

11-1543
000-002
732-01

당류
저감화
복합
천연감미소재
개발
및
상용화
최종보고서

2019

농림축산식품부

고부가가치식품기술개발 R&D Report

발간등록번호

11-1543000-002732-01

당류 저감화 복합 천연감미소재 개발 및 상용화 최종보고서

2019. 6

주관연구기관 / 씨제이제일제당(주)
협동연구기관 / 서울대학교
위탁연구기관 / 이화여자대학교

농림축산식품부

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “당류저감화 복합 천연감미소재 개발 및 상용화”(개발기간 : 2016. 07. 07 ~ 2018. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 03. 29.

주관연구기관명 : CJ제일제당

대표이사 신현재



협동연구기관명 : 서울대학교

산학협력단 윤의준



위탁연구기관명 : 이화여자대학교

산학협력단 반효경



주관연구책임자 : 김성보

협동연구책임자 : 김도만

위탁연구책임자 : 정서진

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	116013-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2016.07.07. ~ 2018.12.30	단 계 구 분	3차년도(종료)/ 총 3개년도
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	당류 저감화 복합 천연 감미소재 개발 및 상용화			
	세부 과제명	(해당 없음)			
연구책임자	김성보 김도만 정서진	해당단계 참여연구원 수	총: 31명 내부: 31명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 200,000천원 민간: 200,000천원 계: 400,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 32명 내부: 32명 외부: 명	총 연구개발비	정부: 530,000천원 민간: 530,000천원 계: 1,060,000천원
연구기관명 및 소속부서명	주관기관명: CJ제일제당 식품연구소		협동기관명: 서울대학교 국제농업기술대학원		
위탁연구	연구기관명: 이화여자대학교		연구책임자: 정서진		

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	효소 및 공정 관련 특허기술 보호 및 회피 방지를 위해 정보보안 요구됨
유산균 유래의 당전이효소를 사용하여 감미질이 개선된 스테비아 고감미료 소재 개발 및 생산 기술 개발 진행함. 스테비아 global standard 상용소재인 rebaudiosideA 대비 관능 우수하며 allulose, tagatose 등과 3,4 성분 조합하여 설탕을 50%이상 저감 가능하였음. 난용성 물질의 수용화, 충치균 억제 등 기능성 개발. 스테비아 적용 올리고당 및 체중 조절용 조제식품 총 4종 출시하였으며, 향후 소재 및 균주 인허가 완료시 개발소재로 대체 예정임.	보고서 면수 152

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>설탕을 대체하여 총 당류함량 30% 이상 절감한 복합 천연감미 솔루션 개발 및 제품 상용화</p>
<p>연구개발성과</p>	<p>당류저감 시장 상용화제품 수집 및 표준품 제조하여 standard material 선정. 제조공정 선진기술 분석 및 글로벌 분리정제 전 문업체로부터 공정 부재료 확보 및 평가 진행. 차별화된 당전이 효소를 발굴하여 효소 제조 및 반응조건 기초평가 및 배당체 중 합도별 분석조건 확립. 스테비아 및 저칼로리 당류, 설탕에 대한 패널 혼련 및 용어 도출하여 감미도 포함한 관능특성 분석. (1차 년도 추진)</p> <p>스테비아 특허매핑을 통한 글로벌 선진사 기술개발 트렌드 확 보. 상용 스테비아 고감미료의 해외 원료 공급업체 조사 및 선 정하여 가격 및 순도별 원료 확보. 대용량 분리정제 공정 확립 을 위한 중국 스테비아 전문 분리정제 업체와 MOU체결. 효소 생산 및 반응 최적조건 확보하여 효소반응액 제조. 고순도 분리 정제를 위한 활성탄, 이온교환 및 흡착수지 테스트하여 선정 및 이를 활용한 효소반응액 정제하여 lab-scale 샘플 3종 제조하여 관능평가. 감미료 2성분 조합 관능특성 평가하여 소재간 시너지 분석. 스테비아 적용 후보제품 조사 및 제품 적용하여 리뉴얼출 시.(2차년도 추진)</p> <p>안정적 공급 가능한 중국 원료업체 선별 및 스테비올 배당체 함 량별 원료 테스트하여 최종원료 선정. Scale-up 연구를 위한 kg scale 원료 적용 효소반응액 제조 및 분리정제 실시하여 총 850g의 당전이스테비아 시제품 확보. 국내외 공인분석기관 조사 하여 분석방법 비교평가 및 공인성적서 확보하여 규격 달성함. 공정개발 평가를 위한 scale-up 전/후 관능평가 실시하여 유의 차 없음 확보. 스테비아 global standard인 rebA와 비교하여 관능우위 확보. 과일릿 수준에서 확보된 시제품과 저칼로리 기 능성당(타가토스·알룰로스) 소재를 혼합한 3,4성분 복합 천연감 미제 기초 포물러 개발하여 설탕 50% 이상 저감. 스테비아 감미 료 적용한 체중조절용 조제식품 3종 출시함. 난용성소재 수용화 및 치아건강 관련 기능성 개발(3차년도 중점 추진).</p>

연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> ■ 원천 기반 소재 개발 및 신규 원료 등록 1건 ■ 제품 출시 누적 건 수 3건 이상 ■ 당류 함량 30% 이상 저감 솔루션 2건 이상 확보 ■ 신규 특허 출원 8건 이상 				
국문핵심어 (5개 이내)	스테비오사이드	배당체	타가토스	알룰로스	복합감미제
영문핵심어 (5개 이내)	Stevioside	Glycoside	Tagatose	Allulose	Sweetener

< SUMMARY >

		코드번호	D-02		
Purpose& Contents	Development and commercialization of natural sweetener complex for sugar reduction up to 30 percentage				
Results	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1st year <ul style="list-style-type: none"> • Collection and small-scale production of standard materials of stevia sweetener • Analysis of advanced manufacturing technologies and making a partnership with global expert company • Novel glycosyltransferase development from lactic acid bacteria • Analysis of sensory profiles of sweeteners including stevia, low-calorie sweeteners and sugar using trained panels ○ 2nd year <ul style="list-style-type: none"> • Researching global technical trends via stevia sweetener patent mapping • Making MOU contract with chinese stevia company to develop large scale manufactirung process • Optimization of lab scale enzyme reaction condition and production of crude enzyme reactants • Production of 3 types of stevia prototype samples using lab scale purification process ○ 3rd year <ul style="list-style-type: none"> • Screening and selection of stevia manufacturer for stable supply of raw material • Scale-up production of enzyme modified stevia sweetener • Sensory profile comparison test between lab-scale and large-scale stevia products to validation of scale-up process • Publication of certification of analysis of scale-up sample from registered institution accredited by the Korean government • Sensory profile comparison test between scale-up sample and global standard rebaudiosideA • Development of sweetener formulation containing scale-up stevia sample and allulose to reduce sugar up to 50% 				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ○ Development and approval of novel food ingredients ○ Launching more than 3 new products ○ Development of sweetener formulation to reduce sugar more than 30% ○ Patent application more than 8 				
Keywords	Stevioside	Glycoside	Tagatose	Allulose	Sweetener

Table of contents

1. Introduction	8
2. Contents and results of the project	17
3. The extent of research achievement and contribution	128
4. The application of research results	140

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	8
2. 연구수행 내용 및 결과	17
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	128
4. 연구결과의 활용 계획 등	140

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

<별첨> 연구성과 활용계획서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

○ 가공식품에 사용되는 설탕·고과당을 1:1로 대체할 수 있는 천연(natural) 복합감미제를 개발하고 이를 적용한 제품의 상용화를 추진하고자 함.

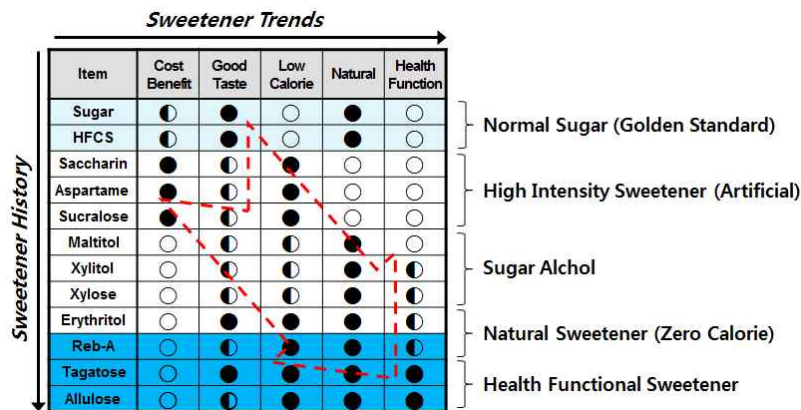
1-2. 연구개발의 필요성

○ 산업 환경의 변화

세계보건기구(WHO)의 당 섭취에 따른 질병(비만) 우려에 따라 일일 당 섭취량을 기존의 50 → 25 g/day로 낮출 것을 권고함에 따라, 선진국을 중심으로 정부 주도하에 다양한 당류 섭취량을 줄이기 위한 정책이 활발히 논의 중임. 국내 식약처의 경우도 2016년 “제 1차 당류 저감 종합 계획”을 수립하였고, 이에 따라 가공식품의 당류 표시 의무화 및 당류 저감화 성분 및 기술 보급 개발 추진 계획을 적극 추진키로 하였음. 국제적으로도 당류 저감화 트렌드는 권고 형태를 벗어나 구체적인 세금 규제화(첨가당 함유 음료에 경고 문구 및 Sugar Tax 부과 등)를 통한 적극적인 정책 입안으로까지 발전 중이어서 향후 지속적으로 강화될 것으로 전망됨.

○ 업계의 대응

시장의 니즈에 따라 다양한 대체감미료 소재는 지속적으로 개발, 상용화 되어 왔음. 기존의 설탕과 고과당을 대체하기 위한 감미료 소재의 트렌드는 ① 합성고감미료 (Saccharin, Aspartame, Sucralose 등), ② 합성당알콜류 (Maltitol, Xylitol), ③ 천연감미료 (Rebaudioside A, Erythritol), ④ 건강기능성당류 (Tagatose, Allulose) 으로 지속적으로 변화되고 있음. 특히 근래 들어 뛰어난 건강기능성 및 맛특성을 가진 Tagatose (1.5 kcal/g), Allulose (0 kcal/g)가 상용화되었으나, 이들은 설탕보다 낮은 감미도로 가지고 있어 고감미료와 복합 감미제 형태로 사용되어야 설탕의 감미도를 대체 가능함. 한편 지속적인 합성감미료의 안전성에 대한 우려로 천연 감미료에 대한 고객의 니즈가 지속적으로 커지고 있으나, 천연감미료 특유의 이미·이취의 맛 속성 한계로 기존의 합성감미료 중심의 저칼로리·제로칼로리 제품을 본격적으로 대체하지 못하는 실정임.



○ 기초 소재의 다양성

설탕 및 고과당을 대체하기 위하여는 감미도 뿐 아니라 다양한 맛속성에서 유사한 관능 패턴을 확보하여야 하며, 이는 다양한 저칼로리 당류 및 고감미도 감미료의 최적의 배합을 통하여 구현되어야 함. 현재까지 시판되고 있는 다양한 제품들은 고객의 니즈를 충족시키지 못하고 있으며, 보다 우수한 맛품질 확보를 위하여는 새로운 기초 소재를 활용한 다양성 확보가 핵심임. 특히 천연 고감미료의 경우 기존의 합성 감미료에 비하여 이미·이취(쓴맛, 떼은맛, 금속맛, 텁텁함, 마분지맛 등)가 강하여 다양한 저칼로리 기능성 당류와의 시너지 효과가 매우 중요함.

○ 천연 고감미료 소재

주요 시장인 한국·미국(유럽)에서 모두 사용이 가능한 고감미료 소재는 총 8종 성분이 있으며, 이 중 천연 컨셉을 부여 가능한 제품은 단 2종(Stevioside 계열, Mogroside 계열)이 존재. 각 소재의 원료(Stevia Leaf, Luo Han Guo Fruit)의 감미성분 함량, 경작 환경 등을 분석한 결과, 기존의 설탕 혹은 합성감미료와 유사한 단위원가(가공식품에 적용 시 감미료가 차지하는 가격 수준)가 가능한 천연 고감미료 소재는 Stevioside 계열이 유일하였음.

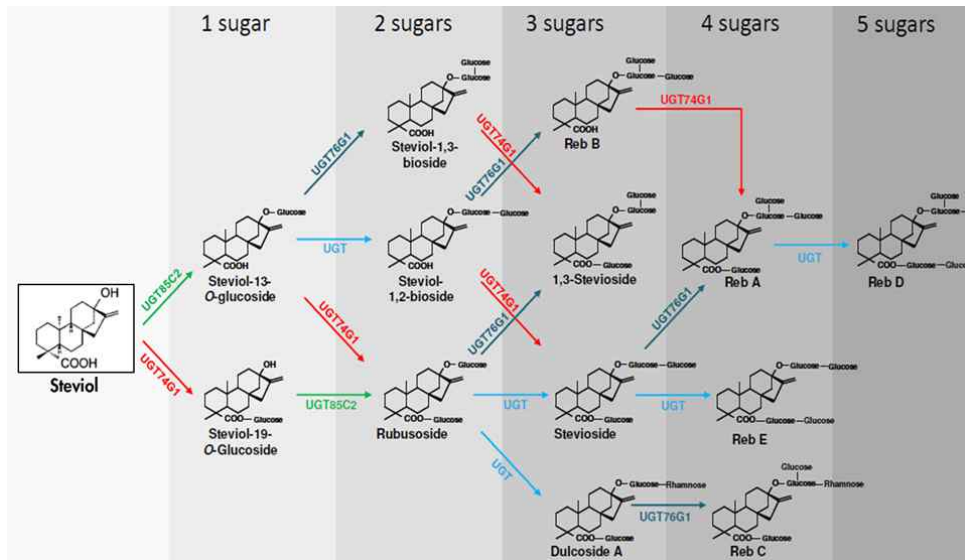
[미국 FDA GRAS 승인 고감미도 감미료 정보]

#	물질명	물질 유래	승인 년도	설탕 比 단맛	특이사항	상대적 가격	일일가능섭취량 (mg/kg bw/day)	브랜드
1	Saccharin	Artificial	1977	200~700배	1970년대부터 발암 가능성 논란, 2000년 미국 NIH에서 무관함을 밝힘	\$	15	Sweet&Low®, Sweet Twin®, Sweet'N Low®, Necta Sweet®
2	Aspartame	Artificial	1981	200배	칼로리 有, Not heat stable 페닐케톤뇨증 환자 섭취 금지	\$\$	50	NutraSweet®, Equal®, and Sugar Twin®
3	Acesulfame potassium (Ace-K)	Artificial	1988	200배	Heat-stable, 보통 Aspartame 또는 sucralose와 섞어 사용	\$	15	Sunett®
4	Sucralose	Artificial	1998	600배	2015 PepsiCo가 미국 다이어트 음료에서 aspartame을 sucralose로 변경 발표	\$\$\$\$	5	Splenda®
5	Neotame	Artificial	2002	7000~13000 배	Heat-stable	\$\$\$	0.3	Newtame®
6	Advantame	Artificial	2014(FDA) Not yet(EFSA)	20000배	Aspartame과 유사한 구조이나 PHE 미포함, Heat-stable	-	32.8(FDA) 5(EFSA)	No brand names
7	Steviol glycosides (Reb. A&stevioside)	Natural	2008(FDA서류제출) 2011(EFSA)	200~400배	≥95% glycosides, Non caloric, Heat stable	\$\$\$\$\$	4(EFSA)	Truvia®, PureVia® and Elniten®
8	Luo Han Guo fruit extracts (monk fruit)	Natural	2010(FDA 서류제출)	100~250배	25%, 45%, 55% Mogroside V	\$\$		Raw® and Nectresse®

○ 스테비오사이드 배당체 연구에 대한 연구개발 동향 및 수준

스테비오사이드는 천연 감미료의 일종으로 설탕에 비하여 저칼로리이며 감미도는 설탕의 약 200-300배로 높아 그의 수요가 급속하게 높아지고 있음. 스테비오사이드는 남미 파라과이가 원산지인 국화과 다년생 초본인 스테비아 레바우디아나 베르토니 (Stevia rebaudiana BERTONI)로부터 추출한 감미성분으로 스테비아의 단맛 성분으로는 스테비오사이드 (C38H60O18), 레바우디오사이드 A(C44H70O23), 레바우디오사이드 C, D, E, 돌코사이드 A 등이 알려져 있음. 천연 감미료로서 전세계적으로 사용되고 있는 스테비아는 미국의 식품음료산업에서 빠르게 성장하고 있으며, 미국식품의약국(FDA)에 의해 주요 식품원료 중 하나로 선정되었음. 각각의 성분은 모두 diterpene계 물질인 Steviol에 다양한 형태의 당(포도당, 만노스)이 결합된 형태에 따라서 분류되며, 각각의 물질은 조금씩 다른 감미도 및 미질을 가지는 것으로 알려져 있음. 상대적으로 Stevioside에 비하여 Rebaudioside 계열의 구조가 보다 미질이 우수한 것으로 밝혀져있음.

[다양한 배당체 Steviol 성분 및 Stevia 내 효소적 생합성 경로]



○ 감미료는 기존의 설탕·고과당을 대체하여 사용되므로, 대체 시 제품의 원가 상승률이 매우 중요. 천연물 추출·정제·분말화 과정을 거쳐 제조되는 제품은 타겟 성분의 원료 내 함량이 제조원가에 미치는 영향에 매우 큰 구조. 일반적으로 Stevia에 함유된 Steviol 배당체의 함량을 살펴보면 stevioside 5~10%, rebaudioside A 2~4% 순서이며, 다른 성분은 매우 미량 존재함을 확인. 따라서 실제 시장에서 제품으로 수용되는 제품은 stevioside, rebaudioside A 입.

Steviol glycosides	Weight percentage (%)	Number of glycosylated sugar	Sweeting potency (sucrose=1)
Stevioside	5-10 %	3 sugar	150-300
Rebaudioside A	2-4%	4 sugar	250-450
Rebaudioside C (dulcoside B)	1-2%	4 sugar	120-500
Dulcoside A	0.5-1%	3 sugar	50-120
Rebaudioside B		3 sugar	300-350
Rebaudioside D		5 sugar	250-450
Rebaudioside E		4 sugar	150-300

→ A commercial steviol glycoside mixture extracted from the plant
 : about 80% stevioside, 8% rebaudioside A, and 0.6% rebaudioside C
 → Rebaudioside A is more sweet and less bitter than stevioside

- Phytochemistry 68 (2007) 1855-1863
 - https://en.wikipedia.org/wiki/Steviol_glycoside

○ 하지만, 스테비오사이드는 뒷맛이 오래 남으며 단맛 이외에 쓴맛, 불쾌감, 낮은 수용성 등이 있는 단점을 지니고 있으며, 그로 인해 사용량 및 용도의 한계가 발생하는 문제점이 있어 스테비오사이드의 미질을 개선할 필요가 있음. 현재의 스테비오사이드의 감미질 개선 방법은 (1) 설탕, 포도당, 과당 등과 같은 천연 당질 감미료를 1종 또는 그 이상을 첨가하는 방법, (2) 아미노산 또는 아미노산의 염과 배합하는 방법, (3) 싸이클로덱스트린과 같이 포접능을 갖는 환형 당질에 물리적으로 결합시키는 방법 등이 있음. 그러나 이상의 방법은 첨가물을 상당히 많은 양을 첨가하여야 하며 결국 스테비오사이드가 저칼로리 감미료라는 특징을 잃어버리는 단점이 있음.

○ 또 다른 미질 개선 방법은 생물전환 당전이 효소 기술을 활용하여 감미도와 감미질이 우수한 모델이었던 "레바우디오사이드 A" 유사체를 만듦. 현재 시판중인 CGTase를 이용하여 스테비오사이드의 13-OH 또는 19-OH 부위에 무작위로 포도당이 1-12개까지 부가된 효소처리 스테비오사이드가 유일하게 시판 중에 있음. 하지만, 이러한 CGTase를 이용한 방법은 선택적으로 한 개의 포도당만 부가할 수가 없고, 부가된 포도당이 알파1,4 결합으로 가수분해에 의하여 쉽게 분해되는 등의 단점을 지니고 있음. 또한 이렇게 제조·판매되는 효소처리 Stevioside는 여전히 미질이 좋지 않아, 다양한 식품에 적용하는데 한계를 가지고 있음. 따라서 다양한 구조, 중합도의 당전이 STV의 합성, 그리고 관능성에 따른 디자인된 당전이 Stevioside를 고수율로 합성하는 원천 기술의 개발 연구가 필요함.

○ 감미 특성 및 복합 감미제 개발을 위한 단맛 인지 기전

설탕과 기타 다른 감미료에서 발현되는 단맛의 인지 기전은 지엽적으로 혀의 (T1R2와 연결된) T1R3 수용체와의 결합으로 시작하여 그 정보는 뇌신경 VII, IX, X로 전달, 고립로핵[nucleus tractus solitarius (NTS)]과 시상의 ventroposterior medial nucleus (VPM)을 거쳐 미각피질 [primary gustatory cortex]로 전달. 비록 설탕에 비해 고강도 감미료가 더 강하게 T1R3와 같은 맛 수용체 강하게 결합하지만 설탕의 경우 T1R3가 존재 하지 않을 경우에도 맛의 인지와 수용도를 나타내는 뇌의 영역에 활성을 일으키는 것으로 보고되어 또 다른 수용체가 존재할 것으로 추측. 설탕과 수크랄로스의 인지기전을 비교한 연구에 따르면 설탕과 수크랄로스는 모두 기능적으로 연결된 주요 맛 인지 경로를 활성화 시킨다. 그러나 설탕이 수크랄로스보다 맛 인지 경로 뿐 아니라 맛에 대한 수용도를 관장하는 뇌의 영역을 더 강하게 활성화시키는 것으로 보고되었으며 현재까지 설탕을 완전히 대체할 수 있는 고강도 감미료는 개발되지 않은 실정임.

○ 감미료의 종류 및 상대 감미도

단맛을 내는 물질은 크게 당류(sucrose, fructose, glucose 등), 폴리올류(xylitol, sorbitol, erythritol 등), 아미노산류(glycine, alanine), 고강도 감미료류(aspartame, acesulfame-K, stevioside, sucralose 등)로 나뉨. 감미소재의 분류 기준에 따라 천연유래 감미소재와 인공합성 감미소재로 나누기도 하고 단맛 발현 정도에 따라 bulk sweetener와 고감미소재(intense sweetener)로 나누기도 함. 아래 표는 다양한 기존 연구에서 보고된 감미소재의 설탕대비 대략의 상대 강도를 나타낸 것이다. 상대감미도가 범위로 제시된 것은 상대감미도가 측정되는 식품시스템, 설탕 대체율, 혹은 측정방법에 따라 다소 다르게 보고되기 때문임. 예를 들어, 3% 설탕의 감미도를 대체하는 것과 10%의 설탕 감미도를 대체할 때 각 감미료의 상대 감미도는 달라질 수 있음.

[다양한 감미소재의 설탕대비 상대감미도]

종류	감미소재	상대감미도	종류	감미소재	상대감미도
일반 당류	설탕	1	당알코올	에리스리톨	0.6-0.71
	과당	1.1-1.5		자일리톨	0.8-1.1
				솔비톨	0.5-0.6
기능성 당류	타가토스	0.92	고강도 감미료	아스파탐	90-200
	자일로스	0.4		스테비아	150-300
	올리고당	0.3-0.53		아세설팜K	130-200
수크랄로스				350-600	

○ 저열량 기능성당(감미소재)

최근 많은 관심을 받는 저열량 감미소재를 살펴보면 타가토스는 galactose의 이성질체로 설탕과 유사한 물리적, 이화학적 성질 지니며 상대당도는 설탕의 0.92배로 보고. 체내에서 거의 대사되지 않아 저열량 감미료로 사용가능하며 열에 안정적이고 설탕과 유사한 식감과 맛을 부여하여 효과적인 저열량 감미료임. 자일로스는 역시 비소화성 당류로 거의 열량을 내지 않으면서 단맛을 발현하지만 현재까지는 자일리톨을 만들기위한 소재로 주로 사용이 되었으며 자일로스 자체가 식품에 적용된 경우는 상대적으로 미미한 수준임. 알룰로스는 fructose의 이성질체로 과당과 유사한 물리적, 이화학적 성질일 지니며 상대당도는 설탕의 0.7배이며, 체내에서 대사가 되지 않아 제로 칼로리 (0 kcal/g) 감미료로 사용됨.

○ 고감미료

가장 대중적으로 많이 판매되고 있는 아스파탐(aspartame)은 인공감미료로 일종의 dipeptide임. 식품에 광범위하게 사용되며 타 인공감미료에 비해 설탕과 유사한 감미질을 가지나 온도 등에 대한 안정성이 떨어짐. 또한 쓴맛, 뚝은감촉, 금속성 등의 이미가 존재. Aspartame의 감미도는 설탕의 90-200배.

○ 현재까지 개발된 고강도 감미료 소재 중 수크랄로오스는 저열량 고강도 감미료 중 설탕과 가장 가까운 관능적 특성을 지니는 것으로 각광 받는 소재이다. 단맛의 강도 및 열, 산에서의 안정성이 좋으며 다른 감미료에 비해 단맛 발현 시간 빠르다. 10%의 설탕 용액 기준 수크랄로오스의 상대당도는 350배이지만 음료 시스템에서의 수크랄로오스의 상대당도는 500-600배로 나타남. 수크랄로오스 수용액을 설탕 수용액과 비교하였을 때 수렴성만 더 강하게 평가되고 나머지 특성은 유사하다고 보고됨

○ 최근 상당한 주목을 받고 있는 고감미료는 식물인 Stevia rebaudiana Bertoni의 잎에서 추출한 stevioside이다. 특히 Cargill과 Coca-Cola가 공동으로 이 고감미료를 stevia로 브랜드화하여 전세계적인 시장개척에 나서고 있다. Stevia는 천연소재이면서 다른 인공감미료와 같이 고감미기능을 가지며 열량을 내지 않고 혈중 포도당과 인슐린 수준에 긍정적이며 인체에 부작용이 없는 것으로 보고되어 대체감미료로서의 잠재력이 매우 큼. Stevia는 상대 감미도가 설탕의 150-300배이지만 쓴맛이 특히 강하게 발현되는 단점이 있어 다른 감미료와 혼합하여 사용하는 것을 권장.

○ 감미료의 관능적 특성: 이상적인 감미료는 깔끔한 단맛을 내면서 발현시간이 빠르고 맛의 지속성이 짧아야 한다(Portmann과 Kilcast, 1996). 고강도 감미료의 경우 농도가 증가함에 따라 단맛 뿐 아니라 쓴맛, 금속성, 뚝은감촉/수렴성 등의 이미(異味) 강도가 증가한다. 묘사분석을 이용하여 다양한 종류의 감미료에 대해 관능적 특성 용어를 개발한 결과 단맛 외에 신맛, 쓴맛, 설탕 탄 향미, 캐러멜, liquorices, 단맛, 멘톨, 무게감, 화한 느낌, 뚝은맛, 부드러움, 자극적인, 금속성, 단맛 지속성 등이 도출 되었다(Portmann과 Kilcast, 1998).

○ 감미료의 중요특성 중 하나는 섭취 시 입안에서 시간에 따른 단맛 발현 패턴이며 감미료 종류에 따라 초기 단맛 발현 시간, 단맛 지속 시간, 감소율, 소멸 시간 등 시간에 따른 단맛의 발현 형태가 다름. 탄수화물 감미료의 경우 초기 발현시간과 소멸 시간이 짧은 것이 특징이며 단백질 감미료는 최고 단맛 강도까지 이르는 시간과 소멸시간이 상대적으로 긴 것으로 분석. 고강도 감미료의 경우 초기 발현시간과 소멸시간이 상대적으로 늦고 긴 것으로 나타났으나 이들 감미료가 초기 발현 시간이 짧은 감미료와 혼합할 경우 초기 단맛 발현 시간이 짧아짐.

○ 감미료 간의 상승 작용: 감미료 간 혼합 사용은 그 조합에 따라 전체적인 단맛의 상승작용을 보일 뿐 아니라 각 고강도 감미료가 갖는 이미(異味)의 강도를 낮추는 효과를 보임. Schiffman 등은 설탕의 단맛 강도에 상응하는 13종의 감미료의 농도 제시하였으며 설탕을 포함한 14종의 감미료(fructose, glucose, sucrose, mannitol, sorbitol, rebaudioside-A, stevioside, alitame, aspartame,

sodium cyclamate, thaumatin, acesulfame-K, sodium saccharin, and neohesperidin dihydrochalcone)가 서로 2성분 조합을 이루었을 때의 상승 효과를 검증하였다. 실험 결과 발현시키고자 하는 단맛 정도에 따라 감미료간 상승효과는 다양하게 나타남.

○ 또 다른 연구에서는 다양한 감미료(sucrose, maltitol, aspartame, sodium cyclamate, acesulfame-K, alitame)에 대해 서로 2성분 혼합하여 상승작용을 검토한 결과 설탕과 sodium cyclamate, maltitol과 acesulfame-K는 상승작용을 보였으나 설탕과 aspartame조합은 억제 작용을 보임. 이러한 결과는 이화화적인 성질이 유사한 감미료 간 혼합인 경우 상승 작용을 발현하는 것으로 나타남. 즉, 수화 방식이 유사한 조합간에는 상승 작용을 나타내며 그렇지 않은 경우에는 서로간 억제 작용을 보이는 것으로 분석.

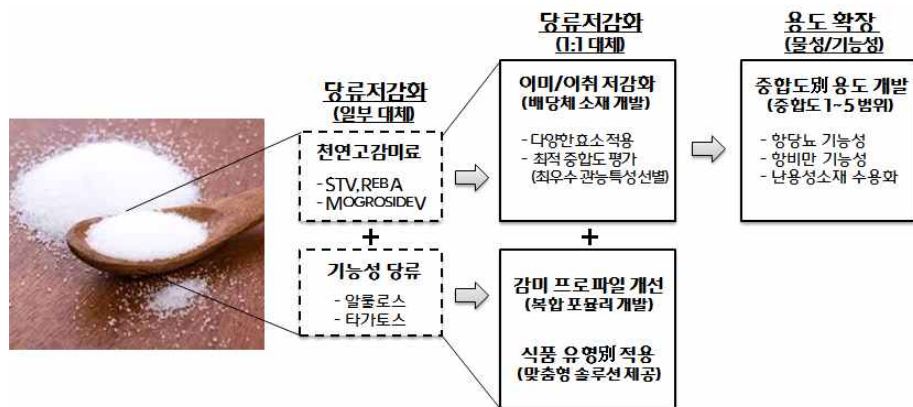
○ 상승작용을 측정하는 실험적 접근법은 다양하게 있고 그 중 하나는 아래와 같이 계산될 수 있음.

$$\% \text{ synergy} = 100 * \{SI(\text{blend A+B}) / [SI(100\%A) + SI(100\%B)] / 2 - 1\}$$

***여기서 SI는 단맛 강도.

1-3. 연구개발 범위

① 천연고감미료 소재를 활용한 감미도(sweetness)의 부여, ② 효소처리 및 분리·정제를 통한 천연 추출물소재 특유의 이미·이취 저감화 및 ③ 기능성 천연당류 소재를 사용한 감미질 (mouth feel) 확보가 필요함. 이를 위한 각 요소별 차별화 기술·소재의 확보와 이를 최적의 조합 (①+②+③)으로 한 복합 천연 감미 솔루션 개발을 수행. 또한 개발 과정 중 확보되는 다양한 ④ 합성 배당체 소재 (스테비올 배당체 등)의 항당뇨·노화 기능성 및 물리화학적 용도를 추가 발굴하여 다양한 건강기능성 소재로의 용도 확장을 병행 추진.



○ 기능성 천연 당류 소재 (Allulose, Tagatose)

설탕 및 고과당 고유의 우수한 풍미 (감미질·바디감)를 구현하면서 천연인 대체감미료는 다양한 Bulk 소재의 복합 처방을 통한 최적 솔루션 개발이 필수적임. Allulose는 천연 당 성분 중 유일한 제로칼로리 성분으로 당류저감화 본연의 목적인 칼로리 저감을 구현할 수 있는 핵심 소재이며, Tagatose는 저칼로리 (1.5 kcal/g) 이면서 고감미료 특유의 쓴맛을 마스킹하는 효과가 뛰어나 (맛 특성의 보완이 필요한) 천연고감미료 기반의 복합감미제 개발에 중요한 기반 소재로 활용 가능함. 씨제이제일제당은 Allulose와 Tagatose를 모두 보유하고 있는 국내·외 유일한 식품소재회사임. 2개의 핵심 기반 소재를 복합 사용한 최적의 솔루션 개발이 가능할 것으로

기대함.

타가토스

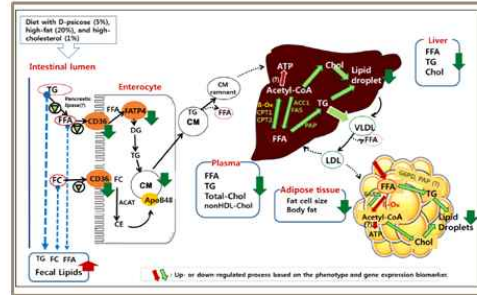
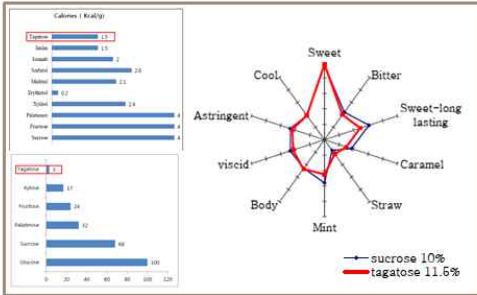


- 과일, 치즈 등에 존재하는 천연성분
- 설탕과 유사한 맛** (감미도 92% 수준)
- 낮은 GI 수치(3)와 열량(1.5 kcal)**
- 유용미생물의 prebioti
- 고감미료 고유의 **쓴맛 Masking**

알룰로스



- Zero 칼로리** 설탕대체 감미료
- 과당 흡수 억제** (비만/당뇨 예방효과)
- 체내에 **항비만(anti-obesity) 효과**
- 가공식품의 풍미 및 바다감 부여
- 고과당 대체 액상 제품군 제공



○ 고순도 분리·정제 연구 및 상용화

천연추출물 유래 고감미료 소재의 제조 품질 확보를 위하여는 원하는 Steviol 배당체를 고순도로 분리·정제하는 기술이 제조의 핵심임. 경쟁력 있는 제품 상용화를 위하여는 Steviol 배당체의 효소반응 후 다양한 정제 기술(탈색, 탈염, 크로마토분리, 결정화)을 적용하여 최적화 연구를 수행. 또한 개발된 다양한 정제 공정 단계를 최적의 형태로 조합하는 공정 시뮬레이션 최적화 기술이 필요. 특히 분리 수율 및 Utility를 최소화할 수 있는 SMB(Simulated Moving Bed) 크로마토그래피 기술 및 연구 인프라 (Organo, Japan)와 최적공정 시뮬레이션 프로그램 SuperPro simulator (MIT, USA)를 상시 운영하여 차별화된 기술 개발 추진. 또한 상용화 연구 수행을 위하여 일정한 수준의 소재를 생산, 공정개발 및 판매할 수 있는 규모별 R&D pilot facility와 commercial plant 인프라 구축이 필요하며 현 연구팀은 이를 기 구축하여 운영 중.

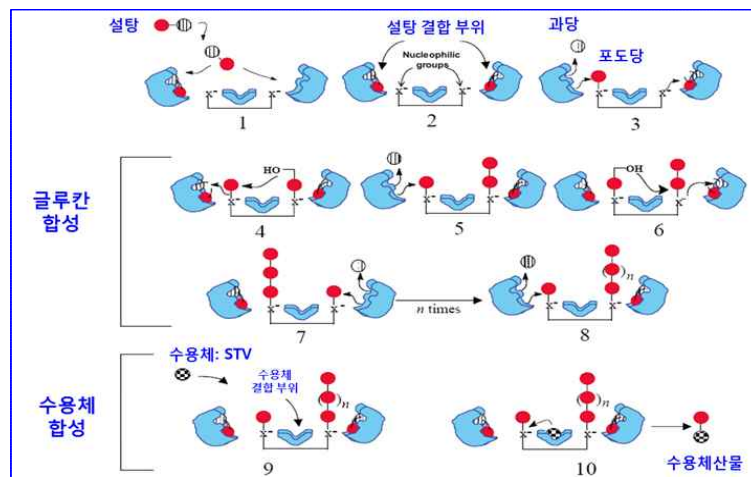
○ 감미특성 관능 평가

차이식별 검사의 일종인 이점비교검사를 통해, 설탕 수용액의 감미도에 상응하는 감미소재의 수용액 농도를 비교함으로써, 상대감미도를 산출. 감미소재 수용액 4~6 종류를 준비하고, 설탕 수용액과 set로 제공한 후, set당 감미도가 높은 시료를 평가한 패널 수를 세어, 이점비교검사 유의성 검정표를 기준으로, 설탕 수용액이 유의적으로 더 강하다고 판별된 감미소재 수용액의 최대 농도와, 감미소재 수용액이 유의적으로 더 강하다고 판별된 최소 농도의 산술평균값을 상대감미도로 결정. 상대감미도는 설탕 농도를 감미소재의 상대감미농도로 나눈 값이며, 위의 두 수준 사이의 범위는 설탕의 감미수준과 유의적 차이가 나지 않는 범위임. 관능특성 정의, 발현 강도, 발현 속도 비교 통한 묘사분석을 위하여 전문 묘사분석 패널을 선정하고, 훈련시켜, 감미소재 수용액의 관능적 특성 용어를 도출/정의하고 표준시료를 확립하고 운영해야 함. 또한 감미료 및 당류 고유의 단맛, 캐러멜, 인공단맛, 꿀향미 등으로 다양한 단맛의 맛속성(종류)을 정의하고, 단맛강도가 최고점에 이르는 시간과 단맛 지속시간을 타이머를 이용하여 측정 비교하

여 표준화하여야 하며, 그 외, 감미소재의 감칠맛, 신맛, 쓴맛, 떫은맛, 금속맛, 텁텁함, 마분지 맛 등으로 관능 특성을 정의하며 맛의 강도를 분석함.

○ 디자인된 Steviol 배당체(글리코사이드) 합성

설탕 이용 포도당·과당을 수용체에 전이하는 효소 활성 및 반응 최적화로 중합도, 구조, 관능 및 기능 차별 당전이 Stevioside 제조 기술 추진. 수용체 당전이 반응은 효소가 기질인 설탕과 함께 -OH 결합을 갖는 화합물과 같이 반응기에 첨가되면 설탕의 글루코오스를 이용하여 다당을 합성하기보다는 추가로 첨가된 화합물들에 글루코오스를 전이하여 올리고당 혹은 당전이 화합물을 합성. 반응 산물의 종류, 중합도, 결합구조는 반응 조건과 사용 효소에 따라 다양화될 수 있어 조건 최적화에 따라 원하는 물성으로의 최적화에 이용할 수 있어, 원하는 분자량·물성으로의 조절이 가능.



○ 당전이 Stevioside 활용 난수용성 소재 수용화

배당체 중합도 및 구조별 난수용성 천연소재 및 화학소재의 수용화 기술 및 기능성 연구로 응용 확장. 세부기관(서울대학교)은 다양한 당전이 효소라이브러리를 구축하고, 배당체 합성할 수 있는 기술과 소재를 확보하고 있으며, 당전환 효소의 고수율 생물전환기술을 성공적으로 개발하고 산업화한 경험·실적을 보유함 (관련 국내·외 특허 등록 30건, 출원 중 25건, 기술이전 5건 보유).

수용체의 종류	기능성	당전이효과	당전이 효소	당전이 산물
Azelaic acid	항균, 항산화, 항염증	붉은 반점 완화, 수용성증가	Dextranucrase	4가지
Caffeic acid	항산화, 항암, 항염증	수용성 증가, 생리활성 향상	Dextranucrase	7가지 이상
Chrologenic acid	항산화	수용성 증가, 생리활성 향상	Dextranucrase	2가지
Gallic acid	항산화, 항암	수용성 증가, 생리활성 향상	Dextranucrase	5가지 이상
Hydroquinone	미백, 항산화	수용성 증가, 독성완화, 생리활성 향상	Dextranucrase, Levansucrase, Lactase, Sucrose phosphorylase	각 1가지 이상
Glycolic acid	항산화, 항염증	붉은반점 완화, 수용성증가	Sucrose phosphorylase	1가지
Acetic acid	식품-의약품 첨가제	독성완화, 생리활성 향상	Sucrose phosphorylase	3가지
Fumaric acid	식품-의약품 첨가제	생리활성 향상	Sucrose phosphorylase	1가지
Maleic acid	식품-의약품 첨가제	생리활성 향상	Sucrose phosphorylase	1가지
Lactic acid	식품-의약품 첨가제	생리활성 향상	Sucrose phosphorylase	1가지
Stevioside	식품-의약품 첨가제	후미개선	Dextranucrase	8 가지
Ampelopsin	화장품-의약품 첨가제	수용성, 안정성, 생리활성 향상	Dextranucrase	6 가지
Astragaln	화장품-의약품 첨가제	수용성, 안정성, 생리활성 향상	Dextranucrase	6 가지
Raffinose	화장품-의약품 첨가제	생리활성	Dextranucrase	4 가지

○ 효소 기반 식품 신소재 인허가

효소를 기반기술로 합성된 식품소재는 별도의 인허가 절차를 거쳐 제품 상용화 가능. 국내는 한시적기준 식품원료·첨가물 등록, 미국은 FDA의 GRAS 소재 등록, 유럽은 EFSA의 Novel Food Ingredients 등록이 필요하며, 각 국별로 상이한 안전성 평가 자료 및 심사 프로세스가 요구됨. 본 연구팀은 기능성당 소재의 상용화 연구를 통하여 국내·외 식품신소재 인허가를 추진한 실적과 경험을 보유 (국내 4건, 미국 2건, 유럽 1건 신소재 등록 실적).

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 이론적, 실험적 접근방법

연구범위	연구수행방법 (이론적, 실험적 접근방법)	구체적인 내용
씨제이제일제당(주관연구기관)		
○ 제조 파일럿 개발 및 양산형 시제품 확보	○ 당전이 효소 전환을 설정 ○ 당전이 산물에 대한 정량법 설정	○ 당전이 반응물 전환율 계산 - 당전이 반응 전후 반응액 내 스테비올 배당체 9종 감소량 기준 ○ 당전이 스테비올 배당체 정량법 계산 - 국내 식품첨가물 공전 미반응 스테비올 배당체 계산법 차용 - 당전이 스테비올 배당체에 대한 정량법 설정
○ 국내 및 국외의 품질 규격 및 분석법 차이 확인	○ 국내 및 일본 품질 규격 비교 ○ 국내 및 일본 분석법 차이 비교	○ 일본 효소처리 스테비아추출물/배당체 2개 항목 있으며 배당체 종류/함량에 차이가 있음 ○ 국내 효소처리 스테비아 항목 1개만 존재하며 일본의 2개 규격이 혼합된 형태임 ○ 일본 후생노동성(MHLW, Ministry of Health, Labour and Welfare) 공시 당전이 스테비아 분석법 확인 ○ 국내의 경우 각 항목별로 GC분석/화학 처리/HPLC 이용하여 분석하나, 일본 분석법은 glucoamylase 효소적 처리/HPLC 분석을 토대로 함
서울대학교(협동연구기관)		
○ pilot규모 특정 당전이 STV최대 생산 최적화	○ 작은 중합도의 스테비오사이드 배당체 합성 조건 최적화 연구	○ 1,2차년도의 결과를 바탕으로 반응 조건에 따른 배당체 전환 확인(주관연구기관제안 조건과 본 연구팀 연구 조건에 따른 반응 수행) - 조건A: Sucrose 2~12%, stevioside 8%, 효소 0.5 U/ml, 효소반응온도 40도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석 - 조건B: Sucrose 6%, stevioside 6%, 효소 0.5 U/ml, 효소반응온도 28도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석 - 조건C(수정제안조건): Sucrose 6~48%, stevioside 6%, 효소 2.0 U/ml, 효소반응온도 28도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석

<p>○ 당전이 STV별 구조 결정 및 기능성 연구</p>	<p>○ 신규 스테비올 글루코 배당체 제조 및 구조 결정</p>	<p>○ 1,2차년도의 반응 조건 결과에 따른 배당체 제조, 정제 및 구조 결정</p> <ul style="list-style-type: none"> - 조건: Sucrose 500mM, stevioside 50mM, 효소 5 U/ml, 효소반응온도 28도, 12시간, pH 5.2 - 배당체 형성은 TLC와 HPLC, 그리고 MALDI-TOP MS로 확인 - 4가지 배당체 정제. 구조 결정 함 <p>○ 분자량이 확인된 산물의 경우 NMR 분석, 구조를 결정</p>
	<p>○ 신규 루부소사이드 배당체 구조 결정 및 특성 연구</p>	<p>○ 과당 전이 효소 사용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 반응조건: 설탕 500 mM, 루부소사이드 50 mM, phosphate buffer (50 mM, pH 6.5), 효소농도 6 U/ml, 37°C 온도 조건에서 12 시간 반응. <p>○ RSM을 이용한 최적 생산 조건 제시</p> <p>○ DIAION-HP20 레진을 이용하여 단당을 제거한 후, MPLC-ELSD, Prep HPLC를 이용하여 분리 및 정제. 이후 구조 결정과 특성 연구: 치아 건강 관련 프라크 형성 효소인 뮤탄수크라아제 활성 억제 특성 확인</p>
<p>○ 당전이 STV별 향당노, 향산화, 향노화 관련 기능 성분의 수용화 연구</p>	<p>○ 프테로스틸벤, 퀘르세틴을 스테비올 올리고당을 이용하여 수용화 연구 진행</p>	<p>○ 스테비올 올리고당을 이용하여 향산화, 향노화 특성으로 알려진 불용성 프테로스틸벤, 퀘르세틴을 수용화 함.</p> <p>○ 10 % (w/v)의 프테로스틸벤을 물, 스테비올 올리고당 (Ste-NGOS)과 섞어줌. 이 용액에 최종 농도가 30 % (v/v) 되도록 에탄올을 첨가한 후, 교반기로 1시간 동안 충분히 섞어준 후, 원심분리 (12,000 rpm, 30 min, 4 °C)를 하여 상등액을 얻어냄. 이후 상등액의 에탄올을 증발시켜 수용화된 난수용성 소재의 용액을 준비 함.</p> <p>○ 퀘르세틴은 올리고당의 농도를 10-100 % (v/v) 범위에서 농도에 따른 수용화 정도를 확인함.</p> <p>○ 스테비올 배당체를 이용하여 수용화한 프테로스틸벤의 향산화 특성 유지 확인</p>

		<ul style="list-style-type: none"> ○ 수용화된 정도는 thin layer chromatography (TLC)를 이용하여 분석함. TLC는 고정상 Silica gel 60 로 진행하였으며, 전개용매는 acetonitrile : water [85:15 (v/v)]를 사용함. ○ 불용성 물질의 수용성이 증가되었음을 확인.
--	--	--

(1) 당전이 효소 반응 전환율 계산법

- 당전이 반응액 내 스테비올배당체 9종 감소량 기준 계산식 설정
- 스테비올 배당체 9종 (Rebaudioside A/B/D/C/F, stevioside, Dulcoside A, Rubusoside, Steviobioside)
- HPLC 분석 조건
 - Column: Capcell pak C18 MG II (Shisheido, 250 × 4.6mm, particle size: 5 μm)
 - Injection Volume: 20μl
 - Flow rate: 1ml/min
 - Run time: 45min
 - UV detection wavelength: 210nm

○ 당전이 효소 반응 전환율 계산식

$$\text{전환율(\%)} = 100 - \left\{ \frac{\text{당전이 후 9종 스테비올배당체 HPLC \%area 합계}}{\text{당전이 전 9종 스테비올배당체 HPLC \%area 합계}} \times 100 \right\}$$

표준물질	Retention time (min)
Rebaudioside D	4.3
Rebaudioside A	11.571
Stevioside	12.183
Rebaudioside F	15.195
Rebaudioside C	16.896
Dulcoseid A	18.353
Rubusoside	24.263
Rebaudioside B	34.609
Steviobioside	35.936

(2) 당전이 스테비올 배당체 정량 계산법

- 現 효소반응을 통한 당전이 산물 (RA-/STV-Glc)에 대한 표준품 부재
- 국내 공인분석법의 '미반응 스테비올 배당체 정량법' 을 차용한 계산식 설정
- 공전 기준, 미반응 스테비올 배당체 정량법X: 각각의 스테비올배당체

$$X\% = \frac{Ws}{As} \times \frac{Ax}{W} \times fx \times 100$$

- Ws: 표준용액의 스테비오사이드 함량(mg)
- W: 시험용액의 검체 함량(mg)
- As: 표준용액의 스테비오사이드 피크면적
- Ax: 시험용액 중 X의 피크 면적
- fx: 스테비오사이드에 대한 X의 분자량 비율

○ 당전이 스테비올 배당체 정량 계산식

$$W_{EMSG} = \frac{Ws}{As} \times A_{EMSG} \times fx$$

- W_{EMSG}: EMSG(Enzymatically Modified Steviol Glycoside)의 함량 (mg)
 - Ws: 표준용액의 스테비오사이드 함량(mg)
 - As: 표준용액의 스테비오사이드 피크면적
 - EMSG: EMSG의 피크면적
 - fx: 스테비오사이드에 대한 X의 분자량 비율
- fx 계산

Fx	1.00	MW of STV	804.88
	1.40	MW of RA-Glc	1129.15
	1.20	MW of STV-Glc	967.01

(3) 국내외 품질규격 및 분석법 차이 확인

○ 효소처리 스테비아 관련 국내 및 일본 규격 비교

- 국내에는 효소처리 스테비아 항목 1개 존재, 일본에는 스테비아 추출물/배당체에서 유래한 2개 항목이 있으며, 배당체 종류/함량의 차이가 있음(미반응 스테비올배당체 15% 이하는 동일)
- 국내 규격은 일본의 2개 규격이 혼합된 형태임

표 1. 효소처리 스테비아 관련 국내 및 일본 품질 규격 비교

	국내 (식품 첨가물 공전)	일본 (식품 첨가물 공정서 - 9판)	
항목	효소처리 스테비아	효소처리 스테비아 추출물	효소처리 스테비올 배당체
스테비올 배당체 종류	스테비올 배당체 9종 (Rebaudioside A/B/C/D/F, Stevioside, Steviolbioside, Dulcoside A, Rubusoside)	스테비올 배당체 4종 (Rebaudioside A/C, Stevioside, Dulcoside A)	스테비올 배당체 9종 (Rebaudioside A/B/C/D/F, Stevioside, Steviolbioside, Dulcoside A, Rubusoside)
함량	건조물 환산時 스테비올배당체 9종함량 80% ↑ 미반응 스테비올배당체 15% ↓	건조물 환산時 총(반응 + 미반응) 스테비올배당체 4종 함량 80% ↑ α-glucosyl화 스테비올배당체 65% ↑	건조물 환산時 총(반응 + 미반응) 스테비올배당체 9종 함량 95% ↑ α-glucosyl화 스테비올배당체 80% ↑

○ 국내의 경우 GC분석/화학 반응/HPLC 분석을 바탕으로 분석 진행

- 스테비올 배당체 함량 = 스테비올 함량 + 배당체 중의 당 함량

① 스테비올 정량법, 화학 처리 후 Gas Chromatography를 통한 함량 계산

② 배당체 중의 당함량 정량법, 안트론시액(황산용해) 첨가 및 가열후 620nm에서 흡광도 측정

(당 결합구조에 무관하게 가수분해 후 당함량 측정)

- 미반응 스테비올 배당체 정량법: 9가지 스테비올 배당체 성분의 HPLC Area 값 측정 후, 계산식을 통해 정량화

○ 국외 분석법의 경우 일본 외 당전이 스테비올 배당체에 해당하는 분석법 無

○ 일본 후생노동성(MHLW, Ministry of Health, Labour and Welfare) 공시된 당전이 스테비아 분석법 확인됨

○ 일본은 glucoamylase 효소반응/HPLC분석을 뼈대로 한 방법을 사용하고 있음

- α-Glucosyl화 스테비올 배당체

① 스테비올 배당체 함량 = Glucoamylase or AMG 처리후 배당체 9종 함량 + AMG 처리 후 유리되는 α-glucosyl 잔기의 양

② AMG 처리 후 배당체 9종 함량, 시료를 효소 처리후 HPLC 측정

$$\text{물질 X 함량(\%)} = \frac{\text{표준품의 채취량}(g)}{\text{건조물 환산 시료량}(g)} \times \frac{A_x \times f_x}{A_s} \times 100(\%)$$

A_S: 스탠다드의 Stevioside 피크면적

A_X: 시료 중 스테비올 배당체 X의 피크면적

- ③ AMG 처리 후 유리된 α-glucosyl 잔기의 양, 효소처리 후 포도당 정량용 발색 시약을 통한 정량화

$$\text{글루코아밀라아제 처리에 의해 유리되는 } \alpha\text{-글루코실 잔류물의 양} = \frac{\text{검액내 포도당 농도}(mg/ml) \times 200}{\text{건조물 환산 시료의 채취량}(g) \times 1000} \times 0.9 \times 100$$

표 2. 효소처리 스테비아 관련 국내 및 일본 품질 분석법 비교

	국내 (식품 첨가물 공전)	일본 (식품 첨가물 공정서 - 9판)	비고
스테비올 (배당체) 함량	항산 분해 → 에테르 추출(스테비올 회수) → GC 분석	효소반응(Glucoamylase) → HPLC 분석	GC 분석법 vs HPLC 분석법
배당체 中 당함량	용해 → 흡착/탈리(당류 제거) → 농축 → 안트론시약 반응 → 흡광도 측정	용해 → 흡착/탈리(당류 제거) → 농축 → 효소반응(Glucoamylase) → GOD-POD 반응 → 흡광도 측정	화학적 반응 vs 효소적 반응
미반응 스테비올 배당체	용해 → HPLC 분석	용해 → HPLC 분석	동일

(4) 작은 중합도의 스테비오사이드 배당체 합성 조건 최적화 연구

○ 파일럿 규모 스테비오사이드 배당체(스테비올 글루코사이드) 조건 확인 및 소재 제공
- 1, 2차 년도에 진행 된 스테비올 배당체 합성 최적화 조건을 바탕으로 'Design Expert 10' 프로그램을 이용 stevioside의 response surface methodology(RSM) 결과와 주관연구팀에서 제시 된 조건에 따라 소재 제조 및 제공을 진행 함

① 조건A: Sucrose 2~12%, stevioside 8%, 효소 0.5 U/ml, 효소반응온도 40도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석

② 조건B: Sucrose 6%, stevioside 6%, 효소 0.5 U/ml, 효소반응온도 28도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석

③ 조건C(수정제안조건): Sucrose 6~48%, stevioside 6%, 효소 2.0 U/ml, 효소반응온도 28도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석

(5) 스테비올 프락토사이드(프락토실 루부소사이드) 제조 방법

○ 과당전이효소 준비

- 과당전이효소 유전자를 함유하는 플라스미드를 가지는 재조합 대장균을 암피실린이 함유된 LB 액체 배지 1L에 A600 [0090] 값이 0.5에 도달할 때 까지 37°C에서 교반하면서 배양. 여기에 400 μ M 이소프로필- β -D-티오갈락토피라노사이드를 첨가하여 16°C에서 18시간 동안 진탕 배양.
- 배양이 끝난 후 세포는 원심분리(8,000xg, 4°C 에서 10분)를 통해 회수하고, 50 μ l의 β -머캅토에탄올(BME)을 첨가한 용해(lysis) 완충 용액(50 ml, 조성: 50 mM Tris-HCl, 25 mM NaCl, pH 8.0)에서 재현탁.
- 현탁된 세포는 초음파 파쇄기(Ultrasonic processor 250, Sonics and Materials, Inc., CT, USA; output 4, duty cycle 50%, 얼음 속에서 30 초, 25번 반복)를 이용하여 파쇄.
- 파쇄 후 원심분리를 실시 한 후, 봉입체(inclusion body)를 함유한 펠렛을 50 μ l의 BME가 첨가된 0.1M Tris(pH 10) 완충 용액에 다시 세척
- 상기 펠렛을 8M의 요소 용액(100 mM Tris-HCl pH 10, 1 mM EDTA, 1mM 글리신 용액에 녹임)에 재현탁시키고, 초음파 파쇄기로 세포를 파쇄한 후, 35 μ l의 BME를 첨가. 이 현탁액을 4°C에서 18 시간 보관 후, 4°C에서 23,000xg 속도로 30 분간 원심분리
- 원심분리 후 상등액을 얻고, 단백질을 분석에 이용될 때까지 영하 20°C에서 보관.

○ Acceptor reaction 조건

- 위의 방법으로 제조한 효소를 사용하고 루부소사이드를 직접 정제하여 사용. 스테비오사이드를 효소적 처리 하여, MPLC로 정제
- 효소적 배당체 합성: 효소 반응은 기질로 루부소사이드 50 mM, 설탕 500 mM, phosphate buffer 50mM(pH 6.5), 효소농도 6 U/mL로 수행. pH는 K_2HPO_4 와 KH_2PO_4 를 적정비 혼합하여 사용. 37 °C의 온도 조건에서 반응
- TLC(Thin layer chromatogram)를 이용하여 배당체 합성 확인
- acetonitrile:water = 85:15 (v/v)로 1회 올린 후, 0.3% (w/v) N-(1-naphthyl)-ethylenediamine and 5% (v/v) H_2SO_4 in methanol 용액으로 코팅 후 125 °C에서 5 분 동안 황산 발색
- 루부소사이드 배당체 이외, 단당, 올리고당 및 다당의 제거: 루부소사이드-과당 배당체 반응액: 에탄올=1:9 (v/v)의 비율로 혼합하여, 단당 및 올리고당을 제거하였다. 단당 및 올리고당이 제거된 산물은 evaporator를 이용하여 에탄올을 증발시켜 농축.
- 농축한 루부소사이드-과당 배당체 산물의 단당 제거 및 루부소사이드-과당 배당체 회수를 위해 Diaion HP-20레진에 로딩. 단당을 제거하기 위해 물을 이용하여 elution 후 단당이 제거된 레진에 80%의 에탄올 농도로 다시 elution을 하여 루부소사이드-프락토사이드 배당체를 획득
- 루부소사이드 배당체의 분리 및 정제: 루부소사이드-프락토사이드 배당체 산물은 Reveleris 아미노 플래시 카트리지 컬럼 (40 g)을 사용하여 MPLC-ELSD 장치로 분리 및 정제

- 분당 40 mL의 유속으로 99% Acetonitrile을 1 시간에 걸쳐 10%까지 서서히 낮추고, ELSD 장치에 검출되는 시료를 순차적으로 회수

표 3. 효소반응의 acceptor reaction 조건

Condition of enzymatic production	
Enzyme (Levansucrase)	6 U/ml
Substrate	Rubusoside
	Sucrose
Buffer	Phosphate buffer (pH 7.0)
Reaction time	12 hours
Temperature	37°C

○ 루부소사이드-프락토사이드 제조반응: **Rubusoside** 배당체의 정제 (HPLC 이용)

- ① Water e2695 system 이용하여 정제
- ② Column : Kromasil ® 100-10-NH2 사용
- ③ detector : Refractive Index 사용
- ④ 용매 조건 : 80% Acetonitrile isocratic gradient
- ⑤ Flow rate : 80ml/min
- ⑥ 분리된 fraction을 받아 동결건조 후 샘플 준비

○ 최적 조건을 통해 만들어진 스테비올 배당체 31L(스테비오사이드 1.7 kg을 배당체화) 주관기 관 제공

(6) 스테비오사이드 배당체의 분리, 정제, 분자량 확인 및 구조분석

○ 스테비오사이드 배당체의 정제

- HPLC-RI를 이용한 배당체의 단일 산물 분리: 단당이 제거된 배당체 혼합물을 100mg/mL 농도로 HPLC-RI 시스템에 로딩.
- 아미노 컬럼을 사용하였으며, RI 분석기 온도 40°C, 용매의 경우 75% acetonitrile, 유속의 경우 1mL/min 으로 조건 설정(총 전개시간 30분)
- 위의 조건에 의해 얻어진 개별 산물을 동결 건조함
- MPLC-ELSD를 이용한 배당체의 단일 산물 분리: 단당이 제거된 배당체 혼합물을 100mg/mL 농도로 MPLC-ELSD 시스템에 로딩.
- 아미노 컬럼을 사용하였으며, 용매의 경우 70% 에탄올, 유속의 경우 60ml/min 으로 조건 설정 (총 전개 시간 1시간)
- 위의 조건에 의해 얻어진 개별 산물을 동결 건조함

○ 정제 스테비오사이드 배당체 분자량 결정

- 개별산물의 분자량을 확인하기 위해 MALDI-TOF 분석을 진행. 1mg의 동결 건조된 시료를 DE-STR MALDI-TOF mass spectrometer를 이용하여 분자량을 확인.

