

특 허 법 원

제 3 부

판 결

사 건 2020허7739 등록무효(특)

원 고 1. A

중화인민공화국

대표자 중화인민공화국인 B

2. C

중화인민공화국

대표자 중화인민공화국인 D

3. E

중화인민공화국

대표자 중화인민공화국인 F

원고들 소송대리인 법무법인(유한) 광장

담당변호사 김운호, 이현, 김경진, 황세연

피 고 G

일본국

대표자 일본국인 H

소송대리인 변호사 강경태, 김원

소송대리인 변리사 신수범, 김지혜

소송복대리인 변리사 박가람, 박효진

변 론 종 결 2023. 4. 20.

판 결 선 고 2023. 6. 22.

주 문

1. 특허심판원이 2020. 10. 29. 2019당2998호 사건에 관하여 한 심결을 취소한다.
2. 소송비용은 피고가 부담한다.

청 구 취 지

주문과 같다.

이 유

1. 기초사실

가. 피고의 이 사건 특허발명(갑 제2, 3호증)

1) 발명의 명칭: α, α -트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법

2) 국제출원일/ 우선권주장일/ 번역문제출일/ 등록일/ 등록번호: 2012. 9. 12./ 2011.

9. 21. 및 2012. 7. 30./ 2014. 4. 21./ 2015. 11. 12./ 제10-1570059호

3) 청구범위(2022정94호 정정심결에 의해 정정된 것¹⁾²⁾)

【청구항 1】 액화 전분³⁾에 효소를 작용시켜 α, α -트레할로스 함유 당액을 얻고, 그

1) 밑줄 친 부분은 2022정94호 정정심결에 따라 변경되거나 추가된 부분이다.

2) 원고들은 해당 정정의 적법 여부에 관하여는 다투지 않으므로, 이하에서는 정정 전후를 통틀어 '이 사건 특허발명'이라 한다.

3) 액화 전분은 전분을 내열성 α -아밀라아제의 존재 하에 가열함으로써 호화/액화하여 얻어지는 것이다(갑 제3호증 식별번호 [0088], [0089]).

당액으로부터 α,α -트레할로스 이수화물 결정을 석출시키고, 그 결정을 채취, 건조하는 공정을 포함하고, 재결정 공정을 포함하지 않는 일관 공정에 의해 얻어지고, 하기 (1)~(3)의 특징을 가지는 α,α -트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(단, (a) 하기 결정화도가 96.8% 초과인 α,α -트레할로스 이수화물 결정 함유 분말과; (b) 하기 결정화도가 90.0% 미만인 α,α -트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 및 무정형 트레할로스 분말에서 선택되는 적어도 하나와의 혼합 분말을 제외함):

(1) 무수물 환산으로 α,α -트레할로스를 99.0질량% 이상 99.7질량% 이하 함유한다;

(2) 분말 X선 회절 프로필에 근거하여 산출되는 α,α -트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 90.0% 이상 96.8% 이하이다; 그리고

(3) 입자지름 $53\mu\text{m}$ 이상, $425\mu\text{m}$ 미만의 입자를 분말 전체의 70질량% 이상, 입자지름 $53\mu\text{m}$ 이상, $300\mu\text{m}$ 미만의 입자를 분말 전체의 50질량% 이상 함유한다(이하 '이 사건 제1항 발명'이라 하고 나머지 청구항도 같은 방식으로 부른다).

【청구항 2】 제1항에 있어서, 추가로, 분말 전체의 환원력이 0.5질량% 이하인 것을 특징으로 하는 α,α -트레할로스(이하 '트레할로스'⁴⁾라 한다) 이수화물 결정 함유 분말.

4) 발명의 주요 내용 및 도면

[별지 1]과 같다.

나. 선행발명(갑 제18호증)

선행발명은 2001. 7. 31. 공개된 공개특허공보 특2001-0071883호에 기재된 '부형제'에 관한 것으로, 그 주요 내용은 [별지 2]와 같다.

다. 이 사건 심결의 경위

4) 이 사건 특허발명과 선행발명에서 트레할로스는 트리할로스, 트리할로오스, 트레할로오스 등 다양한 명칭으로 불리고 있으나, 해당 명칭들이 의미하는 물질은 모두 같으므로 이하에서는 '트레할로스'로 통칭한다.

1) 원고들은 2019. 9. 23. 피고를 상대로, "이 사건 제1항 및 제2항 발명은 그 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 사람(이하 '통상의 기술자'라 한다)이 비교대상 발명 15) 또는 비교대상발명 1, 2 및 비교대상발명 4에서 96)의 결합에 의해 쉽게 발명할 수 있으므로 진보성이 부정된다."라고 주장하면서 이 사건 제1항 및 제2항 발명에 대한 등록무효심판을 청구하였다.

2) 특허심판원은 원고들의 심판청구를 2019당2998호로 심리한 다음, 2020. 10. 29. "이 사건 제1항 및 제2항 발명은 비교대상발명 1 또는 비교대상발명 1, 2 및 비교대상발명 4에서 9의 결합에 의하여 진보성이 부정되지 않는다."는 이유를 들어 원고들의 심판청구를 기각하는 심결(이하 '이 사건 심결'이라 한다)을 하였다.

3) 원고들은 이 사건 심결의 취소를 구하는 이 사건 소를 제기하였다. 피고는 이 사건 소 계속 중이던 2022. 11. 9. 특허심판원에 이 사건 제1항 발명을 정정하는 정정심판청구를 하였고, 특허심판원은 이를 2022정94호로 심리한 다음 2023. 1. 19. '해당 정정심판청구가 특허법 제136조 제1항 및 제3항에서 제5항의 정정요건을 모두 충족하는 적법한 정정에 해당된다.'는 이유로 이를 인용하는 심결을 하였으며, 해당 정정심결은 그 무렵 확정되었다.

【인정근거】 다툼 없는 사실, 갑 제1, 2, 3, 18호증, 변론 전체의 취지

2. 당사자의 주장

가. 원고들

5) 비교대상발명 1은 선행발명과 같다.

6) 비교대상발명 2, 4에서 9는 다음과 같다.

비교대상발명 2: 라오닝 농업직업기술학원 학보(제9권 제4기, 호 해방, 마 유희, 2007년 12월) / 비교대상발명 4: 조제학에 관한 도서(인민위생출판사, 최복덕, 2009년) / 비교대상발명 5: 트레할로스의 특성 및 그의 응용에 관한 논문(중국식품첨가제, 팡 아붕, 주 요빈 등, 2009년) / 비교대상발명 6: 트레할로스에 관한 도서(황 일과 편집, 화학공업출판사, 2010. 4월) / 비교대상발명 7: '설탕의 흡습 용해와 건조수축에 의한 덩어리 형성'에 관한 논문(중국감채 당류업, 오 소릉 등, 1992. 5월) / 비교대상발명 8: '백설탕 보존 과정에서의 색 증가와 덩어리 형성 문제에 대한 초기 연구'에 관한 논문(광저우 식품공업과학기술, 2003년) / 비교대상발명 9: 한국공개특허공보 제10-2011-0025157호(2011. 3. 9. 공개)

이 사건 제1항 발명은 통상의 기술자가 선행발명에 의해 쉽게 발명할 수 있다. 이 사건 제2항 발명은 이 사건 제1항 발명의 종속항으로, 추가 한정된 구성은 실질적으로 선행발명에 기재된 내용에 해당한다. 따라서 이 사건 제1항 및 제2항 발명은 진보성이 부정된다. 이와 결론이 다른 이 사건 심결은 위법하다.

나. 피고

이 사건 제1항 발명은 통상의 기술자가 선행발명으로부터 쉽게 발명할 수 없으므로 진보성이 부정되지 않는다. 이 사건 제1항 발명의 진보성이 부정되지 않는 이상, 그 종속항에 해당하는 이 사건 제2항 발명의 진보성 역시 부정되지 않는다. 이와 결론이 같은 이 사건 심결은 적법하다.

3. 이 사건 심결의 위법 여부

가. 관련 법리

1) 특허법 제2조 제3호는 발명을 '물건의 발명', '방법의 발명', '물건을 생산하는 방법의 발명'으로 구분하고 있는바, 청구범위가 전체적으로 물건으로 기재되어 있으면서 그 제조방법의 기재를 포함하고 있는 발명(이하 '제조방법이 기재된 물건발명'이라고 한다)의 경우 제조방법이 기재되어 있다고 하더라도 발명의 대상은 그 제조방법이 아니라 최종적으로 얻어지는 물건 자체이므로 위와 같은 발명의 유형 중 '물건의 발명'에 해당한다. 물건의 발명에 관한 청구범위는 발명의 대상인 물건의 구성을 특정하는 방식으로 기재되어야 하는 것이므로, 물건발명의 청구범위에 기재된 제조방법은 최종 생산물인 물건의 구조나 성질 등을 특정하는 하나의 수단으로서 그 의미를 가질 뿐이다. 따라서 제조방법이 기재된 물건발명의 특허요건을 판단함에 있어서 그 기술적 구성을 제조방법 자체로 한정하여 파악할 것이 아니라 제조방법의 기재를 포함하여 청구범위의 모든 기재에 의하

여 특정되는 구조나 성질 등을 가지는 물건으로 파악하여 출원 전에 공지된 선행기술과 비교하여 신규성, 진보성 등이 있는지 여부를 살펴야 한다(대법원 2015. 1. 22. 선고 2011후927 전원합의체 판결, 2015. 2. 12. 선고 2013후1726 판결 등 참조).

2) 또한, 특허등록된 발명이 그 출원 전에 공지된 발명이 가지는 구성요소의 범위를 수치로써 한정하여 표현한 경우에 있어, 그 특허발명의 과제 및 효과가 공지된 발명의 연장선상에 있고 수치한정의 유무에서만 차이가 있는 경우에는 그 한정된 수치범위 내외에서 현저한 효과의 차이가 생기지 않는다면 그 특허발명은 그 기술분야에서 통상의 기술자가 통상적이고 반복적인 실험을 통하여 적절히 선택할 수 있는 정도의 단순한 수치한정에 불과하여 진보성이 부정된다. 다만, 그 특허발명에 진보성을 인정할 수 있는 다른 구성요소가 부가되어 있어서 그 특허발명에서의 수치한정이 보충적인 사항에 불과하거나, 수치한정을 제외한 양 발명의 구성이 동일하더라도 그 수치한정이 공지된 발명과는 상이한 과제를 달성하기 위한 기술수단으로서의 의의를 가지고 그 효과도 이질적인 경우라면, 수치한정의 임계적 의의가 없다고 하여 특허발명의 진보성이 부정되지 아니한다(대법원 2010. 8. 19. 선고 2008후4998 판결 등 참조).

나. 통상의 기술자의 기술수준

이 사건 특허발명이 속하는 기술분야에서 통상의 기술자의 기술수준은 화학이나 약학 석사 학위 소지자로서 식품이나 화장품 또는 제약 분야에서 3년 정도 종사한 사람을 기준으로 한다.⁷⁾

다. 이 사건 제1항 발명의 진보성 부정 여부

1) 이 사건 제1항 발명과 선행발명의 구성요소 대비

7) 이 점에 관하여는 당사자들 사이에 다툼이 없다(2021. 10. 28. 제1차 변론조서 참조).

