



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월26일
(11) 등록번호 10-2481954
(24) 등록일자 2022년12월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 19/56 (2006.01) A23L 2/60 (2006.01)
A23L 27/30 (2016.01) C12N 9/10 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12P 19/56 (2013.01)
A23L 2/60 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7036954
- (22) 출원일자(국제) 2017년06월05일
심사청구일자 2020년03월19일
- (85) 번역문제출일자 2018년12월19일
- (65) 공개번호 10-2019-0015334
- (43) 공개일자 2019년02월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/035931
- (87) 국제공개번호 WO 2017/214026
국제공개일자 2017년12월14일
- (30) 우선권주장
62/346,148 2016년06월06일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
US20100166679 A1
US20070082102 A1
FOOD CHEM
BIOTECHNOLOGY AND BIOPROCESS ENGINEERING

- (73) 특허권자
테이트 앤드 라일 솔루션스 유에스에이 엘엘씨
미국, 일리노이 60192, 호프만 이스테이즈, 프래
리 스톤 파크웨이 5450
- (72) 발명자
플렛처, 조슈아
미국 60192 일리노이 호프만 이스테이즈 프래리
스톤 파크웨이 5450
우드이어, 라이언
미국 60192 일리노이 호프만 이스테이즈 프래리
스톤 파크웨이 5450
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 15 항

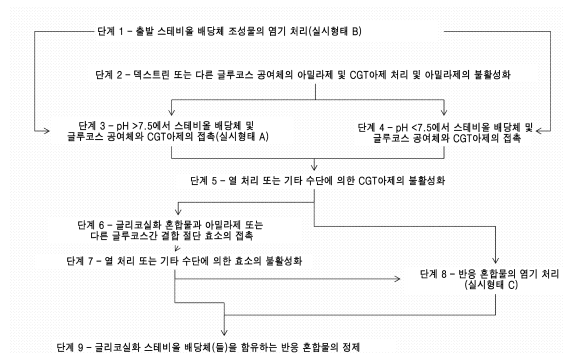
심사관 : 이형곤

(54) 발명의 명칭 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 및 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 제조 방법

(57) 요약

식품 및 음료 제품 등에서의 감미료 및 향미 개질제로서 유용한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 제조 방법은 스테비올 배당체 조성물의 효소-촉매된 글리코실화 전, 동안 및/또는 후의 염기성 조건의 사용에 의해 향상된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 27/36 (2016.08)
C12N 9/1074 (2013.01)
C12Y 204/01019 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)

(72) 발명자

폴로로보브, 미카일

미국 60192 일리노이 호프만 이스테이츠 프래리 스톤 파크웨이 5450

그로쓰, 라이언

미국 60192 일리노이 호프만 이스테이츠 프래리 스톤 파크웨이 5450

스미스, 존

미국 60192 일리노이 호프만 이스테이츠 프래리 스톤 파크웨이 5450

시라즈, 살마

미국 60192 일리노이 호프만 이스테이츠 프래리 스톤 파크웨이 5450

첸, 시안

미국 60192 일리노이 호프만 이스테이츠 프래리 스톤 파크웨이 5450

가디, 제임스

미국 60192 일리노이 호프만 이스테이츠 프래리 스톤 파크웨이 5450

명세서

청구범위

청구항 1

스테비올 배당체 및 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하는 조성물로서,

스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총량이, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 적어도 85%를 차지하고,

글리코실화 레바우디오사이드 B, 글리코실화 스테비올바이오사이드, 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B가 각각 존재하고 글리코실화 레바우디오사이드 B, 글리코실화 스테비올바이오사이드, 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B가 함께, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 5 내지 50%를 차지하는, 조성물.

청구항 2

스테비올 배당체 및 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하는 조성물로서,

스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총량이, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 적어도 85%를 차지하고,

글리코실화 레바우디오사이드 B와 글리코실화 스테비올바이오사이드가 둘 다 존재하고 글리코실화 레바우디오사이드 B와 글리코실화 스테비올바이오사이드가 함께, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 2 내지 25%를 차지하는, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

글리코실화 레바우디오사이드 B, 글리코실화 스테비올바이오사이드, 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B가 함께, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 10 내지 25%를 차지하는, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

글리코실화 레바우디오사이드 B 및 글리코실화 스테비올바이오사이드가 함께, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 5 내지 15%를 차지하는, 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총량이, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 적어도 90%인, 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총량이, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 적어도 95%인, 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 조성물은, 건조 고체를 기준으로, 15 중량% 내지 40 중량%의 미글리코실화된(unglycosylated) 스테비올 배당체 및 60 중량% 내지 85 중량%의 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하고,

미글리코실화된 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총 중량은, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 총 중량의 적어도 90%인, 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 조성물은, 건조 고체를 기준으로, 15 중량% 내지 40 중량%의 미글리코실화된(unglycosylated) 스테비올 배당체 및 60 중량% 내지 85 중량%의 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하고,

미글리코실화된 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총 중량은, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 총 중량의 적어도 95%인, 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 조성물은, 건조 고체를 기준으로, 20 중량% 내지 35 중량%의 미글리코실화된 스테비올 배당체 및 65 중량% 내지 80 중량%의 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하고,

미글리코실화된 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총 중량은, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 총 중량의 적어도 95%인, 조성물.

청구항 10

제2항에 있어서,

글리코실화 레바우디오사이드 B 및 글리코실화 스테비올바이오사이드가 함께, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 5 내지 15%를 차지하는, 조성물.

청구항 11

제2항에 있어서,

스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총량이, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 적어도 90%인, 조성물.

청구항 12

제2항에 있어서,

스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총량이, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 적어도 95%인, 조성물.

청구항 13

제2항에 있어서,

상기 조성물은, 건조 고체를 기준으로, 15 중량% 내지 40 중량%의 미글리코실화된 스테비올 배당체 및 60 중량% 내지 85 중량%의 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하고,

미글리코실화된 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총 중량은, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 총 중량의 적어도 90%인, 조성물.

청구항 14

제2항에 있어서,

상기 조성물은, 건조 고체를 기준으로, 15 중량% 내지 40 중량%의 미글리코실화된 스테비올 배당체 및 60 중량% 내지 85 중량%의 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하고,

미글리코실화된 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총 중량은, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 총 중량의 적어도 95%인, 조성물.

청구항 15

제2항에 있어서,

상기 조성물은, 건조 고체를 기준으로, 20 중량% 내지 35 중량%의 미글리코실화된 스테비올 배당체 및 65 중량% 내지 80 중량%의 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하고,

미글리코실화된 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총 중량은, 건조 중량을 기준으로, 상기 조성물의 총 중량의 적어도 95%인, 조성물.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호참조

[0002] 본 출원은 2016년 6월 6일에 출원된 미국 가특허 출원 제62/346,148호에 대한 우선권을 주장하며, 이의 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 참고로 본 명세서에서 포함된다.

[0003] 본 발명은 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 향상된 제조 방법, 이를 통해 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물, 이러한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 포함하는 감미료 및 블렌드, 및 식품 및 음료 등의 식용 제품에서 감미료 및 향미 개질제로서의 이러한 글리코실화 스테비올 배당체의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 최근에, 천연 산물에 기반한 고강도 감미료의 개발에 상당한 관심이 있었다. 이러한 감미료는 식품 및 음료 제품에서 당을 대체할 수 있으며, 이에 따라 잠재적으로 이러한 제품의 당을 저하시키고 또한 가능하게는 칼로리 함유량을 저하시킬 수 있다. 스테비아(*Stevia*) 식물의 잎으로부터 추출 및 단리된 스테비올 배당체는 대부분의 이러한 화합물이 당(수크로스)보다 몇 배 더 달기 때문에 중요한 연구와 상업적 관심의 대상이었다. 스테비아 식물의 더 구 품종은 소량의 레바우디오사이드 A와 기타 미량의 스테비올 배당체와 함께, 주요 스테비올 배당체 성분으로서 스테비오사이드를 함유한다. 스테비오사이드는 수크로스보다 약 100배 내지 300배 달지만, 그의 맛의 질은 레바우디오사이드 A의 맛의 질보다 상당히 열등한 것으로 간주된다. 따라서, 훨씬 더 높은 수준의 레바우디오사이드 A를 갖는 스테비아 식물의 신 품종 및 고도로 순수한(95%+) 레바우디오사이드 A를 얻기 위한 스테비아 잎의 가공 방식이 개발되었다. 그러나, 고도로 정제된 레바우디오사이드 A라도 전적으로 수크로스에 필적하는 맛 프로파일을 갖지 않는다; 따라서, 정제된 레바우디오사이드 A만을 사용하여 저당 식음료를 조제하는 것은 상당한 도전 과제로 남아있다.

[0005] 스테비올 배당체는 중심 스테비올 (테르페노이드) 모이어티에 결합된 글루코스 분자를 갖는 것을 특징으로 한다. 종전에, 알파-글루코실트랜스퍼라제를 1종 이상의 스테비올 배당체, 및 전분 또는 사이클로덱스트린 등의 글루코스 공여체를 함유하는 수용액상에서 반응할 수 있게 하여, 하나 이상의 글루코스 단위가 상기 글루코스 공여체로부터 스테비올 배당체(들)로 전이되게 함으로써 스테비오사이드 및 레바우디오사이드 A 등의 천연 발생 스테비올 배당체를 변형시킬 수 있다는 것이 발견되었다. 이를 통해 수득된 반응 산물은 일반적으로 "글리코실화 스테비올 배당체"로서 지칭되며, 출발 스테비올 배당체(들)에 비해 변형된/향상된 관능 특성을 가질 수 있다. 글리코실화(glycosylation) 또는 글리코실전이(transglycosylation)를 수반하는 것으로 간주될 수 있는 이러한 반응의 예는 미국 특허 제4,219,571호 및 미국 공개특허 제2007/0082102호에 기재되어 있다.

[0006] 그러나, 스테비올 배당체 글리코실화 기술의 추가 향상이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 이러한 반응에서 수득된 글리코실화 스테비올 배당체(들)의 수율은 낮은 경향이 있다. 또한, 공지된 방법을 사용하여 제조된 글리코실화 스테비올 배당체의 향미와 맛은 아마도 출발 스테비올 배당체(들)의 향미와 맛보다 우수할 수는 있지만, 수크로스가 지닌 관능 특성과 현저하게 상이하다는 점에서 아직도 완전하게 이상적이지 않을 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명의 다양한 비제한적인 예시적 양태는 다음과 같이 요약될 수 있다:

[0008] 양태 1: 출발 스테비올 배당체 조성물, 글루코스 공여체 및 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제를 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 생산하기에 효과적인 시간 동안 7.5 초과 내지 10 이하의 pH 를 갖는 수성 매체 중에서 접촉시키는 단계로 구성되거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 제조 방법.

[0009] 양태 2: 양태 1에 있어서, 상기 출발 스테비올 배당체 조성물이 레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 B, 레바우디오사이드 C, 레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 F, 레바우디오사이드 M(X), 스테비오사이드, 스테비올 바이오사이드, 루부소사이드 및 돌코사이드 A로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 스테비올 배당체로 구성되거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진, 방법.

[0010] 양태 3: 양태 1에 있어서, 상기 출발 스테비올 배당체 조성물이 건조 중량을 기준으로 적어도 약 50% 레바우디

오사이드 B로 구성되는, 방법.

- [0011] 양태 4: 양태 1에 있어서, 상기 출발 스테비올 배당체 조성물이 건조 중량을 기준으로 적어도 약 50% 레바우디오사이드 A로 구성되는, 방법.
- [0012] 양태 5: 양태 1에 있어서, 상기 출발 스테비올 배당체 조성물이 건조 중량을 기준으로 적어도 약 50% 스테비오사이드로 구성되는, 방법.
- [0013] 양태 6: 양태 1에 있어서, 상기 출발 스테비올 배당체 조성물이 건조 중량을 기준으로 적어도 약 10% 스테비올 바이오사이드로 구성되는, 방법.
- [0014] 양태 7: 양태 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 글루코스 공여체가 올리고당, 사이클로덱스트린 및 다당류로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.
- [0015] 양태 8: 양태 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 글루코스 공여체가 전분, 텍스트린, 액화 전분 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.
- [0016] 양태 9: 양태 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 상기 pH가 약 8 내지 약 9인, 방법.
- [0017] 양태 10: 양태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제가 바실러스 스테아로써모필러스(*Bacillus stearothermophilus*), 바실러스 마세란스(*Bacillus macerans*), 바실러스 서큘란스(*Bacillus circulans*), 바실러스 알칼로필러스(*Bacillus alcalophilus*), 바실러스 할로필러스(*Bacillus halophilus*), 써모안에어로박터(*Thermoanaerobacter*) 균주 또는 써모안에어로븀(*Thermoanaerobium*) 균주로부터 수득되거나 유래되는 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제인, 방법.
- [0018] 양태 11: 양태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제가 써모안에어로박터 속(*Thermoanaerobacter sp.*)의 균주로부터 수득되거나 유래되는 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제인, 방법.
- [0019] 양태 12: 양태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제가 비-호알칼리성 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제인, 방법.
- [0020] 양태 13: 양태 1 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 상기 접촉이 약 20°C 내지 약 95°C의 온도에서 수행되는, 방법.
- [0021] 양태 14: 양태 1 내지 13 중 어느 하나에 있어서, 접촉이 약 1시간 내지 약 250시간 동안 수행되는, 방법.
- [0022] 양태 15: 양태 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 상기 수성 매체가 완충된 수성 매체인, 방법.
- [0023] 양태 16: 양태 1 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 글루코스간 결합을 절단할 수 있는 적어도 하나의 효소와 접촉시키는 추가 단계를 포함하는 방법.
- [0024] 양태 17: 양태 1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 상기 접촉 단계가 출발 스테비올 배당체 조성물에 존재하는 스테비올 배당체의 글리코실화 스테비올 배당체로의 전환율 60% 내지 85% 또는 65% 내지 80%를 달성하기에 효과적인 조건 하에 수행되는, 방법.
- [0025] 양태 18: a) 출발 스테비올 배당체 조성물을 염기성 수성 매체 또는 염기성 수지와 접촉시켜 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물을 수득하는 단계 및 b) 상기 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물, 글루코스 공여체 및 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제를 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 생산하기에 효과적인 시간 동안 수성 매체 중에서 접촉시키는 단계를 포함하거나, 이러한 단계들로 본질적으로 이루어지거나, 이러한 단계들로 이루어진, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 제조 방법.
- [0026] 양태 19: 양태 18에 있어서, 상기 출발 스테비올 배당체 조성물이 7.5 내지 14의 pH를 갖는 염기성 수성 매체와 접촉되는, 방법.
- [0027] 양태 20: 양태 18 또는 19에 있어서, 단계 a)가 20°C 내지 100°C의 온도에서 수행되는, 방법.
- [0028] 양태 21: 양태 18 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 단계 a)가 0.5시간 내지 250시간 또는 1시간 내지 250시간 동안 수행되는, 방법.
- [0029] 양태 22: 양태 18 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 출발 스테비올 배당체 조성물이 레바우디오사이드 A 또는 스테비오사이드 중 적어도 하나를 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진, 방법.

- [0030] 양태 23: 양태 22에 있어서, 단계 a)가, 레바우디오사이드 A가 존재할 경우, 그의 적어도 일부분을 레바우디오사이드 B로 전환시키고 스테비오사이드가 존재할 경우, 그의 적어도 일부분을 스테비올바이오사이드로 전환시키는 것에 효과적인 조건 하에 수행되는, 방법.
- [0031] 양태 24: 양태 18 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 글루코스간 결합을 절단할 수 있는 적어도 하나의 효소와 접촉시키는 추가 단계를 포함하는 방법.
- [0032] 양태 25: 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 염기성 수성 매체 또는 염기성 수지와 접촉시키는 단계를 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 하나 이상의 관능 특성을 향상시키는 방법.
- [0033] 양태 26: 양태 25에 있어서, 상기 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 염기성 수성 매체와 접촉되고, 상기 염기성 수성 매체가 7.5 내지 14 또는 8 내지 14 의 pH를 갖는, 방법.
- [0034] 양태 27: 양태 25 또는 26에 있어서, 상기 접촉 단계가 20℃ 내지 100℃ 의 온도에서 수행되는, 방법.
- [0035] 양태 28: 양태 25 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 상기 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 글리코실화 레바우디오사이드 A 또는 글리코실화 스테비오사이드 중 적어도 하나로 구성되거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진, 방법.
- [0036] 양태 29: 양태 28에 있어서, 상기 접촉 단계가 글리코실화 레바우디오사이드 A가 존재할 경우, 그의 적어도 일부분을 글리코실화된 레바우디오사이드 B로 전환시키고 글리코실화 스테비오사이드가 존재할 경우, 그의 적어도 일부분을 글리코실화 스테비올바이오사이드로 전환시키기에 효과적인 조건 하에 수행되는, 방법.
- [0037] 양태 30: 양태 1 내지 29 중 어느 하나의 방법에 의해 획득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물.
- [0038] 양태 31: a) 글리코실화 스테비올 배당체 조성물과 b) 레바우디오사이드 B의 총 건조 중량을 기준으로, a) 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 및 b) 2 내지 8 중량%의 레바우디오사이드 B로 구성되거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진 감미료 조성물.
- [0039] 양태 32: 양태 31에 있어서, 상기 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 양태 1 내지 29 중 어느 하나의 방법에 따라 획득되는, 감미료 조성물.
- [0040] 양태 33: a) 제1 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 및 b) 양태 18 내지 24 중 어느 하나의 방법에 의해 획득된 제2 글리코실화 스테비올 배당체 조성물로 구성되거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진 감미료 조성물.
- [0041] 양태 34: 양태 33에 있어서, 제1 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 양태 1 내지 17 중 어느 하나의 방법에 의해 획득되는, 감미료 조성물.
- [0042] 양태 35: 양태 33 또는 34에 있어서, a) 제1 스테비올 배당체 조성물과 b) 제2 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 총 건조 중량을 기준으로, a) 65 내지 95 중량%의 제1 스테비올 배당체 조성물 및 b) 5 내지 35 중량%의 제2 글리코실화 스테비올 배당체 조성물로 구성되거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이들로 이루어진 감미료 조성물.
- [0043] 양태 36: a) 제1 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 및 b) 양태 25 내지 28 중 어느 하나의 방법에 의해 획득된 제2 글리코실화 스테비올 배당체 조성물로 구성되거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이들로 이루어진 감미료 조성물.
- [0044] 양태 37: 양태 36에 있어서, 상기 제1 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 양태 1 내지 17 중 어느 하나의 방법에 의해 획득되는, 감미료 조성물.
- [0045] 양태 38: 양태 36 또는 37 에 있어서, a) 제1 스테비올 배당체 조성물과 b) 제2 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 총 건조 중량을 기준으로, a) 50 내지 95 중량%의 제1 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 및 b) 5 내지 50 중량%의 제2 글리코실화 스테비올 배당체 조성물로 구성되거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이들로 이루어진 감미료 조성물.
- [0046] 양태 39: 글리코실화 스테비올 배당체 조성물로서, 글리코실화된 레바우디오사이드 B, 글리코실화 스테비올바이오사이드, 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B가 각각 존재하고 글리코실화 레바우디오사이드 B, 글리코실화 스테비올바이오사이드, 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B가 함께, 건조 중량을 기준으로, 상

기 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 5 내지 50% 또는 10 내지 25%를 차지하는, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물.