○ 타겟 스테비오사이드 배당체 구조결정

- 분자량이 확인된 산물의 경우 구조분석을 진행

① 구조분석의 경우 10mg의 샘플을 600uL의 DMSO-d6에 용해시킨 후, AVANCEIII system을 이용하여 1H 의 경우 850MHz, 13C의 경우 125MHz에서 진행.

② 각 샘플은 1D, 2D(HSQC, HMBC, COSY)와 SEL-TOCSY 분석을 진행.

③ 1D(1C, 1H)를 이용하여, 탄소의 수 및 구조 결합 여부를 판단

④ 2D 분석을 통해 각 결합간의 연결을 확인하였으며, 최종 구조를 확정함.

(7) 스테비오사이드 배당체의 용도 확장연구

○ 스테비오사이드를 이용한 항산화 소재의 수용화

- 이데베논 1mg과 스테비오사이드 10mg을 1:10의 무게비로 측정

- 에탄올 1mL을 넣어 혼합 처리 후, 에탄올을 증발

- 분말화 된 스테비오사이드 당뇨병치료제 혼합물에 물을 넣어 수용화를 확인

○ 스테비올 올리고당을 이용한 난수용성 소재의 수용화

- 10% (w/v)의 난수용성 화합물과 물, 스테비올 올리고당 (Ste-NGOS)을 혼합하여 최종 농도가 30% (v/v) 되도록 에탄올을 첨가한 후, 교반기로 1시간 동안 충분히 혼합. 원심분리 (12,000 rpm, 30 min, 4 °C)를 하여 상등액 취하고 에탄올을 증발시켜 수용화된 난수용성 소재의 용액을 준비 함.

- Quercetin의 경우, 올리고당의 농도를 10-100 % (v/v) 범위에서 농도에 따른 수용화 정도를 확인함. (TLC 이용 수용화정도 분석)

TLC는 고정상 Silica gel 60 로 진행하였으며, 전개용매는 acetonitrile : water [85:15 (v/v)]를 사용함. 수용화 정도 확인을 위해 준비한 quercetin과 pterostilbene은 100 % (v/v) DMSO에 녹인 물질을 표준물질로 준비하여 비교 및 정량 진행함.

위 준비한 표준곡선과 크로마토그램을 바탕으로, pterostilbene은 AlphaEaseFC 4.0 program (Alpha Inotech, San Leandro, CA, USA) 을 이용하여 정량화함. quercetin은 photometric 방법을 이용하여 흡광도 측정을 통해 96 well microlate 에서 검정곡선으로부터 수용화정도의 정량화를 진행함.

○ 난소화성 스테비올 올리고당 제조

- 2 M sucrose, 0.25 M maltose, 20 mM sodium acetate buffer (pH 5.2), 1 U/ml GSase₁₃₅₅ 그리고 7 U/ml DSase₅₁₂, 상용 스테비오사이드를 3 % (w/v)를 사용하여 반응을 45 도에서 10 시간 동안 진행하여 스테비올 올리고당을 제조함. 이때 말토오스를 0.25M 첨가하여 반응 함.

2-2. 연구내용 및 결과

씨제일제일제당(주)연구기관				
구분 (연도)	세부과제 명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차 년도 (2018)	당 전 이 스테비아 제조 공 정 최적 화 및 시 제품 확 보	○ 고순도 효소 처리 스테비 아 제조 파일 럿 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 분리·정제용 대용량 발효 및 반응물 제 조 ○ 파일럿 스케 일 고순도 분 리·정제 실시 ○ 단위 공정 효 율 및 안정성 (재현성) 평가 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 총 20L 당전이 반응물 제조 (전환율 89.67%) ○ 총 850g 효소처리 스테비아 시제품 확보 - 14.5kg의 효소반응액을 3차례로 나누어 분리정제 실시 - 분리정제 수율(흡착수지) 확보 - 시제품 순도: 총 스테비올배당체 함량 90%이상, 미반응 스테비올 배당체 함량 10% 이하
		○ 양산형 표준 시제품 품질 평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고순도 분리 정 제 Scale-up 전 /후 관능 차 이식별 검사 진행 ○ 시제품 품질 지표 확인 ○ 시제품 품질 규격 확보 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Scale-up 전/후(Lab VS. Pilot) 두 시 료 간 유의차 없음 확인 (p>0.05) - 패널 30명, 차이식별검사(3점검사) 실 시 ○ 일본 공인 분석법 확립(효소처리 /HPLC법) - 당 결합구조에 따른 효소 반응속도 차 이에서 기인한 당전이 배당체 함량 과소평 가 현상 확인 - 기존 효소처리시간 변경하여 내부적 품 질 분석 진행 ○ 국내·외 공인분석기관(기능식품연구원 과 일본 공인분석기관 JFRL) 품질 분석 의뢰 및 결과 확보 - 국내·외 분석법 차이에 따른 결과 차이 확인 ○ 국내 분석법 기준 ‘효소처리 스테비아’ 성분 규격에 부합하였음

		○ 고순도 효소 처리 스테비아 제조 공정 제조원가 확립	○ (고정비 제외) 제조원가 확인	○ 원부재료비와 변동비 산출 - 원재료비 비중 높으며, 발효공정 비용절감을 위한 효소개량 필요 - 추가실험을 통한 최적화 작업 필요 (증류탑 공정 및 순수 제조 공정 반영)
서울대학교(협동연구기관)				
3차년도 (2018)	당전이 효소 기반 효소처리 스테비아 개발 및 기능성 연구	선발 효소의 pilot규모 특정 당전이 STV최대 생산 최적화 및 시료제공	산업화 조건 확인 위한 Stevioside, Rebaudioside A 배당체 전환	○ 1,2차년도의 결과를 바탕으로 반응 조건에 따른 배당체 전환 확인(주관 연구기관제안 조건과 본 연구팀 연구 조건에 따른 반응 수행) - 조건A: Sucrose 2~12%, stevioside 8%, 효소 0.5 U/ml, 효소반응온도 40도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석 - 조건B: Sucrose 6%, stevioside 6%, 효소 0.5 U/ml, 효소반응온도 28도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석 - 조건C(수정제안조건): Sucrose 6~48%, stevioside 6%, 효소 2.0 U/ml, 효소반응온도 28도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석
		당전이 STV별 구조 결정 및 기능성 연구 및 활용성 개발	신규 스테비올 글루코 배당체 제조 및 구조 결정	○ 1,2차년도의 반응 조건 결과에 따른 배당체 제조, 정제 및 구조 결정 - 조건: Sucrose 500mM, stevioside 50mM, 효소 5 U/ml, 효소반응온도 28도, 12시간, pH 5.2 - 배당체 형성은 TLC와 HPLC, 그리고 MALDI-TOP MS로 확인 - 4가지 배당체 정제, 구조 결정 함
			프락토실 루부소사이드 배당체 구조 결	○ 과당 전이 효소 사용 - 반응조건: 설탕 500 mM, 루부소사이드 50 mM, phosphate buffer (50

			정 및 특성연구	<p>mM, pH 6.5), 효소농도 6 U/ml, 37°C 온도 조건에서 12 시간 반응.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ RSM을 이용한 최적 생산 조건 제시 ○ DIAION-HP20 레진을 이용하여 단당을 제거한 후, MPLC-ELSD, Prep HPLC를 이용하여 분리 및 정제. 이후 구조 결정과 특성 연구: 치아 건강 관련 프라크 형성 효소인 뮤탄수크라아제 활성 억제 특성 확인
	당전이 STV별 항당뇨, 항산화, 항노화 관련 기능 성분의 수용화 연구	스테비올 배당체를 이용한 이데베논 수용화 연구	<ul style="list-style-type: none"> ○ 스테비올 배당체 별 불용성 이데베논 소재의 수용화 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 이데베논 : 스테비올 배당체 = 1 : 10 • 이데베논 5mg/mL, 각 스테비올 배당체 50 mg/mL • 스테비올 배당체를 이용하여 불용성 이데베논을 물에 수용화 함. • 스테비오사이드, 루부소사이드, 리바우디오사이드, 스테비오사이드-G1, 리바우디오사이드-G1 순서로 이데베논 수용화 증가 함. 	
		프테로스틸벤, 퀘르세틴을 스테비올 올리고당을 이용하여 수용화 연구 진행	<ul style="list-style-type: none"> ○ 스테비올 올리고당을 이용하여 항산화, 항노화 특성으로 알려진 불용성 프로테오스틸벤, 퀘르세틴을 수용화 함. ○ 10 % (w/v)의 프테오스틸벤을 물, 스테비올 올리고당 (Ste-NGOS)과 섞어줌. 이 용액에 최종 농도가 30 % (v/v) 되도록 에탄올을 첨가한 후, 교반기로 1시간 동안 충분히 섞어준 후, 원심분리 (12,000 rpm, 30 min, 4 °C)를 하여 상등액을 얻어냄. 이후 상등액의 에탄올을 증발시켜 수용화된 난수용성 소재의 용액을 준비 함. ○ 퀘르세틴은 올리고당의 농도를 10-100 % (v/v) 범위에서 농도에 따른 수용화 정도를 확인함. ○ 수용화된 정도는 thin layer 	

				<p>chromatography (TLC)를 이용하여 분석함. TLC는 고정상 Silica gel 60 로 진행하였으며, 전개용매는 acetonitrile : water [85:15 (v/v)] 를 사용함.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 불용성 물질의 수용성이 증가되었음을 확인. ○ 프테로스틸벤은 스테비오사이드와 그 배당체, 리바우디오사이드와 그 배당체를 이용하여 수용화한 모든 시료에서 항산화 특성을 유지 함 확인
--	--	--	--	---

가. 당전이 스테비아 제조 공정 최적화 및 시제품 확보

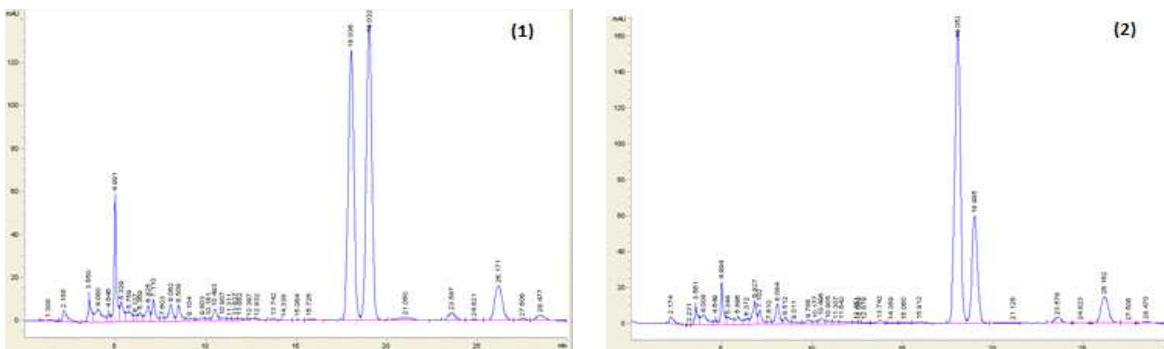
(1) 원료별 당전이 시료 제조 및 관능 품질 평가 수행

- 원료는 중국 Aoxing社 상용화 제품 RA40, 60, 80을 사용하였으며 1, 2차년도 반응조건 결과를 바탕으로 당전이 반응을 수행하였음.

표 1. A社 원료별 RebA, Stevioside 함량 (HPLC %area 기준)

원료 구분	RA 40	RA60	RA80
RA (%)*	32.97	51.45	70.86
STV (%)*	35.95	18.95	7.13

그림 1. 원료별 HPLC 크로마토그램 (1)RA40, (2)RA60, (3)RA80



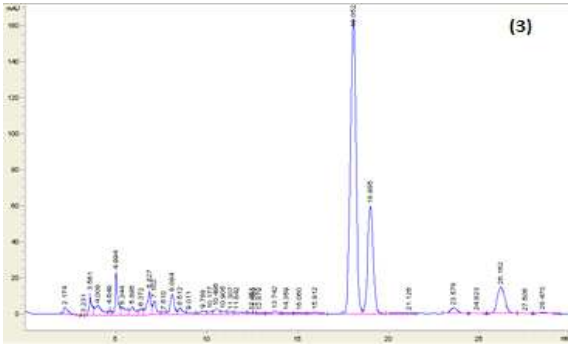
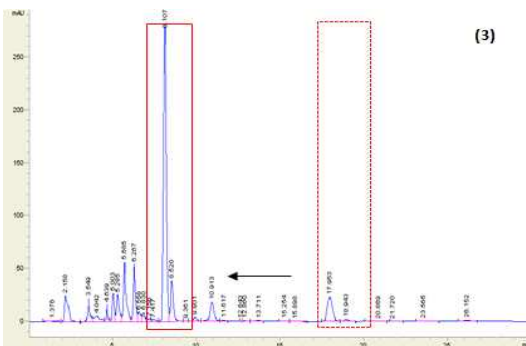
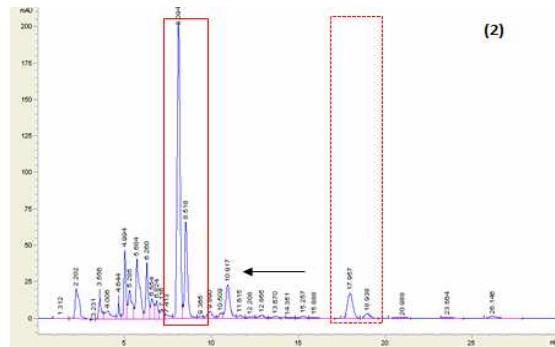
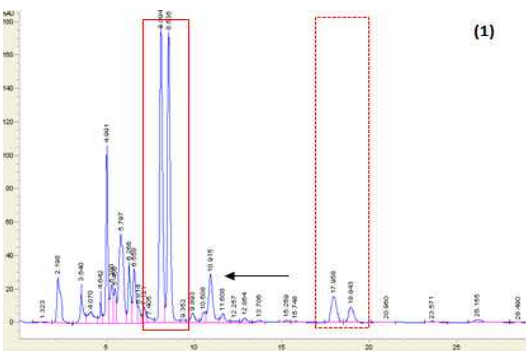


표 2. 원료별 당전이 반응액 내 스테비올배당체 함량 (HPLC 분석 %area 기준)

원료	구분	포도당 1분자 전이 스테비올 배당체 함량 (%)	미반응 스테비올 배당체 함량 (%)	전환율 (%)
RA 40	반응 전	-	76.14	90.63
	반응 후	44.25	7.14	
RA 60	반응 전	-	78.51	90.01
	반응 후	46.04	7.84	
RA 80	반응 전	-	87.66	90.13
	반응 후	53.00	8.65	

그림 2. 원료별 당전이 반응액 HPLC 크로마토그램

(1) RA40 당전이 반응액 (2) RA60 당전이 반응액 , (3) RA80 당전이 반응액



- 관능 품질 평가는 패널 30명을 대상으로 단맛기호도 및 전반기호도에 한해 9점 척도법을 사용하여 진행하였으며, 통계분석은 5점 환산 후 쌍체 T 검정을 통해 유의차이 검증하였음.
- RA40 포도당 전이 스테비올배당체(RA40-Glu_(n)) RA97 대비 전반 기호도 동등 수준(P > 0.1), RA60, RA80 각각 포도당 전이 스테비올배당체(RA60-Glu_(n), RA80-Glu_(n)) RA97 대비 전반기호도 우위(p<0.05)확인.

표 3. 원료별 당전이 산물 관능 품질 평가 (경쟁시료: RA 97)

관능속성	RA97	RA40-Glu	P-value
단맛기호도	2.96	3.35	0.101
전반기호도	2.81	3.00	0.502

관능속성	RA97	RA60-Glu	P-value
단맛기호도	2.65	3.48	0.0003
전반기호도	2.43	3.33	0.001

관능속성	RA97	RA80-Glu	P-value
단맛기호도	2.39	3.63	0.00001
전반기호도	2.11	3.41	0.000002

- 품질 대비 단가 등 경제성 고려하여 RA60을 원료로 선정하였음.

(2) 산업용 최소 배지 조성 최적화

- MRS 배지 탄소원인 포도당 대신 설탕을 사용하여 생장 패턴 및 효소 활성 비교 통한 농도 최적화를 진행하였고, 질소원인 poly peptone과 beef extract를 대체 가능한지 여부와 농도 최적화 진행하였음
- 특히, 설탕에 비례하여 배양 조효소액의 활성은 증가하나 고농도일수록 물성 변화로 인해 조효소액 제조(분리 및 농축 등)에 어려움이 있어 효율 대비 활성이 높은 설탕 농도로 설정하였음.

표 4. 1) MRS 배지 조성

배지 조성	함량 (g/L)
Glucose	20
polypeptone	10
Yeast extract	5
Beef extract	10
Ammonium citrate	2
Sodium acetate	5
K ₂ HPO ₄	2
MgSO ₄ -7H ₂ O	0.1
MnSO ₄ -H ₂ O	0.05
Tween 80	1

○ 대량 발효 및 당전이 효소 반응물을 대량 생산하여 고순도 분리 정제 공정 scale up 연구에 활용하였음.

(3) CJ 보유 당전이 효소 반응 경향성 연구

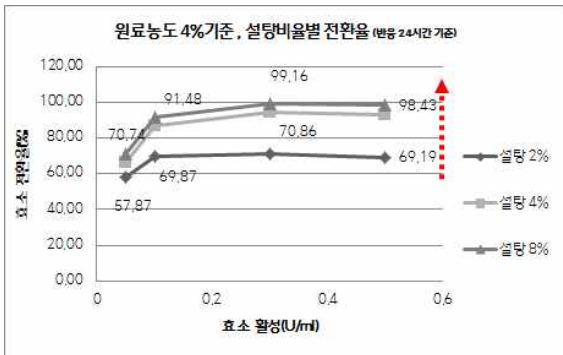
○ 원료 설탕 비율별 최대 당전이 반응 확인

- 원료 농도별(4-8%), 원료 대비 설탕 비율 (2:1, 2:2, 2:4)에 따른 최대 반응 전환율을 각각 확인한 결과 donor 기질인 설탕량이 절대적으로 부족할 경우(2:1 조건) 당전이 반응이 최대치까지 미치지 못하는 것을 확인하였음.

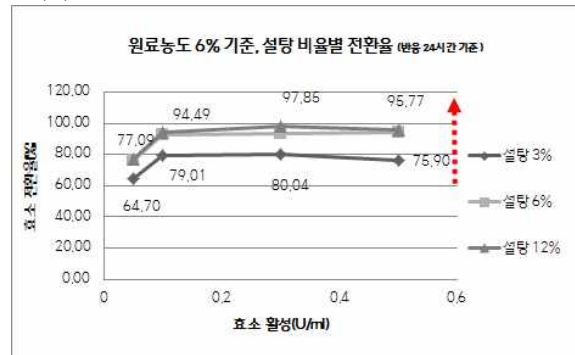
- 원료 대비 설탕 비율이 증가할수록 당전이 효소 반응물의 생산성 증가하는 경향 보임.

그림 3. 원료농도별(4-8%), 설탕비율별(2:1, 2:2, 2:4), 효소활성별(0.05-0.5U/ml) 당전이 효소 반응 전환율. (1) 원료농도 4%, (2) 원료농도 6%, (3) 원료농도 8%

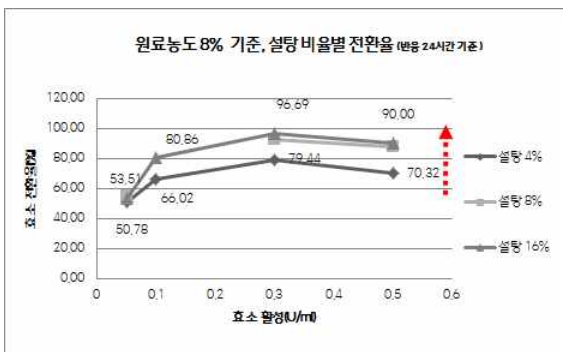
(1)



(2)



(3)



○ 고농도 원료 적용 당전이 반응 경향성 확인

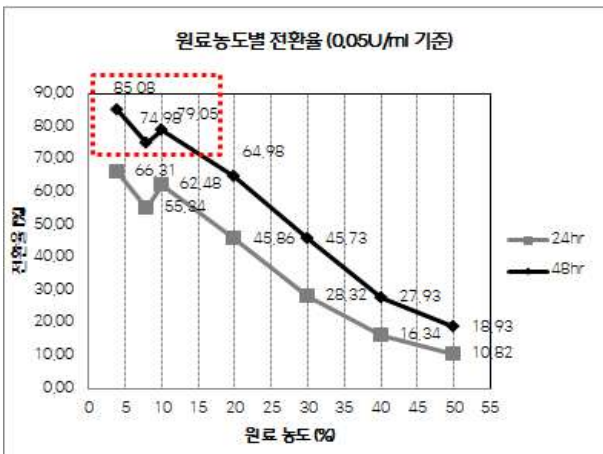
표 5. 고농도 원료 적용 효소 반응 조건

효소 반응 조건	
원료 농도	10, 20, 30, 40, 50%
설탕 비율	1:1
효소 활성	0.05, 0.25, 0.5U/ml

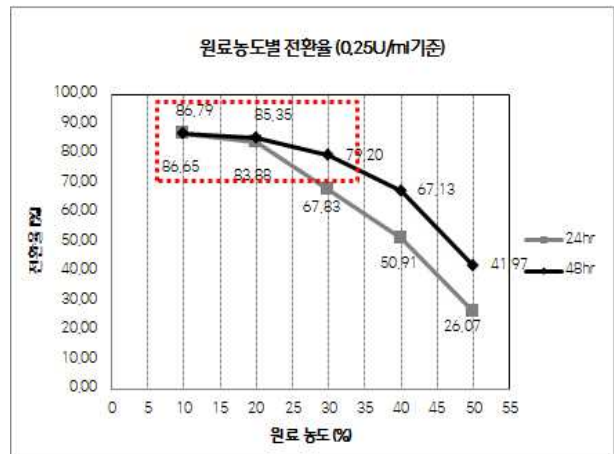
- 효소 0.05/ml, 원료 10%이하 조건에서 최대 전환율 약 75-80% 수준(반응 48hr 기준), 0.25-0.5U/ml, 원료 농도 20%까지 최대 전환율 80% 이상(반응 24시간 기준) 보였음.
- 고농도 원료 적용 효소 반응 조건 원료농도 20-30%, 반응 24시간 기준, 0.25U/ml 이하로 설정하였음.

그림 4. 고농도 원료(10-50%) 적용 효소 활성별(0.05, 0.25, 0.5U/ml) 최대 당전이 반응 전환율

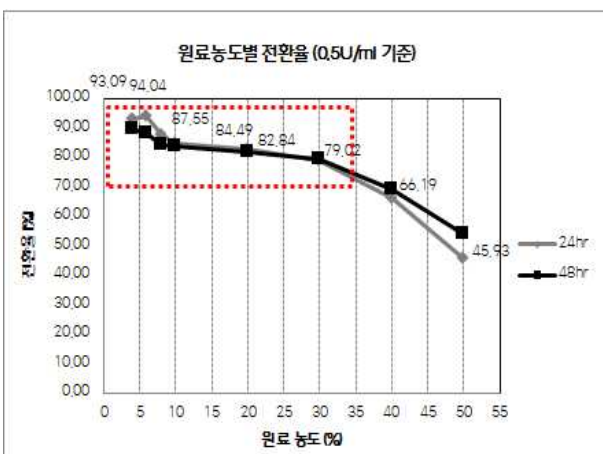
(1)



(2)



(3)



(4) 스테비올 배당체 고순도 분리정제 pilot 최적화 연구

○ 당전이 효소 반응물 제조

- 대량 발효 및 조효소액 제조

- ① 전배양 (seed 배양): 3L 발효조에 MRS broth 1L를 채워 전배양액 5% 접종, 30°C, 300rpm 조건에서 24시간 배양 (최종 OD₆₀₀ 5.0-6.0)
- ② 본배양 (main 배양): 30L 발효조에 modified MRS broth 20L를 채워 전배양액 5% 접종, 30°C, 200rpm 조건에서 30시간 배양 (최종 OD₆₀₀ 3.0-3.5)
- ③ 상기 배양액을 원심분리(8000rpm, 20분)하여 조효소액 분리
- ④ Membrane filter(10KD)를 통해 배지성분 제거 (최종 부피 배양액 기준 1X) 및 효소 10배 농축(배양액 기준 1/10X)

- 하기 조건(표 6.)을 바탕으로 당전이 효소 반응물 총 20L 대량 생산함.

표 6. 당전이 효소 반응물 제조 조건

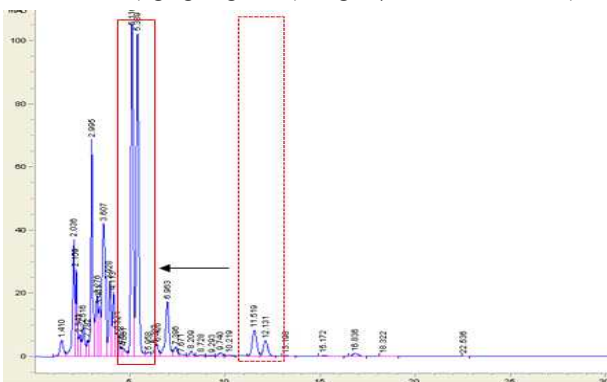
제조 조건	
원료	RA 60
원료 농도	6%
원료:설탕 비율	1:1
효소 활성	0.3U/ml
반응 시간	24hr
반응 조건	40°C, pH 5

- 당전이 반응 전후 원료내 스테비올 배당체 감소량 기준 전환율 89.67%, 미반응 스테비올배당체 함량 약 8.7% 확인

표 7. 대용량 당전이반응액 내 스테비올배당체 함량 (HPLC 분석 %area 기준)

구분	포도당 1분자 이상 전이 물질 함량 (%)	미반응 스테비올 배당체 (%)	전환율 (%)
당전이 반응 전	-	84.29	89.67
당전이 반응 후	83.58	8.70	

그림 5. 대용량 당전이반응액 HPLC 크로마토그램.



○ 당전이 반응물 활용 고순도 분리·정제 방법 설정

- 고순도 분리·정제 방법 연구: 2차년도에 고순도 분리정제 방법연구의 연장선상으로 해외 수지 전문업체 SunResin社의 추천 스테비아 전용 흡착수지에 대한 평가 진행

▶ 실험 방법

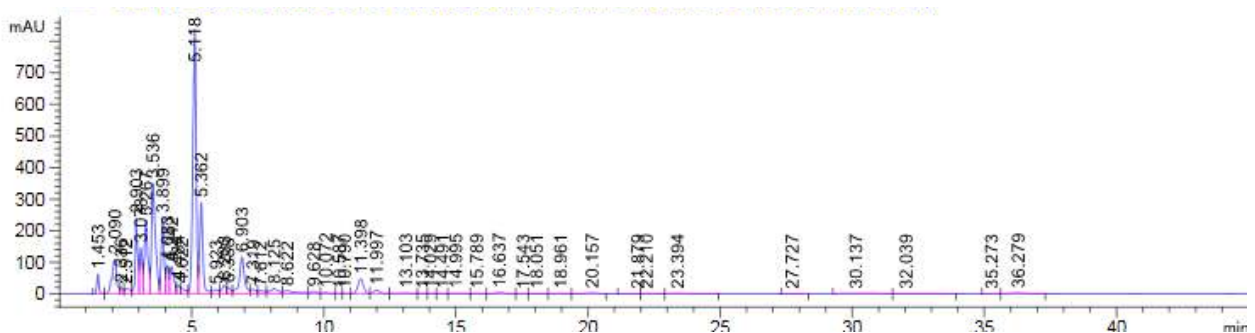
- 적정 양의 수지를 컬럼에 충전한 후, Perisatatic pump를 통해 유속 확인
- 1차 흡착수지 처리
 - ① Loading: 당전이 반응액을 0.5-1.0BV/hr 유속으로 1차 흡착수지가 충전된 컬럼에 주입
 - ② Washing: 증류수를 1.0-2.0BV/hr 유속으로 흘려주어 수세 실시.
 - ③ Elution: 60% 에탄올 용매 1.0BV/hr 유속으로 실시
(Washing과 Elution 종료시점은 inlet과 outlet 용액의 Brix가 일치해지는 시점으로 설정)
 - ④ Evaporation: Rotary Evaporator로 3BV의 Elution액을 약 1BV 이하로 농축 실시
- 이온교환수지 처리: 2차 흡착수지와 연결된 형태로 0.5-1.0BV/hr 유속으로 Loading 실시
- 2차 흡착수지 처리
 - ① Loading: 이온교환수지를 지나 2차 흡착수지 컬럼으로 Loading 진행
 - ② Washing/③Elution: ‘1차 흡착수지 처리방법’과 동일
 - ④ Evaporation: 잔류 에탄올 제거를 위한 최대 농축 실시 후, 증류수로 희석
- 2차년도 제조 공정 중 저농도 에탄올 수세 공정을 증류수 공정으로 대체함으로써 수율 다소 상승
- 반응액 유래의 oligosaccharide 추정 물질에 대한 수지 흡착능 영향력 低 확인

표8. 분리정제 단위 공정별 당전이 반응액 내 스테비올 배당체 함량 비교 (기존 방법 VS. S사 방법)

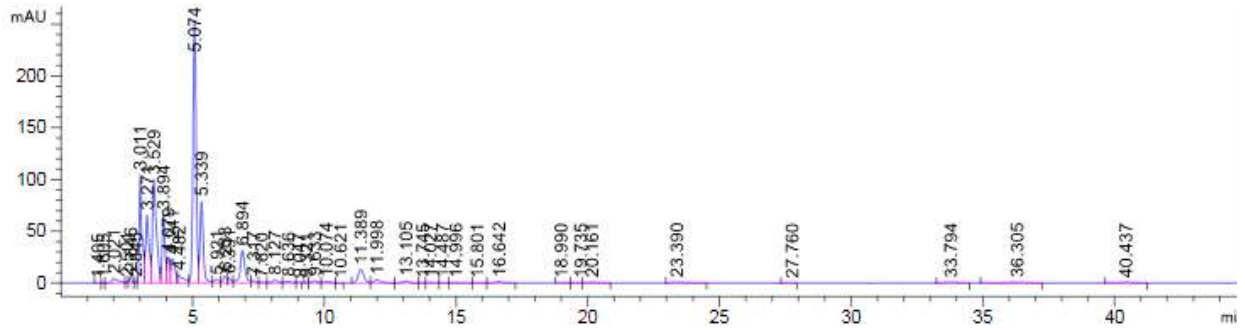
	당전이 반응액	1차 흡착수지 용리액	2차 흡착수지 용리액	비고
기존(HP-20)	100 %	93.3%	88.1%	2차년도 결과
S社 protocol	100 %	96.0%	93.7%	신규 수행

그림 6. 분리정제 단위 공정별 HPLC 크로마토그램 (Main 공정)

① 효소 반응액

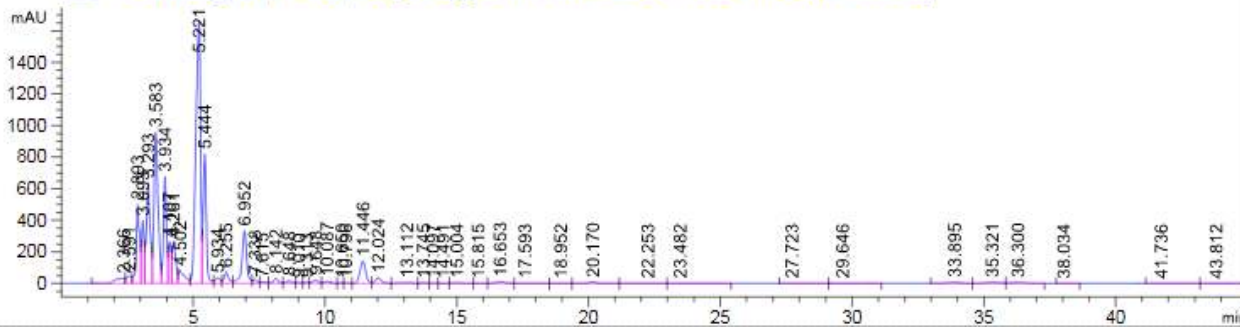


② 1차 흡착수지 Elution액

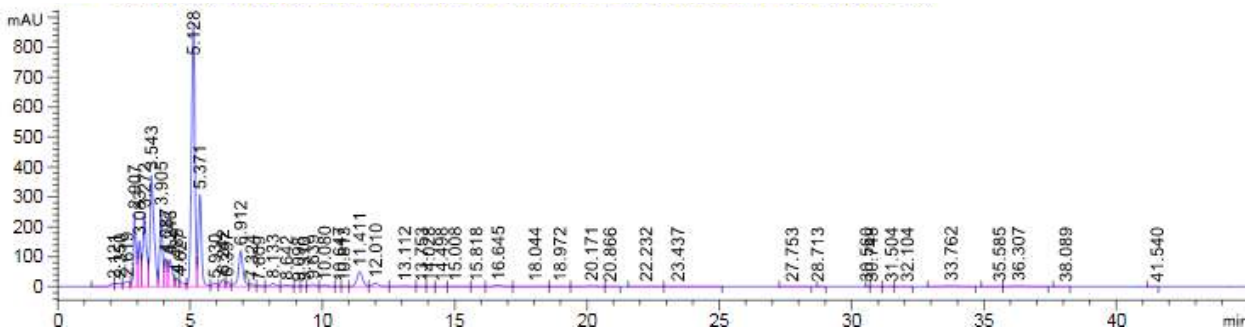


③ 1차 흡착수지 Elution- 농축

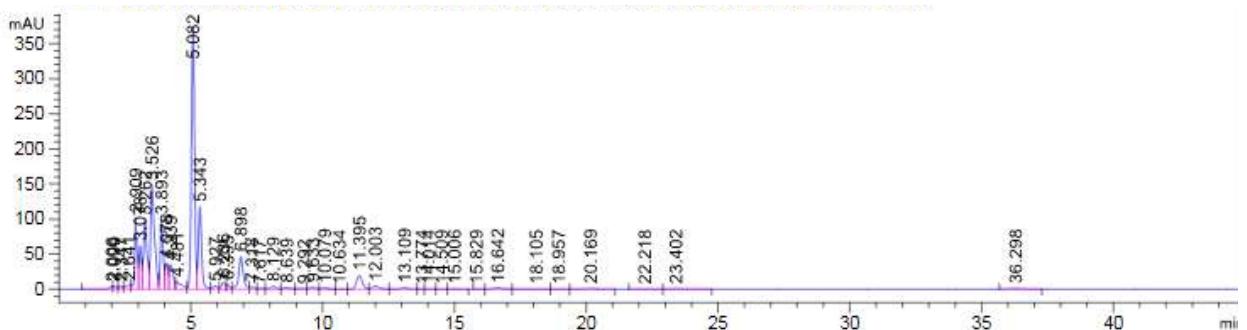
DAD1 C, Sig=210,8 Ref=360,100 (D:\2018_DATA\180903\STEVIA 2018-09-03 18-20-34\015-1001.D)



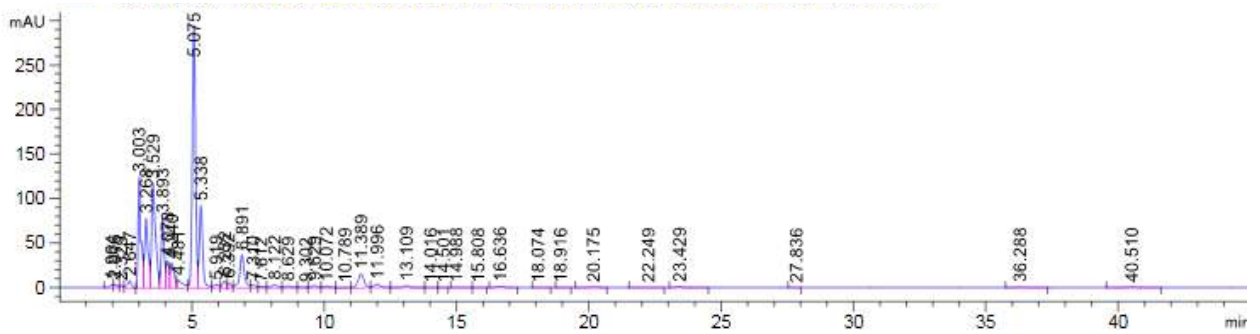
④ 양이온 교환수지 Flowthrough



⑤ 음이온 교환수지 Flowthrough



⑥ 2차 흡착수지 Elution액



⑦ 2차 흡착수지 Elution- 농축액

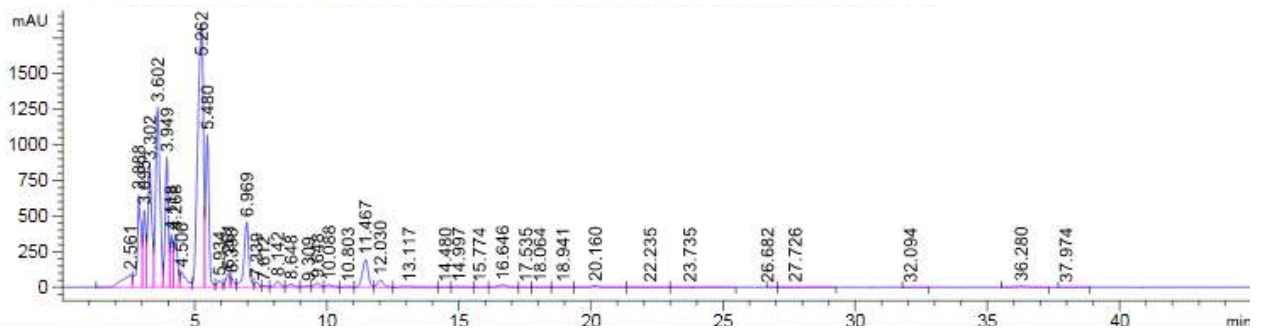
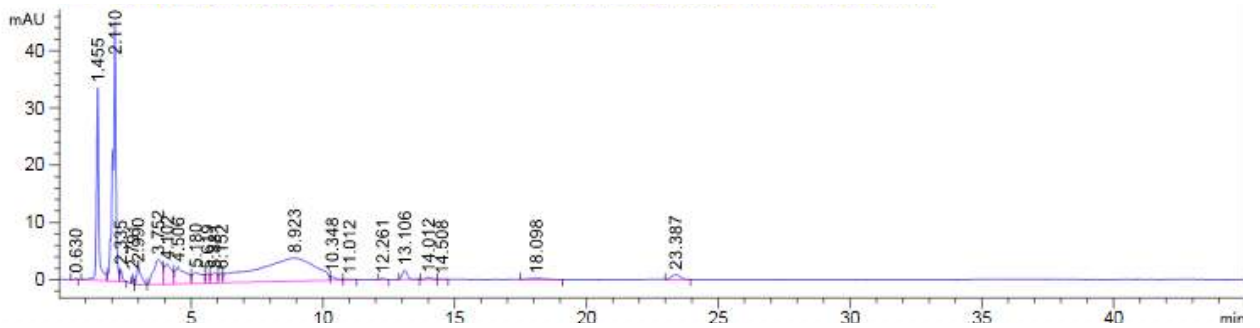
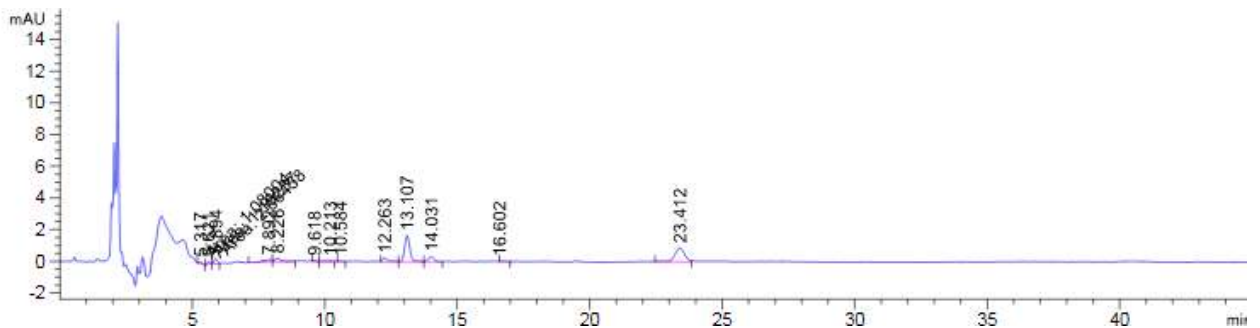


그림 7. 분리정제 단위 공정별 HPLC 크로마토그램 (Recycle or Waste fraction)

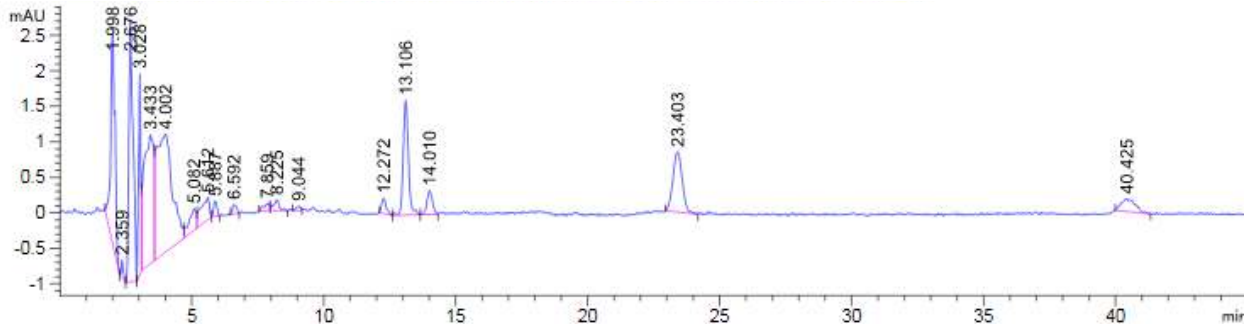
① 1차 흡착수지 Flowthrough



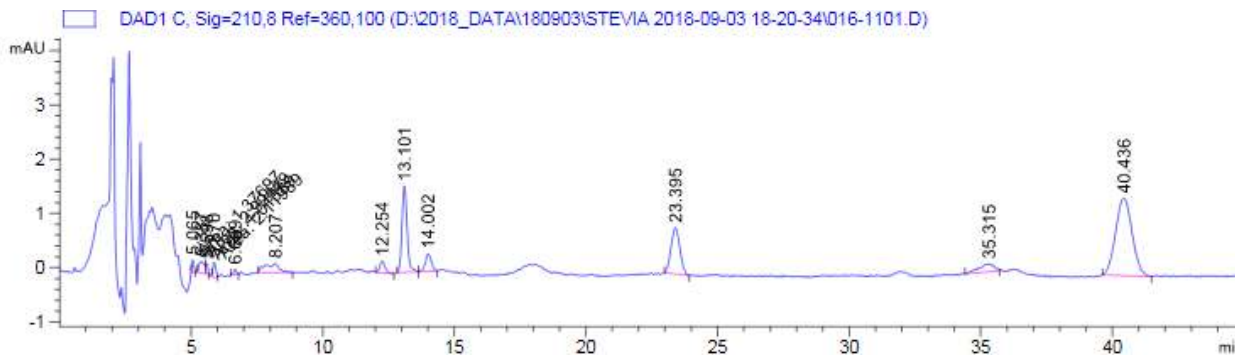
② 1차 흡착수지 수세액



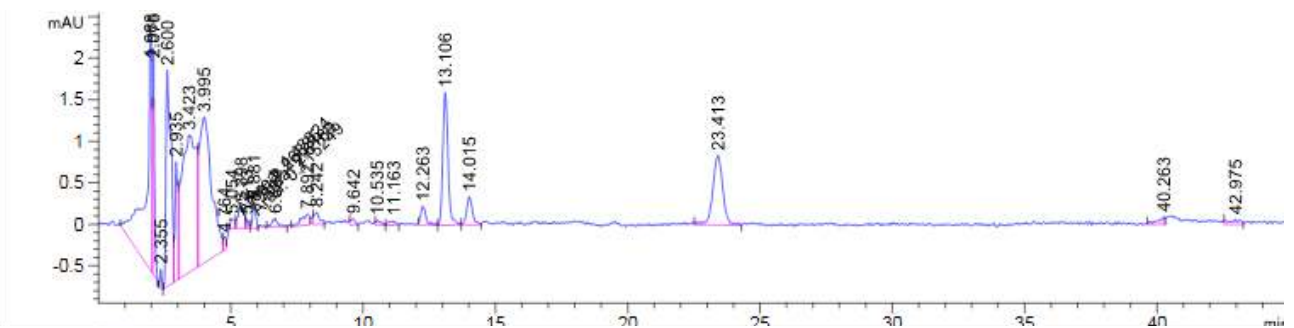
③ 1차 흡착수지 Elution- 60% 에탄올 회수



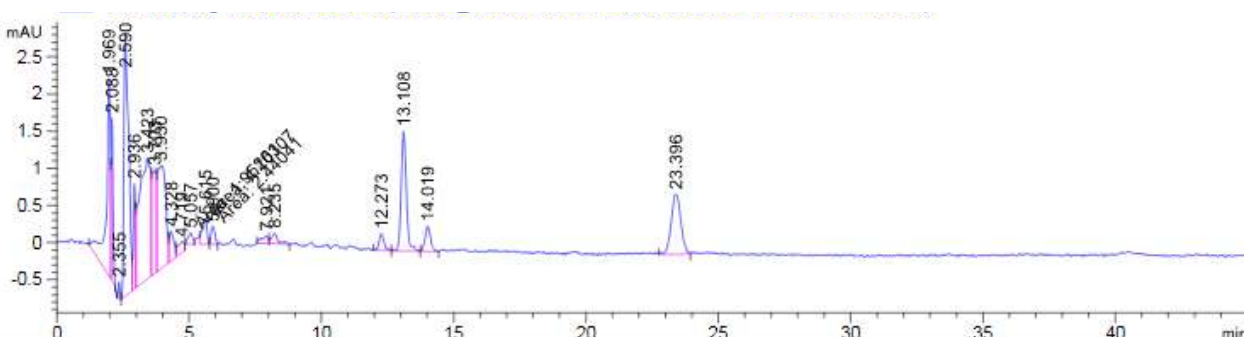
④ 1차 흡착수지 Regeneration- 80% 에탄올



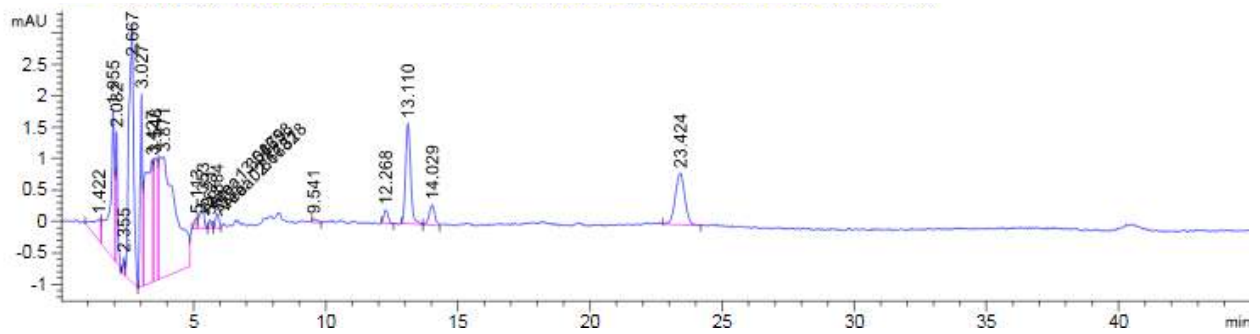
⑤ 2차 흡착수지 Flowthrough



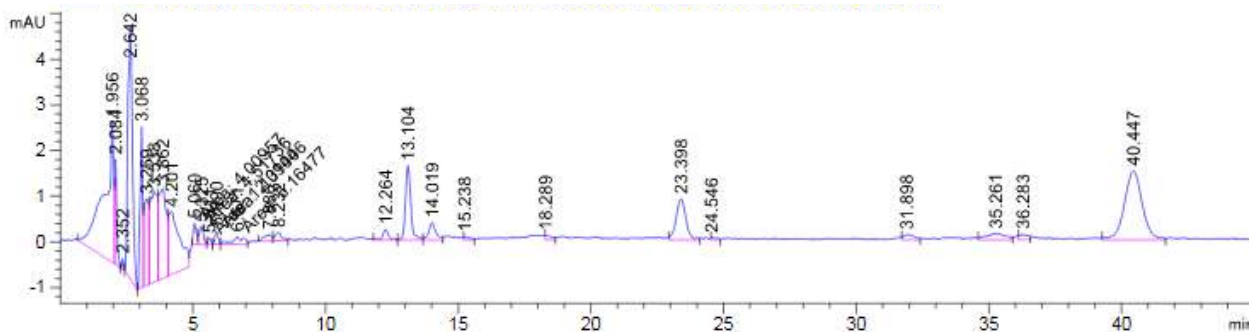
⑥ 2차 흡착수지 수세액



⑦ 2차 흡착수지 Elution- 60% 에탄올 회수



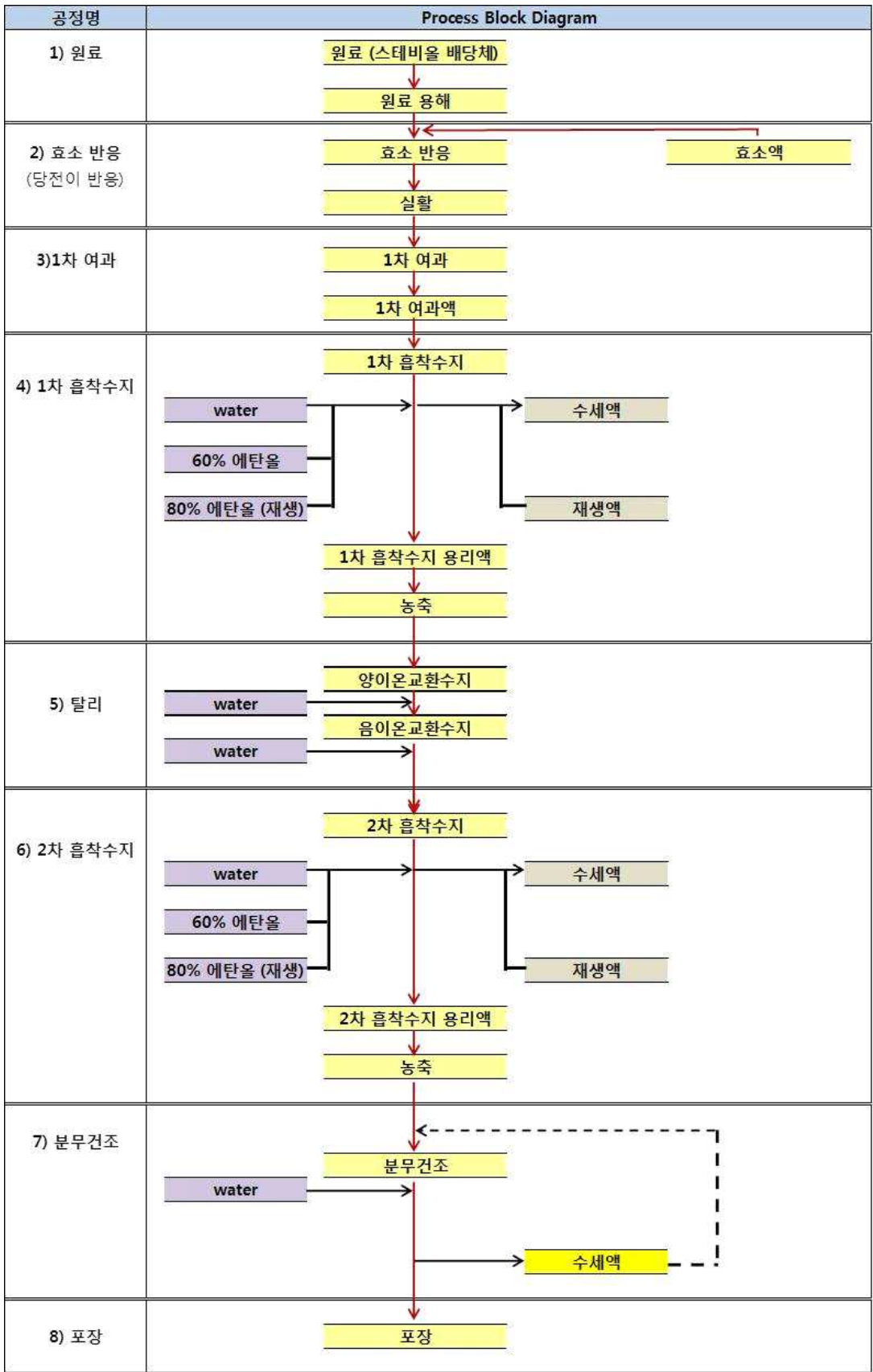
⑧ 2차 흡착수지 Regeneration- 80% 에탄올



○ 제조 공정 효율 및 운전 안정성 평가

- 총 14.5kg의 효소반응액 (스테비아 원료 약 6%조성)으로 3회 반복 정제 (Lot#1-3) 실시
- 정제 프로세스는 하기 블록 다이어그램에 준함(그림 8. 참고)
- 단위 공정별 주요지표 확인
 - ①Brix %: Refractineter (Atago, RX5000)로 측정
 - ②색가 %: 30Brix로 희석 샘플 준비 및 420nm에서 T-C% 측정
 - ③전도도 (uS/cm): 30Brix로 희석 샘플 준비
 - ④pH : 샘플 10Brix로 희석
- 총 850g 당전이 스테비올배당체 시제품 확보.

그림 8. 효소처리 스테비아 제조공정 전체 공정도



- 단위공정별 주요 지표 대부분 양호하나, 음이온 처리 후 Lot별로 pH 차이 보였음.

