per group)	30.34 ± 0.37 ^a
Fructose	26.96 ± 0.30 ^b
Fructose + Psicose	21.68 ± 0.29 ^c
Fructose + Turanose	30.05 ± 1.11 ^a
p-value	<0.0001

a, b, c, Significantly different between the groups, P<0.05.

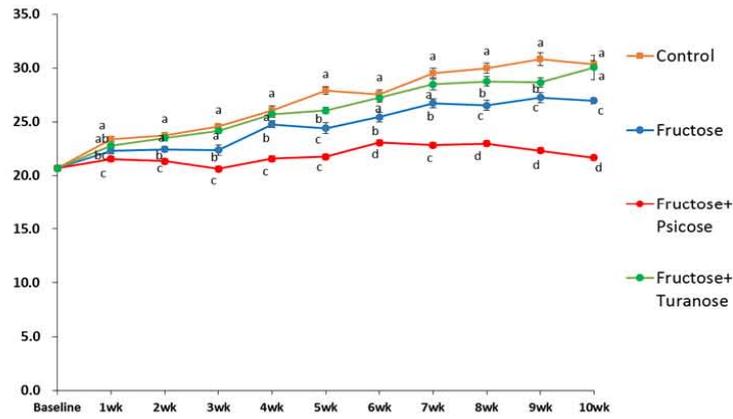


Figure 4-3-2. Body weight evolution

a, b, c, Significantly different between the groups, $P < 0.05$.

라. 사이코스의 지방축적 억제 효능 확인을 위한 동물실험 해부 결과

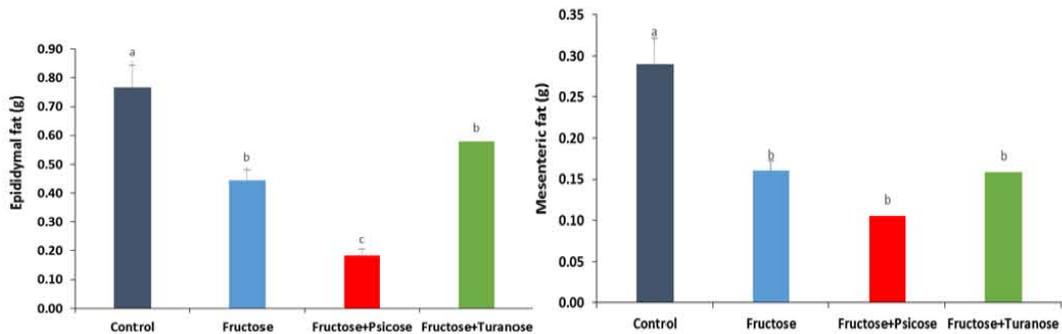
사이코스의 지방축적 억제 효능을 확인하기 위해 해부 후, 지방조직 무게를 비교함. 해부결과 사이코스가 함유된 실험식이군에서 부고환 지방 조직, 신장후복막하 지방조직, 전체 지방조직의 양이 다른 식이군에 비해 통계적으로 유의하게 감소되었다. (Table 4-4, Figure 4-4) 장간막 지방조직 또한 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소되었다.

Table 4-4. Adipose tissue weight

(Unit: g, n=12/group)

Group	Epididymal fat		Mesenteric fat		Perirenal fat		White adipose tissue	
Control	0.768	± 0.076a	0.290	± 0.032	0.259	± 0.030	1.317	± 0.130
Fructose	0.444	± 0.036b	0.161	± 0.012	0.159	± 0.019	0.764	± 0.056
Fructose+Psicose	0.183	± 0.022c	0.106	± 0.012	0.059	± 0.008	0.348	± 0.033
Fructose+Turannose	0.578	± 0.042b	0.159	± 0.010	0.181	± 0.022	0.918	± 0.061
	<.0001		<.0001		<.0001		<.0001	

a, b, c, Significantly different between the groups, $P < 0.05$.



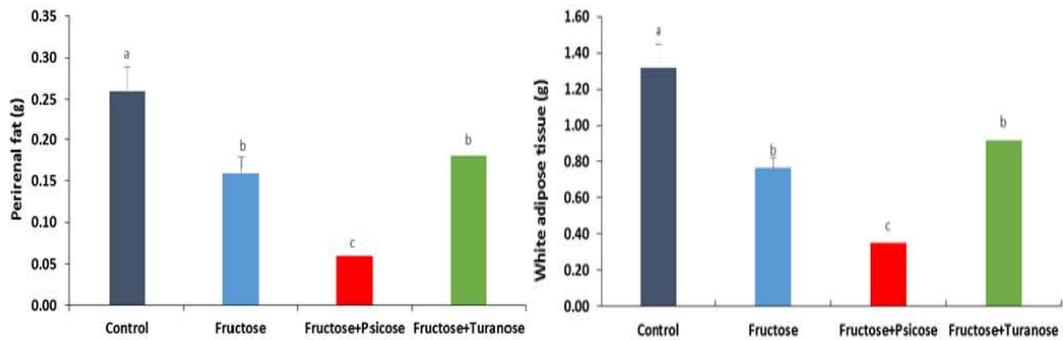


Figure 4-4. Comparison of adipose tissue weight

a, b, c, Significantly different between the groups, $P < 0.05$.

마. 사이코스의 지방구 크기 감소 효능 확인을 위한 지방조직 H&E 염색 결과

사이코스의 지방구 크기 감소 효능을 확인하기 위해 해부 후 채취된 부고환 지방조직(Epididymal fat)을 H&E 염색을 통해 관찰함. 염색 결과 대조군에 비하여 사이코스 함유 실험 식이군의 지방 세포구 크기가 유의적으로 감소됨. (Table 4-5, Figure 4-5-1 와 Figure 4-5-2)

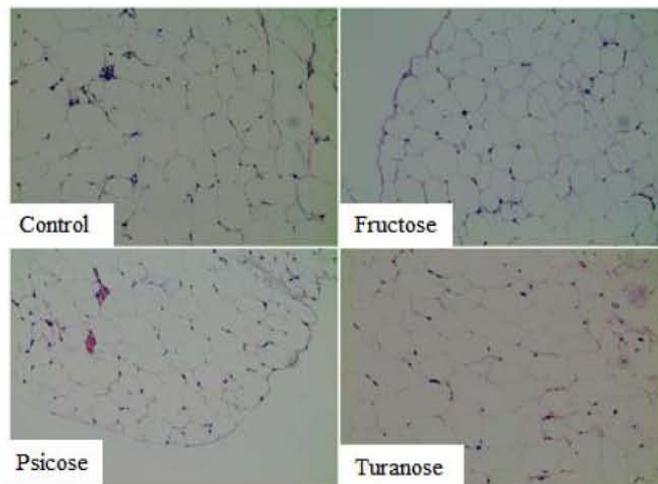


Figure 4-5-1. Adipocyte area

*Significantly different from the control, $P < 0.05$.

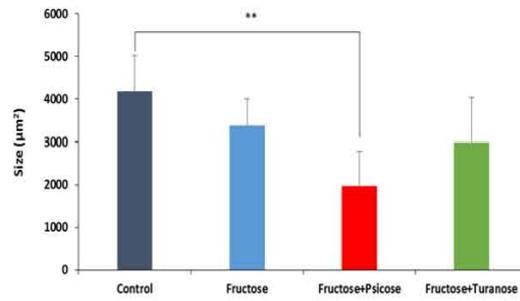


Figure 4-5-2. Comparison of adipocyte area

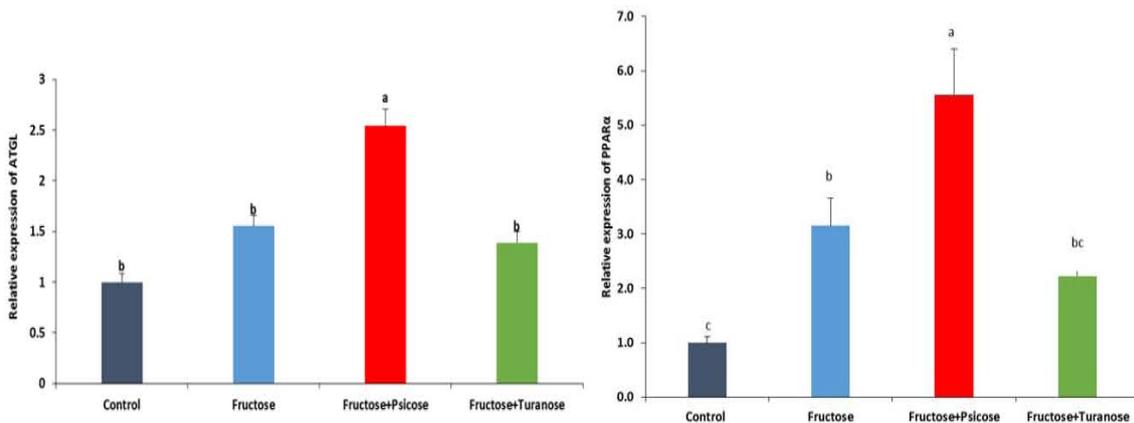
**Significantly different from the control, P<0.05.

바. 지방 조직 내 지방 분해와 관련된 유전자 발현 측정

지방 조직에서의 PPAR α , ACADM, CPT1, HSL, adipose triglyceride lipase(ATGL)의 mRNA 발현에 대한 결과는 Figure 4-5에 제시하였다.

지방조직에서 지방 조직의 분해에 관여하는 PPAR α , ACADM, CPT1, HSL를 분석한 결과, PPAR α , ATGL, HSL의 경우 대조군에 비해 사이코스 함유 실험식이군에서 농도가 통계적으로 유의하게 증가하였다(P<0.05).

PPAR α , AGTL의 경우 대조군 뿐만 아니라 과당 식이군에 비해서도 사이코스 함유 실험 식이군에서 농도가 통계적으로 유의하게 증가하였다. CPT1, ACADM의 경우 유의하지는 않았으나 사이코스 함유 실험식이군에서 증가하는 경향을 보였다.



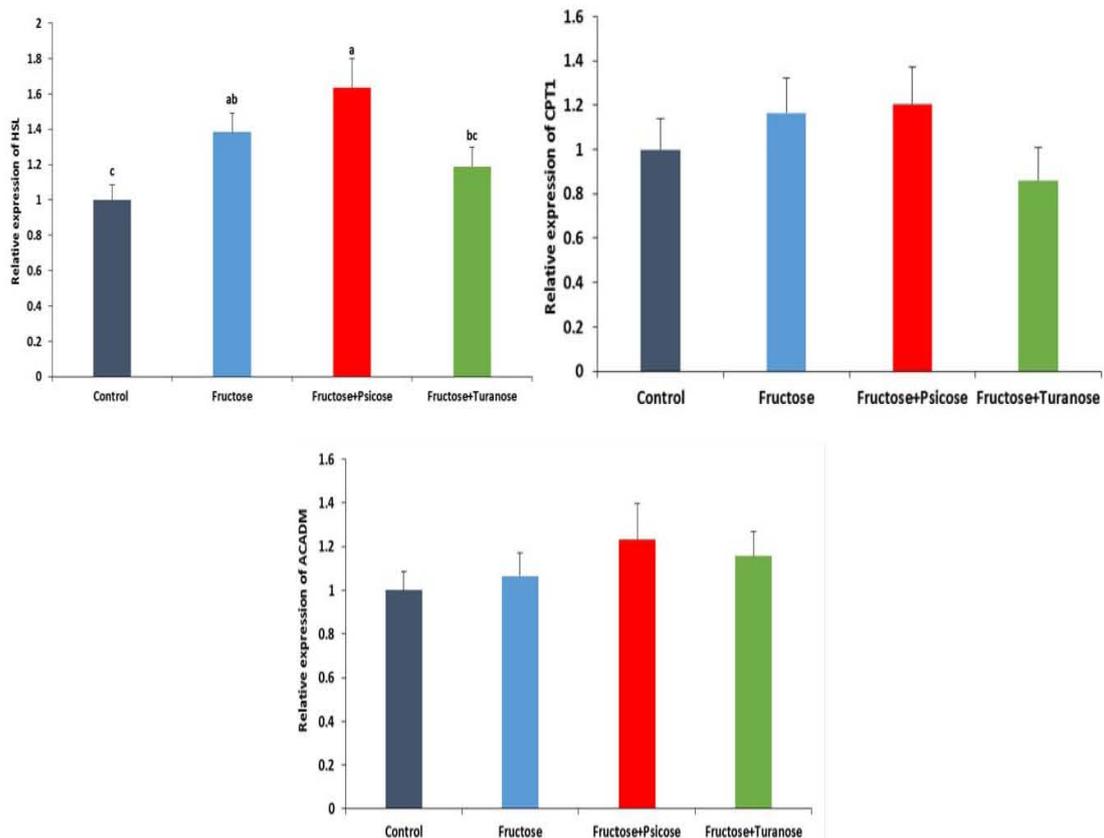


Figure 4-5. Adipose tissue mRNA expression of genes associated lipolysis and β -oxidation

a, b, c, Significantly different between the groups, $P < 0.05$.

사. 지방 조직 내 지방 합성과 관련된 유전자 발현 측정

지방 조직에서의 SREBP1c, ACC, PPAR γ 의 mRNA 발현에 대한 결과는 figure 4-6에 제시하였다.

지방 조직에서 지방 합성에 관여하는 REBP1c, ACC, PPAR γ 를 분석한 결과 사이코스 함유 실험 식이군에서 농도가 통계적으로 유의하게 증가하였다.

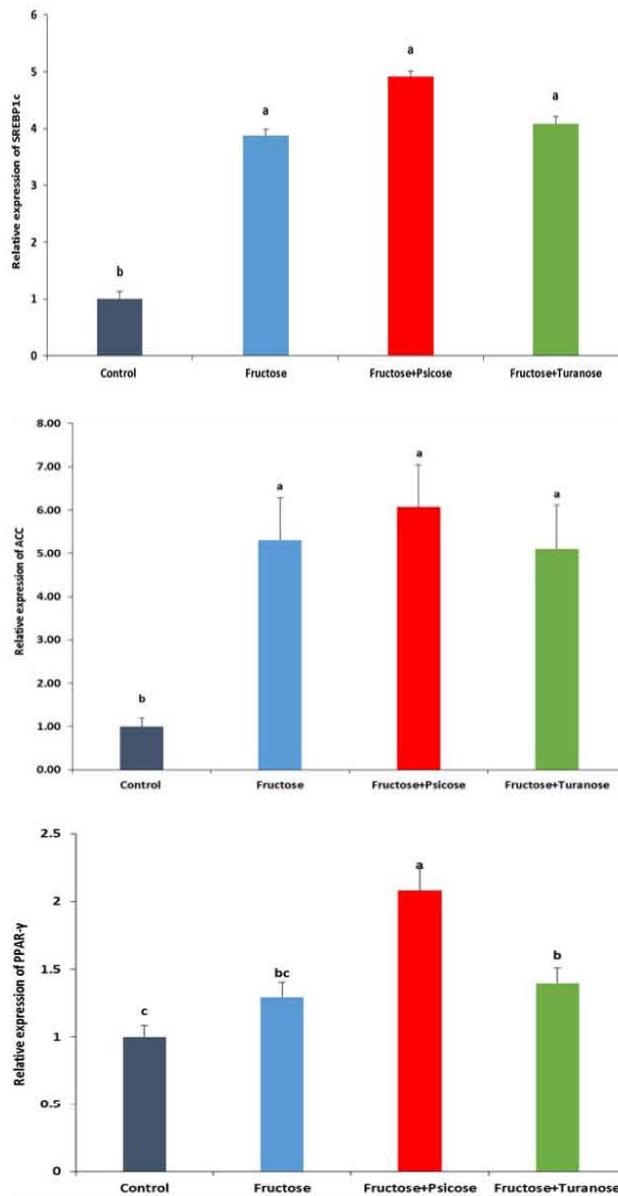


Figure 4-5. Adipose tissue mRNA expression of genes associated adipogenesis

a, b, c, Significantly different between the groups, $P < 0.05$.

아. 간 조직 내 지방 분해와 관련된 유전자 발현 측정

간 조직에서의 PPAR α , CPT1, ACADM의 mRNA 발현에 대한 결과는 **Figure 6**에 제시하였음. 간 조직에서 지방 조직의 분해에 관여하는 PPAR α , CPT1, ACADM 을 분석한 결과, 통계적인 유의차는 나타내지 않았으나 사이코스 함유 실험식이군에서 증가하는 경향을 보였다.

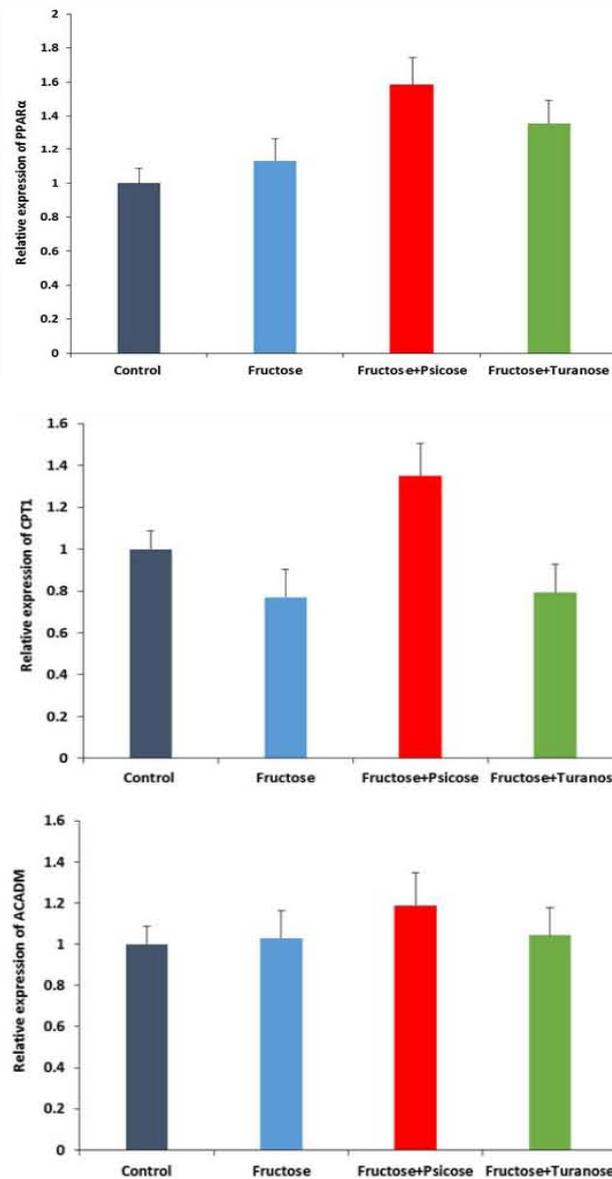


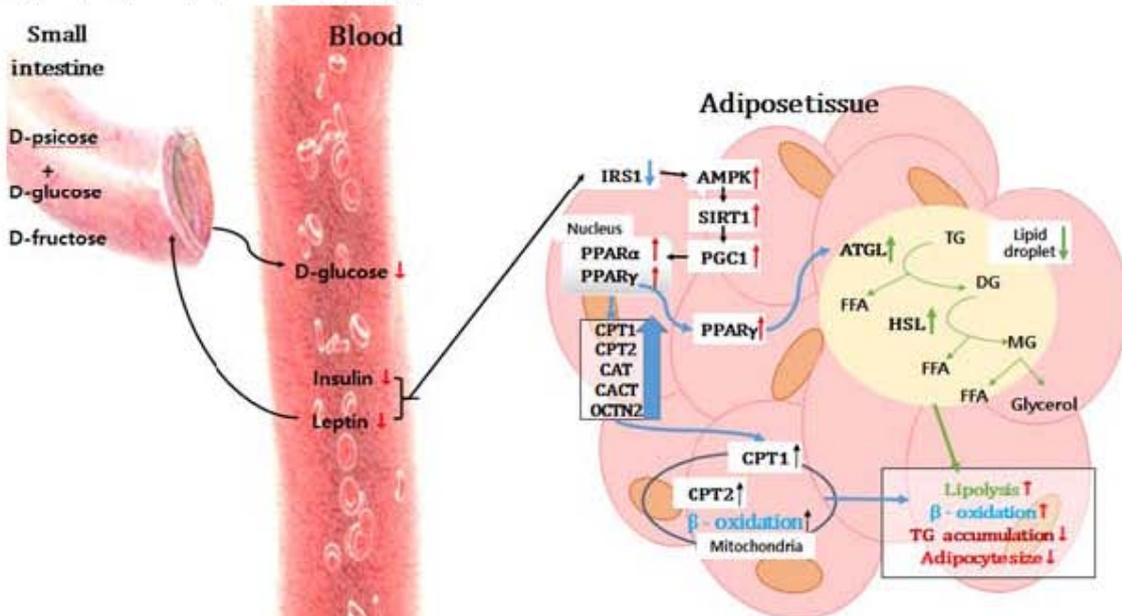
Figure 4-6. Liver mRNA expression of genes associated lipolysis and β -oxidation

⇒ 이러한 결과를 종합하여 보았을 때, 정상 체중 실험동물에서 15%의 과당과 15%의 순수 분말 사이코스를 공급하면 대조군 혹은 30%의 고과당식이를 공급한 군 대비 포도당 섭취 후 혈당 상승 정도가 완화되었고 체중, 체지방 부피, 지방구의 크기 감소도 유도되었다.

특히 지방 분해에 관여하는 유전자 발현 증가가 두드러지게 관찰되었다.

지방 합성에 관여하는 유전자는 대조군 대비 고과당 및 과당과 사이코스 혼합식이 군에서 증가하였으나 PPAR- γ 를 제외한 유전자는 과당군과 차이가 나타나지 않는 것으로 보아 사이코스의 지방조직 축적 억제 효과는 지방산화 활성화에 기인하는 것으로 사료된다.

전체 기전은 다음 그림과 같다



실험 결과에 따르면 d-psicose가 함유된 군에서 혈당이 낮아지는 것을 확인하였음. 이는 혈중 insulin 및 leptin level에 영향을 주어 지방 세포 내 lipolysis 및 β -oxidation에 연관된 지표들의 발현을 증가시켜서 축적되어있는 TG의 분해를 촉진 시키고, Fatty acid를 포함해서 β -oxidation이 활발해 지면서 TG의 축적 및 지방구 크기의 감소를 유도할 것으로 사료됨.

- 동물에서의 섭취량과 사람의 섭취량 비교 자료
(FDA에서 제시한 conversion factor를 사용)

본 실험에서 5% 와 15% psicose 섭취군의 1일 평균 식이섭취량은 각각 3.22g 과 3.24g 이었음. 해당 군 마우스들의 최종시점 평균 체중은 각각 24.99 및 21.19g 이었으므로 해당 군 마우스 평균체중에 기초하여 섭취한 psicose함량은 각각 6.442g/kg 과 22.935g/kg이고 이 숫자를 FDA에서 제시한 conversion factor를 고려하여 인체섭취량으로 환산하여 제시하면 각각 523.73mg/kg 과 1864.66mg/kg 으로 계산됨. (아래 표 참조)

	5%군		15%군	
	식이섭취량	체중	식이섭취량	체중
	3.22g	24.99g (0.02499kg)	3.24g	21.19g (0.02119kg)
식이 내 psicose 함유량	0.161g (161mg)		0.486g (486mg)	
본 실험 Mouse dose		6442.577mg/kg		22935.35mg/kg
Human dose		522.3711mg/kg		1859.623mg/kg

Table 1: Conversion of Animal Doses to Human Equivalent Doses Based on Body Surface Area			
Species	To Convert Animal Dose in mg/kg to Dose in mg/m ² , Multiply by k _m	To Convert Animal Dose in mg/kg to HED ^a in mg/kg, Either:	
		Divide Animal Dose By	Multiply Animal Dose By
Human	37	---	---
Child (20 kg) ^b	25	---	---
Mouse	3	12.3	0.08
Hamster	5	7.4	0.13
Rat	6	6.2	0.16
Ferret	7	5.3	0.19
Guinea pig	8	4.6	0.22
Rabbit	12	3.1	0.32
Dog	20	1.8	0.54
Primates:			
Monkeys ^c	12	3.1	0.32
Marmoset	6	6.2	0.16
Squirrel monkey	7	5.3	0.19
Baboon	20	1.8	0.54
Micro-pig	27	1.4	0.73
Mini-pig	35	1.1	0.95

^a Assumes 60 kg human. For species not listed or for weights outside the standard ranges, HED can be calculated from the following formula:

$$\text{HED} = \text{animal dose in mg/kg} \times (\text{animal weight in kg} / \text{human weight in kg})^{0.33}$$

^b This k_m value is provided for reference only since healthy children will rarely be volunteers for phase I trials.

^c For example, cynomolgus, rhesus, and stump-tail.

Human EQUIVALENT DOSE = animal dose in mg/kg x (animal weight in kg/human weight in kg)^{0.33}

따라서 인체 적용시험과 설치류 시험의 유효성 농도를 simulation 해 보면 약 0.5~1.8g/kg이 되며, 이는 한국인 평균 체중 60kg으로 환산할 경우 30~108g이 유효한 농도이다.

그러나 실질적으로 이 농도는 전기식 식품에 적용하기에는 너무 과량이므로 안전성과 가능성을 입증하기 위하여 선행논문들을 기반으로 인체적용시험에 부여한 일일섭취량 설정 근거를 다음과 같이 IRB 심의 결과서들도 보고서에 제시하였다.

▪ 사이코스의 기능성

사이코스(D-psicose)의 화학적인 구조는 과당(D-fructose)의 C-3에서 epimer (분자량:180.156)를 이루었으나, 설탕과 비교하여 감미는 70% 정도인데 비해 대사에너지는 약 0kcal로 매우 낮으므로 대체당으로 이용시 항비만, 항당뇨등의 기능성에 효능이 있을것으로 기대하며 연구를 진행하고 있다.

D-Psicose의 체지방축적 억제에 대한 작용메커니즘에 관해서는 지금까지 전분식으로 28일간 사육한 경우 5% 사이코스 섭취에 의해 지방산 합성에 관계하는 2개효소(지방산합성효소 및 글루코오스-6-인산디히드로게나아제)의 활성이 저하된다는 것이 보고되어 있다.

또 21일간 5% 사이코스를 섭취한 경우, 호르몬 감수성 리파아제 등의 지방분해제는 활성이 변하지 않는다는 보고가 있어 갈색지방세포와 관련한 식사유도성 산열에도 사이코스 섭취는 영향을 미치지 않는다는 것이 보고되어 있다.

한편 간증에서 케토스의 하나인 프럭토스는 프럭토키나아제에 의해 1인산화체를 증가시켜글리코젠의 증가에 관여한다는 것이 보고되어 있는데 사이코스도 동일한 작용이 있을것으로 예상된다.

또 사이코스에 의한 CLA-1 유전자 감소 억제 메커니즘이 콜레스테롤 역전송계에 관여하여 동맥경화발증을 억제한다는 보고도 있다.

이 사실들로부터사이코스의작용기관 중 하나가 간이고 그기관에서 대사에 미치는 영향이 이번 체지방축적 억제에관여한다고 생각할수 있다.

▪ 사이코스(D-psicose)의 항비만 효능 평가

Chung 등 (2012)에 의하면, Sprague-Dawley종의 흰쥐에 5%의 사이코스를 고지방식이에 혼합하여 4주간 공급 후, 체중증가량과 내장지방량이 감소한 것을 관찰하였는데, 이는 지방세포의 분화를 저해하는 것에 기인한 것으로 사료하였다. 이를 뒷받침하는 근거로, 사이코스를 처리한 C57BL/6 mouse로부터 분리한 지방전구세포(Mesenchymal Stem Cell)의 분화를 저해하는 것을 확인 하였다.

Matsuo등(2001)은 수컷의 Wistar rat에서 5%의 cellulose, D-glucose, 과당, 사이코스를 각각 28일간 섭취시켰다. 그 결과, 식이 사이코스는 체중변화에는 영향을 미치지 못하였으나, 복부주위지방량이 유의적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 간의 지방합성효소(hepatic lipogenic enzyme activity)인glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH, EC1.1.8), fatty acid synthase (FAS, EC2.3.1.85)의 감소로 인해 지방 축적을 감소시킨 것으로 예측하였다.

간의 지방합성효소(Hepatic lipogenic enzyme) 활성의 감소 Yamada 등(2010)의 연구에 의하면 수컷의 Wistar rat에서 22.1% high fructose corn syrup diet(HFCS) 또는 0, 1.3, 2.6, 3.9, 5.2% 사이코스를 5주 동안 섭취시킨 결과, HFCS군과 비교하여 총 지방 및 신장 주변지방의 함량이 감소하는 것을 확인하였다.

이와 달리 Matsuo 등 (2004)의 연구에서는 5% 사이코스를 고지방과 함께 16주간 섭취한 결과, 체지방 뿐만 아니라, 렙틴, 아디포넥틴, TNF- α 와 같은 아디포카인 호르몬에는 차이가 없는 것을 확인하였다. 그러나, 본 연구에서 사용된 일반식이(총에너지의 5%가 지방)와 고지방식이(총에너지의 25%가 지방)는 비만을 유도하기 위한 고지방식이로는 불충분하였기 때문이라고 판단된다. 왜냐하면 ICLAS(International Committee for Laboratory Animal Science)에서 권장하는 일반식이인 AIN-93(American Institute of Nutrition)에서 제시하는 일반식은 지방이 총에너지의 약19 %인데 반해 본시험에서 사용한 식이는 지방이 5%로 매우 낮기 때문이다.

이에 반해, Hossain 등(2012)의 연구에서는 Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats에서 렙틴과 아디포넥틴을 측정 결과, 사이코스 섭취군에서 렙틴이 유의적으로 감소한 것을 확인하였다.

위의 연구들을 토대로 요약하면, 사이코스는 간의 지방합성효소(hepatic lipogenic enzyme activity)인 glucose 6-phosphate dehydrogenase와 fatty acid synthase의 활성을 저해함으로써, 지방의 생성의 감소하였으며, 지방생성 감소로 인해, 아디포카인 호르몬인 렙틴의 함량도 감소한 것으로 예측할 수 있다. 따라서 사이코스는 이성화당에 대해 체지방축적억제 효과를 가지며 우수한 항비만 작용을 가진 소재로서 유용하다고 생각된다.

▪ 사이코스(D-psicose)의 안전성 평가

사이코스 경구섭취의 안전성에 대한 선행연구 결과를 표1에 제시하였다. 치사량을 알아보기 위해 흰쥐를 대상으로 8~20g/kg 일회 경구투여 후 관찰한 연구에서 본 연구에서 투여하는 사이코스 용량의 80배에 달하는 15.8~16.3 g/kg이 치사량(LD50)으로 추정되었다.

장기적인 안전성을 관찰한 또다른 연구들에서 18개월 동안 1,280 mg/kg을 매일 섭취하여도 간독성, 신장독성등의 혈액학적 검사에 이상소견을 보이지 않았다. 사람에서 과당과 함께 식품첨가물로 복용한 후 경미한 두드러기가 발생한 증례가 보고된 바 있으나 건강한 성인을 대상으로 한 연구에서 12주간 하루 15 g의 사이코스를 복용하여도 혈압, 혈당, 간기능, 콩팥기능, 인슐린저항성, 소변검사에 이상소견이 보이지 않았다.

이와 같은 IRB 보고서를 토대로 안전성과 기능성을 기존 문헌에 고려하여 인체시험 용량은 6, 12g/day로 산정하였다.

[사본]

성빈센트병원 임상연구심사위원회(VCMC IRB) / 기관생명윤리심의위원회

가톨릭대학교 성빈센트병원 임상연구심사위원회 심사결과통보서

우편번호 : (162 - 47) 경기도 수원시 팔달구 중부대로 93 전화 : 031-249-8459 전송 : 031-249-8453 담당자 : 정세민

문서번호	VIRB-00114-002		시행일	2014-05-27
연구제목	과체중 혹은 비만인 성인을 대상으로 사이코스 섭취로 인한 체지방 감소에 대한 효과와 안전성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중 맹검, 위약 대조 인체적용시험			
과제번호	VC14HNSE0104			
시험책임자	소속	가정의학과	이름	송삼욱
지원기관	성빈센트병원			
심의대상	계획서			
연구대상	건강식품			
심의일	2014-05-27			
심의결과	승인			
연구승인유효기간	2016-05-26	연구의 지속을 위해 연구승인기간 만료 전에 지속심사의 승인을 득하십시오. 임상연구종료시 종료보고서를 제출하여 주십시오.		
심의내역				
심의 의견	<p>- 기본사항 : <심사결과> 1)관련규정을 근거로 위의 논의사항을 종합한 결과 본 IRB에서는 해당 연구의 심사결과를 '승인'으로 결정함 2)승인 (정위원 11명 중 9명 검토, 9명 참석 중 찬성 9명, 반대 0명, 기권 0명, COI 0명)</p> <p><지속심사주기/승인유효기간> 심의주기 12개월로 승인유효기간은 2015.05.26까지 입니다. 연구의 지속을 위해서는 승인유효일 2개월 이전에 지속심사를 받으시기 바랍니다.</p> <p><기타> 1)심사결과 통보서: 연구자가 반드시 보관해야 하는 서류이므로 해당 연구의 문서와 함께 보관하시기 바랍니다. 2)연구 진행 시 원내에서 발생한 중대하고 예상하지 못했으며 연구와의 연관이 있는 이상반응으로 사망하거나 생명을 위협하는 경우는 책임연구자가 인지한 시점으로부터 48시간(업무일 기준)이내에 해당서식에 내용을 요약하여 IRB에 보고해야 하며, 그외 연구대상자에게 중대한 이상반응 등 안전과 관련된 문제가 발생할 경우 가톨릭중앙의료원 임상연구윤리정책(ver4.0)임상연구관련 보고규정(CHRPP 115)에 따라 인지하는 시점으로부터 7일 이내(업무일 기준)에 IRB에 보고하여 주시기 바랍니다. 3)연구대상자 동의서: 최종승인을 득한 연구대상자 동의서에 승인유효기간이 명시된 IRB의 확인 도장을 받아 동의 취득 시 사용하시기 바랍니다.</p> <p><심사서류> *임상연구 심사신청서 *접수확인증 *연구자 이력서(공동연구자/연구간호사 포함) *연구자서약서 *연구자의 윤리적 고려사항 *이해상충신고서(공동연구자/연구간호사 포함) *교육이수증(공동연구자/연구간호사 포함) *연구계획서_V1.0 *동의서_V1.0 *증례기록지_V1.0</p> <p>*식사섭취량 자가기록일지 *대상자보상규약 *검사비 및 교통비 산출내역서 *약제관리비 *모집공고문 *근거논문</p>			

ver 4.0

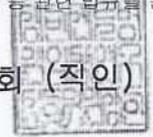
20140527

[사본]

성빈센트병원 임상연구심사위원회(VCMC IRB) / 기관생명윤리심의위원회

- * 귀하가 신청하신 심의안건에 대하여 본 임상연구심사위원회의 심의결과를 위와 같이 알려드립니다.
- * 시험 책임자는 IRB 심의 결과에 이의가 있는 경우 IRB 통보일로부터 2주 이내에 서면으로 이의 사유를 기록하여 이의를 제기할 수 있습니다. 단, 동일 사항에 대하여 2회 연속으로 이의신청을 할 수 없습니다.
- * 본 임상연구심의위원회는 KGCP 및 ICH-GCP 규정을 준수하며, 생명윤리 및 안전에 관한 법률 등 관련 법규를 준수합니다.