이 사건 제1항 발명의 구성요소에 대응하는 선행발명의 구성요소는 아래 표 기재와 같다.

이 사건 제1항 발명	선행발명
<p>구성 요소 1</p> <p><u>액화 전분에 효소를 작용시켜 트레할로스 함유 당액을 얻고, 그 당액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출시키고, 그 결정을 채취, 건조하는 공정을 포함하고, 재결정 공정을 포함하지 않는 일관 공정</u> <u>에 의해 얻어지고,</u> 하기 (1)~(3)의 특징을 가지는 α,α-트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(단, (a) 하기 결정화도가 96.8% 초과인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말과; (b) 하기 결정화도가 90.0% 미만인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 및 무정형 트레할로스 분말에서 선택되는 적어도 하나와의 혼합 분말을 제외함);</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 (트레할로스 A, B, C) ○ 비용의 관점으로부터 하기 출발물질의 정제, 분쇄, 입자크기조절 등에 의해 수득되는 트레할로스를 사용하는 것이 산업상 유용하므로 바람직함: 예를 들면, 시판되는 트리하오스⁸⁾(“TREHAOSE” Hayashibara Biochemical Laboratories, Inc. 시판) 또는 JP-A-7-143876에 개시된 트레할로스 제제(4면 4번째 단락) ○ 3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나 이상의 전분 분해물을 효소로 처리함으로써 수득되는 트레할로스 결정을 정제, 분쇄, 사별, 결정화 등으로부터 선택되는 가공 단계의 적당한 조합을 실행함으로써 수득될 수 있음(4면 마지막 단락) ○ 시판 트레할로스를 물에 녹여 만든 수용액으로부터 재결정, 건조, 분쇄, 체질(sieving)하여 제조함
<p>구성 요소 2</p> <p>(1) 무수물 환산으로 트레할로스를 99.0 질량% 이상 99.7질량% 이하 함유한다;</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 99.0% 이상의 순도, (중략) 및 90% 이상의 백도를 갖는 트레할로스를 함유하는 부형제(3면 하단) ○ (전략) 자연에 존재하는 트레할로스가 바람직하다. (중략) 특히, 결정질 상태의 이

		수화물이 바람직함(후략)(4면 14~17행) o <u>트레할로스 순도 및 글루코오스 함량</u> 당의 양을 결정화의 물을 제거하여 무수물로 전환하는 하기 방법에 의해 측정함(6면 하단)
구성 요소 3	(2) 분말 X선 회절 프로필에 근거하여 산출되는 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 90.0% 이상 96.8% 이하이다;	-
구성 요소 4	그리고 (3) 입자지름 53 μ m 이상, 425 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 70질량% 이상, 입자지름 53 μ m 이상, 300 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 50질량% 이상 함유한다.	o 2 내지 90질량% ⁹⁾ 의 75 μ m 이상의 입자의 비율, 10 내지 250 μ m의 평균 입자 크기, 1.5 내지 3.5 ml/g의 겔보기비부피 및 90% 이상의 백도를 갖는 트레할로스를 함유하는 부형제(3면 하단)

2) 공통점과 차이점의 분석

가) 기술분야

이 사건 제1항 발명과 선행발명은 의약, 식품 또는 화장품 분야 등의 소재로 사용될 수 있는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에 관한 것이라는 점에서 기술분야가 동일하다.

나) 구성요소 1

구성요소 1은 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 구조나 성질 등을 특징하는 수단으로서, ① '액화 전분에 효소를 작용시켜 트레할로스 함유 당액을 얻고, 그 당

8) 선행발명에서 인용된 시판 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 상품명이다. 참고로 해당 상품명은 이 사건 특허발명에서 인용된 시판 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 상품명인 『트레하』의 과거 상품명이므로, 트리하오스(TREHAOSE)와 트레하(TREHA)는 실질적으로 같은 상품인 것으로 보인다(을 제3호증 참조).

9) 선행발명에서는 이 사건 특허발명과 달리 '질량%' 대신에 '중량%'라는 기술용어를 사용하고 있으나, 양 기술용어 사이에 유의미한 차이가 있다고 보기 어려우므로, 이하에서는 '질량%'로 통칭한다.

액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출시키고, 그 결정을 채취, 건조하는 공정을 포함하고, 재결정 공정을 포함하지 않는 일관 공정'이라는 제조방법 한정을 부가하고, ② 구성요소 3에서 한정된 결정화도 상한과 하한을 벗어나는 '(a) 하기 결정화도가 96.8% 초과인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말과; (b) 하기 결정화도가 90.0% 미만인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 및 무정형 트레할로스 분말에서 선택되는 적어도 하나와의 혼합 분말'을 제외한 것이다.

(1) 제조방법 한정 부분

이에 대응하여 선행발명에는 3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나의 전분 분해물에 효소로 처리하여 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 얻는 방법이 기재되어 있다. 또한, 선행발명은 다양한 등급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하는 구체적인 실시예를 개시하고 있는데, 해당 실시예에서는 시판되는 "트리하오스(Trehaose)"를 출발물질로 하여 이를 재결정하는 정제 과정을 1회 또는 2회 거치게 한 뒤 분쇄, 사별, 건조 등 방법으로 가공하여 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하고 있다.

구성요소 1에서 액화 전분에 효소를 작용시켜 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 얻는 것은 선행발명의 '3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나의 전분 분해물에 효소를 처리하여 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 얻는 것'과 실질적으로 동일한 방법¹⁰⁾¹¹⁾에 해당한다.

10) 선행발명에 예시된 JP-A-7-143876호의 대응 국내등록특허공보 10-291757호(갑 제32호증의 1)

청구항 18. (가) 청구범위 제1항의 효소를 환원성 전분 가수분해물을 함유한 용액에 작용시켜 비환원성 당질을 생성시키고, (나) 수득한 비환원성 당질에 글루코아밀라아제 또는 α -글루코시다아제를 작용시켜 트레할로스를 생성시킨 다음, (다) 수득한 트레할로스를 회수함을 특징으로 하는 트레할로스의 제조방법.

청구항 19. 제18항에 있어서, (나) 단계에는 상기 트레할로스를 결정화하는 단계를 추가로 포함하는 제조방법.

청구항 20. 제19항에 있어서, 상기 트레할로스가 트레할로스 함수 결정 또는 무수 트레할로스 결정인 방법.

11) 선행발명에 예시된 JP-A-7-143876호의 대응 국내등록특허공보 10-301386호(갑 제32호증의 2)

청구항 1. (가) 환원성 전분질 당질의 부분 가수분해물을 사용하여 제조되는 트레할로스 수용액의 농도범위가 65~90w/w%이

다만 구성요소 1은 재결정 공정을 포함하지 않는 일관 공정에 의해 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말로 한정된 데 비해, 선행발명에서는 재결정 공정을 포함하여 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하는 점에서 차이가 있다(이하 '차이점 1'이라 한다).

(2) 혼합 분말 제외 부분

선행발명에서는 특정 결정화도를 가지는 두 가지 이상의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 혼합하여 제조되는 트레할로스 분말을 개시하고 있지 않다. 따라서 구성요소 1의 혼합 분말을 제외하는 추가 한정으로 이 사건 제1항 발명과 선행발명 사이에 어떠한 차이가 비롯된다고 보기 어렵다.¹²⁾

다) 구성요소 2

구성요소 2와 선행발명의 대응 구성은 무수물 환산으로 트레할로스 이수화물을 99.0질량% 이상 함유하는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이라는 점에서는 공통된다.

다만, 구성요소 2는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에 대하여 그중 트레할로스의 함유량(순도)을 99.0질량% 이상으로 하는 하한과 함께 99.7질량% 이하로 하는 상한으로도 한정하고 있는 데 비해, 선행발명에는 순도의 상한에 대한 기재가 없다는 점에서 차이가 있다(이하 '차이점 2'라 한다).

라) 구성요소 3

고, 트레할로스 수용액 중의 트레할로스 함량이 고형분 기준으로 적어도 65w/w% 이상인 트레할로스 수용액을 제조하고, (나) 상기 트레할로스 수용액을 농축하여 트레할로스를 결정으로 석출시킨 후, (다) 석출한 트레할로스 결정을 분리, 채취하는 트레할로스의 정제방법.

12) 이 부분 한정은, 전문심리위원이 갑 제6호증을 근거로 다른 결정화도를 가진 두 가지 분말을 혼합함으로써 이 사건 제1항 발명에서 개시하는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말과 같은 결정화도를 가지는 분말을 제조할 수 있다는 의견을 제시한 데 대응하여 이루어진 것으로, 선행발명과는 무관하다.

구성요소 3은 분말 X선 회절 프로필에 근거하여 산출되는 트레할로스 이수화물 결정의 결정화도를 90.0% 이상 96.8% 이하로 한정한 데 비해, 선행발명에는 트레할로스 이수화물 결정의 결정화도가 기재되어 있지 않다는 점에서 차이가 있다(이하 '차이점 3'이라 한다).

마) 구성요소 4

구성요소 4는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에 대하여 입자지름 $53\mu\text{m}$ 이상, $425\mu\text{m}$ 미만의 입자를 분말 전체의 70질량% 이상, 입자지름 $53\mu\text{m}$ 이상, $300\mu\text{m}$ 미만의 입자를 분말 전체의 50질량% 이상 함유한다고 한정하는 것이다. 이에 대해 선행발명은 $75\mu\text{m}$ 이상의 입자의 비율이 2 내지 90질량%라고 기재하고 있다.

구성요소 4와 선행발명의 대응 구성은 분말의 입도 분포를 특정하고 있는 점에서는 동일하나, 그 입도 분포를 특정하는 입자 크기 범위와 그 범위에 속하는 입자가 분말 전체에서 차지하는 비율에서 다소 차이가 있다(이하 '차이점 4'이라 한다)

3) 차이점 검토

가) 차이점 1 - 재결정을 포함하지 않는 일관공정 관련

다음과 같은 이유로 차이점 1은 통상의 기술자가 선행발명으로부터 쉽게 극복할 수 있다.

(1) 차이점 1은 이 사건 제1항 발명이 선행발명과 달리 "재결정 공정"을 명시적으로 배제하고 있다는 것이다. 그런데 "재결정 공정"은 결정성 물질의 순도 등을 높이기 위해 화학분야에서 보편적으로 수행되는 공정일 뿐 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조에 있어 특유하거나 본질적인 것이라 보기 어렵다. 통상의 기술자는 산업상 이용되는 소재의 생산 수율 및 순도와 경제성 측면의 생산 비용 등을 고려하여 재결정 공정의

수행 여부를 선택할 수 있다.