표 9. 단위공정별 주요 지표 (Lot#1-3)

단위 공정별 주요지표_Lot#1									
스테비올 배당체	용해	효소반응전	효소반응후	1차 흡착수지 농축	양이온	음이온	2차 흡착수지	농축	
Brix(%)	13.1	12.0	11.9	22.9	8.2	3.3			33.2
T colour (%)	93.0	42.2	46.5	79.3	98.5	98.2			92.8
Conductivity (uS/cm)	2.8	3.7	3.6	39.8	95.4	19.2			50.3
pH	5.01	5.44	5.37	5.89	3.78	7.29			6.66

단위 공정별 주요지표_Lot#2									
스테비올 배당체	용해	효소반응전	효소반응후	1차 흡착수지 농축	양이온	음이온	2차 흡착수지	농축	
Brix(%)	13.1	12.0	12.0	26.7	7.1	4.3			25.1
T colour (%)	93.0	42.2	46.5	72.0	91.9	98.1			95.5
Conductivity (uS/cm)	2.8	3.7	5.4	30.3	51.9	12.9			38.9
pH	5.01	5.44	3.55	5.14	4.03	8.32			6.70

단위 공정별 주요지표_Lot#3									
스테비올 배당체	용해	효소반응전	효소반응후	1차 흡착수지 농축	양이온	음이온	2차 흡착수지	농축	
Brix(%)	13.1	12.0	11.9	34.3	9.9	3.7			26.6
T colour (%)	93.0	42.2	50.2	61.2	85.7	98.2			95.1
Conductivity (uS/cm)	2.8	3.7	3.7	43.0	95.0	22.3			29.5
pH	5.01	5.44	5.42	5.25	3.89	9.42			6.73

- 흡착 및 이온교환 수지 수율은 당전이 산물 기준으로 산출하였으며, 모든 Lot에서 1차 및 2차 흡착수지 처리 후 수율이 유사하였음.
- RA-Glc 및 STV-Glc 정량 계산법은 위 ‘이론적 및 실험적 접근방법-가’ 문항 참고

표 10. 흡착수지 공정 수율 비교(Lot#1-3)

Lot#2_STV-/RA-Glc 수율 계산				
스테비올 배당체	효소반응후	1차 흡착수지 농축	2차 흡착수지 농축	
RA-Glc (g)	91.5	89.9	87.2	
STV-Glc (g)	26.4	25.0	24.3	
SUM (g)	117.9	115.0	111.5	
Yield %	100.0	97.5	94.6	

Lot#3_STV-/RA-Glc 수율 계산				
스테비올 배당체	효소반응후	1차 흡착수지 농축	2차 흡착수지 농축	
RA-Glc (g)	96.6	92.7	90.5	
STV-Glc (g)	27.6	25.6	24.0	
SUM (g)	124.2	118.2	114.5	
Yield %	100.0	95.2	92.2	

Lot#4_STV-/RA-Glc 수율 계산				
스테비올 배당체	효소반응후	1차 흡착수지 농축	2차 흡착수지 농축	
RA-Glc (g)	91.4	87.6	86.8	
STV-Glc (g)	26.1	24.6	24.1	
SUM (g)	117.4	112.2	110.9	
Yield %	100.0	95.5	94.4	

TOT_STV-/RA-Glc 수율 계산				
스테비올 배당체	효소반응후	1차 흡착수지 농축	2차 흡착수지 농축	
RA-Glc (g)	279.5	270.1	264.5	
STV-Glc (g)	80.1	75.2	72.3	
SUM (g)	359.6	345.4	336.8	
Yield %	100.0	96.0	93.7	

(5) 건조 분말화 공정 개발

- 모조액 적용 분무건조 조건 확립

- 분무 공정 조건 설정
 - 모조액 주입 농도 설정(10 ~ 45Bx),
 - 분무 type별 (Nozzle type, ø : 1mm or Disc type, Max rpm : 32000)
 - 주입액 및 회수분 DS 측정을 통한 수율 평가
- 주입액 농도가 증가할수록 분무건조 수율 증가하는 경향 확인
- Disc type의 경우 높은 압력(rpm)에서 높은 수율을 보임
- 회수율 85% 이상 확인

표 11. 모조액 적용 분무 건조 수율 평가

	Nozzle			Disc		
입풍온도(°C)	125°C			125°C		
배풍온도(°C)	75 ~ 77°C			75 ~ 77°C		
압력(bar)	0.45			0.25	0.45	0.90
주입액 농도(bx)	10.4	34.5	46.7	34.1	35.2	23.3
공정수율(%)	86.0	88.2	94.7	57.4	92.5	90.4

- 확립 조건에서 효소반응액 적용 분무건조 수율 평가
 - Disc type, 압력 0.90 bar(모조액 적용시 확보 조건) 적용 4batch 수율 평가 결과 90% 이상 수율 확인됨

표 12. 효소반응액 적용 분무건조 수율 평가

	Lot#1	Lot#2	Lot#3	Lot#4
입풍온도(°C)	125°C			
배풍온도(°C)	75 ~ 77°C			
압력(bar)	0.90 ~ 0.94			
주입액 농도(bx)	26.3	33.2	25.3	26.7
공정수율(%)	90.9	95.7	94.6	96.0

- 분리정제 공정을 통해 제조된 2차 흡착수지 농축액을 분무건조 통해 최종 시제품 확보하였으며, Lot별로 Brix 조건이 다소 상이하나 최종 수율 영향력 低 확인하였음 (수분함량 5% 이내)

표 13. 분무공정 효율 및 안정성 평가(Lot#1-3)

시료	주입액 농도		수율(%)			수분(%)	BD(g/mL)	생산량(g)
	bx	DS	총수율	Cyclone	Chamber			
Lot#1	33.24	30.49	95.65	90.47	5.19	2.24	0.43	283.76
Lot#2	25.25	23.08	94.59	88.33	6.26	4.72	0.36	292.75
Lot#3	26.66	24.33	95.96	92.18	3.77	1.63	0.41	273.93

(6) 관능 품질 평가 (차이식별 검사)

○ 패널 30인 대상, 분리정제 Scale-up 전/후(Lab VS. Pilot) 차이식별 검사 진행

- 관능검사 유형 : 차이식별검사(3점 검사)

- 두 그룹으로 나누어 서로 다른 배치로 진행(ABA/BAB)

- 관능검사 판독: 유의성 검정표 p=1/3 적용

○ 패널 30명 중 13명 정답자로 두 시료 간 유의차 없음 확인 (P<0.05 수준으로 유의차이를 표명할 수 있는 최소 정답자 수 : 30명 중 15명 정답자)

표 14. 삼점검사의 유의성 검정표(p=1/3)

검사자수	유의적 차이를 표명할 수 있는 최소 정답자수			검사자수	유의적 차이를 표명할 수 있는 최소 정답자수		
	$\alpha=0.05$ (*)	$\alpha=0.01$ (**)	$\alpha=0.001$ (***)		$\alpha=0.05$ (*)	$\alpha=0.01$ (**)	$\alpha=0.001$ (***)
5	4	5	-	53	24	27	29
6	5	6	-	54	25	27	30
7	5	6	7	55	25	27	30
8	6	7	8	56	25	28	31
9	6	7	8	57	26	28	31
10	7	8	9	58	26	29	31
11	7	8	9	59	27	29	32
12	8	9	10	60	27	29	32
13	8	9	11	61	27	30	33
14	9	10	11	62	28	30	33
15	9	10	12	63	28	31	34
16	9	11	12	64	29	31	34
17	10	11	13	65	29	32	34
18	10	12	13	66	29	32	35
19	11	12	14	67	30	32	35
20	11	13	14	68	30	33	36
21	12	13	15	69	30	33	36
22	12	13	15	70	31	34	37
23	12	14	16	71	31	34	37
24	13	14	16	72	32	34	37
25	13	15	17	73	32	35	38
26	14	15	17	74	32	35	38
27	14	16	18	75	33	35	39
28	14	16	18	76	33	36	39
29	15	17	19	77	33	36	39
30	15	17	19	78	34	37	40
31	16	17	19	79	34	37	40
32	16	18	20	80	35	37	41
33	16	18	20	81	35	38	41
34	17	19	21	82	35	38	42
35	17	19	21	83	36	39	42
36	18	20	22	84	36	39	42
37	18	20	22	85	36	39	43
38	18	20	23	86	37	40	43
39	19	21	23	87	37	40	44
40	19	21	24	88	38	41	44
41	20	22	24	89	38	41	44
42	20	22	24	90	38	41	45
43	20	23	25	91	39	42	45
44	21	23	25	92	39	42	46
45	21	23	26	93	39	43	46
46	22	24	26	94	40	43	46
47	22	24	27	95	40	43	47
48	22	25	27	96	41	44	47
49	23	25	28	97	41	44	48
50	23	25	28	98	41	45	48
51	24	26	28	99	42	45	48
52	24	26	29	100	42	45	49

(7) 시제품 품질지표 확인

○ 일본 공인 분석법 확립(효소처리/HPLC법)

- 분석법상 동일 Glucoamylase(Sigma社) 단종으로 인해 확보 어려워 일반 상업효소(Novozyme社)로 변경 사용
- 기존 상용화 제품 이용 일본 공인 분석 조건으로 분석법을 초기 setting하였으나, CJ 포도당 전이 스테비올 배당체 시료(α -1,6결합)의 경우 당 결합구조 차이에 따른 효소 반응속도 차이로 인해 효소 처리 후 포도당 전이 산물이 대부분 잔류하는 것 확인하였음.
- 기존 효소처리시간 45분에서 3시간 이상으로 변경하여 내부적으로 품질 분석 진행

그림 9. Glucoamylase 처리 전후 레바텐 G-180 HPLC 크로마토그램

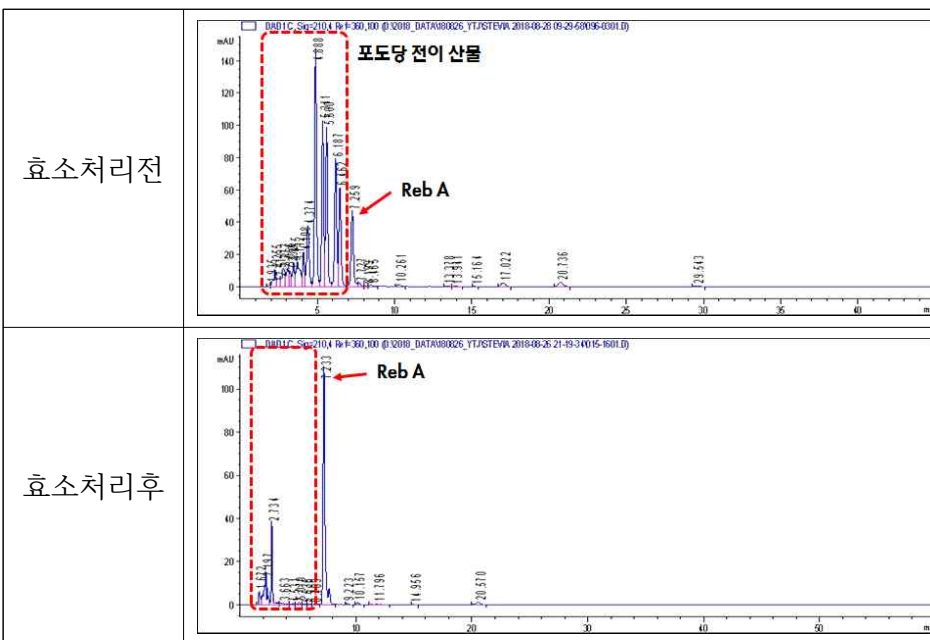
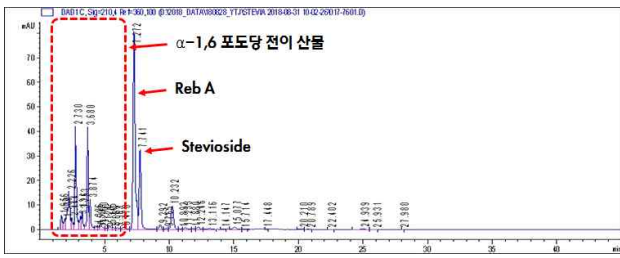
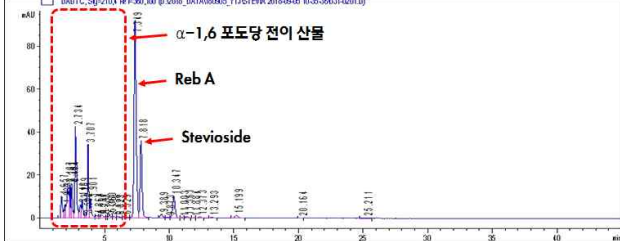
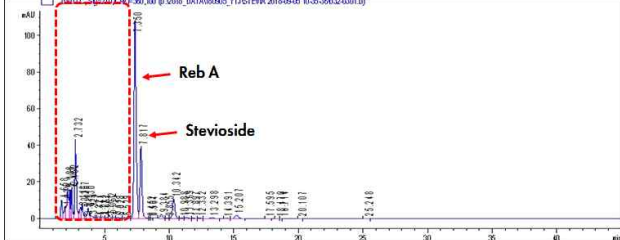
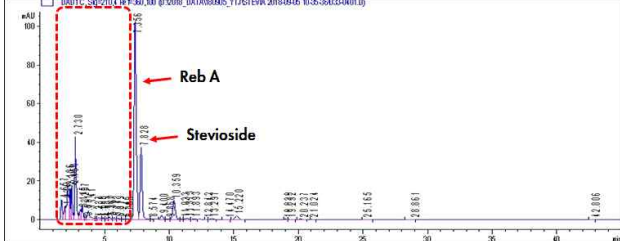


그림 10. Glucoamylase 처리시간에 따른 CJ 포도당 전이 산물 HPLC 크로마토그램

반응전		-
45분 반응 (기존방법)		포도당 전이 산물 잔류
3시간 반응		포도당 전이 산물 대부분 제거
o/n 반응		3시간 반응과 유사함

○ 확립된 조건 적용하여 기존 상용화 제품 및 CJ 포도당 전이 스테비올 배당체 자가 분석 진행 결과 모두 규격에 적합함을 확인함

표 17. 효소처리스테비아 상용제품 및 CJ 포도당 전이 산물 품질 규격 비교

시료	총 스테비올 배당체 함량(%)	미반응 스테비올 배당체 함량(%)
규격	80 ↑	15 ↓
상용제품	91.1	6.2
CJ 포도당 전이 산물	90 ↑	10 ↓

○ 국내 분석법 의거 공인분석기관 기능식품연구원과 병행하여 일본 분석법에 따른 공인분석기

관 일본 식품분석 센터(JFRL, Japan Food Research Laboratories) 분석 의뢰 동시 진행하여 국내·외 분석법 차이에 따른 결과 차이 확인

○ 국내 분석법 기준 총 스테비올 배당체 함량 90%이상, 미반응 스테비올배당체 함량 10%이하로 '효소처리 스테비아' 성분 규격에 부합하였음

○ 일본 분석법의 경우 당전이 스테비올 배당체의 구조 차이에 기인한 당전이 배당체 함량 과소 평가 현상 확인.

그림 11. 한국기능식품연구원 성적서


제 D2018110179 호 문서확인		시험·검사성적서	
제품명	효소처리스테비아선폴C	제조일자 (유통기한)	
의뢰인	업체명	씨제이제일제당(주)BLOSSOM PARK	성명
	주소	경기도 수원시 영통구 이의동 1175-14, 1175-15	
제조번호		접수년월일	2018-11-02
검사의의목적	참고용	접수번호	D2018110179
<p>귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.</p> <p>시험·검사 완료일: 2018-11-23 시험·검사 책임자: 이정구 검사관련 총 책임자: 김천희</p>			
시험·검사항목		시험·검사 결과	시험·검사원
상상		약간 특유한 냄새를 가지며 청량한 감미를 갖는 백색의 분말	이현아
확인시험		확인	양효진
비소(ppm)		0.0026 ppm	류미진
납(ppm)		0.0038 ppm	류미진
건조감량(%)		4.55 %	양효진
강열건류분(%)		0.16 %	양효진
함량(%)		스테비올함량 <input type="text"/> 70%, 배당체 중의 당함량: <input type="text"/> %, 미반응스테비올배당체 함량: <input type="text"/> %	양효진
<p>식품첨가물-효소처리스테비아</p>			
<p>※ 위 판정은 의뢰된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다. ※ 지면이 부족한 경우 시험·검사 및 결과판은 별지로 작성 가능합니다. ※ 본성적서는 참고용 성적서입니다. 시험·검사결과에 시험·검사목적 이외의 광고 및 홍보 등에 이용할 수 없으며, 자기품질검사 또는 정부기관 외 세출 용도로 활용할 수 없습니다.</p>			
2018년 11월 23일			
한국기능식품연구원			
<p>(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 http://www.khfi.re.kr 전화번호 031-628-0400-1</p>			

그림 12. 효소처리 시간에 따른 품질분석 결과 차이 비교

일본공인성적서_표준	일본공인성적서_효소처리시간 증가
CERTIFICATE OF ANALYSIS	CERTIFICATE OF ANALYSIS
Client: CJ BLOSSOM PARK CJ CHEILJEDANG 55, Gwanggyo-ro 42beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea	Client: CJ BLOSSOM PARK CJ CHEILJEDANG 55, Gwanggyo-ro 42beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea
Sample name: alpha-Glucosyltransferase Treated Steviol Glycoside	Sample name: alpha-Glucosyltransferase Treated Steviol Glycoside
Received date: September 13, 2018	Received date: September 13, 2018
This is to certify that the following result(s) have been obtained from our analysis on the above-mentioned sample(s) submitted by the client.	This is to certify that the following result(s) have been obtained from our analysis on the above-mentioned sample(s) submitted by the client.
Test Result(s)	Test Result(s)
Test Item	Test Item
Result	Result
QL	QL
N	N
M	M
α-Glucosyltransferase Treated Steviol Glycosides	α-Glucosyltransferase Treated Steviol Glycosides
---	---
Description	Assay (content)
Conformable	---
Identification (1)	Total content of nine steviol glycosidas content and eight steviol glycosidas content produced after glucoamylase treatment
Conformable	---
Identification (2)	Conformable
Purity	---
Lead	Total content of nine steviol glycosidas produced after glucoamylase treatment
Conformable	65.4 %
Arsenic	---
Conformable	---
Loss on drying	Total content of eight steviol glycosidas produced after glucoamylase treatment
Conformable(4.6 %)	61.7 %
Residue on ignition	Content of α-glucoosyl residues released by glucoamylase treatment
Conformable(Not more than 0.05 %)	23.7 %
Assay (content)	Total content of nine unreacted steviol glycosides
---	3.3 %
---	Content of nine α-glucoosylated steviol glycosides and nine unreacted steviol glycosides
Total content of nine steviol glycosidas content and eight steviol glycosidas content produced after glucoamylase treatment	89.1 %
15.0 %	---
---	Content of nine α-glucoosylated steviol glycosides
Total content of nine steviol glycosidas produced after glucoamylase treatment	85.8 %
12.3 %	---
---	QL: Quantitation limit N: Notes M: Method
Total content of eight steviol glycosidas produced after glucoamylase treatment	Notes
9.2 %	1: The test method was specified by the client.
---	2: Stevioside Standard (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation) was used for stevioside for assay and Rebaudioside A Standard (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation) was used for rebaudioside A for assay.
Content of α-glucoosyl residues released by glucoamylase treatment	
3.6 %	

Total content of nine unreacted steviol glycosides	
Unconformable(24.2 %)	

Content of nine α-glucoosylated steviol glycosides and nine unreacted steviol glycosides	
Unconformable(20.6 %)	

Content of nine α-glucoosylated steviol glycosides	

QL: Quantitation limit N: Notes M: Method	
Notes	
1: "Food Additives," Notification No. 370 (1959) "Specifications and Standards for Foods, Food Additives, etc.," issued by the Ministry of Health and Welfare.	
日本食品分析センター	日本食品分析センター

(3) 효소처리 스테비아 제조원가(변동비 限) 확립

- 상기 '제조공정 효율 및 운전 안정성 평가'의 데이터 기반으로 작성
- 인건비 및 설비투자비 등의 고정비 항목은 제외하였음(원부재료비 및 변동비 항목만 포함)
- 효소 활성화에 따라 발효공정 제조원가 차이 大
- 효소 개량 전/후 관계없이 원재료비가 차지하는 비율 高

표 18. 전체 원부재료비 및 변동비 합 比, 개량 전/후 원재료비의 비중 비교

공정	항목	개량전	개량후
발효공정	제조원가	7%	%
	원재료비	74%	8%
분리/정제 공정	변동비	부재료비	8%
		유틸리비	2%
총합		100%	100%

그림 13. 효소 개량 전(CASE1), 후(CASE 2) 발효공정 제조원가 비교

		CASE 1		CASE 2	
		조효소액 20톤생산		조효소액 2톤생산	
농축효소활성	U/ml	5		50	
공정수율	%	50		50	
배양횟수	batch	168		17	
원료부재료	(원/batch)		535		535
	(원/년)		,880		,095
소계			,880		,095
유틸리티		(사용량×단가×배양 횟수)			
전력	Kwh/년		,600		,900
LNG	Nm³/년		,760		,440
용수	m³/년		,800		,700
포장비	원/년		,800		,700
소계			,960		,740
고정비					
인건비	원/년		,000		,000
감가상각비	원/년		3.75		7318.44
기타경비	원/년		,000		,000
소계			,274		7,318
총계 제조원가			,114		5,153

○ 중국 원료 제조사 조사

- Shandong Huaxian Stevia CO., LTD

- : 1895년 설립, 중국 최초의 스테비아 생산, 가공, 수출 업체
- : 스테비아 잎가공 Capa 10,000톤/년, 제품 생산 Capa 600-700톤/년
- : 일본, 한국, 홍콩, 대만, 미국, 브라질 등 30개 국가 판매 中



技术指标 TECHNICAL INDEXES

STEVIA - HIGH SWEET LOW CALORIE 100% NATURAL HEALTHY



产品类型	产品规格	含糖%	粒度	比吸光度 (D ₂₅)	比吸光度 (D ₂₅)	比吸光度 (D ₂₅)	比吸光度 (D ₂₅)	比吸光度 (D ₂₅)	比吸光度 (D ₂₅)	比吸光度 (D ₂₅)
普通甜菊糖苷 (貳)	85%	≥85	≥200	-30° - -38°	≤0.08	≤0.2	≤5	≤0.001	≤0.0001	
	90%	≥90	≥250	-30° - -38°	≤0.05	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	95%	≥95	≥270	-30° - -38°	≤0.05	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	98%	≥98	≥300	-30° - -38°	≤0.04	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
RA 甜菊糖苷 (貳)	REB-A 40%	REB-A 40%	≥300	-30° - -38°	≤0.05	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	REB-A 50%	REB-A 50%	≥320	-30° - -38°	≤0.05	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	REB-A 60%	REB-A 60%	≥330	-30° - -38°	≤0.05	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	REB-A 80%	REB-A 80%	≥350	-30° - -38°	≤0.03	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	REB-A 90%	REB-A 90%	≥370	-30° - -38°	≤0.02	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	REB-A 95%	REB-A 95%	≥390	-30° - -38°	≤0.02	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	REB-A 97%	REB-A 97%	≥400	-30° - -38°	≤0.02	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
	REB-A 98%	REB-A 98%	≥420	-30° - -38°	≤0.02	≤0.1	≤4	≤0.001	≤0.0001	
糖苷化甜菊糖苷 (貳)	糖苷化甜菊糖苷 (貳)	/	≥100	/	≤0.05	≤1.0	≤6	≤0.001	≤0.0001	
食品甜味剂	瑞宝糖精	/	≥10	/	/	≤1.0	≤5	≤0.001	≤0.0001	

- 에탄올 Recycle 공정(증류탑) 및 분리정제용 순수(Demineralized Water) 제조공정 미반영
- 회수율 및 유틸비 (現 에탄올 회수율, 업체 추정치 반영됨)
- 시기별 원료가격 변동폭 확인과 수지 Capacity 및 교체 주기에 대한 데이터 지속 확보 필요함

항 목			단 위	제조원가	Remark		
생산기본정보			생산량 수율	톤/년 %	100 98 스테비올 배당체 기준		
원재료비	스테비올 배당체	원단위	kg/kg-RA60_Glc	[Redacted]	35 A산 RA60 (원 [Redacted] 원/kg		
		단가	원/kg		00		
		단위원가	원/kg-RA60_Glc		53		
원재료비 계					53		
제조원가 (발효공정)	발효공정	원단위	kg/kg-RA60_Glc	[Redacted]	농축 조효소액 활성 5.0 U/ml (現 발효조효소액 0.5 U/ml)		
		사용량	kg/년				
		단가	원/kg				
단위원가			원/kg-RA60_Glc				
발효공정 제조원가 계					00		
변동비	부재료비	실당	원단위	kg/kg-RA60_Glc	[Redacted]	35 Sucrose 1,000 원/kg	
			사용량	kg/년		64	
			단가	원/kg		00	
			단위원가	원/kg-RA60_Glc		35	
		*원율 (2018.09.12기준), 15=1129원					
		가성소다 25%	원단위	kg/kg-RA60_Glc	[Redacted]	36 Working conc. 4%	
			사용량	kg/년		63 48V 수지세척 : 765 L	
			단가	원/kg		25 31 kg	
		단위원가			원/kg-RA60_Glc	51 수지 세척 주기 1 일	
		염산 (T)	원단위	kg/kg-RA60_Glc	[Redacted]	71 Working conc. 4%	
			사용량	kg/년		68 48V 수지세척 : 1,912 L	
			단가	원/kg		30 76 kg	
		단위원가			원/kg-RA60_Glc	14	
		주정	원단위	kg/kg-RA60_Glc	[Redacted]	67 대정주정라이프 가격 1749,495원/ (비중 0.816kg/L)	
			사용량	kg/년		68 2143.99원/kg	
			단가	원/kg		89 200L(드럼통 2 드럼통 가격 55000원	
			단위원가	원/kg-RA60_Glc		7.7 * Loss 5% 반영	
		음식수지 1 (LXS-868)	원단위	L/kg-RA60_Glc	[Redacted]	24 교체 주기 2.0 년	
			사용량	L/년		19 수지 가격 (US\$ 12.3 per litre	
			단가	원/L		92 수지 가격 (원) 13,892.3 per litre	
			단위원가	원/kg-RA60_Glc		5.5 5000L 기준	
		음식수지 2 (LXS-869)	원단위	L/kg-RA60_Glc	[Redacted]	16 교체 주기 3.0 년	
			사용량	L/년		13 수지 가격 (US\$ 10.9 per litre	
			단가	원/L		34 수지 가격 (원) 12,334.3 per litre	
			단위원가	원/kg-RA60_Glc		5.6 5000L 기준	
		양이온수지 (LXS-861)	원단위	L/kg-RA60_Glc	[Redacted]	02 교체 주기 3.0 년	
			사용량	L/년		91 수지 가격 (US\$ 4.3 per litre	
			단가	원/L		04 수지 가격 (원) 4,803.9 per litre	
단위원가	원/kg-RA60_Glc		9.2 운용계획 2 set				
음이온수지 (LXS-865)	원단위	L/kg-RA60_Glc	[Redacted]	05 교체 주기 1.2 년			
	사용량	L/년		78 수지 가격 (US\$ 12.7 per litre			
	단가	원/L		82 수지 가격 (원) 14,281.9 per litre			
	단위원가	원/kg-RA60_Glc		11.1 운용계획 2 set			
소 계					1.5		
유틸리티비	전기	원단위	kw/kg-RA60_Glc	[Redacted]	16 AA3G 단위원가 반영		
		사용량	Kw/년			69	
		단가	원/kw			59	
		단위원가	원/kg-RA60_Glc			42	
	LNG	원단위	N.m ³ /kg-RA60_Glc	[Redacted]	81		
		사용량	N.m ³ /년			17	
		단가	원/N.m ³			59	
용수	원단위	m ³ /kg-RA60_Glc	[Redacted]	00			
	사용량	m ³ /년			17		
단가			원/m ³	00	가성소다 25% 153 kg		
단위원가			원/kg-RA60_Glc	79	염산 4% 용액 1,835 kg		
소 계					8		
포장비		원단위	kg/kg-RA60_Glc	[Redacted]	30		
사용량		ea/년					
단위원가		원/kg-RA60_Glc			단가 (25kg 지 2,000 원		
폐기물		원단위	kg/kg-RA60_Glc	[Redacted]	50		
발생량		kg/년					
단가		원/kg			FT, DW 일반폐수 처리		
단위원가		원/kg-RA60_Glc					
소모품비- Filter		단위원가	원/kg-RA60_Glc	[Redacted]	25		
					년간 소모품비 135 백만원		
					AA3G 단위원가 반영		
변동비 계					16		

나. 당전이효소기반 효소처리스테비아 개발 및 기능성 연구

(1) 선발 효소의 pilot규모 특정 당전이 STV최대 생산 최적화 및 시료제공

○ 산업화 조건 확인 위한 Stevioside, Rebaudioside A 배당체 전환: 1, 2차년도의 결과를 바탕으로 반응 조건에 따른 배당체 전환 확인(주관연구기관제안 조건과 본 연구팀 연구 조건에 따른 반응 수행)

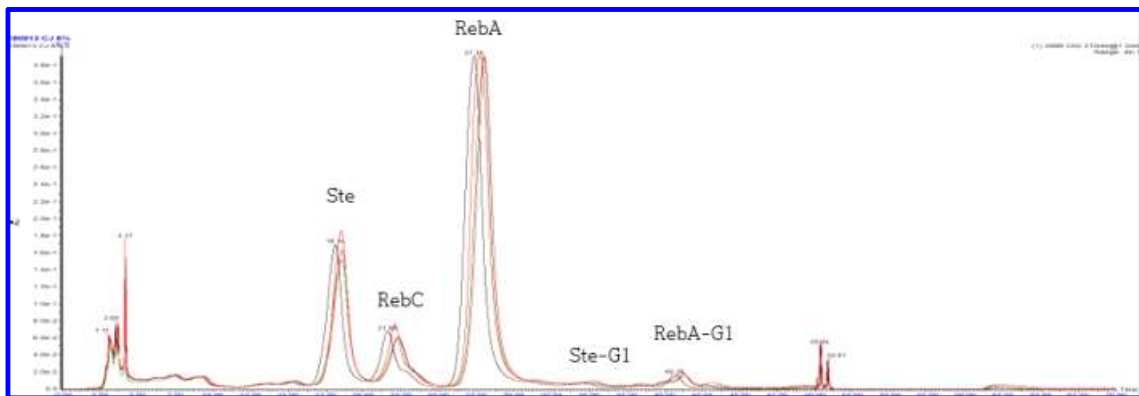
○ 조건A: Sucrose 2~12%, stevioside 8%, 효소 0.5 U/ml, 효소반응온도 40도, 24시간, HPLC를 이용 결과 분석

표 1. 반응 조건 A: 효소 반응 온도 40°C, 24 시간

Reagent	농도
Steviol glucosides	8%
Sucrose	각 2, 4, 6, 8, 10, 12%
pH 5.0 Na-Ac buffer	20 mM
Dextranucrase	0.5 U/mL

- 분석은 EtOH 전처리 없이 4배 희석 후 진행.
- 반응 전 후 크로마토그램 큰 차이의 변화 없음. - 수용체 반응이 거의 일어나지 않음(그림 1. 참고)

그림 1. 효소 반응 조건 A에 따른 HPLC 크로마토그램(NH₂ 컬럼사용)



- 정량 분석 결과 Sucrose의 양이 증가 할수록 Stevioside와 Rebaudioside A의 전환율이 점차 증가
- Viscosity는 차이가 거의 없음. -
- 반응이 거의 일어나지 않은 것으로 보임.
- 효소 농도와 반응온도가 반응에 영향이 많을 것으로 예상되어짐.
- 배당체의 경우 반응 전후에 차이가 없었음.

표 2. 반응조건 A에 따른 배당체 정량 및 Stevioside, Rebaudioside A 전환율

Suc	Stevioside	Stevioside Conversion	Rebaudioside A	Rebaudioside A Conversion
Reaction Before	14.8 mg	0.0%	50.0 mg	0.0%
2%	14.4 mg	0.0%	46.4 mg	0.0%
4%	14.4 mg	2.8%	47.6 mg	-1.8%
6%	14.0 mg	2.8%	45.2 mg	1.8%
8%	14.0 mg	2.8%	45.2 mg	1.8%
10%	13.6 mg	2.8%	44.0 mg	2.6%
12%	13.2 mg	5.7%	42.8 mg	4.4%

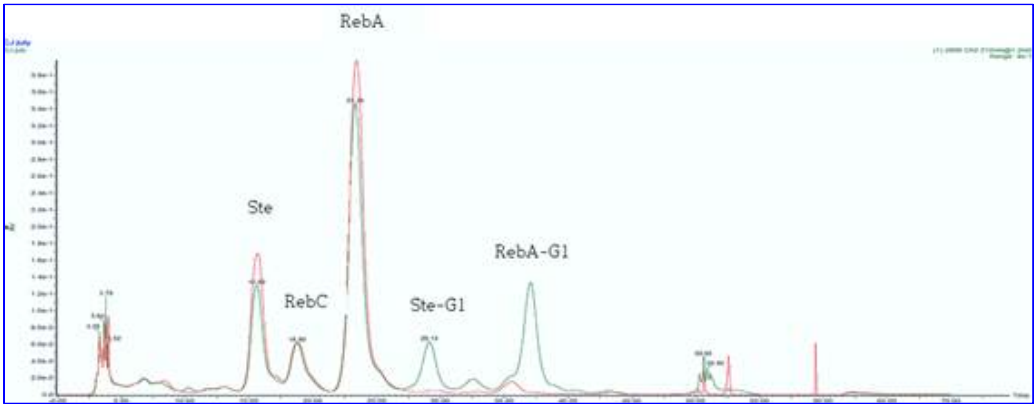
○ 조건B: Sucrose 6%, stevioside 6%, 효소 0.5 U/ml, 효소반응온도 28도, 24시간, HPLC 분석

표 3. 반응 조건B: 효소 반응 온도 28°C, 24 시간

Reagent	농도
Steviol glycosides	6%
Sucrose	6%
pH 5.2 Na-Ac buffer	20 mM
Dextranucrase	0.5 U/mL

- 정량분석을 통해 Stevioside는 32.5%, Rebaudioside A는 15.5%의 전환율 확인.
- 분석은 EtOH 전처리 없이 3배 희석 후 진행.
- 매우 낮은 전환율 보임 (Stevioside, Rebaudioside A 감소 기준 각각 32.5%, 15.5%)
- 반응액내 Sucrose가 다량 남아있어 반응 조건에 필요한 Enzyme 농도를 더 높일 필요가 있음.
- 매우 낮은 배당체 생성량을 보여 반응조건 변경이 필요함.

그림 2. 효소 반응 조건 B에 따른 HPLC 크로마토그램(NH₂ 컬럼사용)



○ 조건C (제안 반응 조건): Sucrose 6~48%, stevioside 6%, 효소 2.0 U/ml, 효소반응온도 28도, 24시간, HPLC (NH₂ 또는 C18 컬럼 이용) 분석

표 4. 반응 조건 C(제안 반응 조건)

Reagent	농도
Steviol glycosides	6%
Sucrose	각 6%, 12%, 18%, 24%, 36%, 48%
pH 5.2 Na-Ac buffer	20 mM
Dextranucrase	2.0 U/mL

- NH₂컬럼 이용 HPLC 분석 결과, STV:SUC=1:4 조건에서 가장 높은 전환율을 보였으나, 당이 1개 붙은 배당체의 생성량은 STV:SUC=1:8 조건에서 가장 높게 나타남.
- Sucrose의 비율이 높을수록 Viscosity 높아지는 현상 확인

그림 3. 효소 반응 조건 C에 따른 HPLC 크로마토그램 (NH₂ 컬럼 통한 분석)

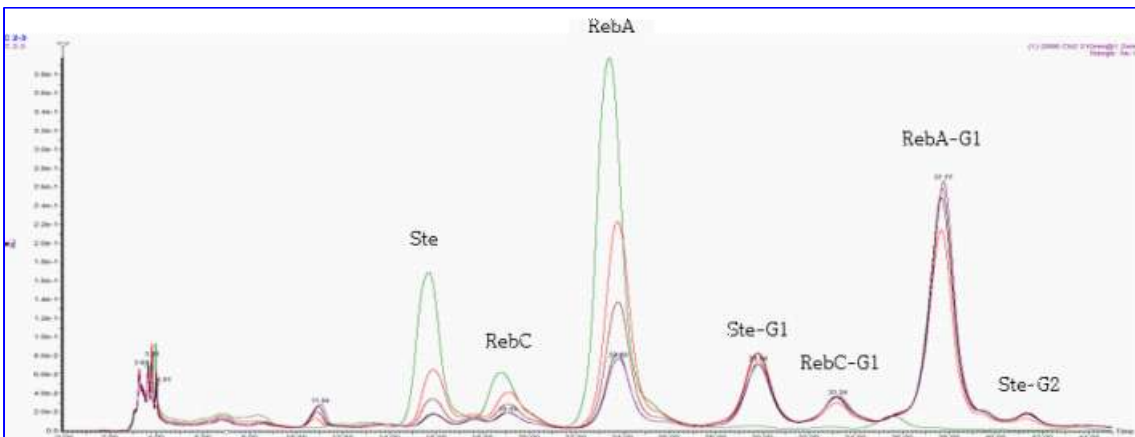


표 5. 반응조건C에 따른 배당체 생성량 및 전환율

STV:SUC	STV	Reb A	STV-G1	RebA-G1	Stevioside Conversion	Rebaudioside A Conversion
Reaction Before	11.4 mg	35.1 mg	0.3 mg	1.5 mg	0%	0%
1:1	3.6 mg	19.2 mg	7.2 mg	20.7 mg	67.5%	45.7%
1:2	1.5 mg	11.7 mg	7.2 mg	24.3 mg	85.0%	66.4%
1:3	0.6 mg	6.9 mg	6.0 mg	23.7 mg	92.5%	80.2%
1:4	0.6 mg	6.6 mg	6.3 mg	24.9 mg	95.0%	81.0%
1:6	0.9 mg	7.2 mg	6.6 mg	24.9 mg	92.5%	79.3%
1:8	1.5 mg	10.2 mg	7.5 mg	25.2 mg	87.5%	70.7%

- C18 컬럼 이용 HPLC 분석 (20~30% ACN 용매 구배 조건), EtOH 전처리 없이 sample을 3배 희석한 후 분석, area값을 통한 비교
- 당 2개 이상 붙은 compounds의 경우 Intensity가 당 1개 붙은 compounds와 같다는 가정 하에 Chromatogram의 Area값으로 예상하여 계산.

그림 4. 효소 반응 조건 B에 따른 HPLC 크로마토그램 (C18 컬럼 통한 분석)

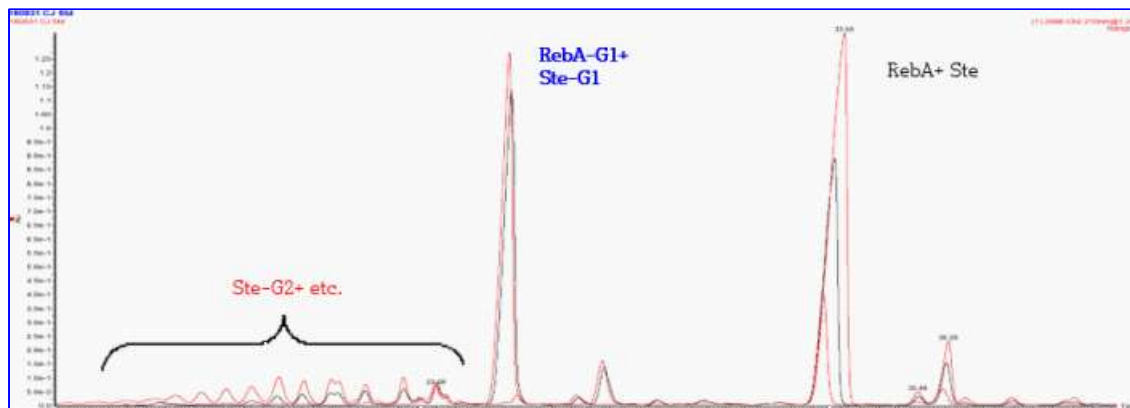


표 6. 반응조건C에 따른 포도당(1개~2개) 전이 스테비올배당체 생성량 및 함량

Compound Ste:Suc	당이 1개 붙은 compounds	RebaudiosideA- G1 + Stevioside-G1	당이 2개 이상 붙은 compounds	예상되는 당 2개 이상 붙은 compounds
1:1	80.3%	27.9 mg	19.7%	6.8 mg
1:2	73.6%	31.5 mg	26.4%	11.3 mg
1:3	69.5%	29.7 mg	30.5%	13.0 mg
1:4	67.7%	31.2 mg	32.3%	14.9 mg
1:6	67.7%	31.5 mg	32.3%	15.0 mg
1:8	71.1%	32.7 mg	28.9%	13.3 mg

(2) 당전이 STV별 구조 결정 및 기능성 연구 및 활용성 개발

○ 스테비올 배당체의 구조 결정: 스테비올 글루코사이드

- 실험 방법

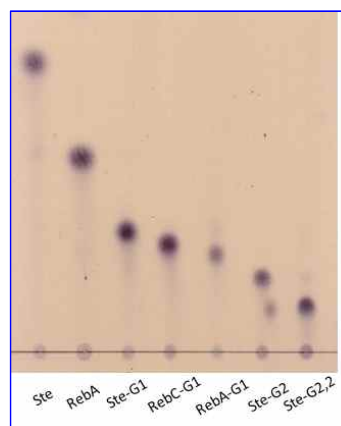
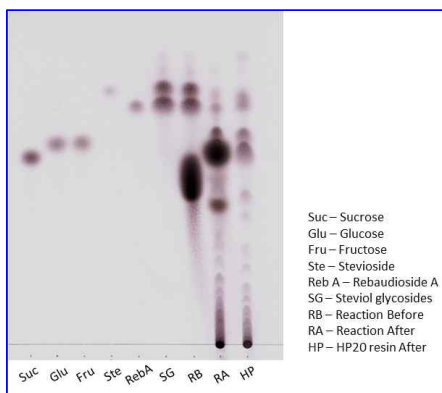
① HPLC를 이용한 배당체의 단일 산물 분리: NH₂ 컬럼, C18컬럼 사용.

② 당전이스테비올배당체 생성 반응조건: 28°C, 12시간

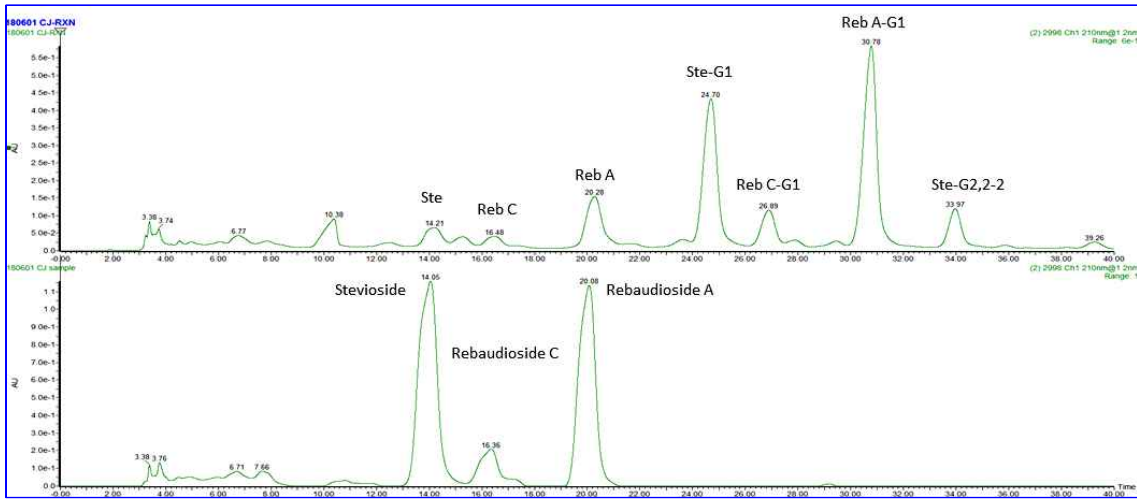
Reagent	농도
Steviol glycosides	50 mM
Sucrose	500 mM
pH 5.2 Na-Ac buffer	20 mM
Dextranucrase	5 U/mL

- 실험결과

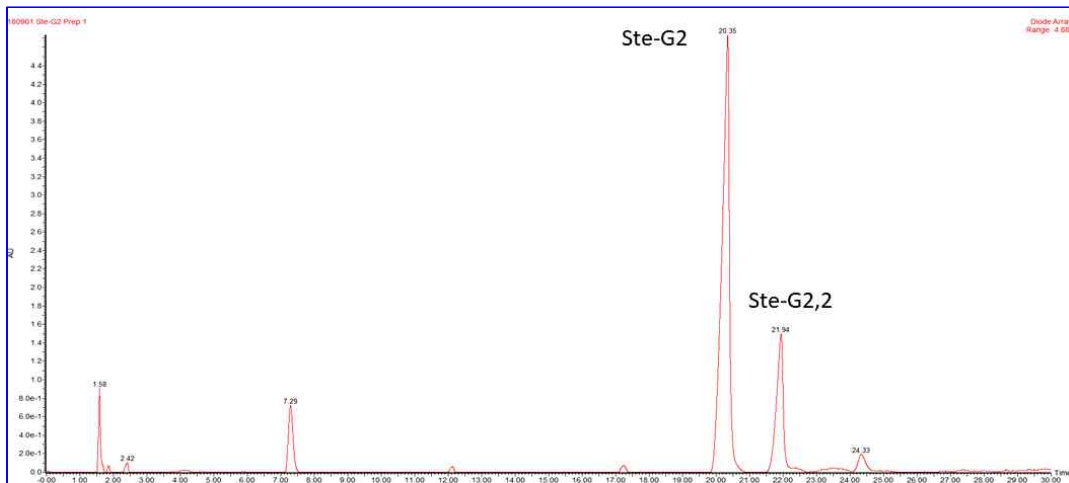
① TLC 분석 결과



② HPLC 분석 NH₂ column, 210nm

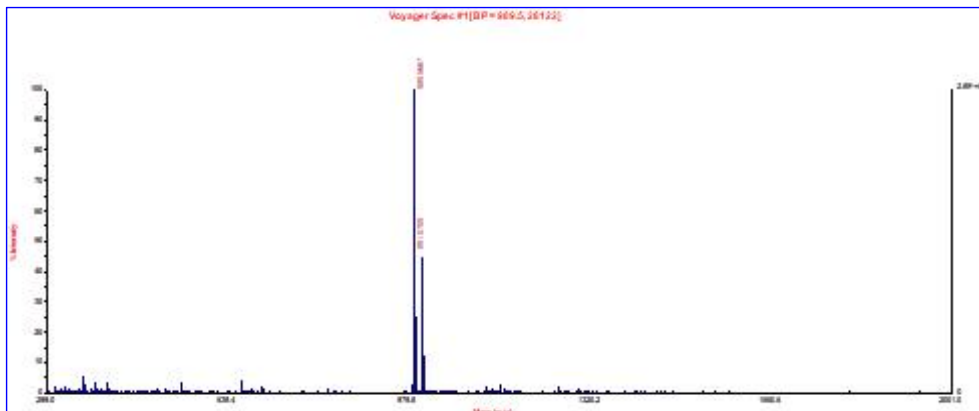


③ HPLC 분석 C18 column, 210nm (Ste-G2 2차정제)

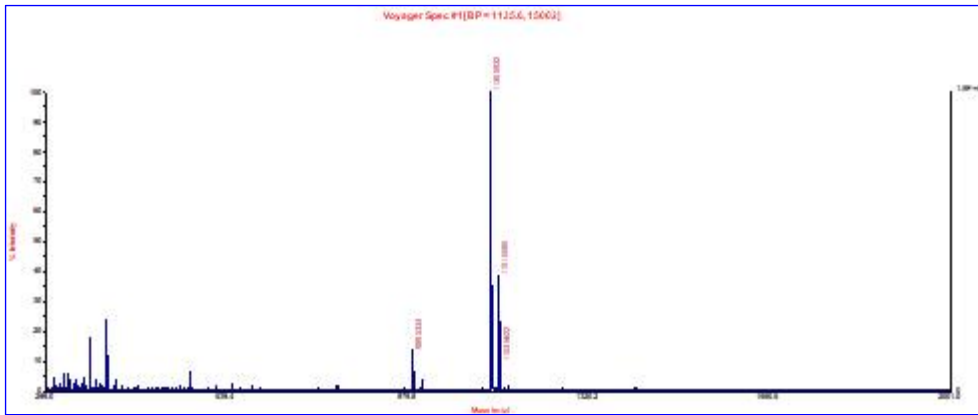


④ MALDI-TOF 분석 결과

1) Ste-G1



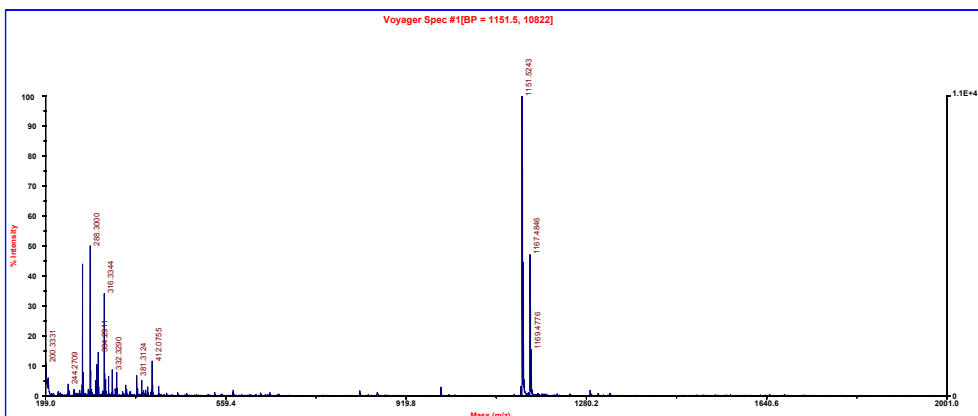
2) Reb C-G1



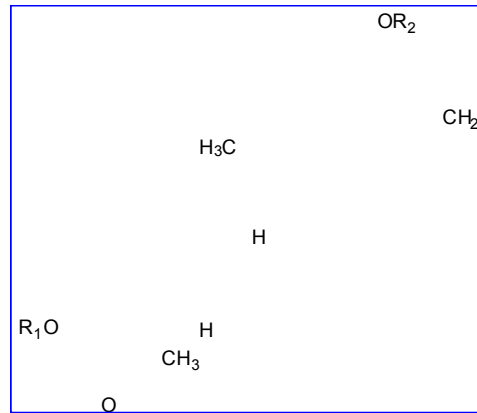
3) Reb A-G1



4) Ste-G2



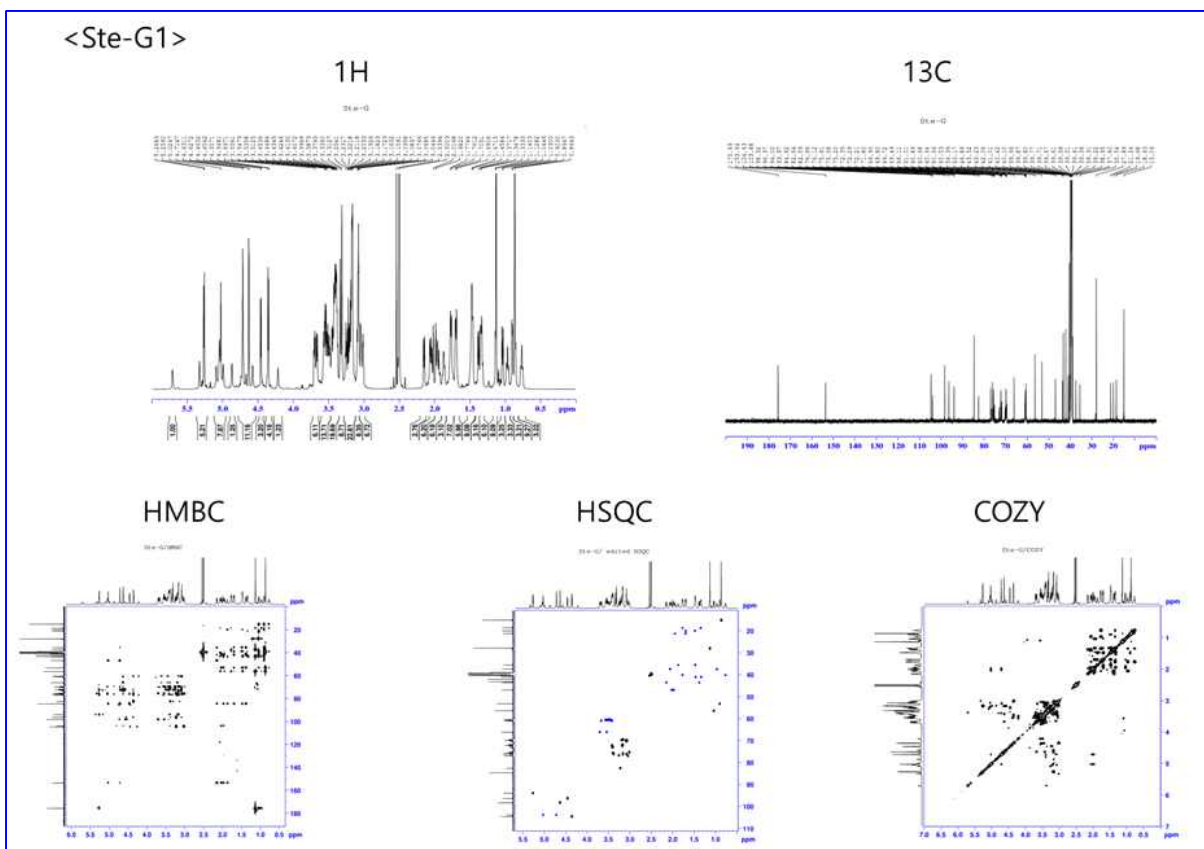
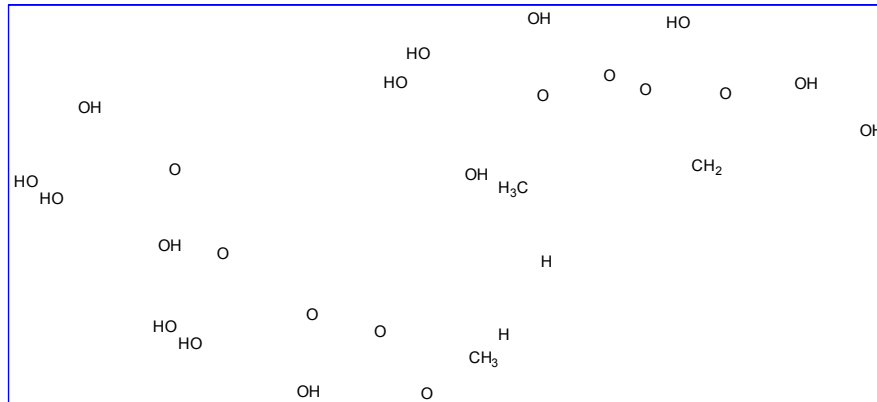
⑤ 구조결정



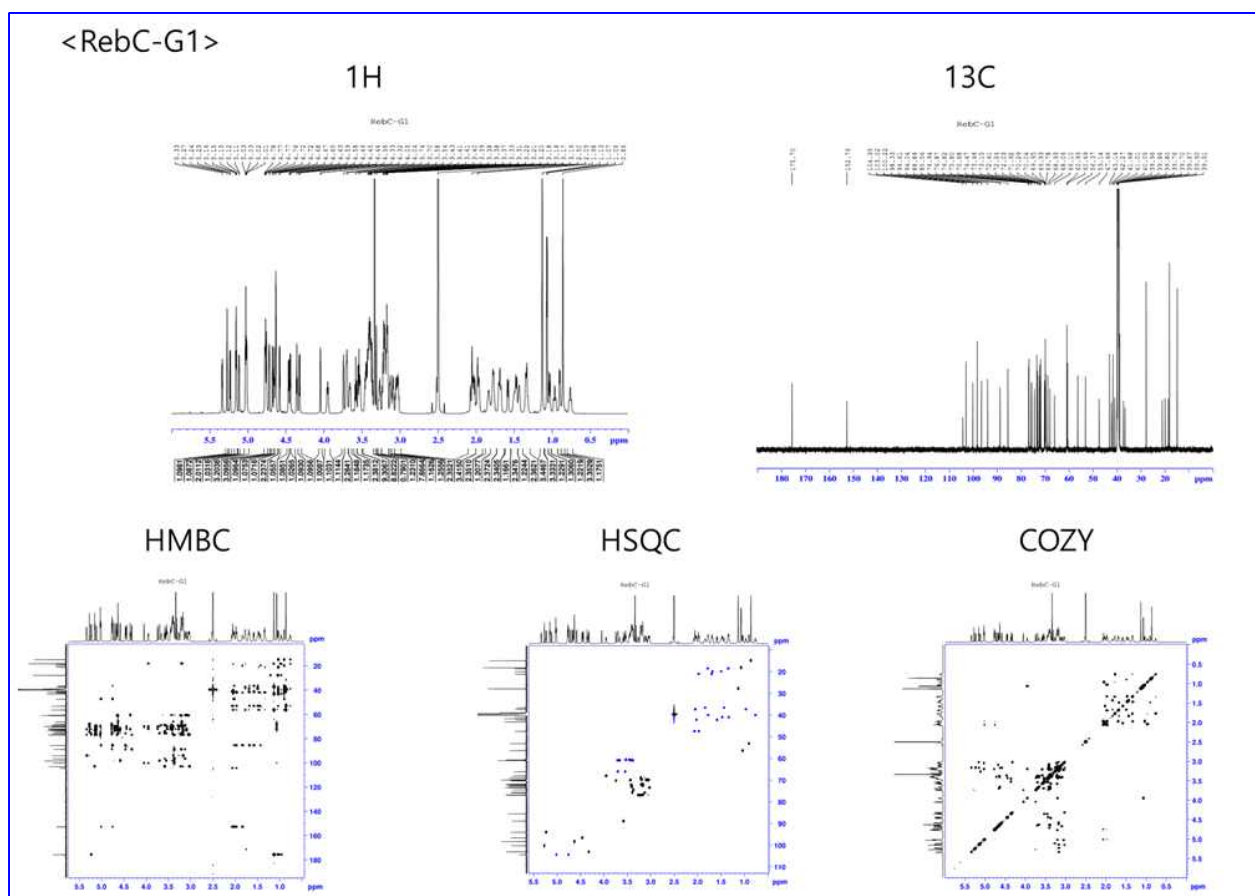
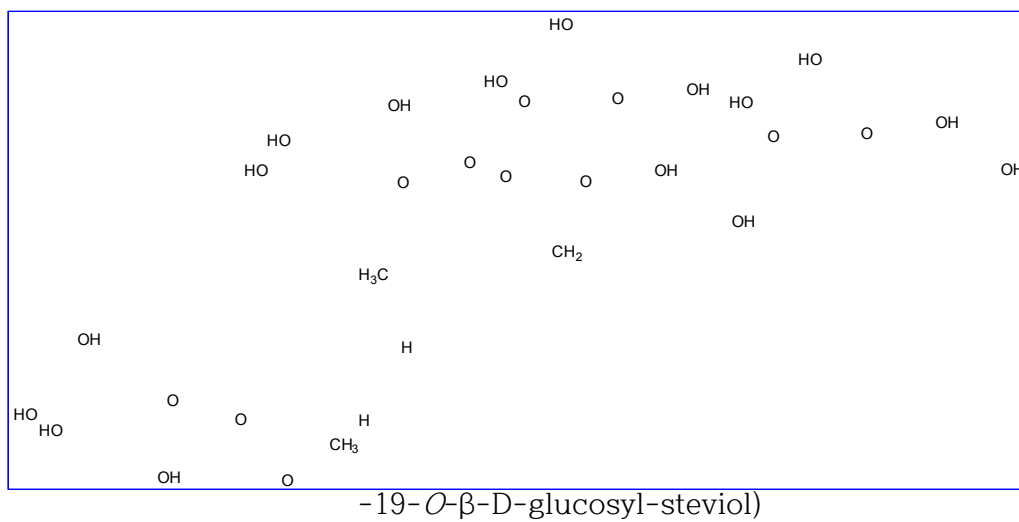
	Glycoside	R1	R2	Formula
	Stevioside	β Glc	β Glc-(2-1)- β Glc	$C_{38}H_{60}O_1$ 8
①	Stevioside-G1(**)	β Glc-(6-1)- α Glc	β Glc-(2-1)- β Glc	$C_{44}H_{70}O_2$ 3
②	Rebaudioside C-G1(*)	β Glc	β Glc-(2-1)- α Rha $L(3-1)-\beta$ Glc-(6-1)- α Glc	$C_{50}H_{80}O_2$ 7
③	Rebaudioside A-G1(**)	β Glc-(6-1)- α Glc	β Glc-(2-1)- β Glc $L(3-1)-\beta$ Glc	$C_{50}H_{80}O_2$ 8
④	Stevioside-G2-1(*)	β Glc-(6-1)- α Glc	β Glc-(2-1)- β Glc $L(6-1)-\alpha$ Glc	$C_{50}H_{80}O_2$ 8
	Rebaudioside C	β Glc	β Glc-(2-1)- α Rha $L(3-1)-\beta$ Glc	$C_{44}H_{70}O_2$ 2
	Rebaudioside A	β Glc	β Glc-(2-1)- β Glc $L(3-1)-\beta$ Glc	$C_{44}H_{70}O_2$ 3