가톨릭대학교 성빈센트병원 임상연구심사위원회 (직인)



가톨릭대학교 성빈센트병원장



연구자의 임상시험/연구 수행시 지켜야 할 사항

1. 위원회의 승인을 받은 계획서에 따라 연구를 수행하십시오.
2. 연구진행에 있어 연구대상자를 보호하기 위해 불가피한 경우를 제외하고 연구의 어떠한 변경이든 위원회의 사전승인을 받고 수행하십시오. 연구대상자들의 보호를 위해 취해진 어떠한 응급사항에 서의 변경도 즉각 위원회에 보고 해야합니다.
3. 위원회의 승인을 받은 연구대상자 동의서를 사용하십시오.
4. 모국어가 한국어가 아닌 연구대상자들에게는 승인된 동의서를 연구대상자의 모국어로 인증된 번역본을 사용할 것이며, 이러한 동의서 번역본은 반드시 위원회 승인을 받아야 합니다.
5. 강제 혹은 부당한 영향이 없는 상태에서 충분한 설명에 근거한 동의 과정을 수행할 것이며, 잠재적인 연구대상자에게 연구에의 참여여부를 고려할 수 있도록 충분히 기회를 제공해야 합니다.
6. 연구대상자 모집광고는 사용 전에 위원회로부터 승인을 득한 후 사용해야 합니다.
7. 위원회에서 승인된 계획서에 따라 등록된 어떠한 연구대상자라도 사망, 입원, 심각한 부작용에 대하여는 위원회에 서면으로 보고해야 합니다.
8. 위원회의 요구가 있을 때에는 연구의 진행과 관련된 보고를 위원회에 제출해 주시기 바랍니다.
9. 임상시험 또는 연구대상자의 안전에 대해 유해한 영향을 미칠 수 있는 어떠한 새로운 정보도 즉각적으로 위원회에 보고해야 합니다.
10. 초기심의회에서 승인된 연구의 지속을 위해서는 연구승인유효기간 이내에 지속심의를 신청하여 승인을 득해야 합니다.
11. 임상시험이 종료(조기종료를 포함한다)된 경우, 연구종료 요약자료와 함께 임상시험 종료 사실을 서식 FI-10-02 임상연구종료보고서에 따라 위원회에 보고하여야 합니다.

ver 4.0

20140527

[사본]

성빈센트병원 임상연구심사위원회(VCMC IRB) / 기관생명윤리심의위원회

가톨릭대학교 성빈센트병원 임상연구심사위원회 심사결과통보서

우편번호 : (162 - 47) 경기도 수원시 팔달구 중부대로 93 전화 : 031-249-8459 전술 : 031-249-8453 담당자 : 정세민

문서번호	VIRB-00118-010	시행일	2014-09-23
연구제목	과체중 혹은 비만인 성인을 대상으로 사이코스 섭취로 인한 체지방 감소에 대한 효과와 안전성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중 맹검, 위약 대조 인체적용시험		
과제번호	VC14HNSE0104		
시험책임자	소속	가정의학과	이름 송상욱
지원기관	성빈센트병원		
심의대상	변경계획서		
연구대상	건강식품		
심의일	2014-09-23		
심의결과	승인		
연구승인유효기간	2016-05-26	연구의 지속을 위해 연구승인기간 만료 전에 지속심사의 승인을 득하십시오. 임상연구종료시 종료보고서를 제출하여 주십시오.	
심의대상문서	계획서 Version : version 2.0 CRF Version : version 2.0 피험자동의서 Version : version 2.0 IB Version :		
심의내역			
심의내용	<p>변경계획서</p> <p>기본사항 : 1) 연구계획서(Protocol) : ver 1.0 -> 2.0 2) 증례기록서(CRF) : ver 1.0 ->2.0</p> <p>피험자 동의 및 안전관련 : 3) 대상자 동의서(ICF) : ver 1.0 ->2.0</p> <p>기타 : 4) 연구비 (소계 55,052,078원 -> 소계74,872,390원)</p> <p>변경사유 : 1) 대상자 수 및 군 변경, window visit 수정 등으로 연구계획서 변경됨. 2) 연구계획서 변경에 따라 증례기록서 변경됨. 3) 연구계획서 변경에 따라 대상자 동의서 변경됨. 4) 대상자 수 변경에 따라 연구비 내역 변경됨.</p>		
심의 의견	<p>- 기본사항 : <심사결과></p> <p>1)주요 변경사항이 연구 대상군이 두군에서 세군으로 변경되는 것으로 연구설계에 영향을 미치는 변경이므로 정규심사에 상정됨</p> <p>2)사이코스 군-위약군의 두군에서 고용량군(사이코스 12g), 저용량군(사이코스 6g +무수포도당 6g) , 위약(무수 포도당 12g)군으로 세군으로 연구설계가 변경되는 것으로 저용량사이코스 군의 효과가 기존 설계되었던 고용량사이코스 효과와 비슷할 것으로 기대되어 저용량 사이코스 군을 추가하여 변경한 것으로 변경으로 인해 연구대상자에게 미치는 위험도가 최소한의 위험이내의 변경임</p> <p>3)승인 (정위원 11명 중 9명 검토,9명 참석 중 찬성 8명, 반대 0명, 기권 0명, COI 1명)</p> <p><기타></p> <p>1) 심사결과통보서는 반드시 해당 연구의 문서와 함께 보관하시기 바랍니다.</p> <p>2) 피험자 동의서에 IRB 확인 도장을 받고 연구를 진행하시기 바랍니다.</p> <p><심사서류></p> <p>* 임상연구 변경 심사 신청서 *인체적용시험 계획서 검토 확인서 *계획서_v2.0 * 증례기록서_v2.0 *동의서_v2.0 *검사비 및 교통비 산출 내역서 *변경대비표</p>		

ver 4.0

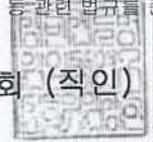
20140923

[사본]

성빈센트병원 임상연구심사위원회(VCMC IRB) / 기관생명윤리심의위원회

- * 귀하가 신청하신 심의안건에 대하여 본 임상연구심사위원회의 심의결과를 위와 같이 알려드립니다.
- * 시험 책임자는 IRB 심의 결과에 이의가 있는 경우 IRB 통보일로부터 2주 이내에 서면으로 이의 사유를 기록하여 이의를 제기할 수 있습니다. 단, 동일 사항에 대하여 2회 연속으로 이의신청을 할 수 없습니다.
- * 본 임상연구심의위원회는 KGCP 및 ICH-GCP 규정을 준수하며, 생명윤리 및 안전에 관한 법률 등 관련 법규를 준수합니다.

가톨릭대학교 성빈센트병원 임상연구심사위원회 (직인)



가톨릭대학교 성빈센트병원장



연구자의 임상시험/연구 수행시 지켜야 할 사항

1. 위원회의 승인을 받은 계획서에 따라 연구를 수행하십시오.
2. 연구진행에 있어 연구대상자를 보호하기 위해 불가피한 경우를 제외하고 연구의 어떠한 변경이든 위원회의 사전승인을 받고 수행하십시오. 연구대상자들의 보호를 위해 취해진 어떠한 응급사항에 서의 변경도 즉각 위원회에 보고 해야합니다.
3. 위원회의 승인을 받은 연구대상자 동의서를 사용하십시오.
4. 모국어가 한국어가 아닌 연구대상자들에게는 승인된 동의서를 연구대상자의 모국어로 인증된 번역본을 사용할 것이며, 이러한 동의서 번역본은 반드시 위원회 승인을 받아야 합니다.
5. 강제 혹은 부당한 영향이 없는 상태에서 충분한 설명에 근거한 동의 과정을 수행할 것이며, 잠재적인 연구대상자에게 연구에의 참여여부를 고려할 수 있도록 충분히 기회를 제공해야 합니다.
6. 연구대상자 모집광고는 사용 전에 위원회로부터 승인을 득한 후 사용해야 합니다.
7. 위원회에서 승인된 계획서에 따라 등록된 어떠한 연구대상자라도 사망, 입원, 심각한 부작용에 대하여는 위원회에 서면으로 보고해야 합니다.
8. 위원회의 요구가 있을 때에는 연구의 진행과 관련된 보고를 위원회에 제출해 주시기 바랍니다.
9. 임상시험 또는 연구대상자의 안전에 대해 유해한 영향을 미칠 수 있는 어떠한 새로운 정보도 즉각적으로 위원회에 보고해야 합니다.
10. 초기심의회에서 승인된 연구의 지속을 위해서는 연구승인유효기간 이내에 지속심의를 신청하여 승인을 득해야 합니다.
11. 임상시험이 종료(조기종료를 포함한다)된 경우, 연구종료 요약자료와 함께 임상시험 종료 사실을 서식 FI-10-02 임상연구종료보고서에 따라 위원회에 보고하여야 합니다.

ver 4.0

20140923

- 동물에서의 섭취기간과 사람과의 섭취기간과의 연관성 비교자료

실험용 마우스는 사람과 95-98%의 genome과 대부분의 질병을 공유하는 것으로 널리 알려져 있음. 본 동물 실험에서는 5% 사이코스 대체 식이의 경우 16주, 15% 사이코스 대체 식이의 경우 10주간 마우스가 섭취함. 연구에 사용된 C57BL/6J 마우스의 경우 매우 보편적으로 사용되는 실험용 wild type 마우스 종으로서 보고된 수명은 일반적으로 2.5-3년임. WHO(세계보건기구)에서 2014년 기준으로 대한민국 남성 평균수명은 78.8세로 알려져 있음. 이를 실험동물로 환산해 보면, 실험 식이 시작 시점인 마우스 5주령은 사람으로 치면 약 11세이고, 10주가 지나면 약 33세, 16주가 지나면 약 45세로서 각각 22년, 34년에 해당된다고 환산할 수 있음.

3절 사이코스 제품화

1. 동물실험용 사이코스 시럽 생산

가. 목표

규격화 된 사이코스 15, 25% 시럽 목표 조성(포도당:과당:사이코스:올리고당) 41:30:15:4, 6:67:25:2 (고형분 함량 75%), 95% 이상 사이코스 분말 생산 후 동물실험에 제공

나. 생산방법

균체 배양 --> 고정화 비드 제조 --> 고정화 반응 / 이온 정제 --> 농축 및 시럽 저장 --> 결정화 --> 분말

다. 결과

(1) 액상 과당 55%/95% 이용한 사이코스 15%/25% 함유 시럽 및 분말 조성 분석
- 제조된 사이코스 함유 시럽은 표 1과 같은 방법으로 LC 분석하여 시럽의 조성을 확인하였으며, 그 결과는 Table 5-1, 5-2에 나타내었다.

Table 5-1. 사이코스 함유 시럽의 LC 분석

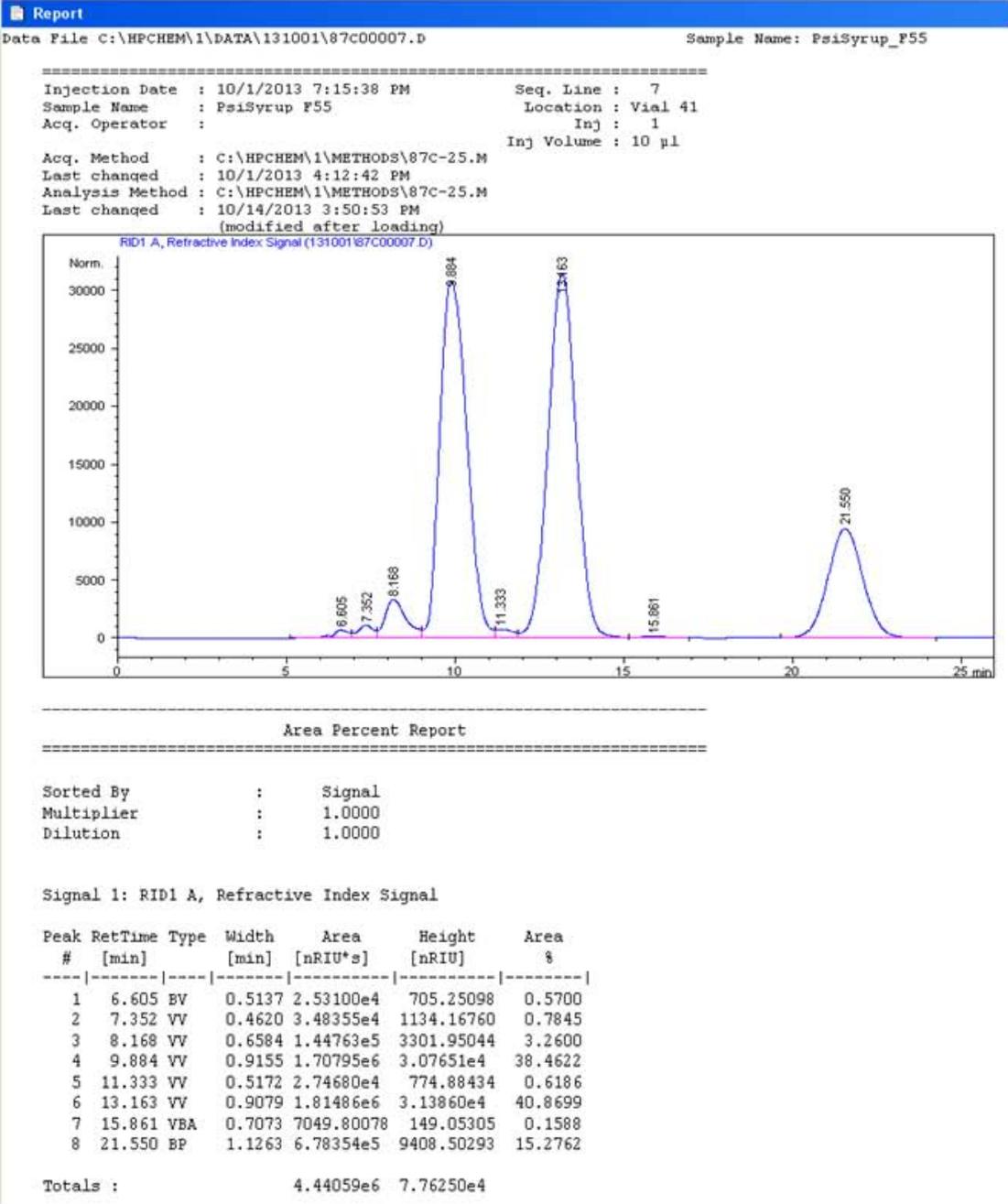
컬럼	Biolad Aminex HPX-87C
이동상	증류수
유속	0.6ml/min
분석 온도	80℃
분석 시간	25분

Table 5-2. 액상 과당 55% / 95% 이용 제조된 사이코스 시럽 당 조성

Area (%)	사이코스 15% 시럽	사이코스 25% 시럽
사이코스	15.33	24.20
과당	40.94	65.40
포도당	38.51	6.84
올리고당	4.46	2.13

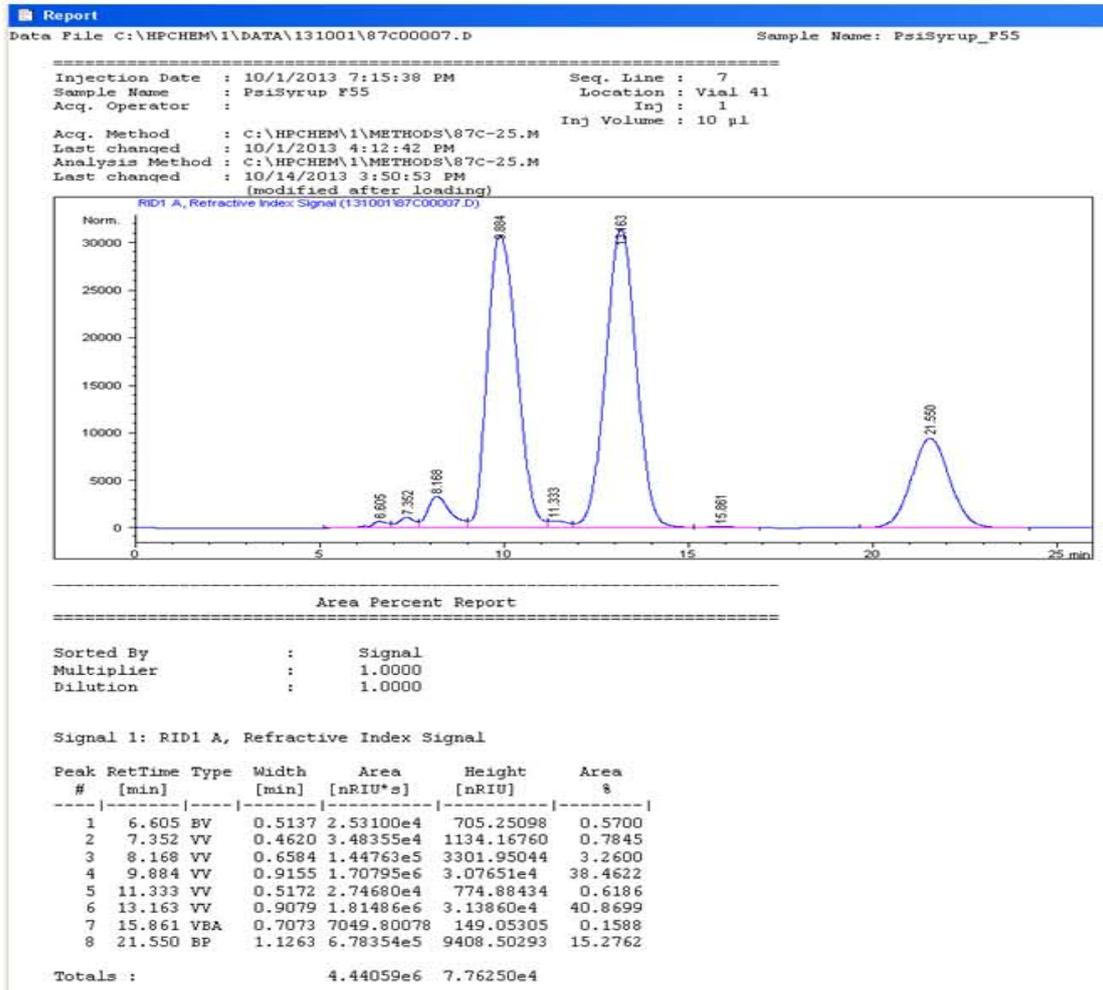
(2) 사이코스 함량별 LC 분석 차트

: 액상 과당 55% 이용한 사이코스 15% 함유 시럽



(3) 사이코스 함량별 LC 분석 차트

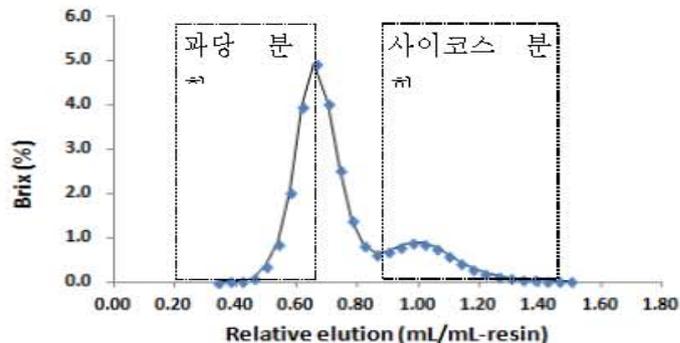
: 액상 과당 95% 이용한 사이코스 25% 함유 시럽



(4) 고순도 사이코스 분리

- Ca²⁺ 타입 이온수지 이용 사이코스 분획별 함량 그래프는 아래 그림과 같다.

사이코스 분획은 컬럼 통액량의 0.9bv~1.4bv에서 순도 95% 사이코스를 분획하였다.



(5) 분말화

- 분말 방식 : 과포화 농도에서 서서히 냉각하여 결정을 생성하는 방식
- 실험 방법

순도	사이코스 90% 이상
원액 농도	80.0 Brix (%) 이상
Seed 첨가량	1%/고형분양g (온도 냉각 시 첨가)
냉각온도	40℃→20℃
결정 회수방법	원심탈수 후 냉수로 2회 세척 → 50℃ 진공 건조 후 회수



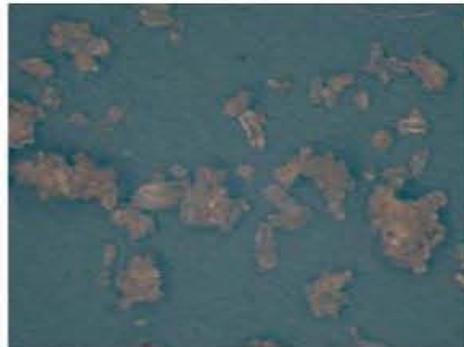
결정화 장비

(6) 실험 결과

- a. 결정 수율 : 40% 이상 (원액 고형분양 대비 사이코스 분말 회수량 %)
- b. 분말 순도 : 99% 이상



광학 현미경 (x100배)



실체 현미경 (x250배)

2. 사이코스 시럽 물리 이화학적 특징 연구

- 분석 항목: 빙점강하, 수분활성도, 열 안정성, 착색도, pH안정성, 감미도 테스트
- 분석 대상: 사이코스 15%, 25% 시럽 (대조구: 설탕, 포도당, 과당55)

가. 빙점강하

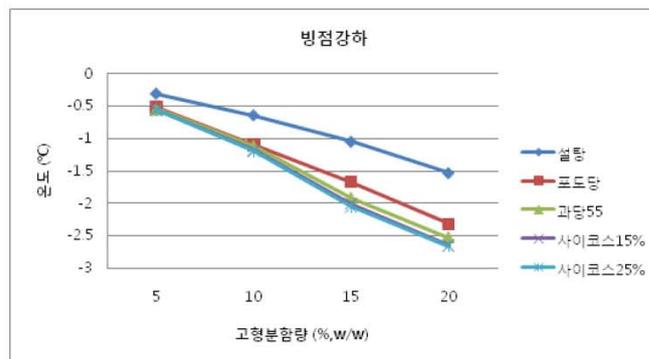
(1) 분석기기: cryoscope

(2) 분석방법

- 샘플을 각 농도별로 희석한 뒤 vial 에 담는다. (vial에 그려진 라인에 맞춰 정량)
- Vial을 freezing chamber에 넣은 뒤 start 버튼을 눌러 분석을 시작한다.
- 2반복 측정하여 평균값으로 결과 분석



고형분함량(%)	5	10	15	20
설탕	-0.304	-0.637	-1.042	-1.523
포도당	-0.516	-1.092	-1.667	-2.316
과당55	-0.543	-1.109	-1.914	-2.527
사이코스15%	-0.556	-1.177	-2.004	-2.645
사이코스25%	-0.552	-1.196	-2.045	-2.66



- 일반적으로 분자량이 적을수록 용액의 동결온도가 낮아지게 되는데, 설탕을 제외한 나머지 4가지 샘플 모두 설탕 보다 낮은 동결 온도를 보였다. 이는 고형분 함량이 증가함에 따라 더 낮은 값을 보였으며, 사이코스 시럽의 경우 사이코스 함량에 상관없이 과당55와 비슷한 결과를 나타내었다.

나. 수분활성도

(1) 분석기기: 수분활성도 측정기

(2) 분석방법

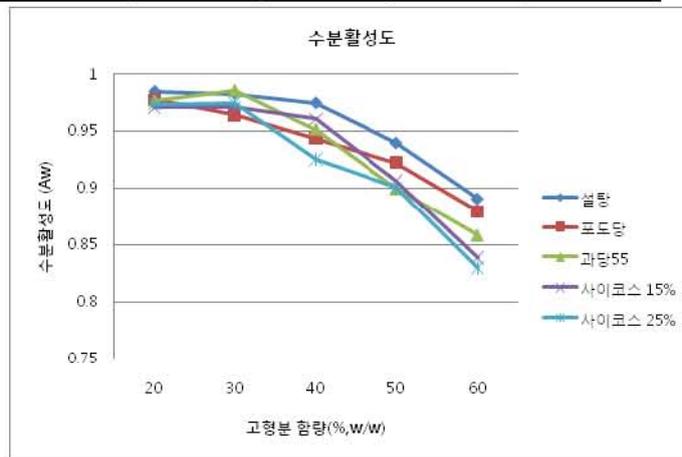
- 샘플을 각 농도별로 희석한 뒤 수분활성도 측정 용기의 반이 넘지 않게 담은 뒤

chamber를 열어 용기를 넣는다.

- Chamber를 닫고 분석을 시작한다 (분석되는 동안에는 외부 수분 차단 필요)
- 2반복 측정하여 평균값으로 결과 분석
- 빙점강하와 마찬가지로 분자량이 적을수록 삼투압은 증가하여 수분활성이 적어지게 된다. 포도당이나 이성화당은 분자량이 약 2배인 설탕보다 수분활성이 적어 미생물 발육억제에 효과가 있다. 사이코스 함량이 높을수록 낮은 수분활성도를 보였으나 15%시럽과 25%시럽 간의 유의적 차이는 없었다.



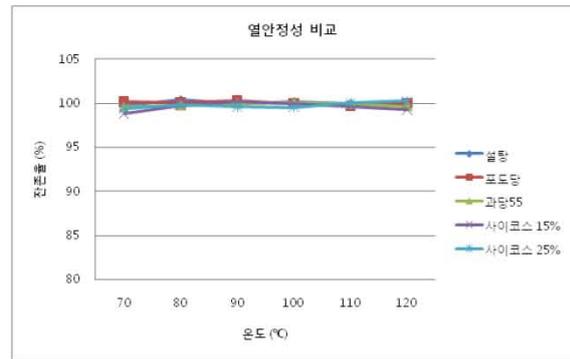
고형분함량(%)	20	30	40	50	60
설탕	0.985	0.983	0.975	0.94	0.891
포도당	0.978	0.965	0.944	0.923	0.88
과당55	0.977	0.986	0.952	0.9	0.859
사이코스1	0.971	0.971	0.961	0.907	0.839
사이코스2	0.974	0.975	0.926	0.901	0.83



다. 열안정성분석

(1) 온도에 따른 당조성 변화 분석

- 10% 회석 샘플을 각기 다른 온도 조건에서 10분 동안 반응 한 뒤, HPLC (aminex HPX-87c column 300 x 7.8 mm)를 이용하여 온도 반응 전, 후의 당조성 변화 분석.
- 온도범위: 70, 80, 90, 100, 110°C
- 각 온도범위에서 10분 동안 반응 후 LC분석을 통해 주요 성분 잔존율 계산, 또한 색차계를 이용한 색도 분석을 통해 갈변 정도 분석



- 10% 용액으로 2반복 측정

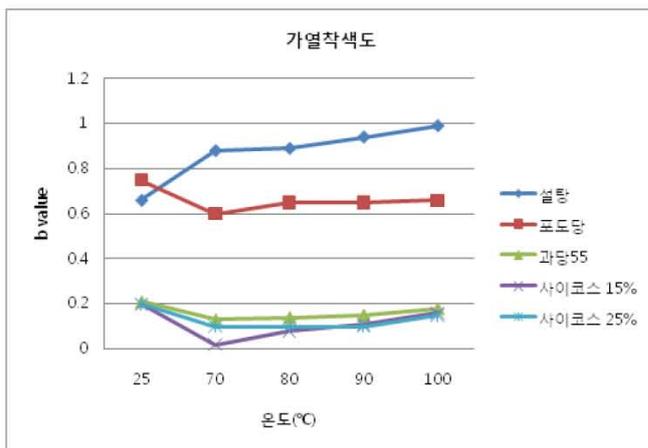
- 잔존율(%)은 반응 전 용액의 LC분석 시 area%값 대비 반응 후 area%값을 백분율로 환산

- 5가지 온도범위에서 10분간 반응 후 LC를 통해 주요성분의 잔존율을 계산한 결과, 120°C까지 대부분 성분들이 잔존함을 알 수 있었다.

(2) 온도에 따른 갈변 테스트

- 10% 희석 샘플을 각기 다른 온도 조건에서 10분 동안 반응 한 뒤, 색차계 (colorimeter)를 이용하여 색도 분석 (ΔL , a, b, c).

- 색도 분석에서 L value는 명도, a value는 red(+)와 green(-), b value는 yellow(+)와 blue(-)를 나타낸다. 가열 후 착색 정도를 알아보기 위해 색차계를 이용하여 분석 한 뒤 갈변 정보를 나타내는 b value를 비교해 보았다. 그 결과 온도가 증가할수록 갈변 정도(b value)가 증가하였으며 특히 설탕이 가장 높은 갈변 반응을 보였다. 사이코스 시럽은 과당55와 비슷한 수준이며 설탕과 포도당보다 낮은 수준이었다.

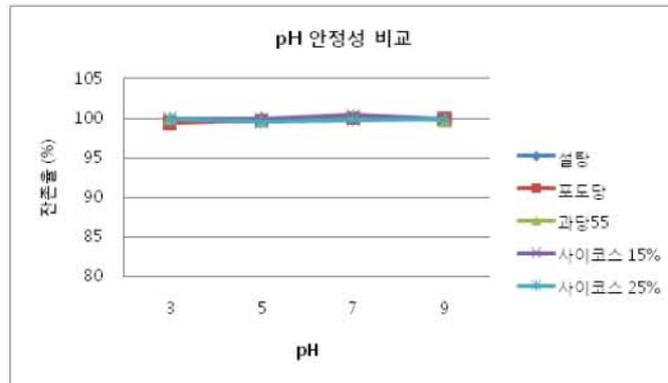


라. pH 안정성 분석

- 0.01M HCl, NaOH용액을 이용하여 각 샘플의 pH를 조절한 뒤 100°C 조건에서 가열 반응(10분) 후 식힌 샘플을 HPLC (aminex HPX-87c column 300 x 7.8 mm)를 이용하

여 당조성 변화 분석.

- pH 범위: 3,5,7,9

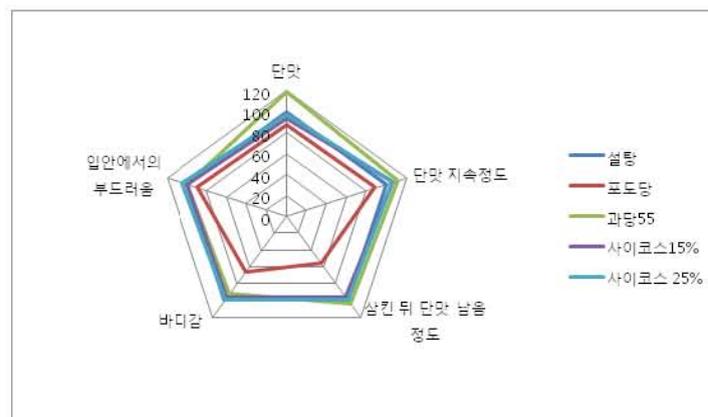


- 각 시럽의 pH값은 약 6정도 였으며, 강산과 강염기 시약을 이용하여 pH를 조절한 뒤 10분간 끓는 물에서 반응하였다. 상온에서 식힌 뒤, 반응 전 용액과 반응 후 용액의 LC 분석결과를 통해 주요 성분 잔존율을 계산하였다. 5가지 실험구 모두 강산(pH 3)과 강염기(pH 9)의 조건에서도 주요성분의 분해 없이 안정적임을 알 수 있다.

마. 감미도 테스트

- 패널수: 15명

- 10%의 각 용액을 입에 처음 넣었을 때를 시작으로 하여 삼키기 전까지의 단맛, 단맛 지속 정도, 삼킨 뒤 입안에 남는 단맛의 정도, 부드러움, 바디감 등을 점수화시켜 분석



- 점수는 항목별로 설탕이 10, 물 0 일 때를 기준으로 하여 0-10사이의 숫자로 점수화

- 설탕을 기준으로 했을 시, 과당55가 훨씬 더 단맛을 보였으며 사이코스 시럽은 2종류 모두 설탕과 유사한 단맛 강도를 보였다. 사이코스 시럽의 경우, 5가지 감미도 테스트 항목에서 설탕과 유사한 결과를 모두 보였으며, 특히 바디감이나 입안에서의 부드러움 정도는 다른 실험구들에 비해 높은 값을 보였다.

바. 점도분석

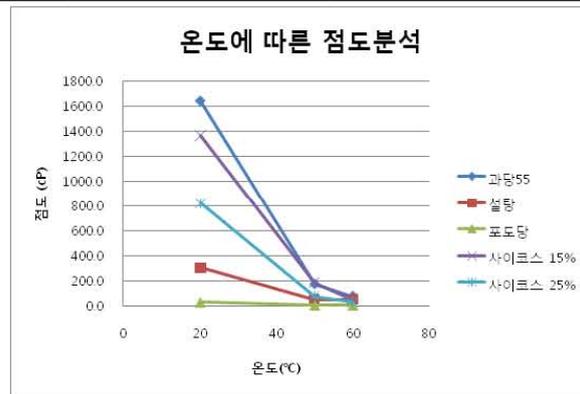
(1) 분석기기: Brookfield programmable rheometer

(2) 분석방법

- 분석온도: 상온(20℃), 50, 60℃
- 분석조건: probe no. 64, 50rpm
- 75bx의 샘플균을 500ml 비커에 담은 뒤 온도평형을 해준다.
- 점도계에 probe를 끼운 다음 분석 샘플에 probe를 담귀 흔들리지 않도록 고정시킨다.
- On 버튼을 눌러 분석을 실시하며 분석 도중 샘플이 흔들리지 않아야 하고 probe의 반 이상이 샘플 안에 들어가 있어야 한다.

(3) 분석결과

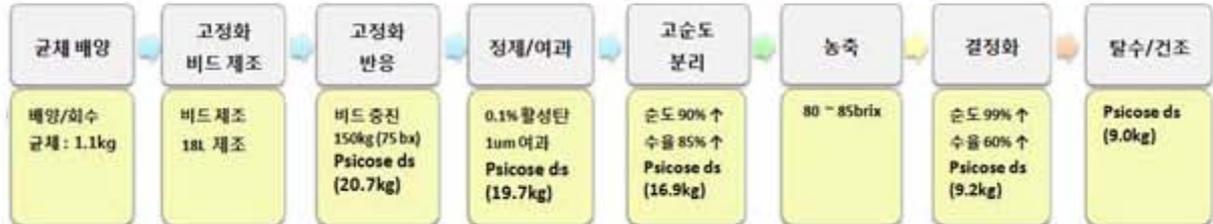
온도(℃)	20	50	60
과당55	1644.0	174.0	78.0
설탕	305.9	54.0	54.0
포도당	30.0	6.0	6.0
사이코스 15%	1367.5	186.0	54.0
사이코스 25%	821.8	78.0	30.0



- 전반적으로 온도가 증가함에 따라 샘플의 점도는 감소하였으며, 특히 사이코스 15% 시럽은 과당55와 비슷한 점도를 보였다. 이는 사이코스 함량이 적을수록 이 외의 단당류(포도당, 과당)함량이 높아 과당55의 당조성과 유사하기 때문이라고 볼 수 있다.

3. 인체 시험 시험약 제조

가. 전체 생산 과정



나. 균체 배양 및 고정화 비드 제조

(1) 균체 배양

30L 발효조 이용 균체 회수량 1.1kg, 총 발효 회수 : 3회, 총 균체 회수량 : 3.5kg

(2) 균체 고정화 비드 18L ▶ 총 3회 제조 ▶ 제조량 총 54L

다. 균체 고정화 비드 반응탑 충전 및 고정화 반응

(1) 고정화 비드 반응탑 충전

제조된 고정화 비드를 반응탑 부피 70% 수준으로 충전 후, 반응 기질을 공급 및 순환 반응하여 전환을 안정화 작업.