(2) 선행발명에는 '본 명세서에서 언급되는 트레할로스는 3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나 이상의 전분 분해물을 효소로 처리함으로써 수득되는 것이다. 비용의 관점에서 아래 출발물질¹³⁾에 대한 정제, 분쇄, 입자크기조절 등으로 얻은 트레할로스를 사용하는 것이 산업상 유용하므로 바람직하다. ... 트레할로스 정제 방법이 이온-교환 수지를 통한 통과, 원액에 포함된 당에 대한 칼럼 분획화 조작의 수의 조절, 결정화—수소화에 의한 당 알코올로의 글루코오스 전환 등과 같은 글루코오스의 제거 방법인 한 특별히 제한되지 않는다. ... 본 발명은 약제 조성물뿐만 아니라 건강식품, 목욕용 매질, 동물을 위한 약물, 진단 약물, 농화학물, 비료 등과 같은 성형물의 형태로 사용되는 조성물 또한 포함한다.'라고 기재되어 있다(갑 제18호증 4, 5면). 이처럼 선행발명에서 트레할로스 정제 방법은 비용의 관점에서 선택될 수 있을 뿐 재결정으로 제한되지 않고, 선행발명이 약제 조성물과 같은 고부가가치 부형제로서의 트레할로스만을 대상으로 한 것도 아니다. 선행발명에는 통상의 기술자가 생산 비용을 고려하여 재결정 공정을 포함하지 않도록 제조방법을 변경할 동기가 제시되어 있다고 보는 것이 타당하다.

(3) 더욱이 구성요소 1의 재결정 공정을 포함하지 않는 제조방법은 선행발명에서 사용된 출발물질의 제조방법과 실질적으로 동일하고, 해당 제조방법은 이 사건 특허발명의 우선일보다 훨씬 이전인 1994년에 공지된 방법이다(갑 제32호증의 1의 공개일은 1994. 7. 19.이다). 통상의 기술자가 선행발명에서 '재결정 공정'을 포함하지 않도록 제조방법을 변경하는 데 별다른 어려움이 있다고 보기도 어렵다.

(4) 나아가 구성요소 1의 제조방법 한정은 다음과 같은 이유로 선행발명에 개시

13) 해당 출발물질은 '3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나 이상의 전분 분해물을 효소로 처리하여 수득되는 트레할로스 이수화물 결정'도 포함한다.

된 종래 제조방법을 단순 부가한 정도에 불과하므로 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 구조나 성질을 변경하는 구성요소라 보기 어렵다.

(가) 이 사건 제1항 발명 특유의 기술적 특징은, 액화 전분에 전분 분지절단효소 및 사이클로텍스트린 글루카노트랜스페라제(이하 'CGTase'라 약칭한다)와 함께 아쓰로박터속 미생물 유래 α -글리코실트레할로스 생성효소와 트레할로스 유리효소를 작용시키고 이어서 글루코아밀라아제를 작용시켜 트레할로스 함유 당액을 얻는 공정에 종래 사용해진 지오바실러스 스테아로써모필루스 유래 CGTase 대신에 '패니바실러스속 미생물 유래의 효소'를 CGTase로 사용함으로써 트레할로스 함유 당액 중의 트레할로스 함량을 무수물 환산으로 86.0질량% 초과하는 수준까지 향상시키고, 그 당액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출하는 공정에 자연냉각법이 아닌 '제어냉각법 또는 유사제어냉각법'을 사용하여 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 종래 방법보다 높은 전분 대비 수율로 제조하면서도, 그와 같이 제조된 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말보다 순도 및 유동성이 양호하고, 결정화도가 유의적으로 높아 고결되기 어렵다는 데 있다(갑 제3호증의 식별번호 [0014]~[0016], [0024]~[0030]).

(나) 그런데 구성요소 1의 제조방법은 이 사건 특허발명에서 특유의 과제 해결 수단으로 제시하고 있는 '패니바실러스속 미생물 유래의 효소' 및 '제어냉각법 또는 유사제어냉각법'으로 한정된 것이 아니라, 이 사건 특허발명에서 배경기술로 제시하고 있는 액화 전분에 효소를 작용시켜 트레할로스 당액을 얻고 그 당액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출시켜 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 얻는 종래의 제조방법까지 포괄한 것이다.

(다) 이처럼 종래 제조방법까지 포괄하는 범위로 한정된 구성요소 1의 제조방법으로 얻은 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에는, 이 사건 특허발명에서 종래 제조방법에 따른 분말이 다음과 같은 문제점, 즉 전분대비 수율의 저조(표 2), 고결성 불량(표 3), 낮은 결정화도 및 고결성 불량(표 4), 물에 대한 용해성 불량(표 5)을 가진다는 이유로 구성요소 2, 3, 4의 한정으로 제외한 분말도 포함하게 된다. 따라서 구성요소 1의 제조방법 한정이 발명의 대상인 물건의 구조나 성질 등을 특정하는 수단으로서 기술적 의의를 가진다고 볼 수 없다.

(5) 한편 피고는, 이 사건 제1항 발명의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 그 제조의 곤란성으로 인하여 이 사건 특허발명의 우선일 이전에는 존재하지 못한 신규한 분말인데, 구성요소 1로 한정된 제조방법에 의하여 위와 같은 제조의 곤란성이 해소되었으므로, 이와 같은 사정도 이 사건 제1항 발명의 진보성 판단에 고려되어야 한다고 주장한다. 그러나 다음과 같은 이유로 피고의 주장은 받아들이지 않는다.

(가) 앞서 본 바와 같이 구성요소 1의 제조방법 한정은 물건의 구조나 성질에 영향을 미치는 제조방법이 반영된 것이 아니다.

(나) 트레할로스는 이 사건 특허발명의 우선일 이전부터 널리 사용된 물질로서 이 사건 특허발명으로 제공된 신규한 물질이라 할 수 없다. 설령 구성요소 2, 3, 4로 한정된 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 이 사건 특허발명 이전에 산업적 규모로 생산된 적이 없었다 하더라도, 물건 발명의 특허성은 원칙적으로 그 제조방법과는 무관하게 해당 물건 자체의 구성의 곤란성을 기준으로 판단되는 것이지, 산업상 생산 가능성을 기준으로 제조방법을 물건 특허의 구성요소로 고려할지 여부가 결정되는 것이 아니다.

(다) 나아가 순도, 결정화도, 입자 크기 분포 등은 다양한 조건에서 다양한 방법

에 의해 조절 가능한 매개변수이므로, 이 사건 특허발명에 기재된 패니바실러스속 미생물 유래 효소의 이용과 제어냉각법/유사제어냉각법을 이용한 결정화 방법을 사용하는 제조방법에 의해서만 이 사건 제1항 발명의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 제조 가능하다고 단정할 수도 없다. 이는 구성요소 2, 3, 4와 관련된 부분이므로 이하에서 더 자세히 살펴본다.

나) 차이점 2 - 순도 상한 관련

다음과 같은 이유로 차이점 2는 통상의 기술자가 선행발명으로부터 쉽게 극복할 수 있다고 보는 것이 타당하다.

(1) 산업상 이용되는 소재에 있어서 생산 수율 및 순도는 높을수록 좋지만, 경제성 측면에서 생산 비용을 고려하여 최종적으로 사용할 소재의 순도 및 소재를 선택하는 것이 일반적이고, 앞서 본 바와 같이 선행발명에도 정제 방법의 선택에 관한 동기와 다양한 정제 방법이 개시되어 있다. 통상의 기술자가 선행발명에 예시된 이온-교환수지 등과 같은 정제 방법을 사용하여 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 100질량%에 가까운 수준까지 정제할 수 있는 이상, 용도와 비용 등을 고려하여 순도를 그보다 낮은 99.7질량%로 제한하는 것 역시 얼마든지 가능하다.

(2) 선행발명의 실시예 1에 기재된 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말인 트레할로스 A, B, C의 순도는 각각 99.5%, 99.3%¹⁴⁾, 99.2%로서 모두 구성요소 2의 순도 범위인 '99.0~99.7질량%' 내에 있어(갑 제18호증 실시예 1 및 표 1 참조), 구성요소 2의 순도 범위와 선행발명의 대응 구성이 상당 부분 겹치는 것을 알 수 있다.

14) 트레할로스 B는 99.3%의 순도를 갖는 것으로 기재되어 있는데, 해당 트레할로스 B를 재현한 갑 제19호증[이 사건 특허발명의 중국 패밀리 특허출원(CN 201510463085.1)의 심사과정에서 피고가 제출한 실험성적보고서 2로서, 여기에는 이 사건 특허발명의 구성요소 1인 순도 외에 구성요소 2 및 3인 결정화도 및 입도분포에 대해 선행발명과 대비할 수 있는 실험결과가 기재되어 있음]에는 순도가 99.5%로 기재되어 있고, 해당 99.5%도 여전히 구성요소 1의 순도 범위인 '99.0~99.7질량%'에 들어간다.

(3) 구성요소 2의 순도 범위가 선행발명의 대응 구성보다 범위가 넓기는 하나, 구성요소 2의 상한인 99.7질량%는 이 사건 특허발명 실시예 6의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 갖는 순도로 파악될 뿐이고 해당 실시예에는 99.7질량%라는 상한이 어떠한 기술적 의미를 갖는지 알 수 있는 기재가 없다. 오히려 이 사건 특허발명은 '무수물 환산으로 트레할로스를 99.0질량% 이상 99.6질량% 이하 함유하고, 분말 X선 회절 프로필에 근거하여 산출되는 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 90.0% 이상 96.0% 이하인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제공함으로써, 상기 과제를 해결'(갑 제3호 증의 식별번호 [0028])이라고 하여 순도의 상한 99.6질량%를 과제해결 수단으로 제시하고 있다.

(4) 따라서 구성요소 2에서 순도의 상한을 99.7질량%로 제한한 것은 통상의 기술자가 수율, 비용, 용도 등을 고려하면서 선행발명에 기재된 트레할로스 분말의 순도, 정제 방법에 기초하여 단순히 선택할 수 있는 사항에 불과하다고 보는 것이 타당하다.

다) 차이점 3 - 결정화도 관련

다음과 같은 이유로 차이점 3은 통상의 기술자가 선행발명으로부터 쉽게 극복할 수 있다.

(1) 과제의 인식 가능성

이 사건 특허발명은, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용하여 석출해 낸 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 종래 식품급¹⁵⁾으로 제조된 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말보다 고결되기 어려운 유리한 물성을 나타내면서도, 종래 시약급¹⁶⁾

15) 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(상품명 『트레하』, 주식회사 I 판매, 제품규격상의 트레할로스 순도: 98.0질량% 이상) (갑 제3호증 식별번호 [0005])

16) 피험시료 A로서, 실질적으로 트레할로스 이수화물 결정으로 이루어진 표준시료를 시약급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(상품명 『트레할로스 999』, 코드번호: TH224, 순도 99.9% 이상)을 재결정시킴으로써 조제하였다(갑 제3호증 식별번호 [0187]).

으로 제조된 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 갖는 물에 대한 불량한 용해성 문제를 갖지 않는 것을 확인한 다음, 이처럼 고결성 및 용해성이 동시에 개선된 분말을 특정하는 수치로서 결정화도를 채택하고 이를 발명의 구성요소로 삼은 것으로 보인다.

그런데 선행발명 역시 고결성 및 용해성의 균형 잡힌 개선을 발명의 해결 과제로서 인식하고 있었다고 보인다.

(가) 선행발명이 트레할로스의 주된 용도로 약학 조성물 부형제로의 사용을 상정하고 있기는 하나, 한편으로 선행발명에는 트레할로스가 부형제로서 식품, 화장품, 비료 또는 사료 등 기술분야에도 사용될 수 있다고 기재되어 있다. 선행발명이 트레할로스의 용도를 오직 최고 수준의 순도와 결정화도가 요구되는 특정 분야로 제한하고 있다고 보기는 어렵다.