Position	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	0.77 1.77	40.09	0.77 1.77	40.1	0.76 1.78	40.42	0.76 1.78	40.42	0.76 1.77	40.42	0.77 1.77	40.07
2	1.35 1.76	18.68	1.35 1.76	18.63	1.34 1.79	18.68	1.34 1.79	18.68	1.34 1.78	18.58	1.35 1.75	18.61
3	0.90 2.06	37.38	0.90 2.06	37.4	0.96 2.07	37.42	0.96 2.07	37.42	0.96 2.05	37.37	0.90 2.06	37.42
4		42.05		42.06		41.66		41.66		41.69		41.84
5	1.04 1.71	56.46	1.04 1.71	56.39	1.03 1.72	56.47	1.03 1.72	56.47	1.03 1.97	56.37	1.04 1.70	56.37
6	1.98 1.34	21.19	1.92 1.46	21.24	1.9 1.54	21.19	1.9 1.54	21.19	1.97 1.47	21.15	1.97 1.44	21.22
7	1.34 1.46	40.98	1.33 1.46	41.01	1.32 1.54	41.04	1.32 1.54	41.04	1.33 1.47	41.01	1.34 1.44	40.07
8		42.05		42.1		42.32		42.32		42.26		41.84
9	0.91	53.12	0.90	53.17	0.9	53.45	0.9	53.45	0.90	53.14	0.90	53.23
10		38.93		38.95		38.94		38.94		38.94		38.95
11	1.50 1.69	19.98	1.50 1.69	19.98	1.47 1.68	19.84	1.47 1.68	19.84	1.49 1.69	19.96	1.48 1.68	19.87
12	1.48 1.85	35.57	1.47 1.87	35.54	1.47 1.8	35.5	1.47 1.87	37.3	1.43 1.84	36.65	1.48 1.87	36.21
13		84.63		84.62		84.61		85.42		85.56		85.2
14	1.37 2.14	43.5	1.38 2.15	43.52	1.41 2.04	43.43	1.38 2.15	43.2	1.58 2.02	43.14	1.35 2.09	43.18
15	1.98 2.02	46.89	1.98 2.02	46.89	1.98 2.08	46.87	1.98 2.02	47.25	1.97 2.06	47.46	1.99 2.03	47.01
16		153.58		153.64		153.63		152.79		152.76		153.23
17	4.71 5.03	103.92	4.71 5.04	103.88	4.74 5.03	103.87	4.71 5.03	104.24	4.76 5.01	104.34	4.73 5.04	103.9
18	1.14	28.07	1.13	27.89	1.12	28.02	1.10	28.02	1.13 1.23	27.84	1.13	27.93
19		175.66		175.69		175.74		175.55		175.69		175.65
20	0.87	15.14	0.86	15.09	0.85	15.12	0.85	15.12	0.86	14.89	0.86	14.98
Glucose- I												
1'	5.25 (d, J=8.16)	94.15	5.26 (d, J=7.91)	93.97	5.29 (d, J=8.16)	93.86	5.26 (d, J=8.16)	93.98	5.24 (d, J=8.21)	94.04	5.27 (d, J=8.16)	93.97
2'		72.55	3.18	72.21	3.21	71.94	3.18	72.00	3.17	72.21	3.18	72.23
3'		77.66	3.25	76.86	3.17	75.93	3.25	76.87	3.25	71.81	3.26	76.89
4'		69.51	3.20	69.8	3.28	69.81	3.21	69.57	3.05 3.43	70.17	3.20	69.96
5'		76.99	3.40	73.01	3.4	72.68	3.39	72.88	3.27 3.22	76.92	3.39	73.14
6'		60.49	3.54 3.69	66.11	3.54 3.70	66.1	3.53 3.74	65.68	4.65	62.84	3.54 3.70	66.15
Glucose- II												
1''	4.45 (d, J=7.65)	96.38	4.45 (d, J=7.65)	96.37	4.44	95.99	4.46 (d, J=7.7)	96.27	4.46 (d, J=7.91)	96.62	4.46 (d, J=7.74)	96.64
2''		82.65	3.22	82.59	3.23	82.13	3.22	82.57	3.37 3.58	74.45	3.56	86.14
3''		76.23	3.37	75.86	3.39	75.58	3.38	76.00	3.58	88.84	3.49	78.87
4''		70.34	3.07	70.22	3.1	70.06	3.07	70.07	3.09	69.67	3.16	68.89
5''		76.21	3.08	76.12	3.04	77.01	3.08	76.08	3.13	75.77	3.13	75.99
6''		61.01	3.49 3.56	60.55	3.54	60.4	3.49	60.63	3.43	69.83	3.69 3.54	60.85
Glucose- III												
1'''	4.35 (d, J=7.74)	104.65	4.35 (d, J=7.65)	104.63	4.37 (d, J=7.8)	104.38	4.36 (d, J=7.8)	104.53	4.32 (d, J=7.86)	103.02	4.42 (d, J=7.91)	103.04
2'''		75.33	3.01	75.24	3.05	75.2	3.02	75.22	3.02 3.44	73.35	3.03	73.67
3'''		76.02	3.16	75.91	3.21	76.2	3.16	75.85	3.09	69.91	3.19	76.93
4'''		69.63	3.16	69.58	3.11	69.86	3.16	69.59	3.55 3.7	68.93	3.16	69.83
5'''		76.91	3.05	76.96	3.03	76.91	3.04	76.94	3.04	69.74	3.05	76.64
6'''		60.66	3.45 3.52	60.66	3.59	60.65	3.56	60.57	3.45 3.52	60.56	3.45 3.52	60.68
Glucose-IV						Rhamnose- I			Glucose-IV			
1''''			4.63 (d, J=7.65)	98.32	4.63 (d, J=3.57)	98.1	4.67 (d, J=3.57)	98.01	5.27	100.21	4.63	98.33
2''''			3.40	72.29	3.17	72.56	3.16	72.00	3.2	68.84	3.41	72.40
3''''			3.39	75.61	3.41	75.61	3.26	75.58	3.95	68.05	3.39	75.58
4''''			3.08	69.9	3.09	69.77	3.17	69.59	3.66	60.81	3.05	70.06
5''''			3.16	75.91	3.28	72.25	3.53	75.71	3.74	72.01	3.17	76.55
6''''			3.42 3.67	60.95	3.46 3.67	60.54	3.46 3.68	61	1.07	18.16	3.42 3.61	60.96

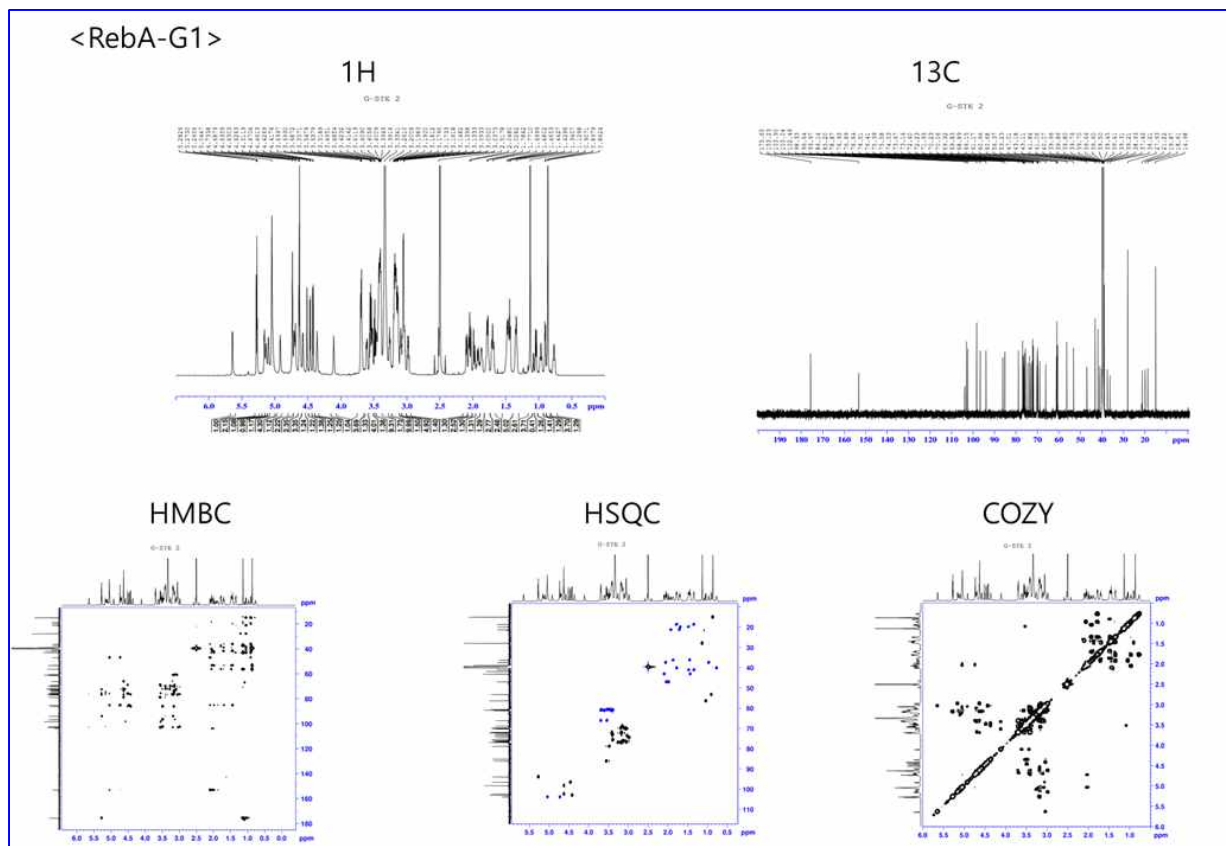
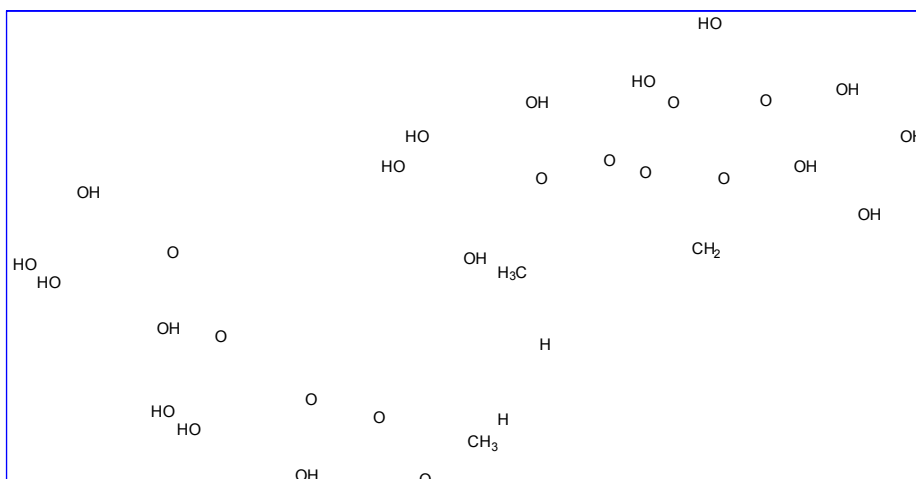
1) Ste-G1 (13-*O*- β -sophorosyl-19-*O*- β -isomaltosyl-steviol)



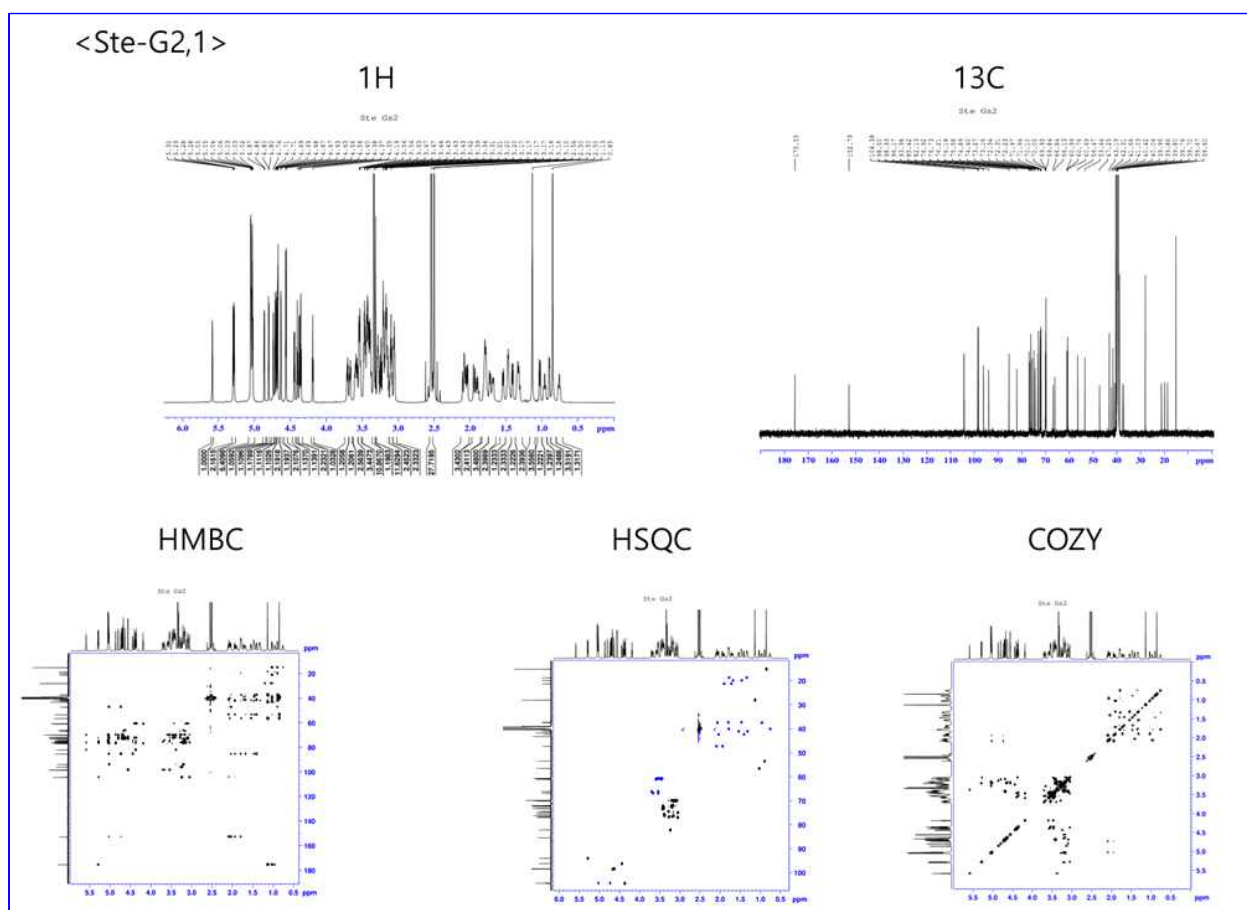
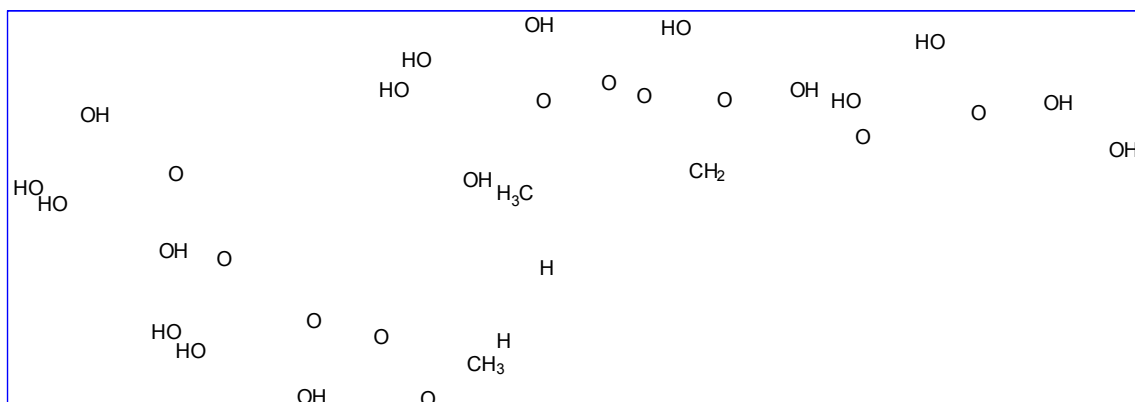
2) RebC-G1 (13-*O*-[α -neohesperidosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucosyl-(1 \rightarrow 6)- α -glucosyl]



3) Reb A-G1 (13-*O*-[β -sophorosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucosyl]-19-*O*- β -isomaltosyl-steviol)



4) Ste-G2,1 (13-O-[β-sophorosyl-(1→6)β-glucosyl]-19-O-β-isomaltosyl-steviol)



(3) 스테비올 배당체의 구조 결정: 과당전이효소를 이용한 rubusoside(Ru)의 배당체 합성 연구

○ 목적: 루부소사이드-프락토사이드(Ru-F)의 합성과 구조 결정

○ 활용: Ru-F는 천연 감미소재로서 기존의 루부소사이드의 항-신생혈관형성 및 항-알러지 효능, 항균, 및 천연용제로 난수용성 소재의 수용화 기능을 유지시키거나 강화시킬 수 있어 기능 확장품 및 식품 소재로 활용될 수 있을 것으로 기대

○ 배경:

- 최근 설탕의 과잉 섭취와 기존 당류의 다량 섭취로 생기는 충치, 비만, 당뇨병, 성인병 등의 문제점을 보완하기 위해서 생물공학 기술을 통해 천연 식품 소재의 새로운 대체 당질이 개발되고 있음.

- 천연 고감미료 소재의 주요 시장인 한국·미국(유럽)에서 사용이 가능한 고감미료 소재는 총 8종 성분이 있으며, 이 중 천연 컨셉 부여가 가능한 제품은 단 2종 (Stevioside계열, Mogroside계열)이 존재.

- 각 소재의 원료(Stevia Leaf, Luo Han Guo Fruit)의 감미성분 함량, 경작 환경 등을 분석한 결과, 기존의 설탕 혹은 합성감미료와 유사한 단위원가(가공식품에 적용 시 감미료가 차지하는 가격 수준)가 가능한 천연 고감미료 소재는 Stevioside 계열이 유일하다고 알려져 있음.

- 스테비오사이드는 천연 감미료의 일종으로 설탕에 비하여 저칼로리이며 감미도는 설탕의 약 200-300배로 높아 그의 수요가 급속하게 높아지고 있음.

- 스테비오사이드는 남미 파라과이가 원산지인 국화과 다년생 초본인 스테비아 레바우디아나 베르토니 (*Stevia rebaudiana* BERTONI)로부터 추출한 감미성분으로 스테비아의 단맛 성분으로는 스테비오사이드(C₃₈H₆₀O₁₈), 레바우디오사이드 A(C₄₄H₇₀O₂₃), 레바우디오사이드 C, D, E, 돌코사이드 A 등이 알려져 있음.

- 천연 감미료로서 전세계적으로 사용되고 있는 스테비아는 미국의 식품음료산업에서 빠르게 성장하고 있으며, 미국식품의약국(FDA)에 의해 주요 식품원료 중 하나로 선정.

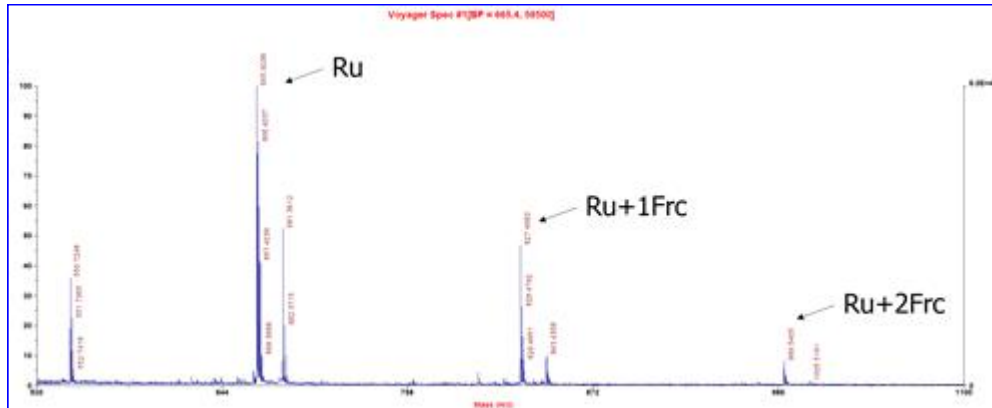
- 각 성분은 모두 diterpene계 물질인 Steviol에 다양한 형태의 당(포도당, 만노스)이 결합된 형태에 따라서 분류되며, 각 물질은 조금씩 다른 감미도 및 미질을 가지고 있어, 상대적으로 Stevioside에 비하여 Rebaudioside 계열의 구조가 미질이 우수한 것으로 알려져 있음.

- 하지만, 스테비오사이드는 뒷맛이 오래 남으며 단맛 이외에 쓴맛, 불쾌감, 낮은 수용성 등의 개선점을 지니고 있으며, 그로 인해 사용량 및 용도의 한계가 있음.

- 스테비오사이드의 감미질 개선 방법은 (1) 설탕, 포도당, 과당 등과 같은 천연 당질 감미료를 1종 또는 그 이상을 첨가하는 방법, (2) 아미노산 또는 아미노산의 염과 배합하는 방법, (3) 싸이클로덱스트린과 같이 포접능을 갖는 환형 당질에 물리적으로 결합시키는 방법 등이 있음.

- 그러나 이상의 방법은 첨가물을 상당히 많은 양을 첨가하여야 하며 결국 스테비오사이드가 저칼로리 감미료라는 특징을 잃어버리는 단점이 있음. 본 연구에서는 루부소사이드에 과당을 전이하여 신규 감미소재를 개발 함.

그림 5. rubusoside 배당체 합성 및 Ru-Frc 1~4 합성된 배당체와 MALDI-TOF를 이용한 루부소사이드 배당체 혼합물의 분자량 확인. Ru : 루부소사이드, Glc : 포도당, 1 : 수용체 반응 직후, 2 : 수용체 반응 직후 90% 에탄올로 고분자 제거한 직후의 시료, 3 : 수용체 반응을 시킨 뒤 고분자와 단당 및 이당류를 제거한 후

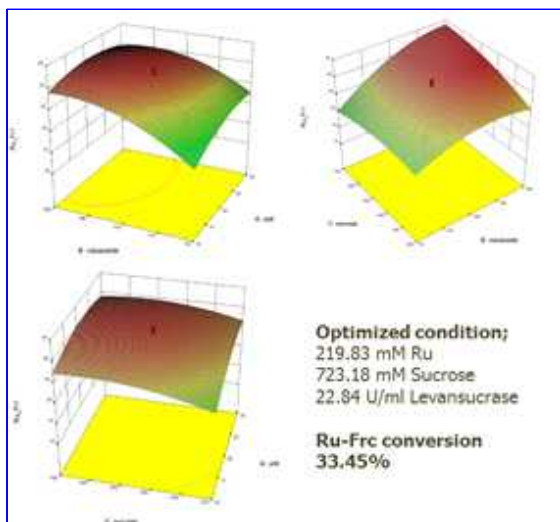


▶ 루부소사이드-프락토사이드의 MALDI-TOF를 이용한 분자량 확인 결과(A, Ru-Frc1; B, Ru-Frc2; C, Ru-Frc3; D, Ru-Frc4)

○ Acceptor reaction 결과 및 분자량 측정: Acceptor reaction 조건 최적화

- 3가지 요소를 고려한 최적화 조건 확립: 루부소사이드 농도, 수크로오즈 농도, 효소 농도
- 루부소사이드-프락토사이드의 RSM 프로그램(Design Expert 10 program (Stat-Ease, Inc. USA)을 이용한 수용체 반응의 최적화 조건을 나타냄.
- 그 결과, 219 mM 루부소사이드, 723 mM 수크로오즈, 23 U/mL 레반수크라제 조건에서 최고 33%의 전환율을 나타냄.

그림 6. RSM 프로그램(Design Expert 10 program (Stat-Ease, Inc. USA)을 이용한 수용체 반응의 최적화 조건



Run No.	Independent variables			Ru-Frc conversion(%)	
	X1	X2	X3	Actual	Predicted
1	10	70	750	19.2152	16.3265
2	10	70	250	18.2542	17.2368
3	20	150	500	30.1235	30.174
4	20	150	500	31.2456	30.174
5	30	230	250	22.1532	24.4169
6	20	150	500	31.1512	30.174
7	20	15.6	500	11.2542	13.752
8	30	70	750	18.242	19.8922
9	36.8	150	500	28.1532	26.745
10	20	150	500	29.1532	30.174
11	3.2	150	500	20.2153	22.5093
12	20	150	500	30.2154	30.174
13	10	230	250	25.2153	22.9401
14	20	150	80	21.2652	23.0326
15	20	150	500	29.3125	30.174
16	20	284.4	500	30.0213	28.4092
17	30	70	250	25.1245	22.6781
18	30	230	750	31.2456	31.638
19	10	230	750	30.2153	32.0367
20	20	150	920	29.2153	28.3336

X1, the concentration of Levanucrase
 X2, the concentration of Rubusoside
 X3, the concentration of Sucrose

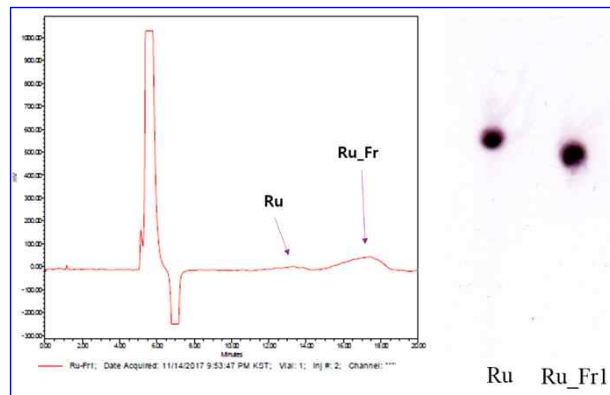
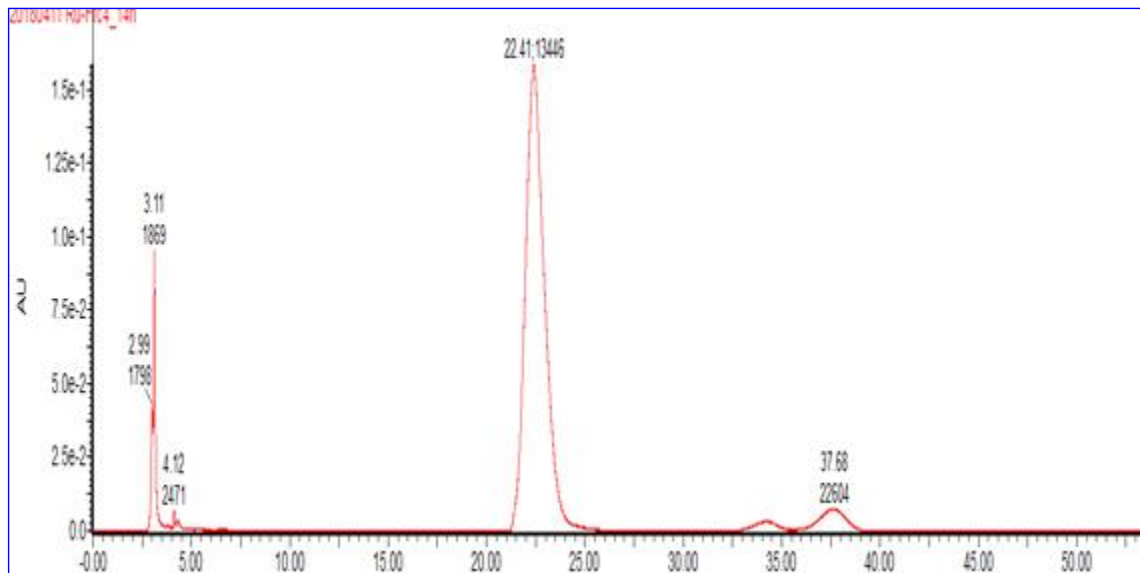
○ Rubusoside 배당체의 정제: HPLC를 이용한 정제

그림 7. HPLC를 이용한 루부소사이드 배당체의 정제 조건

System	Waters 2545 Binary Gradient Module (Pump) 2767 sample manager (Injector) 2998 PDA detector
Column	Luna® 5 µm NH2 100Å(250×21.22 mm) (Phenomenex, USA)
Temperature	Room temperature
Solvent	(A) Water (B) Acetonitrile
Flow rate	20mL/min
Absorbance	210 nm

그림 8. HPLC를 이용한 루부소사이드-프락토사이드의 배당체의 정제.

Lane Ru: Rubusoside, Lane Ru_Fr1: Rubusoside 배당체 (Rubusoside + 1 Fructose)



○ Rubusoside 배당체의 구조 분석: 루부소사이드-프락토사이드의 NMR (850MHz) 분석 도표

그림 9. NMR (850MHz) 분석 도표

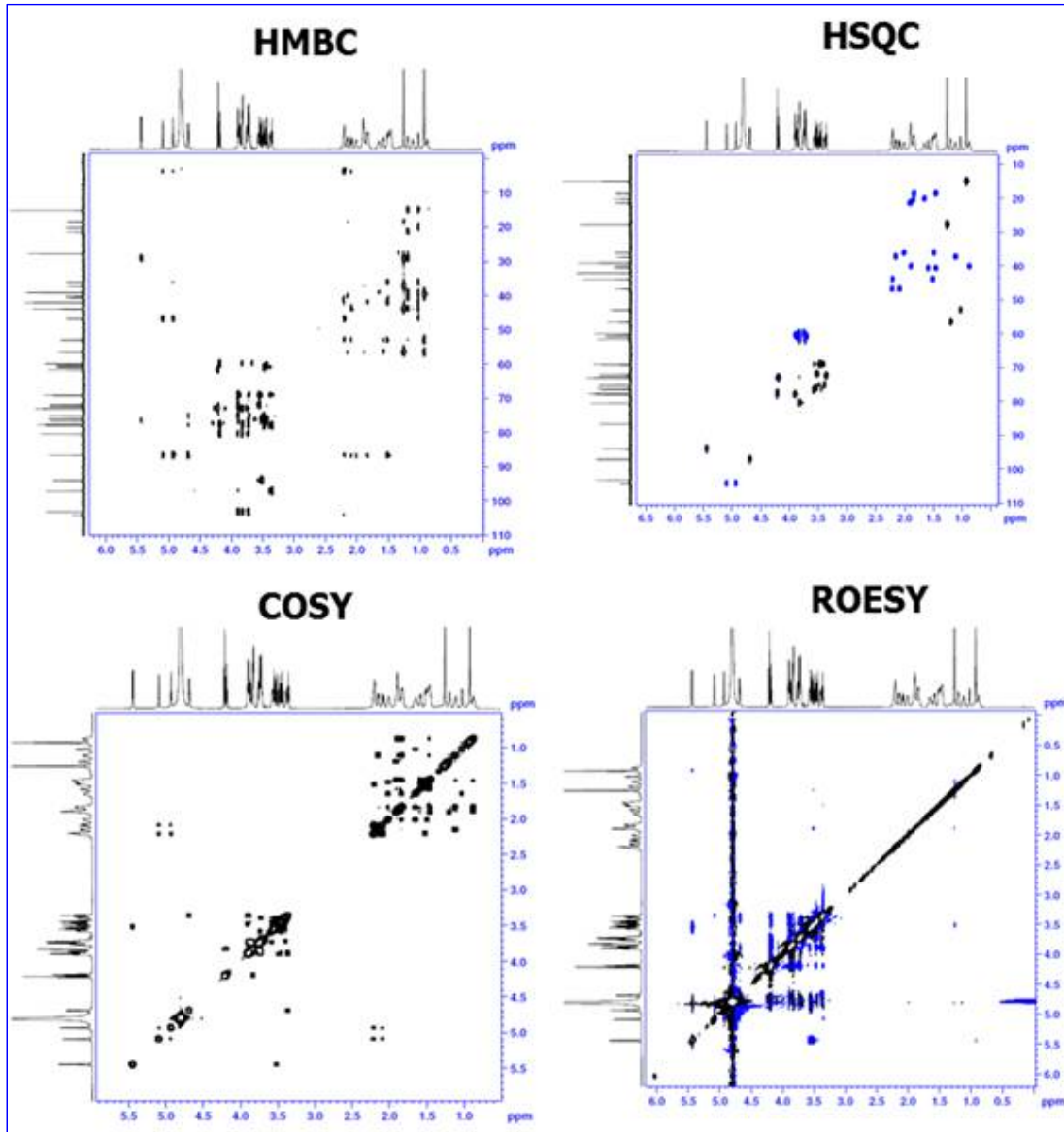


그림 10. Ru-Frc 1(**Fructosyl-rubusoside 1**) 의 구조. 13-O-[β -fructofuranosyl-(2 \rightarrow 6)- β -D-glucosyl]-19-O- β -D-glucosyl-steviol

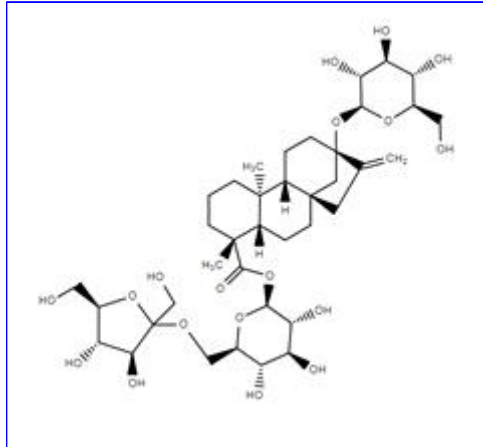
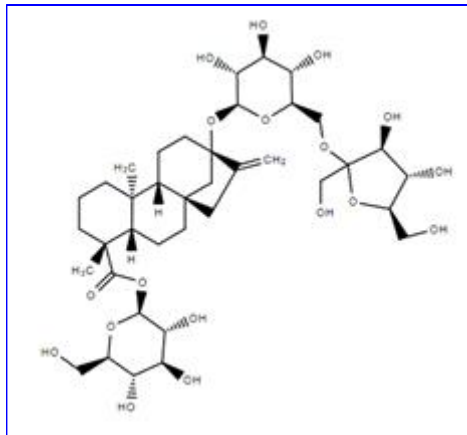


그림 11. Ru-Frc 2(**Fructosyl-rubusoside 2**) 의 구조: 13-O- β -D-glucosyl-19-O-[β -fructofuranosyl-(2 \rightarrow 6)- β -D-glucosyl]-steviol



○ 결론

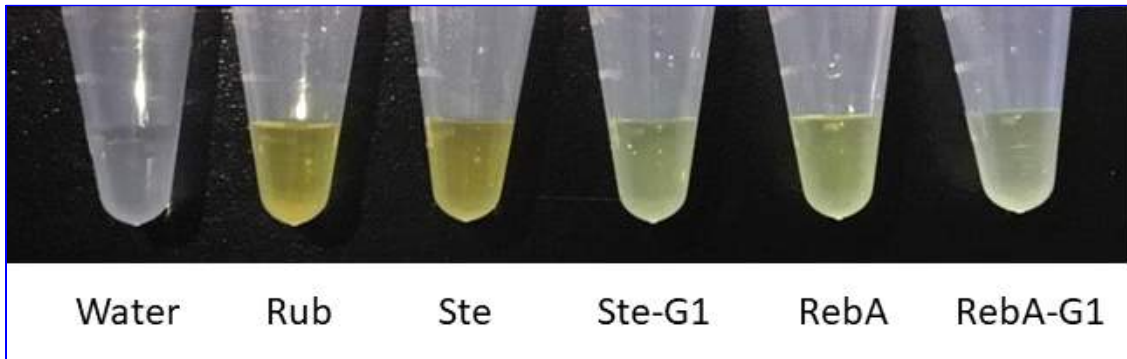
- 루부소사이드와 효소를 이용하고 루부소사이드를 수용체로 사용하여 신규한 루부소사이드-과당 배당체를 합성 할 수 있음을 확인하였으며, 루부소사이드에 과당을 전이함으로써 새로운 기능성 소재로써 활용이 기대됨
- 설탕의 과도한 섭취에 대한 문제가 대두되는 시기에, 루부소사이드-과당 배당체는 천연 물질 유래 식품소재로써 당류 섭취 저감화에 큰 기여를 할 것으로 기대됨.

(3) 당전이 STV별 향당뇨, 향산화, 항노화 관련 기능 성분의 수용화 연구

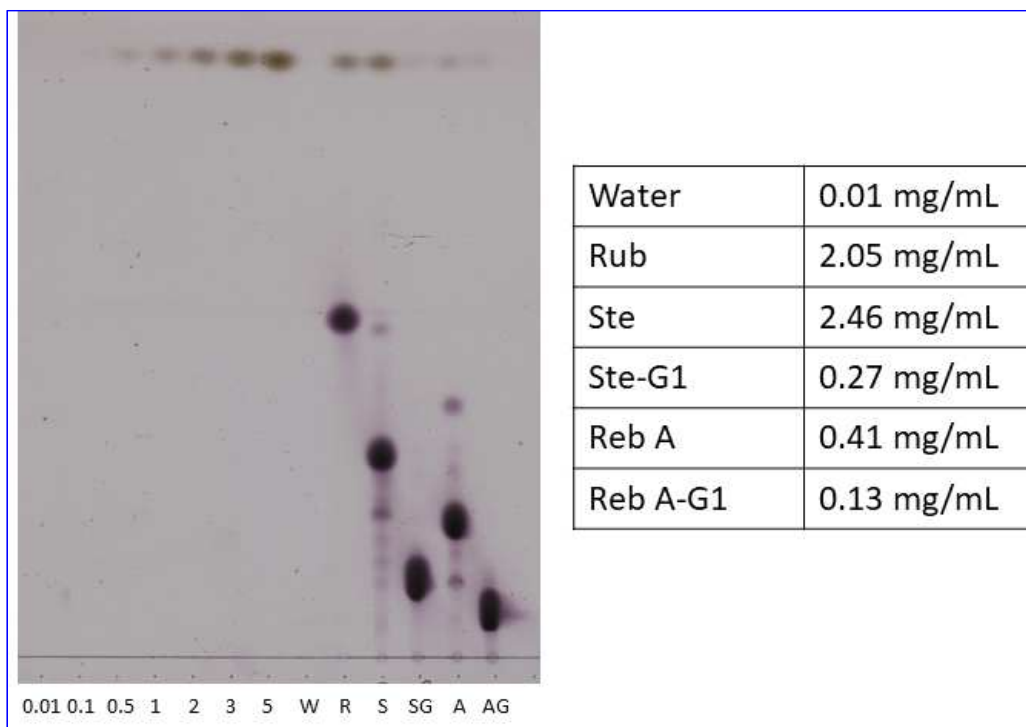
○ Idebenone 수용화

- Idebenone : Steviol glycosides = 1 : 10
- Idebenone 5mg/mL, Steviol glucoside 50 mg/mL

그림 12. Idebenone 수용화



Water Rub Ste Ste-G1 RebA RebA-G1



- 불용성 항산화 소재 이데베논을 수용화 함.
- 스테비올 배당체의 종류에 따라 수용화 정도가 차이 있으며, 스테비오사이드, 루부소사이드가 수용화 정도가 가장 높음.

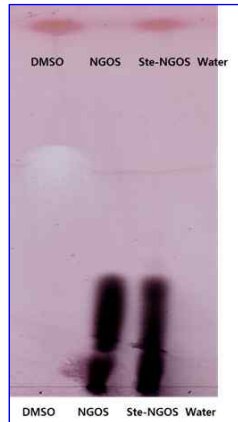
○ 스테비올 올리고당을 이용한 난수용성 소재의 수용화

- 목적: 유산균 발효액을 이용하여 스테비오사이드를 이용하여 만든 스테비올 올리고당으로 난수용성 화합물들을 수용화 함.
- 물에 잘 녹지 않는 화합물인 pterostilbene, quercetin을 스테비올 올리고당을 이용하여 수용화 진행함.

- 결과

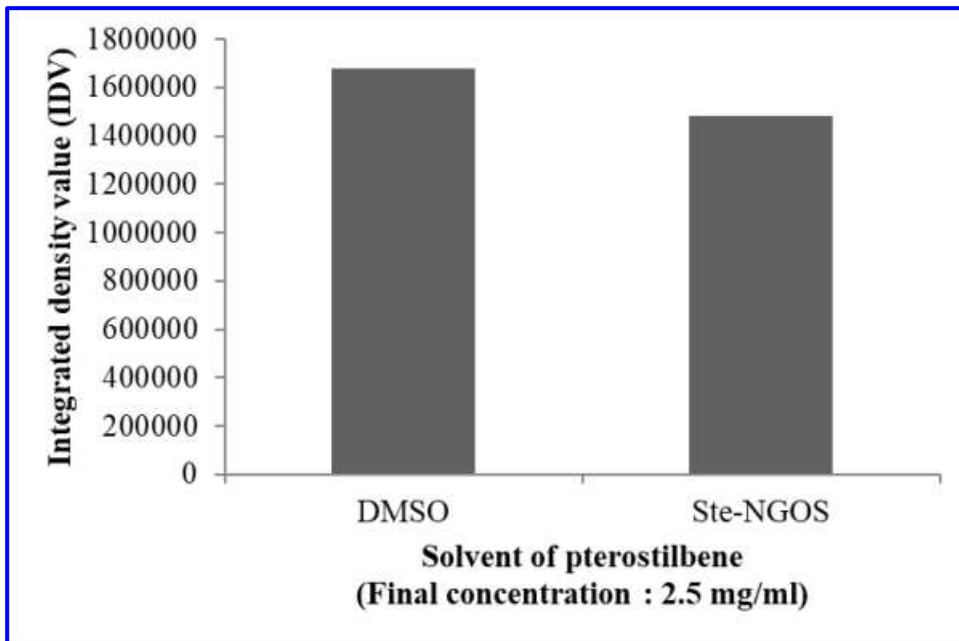
① Pterostilbene

그림13 . 발효올리고당 이용하여 pterostilbene 을 수용화한 후 분석한 TLC 크로마토그램.



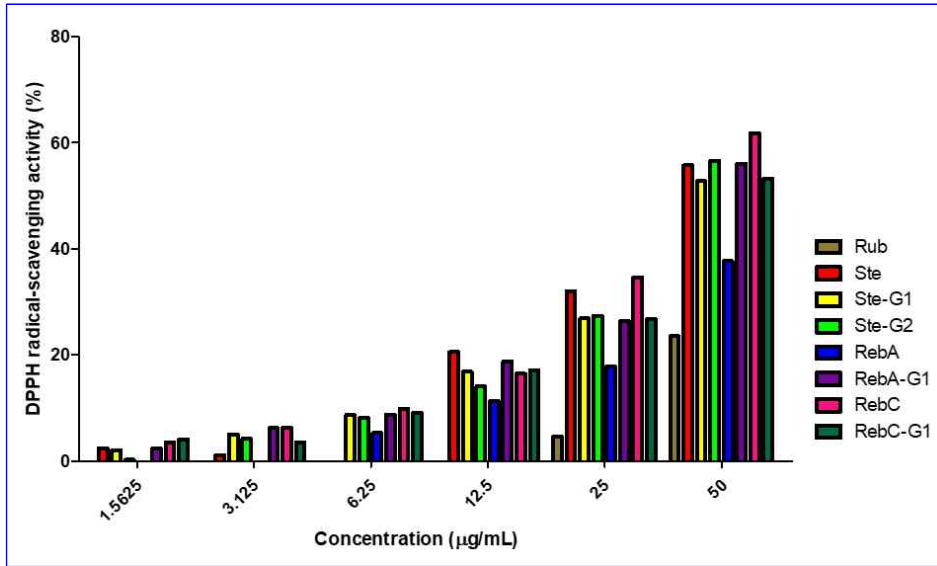
- 난수용성 소재인 pterostilbene을 DMSO, 발효올리고당, 스테비올 발효올리고당, 그리고 물에 각각 녹인 반응물을 얇은 막 크로마토그래피 (TLC)를 이용해 분석한 결과, 스테비올 발효올리고당에 녹인 반응물에서만 수용화된 것을 확인함.
- 상기 크로마토그램(그림 12. 참고)을 AlphaEaseFC 4.0 프로그램 이용하여 정량화 한 결과, 아래의 그림과 같이 DMSO에 pterostilbene을 녹인 시료에서는 1679028 (IDV) 값을, Ste-NGOS에 녹인 시료에서는 1485294 (IDV) 값을 가진 것을 확인할 수 있었음.
- 약 2.21 mg/mL의 pterostilbene이 녹은 것과 같음.

그림 14. Pterostilbene 용매 차이(DMSO VS. Ste-NGOS)에 따른 IDV



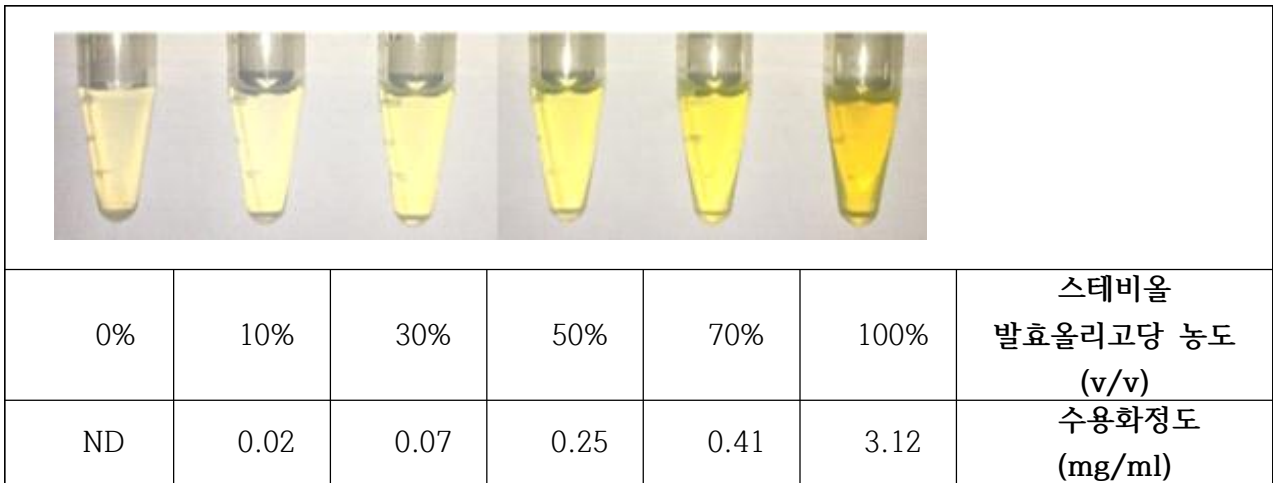
- 스테비오사이드와 배당체, 그리고 리바우디오사이드와 배당체를 이용하여 수용화한 프테로스틸벤의 항산화 특성이 유지됨 확인 함.

그림 15. 스테비올배당체 이용 수용화한 Pterostilbene의 항산화 특성(DPPH)



○ Quercetin의 수용화

- 스테비올 올리고당 이용 수용화



- ① 0 - 100 %(v/v) 농도의 스테비올 발효올리고당에 난수용성 물질인 quercetin(5 mg/mL)을 녹임.
- ② 이를 DMSO에 녹인 quercetin 으로 그린 표준곡선과 비교함. 그 결과 특히 100 %(v/v) 스테비올 발효올리고당을 사용한 경우 3.12 mg/ml의 농도로 quercetin 이 녹음을 확인함.
- ③ 이는, 발효올리고당의 결과와 비교해보았을 때, 더 높은 수용화 효과를 가지는 것을 확인할 수 있음.
- ④ 스테비올 발효올리고당의 농도가 증가할수록 quercetin에 대한 수용화 정도가 증가하는 양상을 확인함.

2-3. 위탁연구 결과

○ 당류저감화를 위한 저열량 복합 감미제의 감각적 특성 분석

- 다양한 스테비올 배당체 및 저열량 감미료의 감미질, 감미도를 포함한 감각적 특성 분석(1차년도)
- 스테비올 배당체와 다른 감미료(bulk 감미료 or 고감미료)의 2성분, 3성분 또는 4성분 조합 시 감미 기능성 분석(2, 3차년도)

2-1. 1차년도 : 복합 감미제 개발을 위한 저열량 감미제의 감각적 특성 분석

가. 패널훈련 및 용어도출

(1) 시료

- Sucrose, Allulose 파우더, Allulose 액상, Tagatose, Sucralose, Rebaudioside A를 활용하여 패널 훈련을 진행함
- 기본맛 훈련은 감미료 수용액에 대해 보다 정확하고 재현성 있는 감각적 평가를 위한 것으로, 단맛과 쓴맛, 떫은맛에 대해 진행을 하였음. 단맛은 설탕 수용액, 쓴맛은 caffeine 수용액, 떫은 맛은 식용 백반 수용액으로 진행하였음. 그때의 시료별 농도는 다음과 같음(표 1).

표 1 . 기본맛 훈련 시료별 농도

기본맛	농도	농도	농도	농도
단맛	0.5%	1.5%	3%	5%
단맛	10%	10.5%	11%	12%
쓴맛	0.01%	0.02%	0.04%	0.08%
떫은맛	0.01%	0.02%	0.04%	0.08%

- 용어도출은 본 실험에 사용할, sucrose 기준 다섯개 수준의 농도(2%, 4.5%, 7.5%, 11%, 15%) 중, 중간 수준인 7.5%와 가장 높은 수준인 15%의 농도, 두 종류에 상응하는 각 감미료 별 (Allulose 파우더, Allulose 액상, Tagatose, Sucralose, Rebaudioside A) 감미농도를 도출하여 용어도출을 진행하였음. (표 2) 이때의 기준이 되는 상대 감미도는 콕미진 (2013)의 연구를 참고함.

표 2 . 용어도출 실험에 사용된 시료와 농도

시료	감미제별 상대감미도	농도 (%)	
Sucrose	-	7.5	15.0
Allulose 파우더	0.59	12.712	25.424
Allulose 액상	0.59	12.712	25.424
Tagatose	0.85	8.824	17.647
Sucralose	556	0.013	0.027

Rebaudioside A	200	0.033	0.066
----------------	-----	-------	-------

(2) 방법

- 기본맛 훈련은 기본맛(단맛, 쓴맛, 떫은맛)의 종류별로 4개 수준의 농도를 제공하고 강도 순위를 맞추는 순위법으로 진행하였음.
- 용어도출은 checkbox를 이용하여 시료를 맛보고 느껴지는 항목에 체크하도록 하였고, 추가적인 의견을 적도록 함. 후에 토론을 통해 패널들과 합의를 하여 용어를 확정함. 실험을 진행하고 시료에서 도출해낸 맛의 특성은 다음과 같음(표 3).
- 기본맛 훈련과 본 실험에 사용할 단맛 표준 척도를 만들었는데, 1%, 5%, 10.5%, 18% 농도 수준의 설탕 수용액을 제공하여 2반복으로 강도를 체크하도록 함. 평균을 내어 표준점수화 하였음.(표 4)

표 3 . 시료에서 도출해낸 맛의 특성

관능적 특성	표사용어	정의	표준물질
맛/향미	단맛 1점	설탕 농도 1%의 수용액	설탕 5g + 물 495g
	단맛 3점	설탕 농도 5%의 수용액	설탕 25g + 물 475g
	단맛 8점	설탕 농도 10.5%의 수용액	설탕 52.5g + 물 447.5g
	단맛 14점	설탕 농도 18%의 수용액	설탕 90g + 물 410g
	쓴맛	Caffeine 농도 0.04%의 수용액	Caffeine 0.2g + 물 499.8g
	카라멜향미	카라멜화된 설탕에서 느껴지는 향미	달고나
	꿀향미	꿀에서 느껴지는 향미	꿀 100g + 물 500g
	인공적인 단맛	설탕의 단맛이 아닌 인공적으로 느껴지는 단맛	그린스위트(청정원) + 물
입안감촉	청량감	탄산수에서 느껴지는 입안감촉	초정탄산수 100g + 물 400g
	떫음/텁텁함	미각신경의 말초를 마비시키는 듯한, 마르고 거친 느낌	밤 껍질
후미	쓴맛	Caffeine 농도 0.04%의 수용액	Caffeine 0.2g + 물 499.8g
	단맛 1점	설탕 농도 1%의 수용액	설탕 5g + 물 495g
	단맛 3점	설탕 농도 5%의 수용액	설탕 25g + 물 475g
	단맛 8점	설탕 농도 10.5%의 수용액	설탕 52.5g + 물 447.5g
	단맛 14점	설탕 농도 18%의 수용액	설탕 90g + 물 410g

표 4 . 설탕 수용액을 이용한 단맛 표준 척도

농도	1%	5%	10.5%	18%
점수	1점	3점	8점	14점

나. 농도-반응함수 측정

(1) 시료

- 총 7종의 감미제(allulose 파우더, allulose 액상, tagatose, sucralose, 레바텐 G180, Rebaudioside A, Rebaudioside D)에 대해 농도-반응 함수를 도출하여 다양한 농도 수준에서 설탕대비 감미도를 측정하기 위해 표 5와 같이 시료를 제조하였음.

표 5 . 본 실험에 사용된 설탕 및 감미제시료의 농도 수준

1set	Sucrose					Allulose(파우더) 기준이 된 예상 상대감미도 (0.59)				
	2.0%	4.5%	7.5%	11.0%	15.0%	3.390%	7.627%	12.712%	18.644%	25.424%
2set	Sucrose					Allulose(액상) 기준이 된 예상 상대감미도(0.59)				
	2.0%	4.5%	7.5%	11.0%	15.0%	3.390%	7.627%	12.712%	18.644%	25.424%
3set	Sucrose					Tagatose기준이 된 예상 상대감미도(0.85)				
	2.0%	4.5%	7.5%	11.0%	15.0%	2.353%	5.294%	8.824%	12.941%	17.647%
4set	Sucrose					Sucralose기준이 된 예상 상대감미도(556)				
	2.0%	4.5%	7.5%	11.0%	15.0%	0.004%	0.008%	0.013%	0.020%	0.027%
5set	Sucrose					레바텐 G180 기준이 된 예상 상대감미도(100)				
	2.0%	4.5%	7.5%	11.0%	15.0%	0.02%	0.045%	0.075%	0.11%	0.15%
6set	Sucrose					Rebaudioside A 기준이 된 예상 상대감미도(200)				
	2.0%	4.5%	7.5%	11.0%	15.0%	0.01%	0.0225%	0.0375%	0.055%	0.075%
7set	Sucrose					RebaudiosideD 기준이 된 예상 상대감미도(200)				
	2.0%	4.5%	7.5%	11.0%	15.0%	0.01%	0.0225%	0.0375%	0.055%	0.075%

(2) 방법

- 측정 방법은 ‘Ji-hye Choi, Seo-jin Chung, 「 Optimal sensory evaluation protocol to model concentration-response curve of sweeteners」, 2014’¹⁾ 문헌자료를 참고하여, 5개 수준 농도의 sucrose 수용액과 그에 상응하는 5개 수준 농도의 감미료 수용액을 한 세트로 평가하는 SSC방법을 이용하였음. 각 시료 별로 3반복을 진행하였고, 실험을 통해 농도-반응 함수 측정과 상대감미도 도출, 위에서 도출된 묘사용어의 특성을 평가하였음.

(3) 결과 : sucrose와 각 시료의 회귀식 및 농도별 상대감미도

- 다음은 실험 결과인 sucrose 와 각 시료의 회귀식과 농도별 상대감미도 그래프(그림 2 - 그림 22)이며, 각 시료 별 sucrose 용액과 해당 감미료의 회귀식임(표 6).

- 상대감미도 계산법은 다음과 같음(그림 1).

1) Ji-hye Choi, Seo-jin Chung, 「 Optimal sensory evaluation protocol to model concentration-response curve of sweeteners」, 2014

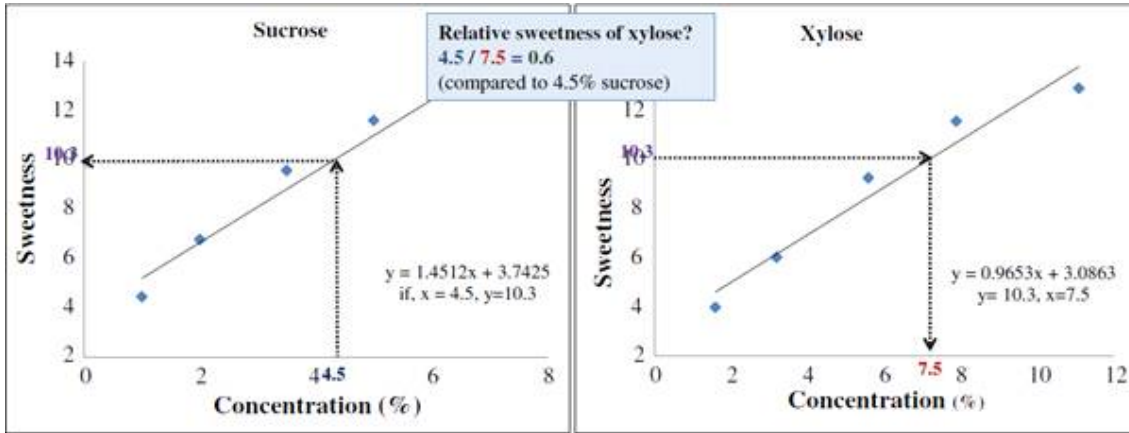


그림 96 . 상대감미도 계산법

- allulose 파우더 용액의 경우 저농도에서의 상대감미도는 약 0.51이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도도 증가함. 12% 정도의 농도수준 이상에서는 0.67정도로 안정적으로 유지됨.
- allulose 액상 용액의 경우 저농도에서의 상대감미도는 약 0.38이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도도 증가함. 11%정도의 농도수준 이상에서는 0.49정도로 안정적으로 유지됨. Allulose 파우더가 액상보다 높게 측정됨.
- tagatose 용액의 경우 저농도에서의 상대감미도는 약 0.73이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도도 증가함. 11%정도의 농도수준 이상에서는 0.86~87정도로 안정적으로 유지됨.
- sucralose 용액의 경우 저농도에서의 상대감미도는 약 520이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도가 감소함. sucralose의 경우, 회귀식이 직선보다 로그일때의 R^2 이 더 높게 나와 로그함수로 상대감미도를 계산하였음.
- 레바텐G180 용액의 경우 저농도에서의 상대감미도는 약 113이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도가 감소함. 레바텐 G180의 경우, 회귀식이 직선보다 로그일때의 R^2 이 더 높게 나와 로그함수로 상대감미도를 계산하였음.
- Rebaudioside A용액의 경우 저농도에서의 상대감미도는 약 206이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도가 감소함. rebaudiosideA의 경우, 회귀식이 직선보다 로그일때의 R^2 이 더 높게 나와 로그함수로 상대감미도를 계산하였음.
- Rebaudioside D 용액의 경우 저농도에서의 상대감미도는 약 328이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도가 감소함. rebaudiosideD의 경우, 회귀식이 직선보다 로그일때의 R^2 이 더 높게 나와 로그함수로 상대감미도를 계산하였음.

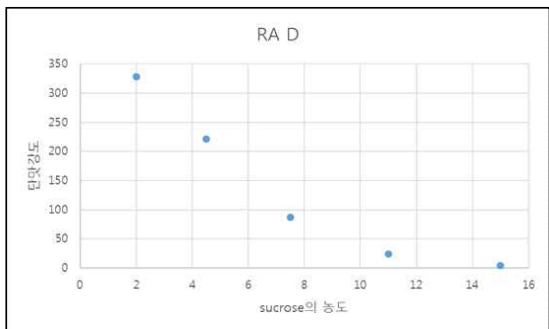
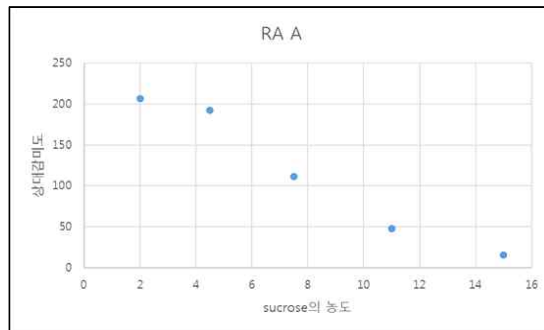
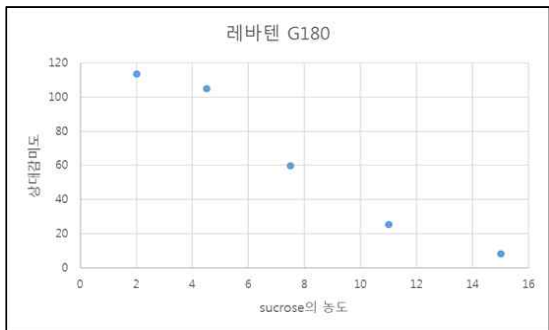
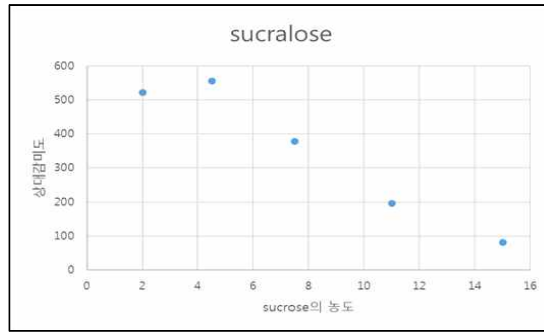
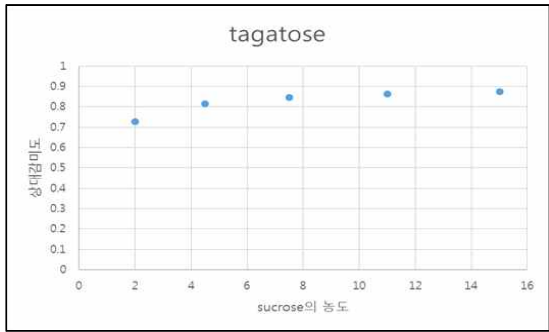
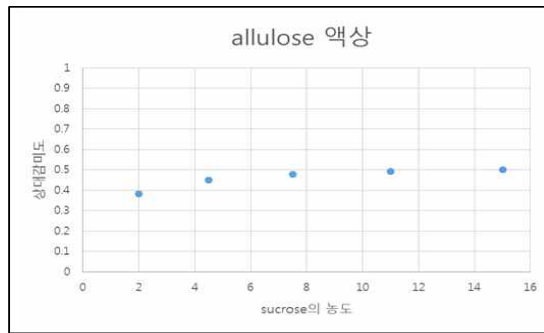
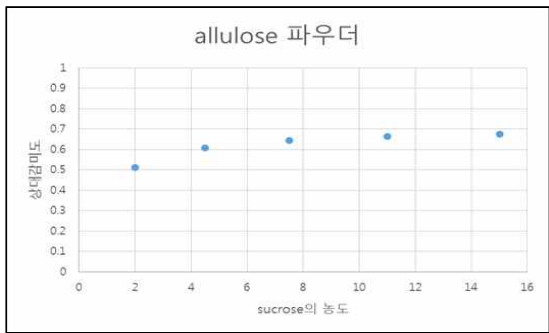


그림 97 . allulose 파우더, allulose 액상, tagatose, sucralose, 레바덴G180, Rebaudioside A, Rebaudioside D 용액의 농도별 상대감미도

○ 총 7개의 감미제에 대한 회귀식은 아래와 같음.