[0047] 양태 40: 글리코실화 스테비올 배당체 조성물로서, 글리코실화 레바우디오사이드 B와 글리코실화 스테비올바이오사이드가 둘 다 존재하고 글리코실화된 레바우디오사이드 B와 글리코실화 스테비올바이오사이드 함께, 건조중량을 기준으로, 상기 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 2 내지 25% 또는 5 내지 15% 를 차지하는, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물.

[0048] 양태 41: i) a) 양태 1 내지 29 중 어느 하나의 방법에 의해 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물, b) 양태 31 내지 38 중 어느 하나의 감미료 조성물 또는 c) 양태 39 또는 40의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 중 적어도 하나 및 ii) 적어도 하나의 추가적인 식품, 음료, 화장품 또는 의약 성분을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 이들로 이루어진 식품, 음료 제품, 화장품 또는 의약품.

[0049] 양태 42: i) a) 양태 1 내지 29 중 어느 하나의 방법에 의해 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물, b) 양태 31 내지 38 중 어느 하나의 감미료 조성물 또는 c) 양태 39 또는 40의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 중 적어도 하나 및 ii) 적어도 하나의 추가적인 식품, 음료, 화장품 또는 의약 성분을 배합하는 단계를 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진, 식품, 음료 제품, 화장품 또는 의약품의 제조 방법.

[0050] 양태 43: 식품, 음료 제품, 화장품 또는 의약품에서의 a) 양태 1 내지 29 중 어느 하나의 방법에 의해 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물, b) 양태 31 내지 38 중 어느 하나의 감미료 조성물 또는 c) 양태 39 또는 40의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 중 적어도 하나의 용도.

도면의 간단한 설명

[0051] 도 1은 본 발명에 따르는 다양한 방법들 및 이러한 방법들이 어떻게 서로 결부되어 실시될 수 있는가를 도식적으로 예시하는 프로세스 흐름도이다.

도 2 내지 도 8은 본 명세서의 실시예에서 추가 설명되는 다양한 스테비올 배당체 및 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 LC-MS 크로마토그램이다.

도 9는 본 명세서의 실시예에 설명되는 특정 검사 성능 데이터의 수득과 관련하여 사용된 검사 샘플 평가 형태의 포맷을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0052] 본 명세서에서 사용되는 "스테비올 배당체"라는 어구는 레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 B, 레바우디오사이드 C, 레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 E, 레바우디오사이드 F, 레바우디오사이드 M(때때로 레바우디오사이드 X로도 지칭된다), 루부소사이드, 둘코사이드 또는 스테비오사이드 등의 스테비아 식물에서 발견되는 스테비올 배당체 화합물(스테비올의 배당체)을 의미한다. 천연 발생 스테비올 배당체에서 스테비올 글루코스 단위는 베타 형태로 결합되어 있다.

[0053] 본 명세서에서 사용되는 "글리코실화 스테비올 배당체"라 함은 하나 이상의 위치에서 글리코실화 스테비올 배당체(예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 그 이상의 글루코스 모이어티가 공유 배당체 결합을 통해 스테비올 배당체에 부가되었다)를 의미한다. 특히, 글리코실화 스테비올 배당체는 하나 이상의 글루코스 모이어티 또는 알파 1-4 결합된 글루코스 중합체(예를 들면, 말토스, 말토티리오스, 말토테트라오스)가 모체 스테비올 배당체상의 당 모이어티에의 1-4 결합에 의해 모체 스테비올 배당체 분자에 도입되어 있는 스테비올 배당체이다. 글리코실화 스테비올 배당체에서, 효소적 글리코실화 반응에 의해 부가된 글루코스 단위(들)는 알파 형태로 결합되어 있다. 따라서, 글리코실화 스테비올 배당체는 천연 발생 스테비올 배당체와 상이한 구조를 갖는다.

[0054] 본 명세서에서 사용되는 "글리코실화 스테비올 배당체 조성물(들)" 이라는 어구는 하나 이상의 글리코실화 스테비올 배당체를 포함하지만, 글리코실화 스테비올 배당체 외의 하나 이상의 물질(예를 들어, 미반응된 스테비올 배당체(들) 및/또는 미반응된 글루코스 공여체 및/또는 글루코스 공여체로부터 수득된 탄수화물 산물 등)을 또한 포함할 수 있는 조성물을 의미하는 것이다.

[0055] 본 발명은 일반적으로 실시형태 A, 실시형태 B 및 실시형태 C로서 지칭되고 이하에서 보다 상세하게 설명되는 적어도 3가지의 주요 실시형태에 대응하는 방법을 포함한다. 이러한 주요 실시형태들은 독립적으로 또는 서로

조합하여 실시될 수 있다.

[0056] 실시형태 A

[0057] 실시형태 A는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 제조 방법으로서, 출발 스테비올 배당체 조성물, 글루코스 공여체 및 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제를 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 생산하기에 효과적인 시간 동안 7.5 초과 내지 10 이하의 pH 를 갖는 수성 매체 중에서 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 수반한다. 이러한 조건 하에 글리코실화를 수행하는 것은 낮은 pH 값에서의 CGT아제-촉매 글리코실화와 비교하여 다음의 장점들 중 하나 이상을 제공하는 것으로 발견되었다: 글리코실화 스테비올 배당체 수율의 증가, 맛이 향상된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 및/또는 단맛이 증가된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물.

[0058] 출발 스테비올 배당체 조성물

[0059] 출발 스테비올 배당체 조성물은 천연 스테비올 배당체(즉, 스테비아 식물의 잎에서 천연적으로 발견되는 스테비올 배당체) 및/또는 비-천연 스테비올 배당체(즉, 스테비아 잎 또는 기타 천연 공급원에서 발견되지 않는 스테비올 배당체)일 수 있는 하나 이상의 스테비올 배당체를 포함할 수 있다. 출발 스테비올 배당체 조성물은 향상을 필요로 하는 것으로 확인된 하나 이상의 속성, 특히 하나 이상의 관능 특성을 갖는 조성물로서 특징지어질 수 있다. 예를 들어, 향상을 필요로 하는 속성은 쓴맛, 단 뒷맛, 단맛 강도, 감초 향미, 뚝은 맛 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 출발 스테비올 배당체 조성물은 스테비올 배당체 이외의 하나 이상의 물질, 특히 스테비올 배당체와 함께 스테비아 식물질 중에 존재하는 비-스테비올 배당체, 스테비아 식물 물질로부터 수득 또는 제조된 추출물 또는 합성적으로 제조된 스테비올 배당체 조성물 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 그러나, 본 발명의 각종 유리한 실시형태에서, 출발 스테비올 배당체 조성물은, 건조 고체를 기준으로, 총 적어도 50 중량%, 적어도 60 중량%, 적어도 70 중량%, 적어도 80 중량%, 적어도 90 중량%, 적어도 95 중량% 또는 적어도 99 중량% 스테비올 배당체(들)로 구성된다.

[0060] 출발 스테비올 배당체 조성물에서 사용하기에 적합한 예시적인 스테비올 배당체는 스테비오사이드, 레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 B, 레바우디오사이드 C, 레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 E, 레바우디오사이드 F, 레바우디오사이드 X (M), 레바우디오사이드 N, 레바우디오사이드 O, 돌코사이드 A, 스테비올바이오사이드, 루부소사이드 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 출발 스테비올 배당체 조성물은 스테비아 식물의 공지된 품종(천연 및 잡종) 중의 임의의 것을 포함하는 스테비아 식물의 잎 유래의 스테비올 배당체의 추출물일 수 있다. 이러한 추출물은 일반적으로 스테비오사이드와 레바우디오사이드 A가 전형적으로 가장 큰 존재량으로 존재하는 스테비올 배당체인(추출물이 수득된 스테비아 식물의 품종에 따라서) 상이한 스테비올 배당체들의 혼합물이다. 한 실시형태에서, 출발 스테비올 배당체 조성물은, 건조 중량을 기준으로, 10 내지 70% 스테비오사이드와 20 내지 70% 레바우디오사이드 A를 포함할 수 있으며, 여기서 스테비오사이드와 레바우디오사이드 A의 총량은 건조 중량을 기준으로 70% 이상이며, 기타 스테비올 배당체가 임의로 존재하여 건조 중량을 기준으로 90% 이상 또는 95% 이상의 총 스테비올 배당체 함량을 제공할 수 있다. 예를 들어, 출발 스테비올 배당체 조성물은 (건조 중량을 기준으로) 28 내지 30% 스테비오사이드, 50 내지 55% 레바우디오사이드 A, 9 내지 12% 레바우디오사이드 C, 1 내지 3% 레바우디오사이드 F 및 기타 스테비올 배당체로 구성되고 총 스테비올 배당체 함량이 적어도 90% 또는 적어도 95%에 이르는 추출물일 수 있다. 다른 실시형태에서, 출발 스테비올 배당체 조성물은 (건조 중량을 기준으로) 25 내지 30% 스테비오사이드, 55 내지 65% 레바우디오사이드 A 및 기타 스테비올 배당체로 구성되고 총 스테비올 배당체 함량이 적어도 95%에 이르는 추출물일 수 있다. 다른 추가의 실시형태에서, 출발 스테비올 배당체 조성물은 (건조 중량을 기준으로) 55 내지 65% 레바우디오사이드 A, 20 내지 30% 스테비오사이드 및 총 3 내지 8%의 레바우디오사이드 C와 돌코사이드 A로 구성되고 적어도 90%의 총 스테비올 배당체 함량을 갖는 추출물일 수 있다. 대안적으로, 스테비올 배당체의 비율이 상이할 뿐만 아니라 스테비오사이드, 레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 B, 레바우디오사이드 C, 레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 E, 레바우디오사이드 F, 레바우디오사이드 X (M), 레바우디오사이드 N, 레바우디오사이드 O, 돌코사이드 A, 스테비올바이오사이드 또는 루부소사이드 등의 고도로 정제된(예를 들어, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 순수한) 스테비올 배당체를 갖는 스테비아 추출물이 사용될 수 있다.

[0061] 예를 들어, 출발 스테비올 배당체 조성물은, 건조 중량을 기준으로, 적어도 약 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90% 레바우디오사이드 B로 구성될 수 있다. 다른 실시형태에서, 출발 스테비올 배당체 조성물은, 건조 중량을 기준으로, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90% 레바우디오사이드 A로 구성될 수 있다. 다른 추가의 실시형태에서, 출발 스테비올 배당체 조성물은, 건조 중량을 기준으로, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90% 스테비오사이드로 구성될 수 있다. 추가

의 실시형태에 따라서, 출발 스테비올 배당체 조성물은, 건조 중량을 기준으로, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90% 스테비올바이오사이드로 구성될 수 있다.

[0062] 출발 스테비올 배당체 조성물로서 사용하기에 또한 적합한 것은 본 발명의 실시형태 B에 따라 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물이다.

[0063] 글루코스 공여체

[0064] 본 발명에서 사용하기에 적합한 글루코스 공여체는 실질적으로 하나 이상의 글루코스 단위를 절단해 내어 출발 스테비올 배당체 조성물에 존재하는 스테비올 배당체 분자로 전이되도록 하는 CGT아제의 존재 하에 반응될 수 있는 글루코스의 올리고머, 중합체 및 사이클릭 형태 중 임의의 것을 포함한다. 적합한 글루코스 공여체에는 예를 들어 비제한적으로, 전분 (밀, 옥수수, 감자, 타피오카 및 사고(sago) 등의 상이한 공급원 유래의 전분을 포함), 액화 전분 (예를 들어, 산 및/또는 아밀라제 등의 효소에 의해 촉매되는 부분적 가수분해를 겪은 전분을 포함), 텍스트린 (말토텍스트린을 포함), 사이클로텍스트린 등 및 이들의 조합이 포함된다. 하나의 유리한 실시형태에서, 글루코스 공여체는 약 0.5 내지 약 10의 텍스트로스 당량(DE) 값을 갖는 말토텍스트린이다.

[0065] 본 발명의 한 실시형태에서, 적합한 글루코스 공여체 조성물은 전분 또는 다른 적합한 다당류를, 다당류를 액화 시키기에 효과적인 조건 하에 아밀라제와 CGT아제의 혼합물로 처리하여 제조된다. 예를 들어, 전분과 물을 배합하여 전분 현탁액을 형성할 수 있고, 여기에 α -아밀라제 및 CGT아제를 첨가한다. 이어서, 생성된 혼합물을, 전분을 액화 (이를 통해 그의 분자량의 저하 및 그의 DE 값의 증가가 초래됨)시키기에 효과적인 시간(예를 들어, 약 0.2시간 내지 약 6시간) 동안 적합한 온도(예를 들어, 약 50°C 내지 약 90°C 또는 약 70°C 내지 약 90°C)에서 항온배양할 수 있다. 이어서, 아밀라제를 낮은 pH 열 처리 등의 임의의 적합한 방법에 의해 불활성화시켜 글루코스 공여체 조성물을 생성한 다음, 이를 출발 스테비올 배당체 조성물 및 CGT아제의 추가 부분과 배합하고 글리코실화 조건에 적용한다.

[0066] 본 발명의 다양한 실시형태에서, 약 0.5:1 내지 약 2:1의 글루코스 공여체 대 스테비올 배당체의 중량비(건조 중량 기준)를 제공하기에 효과적인 양의 글루코스 공여체가 글리코실화 반응에서 사용된다. 다른 실시형태에서, 글루코스 공여체:스테비올 배당체 중량비는 1:1 내지 2:1 또는 1.5:1 내지 2:1일 수 있다.

[0067] CGT아제

[0068] 사이클로텍스트린 글리코실트랜스퍼라제(CGT아제)는 스테비올 배당체로의 글루코스 단위 첨가를 촉매할 수 있는 당업계에 공지된 효소들 중 임의의 것일 수 있다. 상이한 CGT아제 효소의 조합이 이용될 수 있다. CGT아제는 중온성, 고온성, 호알칼리성 및 호염성 바실러스에 의해 생산될 수 있다. 적합한 CGT아제 효소는 예를 들어 바실러스 스테아로써모필러스, 바실러스 마세란스, 바실러스 서클란스, 바실러스 알칼로필러스 및/또는 바실러스 할로필러스로부터 및 써모안에어로박터 또는 써모안에어로봄의 균주로부터 배양될 수 있거나 유래될 수 있다. 이러한 CGT아제의 예에는 예를 들어 위에서 언급한 미생물의 종으로부터 유래된 천연 또는 재조합 효소인 것들이 포함된다. 예를 들어, 멸균된 배양 배지에 적합한 바실러스 종을 접종시킨 다음, 접종된 배지를 약 20°C 내지 약 90°C의 온도에서 약 12 내지 48시간의 기간 동안 바람직하게는 통기 및 교반하면서 배양하고, 수득된 배양액을 여과하여 바실러스 세포를 분리시키고, 예를 들어 한외여과를 사용하여 무세포 투과액을 추가 농축시킴으로써 CGT아제를 생성할 수 있다. 이러한 효소는 전분을 액화시켜 글리코실화 반응에서 사용하기에 적합한 글루코스 공여체를 제공하기 위해 하나 이상의 아밀라제와 함께 사용될 수도 있다. CGT아제 효소(들)는 무세포 배양액, 농축된 액체 무세포 배양액, 분무 건조된 또는 동결 건조된 무세포 배양액 또는 고순도 단백질의 형태일 수 있다. 유리 효소뿐만 아니라 고정된 효소 제제가 사용될 수 있다. 본 발명의 한 실시형태에서, CGT아제는 (예를 들어, 겔 포집, 흡착 또는 공유결합에 의해) 적합한 지지체에 고정된다. 적합한 CGT아제는, 선택된 미생물 (예를 들어, 써모안에어로박터의 종 또는 균주) 유래의 CGT아제를 단리시키고 대장균(*E. coli*) 등의 적합한 숙주 미생물 내로 클로닝하고 여기서 CGT아제를 발현시키는 절차에 따라 생산될 수도 있다. 적합한 CGT아제는 예를 들어 노보자임스(Novozymes) 및 아마노(Amano) 등의 상업적 공급원으로부터 입수가 가능하다.

[0069] 본 발명의 한 실시형태에서, CGT아제 효소는 비-호알칼리성 유기체(즉, 9 이상의 pH에서 최적의 성장을 나타내는 유기체를 의미하는 것으로 이해되는 호알칼리성 유기체가 아닌 유기체)로부터 배양되거나 유래된다. 따라서, 본 발명의 바람직한 실시형태의 CGT아제 효소는 9 미만의 pH에서 최적의 성장을 나타내는 유기체로부터 배양되거나 유래된다. 특정한 실시형태에서, CGT아제 효소는 써모안에어로박터 속 ATCC53627 등의 써모안에어로박터의 균주로부터 배양되거나 유래된다. 따라서, 바람직하게는 노보자임스에 의해 상표명 Toruzyne[®] 3.0 L하에 시판되

는 CGT아제 효소 등의 써모안에어로박터 CGT아제가 본 발명의 글리코실화 반응에서 사용된다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 출발 스테비올 배당체 조성물의 글리코실화는 GenBank 수탁번호 Z35484를 갖는 CGT아제의 아미노산 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99% 또는 심지어 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 CGT아제를 사용하여 수행한다(참조: Joergensen et al., Cloning and nucleotide sequence of a thermostable cyclodextrin glycosyltransferase gene from *Thermoanaerobacter* sp. ATCC 53627 and its expression in *Escherichia coli*" *Biotechnol. Lett.* 19, 1027-1031 (1997)).