(나) 선행발명에는 '부형제는 일반적으로 약제 조성물의 주요한 위치를 차지하므로, 약제 조성물의 제조의 비용 관점에서 저렴한 것이 바람직하다.', '다른 부형제인 락토오스, 만니톨, 전분이 낮은 용해도로 인해 입자를 응집하는 능력이 약하고 과립성이 불량하며 또는 유동성이 낮은 불리한 문제가 있다'고 기재되어 있다. 선행발명은 트레할로스가 부형제로서 적절한 용해성을 가지는 것을 해결 과제로서 인식한 것으로 보인다.

(다) 또한, 선행발명에는 '본 발명에서 상술된 물성 값은 트레할로스가 그들 간에 적당히 균형 있는 부형제로서 기능(예를 들면, 유동성¹⁷⁾, 혼화성, 과립성, 흡습성, 배합성 및 봉해성)하고, 양호한 보존 상태(예를 들면, 경화의 방지)에서 생성물을 유지시키도록 할 수 있기 때문에'라고 기재되어 있다. 선행발명은 트레할로스를 부형제로 사용하는 데 있어

17) 끈적거리는 분말과 고결된 분말은 유동성이 좋지 못하고 분말의 취급과 보관에 큰 문제를 발생시킨다. 분말의 끈적임은 공정 후 무정형 부분의 부분적이거나 완전한 결정화에 의해 감소될 수 있다(갑 제17호증 참조).

흡습성이 있는 식품 분말의 고결을 방지하거나 최소화하기 위한 다른 효과적인 방법은 유동성 조절제 또는 고결 방지제를 분말에 추가하여 분말의 유동성을 향상시키고/시킴거나 고결을 방지하는 것이다(갑 제25호증 참조).

유동성과 보존성을 중요한 문제로 주목한 것으로 보인다.

그런데 고결은 "건조 분말 입자(분체)가 물분자의 흡착을 시작으로 분체끼리의 액막 가교 등에 의한 부착단계를 거쳐, 다시 흡습, 건조를 반복하는 것에 의해 수분을 매개로 하는 굳은 덩어리를 형성하는 현상"을 의미하므로(갑 제4호증), 고결이 유동성과 보존성에 부정적인 결과를 초래하는 현상임이 명백하고, 선행발명이 속한 기술분야에서 고결이 분말 형태 제품의 보존성과 밀접한 관련을 맺고 있다는 것은 보편적으로 인식되고 있었던 것으로 보인다(갑 제25호증). 결국, 트레할로스의 고결 역시 유동성 및 보존성의 개선과 관련하여 해결해야 할 과제로서 선행발명으로부터 도출되거나, 최소한 암시된다고 보는 것이 타당하다.

(2) 과제해결수단의 인식 가능성

통상의 기술자가 선행발명으로부터 용해성 및 고결성의 균형 잡힌 개선을 해결하여야 할 과제로서 도출할 수 있는 이상, 통상의 기술자가 그 과제해결수단으로서 결정화도 조절이라는 수단을 선택하는 것이 특유한 것이라 보기는 어렵다.

(가) 결정화도(결정도; Crystallinity)는 물질이 결정(結晶)되어 있는 정도를 말하는 것으로, 물질에서 결정을 이루는 부분의 비율을 뜻하고, 결정성 부분과 무정형 부분으로 된 고체 물질 전체 중 결정성 부분이 차지하는 비율이다.¹⁸⁾

18) 구성요소 3의 결정화도 및 이와 동일한 방법으로 측정된 선행발명의 결정화도는
$$\text{결정화도}(\%) = \frac{H_s - H_0}{H_{100} - H_0} \times 100 \quad (H_{100}: \text{실질적으로 트레할로스 이수화물 결정으로 이루어진 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 표준시료의 분말 X선 회절 프로파일로부터 구한 결정화도에 대한 해석값; } H_0: \text{실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 트레할로스 함유 분말 표준시료의 분말 X선 회절 프로파일로부터 구한 결정화도에 대한 해석값; } H_s: \text{피험시료가 되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 분말 X선 회절 프로파일로부터 구한 결정화도에 대한 해석값}) \text{이라는 정의에 의해 측정된 값이다(갑 제3호증 식별번호 [0051]~[0060] 참조). 이 값은 결정화도 측정의 기초가 되는 분말 X선 회절 데이터 값이 결정형과 무정형의 비율에 따라 0부터 100%까지의 스케일로 표현되도록 보정을 한 것일 뿐 결정성 부분과 무정형 부분으로 된 분말 시료에서 결정성 부분이 차지하는 비율을 나타낸다는 점에서 결정성 고체 분말 분야에서 일반적으로 통용되는 개념인 '결정(화)도 내지 결정성(crystallinity)'과 본질적인 부분에서 차이가 없다.$$

(나) 일반적으로 화합물의 무정형은 그 결정형에 비해 흡습성이 강해 분말의 고결과 유동성 문제를 야기하나, 한편으로 무정형은 결정형에 비해 용해도가 크고 용해 속도가 빠르므로, 어떤 화합물을 구성하는 무정형과 결정형의 비율에 따라 결정화도가 달라지면 분말의 고결성과 용해성의 물성이 달라진다. 이는 이 사건 특허발명의 우선일 당시 통상의 기술자 수준에서 주지된 사실이다.

갑 제17호증

무정형의 물질은 공극성, 우수한 용해도와 생체이용률 등의 바람직한 특성들을 갖지만, 이들은 불안정하고 대기 중의 수분을 흡착하는 경향성을 가져 분체 사이 가교를 형성하고 뭉쳐진 분말을 만든다. 끈적거리는 분말과 고결된 분말은 유동성이 좋지 못하고 분말의 취급과 보관에 큰 문제를 발생시킨다. 분말의 끈적임은 공정 후 무정형 부분의 부분적이거나 완전한 결정화에 의해 감소될 수 있다.

갑 제5호증

표면의 무정형 부분의 수분 흡착은, 분무 건조된 락토오스에서 본 바와 같이, 결정화를 유도하고 보관과 제조 공정 중의 분말의 고결과 유동성 문제를 야기한다.

갑 제10호증

분유 안의 무정형 락토오스와 같은 무정형 성분을 포함하는 많은 분말은 충분한 온도와 수분 함량의 조건이 주어지면 입자를 끈적하게 만드는 높은 점도의 유체와 같이 거동하게 된다. 이것은 끈적임을 높이고 분말의 고결과 표면 사이의 점착을 증가시킨다. (중략) 분말의 고결현상은 무정형 상태의 성분의 양에 의존한다.

[120면] 무정형 부분은 열역학적으로 불안정하고 여기에서 무정형을 결정화시키는 추진 동력이 존재하지만 결정화는 분자가 반드시 움직여야만 가능하다. 무정형 부분에 충분한 온도와 수분 조건이 갖추어지면, 그들은 높은 점도를 가지고 유동성을 갖게 되고 이것은 그들을 끈적거리게 만들며, 고결하게 만든다.

갑 제11호증

무정형의 락토오스는 가장 흡습성이 높은 락토오스 형태이고, 이것은 보통 고결을 발생시킨다. 락토오스의 결정형- α -락토오스 일수화물, α -락토오스 무수물(안정형), α -락토오스 무수물(불안정형), β -락토오스 무수물-들은 다른 물리화학적 특성을 가지고 있고 아마 고결에 영향을 주겠지만 이전에는 검토되지 않았다.

갑 제7호증
무정형은 결정구조가 없는 약물로, 결정 격자의 구속을 받지 않고, 자유에너지가 크므로, 용해도와 용해 속도가 결정형에 비해 크다.
갑 제13호증
(전략) 따라서 이러한 난용성 약물의 제제화 관련 문제점들을 해결하기 위해 약물의 용해도 향상을 위한 연구가 지속적으로 수행되어져 왔다. <u>약물의 용해도를 증가시킬 수 있는 일반적인 방법</u> 으로는 약물의 결정성 감소, 고체분산화, 프로드럭, 미세분말화, 자가미세유화 등이 있으며, (후략)
갑 제14호증
또한 무정형 약물은 용해 시 결정의 격자 에너지를 극복할 필요가 없기 때문에 결정형에 비해 비교적 쉽게 용해, 흡수될 수 있다.

(다) 통상의 기술자가 용해성을 개선하고자 할 경우 선행발명에 개시된 트레할로스 분말을 대상으로 무정형 부분의 비율을 높이는, 즉 결정화도를 낮추는 변경을 선택할 기술적 동기가 충분하나, 한편 통상의 기술자는 이 과정에서 분말의 고결 문제가 발생할 개연성 또한 높아진다는 것도 잘 알고 있으므로 당연히 이를 함께 염두에 두면서 고결성과 용해성에서 균형 잡힌 물성을 나타내는 분말을 얻기 위한 조절을 시도할 것이다.

(라) 이 사건 특허발명에서 결정화도는 트레할로스 함유 당액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출하는 공정에서 냉각 속도를 제어함으로써 달성되었다. 그런데 결정화도는 결정 채취 공정에서의 냉각 속도 제어에 의해서만 좌우되는 것이 아니라, 과포화도 및 핵 생성 속도 등 결정화 매개변수에 영향을 미칠 수 있는 여러 요인(예를 들어 트레할로스 함유 당액의 농도 및 순도, 용매의 조성, 교반 속도, 용매 증발 속도 등)에 의해서도 달라질 수 있다. 위와 같은 사실은 그 기술분야에서 이 사건 특허발명의 우선일 이전부터 아래와 같이 잘 알려져 있었다. 또한, 이는 이 사건 특허발명에서 유사제어냉각법을 적용한 피험시료 1c~8c 모두에서 고결성이 개선된 것이 아니라 반응액 중 트레할로

스 함량을 86.0% 초과 범위까지 높인 피험시료에 대하여 그 후속 결정 석출공정에 제어냉각법/유사제어냉각법을 적용한 경우에 유의적으로 고결되기 어려운 트레할로스 분말이 얻어지고 그때 결정화도가 90% 이상이라는 사실로도 뒷받침된다.

갑 제32호증의 1 및 219)

[0075]; [0154] 반응액은 통상적인 방법으로 여과, 원심 분리 등에 의해 불용물을 제거한 후 활성탄으로 탈색하고, H형 및 OH형 이온 교환 수지로 탈염해서 정제하여 농축한 다음 시럽상 제품으로 한다. 더욱이, 건조하여 분말상 제품으로 할 수도 있다. 필요에 따라서는 분말상 제품을 다시 정제, 예를 들자면 이온 교환 칼럼 크로마토그래피, 활성탄 칼럼 크로마토그래피, 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 등의 칼럼 크로마토그래피에 의한 분획, 알코올과 아세톤 등의 유기 용매에 의한 분별, 적당한 분리 성능을 가진 막에 의한 분리, 더욱이는 효모에 의한 발효 처리, 알칼리 처리 등에 의한 잔존 환원성 당질의 분해 제거 등의 방법을 1종 또는 2종 이상 조합하여 정제함으로써 최고순도의 비환원성 당질 제품을 얻는 것도 용이하다.