표 6 . 각 시료 별 sucrose 용액의 회귀식과 해당 감미료의 회귀식

	sucrose 용액의 회귀식	해당 감미료 회귀식
Allulose 파우더	$y = 0.7685x - 0.1084$ $R^2 = 0.9996$	$y = 0.546x - 0.7028$ $R^2 = 0.9887$
Allulose 액상	$y = 0.8108x + 0.0136$ $R^2 = 0.9985$	$y = 0.4266x - 0.604$ $R^2 = 0.9968$
Tagatose	$y = 0.8x + 0.08$ $R^2 = 0.99$	$y = 0.7207x - 0.3032$ $R^2 = 0.9919$
Sucralose	$y = 0.8277x - 0.2216$ $R^2 = 0.9976$	직선 $y = 226.91x + 1.2726$ $R^2 = 0.9764$ 로그* $y = 2.7753\ln(x) + 16.871$ $R^2 = 0.9821$
레바텐 G180	$y = 0.7791x + 0.1871$ $R^2 = 0.9802$	직선 $y = 32.385x + 1.9912$ $R^2 = 0.9192$ 로그 $y = 2.1843\ln(x) + 10.57$ $R^2 = 0.9898$
Rebaudioside A	$y = 0.7843x + 0.3914$ $R^2 = 0.9909$	직선 $y = 64.967x + 2.0393$ $R^2 = 0.8922$ 로그* $y = 2.2249\ln(x) + 12.28$ $R^2 = 0.9906$
Rebaudioside D	$y = 0.8292x - 0.1272$ $R^2 = 0.9931$	직선 $y = 47.07x + 2.5172$ $R^2 = 0.7114$ 로그 $y = 1.7225\ln(x) + 10.316$ $R^2 = 0.902$

* 상대감미도 및 감미질을 평가하기 위해 최종적으로 선택된 회귀모델.

다. 다양한 감미료의 동일 감미수준에서의 감미질 평가

(1) 시료

○ 시료의 종류와 농도는 다음과 같음(표 7).

표 7 . 시료의 종류와 농도

시료	설탕 6%에 상응하는 타겟 감미제의 감미도	6% 수준	설탕 10%에 상응하는 타겟 감미제의 감미도	10% 수준
Sucrose	-	6%	-	10%
Allulose파우더	0.63	9.533	0.66	15.164
Allulose 액상	0.47	12.851	0.49	20.454

Tagatose	0.83	7.192	0.86	11.632
Sucralose	473.98	0.013	239.61	0.042
레바텐 G180	81.87	0.073	32.76	0.305
RA A	151.43	0.040	61.62	0.162
RA D	143.48	0.042	34.86	0.287

(2) 방법

○ 묘사분석 수행

○ 이때 사용된 묘사용어는 다음과 같음(표 8).

표 8 . 감미질 평가에 사용된 묘사용어와 사용된 표준물질

관능적 특성	묘사용어	정의	표준물질
맛/향미	단맛 1점	설탕 농도 1%의 수용액	설탕 5g + 물 495g
	단맛 3점	설탕 농도 5%의 수용액	설탕 25g + 물 475g
	단맛 8점	설탕 농도 10.5%의 수용액	설탕 52.5g + 물 447.5g
	단맛 14점	설탕 농도 18%의 수용액	설탕 90g + 물 410g
	쓴맛	Caffeine 농도 0.04%의 수용액	Caffeine 0.2g + 물 499.8g
	카라멜향미	카라멜화된 설탕에서 느껴지는 향미	달고나
	꿀향미	꿀에서 느껴지는 향미	꿀 100g + 물 500g
	인공적인 단맛	설탕의 단맛이 아닌 인공적으로 느껴지는 단맛	그린스위트(청정원) + 물
입안감촉	청량감	탄산수에서 느껴지는 입안감촉	초정탄산수 100g + 물 400g
	뽀뽀/뽀뽀함	미각신경의 말초를 마비시키는 듯한, 마르고 거친 느낌	밤 껍질
후미	쓴맛	Caffeine 농도 0.04%의 수용액	Caffeine 0.2g + 물 499.8g
	단맛 1점	설탕 농도 1%의 수용액	설탕 5g + 물 495g
	단맛 3점	설탕 농도 5%의 수용액	설탕 25g + 물 475g
	단맛 8점	설탕 농도 10.5%의 수용액	설탕 52.5g + 물 447.5g
	단맛 14점	설탕 농도 18%의 수용액	설탕 90g + 물 410g

(3) 결과 : 타당성 검증

○ C-R curve 모델링을 통해 계산된 상대감미도가 정확한지를 판단하기 위해 validation test를 진행함. validation test에서는 Sucrose와 감미제들을 동일 농도에서 평가하여 단맛의 정도가 유사한지를 측정함. 농도의 범위를 고려하여 sucrose 농도 기준 6%와 10%에서 진행하였고, 결과적으로 두 농도 모두에서 모든 시료의 상대감미도가 정확히 측정되지 않음.

○ Validation test 결과, 6%에서 평가했을 때, 묘사 용어 중, 단맛, 쓴맛, 카라멜향미, 꿀향미, 인공적인 단맛, 후미쓴맛, 후미단맛에서 유의적인 차이를 보였으며, 10%에서는 단맛, 쓴맛, 카라멜향미, 꿀향미, 인공적인 단맛, 뽀음/텃텃함, 후미쓴맛, 후미단맛에서 유의적인 차이를 보임. Allulose 액상과 Rebaudioside A 시료는 sucrose에 비해 쓴맛이 유의적으로 강하게 발현됨. Rebaudioside A는 뽀음/텃텃함이 강하게 발현되었음. 단맛의 경우 6%에서는 Sucralose와 Rebaudioside A가 sucrose와 유사하였으며, Allulose 파우더와 Allulose 액상은 단맛이 낮았고, Rebaudioside D는 단맛이 높았음.

표 9 . 6%농도에서의 감미제의 단맛, 쓴맛 항목의 평균과 표준편차

6% (sucrose 기준)	단맛***	쓴맛***
sucrose	5.67 ± 1.61 ^(c1)	0.93 ± 1.17 ^{ab}
Allulose 파우더 (9.533%)	3.13 ± 1.72 ^a	1.07 ± 1.20 ^{abc}
Allulose 액상 (12.851%)	4.37 ± 1.40 ^b	1.50 ± 1.33 ^{cd}
Sucralose (0.013%)	5.70 ± 1.82 ^c	1.23 ± 1.19 ^{abc}
RA A (0.040%)	5.63 ± 1.87 ^c	2.37 ± 1.63 ^e
RA D (0.042%)	6.73 ± 2.35 ^d	1.40 ± 1.30 ^{bcd}

1) The results of Duncan's multiple range (within a line not sharing a superscript letter are significantly different)

표 11 . 10%농도에서의 감미제의 단맛, 쓴맛 항목의 평균과 표준편차

10% (sucrose 기준)	단맛***	쓴맛***
sucrose	8.13 ± 2.21 ^(b1)	0.83 ± 1.09 ^a
Allulose 파우더 (15.164%)	8.33 ± 2.11 ^b	1.47 ± 1.55 ^{abc}
Allulose 액상(20.454%)	8.67 ± 2.04 ^{bc}	2.00 ± 1.64 ^c
Sucralose (0.042%)	9.53 ± 2.10 ^c	1.57 ± 1.38 ^{bc}
RA A (0.162%)	6.67 ± 2.75 ^a	5.47 ± 3.08 ^e
RA D (0.287%)	6.83 ± 2.64 ^a	1.57 ± 1.31 ^{bc}

2-2. 2차년도 : 당류저감화를 위한 저열량 감미제의 감각적 특성 분석

가. 감미소재의 상대감미도 재조정

- 보다 정확한 상대감미도 측정을 위해 감미소재 중 ‘농도-반응함수 측정’ 이 다시 필요한 시료에 대해 추가 보완 실험을 진행함. 1차년도 실험에서 감미료의 평가 농도 수준의 범위가 너무 넓어 측정결과의 재현성이 약하여 평가 농도 범위를 좁혀 저농도와 고농도로 나누어 실험을 진행함.
- 총 5종의 감미소재(allulose 파우더, allulose 액상, sucralose, Rebaudioside A, Rebaudioside D)에 대해 농도-반응함수를 도출하여 다양한 농도 수준에서 설탕 대비 감미도를 측정하기 위해 시료를 제조하였음.

(1) 저농도에서의 감미도 측정

(가) 저농도 시료제조

표 12 . 본 실험에 사용된 설탕 및 감미제시료의 농도 수준(저농도)

	Sucrose					Allulose(파우더) 기준이 된 예상 상대감미도(0.55)				
1set	1.0%	2.0%	4.0%	6.5%	9.0%	1.818%	3.636%	7.273%	11.818%	16.364%
	Sucrose					Allulose(액상) 기준이 된 예상 상대감미도(0.4)				
2set	1.0%	2.0%	4.0%	6.5%	9.0%	2.5%	5.0%	10.0%	16.25%	22.5%
	Sucrose					Sucralose 기준이 된 예상 상대감미도(473)				
3set	1.0%	2.0%	4.0%	6.5%	9.0%	0.002%	0.004%	0.008%	0.014%	0.019%
	Sucrose					Rebaudioside A 기준이 된 예상 상대감미도(151)				
4set	1.0%	2.0%	4.0%	6.5%	9.0%	0.007%	0.013%	0.026%	0.043%	0.060%
	Sucrose					Rebaudioside D 기준이 된 예상 상대감미도(151)				
5set	1.0%	2.0%	4.0%	6.5%	9.0%	0.007%	0.013%	0.026%	0.043%	0.060%

(나) 저농도 평가결과 : sucrose와 각 시료의 회귀식 및 농도별 상대감미도

- Allulose 파우더는 저농도에서는 설탕에 대한 상대감미도가 설탕의 절반 수준인 0.5였으나 Allulose 수준이 높아짐에 따라 상대감미도도 같이 증가하여 설탕 9% 수준에서는 설탕과 유사한 1의 상대감미도를 보임
- Allulose 액상소재는 Allulose 파우더 소재와 마찬가지로 저농도에서 설탕에 대한 상대감미도

가 0.35수준으로 낮았으며 Allulose 액상 농도가 증가하여도 상대감미도의 큰 증가는 관찰되지 않음. 설탕 9% 수준에서 Allulose 액상의 상대감미도는 0.4로 측정됨.

- Sucralose 소재는 농도 수준에 따른 상대감미도 경향이 bulk 감미료 소재와 반대 양상을 보임. 즉 Sucralose 소재는 저농도에서 설탕 2% 수준에서 상대감미도가 750로 측정되었으나 Sucralose 농도가 증가할 때 상대감미도가 급히 감소하는 것으로 나타남. 설탕 9% 수준에서 Sucralose의 상대감미도는 약 400으로 측정됨.
- Rebaudioside A 소재도 sucralose와 마찬가지로 농도 수준에 따른 상대감미도 경향이 bulk 감미료 소재와 반대 양상을 보임. Rebaudioside A는 저농도에서 설탕 2% 수준에서 상대감미도가 약 250로 측정되었으나 Rebaudioside A 농도가 증가할 때 상대감미도가 급격히 감소하는 것으로 나타남. 설탕 9% 수준에서 Rebaudioside A 의 상대감미도는 약 50으로 측정됨.
- Rebaudioside D 소재는 Rebaudioside A와 매우 유사한 경향을 보임. Rebaudioside D는 저농도에서 설탕 2% 수준에서 상대감미도가 약 250로 측정되었으나 Rebaudioside D 농도가 증가할 때 상대감미도가 급격히 감소하는 것으로 나타남. 설탕 9% 수준에서 Rebaudioside D 의 상대감미도는 약 50으로 측정됨.

○ 총 5개의 감미소재에 대한 회귀식(표 13)은 아래와 같음.

표 13 . 감미소재에 대한 회귀식

	sucrose 용액의 회귀식	해당 감미료 회귀식
Allulose 파우더	$y = 1.2244x - 0.4099$ $R^2 = 0.997$	$y = 0.7879x - 0.8663$ $R^2 = 0.9885$
Allulose 액상	$y = 1.1744x - 0.2772$ $R^2 = 0.9961$	$y = 0.5051x - 0.6973$ $R^2 = 0.9956$
sucralose	$y = 1.2757x - 0.3866$ $R^2 = 0.9968$	$y = 490.13x + 0.8408$ $R^2 = 0.9806$
Rebaudioside A	$y = 1.159x + 0.0247$ $R^2 = 0.9925$	직선 $y = 95.845x + 2.2478$ $R^2 = 0.8718$ 로그* $y = 2.5101\ln(x) + 14.599$ $R^2 = 0.9635$
Rebaudioside D	$y = 1.258x - 0.2871$ $R^2 = 0.9976$	직선 $y = 119.9x + 1.9989$ $R^2 = 0.9595$ 로그 $y = 3.0362\ln(x) + 17.057$ $R^2 = 0.9914$

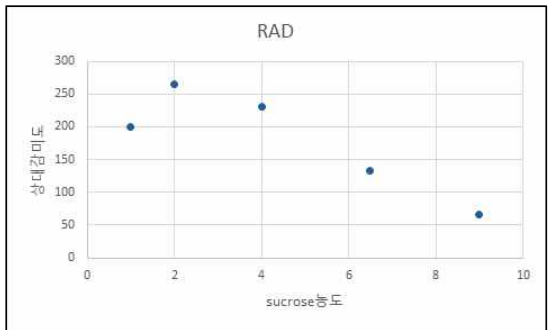
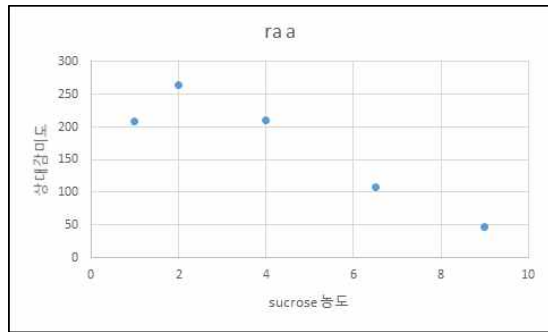
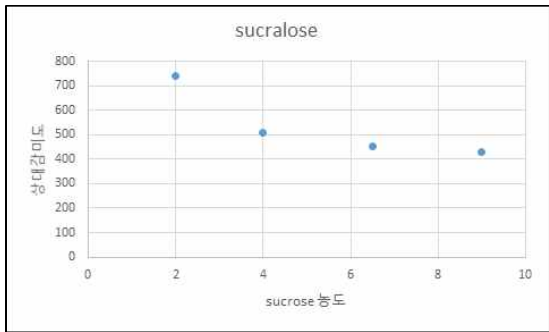
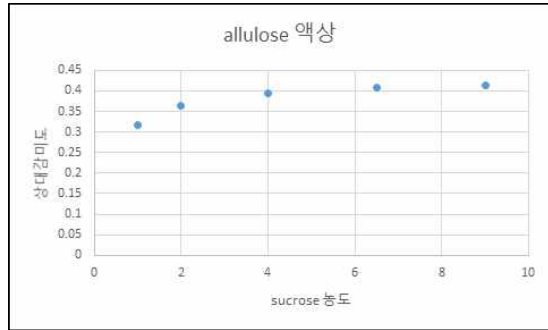
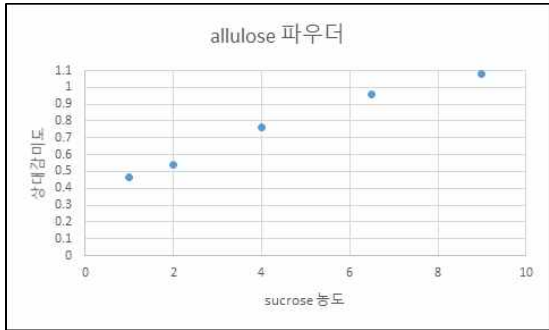


그림 3 . allulose 파우더, allulose 액상, sucralose, Rebaudioside A, Rebaudioside D 용액의 농도별 상대감미도

○ 각 농도별 감미료의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차는 다음과 같음(표 14). 이번 실험에서 ‘전체맛강도’ 용어가 추가되었는데, 이는 단맛, 쓴맛 등의 맛의 구분이 없이 처음 시료를 맛보았을 때 느껴지는 강도를 의미함.

표 14. 각 농도별 감미료의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

Allulose 파우더(농도)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀음/텃텃함	후미쓴맛	후미단맛
1.818 %	2.3±1.466	1.1±0.481	1.37±1.159	0.23±0.817	0.3±0.952	0.4±0.498	1.93±1.837	0.73±1.143	0.7±0.877	0.5±0.572
3.636 %	2.53±1.383	1.7±0.794	1.17±1.117	0.47±0.86	0.5±0.9	0.83±0.95	1.43±1.654	0.47±0.681	0.57±0.728	1.23±0.817
7.273 %	4.73±1.639	4.17±1.416	1.07±1.258	1.37±1.903	1.23±1.501	1.63±1.671	1.6±1.632	0.63±1.033	0.57±0.898	2.83±1.085
11.818 %	8.9±1.845	8.87±1.978	0.83±1.206	2.07±2.586	3.2±2.87	3.33±2.397	1.3±1.643	0.73±1.202	0.77±1.165	6.07±1.893
16.364 %	11.6±1.522	12.03±1.245	0.67±1.241	2.43±3.148	5.2±2.952	4.43±3.38	1.07±1.574	0.83±1.367	0.47±1.224	9.83±2.627

Allulose 액상(농도)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀음/텃텃함	후미쓴맛	후미단맛
2.5 %	1.63±1.334	0.93±0.616	0.41±0.797	0.26±0.594	0±0	0.26±0.594	1.59±1.248	0.3±0.869	0.22±0.506	0.44±0.698
5.0 %	2.37±1.363	1.48±0.643	0.3±0.609	0.19±0.622	0.19±0.483	0.59±0.797	1.26±1.095	0.04±0.192	0.44±0.934	1.07±0.958
10.0 %	4.74±1.767	4.19±1.178	0.48±0.802	1.04±1.48	1±1.544	1.19±1.272	1.26±1.289	0.37±0.629	0.41±0.797	2.63±1.418
16.25 %	7.74±1.583	7.67±1.519	0.44±0.974	2.19±2.675	2.22±2.063	1.81±2.039	1±1.519	0.19±0.483	0.26±0.594	5.67±2.732
22.5 %	10.37±1.644	10.67±1.922	0.93±2.074	3±3.174	3.07±2.745	2.96±2.504	0.63±0.926	0.22±0.506	0.37±0.884	8.07±3.316

sucralose	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀음/텃텃함	후미쓴맛	후미단맛
0.002 %	2.17±1.392	1.4±0.563	0.8±0.997	0.17±0.379	0.3±0.596	0.6±0.814	1.33±1.539	0.43±0.626	0.33±0.661	0.83±0.648
0.004 %	3.2±1.349	2.67±0.758	0.83±1.392	0.53±0.629	0.53±0.776	1.03±1.098	1.1±1.213	0.47±0.629	0.27±0.521	1.93±1.015
0.008 %	6.03±1.752	5.47±1.196	0.67±1.028	1.33±1.807	1.4±2.027	2.23±2.096	1.13±1.432	0.43±0.679	0.33±0.661	4.57±1.478
0.014 %	8.13±1.592	7.97±1.299	0.67±1.061	1.4±1.868	1.9±2.551	3.1±2.67	1.1±1.213	0.6±1.102	0.47±0.776	6.7±1.664
0.019 %	10.07±1.363	9.73±1.311	0.6±1.003	1.93±2.982	2.8±3.845	3.57±3.202	1.1±1.322	0.6±1.163	0.27±0.583	8.77±1.888

Rebaudiosid e A	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀음/텃텃함	후미쓴맛	후미단맛
0.007 %	2.93±1.337	2.33±0.922	0.57±0.679	0.5±0.731	0.37±0.809	1.2±0.997	1.03±1.273	0.4±0.675	0.47±0.629	2.53±1.717
0.013 %	4.1±1.9	3.13±1.106	1.13±0.973	0.87±1.137	0.7±1.236	1.73±1.015	0.83±1.177	0.7±0.877	0.73±0.785	2.9±1.729
0.026 %	7.07±2.716	6.03±2.236	1.8±1.54	1.4±1.958	1.13±2.063	2.9±2.631	0.9±1.125	0.7±0.915	1.4±1.453	5.5±2.374
0.043 %	8.03±2.883	6.63±2.81	2.57±1.906	1.87±2.763	1.33±2.412	3.73±3.194	1.03±1.299	0.77±1.251	1.97±1.608	5.8±2.67
0.060 %	8.93±2.97	7.4±2.749	3.5±2.345	1.63±2.859	1.63±2.606	3.4±3.001	1.17±1.416	0.87±1.008	2.9±2.074	5.97±2.723

Rebaudiosid e D	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀음/텃텃함	후미쓴맛	후미단맛
0.007 %	2.9±1.689	2.23±1.006	0.6±1.003	0.4±0.563	0.3±0.794	1.13±0.73	0.9±1.125	0.6±1.102	0.47±0.9	2.23±1.251
0.013 %	4.47±2.224	3.7±1.664	0.93±1.081	1.13±1.697	1.2±1.75	1.83±1.621	0.8±1.126	0.83±1.147	0.7±0.794	3.53±1.925
0.026 %	6.43±2.528	5.63±2.059	0.9±1.296	1.5±2.129	1.53±2.113	2.8±1.846	0.73±1.112	0.77±1.165	0.67±0.844	5.13±2.403
0.043 %	8.33±2.523	7.63±2.484	0.93±1.015	2.13±3.203	2.23±3.148	3.8±2.413	0.83±1.117	0.67±0.884	0.6±0.675	6.93±2.258
0.060 %	9.2±2.427	8.67±2.324	1.07±1.172	2.1±2.952	2.77±3.411	4.17±2.805	0.73±0.98	0.67±1.028	0.83±0.834	8.2±2.734

○ 타당성 평가를 실시하였을 때 다양한 감미료의 동일 감미수준(sucrose 용액 기준 5%)에서의 감미질 평가는 다음과 같음. 타당성 평가 결과 시료간 단맛 강도의 유의적 차이는 없는 것으로 분석됨.

표 15 . 5% 농도에서 감미료의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

5% (sucrose 기준)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	떫음/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
sucrose	6.77±1.695	6.1±1.213	0.5±0.861	1.43±1.888	2.07±2.067	1.83±1.895	1.03±1.189	0.53±0.681	0.33±0.661	5.27±1.23
allulose 파우더 (8.349%)	6.2±1.4	5.43±1.194	1±1.083	1.5±2.013	1.7±1.86	1.67±1.936	0.97±1.189	0.83±1.02	0.73±1.081	4.33±1.561
sucralose (0.011%)	6.93±1.799	6.23±1.569	0.93±2.273	1.73±2.033	1.83±2.291	2.23±2.112	1.07±1.048	0.57±0.858	0.33±0.606	5.57±1.654
Rebaudioside A (0.030%)	7.73±2.766	6.3±2.535	2.23±1.547	1.87±2.36	2.03±2.671	3.17±2.26	0.87±1.106	0.9±1.125	2.07±1.23	5.97±2.526
Rebaudioside D (0.026%)	7.07±2.377	6.33±2.123	1.03±0.999	1.97±2.76	1.9±2.721	3.13±2.255	0.87±1.106	0.8±0.925	0.77±0.898	6.17±2.26

5% (sucrose 기준)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	떫음/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
sucrose	4.92±1.1	5.13±1.076	0.08±0.282	1±1.532	0.71±1.459	1.13±1.849	0.42±0.929	0.08±0.282	0.08±0.282	3.75±2.005
allulose 액상 (12.457%)	5.5±1.911	5.38±1.279	0.71±0.806	1.5±2.022	1±1.719	1.79±2.413	0.75±1.152	0.33±0.565	0.63±0.875	3.58±2.244

- allulose 액상의 경우, 실험을 추가적으로 따로 진행하였음.

(2) 서울대 제공 시료(SNU1)에 대한 감미도 측정

(가) SNU1 시료 제조

○ 위와 동일한 방식으로 SNU1 샘플에 대해서도 농도별 상대감미도, 관능적 특성 및 5% 농도에서의 관능적 특성을 평가하였음. 결과는 아래와 같음.

표 16 . 본 실험에서 사용된 시료의 농도 수준

Iset	Sucrose					서울대 샘플 기준이 된 예상 상대감미도(80)				
	1.0%	2.0%	4.0%	6.5%	9.0%	0.0125%	0.025%	0.05%	0.0813%	0.1125%

(나) SNU1 평가결과 : sucrose와 SNU1의 회귀식(표14) 및 농도별 상대감미도(그림4)

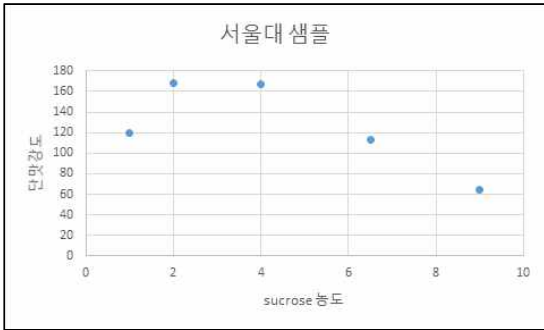


그림 4 . SNU1 용액의 농도별 상대감미도

표 17 . sucrose 용액과 서울대 샘플의 회귀식

	sucrose 용액의 회귀식	해당 감미료 회귀식
서울대 샘플	$y = 1.1919x - 0.33$ $R^2=0.9982$	직선 $y = 72.902x + 2.2985$ $R^2=0.9653$ 로그* $y = 3.3955\ln(x) + 17.103$ $R^2=0.9888$

표 18 . 각 농도별 감미료의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

서울대 샘플	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀름/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
0.0125 %	2.96±1.197	2.96±1.398	0.17±0.482	0.71±1.122	0.29±0.55	1.04±1.654	0.38±0.576	0.21±0.588	0.08±0.408	2.13±1.624
0.025 %	5.42±1.412	5.46±1.062	0.04±0.204	1.17±1.685	0.75±1.422	1.5±1.865	0.58±0.776	0.17±0.482	0±0	4.42±2.501
0.05 %	7.58±1.501	7.29±0.908	0±0	1.63±2.41	0.96±1.601	2.42±2.466	0.42±0.654	0.25±0.532	0.42±1.84	6.58±3.006
0.0813 %	9.13±2.05	8.54±1.888	0.08±0.282	2.08±2.992	1.42±2.358	3±3.217	0.58±1.06	0.21±0.509	0±0	7.96±3.569
0.01125 %	9.96±2.216	9.79±2.395	0.29±1.083	2.21±3.107	1.58±2.827	3.54±3.538	0.46±0.884	0.21±0.509	0.04±0.204	9.08±3.269

표 19 . 5% 농도에서의 감미료의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

5% (sucrose 기준)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀름/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
sucrose	4.92±1.1	5.13±1.076	0.08±0.282	1±1.532	0.71±1.459	1.13±1.849	0.42±0.929	0.08±0.282	0.08±0.282	3.75±2.005
서울대 시료 (0.0341%)	6.21±1.285	6±1.285	0.46±0.932	1.42±2.041	0.79±1.56	2.17±2.2	0.5±0.933	0.25±0.532	0.42±1.06	5.75±2.801

(3) 고농도에서의 감미도 측정

(가) 고농도 시료 제조

- 총 3종의 감미소재(allulose 파우더, allulose 액상, sucralose)에 대해 농도-반응함수를 도출하여 다양한 농도 수준에서 설탕 대비 감미도를 측정하기 위해 표 20과 같이 시료를 제조하였음.

표 20 . 본 실험에서 사용된 설탕 및 감미 소재의 농도 수준(고농도)

1set	Sucrose					Allulose (파우더) 기준이 된 예상 상대감미도(0.65)				
	8.0%	9.0%	11.0%	13.5%	16.0%	12.308%	13.846%	16.923%	20.769%	24.615%
2set	Sucrose					Allulose (액상) 기준이 된 예상 상대감미도(0.5)				
	8.0%	9.0%	11.0%	13.5%	16.0%	16.0%	18.0%	22.0%	27.0%	32.0%
3set	Sucrose					Sucralose 기준이 된 예상 상대감미도(300)				
	8.0%	9.0%	11.0%	13.5%	16.0%	0.027%	0.030%	0.037%	0.045%	0.053%

(나) 고농도 평가결과 : sucrose와 각 시료의 회귀식 및 농도별 상대감미도

- Allulose 파우더는 농도가 낮은 8% 수준에서는 설탕에 대한 상대감미도가 설탕의 절반보다 약간 높은 수준인 0.6였으나 Allulose 수준이 높아짐에 따라 상대감미도도 약간 증가하여 설탕 16% 수준에서는 0.7의 상대감미도를 보임. 저농도에 비해 고농도에서는 상대감미도의 변화가 크게 없음.
- Allulose 액상소재는 Allulose 파우더 소재와 마찬가지로 저농도에서 설탕에 대한 상대감미도가 0.46수준으로 낮았으며, 농도가 증가하여도 상대감미도의 큰 증가는 관찰되지 않음. 설탕 16%수준에서 Allulose 액상의 상대감미도는 0.5로 측정됨.
- Sucralose 소재는 농도 수준에 따른 상대감미도 경향이 bulk 감미료 소재와 반대 양상을 보임. Sucralose 소재는 낮은 농도 수준인 8% 수준에서 상대감미도가 400정도로 측정되었으나 Sucralose 농도가 증가할 때 상대감미도가 급히 감소하는 것으로 나타남. 설탕 16% 수준에서 Sucralose의 상대감미도는 200으로 측정됨.
- Rebaudioside A도 sucralose 와 마찬가지로 농도가 증가할수록 감미도가 감소하였음. 8%에서의 상대감미도는 약 46 이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도는 감소하였고, 16%이상의 농도 수준에서는 약 23~27 정도로 유지됨.
- Rebaudioside D는 8%에서의 상대감미도는 약 13 이었으며, 농도가 증가함에 따라 상대감미도는 감소하였고, 16%이상의 농도 수준에서는 약 4~5 정도로 유지됨.

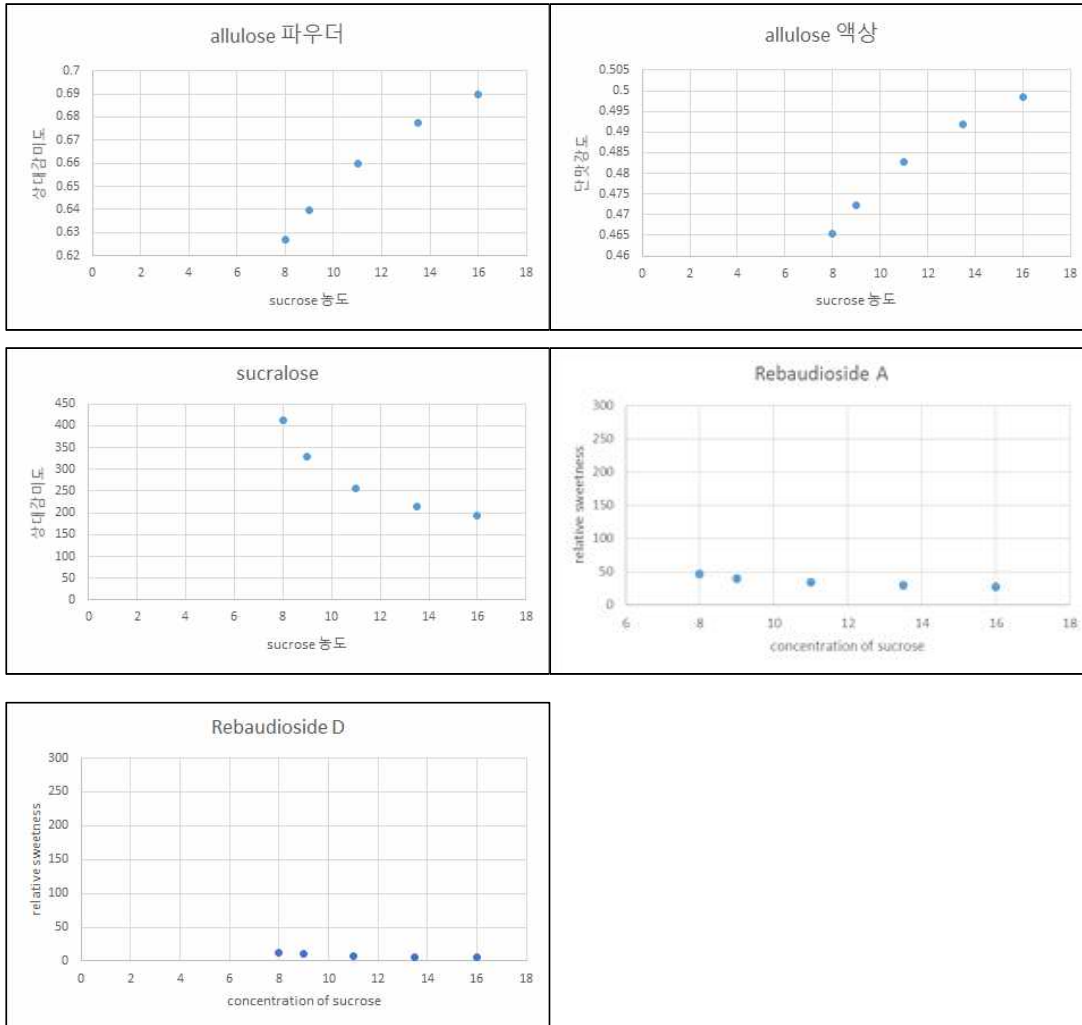


그림 5 . allulose 파우더, allulose 액상, sucralose, Rebaudioside A, Rebaudioside D 용액의 농도별 상대감미도

표 21. 각 시료 별 sucrose 용액의 회귀식과 해당 감미료의 회귀식

	sucrose 용액의 회귀식	해당 감미료 회귀식
Allulose 파우더	$y = 0.9209x - 2.8307$ $R^2 = 0.9869$	$y = 0.7067x - 4.4834$ $R^2 = 0.9895$
Allulose 액상	$y = 0.8488x - 2.0693$ $R^2 = 0.961$	$y = 0.4557x - 3.1144$ $R^2 = 0.9913$
sucralose	$y = 0.9256x - 2.6642$ $R^2 = 0.9853$	$y = 117.47x + 2.4693$ $R^2 = 0.9588$
Rebaudioside A	$y = 0.8591x - 2.0948$ $R^2 = 0.9821$	$y = 16.664x + 1.9023$ $R^2 = 0.9484$
Rebaudioside D	$y = 0.9643x - 3.4748$ $R^2 = 0.9870$	$y = 3.2793x + 2.2404$ $R^2 = 0.9709$

표 22 . 각 농도 별 감미료의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

Allulose 파우더(농도)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀름/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
12.308 %	4.67±2.166	4.22±1.847	1.78±1.987	0.93±1.662	1.37±2.514	2.48±1.74	2±1.144	0.67±0.832	1.48±2.082	3.22±2.375
13.846 %	5.74±1.678	5.33±1.797	1.41±1.551	1.11±1.888	1.52±1.626	2.67±2.075	1.93±1.542	0.7±1.031	1.74±1.992	4.26±1.973
16.923 %	7.37±2.151	7.19±1.841	1.93±2.368	1.19±1.962	2.52±2.293	3.26±2.443	2.04±1.427	1.33±1.901	2.07±2.908	6.56±2.953
20.769 %	9.63±2.186	10.81±1.819	1.59±2.153	2.26±2.654	3.07±2.586	4.3±3.16	1.56±1.695	1.19±1.755	2.15±2.597	9.93±2.385
24.615 %	11.48±2.119	12.59±1.248	2.04±2.192	2±2.974	3.96±3.204	4.85±4.495	1.37±1.757	1.48±2.101	2.19±2.481	11.65±3.072

Allulose 액상(농도)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀름/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
16.0 %	4.67±1.857	4±1.818	0.54±0.932	1.21±1.888	1.13±1.895	1.63±2.163	0.58±0.974	0.21±0.509	0.5±0.933	2.38±2.018
18.0 %	6.21±2.449	5.46±2.226	0.63±1.013	1.54±2.206	1.29±2.196	2.13±2.894	0.46±0.977	0.21±0.588	0.67±1.049	3.75±2.938
22.0 %	7.5±2.377	6.83±2.278	0.46±0.779	2.17±2.713	1.83±2.426	2.42±2.903	0.38±0.77	0.58±2.062	0.46±1.062	5.04±3.085
27.0 %	9.33±2.099	8.88±2.071	0.5±0.933	3.17±3.726	2.83±2.681	3.79±3.659	0.21±0.721	0.21±0.509	0.38±0.647	6.71±3.701
32.0 %	12.04±1.681	11.67±2.014	0.67±1.007	3.83±3.852	3.5±3.923	3.92±4.283	0.13±0.338	0.25±0.608	0.54±0.833	9.08±3.256

sucralose	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀름/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
0.027 %	6.15±2.051	5.44±1.553	0.74±1.259	0.7±1.325	0.19±0.483	2.22±2.063	0.85±1.262	0.37±0.792	0.56±1.013	4.59±1.5
0.030 %	6.52±2.502	6.41±2.39	0.93±1.357	0.74±1.483	0.04±0.192	2.37±2.544	0.81±1.241	0.81±1.812	0.56±0.934	5.46±2.86
0.037 %	6.7±2.686	6.59±2.454	0.78±1.311	0.96±1.255	0.37±0.792	2.89±2.679	0.89±1.45	0.52±0.893	0.7±1.295	5.81±2.661
0.045 %	7.59±2.099	7.81±2.288	1±1.359	0.85±1.199	0.93±1.88	3.07±2.336	0.74±1.163	0.38±0.804	0.78±1.251	7.15±2.248
0.053 %	8.44±2.562	8.7±2.493	0.81±1.415	1.3±1.977	0.44±0.934	3.74±3.02	0.44±1.013	0.56±0.801	0.63±1.079	7.93±2.934

RAA	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀름 /텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
0.16%	7.2±2.1	4.5±2.1	7.4±3.1	0.4±1.1	0.8±2.0	2.9±2.3	1.6±2.3	1.0±1.6	5.6±3.2	4.3±2.8
0.18%	7.6±2.8	5.1±2.7	6.6±3.0	0.2±0.6	0.8±1.3	2.4±2.5	1.5±2.3	0.9±1.4	6.2±2.8	4.1±3.2
0.22%	8.3±2.8	5.1±2.5	8.0±3.3	0.1±0.4	0.4±0.8	2.3±2.9	1.3±2.4	1.0±1.8	6.6±3.2	4.2±2.9
0.27%	8.7±2.4	6.7±2.5	8.3±3.3	0.1±0.5	0.6±1.1	2.7±2.5	1.7±2.3	1.1±1.9	6.9±3.3	5.1±2.9
0.32%	9.0±2.7	7.1±2.1	8.4±3.1	0.4±1.1	1.1±2.0	2.1±1.7	1.8±2.2	0.9±1.4	7.9±3.4	5.7±3.3

RAD	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	뽀름 /텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
0.400%	5.6±1.8	3.7±2.0	2.3±2.4	0.1±0.4	0.2±0.7	1.9±1.9	0.3±0.7	0.7±1.1	1.7±2.3	2.9±2.0
0.450%	4.8±2.3	3.6±1.9	2.4±2.1	0.0±0.2	0.3±0.7	2.1±2.0	0.3±0.8	0.7±1.1	1.8±2.1	2.5±1.6
0.550%	5.6±2.2	4.0±2.4	2.5±2.3	0.3±0.8	0.4±1.0	2.3±2.1	0.3±0.7	0.5±0.8	1.7±1.9	2.9±2.6
0.675%	5.8±2.1	4.5±2.2	2.5±2.2	0.1±0.4	0.3±0.8	2.3±2.8	0.4±0.9	0.5±1.1	1.7±2.0	3.6±2.4
0.800%	6.2±2.3	4.9±2	2.9±2.6	0.4±1.1	0.3±0.9	2.1±2.0	0.4±0.9	0.7±1.2	2.2±2.5	4.0±2.3

○ 타당성 평가를 실시하였을 때 다양한 감미료의 동일 감미수준(sucrose 용액 기준 12%)에서의 감미질 평가는 다음과 같음. 타당성 평가 결과 시료간 단맛 강도의 유의적 차이는 없는 것으로 분석됨.

표 22 . 12% 농도에서 감미료의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

12% (sucrose 기준)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	떫음/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
sucrose	7.85±2.013	8.81±1.52	0±0	1.52±1.868	1.11±1.528	2.15±2.413	0.37±0.926	0.63±0.967	0±0	7.63±2.003
allulose 파우더 (8.349%)	8.56±2.94	9.07±1.96	2.15±2.838	1.3±1.728	1.19±1.777	2.33±2.32	0.93±1.591	1±1.414	1.63±3.04	7.74±2.754
sucralose (0.011%)	7.52±2.424	7.89±2.407	1.07±1.299	1.07±1.567	0.7±1.793	4±3.051	0.74±1.196	0.59±0.844	0.7±1.171	7.07±2.111

12% (sucrose 기준)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	떫음/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
sucrose	9.88±1.676	9.42±1.381	0.17±0.565	2.88±3.904	1.5±2.554	3.25±3.859	0.13±0.338	0.13±0.338	0±0	8.13±3.301
allulose 액상 (12.457%)	9.75±2.09	9±1.865	0.96±1.122	3.88±3.34	1.92±2.918	3.33±3.908	0.08±0.282	0.29±0.624	0.71±0.955	7.25±3.627

12% (Sucrose 기준)	전체맛 강도	단맛	쓴맛	카라멜 향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	떫음 /텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
Sucrose	7.9±2.0	7.6±2.0	0.0±0.0	1.0±1.7	1.4±1.8	2.0±2.5	0.5±0.9	0.1±0.3	0.0±0.0	6.1±2.3
RebaudiosideA (0.379%)	9.2±2.3	7.5±2.6	8.7±3.1	0.3±0.7	0.2±0.6	1.6±2.4	1.4±2.2	0.7±1.4	7.7±3.0	6.8±3.0
RebaudiosideD (1.786%)	6.3±1.7	6.7±1.5	1.8±2.0	0.3±0.8	0.1±0.4	2.1±2.5	0.3±0.8	0.8±1.0	1.3±1.6	5.7±2.3

- allulose 액상과 Rebaudioside A와 D의 경우, 실험을 추가적으로 따로 진행하였음.

나. 감미료의 2성분 조합시 감미기능성 분석

(1) 시료

- 2성분 조합은 bulk 감미 소재 1종(설탕, allulose 또는 tagatose)과 고감미소재 1종(sucralose, 레바텐G180, Rebaudioside A, Rebaudioside D)을 3:7, 5:5, 7:3(설탕은 7:3조합에서 제외)의 조합으로 구성하여 설탕 10% 대비 감미도와 감미질을 평가함.
- 총 6종의 감미제(allulose 파우더, tagatose, sucralose, 레바텐 G180, Rebaudioside A, Rebaudioside D)와 sucrose를 2성분으로 조합하였으며, 사용된 조합과 상대감미도는 다음과 같음.

[sucrose base 3:7, 5:5]		[allulose 파우더 base 3:7, 5:5, 7:3]	
sucrose	allulose 파우더	allulose	sucralose

	tagatose		레바텐G180
	sucralose		Rebaudioside A
	레바텐G180		Rebaudioside D
	Rebaudioside A		
	Rebaudioside D	[tagatose base 3:7, 5:5, 7:3]	
		tagatose	sucralose
			레바텐G180
			Rebaudioside A
			Rebaudioside D

표 23 . 실험에 사용된 시료의 농도별 상대감미도

시료	3% 상대감미도	5% 상대감미도	7% 상대감미도
Sucrose	1	1	1
Allulose 파우더	0.57	0.60	0.61
Sucralose	565.60	475.75	445.43
Tagatose	0.78	0.82	0.84
레바텐G180	119.34	97.46	66.86
Rebaudioside A	249.55	165.18	91.84
Rebaudioside D	261.92	190.61	116.51

(2) 방법

- 1차년도 묘사분석 실험과 동일한 절차로 묘사분석을 진행하였으며, 한 set 당 4반복을 진행하였고, 앞서 도출된 묘사용어의 특성을 평가하였음.

(3) 결과 : 2성분 조합들의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

- sucrose base 3:7 조합에서 시너지가 있는 조합은 sucrose3%+allulose파우더7%, sucrose3%+tagatose7% 이었음. tagatose와의 조합이 쓴맛이 약하게 발현되었음. sucrose 10% 용액과 비슷하게 쓴맛이 발현된 것은 tagatose와의 조합이었음. sucrose base 3:7 조합에서는 모든 특성에서 시료 간에 유의적 차이가 있었음.
- sucrose base 5:5 조합에서 단맛 상승작용을 나타낸 조합은 sucrose5%+allulose파우더5%, sucrose base5%+Reb D 5%, sucrose5%+tagatose5% 이었음. sucrose 10% 용액과 비슷하게 쓴맛이 발현된 것은 sucralose와 tagatose와의 조합이었음. sucrose base 5:5 조합에서는 단맛, 쓴맛, 꿀향미, 인공적인 단맛, 떫음/텃텃함, 후미쓴맛, 후미단맛 특성에서 시료 간에 유의적 차이가 있었음.
- allulose 파우더 base 3:7 조합에서는 sucrose 10% 용액의 단맛과 비슷한 수준의 조합은 sucralose와의 조합이었고, 나머지는 모두 sucrose 10% 용액보다 단맛이 약하게 나타났음. 쓴맛의 경우, sucrose 10% 용액과 비슷하게 발현된 것은 sucralose와의 조합이었고, 나머지의 조합은 모두 높게 나타났음. allulose 파우더 base 3:7 조합에서는 인공적인 단맛을 제외한 모든 특성에서 시료간에 유의적 차이가 있었음.
- allulose 파우더 base 5:5 조합에서 sucrose 10% 용액과 비슷한 단맛을 나타낸 조합은 sucralose와의 조합이었음. 모든 조합이 sucrose 10% 용액보다 높은 쓴맛이 발현되었음. allulose 파우더 base 5:5 조합에서는 카라멜향미와 인공적인 단맛 특성에서 시료 간에 유의적 차이가 있었음.
- allulose 파우더 base 7:3 조합에서 단맛 상승작용을 나타낸 조합은 sucralose와의 조합이었음. 모든 조합에서 sucrose 10%용액에 비해 쓴맛이 높게 발현되었음. allulose 파우더 base 7:3 조합에서는 전체맛강도, 단맛, 쓴맛, 인공적인 단맛, 떫음/텃텃함, 후미 쓴맛, 후미 단맛 특성에서 시료 간에 유의적 차이가 있었음.
- tagatose base 3:7 조합에서 단맛 상승작용을 나타낸 조합은 sucralose와의 조합이었음. Reb D와의 조합은 sucrose 10%와 유사한 단맛 수준을 보였고, 다른 조합의 경우 모두 낮은 단맛 수준을 보였음. 쓴맛의 경우, sucralose와의 조합이 sucrose 10%와 유사하였고, 다른 조합은 모두 높게 발현되었음. tagatose base 7:3 조합에서는 전체맛강도, 단맛, 쓴맛, 청량감, 떫음/텃텃함, 후미 쓴맛, 후미 단맛 특성에서 시료간에 유의적 차이가 있었음.
- tagatose base 5:5 조합에서 단맛 상승작용을 나타낸 조합은 sucralose 와의 조합이었고 나머지 조합들은 sucrose 10% 용액과 유사한 수준의 단맛 강도가 나타났음. 쓴맛의 경우, Reb A와의 조합에서 sucrose 10% 용액보다 강한 쓴맛이 발현되었고, 다른 조합은 모두 유사한 수준을 보임. tagatose base 5:5 조합에서는 전체맛강도, 단맛, 쓴맛, 카라멜향미, 떫음/텃텃

함, 후미 쓴맛, 후미 단맛 특성에서 시료 간에 유의적 차이가 있었음.

○ tagatose base 7:3 조합에서 단맛 상승작용을 나타낸 조합은 sucralose 와의 조합이었음. 쓴맛의 경우, 모든 조합이 sucrose 10%용액과 비슷한 수준을 보였음. tagatose base 7:3 조합에서는 단맛과 청량감 특성에서 시료 간에 유의적 차이가 있었음.

표 24 . 2성분 조합 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

조합(%)	전체맛강도***	단맛***	쓴맛***	카라멜향미*	꿀향미**	인공적인 단맛***	청량감**	떫음/텁텁함***	후미쓴맛***	후미단맛***
sucrose 10	7.43±1.338	7.4±1.549 ^{ab1)}	0.18±0.446 ^a	0.63±1.39	1.18±1.583	1.33±1.526	0.4±0.871	0.2±0.464	0.03±0.158	7.15±1.562
sucrose 3 +라베텐G180 7	7.73±1.648	7.13±1.786 ^a	0.93±0.888 ^b	0.6±1.033	1.23±1.672	2.1±1.892	0.58±0.903	0.48±0.905	0.45±0.783	6.68±1.639
sucrose 3 +allulose파우더 7	8.9±1.336	8.55±1.413^c	1.1±1.128 ^b	0.78±1.423	1.8±2.066	2.2±1.884	0.68±1.095	0.48±0.751	0.55±0.932	8.48±2.063
sucrose 3 +sucralose 7	7.4±1.464	7±1.468 ^a	0.7±0.966 ^b	0.3±0.853	0.75±1.256	1.6±1.355	0.75±1.006	0.53±1.219	0.38±0.628	6.28±1.396
sucrose 3 +tagatose 7	8.55±1.768	8.7±1.381^c	0.1±0.379 ^a	0.75±1.391	1.5±1.987	1.75±1.836	0.45±0.932	0.2±0.464	0.03±0.158	8.2±1.698
sucrose 3 +Reb A 7	9.28±1.633	7.1±1.985 ^a	4.33±1.509 ^c	0.6±1.215	1.08±1.73	2.45±2.207	0.4±0.9	1±1.219	3.55±1.709	6.2±2.127
sucrose 3 +Reb D 7	8.03±1.387	7.85±1.748 ^b	0.98±0.891 ^b	0.6±1.128	1.4±1.78	2.23±2.094	0.4±0.928	0.58±0.844	0.5±0.716	7.58±1.394

조합(%)	전체맛강도***	단맛***	쓴맛***	카라멜향미*	꿀향미**	인공적인 단맛***	청량감	떫음/텁텁함*	후미쓴맛***	후미단맛***
sucrose 10	7.85±1.833	7.83±1.534 ^{b1)}	0.3±0.648 ^a	0.58±1.238	0.7±1.091	1.73±1.552	0.7±1.043	0.25±0.494	0.13±0.335	7.3±1.652
sucrose 5 +라베텐G180 5	8.23±1.441	7.98±1.687 ^b	0.75±0.84 ^b	0.58±1.196	0.83±1.238	2.7±2.053	0.93±0.997	0.48±0.987	0.33±0.656	7.5±1.432
sucrose 5 +allulose파우더 5	9.33±1.248	8.78±1.527^c	0.98±0.92 ^b	0.65±1.252	1.53±1.754	2.43±2.099	0.93±1.047	0.6±1.033	0.45±0.749	8.18±1.375
sucrose 5 +sucralose 5	7.5±1.664	7.1±1.374 ^a	0.3±0.758 ^a	0.5±1.038	0.7±1.067	1.93±1.953	0.83±1.059	0.33±0.616	0.13±0.335	6.38±1.275
sucrose 5 +tagatose 5	9.1±1.676	9.33±1.526^d	0.1±0.304 ^a	0.75±1.256	1.18±1.483	2.08±1.979	0.83±1.13	0.25±0.588	0.05±0.221	8.5±1.783
sucrose 5 +Reb A 5	8.9±1.446	7.95±1.584 ^b	2.03±1.05 ^c	0.83±1.752	1.15±1.718	2.78±2.236	0.85±1.231	0.63±0.979	1.3±1.067	7.48±1.552
sucrose 5 +Reb D 5	8.75±1.41	8.53±1.617^c	0.7±1.018 ^b	0.6±1.081	1.13±1.453	2.53±2.088	0.88±1.114	0.53±1.012	0.45±0.932	8.1±1.446

조합(%)	전체맛강도***	단맛***	쓴맛***	카라멜향미**	꿀향미**	인공적인 단맛	청량감*	떫음/텁텁함***	후미쓴맛***	후미단맛***
sucrose 10	7.85±1.688	8±1.519 ^b	0.15±0.427 ^a	0.75±1.463	0.9±1.194	1.35±1.748	0.55±0.876	0.23±0.423	0.05±0.221	7.38±1.372
allulose 파우더 3 +라베텐G180 7	7.28±1.974	6.6±1.707 ^a	1.03±0.891 ^b	0.48±0.905	0.53±0.905	1.58±1.631	0.8±1.043	0.5±0.679	0.68±0.73	6.15±1.545
allulose 파우더 3 +sucralose 7	7.85±1.902	7.93±1.639 ^b	0.3±0.516 ^a	0.6±1.236	0.65±1.051	1.73±1.536	0.7±0.966	0.45±0.714	0.23±0.577	7.35±1.46
allulose 파우더 3 +Reb A 7	8.68±1.789	6.55±2.075 ^a	3.98±1.747 ^c	0.98±1.776	0.7±1.265	1.78±1.981	0.43±0.781	1.2±1.203	3.08±1.966	5.8±1.604
allulose 파우더 3 +Reb D 7	7.73±2.136	6.98±1.732 ^a	0.98±0.8 ^b	0.53±0.877	0.4±0.672	1.83±1.781	0.68±0.997	0.4±0.591	0.63±0.838	6.5±1.45

조합(%)	전체맛강도	단맛	쓴맛	카라멜향미*	꿀향미	인공적인 단맛*	청량감	떫음/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
sucrose 10	7.78±1.761	7.7±1.506 ^{b1)}	0.1±0.379 ^a	0.75±1.794	1.08±1.526	1.73±1.694	0.38±0.807	0.18±0.446	0.15±0.427	7.28±1.724
allulose 파우더 5 +라베텐G180 5	7.3±1.636	6.5±1.414 ^a	1.63±1.353 ^c	0.48±1.012	0.75±1.08	1.9±1.78	0.65±1.027	0.4±0.591	0.95±1.218	6.03±1.25
allulose 파우더 3 +sucralose 5	8.5±1.633	8.25±1.75^b	0.6±0.9 ^b	0.75±1.532	1.08±1.492	2.18±2.086	0.48±0.933	0.4±0.709	0.35±0.77	7.93±1.716
allulose 파우더 5 +Reb A 5	7.95±1.552	6.5±1.536 ^a	2.45±1.108 ^c	0.55±1.131	0.7±1.244	1.98±1.747	0.68±0.997	0.6±0.672	1.83±1.357	6.15±1.388
allulose 파우더 5 +Reb D 5	7.53±1.679	6.8±1.522 ^a	1.6±1.15 ^c	0.7±1.344	0.78±1.271	1.95±1.782	0.48±0.96	0.4±0.672	0.88±0.853	6.4±1.392

조합(%)	전체맛강도***	단맛***	쓴맛***	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛*	청량감	떫음/텁텁함**	후미쓴맛***	후미단맛***
sucrose 10	7.43±1.318	7.58±1.375 ^{a1)}	0.15±0.362 ^a	0.78±1.187	0.9±1.257	1.48±1.633	0.45±0.846	0.33±0.616	0.03±0.158	7.25±1.354
allulose 파우더 7 +레바틴G180 3	7.8±1.418	7.23±1.527 ^a	1.38±1.497 ^c	0.9±1.194	0.98±1.441	1.93±1.859	0.93±1.141	0.55±0.714	0.63±1.102	7.28±1.485
allulose 파우더 7 +sucralose 3	8.38±1.444	7.43±1.551 ^b	1.85±1.312	0.73±1.261	0.9±1.236	2.1±1.905	0.58±1.01	0.78±0.891	1.15±1.292	7.45±1.648
allulose 파우더 7 +Reb A 3	7.63±1.353	7.13±1.362 ^a	1.5±1.132 ^d	0.68±1.118	1.05±1.431	1.9±1.865	0.68±1.185	0.4±0.672	1.13±1.202	7.03±1.702
allulose 파우더 7 +Reb D 3	8.35±1.594	8.33±1.509^a	0.9±1.257 ^{cd}	1±1.617	1.08±1.623	2.1±1.892	0.63±1.055	0.38±0.667	0.43±0.747	8.2±1.572

조합(%)	전체맛강도***	단맛***	쓴맛***	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감**	떫음/텁텁함**	후미쓴맛***	후미단맛*
sucrose 10	7.91±1.653	7.75±1.685 ^{b1)}	0.06±0.246 ^a	1.97±2.765	1.22±1.947	2.59±3.221	0.16±0.369	0.16±0.369	0.03±0.177	6.06±3.192
tagatose 3 +레바틴G180 7	7.19±1.991	6.63±1.773 ^a	0.56±0.982 ^c	1.53±2.17	1.28±1.905	2.72±2.618	0.41±0.911	0.28±0.523	0.47±0.915	6.09±2.787
tagatose 3 +sucralose 7	9±1.666	9.09±1.802^c	0.13±0.421 ^a	1.84±2.503	1.09±1.729	3.03±3.56	0.06±0.246	0.22±0.491	0.03±0.177	6.88±2.86
tagatose 3 +Reb A 7	8.59±2.421	6.66±1.753 ^a	3.25±1.524	1.81±2.729	1.25±2.016	2.91±3.206	0.19±0.535	0.59±1.103	2.56±1.777	5.59±3.546
tagatose 3 +Reb D 7	7.63±2.211	7.06±1.966 ^{ab}	0.47±0.879 ^{bc}	1.72±2.386	1.34±2.104	2.94±2.699	0.22±0.608	0.34±0.602	0.38±0.942	6.41±3.609

조합(%)	전체맛강도***	단맛***	쓴맛***	카라멜향미*	꿀향미	인공적인 단맛	청량감	떫음/텁텁함*	후미쓴맛***	후미단맛***
sucrose 10	8.15±1.942	7.88±1.937 ^{a1)}	0.18±0.446 ^a	0.93±1.457	0.7±1.114	1.38±1.497	0.43±0.813	0.2±0.516	0.25±1.276	7.53±1.485
tagatose 5 +레바틴G180 5	7.55±1.568	7.25±1.548 ^a	0.33±0.616 ^a	0.65±1.189	1±1.485	1.75±1.629	0.48±0.905	0.48±0.751	0.15±0.427	6.93±1.268
tagatose 3 +sucralose 5	9.13±1.62	9.4±1.355^b	0.15±0.483 ^a	0.98±1.349	0.9±1.236	1.58±1.752	0.5±0.961	0.35±0.58	0.15±0.483	8.9±1.374
tagatose 5 +Reb A 5	8.28±1.783	7.3±1.698 ^a	1.33±0.971 ^b	0.8±1.305	0.7±0.992	1.75±1.66	0.48±0.877	0.6±0.871	0.7±0.883	6.85±1.628
tagatose 5 +Reb D 5	7.98±1.609	7.8±1.572 ^a	0.3±0.608 ^a	0.5±0.906	0.68±1.023	1.85±1.805	0.45±0.876	0.4±0.591	0.1±0.304	7.35±1.494

조합(%)	전체맛강도	단맛*	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인 단맛	청량감**	떫음/텁텁함	후미쓴맛	후미단맛
sucrose 10	7.69±2.221	7.44±1.999 ^{a1)}	0.13±0.336 ^a	1.88±2.661	1.38±2.012	2.53±3.121	0.06±0.354	0.25±0.508	0.13±0.421	6.06±3.242
tagatose 7 +레바틴G180 3	8.28±2.479	7.63±2.338 ^{ab}	0.09±0.296 ^a	1.84±2.653	1.63±2.282	2.75±3.263	0.34±0.937	0.25±0.44	0.03±0.177	6±3.501
tagatose 7 +sucralose 3	8.5±2.17	8.53±2.155^b	0.03±0.177 ^a	1.94±2.663	1.78±2.661	2.81±3.524	0.03±0.177	0.25±0.44	0±0	6.41±3.732
tagatose 7 +Reb A 3	7.69±2.278	7.06±2.382 ^a	0.16±0.448 ^a	1.69±2.533	1.34±2.119	2.38±2.97	0.1±0.396	0.25±0.44	0.38±1.289	5.88±3.508
tagatose 7 +Reb D 3	7.38±1.755	6.97±1.787 ^a	0.16±0.448 ^a	1.88±2.756	1.47±2.199	2.06±2.409	0.22±0.553	0.34±0.483	0.13±0.554	5.84±3.511

○ 전반적으로 sucrose가 제외된 경우, 시너지 효과가 잘 나타나지 않았음. sucrose + bulk 감미료가 시너지 효과가 가장 잘 나타났음. sucralose의 경우 allulose 파우더와 tagatose와의 시너지가 매우 잘 나타났지만, sucralose의 경우 단맛이 잘 발현됨과 함께 후미 단맛도 높게 나타나 후미가 많이 남음을 알 수 있음. sucralose의 단맛은 단맛 이외의 맛(쓴맛 등)이 적게 발현되어 단맛이 더 강하게 느껴지는 것으로도 보임.