[0070] Toruzyme[®] 3.0 L CGT아제 등의 써모안에어로박터 CGT아제를 사용한 스테비오사이드의 글리코실화에 관한 이전에 공개된 문헌은 글리코실화를 위한 최적의 pH가 약 5.5이며 pH가 7로 증가될 경우에 스테비오사이드의 전환율의 현저한 저하가 있음을 명백히 보여주었다(Li et al., "Transglycosylation of stevioside to improve the edulcorant quality by lower substitution using corn starch hydrolyzate and CGTase" *Food Chem.* 138, 2013 2064-2069). 유사한 최적의 pH는 문헌["Regioselective glycosylation of hydroquinone to α -arbutin by cyclodextrin glucanotransferase from *Thermoanaerobacter* sp. *Biochem. Eng. J.* 79, 2013, 187-193"]에 보고된 바와 같이 대략 5.5의 pH가 다수의 기질과 이러한 효소에 최적이라는 것을 보여준 매튜(Mathew) 등에 의해 밝혀졌다. 또한, 전분으로부터 사이클로덱스트린을 생산하기 위해 사용될 경우 Toruzyme[®] 3.0 L은 5의 최적 작동 pH를 갖고 pH가 pH 6 내지 10으로 증가될 경우에 활성이 저하된다는 것이 밝혀졌다. 따라서, 스테비올 배당체의 글리코실화를 포함하여 광범위한 반응에 걸쳐서 Toruzyme[®] 3.0L 등의 CGT아제에 대해 예상된 최적 pH는 5 내지 6 범위에 있을 수 있다는 것이 입증되었다. 따라서, 스테비올 배당체 조성물의 글리코실화를 7.5 초과 내지 10 이하의 pH를 갖는 수성 매체 중에서 Toruzyme[®] 3.0 L 등의 CGT아제 및 글루코스 공여체의 존재 하에 수행함으로써 실제로 특정 이익들이 달성된다는 본 발명자들의 조사 결과는 예상치 못한 것이며 당업계의 종래 지식에 기반하여 적절하게 예상할 수 없는 것이다. 이러한 혜택에는, 수율의 향상(즉, 소정의 기간 내의 글리코실화 스테비올 배당체 수율의 증가), 맛의 질의 향상(즉, 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 더 우수한 관능 특성을 갖는다) 및/또는 글리코실화 정도의 향상(즉, 더 높은 수의 글루코스 모이어티가 출발 스테비올 배당체(들)에 첨가된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 생산)이 포함될 수 있으나, 이들로 한정되지는 않는다.

[0071] 본 발명의 다양한 실시형태에서, 글리코실화 반응에서 이용되는 CGT아제의 양은 글루코스 공여체의 그램당 약 0.02 내지 약 10 단위의 CGT아제(고체 기준)일 수 있다.

[0072] 글리코실화 조건

[0073] 앞서 언급한 바와 같이, 출발 스테비올 배당체 조성물의 글리코실화는 출발 스테비올 배당체 조성물을 수성 매체 중에서 적어도 하나의 CGT아제의 존재 하에 글루코스 공여체와 접촉시킴으로써 수행된다. 24시간 내에 수득된 글리코실화된 산물의 수율은 약염기성 pH, 예를 들어 7.5을 초과하지만 10 이하인 pH, 8 내지 10의 pH, 8 내지 9의 pH 또는 약 8.5의 pH를 갖는 수성 매체를 제공함으로써 현저하게 증가될 수 있다는 것이 발견되었다. 이러한 결과는, 특히 사용되는 CGT아제가 Toruzyme[®] 3.0 L 등의 비-호알칼리성 CGT아제일 경우에 약산성인 pH 값(예를 들어, 5.5 내지 6.5의 pH)에서 스테비올 배당체의 CGT아제-촉매된 글리코실화를 실시하는 것이 통상적이었기 때문에 놀라운 것이었다. 수성 매체의 pH는 임의의 적합한 염기 또는 적합한 염기들의 조합을 사용하여 바람직한 값으로 조정할 수 있다; 적합한 염기에는 약염기뿐만 아니라 강염기가 포함될 수 있다. 염기는 무기 염기(예를 들어, 알칼리 금속 수산화물, 탄산염 또는 중탄산염) 또는 유기 염기(예를 들어, 유기 아민, 유기 산의 공액 염기)일 수 있다. 한 실시형태에서, 염기 또는 염기들은 수성 매체 중에서 가용화된다. 수성 매체는 선택된 염기성 pH에서 완충되거나 완충되지 않을 수 있다. 본 발명의 한 실시형태에서, 수성 매체에 바람직한 pH를 부여하기 위해 필요한 염기의 적어도 일부는 출발 스테비올 배당체 조성물을 본 명세서의 다른 부분에서 설명하는 본 발명의 실시형태 B에 따라 염기-처리함으로써 수득된 반응 산물 중에 존재하는 염기에 의해 공급된다. 즉, 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물은 본 발명의 실시형태 A에서 출발 스테비올 배당체 조성물로서 사용될 수 있다.

[0074] 수성 매체는 물로 구성되지만, 물 이외의 1종 이상의 용매로 또한 구성되는 것이 가능하다. 전형적으로, 이러한 추가 용매(들)은 존재할 경우 물과 혼화성이며 물의 양에 비해 비교적 소량으로 존재한다(예를 들어, 물 이외의 용매의 양은 물과 용매의 총 중량을 기준으로 20 중량% 미만, 10 중량% 미만 또는 5 중량% 미만일 수 있다). 특정 실시형태에서, 수성 매체는 물 이외에 어떠한 용매도 함유하지 않는다.

- [0075] 글리코실화 반응이 수행되는 온도는 중요한 것으로 사료되지 않지만, 전형적으로 글리코실화는 실온(예를 들어, 20℃) 내지 약 95℃의 온도 범위 내에서 실시된다. 한 실시형태에서, 글리코실화 반응 온도는 약 45℃ 내지 약 70℃이다. 또 다른 실시형태에서, 글리코실화 반응 온도는 약 45℃ 내지 약 55℃이다. 반응물들의 접촉은 출발 스테비올 배당체의 글리코실화 스테비올 배당체로의 바람직한 전환을 달성하기에 효과적인 기간 동안 수행된다. 예를 들어, 본 발명의 특정 실시형태에서, 출발 스테비올 배당체의 60% 내지 85% 또는 65% 내지 80% 전환율이 달성된다; 전환 정도는 HPLC 및/또는 LC-MS 분석 방법에 의해 용이하게 모니터링될 수 있다. (글리코실화 반응 산물로서 수득된) 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 중의 글리코실화 스테비올 배당체의 함량 및 미반응된 스테비올 배당체의 함량은 일본 후생노동성에 의해 2009년에 공개된 식품첨가물 등의 규격 기준(Japan's Specifications and Standards for Food Additives) 제8판의 257면 내지 258면에 기재되어 있는 절차에 의해 측정될 수 있다.
- [0076] 일반적으로, 온도, CGT아제의 활성, 출발 스테비올 배당체 조성물의 조성, 효소 농도 및 기타 요인에 따라 1시간 내지 250시간 또는 1시간 내지 168시간의 반응 시간이 적합할 수 있다. 한 실시형태에서, 반응 시간은 약 12 내지 약 24시간이다. 출발 스테비올 배당체 조성물이 스테비오사이드를 포함하는 경우, 예를 들어 수득된 반응 혼합물은 13-O-소포로실 모이어티의 19-O-글루코실 단위와 말단 글루코실 단위 둘 다에서 모노글리코실화, 디글리코실화, 트리글리코실화 및 더욱 고도로 글리코실화된 산물들의 비교적 복잡한 혼합물일 수 있다.
- [0077] 특정 실시형태에 따르면, 글리코실화 반응은 출발 물질에 존재하는 스테비올 배당체의 부분적 전환만을 달성하기에 효과적인 조건 하에 실시된다. 예를 들어, 일단 출발 스테비올 배당체의 약 60 내지 85%가 반응되어(즉, 하나 이상의 글루코스 모이어티로 글리코실화되어) 약 15 내지 40%의 미반응된 출발 스테비올 배당체가 반응 혼합물 중에 남게되면(여기서, 글리코실화 스테비올 배당체 + 미반응된 스테비올 배당체의 총량 = 100%) 글리코실화 반응이 중단될 수 있다. 다른 실시형태에 따라서, 글리코실화는 출발 스테비올 배당체의 약 65 내지 80%가 반응되어(즉, 하나 이상의 글루코스 모이어티로 글리코실화되어) 약 20 내지 35%의 미반응된 출발 스테비올 배당체가 반응 혼합물 중에 남게될 때까지(여기서, 글리코실화 스테비올 배당체 + 미반응된 스테비올 배당체의 총량 = 100%) 수행된다.
- [0078] 본 발명의 다양한 실시형태에서, 글리코실화 반응은 물(약 8 내지 약 8.4의 초기 pH) 속에서 약 4 내지 약 6 중량% 출발 스테비올 배당체 조성물 및 약 8 내지 약 12 중량% 텍스트린(텍스트린 대 출발 스테비올 배당체의 중량비는 약 1.5:1 내지 약 2.5:1이다)을 사용하여 수행할 수 있다. 상기 혼합물을 약 40℃ 내지 약 60℃에서 약 0.5 내지 약 30시간 동안 CGT아제와 함께 항온배양하여 바람직한 글리코실화 스테비올 배당체를 함유하는 반응 산물을 수득한다. 이어서, 효소를 비활성화시키고 흡착 수지, 탄소 여과 및 이온 교환을 사용하여 반응 산물을 정제한다.
- [0079] 일단 바람직한 전환 정도가 성취되면(이는 표준 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 또는 액체 크로마토그래피 - 질량 분광법(LC-MS) 기술을 사용하여 결정될 수 있다), 반응 산물을 추가 처리하거나 가공할 수 있다. 예를 들어, CGT아제를 (예를 들어, 반응 산물을 CGT아제가 글리코실화를 추가 촉매하는 능력에 대하여 불활성화되게 하기에 효과적인 온도까지 가열하는 열 처리에 의해) 비활성화시킬 수 있다. 다른 실시형태에서, 반응 산물을 본 명세서에서 설명하는 실시형태 C에 따라서 염기로 추가 처리할 수 있다. 다른 실시형태에서, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 추가적인 상이한 종류의 효소, 특히 아밀라제 또는 글루코스간 결합을 절단할 수 있는 기타 효소(예를 들어, 바실러스 썩틸리스(*Bacillus subtilis*)로부터 유래된 말토제닉 아밀라제 등의 말토제닉 아밀라제)로 처리할 수 있다. 예를 들어, α-아밀라제를 글리코실화 반응 산물과 배합할 수 있고, 생성된 혼합물을 약 55℃ 내지 약 95℃에서 약 6 내지 24시간 동안 항온배양한 다음, (예를 들어, 낮은 pH에서 가열을 사용하여) α-아밀라제를 불활성화시킬 수 있다. 다른 실시형태에서, 말토제닉 아밀라제 등의 아밀라제를 글리코실화 반응 산물과 배합하고, 생성된 혼합물을 약 25℃ 내지 약 40℃에서 약 12시간 내지 약 36시간 동안 항온배양한다. 이러한 추가의 효소적 처리는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 조성 프로파일을 변경하는 작용을 하고, 이를 통해 가능하게는 조성물의 맛 프로파일의 추가적인 향상을 초래한다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 또한 또는 대안적으로 본 명세서(예를 들어, "글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 정제"라는 제목의 단락)에 기재된 추가 가공 단계들 중 하나 이상에 적용될 수 있다.
- [0080] **실시형태 B**
- [0081] 본 발명의 실시형태 B는 a) 출발 스테비올 배당체 조성물을 염기성 수성 매체 또는 염기성 수지와 접촉시켜 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물을 수득하는 단계 및 b) 상기 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물, 글루코스 공여체 및 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제를 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 생산하기에 효과적인

인 시간 동안 수성 매체 중에서 접촉시키는 단계를 포함하는, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 제조 방법을 제공한다. 실시형태 B는 실시형태 A 및 실시형태 C 중 하나 또는 이들 둘 다와 조합하여 실시될 수 있지만, 대안적으로 단독으로 또는 글리코실화 스테비올 배당체 분야에 공지된 다른 가공 단계와 함께 수행될 수 있다. 출발 스테비올 배당체 조성물을 본 명세서에 설명된 방식으로 염기 처리함으로써, 스테비올 배당체 조성물로부터 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 맛은 이취(off-flavor), 쓴맛, 오래 이어지는 뒷맛 등의 감소 (이를 통해 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 맛을 수크로스나 더욱 유사하게 만든다)에 의해 및/또는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 단맛 강도의 증가에 의해 향상될 수 있다.

[0082] 출발 스테비올 배당체 조성물은 실시형태 A와 관련하여 앞서 언급한 출발 스테비올 배당체 조성물들 중 임의의 것에 해당할 수 있다. 그러나, 실시형태 B의 특정 양태에서, 출발 스테비올 배당체 조성물은 레바우디오사이드 A 및 스테비오사이드 중 적어도 하나 또는 레바우디오사이드 A와 스테비오사이드 둘 다를 함유한다. 레바우디오사이드 A 및 스테비오사이드 중 하나 또는 둘 다는 출발 스테비올 배당체 조성물 중에 우세하게(≥50 중량%, ≥60 중량%, ≥70 중량%, ≥80 중량%, ≥90 중량%) 존재하는 스테비올 배당체(들)일 수 있다. 예를 들어, 레바우디오사이드 A 및 스테비오사이드는 함께 출발 스테비올 배당체 조성물 중에 존재하는 스테비올 배당체의 ≥50 중량%, ≥60 중량%, ≥70 중량%, ≥80 중량%, ≥90 중량%를 차지할 수 있다.

[0083] 염기성 수성 매체의 pH는 본 발명의 다양한 실시형태에서 7.5 초과, 적어도 8 또는 적어도 9 및 14 이하일 수 있다. 예를 들어, 염기성 수성 매체는 8 내지 14, 9 내지 14 또는 약 10 내지 약 14의 pH를 가질 수 있다. 수성 매체의 pH는 임의의 적합한 염기 또는 적합한 염기들의 조합을 사용하여 바람직한 값으로 조정될 수 있다; 적합한 염기에는 약염기뿐만 아니라 강염기가 포함될 수 있다. 염기는 무기 염기(예를 들어, 알칼리 금속 수산화물, 탄산염 또는 중탄산염) 또는 유기 염기일 수 있다. 한 실시형태에서, 염기 또는 염기들은 수성 매체 중에서 가용화된다. 수성 매체는 선택된 염기성 pH에서 완충되거나 완충되지 않을 수 있다.

[0084] 출발 스테비올 배당체 조성물이 염기성 수지와 접촉되는 본 발명의 실시형태에서, 염기성 수지를 예를 들어 염기성 작용기(1급, 2급 및/또는 3급 아미노기 또는 4급 암모늄기 등)가 결합된 약염기성 또는 (바람직하게는) 강염기성 중합체 수지(예를 들어, 가교결합된 폴리스티렌)와 접촉시킨다. 설포네이트기가 트리메틸암모늄 등의 4급 암모늄 양이온을 함유하는 가교결합된 폴리스티렌 설포네이트(예를 들어, 디비닐벤젠과 가교결합되고 설포화된 폴리스티렌)는 한 종류의 강염기성 수지를 구성한다. 폴리에틸렌 아민은 적합한 약염기성 수지의 일례이다. 출발 스테비올 배당체 조성물은 염기성 수지와 접촉될 경우에 수성 매체에 용해될 수 있다.

[0085] 출발 스테비올 배당체 조성물의 염기 처리가 수행되는 온도는 중요한 것으로 사료되지 않지만, 전형적으로 처리는 실온(예를 들어, 20°C) 내지 약 100°C의 온도 범위 내에서 실시된다. 예를 들어, 염기 처리 온도는 약 40°C 내지 약 60°C일 수 있다. 염기 처리는 출발 스테비올 배당체의 바람직한 전환을 달성하기에 효과적인 기간 동안 수행되며, 이는 가능하게는 개개의 스테비올 배당체로부터 하나 이상의 글루코스 단위를 제거(특히, C-19 위치에서 글루코스 단위를 제거)하고 이를 통해 스테비올 배당체를 적어도 부분적으로 다른 스테비올 배당체로 전환하는 것을 수반한다. 예를 들어, 레바우디오사이드 A가 출발 스테비올 배당체 조성물 중에 존재하는 경우 레바우디오사이드 A의 적어도 일부는 레바우디오사이드 B로 전환될 수 있고, 스테비오사이드가 존재하는 경우 스테비오사이드의 적어도 일부는 스테비올바이오사이드로 전환될 수 있다. 보고에 따르면 레바우디오사이드 B 및 스테비올바이오사이드는 각각 레바우디오사이드 A 및 스테비오사이드보다 덜 달며, 스테비올바이오사이드는 특히 불쾌한 맛 프로파일 및 낮은 단맛 강도를 갖는 것으로 특징지어질 수 있다. 그러나, 이러한 화합물들(레바우디오사이드 B 및 스테비올바이오사이드)의 글리코실화 산물은 현재 예상외로 각각의 "모체" 스테비올 배당체(레바우디오사이드 A 및 스테비오사이드)의 글리코실화로 수득된 글리코실화 산물보다 더 단 것으로 밝혀졌다.

[0086] 일반적으로, 온도, pH, 염기 농도, 염기의 동일성 및 기타 요인에 따라 1시간 내지 168시간의 반응 시간이 적합할 수 있다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 수산화나트륨을 사용하여 수성 매체의 pH를 약 13 내지 약 14로 조정하고 혼합물을 약 40°C 내지 약 60°C에서 약 18 내지 약 30시간 동안 가열한다.