(2) 사이코스 함유 시럽 생산 고정화 반응

사이코스 함유 시럽 생산용 과당 함유 기질 공급 및 반응

▶ 고정화 반응 조건

- 반응 기질 : 과당 함유 기질 (40 ~ 50brix) 공급
- 반응 온도 : 온도 50 ~ 60℃ 범위 내 반응
- 반응 범위 : 사이코스 함량 15% 이상 30% 이하 유지 조건 반응

라. 반응 완료 사이코스 함유 시럽 정제

(1) 활성탄 반응 / 여과 처리 공정

- 반응 완료 시럽의 활성탄 처리 및 여과 공정을 통하여 시럽의 탈색화
- 활성탄 반응이 완료된 사이코스 함유 시럽의 Bag-filter (pore size 5um) 및 M/F (pore size 1um) 연속 여과에 의한 활성탄 제거 공정

(2) 이온 정제

- 활성탄 제거된 사이코스 함유 시럽의 양이온 교환 수지, 음이온 교환 수지 및 M/B 혼합 수지에 의한 시럽의 탈염화 공정

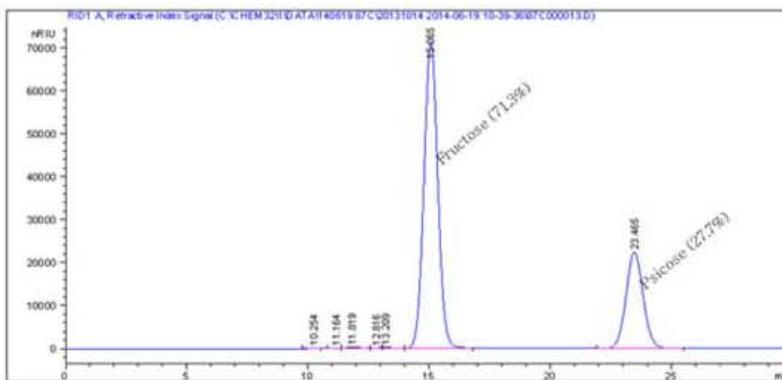
마. 고순도 사이코스 분리 공정

(1) 분리 방법



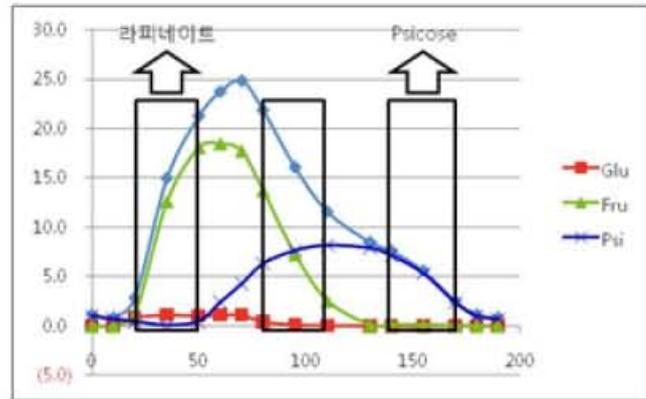
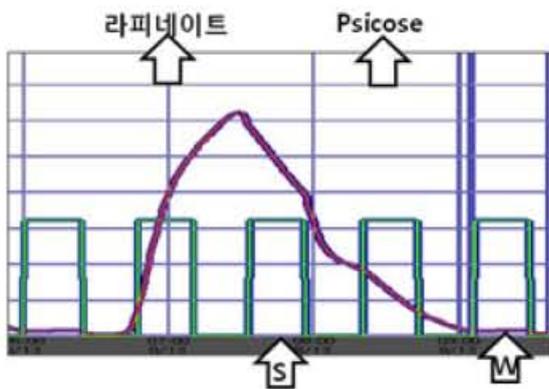
Pilot SMB(좌) 및 원료, 물 Feeding Tank(우)

고순도 사이코스 분리에 사용한 수지는 Lab 실험 결과를 바탕으로 Ca²⁺ Type의 UBK555 (DIAION, Japan)를 사용하였다. SMB 컬럼 온도는 60℃로 유지하고 Feeding Tank에 원료와 물을 채운 후 각각 50℃, 60℃로 가열하여 실험에 사용하였다. SMB 분리에 사용한 사이코스 시럽은 결정과당을 이용하여 제조하였고, 사이코스 함량은 26~27% 시럽을 사용하였다.

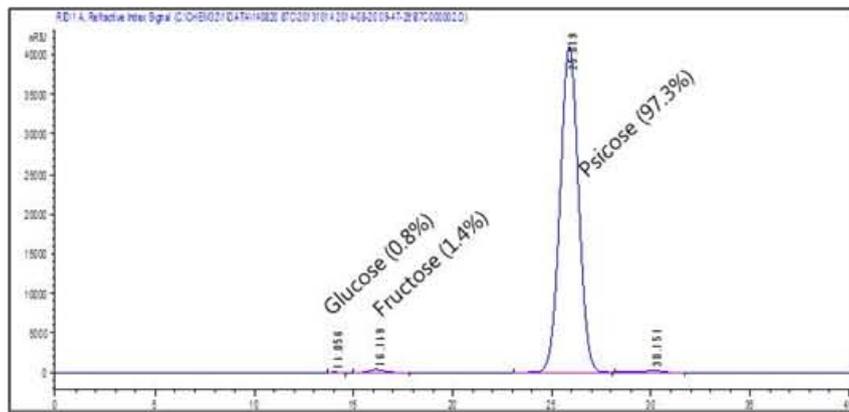


사이코스 시럽 HPLC 그래프 (87C, RI-Detector)

(2) 분리 결과



SMB 사이코스 분리 그래프 (좌) SMB 프로그램 Psicose 시럽 그래프, (우) SMB의 4개 탭에서 임의로 시간대별 샘플링 후 그린 당조성 그래프



사이코스 고순도 분리액 HPLC 그래프 (87C, RI-Detector)

사이코스 고순도 분리액 당조성

	포도당	과당	사이코스	기타 당류
Psicose	0.3%	1.4%	97.3%	1.0%
라피네이트	0.8%	92.2%	6.2%	0.8%

사이코스 고순도 분리 결과 사이코스 분리액의 사이코스 순도는 97.3%를 나타내었고, 포도당, 과당은 각각 0.3%, 1.4%를 나타내었다. 반면 라피네이트로 사이코스 함량이 6.2% 나타났는데, 이는 사이코스 분리액의 순도를 높이기 위해 라피네이트 분리액량을 증가시키면서 사이코스 일부가 라피네이트 쪽으로 빠져나왔다.

바. 사이코스 결정화 및 건조 공정

(1) 결정화 방법

: 고순도 분리액 → 농축 → 결정화 (냉각) → 탈수/세척 → 유동층 건조 → 사별

(2) 사이코스 분말 건조

(가) 입자 균일화 : 탈수된 사이코스 분말을 15mesh 체에 통과시켜 분말 입자를 균일화 한다.

(나) 유동층 장비 건조 : 열풍온도 55℃, Bed 온도 50±2℃, 건조시간 75분

(다) 냉각 : 열풍으로 건조된 분말을 냉각시킨다. (30℃ 이하)

(라) 사별 : 진동체 장비를 이용하여 20mesh~60mesh 입도를 가진 분말을 회수한다. 20mesh를 통과하지 못한 큰 입자의 분말은 정립기 또는 분쇄기를 이용하여 입자를 작게 한 후, 재사별 한다.

(마) 결과

- 건조 전(탈수) 분말 : 74.4kg (수분함량 1.5-2%)

- 건조 후 분말 : 72.8kg (회수율 97.8%)

: 인체시험용 분말 : 58.5kg

: 미분 분말 (60mesh통과) : 14.3kg (유동층 장비 벽면 회수 분말 1.1kg 포함)

- 건조 후 수분함량 : 0.2% (105℃ 수분측정)

- 최종 사이코스 분말 정상(형태) : 사이코스 결정(Crystal형)+미분(과립형) 분말이 혼합 되어 있어 전체적으로 성상이 균일하지 못함

: 결정(Crystal형) : 긴 직육면체의 Crystal로 반짝이는 투명한 결정 형태임.

: 미분(과립형) : 동그란 형태의 백색 과립 분말 형태임 (입도 20mesh 수준)

(바) 분말 분석

- 최종 사이코스 건조 분말 순도 99.4% (99.1±0.3 %)

- 분석 방법: Aminex-87C 컬럼, 이동상 dw, 유속 0.6mL/min, RI detector 분석

사. Placebo (대조구) 샘플 제조

제조 방법 : 사이코스과 Placebo 간에 육안상 분말을 구별할 수 없도록, 사이코스 분말 성상과 최대한 유사하게 구현하고자 함

- 사이코스의 결정(Crystal형) → 합수포도당 과립으로 구현

- 사이코스의 미분(과립형) → 무수포도당 입자를 크게 과립하여 구현

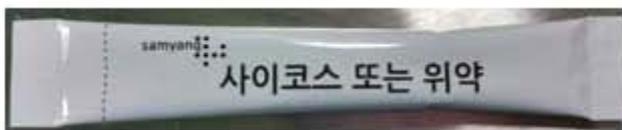
균 : 이물검사 → 자동포장 → 봉지켓팅 → 재밀봉 (수동 실링기)
 - 수동포장 (20kg, 예상 Loss양 포함) - Low dose (사이코스+포도당) 실험균 : 이물검
 사 → 분말 칭량(3g) → 봉지 컷팅 후 투입 → 밀봉 → 무게 검수 및 박스 포장
 → 난수표 라벨부착

(4) 결과

- 인체시험용 사이코스 분말 샘플 제조 및 포장 완료 (사진 참고)
 : 포장 용도로 사용된 사이코스 분말 무게 총 63kg (Loss 포함)

자동포장 스틱 사진

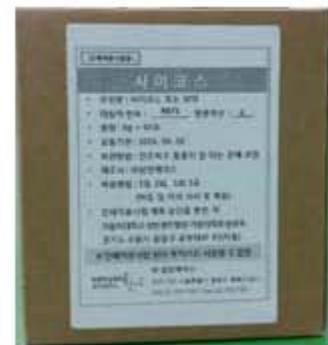
(앞면)



(뒷면)



봉지 박스 포장 : 방문차수별



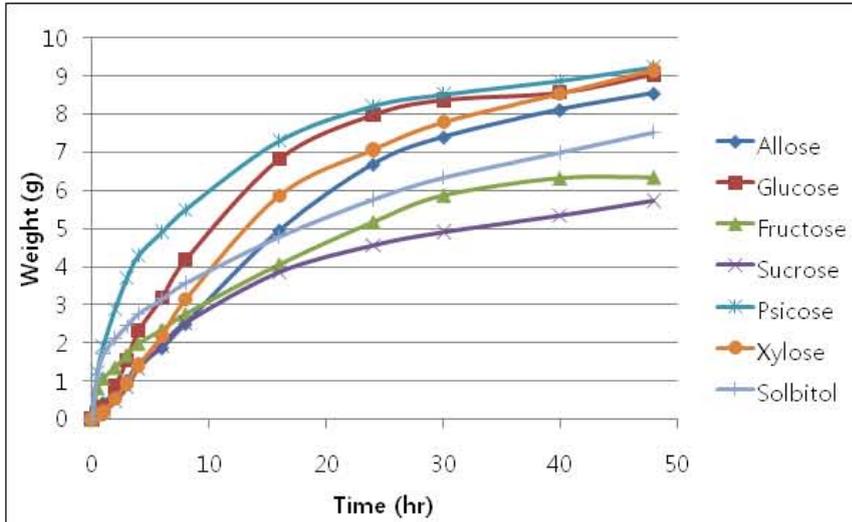
박스포장 (24Pack/Box)



4. 사이코스 분말 물리 이화학적 특징 연구

가. 수분 활성도(흡습성)

시료 접시에 시료 10g을 칭량하여, 항온항습기 (온도 40도, 습도 70%) 에 보관하였다. 이후 시간별로 무게를 측정하여 흡습곡선을 작성하였다.



항온항습기를 이용하여 다습한 환경에서의 사이코스의 흡습성 변화를 확인 결과 사이코스의 흡습성이 다른 단당류들보다 빠르다는 것을 확인하였다. 2당류인 설탕의 경우 단당류들보다 흡습성이 낮게 나타나는 것을 확인하였다.

나. 내산·내열 안정성

10% 용액시료를 pH 2, 3, 4, 5, 6으로 0.1N NaOH 또는 0.1N HCl을 이용하여 적정 후 각각 10ml씩 15ml Falcon에 분획하여 100℃에 1시간 가열하였다. 이후 각 샘플들을 2%로 희석하여 HPLC 를 이용하여 분석하였다. 분석 조건은 Biolad Aminex HPX-87C 컬럼을 이용하여 유속 0.6ml/min으로 흘려주었으며, 컬럼 온도는 80℃이고 이동상은 D.W 를 이용하였다.

내산·내열 안정성 결과 테이블

	가열 전	Ph 2	Ph 3	Ph 4	Ph 5	Ph 6
Psicose	100%	98.9%	99.9%	100%	100%	100%
Glucose	100%	99.8%	99.9%	100%	100%	100%
Fructose	100%	98.6%	99.3%	99.7%	99.8%	99.8%
Allose	100%	99.4%	99.9%	100%	100%	100%
Xylose	100%	98.0%	99.9%	100%	100%	100%
Sucrose	100%	0.1%	29.4%	91.6%	98.3%	99.2%

산성 조건에서 온도를 100℃로 1시간 가열하였을 때 가열 전의 함량 대비 변화율을 표

에 나타내었다. 여러 선행연구에서 알려진 바와 같이 Sucrose는 산성 조건에서 Glucose와 Fructose로 분해된 반면 당류들은 산성조건에서 변화가 없었다. 사이코스도 다른 당류들과 유사한 내산·내열성을 가지고 있음을 확인하였다.

다. 감미도·감미질

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

관능검사원은 관능검사에 대한 이해도가 높고 관능 시험 경험이 있는 패널 15명을 선정하였다. 훈련은 1주일에 3회씩 1개월간 이루어졌으며, 훈련 1회당 평균 30분씩 소요되었다. 평가 내용 및 방법은, 사이코스 혼합당의 관능적 특성은 단맛, 신맛, 쓴맛, 청량감, 단맛 지속성을 평가하였고, 15cm 선척도를 사용하였다.

사이코스/ 설탕 혼합당 관능 평가 결과

	단맛	이미	신맛	쓴맛	청량감	단맛지속성
설탕	10.0	1.5	1.5	1.5	5.0	5.0
사이코스	7.3	6.0	4.2	5.1	10.0	8.2
포도당	8.6	5.3	3.4	3.3	4.1	7.3

사이코스는 설탕의 70%에 해당하는 감미도를 가지지만, 감미 상승의 늦음이나 후미에 쓴맛 또는 이미지를 갖고 있어 감미질의 개선이 필요하다. 따라서 설탕 또는 포도당과 일정 비율로 혼합함으로써, 사이코스가 갖는 감미질의 단점을 보완하고 맛이 개선된 감미료를 제공할 수 있는 추 후 연구가 필요하다.

라. 유통기한 테스트

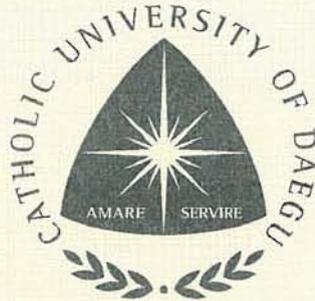
당류 시럽 제품일 경우 실시하지만(현재 사이코스 시럽 유통기한 테스트는 진행 중에 있음) 분말 제품은 유통기한 사유서로 대체하며, 일반적으로 당 제품일 경우 2년의 유통기한이 설정됨.

5. 사이코스 안전성 : 대구가톨릭대학교 GLP 센터 수행

가. 설치류 단회투여 독성 시험

최종보고서 2015. 2. 4

사이코스(동명:알룰로스)의 랫드를 이용한 단회경구투여 독성시험



시험책임자 : 김 정 우
시 험 기 관 : 대구가톨릭대학교 GLP센터
시험기관주소 : 경북 경산시 하양읍 하양로 13-13
시 험 번 호 : 14-SDOT-008
시험개시일 : 2014. 10. 2
실 험 기 간 : 2014. 10. 7 ~ 2014. 10. 28
시험의뢰기관 : ㈜ 삼양제넥스
최종보고서 발행일 : 2015. 2. 4

14-SDOT-008

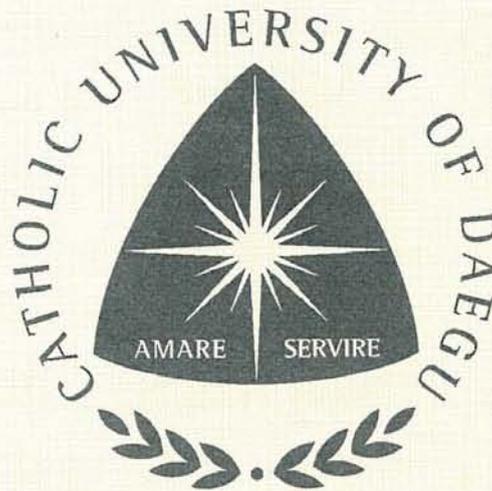


대구가톨릭대학교
G L P 센터

나. 사이코스 유전 독성시험 : 사이코스 미생물 복귀돌연변이 시험

최종보고서 2015. 3. 25

사이코스(동명:알룰로스)의
미생물복귀돌연변이시험



시험책임자 : 김 민 희

시 험 기 관 : 대구가톨릭대학교 GLP센터

시험기관주소 : 경북 경산시 하양읍 하양로 13-13

시 험 번 호 : 14-GTT-RMT-003

시험개시일 : 2014. 9. 11

실 험 기 간 : 2014. 10. 13 ~ 2014. 11. 19

시험의뢰기관 : ㈜ 삼양제넥스

최종보고서 발행일 : 2015. 3. 25

14-GTT-RMT-003

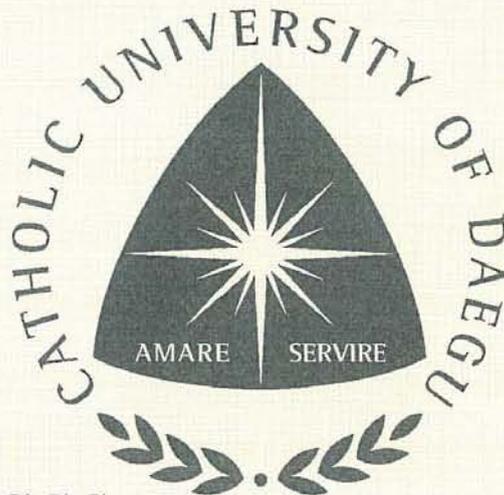


대구가톨릭대학교
G L P 센터

다. 사이코스 유전독성 시험: 사이코스의 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험

최종보고서 2015. 3. 25

사이코스(동명:알룰로스)의
마우스 골수세포를 이용한 소핵시험



시험책임자 : 김 민 희

시 험 기 관 : 대구가톨릭대학교 GLP센터

시험기관주소 : 경북 경산시 하양읍 하양로 13-13

시 험 번 호 : 14-GTT-MNT-003

시험개시일 : 2014. 9. 11

실 험 기 간 : 2014. 9. 16 ~ 2014. 10. 24

시험의뢰기관 : ㈜ 삼양제넥스

최종보고서 발행일 : 2015. 3. 25

14-GTT-MNT-003

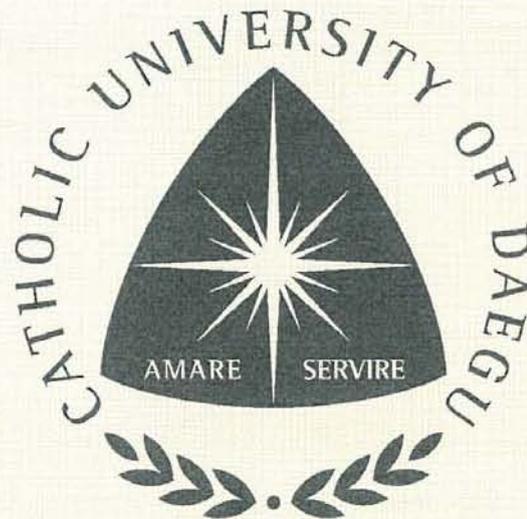


대구가톨릭대학교
G L P 센터

라. 사이코스 유전독성 : 사이코스의 포유류 배양세포를 이용한 염색체이상시험

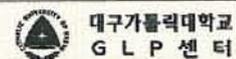
최종보고서 2015. 3. 25

사이코스(동명:알룰로스)의
포유류 배양세포를 이용한 염색체이상시험



시험책임자 : 김 민 희
시 험 기 관 : 대구가톨릭대학교 GLP센터
시험기관주소 : 경북 경산시 하양읍 하양로 13-13
시 험 번 호 : 14-GTT-MCA-002
시험개시일 : 2014. 9. 11
실 험 기 간 : 2014. 10. 10 ~ 2014. 11. 21
시험의뢰자 : ㈜ 삼양제넥스
최종보고서 발행일 : 2015. 3. 25

14-GTT-MCA-002



대구가톨릭대학교
GLP 센터

마. 사이코스 비설치류 단회투여 독성 시험

Chemon Study No. 14-DA-431

진술서

사이코스(동명: 알롤로스)의 Beagle dog에 DE (dose escalation) 법을 이용한 경구투여 독성 시험

본 시험은 비임상시험관리기준(제2014-67호, MFDS, 2014년 02월 12일), OECD Principles of Good Laboratory Practice (1997) ENV/MC/CHEM(98)17에 따라 수행하였다.

상기 시험은 승인된 시험계획서와 ㈜켄온 비임상연구소의 SOP에 따라 수행되었고, 시험계획서에 명시된 목적을 달성하였다. 시험자료의 신뢰성을 저해할 만한 상황은 발생하지 않았다.

차 등 병 

2015.03.16.

차 승 범, D.V.M.

날 짜

시험책임자

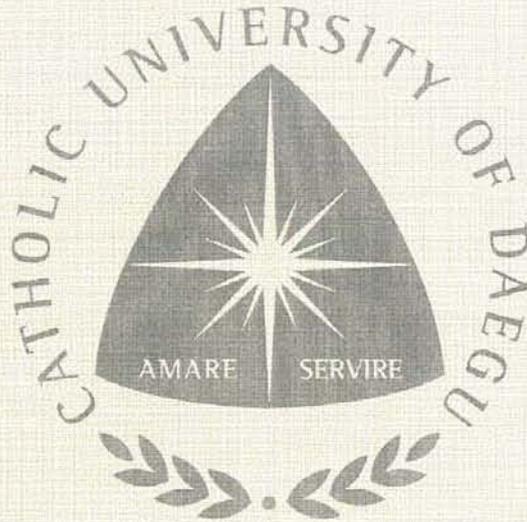
주 소 : ㈜켄온 비임상연구소

경기도 용인시 처인구 양지면 남평로 240, 449-826

연 락 처 : 031-329-9998 (TEL), 031-329-9901 (FAX)

E-mail : bumidakk@chemon.co.kr

사이코스(동명:알룰로스)의 랫드를 이용한
90일 반복경구투여 독성시험



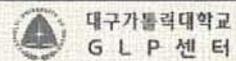
시 험 번 호 : 15-REO-001

최종보고서 발행일 : 2015. 12. 14.

시 험 의 회 기 관 : (주) 삼양제넥스
서울특별시 종로구 종로 33길 31

시 험 기 관 : 대구가톨릭대학교 GLP센터
경북 경산시 하양읍 하양로 13-13

15-REO-001



5. Prototype 제작

가. 건강기능식 : 구미제형 1종

(1) 목적

사이코스 당류를 이용한 몰드 이형성이 우수한 저칼로리 구미 제조용 조성물, 상기 조성물을 이용하여 제조된 구미 캔디 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 사이코스 시럽과 당알코올 분말을 조합함으로써 저칼로리, 항우식성, 몰드 이형성, 및 우수한 식감을 갖는 구미 캔디 및 그 제조방법에 관한 것이다.

(2) 필요성

구미(Gummy)란 젤라틴을 베이스로 만든 쫄깃한 캔디를 통칭하는 것으로, 통상 물엿과 설탕 등의 당류를 가열하여 졸인 캔디 베이스에 젤라틴 용액을 넣고 필요에 따라 산미료, 향료 등을 첨가하여 몰드에서 성형한 뒤 일정한 조건에서 건조시켜 만들어진다.

구미에서 물엿과 설탕 등의 당류는 감미료의 역할뿐만 아니라 최종 제품의 탄력성 등의 물성과 식감에 영향을 주는 중요한 원료이다. 하지만 최근 소비자들의 건강에 대한 관심이 높아지면서 칼로리 및 치아 우식성 등의 이유로 당류 섭취에 대한 거부감이 높아지고 있다. 따라서 물엿과 설탕 등에 비해 칼로리가 낮고 항우식성이 있는 당알코올류 등으로 대체하는 시도가 있었다. 하지만, 당류 전체를 당알코올로 대체한 경우 경도, 응집성 및 씹힘성 등의 물성이 좋지 않는 문제점이 있다.

또한, 물엿, 설탕 등의 당류 전체를 당 알코올류를 사용하여 제조된 저 칼로리 구미는 물성과 식감이 당류를 사용하여 제조된 구미에 미치지 못하거나, 금속 몰드를 사용하여 제조할 경우에 충전 시 데일링 현상과 성형 완료 후 몰드에서 이탈되는 이형성이 좋지 않아서 품질의 저하가 발생하는 등 기술적 장애를 발생시켜 대량 생산이 어려웠다.

따라서 구미제품의 당류를 당알코올류와 저칼로리 당류로 대체하면서도, 물성과 식감이 우수하고, 몰드 이형성이 우수하여 대량생산이 가능한 구미 제조용 조성물, 구미 및 그 제조방법의 개발이 여전히 요구되어 오고 있다.

(3) 제조방법

(가) 실시예 1 내지 3

젤라틴은 정제수와 1:2의 중량비로 혼합하여 약 60℃에서 용해하여, 젤라틴 농도 33 중량%의 젤라틴 용액으로 제조하였다.

25% 사이코스 시럽과 자일리톨을 다양한 함량으로 조합하여 구미를 제조하였으며, 구체적으로 실시예 1 내지 3은 각각 사이코스 시럽 함량을 62 중량%, 52 중량%, 및 42 중량%로 사용하였다.

구체적으로, 25% 사이코스 시럽과 자일리톨을 혼합하여 당 용액을 만들었다. 상기 제조된 당 용액을 하기 표 3에 나타낸 양으로 첨가하여 교반 및 가열하여 85℃까지 도달한 후에 가열을 멈추고 75~85 Brix로 액상 당류의 Brix를 맞추었다. 표 3에 기재된 양으로 구연산을 투입하여 모든 재료가 용해될 때까지 200~300rpm으로 교반하여 재료들을 모두 용해하였다. 그런 후에, 상기 젤라틴 용액(60℃)을 표 3에 나타낸 양으로 투입하고 다시 200~300rpm로 교반하여 구미 제조용액을 만들었다.

상기 얻어진 구미 제조용액을 알루미늄 재질의 구미제조용 금속 성형 몰드에 주입하고 약 4℃의 냉장 온도에서 10분간 굳힌 후 이형시켜, 온도 25℃, 습도 50%의 항온 항습기에서 48시간 건조 후 구미 캔디를 제조하였다.

(나) 비교예 1 내지 3

실시에 1과 실질적으로 동일한 방법으로 구미 캔디를 제조하였으나, 다만 실시에 1의 사이코스 시럽 함량 62중량%와 자일리톨 분말 10중량%를 대신하여, 비교예 1은 자일리톨을 포함하지 않고 사이코스 시럽 72 중량%를 사용하고, 비교예 2는 사이코스 시럽 32 중량%과 자일리톨 분말 40중량%를 사용하고, 비교예 3은 사이코스 시럽 22 중량%과 자일리톨 분말 50중량%를 사용하였다.

* 배합비

원료	실시에 1	실시에2	실시에3	비교예 1	비교예2	비교예3
사이코스 시럽	62.00	52.00	42.00	72.00	32.00	22.00
자일리톨(분말)	10.00	20.00	30.00	0.00	40.00	50.00
젤라틴	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
사과과즙분말	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
사과농축액	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
구연산	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
합계	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

(다) 실시에 4 내지 7

실시에 2와 실질적으로 동일한 방법으로 구미 캔디를 제조하였으나, 다만 실시에 2의 자일리톨 분말 20중량%를 대신하여, 당 알코올류로서 에리스리톨 분말(실시에 4), 솔비톨 분말(실시에 5), 만니톨 분말(실시에 6) 및 폴리글리시톨 분말(실시에 7)를 사용하였다.

원료	실시에4	실시에5	실시에6	실시에7
사이코스 시럽	52.00	52.00	52.00	52.00
당알콜 분말	20.00	20.00	20.00	20.00
젤라틴	20.00	20.00	20.00	20.00
사과과즙분말	4.00	4.00	4.00	4.00

사과농축액	2.00	2.00	2.00	2.00
구연산	2.00	2.00	2.00	2.00
합계	100.00	100.00	100.00	100.00

(4) 결과

(가) 몰드 이형성 평가

실시에 1-7 및 비교예 1-3의 구미 제조 시에, 금속 성형 몰드에서 4℃의 냉장 온도에서 10분간 굳힌 후 이형되는 정도를 1 내지 5단계로 구분하여 몰드 이형 적합성은 정도를 평가하였다. 또한, 20개의 성형이 완료된 구미 중 금속 몰드의 뒷 부분을 밀어 주었을 때 한번에 이형되는 구미의 수를 측정하였고 그 결과를 아래표에 나타내었다.

<이형 적합성 평가기준>

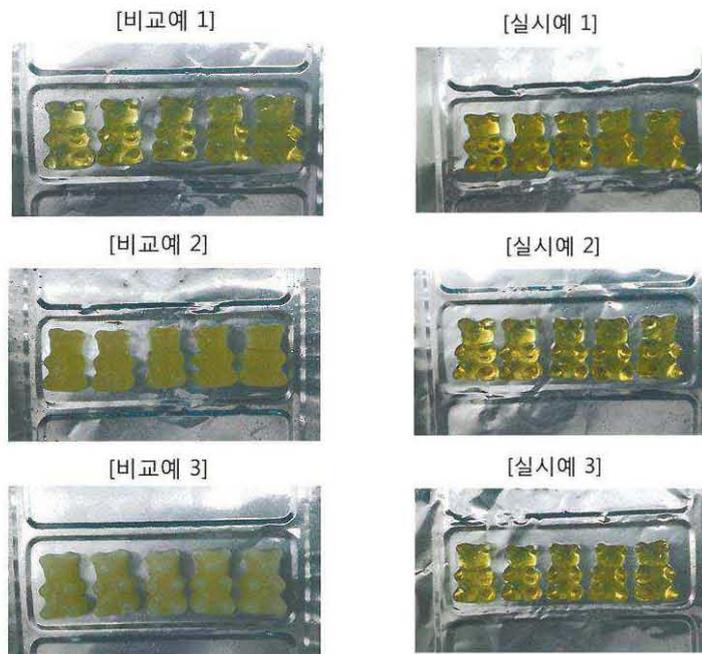
- 1: 몰드에서 매우 잘 떨어지지 않음,
- 2: 몰드에서 잘 떨어지지 않음
- 3: 보통임,
- 4: 몰드에서 잘 떨어짐,
- 5: 몰드에서 매우 잘 떨어짐을 나타냄

표 6에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 구미 캔디는 금속 몰드에서의 이형성이 우수하며, 사이코스 시럽과 자일리톨 시럽을 사용한 비교예 1의 구미 조성물은 20개의 구미 중 3개의 구미가 몰드에서 한번에 떨어지고 이형 적합성도 나빠서 금속 몰드 이형성이 현저히 낮음을 확인할 수 있었다. 또한 비교예 2 및 3의 구미는 이형성은 실시예보다 낮기는 하지만 비교예 1에 비해 높으나, 결정 석출 및 결정 씹힘성 평가에서 좋지 않는 결과를 나타내었다.

(나) 구미의 결정 석출 평가

실시에 1-7 및 비교예 1-3에 따라 구미캔디를 제조하는 과정에서, 금속 몰드로부터 분리한 구미를 건조하면서 결정 석출여부를 육안으로 평가하였다. 또한, 건조된 구미캔디를 먹어 보았을 때 결정이 씹히는 정도를 기준으로 결정 씹히는 식감이 없는 경우를 1로 하고, 결정 씹힘성의 최대 값을 5로 하여 5단계로 구분하여 몰드 결정 씹힘성 정도를 평가하였다. 상기 결정 석출에 관한 육안 관찰 및 식감 관찰 결과를 표 6에 나타냈다. 또한 실시예 1-3 및 비교예 1-3에서 제조된 구미캔디의 사진을 아래 그림에 나타냈다.

항목	이형관 구미	이형 적합성	결정류출	결정 씹힘성
실시예 1	20	5	X	1
실시예 2	20	5	X	1
실시예 3	20	5	X	1
실시예 4	20	5	X	1
실시예 5	20	5	X	1
실시예 6	18	5	X	1
실시예 7	19	5	X	1
비교예 1	3	1	X	1
비교예 2	16	4	O	4
비교예 3	17	5	O	5



사이코스 시럽, 당알코올 또는 올리고당 분말의 함량이 적합한 수치범위를 벗어난 비교예 2 및 3의 경우 도 3을 참고하면 분말이 석출되어 바람직하지 못하다.

따라서, 실시예 1-7의 구미 캔디는 금속 몰드 이형성이 우수할 뿐만 아니라 결정 석출이 되지 않으나, 비교예 2 및 3의 구미는 이형성은 실시예보다 낮기는 하지만 비교예 1에 비해 높으나, 결정 석출 및 결정 씹힘성 평가에서 좋지 않는 결과를 나타내었다.

(다) 구미의 물성 평가

실시예 1-3 및 비교예 1-3의 구미에 대한 물성을 텍스처 분석기(TA-XT2i, Stable micro systems, England)를 이용하여 측정 하였다. 측정 방법은 구미 시료를 cylinder probe 아래 중앙에 놓고 구미 시료를 압착할 때 가해지는 힘을 기준으로 15x20x10 mm

의 동일한 크기의 구미 시료를 2회 반복으로 압착 시 얻어지는 TPA(Texture Profile Analysis) 곡선을 구하여 분석하였다. 분석 조건은 probe 36 mm cylinder, pretest speed 1.0 mm/sec, test speed 1.0 mm/sec, posttest speed 1.0 mm/sec, distance 60%, contact force 100g으로 하였다.

TPA 곡선으로부터 경도(Hardness), 탄력성(Springiness), 응집성, 검성(Gumminess) 및 씹힘성(Chewiness)의 5 항목의 특징치를 5회 반복 측정하여 평균값을 나타내어 그 결과를 하기 아래표에 나타냈다. 표에서, 경도의 단위는 그램(g)이고 탄력성, 응집성, 검성 및 씹힘성은 단위가 없다. 참고예는 시판되는 (주)롯데의 “젤링젤링” 구미제품을 분석한 결과이다.

항목	참고예	실시예 1	실시예2	실시예3	비교예 1	비교예2	비교예3
경도	3537.60	2124.15	2835.51	2623.93	1745.20	4540.76	15606.70
탄력성	0.96	0.97	0.97	0.98	0.99	0.97	0.94
응집성	0.87	0.96	0.95	0.96	0.97	0.65	0.52
검성	3059.11	2034.05	2696.69	2516.78	1698.67	4158.65	8076.42
씹힘성	2938.82	1981.22	2627.25	2462.20	1673.25	4028.60	7598.45

자일리톨 분말을 포함하지 않고 사이코스 시럽 72 wt%만을 포함하는 비교예 1의 경우 경도, 검성 및 씹힘성이 낮아 좋지 않은 결과를 나타내었다. 사이코스 시럽, 당알코올 또는 올리고당 분말의 함량이 적합한 수치범위를 벗어난 비교예 2 및 3의 경우, 경도, 검성 및 씹힘성이 지나치게 높아 좋지 않은 결과를 나타내었다. 비교예 1 내지 3의 응집성 결과를 살펴보면, 구미 캔디에서 결정 석출이 되는 경우 응집성이 낮게 측정되는 경향이 있었다.