[0076]; [0155] 특히, 공업적 대량 생산 방법으로서 이온 교환 칼럼 크로마토그래피의 채용이 적합한데, 예를 들자면 일본국의 특허 공개 제23,799/83호 공보, 특허 공개 제 72,598/83호 공보 등에 개시되어 있는 강산성 양이온 교환 수지를 사용하는 칼럼 크로마토그래피에 의하여 협잡 당류를 제거하고 목적물의 함량을 향상시킨 비환원 당질을 유리하게 제조할 수 있다. 이 경우에 있어서, 고정상 방식, 이동상 방식, 의사(擬似) 이동상 방식 중 어느 것을 사용하여도 좋다.

[0078]; [0157] 특히, 본 발명의 비환원성 당질 또는 이것을 함유하는 저환원성 당질에 대하여 글루코아밀라아제 또는 α -글루코시다아제를 작용시킴으로써 보다 용이하게 트레할로스를 제조할 수 있다. 즉, 이들 비환원성 또는 저환원성 당질에 글루코아밀라아제 또는 α -글루코시다아제를 작용시켜 트레할로스와 글루코오스의 혼합 용액으로 하고, 이것을 앞서 나온 정제 방법, 예컨대 이온 교환 칼럼 크로마토그래피 등으로 글루코오스를 제거하여 트레할로스 고함유 획분을 채취한 다음 이것을 정제, 농축하여 시럽상 제품을 얻는 것도, 더욱이 시럽상 제품을 농축하여 과포화 용액으로 하여 결정화시켜 트레할로스 함수 결정 또는 무수트레할로스 결정을 얻는 것도 유리하게 실시할 수 있다.

[0079]; [0158] 트레할로스 함수 결정을 제조하자면, 예컨대 순도 약 60% 이상, 농도 약

65~90%의 트레할로스 고함유액을 결정화기에 넣고 0.1~20%의 종정(種晶 : Seed Crystal) 존재하에 온도 95℃ 이하, 바람직하게는 10℃~90℃의 범위에서 교반하면서 서서히 냉각하여 트레할로스 함수 결정을 함유하는 마세큐트(massecuite)²⁰⁾를 제조한다. 마세큐트로부터 트레할로스 함수 결정 또는 이것을 함유하는 당질 결정을 제조하는 방법은, 예컨대 분리법, 블록 분쇄 방법, 유동 조립 방법, 분무 건조 방법 등 공지의 방법을 사용하면 좋다.

[0080]; [0159] 분리법의 경우에는 통상 마세큐트를 바스켓형 원심 분리기에서 처리하여 트레할로스 함수 결정과 모액을 분리하고, 필요에 따라 이 결정에 소량의 냉수를 분무하여 트레할로스 함수 결정을 세척하여 보다 고순도의 트레할로스 함수 결정을 용이하게 제조할 수 있다. 분무 건조 방법의 경우에는 통상 농도 70~85%, 결정화율 약 20~60% 정도의 마세큐트를 고압 펌프로 노즐로부터 분무하여 결정 분말이 용해하지 않는 온도, 예컨대 60℃~100℃의 열풍으로 건조한 다음 30℃~60℃의 온풍으로 약 1~2시간 숙성하면 비흡습성 또는 난(難)흡습성의 당질 결정을 용이하게 제조할 수 있다. 또한, 블록 분쇄 방법의 경우에는 통상 수분 10~20%, 결정화율 10~60% 정도의 마세큐트 약 0.1~3일간 정치하여 블록상으로 결정화하고, 고화시킨 다음 이것을 분쇄 또는 절삭 등의 방법으로 분말화하여 건조하면 비흡습성 또는 난흡습성의 당질 결정을 용이하게 제조할 수 있다.

이처럼 이 사건 제1항 발명에서 한정된 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 결정화도는 이 사건 특허발명에서 제시한 특유한 제조방법에 의해서만 얻어질 수 있는 것이 아니라, 종래 선행기술문헌(갑 제32호증의 1 및 2)에서 예시하고 있는 '트레할로스 이수화물 결정을 제조하자면, 예컨대 순도 약 60% 이상, 농도 약 65~90%의 트레할로스 고함유액을 결정화기에 넣고 0.1~20%의 종정(種晶 : Seed Crystal) 존재하에 온도 95℃ 이하, 바람직하게는 10℃~90℃의 범위에서 교반하면서 서서히 냉각하여 트레할로스 이수화물 결정을 함유하는 마세큐트(massecuite)를 제조'하는 과정에서

19) 앞 식별번호는 갑 제32호증의 1의 것이고, 뒷 식별번호는 갑 제32호증의 2의 것이다.

20) 마세큐트(백하) [白下, massecuite, Füllmasse] 설탕 제조 공정 중에서 맑고 깨끗한 사탕수수즙을 진공 농축해 가면 결정이 석출되는데 이때 결정과 모액, 즉 당밀과의 혼합물이 얻어진다. 이것을 백하라고 한다(네이버 화학대사전).

☞ 트레할로스도 당의 일종이므로 공업적 생산 시 얻어지는 트레할로스 결정을 포함하는 당액을 '마세큐트'라는 용어로 통칭하는 것으로 보인다.

액화 전분에 효소를 처리한 후 얻어진 반응액을 정제 농축하는 공정으로도 달성 가능한 것으로 보인다.

(마) 또한, 결정화도의 조절은 이 사건 특허발명은 물론 선행발명에서 예시되지 않은 방법으로도 얼마든지 달성 가능하다. 이 사건 특허발명의 우선일에 앞선 2011. 3. 9. 공개된 '2-O- α -D-글루코실-L-아스코르빈산 무수결정 함유 분말과 그의 제조방법 및 용도'에 관한 발명(갑 제6호증)에 의하면, 결정화도 100%인 피험시료 1을 기본으로 결정화도 0%인 무정형 피험시료 2를 제조하고, 해당 피험시료 2를 항온, 항습 조건의 챔버에 수용하는 시간에 차이를 줌으로써 결정화도 88.3%, 93.1%의 피험시료 3 및 4를 제조할 수 있는 것이 확인된다. 이는 특정 온도 및 습도 조건에 노출시키면 시간의 흐름에 따라 무정형 물질이 열역학적으로 안정된 결정 구조²¹⁾로 전이하여 결정형 물질을 형성하고, 노출시간에 따라 전이 정도도 달라진다는 것을 보여준다. 이처럼 결정화도는 온도 및 습도의 조절과 함께 노출 시간의 제어를 통해서도 조절이 가능한 것으로 보인다. 비록 해당 발명에서 다른 화합물이 트레할로스와 다른 화합물이기는 하나, 특정한 조건의 설정에 따라 순도 및 결정화도가 이 사건 제1항 발명에서 한정된 수치 범위 내로 얻어지는 것이 확인되고, 이로써 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 순도 및 결정화도 역시 충분히 조절할 수 있을 것으로 보인다[이와 같은 부분 결정화를 통한 결정화도의 조절 가능성은 다른 선행문헌(갑 제17호증)에서도 확인할 수 있고, 나아가 부분 결정화는 이 사건 제1항 발명에서 배제한 "결정을 용해시킨 용액으로부터 다시 결정을 수득"하는 재결정 방법이 아니다].²²⁾

21) 갑 제10호증 2면 참조.

'무정형 부분은 열역학적으로 불안정하고 여기에서 무정형을 결정화시키는 추진 동력이 존재'하는 것은 공지된 사실이다.

22) 피고는, 갑 제6호증의 부분 결정화가 순도를 상승시키지 않아 재결정 공정에 해당하지 않으므로 선행발명의 재결정 공정을 대체할 수 없다는 취지로 주장한다. 그러나 갑 제6호증에서 해당 물질의 순도가 상승되지 않더라도 최종적으로 확인된 피험시료 4의 순도 및 결정화도는 모두 이 사건 제1항 발명에서 한정된 수치 범위 이내이다. 따라서 트레할로스 분말도 부분 결

갑 제6호증

[0135] <실험 1-1: 피험시료의 조제>

[0136] <피험시료 1>

[0137] 실질적으로 아스코르빈산 2-글루코시드 무수결정으로 이루어지는 표준시료로서 시약급의 아스코르빈산 2-글루코시드 무수결정 함유 분말(상품명 「아스코르빈산 2-글루코시드 999」, 코드번호: AG124, 순도 99.9% 이상)을 사용하여 이것을 피험시료 1로 하였다.

[0138] <피험시료 2>

[0139] 실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 표준시료로는 피험시료 1을 적량의 정제수에 용해하고, 3일에 걸쳐 동결 건조 한 후, 40℃ 이하에서 하룻밤 진공 건조하여 얻어진, 실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 분말을 사용하여, 이것을 피험시료 2로 하였다. 또한, 피험시료 2의 수분함량을 카알 피셔법에 의해 측정한 바 2.0%였다.

[0140] <피험시료 3, 4>

[0141] 피험시료 3, 4로서 아스코르빈산 2-글루코시드 무수결정에 대한 결정화도가 피험시료 1과 피험시료 2의 사이에 넣는 것을 이하의 순서로 제조하였다. 즉, 피험시료 2와 동일하게 하여 조제한 무정형 부분으로 이루어지는 분말을 금속제 트레이 내에 스프레드하고, 온도 25℃, 상대습도 90%로 조정된 항온, 항습의 챔버 내에 24시간 또는 72시간 동안 수용함으로써 결정화를 촉진시켜서, 분말을 부분적으로 결정화시켰다. 그 후, 금속제 트레이를 챔버로부터 꺼내고, 38℃에서 하룻밤 진공 건조함으로써 2종류의 분말을 조제하였다. 항온, 항습의 챔버 내의 수용시간이 24시간인 것을 피험시료 3, 72시간인 것을 피험시료 4로 하였다. 또한, 피험시료 3 및 4는 분석시험에 제공하기 직전까지 뚜껑 달린 바이알병(vial) 내에 밀봉하고, 건조제와 함께 데시케이터 내에 밀봉 보존하였다.

[0155] <결정화도>

[0183] <실험 1-4: 고결성 시험>

[0184] 피험시료 1 내지 4의 각각에 대해 그 고결성을 조사하는 목적으로 이하의 실험을 실시하였다. 즉, 실험 1-1에서 조제한 피험시료 1 내지 4를 1g씩 칭취하고, 각각 별개로 내저부가 반구형상의 14ml 뚜껑 달린 폴리프로필렌제 원통 튜브(벡튼 디킨슨 사(Becton, Dickinson and Company, New Jersey, USA) 판매, 상품명 「팔콘 튜브 2059」, 직경 1.7cm,

정화를 통해 충분히 순도 및 결정화도의 동시 조절이 가능하다고 보는 것이 타당하다.

높이 10cm)의 내부에 충전하고, 튜브를 튜브랙에 직립시킨 상태로 50°C의 인큐베이터(어드 번택 토요주식회사(advantac Toyo Kaisya, Ltd., Tokyo, Japan) 판매, 상품명 「CI-410」)의 내부에 수용하고, 24시간에 걸쳐서 정치한 후, 튜브를 인큐베이터 밖으로 꺼내고, 튜브로부터 뚜껑을 제거하여 튜브를 완만하게 전도시킴으로써, 피험시료를 흑색 플라스틱제 평판 상에 꺼내고, 꺼낸 피험시료 상태를 육안으로 관찰하였다.