[0087] 이를 통해 수득된 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물을 이후에 CGT아제의 존재 하에 적합한 글루코스 공여체와 반응시켜 글리코실화한다. 글리코실화 전에, 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물을 임의로 중화/산성화, 침전 등과 같은 하나 이상의 가공 또는 정제 단계에 적용할 수 있다. 적합한 글루코스 공여체 및 CGT아제는 실시형태 A와 관련하여 이전에 설명된 것들 중 임의의 것일 수 있다. 글리코실화 조건은 이전에 설명한 바와 동일할 수도 있다. 본 발명의 다양한 양태에서, 수성 매체의 pH는 7.5 초과(실시형태 A에 따라)일 수 있다. 그러나, 다른 양태에서 수성 매체의 pH는 7.5 이하(예를 들어, 5.5 내지 7.5 또는 5.5 내지 6.5)이다. 이를 통해 반응 산물로서 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 이후에 본 명세서의 다른 부분에 설명되어 있거나 당업계

에 공지되어 있을 수 있는 하나 이상의 추가 가공 및/또는 정제 단계에 적용하여, 소모성 조성물의 성분으로서 사용하기에 적합한 최종 산물을 제공할 수 있다.

[0088] **실시형태 C**

[0089] 본 발명은 또한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 염기성 수성 매체 또는 염기성 수지와 접촉시키는 단계를 포함하는, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 하나 이상의 관능 특성을 향상시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 임의의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물, 즉 스테비올 배당체 조성물을 글리코실화 반응시켜 수득된 임의의 조성물을 사용하여 실시할 수 있다. 예를 들어, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 실시형태 A에 따라 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 또는 본 발명의 실시형태 B에 따라 제조된 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물의 글리코실화에 의해 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물일 수 있다. 대안적으로, 염기-처리된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 당업계에서 공지된 임의의 기타 글리코실화 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 본 명세서에서 설명하는 방식으로 가공함으로써, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 맛은 이취, 쓴맛, 오래 이어지는 뒷맛 등의 감소(이를 통해 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 맛을 수크로스 및 더욱 유사하게 된다)에 의해 및/또는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 단맛 강도의 증가에 의해 향상될 수 있다.

[0090] 염기성 수성 매체의 pH는 본 발명의 다양한 실시형태에서 7.5 초과, 적어도 8 또는 적어도 9 또는 적어도 10 및 14 이하일 수 있다. 예를 들어, 염기성 수성 매체는 8 내지 14 또는 8.5 내지 12 또는 9 내지 11 또는 약 10의 pH를 가질 수 있다. 수성 매체의 pH는 임의의 적합한 염기 또는 적합한 염기들의 조합을 사용하여 바람직한 값으로 조정될 수 있다; 적합한 염기에는 약염기뿐만 아니라 강염기가 포함될 수 있다. 염기는 무기 염기(예를 들어, 알칼리 금속 수산화물, 탄산염 또는 중탄산염) 또는 유기 염기일 수 있다. 한 실시형태에서, 염기 또는 염기들은 수성 매체 중에서 가용화된다. 수성 매체는 선택된 염기성 pH에서 완충되거나 완충되지 않을 수 있다.

[0091] 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 염기성 수지와 접촉되는 본 발명의 실시형태에서, 염기성 수지는, 예를 들어, 염기성 작용기(1급, 2급 및/또는 3급 아미노기 또는 4급 암모늄기 등)가 결합된 약염기성 또는 강염기성 중합체 수지(예를 들어, 가교결합된 폴리스티렌)와 접촉된다. 설포네이트기가 트리메틸암모늄 등의 4급 암모늄 양이온을 함유하는 가교결합된 폴리스티렌 설포네이트(예를 들어, 디비닐벤젠과 가교결합되고 설포화된 폴리스티렌)는 한 종류의 강염기성 수지를 구성한다. 폴리에틸렌 아민은 적합한 약염기성 수지의 일례이다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 염기성 수지와 접촉될 경우에 수성 매체에 용해될 수 있다.

[0092] 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 염기 처리가 수행되는 온도는 중요한 것으로 사료되지 않지만, 전형적으로 처리는 실온(예를 들어, 20°C) 내지 약 100°C의 온도 범위 내에서 실시된다. 예를 들어, 온도는 약 40°C 내지 약 60°C 또는 50°C 일 수 있다. 염기 처리는 출발 글리코실화 스테비올 배당체의 바람직한 전환을 달성하기에 효과적인 기간 동안 수행되며, 이는 가능하게는 글리코실화 레바우디오사이드 A 또는 글리코실화 스테비올사이드의 각각 글리코실화된 레바우디오사이드 B 또는 글리코실화 스테비올바이오사이드로의 전환 및/또는 글리코실화 스테비올 배당체 생성물상에 첨가된 글루코스 쇄의 단축을 수반하는 것으로 사료된다. 일반적으로, 온도, pH, 염기 농도, 염기의 동일성 및 기타 요인에 따라 1시간 내지 168시간의 반응 시간(예를 들어, 약 12시간 내지 약 36시간 또는 약 18 내지 약 30시간)이 적합할 수 있다. 예를 들어, 수산화나트륨이 염기로서 사용되고 수성 매체가 약 9 내지 약 11의 pH를 가질 경우, 반응 온도는 약 40°C 내지 약 60°C일 수 있으며 반응 시간은 약 18 내지 약 30시간일 수 있다.

[0093] 이를 통해 반응 산물로서 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 이후에 본 명세서의 다른 부분에 설명되어 있거나 당업계에 공지되어 있을 수 있는 하나 이상의 추가 가공 및/또는 정제 단계에 적용하여, 소모성 조성물의 성분으로서 사용하기에 적합한 최종 산물을 제공할 수 있다.

[0094] **글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 정제**

[0095] 본 발명의 실시형태들 중 임의의 것에 따라 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 이하에 더욱 상세히 설명하는 바와 같이 식품, 음료 제품, 화장품 및 의약품에 혼입시키거나 성분으로서 사용하기 전에 추가 가공 및/또는 정제될 수 있다.

[0096] 적합한 정제/가공 기술에는 효소 불활성화, 중화 또는 기타 pH 조정, 여과, 멸균, 탈색, 탈염, 크로마토그래피 등을 통한 분획, 건조, 농축, 침전, 결정화, 흡착제(예를 들어, 매크로포러스(macroporous) 흡착제 및 소수성 수지 등의 중합체 흡착제, 활성탄) 처리, 이온 교환 수지 처리 등 및 이들의 조합이 포함되나 이들로 한정되지는 않는다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 수용액(예를 들어, 시럽)의 형태로 수득되는 경우, 그것은 그 자체로 사용될 수 있거나 또는 임의로 예를 들어 분무 건조에 의해 건조 형태로 전환될 수 있다. 글리코실화 스

테비올 배당체 조성물은 건조 전 또는 후에 1종 이상의 기타 성분(예를 들어, 감미료 또는 기타 향미 개질제)와 배합될 수 있다.

- [0097] 본 발명의 특정 실시형태에서, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 위에서 언급한 방법들 중 하나 이상을 사용하여 가공 및/또는 정제하여 그의 스테비올 배당체(존재할 경우 미반응된 출발 스테비올 배당체(들) 및 출발 스테비올 배당체(들)의 글리코실화 산물 둘 다를 포함)의 함량이 건조 중량을 기준으로 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 99%가 되도록 한다. 생성된 글리코실화 스테비올 배당체의 양은 HPLC 를 사용하여 출발 스테비올 배당체 양의 감소를 측정함으로써 정량될 수 있다.
- [0098] 이용되는 추가 가공/정제 조건에 따라서, 수득되는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 소량의 잔류 글루코스 공여체 및/또는 글루코스 공여체로부터 수득되는 탄수화물 산물(예컨대, 글루코스 공여체가 전분인 경우 말토덱스트린)을 함유할 수 있다. 조성물은 또한 또는 대안적으로 출발 스테비올 배당체 조성물 중에 존재하는 스테비올 배당체의 일부분(예를 들어, 미반응된 스테비올 배당체)을 함유할 수 있다.
- [0099] 본 발명의 다양한 실시형태에서, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 가공 및/또는 정제하여 감미료 및/또는 향미제로서 소모품(예를 들어, 식품 또는 음료 제품)의 성분용으로 의도된 또는 성분으로서 사용하기에 적합한 조성물을 제공한다. 예를 들어, 이러한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 건조 고체를 기준으로 15 중량% 내지 40 중량%의 미반응된 스테비올 배당체 및 60 중량% 내지 85 중량%의 글리코실화 스테비올 배당체를 포함할 수 있으며, 여기서 미반응된 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총 중량은, 건조 중량을 기준으로, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 총 중량의 적어도 90%이다. 다른 실시형태에서, 건조 고체를 기준으로 20 중량% 내지 35 중량%의 미반응된 스테비올 배당체와 65 중량% 내지 80 중량%의 글리코실화 스테비올 배당체로 구성된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 제공되며, 여기서 미반응된 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총 중량은 건조 중량을 기준으로 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 총 중량의 적어도 95%이다.
- [0100] 특정 실시형태에 따라서, 글리코실화 레바우디오사이드 B, 글리코실화 스테비올바이오사이드, 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B를 함유하는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 제공된다. 이러한 성분들은 함께, 건조 중량을 기준으로, 예를 들어 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 5 내지 50% 또는 10 내지 25%를 차지할 수 있다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 나머지는 주로 또는 전적으로 글리코실화 레바우디오사이드 B, 글리코실화 스테비올바이오사이드, 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B 이외의 1종 이상의 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체(예를 들어, 레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 C, 레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 E, 레바우디오사이드 F, 레바우디오사이드 I, 레바우디오사이드 H, 레바우디오사이드 L, 레바우디오사이드 K, 레바우디오사이드 J, 레바우디오사이드 M(레바우디오사이드 X로도 지칭됨), 레바우디오사이드 N, 레바우디오사이드 O, 돌코사이드 A, 돌코사이드 B, 루부소사이드, 스테비오사이드 및 그들의 글리코실화된 유도체)로 구성될 수 있다. 예를 들어, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 중의 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총량은 건조 중량을 기준으로 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%일 수 있다. 위에서 언급한 글리코실화 스테비올 배당체 및 스테비올 배당체 외에도, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 비교적 미량의 잔류 글루코스 공여체 및/또는 글루코스 공여체로부터 수득된 탄수화물 산물(예를 들어, 건조 중량을 기준으로, 총 5% 이하 또는 10% 이하의 잔류 글루코스 공여체 및/또는 글루코스 공여체로부터 수득된 탄수화물 산물)을 포함할 수 있다. 위에서 설명한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 특히 유리한 관능 특성을 지니는 것으로 밝혀졌다.
- [0101] 다른 추가의 실시형태에 따라서, 글리코실화 레바우디오사이드 B 및 글리코실화 스테비올바이오사이드를 함유하는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물이 제공된다. 이러한 성분들은 함께, 건조 중량을 기준으로, 예를 들어 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 2% 내지 25% 또는 5% 내지 15%를 차지할 수 있다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 나머지는 주로 또는 전적으로 글리코실화된 레바우디오사이드 B 및 글리코실화 스테비올바이오사이드 이외의 1종 이상의 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체(예를 들어, 레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 B, 레바우디오사이드 C, 레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 E, 레바우디오사이드 F, 레바우디오사이드 I, 레바우디오사이드 H, 레바우디오사이드 L, 레바우디오사이드 K, 레바우디오사이드 J, 레바우디오사이드 M (레바우디오사이드 X로도 지칭됨), 레바우디오사이드 N, 레바우디오사이드 O, 돌코사이드 A, 돌코사이드 B, 루부소사이드, 스테비올바이오사이드, 스테비오사이드, 및 글리코실화 레바우디오사이드 B와 글리코실화 스테비올바이오사이드 이외의 그들의 글리코실화된 유도체)로 구성될 수 있다. 예를 들어, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 중의 스테비올 배당체와 글리코실화 스테비올 배당체의 총량은 건조 중량을 기준으로 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%일 수 있다. 위에서 언급한 글리코실화 스테

비올 배당체 및 스테비올 배당체 외에도, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 비교적 미량의 잔류 글루코스 공여체 및/또는 글루코스 공여체로부터 수득된 탄수화물 산물(예를 들어, 건조 중량을 기준으로, 총 5% 이하 또는 10% 이하의 잔류 글루코스 공여체 및/또는 글루코스 공여체로부터 수득된 탄수화물 산물)을 포함할 수 있다. 위에서 설명한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 특히 유리한 관능 특성을 지니는 것으로 밝혀졌다.

[0102] 예시적인 프로세스 단계의 추가 설명

[0103] 본 발명의 양태는, 출발 스테비올 배당체 조성물을 식품, 음료 제품, 화장품 또는 의약품 등의 소모성 제품에서 (예를 들어, 감미료 또는 향미제로서) 사용하기에 적합한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물로 전환시키기 위해 실시될 수 있는 일련의 가공 단계를 도식적 형태로 도시하는 도 1을 참조로 하여 추가 설명될 수 있다. 도 1에서 개개의 단계의 번호는 단순히 참조 목적을 위한 것이며 이러한 단계들이 번호순으로 실시되거나 언급된 모든 단계들이 반드시 실시된다는 것을 암시하기 위한 것이 아니다. 그러나, 본 발명에 따라서, 단계 1 (실시형태 B), 단계 3(실시형태 A) 또는 단계 8(실시형태 C) 중 적어도 하나는 수행된다.

[0104] 단계 1에서, 출발 스테비올 배당체 조성물은 임의로 본 발명의 실시형태 B에 따라 염기 처리될 수 있다. 이어서, 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물은 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물 중에 존재하는 스테비올 배당체의 적어도 일부분을 글리코실화하기에 효과적인 조건 하에 CGT아제의 존재 하에 글루코스 공여체와 접촉될 수 있다(단계 3 및 4). 이러한 염기 처리는 적어도 스테비올 배당체의 특정 유형이 출발 스테비올 배당체 조성물 중에 존재하는 경우에 최종적으로 수득된 글리코실화 스테비올 조성물의 하나 이상의 관능 특성을 향상시키는 데 도움이 되는 것으로 밝혀졌다. 대안적으로(도 1에 도시되어 있지 않음), 글리코실화 반응은 실시형태 B에 염기로 처리되지 않은 출발 스테비올 배당체 조성물을 사용하여 실시될 수 있다. 본 발명의 실시형태 A에 대응하는 단계 3에서, 글리코실화는 7.5 초과의 pH(예를 들어, 적어도 8의 pH)를 갖는 수성 매체를 사용하여 수행된다. 이러한 더 높은 pH 조건 하의 글리코실화는 수율, 맛의 질 및/또는 글리코실화 정도의 향상을 초래하는 것으로 발견되었다. 대안적으로, 단계 4에 나타난 바와 같이, 종래의 pH 조건(예를 들어, pH = 5.5 내지 7.5)가 사용될 수 있다.

[0105] 단계 3 또는 4에서 사용되는 글루코스 공여체는 텍스트린 또는 전분 등의 비변형 또는 비처리된 올리고당 또는 다당류일 수 있다. 그러나, 단계 2에 나타난 바와 같이, 글루코스 공여체를 아밀라제 또는 아밀라제와 CGT아제의 혼합물과 접촉시킨 다음, (예를 들어, 낮은 pH 열 처리에 의해) 아밀라제를 비활성화시키는 액화 단계에 글루코스 공여체를 적용함으로써 이를 전처리하는 것이 유리할 수 있다.

[0106] 일단 단계 3 또는 4의 글리코실화 반응이 출발 스테비올 배당체 조성물의 바람직한 전환도(이는 일단 사양이 설정된 후에 HPLC 또는 LC-MS에 의해 모니터링될 수 있으며, 이러한 사양은 수득된 생성물의 관능 분석을 사용하여 결정된다)까지 진행되었다면, CGT아제를 열 처리 또는 기타 적합한 수단에 의해 비활성화시킬 수 있다(단계 5). 이어서, 이를 통해 수득된 반응 산물을 곧장 정제하여(단계 9) 본 명세서의 다른 부분에서 설명한 소모품에서 사용하기에 적합한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 제공할 수 있다. 대안적으로, 단계 8에 예시된 바와 같이, 반응 산물을 정제 단계 9 전에 본 발명의 실시형태 C에 따라 염기-처리할 수 있다. 다른 추가의 변형(단계 6)에서, 글리코실화 스테비올 배당체를 함유하는 반응 산물을 글리코실화 스테비올 배당체에 존재하는 적어도 특정 글루코스간 결합의 절단을 유발하기에 효과적인 조건 하에 아밀라제 또는 기타 글루코스간 결합 절단 효소와 접촉시키고, 이를 통해 반응 산물에 존재하는 개개의 글리코실화 스테비올 배당체의 유형 및/또는 상대량을 변경할 수 있다. 이후에, 아밀라제 또는 기타 효소를 반응 산물의 추가 정제(단계 9) 전에 비활성화시킬 수 있다(단계 7).

[0107] 본 명세서에 기재된 가공 단계들은 조합될 수 있고 다음의 예시적인 프로세스 흐름에 따라 수행될 수 있다:

[0108] I). 출발 스테비올 배당체 조성물의 염기 처리(III 또는 VII가 실시될 경우에는 선택적).

[0109] II). 텍스트린 또는 기타 글루코스 공여체의 아밀라제 및 CGT아제로의 처리(선택적).

[0110] III). pH >7.5 에서 출발 스테비올 배당체 조성물(이는 염기 처리될 수 있거나 염기-처리되지 않을 수 있다) 과 CGT아제 및 글루코스 공여체의 접촉(I 또는 VII가 실시될 경우에는 pH ≤7.5에서 수행될 수도 있다).

[0111] IV). CGT아제의 비활성화(예를 들어, 열 처리에 의해).

[0112] V). 글리코실화 스테비올 배당체 조성물과 아밀라제 또는 기타 글루코스간 결합 절단 효소의 접촉(선택적).

[0113] VI). 아밀라제 또는 기타 효소의 비활성화 (예를 들어, 가열에 의해).