실시예 1 내지 3의 구미제품의 경우 탄력성과 응집성뿐만 아니라, 경도, 탄력성, 점착성 및 씹힘성의 측정 결과가 시판 제품의 물성과 동등하거나 다소 우수한 결과를 나타내었다. 따라서 본 발명에 따른 구미 제품은 조직이 단단하면서도 탄력성이 있고 검성과 씹힘성이 우수하다는 것을 확인할 수 있었다.

(라) 관능평가

실시예 1-3 및 비교예 1-3의 구미에 대한 관능 평가를 실시하였다. 관능 평가는 식품관련 분야에서 5년 이상의 관능검사 경력을 지닌 관능검사 요원 10명이 5점 항목척도로 전반적인 식감 만족도를 평가하는 방식으로 수행하였다.

참고예로서 시판 제품 (주식회사 롯데의 젤링젤링 제품)에 대한 전반적인 식감 만족도가 4.45이며, 비교예 1은 3.84, 비교예 2는 3.42, 비교예 3은 3.11의 관능결과가 얻어졌으며, 실시예 1은 4.32, 실시예 2는 4.14, 및 실시예 3은 4.25 결과가 얻어졌다.

따라서, 비교예 1 내지 3의 경우 전체적인 식감 기호도가 다소 떨어지며, 이러한 관능

평가 결과는 표 7의 물성 평가 결과에서 경도, 검성 및 씹힘성 결과가 바람직하지 못한 결과와 일치되는 결과이다.

나. 체중조절식품 : 시리얼바 1종

(1) 시리얼 BAR의 정의

시리얼 BAR의 경우 여러가지 곡물 원료(귀리, 해바라기씨, 콘 시리얼등)에 당액을 이용해 결합한 제품으로 현재 미국이나 유럽의 경우 결합 후 BAKING하는 것이 일반적인 제조 공정이지만 한국과 일본의 경우 BAKING 과정 없이 결합 후 건조 과정만 거치는 것이 특징이다. 현재 시리얼 BAR로는 오리온의 에너지바가 시장을 선도하고 있으면 연간 매출액이 200억 정도하는 대형 제품이다.

(2) 목표 : Non-Baking 시리얼바 제조를 통해 시리얼바의 설탕을 사이코스분말로 대체하여 물성이 개선된 체중 조절용 식품 제조

(3) 실험방법

(가) 시리얼 BAR의 제조

- 기존 설탕을 사이코스 분말로 대체하여 제조

① 테스트 당액 제조표

원료명	대조군 비율(%)	실험군1 비율(%)	실험군2 비율(%)
물엿 (82bx)	40	40	40
설탕	40	20	-
이소말토올리고당	20	20	20
사이코스 분말		20	40
합계	100	100	100

② 제조공정

- 원료 준비
- 당액 원료와 시리얼, 견과류 등 각각 계량
- 시리얼을 솥에서 증불로 가열
- 가열한 시리얼에 당칩 견과류 투입혼합
- 시리얼을 일정 비율로 넣고 섞어줌
- 성형기 높이 18mm로 설정하여 성형
- guilotine cutting 실시
- COOLING 실시

[사이코스분말 함유 시리얼바제품 사진]



(나) 시리얼 BAR 수분 및 수분활성도 평가

수분은 음식물에 포함된 합수량을 의미하며, 식품중의 수분은 주위의 환경조건에 따라 항상 변동하고 있어, 대기중의 상대습도까지 고려한 수분 활성도를 표시한다. 수분 활성도는 미생물의 성장과 식품의 풍미, 색, 향을 변화시키는 식품 내 화학적, 생물리학적, 물리적 반응들과 관계되어 있으므로 식품에 있어서 매우 중요한 특성이다.

제조한 시리얼바에 대해서 수분 및 수분 활성도를 평가하였다. 수분 활성도는 식품의 본질적인 특성이고, 평형 상대습도는 식품과 평형을 이루는 환경에서의 특성이다. 쿠키 중 수분(%)함량은 수분 분석기(Satoriums, Germany) 이용하여 시료 5g을 칭량하였고 온도는 105 ℃, 시간은 자동모드로 설정하여 수분함량을 측정하였다. 수분 활성도 측정기 (LG전자, 국산)를 이용하여 수분 활성도를 측정하였다. (수분 및 수분활성도 값은 3회 반복하여 평균값을 사용함)

(다) 시리얼 바의 경도 평가

텍스처 분석기(TA-XT2i, Stable micro system사)를 이용하여 하기 표의 측정조건에 따라 시료의 경도를 측정하였다.

시리얼바의 경도는 압착시 가해지는 힘을 측정하여 나타내었고, 그 경도는 단위 면적당 가해지는 무게(g)로 나타내었다. 텍스처 분석기를 통한 강도(Hardness)의 값이 높으면 쿠키를 누를 때 많은 힘이 소요된다는 것을 의미하고, 더 단단한 식감을 갖는다는 것을 의미한다.

(경도 측정은 3회 반복하여 평균값을 사용함)

[TA 측정 조건표]

Mode	Measure force in	누르는 힘을 측정
sample size	30 W(mm) x 30 L(mm) x 30 H(mm)	샘플 크기 가로,세로,높이 30mm 큐브 형태

test speed	5mm/s	probe가 시료를 누르는 속도 5mm/s
distance	30%	최초 시료 높이에서 30%의 변형이 올 때까지 시료를 누름
Probe	100mm compression plate	probe 종류

(라) 시리얼 바의 관능 평가

시리얼 바의 관능 특성 강도(색상/단맛/바삭한 정도/촉촉한 정도)와 기호도(외관/식감/전반적인 만족도)를 연구소 패널(N=7)을 대상으로 5점 척도를 사용하여 평가 하였다.

시리얼바를 입 안에 넣고 20초간 구강 표피를 골고루 자극한 후 뱉어내고, 한 시료의 평가를 마칠 때마다 물로 입안을 세척하고 10분이 경과된 후 다음 시료를 평가하여, 상기 관능 요소들을 5점 척도(5-point box scale)로 표시하였다. 관능평가요원은 맛과 향미 평가에 대해 훈련된 패널 15명으로 구성되었으며, 최저값 1점 및 최대값 5점으로 한 5점 척도로 표시하였다.

① 시료 : 시리얼 BAR 2종

시료번호	설명	비고
350	대조군	설탕 100% 사용
522	실험군 1	대조군 설탕 함량 대비, 설탕→사이코스대체(50%)
495	실험군 2	대조군 설탕 함량 대비, 설탕→사이코스대체(100%)

② 평가 방법

- 동일한 조건으로 시리얼바를 분할
- 시료에는 난수표를 이용하여 무작위로 추출한 세 자리 숫자 표시
- 시료 랜덤하게 제시
- 입을 가실 수 있는 물 함께 제공
- 평가 내용 및 방법 : 관능 특성 강도(색상/단맛/바삭한 정도/촉촉한 정도)와 기호도(외관/식감/전반적인만족도)를 5점 척도 사용하여 평가함

(5) 실험결과 및 고찰

(가) 시리얼바 수분 및 수분 활성도(1일, 10일, 15일)

구분	대조군		실험군 1		실험군 2	
	수분	aw	수분	aw	수분	aw
1일차	5.61	0.344	5.08	0.309	5.37	0.303
10 일차	5.58	0.394	5.52	0.322	5.64	0.315
15일차	3.66	0.378	4.13	0.309	4.19	0.296

1일차 분석결과 설탕만을 사용한 대조군이 수분 함량과 수분 활성도가 높게 나타남에 비해, 실험군의 경우 사이코스의 함량이 증가할수록, 수분 함량은 떨어지고 수분 활성도는 더 낮아지는 결과를 나타내었다. 하지만 10일차 15일차가 되면서 수분함량이 대조군과 대비 높아지고 수분활성도는 낮은 현상을 나타냈다. 이것은 사이코스가 수분 보유하는 능력이 뛰어나다는 의미를 의미한다. 통상 제품의 부드러운 식감은 수분함량이 높을수록 좋으나 높은 수분 함량은 수분 활성도 또한 높히게 되어 미생물 증식 등의 우려가 있다. 이런 면에서 사이코스의 사용은 제품의 품질(식감 + 안정성)을 월등하게 향상시키는 결과를 나타내고 있다고 볼 수 있다.

(나) 시리얼바의 경도(1일, 10일, 15일)

구분	대조군	실험군 1	실험군 2
1일차	4592	2877	906
10 일차	9290	4232	2723
15일차	11230	6530	3320

설탕만을 사용한 대조군의 경도가 높았으며 실험군의 사이코스 함량이 증가하면 시리얼바의 경도가 감소하여 부드러운 정도가 증가함을 알 수 있었다. 시리얼바 내의 사이코스 함량이 증가할 수록 경도가 낮아져서 쿠키의 식감이 부드러워지는데 효과가 있는 것으로 판단 된다.

(소프트니스 증가에 사이코스의 효과가 아주 큼)

특히 시간이 지날수록 대조군의 경우 경도가 급격하게 증가하는 것을 볼 수 있고 사이코스를 사용한 제품은 완만하게 경도가 증가함을 보여준다.

(다) 시리얼바의 관능

① 관능 특성 강도 (약-강)

시료번호	설명	색상강도	단맛	바삭한정도	촉촉한정도
350	대조군	3.5	4.0	3.3	2.5
522	실험군 1	3.6	4.2	3.7	3.6
495	실험군 2	3.4	3.7	3.7	4.7

- 색상 : 색상에서는 시리얼 bar에서 사이코스 사용에 따른 색상 차이가 없음
- 단맛 : 실험군 1 > 대조군 > 실험군2 순으로 평가 (혼합해서 사용하는 것이 감미 up 효과적임)
- 바삭한 정도 : 대조군>실험군1> 실험군2에 비해 바삭한 정도 강함

- 촉촉한 정도 : 세 시료 중 실험군2가 가장 촉촉하다고 평가 됨

시료번호	설명	외관만족도	식감만족도	전반만족도
549	대조군	3.7	3.5	3.2
304	실험군1	3.6	3.7	3.2
495	실험군 2	3.9	3.9	3.5

② 기호

- 외관 : 특별히 차이가 없음
- 식감 만족도 : 설탕만 사용한 것은 시간이 지나며 딱딱한 식감이 급격이 증가하며 실험군 2의 경우가 먹기에 적당한 식감이 발현됨
- 전반 만족도의 경우 사이코스 100% 대체 한 것이 가장 만족도가 높게 나타남

(6) 고찰

액당과 설탕의 비율이 비슷한 표준적인 반죽비율로 시리얼바를 제조 할 경우, 반죽에 사용되는 설탕을 사이코스로 대체를 하게되면 사이코스 함량이 증가 할수록 보습성이 증가하고 식감이 부드러워 지는 경향이 있음을 확인함

시리얼바 제조에 사용되는 설탕을 사이코스분말로 적정량(사용하는 설탕량 대비 0~100%) 대체 하게 되면 사이코스가 가지고 있는 기능적인 측면(보습성 증가, 소프트 감 증가, 칼로리 저감등)이 시리얼바를 제조 함에 있어 긍정적으로 작용 할 것으로 판단 됨

다. 제과 제빵용 식품 : 쿠키, 초콜렛

(1) 쿠키

(가) 목적 : 쿠키제조의 사이코스분말 적용 범위 평가

부드럽고 촉촉한 식감을 갖는 쿠키 제조용 프리믹스 및 이를 이용한 쿠키실험결과 쿠키를 제조함에 있어 설탕을 사이코스분말로 대체 할 경우 그 함량이 기존 사용 설탕 대비 50%를 넘어가면 쿠키의 전반적인 식감, 외관, 풍미가 급격하게 떨어지는 것을 확인 함

따라서 본 실험에서는 일반적인 배합의 쿠키제조에 있어서 설탕을 사이코스분말로 대체 할 경우 사이코스분말이 쿠키의 품질에 긍정적인 영향을 줄 수 있는 대체 비율 범위를 찾고자 함

(나) 쿠키의 기본배합

① 유지와 설탕의 비율이 같은 반죽 : 밀가루 100%, 설탕 50%, 유지 50%

이태리 밀라노풍의 반죽이라고 불리우며 표준적인 반죽이다.

② 설탕보다 유지 비율이 높은 반죽 : 밀가루 100%, 설탕 33%, 유지 66%

설탕보다 유지 함량이 많은 반죽은 구운후에도 모래와 같이 푸석푸석하게 부스러지기 쉽다.

③ 유지보다 설탕 비율이 높은 반죽 : 밀가루 100%, 설탕 66%, 유지 33%

유지보다 설탕 함량이 많은 반죽은 구운 후에도 약간 딱딱하게 된다.

(다) 실험방법

① 쿠키제조

- 유지와 설탕의 비율이 같은 표준적인 반죽비율로 쿠키제조

원료명	대조군 비율(%)	실험군1 비율(%)	실험군2 비율(%)
박력1등 밀가루	34.95	34.95	34.95
백설탕	21	17.5	14
사이코스분말	0	3.5	7
네오HP	2	2	2
아몬드가루	8	8	8
코코넛크림파우더	4	4	4
탈지분유	2	2	2
팽창제	1	1	1
버터향	0.05	0.05	0.05
버터	20	20	20
전란액	7	7	7
합계	100	100	100

② 제조공정

- 믹서 보울에 버터를 넣고 비터(Beater)를 사용하여 부드럽게 풀어 준다.

- 백설탕, 사이코스분말을 넣고 믹싱하여 크림 상태로 만든다.

- 전란액을 조금씩 나누어 넣으면서 부드럽고 매끈한 크림 상태로 만든 후, 버터향을 첨가하여 골고루 혼합한다.

- 박력1등밀가루, 네오HP, 아몬드가루, 코코넛크림파우더, 탈지분유, 팽창제를 체를 쳐서 3)에 넣고 가볍게 혼합하여 반죽을 한덩어리로 만든 후 냉장고(1~4℃)에서 20~30분 정도 휴지 시킨다.

※휴지를 시킬 때 반죽을 차게해주는 이유는 유지 함량이 많은 반죽이므로 반죽을

차게 하면 밀어떠기 및 성형하기가 용이해지기 때문이다.

- 성형 및 팬닝

: 휴지가 완료된 반죽은 작업하기 좋은 양으로 떼어 작업대위에 올려놓고 밀대를 사용하여 0.5~0.8cm두께로 밀어 편다.

: 직경 또는 한변의 길이가 3~5cm되는 크기의 각종 성형기로 반죽을 찍어내어 평철판(Sheet pan)에 2.5cm정도 간격을 유지하며 나열시킨다.

※밀어떠기를 할때는 되도록 적은양의 덧가루를 사용한다.

※테프론 또는 실리콘으로 코팅된 철판을 사용하거나 특수 종이를 깔고 굽는 것이 좋다.

: 일반 철판을 사용할 경우에는 버터를 얇게 칠하거나, 식용유를 얇게 바른다.

※성형을 하고 남은 반죽은 조금씩 새반죽에 섞어 사용한다.

※반죽의 두께는 껍질색에 큰 영향을 끼치므로 일정한 두께로 밀어떠는 것이 중요하다.

- 굽기 : 온도 180 ~ 190℃, 시간 12~15분

(라) 쿠키의 수분 및 수분활성도 평가

수분은 음식물에 포함된 함수량을 의미하며, 식품중의 수분은 주위의 환경조건에 따라 항상 변동하고 있어, 대기중의 상대습도까지 고려한 수분 활성도를 표시한다. 수분 활성도는 미생물의 성장과 식품의 풍미, 색, 향을 변화시키는 식품 내 화학적, 생물리학적, 물리적 반응들과 관계되어 있으므로 식품에 있어서 매우 중요한 특성이다.

제조한 쿠키에 대해서 수분 및 수분 활성도를 평가하였다. 수분 활성도는 식품의 본질적인 특성이고, 평형 상대습도는 식품과 평형을 이루는 환경에서의 특성이다. 쿠키중 수분(%)함량은 수분 분석기(Satoriuns,Germany) 이용하여 시료 2g을 칭량하였고 온도는 105 ℃, 시간은 자동모드로 설정하여 수분함량을 측정하였다. 수분 활성도 측정기(LG전자, 국산)를 이용하여 수분 활성도를 측정하였다. (수분 및 수분활성도 값은 3회 반복하여 평균값을 사용함)

(마) 쿠키의 경도 평가

텍스처 분석기(TA-XT2i, Stable micro system사)를 이용하여 하기 표의 측정조건에 따라 시료의 경도를 측정하였다.

쿠키의경도는 압착시 가해지는 힘을 측정하여 나타내었고, 그 정도는 단위 면적당 가해지는 무게(g)로 나타내었다. 텍스처 분석기를 통한 강도(Hardness)의 값이 높으면 쿠키를 누를 때 많은 힘이 소요된다는 것을 의미하고, 더 단단한 식감을 갖는다는 것을 의미한다.

(경도 측정은 3회 반복하여 평균값을 사용함)

[TA 측정 조건표]

Mode	Measure force in compression	누르는 힘을 측정
sample size	30 W(mm) x 30 L(mm) x 30 H(mm)	샘플 크기 가로,세로,높이 30mm 큐브형태
test speed	5mm/s	probe가 시료를 누르는 속도 5mm/s
distance	30%	최초 시료 높이에서 30%의 변형이 올때 까지 시료를 누름
Probe	100mm compression plate	probe 종류

(바) 쿠키의 색도 평가

쿠키의 색도를 색차계(CM-3500d, Konica Minolta, Osaka, Japan)을 이용하여 측정하였다. 명도(Lightness)를 나타내는 L값, 적색도(Redness)를 나타내는 a값과 황색도(Yellowness)를 나타내는 b값을 측정하였다. 이때 표준색판의 L 값은 98.07, a값은 0.63, b값은 0.47이었다.

(색도 측정은 3회 반복하여 평균값을 사용함)

(사) 쿠키의 관능 평가

쿠키의 관능 특성 강도(색상/단맛/바삭한 정도/촉촉한 정도)와 기호도(외관/식감/전반적인 만족도)를 연구소 패널(N=15)을 대상으로 5점 척도를 사용하여 평가 하였다.

쿠키를 입 안에 넣고 20초간 구강 표피를 끌고루 자극한 후 뱉어내고, 한 시료의 평가를 마칠 때마다 물로 입안을 세척하고 10분이 경과된 후 다음 시료를 평가하여, 상기 관능 요소들을 5점 척도(5-point box scale)로 표시하였다. 관능평가요원은 맛과 향미 평가에 대해 훈련된 패널 15명으로 구성되었으며, 최저값 1점 및 최대값 5점으로 한 5 점 척도로 표시하였다.

① 시료 : 쿠키 3종

시료번호	설명	비고
549	대조군	
304	실험군 1	대조군 설탕 함량 대비, 설탕→사이코스 16.7% 대체
187	실험군 2	대조군 설탕 함량 대비, 설탕→사이코스 33.3% 대체

② 평가 방법

- 동일한 조건으로 쿠키 제조
- 시료에는 난수표를 이용하여 무작위로 추출한 세 자리 숫자 표시

- 시료 랜덤하게 제시
- 입을 가실 수 있는 물 함께 제공
- 평가 내용 및 방법 : 관능 특성 강도(색상/단맛/바삭한 정도/촉촉한 정도)와 기호도(외관/식감/전반적인만족도)를 5점 척도 사용하여 평가함

(아) 실험결과

① 쿠키의 수분 및 수분활성도

구분	수분	수분활성도
대조군	4.89	0.399
실험군 1	6.21	0.413
실험군 2	7.86	0.421

설탕만을 사용한 대조군에 비해, 실험군의 경우 사이코스의 함량이 증가할수록, 수분 함량은 비례하여 증가하나 수분 활성도는 거의 동등한 수준을 유지하였다. 통상 케익 제품의 부드러운 식감은 수분함량이 높을수록 좋으나 높은 수분 함량은 수분 활성도 또한 높게 되어 미생물 증식 등의 우려가 있다. 실험군 제품은 사이코스 함량에 따라 수분 함량은 증가하나 수분 활성도가 유의적 차이를 나타내지 않으므로 부드러운 식감을 구현하면서도 미생물에 대한 안정성을 갖는 장점이 있다. 이러한 실험결과는 사이코스 함유 쿠키가 설탕에 비해 보습효과가 우수하다는 것을 보여주며, 또한 사이코스가 설탕보다 쿠키의 소프트감을 증진하는 데 더 좋은 효과가 있는 것으로 판단된다.

② 쿠키의 경도

구분	경도
대조군	2322
실험군 1	2132
실험군 2	1996

설탕만을 사용한 대조군의 경도가 가장 높았으며 실험군의 사이코스 함량이 증가할수록 쿠키의 경도가 감소하여 부드러운 정도가 증가함을 알 수 있었다. 쿠키 내의 사이코스 함량이 증가할수록 경도가 낮아져서 쿠키의 식감이 부드러워지는데 효과가 있는 것으로 판단 된다.

③ 쿠키의 색도

구분	L	a	B
----	---	---	---

대조군	78.56	3.86	34.89
실험군 1	73.81	5.64	36.02
실험군 2	70.32	7.32	36.71

사이코스 함량이 높아질수록 L값(Brightness)은 낮아지고, a값(Redness)과 b값(Yellowness)은 증가함을 확인 하였다. 이는 쿠키제조 시 사이코스분말이 설탕보다 열에 의한 갈변 반응이 더 빠르게 일어남을 의미한다. 갈변반응이 빠르다는 것은 쿠키제품 제조시 정확한 공정 컨트롤을 필요로 하는 단점이 될 수도 있지만, 반대로 생각하면 원하는 색상을 오븐 베이킹시 빨리 구현 할 수 있으므로 베이킹 시간을 단축 시킬 수 있고 쿠키의 보습성이 높아지는 장점으로 활용이 가능 할 것으로 판단된다.

④ 쿠키의 관능

관능 특성 강도 (약-강)

시료번호	설명	색상강도	단맛강도	바삭한정도	촉촉한정도
549	대조군	2.1	3.3	4.0	2.3
304	실험군1	3.2	3.1	3.8	2.5
187	실험군2	3.9	2.9	3.1	3.0

- 색상 : 실험군2 > 실험군1 > 대조군 순으로 실험군2의 색이 가장 진함
- 단맛 강도 : 대조군 > 실험군1 > 실험군2 순으로 평가
- 바삭한 정도 : 대조군, 실험군1은 실험군2에 비해 바삭한 정도 강함
- 촉촉한 정도 : 세 시료 중 실험군2가 가장 촉촉하다고 평가

기호도

시료번호	설명	외관만족도	식감만족도	전반만족도
549	대조군	3.0	3.6	3.8
304	실험군1	3.6	3.5	3.7
187	실험군2	3.0	3.3	3.2

- 외관 : 색상이 중간 수준인 실험군1의 외관기호도가 가장 우수
- 식감 만족도 : 상대적으로 바삭함이 덜하고 촉촉한 식감인 실험군2의 기호도가 낮게 평가됨

(자) 고찰

유지와 설탕의 비율이 비슷한 표준적인 반죽비율로 쿠키를 제조 할 경우, 반죽에 사용되는 설탕을 사이코스로 대체를 하게되면 사이코스 함량이 증가 할수록 쿠키의 보습성이 증가하고 식감이 부드러워지며, 베이킹 중 갈변화 속도가 급격히 빨라지는 것을 확

인 함

쿠키 제조에 사용되는 설탕을 사이코스분말로 적정량(사용하는 설탕량 대비 10~25%) 대체 하게되면 사이코스가 가지고 있는 기능적인 측면(보습성 증가, 갈변화를 통한 먹음직스러운 표면색상 구현, 칼로리 저감등)이 쿠키를 제조 함에 있어 긍정적으로 작용할 것으로 판단 됨

(2) 다크초콜릿(빈투바)

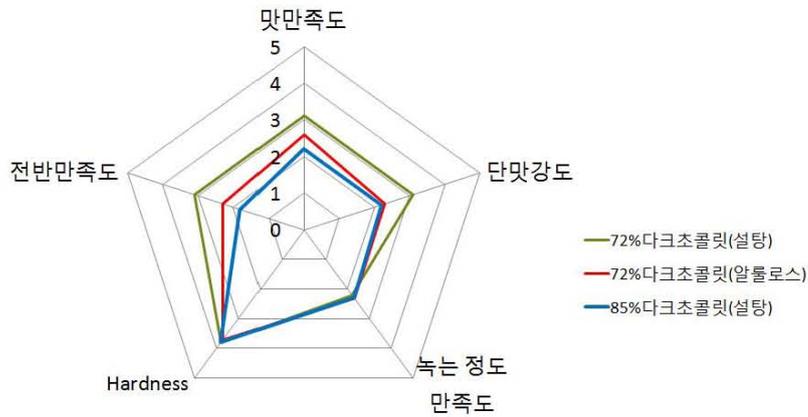
(가) 배합비

원재료명	72% 다크초콜릿	72%다크초콜릿 (알룰로스)	85% 다크초콜
카카오	63.12%	63.12%	81%
설탕	27.05%	0.00%	13.50%
알룰로스 분말	0.00%	27.05%	0.00%
카카오버터	9.02%	9.02%	4.50%
대두레시틴	0.72%	0.72%	0.90%
천연바닐라빈	0.09%	0.09%	0.10%
합계	100.0%	100.0%	100.00%

(나) 제조방법



(다) 관능결과



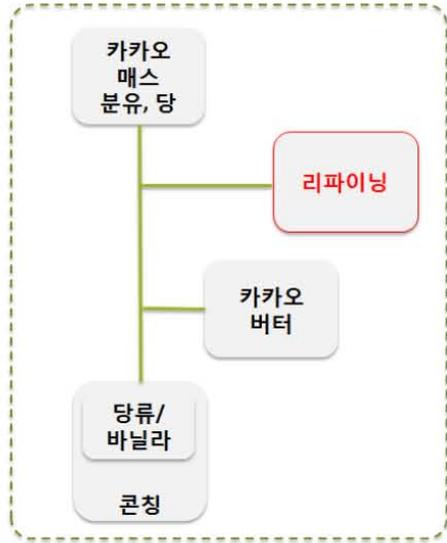
- 빈투바 타입 다크초콜릿 제조 양호
- 설탕 대비 알룰로스 감미도 및 감미질 차이에 의한 관능 기호도 저하

(3) 밀크 초콜릿

(가) 배합비

원료	설탕 밀크초콜릿	알룰로스 밀크초콜릿
카카오버터	19.03%	19.03%
전지분유	29.48%	29.48%
카카오매스	12.65%	12.65%
설탕	38.37%	-
알룰로스	-	38.37%
레시틴	0.41%	0.41%
천연바닐라	0.05%	0.05%
합계	100.00%	100.00%

(나) 제조공정



(다) 결과



**설탕
밀크초콜릿**



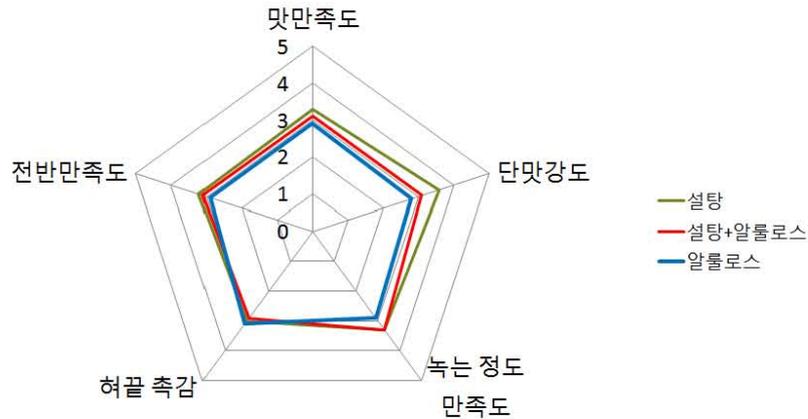
**설탕 + 알룰로스
밀크초콜릿**



**알룰로스
밀크초콜릿**

- 알룰로스의 낮은 용융점으로 인한 콘칭 공정중 고화현상 발생
- 콘칭 온도 조절을 통한 알룰로스 초콜릿 제조공정 확립 : 관능적으로 설탕과 비슷한

만족도 구현



(4) 브라우니

(1) 목적

- 수분 보유력을 증가시켜 부드럽고 촉촉한 식감을 가지며, 수분 활성도가 낮고 발효성 당류의 함량을 감소시켜 미생물 발육에 따른 안정성을 증가시킨 브라우니 제조용 조성물, 상기 조성물의 제조방법, 상기 조성물을 혼합하여 제조된 브라우니 제조용 반죽물, 및 브라우니 제조용 조성물을 이용하여 제조한 브라우니에 관한 연구

- 코코아 또는 초콜릿의 사용량을 줄이거나 사용하지 않더라도 초콜릿 색상을 구현하고 저칼로리를 구현한 브라우니 제조용 조성물, 상기 조성물의 제조방법, 상기 조성물을 혼합하여 제조된 브라우니 제조용 반죽물, 및 브라우니 제조용 조성물을 이용하여 제조한 브라우니에 관한 것이다.

(2) 필요성

베이커리 식품에 있어서도 부드러운 식감을 갖는 제품이 다수 출시되고 있다. 브라우니 (Brownie)는 사각 형태로 잘린 진한 초콜릿 케익의 일종으로서, 맛의 농도, 견과류, 아이싱, 크림 치즈, 초콜릿 칩 등 재료의 포함 등에 따라 다양한 형태의 브라우니가 만들어지고 있다. 일반적으로 브라우니는 초콜릿과 버터를 녹인 후 계란과 밀가루를 섞어 제조된 것으로서, 진한 단맛, 크림같이 부드러운 맛, 버터맛, 초콜릿 맛과 특유의 식감이 있어 디저트로 널리 알려져 있다.

브라우니는 통상 버터와 초콜릿을 중탕으로 함께 녹여 식힌 다음, 계란과 소금을 넣어 거품을 올리듯 젓고, 이후 설탕을 넣어 크림 상태가 되도록 계속 저어낸 다음, 밀가루를 넣어 재료가 엉길 만큼만 섞어서 네모난 팬에 담아 오븐에 구운 뒤 식혀서 만든다. 이는 디저트로서 단독으로 먹거나 아이스크림과 함께 먹는 것이 일반적이다.

브라우니는 진한 단맛, 크림같이 부드러운 맛, 버터맛, 초콜릿 맛과 특유의 식감을 얻고자 대체로 칼로리가 높은 재료를 사용하고, 버터가 많이 들어가므로 포화지방이 높은

편이다.

또한, 브라우니를 제조하기 위해서는 단맛 성분으로서 설탕을 사용하며, 설탕은 감미가 높고, 과량 사용시 오히려 부드러운 식감은 저하되고 바삭한 식감이 증가하는 문제가 있다.

브라우니는 촉촉하고 부드러운 식감에 더하여, 진한 단맛, 버터맛, 초콜릿 맛과 같은 특유의 식감이 필요하다. 이러한 브라우니 특유의 식감을 제공하기 위해서는, 다량의 설탕과 버터 등을 사용하여 칼로리가 높으며, 단맛이 지나치게 강하고, 설탕을 과량 사용시 오히려 부드러운 식감은 저하되고 바삭한 식감이 증가하는 문제가 있다. 따라서, 본 발명은 설탕의 함량을 감소시키거나 사용하지 아니하여 단맛 및 칼로리를 낮추고 부드러운 식감을 달성할 수 있으며, 수분 보유력을 증가시켜 부드럽고 촉촉한 식감을 가지며, 수분 활성도가 낮고 발효성 당류의 함량을 감소시켜 미생물 발육에 따른 안정성을 증가시킨 브라우니 제조용 조성물, 상기 조성물의 제조방법, 상기 조성물을 혼합하여 제조된 브라우니 제조용 반죽물, 및 상기 조성물을 이용하여 제조한 브라우니를 제공한다.

(3) 제조방법

(가) 사이코스 분말을 이용한 브라우니제조 : 실시예1

하기 표 2에 기재된 성분 및 조성으로 혼합하여 브라우니 제조를 위한 반죽을 제조하였다. 실시예 1는 설탕 22.5 중량%와 사이코스 분말 7.5 중량을 사용하여 설탕과 사이코스 분말(순도 99%)의 총중량을 기준으로 사이코스 25중량%를 사용하고, 실시예 2는 설탕 15 중량%와 사이코스 분말 15 중량을 사용하여 설탕과 사이코스 분말(순도 99%)의 총중량을 기준으로 사이코스 50중량%를 사용하고, 실시예 3은 설탕 7.5 중량%와 사이코스 분말 22.5 중량을 사용하여 설탕과 사이코스 분말(순도 99%)의 총중량을 기준으로 사이코스 75중량%를 사용하고, 실시예 4에서는 설탕을 전혀 사용하지 않고 사이코스 30 중량%를 사용하였다.

브라우니의 제조 방법은 먼저 중탕으로 녹인 초콜릿과 마가린을 섞어준 다음 설탕을 넣고 가볍게 섞어준다. 그리고 어느 정도 섞이면 다른 분말 원료 및 계란을 넣어서 살짝 섞어준 다음 성형 팬에 굽는다.(180℃ 25분 baking) 그리고 적당한 사이즈로 잘라주면 된다.

원료(단위: 중량%)	비교예 1	실시예1	실시예2	실시예 3	실시예4
박력분	19.54	19.54	19.54	19.54	19.54
정백당	30.00	22.5	15.0	7.5	0
사이코스 분말	0	7.5	15.0	22.5	30.0
텍스트린	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00
코코아파우더	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50
초콜릿	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65

마가린	9.90	9.90	9.90	9.90	9.90
옥수수전분	7.50	7.50	7.50	7.50	7.50
탈지분유	4.30	4.30	4.30	4.30	4.30
전란분	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
정제소금	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
레시틴	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
중조	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
구아검	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
합계	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

(나) 설탕을 이용한 브라우니 제조 : 비교예 1

실시에 1과 실질적으로 동일한 방법으로, 반죽 및 브라우니를 제조하였다. 다만 실시에 1에서 사용한 설탕 22.5 중량%와 사이코스 분말 7.5 중량 대신에, 비교예 1은 설탕 30 중량%를 사용하였다. 반죽 제조를 위해 사용한 구체적 성분 및 조성을 표에 나타냈다.

(다) 브라우니의 수분 및 수분활성도 평가

수분은 음식물에 포함된 함수량을 의미하며, 식품중의 수분은 주위의 환경조건에 따라 항상 변동하고 있어, 대기중의 상대습도까지 고려한 수분활성도를 표시한다. 수분 활성도는 미생물의 성장과 식품의 풍미, 색, 향을 변화시키는 식품 내 화학적, 생물리학적, 물리적 반응들과 관계되어 있으므로 식품에 있어서 매우 중요한 특성이다.

실시에 1 내지 4 및 비교예 1에서 제조한 브라우니에 대해서 하기와 같은 방법으로 수분 및 수분 활성도를 평가하였다. 수분 활성도는 식품의 본질적인 특성이고, 평형 상대습도는 식품과 평형을 이루는 환경에서의 특성이다. 브라우니중 수분(%)함량은 수분 분석기(Satoriuns, Germany) 이용하여 시료 2g을 칭량하였고 온도는 105℃, 시간은 자동모드로 설정하여 수분함량을 측정하였다. 수분활성도 측정기(LG전자, 국산)를 이용하여 수분활성도를 측정하였다.