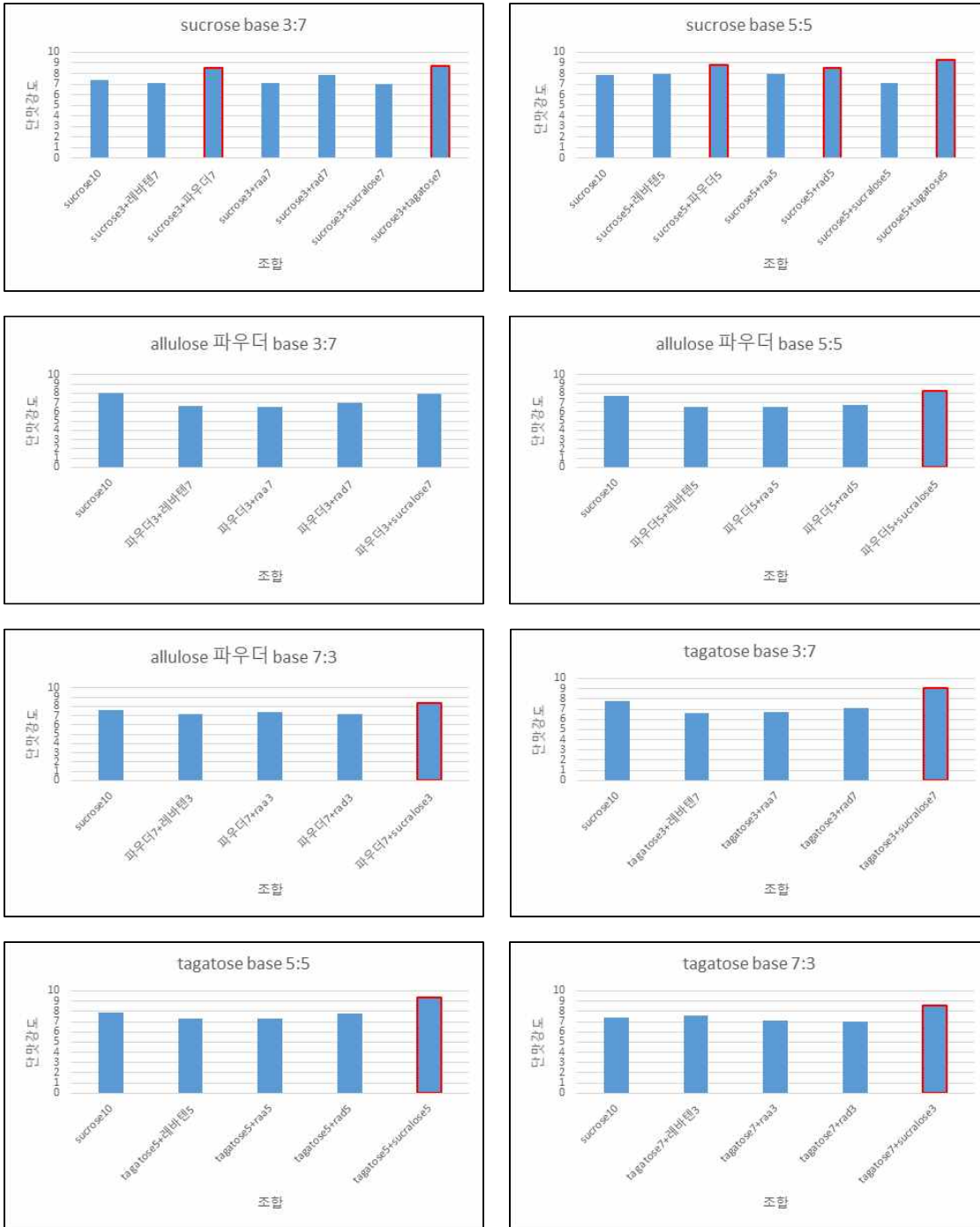


그림 6 . 2성분 조합 단맛 특성 강도 평균

(4) 결과 : 감미소재 2성분 조합 감미질의 시각적 도표화(주성분분석, PCA)

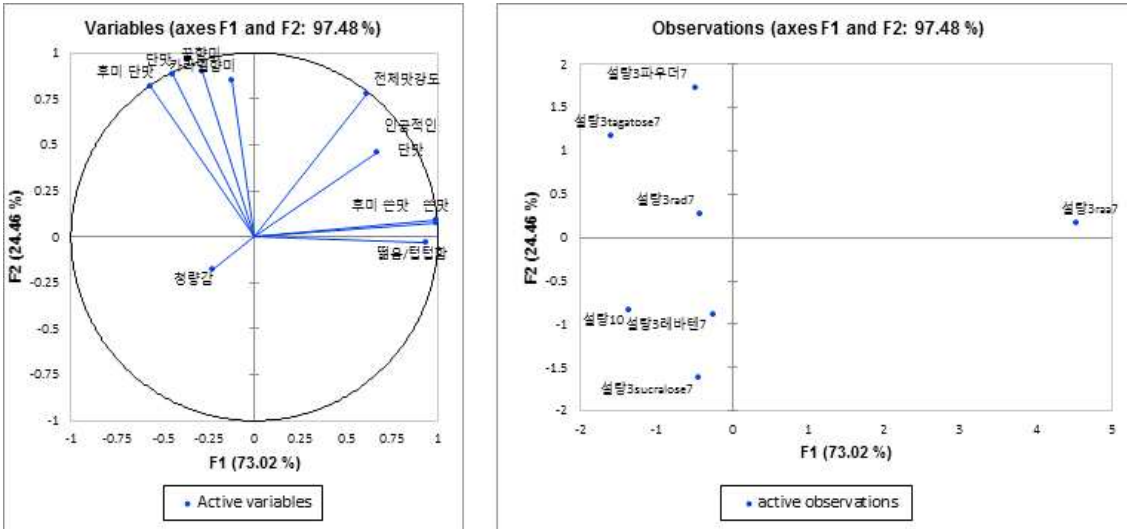


그림 7 . sucrose base 3:7 조합의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ sucrose base 3:7 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과(그림 7) 주성분 1과 2가 총분산의 약 98%를 설명하는 것으로 나타남. 제1주성분은 양의 방향으로 쓴맛과 같은 부정적인 속성이 부하되었으며 주성분 2의 양의 방향으로는 단맛과 관련된 특성이 부하됨. 설탕 10% 대조군과 비교적 유사한 감미도와 감미질을 갖는 시료는 설탕 3%+sucralose 7% 조합과 설탕 3%+레바덴 7% 조합이었음. 설탕 3%+Reb A 7%에서는 쓴맛과 떫음/텃텃함이 상당히 강하게 발현되었으며, 설탕 3%+ tagatose 7% 또는 설탕 3%+ Allulose 파우더 7% 와의 조합에서는 단맛, 꿀향미, 카라멜향미가 설탕 10% 대조군 시료보다 강하게 발현되었음.

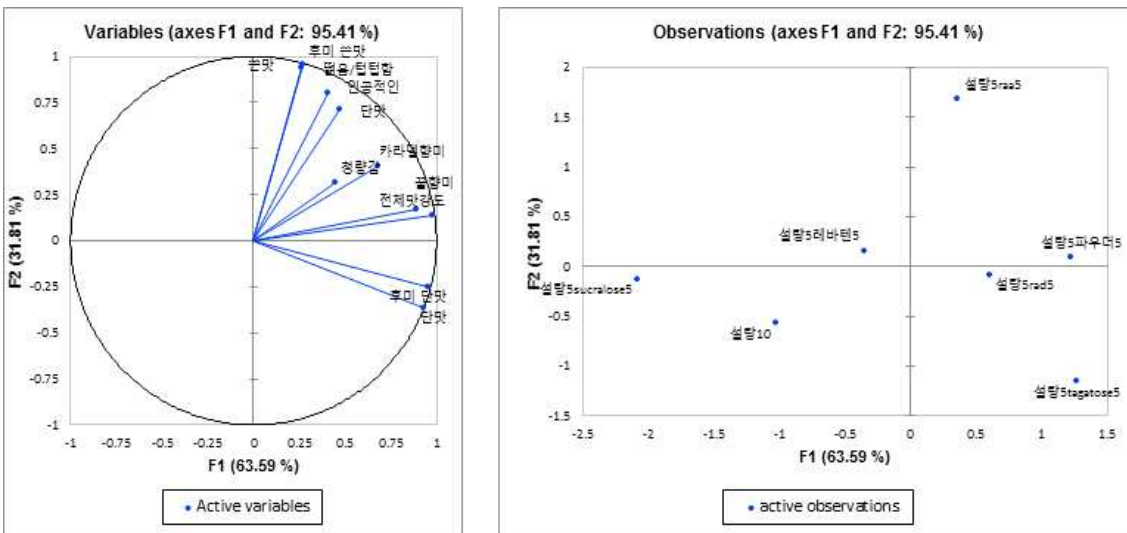


그림 8 . sucrose base 5:5 조합의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ sucrose base 5:5 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과(그림 8) 주성분 1과 2가 총분산의 약 95%를 설명하는 것으로 나타남. 제1주성분은 양의 방향으로 단맛과 관련된 속성이 부하되었으며 주성분 2의 양의 방향으로는 쓴맛, 떫은맛과 같은 부정적인 특성이 부하됨. 설탕 10% 대조군과 비교적 유사한 감미도와 감미질을 갖는 시료는 설탕 5%+sucralose 5% 조합과 설탕 5% +레바덴 5%조합이었음. sucrose 5%+Reb A 5% 조합의 경우 쓴맛과 떫음/텃텃함이 높게 발현되었으며, sucrose 5%+tagatose 5%는 단맛이 높게 발현된 반면 쓴맛은 약

하게 발현된 것으로 나타남.

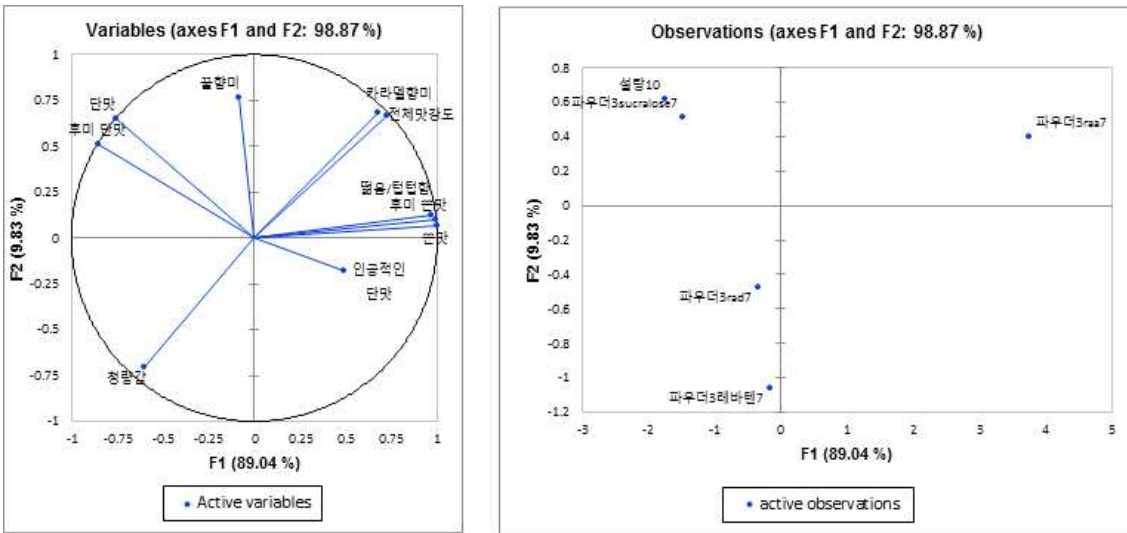


그림 9 . allulose powder base 3:7 조합의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ allulose powder base 3:7 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과(그림 9) 주성분 1과 2가 총분산의 약 99%를 설명하는 것으로 나타남. 제1주성분은 양의 방향으로 쓴맛과 같은 부정적인 속성이 부하되었으며 주성분 2의 양의 방향으로 단맛과 관련된 특성이 부하됨. 설탕 10% 대조군과 비교적 유사한 감미도와 감미질을 갖는 시료는 파우더 3%+sucralose 7% 조합이었음. 파우더 3%+Reb A 7%에서는 카라멜향미와 전체맛강도, 쓴맛이 강하게 나타났음.

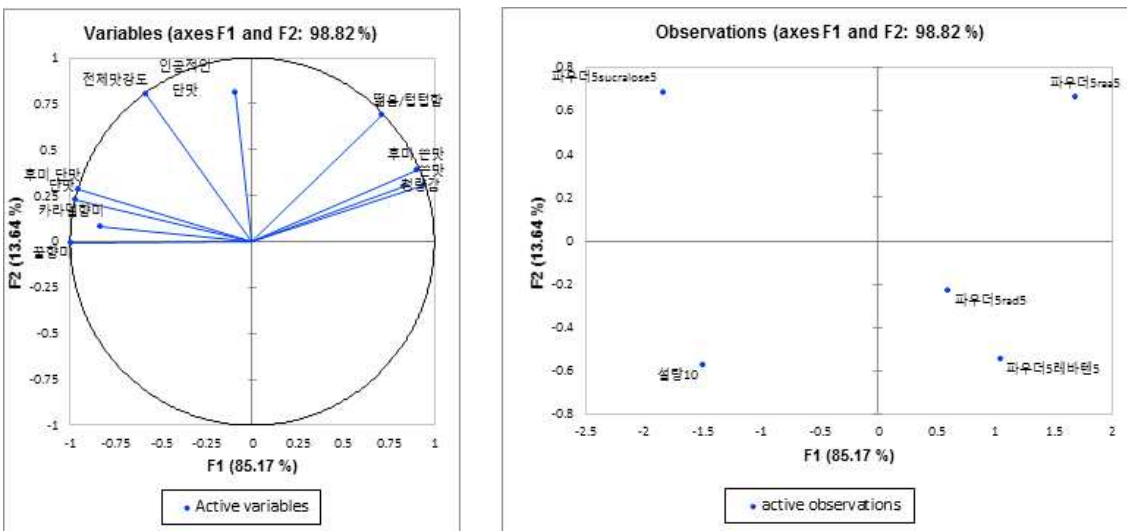


그림 10 . allulose powder base 5:5 조합의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ allulose powder base 5:5 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과(그림 10) 주성분 1과 2가 총분산의 약 99%를 설명하는 것으로 나타남. 제1주성분은 양의 방향으로 쓴맛과 같은 부정적인 속성이 부하되었으며 주성분 2의 양의 방향으로 단맛과 관련된 특성이 부하됨. 설탕 10% 대조군과 비교적 유사한 감미도와 감미질을 갖는 시료는 나타나지 않았음. 파우더 5%+Reb A 5% 조합의 경우 쓴맛과 떫음/텃텃함이 높게 발현되었으며, sucralose는 인공적인 단맛이 높게 발현되었고, 레바텐과의 조합은 쓴맛이 약하게 발현된 것으로 나타남.

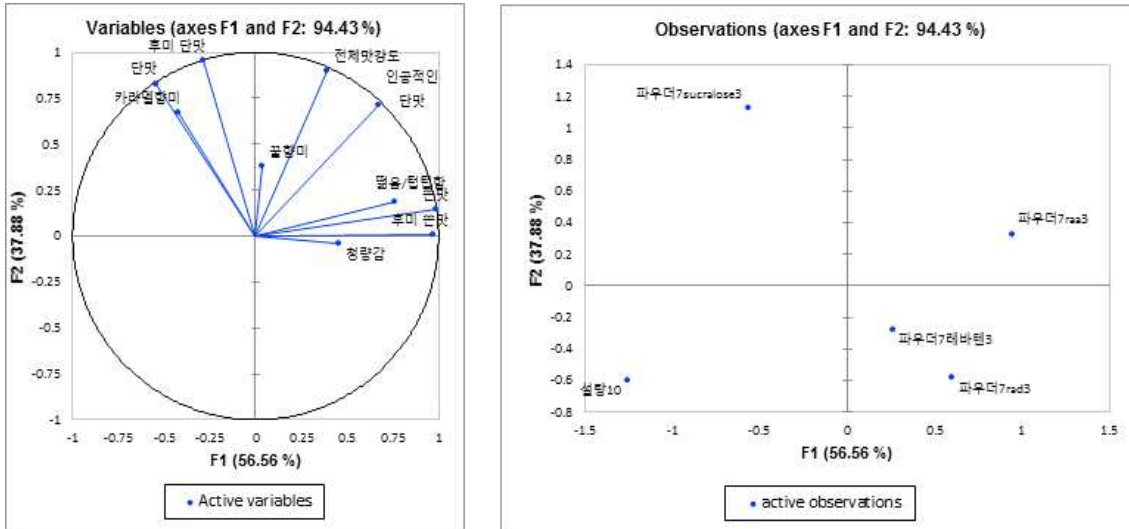


그림 11 . allulose powder base 7:3 조합의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ allulose powder base 7:3 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과(그림 11) 주성분 1과 2가 총분산의 약 94%를 설명하는 것으로 나타남. 제1주성분은 양의 방향으로 쓴맛과 같은 부정적인 속성이 부하되었으며 주성분 2의 양의 방향으로는 단맛과 관련된 특성이 부하됨. 설탕 10% 대조군과 비교적 유사한 감미도와 감미질을 갖는 시료는 나타나지 않았음. 파우더 7%+Reb A 3%에서는 쓴맛과 뚝음/텃텃함이 상당히 강하게 발현되었으며 파우더 7%+sucralose 3% 조합의 경우 단맛과 카라멜향미가 강하게 발현되었음.

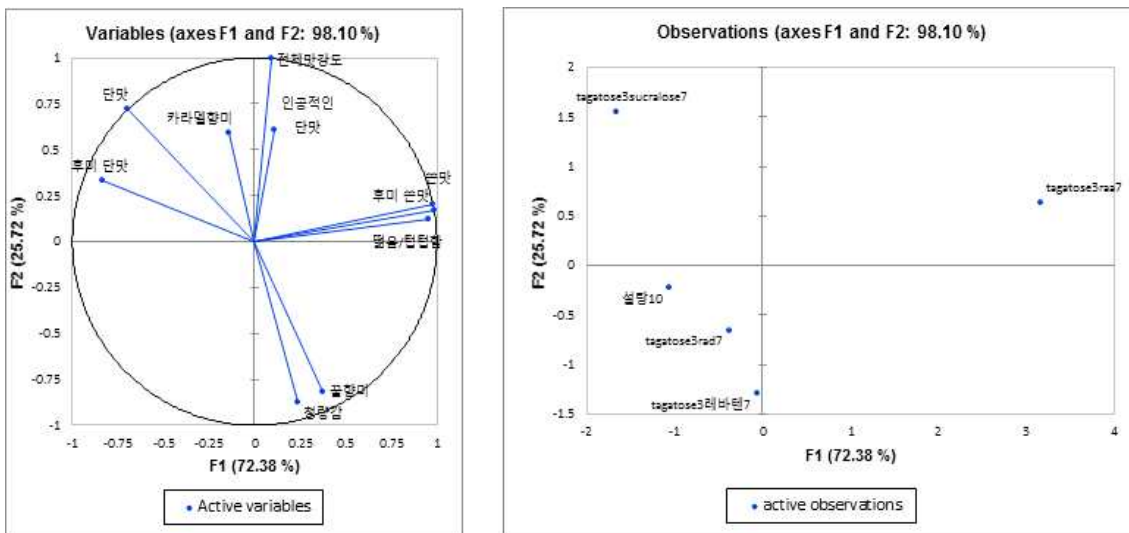


그림 12 . tagatose base 3:7 조합의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ tagatose base 3:7 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과(그림 12) 주성분 1과 2가 총분산의 약 98%를 설명하는 것으로 나타남. 제1주성분은 양의 방향으로 쓴맛과 같은 부정적인 속성이 부하되었으며 주성분 2의 양의 방향으로는 단맛과 관련된 특성이 부하됨. 설탕 10% 대조군과 비교적 유사한 감미도와 감미질을 갖는 시료는 tagatose 3%+Reb D 7% 조합과 tagatose 3%+레바틴 7% 조합이었음. tagatose 3%+Reb A 7% 조합의 경우 쓴맛과 뚝음/텃텃함이 높게 발현되었으며, sucralose와의 조합은 단맛과 카라멜향미가 발현되었음.

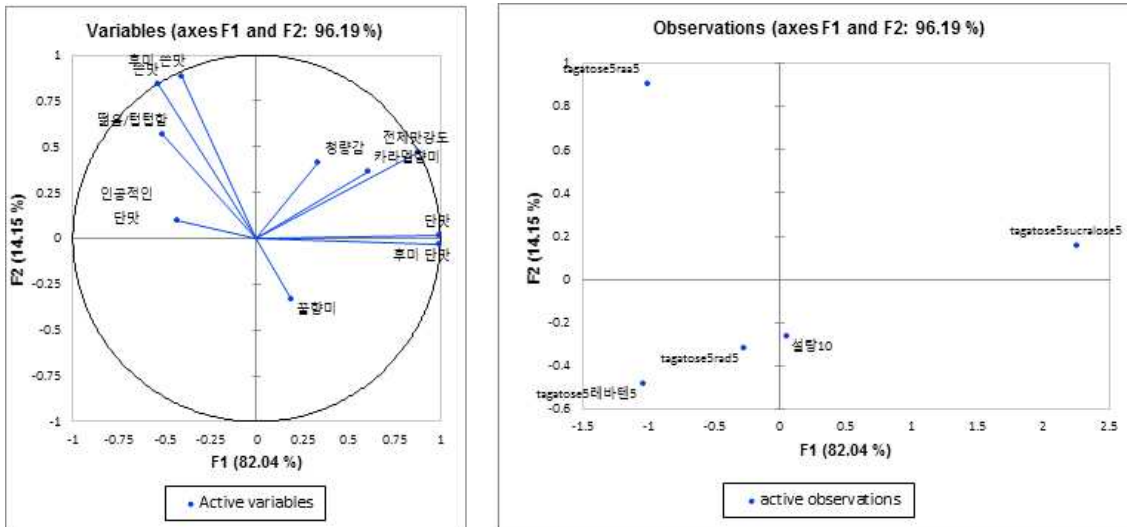


그림 13 . tagatose base 5:5 조합의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ tagatose base 5:5 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과(그림 13) 주성분 1과 2가 총분산의 약 96%를 설명하는 것으로 나타남. 제1주성분은 양의 방향으로 단맛과 관련된 속성이 부하되었으며 주성분 2의 양의 방향으로는 쓴맛, 떫은맛과 같은 부정적인 특성이 부하됨. 설탕 10% 대조군과 비교적 유사한 감미도와 감미질을 갖는 시료는 나타나지 않았음. tagatose 5%+Reb 5% 조합의 경우 쓴맛과 떫음/떫떫함이 높게 발현되었다. sucralose와의 조합은 단맛이 강하게 발현되었으며, 레바텐과 Reb D와의 조합의 경우 쓴맛이 약하게 발현된 것으로 나타남.

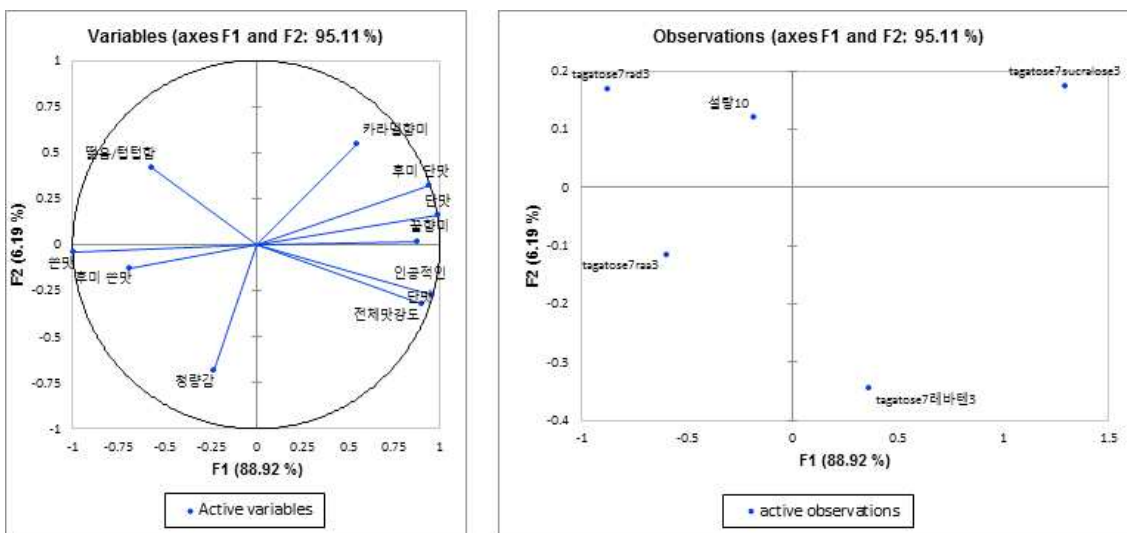


그림 14 . tagatose base 7:3 조합의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ tagatose base 7:3 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과(그림 14) 주성분 1과 2가 총분산의 약 95%를 설명하는 것으로 나타남. 제1주성분은 양의 방향으로 단맛과 관련된 속성이 부하되었으며 주성분 2의 양의 방향에서는 주된 특성이 나타나지 않았음. 설탕 10% 대조군과 비교적 유사한 감미도와 감미질을 갖는 시료는 tagatose 7%+Reb 3% 조합이었음. tagatose 7%+Reb 3% 조합의 경우 쓴맛이 강하게 발현되었으며, sucralose는 카라멜향미와 단맛이 발현되었음.

2-3. 3차년도 : 당류저감화를 위한 저열량 감미제의 감각적 특성 분석

가. Erythritol의 감미질, 감미도를 포함한 감각적 특성 분석

○ 스테비올 배당체와 혼합 사용을 위해 저열량 bulk 감미료인 Erythritol에 대한 농도별 상대 감미도가 요구되어 이를 측정함. 또한 감미질, 감미도를 포함한 Erythritol의 감각적 특성을 분석함.

(1) 시료

표 25 . 본 실험에서 사용된 시료의 농도 수준

	Sucrose						Erythritol 예상 상대감미도(0.6)					
set1	1%	2%	3.5%	5%	7%	9%	1.667%	3.333%	5.833%	8.333%	11.667%	15%

(2) 실험 결과 : Sucrose와 Erythritol의 회귀식(표 26) 및 농도별 상대감미도(그림 15)

표 26 . Sucrose와 Erythritol 수용액의 회귀식

Sucrose 수용액의 회귀식	Erythritol 수용액의 회귀식
$y = 1.2737x - 0.9723$	$y = 0.8651x - 1.8734$
$R^2 = 0.9971$	$R^2 = 0.984$

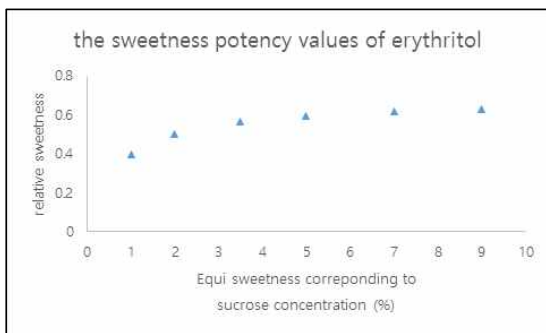


그림 15 . Sucrose수용액 농도별 Erythritol 수용액의 상대감미도

○ 각 농도별 Erythritol의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차는 다음과 같음(표27).

표 27 . 농도별 Erythritol의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

Erythritol	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인단맛	청량감	뽀음/텃텃함	후미단맛	후미쓴맛
E1.667%	0.7±0.5	0.7±0.9	0±0.2	0±0	0.2±0.4	1.5±1.4	0.3±0.6	0.4±0.6	0.5±0.7
E3.333%	1.4±0.8	0.6±0.9	0.1±0.3	0.1±0.3	0.4±0.6	1.5±1.4	0.4±0.8	1.2±1.2	0.6±0.8
E5.833%	2.7±1.6	0.7±1.1	0.1±0.3	0.5±1	0.6±0.8	0.7±0.9	0.5±0.8	2.2±1.8	0.6±0.9
E8.333%	5.2±2.0	0.5±0.9	0.2±0.6	0.9±1.4	1.2±1.9	0.7±1.6	0.5±0.9	4.6±2.4	0.4±0.9
E11.667%	8.4±2.5	0.1±0.3	0.5±1.4	2.2±2.5	2.6±3.3	0.8±1.1	0.2±0.6	7.7±3.2	0.4±2.0
E15%	11.6±1.7	0±0.2	1.0±2.7	3.0±2.5	4.0±4.4	0.4±1.0	0.2±0.5	11.1±1.9	0.4±2.0

○ 다양한 감미료의 동일 감미수준(Sucrose 용액 기준 5%)에서의 감미질 평가는 다음과 같음 (표 28).

표 28 . 동일 감미수준(Sucrose용액 기준 5%)에서의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차 (mean±sd)

Erythritol	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인단맛	청량감	뽀음/텃텃함	후미단맛	후미쓴맛
S5%	5.5±1.6	0.1±0.2	0.3±0.8	0.3±0.8	1.3±1.8	0.6±0.8	0.1±0.3	4.9±2.1	0.1±0.3
E8.47%	5.2±1.8	0.3±0.6	0.2±0.5	0.3±0.6	1.3±2.1	0.6±1.0	0.3±0.5	4.8±2.2	0.2±0.5

나. Erythritol과 bulk감미료 또는 고감미료의 2성분 조합시 감미 기능성 분석

(1) 시료

○ Erythritol과 Allulose powder(이하 Allulose), Rebaudioside A(이하 RAA), Rebaudioside D(이하 RAD) 및 Sucrose를 2성분으로 조합하였으며, 사용된 조합(표 29)과 상대감미도(표 30)는 다음과 같음.

표 29 . 2성분 조합 시료

시료 조합	Abbr.	시료 조합	Abbr.
Sucrose 10%	S10	Erythritol 5 : RAA 5	ERA55
Erythritol 3 : Allulose 7	EA37	Erythritol 5 : RAD 5	ERD55
Erythritol 3 : RAA 7	ERA37	Erythritol 7 : Allulose 3	EA73
Erythritol 3 : RAD 7	ERD37	Erythritol 7 : RAA 3	ERA73
Erythritol 5 : Sucrose 5	ES55	Erythritol 7 : RAD 3	ERD73
Erythritol 5 : Allulose 5	EA55		

표 30 . 실험에 사용된 시료의 농도별 상대감미도

시료	3% 상대감미도	5% 상대감미도	7% 상대감미도
Sucrose	1	1	1
Erythritol	0.55	0.59	0.62
Allulose	0.58	0.57	0.56
RAA	249.55	165.18	91.84
RAD	261.92	190.61	116.51

- allulose powder의 2차년도 상대감미도는 3% 0.57, 5% 0.60, 7% 0.61을 적용하였음. 3차년

도 재실험 결과 상대감미도가 미세하게 낮아져 조정하여 실험 진행함.

(2) 실험 결과 : erythritol과 타감미소재 2성분 조합시 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

표 31 . 2성분 조합 시료 : 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

	단맛***	쓴맛***	신맛***	인공적인 단맛	청량감	탄산감***	뚝은감각***	후미단맛***	후미쓴맛***
S10	7.2±1.5 ^a	0.5±0.8 ^a	0.5±0.8 ^a	3.8±3.2	1.8±1.5	0.3±0.6 ^a	0.3±0.5 ^a	6.4±1.6 ^{cd}	0.3±0.5 ^a
EA37	8.8±1.2 ^c	1.6±1.4 ^{cd}	1.4±1.9 ^c	4.1±3.2	1.5±1.2	0.4±0.8 ^{ab}	1.2±1.2 ^c	7.8±2.2 ^f	1.2±1.5 ^{de}
ERA37	6.9±1.9 ^a	5.5±2.2 ^e	0.7±1.2 ^{ab}	3.8±2.8	1.1±1.2	0.8±1.2 ^c	2.2±2.2 ^d	5.1±2.3 ^a	4.9±1.9 ^f
ERD37	6.7±1.4 ^a	1.5±1.2 ^{cd}	0.5±0.7 ^a	3.9±2.9	1.4±1.2	0.8±1.1 ^c	0.7±0.8 ^{abc}	6.1±1.8 ^{bc}	0.9±1.0 ^{bcd}
ES55	7.9±1.3 ^b	0.8±1.2 ^{ab}	1.1±1.6 ^{bc}	3.4±3.3	1.3±1.2	0.3±0.7 ^{ab}	0.7±1.0 ^{abc}	7.0±1.8 ^{de}	0.5±0.8 ^{ab}
EA55	8.3±1.2 ^{bc}	1.3±1.3 ^{bc}	1.0±1.3 ^{bc}	3.9±3.0	1.6±1.1	0.4±0.8 ^{abc}	1±1.1 ^{bc}	7.1±2.1 ^{de}	1.1±1.2 ^{cde}
ERA55	6.6±1.7 ^a	2.0±1.4 ^d	0.7±1.0 ^{ab}	3.7±2.8	1.2±1.3	0.7±1.2 ^{bc}	0.9±1.0 ^{bc}	5.8±1.4 ^{abc}	1.5±1.4 ^e
ERD55	6.7±1.3 ^a	1.2±1.2 ^{bc}	0.7±1.0 ^{ab}	3.3±2.8	1.5±1.3	0.8±1.2 ^c	0.5±0.8 ^{ab}	5.8±1.4 ^{abc}	0.8±1.0 ^{bcd}
EA73	8.1±1.3 ^b	1.1±1.2 ^{bc}	1.0±1.5 ^{bc}	4.1±3.3	1.4±1.2	0.2±0.5 ^a	0.9±1.0 ^{bc}	7.3±1.8 ^{ef}	1±1.1 ^{bode}
ERA73	6.9±2.0 ^a	1.6±1.4 ^{cd}	0.7±1.0 ^{ab}	3.8±3.3	1.4±1.2	0.5±1.0 ^{ab}	0.9±1.1 ^{bc}	6.1±1.5 ^{bc}	0.8±1.0 ^{bcd}
ERD73	6.5±1.6 ^a	1.2±1.4 ^{bc}	0.9±1.1 ^{ab}	3.5±3.0	1.6±1.6	0.8±1.2 ^c	0.9±1.1 ^{bc}	5.4±1.8 ^{ab}	0.6±0.9 ^{ab}

- 1) : NS, * : p<.001, ** : .001≤p<.01, *** : .01≤p≤.05
- 2) Design : panel + sample + panel*sample
- 3) Duncan's 사후분석 : a<b<c<d<e<f
- 4) S10 시료의 관능적 특성 강도와 유의적 차이가 있는 시료 : S10과 비교해 관능적 특성의 강도가 강한 시료는 파란색, 약한 시료는 빨간색으로 표시
- 5) 최대값, 최소값은 진한 글씨로 표시

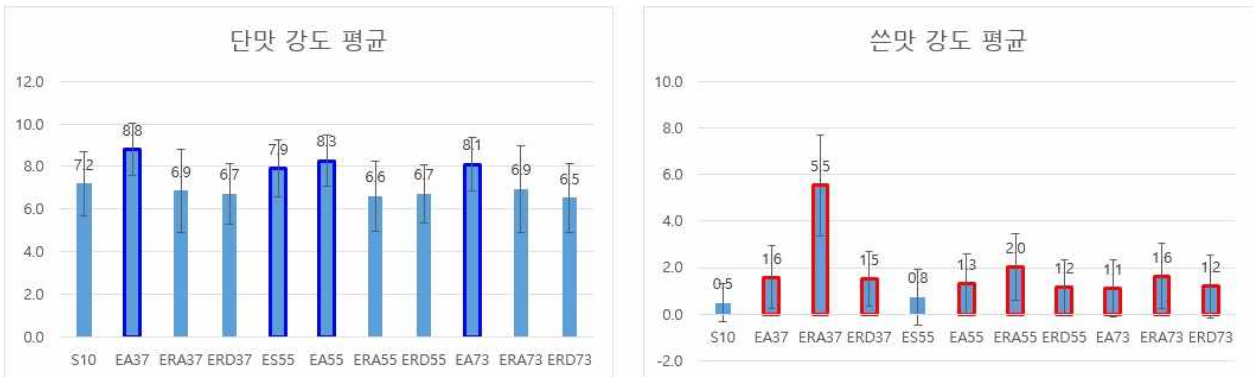


그림 16 . 2성분 조합 시료의 단맛과 쓴맛 강도 평균

- erythritol + bulk감미료(allulose, sucrose) 조합이 시너지 효과가 가장 잘 나타났음. 특히, allulose의 비율이 증가할수록 단맛 상승 작용이 더 잘 발현됨을 볼 수 있음(단맛강도:EA73<EA55<EA37).
- Erythritol + sucrose 조합 시료를 제외하고, 모든 시료에서 S10과 비교하여 쓴맛이 강하게 평가됨. Erythritol과 조합하는 다른 감미료의 비율이 증가할수록 쓴맛 강도가 증가하는 경향을 보임. RAA는 다른 감미료와 비교해 그 조합 비율이 증가할수록 쓴맛 강도가 두드러지게 증가함(쓴맛강도:ERA73<ERA55<ERA37).
- 신맛, 후미 단맛은 단맛과 비슷한 경향을 보임. 해당특성은 Erythritol과 조합하는 감미료가 bulk감미료(allulose, sucrose)일 때 더 잘 발현되며, 특히 allulose와 조합 시 allulose의 비율이 증가할수록 해당 특성이 잘 발현됨을 확인할 수 있음. 후미쓴맛, 뚝은 감각은 쓴맛과 비

슷한 경향을 보임. Erythritol과 조합하는 시료에서 sucrose를 제외하고 RAD<allulose<RAA 순서로 쓴맛, 후미쓴맛, 떫은 감각의 강도가 증가하는 경향을 보이며, 특히 조합되는 감미료의 비율이 증가할수록 해당 특성의 강도도 증가함을 확인할 수 있음.

(3) 실험 결과 : Erythritol과 타감미소재 2성분 조합시 감미질의 시각적 도표화(주성분분석, PCA)

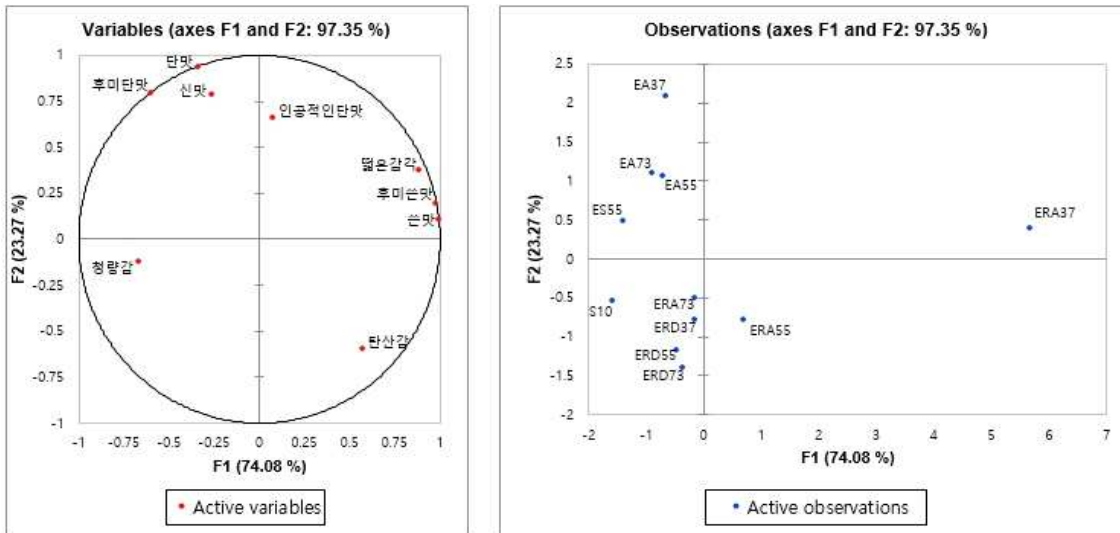


그림 17 . 2성분 조합 시료의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ 주성분 분석을 실시한 결과 주성분 1과 2가 총 분산의 약 97%를 설명하는 것으로 나타남. 제 1주성분은 양의 방향으로 쓴맛, 후미쓴맛과 관련된 속성이 부하되었으며, 제 2 주성분의 양의 방향에서는 단맛과 관련된 속성이 부하됨. RAA의 비율이 높아질수록 쓴맛, 후미쓴맛, 떫은감각의 강도가 높고, Erythritol과 bulk감미료(allulose, sucrose) 조합에서 단맛 발현이 가장 잘 나타남.

다. 감미료(스테비올 배당체, 고감미료, bulk 감미료)의 3성분 조합시 감미 기능성 분석

(1) 시료

○ Allulose, Tagatose, Erythritol, Rebaudioside A, Rebaudioside D 및 Sucrose를 3성분으로 조합 하였으며, 사용된 조합(표 32)과 상대감미도(표 33)는 다음과 같음.

표 62 . 3성분 조합 시료

3성분 조합 시료	Abbr.
설탕 10%	S10
[설탕을 주 base로 할 때 최적 감미 조합 (설탕 4 : 감미료A 3 : 감미료B 3)]	Abbr.

sucrose 4 : allulose 3 : tagatose 3	SAT433
sucrose 4 : allulose 3 : erythritol 3	SAE433
sucrose 4 : allulose 3 : RAA 3	SARD433
sucrose 4 : allulose 3 : RAD 3	SARD433
sucrose 4 : tagatose 3 : erythritol 3	STE433
sucrose 4 : tagatose 3 : RAA 3	STRA433
sucrose 4 : tagatose 3 : RAD 3	STRD433
sucrose 4 : erythritol 3 : RAA 3	SERA433
sucrose 4 : erythritol 3 : RAD 3	SERD433
sucrose 4 : RebA 3 : RAD 3	SRARD433
[저칼로리 bulk 감미료를 주 base로 할 때 최적 감미 조합 (bulk감미료 4 : 감미료A 3 : 감미료B 3)]	Abbr.
allulose 4 : tagatose 3 : erythritol 3	ATE433
allulose 4 : tagatose 3 : RAA 3	ATRA433
allulose 4 : tagatose 3 : RAD 3	ATRD433
allulose 4 : erythritol 3 : RAA 3	AERA433
allulose 4 : erythritol 3 : RAD 3	AERD433
allulose 4 : RebA 3 : RAD 3	ARARD433
tagatose 4 : allulose 3 : erythritol 3	TAE433
tagatose 4 : allulose 3 : RAA 3	TARA433
tagatose 4 : allulose 3 : RAD 3	TARD433
tagatose 4 : erythritol 3 : RAA 3	TERA433
tagatose 4 : erythritol 3 : RAD 3	TERD433
tagatose 4 : RebA 3 : RAD 3	TRARD433

표 63 . 실험에 사용된 시료의 농도별 상대감미도

시료	3% 상대감미도	4% 상대감미도
Sucrose	1	1
Allulose	0.58	0.57
Tagatose	0.78	0.8
Erythritol	0.55	-
RAA	249.55	-
RAD	261.92	-

(2) 실험 결과 : 감미료 3성분 조합시 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차

표 34-1 . 3성분 조합 시료 : 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

	단맛***	쓴맛***	신맛	짠맛	비린맛	꿀향미***	인공적인 단맛
S10	7.1±2.1 ^b	1.1±1.1 ^{ab}	0.5±0.9	0.6±0.6	0.9±1.0	1.0±1.5 ^{ab}	3.0±2.8
SARA433	7.3±2.3 ^{bc}	1.7±1.3 ^{cd}	0.4±0.7	0.8±0.8	0.7±0.9	1.1±1.8 ^{ab}	3.6±3.1
SARD433	7.5±1.9 ^{bcd}	1.3±1.5 ^{bc}	0.5±0.9	0.8±0.7	0.7±0.8	1.3±1.9 ^{ab}	3.8±3.0
SAE433	8.3±1.8 ^{de}	0.7±1.0^a	0.6±1.0	0.8±1.0	0.8±1.0	1.9±2.2 ^{cd}	3.7±3.3
SAT433	8.3±1.9 ^{de}	1.1±1.2 ^{ab}	0.6±1.0	0.9±1.0	0.5±0.8	1.9±2.2 ^d	2.9±2.9
STRA433	7.7±1.8 ^{bcd}	1.2±1.2 ^{bc}	0.6±1.0	0.7±0.7	0.8±1.2	1.5±1.9 ^{bcd}	3.7±3.1
STRD433	7.0±2.3 ^b	1.3±1.7 ^{bc}	0.4±0.7	0.9±0.8	0.9±1.1	1.3±1.6 ^{abc}	3.8±2.9
STE433	8.9±0.9^e	0.9±1.2 ^{ab}	0.4±0.9	1.1±1.8	0.7±0.9	1.8±2.0 ^{cd}	4.0±3.6
SERA433	8.1±1.3 ^{cde}	1.6±1.9 ^{cd}	0.6±1.1	0.8±0.8	0.8±1.1	1.1±1.4 ^{ab}	3.2±2.9
SERD433	7.4±2.5 ^{bcd}	1.1±1.4 ^{ab}	0.7±0.9	0.7±0.9	0.8±1.0	0.9±1.1 ^{ab}	3.5±2.9
SRARD433	5.9±2.1^a	2.0±1.6^d	0.8±1.8	0.6±0.9	1.1±1.2	0.8±1.2^a	3.1±2.8

	청량감	점도/ 부드러움	후미 떨은감각*	후미단맛***	후미단맛의 지속성**	후미쓴맛***	후미떫떫함
S10	1.0±1.1	2.4±2.3	0.6±0.9^a	5.0±2.6 ^{ab}	3.6±2.7 ^{ab}	0.8±0.9 ^{ab}	0.8±0.8
SARA433	1.2±1.4	2.4±2.2	1.2±1.3 ^{bc}	5.4±2.8 ^{bc}	3.7±2.9 ^{ab}	1.4±1.4 ^{cd}	1.2±1.4
SARD433	1.0±1.3	2.6±2.1	0.9±1.0 ^{ab}	5.6±2.6 ^{bcd}	3.8±3.0 ^{abc}	1.0±0.9 ^{abc}	0.8±1.1
SAE433	1.2±1.4	2.6±2.1	1.4±1.3^c	6.4±2.9 ^{cd}	4.8±3.2^d	0.6±0.8^a	1.3±1.4
SAT433	1.2±1.4	2.5±2.1	1.1±1.1 ^{abc}	6.4±2.6 ^{cd}	4.4±2.9 ^{bcd}	0.7±0.8 ^{ab}	1.2±1.3
STRA433	1.0±1.4	2.6±1.9	1.0±1 ^{abc}	5.9±2.9 ^{bcd}	4.0±3.0 ^{bcd}	1.1±1.2 ^{bc}	1.0±1.4
STRD433	0.9±1.1	2.2±1.8	0.8±1.0 ^{ab}	5.6±2.8 ^{bcd}	4.2±2.7 ^{bcd}	0.8±1.1 ^{ab}	0.9±1.0
STE433	1.2±1.4	2.7±2.2	0.9±1.2 ^{ab}	6.6±2.8^d	4.7±3.0 ^{cd}	0.6±0.8 ^a	1.2±1.3
SERA433	1.3±1.4	2.4±1.9	0.8±0.8 ^{ab}	6.1±2.9 ^{cd}	4.3±2.8 ^{bcd}	0.8±1.0 ^{ab}	1.1±1.2
SERD433	0.8±1.1	2.4±2.0	0.9±1.0 ^{ab}	5.9±2.9 ^{bcd}	3.9±2.9 ^{bcd}	0.6±0.9^a	1.0±1.2
SRARD433	0.9±1.3	2.2±2.4	0.9±1.2 ^{ab}	4.1±2.0^a	3.0±2.5^a	1.5±1.5^d	0.9±1.0

표 34-2 . 3성분 조합 시료 : 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

	단맛***	쓴맛***	신맛	짠맛	비린맛***	꿀향미***	인공적인 단맛
S10	6.9±0.9 ^b	0.8±1.1^a	0.4±0.7	0.5±0.7	0.8±1.1 ^{abc}	0.9±1.3 ^{abc}	3.1±2.6
ATE433	8.9±1.0^f	1.1±1.1 ^{abcd}	0.7±1.1	1.0±0.9	0.7±1.0 ^{abc}	1.6±2.0^d	3.5±3.2
ATRA433	7.3±1.0 ^{bcd}	1.4±1.4^{cdef}	0.9±1.2	1.0±1.4	0.8±1.0 ^{abc}	1.1±1.6 ^{abcd}	3.2±2.7
ATRD433	7.1±1.3 ^{bc}	1.3±1.2^{bcde}	0.8±1.1	0.8±0.7	0.7±1.0 ^{abc}	1.3±1.5 ^{bcd}	3.2±3.0
AERA433	7.7±0.9 ^{de}	1.5±1.3^{def}	0.8±1.2	0.9±0.6	1.0±1.1 ^{bcd}	1.1±1.6 ^{abc}	3.2±3.3
AERD433	7.5±1.1 ^{cde}	0.9±1.2 ^{ab}	0.8±1.2	0.8±0.6	0.6±1.0 ^{ab}	0.8±1.3 ^{ab}	3.4±3.1
ARARD433	5.3±1.2^a	2.4±1.5^g	0.9±1.2	0.8±1.1	1.6±1.5^e	0.5±1.1^a	3.1±2.8
TAE433	8.7±0.9 ^f	1.0±1.2 ^{abc}	0.7±1.0	0.9±0.6	0.5±0.9 ^a	1.5±1.5 ^{cd}	3.8±3.2
TARA433	7.1±1.3 ^{bc}	1.6±1.3^{ef}	0.8±1.0	0.6±0.8	1.0±1.0 ^{cd}	0.8±1.0 ^{ab}	3.5±3.1
TARD433	7.2±1.1 ^{bcd}	1.2±1.3 ^{abcde}	0.7±0.9	0.6±0.6	0.8±1.0 ^{abc}	0.9±0.9 ^{abc}	3.2±2.5
TERA433	7.9±1.2 ^e	0.9±1.3 ^{ab}	0.6±0.8	0.8±0.8	0.8±1.0 ^{abc}	1.7±2.1^d	3.3±3.1
TERD433	7.4±1.1^{cd}	1.2±1.3 ^{abcde}	0.8±1.2	0.7±0.6	0.8±0.9 ^{abc}	1.3±1.8 ^{bcd}	3.0±2.5
TRARD433	5.5±1.0^a	1.7±1.5^f	0.7±0.9	0.6±0.7	1.3±1.2^{de}	0.6±1.2 ^a	3.3±2.8

	청량감	점도/ 부드러움*	후미 뚝은감각	후미단맛***	후미단맛의 지속성***	후미쓴맛***	후미딤딤함
S10	1.1±1.2	2.4±2.3 ^{bcd}	1.0±1.0	5.6±1.7 ^b	3.9±2.2 ^b	0.9±1.2 ^a	1.2±1.0
ATE433	1.3±1.2	2.5±2.1^{cd}	1.3±1.2	7.3±2.3 ^e	5.4±2.8^e	1.0±1.0 ^{abc}	1.7±1.6
ATRA433	1.3±1.4	2.4±1.9 ^{bcd}	0.9±0.9	5.7±1.8 ^{bc}	4.1±2.2 ^{bc}	1.2±1.1 ^{abcd}	1.3±1.4
ATRD433	1.4±1.3	2.4±2.3 ^{abcd}	0.9±0.9	5.9±2.0 ^{bcd}	4.0±2.4 ^b	1.4±1.3^{cd}	1.3±1.0
AERA433	1.5±1.5	2.2±1.9 ^{abcd}	1.1±1.2	6.2±2.2 ^{cd}	4.3±2.4 ^{bc}	1.2±1.1 ^{abcd}	1.3±1.1
AERD433	1.8±2.0	2.0±1.7 ^{ab}	1.1±1.1	5.9±2.0 ^{bcd}	3.9±2.3 ^b	1.1±1.1 ^{abcd}	1.3±1.2
ARARD433	1.4±1.3	1.9±1.7^a	1.2±1.3	4.2±1.4^a	3.0±2.0^a	2.1±1.5^e	1.4±1.7
TAE433	1.5±1.3	2.4±1.9 ^{bcd}	1.1±1.1	7.3±2.3^e	5.0±2.8 ^{de}	0.9±0.9^a	1.5±1.3
TARA433	1.1±1.3	2.3±1.8 ^{abcd}	1.0±0.9	5.7±1.9 ^{bc}	4.0±2.4 ^b	1.3±1.2^{bcd}	1.2±1.2
TARD433	1.3±1.4	2.2±1.9 ^{abcd}	0.7±0.8	5.8±1.8 ^{bc}	4.3±2.1 ^{bc}	0.9±0.9 ^{ab}	1.4±1.2
TERA433	1.2±1.4	2.6±2.2^d	0.8±1.0	6.5±2.0^d	4.6±2.7^{cd}	1.0±1.1 ^{abcd}	1.3±1.3
TERD433	1.3±1.3	2.4±2.1 ^{bcd}	1.0±1.0	6.0±1.8 ^{bcd}	4.2±2.3 ^{bc}	0.9±1.1^a	1.2±1.0
TRARD433	1.2±1.3	2.1±1.8 ^{abc}	1.1±1.2	4.3±1.4^a	3.2±2.2^a	1.4±1.3^d	1.4±1.3

- 1) : NS, * : p<.001, ** : .001≤p<.01, *** : .01≤p≤.05
- 2) Design : panel + sample + panel*sample
- 3) Duncan's 사후분석 : a<b<c<d<e<f<g
- 4) S10 시료의 관능적 특성 강도와 유의적 차이가 있는 시료 : S10과 비교해 관능적 특성의 강도가 강한 시료는 파란색, 약한 시료는 빨간색으로 표시
- 5) 최대값, 최소값은 진한 글씨로 표시

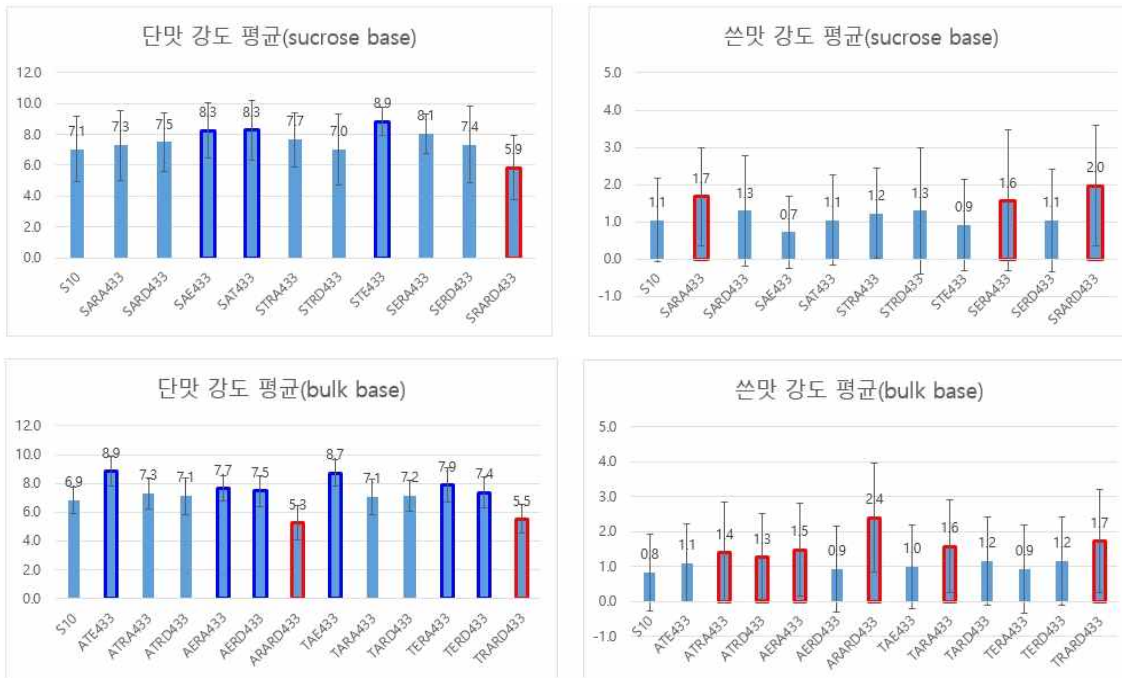


그림 18 . 3성분 조합 시료의 단맛과 쓴맛 강도 평균

- sucrose를 base로 했을 때, Sucrose + bulk감미료(allulose, tagatose, erythritol) + bulk감미료 (allulose, tagatose, erythritol) 조합에서 단맛 시너지 효과가 가장 잘 나타남. 또한 S10과 비교하여 쓴맛 강도가 유사하게 나타남. 고감미료 RAA가 포함된 시료는 쓴맛 강도가 높게 나타남. 특히, RAA+RAD 조합이 포함된 시료(SRARD433)는 단맛이 억제되고, 더 높은 쓴맛 강도를 보임. 꿀향미, 후미단맛, 후미단맛의 지속성은 단맛과 유사한 경향을 보임. sucrose + bulk감미료 + bulk감미료 조합에서 해당특성이 잘 발현됨. 후미쓴맛은 쓴맛과 유사한 경향을 보임. RAA가 포함된 시료에서 쓴맛, 후미쓴맛의 강도가 높게 나타나는데, 특히 RAA+RAD조합이 포함된 시료에서 더 높은 강도로 평가됨.
- bulk감미료(allulose or tagatose)를 base로 했을 때, bulk감미료 + bulk감미료 + bulk감미료 (Allulose+tagatose+erythritol) 조합에서 단맛 시너지 효과가 가장 잘 나타남. 특히 erythritol 혹은 Tagatose+erythritol 조합이 포함된 시료에서 단맛 발현이 잘 됨. 고감미료(RAA)가 포함된 시료에서 쓴맛이 강하게 발현되는 경향을 보임. 특히, RAA+RAD 2종의 고감미료가 포함된 시료(ARARD433, TRARD433)는 쓴맛 강도가 높게 평가되었고 단맛은 억제되어 평가됨. 꿀향미, 후미단맛, 후미단맛의 지속성은 단맛과 유사한 경향을 보임. bulk감미료+bulk감미료 조합에서 해당특성이 잘 발현됨. 특히 tagatose+erythritol(TE) 조합에서 더 높은 강도로 평가됨. 또한 RAA+RAD조합이 포함된 시료에서는 해당 특성의 강도가 낮게 평가되는 경향을 보임. 후미쓴맛은 쓴맛과 유사한 경향을 보임. RAA가 포함된 시료에서 쓴맛, 후미쓴맛의 강도가 높게 나타나는데, 특히 RAA+RAD조합이 포함된 시료에서 더 높은 강도로 평가됨.
- 전반적으로 Bulk감미료+bulk감미료+bulk감미료 조합 시료에서 단맛 시너지 효과로 단맛이 잘 발현됨. 그에 반해 고감미료+고감미료(RAA+RAD) 조합이 포함된 시료는 단맛 발현이 오히려 억제되고 있음을 확인할 수 있음. 1종의 고감미료가 포함된 시료보다 2종의 고감미료가 포함된 시료에서 단맛 억제 현상이 두드러짐. 고감미료 RAA가 포함된 시료에서 쓴맛 강도가

높은 경향을 보임. 특히, 고감미료+고감미료(RAA+RAD) 조합이 포함된 시료에서는 쓴맛 강도가 더 높아짐. 단맛 강도가 높은 시료일수록 꿀향미, 후미단맛, 후미단맛의 지속성이 높은 경향을 보임. 쓴맛 강도가 높은 시료일수록 후미쓴맛도 높은 경향을 보이며, 반대로 단맛, 후미단맛, 후미단맛의 지속성은 낮음을 볼 수 있음

(3) 실험 결과 : 감미료 3성분 조합시 감미질의 시각적 도표화(주성분분석, PCA)

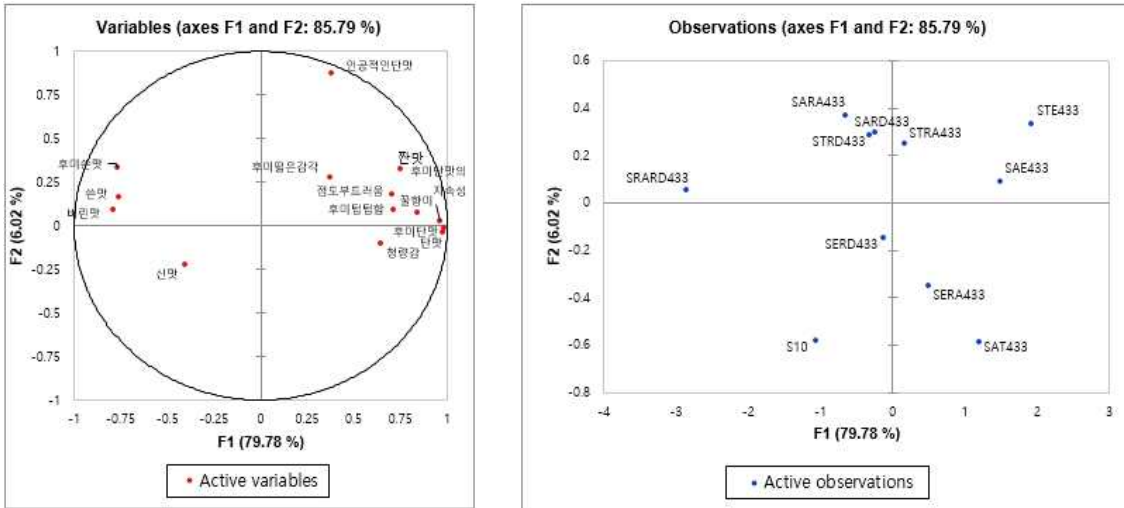


그림 19-1 . 3성분 조합 시료의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

○ sucrose를 base로 한 시료 조합에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과, 주성분 1과 주성분 2가 총 분산의 약 86%를 설명하는 것으로 나타남. 제 1주성분 양의 방향에 위치한 STE433, SAE433, SAT433, SERA433시료는 단맛과 관련된 속성(단맛, 후미단맛, 후미단맛의 지속성, 꿀향미)이 높게 나타남. 그와 반대로, 제 1 주성분 음의 방향에 위치한 SRARD433 시료는 단맛 강도가 낮게 평가되는 경향을 보임. bulk감미료 간 조합 시료의 경우 단맛 관련 속성과 관련이 있으며, RAA+RAD조합이 포함된 시료는 쓴맛, 후미쓴맛 특성과 관련이 있음을 확인할 수 있음.