- [0114] VII). 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 염기 처리(I 또는 III가 실시될 경우에는 선택적).
- [0115] VIII). 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 정제(활성탄, 이온 교환 수지 및/또는 소수성 수지 처리에 의해 및/또는 불순물을 제거하는 기타 방법에 의해).
- [0116] **글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 용도**
- [0117] 본 발명의 방법에 따라 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 예를 들어 식품, 음료 제품, 화장품(퍼스널 케어) 및 의약품을 포함하는 소비용으로 의도된 제품의 성분 또는 구성요소로서 사용될 수 있다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은, 예를 들어, 단독의 감미 또는 향미 개질 성분으로서든 혹은 다른 감미료 및/또는 향미 개질제와 함께이든, 감미료 및/또는 향미 개질제 또는 증강제로서 유용하다.
- [0118] 본 발명에 따라 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물과 함께 사용될 수 있는 적합한 감미료는 천연 감미료뿐만 아니라, 합성 감미료, 영양 및 비-영양 감미료뿐만 아니라 고강도 및 저강도 감미료를 포함한다. 감미료는 수크로스, 글리세랄데히드, 디하이드록시아세톤, 에리트로스, 트레오스, 에리트롤로스, 릭소스, 리보스, 자일로소, 리블로스, 자일룰로스, 알로스, 알트로스, 갈락토스, 글루코스, 굴로스, 이도스, 만노스, 탈로스, 프룩토스, 알룰로스(프시코스), 소르보스, 타가토스, 만노헵톨로스, 세도헵톨로스, 옥톨로스, 푸코스, 람노스, 아라비노스, 투라노스, 시알로스, 레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 B, 레바우디오사이드 C, 레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 E, 레바우디오사이드 F, 레바우디오사이드 I, 레바우디오사이드 H, 레바우디오사이드 L, 레바우디오사이드 K, 레바우디오사이드 J, 레바우디오사이드 M (레바우디오사이드 X로도 지칭됨), 레바우디오사이드 N, 레바우디오사이드 O, 돌코사이드 A, 돌코사이드 B, 루부소사이드, 스테비아 추출물, 스테비오사이드, 모그로사이드 IV, 모그로사이드 V, 나한과(Luo Han Guo) 추출물, 시아멘노사이드, 모난틴 및 그의 염(모난틴 SS, RR, RS, SR), 쿠르쿨린(curculin), 글리시리진산 및 그의 염, 타우마틴(thaumatin), 모델린, 마빈린, 브라제인, 헤르난둘신(hernandulcin), 필로둘신, 글리시필린(glycyphyllin), 플로리드진(phloridzin), 트릴로바틴, 바이유노사이드, 오슬라딘, 폴리포도사이드 A, 프테로카리오사이드 A, 프테로카리오사이드 B, 무쿠로지오사이드, 플로미소사이드 I, 페리안드린 I, 아브루소사이드 A, 스테비올바이오사이드 및 사이클로카리오사이드 I, 에리트리톨 등의 당 알코올, 수크랄로오스, 칼륨 아세설팜, 아세설팜산 및 그의 염, 아스파르탐, 알리탐, 사카린 및 그의 염, 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘, 사이클라메이트, 사이클람산 및 그의 염, 네오탐, 어드반탐(advantame), 본 명세서에 설명된 방법 이외의 방법에 의해 제조된 글루코실화된 스테비올 배당체(GSG) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으나 이들로 한정되지는 않는다.
- [0119] 본 발명의 한 실시형태에 따르면, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 맛 및 향미 특성을 향상시키기에 효과적인 양의 레바우디오사이드 B와 조합된다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 본 명세서에 설명된 절차들의 어느 하나에 따라 제조될 수 있지만, 출발 스테비올 배당체 조성물을 글리코실화 반응에 적용하는 당업계에 공지된 임의의 다른 방법을 사용하여 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물일 수도 있다. 특정 실시형태에서, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은, 건조 고체를 기준으로, 15% 내지 약 40 중량%(예를 들어, 건조 고체를 기준으로 약 20 중량% 내지 약 35 중량%)의 미반응된 스테비올 배당체를 포함할 수 있으며, 나머지는 전적으로 또는 주로(예를 들어, 건조 고체를 기준으로 적어도 80 중량%, 적어도 85 중량% 또는 적어도 90 중량%) 글리코실화 스테비올 배당체이다.
- [0120] 레바우디오사이드 B를 글리코실화 스테비올 배당체 조성물(예를 들어, 본 발명에 따라 수득된 스테비올 배당체 조성물)과 조합하는 것은 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 기호(hedonic) 특성을 현저하게 향상시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다. 바람직하게는, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 실시형태 A (출발 스테비올 배당체 조성물, 글루코스 공여체 및 사이클로덱스트린 글리코실트랜스퍼라제가 7.5 초과 내지 10 이하의 pH 를 갖는 수성 매체 중에서 접촉되는 본 발명의 양태)에 따라 제조된 것이다. 본 발명의 유리한 실시형태에서, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물과, 글리코실화 스테비올 배당체 조성물과 레바우디오사이드 B의 총 건조 중량을 기준으로 적어도 1%, 적어도 2% 또는 적어도 3 중량%의 레바우디오사이드 B를 포함하거나 이들로 본질적으로 이루어지거나 이들로 이루어진 감미료 조성물이 제공된다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 건조 중량을 기준으로 2% 미만, 1% 미만 또는 0.5% 미만 또는 심지어 0%의 레바우디오사이드 B를 함유할 수 있다. 감미료 조성물은 다양한 실시형태에서 글리코실화 스테비올 배당체 조성물과 레바우디오사이드 B의 총 건조 중량을 기준으로 10 중량% 이하, 9 중량% 이하, 8 중량% 이하, 7 중량% 이하, 6 중량% 이하 또는 5 중량% 이하의 레바우디오사이드 B를 함유할 수 있다. 예를 들어, 감미료 조성물은 글리코실화 스테비올 배당체 조성물과 레바우디오사이드 B의 총 중량을 기준으로 1 내지 10 중량%, 2 내지 8 중량%, 3 내지 6 중량% 또는 약 4 중량% 레바우디오사이드 B를 함유할 수 있다.

- [0121] 유리하게 향상된 감미료 조성물은 본 발명의 상이한 양태에 따라 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물들을 조합하여 제조될 수도 있다.
- [0122] 예를 들어, 출발 스테비올 배당체 조성물, 글루코스 공여체와 사이클로텍스트린 글리코실트랜스퍼라제를 7.5 초과 내지 10 이하의 pH를 갖는 수성 매체 중에서 접촉시키되 글리코실화 전 또는 후의 출발 스테비올 배당체 조성물의 염기 처리 없이 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물("GSG 조성물 A형")의 관능 성능은 이러한 조성물을 a) 출발 스테비올 배당체 조성물을 염기성 수성 매체 또는 염기성 수지와 접촉시켜 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물을 수득하는 단계 및 b) 상기 염기-처리된 스테비올 배당체 조성물, 글루코스 공여체 및 사이클로텍스트린 글리코실트랜스퍼라제를 수성 매체(임의의 적합한 pH, 예를 들어, 약 5 내지 약 10을 갖는 수성 매체; 글리코실화 스테비올 조성물의 보다 고수율은 약염기성 pH, 예를 들어 약 8 내지 약 9의 pH에서 수득될 수 있다) 중에서 접촉시키는 단계에 의해 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물("GSG 조성물 B형")과 조합하여 증진시킬 수 있다. 이러한 블렌드의 혜택은 소모성 제품 중의 비교적 고농도의 감미료 조성물(예를 들어, 적어도 1000 ppm의 총 글리코실화 스테비올 배당체에서)에서 특히 명백하다. 감미료 조성물 중의 GSG 조성물 B형의 양은 GSG 조성물 A형과 GSG 조성물 B형의 총 건조 중량을 기준으로 적어도 5 중량% 및 50 중량% 이하(또는 35 중량% 이하)일 수 있다. 이에 대응하여, 감미료 조성물 중의 GSG 조성물 A형의 양은 GSG 조성물 A형과 GSG 조성물 B형의 총 건조 중량을 기준으로 적어도 50 중량% 및 95 중량% 이하(또는 65 중량% 이하)일 수 있다.
- [0123] 다른 예에서, 출발 스테비올 배당체 조성물, 글루코스 공여체와 사이클로텍스트린 글리코실트랜스퍼라제를 7.5 초과 내지 10 이하의 pH를 갖는 수성 매체 중에서 접촉시키되 글리코실화 전 또는 후의 출발 스테비올 배당체 조성물의 염기 처리 없이 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물("GSG 조성물 A형")의 관능 성능은, 이러한 조성물을 글리코실화 스테비올 배당체 조성물과 염기성 수성 매체 또는 염기성 수지를 접촉시켜 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물("GSG 조성물 C형")과 조합하여 증진시킬 수 있다. 이러한 블렌드의 혜택은 소모성 제품 중의 비교적 고농도의 감미료 조성물(예를 들어, 적어도 1000 ppm의 총 글리코실화 스테비올 배당체에서)에서 특히 명백하다. 감미료 조성물 중의 GSG 조성물 C형의 양은, GSG 조성물 A형과 GSG 조성물 C형의 총 건조 중량을 기준으로, 적어도 5 중량% 및 50 중량% 이하일 수 있다. 이에 대응하여, 감미료 조성물 중의 GSG 조성물 A형의 양은 GSG 조성물 A형과 GSG 조성물 C형의 총 건조 중량을 기준으로 적어도 50 중량% 및 95 중량% 이하일 수 있다.
- [0124] 본 발명의 추가 실시형태에 따라서, 다음을 포함하거나, 다음으로 본질적으로 이루어지거나, 다음으로 이루어진 감미료 조성물이 제공된다:
- [0125] a) 건조 고체를 기준으로, 본 발명의 실시형태 C에 따라 제조된 염기-처리된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 약 10 내지 약 25(또는 약 15 내지 약 20) 중량% [여기서, 상기 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 (건조 중량을 기준으로) 25 내지 30% 스테비오사이드, 55 내지 65% 레바우디오사이드 A 및 기타 스테비올 배당체로 구성되고 총 스테비올 배당체 함량이 적어도 95%에 이르는 출발 스테비올 배당체 조성물 또는 (건조 중량을 기준으로) 55 내지 65% 레바우디오사이드 A, 20 내지 30% 스테비오사이드 및 총 3 내지 8%의 레바우디오사이드 C와 돌코사이드 A로 구성되고 적어도 90%의 총 스테비올 배당체 함량을 갖는 출발 스테비올 배당체 조성물의 글리코실화에 의해 수득되었다];
- [0126] b) 건조 고체를 기준으로, 본 발명의 실시형태 C에 따라 염기-처리되지 않은 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 약 65 내지 약 90(또는 약 70 내지 약 85) 중량% [여기서, 상기 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 (건조 중량을 기준으로) 25 내지 30% 스테비오사이드, 55 내지 65% 레바우디오사이드 A 및 기타 스테비올 배당체로 구성되고 총 스테비올 배당체 함량이 적어도 95%에 이르는 출발 스테비올 배당체 조성물 또는 (건조 중량을 기준으로) 55 내지 65% 레바우디오사이드 A, 20 내지 30% 스테비오사이드 및 총 3 내지 8%의 레바우디오사이드 C와 돌코사이드 A로 구성되고 적어도 90%의 총 스테비올 배당체 함량을 갖는 출발 스테비올 배당체 조성물의 글리코실화에 의해 수득되었다]; 및
- [0127] c) 건조 고체를 기준으로, 잔류 글루코스 공여체 및/또는 글루코스 공여체로부터 수득된 탄수화물 산물 총 0 내지 약 10 (또는 0 내지 약 5) 중량%.
- [0128] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, 다음을 포함하거나, 다음으로 본질적으로 이루어지거나, 다음으로 이루어진 감미료 조성물이 제공된다:
- [0129] a) 건조 고체를 기준으로, 본 발명의 실시형태 A에 따라 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 약 10 내지 약 25 (또는 약 15 내지 약 20) 중량% [여기서, 상기 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 (건조 중량을 기준

으로) 25 내지 30% 스테비오사이드, 55 내지 65% 레바우디오사이드 A 및 기타 스테비올 배당체로 구성되고 총 스테비올 배당체 함량이 적어도 95%에 이르는 출발 스테비올 배당체 조성물 또는 (건조 중량을 기준으로) 55 내지 65% 레바우디오사이드 A, 20 내지 30% 스테비오사이드 및 총 3 내지 8%의 레바우디오사이드 C와 돌코사이드 A로 구성되고 적어도 90%의 총 스테비올 배당체 함량을 갖는 출발 스테비올 배당체 조성물을 열기-처리하여 열기-처리된 출발 스테비올 배당체 조성물을 수득하고 이어서 이를 글리코실화함으로써 수득되었다;

[0130] b) 건조 고체를 기준으로, (건조 중량을 기준으로) 25 내지 30% 스테비오사이드, 55 내지 65% 레바우디오사이드 A 및 기타 스테비올 배당체로 구성되고 총 스테비올 배당체 함량이 적어도 95%에 이르는 출발 스테비올 배당체 조성물 또는 (건조 중량을 기준으로) 55 내지 65% 레바우디오사이드 A, 20 내지 30% 스테비오사이드 및 총 3 내지 8%의 레바우디오사이드 C와 돌코사이드 A로 구성되고 적어도 90%의 총 스테비올 배당체 함량을 갖는 출발 스테비올 배당체 조성물의 글리코실화에 의해 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 약 65 내지 약 90 (또는 약 70 내지 약 85) 중량%[여기서, 상기 출발 스테비올 배당체 조성물은 글리코실화 전에 열기-처리되지 않았다]; 및

[0131] c) 건조 고체를 기준으로, 잔류 글루코스 공여체 및/또는 글루코스 공여체로부터 수득된 탄수화물 산물 총 0 내지 약 10 (또는 0 내지 약 5) 중량%.

[0132] 본 발명의 하나의 양태는 일반적으로 적어도 하나의 추가적인 식품 성분과 조합된, 본 발명에 따라 제조된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 또는 이러한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 조합물을 포함하는 식품을 제공한다. 경우에 따라, 특히 레바우디오사이드 B를 포함하는 1종 이상의 개개의 스테비올 배당체를 이러한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물(들)과 조합하여 사용할 수 있다. 예를 들어, 식품은 이러한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 외에도, 레바우디오사이드 B와 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 총 건조 중량을 기준으로 1 내지 10 중량%, 2 내지 8 중량%, 3 내지 6 중량% 또는 약 4 중량%의 레바우디오사이드 B를 포함할 수 있다. 식품 중의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 양은 예를 들어 단맛의 증가 및/또는 향미의 향상 등의 특히 바람직한 결과를 달성하기 위해 필요에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 식품은 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 감미량 이하의 양(subsweetening amount) 또는 감미량으로 포함할 수 있다. 식품 중의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 농도는 건조 중량을 기준으로 5 내지 2000 ppm일 수 있다. 다른 실시형태에서, 식품은 식품에 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9 또는 적어도 10 또는 적어도 11, 그러나 일반적으로 20 또는 15 이하의 SEV를 부여하기에 효과적인 양의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 함유하며, 여기서 상기 식품은 SEV에 또한 기여하는 1종 이상의 기타 감미료를 추가로 함유할 수 있다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 1종 이상의 기타 감미료를 또한 함유하는 식품에 식품의 SEV를 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10 또는 적어도 11로 증가시키기에 효과적인 양으로 첨가되고 이를 통해 소정의 바람직한 단맛을 갖는 식품을 제공할 수 있다. 따라서, 식품은 본 발명의 다양한 실시형태에서 1 내지 20, 5 내지 15 또는 7 내지 13의 SEV를 가질 수 있다.

[0133] 식품의 비제한적 예에는 과자 제품(젤리캔디, 하드 캔디 및 껌을 포함하지만 이들로 한정되지 않음), 요거트(전지, 저지방 및 무지방 유제품 요거트뿐만 아니라, 비유제품 요거트 및 무젓당 요거트, 및 이들 모두의 냉동 등가물을 포함하지만 이들로 한정되지 않음) 등의 디저트 제품, 냉동 디저트(아이스크림 - 일반 아이스크림, 소프트서브아이스크림 및 기타 종류의 모든 아이스크림을 포함-등의 냉동 유제품 디저트, 및 비유제품 아이스크림, 셔벗 등의 냉동 비유제품 디저트를 포함하지만 이들로 한정되지 않음), 스위트 베이커리 제품(비스킷, 케이크, 롤, 파이, 페스츄리 및 쿠키를 포함하지만 이들로 한정되지 않음), 스위트 베이커리 제품 제조용 기성품 스위트 베이커리 믹스, 파이 속(파이 및 파이속, 및 피칸파이속 등의 견과류 파이속을 포함하지만 이들로 한정되지 않음), 가당 아침식사용 시리얼 등의 시리얼 제품(압착형 아침식사용 시리얼, 플레이크형 아침식사용 시리얼 및 퍼프형 아침식사용 시리얼을 포함하지만 이들로 한정되지 않음), 시리얼 코팅 조성물, 빵 제품을 포함하는 제과제품(발효빵 및 비발효빵, 효모빵 및 소다빵(soda bread) 등의 무효모빵, 임의의 밀가루 유형을 포함하는 빵, 임의의 비-밀가루 유형을 포함하는 빵(감자, 쌀 및 호밀 가루 등), 글루텐프리 빵을 포함하지만 이들로 한정되지 않음), 제빵용 기성품 빵 믹스, 냉동 유제품, 육류, 유제품, 조미료(condiment), 스낵마(시리얼, 견과류, 씨 및/또는 과일바를 포함하지만 이들로 한정되지 않음), 수프, 드레싱, 믹스, 조리식품, 이유식, 다이어트 식품, 시럽, 식품 코팅, 건과, 소스, 그레이비, 스프레드(잼/젤리, 버터 및 기타 스프레드형 저장 식품, 킨저브 등을 포함하지만 이들로 한정되지 않음)가 포함된다. 본 명세서에서는 언급되지 않았지만 통상적으로 1종 이상의 영양 감미료를 포함하는 기타 종류의 식품, 특히 환원당 또는 저당 제품도 본 발명의 범위에서 고려될 수 있다. 식품은 애완동물 먹이 등의 동물 사료 제품일 수도 있다. 본 발명의 식품은 식품의 표면에 형성되는 코팅 또는 당의로서 감미료 조성물을 포함할 수 있다. 이러한 코팅은 식품의 향미를 향상시킬 뿐만 아니라 식품의 저장수명도 향상시킨다.