원료	수분(%)	수분 활성도
비교예 1	14.02	0.776
실시에 1	15.53	0.786
실시에 2	16.67	0.788
실시에 3	18.55	0.787
실시에 4	19.27	0.789

수분 활성도 결과에 나타난 바와 같이, 설탕만을 사용한 비교예 1에 비해, 실시에 1 내지 4의 경우 사이코스의 함량이 증가할수록, 수분 함량은 비례하여 증가하나 수분활성

도는 거의 동등한 수준을 유지하였다. 통상 케이크제품의 부드러운 식감은 수분함량이 높을수록 좋으나 높은 수분 함량은 수분활성도 또한 높게 되어 미생물 증식 등의 우려가 있으나, 본 발명에 따른 실시예 제품은 사이코스 함량에 따라 수분 함량은 증가하나 수분활성도가 유의적 차이를 나타내지 않으므로 부드러운 식감을 구현하면서도 미생물에 대한 안정성을 갖는 장점이 있다. 이러한 실험결과는, 본 발명에 따른 사이코스 함유 반죽 및 브라우니가 설탕에 비해 보습효과가 우수하다는 것을 보여주며, 또한 사이코스가 설탕보다 브라우니의 소프트감을 증진하는 데 더 좋은 결과가 있는 것으로 나타났다. 따라서, 설탕을 포함하지 않고 사이코스만을 포함하는 실시예 4의 경우, 설탕만을 포함하는 비교예 1에 비해 보습성 및 식감에서 월등하게 좋은 결과를 나타냈다.

(라) 경도(부드러운 정도) 평가

실시예 1 내지 4 및 비교예 1에서 제조한 브라우니에 대해서 하기와 같은 방법으로 경도를 측정하여 부드러운 식감정도를 평가하였다. 텍스처 분석기(Texture analyzer)를 이용하여 하기 측정조건에 따라 시료의 경도를 측정하였다. 경도 측정은 5회 반복하여 평균값을 하기 표에 나타냈다.

Test Speed	2.0mm/s
Post Speed	10.0mm/s
Distance	5.0mm
Trig.Force	5g
Probe	HDP/LKB LIGHT KNIFE BLADE PERSPEX

원료	경도
비교예 1	780
실시예 1	730
실시예 2	710
실시예 3	680
실시예 4	620

상기 표에 나타낸 바와 같이, 설탕만을 사용한 비교예 1의 브라우니가 가장 경도가 높았으며, 실시예 제품에서 사이코스 함량이 증가할수록 브라우니의 경도가 점진적으로 감소하여 부드러운 정도가 증가함을 알 수 있었다.

(마) 브라우니의 팽창정도 평가

실시예 1 내지 4에서 제조한 브라우니와, 비교예 1(설탕만 사용)에서 제조한 브라우니의 높이를 측정하여 팽창도가 적절한 지 확인하였다.

측정방법은 평평한 판에 완제품을 올려 놓은 후 버니어 캘리퍼스 이용하여 높이를

측정하였다.

원료	높이 (mm)
비교예 1	29.07
실시예 1	30.4
실시예 2	30.2
실시예 3	30.2
실시예 4	29.9

브라우니의 팽창도를 실험한 결과, 설탕만을 사용한 비교예 1의 제품과 동등한 정도의 팽창도를 나타냄을 확인하였다.

(바) 브라우니의 관능평가

브라우니의 촉촉한 느낌, 구용성, 풍미, 형상 및 단맛의 관능물성을 평가하기 위해, 실시예 1-4 및 비교예 1의 브라우니를 입 안에 넣고 20초간 구강 표피를 골고루 자극한 후 뱉어내고, 한 시료의 평가를 마칠 때마다 물로 입안을 세척하고 10분이 경과된 후 다음 시료를 평가하여, 상기 관능 요소들을 10점 척도(10-point box scale)로 표시하였다. 관능평가요원은 맛과 향미 평가에 대해 훈련된 패널 10명으로 구성되었으며, 10점 척도로 표시하였다. 상기 항목의 평가기준은 다음과 같으며, 그 결과를 하기 표에 기재하였다.

[평가기준]

촉촉한 식감 입안에서 부드럽게 씹히는 정도, 딱딱함 정도를 기준으로 촉촉한 느낌이 없음에 대해 0점, 최대값을 10점으로 설정함

풍미: 고소함 및 이취의 정도를 기준으로 고소함이 적고 이취가 많은 것을 0점으로, 고소함이 최대치 및 이취가 최소치가 되는 척도를 10점으로 설정함

형상: 외관의 선호도를 기준으로 최저 0점 및 최대 10점으로 설정함

단맛: 단맛의 정도를 기준으로, 최저 0점 및 최대 10점으로 설정함

전체적인 맛 선호도: 주관적인 기준으로 최저 0점 및 최대 10점으로 설정함'

구분	촉촉함	풍미	형상	단맛	전체적인 맛선호도
비교예 1	5.2	5.9	7.3	6.7	6.8
실시예 1	5.5	6.0	7.5	6.5	6.2
실시예 2	6.8	6.3	7.2	7.0	6.9
실시예 3	7.6	7.4	7.6	7.1	7.7
실시예 4	8.3	7.7	7.5	6.9	7.3

상기 표에 나타낸 바와 같이, 비교예1의 브라우니에 비해서, 사이코스를 사용한 브라우

니가 촉촉한 느낌, 풍미가 우수한 것으로 나타났다. 형상과 단맛은 큰 유의차가 없는 것으로 나타났다.

라. 음료 : 발효유 3종, 커피 1종, 탄산음료 1종

(1) 알룰로스(사이코스) 함유 "사과맛 드링크요구르트" _농후발효유

(가) 목적

- 사이코스 적용한 드링크요구르트 Formula 개발
- 사이코스25%함유시럽 적용하여 당류함량/칼로리 감소

(나) 실험방법

① 컨셉

- 사이코스25%함유시럽 적용 (과당55 대비 상대감미도 1.1배)
 사이코스25%함유시럽 당류함량 : 75brix 기준 55~57% 함유, 칼로리 2.2~2.8Kcal/g,
 과당55 사용 대비 당류 14.3% 감소
 *참고사항) 과당55 당류함량 : 75brix 기준 73~75%, 칼로리 3Kcal/g
- 프로바이오틱스 Bifidobacterium 1×10⁷ 함유
- 식이섬유 : 140mL 기준 3,500mg 이상 함유
- 사과과즙으로 15% 함유

② 사과맛 요구르트 배합

원재료명	규격	배합비율(%) 과당55적용 (참고용)	사이코스25%시럽함유 사과맛D/Y
원유	MSNF 8% ↑	65.4000	65.4000
액상과당	75bx ↑	6.3700	
알룰로스 20% 시럽	75bx ↑		5.8000
난소화성말토텍스트린	T/S 95% ↑	2.8000	2.8000
탈지분유	T/S 95% ↑	3.0000	3.0000
사과농축액(72bx)	72±1	2.0800	2.0800
프락토올리고당	75bx ↑	2.0500	2.0500
말티톨시럽	70bx ↑	1.5000	1.5000
이소말토올리고당M200	75bx ↑		
사과향 FG6512-2195		0.0500	0.0500

효소처리스테비아	G180		
복합유산균 ABY-3		0.0025	0.0025
BifidobacteriumBB-12(1×10^{11})		0.0001	0.0001
정제수		16.7474	17.3174
합계		100.0000	100.0000

(다) 결과

- 알룰로스 20%시럽 액상과당 전량 대체 가능
- 기존제품 比 당류14%이상 저감 가능

(2) 알룰로스(사이코스) 함유 "호상요구르트" 농후발효유

(가) 목적

- 알룰로스(사이코스) 적용한 호상요구르트 Formula 개발
- 알룰로스(사이코스)시럽 적용하여 당류함량/칼로리 감소

(나) 실험방법

① 컨셉

- 알룰로스(사이코스 90%↑)시럽 적용 (상대감미도 : 설탕대비 70%) : 사이코스시럽 당류함량 : 70brix 기준 5g 이하, 기존 대비 당류 26% 감소
- 감미 있는 플레인요구르트

② 배합비

원재료명	규격	설탕적용 호상요구르트	알룰로스시럽함유 호상요구르트
우유(원유100%)	MSNF 8% ↑	79.2000	79.2000
백설탕		6.5000	3.0000
알룰로스 90% 시럽	70bx ↑		5.0000
이소말토올리고당M200분말			0.6500
탈지분유	T/S 95% ↑	3.2500	3.2500
썬믹스Y		0.8000	0.8000
복합유산균 ABT-5		0.0035	0.0035
정제수		10.2465	8.0965
합계		100.0000	100.0000

③ 제조방법

- 우유 투입 -> 탈지분유 서서히 투입 -> 설탕+췌믹스Y 분체 혼합하여 서서히 투입 -> 나머지 설탕 및 알룰로스시럽 투입 -> 정제수 투입 -> 교반용해 : 65~70℃, 10분 이상 -> 균질 : 200BAR (150+50) -> 냉각(40℃) 후 유산균 접종 -> 배양 : 38~40℃, 6~8시간 (pH 4.4~4.5) -> 냉각 및 저온보관

(다) 결과

- 알룰로스 90%시럽은 호상요구르트에서 백설탕 일부 대체가 가능 : 기존제품 比 당류26%이상 저감 가능
- 알룰로스는 점도가 약하여 이소말토올리고당 M200 분말로 물성개선이 가능

(3) 알룰로스(사이코스) 함유 "요구르트" 액상발효유

(가) 목적

- 사이코스 적용한 액상발효유 Formula 개발
- 사이코스25%함유시럽 적용하여 당류함량/칼로리 감소

(나) 실험방법

① 컨셉

- 사이코스25%함유시럽 적용 (과당55 대비 상대감미도 1.1배)
 사이코스25%함유시럽 당류함량 : 75brix 기준 55~57% 함유, 칼로리 2.2~2.8Kcal/g
 참고사항) 과당55 당류함량 : 75brix 기준 73~75%, 칼로리 3Kcal/g
- 유산균수 1×10^7 /mL 이상
- 사이코스함유시럽 적용 액상발효유

② 배합비

원재료명	규격	비교예 배합비(%)	사이코스25%시럽 함유 액상발효유
탈지분유	T/S 95% ↑	3.45000	3.45000
프락토올리고당	75bx ↑	3.43000	3.43000
액상과당	75bx ↑	4.48000	
알룰로스 20% 시럽	75bx ↑		4.25000

이소말토올리고당M200	75bx ↑	2.65000	2.65000
합수결정포도당	T/S 90% ↑	1.05000	1.05000
아스파탐	중국산	0.03400	0.03400
유산균	L. helveticus	0.00056	0.00056
요구르트향	FG6513-0021	0.06600	0.06600
정제수		84.83944	85.06944
합계		100.00000	100.00000

(다) 결과

- 알룰로스20%이상시럽은 액상과당 대체가 가능
- 기존제품 比 당류14%이상 저감 가능

(4) 알룰로스(사이코스) 함유 "아메리카노" 액상커피

(가) 목적

- 알룰로스(사이코스 90%↑)시럽 적용한 아메리카노 Formula 개발
- 알룰로스(사이코스 90%↑)시럽 적용하여 당류함량/칼로리 감소

(나) 실험방법

① 컨셉

- 알룰로스(사이코스 90%↑)시럽 적용 (상대감미도 : 설탕대비 70%) : 사이코스시럽 당류함량 70brix 기준 5g 이하
- 무설탕 액상커피
- 커피고형분 0.9345% (더블샷)

② 배합비

원재료명	규격	액상커피 대조구	알룰로스시럽 함유 아메리카노
커피추출액(4.9bx)	T/S 4.1% ↑	22.793	22.793
백설탕		2.800	
알룰로스 90% 시럽	70bx ↑		5.720
이소말토올리고당M200	75bx ↑		0.350
탄산수소나트륨			0.080
비타민C		0.020	0.020

정제수		74.387	71.037
합 계		100.000	100.000

③ 제조방법

85℃ 이상 온수에 탄산수소나트륨 용해 -> 커피추출액 투입-> 정제수 일부 투입 -> 비타민C, 탄산수소나트륨 투입 -> 나머지 물 투입 -> 열처리 : 121℃, 20분 -> 냉각 -> 숙성 및 보관 : 상온

(다) 결과

- 알룰로스90%이상시럽은 백설탕 대체가 가능 : 기존제품 比 당류 85%이상 저감 가능
- 알룰로스는 점도가 약하여 이소말토올리고당M200으로 물성개선이 가능
- 액상커피에 알룰로스를 적용하면 쓴맛이 완화되는 효과

(5) 알룰로스 함유 "Zero Calorie 탄산음료"

(가) 목적

- 알룰로스분말 적용한 탄산음료1(제로칼로리) Formula 개발
- 알룰로스분말 적용하여 제로칼로리에 기능성 부여

(나) 실험방법

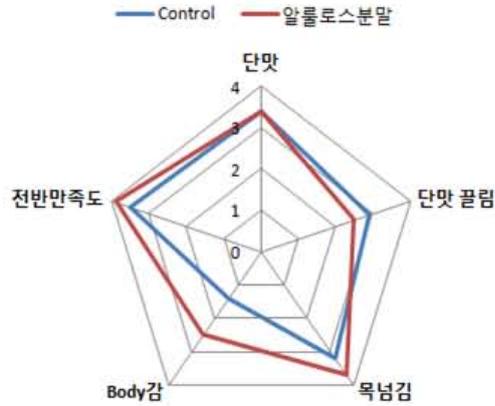
① 컨셉

- 알룰로스분말 적용 제로칼로리 사이다 : 알룰로스분말 칼로리 : 0kcal/g
- 알룰로스 1,500mg/250mL 함유

② 배합비

원재료명	규격	Control (w/w%)	배합비율(w/w%)
탄산가스		1.433	1.433
알룰로스분말	70bx ↑		0.620
구연산	무수	0.077	0.077
수크랄로스		0.014	0.014
아세실팜칼륨		0.010	0.009
레몬라임향	SH10-0330	0.082	0.082
정제수		98.383	97.765
합 계		100.000	100.000

(다) 결과



- 알룰로스 적용함으로써 후미에 단맛 끌림이 완화되고 목넘김이 좋아짐
- body감 증가 및 전반만족도 높아짐

마. 크림 및 유지류

(1) 스프레드 마가린

(가) 목적

- 백설탕을 알룰로스로 100% 대체 적용한 제품과 알룰로스/백설탕 혼용 제품과 비교
- 관능평가를 통한 대체가능성 및 기호성 식별
- 물성비교를 통한 차이유무 식별

(나) 제조방법

원재료명(%)	비교예	실시에 1	실시에 2	실시에 3	실시에 4	실시에 5
대두유	30	30	30	30	30	30
팜올레인유	26	26	26	26	26	26
가공유지 (팜스테아린, 야자유)	25	25	25	25	25	25
유화제	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
설탕	5	-	1	2	3	4
알룰로스분말	-	5	4	3	2	1
물	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9

(다) 관능테스트

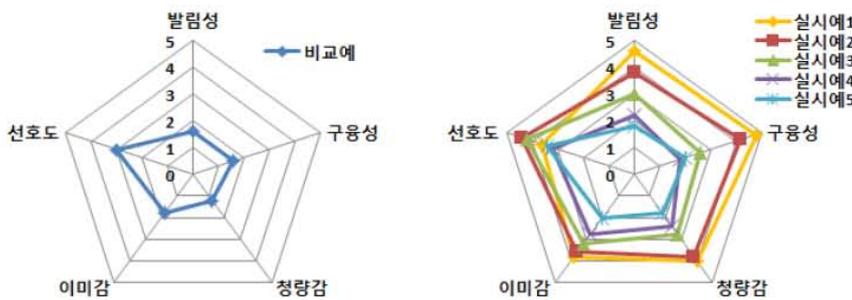
① 실험방법

- 대상 : 삼양사 식품연구소 패널
- 시료 : 알룰로스 적용 스프레드 마가린 (식품유형 : 마가린)
대조구 : 비교예(백설탕 5% 적용) / 시료 : 실시에1~5(알룰로스 5~1%함유)



- 평가방법 : 식빵에 도포하게 하여 기호도검사(비교평가)
- 평가항목 : 발림성, 구움성, 청량감, 이미지 및 선호도

② 결과



평가항목	비교예	실시예1	실시예2	실시예3	실시예4	실시예5
발림성	1.6	4.6	3.8	3.0	2.2	1.8
구움성	1.6	4.8	4.2	2.6	1.8	2.0
청량감	1.2	4.0	3.8	2.8	2.4	1.8
이미지	1.8	3.8	3.6	3.2	2.8	2.0
선호도	3.0	3.6	4.4	4.2	3.2	3.4

- 알룰로스 함량이 증가할 수록 구움성, 발림성, 청량감이 개선된다고 평가됨
- 특히 청량감이 개선될 수록 느끼한 맛을 마스킹 된다는 의견이 지배적임
- 알룰로스 함량이 증가할 수록 이미지가 증가하기 때문에,

백설탕과 알룰로스를 혼용하여 적용하는 실시예2의 배합이 적합하다고 판단됨

(라) 물리적 특성 평가 (DCS)

① 실험방법

- 시료 : 알룰로스 적용 스프레드 마가린 (식품유형 : 마가린)
대조구 : 비교예(백설탕 5% 적용), 시료 : 실시예1~5(알룰로스 5~1%함유)
- 측정방법 : 20℃ 150℃ 10℃/min 변화하며 측정
- 측정항목 : 상변이 온도(℃) / 상변화 에너지(J/g)

② 결과

평가항목	비교예	실시예1	실시예2	실시예3	실시예4	실시예5
상변이 온도(℃)	40.3	39.6	39.4	39.6	39.8	40.0

상변화에너지(J/g)	0.97	10.36	5.32	3.32	1.95	0.70
-------------	------	-------	------	------	------	------

- 알룰로스 가 첨가된 샘플은 상변이 온도가 약간 낮아지는 경향이 있음
- 알룰로스의 함량이 증가할 수록 상변화에너지가 증가함 : 마가린 안정성에 영향

(마) 물리적 특성 평가 (유화안정성)

① 실험방법

- 시료 : 알룰로스 적용 스프레드 마가린 (식품유형 : 마가린)
대조구 : 비교예(백설탕 5% 적용), 시료 : 실시에1~5(알룰로스 5~1%함유)

- 측정방법

- : 제조된 마가린을 유화시켜 100ml 메스실린더에 채움
- : 45℃ 오븐에서 보관하며 분리된 수상부의 양(ml)을 측정
- : 분리된 수상부의 양이 많을수록 유화안정성이 떨어짐

평가항목	비교예	실시에1	실시에2	실시에3	실시에4	실시에5
1 시간	8.0	4.0	4.0	6.0	7.0	9.0
1.5 시간	14.0	7.0	7.0	8.0	9.0	11.0
2 시간	14.00	9.00	10.00	12.00	14.00	14.00
2.5 시간	14.00	12.00	13.00	14.00	14.00	14.00
3 시간	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00



- 알룰로스의 함량이 증가할 수록 유화안정성이 증가됨
- 알룰로스를 첨가하면 마가린의 안정성 및 관능적 특성을 개선할 수 있음

(2) 휘핑크림

(가) 목적

- 백설탕, 포도당과 알룰로스 분말 적용 휘핑크림의 비교 및 추가적으로, 알룰로스와 포도당의 혼용 제품 비교
- 관능평가를 통한 대체가능성 및 기호성 식별
- 휘핑크림의 점도, 크림성 및 크림의 물성 비교를 통해 차이유무 식별

(나) 제조방법

① 배합비

원재료명(%)		비교예1	비교예2	실시예1	실시예2
유상부	유지	33	33	33	33
	유화제	1	1	1	1
수상부	폴리텍스트로스	5	5	5	5
	카제인나트륨	0.5	0.5	0.5	0.5
	메타인산나트륨	0.05	0.05	0.05	0.05
	탈지조제분	0.5	0.5	0.5	0.5
	포도당	12	-	6	-
	정백당	-	12	-	-
	알룰로스 분말	-	-	6	12
	정제수	47.95	47.95	47.95	47.95

② 제조순서

- 유상부(유지와 유화제)와 수상부를 각각 계량하여 가온(80℃ 이상)
- 수상부에 유상부를 가하여(o/w 형태) homomixer를 이용하여 혼합(3000rpm)
- 균질기를 2차례 통과(180~200 bar)하여 균질화
- 냉장온도에서 냉각

(다) 휘핑크림의 점도

- 냉장 온도로 보관된 액상 형태의 휘핑크림이용
- 점도계의 no.3 spindle을 이용하여 10rpm에서 점도 분석 (단위 : CP)

평가항목	비교예1	비교예2	실시예1	실시예2
점도 (cp)	15	6.56	4.69	1.87

- 휘핑크림 내 알룰로스(사이코스)의 함량이 높을수록 액상 크림의 점도가 낮아지며, 현장에서의 작업성 증가
- 포도당, 설탕 모두 점도 증가

(라) 휘핑크림의 크림성 : 크림 형성 시간 및 오버런(Overrun)

- 냉장 온도로 보관된 액상 형태의 휘핑크림을 500g 계량
- Kitchen Aid를 이용해 8단에서 5분간 휘핑
- 액상형태의 휘핑크림 무게와 크림형태의 휘핑크림 무게로부터 오버런 측정
- 분석 식 : 오버런(%) = (액상무게-크림무게) X 100 / (액상무게)
- 추가적으로, 처음 크림이 형성되어 가소성이 생길때까지의 시간 측정 (단위 : 초)

평가항목	비교예1	비교예2	실시예1	실시예2
------	------	------	------	------

크림 형성 시간(초)	240	30	45	25
-------------	-----	----	----	----

평가항목	비교예1	비교예2	실시예1	실시예2
오버런(%)	69.8852	70.6953	67.5468	65.1811

- 휘핑크림 내 알룰로스(사이코스)의 함량이 높을 수록 크림이 쉽게 형성
- 오버런은 설탕에 비해 다소 약하지만 크림의 품질에 큰 영향을 미치지 않는
- 포도당의 경우 크림이 거의 형성되지 않아 추가적인 증점제가 필요

(마) 휘핑크림의 보형성 : 강도 분석

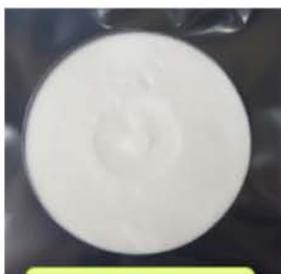
- 크림 형성 후 냉장온도에서 재 냉각한 크림을 분석
- Texture analyzer 이용하여 Force 분석 (단위 : g)
- Petri dish에 가득 눌러 담은 휘핑크림의 중앙부를 분석

평가항목	비교예1	비교예2	실시예1	실시예2
Force(g)	17.937	727.506	825.197	1870.078

휘핑크림의 강도는 사이코스 함량이 많을수록 단단하며, 약한 힘에 쉽게 눌리거나 무너지지 않음



<크림의 형상>



(바) 휘핑크림의 관능성

- 대상 : 삼양사 식품연구소 패널 12명 대상, 5점 척도로 진행
- 시료 : 알룰로스 적용 휘핑크림

대조구 : 비교예(설탕 및 포도당 적용), 시료1 : 실시예1,2(알룰로스 분말 적용)

- 평가방법 : 기호도검사(비교평가)

휘핑크림의 단맛, 청량감, 이미감, 선호도 및 크림의 거칠기, 강도를 평가

평가항목	비교예1	비교예2	실시예1	실시예2	비고
단맛	2.6	3.6	3.3	3.1	1 약함 - 5 강함
청량감	4.3	2.4	3.6	4.1	1 약함 - 5 강함
이미감	2.3	3.2	3.3	3.7	1 약함 - 5 강함
선호도	1.8	3.5	3.8	3.6	1 나쁨 - 5 좋음
부드러움	1.2	3.7	3.3	3.1	1 부드러움 - 5 거침
강도	1.0	3.0	3.5	3.8	1 약함 - 5 강함

- 포도당: 청량감이 양호하나, 크림 형성이 되지 않아 강도가 약하고 선호도가 떨어짐
- 설탕: 단맛이 높으나 느끼하고, 크림의 강도가 떨어지며 거친 질감이 느껴짐
- 알룰로스 함량이 높아질수록, 청량감이 증가하고 크림의 강도 증가
- 알룰로스+포도당 혼합 사용: 단맛과 청량감이 조화되고, 크림 질감의 부드러움 및 크림 강도가 적당하여 선호도 높음
- 알룰로스 단독 사용 시 이미감이 증가하며 단맛이 감소

(사) 요약

- 휘핑크림 내 당류로서 알룰로스 분말로 100% 적용 가능하며, 포도당 등 다른 당류와 혼합 사용시에도 효과가 있음.
- 알룰로스 분말 함유 휘핑크림 점도
 - : 100% 적용 시 포도당 대비 13cp, 설탕 대비 4.7cp 감소
 - : 현장 적용 시 작업성 증가의 효과가 예상됨.
- 알룰로스 분말 함유 휘핑크림 크림성 및 강도
 - : 100% 적용 시 포도당 대비 215초, 설탕 대비 크림 형성 시간 15초 단축.
 - : 오버런의 경우 설탕에 비하여 다소 하락(5.51%) 하였으나, 빠른 형성 후 주저앉음으로 보임. (포도당 대비 4.7% 증가)
 - : 크림의 강도는 포도당 대비 1852, 설탕 대비 1142.5 증가
- 알룰로스 분말 함유 휘핑크림 관능성
 - : 포도당을 대체 시 크림의 보형성을 부여하는 효과가 있으며, 설탕 대비 상쾌함 및 부드러움 부여
 - : 일부 이미감을 부여하나, 다른 당류와 혼합 사용 시 부작용이 사라짐.
 - : 크림의 강도를 유지하면서도 부드러움을 부여하는 특징이 있음.

4장. 목표달성도 및 관련분야 기여도

코드번호

D-06

1절. 임상실험 목표달성도 100%

1. 임상시험 계획서 및 연구관련 문서(동의서, CRF) 작성 완료함
2. 가톨릭중앙의료원 IRB 및 임상연구정보서비스(CRIS) 승인 완료
3. 사이코스의 체중조절 효과 및 안전성을 검증하는 임상시험을 성공적으로 종료 하였음. 2016년 6월 23일 인체적용시험 결과보고서 발행

Clinical Study Report Protocol No. Psicose	Version No. 1.0 2016/06/23
인체적용시험 결과보고서	
<p>과체중 혹은 비만인 성인을 대상으로 사이코스 섭취로 인한 체지방 감소에 대한 효과와 안전성을 평가하기 위한 무작위배정, 이중 맹검, 위약 대조 인체적용시험</p>	
시험제품	사이코스
용법/용량/투여경로	1일 2회, 고용량군 12g/저용량군 6g, 경구섭취
대상질환	과체중 성인 남녀
시험디자인	단일기관, 무작위배정, 이중 맹검, 위약대조 인체적용시험
인체적용시험계획서 번호	Psicose
인체적용시험 시작일	2014.11.17(첫 대상자 동의일)
인체적용시험 종료일	2016.03.22(마지막 대상자 종료일)
시험책임자	가톨릭대학교 성빈센트병원 송 상욱
제출일	2016.06.23
<i>Confidential</i>	

4. 임상시험결과를 국내 및 해외 유관학회에 발표할 예정이며(2016.9 국제비만대사학회) 논문작성이 완료되는 2016년 8월중으로 Impact factor 3점 또는 해당분야 상위 25% 이내 학술지에 투고하여 게재 예정

2절. 동물실험 목표달성도 100%

1. 유전적으로 비만이 유도된 동물에서 사이코스의 항비만 효능을 확인
 - 실험동물의 사육 및 식이
 - 지방조직 무게, 지방세포 크기 및 혈청 지질 수준 측정
 - 간조직의 TG 함량 및 지방산 조성 측정
 - 지방대사 관련 유전자 발현 측정: realtime-PCR 및 microarray 분석
2. 일반 실험동물에서 사이코스의 보충이 체지방 축적 및 당 대사 조절 기능에 주는 영향을 확인
3. 고과당 식이를 공급한 동물에게 사이코스의 대체가 미치는 항비만 효과를 확인
4. 위 3가지에 관련된 기작 증명
5. 논문 2편, 학술발표 8건, 인력양성 3건

3절. 사이코스 제품화 목표달성도 90%

1. 비만억제 건강 기능성 식품 개발 : 구미제형 1건, 시럽 1건, 분말 1건
 시럽, 분말, 츄어블 정제 타입 등 제품 개발
2. 분말/액상 타입의 사이코스를 이용한 체중조절 조제식 prototype 개발 : 음료 5건, 쿠키 1건, 시리얼바 1건
 - 1) 품목 선정 및 평가항목 기준 수립(음료/쿠키/시리얼바)
 - 2) 생산 설비 적용시 안정성 확보 기술 개발
 - 3) 상품화를 위한 생산설비 검토 : OEM 검토
3. 분말/액상 타입의 사이코스를 이용한 프리미엄 홈페이지 프리믹스 prototype 개발
 - 1) 품목 선정 및 평가항목 기준 수립(초콜렛 2건/전자레인지용 브라우니 믹스 1건)
 - 2) 생산 설비 적용시 안정성 확보 기술 개발
 - 3) 상품화를 위한 생산설비 검토 : OEM 검토
4. 2016년 8월 액상 타입 제품 생산 : 삼양사 울산공장
 생산된 액상 제품으로 당류 저감화 정책에 맞추어 사이코스 열량이 0 kcal인 것을 특징으로 하여 일반 식품에 적용.
 첨가당에 대한 사회적 이슈와 그 대체제에 대한 시장 니즈에 따른 확대성으로 현재의 액상과당 및 설탕 대체 소재로 가격 및 물성면에서 대체 가능함
 이러한 시장을 목표로 건강기능성식품 이외의 시장에 대한 확대를 준비하고 있음.

5. 개별인정 신청

1) 표준화 자료 준비 완료

- (1) 원료 : 원재료(사용부위,학명), 성상, 물성, 프로파일
- (2) 제조공정 : 상세공정, 생산 균주/효소, 첨가물
- (3) 기능(지표)성분: 함량(공인검사기관성적서), 규격,
- (4) 시험법(공인법/밸리데이션), 수율, 주요공정별 함량변화
- (5) 유해물질 : 검출량(공인검사기관성적서), 규격, 시험법

2) 안전성 자료 준비 완료 (GMO 미생물 위해성 평가 제외)

- (1) 섭취근거 : 국내외 인정/사용현황 (한시적 기준 및 규격, GRAS)
- (2) 안전성정보 : 부작용, 상호작용 등 DB검색결과, 국내외학술지 검색
GMO 미생물 안전성 평가 진행 중
 - 식약처, 수과원, 농진청 통과
 - 생태원 진행 중
- (3) 섭취량평가
: 국민건강영양조사결과, 유통/판매제품량 등과 비교(원물,기능(지표성분)으로도 환산)
- (4) 인체적용시험 : 혈액/혈액생화학적 안전성지표
- (5) 독성시험: 단회투여, 3개월 반복투여독성, 유전독성(복귀돌연변이, 염색체이상, 소핵)
(GLP기관이 OECD 가이드라인에 준하여 시험한 보고서)

3) 기능성 자료 준비 완료

- (1) 인체시험 : IRB 통과 최종 보고서 수령
- (2) 동물시험 : 비만/정상 마우스에서 3건 시험 실시 후 기작 규명

6. 개별인정 신청 계획

- 1) 자료 평가 : 외부 전문가를 이용하여 객관적 평가 시행
- 2) GMO 미생물 위해성 평가 인정 후 개별인정 신청
- 3) 신청 후 보완사항 신속 대응

7. 건기식 이외에 일반 식품 원료로 사업화 진행 중

- 1) 한시적 기준 및 규격 취득
- 2) 0kcal 소재이며 단맛이 설탕/과당과 유사한 특징으로 당류 저감화 정책의 솔루션 제공

코드번호	D-06
------	------

4절. 관련분야 기여도

1. 설탕 과당의 과잉섭취에 의한 비만을 해결할 수 있는 소재임
2. 체지방 축적 억제 기작을 동물실험에 의해 증명하였으며, 임상실험에 의하여 그 효과를 검증함.
3. 식품 가공에서 사이코스의 설탕/과당 대체 모델을 확립하여, 식품업체에서 사이코스를 이용 하여 신제품을 출시 하고자 할 때, 가능한 식품 분야와 가공 솔루션을 제안함.
4. 건강기능식품시장의 비만을 예방 할 수 있는 신소재를 제공함.

5장. 연구결과의 활용계획

코드번호

D-07

- 임상 의학 연구에 기여 : 본 연구는 사이코스를 활용한 새로운 비만 예방을 제시함으로써 비만과 관련된 임상의학 분야 이외에도 행동의학, 영양의학 등 연관 학문의 유기적인 발전에 기여할 것으로 예상됨.
 - 본 연구의 결과는 비만인의 체중 및 체구성을 개선시킬 수 있는 대체당인 사이코스의 유효성과 안정성을 증명하여 비만을 예방 할 수 있는 건강 기능용 식품을 개발하는 데 있어 가치 있는 이론적 근거를 제공할 수 있음.
 - 기존 비만 약제나 수술치료는 많은 부작용이 있으나 사이코스는 식품으로 예방 할 수 있는 복용이 보다 안전하고 효과적인 치료도구로 활용될 가능성을 제공함

- 사이코스의 지방축적 억제효과를 활용한 안정적이고 효과적인 비만 예방 방법 개발
 - 본 과제 의 연구결과를 활용한 후속연구가 진행될 경우 보다 비만 및 대사질환 예방분야에 혁신적인 성과를 얻을 수 있을 것으로 예상되며 비만과 관련된 임상 및 기초의학의 발전에 기여할 수 있을 것으로 기대됨
 - 향후 비만의 식이조절을 위한 사이코스의 비만 예방 적용 가능성을 탐색하는데 본 연구가 중요한 근거로 활용될 수 있음
 - 본 연구는 비만 예방을 위한 대체 당분 개발 분야의 선도적인 연구로 성인비만환자를 위한 새로운 치료법을 개발하는 계기가 될 것이고 향후 약물치료가 힘든 소아비만 환자에 계도 안전하게 적용 가능한 이론적 근거를 제시할 것으로 기대됨

- 산업적 측면에서 국내 및 해외에서 삼양사가 주축이 되어 지방 축적 억제 기능이 있으며 및 당류 저감화에 효과적 대안 신소재 당인 사이코스를 산업화 하고 그 소재를 이용한 제품 개발에 선두 그룹을 이끌어 나갈 것임.

- 이 연구를 기반으로 희소당의 기능성에 대한 연구는 학계에서 뿐 만 아니라 기업에서도 관심을 가지고 연구 개발 하여 이익을 창출할 수 있고, 국민 건강에 직접적 영향을 줄 수 있는 소재군인 가능성을 제시함.

6장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

코드번호

D-08

● 사이코스(D-psychose)의 항비만 효능

- Chung 등 (2012)에 의하면, Sprague-Dawley종의 흰쥐에 5%의 사이코스를 고지방 식이에 혼합하여 4주간 공급 후, 체중증가량과 내장지방량이 감소한 것을 관찰하였는데, 이는 지방세포의 분화를 저해 하는 것에 기인한 것으로 사료하였다. 이를 뒷받침하는 근거로, 사이코스를 처리한 C57BL/6 mouse로 부터 분리한 지방전구세포 (Mesenchymal Stem Cell)의 분화를 저해하는 것을 확인하였다.