[0186] 표 1

피험시료	1	2	3	4
아스코르빈산 2-글루코시드 순도(%)	99.9	99.1	99.1	99.1
결정화도(%)	100.0	0.0	88.3	93.1
고결성	-	+	+	-

(3) 수치한정의 임계적 의의 존부

구성요소 3에서 한정한 결정화도 '90.0% 이상 96.8%이하'가 그 수치범위 내에서 이질적이거나 현저한 효과의 차이가 생겨 임계적 의의가 있다고 보기도 어렵다.

(가) 이 사건 특허발명에서 '96.8%'라는 상한이 등장하는 부분은 실시예 6이 유일한데, 여기에는 '트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 96.8%이고, 해당 분말에 대한 고결성 시험에서 "고결없음"(-)으로, 물에 대한 용해성 시험에서 "양호"로 판정되었다'는 취지의 내용이 기재되어 있을 뿐 96.8%라는 상한을 벗어나면 안 되는 이유나 임계적 의의를 파악할 수 있는 내용은 전혀 기재되어 있지 않다.

(나) 오히려 이 사건 특허발명은 "본 발명은 트레할로스 이수화물 결정을 석출시킬 때에 상기 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용하는 본 발명의 제조방법에 의해 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말로서, 무수물 환산으로 트레할로스를 99.0질량% 이상 99.6질량% 이하 함유하고, 분말 X선 회절 프로필에 근거하여 산출되는 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 90.0% 이상 96.0% 이하인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제공함으로써, 상기 과제를 해결하는 것이다(식별번호 [0028] 참

조)."라고 하여 과제해결수단으로서 결정화도의 범위를 96.8% 이하가 아닌 96.0% 이하로 제시하고 있다.

(다) 이 사건 특허발명에 기재된 고결성 시험은, 결정화도 0~100% 구간에 해당하는 시료를 넣은 튜브를 50℃ 인큐베이터에서 24시간 동안 정치하고 튜브를 뒤집은 후 튜브 내측 바닥부의 반구 형상을 유지하는 정도를 육안으로 관찰하여 고결 정도를 3등급(고결없음, 약간 고결있음, 고결있음)으로 판정하는 방식으로 수행되었다. 그 결과 결정화도가 90% 이상인 시료는 모두 '고결없음(-)', 결정화도가 85% 이상 90% 미만인 시료는 모두 '약간 고결있음(±)', 결정화도가 85% 미만인 시료는 모두 '고결있음(+)'을 나타낸 것으로 확인되기는 한다. 그런데 해당 고결성 시험은 고결에 영향을 미치는 주변 조건인 상대 습도, 온도, 압력 등의 조건 중 온도만 제시되어 있는 등 특정한 조건에서 수행된 하나의 사례에 불과하다. 온도를 비롯하여 고결에 영향을 줄 수 있는 상대 습도 등을 달리 하여 시험할 경우 해당 고결성 시험에서 결정화도 90%를 기준으로 고결 발생 여부가 갈리지 않을 개연성이 크다. 더욱이 해당 고결성 시험은 육안 관찰에 의존하고 있는데, 육안 관찰은 고결의 정도를 객관적·연속적으로 확인할 수 있는 방법이라고 보기 어렵다(이는 실험자의 주관적 기준에 따라 일도양단으로 고결되었다고 판정하는 방법에 불과하다). 해당 고결성 시험은 결정화도를 높이면 고결 경향이 완화된다는 일반적인 기술상식을 확인한 것에 불과하다.

갑 제3호증

[0160] <고결성 시험>

[0161] 피험시료 1~9의 각각에 대해서, 각각의 분말의 고결성을 조사할 목적으로 다음과 같은 실험을 실시하였다. 즉, 피험시료 1~9를 1그램씩 칭량하고, 이를 각각 별개로 내측 바닥부가 반구형인 14ml 용량의 덮개가 달린 폴리프로필렌제 원통튜브(벡톤 디킨슨사 판매,

상품명 『팔콘 튜브 2059』, 직경 1.7cm, 높이 10cm)의 내부에 충전하며, 튜브를 시험관 꽃이에 직립시킨 상태에서 50℃의 인큐베이터(아드반테크 토요 주식회사 판매, 상품명 『CI-410』)의 내부에 수용하여, 24시간에 걸쳐 정치한 후, 튜브를 인큐베이터 밖으로 꺼내어, 튜브에서 덮개를 벗기고, 튜브를 완만하게 전도(顛倒)시킴으로써, 피험시료를 흑색 플라스틱제 평판상에 고집어내어, 피험시료의 상태를 육안으로 관찰하였다.

[0162] 고결의 유무는 피험시료가 평판 상에서도 튜브 내측 바닥부의 반구형상을 분명하게 유지하고 있는 경우를 '고결있음'(+), 피험시료가 튜브 내측 바닥부의 형상을 약간이긴 하지만 식별할 수 있는 경우를 '약간 고결있음'(±), 피험시료가 붕괴하여 튜브 내측 바닥부의 형상을 유지하고 있지 않은 경우를 '고결없음'(-)로 판정하였다. (후략)

[0220] 표 4

피험시료	트레할로스 순도(질량%)	결정화도(%)	평균 결정자 지름(Å)	고결성
A	100	100	3910	-
B	100	0	-	+
1	98.4	78.7	2150	+
2	98.8	85.1	2540	±
3	99.2	85.3	2660	±
4	98.7	80.8	2200	+
5	99.3	88.1	2830	±
6	99.2	87.7	2750	±
7	99.2	87.4	2670	±
8	99.1	86.6	2610	±
9	99.0	85.4	2590	±
1c	99.0	85.7	2540	±
2c	99.2	87.3	2780	±
3c	99.4	88.6	2850	±
4c	99.1	88.3	2630	±
5c	99.6	96.0	3580	-
6c	99.6	94.2	3490	-
7c	99.5	93.3	3300	-
8c	99.4	91.0	3210	-

[0223] 또한, 표 4에 나타난 결과는 결정화도가 분말의 고결성과 상관성이 있음을 시사하고 있다. 즉, 표 4에 나타난 바와 같이, 결정화도가 90% 이상인 피험시료 A, 피험시료 5c~8c가 모두 '고결없음'(-)이었음에 반해, 결정화도가 85% 이상 90% 미만인 피험시료 2, 3, 5~9, 및 피험시료 1c~4c는 모두 '약간 고결있음'(±)이었고, 결정화도가 85% 미만인 피험시료 B,

시험시료 1 및 4는 모두 '고결있음'(+)이었다. 이 점은, 결정화도가 고결되기 어려운 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 규정하는 유력한 지표가 될 수 있음을 나타내고 있다.

[0224] 또한, 이 결과는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조에 있어서, 반응액 중의 트레할로스 함량을 86.0% 초과로까지 높이고, 그 후의 결정석출공정에서 유사제어냉각법을 적용하면, 얻어지는 분말에서의 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 90% 이상이 되며, 결과적으로 고결의 측면에서, 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말보다도 유의적으로 고결되기 어려운 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 얻을 수 있음을 말하고 있다.

(라) 이 사건 특허발명에 기재된 용해성 시험은, 시료를 튜브에 넣고 탈이온수를 첨가한 뒤 50℃ 항온 수조에서 30분간 가온한 후 2회 전도시키고, 다시 50℃에서 15분간 유지한 다음 불용물의 잔존 여부를 육안으로 관찰하여 용해성을 2등급(양호, 불량)으로 판정하는 방식으로 수행되었다. 그 결과 결정화도가 100%인 시료만 '불량'이고 그 외 모든 시료는 '양호'로 확인되기는 한다. 그런데 앞서 본 고결성 시험과 마찬가지로 해당 용해성 시험은 용해성에 영향을 미치는 온도, 용해시간, 교반조건 등이 모두 한 조건으로만 특정된 사례에 불과하다. 온도를 비롯하여 용해성에 영향을 주는 조건을 달리하여 시험할 경우 해당 용해성 시험에서 결정화도 96.8%를 기준으로 용해성의 양호/불량이 갈리지 않을 개연성이 크고, 육안 관찰이 용해의 정도를 객관적·연속적으로 확인할 수 있는 방법이라고 보기도 어렵다. 따라서 이 사건 특허발명에 기재된 용해성 시험으로부터 96.8% 이하의 결정화도를 갖는 분말 시료가 그보다 높은 결정화도를 갖는 분말 시료에 비해 상대적으로 양호한 용해성을 가지는 것이 확인된다 한들, 이 정도의 물성 변화는 분말 시료의 무정형 부분의 비율을 높이게 되면, 즉 결정화도를 낮추면 용해성이 개선된다는 일반적인 기술상식을 확인한 이상이라 평가하기 어렵다.

갑 제3호증

[0228] <실험 5 : 피험시료의 분말특성(보존성, 물에 대한 용해성)>

[0229] 피험시료 1~9 및 피험시료 1c~8c의 분말로서의 성질을 더욱 명료하게 하는 것을 목적으로 하여, 보존성 시험 및 물에 대한 용해성 시험을 실시하였다.

[0230] <실험 5-1 : 보존성 시험>

[0231] 실험 2-2, 실험 3-2 등에서 이루어진 고결성 시험이 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 실제 보존시의 고결성을 평가하는 시험으로서 타당한 것임을 확인하기 위해, 실험 4-1의 방법에서 얻은 피험시료 A 및 B, 실험 2에서 얻은 피험시료 1~9, 및 실험 3에서 얻은 피험시료 1c~8c에 대해, 시장에 유통되는 제품인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 실제로 보존되는 상태, 환경, 기간 등을 상정한 보존성 시험을 실시하였다.

[0232] 즉, 피험시료 A 및 B, 피험시료 1~9, 및 피험시료 1c~8c를 각각 150g씩 취하여, 별도로 폴리에틸렌 주머니(상품명 『유니팩 F-4』, 주식회사 세이산닛폰사제, 17cm×12cm)에 채취하고, 공기를 뺀 상태에서 봉입한 폴리에틸렌 주머니를 각 피험시료에 대해 3개씩 제작하였다. 그 다음, 각 폴리에틸렌 주머니의 편면적 1m²당 하중이 648kg가 되도록 13.2kg의 추를 각각의 폴리에틸렌 주머니 위에 상면 전체에 하중이 걸리도록 올리고, 그 상태에서, 고온다습을 피한 환경 하에서 60일간 보존하였다. 또한, 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 제품은, 통상 20kg들이 주머니에 넣은 포장 스타일로, 10단 정도 쌓아올린 상태로 창고 등에서 보존되는 바, 폴리에틸렌 주머니의 편면적 1m²당 648kg이라는 하중은 이 10단 정도 적층한 상태에서 최하단의 제품에 걸리는 하중에 상당하는 것이다. 60일간 보존 후, 각 피험시료를 폴리에틸렌 주머니에서 고집어내어, 체눈 크기가 425μm인 체에 거르고, 체를 통과한 분말과 통과하지 않았던 분말의 질량을 각각 측정하여, 분말 전체에서 차지하는 입자지름 425μm 이상의 입자의 질량비율(%)을 구한 후, 각 피험시료에 대해 시험한 3개의 주머니의 평균값을 취함으로써, 60일간 보존 후의 분말의 고결 유무를 판정하였다. 분말의 고결은 입자지름 425μm 이상의 입자가 분말 전체의 30% 미만인 경우를 '고결 없음'(-)으로, 동 입자가 분말 전체의 30% 이상인 경우를 '고결있음'(+)로 각각 판정하였다. 또한, 분말에서 425μm 이상인 입자의 비율이 30%를 초과하면, 일반적으로 분말의 용해나 다른 분말형태 조성물과의 혼합, 혼련 등에 지장이 발생하기 때문에, 판정의 기준을 30%로 하였다. 결과를 표 5에 나타내었다.