- [0134] 본 발명의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 또한 의료 식품(단독의 정상적인 식이요법만으로는 충족되지 않을 수 있는 특유의 영양 요구가 있는 질환의 식이 관리용으로 특수하게 조제되고 의도된 식품)에서 유용하다.
- [0135] 본 발명의 다른 양태는 임의로 레바우디오사이드 B 등의 1종 이상의 개개의 스테비올 배당체로 개질된, 본 발명에 따르는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 또는 본 발명에 따르는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물들의 조합물을 포함하는 음료 제품을 제공한다. 예를 들어, 음료 제품은 이러한 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 외에도, 레바우디오사이드 B와 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 총 건조 중량을 기준으로, 1 내지 10 중량%, 2 내지 8 중량%, 3 내지 6 중량% 또는 약 4 중량% 레바우디오사이드 B를 포함할 수 있다. 음료 제품 중의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 양은 예를 들어 단맛의 증가 및/또는 향미의 향상 등의 특히 바람직한 결과를 달성하기 위해 필요에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 음료 제품은 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 감미량 이하의 양 또는 감미량으로 포함할 수 있다. 음료 제품 중의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 농도는 (건조 고체를 기준으로) 5 내지 2000 ppm일 수 있다. 한 실시형태에서, 음료 제품은 800 내지 1800 ppm(건조) 글리코실화 스테비올 배당체 조성물로 구성된다. 다른 실시형태에서, 음료 제품은 음료 제품에 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9 또는 적어도 10 또는 적어도 11, 그러나 전형적으로 20 또는 15 이하의 SEV를 부여하기에 효과적인 양의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 함유하며, 여기서 상기 음료 제품은 SEV에 또한 기여하는 1종 이상의 기타 감미료를 추가로 함유할 수 있다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 1종 이상의 기타 감미료를 또한 함유하는 음료 제품에 음료 제품의 SEV를 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10 또는 적어도 11로 증가시키기에 효과적인 양으로 첨가되고 이를 통해 소정의 바람직한 단맛을 갖는 음료 제품을 제공할 수 있다. 예를 들어, 비-다이어트 청량 음료는 전형적으로 물 100 mL당 수크로스 12그램, 즉 12% 수크로스를 함유한다. 따라서, 동등한 단맛의 다이어트 청량 음료는 (존재할 수 있는 1종 이상의 기타 감미료와 함께) 12의 SEV를 달성하기에 충분한 양의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 사용하여 조제할 수 있다. 따라서, 음료 제품은 본 발명의 다양한 실시형태에서 1 내지 20, 5 내지 15 또는 7 내지 13의 SEV를 가질 수 있다.
- [0136] 음료 제품의 비제한적 예에는 탄산 음료(탄산 청량음료를 포함하나 이에 한정되지 않음), 비탄산 음료(향미 첨가 생수(flavored water) 및 감차(sweet tea) 또는 커피 음료 등의 비-탄산 청량음료를 포함하나 이에 한정되지 않음), 과일 맛 음료, 과일주스, 차, 우유, 커피, 특히 당 감소된 또는 저당 음료 제품이 포함된다. 냉동 음료 제품(때때로 슬러시로서 알려짐)도 명백히 고려된다. 본 명세서에서는 언급되지 않았지만 통상적으로 1종 이상의 영양 감미료를 함유하는 기타 종류의 음료 제품, 특히 당 감소된 또는 저당 제품도 본 발명의 범위에서 고려될 수 있다.
- [0137] 본 발명의 또 다른 양태는 본 발명에 따르는 적어도 하나의 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 포함하는 식탁용 감미료를 제공한다. 본 발명의 식탁용 감미료는 벌킹제(bulking agent)(말토덱스트린, 폴리덱스트로스, 잔탄검 또는 구아 검 등의 검, 가용성 옥수수 섬유소(SCF), 전분 및 폴리올 등), 천연 및/또는 인공 향미, 향미 증진제, 천연 및/또는 인공 색소, 섬유소, 산미료, 비타민, 향산화제, 보존제, 전분 가수분해물 등으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 추가 성분을 임의로 포함할 수 있다. 한 실시형태에서, 식탁용 감미제는 본 발명에 따르는 적어도 하나의 글리코실화 스테비올 조성물과 레바우디오사이드 B 등의 적어도 하나의 개개의 스테비올 배당체 둘 다를 포함한다.
- [0138] 한 실시형태에 따르면, 식탁용 감미료는 건조형 식탁용 감미료이다. 예를 들어, 상기 감미료는 정제, 과립 또는 분말의 형태를 취할 수 있다. 액체형 식탁용 감미료도 고려될 수 있으며 전형적으로 구성성분의 수용액 형태를 취한다.
- [0139] 한 실시형태에 따르면, 식탁용 감미료는 1종 이상의 영양 감미료를 추가로 포함할 수 있다. 영양 감미료는 수크로스, 글루코스, 글루코스 시럽, 이소글루코스, 프룩토스, 글루코스 - 프룩토스 시럽, 말토스, 락토스, 옥수수 시럽, 고프룩토스 옥수수 시럽, 전화당, 당밀, 벌꿀 및 용설란으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 한 실시형태에서, 영양 감미료는 수크로스이다. 식탁용 제품이 영양 감미료를 포함할 경우, 상기 영양 감미료는 식탁용 감미료의 총 중량을 기준으로 최대 약 30 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 예를 들어, 영양 감미료는 식탁용 감미료의 총 중량을 기준으로 약 26 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 한 실시형태에 따라서, 식탁용 감미료는 고강도 감미료 및 당 알코올로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 보조감미료를 추가로 포함할 수 있다. 다양한 합성 고강도 감미료가 1종 이상의 보조감미료로서 사용될 수도 있다. 구체적 예에는 수크랄로스, 아스파르탐 및 아세실람 칼륨(Ace K)이 포함된다. 다양한 당 알코올이 본 발명의 1종 이상의 보조감미료로서 사용될 수도 있다. 구체적 예에는 말티톨, 자일리톨 및 에리트리톨이 포함된다.
- [0140] 본 발명에 따르는 식탁용 감미료는 전형적으로 음료, 특히 차 및 커피 등의 따뜻한 음료를 감미하기 위해 사용

될 수 있다.

- [0141] 본 발명의 다른 양태는 본 발명에 따르는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 포함하는 벌킹제를 제공한다.
- [0142] 본 발명의 추가 양태는 본 발명에 따르는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 포함하는 코팅제를 제공한다.
- [0143] 본 발명의 별개의 양태는 본 발명에 따르는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 및 활성 성분 또는 부형제 등의 적어도 하나의 다른 의약 성분을 포함하는 의약품을 제공한다. 예시적인 의약품에는 감기 시럽, 저작성 정제, 로젠지제, 비타민제 등이 포함된다.
- [0144] 본 발명의 다른 양태는 본 발명에 따르는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 포함하는 영양 제품 또는 스포츠 영양식(sports product)을 제공한다.
- [0145] 본 발명의 다른 양태는 본 발명에 따르는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물 및 적어도 하나의 화장품 성분을 포함하는 화장품(퍼스널 케어)을 제공한다. 예시적인 화장품에는 치약, 구강 청결제 등이 포함된다.
- [0146] 식품, 음료 제품, 의약품, 영양 제품, 스포츠 영양식 또는 화장품에 존재하는 본 발명에 따라 수득된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 양이 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 단맛, 맛, 향미 및 기타 관능 속성 및 제품에 존재하는 기타 감미료(들) 및/또는 향미 개질제(들)의 종류(들)와 양(들) 및 제품의 바람직한 단맛 또는 기타 향미 특성뿐만 아니라, 제품의 바람직한 칼로리 함량 등의 기타 요인들에 의존할 것이라는 것이 이해될 것이다. 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 그의 단맛 검출 한계(글리코실화 스테비올 배당체가 임의의 다른 감미료의 부재 하에 제품에 인지 가능한 단맛을 부여하는 최소한의 농도) 미만의 제품중 농도에서 향미 증진제로서 사용될 수 있거나 그의 단맛 검출 한계 이상의 제품중 농도에서 감미료로서 사용될 수 있다.
- [0147] 본 발명의 대안적 양태는 벌킹제로서 또는 코팅제로서, 식품, 음료 제품, 의약품, 영양 제품, 스포츠 영양식 또는 화장품에서의 본 발명의 감미료 조성물의 용도를 제공한다.
- [0148] 본 발명에 따라 제조되는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물은 임의의 섭취가능한 형태, 예를 들어, 시럽, 분말 형태, 정제 형태, 과립, 용액으로서 또는 음료 제품 및 식품을 포함하는 임의의 다른 적합한 형태로 조제될 수 있다.
- [0149] **실시예**
- [0150] 실시예 1
- [0151] 본 실시예에서는, 스테비올 배당체들의 고순도 조합물(주요 성분으로서 레마우디오사이드 A를 포함)을 출발 재료로서 사용하여 먼저 글리코실화하였다. 이어서, 생성된 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 염기로 처리하였다.
- [0152] 재료
- [0153] 1) 말토덱스트린 (텍스트로스 당량= 1).
- [0154] 2) 사이클로덱스트린 글루코트랜스퍼라제 (CGT아제).
- [0155] 3) 말토제닉 아밀라제.
- [0156] 4) GLG Life Tech Corporation에서 공급된 SG95 스테비올 배당체 혼합물(스테비아 잎에서 발견되는 9종의 감미 스테비올 배당체들의 고순도 조합물로서, Reb A가 혼합물의 약 60 중량%를 차지하고 스테비오사이드가 혼합물의 약 30 중량%를 차지한다)
- [0157] 5) 과립상 활성탄, 재생.
- [0158] 6) 중량 기준으로 60:40 강염기 음이온성 수지 대 강산 양이온성 수지 비율로 혼합된 강염기 음이온성 수지와 강산 양이온성 수지.
- [0159] 7) 매크로포러스 흡착 수지 (거대망상 구조와 높은 표면적을 갖는 비드 형태의 비이온성 지방족 아크릴계 중합체).
- [0160] 반응
- [0161] 절차는 500 mL 발효조에서 실시하였다. 각 반응의 3개 샘플(표 1을 참조)을 다음 절차를 사용하여 동시에 제조하였다:

- [0162] 1) 20 g의 SG95 스테비올 배당체를 1000mL 비이커 내의 340 mL의 온수에 현탁시킨다.
- [0163] 2) 40 g의 말토덱스트린(DE = 1)을 상기 현탁액에 첨가하고 블렌딩하여 재료를 침수시킨다.
- [0164] 3) 수산화나트륨을 사용하여 pH를 8.2로 조정한다.
- [0165] 4) 2 mL의 CGT아제 효소를 상기 용액에 첨가한다.
- [0166] 5) 200 rpm에서 교반하면서 50℃에서 24시간 동안 항온배양한다
- [0167] 6) 플라스크로 옮기고 반응 혼합물을 끓는 물(약 95℃에서) 중에서 30분 동안 가열하여 CGT아제 효소를 변성시킨 다음, 실온까지 냉각되도록 두었다.
- [0168] 7) 혼합물을 다시 발효조 비이커로 되돌려 놓고 플라스크를 DI수(DI water)로 세정하여 재료가 플라스크에서 비이커로 완전히 옮겨지는 것을 확실하게 하고 혼합물의 총 용적이 약 500 ml가 되게 한다.
- [0169] 8) 상기 용액에 5 mL (1%)의 말토제닉 아밀라제를 첨가한다.
- [0170] 9) 150 rpm에서 교반하면서 30℃에서 24시간 동안 항온배양한다.
- [0171] 10) 반응 혼합물을 끓는 물(약 95℃에서) 중에서 30분 동안 가열하여 말토제닉 아밀라제를 변성시킨 다음, 실온까지 냉각되도록 두었다.
- [0172] 11) 부흐너 깔때기에서 용액을 여과하여 미반응된 고체/덱스트린을 제거한다.
- [0173] 12) 활성탄을 DI수로 세정하여 미립자를 제거한다. 팩1 #15 x 300 mm 재킷형 컬럼에 과립상 활성탄을 충전한다. 탄소 컬럼을 50℃로 예열하고 계속해서 1.5L의 DI수로 세정하여 미립자를 제거한다.
- [0174] 13) 29.95 g의 강염기 음이온성 수지와 20.00 g의 강산 양이온성 수지를 DI수로 세정하여 혼합층 수지를 제조한다. 팩1 #15 x 300 mm 재킷형 컬럼에 혼합층 수지를 충전한다. 컬럼을 25℃로 예열하고 계속해서 1.5L의 DI수로 세정한다.
- [0175] 14) 반응 용액을 1.5 mL/분의 유속에서 탄소 컬럼 및 혼합층 수지 컬럼을 통해 순서대로 여과한다. 컬럼을 물로 세정한다.
- [0176] 15) 매크로포러스 흡착 컬럼을 1500 g의 탈기된 DI수로 세정한다.
- [0177] 16) 반응 용액을 매크로포러스 흡착 컬럼을 통해 여과한다.
- [0178] 17) 매크로포러스 흡착 컬럼을 1500 g의 탈기된 DI수로 세정한다.
- [0179] 18) 매크로포러스 흡착 컬럼을 1500 g의 50% 에탄올 용액(758.68 g 탈기된 DI수와 750.63 g의 190 프루프 에탄올)으로 세정한다.
- [0180] 19) 에탄올 세정된 용액을 수집하고 상기 용액으로부터 에탄올을 증발시킨다.
- [0181] 20) 용액 (740.11 g)을 2L 유리 비이커로 옮긴다. pH(4.24)를 측정하고 수산화나트륨을 사용하여 10.03의 최종 pH로 조정한다. 용액을 50℃로 가열하고 350 rpm에서 24시간 동안 교반한다.
- [0182] 21) 용액을 냉각시키고 7% w/w 염산을 사용하여 pH를 8.20 내지 5.00로 조정한다.
- [0183] 22) 용액을 동결건조기에 위치시킨다.
- [0184] 23) 건조된 물질(총 24.17 g)을 수집하고 분석 검사를 위해 제출한다.

표 1

사용된 실제 중량.

샘플	SG95	물	말토덱스트린	초기 pH	최종 pH
샘플 1	20.04	340.03	40.24	5.49	8.17
샘플 2	20.13	340.02	40.33	5.54	8.19
샘플 3	19.99	340.00	40.08	5.51	8.17

[0185]

[0186]

결과

[0187]

이러한 샘플에 대해 사용된 주요 분석 기술은 LC-MS였다. 질량 분석기(MS)는 크로마토그래피(LC)로부터의 피크의 분자량(전하로 나눈 것이며, 이는 일반적으로 1이었다)을 보고한다. 스테비올 배당체는 하기 표에 나타난 분자량을 가질 것으로 예상된다. 스테비올 코어에 첨가되는 가장 일반적인 당 잔기는 글루코스, 람노스, 자일로스, 6-데옥시글루코스 및 프럭토스이다. 질량 관점에서 글루코스 = 프럭토스이고 람노스 = 6-데옥시글루코스이다. 질량분석법의 다른 현상은 이온화 동안에 부가물이 형성될 수 있다는 것이다. 이러한 반응 산물들은 예상 질량 대 전하 비율에 비례하여 질량을 첨가한다. 본 실험의 경우, 도 2에 나타난 m/z 687은 루부소사이드와 포름산 부가물에 대응한다. 이러한 m/z 피크는 루부소사이드를 함유하는 스테비올 배당체 표준에서도 보인다. 도 2는 대다수의 반응 산물이 모노글리코실화, 디글리코실화 및 트리글리코실화 스테비올 배당체에 대응하고 965 및 803에서 가장 높은 피크들은 각각 레바우디오사이드 A 및 스테비오사이드라는 것을 도시한다.

표 2

질량 분광법 데이터를 위한 기준.

화합물	<i>m/z</i>	이 질량의 전형적인 스테비올 배당체	람노스가 첨가된 <i>m/z</i>	자일로스가 첨가된 <i>m/z</i>
스테비올	317	스테비올	449	463
1 glc	479	스테비올모노사이드	611	625
2 glc	641	스테비올바이오사이드, 루부소사이드	773	787
3 glc	803	스테비오사이드, 레바우디오사이드 B, 레바우디오사이드 G	935	949
4 glc	965	레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 E	1097	1111
5 glc	1127	레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 I, 레바우디오사이드 L	1259	1273
6 glc	1289	레바우디오사이드 M	1421	1435
7 glc	1451		1583	1597
8 glc	1613		1745	1759
9 glc	1775		1907	1921
10 glc	1937		2069	2083
11 glc	2099		2231	2245
12 glc	2261		2393	2407

[0188]

[0189]

위의 표 2에서 보이는 바와 같이, 스테비오사이드는 803의 *m/z*를 갖고 레바우디오사이드 A는 965의 *m/z*를 갖는다. 도 2 및 도 3에서, 이들은 9 내지 12분의 체류 시간에서 용출되는 큰 피크에 대응한다.

표 3

본 발명의 조건 및 종래의 조건 하의 반응 진행.