- Matsuo 등 (2001)은 수컷의 Wistar rat에서 5%의 cellulose, D-glucose, 과당, 사이코스를 각각 28일간 섭취 시켰다. 그 결과, 식이 사이코스는 체중 변화에는 영향을 미치지 못하였으나, 복부 주위 지방량이 유의적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 간의 지방합성효소(hepatic lipogenic enzyme activity)인 glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH, EC1.1.8), fatty acid synthase (FAS, EC2.3.1.85)의 감소로 인해 지방축적을 감소시킨 것으로 예측하였다.

- 간의 지방합성효소 (Hepatic lipogenic enzyme) 활성의 감소; Yamada 등 (2010)의 연구에 의하면 수컷의 Wistar rat에서 22.1% high fructose corn syrup diet (HFCS) 또는 0, 1.3, 2.6, 3.9, 5.2% 사이코스를 5주 동안 섭취시킨 결과, HFCS군과 비교하여 총 지방 및 신장주변 지방의 함량이 감소하는 것을 확인하였다. 이와 달리 Matsuo 등 (2004)의 연구에서는 5% 사이코스를 고지방과 함께 16주간 섭취한 결과, 체지방뿐만 아니라, 렙틴, 아디포넥틴, TNF- α 와 같은 아디포카인 호르몬에는 차이가 없는 것을 확인하였다. 그러나, 본 연구에서 사용된 일반식이(총 에너지의 5%가 지방)와 고지방식이(총 에너지의 25%가 지방)는 비만을 유도하기 위한 고지방식이로는 불충분하였기 때문이라고 판단된다. 왜냐하면 ICLAS(International Committee for Laboratory Animal Science)에서 권장하는 일반식이인 AIN-93(American Institute of Nutrition)에서 제시하는 일반식은 지방이 총 에너지의 약 19%인데 반해 본 시험에서 사용한 식이는 지방이 5%로 매우 낮기 때문이다. 이에 반해, Hossain 등 (2012)의 연구에서는 Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats에서 렙틴과 아디포넥틴을 측정 결과, 사이코스 섭취군에서 렙틴이 유의적으로 감소한 것을 확인하였다.

- 위의 연구들을 토대로 요약하면, 사이코스는 간의 지방합성효소(hepatic lipogenic enzyme activity)인 glucose 6-phosphate dehydrogenase와 fatty acid synthase의 활성을 저해함으로써, 지방의 생성의 감소하였으며, 지방 생성 감소로 인해, 아디포카인 호르몬인 렙틴의 함량도 감소한 것으로 예측할 수 있다. 따라서 사이코스는 이성화당에 대해 체지방 축적 억제효과를 가지며 우수한 항비만작용을 가진 소재로서 유용하다고 생각된다.

코드번호	D-08
------	------

● **사이코스(D-psicose)의 안전성 평가**

사이코스 경구섭취의 안전성에 대한 선행연구 중 치사량을 알아보기 위해 흰쥐를 대상으로 8~20g/kg 일회 경구 투여 후 관찰한 연구에서 15.8~16.3g/kg 이 치사량(LD50)으로 추정되었다. 장기적인 안전성을 관찰한 또 다른 연구들에서 18개월 동안 1,280mg/kg을 매일 섭취하여도 간독성, 신장독성 등의 혈액학적 검사에 이상소견을 보이지 않았다. 사람에서 과당과 함께 식품첨가물로 복용한 후 경미한 두드러기가 발생한 증례가 보고된 바 있으나 건강한 성인을 대상으로 한 연구에서 12주간 하루 15g의 사이코스를 복용하여도 혈압, 혈당, 간기능, 콩팥기능, 인슐린 저항성, 소변검사에 이상소견이 보이지 않았다.

7장. 연구개발결과의 보안등급

코드번호	D-09
------	------

8장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

					코드번호	D-10		
--	--	--	--	--	------	------	--	--

구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호

9장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실 적

코드번호	D-11
------	------

○ 연구실 안전관리 규정에 의한 실행

○ LMO 연구시설 1등급 운영 신고 - 2013~현재

- 연구시설의 설치 운영 기준에 따른 실행

연구실 안전관리 규정

안전	보건	대전SS팀장	소장
			

(주)삼양제넥스 식품연구소

2015. 5. 20

Copyright by Samyang. 본 문서의 불법 유통시 관계법과 규정에 의해 처벌 됩니다.

Copyright by Samyang. 본 문서의 불법 유통시 관계법과 규정에 의해 처벌 됩니다.



제1조(목적) 이 규정은 「연구실 안전환경 조성에 관한 법률」(이하 "법"이라 한다)에 따라 (주)삼양제넥스 식품연구소(이하 "연구소"라 한다)에 설치한 연구실의 안전관리에 필요한 사항을 정함을 목적으로 한다.

제2조(적용범위) 이 규정은 연구소에서 근무하는 연구원 및 연구보조원에게 적용한다.

제3조(용어의 정의) 이 규정에 사용하는 용어의 정의는 다음과 같다.

1. "사고"라 함은 연구실에서 연구활동과 관련하여 연구활동종사자가 생명 및 신체상의 손해를 입거나 연구실의 시설·장비 등이 훼손되는 것을 말한다.
2. "연구활동종사자"라 함은 연구소 연구개발활동에 종사하는 연구원 및 연구보조원 등을 말한다.
3. "위험물"이라 함은 화재, 폭발의 원인이 되는 폭발성, 발화성, 인화성, 가연성, 산화성, 부식성 물질 등을 말한다.
4. "유해화학물질"이라 함은 유독물질, 허가물질, 제한물질, 그 밖의 유해성 또는 위해성이 있거나 그러할 우려가 있는 화학물질을 말한다.
5. "연구실"이라 함은 연구활동을 위하여 설치한 시설·장비·연구실험실·연구재료 등을 갖추어 설치한 연구시설을 말한다.
6. "안전관리"라 함은 연구실에서 발생할 수 있는 화재, 가스, 화학물질, 실험폐기물, 미생물 누출 등의 사고로부터 인명 및 재산상의 피해를 예방할 수 있는 모든 조치를 말한다.
7. 이 규정에서 사용하는 용어의 정의는 특별한 규정이 있는 경우를 제외하고는 법, 시행령, 시행규칙에서 정하는 바에 따른다.

제4조(책임과 의무)

1. 연구주체의 장 : 연구주체의 장은 연구실의 안전유지·관리 및 사고 예방을 철저히 함으로써 연구실의 안전환경을 확보할 책임을 진다.
2. 연구실책임자 : 연구실책임자는 연구실 내에서 이루어지는 교육 및 연구개발활동의 안전에 관한 책임을 진다.
3. 연구실책임자는 해당 연구실의 안전관리 업무를 효율적으로 수행하기 위하여 연구실안전관리담당자를 지정할 수 있다. 이 경우 연구실안전관리담당자는 연구활동종사자 중에서 지정하여야 한다.



4. 연구실책임자는 연구활동종사자를 대상으로 해당 연구실의 유해인자에 관한 교육을 실시하여야 한다.
5. 연구실책임자는 사전유해인자위험분석을 대통령령으로 정하는 바에 따라 실시하여 연구주체의 장에게 보고하여야 한다.
6. 연구활동종사자는 연구실 안전관리에 관한 법령 및 동 규정을 준수하여야 한다.

제5조(조직)

1. 연구실의 안전환경 조성에 필요한 사항을 심의하기 위하여 연구실안전관리위원회(이하 "위원회"라 한다)를 둔다.
2. 연구실을 설치·운영하고 있는 각 팀에는 연구실책임자를 둔다.
3. 연구활동종사자에 대한 안전교육, 안전점검 및 연구실 안전과 관련한 지도를 하기 위하여 안전관리업무를 외부 전문기관에 위탁할 수 있다.

제 6 조(연구실안전관리위원회의 구성 및 운영)

1. 위원회는 위원장 1 인을 포함한 15 인 이내의 위원으로 구성한다.
2. 위원회의 위원은 법 제 6 조의 2 에 따라 지정된 연구실 안전환경관리자와 다음 각 호의 사람 중에서 연구주체의 장이 지명하는 사람으로 한다.
 - 1) 연구실책임자
 - 2) 안전환경관리자
 - 3) 연구활동종사자
3. 위원회는 다음 각 호의 사항을 심의·의결한다.
 - 1) 안전관리규정의 제·개정에 관한 사항
 - 2) 안전점검 및 정밀안전진단 계획 수립 등에 관한 사항
 - 3) 특별안전점검 실시여부 등에 관한 사항
 - 4) 그 밖의 연구실 안전환경 증진에 관한 주요사항
4. 위원회의 회의는 위원장이 필요하다고 인정하거나 위원 과반수의 요구가 있는 때에 위원장이 소집한다.
5. 위원회의 회의는 재적위원 과반수의 출석으로 개의하고, 출석위원 과반수의 찬성으로 의결한다.



6. 위원회의 정기회의는 매년 1 회이상 개최한다. 다만, 위원장이 필요하다고 인정하는 때에는
수시회의를 개최할 수 있다.
7. 위원장은 위원회에서 의결된 내용 등 회의결과를 게시 또는 그 밖의 적절한 방법으로
연구활동종사자에게 신속하게 알려주어야 한다.
8. 위원회의 운영에 관하여 그 밖에 필요한 사항은 위원회의 의결을 거쳐 위원장이 정한다.

제 7 조(연구실책임자)

1. 각 부서의 장은 연구실의 안전관리를 총괄하는 연구실책임자가 된다.
2. 연구실책임자의 업무는 다음 각 호와 같다.
 - 1) 안전관리업무(안전보호장비 비치, 부재중 실험에 대한 대비책 마련, 사고발생시 행동요령 교육
등) 총괄
 - 2) 안전사고 처리 및 보고에 관한 사항(별지 제 2 호 서식)
 - 3) 연구실 안전관리담당자 지정 및 관리에 관한 사항

제 8 조(안전관리담당자)

1. 연구실책임자는 부서별로 안전관리담당자를 지정할 수 있다.
2. 안전관리담당자의 업무는 다음 각 호와 같다.
 - 1) 연구실내 위험물, 유해물 취급 및 관리에 관한 사항
 - 2) 화학물질(약품) 목록 및 관리대장 작성에 관한 사항
 - 3) 보호장구 목록 및 관리대장 작성에 관한 사항
 - 4) 물질안전보건자료(MSDS)의 작성 및 보관에 관한 사항(단, 화학물질 제조업자 또는
수입업자로부터 MSDS 를 입수한 경우 MSDS 를 작성한 것으로 본다)
 - 5) 연구실 안전관리에 따른 시설 개·보수 요구에 관한 사항
 - 6) 연구실 일일 안전점검표 작성 및 보관에 관한 사항
 - 7) 연구실안전관리규정 비치 등 기타 연구실내 안전관리에 관한 사항

제 9 조(안전환경관리자)

1. 연구주체의 장은 연구실 안전관리 업무를 위하여 안전환경관리자를 지정하여야 한다.



2. 안전환경관리자의 업무는 다음 각 호와 같다.

- 1) 연구실의 안전점검 및 정밀안전진단에 관한 사항
- 2) 연구활동종사자의 안전교육에 관한 사항
- 3) 연구실 안전관리를 위한 기술적 지도·조언에 관한 사항
- 4) 연구실 안전환경 및 안전관리 현황의 통계에 관한 사항
- 5) 그 밖에 연구시설의 안전관리에 관한 사항

제 10 조(보험가입 등)

연구실책임자는 「연구실 안전환경 조성에 관한 법률시행령」(이하 "시행령"이라 한다) 제 15 조제 2 항 각 호에서 정하고 있는 연구활동종사자를 제외한 기타 연구활동종사자에 대해서도 법에서 정하고 있는 보험에 가입하여야 한다

제 11 조(안전교육)

1. 연구실 책임자는 연구활동종사자에게 반기별로 6 시간 이상의 안전교육을 실시하여야 한다.
2. 연구실책임자는 연구내용이 변경될 경우에는 연구활동종사자에게 2 시간 이상의 특별안전교육을 실시한다.
3. 연구실책임자는 신규채용자에 대해서는 담당업무 종사 전에 8 시간 이상의 연구실 안전교육을 실시하여야 한다

제 12 조(연구실의 안전관리)

1. 모든 연구실에서는 비상시 안전하게 대피할 수 있는 통로를 항상 사용 가능한 상태로 유지하여야 하고, 복도 비상계단에 실험장비 및 기타 물건을 방치하여서는 아니 된다.
2. 위험물, 유해화학물질 등을 취급하거나 사용하는 연구실의 연구실안전관리담당자는 업무수행 중 부상당한 직원의 응급치료를 위하여 제반 약품 등을 비치하여야 한다.

제 13 조(안전점검 및 정밀안전진단)

1. 안전관리담당자는 매일 연구활동 시작 전에 해당 연구실에 대하여 [서식 1]의 연구실현실 일일 안전점검표를 기준으로 일상점검을 실시하여야 한다.



2. 안전관리담당자는 제 1 항에 의한 점검결과, 문제가 발견된 경우에는 연구실책임자에게 지체 없이 보고하고 그 지시에 따라 조치하여야 한다.
3. 연구주체의 장은 연구실에 대하여 "정기점검"을 매년 1 회 이상 실시하고, "정밀안전진단"은 2 년마다 1 회 이상 실시하여야 한다.
4. 연구주체의 장은 폭발 및 화재사고 등 안전에 치명적인 위험을 야기할 가능성이 있다고 예상되는 경우에는 "특별안전점검"을 실시하여야 한다.

제 14 조(연구실의 안전 및 유지관리비의 확보)

연구실책임자는 법 제 13 조제 2 항에 따라 다음 각 호의 용도에 사용하기 위한 비용을 매년 연구실 안전 및 유지관리에 필요한 비용을 확보하여야 한다.

1. 법 제 14 조에 따른 보험료
2. 법 제 18 조제 1 항 및 제 2 항에 따른 안전관리에 관한 정보제공 및 연구활동종사자에 대한 교육·훈련
3. 법 제 18 조제 3 항에 따른 연구실 안전환경관리자에 대한 전문교육
4. 법 제 18 조제 4 항에 따른 건강검진
5. 연구실의 안전을 유지관리하기 위한 설비의 설치·유지 및 보수
6. 연구활동종사자의 보호장비 구입
7. 안전점검 및 정밀안전진단
8. 그 밖에 연구실의 안전환경 조성을 위하여 필요한 사항

제 15 조(건강검진의 실시)

연구주체의 장은 법 제 18 조제 4 항에 따라 「산업안전보건법 시행령」 제 29 조에 따른 유해물질 및 같은 법 시행규칙 별표 12 의 2 에 따른 유해인자를 취급하는 연구활동종사자에 대하여 일반건강검진과 특수건강검진을 실시하여야 한다.

제 16 조(안전수칙)

연구실내의 화학약품, 전기, 가스사용 등 안전관리가 필요한 사항은 [별표 1]의 연구실 안전관리수칙에서 정하는 바에 따른다



제 17 조(표지부착)

연구실책임자는 위험성이나 유해성이 있는 물질을 취급하는 장소에는 연구활동종사자나 방문객이 알 수 있도록 [별표 2]에 따라 적절한 표지를 부착하여야 한다.

제 18 조(위험물, 유해물의 저장 및 취급)

1. 각 연구실의 안전관리담당자는 위험물이나 유해물의 저장·조작 및 처리구역 내에는 사고의 원인이 될 수 있는 물질을 두어서는 아니 된다.
2. 위험물이나 유해물을 처리·사용하고자 하는 자는 그 이전에 안전한 취급 및 사용에 관하여 충분히 교육을 받아야 한다.

제 19 조(보호구착용 및 관리)

1. 다음 각 호에 해당하는 실험의 경우에는 작업복 등 기타 필요한 소정의 보호구를 착용하여야 한다.
 - 1) 다량의 고열, 저온물체를 취급 시
 - 2) 유해, 위험물질을 취급 시
 - 3) 피부에 장애를 주거나 중독 또는 감염될 우려가 있는 물품을 취급 시
 - 4) 기타 보호구 착용이 필요하다고 판단되는 경우
2. 보호구는 분실, 파손 또는 불결하지 않도록 관리하여야 한다.

제 20 조(사고발생시 행동요령)

1. 사고발생 시는 사고 상황에 따라 [별표 3] 연구실 사고발생시 대처요령 또는 연구실 사고대응 매뉴얼에 따라 조치한다.
2. 사고가 발생하였을 때에는 정확하고 빠르게 대응하여야 한다.
3. 사고가 발생하면 다음 각 호와 같이 행동하여야 한다.
 - 1) 신속히 사람들에게 알리고 관련 부서에 도움을 요청하도록 한다.
 - 2) 가능한 한 화재를 초기에 신속히 진압한다.
 - 3) 초기진압이 어려운 경우에는 진압을 포기하고 건물에서 대피하도록 한다.
 - 4) 소방서, 경찰서, 병원 등에 긴급전화를 하여 도움을 요청한다.



5) 응급요원에게 지금까지의 진행상황을 상세히 알리도록 한다.

제 21 조(사고조사 및 보고)

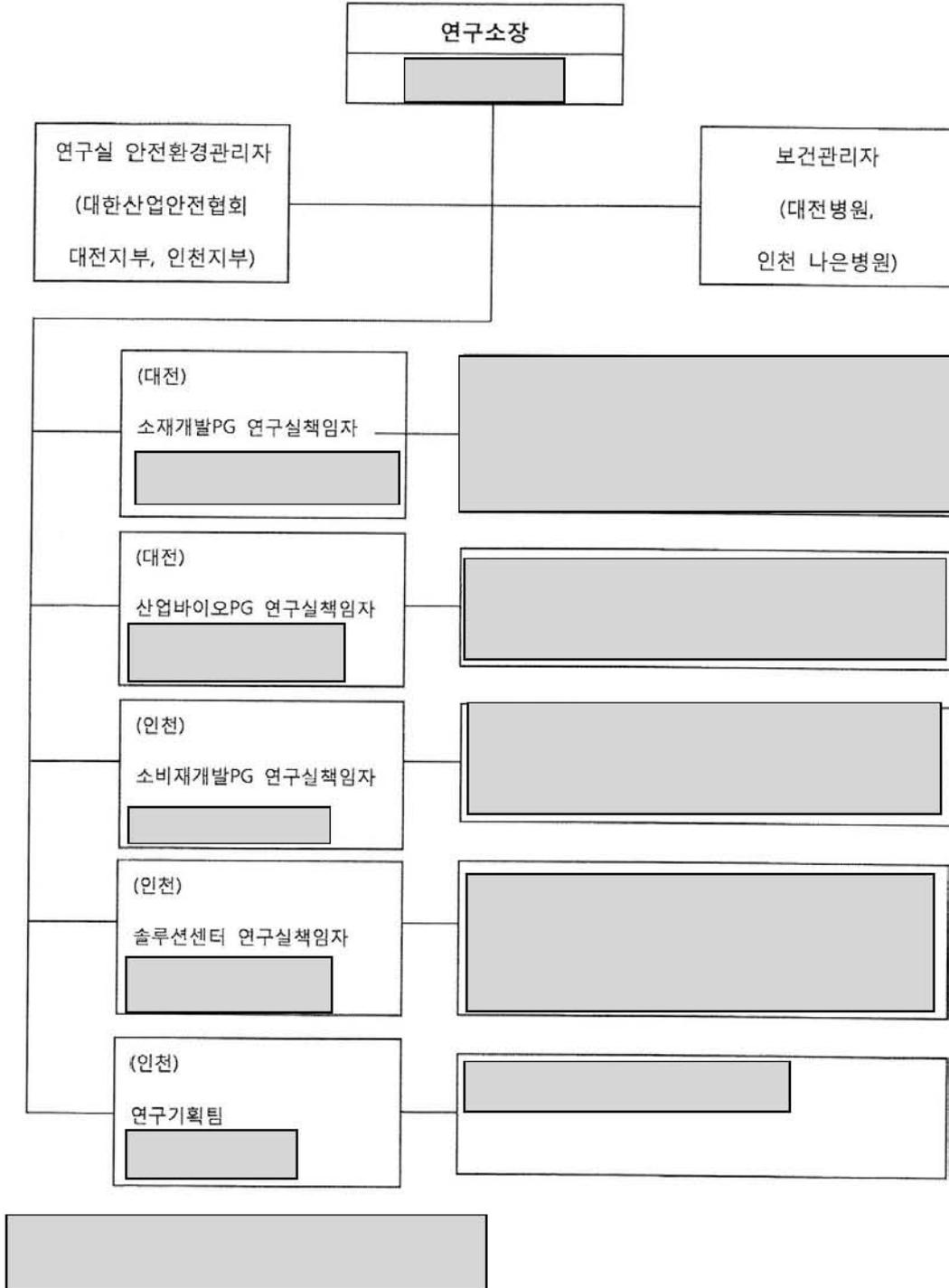
1. 사고발생현장은 사고원인 조사가 끝날 때까지 원상태로 보존하여야 하며, 연구주체의 장 또는 연구실책임자의 지시 없이 변경 또는 훼손하여서는 아니 된다.
2. 연구실책임자는 사고발생시 정확한 사고원인을 조사하고 [서식 2]에 따라 지체 없이 연구주체의 장에게 보고하여야 한다.
3. 중대사고가 발생하였거나 원인규명이 어렵다고 판단될 때에는 사고원인 조사 등을 외부전문기관에 의뢰할 수 있다.

제 22 조(기타) 본 규정에 명시되지 않은 사항은 관련 법령 및 규정에 따른다.

이 규정은 2015년 6월 1일부터 시행한다.



식품연구소 안전·보건관리 조직도



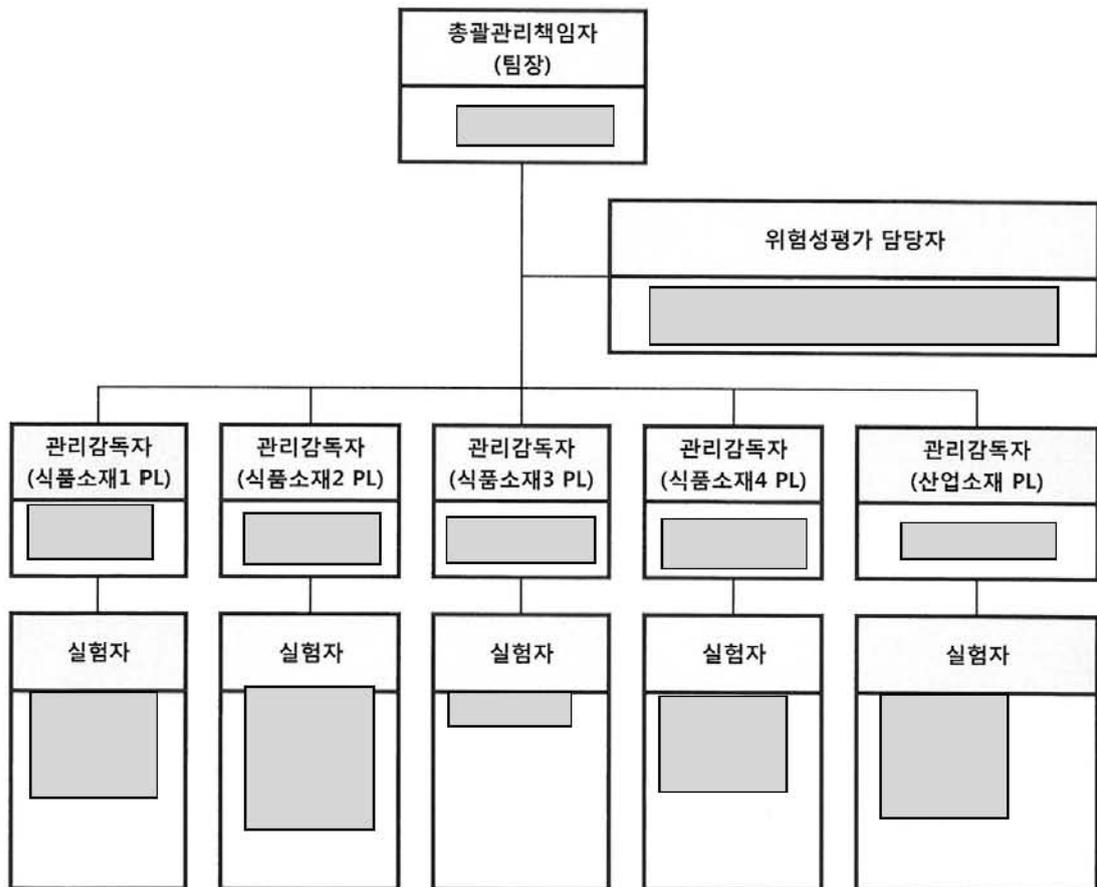
1. 실시 목적

이 실시계획서는 식품연구소 소재개발PG의 유해 위험 요인을 파악하고, 위험성을 추정, 결정한 후 위험성을 감소시키기 위해 필요한 조치를 실시함을 목적으로 한다.

2. 적용범위

식품연구소 소재개발PG에서 수행하는 모든 작업, 설비 및 공정의 위험성 평가에 대한 범위, 절차, 책임과 권한에 대하여 적용한다.

3. 조직 구성



4. 역할과 책임

총괄관리책임자

위험성평가의 총괄관리

- 안전관리 의지구현
 - 방침과 추진목표를 문서화하고 게시
 - 위험성평가 실행을 위한 노력(회의장소제공, 회의주관 등)
 - 실시계획서 작성 지원
 - 위험성평가 실행을 위한 조직구성, 역할부여 및 인지
- 위험성평가 교육
 - 총괄관리책임자 교육 이수
 - 작업자에게 외부교육기관 교육기회 제공
- 예산지원 및 산업재해 예방노력
 - 안전보건 예산편성 및 집행
 - 재해사례 수집 전파 및 중대재해 예방을 위한 노력
- 무재해 운동 참여

관리감독자
(위험성평가담당 겸임)

위험성 평가의 실행 관리 및 지원

- 위험성평가 실시 공고문 게시 및 관련회의 개최, 기록유지
- 위험성평가 담당자 교육 이수
- 위험성평가 연간계획 수립 및 실시
- 안전보건정보 수집 및 재해조사관련 자료 등 기록
- 관련직원에게 위험성평가 교육을 실시하고 기록유지
- 위험성평가 검토 및 결과에 대한 기록, 보관

위험성평가 실시

- 유해위험요인 파악하고 위험성 추정 및 결정
- 위험성 감소대책 수립 및 실행
- 위험성 평가시기, 절차 및 내용 숙지
- 책임과 권한 인지 및 이행



실험자

위험성평가 참여

- 담당업무와 관련된 위험성 평가 활동에 참여
- 담당업무에 대한 안전보건수칙 및 위험성 감소대책 숙지
- 비상상황에 대한 대비 및 대응방법 인지
- 출입허가절차 및 위험한 장소 인지

5. 실시시기

(1) 정기평가 : 실험실 전체에 대해 매년 1회 실시함

(2) 수시평가 : 아래의 상황이 발생 후 실험 개시 (재개) 전에 실시함.

- 중대산업사고 또는 산업재해 (휴업 이상의 요양을 요하는 경우에 한정)가 발생한 때
- 작업장 변경 시(작업자, 설비, 작업방법, 절차 등의 변경)
- 건설물, 기계, 기구, 설비 등의 정비 또는 보수

6. 위험성평가

(1) 실시방법

- 총괄관리책임자가 위험성평가 실시를 총괄관리한다.
- 위험성평가를 위한 체제를 구축한다.
- 작업내용 등을 상세하게 파악하고 있는 관리감독자에게 유해위험요인의 파악, 위험성의 추정 및 결정, 위험성 감소대책의 수립 및 실행을 하게 한다.
- 유해, 위험요인을 파악하거나 감소대책을 수립하는 경우, 특별한 사정이 없는 한 해당실험자를 참여하게 한다.
- 기계, 기구, 설비 등과 관련된 위험성평가에는 해당 기계, 기구, 설비 등에 전문지식을 갖춘 사람을 참여하게 한다.
- 위험성평가를 실시하기 위한 필요한 회의 및 교육등을 실시한다.



(2) 추진절차

- [1단계] 사전준비
- [2단계] 유해 위험요인 파악
- [3단계] 위험성 추정
- [4단계] 위험성 결정
- [5단계] 위험성 감소대책 수립 및 실행

※ 1회성으로 완료되는 것이 아니며, 위험성이 허용가능 수준이 될 때까지 위 단계를 반복.

(3) 위험성 추정방법

※ 대한산업안전협회 위험성평가 담당자교육자료 참조

위험성 추정 (곱셈법)			중대성 (강도)			
			최대	대	중	소
			4	3	2	1
가능성 (빈도)	최상	5	20	15	10	5
	상	4	16	12	8	4
	중	3	12	9	6	3
	하	2	8	6	4	2
	최하	1	4	3	2	1

위험성크기		허용가능여부	개선방법
16 ~ 20	매우높음	허용불가능	즉시개선
15	높음		신속하게 개선
9 ~ 12	약간높음		가급적 빨리 개선
8	보통		계획적으로 개선
4 ~ 6	낮음	허용가능	필요에 따라 개선
1 ~ 3	매우낮음		



7. 위험성평가지 유의사항

- (1) 위험성 평가 대상에는 모든 실험자에게 안전, 보건상 영향을 주는 다음사항을 포함하여야 한다.
 - 회사 내부 또는 외부에서 작업장에 제공되는 위험시설
 - 작업장에서 보유 또는 취급하고 있는 모든 유해물질
 - 일상적인 작업(협력업체 포함) 및 비일상적인 작업 (수리 또는 정비 등)
 - 발생할 수 있는 비상조치 작업

- (2) 위험성평가 결과, 위험을 제거 또는 감소시키기 위한 조치계획을 실시하고 모니터링 하여야 한다.

- (3) 위험성 감소대책을 실행한 후, 허용가능한 위험성 수준이 될 때까지 추가의 감소대책을 수립 실행하여야 한다.

- (4) 중대재해, 중대산업사고 또는 심각한 질병이 발생할 우려가 있는 위험성으로서 감소대책의 실행에 많은 시간이 필요한 경우에는 즉시 잠정적인 조치를 강구해야 한다.

- (5) 위험성 평가를 종료한 후 남아있는 유해 위험요인에 대해서는 게시, 주지 등의 방법으로 실험자에게 알려야 한다.

8. 기록관리

- (1) 위험성평가와 관련된 기록은 삼양그룹중앙연구소 SS팀의 협조 하에 작성하고, 주기적으로 출력하여 상위 결재자의 승인을 받는다.

- (2) 위험성평가 기록은 삼양그룹 중앙연구소 안전보건 기록관리규정에 준하여 보관하되 5년이상 보관한다.

- (3) 기록은 연 1회 정기적으로 검토하고, 실험자의 의견을 반영한 후에 변경여부를 결정하며 모든 실험자가 알 수 있도록 배부, 게시 또는 회람한다.