[0235] 표 5

시험시료	보존성	물에 대한 용해성
A	-	불량
B	+	양호
1	+	양호
2	+	양호
3	+	양호
4	+	양호
5	+	양호
6	+	양호
7	+	양호
8	+	양호
9	+	양호
1c	+	양호
2c	+	양호
3c	+	양호
4c	+	양호
5c	-	양호
6c	-	양호
7c	-	양호
8c	-	양호

[0236] 표 5의 '보존성'란에 나타난 바와 같이, 각 시험시료를 하중을 걸면서 고온다습을 피한 환경하에서 60일간 보존한 보존성 시험에서, 트레할로스에 대한 결정화도가 90.0% 미만이고 평균 결정자 지름이 2,850Å 이하인 시험시료 1~9 및 시험시료 1c~4c가 '고결있음' (+)으로 판단된 것에 대해, 결정화도가 91.0% 이상, 96.0% 이하이고, 평균 결정자 지름이 3,210Å 이상인 시험시료 A, 시험시료 5c~8c는 '고결없음' (-)으로 판단되었다. 이 결과는 실험 2-2, 실험 3-2 등에서 실시한 고결성 시험에서 '고결있음' (+) 또는 '약간 고결있음' (±)으로 판정된 시험시료는 본 보존 시험에서는 '고결있음' (+)으로 판정된 것에 반해, 실험 2-2, 실험 3-2 등에서 실시한 고결성 시험에서 '고결없음' (-)으로 판정된 시험시료는 본 보존시험에서도 마찬가지로 '고결없음' (-)으로 판정되는 것을 나타내고 있다. 이 사실은, 실험 2-2, 실험 3-2 등에서 실시한 고결성 시험이 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 실제 보존환경 하에서의 고결성을 평가하는 시험으로서 타당한 것임을 나타내고 있다.

(4) 위와 같은 사정을 종합하면, 구성요소 3은 선행발명으로부터 인식할 수 있는 과제와 이를 해결하기 위한 수단으로서 일반적인 물성인 결정화도를 채택한 것에 불과하

고, 구성요소 3으로 한정된 '결정화도가 90.0% 이상 96.8% 이하'라는 수치범위 역시 통상의 기술자가 적절한 고결성과 용해성을 갖는 분말을 찾기 위해 선행발명의 분말에서 출발하여 그 결정화도를 조절해 가는 과정에서 검토할 것으로 충분히 예상되는 정도의 범위 내로 보이므로, 그 한정된 결정화도의 수치범위가 그 범위 내외에서 이질적이거나 현저한 효과의 차이가 생겨 임계적 의의를 갖는다고 보기 어렵다.

라) 차이점 4 - 입도분포 관련

다음과 같은 이유로 차이점 4는 통상의 기술자가 선행발명으로부터 쉽게 극복할 수 있다고 보는 것이 합리적이다.

(1) 선행발명에는 "트레할로스 분말의 입자 크기에 관하여, 75 μ m 이상의 입자 크기를 갖는 입자의 비율은 바람직하게는 2 내지 90질량%이다. 상기 비율이 2질량% 미만인 경우, 분말의 유동성이 눈에 띄게 악화된다. 상기 비율이 90질량%를 초과하는 경우, 활성성분 등과의 혼화성이 악화되어, 트레할로스의 사용에 의해 수득되는 약제 조성물 중에 활성성분 등의 각각의 함량이 균일하지 않다."라고 기재되어 있다. 해당 내용에서 알 수 있듯이 선행발명에는 분말의 유동성, 혼화성 등을 위해 입도분포를 조절하는 내용이 기재되어 있고, 이러한 입도분포 조절을 통해 분말의 공정성을 개선하거나 혼합 효율을 향상시키는 것은 해당 기술분야에서 통상적으로 수행되는 사항이므로, 통상의 기술자가 선행발명에 기재된 입도분포인 '75 μ m 이상의 입자의 비율이 2 내지 90 질량%인 것'을 염두에 두고 필요에 따라 분말의 입도분포를 추가로 조절할 여지도 충분하다. 따라서 구성요소 4의 입도분포가 선행발명으로부터 도출되기 어려운 구성이라고 볼 수 없다.

(2) 선행발명 실시예 1에 기재된 트레할로스 B를 재현한 실험성적보고서(갑 제19호증)에 의하면, 트레할로스 B가 입자지름 53 μ m 이상, 425 μ m 미만의 입자를 분말 전체

의 86.3%, 입자지름 53 μ m 이상, 300 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 78.4% 함유하는 입도분포를 가지는 것이 확인된다. 해당 입도 분포는 구성요소 4의 입도분포 조건(입자지름 53 μ m 이상, 425 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 70질량% 이상, 입자지름 53 μ m 이상, 300 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 50질량% 이상 함유하는 것)을 충족하므로, 구성요소 4의 입도분포 범위와 선행발명의 대응 구성은 상당 부분 겹치는 것으로 보인다.

(3) 더욱이 이 사건 특허발명 구성요소 4가 특정한 입도분포는 이 사건 특허발명이 특유한 과제해결수단 중 하나로 제시한 제어냉각법 또는 유사제어냉각법이 아닌 자연냉각법에 의해 제조된 분말의 입도분포를 측정했을 때의 값이고, 해당 입도분포는 제어냉각법 또는 유사제어냉각법에 의해 제조된 분말보다 그 범위가 넓다. 나아가 이 사건 특허발명에는 이러한 입도분포를 갖는 분말은 입도를 적절히 조정하여 분말 형상의 식품소재, 의약품 소재 등으로 사용될 수 있다는 취지의 내용이 기재되어 있다. 이는 구성요소 4에서 한정된 입도분포가 이 사건 제1항 발명의 과제해결을 위하여 반드시 유지되어야 하는 것도 아니라는 것을 의미한다. 구성요소 4의 입도분포에 별다른 기술적 의미가 있다고 보기 어렵다.

갑 제3호증

[0115] (전략) 또한, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법에 의한 경우에는, 자연냉각하는 결정 석출법에 의해 얻어지는 분말에 비하여, 보다 입도분포가 모인 분말이 얻어진다는 이점이 있다.

[0121] 이와 같이 하여 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은, 결정 석출이 자연냉각에 의해 이루어진 경우에는, 보존시의 고결성(固結性) 등의 물성에 있어 종래 식품급의 트레할로스 함유 분말과 거의 동등한 분말이고, 통상 입자지름 53 μ m 이상, 425 μ m 미만의 입자가 분말 전체의 70% 이상을 차지하며, 또한 입자지름 53 μ m 이상, 300 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 50% 이상 포함하는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이다. 또한, 결정

석출이 제어냉각법 또는 유사제어냉각법에 의해 이루어진 경우에는, 본 발명의 제조방법에 의해 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은, 종래 식품급의 트레할로스 함유분말보다도 유의적으로 고결되기 어려운 분말이고, 통상 입자지름 53 μ m 이상, 425 μ m 미만의 입자가 분말 전체의 80% 이상을 차지하며, 또한 입자지름 53 μ m 이상, 300 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 60% 이상 포함하는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이다.

[0122] 따라서, 본 발명의 제조방법에 의해 제조되는 분말은 그대로, 혹은 입도를 적절히 조정하여 분말형상의 식품 소재, 화장품 소재, 의약부외품 소재 또는 의약품 소재 등으로서 사용할 수 있다.

마) 따라서 구성요소 4의 입도분포 범위인 '입자지름 53 μ m 이상, 425 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 70질량% 이상, 입자지름 53 μ m 이상, 300 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 50질량% 이상 함유하는 것'은 통상의 기술자가 유동성, 혼화성 등을 만족하는 분말을 찾기 위해 선행발명에 기재된 입도분포를 참고하여 통상적인 입도분포 조절을 반복하는 것으로 쉽게 도출할 수 있다고 보는 것이 타당하다.

4) 검토결과의 정리

이 사건 제1항 발명은 통상의 기술자가 선행발명으로부터 쉽게 발명할 수 있으므로 진보성이 부정된다.

라. 이 사건 제2항 발명의 진보성 부정 여부

이 사건 제2항 발명은 이 사건 제1항 발명의 종속항으로서, 이 사건 제1항 발명을 '분말 전체의 환원력이 0.5질량% 이하'라는 내용으로 추가 한정한 것이다.

이 사건 특허발명에는 환원력(%)이 '환원력(%)=환원당량/전체당량 \times 100[D-글루코오스 환산에 근거하는 환원당량 및 전체당량을 구하여, 분말에 포함되는 전체당량에 대한 환원당량의 백분율(%)]'라고 정의되어 있고, 이와 관련하여 '0.5% 이하의 환원력을 가진 트레할로스 분말은 식품이나 의약품 등에 배합하여도 갈변에 의한 변색의 우려가

없는 우수한 분말'라고 기재되어 있다(식별번호 [0121]). 이처럼 이 사건 제2항 발명은 트레할로스 분말에서 글루코오스가 차지하는 함량을 한정하는 한편, 그와 같은 한정에 따른 효과를 개시하고 있다.

이에 대응하여 선행발명에서 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 환원력에 관하여 직접 언급하고 있지는 않으나, 선행발명에는 '불순물로 존재하는 글루코오스가 안정성을 악화시키므로 0%에 가깝도록 정제하는 것이 바람직하되, 수율과 비용을 고려하여 적절히 조절할 수 있다'는 취지의 설명이 있고, 선행발명 실시예 1에서 제조된 트레할로스 분말 A, B, C의 글루코오스 함량을 분석한 결과를 각각 0.2%, 0.3%, 0.6%로 확인하면서 그에 따른 갈변과 관련된 백도에 관해서도 기재하고 있다.