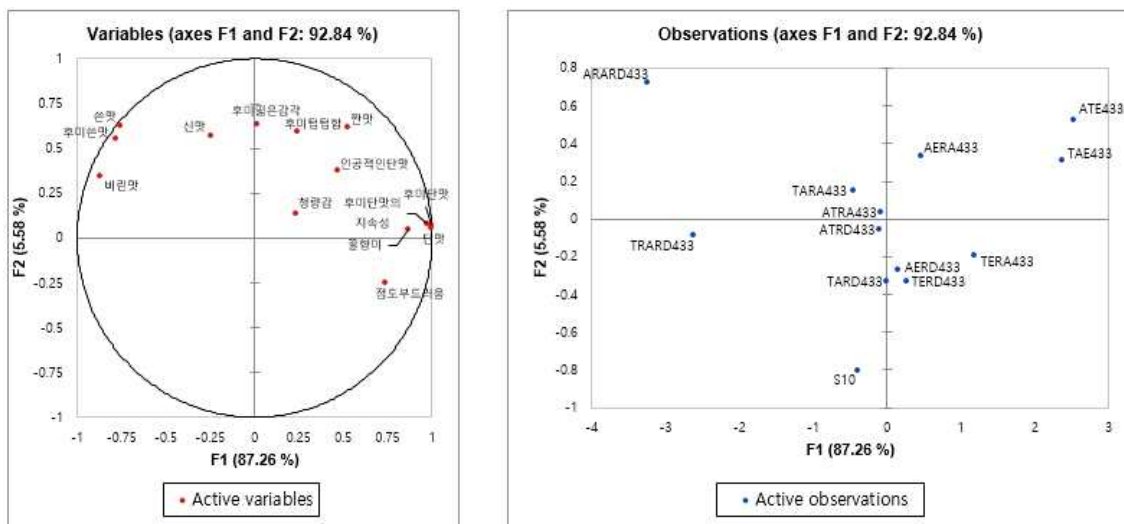


그림 19-2 . 3성분 조합 시료의 관능적 특성에 대한 시각적 도표화(PCA)

- bulk 감미료(allulose or tagatose)를 base로 조합한 시료에 대하여 주성분 분석을 실시한 결과, 주성분 1과 주성분 2가 총 분산의 약 93%를 설명하는 것으로 나타남. 제 1주성분 양의 방향에 위치한 ATE433, TAE433, TERA433, AERA433, TERD433, AERD433시료는 단맛과 관련된 속성(단맛, 후미단맛, 후미단맛의 지속성, 꿀향미)이 높게 나타남. 그와 반대로, 제 1주성분 음의 방향에 위치한 ARARD433, TRARD433 시료는 단맛 강도가 낮게 평가되는 경향을 보이며, 쓴맛, 후미쓴맛의 강도가 높게 평가됨. bulk감미료 간 조합 시료의 경우 단맛 관련 속성과 관련이 있으며, RAA가 포함된 시료, 특히 RAA+RAD조합이 포함된 시료는 쓴맛, 후미쓴맛 특성과 관련이 있음을 확인할 수 있음.

라. 감미료(스테비올 배당체, 고감미료, bulk 감미료)의 4성분 조합시 감미 기능성 분석

(1) 시료

- Allulose, Tagatose, Erythritol, Sucralose, Rebaudioside A, Rebaudioside D 및 Sucrose를 4성분으로 조합하였으며, 사용된 조합(표 35)과 상대감미도(표 36)는 다음과 같음.

표 35 . 4성분 조합 시료

4성분 조합 시료	Abbr.
sucrose 10%	S10
[설탕을 주 base로 할 때 최적 감미 조합 (설탕 4 : 감미료A 2 : 감미료B 2 : 감미료C 2)]	Abbr.
sucrose 4 : allulose 2 : tagatose 2 : erythritol 2	SATE4222
sucrose 4 : allulose 2 : tagatose 2 : sucralose 2	SATSU4222
sucrose 4 : allulose 2 : tagatose 2 : RAA 2	SATRA4222
sucrose 4 : allulose 2 : tagatose 2 : RAD 2	SATRD4222
sucrose 4 : allulose 2 : erythritol 2 : sucralose 2	SAESU4222
sucrose 4 : allulose 2 : erythritol 2 : RAA 2	SAERA4222
sucrose 4 : allulose 2 : erythritol 2 : RAD 2	SAERD4222
sucrose 4 : allulose 2 : sucralose 2 : RAA 2	SASURA4222
sucrose 4 : allulose 2 : sucralose 2 : RAD 2	SASURD4222
sucrose 4 : allulose 2 : RAA 2 : RAD 2	SARARD4222
sucrose 4 : tagatose 2 : erythritol 2 : sucralose 2	STESU4222
sucrose 4 : tagatose 2 : erythritol 2 : RAA 2	STERA4222
sucrose 4 : tagatose 2 : erythritol 2 : RAD 2	STERD4222
sucrose 4 : tagatose 2 : sucralose 2 : RAA 2	STSURA4222
sucrose 4 : tagatose 2 : sucralose 2 : RAD 2	STSURD4222
sucrose 4 : tagatose 2 : RAA 2 : RAD 2	STRARD4222
sucrose 4 : erythritol 2 : sucralose 2 : RAA 2	SESURA4222
sucrose 4 : erythritol 2 : sucralose 2 : RAD 2	SESURD4222
sucrose 4 : erythritol 2 : RAA 2 : RAD 2	SERARD4222
sucrose 4 : sucralose 2 : RAA 2 : RAD 2	SSURARD4222
[저칼로리 bulk감미료를 주 base로 할 때 최적 감미 조합	Abbr.

(bulk감미료 4 : 감미료A 2 : 감미료B 2 : 감미료C 2)]	
allulose 4 : tagatose 2 : erythritol 2 : sucralose 2	ATESU4222
allulose 4 : tagatose 2 : erythritol 2 : RAA 2	ATERA4222
allulose 4 : tagatose 2 : erythritol 2 : RAD 2	ATERD4222
allulose 4 : tagatose 2 : sucralose 2 : RAA 2	ATSURA4222
allulose 4 : tagatose 2 : sucralose 2 : RAD 2	ATSURD4222
allulose 4 : tagatose 2 : RAA 2 : RAD 2	ATRARD4222
allulose 4 : erythritol 2 : sucralose 2 : RAA 2	AESURA4222
allulose 4 : erythritol 2 : sucralose 2 : RAD 2	AESURD4222
allulose 4 : erythritol 2 : RebA 2 : RAD 2	AERARD4222
allulose 4 : sucralose 2 : RebA 2 : RAD 2	ASURARD4222
tagatose 4 : allulose 2 : erythritol 2 : sucralose 2	TAESU4222
tagatose 4 : allulose 2 : erythritol 2 : RAA 2	TAERA4222
tagatose 4 : allulose 2 : erythritol 2 : RAD 2	TAERD4222
tagatose 4 : allulose 2 : sucralose 2 : RAA 2	TASURA4222
tagatose 4 : allulose 2 : sucralose 2 : RAD 2	TASURD4222
tagatose 4 : allulose 2 : RAA 2 : RAD 2	TARARD4222
tagatose 4 : erythritol 2 : sucralose 2 : RAA 2	TESURA4222
tagatose 4 : erythritol 2 : sucralose 2 : RAD 2	TESURD4222
tagatose 4 : erythritol 2 : RAA 2 : RAD 2	TERARD4222
tagatose 4 : sucralose 2 : RAA 2 : RAD 2	TSURARD4222
[저칼로리 bulk감미료와 고감미료를 동일 비율로 할 때 최적 감미 조합 (bulk감미료A 2.5 : bulk감미료B 2.5 : 감미료A 2.5: 감미료B 2.5)]	Abbr.
allulose 2.5 : tagatose 2.5 : erythritol 2.5 : sucralose 2.5	ATESU2.5
allulose 2.5 : tagatose 2.5 : erythritol 2.5 : RAA 2.5	ATERA2.5
allulose 2.5 : tagatose 2.5 : erythritol 2.5 : RAD 2.5	ATERD2.5
allulose 2.5 : tagatose 2.5 : sucralose 2.5 : RAA 2.5	ATSURA2.5
allulose 2.5 : tagatose 2.5 : sucralose 2.5 : RAD 2.5	ATSURD2.5
allulose 2.5 : tagatose 2.5 : RAA 2.5 : RAD 2.5	ATRARD2.5

표 36 . 실험에 사용된 시료의 농도별 상대감미도

시료	2% 상대감미도	2.5% 상대감미도	4% 상대감미도
Sucrose	-	-	1
Allulose	0.59	0.58	0.57
Tagatose	0.73	0.76	0.8
Erythritol	0.5	0.53	-
Sucralose	740.38	624.58	-
RAA	264	261.97	-
RAD	264.26	268.51	-

(2) 실험 결과 : 감미료 4성분 조합시 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(표 37)

표 37-1 . 4성분 조합 시료 : 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

	단맛***	쓴맛	짠맛	비린맛	인공적인 단맛*
S10	7.2±1.6 ^a	0.7±1.4	0.3±0.4	0.8±1.0	3.0±2.7 ^a
SAESU4222	8.1±1.6 ^{bc}	1.2±1.6	0.4±0.5	0.6±1.0	3.1±3.1 ^a
SAERA4222	8.3±1.6 ^{bcd}	1.0±1.6	0.4±0.6	0.7±1.1	3.5±3.4 ^{ab}
SAERD4222	8.7±0.9 ^{cd}	1.4±1.6	0.6±0.8	0.7±1.2	3.8±3.0 ^{ab}
SASURA4222	7.8±1.4 ^{ab}	1.3±1.5	0.4±0.6	0.7±1.0	3.3±3.4 ^{ab}
SASURD4222	7.8±1.4 ^{ab}	0.9±1.6	0.4±0.5	0.9±1.4	3.3±2.9 ^{ab}
SARARD4222	7.2±1.5^a	1.0±1.5	0.4±0.6	0.9±1.9	3.5±3.2 ^{ab}
SATE4222	8.9±1.5^d	0.8±1.3	0.5±0.7	0.5±0.8	4.3±3.1^b
SATSU4222	8.2±1.5 ^{bc}	0.9±1.3	0.4±0.8	0.7±1.0	3.1±3.2 ^a
SATRA4222	8.2±1.7 ^{bc}	1.3±1.4	0.5±0.7	0.7±1.0	2.9±2.9^a
SATRD4222	8.4±1.5 ^{cd}	1.2±1.4	0.5±0.7	0.9±1.3	3.8±3.3 ^{ab}
STESU4222	8.3±1.5 ^{bcd}	0.8±1.2	0.4±0.7	0.9±1.2	3.3±3.1 ^{ab}
STERA4222	8.6±1.5 ^{cd}	1.1±1.5	0.4±0.7	0.7±1.0	4.1±3.3^b

	청량감	점도	후미떫음 / 텃텃함	후미단맛***	후미쓴맛
S10	1.3±1.7	0.9±1.1	1.2±1.4	5.7±2.3^a	0.6±0.9
SAESU4222	1.1±1.5	1.0±1.0	1.7±1.7	6.8±2.0 ^{bc}	1.2±2.0
SAERA4222	1.1±1.7	1.6±1.8	1.6±1.7	6.9±2.2 ^{bc}	0.8±1.5
SAERD4222	1.0±1.6	1.8±1.8	1.6±1.7	7.1±2.1 ^{cd}	1.0±1.8
SASURA4222	1.0±1.6	1.4±1.7	1.4±1.4	6.1±2.2 ^{ab}	1.3±1.8
SASURD4222	1.2±1.7	1.4±1.6	1.2±1.4	6.7±2.2 ^{bc}	0.9±1.4
SARARD4222	1.1±1.8	1.3±1.4	1.4±1.4	6.0±2.1 ^{ab}	0.8±1.0
SATE4222	1.2±1.7	1.7±1.9	1.8±1.5	7.8±2.0^d	0.6±1.0
SATSU4222	0.9±1.4	1.5±1.9	1.2±1.5	6.8±2.2 ^{bc}	0.7±0.8
SATRA4222	1.3±1.6	1.2±1.5	1.5±1.7	6.5±2.5 ^{abc}	1.1±1.6
SATRD4222	1.8±2.7	1.4±1.5	1.5±1.4	6.7±2.0 ^{bc}	1.1±1.4
STESU4222	1.2±1.8	1.4±1.6	1.4±1.2	6.9±2.4 ^{bc}	0.8±1.4
STERA4222	1.1±1.6	1.7±2.3	1.5±1.4	7.2±2.5 ^{cd}	0.8±1.3

표 37-2 . 4성분 조합 시료 : 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

	단맛***	쓴맛***	짠맛	비린맛	인공적인 단맛*
S10	7.3±1.3 ^{ab}	0.3±0.7^a	0.2±0.4	0.8±1.2	3.3±2.9 ^a
STERD4222	8.4±1.5^e	0.8±1.5 ^{abc}	0.5±0.7	0.7±1.3	3.5±3.2 ^a
STSURA4222	8.3±1.1 ^{de}	0.8±1.3 ^{abc}	0.5±0.9	0.9±1.4	4.3±3.3^b
STSURD4222	7.7±1.3 ^{bcd}	0.8±1.1 ^{abc}	0.4±0.6	1.0±1.6	3.4±3.0 ^a
STRARD4222	8.3±1.2 ^{cde}	0.9±1.7 ^{abcd}	0.5±1.1	1.1±1.4	3.2±2.9 ^a
SESURA4222	8.1±1.1 ^{cde}	0.8±1.6 ^{abc}	0.4±0.6	0.9±1.5	3.5±3.1 ^a
SESURD4222	8.0±1.3 ^{cde}	0.7±1.3 ^{ab}	0.4±0.8	1.1±1.4	3.6±3.4 ^a
SERARD4222	7.6±1.3 ^{bc}	1.4±1.9^{cde}	0.4±1.0	0.7±1.2	3.2±3.0 ^a
SSURARD4222	7.2±1.3 ^{ab}	1.3±1.5^{bode}	0.4±1.0	0.8±1.2	3.6±3.3 ^a
AESURA4222	8.1±1.3 ^{cde}	1.6±2.2^{def}	0.6±0.9	0.9±1.5	3.5±3.6 ^a
AESURD4222	8.3±1.2 ^{de}	1.2±2.1^{bode}	0.5±0.8	0.9±1.4	3.4±3.2 ^a
AERARD4222	7.1±1.5 ^{ab}	2.1±2.4^f	0.4±0.8	1.1±1.6	3.1±2.9 ^a
ASURARD4222	6.9±1.6^a	1.7±2.0^{ef}	0.4±0.9	1.1±1.7	3.1±2.8^a

	청량감*	점도	후미땀음 /텃텃함	후미단맛***	후미 쓴맛***
S10	0.9±1.4^a	1.6±1.8	1.2±1.5	6.3±1.7 ^a	0.4±0.8^a
STERD4222	1.6±1.6^b	1.8±1.7	1.4±1.6	7.7±1.6 ^d	0.5±1.1 ^{ab}
STSURA4222	1.3±1.6 ^{ab}	2.0±1.9	1.5±1.5	7.7±2.1^d	1.0±1.5^{bcdde}
STSURD4222	1.1±1.4 ^{ab}	1.7±1.7	1.6±1.6	7.2±1.6 ^{bcd}	0.9±1.3 ^{abcd}
STRARD4222	1.3±1.6 ^{ab}	1.8±1.9	1.3±1.4	6.7±1.9 ^{abc}	0.6±1.2 ^{abc}
SESURA4222	1.3±1.5 ^{ab}	1.8±1.7	1.4±1.7	7.5±1.9 ^d	1.0±1.6^{bcdde}
SESURD4222	1.3±1.7 ^{ab}	1.6±1.6	1.3±1.4	7.3±1.9 ^{bcd}	0.8±1.4 ^{abcd}
SERARD4222	1.2±1.4 ^{ab}	1.7±2.0	0.9±1.3	6.6±1.9 ^{ab}	0.8±1.3 ^{abcd}
SSURARD4222	1.2±1.4 ^{ab}	1.5±1.6	1.6±1.7	6.7±2.3 ^{ab}	1.3±1.7^{cde}
AESURA4222	1.5±1.6^b	1.9±1.5	1.7±1.6	7.4±1.8 ^{cd}	1.3±1.8^{de}
AESURD4222	1.5±1.7^b	1.9±1.9	1.6±1.9	7.7±1.7 ^d	1.3±2.1^{cde}
AERARD4222	1.3±1.5 ^{ab}	1.6±2.0	1.4±1.6	6.3±2.2 ^a	1.6±1.7^e
ASURARD4222	1.1±1.5 ^{ab}	1.7±1.8	1.2±1.4	6.1±1.9^a	1.2±1.8^{cde}

표 37-3 . 4성분 조합 시료 : 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

	단맛***	쓴맛	짠맛**	비린맛	인공적인 단맛
S10	7.1±1.4 ^a	0.5±1.1	0.5±1.0 ^a	1.1±1.2	4.3±3.5
ATESU4222	8.7±1.5 ^{ef}	1.0±1.9	1.1±1.6 ^b	1.0±1.4	5.0±4.3
ATERA4222	8.8±1.6 ^{ef}	1.4±2	1.0±1.7 ^b	1.2±1.6	5.2±4.1
ATERD4222	8.9±1.4 ^{ef}	0.8±1.5	0.9±1.3 ^{ab}	0.9±1.3	5.5±4.2
ATSURA4222	8.4±1.2 ^{def}	0.8±1.6	0.5±1.0 ^a	1.2±1.6	4.9±4.0
ATSURD4222	7.9±1.4 ^{bcd}	1.1±2.2	0.9±1.5 ^{ab}	1.5±1.6	4.9±3.9
ATRARD4222	7.5±1.4 ^{ab}	1.3±2.1	1.1±1.6 ^b	1.3±1.6	4.2±4.0
TESURA4222	8.9±1.5 ^f	1.0±1.9	0.8±1.3 ^{ab}	0.7±1.1	5.2±4.3
TESURD4222	8.3±1.2 ^{cdef}	0.9±2.2	0.8±1.5 ^{ab}	1.1±1.5	5.4±4.4
TERARD4222	7.5±1.6 ^{ab}	0.9±2.0	0.7±1.2 ^{ab}	1.2±1.5	4.6±4.0
TSURARD4222	7.7±1.6 ^{abc}	1.0±1.6	0.9±1.5 ^{ab}	1.1±1.4	4.6±4.3
TAESU4222	8.7±1.5 ^{ef}	0.6±1.7	0.5±1.1 ^a	1.0±1.4	5.3±4.1
TAERA4222	8.2±1.4 ^{cde}	0.9±1.6	1.0±1.6 ^b	1.1±1.4	5.1±4.3

	청량감	점도	후미뽀름 / 탭탭함	후미단맛***	후미쓴맛
S10	1.1±1.5	2.4±3.3	0.8±1.2	6.9±1.8 ^a	0.5±1.0
ATESU4222	1.2±1.6	2.6±3.2	0.8±1.4	8.6±2.1 ^d	0.7±1.5
ATERA4222	1.4±1.9	2.8±3.7	0.9±1.6	8.5±1.9 ^d	1.2±1.9
ATERD4222	1.5±2.1	2.5±3.0	0.6±1.0	8.3±2.3 ^{cd}	0.5±1.3
ATSURA4222	1.3±2.0	2.4±3.1	1.0±1.5	8.1±1.7 ^{cd}	0.8±1.4
ATSURD4222	1.1±1.5	2.5±3.2	0.9±1.4	7.8±2.1 ^{bcd}	0.8±1.8
ATRARD4222	1.4±2.1	2.5±3.2	0.9±1.5	7.1±2.1 ^{ab}	1.2±2.1
TESURA4222	1.3±1.7	2.6±3.3	0.8±1.2	8.4±2.2 ^d	0.9±1.8
TESURD4222	1.3±1.6	2.4±3.2	0.7±1.2	8.3±1.8 ^{cd}	0.8±1.7
TERARD4222	1.3±1.8	2.4±3.0	0.7±1.3	7.0±2.1 ^{ab}	1.0±1.9
TSURARD4222	1.4±2.0	2.2±2.9	1.2±1.7	7.5±2.4 ^{abc}	1.0±1.7
TAESU4222	1.4±1.9	2.6±3.4	0.8±1.3	8.5±2.1 ^d	0.6±1.5
TAERA4222	1.7±2.3	2.6±3.4	0.8±1.2	7.9±1.9 ^{bcd}	0.9±1.5

표 37-4 . 4성분 조합 시료 : 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

	단맛***	쓴맛	짠맛	비린맛*	인공적인 단맛*
S10	7.4±1.3 ^b	0.5±1.1	0.3±0.6	0.5±0.9^a	4.0±3.6 ^{ab}
TAERD4222	8.1±1.4^c	0.8±1.5	0.3±0.6	0.7±0.9 ^{abc}	4.8±4.1 ^{bc}
TASURA4222	8.0±1.4^c	0.8±1.7	0.3±0.7	0.6±0.9 ^{ab}	4.4±4.1 ^{abc}
TASURD4222	8.0±1.7^c	0.7±1.4	0.4±0.8	0.6±1.0 ^{abc}	4.2±4.2 ^{abc}
TARARD4222	7.4±1.4 ^b	0.9±1.6	0.5±0.8	0.7±1.0 ^{abc}	3.8±3.9^a
ATESU2.5	8.6±1.2^c	0.6±1.3	0.3±0.7	0.7±1.1 ^{abc}	4.1±4.3 ^{abc}
ATERA2.5	8.5±1.4^c	0.9±1.3	0.5±0.7	0.8±1.0 ^{abc}	4.0±4.4 ^{ab}
ATERD2.5	8.1±1.2^c	0.7±1.4	0.4±0.9	0.9±1.3^{bc}	5.0±4.1^c
ATSURA2.5	8.1±1.9^c	0.6±1.1	0.4±0.8	0.9±1.1^{bc}	4.7±4.1 ^{abc}
ATSURD2.5	8.3±1.2^c	0.6±1.2	0.3±0.7	0.6±0.9 ^{ab}	4.6±4.4 ^{abc}
ATRARD2.5	6.8±1.2^a	1.0±1.4	0.3±0.8	0.9±1.1^c	3.9±3.6 ^{ab}

	청량감	점도	후미뽀음 / 텃텃함	후미단맛***	후미쓴맛
S10	1.1±1.2	2.1±2.9	0.6±1.1	7.3±1.5 ^{bc}	0.4±0.9
TAERD4222	1.1±1.3	2.2±3	0.9±1.3	7.9±1.8 ^{cde}	0.8±1.4
TASURA4222	1.1±1.3	2.0±2.9	0.7±1.1	7.6±2.2 ^{bcd}	0.8±1.6
TASURD4222	1.1±1.3	2.0±3.0	0.6±1.2	8.2±1.5^{de}	0.6±1.2
TARARD4222	1.0±1.3	1.8±2.4	0.7±1.2	7.0±1.8 ^{ab}	0.8±1.5
ATESU2.5	1.3±1.2	1.9±2.8	0.6±1.0	8.6±1.4^e	0.5±1.2
ATERA2.5	1.3±1.6	2.1±2.7	0.7±1.2	8.5±1.7^e	0.6±1.0
ATERD2.5	1.3±1.4	2.0±3.0	0.6±1.0	7.9±1.5 ^{cde}	0.7±1.3
ATSURA2.5	1.3±1.4	2.1±2.9	0.7±1.1	8.2±1.9^{de}	0.5±0.9
ATSURD2.5	1.4±1.6	2.0±2.7	0.6±1.0	8.1±1.7 ^{cde}	0.5±1.0
ATRARD2.5	1.3±1.3	1.9±2.9	0.7±1.1	6.6±1.6^a	1.0±1.4

1) : NS, * : p<.001, ** : .001≤p<.01, *** : .01≤p≤.05

2) Design : panel + sample + panel*sample

3) Duncan's 사후분석 : a<b<c<d<e

4) S10 시료의 관능적 특성 강도와 유의적 차이가 있는 시료 : S10과 비교해 관능적 특성의 강도가 강한 시료는 파란색, 약한 시료는 빨간색으로 표시

5) 최대값, 최소값은 진한 글씨로 표시

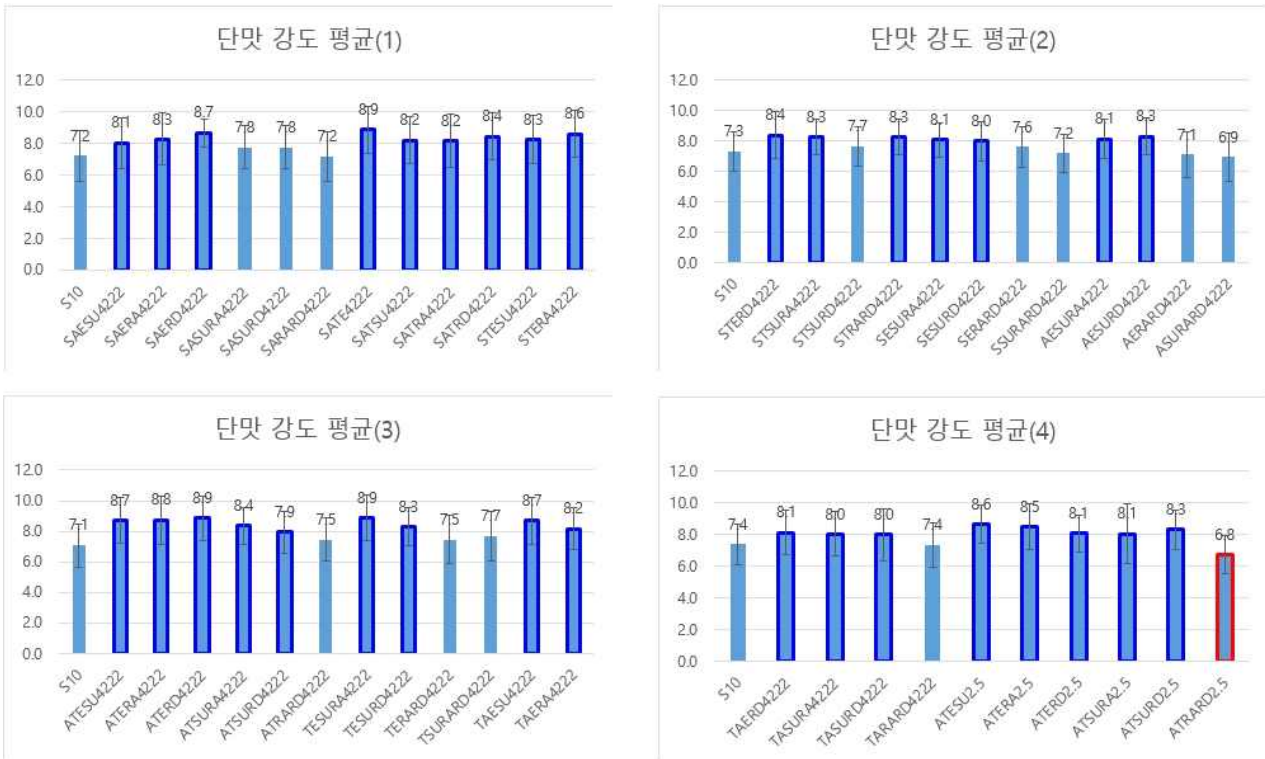


그림 20 . 4성분 조합 시료의 단맛 특성 강도 평균

- 4성분 조합 시 조합하는 Bulk 감미료의 수가 많아질수록 시너지 효과로 인해 단맛이 잘 발현됨. 특히 SATE4222는 4성분 모두 bulk 소재 조합으로 단맛 강도가 높게 평가되었고, 3종의 bulk감미료와 1종의 고감미료가 포함된 시료들도 단맛 강도가 높게 평가됨. 반면, 조합하는 고감미료의 개수가 늘수록 단맛의 강도가 낮아짐. Sucralose+RAA+RAD 3종의 고감미료와 1종의 bulk감미료의 조합은 단맛이 비교적 약하게 평가됨. 특히, RAA+RAD가 포함된 시료가 다른 시료와 비교하였을 때 약하게 평가되는 경향을 보임. 하지만 2종의 고감미료 조합이 포함된 시료라 하더라도 S10과 비교하여 단맛이 억제된 시료는 없음. 유일하게 RAA+RAD의 비율이 더 높아진 ATRARD2.5 시료만 S10과 비교하였을 때 단맛과 후미단맛이 억제되어 그 강도가 낮게 평가됨.
- 3성분 조합 시료들과 비교하였을 때, 4성분 조합에서는 단맛, 후미 단맛 이외에 다른 특성은 크게 유의적 차이가 나타나지 않음

마. cj_stevia의 감미질, 감미도를 포함한 감각적 특성 분석

(1) 시료

- 타감미소재와의 4성분 혼합 사용을 위해 저열량 고감미료 cj_stevia에 대한 농도별 상대감미도가 요구되어 이를 측정함. cj_stevia에 대해 농도-반응함수를 도출하여 다양한 농도 수준에서 설탕 대비 감미도를 측정하기 위해 표 38와 같이 시료를 제조함.

표 38 . 본 실험에서 사용된 시료의 농도 수준

	sucrose					cj_stevia 예상 상대감미도(97.46)						
set1	1%	2%	3.5%	5%	7%	9%	0.0103%	0.0205%	0.0359%	0.0513%	0.0718%	0.0923%

(2) 실험 결과 : Sucrose와 cj_stevia의 회귀식 및 농도별 상대감미도

표 39 . sucrose와 cj_stevia 수용액의 회귀식

Sucrose 수용액의 회귀식	cj_stevia 수용액의 회귀식
$y = 1.1909x - 0.8677$	$y = 2.7964\ln(x) + 14.072$
$R^2 = 0.9987$	$R^2 = 0.9637$

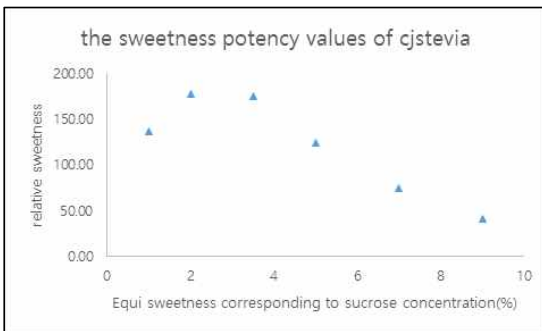


그림 21. sucrose 수용액 농도별 cj_stevia수용액의 상대감미도

○ 각 농도별 cj_stevia의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차는 다음과 같음(표40).

표 40 . 농도별 cj_stevia의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

cjstevia	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인단맛	청량감	떫음/텃텃함	후미단맛	후미쓴맛
CJ0.0103%	2.0±1.0	1.4±1.4	0.5±1.0	0.5±0.8	0.7±0.8	0.6±0.7	0.8±1.1	1.6±1.0	1.7±1.8
CJ0.0205%	3.1±1.4	1.3±1.6	0.4±0.9	0.6±0.9	0.9±0.9	1.0±1.2	0.6±1.2	2.7±1.5	1.3±2.1
CJ0.0359%	4.8±2.2	1.4±1.6	0.5±0.8	0.7±0.9	1.5±1.4	0.9±1.2	0.8±1.2	4.3±2.5	1.4±2.0
CJ0.0513%	6.1±2.4	1.6±1.8	0.9±1.0	1.2±1.2	1.8±1.9	0.7±1.0	0.6±0.8	5.6±2.5	1.6±2.0
CJ0.0718%	6.4±3.1	1.4±1.4	1.0±1.6	0.9±1.0	2.3±1.7	0.7±1.1	0.8±1.2	6.0±2.1	1.7±2.1
CJ0.0923%	7.1±3.6	2.0±2.0	0.7±0.9	1.4±1.6	3.0±2.1	0.7±1.1	0.9±1.1	7.3±2.8	1.9±2.4

○ 다양한 감미료의 동일 감미수준(Sucrose 용액 기준 5%)에서의 감미질 평가는 다음과 같음 (표 41).

표 41 . 동일 감미수준(sucrose 용액 기준 5%)에서의 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차 (mean±sd)

cjstevia	단맛	쓴맛	카라멜향미	꿀향미	인공적인단맛	청량감	떫음/텃텃함	후미단맛	후미쓴맛
S5%	5.1±1.7	0.3±0.6	0.6±0.9	0.6±0.8	0.8±0.9	0.6±0.9	0.4±0.7	4.2±1.9	0.5±1.1
CJ0.0402%	5.8±2.2	1.1±1.5	0.5±0.7	0.8±1.0	2.0±1.4	0.9±1.0	0.6±0.7	5.4±2.5	1.0±1.7

○ sucrose 5% 수용액과 비교하여 cj_stevia 5%수용액은 쓴맛과 인공적인 단맛이 강하게 발현 됨.

마. cj_stevia와 bulk감미료 또는 고감미료의 4성분 조합시 감미 기능성 분석

(1) 시료

○ cj_stevia와 bulk감미료 또는 고감미료의 4성분 조합 시 감미 기능성을 분석하기 위하여 allulose를 base로 하여, tagatose, erythritol, sucralose, cj_stevia(이하 CJ)를 4성분으로 조합 하였음. 사용한 조합과 상대감미도는 다음과 같음.

표 42 . 4성분 조합 시료

시료 조합	Abbr.
Sucrose 10%	S10
allulose 4 : tagatose 2 : erythritol 2 : cj_stevia 2	ATECJ4222
allulose 4 : erythritol 2 : sucralose 2 : cj_stevia 2	AESUCJ4222

표 43 . 실험에 사용된 시료의 농도별 상대감미도

시료	2% 상대감미도	4% 상대감미도
Sucrose	-	1
Allulose	0.59	0.57
Tagatose	0.73	0.8
Erythritol	0.5	-
Sucralose	740.38	-
cj_stevia	178.38	-

(2) 실험 결과 : 감미료 4성분 조합시 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(표 44)

표 44 . 4성분 조합 시료 : 관능적 특성 항목의 평균과 표준편차(mean±sd)

	단맛***	쓴맛*	카라멜향미	꿀향미	인공적인단맛	청량감	뽀음텃텃함	후미단맛***	후미쓴맛
S10	7.3±1.2 ^a	0.4±0.8 ^a	1.0±1.2	1.3±1.1	1.8±1.5	0.5±0.8	0.3±0.6	6.7±1.9 ^a	0.6±1.1
ATECJ4222	8.7±1.5 ^b	1.1±1.7 ^b	1.1±1.4	1.7±1.6	2.1±1.6	0.7±0.9	0.3±0.6	8.3±2.3 ^b	0.9±1.9
AESUCJ4222	8.5±1.6 ^b	0.8±1.2 ^{ab}	1.3±1.6	1.6±1.5	1.8±1.6	0.4±0.6	0.5±0.8	8.0±2.6 ^b	0.8±1.2

2-4. 연구개발 성과

○ 사업화-특허

No	기술분류	출원등록번호	상태	출원등록명	출원등록일
1	균주/효소	10-1863321-0000	등록	글루칸수크라아제의 고효율 생산을 위한 변형 류코노스톡속 균주	2018-05-25
2		10-2018-0101326	출원	글루칸수크라아제를 이용한 스테비오사이드 배당체의 합성 방법	2018-08-28
3		10-2018-0075351	출원	레반수크라아제를 이용한 루부소사이드-프락토사이드의 합성방법	2018-06-29
4		10-2017-0173569	출원	락토바실러스 말리를 이용하여 포도당전이 스테비오사이드를 제조하는 방법	2017-12-15
5		2017-0058PCT	출원	변형 류코노스톡속 균주를 이용한 스테비오사이드 배당체의 합성 방법 및 이에 의하여 제조된 신규한 스테비오사이드 배당체	2017-11-15
6		10-2017-0152472	출원	변형 류코노스톡속 균주를 이용한 스테비오사이드 배당체의 합성 방법 및 이에 의하여 제조된 신규한 스테비오사이드 배당체	2017-11-15
7		10-2017-0140846	출원	아스로박터 속 미생물 유래 프락토폴라노시데이즈 효소를 이용하여 과당전이 스테비오사이드를 제조하는 방법	2017-10-27
8		10-2017-0082637	출원	루부소사이드 배당체의 합성 방법	2017-06-29
9		10-2016-0153557	출원	글루칸수크라아제의 고효율 생산을 위한 변형 류코노스톡속 균주 및 상기 균주를 이용한 스테비오사이드 배당체의 합성 방법	2016-11-17
10	기능성	10-2018-0158101	출원	유산균 균주를 이용하여 제조된 올리고당을 포함하는 난수용성 물질의 수용액 가용화 조성물	2018-12-10
11		10-2017-0121819	출원	루부소사이드를 유효성분으로 포함하는 구강 세균 억제용 조성물	2017-09-21
12	제조법 / 기술용도확장	10-2018-0165316	출원	기능성 맥주 및 이의 제조 방법	2018-12-19
13		10-2018-0118114	출원	L-카르니틴이 풍부한 발효산물의 제조 방법 및 이의 용도	2018-10-04
14		10-2018-0117294	출원	저열량의 올리고당 고함유 콤부차 제조방법	2018-10-02
15		10-2018-0054418	출원	저열량 카스카라 시럽의 제조방법	2018-05-11
16		10-2018-0050929	출원	L-카르니틴 함유 강화 발효산물	2018-05-02
17		10-2017-0165304	출원	인삼류로부터 진세노사이드를 고효율로 추출하는 방법 및 이에 의하여 추출된 진세노사이드	2017-12-04
18		10-2017-0064564	출원	맛, 풍미 및 기능성 성분이 강화된 커피 및 이의 제조	2017-05-25
19		10-2017-0047463	출원	올리고당 고함유 오미자청의 제조 방법, 이에 의하여 제조된 올리고당 고함유 오미자청 및 이의 용도	2017-04-12
20		10-2016-0169312	출원	L-카르니틴이 풍부한 퀴노아 발효산물의 제조 방법	2016-12-13
21		10-2016-0165668	출원	올리고당 고함유 당밀의 제조 방법, 이에 의하여 제조된 올리고당 고함유 당밀 및 이의 용도	2016-12-07

○ 사업화-기술실시

- CJ제일제당과 서울대학교 산학협력단은 2016년 7월부터 협동연구개발과제 협약(과제명-당전이효소기반 효소처리스테비아 개발 및 기능성 연구)을 체결하여 연구수행.
- 협동연구개발과제 협약의 제 3조 연구개발성과의 활용 및 관리와 농림수산식품 연구개발사업 운영규정 제34조에 따르면 연구종료 후 1년 이내 실시계약 체결 및 실시계약 체결 후 1년 이내에 사업화를 시작하여 연구개발 성과를 활용하도록 규정
- 양사는 과제 종료 후에도 신규소재 인허가, 효소 개량/등록, 사업화 의사결정 등 연구개발성과 활용에 있어서 연구종료 후 추가적인 기간이 필요하다는 점에 동의함
- 따라서 양사간 실시계약 체결은 2020년 01월 ~ 2020년 12월, 실시계약 체결 후 사업화는 2021년 01월 ~ 2021년 12월까지로 상호 합의함



씨제이제일제당주식회사와 서울대학교
산학협력단 간 협약서

씨제이제일제당주식회사(이하 '씨제이' 라 한다)와 서울대학교 산학협력단(이하 '서울대' 라 한다)은 농림축산식품부 과제(과제번호 116013-3; 과제명 '당류 저감화 복합 천연감미소재 개발 및 상용화')에 관하여 상호 협력하기 위하여 다음과 같이 협약(이하 이 협약이라 한다)한다.

제 1조 (목적)

이 협약은 '씨제이'와 '서울대'(이하 '양 당사자')간 협동연구개발과제 협약상 규정된 실시계약 체결 및 사업화 협상 기간 연장을 위한 상호 합의를 목적으로 한다.

제2조 (협동연구개발과제 협약 등 규정)

'씨제이'와 '서울대'는 2016년 7월부터 협동연구개발과제 협약(과제명은 '당전이효소기반 효소처리스테비아 개발 및 기능성 연구')을 체결하여 연구를 수행하고 있으며, 협동연구개발과제 협약의 제 3조(연구개발성과의 활용 및 관리) 및 농림수산식품 연구개발사업 운영규정 제34조에 따르면 연구 종료 후 1년 이내 실시계약 체결 및 실시계약 체결 후 1년 이내에 사업을 시작하여 연구개발 성과를 활용하도록 규정하고 있다.(2019.01.01~2019.12.31 실시계약 체결, 2020.01.01.~2020.12.31. 사업화 시작)

제3조 (기간 연장)

1. '씨제이'와 '서울대'는 연구개발성과 활용에 있어 연구종료 후 scale-up 테스트 및 기술가치 평가를 위하여 추가적인 기간이 필요하다는 점에 동의하며 '씨제이'와 '서울대'간 실시계약 체결은 [2020년 01월 ~ 2020년 12월], 실시 계약 체결 후 사업화는 [2021년 01월 ~ 2021년 12월]까지로 이 협약 제2조에 언급한 연구개발과제 협약의 제3조(연구개발성과의 활용 및 관리) 및 농림수산식품 연구개발사업 운영규정 제34조에 규정된 기간을 연장한다.
2. 본 조 제1항에 따른 실시계약 체결 및 사업화 기간은 양 당사자가 합의하여 연장 또는 단축할 수 있다.
3. 본 조 제1항에 따른 실시계약 체결 및 사업화 기간, 또는 제2항에 따라 연장 또는 단축된 기간 내라 하더라도 '씨제이'가 계약 또는 계획서상 일정보다 지연하는 등 '씨제이'로 인하여 이 협약이 유지되기 어려운 사정이 생기는 경우 이에 대한

시정을 '서울대'가 '씨제이'에게 요청하였음에도 시정 요청일로부터 1개월 내에 시정을 완료하지 못한 경우 '서울대'는 '씨제이'에게 이 협약 중단을 서면으로 통보하고 제3자와 연구개발성과에 대한 실시계약을 체결할 수 있다.

제4조 (협약 기간)

이 협약은 협약 체결일로부터 유효하며 제3조 제1항 및 제2항에 따라 정해진 실시계약 체결 기간까지 유효하며, 이 기간 내 실시계약이 체결된 경우는 제3조 제1항 및 제2항에 따라 정해진 사업화 기간까지 유효하다.

제5조 (비밀준수의무)

협약 기간 중은 물론 협약관계 종료 후에도 상대방의 사전 서면동의 없이, 상대방으로부터 직접 또는 간접으로 얻었거나 거래하는 과정에서 알게 된 정보 기타 업무에 관한 모든 비밀정보를 제3자에게 공개하거나 또는 본 협약상의 의무이행 이외의 다른 목적에 사용할 수 없다. 다만, 협동연구개발과제 협약 체결 전 이미 입수하였거나, 이미 공표되었거나, 제3자를 통해 입수되었거나, 상호 비밀정보가 아니라는 단서 하에 제공한 정보는 예외로 한다. 각 당사자는 퇴직한 직원에 대해서도 비밀준수의무를 유지하도록 상당한 조치를 취해야 한다.

2018년 7월 25일

서울특별시 중구 동호로 330
씨제이제일제당주식회사
대표이사 신 현 재(인)



서울시 관악구관악로 1(신림동)
서울대학교 산학협력단
단장 김 성 철(인)



○ 사업화-기술평가

- CJ제일제당과 서울대학교 산학협력단은 2019년 개발 균주에 대한 기술평가를 위하여 2019년 1월 물질이전 계약을 체결하였으며, 이에 따라 서울대학교에서 균주 및 효소 활성화에 대한 비교평가를 실시하고자 함

물질이전계약서

CJ 제일제당 주식회사 (이하 갑이라 한다)와 서울대학교 산학협력단 (연구 책임자: 국제농업기술대학원 국제농업기술학과 교수 김도만) (이하 을이라 한다)은 '갑'이 보유하고 있는 미생물 1종을, 갑과 을이 수행한 농림축산식품부 과제(과제번호 116013-3; 과제명 '당류저감화 복합 천연감미소재 개발 및 상용화'; 과제 책임자 김성보)를 위한 을의 시험연구를 위하여 양도함에 있어서, 다음과 같이 물질이전계약(이하, 본 계약이라 한다)을 체결한다.

제1조 (목적)

본 계약은, 갑이 미생물을 을에게 을이 수행하는 시험연구를 위하여 양도하는 것에 관한 것이며, 미생물 및 미생물로부터 파생된 성과의 취급에 대하여 정의하고, 미생물의 적절한 관리를 행하는 것을 목적으로 한다.

제2조 (미생물의 양도 및 양도의 대가)

- ① 갑은 미생물을, 본 계약 체결 후, 을에게 무상으로 양도한다.
- ② 갑은 본 계약 체결 후 30일 이내에 양도를 수행하는 것으로 하며, 그 조건은 다음과 같다.
 1. 양도되는 미생물 및 미생물의 양 : 미생물 CJ003 배양 1 plate
 2. 사용 장소 : 을의 서울대학교 평창캠퍼스 그린바이오과학기술연구원
 3. 사용 목적 : 갑의 요청에 따라 을이 수행하는 시험연구 목적 (미생물 배양 및 효소 선정을 위한 효과 확인)

○ 사업화-제품화

- 시럽용 올리고당

차후에 개발된 당전이 스테비오사이드 적용 제품을 위한 합성 고감미료 제품 조사를 시행함. 씨제이제일제당 제품중 합성 고감미료 사용 제품을 조사하여, 합성 고감미료를 당전이 스테비오사이드로 대체 가능한 제품 및 당전이 스테비오사이드를 사용함으로 시너지 효과가 나타날 제품을 선정함.

제품				
분류	분말당		액상당	
제품명	백설 스위트리알룰로스	백설 스위트리 알룰로스설탕블렌드	스위트리알룰로스	시럽 올리고당
알룰로스	91.84	52.825	99.15	98.48
수크랄로스	0.04	0.025	0.03	0.01
기타	8.12	47.15	0.82	1.51

선정된 4제품중 시럽 올리고당 제품의 수크랄로스 대신 상용화된 효소처리스테비오사이드로 대체하는 포물러 작성을 진행하여 시럽올리고당을 효소처리 스테비아로 구성된 제품으로 리뉴얼함(2017년 9월). 또한, 본 연구 기술로 생산될 당전이 스테비아로 상기 4제품에 대한 적용 계획 수립 예정.

	 
시럽 올리고당	수크랄로스 -> 효소처리 스테비아

① 밸런스밀 블랙

1회 제공량 당 120kcal로, 흑미, 검은콩을 함유한 제품. 우유 또는 두유(100kcal)와 함께 섭취. 스테비올 배당체를 함유하여 단맛을 유지하면서 칼로리 저감



원재료명 및 함량

분리대두단백(미국산/분리대두단백, 레시틴), 오곡미숫가루(현미:국산, 보리:국산, 참쌀현미:국산, 조:국산, 수수:국산), 농축유청단백(미국산), 혼합분유(네덜란드산/탈지분유, 탈염유청퍼미에이트), 영양곡물발효분말(밀배아(밀:미국산), 밀브랜(밀:미국산), 건강곡물혼합분말(귀리:캐나다산, 퀴노아:페루산, 렌틸콩:캐나다산, 현미:국내산, 찰보리:국내산), 대두발효분말(대두:국산)), 검은콩가루(검은콩:국산), 아몬드가루, 전지분유, 제이인산칼슘, 세븐베리농축분말, 비타민C, 혼합제제(DL-a-토코페릴아세테이트, 텍스트린, 변성전분, 이산화규소), 니코틴산아미드, 푸마르산제일철, 혼합제제(텍스트린, 옥수수전분, 아라비아검, 비타민A, 비타민E), 스테비올배당체, 산화아연, 엽산, 레시틴, 비타민B6, 염산염, 비타민B1질산염, 비타민B2, 코코넛크림파우더, 글루코만난, 구아검 [밀, 우유, 대두 함유]

② 밸런스밀 화이트

1회 제공량 당 120kcal로, 마, 양배추를 함유한 제품. 우유 또는 두유(100kcal)와 함께 섭취. 스테비올 배당체를 함유하여 단맛을 유지하면서 칼로리 저감



원재료명 및 함량

■ 분리대두단백(미국산/분리대두단백, 레시틴), 과당, 농축유청단백(미국산), 오곡미숫가루(현미:국산, 보리:국산, 참쌀현미:국산, 조:국산, 수수:국산), 혼합분유(네덜란드산/탈지분유, 탈염유청퍼미에이트), 마가루(마:국산), 양배추분말(양배추:국산), 영양곡물발효분말(밀배아(밀:미국산), 밀브랜(밀:미국산), 건강곡물혼합분말(귀리:캐나다산, 퀴노아:페루산, 렌틸콩:캐나다산, 현미:국내산, 찰보리:국내산), 대두발효분말(대두:국산)), 치커리식이섬유(벨기에산), 전지분유, 아몬드가루, 코코넛크림파우더, 제이인산칼슘, 글루코만난, 비타민C, 혼합제제(DL-a-토코페릴아세테이트, 텍스트린, 변성전분, 이산화규소), 니코틴산아미드, 푸마르산제일철, 혼합제제(텍스트린, 옥수수전분, 아라비아검, 비타민A, 비타민E), 정제소금, 스테비올배당체, 산화아연, 구아검, 레시틴, 엽산, 비타민B6염산염, 비타민B1질산염, 비타민B2 [밀, 우유, 대두 함유]

③ 밸런스밀 브라운

1회 제공량 당 115kcal로, 호지, 보이차를 함유한 제품. 우유 또는 두유(100kcal)와 함께 섭취. 스테비올 배당체를 함유하여 단맛을 유지하면서 칼로리 저감



원재료명 및 함량

■ 분리대두단백(미국산/분리대두단백, 레시틴), 과당, 농축유청단백(미국산), 치커리식이섬유(벨기에산), 혼합분유(네덜란드산/탈지분유, 달염유청퍼미에이트), 호지차분말, 영양곡물발효분말(밀배아(밀:미국산), 밀브랜(밀:미국산), 건강곡물혼합분말(귀리:캐나다산, 퀴노아:페루산, 렌틸콩:캐나다산, 현미:국내산, 찰보리:국내산), 대두발효분말(대두:국산)), 전지분유, 분말유크림, 오크미숫가루(현미:국산, 보리:국산, 참쌀현미:국산, 조:국산, 수수:국산), 볶은 현미분말(현미:국산), 제이인산칼슘, 새싹보리추출분말(보리:국산), 보이차추출분말, 아몬드가루, 코코넛크림파우더, 비타민C, 혼합제제(DL-a-토코페릴아세테이트, 덱스트린, 변성전분, 아산화규소), 니코틴산아미드, 푸마르산제일철, 혼합제제(덱스트린, 옥수수전분, 아라비아검, 비타민A, 비타민E), 산화아연, 엽산, 비타민B6염산염, 비타민B1 질산염, 비타민B2, 경제소금, 글루코만난, 구아검, 레시틴, 스테비올배당체, 합성향료(녹차향)

○ 논문

No.	제목	구분	정보
1	Effect of concentration range on the accuracy of measuring sweetness potencies of sweeteners	SCI	Food quality and preference , submitted
2	Anti-cariogenic characteristics of rubusoside	SCIE	Biotechnology and bioprocess engineering Vol24, No2, Accepted
3	Biological Characterization of Epigallocatechin Gallate Complex with Different Steviol Glucosides	SCIE	Biotechnology and Bioprocess Engineering 2017, 22(5): 512 ~ 517
4	Production of steviol from steviol glucosides using β -glucosidase from a commercial pectinase, Sumizyme PX	SCI	BIOTECHNOLOGY LETTERS, 2018, 40:197-204,
5	Composition and biochemical properties of l-carnitine fortified Makgeolli brewed by using fermented buckwheat	SCI	Food Sci Nutr. 2018;00:1-8.

○ 교육지도

No	프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원
1	식품소재 산업체 연구 동향	씨제이제일제당 제품 생산분리정제 교육	강원대학교	1	1	30

○ 학술발표

No.	회의명칭	발표자	제목
1	2017 KSBB SPRING meeting and International Symposium	이태경	The effect of fermented buckwheat on producing L-carnitine enriched oyster mushroom
2	2017 KSBB SPRING meeting and International Symposium	이동구	Enzymatic production of indigestible maltooligosaccharides using glucansucrases from <i>Leuconostoc mesenteroides</i> B-512FMCM and <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
3	2017 KSBB FALL meeting and International Symposium	김도만	Synthesis and characterization of various glycosides using glycosyltransferase and their potential uses
4	2017 KSBB FALL meeting and International Symposium	서창섭	Synthesis and characterization of novel stevioside glucoside using dextransucrase from <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
5	2017 KSBB FALL meeting and International Symposium	김시나	Synthesis characterization of epigallocatechin gallate fructosides by using levansucrase
6	한국식품영양학회 동계학술대회	고원희	저열량 감미 소재의 농도 영역별 상대 감미도 분석
7	2018 한국생물공학회 춘계학술 발표대회 및 국제심포지엄	김지수	Characterization of Rubusoside and Synthesis of Fructosyl Rubusoside Using Levansucrase from <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
8	제 6회 카레 및 향신료 국제 심포지엄	김도만	Facile preparation of water soluble curcuminoids and flavonoids extracted from turmeric (<i>Curcuma longa</i> L.) powder by using steviol glucoside and by enzymatic glycosylation
9	GIM2016 (The 13th International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms)	김도만	Enzymatic synthesis of glycosides, their functional characterization, and potential uses

○ 인력양성

No.	성명	학위	기준년도	학위 연구주제
1	임희정	석사	2017	Study for the beneficial effect and application of phytochemicals
2	이동구	석사	2017	Enzymatic production functional indigestible using glucansucrase from <i>Leuconostoc mesenteroides</i> B-512FMCM and <i>L. mesenteroides</i> B-1355CF10
3	이태경	석사	2017	The effect of fermented buckwheat on producing L-carnitine enriched oyster mushroom
4	서창섭	석사	2018	Synthesis and Characterization of Novel Stevioside Glucoside Using Dextransucrase from <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
5	송채리	석사	2018	Fermentation of Green Coffee Bean with <i>Rhizopus oryzae</i> and Its Biochemical Properties
6	김시나	석사	2018	Synthesis and Characterization of Epigallocatechin Gallate Fructosides by using Levansucrase
7	김지수	석사	2018	Novel Anti-cariogenic Characteristics of Rubusoside and Synthesis of Its FRuctosides
8	이강희	석사	2018	Biochemical characterization of fermented wild cultivated ginseng (<i>Panax ginseng</i>) by <i>Rhizopus oligosporus</i>
9	손규민	석사	2018	Biochemical Properties of Novel Steviol Glucosides Synthesized by Using Dextransucrase

○ 홍보/전시

- 당류저감 및 대체감미료 제품 홍보를 위한 전시회 참가
- 제 10차 국제건강기능식품학술대회 (ISNFF 2017, 군산컨벤션센터)에 참가하여 CJ제일제당의 당류대체감미료 제품을 소개

[제 10차 국제건강기능식품학술대회 홍보 부스]



- 밸런스밀(체중조절용 조제식품) 2018년 06월 18일 언론 홍보자료 배포

보도자료

CJ제일제당에서 알려 드리는 보도자료입니다.



CJ제일제당, 체중조절용 조제식품 'H.O.P.E 발효효소 밸런스밀' 3종 출시

2018.06.18

- 단백질, 비타민, 미네랄, 발효효소 등 구성... 영양균형은 물론 '가볍고 편안한 한끼 식사' 가능
- 칼로리 낮고 2가지 효소 및 식이섬유 함유해 균형감 높여... 20~40대 여성 소비층 확대 주력



CJ제일제당은 다이어트 성수기를 앞두고 체중조절용 조제식품 'H.O.P.E 발효효소 밸런스밀' 신제품 3종을 출시했다고 18일 밝혔다. '가볍고 편안한 한 끼 식사'가 가능한 식사대용식 제품을 앞세워 일상 속에서 건강한 식이조절을 원하는 소비층을 사로잡겠다는 계획이다.