위험성 평가 연간계획서							결재	담당	팀장
소재개발PG		작성일자 : 2015년 12월 22일					담당자	비고	
구분	세부내용	추진일정							
		1Q	2Q	3Q	4Q				
사전준비	방침 및 추진목표 공표	↔							
	실시계획서 작성회의 개최		↔						
	위험성평가 연간계획서 작성			↔					
위험성평가 교육	위험성평가 총괄책임자 교육				↔		사외교육		
	위험성평가 담당자 교육				↔				
	위험성평가 실험자 교육				↔				
	위험성평가팀 구성			↔					
위험성평가 실시	대상작업 및 분류			↔					
	유해위험요인 파악			↔					
	위험성평가 실시 (정기평가)				↔				
	수시평가								



최종작성일: 2015.12.22

담당	PL	팀장

부서명		소재개발 PG 산업소재파트		위험성평가										평가자	김영석
평가일시		2015.12.14 ~ 2015.12.18													
작업내용	분류	원인	유해 위험 요인	관련근거	현재 안전보건조치	현재위험성			감소 대책	개선후 위험성	개선일	완료일	담당자	비고	
						가능성 (빈도)	중대성 (강도)	위험성							
청량	화학(물질)적 요인	고체(분진)	고체 시료 청량 시 분진 발생 위험		마스크 착용	2	1(낮음)	1(낮음)							
	화학(물질)적 요인	액체 · 미스트	시약으로부터 액체 미스트 발생 위험		마스크 착용 및 후드 안에서 진행	1	2(낮음)	2(낮음)							
	화학(물질)적 요인	인체 위해성	흡입 및 피부 노출로 인한 위험		안전보건규칙 제422조 [관리대상 유해물질과 관계되는 설비]	불침투성 보호복 · 보호장갑 및 보호안경 사용	1	2(낮음)	2(낮음)						
시약 저장	화학(물질)적 요인	고체(분진)	관리대상 유해 물질 누출에 의한 작업자 노출, 접촉위험		안전보건규칙 제470조 [보호복 등의 비치 등]	1	1(낮음)	1(낮음)							
	화학(물질)적 요인	액체 · 미스트	보호구 미착용으로 인한 유해 액체류 접촉		안전보건규칙 제470조 [보호복 등의 비치 등]	1	1(낮음)	1(낮음)							
운반	작업환경 요인	공간 및 이동통로	협소한 장소 및 구석진 곳 등 제한된 공간의 작업 시 충돌 등이 발생		안전보건규칙 제3조 [전도의 방지]	2	2(낮음)	2(낮음)							



작업내용	유해 위험요인 파악			관련근거	원계 안전보건조치	현재위험성			감소 대책	개선후 위험성	개신일	완료일	담당자	비고
	분류	원인	유해 위험 요인			가능성 (빈도)	중대성 (강도)	위험성						
가열	전기적 요인	과열	정시간 사용시 과열로 인한 누전 및 화재의 위험		정시간 사용 제한 및 전열기 주변에 인화성 물질 보관금지	2	2(4(낮음))							
	물리적 요인	열	고온의 표면과 점착에 의한 화상사고		보호장갑을 반드시 착용하고 꺼냄	3	2(6(낮음))	보호장갑 착용 후 진행	2(낮음)	2015.11.16	2015.11.17			
교반	기계적 요인	위험한 표면 (절단, 배임, 긁힘)	강한 교반으로 인한 유리 반응 기의 파손 위험		파손 유리조각 수선 및 폐기	2	2(4(낮음))							
	기계적 요인	위험한 표면 (마찰)	회전 중인 교반 용에 접촉시 위험		교반용 정지 상태에 서 조작류 체결 및 분리	3	2(6(낮음))							
건조	전기적 요인	과열	정시간 사용시 과열로 인한 누전 및 화재의 위험		정시간 사용 제한 및 전열기 주변에 인화성 물질 보관금지	2	2(4(약간높음))							
	물리적 요인	열	고온으로 가열된 표면에 접촉시 화상위험		고온에서 조작시 보호장갑 착용하고 취급	2	2(4(낮음))							
작업특성 요인	작업특성 요인	반응 시약	불임 및 피부 노출로 인한 위험		마스크 착용 및 후드 안에서 진행	2	2(4(낮음))							



작성내용	유해 위험요인 파악			관련근거	현재 안전보전조치	현재위험성			감소 대책	개선후 위험성	개선일	완료일	담당자	비고
	분류	원인	유해 위험 요인			가능성 (빈도)	중대성 (강도)	위험성						
중합	화학(물질)적 요인	증기	고온에 의한 누출되는 증기의 처리		불진투성 보호복, 보호장갑 및 보호안경 사용	3	2(낮음)							
	기계적 요인	위험한 표면 (미찰)	회전중인 교반 장치에 접촉시 위험		물리스크 제거 및 분리 시 반드시 회전 정지	3	1(낮음)							
물서적	기계적 요인	위험한 표면 (절단, 배임, 긁힘)	유리 조자의 움직임 위험한 표면으로 인한 절단, 배임, 긁힘사		피손된 유리조자 수선 및 폐기	2	3(낮음)		피손된 조자기 교체	3(낮음)	2015.11.16	2015.11.27		
	화학(물질)적 요인	반응성 물질	세척되지 않은 반응성 유기물질 접촉의 위험		중분한 세척 진행	1	2(낮음)							
인쇄	화학(물질)적 요인	증기	솔벤트 증기의 흡입		인크 세척 작업 시 환기하며 진행	1	2(낮음)							
	기계적 요인	위험한 표면 (미찰, 긁힘)	회전체의 접촉 위험		보호 커버 및 정지 상태에서 분리 작업 진행	3	2(낮음)							
종이 분석	기계적 요인	위험한 표면 (절단, 배임, 긁힘)	샘플 채단 시 칼날에 의한 배임, 절단 위험		보호장갑 착용 및 고정 장치 확인	1	2(낮음)							
	기계적 요인	위험한 표면 (압착)	기계적 압착으로 인한 부상 위험		보호장갑 및 배상장치 확인	3	2(낮음)							



작업내용	유해 위험요인 파악			관련근거	원칙	원제위험성			감소 대책	개선후 위험성	개선일	완료일	담당자	비고	
	분류	원인	유해 위험 요인			가능성 (빈도)	중대성 (강도)	위험성							
종이 제조	기계적 요인	위험한 표면 (압착)	기계적 압착으로 인한 부상 위험		보호장갑 및 비상정지 확인	3	3	26(낮음)							
	물리적 요인	열	고온으로 가열된 표면에 접촉 시 화상위험		고온에서 조작 시 보호장갑 착용하고 취급	3	3	26(낮음)							
전분 변성	화학적(물질)적 요인	인체 위해성	분진 발생, 흡입 및 피부 노출로 인한 위험		보호구 착용	2	2	36(낮음)							
	기계적 요인	위험한 표면 (철단, 배임, 긁힘)	회전체에 의한 부상 위험		보호커버 설치	1	1	33(낮음)							



최종작성일: 2015.12.22

담당	PL	팀장

부서명		소재개발 PG 식품소재파트		위험성평가										평가자	최은수, 김혜정 박성원, 박부수	
평가일시		2015.12.14 ~ 2015.12.18														
작업내용	분류	유해 위험요인 파악			관련근거	현재 안전보건조치	현재위험성			감소 대책	개선후 위험성	개선일	완료일	담당자	비고	
		원인	유해 위험 요인	위험			가능성 (빈도)	중대성 (강도)	위험성							
청량	화학(물질)적 요인	고체(분진)	고체 시료 청량 시 분진 발생 위험		마스크 착용	1	1	1(낮음)								
						시약으로부터 액체 미스트 발 생 위험		마스크 착용 및 후드 안에서 전 행	1	2(낮음)						
						인체에 유해성 인체 위해성 범		관리대상 유해 물질 노출에 의 한 작업자 노 출, 전속위험	1	2(낮음)						
시약 저장	화학(물질)적 요인	액체·미스 트	보호구 미착용 으로 인한 유해 액체류 접촉	안전보건규 칙 제470조 [보호복 등의 비치 등]	불침투성 보호 복·보호장갑 및 보호안경 사 용	2		1(2(낮음))								
						안전보건규 칙 제472조 [관리대상 유 해물질과 관 계되는 설비]		불침투성 보호 복·보호장갑 및 보호안경 사 용	1	2(낮음)						
운반	직업환경요 인	공간 및 이 동통로	좁은 공간 및 구색진 곳 등 제한된 공간의 작업 시 충돌 등이 발생	안전보건규 칙 제3조 [전 도의 방지]	작업장 정리정 돈	1		2(2(낮음))								



작업내용	유해 위험요인 파악			관련근거	원칙	원칙위협성			감소 대책	개선후 위험성	개선일	완료일	담당자	비고
	분류	원인	유해 위험 요인			가능성 (빈도)	중대성 (강도)	위험성						
가열	전기적 요인	과열	장시간 사용시 과열로 인한 누전 및 화재의 위험		장시간 사용 제한 및 전열기 주변에 인화성 물질 보관금지	1		2(낮음)						
	물리적 요인	열	고온의 표면과 접촉에 의한 화상사고		보호장감을 반드시 착용하고 꺼냄	1		2(낮음)						
교반	기계적 요인	위험한 표면 (절단, 베임, 긁힘)	강한 교반으로 인한 유리 반응기의 파손 위험		파손 유리조차 수선 및 폐기	2		2(4(낮음)	모든 유리조차를 점검하여 파손된 조차 폐기 및 수선	2(낮음)	2015.12.01			
	기계적 요인	위험한 표면 (마찰)	회전중의 교반봉에 접촉시 위험 및 화전물 발생		교반봉 정지 상태에서 조치류 체결 및 분리	3		2(6(낮음)	보호덮개 제작을 통한 화전을 방지	2(낮음)	2015.12.17			
건조	전기적 요인	과열	장시간 사용시 과열로 인한 누전 및 화재의 위험		장시간 사용 제한 및 전열기 주변에 인화성 물질 보관금지	1		2(2(낮음)						
	물리적 요인	열	고온으로 가열된 표면에 접촉시 화상위험		고온에서 조작시 보호장갑 착용하고 취급	1		2(2(낮음)						
작업특성 요인	작업특성 요인	반응 시약 접촉	흡입 및 피부 노출로 인한 위험		마스크 착용 및 후드 안에서 진행	1		2(2(낮음)						



작업내용	유해 위험요인 파악			관련근거	현재 안전보건조치	현재위험성			감소 대책	개선후 위험성	개선일	완료일	담당자	비고
	분류	원인	유해 위험 요인			가능성 (빈도)	중대성 (강도)	위험성						
중합	화학(물질)적 요인	증기	고온에 의한 누출되는 증기의 처리		불진투성 보호복·보호장갑 및 보호안경 사용	1		2(낮음)						
	기계적 요인	위험한 표면 (미찰)	회전중인 교반 장치에 접촉시 위험		플라스틱 체결 및 분리 시 반드시 회전 정지	1		2(낮음)						
물 세척	기계적 요인	위험한 표면 (절단, 배입, 긁힘)	우리 조자의 흉진등 위험한 표면으로 인한 절단, 배입, 긁힘사		파손된 우리조차 수선 및 폐기	2		1(낮음)						
	화학(물질)적 요인	반응성 물질	세척되지 않은 반응성 유기물 잔류물의 위험		충분한 세척 진행	1		2(낮음)						
근주 개발	화학(물질)적 요인	인체 위해성	흡입 및 피부 노출로 인한 위험		마스크 착용 및 후드 안에서 진행	1		2(낮음)						
별호 공정	기계적 요인	위험한 표면 (압착)	기계적 압착으로 인한 부상 위험		보호장갑 및 비상장치 확인	1		2(낮음)						
	물리적 요인	열	고온으로 가열된 표면에 접촉시 화상위험		고온에서 조작시 보호장갑 착용하고 취급	1		2(낮음)						
	기계적 요인	위험한 표면 (압착)	기계적 압착으로 인한 부상 위험		보호장갑 및 비상장치 확인	1		2(낮음)						

개인 보호



작성내용	유해 위험요인 파악			관련근거	원제 안전보건조치	원제위험성			감소 대책	개선후 위험성	개선일	완료일	담당자	비고
	분류	원인	유해 위험 요인			가능성 (빈도)	중대성 (강도)	위험성						
정제 공정	물리적 요인	열	고온으로 가열된 표면에 접촉 시 화상위험		고온에서 조작 시 보호장갑 착용하고 취급	1	2(낮음)	2(낮음)						
	기계적 요인	위험한 표면 (압착)	기계적 압착으로 인한 부상 위험		보호장갑 및 비상장치 확인	1	2(낮음)	2(낮음)						
	물리적 요인	열	고온으로 가열된 표면에 접촉 시 화상위험		고온에서 조작 시 보호장갑 착용하고 취급	1	2(낮음)	2(낮음)						





미래창조과학부

수신 삼양제넥스식품연구소

(경유)

제목 유전자변형생물체 연구시설 설치운영 신고 수리[삼양제넥스식품연구소]

1. 관련: 유전자변형생물체 연구시설 설치운영 신고(2013.6.25)
2. 귀 기관에서 신청한 유전자변형생물체(LMO) 연구시설 설치·운영 신고(1건)에 대하여 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」 제22조제1항 규정에 의하여 이를 수리하오니, LMO 연구·개발 안전관리에 만전을 다해 주시기 바랍니다.
3. 「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률」 시행규칙이 개정되어 시행(2013.3.23)중이니, 향후 LMO 연구시설 설치·운영 신고 시에는 개정된 [별지 제22호서식]을 사용하여 주시기 바랍니다.
4. 위와 관련된 사항은 연구환경안전과 담당자 강은정(02-2110-2787, bluesky1878@msip.go.kr)으로 문의하여 주시기 바랍니다.

붙임 연구시설 설치·운영신고확인서 1부(별송). 끝.

미래창조과학부장관



주무관	김영근	행정사무관	오판동	과장	2013. 6. 26. 김재신
-----	-----	-------	-----	----	---------------------

협조자

시행 연구환경안전과-1022 (2013. 6. 27.) 접수

우 427-700 경기도 과천시 관문로 47 (중앙동, 정부과천청사) / <http://www.msip.go.kr>

전화번호 02 팩스번호 02 / kimyg@msip.go.kr / 비공개(6)

[별지 제9-5호서식]

연구시설설치·운영신고확인서

신청인	① 상 호	삼양제넥스식품연구소	② 확 인 번 호	제 LML13-193호
	③ 주 소	대전시 유성구 화암동	④ 사업자등록번호 (법인등록번호)	
	⑤ 대표자성명		⑥ 주민등록번호	
신고내용	연구시설	⑦ 설치·운영책임자		
		⑧ 규모(시설내역)	151.2 m ²	
		⑨ 설치·운영 장소	대전시 유성구 대덕대로 730 삼양그룹중앙연구소 제넥스동 F222~F224	
		⑩ 안전관리등급	1등급	

「유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 통합고시」 제9-5조제3항에 의하여 위와 같이 연구시설의 설치·운영신고서를 접수하였음을 확인합니다.

2013년 6월 26일

미래창조과학부장관



제 2014-519호



수료증

소 속: 삼양제넥스

성 명:

이수과정: 생물안전관리자과정 교육

이수기간: 2014년 12월 9일 (8시간)

상기 참가자는 미래창조과학부에서 주최하고 한국생명공학연구원 LMO연구안전센터에서 주관한 생물안전관리자과정 교육을 이수하였으므로 본 증서를 드립니다.

2014년 12월 9일

한국생명공학연구원 LMO연구안전센터



제 2015-600 호



수료증

소 속: 삼양제넥스

성 명:

이수과정: 생물안전관리자 교육

이수기간: 2015년 11월 24일 (4시간)

상기 참가자는 미래창조과학부에서 주최하고 한국생명공학연구원 국가연구안전관리본부에서 주관한 생물안전관리자 교육을 이수하였으므로 본 증서를 드립니다.

2015년 11월 24일

한국생명공학연구원 국가연구안전관리본부장



1·2등급 연구시설 설치·운영 점검 결과서(일반 연구시설)

※ []에는 해당되는 곳에 √ 표를 합니다.

점검일 : 20 . . .

연구시설	연구시설명	안전관리등급 [√] 1등급 [] 2등급	설치·운영책임자명	전화번호
항 목				
설치기준	실험실(실험구역): 일반 구역과 구분(분리)	[√]	[]	[]
	주 출입구 잠금장치 설치(카드, 지문인식시스템, 보안시스템 등)	[√]	[]	[]
	실험실 출입 전 개인외류 및 실험복 보관 장소 설치	[√]	[]	[]
	실험실 출입: 현관, 전실 등을 경유하도록 설치	[√]	[]	[]
	장비 등 기자재 반출입을 위한 문 또는 구역 설치	[]	[]	[√]
	실험구역 또는 실험실 내부에 손 소독기 및 눈 세척기 설치	[√]	[]	[]
	고압멸균기 설치	[√]	[]	[]
	생물안전작업대 설치	[]	[]	[√]
	에어로졸의 외부 유출 방지능이 있는 원심분리기 사용	[√]	[]	[]
	동물 이용 시 별도의 해파 필터 장착 급배기 시스템이 포함된 사육장치 설치(별도 덕트 연결)	[]	[]	[√]
	고형 폐기물: 고압증기멸균 또는 화학약품처리 등 생물학적 활성을 제거할 수 있는 설비 설치	[√]	[]	[]
	실험 폐수: 고압증기멸균 또는 화학약품처리 등 생물학적 활성을 제거할 수 있는 설비 설치	[√]	[]	[]
	해파필터에 의한 배기	[]	[]	[√]
	시설외부와 연결되는 통신 시설 설치	[√]	[]	[]
	배관의 역류 방지 장치 설치	[√]	[]	[]
	동물실험구역 등 냄새가 많이 발생할 수 있는 구역의 경우 배기에 카본필터 설치	[]	[]	[√]
운영기준	실험실 출입문은 항상 닫아 두며 승인받은 자만 출입	[√]	[]	[]
	출입대장 비치 및 기록	[√]	[]	[]
	전용 실험복 등 보호장구 비치 및 사용	[√]	[]	[]
	출입문 앞에 생물안전표(유전자변형생물체명, 안전관리등급, 시설관리자의 이름과 연락처 등)를 부착	[√]	[]	[]
	지정된 구역에서만 실험수행하고, 실험 종료 후 또는 퇴실 시 손 씻기	[√]	[]	[]
	실험구역에서 실험복을 착용하고 일반구역으로 이동 시에 실험복 탈의	[√]	[]	[]
	실험 시 기계식 피펫 사용	[√]	[]	[]
	실험 시 에어로졸 발생 최소화	[√]	[]	[]
	실험구역에서 음식섭취, 식품 보존, 흡연, 화장 행위 금지	[√]	[]	[]
	식물, 동물, 옷 등 실험과 관련 없는 물품의 반입 금지	[√]	[]	[]
	감염성물질 운반 시 견고한 밀폐 용기에 담아 이동	[]	[]	[√]
	곤충이나 설치류에 대한 관리 방안 마련	[√]	[]	[]
	실험 종료 후 실험대 소독(실험 중 오염 발생 시 즉시 소독)	[√]	[]	[]
	유전자변형생물체 보관 장소(냉장고, 냉동고 등): "생물위해(Biohazard)" 표시 등 부착	[√]	[]	[]
	생물안전위원회 구성 및 생물안전관리책임자 임명	[√]	[]	[]
	생물안전관리자 지정	[√]	[]	[]
	생물안전 교육 실시 및 이수	[√]	[]	[]
	연구시설 설치·운영 관련 기록 관리 및 유지	[√]	[]	[]
	유전자변형생물체 보관 관리 대장 작성 및 보관	[√]	[]	[]
	실험 감염 사고에 대한 기록 작성, 보고 및 보관	[]	[]	[√]
	생물안전관리규정 마련 및 적용	[√]	[]	[]
	감염성물질이 들어있는 물건 개봉: 생물안전작업대 등 기타 물리적 밀폐장비에서 수행	[]	[]	[√]
	시험연구종사자에 대한 정상 혈청 채취 및 보관(필요시 정기적인 혈청 채취 및 건강검진 실시)	[√]	[]	[]
	취급 병원체에 대한 백신이 있는 경우 접종	[]	[]	[√]
	처리 전 오염 폐기물: 별도의 안전 장소 또는 용기에 보관	[√]	[]	[]
	모든 폐기물(갈짚 등 포함)은 생물학적 활성을 제거하여 처리	[√]	[]	[]
실험폐기물 처리에 대한 규정 마련	[√]	[]	[]	
비고				

점검자 소속: 식품연구소 성명 : (인)

확인자 성명 : (인)

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관 명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인용 횟수 등)
1	논문	Gut microbiota-associated bile acid deconjugation accelerates hepatic steatosis in ob/ob mice	숙명여대	협동기관	Journal of Applied Microbiology	2.386	2016.04.25	중복사사	SCI
2	논문	High-fat Diet Accelerates Intestinal Tumorigenesis Through Disrupting Intestinal Cell Membrane Integrity	숙명여대	협동기관	Journal of cancer prevention		2016.06.16	중복사사	한국연구재단 등재지
3	특허	사이코스를 함유한 인삼제품 및 이의 제조방법	삼양사	주관기관	국내		2016.06.17		특허 출원 (보정서제출)
4	특허	혼합당 과립분말 및 이의 제조방법	삼양사	주관기관	국내		2016.04.26		특허 등록
5	특허	혼합당 과립분말 및 이의 제조방법	삼양사	주관기관	PCT		2016.04.29		PCT 출원 (Search Report 발명자 보고)
6	특허	사이코스생산용 비드 및 이의 제조방법	삼양사	주관기관	국내		2016.04.21		특허 등록
7	특허	감미질 및 결정화가 개선된 사이코스 혼합당 조성물	삼양사	주관기관	PCT		2016.04.28		PCT 출원 (Search Report)
8	특허	감미질 및 결정화가 개선된 사이코스 혼합당 조성물	삼양제넥스	주관기관	국내		2015.05.5		특허 출원 (의견안OA)
9	특허	과당함유 기질로부터 사이코스를 생산하는 방법	삼양제넥스	주관기관	국내		2015.11.16		특허 출원 (의견안OA)
10	특허	부드럽고 촉촉한 식감을 갖는 머핀 제조용 프리믹스 조성물 및 이를 이용한 머핀	삼양제넥스	주관기관	국내		2015.05.12		특허 출원 (의견제출통지서접수)

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
11	특허	감미질 및 성형성이 우수한 저칼로리 하 드캔디	삼양제넥 스	주관기 관	국내		2015.06.04		특허 출원 (의견서제 출완료)
12	특허	부드럽고 촉촉한 식 감을 갖는 쿠키제조 용 프리믹스 및 이 를 이용한 쿠키	삼양제넥 스	주관기 관	국내		2015.06.02		특허 출원 (의견제출 통지서접수)
13	특허	알룰로스의 항비만 활성 관련 마커 유 전자 및 이의 용도	삼양사	주관기 관	국내		2016.11.07		특허 출원 (출원완료)
14	특허	비알콜성 지방간 질 환의 예방 또는 개 선용 조성물	삼양사	주관기 관	국내		2016.09.02		특허 출원 (출원완료)
15	학술 발표	20th International Conference on Annual meeting of Korean Society of Cancer Prevention	숙명여대	협동기 관	대한상공회 의소		2015.12.11		
16	학술 발표	ICoFF 2015	숙명여대	협동기 관	코엑스		2015.11.24		
17	학술 발표	2015 한국영양학회 추계학술대회 및 제 50차 정기총회	숙명여대	협동기 관	밀레니엄힐 튼서울호텔		2015.11.06		
18	학술 발표	Experimental Biology 2016	숙명여대	협동기 관	SanDiago Convention Center(미 국)		2016.04.06		
19	학술 발표	대한암예방학회 오 색심포지움 2016	숙명여대	협동기 관	대전 KAIST		2016.7.7		

1. Gut microbiota-associated bile acid deconjugation accelerates hepatic steatosis in ob/ob mice

energy source for colonocytes and exhibits potent anti-inflammatory activity (Wong *et al.* 2006). Recent preclinical studies have demonstrated that butyrate-producing probiotics prevent the development of NAFLD (Endo *et al.* 2013) and that administration of butyrate ameliorates HFD-induced steatosis through decreased hepatic inflammation and glucose tolerance (Mattace Raso *et al.* 2013). Although the amount of butyrate produced in the colon was not measured in this study, the proportions of butyrate-producing bacteria (Lachnospiraceae and Ruminococcaceae) were decreased in ob/ob mice. Butyrate is also known to induce FGF 21, which stimulates hepatic fatty acid β -oxidation in obese C57BL/6J mice (Li *et al.* 2012). Thus, decreased butyrate-producing microbiota in the gut may be a possible contributing factor that accelerates hepatic steatosis.

Taken together, the changes in the gut microbiota and their metabolites can alter the profile of BAs, thereby providing a mechanism by which an altered microbiota profile contributes to the development of NAFLD (Fig. 5). This contribution is, at least in part, due to decreased levels of taurine-conjugated BAs and butyrate-producing microbiota in the gut. This study suggests that the manipulation of gut microbiota is associated with NAFLD development. Diet containing prebiotics is an important strategy to prevent NAFLD. In addition, several studies have reported that probiotics treatment attenuated the markers of liver damage in NAFLD patients (Aller *et al.* 2011; Malaguarrera *et al.* 2012; Ma *et al.* 2013) although the availability of strains are limited. Further studies to explore whether treatment with probiotics, especially butyrate-producing strains, leads to a direct reduction of hepatic fat content via decreasing of BAs deconjugation in NAFLD model are warranted. Moreover, well-designed human intervention studies may suggest the potential benefit of probiotics in improving disease progress in NAFLD patients.

Acknowledgements

The authors are grateful for the financial supports from the SRC program (Center for Food & Nutritional Genomics; grant number 2015R1A5A6001906), High Value-added Food Technology Development Program (grant numbers: 113035-3 and 312006-3) funded by the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs and the Mid-Career Research Program (2015R1A2A2A01004607) of the National Research Foundation (NRF) of Korea funded by the

References

- Aller, R., De Luis, D.A., Izaola, O., Conde, R., Gonzalez Sagrado, M., Primo, D., De La Fuente, B. and Gonzalez, J. (2011) Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **15**, 1090–1095.
- Anstee, Q.M. and Goldin, R.D. (2006) Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *Int J Exp Pathol* **87**, 1–16.
- Anaya, J., Rodrigo, R., Videla, L.A., Thielemann, L., Orellana, M., Pettinelli, P. and Poniachik, J. (2004) Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n - 6/n - 3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond)* **106**, 635–643.
- Brunt, E.M. (2004) Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* **24**, 3–20.
- Brunt, E.M. (2010) Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **7**, 195–203.
- Chang, Y.Y., Chou, C.H., Chiu, C.H., Yang, K.T., Lin, Y.L., Weng, W.L. and Chen, Y.C. (2011) Preventive effects of taurine on development of hepatic steatosis induced by a high-fat/cholesterol dietary habit. *J Agric Food Chem* **59**, 450–457.
- Chiang, J.Y. (2013) Bile acid metabolism and signaling. *Compr Physiol* **3**, 1191–1212.
- Dawson, P.A. and Karpen, S.J. (2015) Intestinal transport and metabolism of bile acids. *J Lipid Res* **56**, 1085–1099.
- Day, C.P. and James, O.F. (1998) Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* **114**, 842–845.
- Dewulf, E.M., Cani, P.D., Claus, S.P., Fuentes, S., Puylaert, P.G., Neyrinck, A.M., Bindels, L.B., de Vos, W.M. *et al.* (2013) Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *Gut* **62**, 1112–1121.
- Donnelly, K.L., Smith, C.L., Schwarzenberg, S.J., Jessurun, J., Boldt, M.D. and Parks, E.J. (2005) Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* **115**, 1343–1351.
- Endo, H., Niioka, M., Kobayashi, N., Tanaka, M. and Watanabe, T. (2013) Butyrate-producing probiotics reduce nonalcoholic fatty liver disease progression in rats: new insight into the probiotics for the gut-liver axis. *PLoS ONE* **8**, e63388.
- Ferolla, S.M., Armiliato, G.N., Couto, C.A. and Ferrari, T.C. (2015) Probiotics as a complementary therapeutic

2. High-fat Diet Accelerates Intestinal Tumorigenesis Through Disrupting Intestinal Cell Membrane Integrity

accelerates the colon tumor formation.²³

It is reported that increased fat storage is linked with increased generation of ROS.²⁴ ROS can interact with DNA to produce damage including single and double-stranded DNA breaks and nucleotide modifications. The level of 8-OHdG, the oxidized form of the nucleoside 2'-deoxyguanosine present in DNA, is one of the most reliable and abundant markers for free radical-induced oxidative lesions.²⁵ Study results indicated that total antioxidant capacity was lower in the HFD group than those of the ND group, while 8-OHdG level was higher in the HFD group. These results show that mice fed HFD were under a heavier oxidative stress and antioxidant defenses might be weakened than mice fed ND.

ROS may also be one of the contributor in gut dysfunction.²⁶ Increased ROS can rapidly stimulate compartmental redistribution of TJs such as occludin and ZO-1 in Caco-2 cells.²⁷ The disruption of TJs plays an important role in the pathogenesis of a number of gastrointestinal diseases including inflammatory bowel disease, celiac disease allergy, and cancer.^{27,28} In this study, HFD remarkably increased passage of FITC-dextran and significantly decreased expression levels of TJ proteins including occludin, ZO-1, and claudin-1. A previous study has indicated that HFD causes intestinal eosinophil depletion which could result in defective barrier function.²⁹ Not only to promote intestinal tumorigenesis, but severe gut barrier dysfunction enhances progression of colon cancer cachexia in the *Apc*^{Msi/+} mice model through increased endotoxemia and higher circulating concentration of IL-6.³⁰ Increased intestinal permeability permits diffusion of bacterial endotoxins such as LPS into the blood stream which is associated with systemic inflammation and development of several diseases.^{30,31} Previous reports showed that inflammation markers were decreased in ob/ob mice lacking LPS receptor CD14 and identified HFD-induced LPS is a triggering factor in metabolic endotoxemia.^{32,33} In a case-control study, blood endotoxin levels were shown to be correlated with colon polyps.³³ We clearly found that HFD significantly increased blood CD14 level and colonic TLR4 mRNA expression level. Among several TLRs, TLR4 is stimulated by binding bacterial LPS. The TLR4/NF- κ B signaling pathway is known to stimulate the secretion of inflammatory cytokines including IL-6 and IL-8, and TLR4-dependent inflammatory response contributed to the colorectal cancer (CRC) development.³⁴ A previous study also showed that the up-regulated TLR4 and its polymorphism are associated with progression of colon cancer.³⁵ TLR4 was also suggested as an important CRC specific cell-surface marker in colorectal cancer patients.³⁶ As LPS treatment increases paracellular permeability in intestinal epithelial cells,³⁷ it can be

postulated that HFD facilitates LPS production and LPS-induced signaling causes endotoxemia, resulting in increased intestinal permeability possibly accelerating CRC progression.

In this study, serum IL-6 concentration and MPO level were used as inflammatory markers. Among several inflammatory cytokines, IL-6 is known as a predictive marker for CRC progression.^{38,39} MPO is a specific marker of neutrophils infiltration, which can be considered as an inflammatory damage index.^{41,42} As expected, both serum IL-6 and MPO level were elevated in the HFD group compared to the ND group in accordance with increased permeability markers.

In summary, HFD induced oxidative stress and endotoxemia, leading to disruption of intestinal barrier in *APC*^{Msi/+} mice. In addition, HFD increased both oxidative stress and LPS-related markers. These results indicate that increased intestinal permeability allows entrance of bacterial pathogens and may cause chronic inflammation which accelerates the formation of intestinal polyps in *APC*^{Msi/+} mice. This study is one of a few studies suggesting that HFD influences intestinal tumorigenesis by increasing intestinal permeability via oxidative stress and endotoxemia.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the High Value-added Food Technology Program (grant number J12006-3) funded by the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs and by the Mid-Career Research Program (2015R1A2A2A01004607) of the National Research Foundation of Korea funded by the Ministry of Science, ICT and Future Planning.

CONFLICTS OF INTEREST

No potential conflicts of interest were disclosed.

REFERENCES

1. World Health Organization (WHO). 2013. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. Accessed June 13, 2015.
2. Tániguchi López FJ, Alleno JB, Rodríguez-Montes JA. Primary and secondary prevention of colorectal cancer. *Clin Med Insights Gastroenterol* 2014;7:33-46.
3. Ames BN. DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. *Mutat Res* 2001;475:7-20.
4. Ju J, Liu Y, Hong J, Huang MT, Conney AH, Yang CS. Effects of green tea and high-fat diet on arachidonic acid metabolism and aberrant crypt foci formation in an azoxymethane-induced colon

3. 사이코스를 함유한 인삼제품 및 이의 제조방법

출원번호통지서

페이지 1 / 3

관인생략 출원번호통지서

출원일자 2016.06.17
특가사항 심사청구(유) 공개신청(무) 창조번호(2201)
출원번호 10-2016-0075967 (접수번호 1-1-2016-0586581-37)
출원인명칭 주식회사 삼양사(1-2011-051593-4)
대리인성명 [REDACTED]
발명자성명 [REDACTED]
발명의명칭 사이코스를 함유한 인삼 제품 및 이의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기과코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경장) 신청신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 인원사식다문로드 > 특허명 시정규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보장이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일로부터 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
① 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허마당-PCT/마드리드
② 우선권 인정기간 : 특허-실용신안은 12개월, 상표-디자인은 6개월 이내
③ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자특허출원허가서(PTO/SB39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 종업원이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용자(기업)가 명확하게 승계하지 않은 경우, 특허법 제62조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

<http://www.patent.go.kr/jsp/kiponet/ir/receipt/online/app/NoOffAct.se>



【우편번호】
 【주소】

【국적】 KR

【출원언어】 국어

【원출원의 출원번호】 10-2014-0150696

【심사청구】 청구

【핵심청기 서열목록 또는 아미노산 서열목록】

【서열개수】 9

【서열목록 전자파일】 미첨부

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 113035-3

【부처명】 농림부

【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원

【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업

【연구과제명】 비반역제 기능성 원료 사이코스 시합의 개별인정 및 제형화

【기여율】 1/1

【주관기관】 삼양제넥스 식품연구소

【연구기간】 2013.07.16 ~ 2016.07.15

【취지】 원료 고미 특질 향상효과 검증합니다.

(서명 또는 인)



4. 혼합당 과립분말 및 이의 제조방법

특허증 CERTIFICATE OF PATENT		
특허 Patent Number	제 10-1617379 호	
출원번호 Application Number	제 10-2015-0066926 호	
출원일 Filing Date	2015년 05월 13일	
등록일 Registration Date	2016년 04월 26일	
발명의 명칭 Title of the Invention 혼합당 과립 분말 및 이의 제조방법		
특허권자 Patentee 주식회사 삼양사(110111-*****) 서울특별시 종로구 종로33길 31 (연지동)		
발명자 Inventor 등록사항관에 기재		
위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다. This is to certify that, in accordance with the Patent Act, a patent for the invention has been registered at the Korean Intellectual Property Office.		
	2016년 04월 26일	
	특허청장 COMMISSIONER, KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE	
	최 동 규	
		

5. 혼합당 과립분말 및 이의 제조방법 (PCT 출원)

PanKorea 特許法人

서울시 강남구 논현로 85 길 70
13층 (우) 06234 (역삼동, 823빌딩)

전화: (02) 3458 0800
팩스: (02) 555 3155

www.pankoreaip.com

email@pankoreaip.com

2016년 5월 9일

수신 : 주식회사 삼양사
참조 : 전략기획실 법무팀 차장 사순욱님
제목 : PCT/KR2016/004474 호에 대한 출원번호통지서 송부

1. PCT 특허출원 현황

귀사 관리 번호	OP2016006-WO	당법인관리번호	OPP20160718KR
PCT 출원 번호	PCT/KR2016/004474	PCT 출원 일	2016-04-28
우 선 권 출 원	KR; 10-2015-0066926	우 선 일	2015-05-13
기 본 출 원	KR; 10-2015-0066926; 2015-05-13		
발 명 의 명 칭	혼합당 과립 분말 및 이의 제조방법		
영문발명의 명칭	Mixed sugar granule and method of preparing the same		
출 원 인	주식회사 삼양사 (SAMYANG CORPORATION)		
발 명 자	[Redacted]		

- 상기 건에 대하여 특허청으로부터 출원번호통지서를 접수하였기에 그 사본을 송부하여 드립니다.
- 상기 건과 관련하여 문의 사항이 있으시면 이종성 변리사(Tel: 02-3458-0752, E-mail: jslee@pankoreaip.com)에게 연락하여 주시기 바랍니다.

PanKorea 特許法人

6. 사이코스 생산용 비드 및 이의 제조방법

특허증
CERTIFICATE OF PATENT



특허 제 10-1616050 호
Patent Number

출원번호 제 10-2015-0074989 호
Application Number
출원일 2015년 05월 28일
Filing Date
등록일 2016년 04월 21일
Registration Date

발명의 명칭 Title of the Invention
사이코스 생산용 비드 및 이의 제조방법

특허권자 Assignee
주식회사 삼양사(110111-*****)
서울특별시 중로구 중로33길 31 (연지동)

발명자 Inventor
윤복사형관매 기재

위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
This is to certify that, in accordance with the Patent Act, a patent for the invention
has been registered at the Korean Intellectual Property Office.



2016년 04월 21일

특허청장
COMMISSIONER,
KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

최동규



7. 감미질 및 결정화가 개선된 사이코스 혼합당 조성물 (PCT 출원)

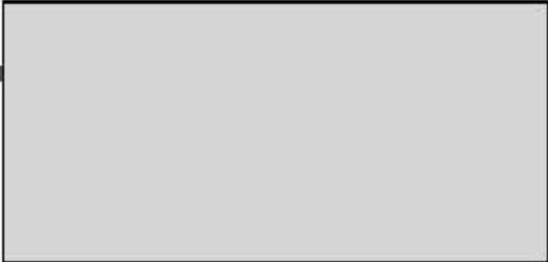
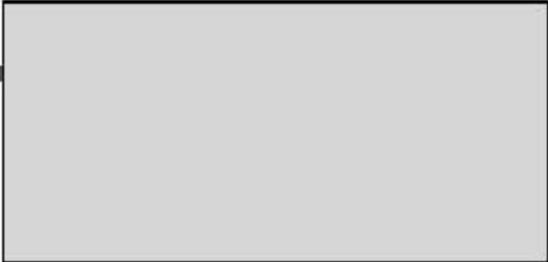
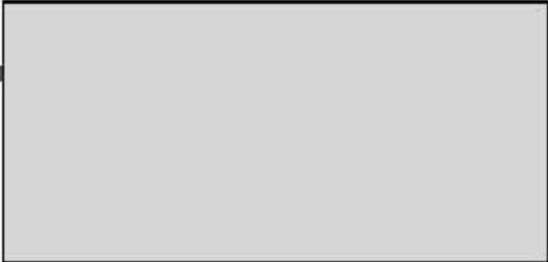
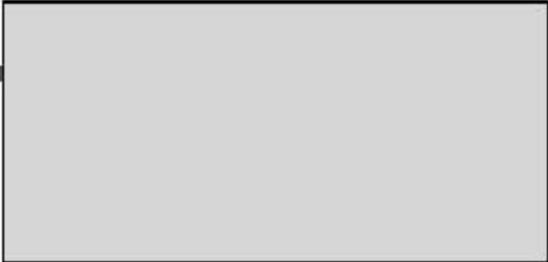
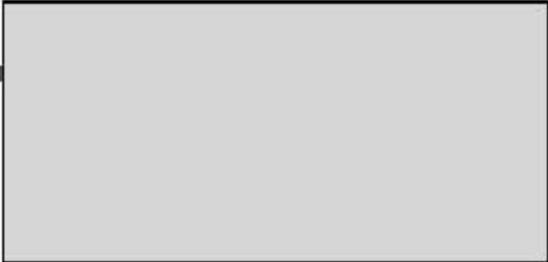
OPP160717KR		1/5
PCT 출원서		원천(지출처)
0	국제공개 번호	
04	국제출원번호	
02	국제공개일자	
03	국제공개일자 및 PCT 의제공인	
04	특허 PCT060301 - PCT 출원서	
04-1	부속제 기재된 것과 같이 지정되었다.	PCT-SAFE 비전 3.51.065.241 MT/FOP 20141024/0.20.5.21
05	설명 이제 지정된 모든 국제 출원서가 특허청이 지정된 국제에 의해서 처리된 것을 알고 있습니다.	
06	출원인이 지정한 수리관청	대한민국 특허청 (RO/KR)
07	출원인 또는 대리인의 서신 송부처	OPP160717KR
1	발명의 명칭	감미질 및 결정화가 개선된 사이코스 혼합당 조성물
II	출원인	
II-1	이 사건의	오직 출원인 (applicant only)
II-2	수속 지정에 관한 출원인	모든 지정국 (all designated States)
II-3a	성명	주식회사 삼양사
II-3a	Name	SAMYANG CORPORATION
II-3a	주소	대한민국 03129 서울시 종로구 종로33길 31
II-3a	Address	31 Jong-ro 33-gil, Jongno-gu, Seoul 03129 Republic of Korea
II-6	국적	대한민국 KR
II-7	이전국	대한민국 KR
II-11	출원인 ID	1-2011-051593-4
III-1	출원인 또는 대리인	
III-1-1	이 사건의	
III-1-3	수속 지정에 관한 출원인	
III-1-3a	성명	
III-1-3a	Name (AST, Flou)	
III-1-3a	주소	
III-1-3a	Address	



8. 감미질 및 결정화가 개선된 사이코스 혼합당 조성물(국내 출원)

2015-05-15

【서지사항】

【서류명】 특허출원서
【참조번호】 5679
【출원구분】 특허출원
【출원인】
【명칭】 주식회사 삼양파넥스
【출원인코드】 1-1998-002549-0
【대리인】
【명칭】 
【대리인코드】 
【지정원변리사】 
【모공위임등록번호】 
【발명의 국문명칭】 감미질 및 결정화가 개선된 사이코스 혼합당 조성물
【발명의 영문명칭】 Saccharide mixture containing psicose with improved sweetness quality and crystallization
【발명자】
【성명】 
【성명의 영문표기】 
【주민등록번호】 
【우편번호】 
【주소】 
【국적】 KR

36-1



9. 과당 함유 기질로부터 사이코스를 생산하는 방법

2015-11-18

【서지사항】

【서류명】 특허출원서
【참조번호】 1473
【출원구분】 특허출원
【출원인】
【명칭】 주식회사 삼양제넥스
【출원인코드】 1-1998-002549-0
【대리인】
【명칭】
【대리인코드】
【지정된변리사】
【포괄위임등록번호】
【발명의 국문명칭】 과당-함유 기질로부터 사이코스를 생산하는 방법
【발명의 영문명칭】 METHOD OF PREPARING PSICOSE FROM FRUCTOSE-CONTAINING SUBSTRATE
【발명자】
【성명】
【성명의 영문표기】
【주민등록번호】
【우편번호】
【주소】
【국적】 KR

43-1

【서열목록 전자파일】 미첨부

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 113035-3

【부처명】 농림부

【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원

【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업

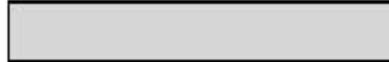
【연구과제명】 비만억제 기능성 원료 사이코스 시럽의 개별인정 및 제품화

【기여율】 1/1

【주관기관】 삼양제맥스 식품연구소

【연구기간】 2013.07.16 ~ 2016.07.15

【취지】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.