	총 배당체(피크 면적으로서)	Reb B (피크 면적으로서)	추정된 % 반응 (1-reb B/총 배당체)
본 발명의 조건 (더 높은 pH)	172469.5	78262.5	54.6%
종래의 조건 (더 낮은 pH)	639982	455022	28.9%

[0190]

- [0191] 논의
- [0192] 레바우디오사이드 B와 스테비올바이오사이드가 출발 재료의 염기 처리의 주요 산물이기 때문에, 본 절차에서 예상되는 주요 산물은 글리코실화 레바우디오사이드 B와 글리코실화 스테비올바이오사이드였다. 이러한 산물들은 10분 후에 LC-MS에서 나타나는 것으로 예상될 수 있었다. 일반적으로, 더 고도의 글리코실화는 낮은 체류 시간과 상관관계가 있으며, 따라서 7분 전에 큰 피크를 갖는 산물은 더 큰 글리코실화도를 갖는 스테비올 배당체를 상당량 함유하는 것으로 예상될 수 있었다. 이러한 산물들의 일부가 생성되어 있지만, 이들은 더 많은 전형적으로 제조된 샘플에서보다 우세하지 않은 것으로 보인다(도 4). 도 3을 도 4와 비교할 때 이들 도면 간의 가장 두드러진 차이는 대략 7.5분에서 1127 m/z 피크 및 1451 m/z 피크의 억제이다. 이러한 피크들은 디-글리코실화 및 트리-글리코실화 레바우디오사이드 A 및 트리-글리코실화 스테비올바이오사이드에 대응할 가능성이 있다. 두 절차 모두, 상업적 글리코실화 스테비올 배당체 산물에 비해서 고도의 글리코실화를 갖는 성분을 더 낮은 존재량으로 생산하는 것으로 보인다(도 5).
- [0193] 실시예 2
- [0194] 본 실시예는 글리코실화 스테비올 배당체 조성물을 제조하기 위한 스테비올 배당체 조성물의 초기 염기 처리 후 글리코실전이를 입증한다.
- [0195] 염기 처리
- [0196] 1) 39.99 g의 스테비올 배당체 혼합물(SG95, GLG Life Tech Corporation)을 360.00 g의 1.25 N 수산화나트륨 용액에 용해시켰다. 생성된 혼합물의 pH는 13.6이었다.
- [0197] 2) 상기 혼합물을 50°C로 가열하고 360 rpm에서 24시간 동안 교반하였다.
- [0198] 3) 이어서, 혼합물을 빙욕에서 냉각시켰다.
- [0199] 4) 일단 냉각시킨 후, 이어서 7% w/w 염산을 사용하여 혼합물을 pH 5 (초기 pH 13.60, 최종 pH 4.99)가 되도록 하였다.
- [0200] 5) 생성된 물질을 3회 원심분리하고(50 mL 튜브 내에서 25°C에서 4500 rpm에서 30분 동안) 건조시켰다. 침전물을 스테비올 배당체 함량에 대해 분석하고 글리코실전이 단계에서 사용하였다.
- [0201] 글리코실전이
- [0202] 1) 20 g의 염기-처리된 SG95 스테비올 배당체 혼합물을 1000 mL 비이커 내의 340 mL의 온수에 현탁시켰다.
- [0203] 2) 40 g의 말토덱스트린(DE = 1)을 상기 현탁액에 첨가하고 블렌딩하여 재료를 침수시켰다.
- [0204] 3) pH를 8.2로 조정하고 혼합물을 50°C에서 유지시켰다.
- [0205] 4) 2 mL의 CGT아제 효소를 상기 용액에 첨가하였다.
- [0206] 5) 혼합물을 200 rpm에서 교반하면서 50°C에서 24시간 동안 항온배양하였다.
- [0207] 6) 이어서, 반응 혼합물을 플라스크로 옮기고 거의 끓는 물(약 95°C에서) 중에서 30분 동안 가열하였다; 이어서, 샘플을 실온까지 냉각되도록 두었다.
- [0208] 7) 혼합물을 다시 발효조로 되돌려 놓고, 플라스크를 DI수로 세정하여 재료가 플라스크에서 비이커로 완전히 옮겨지는 것을 확실하게 하였다. 혼합물의 총 용적은 약 500 mL였다.
- [0209] 8) 상기 용액에 5 mL (1%)의 말토제닉 아밀라제를 첨가하였다.
- [0210] 9) 혼합물을 150 rpm에서 교반하면서 30°C에서 24시간 동안 항온배양하였다.
- [0211] 10) 이어서, 반응 혼합물을 플라스크로 옮기고 거의 끓는 물(약 95°C에서) 중에서 30분 동안 가열한 다음, 샘플을 실온까지 냉각되도록 두었다.
- [0212] 11) 이어서, 혼합물을 여과지를 통해 여과하여 불량하게 분산된 덩어리를 제거하였다.
- [0213] 12) 이어서, 과립상 활성탄을 DI수로 세정하고 15 x 300 mm 재킷형 컬럼 내에 충전하였다. 이어서, 탄소 컬럼을 50°C로 예열하고 1.5L의 DI수로 세정하여 미립자를 제거하였다.
- [0214] 13) 이어서, 단계 11의 여액을 1.5 mL/분의 유속에서 탄소 컬럼을 통과시켰다. 이후 상기 컬럼을 물로 세정

하였다.

- [0215] 14) 24.13 g의 강염기 음이온성 수지를 16.10 g의 강산 양이온성 수지와 함께, DI수로 세정하고 15 x 300 mm 재킷형 컬럼 내에 충전하였다. 이어서, 혼합층 컬럼을 25°C로 가열하고 1.5L의 DI수로 세정하였다.
- [0216] 15) 이어서, 단계 13의 여액을 1.5 mL/분의 유속에서 혼합층 컬럼을 통과시켰다. 이후에 컬럼을 물로 세정하였다.
- [0217] 16) 매크로포르스 흡착 컬럼을 1500 g의 탈기된 DI수로 세정하였다.
- [0218] 17) 이어서, 단계 15의 여액을 매크로포르스 흡착 컬럼을 통과시킨 다음, 1500 g의 탈기된 DI수로 세정하였다.
- [0219] 18) 이어서, 매크로포르스 흡착 컬럼을 1500 g의 50% 에탄올 용액(760.69 g의 탈기된 DI수와 729.07 g의 190 프루프 에탄올)로 세정하였다.
- [0220] 19) 에탄올 분획을 수집하고 회전 증발(rotovap) 및 동결 건조기를 통해 건조시켰다.
- [0221] 20) 이어서, 건조된 물질(20.07 g)을 중금속, 잔류 용매 및 배당체 분석을 위한 분석적 검사를 위해 제출하였다.
- [0222] 결과
- [0223] 효소 처리 전의 염기-처리된 SG95 스테비올 배당체 혼합물의 LC-MS 분석은 레바우디오사이드 B 및 스테비올바이오사이드에 대응하는 피크를 나타낸다 (도 6).
- [0224] 효소-처리된 물질의 LC-MS 크로마토그램은 도 7에 나타낸다. 모든 할당된 질량은 스테비올 코어에 대한 당(글루코스) 첨가에 대응한다.
- [0225] 스테비올 배당체는 하기 표 4에 나타낸 분자량을 갖는 것으로 예상된다("X glc"라는 표시는 스테비올 코어에 첨가된 글루코스 단위의 수를 의미한다):

표 4

질량 분광법 데이터를 위한 기준.

화합물	m/z	이 질량의 전형적인 스테비올 배당체
스테비올	317	스테비올
1 glc	479	스테비올모노사이드
2 glc	641	스테비올바이오사이드, 루부소사이드
3 glc	803	스테비오사이드, 레바우디오사이드 B, 레바우디오사이드 G
4 glc	965	레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 E
5 glc	1127	레바우디오사이드 D, 레바우디오사이드 I, 레바우디오사이드 L
6 glc	1289	레바우디오사이드 M
7 glc	1451	
8 glc	1613	
9 glc	1775	
10 glc	1937	
11 glc	2099	
12 glc	2261	

[0226]

[0227]

17분 후에 용출되는 큰 641 피크 및 803 피크는 레바우디오사이드 B 및 스테비올바이오사이드이다. 787 및 773의 m/z를 갖는, 상기 피크들 후의 피크는 돌코사이드 B 및 탈글리코실화 레바우디오사이드 F에 대응한다; 이들은 레바우디오사이드 C 및 레바우디오사이드 F 염기 처리의 예상 산물일 것이다. 이러한 산물에 대한 램노스 및 자일로스 잔기는 그들의 글리코실화를 억제할 가능성이 있다.

[0228]

SG95 스테비올 배당체 혼합물의 염기 처리는 예상대로 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B를 생성하는 것으로 보인다. 상승된(염기성) pH와 2:1 글루코스 공여체 대 스테비올 배당체 비율(w/w)을 사용하는 글리코실화 조건 하에, 대다수의 레바우디오사이드 B (및 가능하게는 스테비올바이오사이드도 역시)는 미반응된 상태로 남아있는 것으로 예측되었다. 도 7의 6분 내지 11분의 작은 피크들은 글리코실화를 약산성 pH 및 1:1 (w/w) 글루코스 공여체: 스테비올 배당체 비율에서 수행한 레바우디오사이드 B로 수득된 이전의 결과들과 비교하면 다소 예상 밖이었다(도 8). 예를 들어, 도 7의 크로마토그램은 803의 m/z를 갖는 4개의 피크를 나타낸다; 이들은 스테비오사이드, 모노-글리코실화 스테비올바이오사이드 및 레바우디오사이드 B일 때에만 가능하다. 이것은 스테비올바이오사이드가 다수의 위치에서 글리코실화될 수 있거나 프래그멘테이션 피크가 크로마토그램에서 기록되고 있음을 암시한다. 그러나, 도 8에 비해 도 7의 상대적 복잡성은 스테비올바이오사이드 글리코실화가 레바우디오사이드 B에 비해서 복잡하다는 것을 강력하게 암시한다.

[0229]

스테비올바이오사이드와 레바우디오사이드 B 사이의 구조적 차이는, 레바우디오사이드 B는 1-2, 1-3 결합된 글루코스 모이어티를 갖는 반면에, 스테비올바이오사이드는 1-2 결합된 모이어티만을 갖는다는 것이다. 입체 장애의 감소로 인해 스테비올바이오사이드의 두 글루코스 잔기 모두가 글리코실화될 수 있는 것이 가능한 반면에,

레바우디오사이드 B에 대해서는 이러한 가능성이 강력하게 저해된다.

- [0230] 실시예 3
- [0231] 다양한 스테비올 배당체 조성물 및 글리코실화 스테비올 배당체 조성물의 맛 성능을 평가하였다. 평가된 조성물들은 다음과 같이 설명된다:
- [0232] Reb A = 레바우디오사이드 A, 97% 순도.
- [0233] Reb A G = 글리코실화 레바우디오사이드 A (pH 5.5 내지 6.0에서 글리코실화, 텍스트린: 스테비올 배당체 중량비 = 1:1).
- [0234] Reb B G = 글리코실화 레바우디오사이드 B (pH 5.5 내지 6.0에서 글리코실화, 텍스트린: 스테비올 배당체 중량비 = 1:1).
- [0235] SG95 B-G = 글리코실화 SG95 스테비올 배당체 혼합물(공급원: GLG Life Tech Corporation, 약 60 중량% 레바우디오사이드 A 및 약 30 중량% 스테비오사이드를 함유), 글리코실화 전 염기-처리됨(pH 약 8.5에서 글리코실화, 텍스트린:스테비올 배당체 중량비 = 2:1).
- [0236] SG95 G-B = 글리코실화 SG95 스테비올 배당체 혼합물(공급원: GLG Life Tech Corporation, 약 60 중량% 레바우디오사이드 A 및 약 30 중량% 스테비오사이드를 함유), 글리코실화 후 염기-처리됨(pH 약 8.5에서 글리코실화, 텍스트린:스테비올 배당체 중량비 = 2:1).
- [0237] 스테비오사이드 G = 글리코실화 스테비오사이드(pH 5.5 내지 6.0에서 글리코실화, 텍스트린: 스테비올 배당체 중량비 = 1:1).
- [0238] Steviten = Daepyung Co., Ltd.에 의해 상표명 "Steviten"하에 시판되는 상업적 글리코실화 스테비올 배당체 제품.
- [0239] 출발 스테비올 배당체 조성물 및 텍스트린을 50°C에서 24시간 동안 CGT아제와 접촉시켜 Reb A G, Reb B G, SG95 B-G, SG95 G-B 및 스테비오사이드 G 조성물을 제조하였다. 열 사멸(효소 불활성화) 단계 후, 수득된 각 조성물을 30°C에서 24시간 동안 아밀라제로 처리하여 쉐-단축시켰다. 제2 효소 사멸 단계 후에, 조성물을 이온 교환수지, 탄소 여과 및 흡착 수지에 의해 정제하였다. 이어서, 모든 조성물을 동결건조를 이용하여 건조시켰다.
- [0240] 각 스테비아 산물을 단지 하루의 검사 동안만 2가지 레벨에서 검사하였으며, 검사는 500 ppm 및 1000 ppm 둘 다의 이용율에서 실시하였다. 알려진 캐리오버 효과(carryover effect)로 인해, 산물들을 상승적 농도로 제공하여 두 데이터 포인트 모두에서 명료한 판독을 가능하게 하였다. 용액을 실온에서 3-자릿수 부호가 부착된 2온스 수플레 컵에 제공하였다. 패널들은 검사 전과 검사 동안에 그들의 미각을 정확히 R0수(R0 water) 및 무염 크래커를 이용할 수 있었다. 각각의 매일 연구는 30명의 사람을 대상으로 하였지만, 때로는 배제 조건(즉, 연구를 시작하였지만 과정 중에 탈락한 수유부, 임신부, 투약중 등)으로 인해 28 명 정도로 적은 패널들이 검사되었다.
- [0241] 연구는 중성 pH 물 중의 수크로스 용액의 기준의 고정 스케일(anchored scale)을 사용하는 등급화 연구로서 설계하였다. 본 연구에서, 패널들에게 SEV 당량이 표지 및 식별된 일련의 기준 샘플을 제공하였다. 범위는 검사 샘플의 예상 단맛을 초과하였으며, 패널들은 검사 샘플의 예상 단맛을 초과하는 단맛을 15-pt 최대치를 사용하여 등급화하였다.
- [0242] 검사 용액의 예비 선별은 대부분의 개체가 이러한 용액들을 10 SEV 이하로서 인지할 수 있다고 시사하였다. 검사 전 모든 개체들의 민감성을 효과적으로 예측할 수 없기 때문에, 더 광범위한 기준이 사용되었다. 구체적으로, SEV 기준은 다음과 같았다(표 5):

표 5

2.5 SEV 기준	5.0 SEV 기준	7.5 SEV 기준	10.0 SEV 기준	12.5 SEV 기준
2.5% 수크로스 용액	5.0% 수크로스 용액	7.5% 수크로스 용액	10.0% 수크로스 용액	12.5% 수크로스 용액

[0243]

[0244] 패널들에게 먼저 각 기준 용액의 강도 및 그의 대응하는 SEV에 익숙해지도록 요청하였다. 그 다음, 패널들은 30 초 동안 기다리고 물과 크래커로 그들의 미각을 정화하였다. 이어서, 패널들에게 검사 샘플(무작위 3-자릿수 부호로 식별됨)을 시식하도록 요청하였다. 이어서, 패널들에게 선 스케일(line scale)에서 위에서 언급한 기준과 비교하여 그들의 검사 샘플의 단맛과 일치하는 마커를 드래그(drag)하도록 지시하였으며, 스케일은 0 내지 15의 범위였다. 선 스케일 우측의 박스는 패널들이 그들이 등급화하고 있는 단맛 당량에 관해 혼동하지 않도록 보장하기 위해 패널들에게 그들이 드래그하는 값을 보여주었다. 일단 이것이 완료되면, 도 9에 도시된 포맷을 사용하여 검사 샘플의 선호도, 검사 샘플과 당의 맛 유사성, 임의의 이취의 강도 및 임의의 이취의 실제와 관련된 질문을 하였다.

[0245] 선호도 스케일을 위해 사용된 값은 1 내지 7의 범위의 표준 7-pt 기호 스케일이었으며, 유사성 스케일은 1 내지 5의 범위의 표준 5-pt 강도 스케일이었고, 이취 스케일은 0 내지 5 범위의 0-pt 고정된 6-pt 강도 스케일이었다. 패널들이 잠재적인 오프-노트(off note)에 그들이 원하는 임의의 명칭이라도 부여할 수 있도록 이취에 대한 서술에 제한을 두지 않았다.

[0246] 수득된 맛 성능 데이터는 하기 표(표 6)에 요약한다. SEV 는 수크로스 당량값 (% 수크로스 용액)이다. "수크로스 당량값" 또는 "SEV"라는 어구는 동일한 식품, 음료 또는 용액 중의 소정의 수크로스 백분율의 단맛을 제공하기 위해 필요한 비-수크로스 감미료의 양이다. 역전%는 500 ppm 샘플을 1000 ppm 샘플보다 더 달다고 평가한 패널의 백분율이다. 이것은 강도 곡선의 평탄 영역(plateau) 부근에 있음을 나타내고 고농도에서 단맛을 차폐하는 쓴맛 또는 다른 불쾌한 맛을 나타낸다. 높은 SEV 및 높은 선호도 값과 함께 낮은 값의 역전%가 최적이다. 당 점수와의 낮은 차이, 낮은 SEV 표준편차 및 낮은 이취 점수가 또한 바람직하다.

표 6

조성물	농도, ppm	역전%	SEV	SEV 표준 편차	선호도	수크로스와의 차이	이취
Reb A	500	28.6	7.2	2.9	3.6	2.8	2.6
Reb A	1000	28.6	8	3.1	2.4	3.6	3.6
SG95 G-B	500	16.7	6.3	2.6	3.7	2.6	2.4
SG95 G-B	1000	16.7	7.9	2.6	3.2	2.8	2.6
Reb B G	500	13.3	5.0	1.8	4.4	2.4	1.5
Reb B G	1000	13.3	6.9	2.2	4.0	2.5	2.0
SG95 B-G	500	13.3	5.0	1.8	4.2	2.4	1.7
SG95 B-G	1000	13.3	7.7	2.3	3.8	2.4	2.2
Steviten	500	6.9	3.8	1.8	4.4	2.0	1.4
Steviten	1000	6.9	6.6	2.0	4.4	2.0	1.7
스테비오사이드 G	500	3.4	3.7	1.7	3.9	2.1	1.3
스테비오사이드 G	1000	3.4	6.5	2.3	4.0	2.3	2.0
Reb A G	500	3.4	4.9	1.9	4.6	2.0	1.2
Reb A G	1000	3.4	7.6	1.9	4.4	2.2	1.7

[0247]

[0248] 맛 데이터는 모든 글리코실화된 샘플이 SEV 외의 모든 척도에 있어 레바우디오사이드 A보다 우수하였다는 것을 나타낸다. 1000 ppm에서, 몇몇 샘플은 등급화에서 더 작은 표준편차를 가지면서 단맛에 대해 레바우디오사이드 A와 동격인 것으로 간주될 수 있다. 이것은 일반 소비자 집단이 식품 및 음료 등의 소모성 제품 중의 성분으로서 레바우디오사이드 A에 비해 더욱 일관된 경험을 갖고, 이에 따라 이와 같은 산물을 제조하는 이점을 제공한다는 것을 암시한다. 검사된 조성물들 중에서, SG95 G-B는 500 ppm에서 특히 효능이 있다. 따라서, 상기 조성물이 검사된 조성물들 중에서 가장 낮은 단맛 임계값을 가진다는 것은 당연할 수 있다. 이러한 속성은 이러한 조성물을 낮은 수준에서 향미 증진제로서 사용할 때에 유익할 수 있다. 상기 조성물의 효능 장점은 Steviten과 비교할 때 가장 명백하다. SG95 G-B에서 보이는 바와 같이 글리코실화 SG95형 산물이 주로 레바우디오사이드 A,

스테비오사이드 및 그들의 글리코실화된 산물로 이루어져 있기 때문에, 그의 맛 성능이 글리코실화 레바우디오사이드 A의 맛 성능과 글리코실화 스테비오사이드의 맛 성능 사이에 있을 수 있다는 것은 당연하다. 그러나, 놀랍게도 SG95 G-B는 위에서 언급한 산물들 중 어떤 것보다도 더 단 것으로 밝혀졌다. 마찬가지로, SG95 B-G는 주로 레바우디오사이드 B, 스테비올바이오사이드와 글리코실화된 산물로 이루어져 있다. 스테비올바이오사이드는 레바우디오사이드 A, 레바우디오사이드 B 또는 스테비오사이드에 비해 달지 않고 맛의 질이 불량한 것으로 보고되어 있다는 점을 고려하면, 상기 산물(SG95 B-G)이 글리코실화 레바우디오사이드 B와 매우 유사하게 작용을 한다는 것은 놀라웠다.