H.O.P.E 발효효소 밸런스밀은 단백질과 11가지의 비타민, 미네랄, 6가지 건강발효곡물(밀, 귀노아, 현미, 귀리, 렌틸콩, 찰보리)을 함유해 영양적으로 균형 있는 한끼가 가능한 효소쉐이크 제품이다. 음식과 영양소를 분해하는 아밀라아제, 프로테아제 두 가지 효소와 식이섬유 1일 영양성분 기준치 대비 4~7% 이상 넣어 영양 균형감을 한층 높였다. 칼로리도 우유와 함께 먹었을 때 200kcal 가량이라 부담 없이 즐길 수 있다.

이 제품은 화이트, 블랙, 브라운 세 가지 맛으로 출시됐다. 밸런스밀 화이트는 곡물라떼맛으로, 효소, 마, 양배추가 들어있어 편안한 하루를 위한 제품이다. 블랙빈라떼맛이 나는 밸런스밀 블랙은 효소에 검은콩, 흑미를 더해 블랙푸드의 영양을 담았다. 밸런스밀 브라운은 호지티맛으로, 효소, 호지(볶은 녹차 찻잎), 보이차로 만들어 차의 풍미와 함께 가볍게 즐길 수 있다.

현재 약 5,000억원 규모로 추정되는 국내 대용식 시장은 씨리얼, 간편죽, 분말스프, 선식 및 생식, 체중조절식 등 카테고리로 구분된다. 이 중에서도 체중조절용 조제식품 시장은 약 1,600억원 규모(네트워크 마케팅 시장 제외)이다. 바쁜 일상과 서구식 식습관 확대에 따라 할인마트, 온라인, 드럭스토어 등 유통 채널에서 웨이크 제형 타입을 중심으로 꾸준한 성장세를 보이고 있으며, 앞으로 더욱 커갈 것으로 전망된다.

CJ제일제당은 효소와 건강 원물을 기반으로 '성분'에 차별화를 꾀한 H.O.P.E 발효효소 밸런스밀 3종을 앞세워 체중조절용 조제식품 시장에서 리딩 기업이 되겠다는 계획이다. 최효숙 CJ제일제당 H.O.P.E 발효효소 밸런스밀 담당 부장은 "예전에는 다이어트 효과만 있으면 맛은 다소 부족해도 감수하는 소비자가 많았다면 최근에는 맛있으면서도 건강하게 체중 조절할 수 있는 제품을 선호하는 추세"라며, "건강한 식이조절을 원하는 20대~40대 직장 여성과 주부를 중심으로 밸런스밀 소비층을 넓혀나갈 것"이라고 말했다.

CJ제일제당 H.O.P.E 발효효소 밸런스밀 가격은 할인점 기준으로 한 박스(30g, 14포) 4만원이며, 전국 대형마트나 백화점, 온라인 등에서 구입할 수 있다. <끝>

○ 기타

- 저서

① Thanh Hanh Nguyen, Heekyoung Kang, Seong-Bo Kim, Kunal Pal, Doman Kim. Glucosides of Catechin and Epigallocatechin Gallate: Enzymatic synthesis to improve its biological activity, Chapter 14 in Enzymes in Food Technology (editor; Mohammed Kuddus) pp. 281 - 295. Springer. ISBN: 978-981-13-1933-4, 2018년 12월

② Thanh Hanh Nguyen, Changseop Seo, Sohyung Kwak, Jeessoo Kim, Heekyoung Kang, Seong-Bo Kim, Doman Kim. Enzymatic production of steviol glucosides using β -glucosidase and their applications, Chapter 23. in Enzymes in Food Biotechnology (editor; Mohammed Kuddus) pp. 405 - 418. Academic Press. ISBN: 978-0-12-813280-7, 2018년 9월

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

1차년도 다양한 후보물질의 실제 제조 및 관능평가를 통한 타겟 물질 확장 (제조원가 경쟁력 검증 포함), 2~3차년도 빠른 제조기술 및 복합감미제 포뮬러 개발 및 제품 상용화 연구개발로 상용화 실적 확보

	1차년도	2차년도	3차년도
	고감미료 소재 탐색 (평가, 선별)	제조 기술 개발 (시제품, 복합처방)	최적화 및 상용화 (제품 출시)
주관기관 (CJ)	<ul style="list-style-type: none"> 상용 제품 분석 및 수집 Gold standard 제조 (Reb D/ Reb M 합성) Feasibility 평가 (예상 원가, 기술성 분석) 	<ul style="list-style-type: none"> 제조 Lab 개발 고감미료 시제품 제조 저가형 알룰/타가 생산 복합감미제 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 제조 Pilot 개발 양산형 시제품 확보 복합감미제 개발 소비자 조사 및 제품화
위탁기관 (이대)	<ul style="list-style-type: none"> 표준물질 평가 (Grid화) 시제품 관능특성 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 최적 복합감미제 선별 (관능특성 비교평가) 	<ul style="list-style-type: none"> 최적 복합감미제 개발 (관능특성 비교평가) 용도확장 소재 관능평가
협동기관 (서울대)	<ul style="list-style-type: none"> (다양한) 당전이 효소 적용한 新 당전이 STV 시제품 소량 제조 (CJ에 평가용으로 제공) 	<ul style="list-style-type: none"> 특정 당전이 STV 합성 효소 반응 최적화 선발 당전이 효소 이용 당전이 STV 제조 및 CJ 공급 용도확장 연구 (향노화 혹은 향당노 관련) 	<ul style="list-style-type: none"> 당전이 STV 제조 Pilot 최적화 및 CJ 공급 용도확장 효능 검증 기능성 데이터 확보

○ 1차년도 개발목표

- 주관연구기관(씨제이제일제당): 상용 고감미도 감미료 소재 표준화 및 Feasibility (예상 원가 및 기술 차별성 분석) 평가로 핵심 고감미도 감미료 소재 확보
- 위탁기관 (이화여대): 다양한 스테비올 배당체의 감미질, 감미도를 포함한 감각적 특성 분석
- 협동연구기관(서울대학교): 당전이 STV 합성 가능한 식품산업 효소 (과당전이효소) 및 포도당 전이효소 이용 스테비올 배당체 합성 및 중합도별 분석 : 스테비올 이소말토글루코사이드 합성

○ 1차년도 개발내용 및 범위

- 주관연구기관(씨제이제일제당)
 - ① 상용화된 고감미도 감미료 소재를 5종 (천연감미료 2종 포함) 이상 확보. 천연추출소재의 경우 미량의 정제 잔류물이 관능 평가에 미치는 영향 최소화를 위하여 (분석적으로 동일 순도의 물질도 제조사 기술 수준에 따라 관능학적 이미·이취 정도가 상이), 수집된 표준 시료를 연구 파일럿 수준에서 재정제하여 표준 시료를 제조 확보
 - ② Steviol 배당체 성분의 Positive Control로 Rebaudioside D 및 Rebaudioside M 성분을 직접 효소적으로 합성·정제한 Gold standard 지표 시료의 확보 (Stevioside를 원료로 Stevia Rebaudiana에서 Rebaudioside A/D/M으로의 합성 반응을 유도하는 UDP-glucose 이용 포도당 전이효소 UGT-74G1 등을 사용하여 in vitro reaction으로 성분 물질을 합성 제조)
 - ③ 협동연구기관에서 제공하고 위탁기관에서 최적 감미 성분으로 선별된 배당체 소재군의 기초 물성을 고려한 제조공정 이론 설계 및 예상 제조원가 산출. 이를 기초 정보로 Feasibility 평가

- 위탁기관 (이화여대)

- ① 협동연구기관에서 제공된 스테비올 배당체 소재의 기초 관능평가 실시
- ② 표준 물질 적용 관능평가 척도 Grid 화 (정량 제도화)
- ③ 스테비올 배당체와 고감미료의 2성분 조합, 스테비올 배당체와 bulk 감미료 소재 개별 감미 기능성 평가.
- ④ 식품 모델 시스템 내 감미소재의 농도-반응함수 모델링 및 database화

- 협동연구기관(서울대학교)

- ① 식품산업효소 2건과 포도당전이효소 2건을 이용한 스테비올 배당체 합성 및 중합도별 최대 분포의 소재 합성.
- ② 크기별, 결합구조별 부분 분획물 준비하여 관능 평가를 위한 소재 제공
- ③ 스테비올 이소말토 올리고 배당체: 중합도 1 ~ 5 혹은 고중합 (CJ)에 관능평가용 샘플 제공)

○ 2차년도 개발목표

- 주관연구기관(씨제이제일제당): 배당체 스테비아 제조 기술 개발 및 이를 기반으로 제조된 고순도 정제품(시제품) 제조 및 이를 기능성당(알룰로스·타가토스)과 복합처방하는 최적 배합비 확보

- 위탁기관 (이화여대): 스테비올 배당체와 다른 감미료 (bulk 감미료 or 고감미료)의 2성분 또 3성분 조합시 감미 기능성 분석

- 협동연구기관(서울대학교): 선별된 식품산업 효소 혹은 효소 고생산 당전이 효소를 이용한 특정 중합도와 구조의 스테비오사이드 배당체 합성 최적조건연구 및 구조 결정

○ 2차년도 개발내용 및 범위

- 주관연구기관(씨제이제일제당)

- ① 선발 당전이효소 및 반응 조건을 적용한 고순도 분리·정제 Lab 기술 개발
- ② 최적 복합감미제 포뮬러 개발을 위한 시제품 제조 및 확보
- ③ 기능성당(알룰로스·타가토스)의 경제형 bulk 소재 적용을 위한 다양한 함량의 저순도 액상 시럽 개발 및 제조
- ④ 타겟 배당체 스테비아의 제조기술 확립 및 최적 복합감미제 포뮬러 확보

- 위탁기관 (이화여대)

- ① 감미소재의 2 또는 3성분 조합의 감미 기능성 평가를 위한 실험설계 확립
- ② 스테비올 배당체와 고감미료의 2성분 조합, 스테비올 배당체와 bulk 감미료 2성분 조합의 감미 기능성 평가, 스테비올 배당체, 고감미료, bulk 감미료 3성분 조합의 감미기능성 평가
- ③ 저열량 감미료의 2, 3성분 조합의 감미기능성 DB화

- 협동연구기관(서울대학교)

- ① 디자인된 중합도의 스테비올 배당체 합성 조건 최적화 연구
- ② 관능 평가 후 타겟으로 하는 배당체의 구조 결정
- ③ 타겟 스테비올 배당체의 기능성 연구
- ④ 스테비올 배당체의 용도 확장연구: 향노화 혹은 향당노 관련

⑤ 감미성이 우수한 스테비올 배당체 합성 조건 개발, 스테비올배당체의 중합도별 기능성 개발

○ 3차년도 개발목표

- 주관연구기관(씨제이제일제당) : 제조 파일럿 개발 및 양산형 시제품 확보 (품질 평가 검증 포함) 및 이를 적용한 복합감미제 제조 및 소비자 수용도 조사 및 제품 출시
- 위탁기관 (이화여대): 스테비올 배당체와 다른 감미료 (bulk 감미료, 고감미료)의 4성분 조합 시 감미 기능성 분석 및 가공식품 시스템의 최적 배합 적용시 소비자 수용도 조사
- 협동연구기관(서울대학교) : 선발 효소의 Pilot 규모 특정 당전이 STV 최대 생산 최적화 및 스테비올 배당체의 중합도 소재를 이용한 난수용성 소재의 기능성 연구

○ 3차년도 개발내용 및 범위

- 주관연구기관(씨제이제일제당)

- ① 당전이 효소 반응물 활용 고순도 분리·정제 파일럿 최적화 개발 완료 (제조원가 확립)
- ② 양산형 표준 시제품 확보 및 최종 평가용 시제품으로 공급
- ③ 개발된 다양한 성분의 최적 조합비를 적용한 복합감미제 개발 (부형제 및 기타 첨가물 소재 추가 적용을 통한 최적 제품 프로토타입 개발 및 완성)
- ④ 최종 제품의 소비자 조사 및 제품화 실적 확보

- 위탁기관 (이화여대)

- ① 감미소재의 4성분 조합의 감미 기능성 평가를 위한 실험설계 확립
- ② 스테비올 배당체, 고감미료, bulk 감미료 4성분 조합의 감미기능성 평가
- ③ 스테비올 배당체를 포함한 저열량 감미료의 최적 조합 및 배합비 도출 및 최적 배합의 소비자 수용도 조사

- 협동연구기관(서울대학교)

- ① 선발 효소의 Pilot 규모 특정 당전이 STV 최대 생산 최적화
- ② 다양한 중합도의 스테비올 배당체를 이용한 미백, 향노화 관련 기능성 연구 및 활용성 개발
- ③ 다양한 중합도의 스테비올 배당체를 이용한 향당노, 향산화 관련 기능성 연구 및 활용성 개발

3-2. 목표 달성여부

○ 1차년도 성과

- 주관연구기관(씨제이제일제당)

성과목표	달성결과
상용제품 분석 및 수집, 표준품 제조	<ul style="list-style-type: none"> ○ 당류저감화 트렌드(미국·유럽 중심) 지속 확대로 제품의 단맛을 보완할 수 있는 천연고감미료 시장의 지속 확대 전망됨. ○ 글로벌 소재생산업체는 Reb A 자체의 판매 뿐만 아니

	<p>라, 식품·음료·Table Top Sweetener 등의 Application 업체와 다양한 J/V를 통하여 지속 영역 확대 (제조사: PureCircle, GLG, JL Stevia 등, 가공사: Tate&Lyle, Cargill, COFCO, Merisant, Coca-Cola 등)</p> <p>○ 현 주요품목인 Reb A는 우수한 종자, 분리·정제 기술에 따른 품질차이, 부산물을 활용한 다양한 제품 포트폴리오 보유 여부가 매우 중요하며, 대부분의 글로벌 기술 개발이 집중되고 있음 확인.</p> <p>○ 주요 타겟시장 미국에서 일반식품 용도로 허가(FDA GRAS)된 5개 카테고리, 총 19종의 상용제품을 수집하고 기초 관능평가를 정성평가 수행.</p> <p>○ 평가 결과를 토대로 카테고리별 대표제품(standard material)을 선정, 이를 위탁연구기관에 제공함.</p>
<p>Global Standard 확보 (Reb D, M)</p>	<p>○ 유망소재인 Reb D, Reb M의 제조기술 개발 동향 및 정보수집 결과 2개의 기술 platform으로 양분화 되었음을 확인.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 발효합성: 스테비올배당체 합성에 관여하는 효소를 도입한 재조합효모 발효로 설탕·포도당으로부터 생합성하여 제조 (장점-제조원가, 원물유래 불순물 최소화) - 효소전환: 스테비아추출물(스테비오사이드 혹은 Reb A에서 출발)을 원료로 다수의 UDP-글루코실트랜스퍼라아제를 활용하여 효소 전환하여 제조 (장점-원물이미지) <p>○ Reb D 및 Reb M 표준품 확보를 위하여 Reb D의 연구용 시제품을 1차 확보하고 위탁연구기관에 제공함 (아직까지 상용화 제품 없음)</p> <p>○ Reb D를 원료로 UDP-글루코스트랜스터라아제를 사용하여 효소전환·정제·결정화하여 자체 제조하기 위한 기초 실험 수행 (Reb M 시제 외부에서의 확보 불가)</p>
<p>Feasibility 평가 (제조기술 평가)</p>	<p>○ 스테비아 가공기술의 원료 및 제조기술 특성 분석 결과, 주제품(Reb A)의 품질 경쟁력 및 잉여부산물의 고부가가치 제품화가 핵심 요소로 도출됨 (감미성분은 원료 건조중량 중 약 5~6% 차지함)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 주제품: 원료인 Stevia Leaf에 함유된 Reb A의 스테비올배당체 내 함량(%)과 분리·정제 기술력 (제조 수율, 품질) - 정제부산물: Reb A 정제 부산물로부터 효소처리스테비아 제조 위한 당전이효소 및 분리·정제 기술력 (제조 수율, 품질) - 추출부산물: 추출부산물 2종(고형부산물, 액상형부산물)으로부터 유용성분의 제품화 가능성 분석 결과, 식이섬유

	<p>및 향산화소재 가능성 확인 (2차년도 연구)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 제조공정 기술 분석 결과 정형화된 분리·정제 공정 단계 확인. 핵심기술은 흡착분리와 결정공정으로 분석됨 ○ 흡착분리 공정 적합한 수지(resin)를 다양한 전문업체로부터 수집·평가 진행
--	--

- 위탁기관 (이화여대)

성과목표	달성결과
패널 훈련 및 용어 도출	<ul style="list-style-type: none"> ○ 감미료 수용액에 대한 정확하고 재현성있는 감각적 평가를 위하여 단맛, 쓴맛, 떫은맛에 대한 기본맛 훈련을 수행. ○ 설탕기준 5개 수준 농도(2%, 4.5%, 7.5%, 11%, 15%)중 7.5%와 15%의 2개 농도에서 각 감미료별 감미농도를 도출하여 용어 도출을 진행함.
감미소재의 농도-반응함수 모델링 및 database화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 총 3개의 스테비아 감미료 (Reb A, Reb D, 효소처리스테비아) 및 우위 대조군으로 합성감미료 Sucralose를 채택하여 농도-반응함수를 도출하고 다양한 농도 수준에서 설탕대비 감미도를 측정 ○ 동일한 감미수준 (설탕 기준 6%, 10%)으로 조절한 감미료에 대한 감미질 평가 진행 ○ 총 3개의 저칼로리 당류 (Allulose 결정, Allulose 고순도액상, Tagotose)를 채택하여 농도-반응함수를 도출하고 다양한 농도 수준에서 설탕대비 감미도를 측정 ○ 동일한 감미수준 (설탕 기준 6%, 10%)으로 조절한 감미료에 대한 감미질 평가 진행 ○ 포도당전이효소 등을 적용하여 제조된 신규 배당체 스테비아 시제품 및 추가 글로벌 경쟁제품 (Reb M) 추가 확보 및 관능특성 2차 추가 평가

- 협동연구기관(서울대학교)

성과목표	달성결과
스테비올 배당체 합성	<ul style="list-style-type: none"> ○ 포도당전이효소 반응 조건 확인: <ul style="list-style-type: none"> - 반응 평형상태 확인: 설탕200mM, 스테비오사이드 2%(buffer 20mM의 농도로 고정, pH 5.2), 포도당전이효소 3U/mL, 7시간 반응 후 평형상태 도달 (반응 7시간 이후 합성 중지) - 최적의 기질(설탕) 농도 확립 : 설탕농도 350mM ○ 과당전이효소 반응 조건 확인 :

	<ul style="list-style-type: none"> - 반응 7시간 이후 합성 중지 포도당 당전이 반응과 동일 조건에서 프락토올리고당 합성이 주로 일어남 확인. 스테비오사이드 배당체 합성에는 포도당전이효소가 더 적절함 확인. ○ 새로운 당전이 효소로 갈락토시다아제 이용 STV 배당체 합성 조건 연구 및 합성 가능성 확인.
STV 배당체 중합도별 분획	<ul style="list-style-type: none"> ○ STV배당체 합성 후 단당 및 이당류 그리고 글루코올리고당 제거 조건 확립 ○ STV의 배당체를 회수하기에는 Diaion HP-20 resin이 적합하여 최종 적용함.
배당체 스테비아 제조 (시료 제공)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 크기별, 결합구조별 부분 분획물 준비하여 관능 평가를 위한 소재로 제조함. ○ 단당류, 이당류가 제거된 STV 효소반응액 : 2.7 g 확보 (주관기관에 제공) ○ Bio-Gel P-2 컬럼을 이용하여 중합도별 STV 배당체 분리 조건 최적화 진행

○ 2차년도 성과

- 주관연구기관(씨제이제일제당)

성과목표	달성결과
글로벌 스테비아 특허 매핑을 통한 최신 개발 동향 조사	<ul style="list-style-type: none"> ○ 스테비아 관련 특허 동향 파악, 주요 특허 분석을 통한 산업방향 및 기술 전략 수립 - 스테비아 관련 특허의 동향을 파악하고, 조사하기 위하여 2017년 상반기 기준, 스테비아 특허 총 1156건에 대하여 특허맵을 작성하고, 연도별, 국가별 / 기술분류별 / 스테비아 배당체 물질별 / 주요 출원인 별 구분하여 글로벌 개발동향을 종합적으로 분석하였음. - 최근 단순 기능성 특허에서 벗어나 제조/처리 방법과 같은 공정 분야의 출원이 증가하며, 이는 미생물 또는 효소 합성에 의한 스테비아 물질 제조방법 출원의 증가에 따른 것으로 보임. - 스테비아 배당체 중 RebA에 관한 특허가 가장 다수이며, 최근 들어 RebD, ReM 및 효소처리 스테비아에 대한 특허가 증가하고 있음.
상용 고감미도 감미료 소재 확보	○ 상용 고감미도 감미료 중국 제조업체 파악

	<ul style="list-style-type: none"> - 상용 고감미도 감미소재 확보를 위해 고감미료 판매 중국 제조업체 조사 수행, 고순도/저순도 시장이 나뉘어져 있음을 확인하였음. 고순도 스테비아 제품에 대해서 안정적으로 원료를 공급할 수 있는 능력을 가진 제조업체를 기준으로 4군데(G社, L社, S社, J社) 선정하였음. ○ 중국 제조업체의 고/저순도 고감미도 감미료 소재 확보 및 분석 - 중국 제조업체로부터 고순도/저순도 고감미도 감미료 소재 확보 및 분석을 위해 선정된 4군데의 중국 제조업체로부터 고순도 Reb A/Reb D 6 및 저순도 RA 40-80을 확보, 분석하였음. 그 결과, 원료에 따른 함량차이가 큰 것을 확인, (Low-grade Stevia 3종에 대한 로트별 분석 진행) 1년 동안 기간별 저순도 원료에 대한 지속적인 분석이 필요하다는 결론을 얻음. ○ 대용량 분리정제 공정 확립을 위한 중국 스테비아 전문 분리정제 업체와 MOU 협약 체결.
당전이 스테비아 제조 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 스테비아 당전이 효소 반응액 제조 - 식품미생물 유래 당전이 효소 확보 및 효소 반응액 제조를 위해 CJ제일제당 보유 식품 미생물 pool 활용하여 균주 스크리닝 진행하여, 스테비아에 당전이 활성 보유 균주2종을 선별함. 선별된 균주를 통해 설탕 및 스테비아를 이용하여 대량효소반응액 제조를 위한 조건을 확립함
당전이 스테비아 분리·정제 기술 설계	<ul style="list-style-type: none"> ○ 타깃 스테비올 배당체 분리정제 - 타깃 스테비올 배당체 정제를 위하여 친수성의 단당 및 이당류 제거를 위한 1차, 그리고 미반응 스테비올 배당체 제거를 위한 2차, 총 2번의 흡착수지를 통해 순도 80% 이상의 당전이 스테비올 배당체 정제 완료함 - 고순도 분리정제를 위한 활성탄, 이온교환수지와 흡착수지를 테스트하여, 고순도 분리정제를 위한 기술을 확보함
당전이 스테비아 관능특성 파악	<ul style="list-style-type: none"> ○ 당전이 스테비오사이드(CJ 2,3)의 관능특성을 파악하고자 고순도 분리정제 후 SNU 1 20g(순도 92.7%), CJ 2, 3 각 20g(순도 92.2%(CJ 2), 93.6%(CJ 3))을 이화여자대학교에 전달함.
복합감미제 상품화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 제품전시회 참가 - 당류저감 및 대체감미료 제품 홍보를 위한 전시회 참가함 제 10차 국제건강기능식품학술대회 (ISNFF 2017, 군산컨벤션센터

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 스테비아 적용 후보 상품 조사 및 스테비아 제품 적용 착수 - 당전이 스테비아 적용 제품을 찾기자 스테비아 적용 후보 상품군을 조사함(합성고감미료 → 스테비아 대체). 그 중 시럽용 올리고당 제품을 효소처리스테비아로 리뉴얼 하여 제품 출시함(2017년 9월).
--	--

- 이화여자대학교(위탁)

성과목표	달성결과
<p>'농도-반응함수 측정' 및 스테비올 배당체와 bulk 감미료 2성분 조합 시 관능특성 파악</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 2종류의 감미소재 혼합 시 관능특성을 파악하기 위하여 단맛 상승작용 및 감미질 분석을 시행함 - 다양한 저칼로리 감미료 조합 중 단맛 상승작용이 가장 높고 감미질이 우수한 조합 및 2종류의 감미소재 배합 비율에 따른 단맛 강도 및 감미질 분석완료 ○ 저열량 감미료 배합비 선정을 위하여 2성분 조합시 감미기능성 DB화 - 감미료 종류별 2성분 조합시 조합 감미료 및 조합 비율에 대한 감미도 및 감미질 DB화

- 서울대학교(협동)

성과목표	달성결과
<p>디자인된 중합도의 스테비올 배당체 합성 조건 최적화 연구 및 시료제공</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 저 중합도 스테비오사이드 배당체의 최적 조건 연구 결과, 스테비오사이드에서 스테비오사이드 배당체로의 전환수율이 77% 이었으며, 낮은 스테비오사이드 농도에서는 91%까지 확인되어 최적화 연구 완료 ○ 스테비오사이드 배당체 혼합물 주관기관에 90g 제공으로 목표달성
<p>관능 평가 후 타깃으로 하는 배당체의 구조 결정</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 관능평가 결과, 기존 스테비오사이드 대비 스테비오사이드 배당체 I, II의 감미도가 각 158배, 201배 증가하였으며, 감미질 또한 상당히 개선됨(스테비오사이드 0점, 배당체 +2점) 확인 등으로 목표달성 ○ 스테비오사이드 배당체 I, II 구조 분석 결과, 스테비오사이드 배당체 I의 경우 1개의 글루코사이드 기가, 그리고

	스테비오사이드 배당체 II의 경우 2개의 글루코사이드 기가 스테비오사이드에 결합한 구조 결정. 특히, 감미도와 감미질의 향상이 있는 스테비오사이드 배당체 II의 경우 신규물질로 확인으로 목표달성
타깃 스테비오사이드 배당체의 물질 안정성 확인	○ 강산 및 고온 환경에서 소재들이 안정하고, 스테비오사이드 대비 스테비오사이드 배당체의 안정성이 더 증가됨 확인 등으로 목표달성
스테비올 배당체의 용도 확장연구	○ 불용성 물질인 당뇨병치료제와 커큐민노이드의 수용성을 증가시키는 연구 진행. 불용성 물질의 수용성이 개선됨을 확인. ○ 추가 효소들의 활용성 검증과 다른 스테비올 배당체인 루부소사이드의 배당체 연구 추가 진행 등으로 목표 추가 달성.
성과 실적	○ 특허출원 4건, SCI논문 게재승인 2편 및 인력 양성 3인 등 2차년도 연구 목표를 달성 함.

○ 3차년도 성과

- CJ제일제당(주관)

성과목표	달성결과
제조 Pilot 개발	○원료선정 - 스테비올배당체 중 rebaudiosideA의 함량을 기준으로 원료 선정 및 테스트 진행 - 안정적 원료 공급이 가능한 중국의 스테비아 생산업체별 원료 확보 - rebaudiosideA의 함량별 3종류의 원료를 사용하여 샘플 제조 및 관능평가 후 원료 규격 설정함 ○고순도 효소처리 스테비아 제조 공정 효율 및 안정성 평가 진행함 - 단위 공정 수율 및 재현성 평가
양산형 시제품 확보	○총 850g 효소처리 스테비아 시제품 확보 - 총 14.5kg의 효소반응액을 분리정제 실시

	<ul style="list-style-type: none"> - 분리정제 수율(흡착수지) 확보 ○공인기관 확보 및 성적서 확보 - 국내외 효소처리스테비아 공인분석기관 조사 - 국내외 공인분석법 비교평가 - 공인성적서 확보 및 제품 규격 달성
소비자 조사 및 제품화	<ul style="list-style-type: none"> ○Scale-up 전/후 차이식별 조사결과, 유의차 無 확보함 ○원료 3종 中 2종에 대해서 효소처리스테비아 제조시 기존 소재인 rebaudiosideA 대비 관능 선호도 확보함 ○ CJ 보유소재 활용, 자체 복합솔루션 개발하여 설탕과 관능 분석 결과, 설탕 50% 이상 저감하여 설탕과 유의차 없음 확보 ○2018년 5월, 천연 고감미료인 스테비아 적용한 체중조절용 식품 3건 출시함 ○제품/효소 인허가 완료시 당사 개발소재로 대체 예정
제조원가 확보	<ul style="list-style-type: none"> ○ 원부재료비와 변동비 산출(연간 100T 생산기준) - 원재료비 비중 高 - 발효공정 비용절감을 위한 효소개량 필요 - 추가실험을 통한 최적화 작업 필요 (증류탑 공정 및 순수 제조 공정 반영)
성과실적	<ul style="list-style-type: none"> ○Non-GM 효소를 사용한 당전이스테비아 제조방법 특허 2건 출원 등

- 이화여자대학교(위탁)

성과목표	달성결과
저열량 감미료의 감각특성 확보	<ul style="list-style-type: none"> ○ 다양한 스테비올 배당체 및 저열량 감미료의 감미질, 감미도를 포함한 감각적 특성 분석함 - Sucrose, Allulose, 파우더 및 액상, Tagatose, Sucralose RebaudiosideA 등
2성분 또 3성분 조합시 감미 기능성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 스테비올 배당체와 다른 감미료 (bulk 감미료 or 고감미료)의 2성분 또 3성분 조합시 감미 기능성 분석하여 소재 간 시너지 확보
4성분 조합시 감미 기능성 분석	<ul style="list-style-type: none"> ○ 스테비올 배당체와 다른 감미료 (bulk 감미료, 고감미료)의 4성분 조합시 감미 기능성 분석 ○스테비올 배당체를 포함한 저열량 감미료의 최적 조합 및 배합비 도출하여 소비자 수용도 조사

	<ul style="list-style-type: none"> - 타겟 제품을 즐겨먹는 소비자 60-80명 패널 모집 및 훈련 - 단맛, 쓴맛, 떫은맛에 대한 감각적 평가 - 제품의 기호도 및 좋은점 싫은점 등 평가
--	---

- 서울대학교(협동)

성과목표	달성결과
선발 효소의 pilot규모 특정 당전이 STV최대 생산 최적화 및 시료 제공	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1,2차년도의 결과를 바탕으로 반응 조건에 따른 배당체 전환 확인(주관연구기관제안 조건과 본 연구팀 연구 조건에 따른 반응 수행) 최적화 연구 완료 ○ 스테비오사이드 배당체 혼합물 주관기관에 31L (스테비오사이드 1.7 Kg 배당체화) 제공으로 목표달성
당전이 STV별 구조 결정 및 기능성 연구	<ul style="list-style-type: none"> ○ 신규 스테비올 글루코 배당체 제조 및 구조 결정 - 1,2차년도의 반응 조건 결과에 따른 배당체 제조, 정제 및 구조 결정 (4가지 글루코 스테비올 배당체) ○ 프락토실 루부소사이드 배당체 구조 결정 및 특성연구 - RSM을 이용한 최적 생산 조건 제시, 치아 건강 관련 프라크 형성 효소인 뮤탄수크라아제 활성 억제 특성 확인 신규물질로 확인 등으로 목표달성
스테비올 배당체의 용도 확장연구	<ul style="list-style-type: none"> ○ 당전이 스테비올 배당체, 스테비올 올리고배당체를 이용한 항당뇨, 항산화, 항노화 관련 기능 성분의 수용화 연구(퀘르세틴, 프테로스틸벤, 이데베논) 등으로 목표달성
성과 실적	<ul style="list-style-type: none"> ○ 특허출원 8건, 등록 1건, SCI논문 2편, 저서 2권 및 인력 양성 6인 등 3차년도 연구 목표를 초과 달성 함.

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

연구목표(연구계획서)	평가방법	개발내용	가중치 (%)	달성도 (%)
기존 상용화 효소처리스테비아 소재보다 이미,이취 유의적 감소한 효소처리 배당체 스테비오사이드 확보	기존 소재 대비 관능 우위 확보	스테비올 배당체 중 단일 소재로 가장 시장이 큰 소재인 RebaudiosideA 대비 관능 우위 확보	15	100
효소 및 소재 생산기술 최적화 및 신규원료 소재 등록	Pilot 시제품 확보 Scale-up 전/후 관능 유의차 없음 시제품 성적서 확보 신소재 등록	Pilot 시제품의 Scale-up 전/후 관능 유의차 無 확보 공인성적서 확보 및 규격 부합 확인	20	85
설탕 적용과 동등수준 이상의 관능 기호도 확보된 복합 감미 포물러 개발	설탕 대비 감미도/쓴맛 동등 수준 포물러 확보	4성분 조합으로 설탕 대비 감미도 상승 및 쓴맛 동등수준 확보	15	100
연구개발 기간 내 제품출시 1건 및 과제 종료 후 누적 건수 3건 이상 확보	제품 출시 건수	2차년도 1건, 3차년도 3건으로 총 4건의 스테비아 적용 제품 출시함	20	130
당류함량 30% 이상 저감 확보	설탕저감 %	설탕 50% 이상 저감 포물러로 설탕과 관능 유의차 없음 확보	20	160
개발소재의 신규확장 용도개발 및 원천특허 확보	신규 용도 특허 출원	난수용성 물질의 수용액 가용화 조성물 특허 출원	10	100
합계			100	115

○ 관능 개선이 우수한 신규효소를 개발하여 기존 소재 대비 관능우위 확보하였으나, 효소의 특성상 식품첨가물 공전 등재 원료와 상이한 원료 적용이 필요함(신규소재의 한시적기준 심사)

- 국내 한시적기준 규격의 독성평가 항목에서 예외조항 조건을 고려하여 인허가 추진 검토결과, 미국 FDA GRAS notification 먼저 추진 및 독성면제조항 충족 후 국내 인허가 진입
- 규제혁신의 일환으로 식약처 첨가물기준과에서 추진 중인 바이오기술 이용 식품첨가물 범주 개선에 포함하고자 추진 중(연구용역과제 참여 및 국내법규환경 변화 지속대응)

4. 연구결과의 활용 계획 등

구분	계획
연구개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 효소 개량 - 관능 개선이 우수한 신규효소를 선별 완료하였으나, wild type으로 활성 및 생산성 개선 필요 - 효소 활성에 따라 발효공정 제조원가 차이 大 - 경제성 확보를 위해서 추가 원가절감 가능한 균주개량효소 개량에 1-2년 추가기간 필요
인허가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 원료변경 - 현 식품첨가물 공전상 효소처리스테비아 원료는 텍스트린으로 한정 - 원료를 설탕으로 변경시 기존 국내 한시적기준 심사 추진 필요 - 바이오기술 이용 규제완화에 포함하고자 추진 중
사업화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기존제품 대체 - 추가 연구개발 및 소재인허가 완료 후, 스테비아 적용 중인 CJ제품에 적용하여 리뉴얼 출시 - 복합솔루션 적용하여 설탕 대체 및 당류저감 제품으로 개발/출시 ○ 품목확대 - 기존시장의 주요제품인 rebaudiosideA 대비 관능 개선된 소재개발 기술을 확보함 - 그러나 최근 글로벌 기업의 타겟 물질이 rebaudiosideD, M으로 옮겨감에 따라, 추가적인 품목 확대 필요 - 기술 플랫폼의 차이로 별도의 효소탐색 및 개발 연구 필요

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 당류 저감화 복합 천연감미소재 개발 및 상용화				
	(영문) Commercialization of natural sweetener blends for sugar reduction				
주관연구기관	CJ제일제당		주 관 연 구 책 임 자	(소속)식품연구소	
참 여 기 업	서울대학교			(성명)김정보	
총연구개발비 (1,060,000 천원)	계	1,060,000,000	총 연 구 기 간	2016. 07. 07~2018. 12. 31(2년6월)	
	정부출연 연구개발비	530,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	31
	기업부담금	530,000		내부인원	
	연구기관부담금			외부인원	
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 효소개발 및 소재생산 기술 최적화 - 기존 설탕 적용과 동등 수준 이상의 관능 기호도 확보된 복합 천연감미 포물러 확보 - 당류 함량 30% 이상 저감 솔루션 확보 - 개발 소재의 신규 확장 용도 개발 및 원천 특허 확보 (난용성 소재 수용화 기술 등) <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 글로벌 선진사 당류저감소재 개발 트렌드 조사를 위한 특허맵 확보 - 당전이스테비아 합성 가능한 식품산업 효소 탐색 및 확보 - 당전이효소 반응 최적조건 확보 및 생성 배당체 스테비아 중합도별 물질구조 확보 - 신규 당전이스테비아 기능성 및 수용화 연구 - 배당체 스테비아 제조공정 개발 및 고순도 시제품 제조하여 규격부합 확보 - 기존 상용화 소재보다 이미 이취가 유의적으로 개선된 배당체 스테비아 확보 - 선정 배당체스테비아의 제조 pilot 개발 및 scale-up 전,후 관능적 유의차 없음 확보 - 제조 정제품 선정 및 이를 기능성당(알룰로스, 타가토스)과 복합 처방하는 최적 배합 확보 - 당류 50% 이상 저감하여 설탕과 관능적 유의차 없음 확보 <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> - 스테비아 소재 적용 제품 4건 출시 - 효소개량 및 소재 인허가 완료하여 본격 사업화 후 자체개발 소재로 대체 계획 					

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	116013-3			
사업구분	농식품기술개발사업					
연구분야				과제구분	단위	
사업명	고부가가치식품기술개발사업				주관	
총괄과제				총괄책임자		
과제명	당류저감화 복합 천연 감미소재 개발 및 상용화			과제유형	(기초,응용,개발)	
연구기관	CJ제일제당, 서울대학교, 이화여자대학교			연구책임자	김성보	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계	
	1차연도	2016	130,000	130,000	260,000	
	2차연도	2017	200,000	200,000	400,000	
	3차연도	2018	200,000	200,000	400,000	
	계		530,000	530,000	1,060,000	
참여기업	CJ제일제당					
상대국		상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2018년 12월 31일

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
CJ제일제당	부장	김성보

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	김성보
----	-----

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 설탕 대비 당류함량 30% 이상 절감한 복합솔루션 개발을 핵심 최종목표로 하였고, 본 연구의 결과 글로벌 트렌드에 포함하는 스테비아 소재를 개발·적용하여 당류저감 50% 이상의 효과를 확보. 이는 글로벌 선진사의 기존소재 설탕 대체율 30% 대비 1.6배 이상 개선된 수치임.
- 핵심기술에 대한 연구개발 성과의 독창성 및 진보성을 바탕으로 총 22건의 특허를 신규 출원하여 목표를 초과 달성하였음.
- 현재 천연고감미료의 대표 소재인 고순도 Reb A(순도 95% 이상)와 관능 특성을 비교하였을 경우, 상대적으로 우위의 감미질을 보유함을 확인할 수 있음.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 미국 등 선진국 시장에서 가장 많이 사용되고 있는 천연고감미료 소재인 고순도 Reb A(순도 95% 이상)와 관능 특성이 비교 우위임을 확인하였고, 따라서 단순 국내 시장 대체가 아닌 미국 등 선진 시장에서 다양한 확장을 위한 핵심기술로 발전 기대됨.
- 뿐만 아니라 설탕과 유사한 감미 특성 발현을 위하여 필수적으로 병용되는 저칼로리 Bulk 기능성 당류소재(알룰로스, 타가토스)의 경우 주관기관이 글로벌 수준의 제조 역량을 기보유하고 있어, 향후 B2C 뿐 아니라 B2B 영역에서 지속적인 상용화 사례 축적 및 매출 성장 기대.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 당전이 스테비올 배당체를 이용한 항당뇨, 항산화, 항노화 관련 기능 성분의 수용화 연구 및 치아 건강 관련 프라크 형성 효소인 뮤탄수크라아제 활성 억제 특성 확인하여 저열량의 천연 감미소재로 기능성과 새로운 활용도를 개발하는 데 소재를 활용할 수 있겠음
- 스테비아 제품의 경우 원재료 비율이 높은 제조 특성을 가지고 있어, 국내에서의 사업화 뿐 아니라 가 아닌 해외 원료 보유 업체와의 다양한 기술 기반 사업협력 모델이 가능.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 주어진 연구기간 내 연구개발 및 제품적용을 위한 복합 솔루션 확보를 성실 수행하여 상당의 목표를 달성 및 초과달성 하였음 (II. 연구목표 달성도 참조)
- 연구 성과물로 확보한 시제품 평가 결과 스테비아 제품군의 규격에 부합하는 것과 품질의 우수성을 연구기간 내 충분히 확인하였으므로, 신규 식품원료로의 등록을 위한 인허가 절차를 거쳐 과제 종료 후 3년 이내에 다양한 상품화 실적으로 확장 가능할 것으로 기대.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

○ 연구기간 내 특허출원 20건, SCI급 논문 4건 및 학술발표 9건, 홍보전시 2건 등 성실 수행하였으며, 사업화 과제의 특성상 선 특허권리 확보가 우선되어 논문 실적이 다소 지연되었음. 심사 중인 제출 논문의 출간 및 출원 특허의 최종 등록을 위해서 지속 대응 및 노력하겠음.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
기존 상용화 효소처리스테비아 소재보다 이미,이취 유의적 감소한 효소처리 배당체 스테비오사이드 확보	15	100	○ 관능우위 확보 - 대표소재인 RebaudiosideA 대비 관능 우위 확보하여 100% 달성
효소 및 소재 생산기술 최적화 및 신규원료 소재 등록	20	85	○ pilot 기술개발 확보 - 시제품의 Scale-up 전/후 관능 유의차 無로 pilot 기술개발 완료 - 최종 시제품의 공인성적서 확보 및 제품 규격 에 부합 ○ 공전상 원료변경 추진 중
설탕 적용과 동등수준 이상의 관능 기호도 확보된 복합 감미 포뮬러 개발	15	100	○ 4성분 복합 솔루션 개발 - 설탕 대비 감미도 상승 및 쓴맛 동등수준 확보
연구개발 기간 내 제품출시 1건 및 과제 종료 후 누적 건수 3건 이상 확보	20	130	○ 연구개발 기간 내 제품출시 4건으로 초과달성 - 2차년도 1건, 3차년도 3건으로 총 4건의 스테비아 적용 제품 출시함
당류함량 30% 이상 저감 확보	20	160	○ 설탕 50% 이상 저감으로 초과 달성 - 설탕 저감 포뮬러로 설탕과 관능 유의차 없음 확보
개발소재의 신규확장 용도개발 및 원천특허 확보	10	100	○ 난수용성 물질의 수용액 가용화 조성물 특허 출원 완료
합계	100점	115	

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

○ 연구개발 기간 내 출원한 20건의 특허는 대부분 제조기술(효소, 공정) 및 단독소재(당전이 스테비아 및 이의 기능성 용도)에 해당함. 3차년도 연구개발의 성과는 특히 여러 다양한 기능성 당류 소재를 3~4개 복합 적용한 복합감미솔루션 개발에 집중되어 있으며, 이는 다양한 조성물 특허의 추가 출원이 가능할 것으로 기대.

○ 본 연구의 적용 제품 유형은 주로 음료 형태로 되어 있으나, 도출된 핵심 연구 결과를 바탕으로 다양한 제품 유형 (소스, 당과류, 제과, 제빵, 유제품 등)으로의 확장된 용도 특허 확보가 기대됨. 그러나 현 보유 연구 데이터만 실시예로 활용할 경우 제품의 유형이 음료로 한정될 가능성이 높아, 연구 종료 후 1~2년 (2019년~2020년) 기간 동안 다양한 제품 유형에 적용한 데이터의 추가 확보 및 특허 출원을 적극 추진할 계획임. 따라서 이러한 특허 권리 확대를 위한 후속 연구개발 기간 동안 정보의 비공개 유지가 필요한 특수성이 있어 이에 대한 고려가 필요 (IV. 보완성검토의 비공개 기간 연장 의견 참조)

○ 3차년도 제조공정 파일럿 최적화 연구의 경우 균주 대량 배양 및 조효소액 제조는 협동기관(서울대학교)에서 수행하고, 이를 공정보조제로 사용한 원료 선별, 분리정제, 분말화 제품 최적화의 경우 주관기관(CJ제일제당)에서 수행하였음.

○ 균주 기술의 경우 대량 배양 생산성 등의 Scale-Up 연구결과 편차가 커서, 구체적인 기술이전 규모를 산정하기 위하여는 상호간의 공동 기술 검증 단계와 예상 시장 규모에 대한 구체적인 평가 데이터가 우선 확보되어야 함. 그러나 균주 보유 기관 (서울대학교 산학협력단)의 균주 정보보안 지침에 따라, 균주 자원은 연구개발기간 중 주관기관에 제공되기 어려운 환경임을 고려, 기술이전을 위한 별도의 상호 검토 기간 및 수행 계획에 대하여 별도 협약을 체결함 (연구 종료 후 2년간의 시장조사 및 공동기술 검증에 대한 단계별 협력).

○ 따라서 본 연구과제의 기술이전 실적은 수행평가 결과에 따른, 기업체(주관기관)의 기술징수료 만을 종료 후 1년 내 정해진 요율에 따라 집행할 계획임. 주관기관과 협동기관 간의 기술이전 실적은 종료 후 2~3년 이후에 발생할 것으로 예상.

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 설탕 대비 당류함량 30% 이상 절감한 복합솔루션 개발을 핵심 최종목표로 하였고, 본 연구의 결과 글로벌 트렌드에 포함하는 스테비아 소재를 개발·적용하여 당류저감 50% 이상의 효과를 확보. 이는 글로벌 선진사의 기존소재 설탕 대체율 30% 대비 1.6배 이상 개선된 수치임.
- 핵심기술에 대한 연구개발 성과의 독창성 및 진보성을 바탕으로 총 22건의 특허를 신규 출원하여 목표를 초과 달성하였음.
- 현재 천연고감미료의 대표 소재인 고순도 Reb A(순도 95% 이상)와 관능 특성을 비교하였을 경우, 상대적으로 우위의 감미질을 보유함을 확인할 수 있음.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 미국 등 선진국 시장에서 가장 많이 사용되고 있는 천연고감미료 소재인 고순도 Reb A(순도 95% 이상)와 관능 특성이 비교 우위임을 확인하였고, 따라서 단순 국내 시장 대체가 아닌 미국 등 선진 시장에서 다양한 확장을 위한 핵심기술로 발전 기대됨.
- 뿐만 아니라 설탕과 유사한 감미 특성 발현을 위하여 필수적으로 병용되는 저칼로리 Bulk 기능성 당류소재(알룰로스, 타가토스)의 경우 주관기관이 글로벌 수준의 제조 역량을 기보유하고 있어, 향후 B2C 뿐 아니라 B2B 영역에서 지속적인 상용화 사례 축적 및 매출 성장 기대.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 당전이 스테비올 배당체를 이용한 항당뇨, 항산화, 항노화 관련 기능 성분의 수용화 연구 및 치아 건강 관련 프라크 형성 효소인 뮤탄수크라아제 활성 억제 특성 확인하여 저열량의 천연 감미소재로 기능성과 새로운 활용도를 개발하는 데 소재를 활용할 수 있겠음
- 스테비아 제품의 경우 원재료 비율이 높은 제조 특성을 가지고 있어, 국내에서의 사업화 뿐 아니라 가 아닌 해외 원료 보유 업체와의 다양한 기술 기반 사업협력 모델이 가능.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 주어진 연구기간 內 연구개발 및 제품적용을 위한 복합 솔루션 확보를 성실 수행하여 상당의 목표를 달성 및 초과달성 하였음 (II. 연구목표 달성도 참조)
- 연구 성과물로 확보한 시제품 평가 결과 스테비아 제품군의 규격에 부합하는 것과 품질의 우수성을 연구기간 내 충분히 확인하였으므로, 신규 식품원료로의 등록을 위한 인허가 절차를 거쳐 과제 종료 후 3년 이내에 다양한 상품화 실적으로 확장 가능할 것으로 기대.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 연구기간 내 특허출원 20건, SCI급 논문 4건 및 학술발표 9건, 홍보전시 2건 등 성실 수행하였으며, 사업화 과제 특성상 선 특허출원이 우선시되어 논문 실적이 지연된 바, 심사 중인 제출 논문의 출간 및 출원 특허의 최종 등록을 위해서 지속 대응 및 노력하겠음.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
기존 상용화 효소처리스테비아 소재보다 이미,이취 유의적 감소한 효소처리 배당체 스테비오사이드 확보	15	100	○ 관능우위 확보 - 대표소재인 RebaudiosideA 대비 관능 우위 확보하여 100% 달성
효소 및 소재 생산기술 최적화 및 신규원료 소재 등록	20	85	○ pilot 기술개발 확보 - 시제품의 Scale-up 전/후 관능 유의차 無로 pilot 기술개발 완료 - 최종 시제품의 공인성적서 확보 및 제품 규격 에 부합 ○ 공전상 원료변경 추진 중
설탕 적용과 동등수준 이상의 관능 기호도 확보된 복합 감미 포물러 개발	15	100	○ 4성분 복합 솔루션 개발 - 설탕 대비 감미도 상승 및 쓴맛 동등수준 확보
연구개발 기간 내 제품출시 1건 및 과제 종료 후 누적 건수 3건 이상 확보	20	130	○ 연구개발 기간 내 제품출시 4건으로 초과달성 - 2차년도 1건, 3차년도 3건으로 총 4건의 스테비아 적용 제품 출시함
당류함량 30% 이상 저감 확보	20	160	○ 설탕 50% 이상 저감으로 초과 달성 - 설탕 저감 포물러로 설탕과 관능 유의차 없음 확보
개발소재의 신규확장 용도개발 및 원천특허 확보	10	100	○ 난수용성 물질의 수용액 가용화 조성물 특허 출원 완료
합계	100점	115	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

○ 핵심기술에 대한 연구개발 성과의 독창성 및 진보성을 바탕으로 총 22건의 특허를 신규 출원하여 목표를 초과 달성하였으며, 당류제품 1건에 대한 참여연구팀의 상품화 실적이 있음 (연구기간內 4건의 제품 출시했으며, 이중 천연고감미료 및 기능성당의 복합감미 구현 제품 1건 및 단순 천연고감미료 적용 제품 3건)

○ 주어진 연구기간內 연구개발 및 제품적용을 위한 복합 솔루션 확보를 성실 수행하여 상당의 목표를 달성 및 초과 달성하였음. 특히 과제의 대표적인 연구개발목표로 제시한 ‘당류함량 저감율’을 기존 목표 대비 초과 달성하였음. 설탕 대비 당류함량 30% 이상 절감한 복합솔루션 개발을 핵심 최종목표로 하였고, 본 연구의 결과 글로벌 트렌드에 보합하는 스테비아 소재를 개발·적용하여 당류저감 50% 이상의 효과를 확보. 이는 글로벌 선진사의 기존소재 설탕 대체율 30% 대비 1.6배 이상 개선된 수치임.

○ 또한 당전이 스테비올 배당체를 이용한 항당뇨, 항산화, 항노화 관련 기능 성분의 수용화 연구 및 치아 건강 관련 프라크 형성 효소인 뮤탄수크라아제 활성 억제 특성 확인하여 저열량의 천연 감미소재로 기능성과 새로운 용도로의 확장에 대한 연구 성과를 확보함 (특허출원 포함).

○ 특히 스테비아 제품의 경우 원재료 비율이 높은 제조 특성을 가지고 있으며, 국내에 비하여 미국·유럽 등의 선진국 시장에서 특히 지속적으로 규모가 성장하고 있음. 따라서 본 연구 결과는 국내에서의 직접 제조를 통한 제품화에 한정하지 아니하고, 해외 원료 보유 업체와의 다양한 기술 기반 사업협력 모델이 가능함. 따라서 향후 연구개발 성과의 파급효과가 큰 것으로 기대.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

○ 스테비아 유래 천연고감미료와 기능성당류의 복합 감미 포뮬러 개발 및 제품화가 중점 추진 과제였으며, 연구개발 과정 성과로 본 연구개발팀의 담당 제품 1건에 대한 리포블레이션 상품화 실적을 확보하였음. 이는 기존의 합성고감미료(수크랄로스)를 천연고감미료(효소처리스테비아)로 대체한 것으로, 상대적으로 감미질이 열위인 스테비아 계열 제품을 다양한 보조소재와 복합처방하여 동등 맛 품질을 구현시킨 개발 사례임.

○ 2차년도 스테비아 계열 제품으로의 리뉴얼(선행 연구)과 함께, 본 연구과제에서 신규 개발된 당전이스테비아를 3차년도 이후 추가 적용할 계획이었으나, 기존 식품첨가물 공전 상 등록된 효소처리스테비아 품목으로 분류가 어려워 과제 종료 이후 별도의 인허가 절차가 필요하였음 (검토 결과 별도의 한시적기준 원료 등록 절차가 필요하며, 소요 기간 약 1.5 ~ 2년 예상).

○ 새로 개발된 시제품의 품질이 기존 효소처리스테비아의 규격에 부합함(단, 사용된 부재료가 기존은 전분류였으나 본 연구에서는 설탕을 사용하였으므로, 별도의 인허가 절차가 필요)과 참여기관(CJ제일제당과 서울대 산학협력단)의 구체적인 기술이전절차에 대한 협약 체결, 연구 수행 과정 실적으로 리뉴얼 제품 1종 출시한 점 등을 종합적으로 고려하면, 본 연구과제는 상용화에 준하는 연구 실적을 확보한 것으로 판단할 수 있음.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 연구개발 기간 내 출원한 22건의 특허는 대부분 제조기술(효소, 공정) 및 단독소재(당전이 스테비아 및 이의 기능성 용도)에 해당함. 3차년도 연구개발의 성과는 특히 여러 다양한 기능성 당류 소재를 3~4개 복합 적용한 복합감미솔루션 개발에 집중되어 있으며, 이는 다양한 조성물 특허의 추가 출원이 가능할 것으로 기대.
- 본 연구의 적용 제품 유형은 주로 음료 형태로 되어 있으나, 도출된 핵심 연구 결과를 바탕으로 다양한 제품 유형 (소스, 당과류, 제과, 제빵, 유제품 등)으로의 확장된 용도 특허 확보가 기대됨. 그러나 현 보유 연구 데이터만 실시예로 활용할 경우 제품의 유형이 음료로 한정될 가능성이 높아, 연구 종료 후 1~2년 (2019년~2020년) 기간 동안 다양한 제품 유형에 적용한 데이터의 추가 확보 및 특허 출원을 적극 추진할 계획임. 따라서 이러한 특허 권리 확대를 위한 후속 연구개발 기간 동안 정보의 비공개 유지가 필요한 특수성이 있어 이에 대한 고려가 필요 (IV. 보완성검토의 비공개 기간 연장 의견 참조)
- 3차년도 제조공정 파일럿 최적화 연구의 경우 균주 대량 배양 및 조효소액 제조는 협동기관(서울대학교)에서 수행하고, 이를 공정보조제로 사용한 원료 선별, 분리정제, 분말화 제품 최적화의 경우 주관기관(CJ제일제당)에서 수행하였음.
- 균주 기술의 경우 대량 배양 생산성 등의 Scale-Up 연구결과 편차가 커서, 구체적인 기술 이전 규모를 산정하기 위하여는 상호간의 공동 기술 검증 단계와 예상 시장 규모에 대한 구체적인 평가 데이터가 우선 확보되어야 함. 그러나 균주 보유 기관 (서울대학교 산학협력단)의 균주 정보보안 지침에 따라, 균주 자원은 연구개발기간 중 주관기관에 제공되기 어려운 환경임을 고려, 기술이전을 위한 별도의 상호 검토 기간 및 수행 계획에 대하여 별도 협약을 체결함 (연구 종료 후 2년간의 시장조사 및 공동기술 검증에 대한 단계별 협력).
- 따라서 본 연구과제의 기술이전 실적은 수행평가 결과에 따른, 기업체(주관기관)의 기술징수료 만을 종료 후 1년 내 정해진 요율에 따라 집행할 계획임. 주관기관과 협동기관 간의 기술이전 실적은 종료 후 2~3년 이후에 발생할 것으로 예상.

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
연구과제명	당류 저감화 복합 천연 감미소재 개발 및 상용화			
주관연구기관	C제일제당		주관연구책임자	김성보
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	530,000,000	530,000,000		1,060,000,000
연구개발기간	2016. 07. 07 ~ 2018. 12. 31			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 기존 상용화 효소처리스테비아 소재보다 이미,이취 유의적 감소한 효소처리 배당체 스테비오사이드 확보	스테비올 배당체 중 대표 소재인 RebaudiosideA 대비 관능 우수 확보
② 효소 및 소재 생산기술 최적화 및 신규원료 소재 등록	시제품의 Scale-up 전/후 관능 유의차 無로 pilot 기술개발 완료 공인성적서 확보 및 규격 부합 확인 식품첨가물 공전상 원료변경 추진 중
③ 설탕 적용과 동등수준 이상의 관능 기호도 확보된 복합 감미 포물러 개발	4성분 조합으로 설탕 대비 감미도 상승 및 쓴맛 동등수준 확보
④ 연구개발 기간 내 제품출시 1건 및 과제 종료 후 누적 건수 3건 이상 확보	2차년도 1건, 3차년도 3건으로 총 4건의 스테비아 적용 제품 출시함
⑤ 당류함량 30% 이상 저감 확보	설탕 50% 이상 저감 포물러로 설탕과 관능 유의차 없음 확보
⑥ 개발소재의 신규확장 용도개발 및 원천특허 확보	난수용성 물질의 수용액 가용화 조성물 특허출원

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍 보		기타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	표 준 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SC I	비 SC I						
단위	건	건	건	건	백 만 원	백 만 원	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치																			
최종목표	8	8		1		3					7	2		7	2	4		2	
연구기간 내 목표	8	4		1		1					7	2		7	2	4		2	
연구기간내 달성실적	20	1		1		4					4	0		9	1	9		2	2
달성율(%)	250	25		100		400								129	50	225		100	+

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	당전이효소 보유 미생물 탐색 및 효소생산 최적화
②	Scale-up 효소반응 및 분리정제 최적화
③	복합 솔루션 개발 및 상품화
④	신규 기능성 발굴 및 원천 기술 확보

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)					
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복	외국기술 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장에로 결	정책 자료	기타
①의 기술						v	v	v			
②의 기술						v		v			
③의 기술			v					v			
④의 기술	v	v					v				

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
당전이효소 보유 미생물 탐색 및 효소생산 최적화	해외 수입에 의존하던 당전이효소 국내 산업화
Scale-up 효소반응 및 분리정제 최적화	고순도 제품화로 향후 국내외 소재 인허가
복합 솔루션 개발 및 상품화	당류저감 및 설탕대체 제품화
신규 기능성 발굴 및 원천 기술 확보	개발 소재의 신규 기능성 및 활용처 선점

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치																			
최종목표	8	8		1		3					7	2		7	2	4		2	
연구기간내 달성실적	20	1		1		4					4	0		9	1	9		2	2
연구종료후 성과창출 계획		10									4			1					

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	당류 저감화 복합 천연 감미소재 개발 및 상용화		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	약 52,920천원
이전방식 ²⁾	<input checked="" type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	약 1년	실용화예상시기 ³⁾	2021년
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	농림수산식품과학기술 육성법 시행령 제 14조 및 농림축산식품 연구개발사업 운영 규정 35조에 따름		

핵심기술명 ¹⁾	당전이효소기반 효소처리스테비아 개발 및 기능성 연구		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	- 천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	3년	실용화예상시기 ³⁾	2021년
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	CJ제일제당과 서울대학교 산학협력단 간 협약서에 따름		

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

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