(서명 또는 인)

【수수료】

【출원료】 0 면 46,000 원

【가산출원료】 38 면 0 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 0 항 0 원

【합계】 46,000 원

【광면사유】 중견기업(30%감면)[1]

【광면후 수수료】 32,200 원

【수수료 자동납부번호】 064-094949-04-013

10. 부드럽고 촉촉한 식감을 갖는 머핀 제조용 프리믹스 조성물 및 이를 이용한 머핀

관 인 생 략
출 원 번 호 통 지 서

출 원 일 자 2015.06.02
 복 기 사 항 심사청구(무) 공개신청(무) 창조번호(2338)
 출 원 번 호 10-2015-0078089 (접수번호 1-1-2015-0532658-10)
 출 원 인 명 칭 주식회사 삼양제비스(1-1998-002549-0)
 대 리 인 성 명
 발 명 자 성 명
 발 명 의 명 칭 부드럽고 촉촉한 식감을 갖는 쿠키 제조용 프리믹스, 및 이를 이용한 쿠키

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 경정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허포(gatew.go.kr) 접속 > 민원서비스다우로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허-실용신안은 12개월, 상표-디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자특고통허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관료법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

【핵심영기 서열목록 또는 아미노산 서열목록】

【서열개수】 9

【서열목록 전자파일】 미첨부

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 113035-3

【부처명】 농림부

【연구관리 전문기관】 농림수산물식품기술기획평가원

【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업

【연구과제명】 비만억제 기능성 원료 사이코스 시험의 개별인정 및 제품화

【기여율】 1/1

【주관기관】 삼양제프스 식품연구소

【연구기간】 2013.07.16 ~ 2016.07.15

【취지】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.



(서명 또는 인)

【수수료】

【출원료】 0 원 46,000 원

【가산출원료】 36 원 0 원

【우선권주장료】 0 원 0 원

【심사청구료】 0 원 0 원

【합계】 46,000 원

【광면사유】 중견기업(30%감면)[1]

11. 감미질 및 성형성이 우수한 저칼로리 하트 캔디

관인생략
출원번호통지서

출원 일자 2015.06.04
 특 기 사 항 심사청구(무) 공개신청(무) 참조번호(1550)
 출원 번호 10-2015-0079166 (접수번호 1-1-2015-0540137-88)
 출원인 명칭 주식회사 삼양제비스(1-1998-002549-0)
 대리인 명칭 팬코리아특허법인(9-2007-100081-9)
 발명자 성명 [Redacted]
 발명의 명칭 감미질 및 성형성이 우수한 저칼로리 하트 캔디

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 취와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통보된 납입명수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 경정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
※ 특허포(patent.go.kr) 접속 = 민원서비스다운로드 = 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허-실용신안은 12개월, 상표 디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원료 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선권로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적 교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 통보된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

2016-08-04

【주소】 인천광역시 동구 송미로 6, 114동 402호 (송림동, 송림풍림 아이원아파트)

【국적】 KR

【발명자】

【성명】

【성명의 영문표기】

【주민등록번호】

【우편번호】

【주소】

【국적】 KR

【출원언어】 국어

【핵심영기 서열목록 또는 아미노산 서열목록】

【서열개수】 9

【서열목록 전자파일】 미첨부

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 113036-3

【부처명】 농림부

【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원

【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업

【연구과제명】 비만억제 기능성 원료 사이코스 시럽의 개별인정 및 제품화

【기여율】 1/1

40-4

12. 부드럽고 촉촉한 식감을 갖는 쿠키제조용 프리믹스 및 이를 이용한 쿠키

관인생략
출원번호통지서

출원 일자 2015.06.02
 특 기 사 항 심사청구(무) 공개신청(무) 창조번호(2338)
 출원 번호 10-2015-0078089 (접수번호 1-1-2015-0532658-10)
 출원인 명칭 주식회사 삼양제비스(1-1998-002549-0)
 대리인 성명
 발명자 성명
 발명의 명칭 부드럽고 촉촉한 식감을 갖는 쿠키 제조용 프리믹스, 및 이를 이용한 쿠키

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드)+접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허포(patent.go.kr) 접속 - 민원서비스다운로드 - 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허-실용신안은 12개월, 상표 디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자특고통허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

【핵심영기 서열목록 또는 아미노산 서열목록】**【서열개수】** 9**【서열목록 전자파일】** 미첨부**【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】****【과제고유번호】** 113036-3**【부처명】** 농림부**【연구관리 전문기관】** 농림수산식품기술기획평가원**【연구사업명】** 고부가가치식품기술개발사업**【연구과제명】** 비만억제 기능성 원료 사이코스 시험의 개별인정 및 제품화**【기여율】** 1/1**【주관기관】** 삼양제넥스 식품연구소**【연구기간】** 2013.07.16 ~ 2016.07.16**【특지】** 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

--

(서명 또는 인)

【수수료】**【출원료】** 0 원 46,000 원**【가산출원료】** 86 원 0 원**【우선권주장료】** 0 원 0 원**【심사청구료】** 0 원 0 원**【합계】** 46,000 원**【감면사유】** 중견기업(30%감면)[1]

13. 알롤로스의 항비만 활성 관련 마커 유전자 및 이의 용도

출원번호통지서

페이지 1 / 3

관인생략 출원번호통지서

출원 일자 2016.11.07
 특기사항 심사청구(무) 공개신청(무) 참조번호(4475)
 출원 번호 10-2016-0147721 (접수번호 1-1-2016-1087848-30)
 출원인 명칭 주식회사 삼양사(1-2011-051593-4) 외 1명
 대리인 성명
 발명자 성명
 발명의 명칭 알롤로스의 항비만 활성 관련 마커 유전자 및 이의 용도

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기공코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고려번호 정보변경(경정), 경정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허포(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보장이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허-실용신안은 12개월, 상표 디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선권로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자특고통허가서(PTO/339)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 동일원이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용자(기업)가 명확하게 승계하지 않은 경우, 특허법 제62조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

<http://www.patent.go.kr/jsp/kiponet/ir/receptiononline/appInOffcAct.do>

2016-11-07

【서열목록 전자과일】 미청부

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 112103-3

【부처명】 농림부

【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원

【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업

【연구과제명】 신규효소 개발 및 균주 스크리닝을 이용한 설량대체용 사이코스 대량 생산 방법 개발

【기여율】 1/2

【주관기관】 삼양사 식품연구소

【연구기간】 2012. 12. 18~2016. 12. 17

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 113035-3

【부처명】 농림부

【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원

【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업

【연구과제명】 비반역제 기능성 원료 사이코스 시험의 개별인증 및 제품화

【기여율】 1/2

【주관기관】 삼양사 식품연구소

【연구기간】 2013. 07. 16 ~ 2016. 07. 15

14. 비알코올성 지방간 질환의 예방 또는 개선용 조성물

관인생략 출원번호통지서

출원 일자 2016.09.02
 특 기 사 항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(3285)
 출원 번호 10-2016-0113409 (접수번호 1-1-2016-0860515-95)
 출원인 명칭 주식회사 삼양사(1-2011-051593-4)
 대리인 성명
 발명자 성명
 발명의 명칭 비알코올성 지방간 질환의 예방 또는 개선용 조성물

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기공코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고려번호 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허포(patent.go.kr) 검색 = 민원서비스다운로드 = 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록일정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT마드리드
 ※ 우선권 인정기간 : 특허-실용신안은 12개월, 상표 디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자특허청허가서(PTO/SB.39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 출원인이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용자(기업)가 명확하게 승계하지 않은 경우, 특허법 제62조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기간 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 119035-8
【부처명】 농림부
【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원

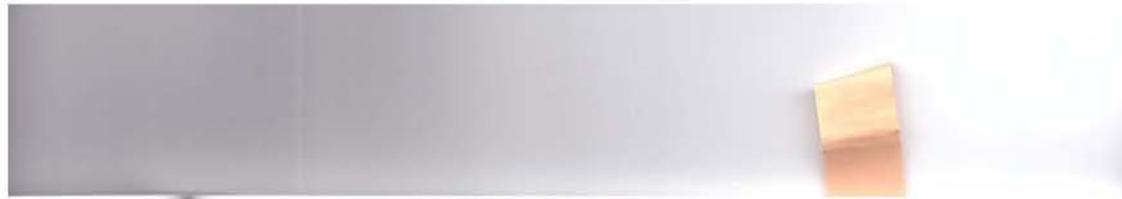
00-2

2016-09-02

【연구사업명】 고부가가치식품기술개발사업
【연구과제명】 비만억제 기능성 원료 사이코스 시럽의 개별인정 및 제품화
【기여율】 1/1
【주관기관】 삼양사 식품연구소
【연구기간】 2013.07.16~2016.07.15
【위치】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

(서명 또는 인)

15. 20th International Conference on Annual meeting of Korean Society of Cancer Prevention



tion

P-31
omum
vay in

Kim¹,

Hamam
cong-dero

ases such as
ie. However,
these effects
1 anti-cancer
E may exert
tic proteins.
of sestrin2.
ie α -catalytic
nd activation
the activation
as well as
by transcrip-
ment of CCE
53 signaling

International Conference on the 20th Annual Meeting of Korean Society of Cancer Prevention

P-32

Effects of D-psicose on adipose tissue inflammation and lipid metabolism in C57BL/6J-ob/ob mice: A transcriptomic study

Sung-Eun Kim¹, Su Jeong Kim¹, Hye-Jung Kim², Mi-Kyung Sung¹

¹Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea, ²Samyang Group Food R&D Center, Samyang Genex Corporation, Daejeon, Korea

Background: D-psicose, a C-3 epimer of D-fructose, has been known to have anti-adipogenic properties. We investigated the effect of dietary D-psicose substitution for sucrose on adipose tissue metabolism in obese mice.

Methods: C57BL/6J-ob/ob mice were assigned to receive either the AIN-93G or the 5% D-psicose diet. After sacrifice on week 12, blood and white adipose tissue samples were collected for further analyses. We performed genome-wide analysis of gene expression in white adipose tissue and pathway analysis using Illumina MouseRef-8 and Ingenuity Pathway Analysis, respectively. The mRNA expression of genes related with inflammation and lipid metabolism in white adipose tissue was also determined.

Results: In mice fed the D-psicose-supplemented diet, body weight, mass of adipose tissue, adipocyte size, and serum total cholesterol level decreased, while serum HDL/LDL cholesterol increased. We identified 64 down- and 39 up-regulated genes associated with inflammatory response (Network 1), molecular transport (Network 2), and lipid metabolism (Networks 3 and 4) in response to D-psicose supplementation. In the D-psicose-supplemented diet group, down-regulation of genes related with inflammatory response including CD36, CD44, FOS, and IL7R was associated with the decreased mRNA expression of genes related with inflammation (TNF- α , IL-6, MCP-1) and adipo/lipogenesis (PPAR- α , PPAR- γ , C/EBP- α , SREBP-1, aP2, LPL, FAS). The mRNA expression of β -oxidation related genes (CPT-1, HSL) increased in mice fed D-psicose diet.

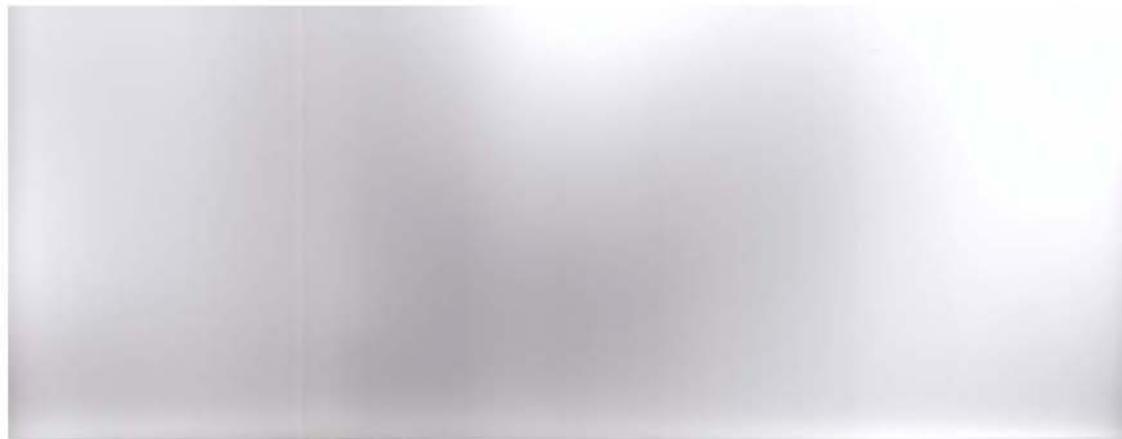
Conclusions: Our data provide evidence that D-psicose has anti-obesity and anti-adipo/lipogenic activities, which appears to be attributable, at least in part, to the changes in inflammation and lipid metabolism in obese mice.

Keywords: D-Psicose, Obesity, Inflammation, Lipid metabolism, Microarray

[This study was supported by the High Value-added Food Technology Development Program (113035-3) funded by the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs.]

115

16. ICoFF 2015



Nov. 24 [Tue]

for the high-throughput microtiter plate assay of

Shakafumi ITOH, Takao HIBI
Fukuoka University, Japan

to evaluate rat macrophage functions in primary culture
of intestinal mucosa

Yumagai¹, Atsuo Kimura¹, Kazumi Funane², Hidehisa
Ishizuka¹
¹Wakayama University, Japan, ²National Food Research Institute,

to enhance a barrier function of the tight junction in
dependent on the membrane microdomain

Hidehisa Ishizuka, Atsuo Kimura, Hiroshi Hara*
Wakayama University, Japan

on the properties of fucosyllactoses by infant gut

Jho², Nam Soo Han^{1*}
¹Department of Animal, Horticultural, and Food Sciences,
²Department of Agro-food Resource, National Academy of

regulating activities of water-soluble low-molecular-

Yung¹, Su-Tze Chou, Yun-Chin Chung
National Sun Yat-sen University, Taichung, Taiwan

of acetylcholine esterase inhibitory activities of

Yung¹, Su-Tze Chou, Yun-Chin Chung
National Sun Yat-sen University, Taichung, Taiwan

of polyphenolic compounds in extract of cultured edible mushroom
Yoshiaki Kurihara, Kenji Sato²

¹Department of Food Science, Kansai Medical
University, Japan, ²Department of Surgery, Kansai Medical

P-0481 **Genome-wide expression analysis reveals effects of D-psicose on adipose tissue
inflammation and lipid metabolism in C57BL/6J-ob/ob mice**
Sung-Eun Kim¹, Su Jeong Kim¹, Hye-Jung Kim², Mi-Kyung Sung^{1*}
¹Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Korea, ²Samyang Group
Food R&D Center, Samyang Genex Corporation, Korea

P-0482 **Defense of pathogen infection via modulation of tight junction protein by the probiotic
strain *L. salivarius* ssp. *salicinius* AP-32**
Pei-Shan Hsieh¹, Ya-Ju Chang¹, Cian-Dai Ciou¹, Yi-Chun Chen¹, V. An-Erl King^{2*}
¹Department of Research and Development, Glac Biotech. Co. Ltd., Taiwan, ²Department of Food
Science and Biotechnology, National Chung Hsing University, Taiwan

P-0483 **Effects on obesity and lipid lowering by two new *Bifidobacteria* strains**
Pei-Shan Hsieh¹, Yu-Fen Huang¹, Cian-Dai Ciou¹, Yi-Chun Chen¹, V. An-Erl King^{2*}
¹Department of Research and Development, Glac Biotech. Co. Ltd., Taiwan, ²Department of Food
Science and Biotechnology, National Chung Hsing University, Taiwan

P-0484 **Diet supplemented with *Bacillus coagulans* and soy pulp partially improves cholic acid-
induced metabolic disorders in rats**
Yeonmi Lee¹, Misaki Tsuji¹, Takuma Nose¹, Koji Tada¹, Shota Hori¹, Taketo Hanaï¹, Ikuya Tsuneki¹,
Hidehisa Shimizu¹, Hiroshi Hara¹, Kimiko Minamida², Kazunori Miwa², Satoshi Ishizuka^{1*}
¹Laboratory of Nutritional Biochemistry, Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University,
Japan, ²Arterio Bio Co., Ltd., Japan

P-0485 ***Lactobacillus plantarum* 22A-3 enhances anti-oxidant activity of (-)-epigallocatechin-3-
gallate in C57BL/6J mice**
Itsuko Fukuda¹, Ayaka Takemori¹, Taeko Hayashi², Ro Osawa^{1*}
¹Graduate School of Agricultural Science, Kobe University, Japan, ²Research and Development
Division, Maruzen Pharmaceuticals Co. Ltd., Japan

P-0486 **Molecular dissection of a pKW2124 from *Weissella cibaria* KLC140 for construction of a
Weissella expression vector using its minimal replicon**
Hye-Jin Ku, Ju-Hoon Lee*
Department of Food Science and Biotechnology, Institute of Life Sciences and Resources, Kyung
Hee University, Korea

P-0487 **Comparison of mixed sugars as cryoprotectants in freeze drying of probiotics**
Jiwoon Park, Yong-Ro Kim*
Department of Biosystems and Biomaterials Science and Engineering, Seoul National University,
Korea

127

17. 2015 한국영양학회 추계 학술대회 및 제50차 정기총회

[P4-29]

General Composition and Sensory Properties of Mozzarella Cheese Made with Reduced Fat Content

Won Seo Park, Jun Sang Ham, Seok-Geun Jeong*

National Institute of Animal Science, RDA, Wanju-gun 565-851, Korea

The study on reducing fat contents for mozzarella cheese type of pasta filata has been continuously performed. Commonly, the fat reduction in cheese leads to increase in volume fraction of protein and often lower moisture/protein ratio. Also, it has differences in formation, release and perception of flavor. The objective of this study was to describe the general composition and sensory property in mozzarella cheese using raw milk with 3 different fat contents (1, 2, 4%) and ripened for 9days. In this study, reducing the fat content from 4% to 1% did not affect moisture content but resulted in significant differences in degradation rates of protein ripened for 0, 3, 5, 7, and 9 d in all cheeses. Also, showed a positive consequence for sensory quality the higher the fat contents, but low-fat cheese indicated a typical texture and off-flavour. In fact, reducing the fat content and considering the important thing is that such as flavor and aroma, the further study should be a way to alternated material at the same time.

[P4-30]

Genome-wide expression analysis reveals effects of D-psicose on adipose tissue inflammation and lipid metabolism in C57BL/6J-ob/ob mice

Sung-Eun Kim¹⁾, Su Jeong Kim¹⁾, Hye-Jung Kim²⁾ and Mi-Kyung Sung¹⁾

¹⁾Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Republic of Korea, ²⁾Samyang Group Food R&D Center, Samyang Genex Corporation, Daejeon 305-717, Republic of Korea.

D-psicose (DP), a C-3 epimer of D-fructose, has been known to have anti-adipogenic properties. We investigated the effect of dietary DP substitution for sucrose on adipose tissue metabolism in obese mice. C57BL/6J-ob/ob mice were assigned to receive either the AIN-93G or the 5% DP diet. After sacrifice on week 12, blood and white adipose tissue (WAT) samples were collected for further analyses. Genome-wide expression patterns of WAT and pathway analysis were performed using Illumina MouseRef-8 and Ingenuity Pathway Analysis, respectively. In mice fed the DP-supplemented diet, body weight, mass of adipose tissue, and adipocyte size decreased. We identified 64 down- and 39 up-regulated genes associated with inflammatory response (Network 1), molecular transport (Network 2), and lipid metabolism (Networks 3 and 4) in response to DP supplementation. In the DP-supplemented diet group, down-regulation of genes related with inflammatory response including CD36, CD44, FOS, and IL7R was associated with the decreased mRNA expression of genes related with inflammation (TNF- α , IL-6, MCP-1) and adipogenesis (PPAR- α , PPAR- γ , C/EBP- α , SREBP-1, aP2, LPL, FAS). Expression of β -oxidation related genes (CPT-1, HSL) increased in mice fed DP diet. Our data suggest that DP replacement has beneficial effects on adipose tissue metabolism. [This study was supported by the High Value-added Food Technology Development Program (113035-3) funded by the Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs.]

- LB287** Evaluation of an Insulin Sensitivity Index from the Short Intravenous Glucose Tolerance Test. **K.C. Maki, C.M. Cook, M. Huebner, O.M. Palacios.** MB Clin. Res., Glen Ellyn and Biofortis Clin. Res., Addison, IL.
- LB288** Evaluation of an Insulin Sensitivity Index from the Short Intravenous Glucose Tolerance Test for Detecting Response to a Dietary Intervention. **K.C. Maki, K.M. Nieman, C.M. Cook, M. Huebner, S.J. Baum.** MB Clin. Res., Glen Ellyn and Biofortis Clin. Res., Addison, IL and Boca Raton, FL.
- LB289** Effects of Watermelon and L-Arginine Consumption on Serum Lipid Profile, Inflammation, and Oxidative Stress in Rats. **J. Beidler, A. Hunter, A. Tunstall, M. Kern, S. Hooshmand, A. Figueroa, M. Y. Hong.** Sch. of Exer. Sci. and Nutr. Sci., San Diego State Univ. and Florida State Univ.
- LB290** Effect of Probiotics and Atractylodes/Taraxacum against DSS-Induced Colitis in Mouse. **M. Y. Park, O. Kwon.** Ewha Womans Univ., South Korea.
- LB291** Identification of Genes in the Colon Tissue Associated with Serum Leptin and Insulin in Diet-Induced Obese Mice. **S-E. Kim, J. Choo, J. Yoon, Y. J. Bae, T. Park, M-K. Sung.** Sookmyung Women's Univ., Seoul Natl. Univ. and Shinhan Univ., South Korea.
- LB292** A Genome-Wide Identification of Target Genes Responsible for Anti-adipogenic Activity of D-Psicose, a Sugar Substitute, in C57BL/6J-*ob/ob* Mice. **S-E. Kim, S. J. Kim, H-J. Kim, M-K. Sung.** Sookmyung Women's Univ. and Samyang Genex Corp., Daejeon, South Korea.
- LB293** Neuronal Pentraxin 2 Predicts Medial Temporal Atrophy and Memory Decline across the Alzheimer's Disease Spectrum. **A. Swanson, A. Willette.** Iowa State Univ.
- LB294** Flavonoid Intake and Mortality from Cardiovascular Disease and All Causes: A Meta-analysis of Prospective Cohort Studies. **Y. Kim, Y. Je.** Kyung Hee Univ., South Korea.
- LB295** Iron and Zinc Status in Thai Lactating Women and the Concentrations in Their Breast Milk during the First 6 Months of Lactation. **P. Wecharak, S. Kankawn, N. Chongviriyaphan, U. Suthutvoravut, O. Dumrongwongsi.** Fac. of Med. Ramathibodi Hosp. and Mahidol Univ., Thailand.
- LB296** Open Label, Crossover, Pilot Study to Assess the Efficacy and Safety of Perispinal Administration of Etanercept (Enbrel®) in Combination with Nutritional Supplements versus Nutritional Supplements Alone in Subjects with Mild to Moderate Alzheimer's. **S. Hirsh, L. Huber, R. Stein, K. Schmid, A. Swick, P. Wand, M. Brody, S. Strum, S.V. Joyal.** Life Ext. Clin. Res., Inc., Fort Lauderdale and Coral Springs, FL, Brain Matters Res., Delray Beach, FL and Ashland, OR.
- LB297** The Efficacy of Combined Extracts of Red Yeast Rice and Fenugreek on Attenuating Lipotoxicity in Human HepG2 Hepatocytes. **T-C. Chen, H-C. Lo, R-C. Su, S-Y. Shen, Fu Jen.** Catholic Univ., Taiwan.
- LB298** Anti-stress Effects of High Hydrostatic Pressure Extract of Ginger on Immobilization-Stressed Rats. **S. Park, S. Moon, S. Jung, Y. Kim.** Ewha Womans Univ., South Korea.
- LB299** A Double-Blind, Randomized Human Trial to Evaluate the Safety, Tolerability, and Host Response to *Lactobacillus johnsonii* N6.2. **G.L. Lorca, G.G. Marcial, A.L. Ford, M.J. Haller, C.F. Gonzalez, W.J. Dahl.** Univ. of Florida.
- LB300** Symptoms of Cobalamin Activation Disorders in Relation to Ethnicity and Native American Tribal Affiliation: An Exploratory Study. **T. Arnold, K. Woolgar, M. Colville, P. James, K. Aleck.** Arizona State Univ. and Phoenix Children's Hosp.
- LB301** Sex Differences in the Relationships between Body Composition and Postoperative Outcomes in Patients Undergoing Hepatic Resection for Benign and Malignant Neoplasms. **R. Tauscher, W. Yin, K. Idrees, H. Silver.** Vanderbilt Univ. Sch. of Med.
- LB302** The Relationship between Insulin Resistance, Resting EEG Alpha Wave Asymmetry, and Eye Blink Startle Reflex during International Affective Picture System Presentation. **T. Wolf, A. Willette.** Iowa State Univ. and Univ. of Iowa.
- LB303** Dietary Associations with Breast Density in Women on Adjuvant Tamoxifen Therapy within the Diindolylmethane Efficacy Study. **M.B. Strom, B.C. Wertheim, J. West, C.A. Thomson, G. Maskarinec.** Univ. of Arizona and Univ. of Hawaii.
- LB304** Novel CSF Biomarker of Metabolic Dysfunction Predicts AD-Like Associations across the Alzheimer's Spectrum. **K.E. McLimans, A.A. Willette.** Iowa State Univ.
- LB305** Higher Direct Bilirubin Levels during the Second Trimester of Pregnancy Is Associated with Lower Risk of Gestational Diabetes Mellitus. **C. Liu, C. Zhong, X. Zhou, R. Chen, H. Yang, M. Xiao, N. Yang.** Tongji Med. Col., Huazhong Univ. of Sci. and Technol., Hubei Provincial Ctr. for Dis. Prevent. and Control and Hubei Mternal and Child Hosp., Wuhan, China.
- LB306** Gamma-Aminobutyric Acid Improves Antioxidant Capability of RIN-m5F Pancreatic Cells under H2O2-Induced Oxidative Stress. **X. Tang, Y. Lin, G. Le, Y. Shi.** Jiangnan Univ., China.
- LB307** The Thyroid Hormone T4 Improves Antioxidant Capability and Regulates Type II and Type III Deiodinase Activity in MIN6 Cells In Vitro Culture. **X. Tang, F. Wang, G. Le, Y. Shi.** Jiangnan Univ., China.

Dietary D-psicose Supplementation Improves Blood Glucose Homeostasis in C57BL/6J Mice

So Wan Sung¹, Sung-Eun Kim¹, Hye-Jung Kim², Mi-Kyung Sung¹

¹Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul, Korea; ²Samyang Group Food R&D Center, Samyang Genex Corporation, Daejeon, Korea

Background/aims: Hyperglycemia accompanying hyperinsulinemia is a well-known risk factor of several types of cancer. D-Psicose, a rare sugar with little calorie, is known to reduce the risk of excess calorie-induced metabolic complications. The purpose of this study was to determine the ability of D-psicose to maintain glucose homeostasis in comparison with that of other simple sugars.

Methods: Five-week-old male C57BL/6J mice were subjected to an oral glucose tolerance test (OGTT) after acclimatization to a chow diet for a week. Each OGTT consisted of D-glucose, D-fructose, D-psicose, D-glucose+D-fructose, D-glucose+D-psicose, and D-fructose+D-psicose (2 g/kg). The mice were then assigned to different diet groups for 16 weeks: (1) AIN-93G (Control), (2) 5% D-glucose, (3) 5% D-fructose, (4) 5% D-psicose, (5) 2.5% D-glucose+2.5% D-fructose, (6) 2.5% D-glucose+2.5% D-psicose, and (7) 2.5% D-fructose+2.5% D-psicose (n=7/group). Additional OGTTs were performed and fasting glucose concentrations were measured at weeks 8 and 16.

Results: The final body weights of mice fed D-psicose and D-fructose+D-psicose were significantly reduced compared with those of other groups. At week 0, the mice fed D-psicose, D-fructose, and D-fructose+D-psicose showed the lower concentrations of plasma glucose at 15 and 30 minutes and the area under the curve during the OGTT was significantly decreased compared with other groups. No difference was observed in plasma glucose levels at any time points among groups at week 8. During the OGTT at week 16, the mice fed D-psicose and D-fructose+D-psicose showed the lower plasma glucose concentrations than mice fed Control, D-glucose, and D-fructose at 15 minutes, and the difference remained significant only with mice fed D-glucose at 30 minutes. No difference was observed in fasting glucose concentration either week 8 or 16.

Conclusion: Our data suggest that dietary D-psicose improves glucose homeostasis possibly by disturbing glucose absorption, and long-term efficacy was not observed.

11장. 기타사항

코드번호	D-13

12장. 참고문헌

코드번호	D-14
1) Matsuo T, Tanaka T, Hashiguchi M, Izumori K, Suzuki H, 2003, Metabolic effects of D-psicose in rats: studies on faecal and urinary excretion and caecal fermentation, <i>Asia Pac J Clin Nutr</i> 12(2):225-31	
2) Whistler RL, Singh PP, Lake WC, D-Psicose metabolism in the rat, <i>Carbohydr Res.</i> 1974 May;34(1):200-2	
3) Baek SH, Park SJ, Lee HG, 2010, D-psicose, a sweet monosaccharide, ameliorate hyperglycemia, and dyslipidemia in C57BL/6J db/db mice, <i>J Fd Sci</i> 75(2): H49-53	
4) Matsuo T, Baba Y, Hashiguchi M, Takeshita K, Izumori K, Suzuki H. 2001a, Dietary D-psicose, a C-3 epimer of D-fructose, suppresses the activity of hepatic lipogenic enzymes in rats, <i>Asia Pacific J Clin Nutr</i> 10(3): 233-237.	
5) Matsuo T, Baba Y, Hashiguchi M, Takeshita K, Izumori K, Suzuki H, 2001b, Less body fat accumulation with D-psicose diet versus D-fructose diet, <i>J Clin Biochem Nutr</i> 30: 55-65.	
6) Matsuo T, Izumori K, 2004, Effects of supplemental D-psicose on glucose tolerance and serum adipocytokine levels in rats fed a high-fat diet or a low-fat diet. <i>J Oleo Sci</i> 9: 453-460.	
7) Chung YM, Hyun Lee J, Youl Kim D, Hwang SH, Hong YH, Kim SB, Jin Lee S, Hye Park C, Dietary D-psicose reduced visceral fat mass in high-fat diet-induced obese rats, <i>J Food Sci.</i> 2012 Feb;77(2):H53-8	
8) Yamada T, Iida T, Hayashi N, Oga H, Okuma K, Izumori K. Effects of D-psicose on body fat accumulation and high fructose corn syrup diets in rats. <i>NSKKK.</i> 2010;57:263-7.	
9) Iida T, Kishimoto Y, Yoshikawa Y, Hayashi N, Okuma K, Tohi M, Yagi K, Matsuo T, Izumori K, 2008, Acute D-psicose administration decreases the glycemic responses to an oral maltodextrin tolerance test in normal adults, <i>Nutr Sci Vitaminol</i> 54(6):511-4.	
10) Hayashi N, Iida T, Yamada T, Okuma K, Takehara I, Yamamoto T, Yamada K, Tokuda M, 2010 Study on the postprandial blood glucose suppression effect of D-psicose in borderline diabetes and the safety of long-term ingestion by normal human subjects, <i>Biosci Biotechnol Biochem</i> 74(3):510-9	
11) Matsuo T, Izumori K, 2006, Effects of dietary D-psicose on diurnal variation in plasma glucose and insulin concentrations of rats. <i>Biosci Biotechnol Biochem</i> 70(9):2081-5	
12) Matsuo T, Izumori K, 2009, D-psicose Inhibits Intestinal alpha-Glucosidase and Suppresses the Glycemic Response after Ingestion of Carbohydrates in Rats, <i>J Clin Biochem Nutr</i> 45(2):202-6	
13) Hossain MA, Kitagaki S, Nakano D, Nishiyama A, Funamoto Y, Matsunaga T, Tsukamoto I, Yamaguchi F, Kamitori K, Dong Y, Hirata Y, Murao K, Toyoda Y, Tokuda M, Rare sugar D-psicose improves insulin sensitivity and glucose tolerance in type 2 diabetes Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 4;405(1):7-12, 2011	
14) Hossain A, Matsunaga T, Hirata Y, Kamitori K, Dong Y, Sui L, Tsukamoto I, Ueno M, Yamaguchi F, Tokuda M, Rare sugar d-psicose protects pancreas β -islets and thus improves insulin resistance in OLETF rats, <i>Biochem Biophys Res Commun.</i> 2012 Aug 1.	