- [0249] 실시예 4
- [0250] 본 실시예에서는, 다음의 글리코실화 스테비올 배당체 샘플들을 검사하였다:
- [0251]
- [0252] SG95 G = 글리코실화 SG 95 스테비올 배당체 혼합물 (공급원: Sweet Green Fields Corporation, 약 60 중량% 레바우디오사이드 A 및 약 25 중량% 스테비오사이드를 함유), pH 약 8.5에서 글리코실화, 텍스트린:스테비올 배당체 중량비 = 2:1.
- [0253] 4% Reb B를 갖는 SG95 G = 4% 레바우디오사이드 B를 갖는 위와 같은 96% SG95 G(건조 블렌딩됨).
- [0254] 15% SG95 B-G를 갖는 SG95 G = 15% SG95 B-G를 갖는 85% SG95 G(실시예 3에서 설명한 바와 같음).
- [0255] 20% G-B를 갖는 SG95 G = 글리코실화 SG 95 스테비올 배당체 혼합물 (공급원: Sweet Green Fields Corporation, 약 60 중량% 레바우디오사이드 A 및 약 25 중량% 스테비오사이드를 함유), pH 약 8.5에서 글리코실화, 텍스트린:스테비올 배당체 중량비 = 2:1, 여기서 재료의 20%는 글리코실화 후에 염기 처리한다.
- [0256] 출발 스테비올 배당체 조성물과 텍스트린을 50°C에서 최대 24시간 동안 CGT아제와 접촉시켜 SG95 G 샘플을 제조하였다. 이어서, 상기 산물을 30°C에서 24시간 동안 아밀라제를 이용하여 췌-단축시켰다. 효소 사멸 단계(95°C에서 30분 동안 가열) 후, 산물을 이온 교환 수지, 탄소 여과 및 흡착 수지에 의해 정제하였다. 이어서, 샘플을 분무 건조하였다.
- [0257] 출발 스테비올 배당체 조성물과 텍스트린을 80°C에서 최대 18시간 동안 CGT아제와 접촉시켜 20% G-B를 갖는 SG95 G 샘플을 제조하였다. 이어서, 상기 산물을 50°C에서 2시간 동안 아밀라제를 이용하여 췌-단축시켰다. 효소 사멸 단계(95°C에서 30분 동안 가열) 후, 잔류 탄수화물을 제거하였다. 이어서, 용액의 20%를 80°C에서 염기 처리하였다. 중화 후, 물질을 원래의 용액과 재결합하고 이온 교환 수지 및 탄소 여과로 처리하였다. 이어서, 샘플을 동결건조를 사용하여 건조하였다.
- [0258] 샘플을 1500 ppm을 포함하는 추가 농도를 평가하면서 실시예 3에 기재된 바와 같이 검사하였다. 수득된 결과는 표 7에 요약한다.

표 7

조성물	농도, ppm	SEV	선호도	이취
SG95 G	1000	8.5	3.2	2.4
SG95 G	1500	8.4	2.5	3.3
4% Reb B를 갖는 SG95 G	1000	8.1	3.8	2.2
4% Reb B를 갖는 SG95 G	1500	8.7	3.0	2.9
15% SG95 B-G를 갖는 SG95 G	1000	7.5	4.4	1.8
15% SG95 B-G를 갖는 SG95 G	1500	8.7	3.6	2.8
20% G-B를 갖는 SG95 G	1000	7.9	3.8	2.0
20% G-B를 갖는 SG95 G	1500	9.0	3.4	2.3

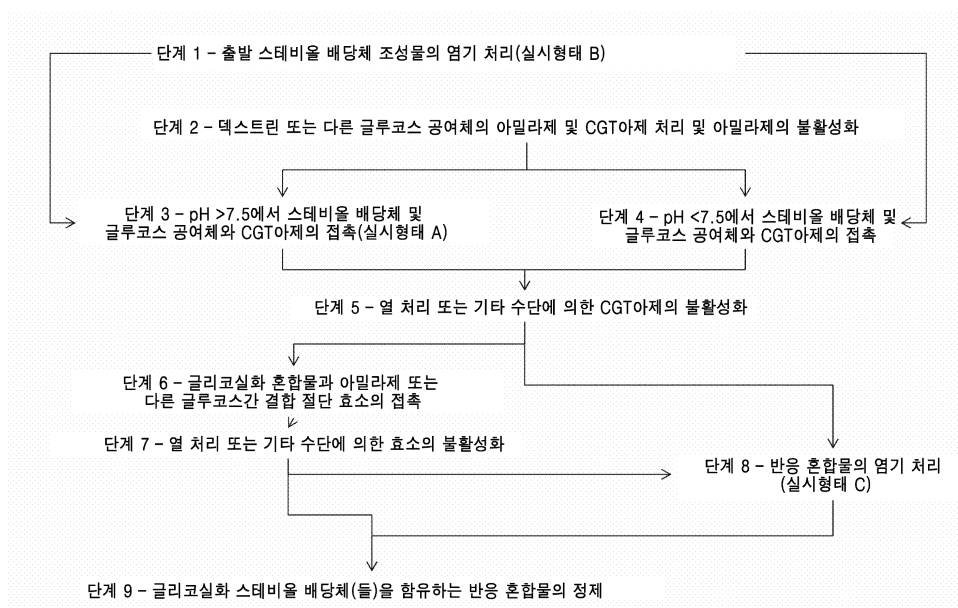
[0259]

[0260]

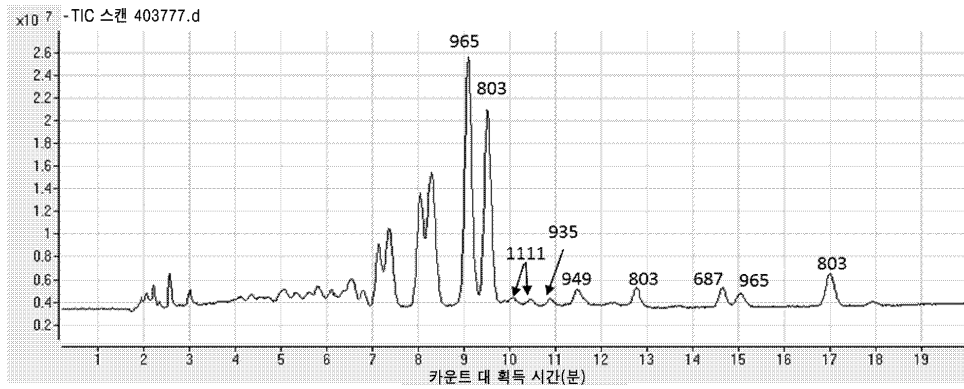
표 7에서 볼 수 있는 바와 같이, SG95 G는 (매우 달면서도) 본 실험에서 검사된 다른 산물들보다 이취가 높고 선호도 점수가 낮다. 4% 레바우디오사이드 B의 포함은 SG95 G의 선호도 및 이취 점수를 향상시키는 것으로 밝혀졌다. 염기 처리된 글리코실화된 스테비아(글리코실화 전 또는 후에 염기 처리됨)의 포함은 이취의 감소 및/또는 선호도의 증대에 의해 감미료의 맛 성능을 추가 향상시키는 것으로 밝혀졌다. 또한, SG95 G의 1500 ppm 용액에 비해서 쓴 이취의 감소로 인해서 더 높은 감미 수준이 획득될 수 있는 가능성이 크다.

도면

도면1

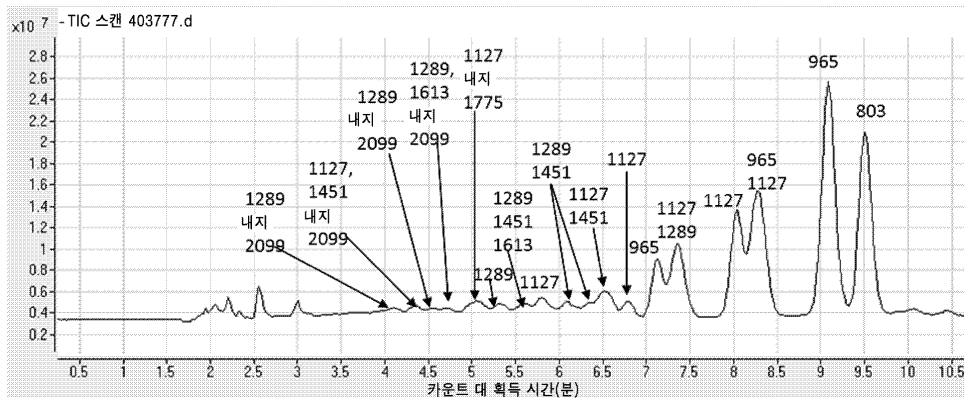


도면2



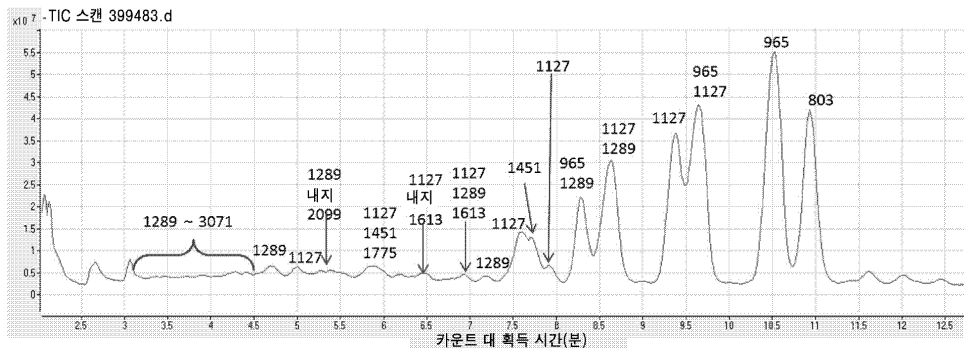
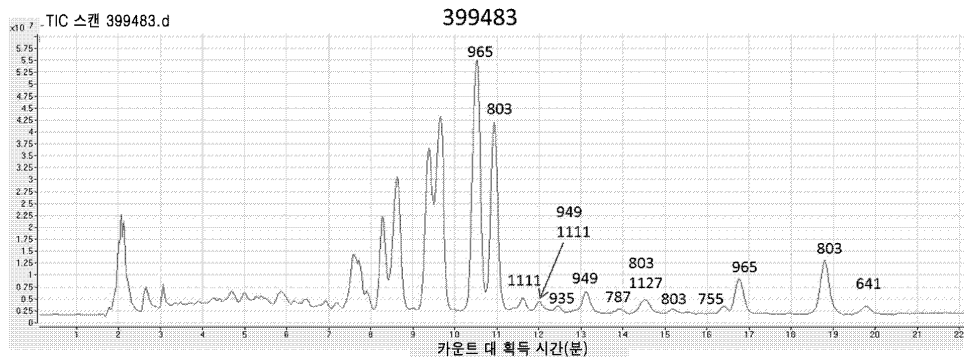
염기성 조건(pH 8.2) 하에 글리코실화되고 이어서 글리코실화 후 염기-처리된(pH 10.03) SG95 스테비올 배당체 혼합물의 LC-MS 크로마토그램(전체 크로마토그램)(실시예 1)

도면3



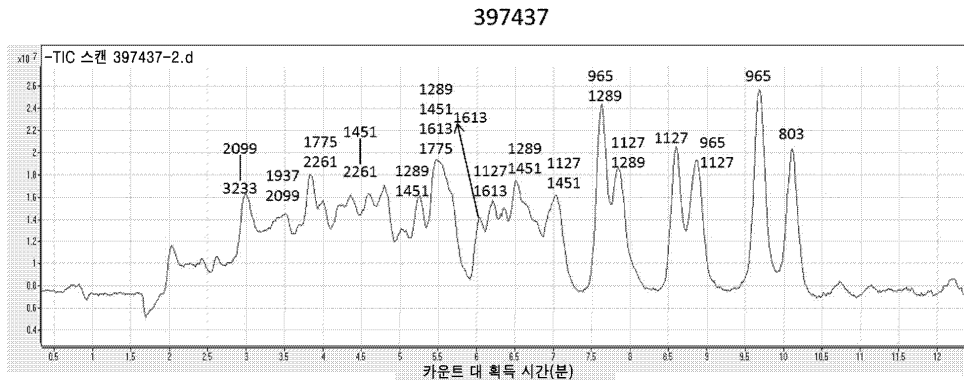
염기성 조건(pH 8.2) 하에 글리코실화되고 이어서 글리코실화 후 염기-처리된(pH 10.03) SG95 스테비올 배당체 혼합물의 LC-MS 크로마토그램(크로마토그램의 처음 절반)(실시예 1)

도면4



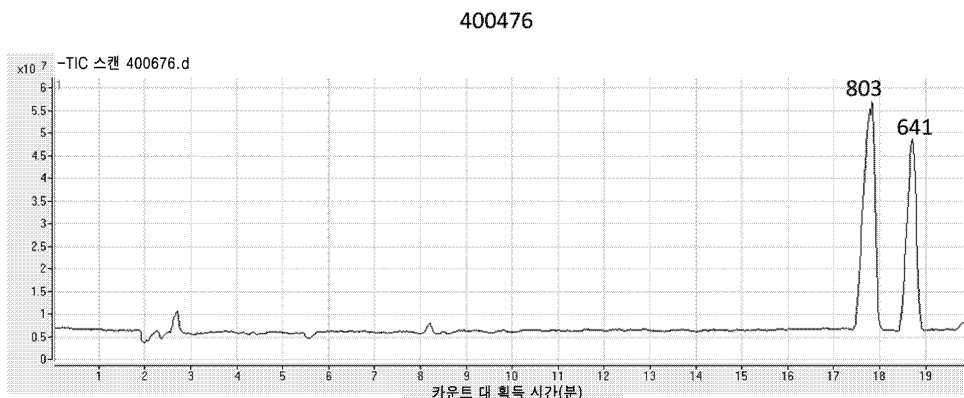
글리코실화 후의 염기성 pH 조절 없이, 약산성 pH 조건 하에 글리코실화 SG95 스테비올 배당체 혼합물의 LC-MS 크로마토그램(실시예 1)

도면5



상업적 글리코실화 스테비올 배당체 산물의 LC-MS 크로마토그램(실시예 1)

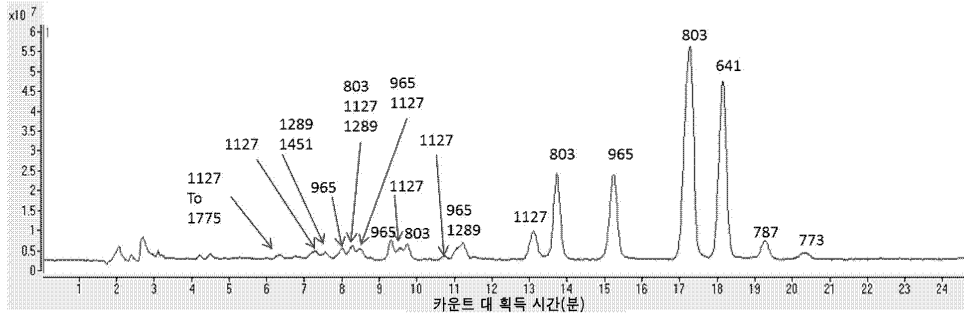
도면6



염기-처리된 SG95 스테비올 배당체 혼합물의 LC-MS 크로마토그램(실시예 2)

도면7

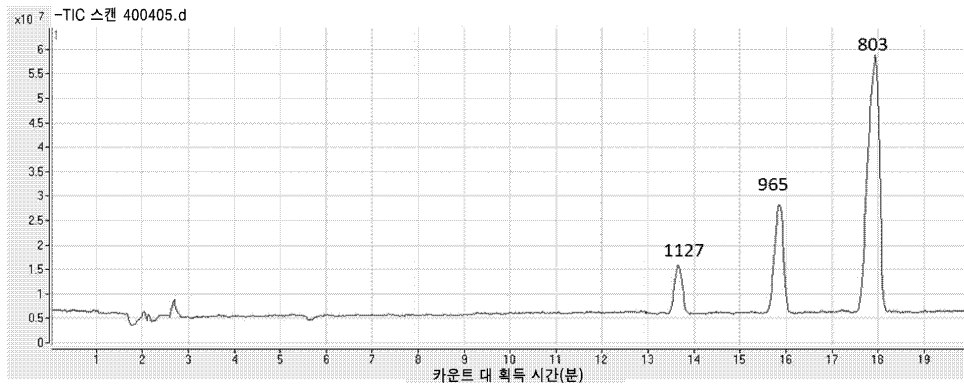
404920



염기-처리된 후 글리코실화 스테비올 배당체 혼합물의 LC-MS 크로마토그램(실시예 2)

도면8

401405



글리코실화 레바우디오사이드 B의 LC-MS 크로마토그램(실시예 2)

도면9

샘플 470의 맛이 어땠는가?

매우 싫음	적당히 싫음	약간 싫음	좋지도 싫지도 않음	약간 좋음	적당히 좋음	매우 좋음
●	●	●	●	●	●	●

당과 비교해 샘플 470의 맛이 얼마나 유사한가?

당과 거의 동일함	당과 약간 상이함	당과 적당히 상이함	당과 매우 상이함	당과 전혀 유사하지 않음
●	●	●	●	●

샘플 470 중의 비-당 유사 향미의 존재의 강도는 어땠는가?

전혀 인지할 수 없음	거의 인지할 수 없음	매우 낮은 강도	낮은 강도	적당히 높은 강도	매우 높은 강도
●	●	●	●	●	●

단맛과 상이한 향미를 느꼈다면, 이러한 향미를 어떻게 서술하겠는가?

패널 평가 질문지의 포맷