갑 제18호증

[3면 하단부]

즉, 본 발명은 하기에 관한 것이다:

(1) 99.0% 이상의 순도, 2 내지 90 중량%의 75 μ m 이상의 입자 비율, 10 내지 250 μ m의 평균 입자 크기, 1.5 내지 3.5ml/g의 겔보기부피, 및 90% 이상의 백도를 갖는 트레할로스를 함유하는 부형제;

(2) 상기 트레할로스 내의 불순물인 글루코오스의 함량이 1.0% 미만인, 상기 항목 (1)에 따른 부형제;

(3) 트레할로스의 순도가 99.3% 이상이고, 트레할로스에서 불순물인 글루코오스의 함량이 0.5% 이하이고, 트레할로스의 평균 입자 크기가 10 내지 150 μ m인 상기 항목 (1)에 따른 부형제;

[4면 4번째 단락]

트레할로스의 순도는 99.0% 이상이다. 트레할로스에서 불순물인 글루코오스의 함량은 바람직하게는 1.0% 미만이다. 트레할로스의 순도가 99.0% 또는 그의 글루코오스 함량이 1.0% 이상인 경우, 트레할로스는 활성성분과의 반응성이 증가되는 경향이 있다. 고-순도의 트레할로스는 약물에 대한 안정화제로서 기능을 하는 것으로 기대되지만, 불순물인 소량의 글루코

오스의 존재가 약물의 안정성을 눈에 띄게 악화시킨다는 것은 공지되어 있지 않다. 트레할로스의 순도는 바람직하게는 99.3% 이상이다. 글루코오스 함량은 바람직하게는 0.5% 미만, 특히 0.3% 미만이다. 트레할로스의 순도 및 글루코오스 함량은 각각 100% 및 0%에 가능한 가까워지는 것이 바람직하지만, 정제가 수율을 감소시키고, 비용을 증가시키기 때문에, 트레할로스는 정제 및 정제의 효과에 대해 요구되는 노력의 관점에서 정제될 수 있다.

[4면 마지막 단락]

본 발명에서 사용되는 트레할로스는 예를 들면, 시판되는 트레할로스 결정, 또는 3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나 이상의 전분 분해물을 효소로 처리함으로써 수득되는 트레할로스 결정을, 정제, 분쇄, 사별, 결정화 등으로부터 선택되는 가공 단계의 적당한 조합을 실행함으로써 수득될 수 있다. 트레할로스 정제 방법이 이온-교환 수지를 통한 통과, 원액에 포함된 당에 대한 칼럼 분획화 조작의 수의 조절, 결정화, 수소화에 의한 당알콜로의 글루코오스 전환과 같은 글루코오스의 제거 방법인한, 특별히 제한되지 않는다.

[실시예 1] (전략) 표 1에 나타낸 바와 같이, 트레할로스 A 내지 C는 정지각에 의해 나타낸 양호한 유동성을 갖는다. (후략)

[실시예 2] (전략) 그러나, 트레할로스 A 내지 C 중에서, 트레할로스 C가 99.3% 미만의 트레할로스 순도 및 0.5%를 초과하는 글루코오스 함량을 갖기 때문에, 트레할로스 A 및 B에 비해 약간 더 많이 백도가 감소되었다.

[표 1]

트레할로스	용점 (°C)	트레할로스 순도(%)	글루코오스 함량(%)	75 μ m 이상의 입자의 비율(%)	평균입자 크기(μ m)	겉보기비부피 (cm ³ /g)	백도 (%)	정지각 (°)
A	97	99.5	0.2	15	35	3.1	98	48
B	97	99.3	0.3	46	72	2.2	97	42
C	97	99.2	0.6	73	127	1.9	95	40

비록 선행발명에서 직접적으로 환원력이 0.5% 이하인 것을 기재하고 있지는 않지만, 트레할로스가 환원력이 없는 비환원당²³⁾이고, 선행발명 트레할로스 A의 순도가 99.5%이며 갑 제19호증에 기재된 트레할로스 B의 재현 실험에서 해당 트레할로스의

23) 비환원당(nonreducing sugar): 유리 카보닐기(알데하이드 또는 케톤)가 없는 당. 다른 분자에 전자를 줄 수 없어 환원제로서의 역할을 할 수 없는 당을 이른다. 당의 아노머 탄소가 아글리콘과 글리코사이드를 이룬 당으로서 슈크로스, 메틸글리코사이드, 트레할로스 따위가 있다(네이버 지식백과, 식품과학사전).

순도 역시 99.5%인 점²⁴⁾을 고려하면, 트레할로스 분말 A, B에서 0.2%, 0.3%의 글루코오스 이외의 다른 환원당이 불순물로 존재하더라도 비환원당인 트레할로스가 순도 99.5%로 존재하고 있는 이상, 최대한 존재 가능한 전체 환원당은 0.5% 이하의 불순물로서 존재할 수밖에 없다. 결국, 선행발명에는 분말 전체의 환원력이 0.5% 이하인 구성이 실질적으로 개시되어 있다고 보아야 한다. 따라서 이 사건 제2항 발명은 선행발명에 의해 진보성이 부정된다.

마. 소결론

이 사건 제1항 및 제2항 발명은 선행발명에 의해 진보성이 부정된다. 이와 결론이 다른 이 사건 심결은 위법하다.

4. 결론

이 사건 심결의 취소를 구하는 원고들의 청구는 이유 있어 인용한다.

재판장 판사 이형근

판사 임경옥

판사 윤재필

24) 선행발명(갑 제18호증) 11면의 '표 1' 및 갑 제19호증 실험성적증명서 2의 5면 '표 1' 참조.

[별지 1]

이 사건 특허발명의 주요 내용

① 기술분야

[0001] 본 발명은 α,α -트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법에 관한 것으로, 상세하게는 고순도의 α,α -트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 전분으로부터 일관된 공정으로 수율 좋게 공업적으로 제조하는 α,α -트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법과, 그 제조방법에 의해 얻어지는 α,α -트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에 관한 것이다.

② 배경기술

[0002] α,α -트레할로스(이하, 본 명세서에서는 '트레할로스'라고 약칭한다.) 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법으로서는 종래부터 여러 가지 방법이 알려져 있다. 예를 들면, 특허문헌 1에는, 액화 전분에 β -아밀라아제 또는 β -아밀라아제와 함께 전분 분지절단효소를 작용시킨 후, 말토오스 트레할로스 변환효소를 작용시켜 트레할로스 함유 당액을 얻고, 이를 적절히 정제한 후, 트레할로스 결정을 석출시켜 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하는 방법이 개시되어 있으며, 특허문헌 2에는, 액화 전분에 전분 분지절단효소와 함께 α -글리코실트레할로스 생성효소(일명 '비환원성 당질 생성효소') 및 트레할로스 유리(遊離)효소를 작용시키고, 또한 글루코아밀라아제를 작용시켜 트레할로스 함유 당액을 얻으며, 이를 적절히 정제한 후, 트레할로스 결정을 석출시켜서 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하는 방법이 개시되어 있다.

[0003] 또한, 특허문헌 3, 4에는, 특허문헌 2에 개시된 상기 제조방법에 있어서, 전분 분지절단효소와 사이클로덱스트린 글루카노트랜스페라제(이하, 'CGTase'라고 약칭한다.)를 병용하고, 이들과 함께 α -글리코실트레할로스 생성효소 및 트레할로스 유리효소를 작용시킴으로써 상기 트레할로스 함유 당액 중의 트레할로스 함량을 높이도록 한, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법이 개시되어 있다. 또한, 특허문헌 5, 6에는, 액화 전분에 설포로부스(*Sulfolobus*)속(屬)에 속하는 미생물 유래의 내열성의 α -글리코실트레할로스 생성효소, 또는 내열성의 α -글리코실트레할로스 생성효소와 내열성의 트레할로스 유리효소를 작용시켜 트레할로스 함유 당액을 얻고, 이를 적절히 정제한 후, 트레할로스 결정을 석출시켜 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하는 방법이 개시되어 있다.

[0004] 이들 공지의 제조방법 중, 특허문헌 3, 4에 개시된 상기 각 효소의 조합에 의한 경우에는, 액화 전분을 원료로 하여, 칼럼 크로마토그래피에 의한 분획공정을 거치는 일 없이, 효소반응만으로 트레할로스 함량이 무수물 환산으로 80질량%를 초과하는 트레할로스 함유 당액을 용이하게 조제할 수 있으며, 게다가, 이렇게 하여 조제된 트레할로스 함유 당액의 조성은 트레할로스 이외에는 거의 대부분이 글루코오스이므로, 트레할로스의 결정 석출성이 좋다는 이점을 가지고 있다. 따라서, 특허문헌 3, 4에 개시된 상기 제조방법에 의한 경우에는 상기 트레할로스 함유 당액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출시켜, 원심분리에 의해 결정을 채취하는 분밀(分蜜)²⁵⁾방식으로, 비교적 고순도의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 수율 좋게 제조할 수 있다.

[0005] 특히, 특허문헌 3, 4에 개시된 상기 제조방법에 있어서, α -글리코실트레할로스 생성효소 및 트레할로스 유리효소로서 아쓰로박터(*Arthrobacter*)속에 속하는 미생물 유래의 효소를 사용할 경우에는 아쓰로박터속에 속하는 미생물은 생육이 비교적 빠르고, 또한 상기 효소의 생산성도 높기 때문에, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 공업적 규모로 제조함에 있어서는 매우 유리하다. 이 때문에, 본 출원인은 현재, α -글리코실트레할로스 생성효소 및 트레할로스 유리효소로서 아쓰로박터속에 속하는 미생물 유래의 효소를 사용하고, 특허문헌 3, 4에 개시된 상기 제조방법에 의해, 고순도 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(상품명 『트레하』, 주식회사 I 판매, 제품규격상의 트레할로스 순도: 98.0질량% 이상. 이하, '식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말'이라고 한다.)을 제조하여, 주로 식품 소재, 화장품 소재 등으로 판매하고 있다. 그러나 본 제조방법에 의할 경우에는, 효소반응으로 얻어지는 트레할로스 함유 당액 중의 트레할로스 함량은 현재, 여러 가지 효소반응의 조건을 최적화한 경우에도 무수물 환산으로 약 85질량% 전후로 그치고, 전분대비 수율은 40질량%에 미치지 못하는 것이 실상이다.

[0006] 한편, 비특허문헌 1, 2에는 (중략) 제작한 변이체 효소를 조합하여 가용성 전분에 작용시키면, 트레할로스 함량이 무수물 환산으로 87질량% 전후인 트레할로스 함유 당액이 얻어지는 것이 개시되어 있다.

[0007] (전략) 비록 트레할로스 함량이 높아진 효소반응액이 얻어진다고 하여도, 가용성 전분을 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 공업적 생산용 원료로서 사용하는 것은 비용면에서 볼 때 도저히 불가능하다. 또한, 비특허문헌 1, 2에 개시되어 있는 재조합 효소나 변이

체 효소를 가용성 전분이 아니라, 공업적 규모의 제조에서 사용되는 액화 전분에 작용시킨 경우에는, 효소반응으로 얻어지는 트레할로스 함유 당액 중의 트레할로스 함량은 당연히 87 질량% 전후보다도 저하되어 85질량% 전후에 그치게 되므로, 현행의 제조방법 이상으로 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 전분대비 수율을 향상시키는 것은 기대할 수 없다.

[0008] 그리고, 트레할로스 함유 당액 중의 트레할로스 함량을 단순히 86.0질량% 이상으로 높이는 것이라면, 트레할로스 함유 당액에 칼럼 크로마토그래피를 사용하는 칼럼 분획을 적용하여 트레할로스 고함유 분획물을 채취하는 것을 생각해 볼 수 있다. 그러나, 칼럼 분획을 수행하면, 공정이 증가하는 분만큼 제조비용이 늘어날 뿐만 아니라, 트레할로스 고함유 획분으로서 채취되는 획분 이외의 획분에 포함되는 트레할로스의 손실이 필연적으로 발생하므로, 설령 칼럼 분획에 의해 무수물 환산에 따른 트레할로스 함량이 86.0질량%을 초과하는 트레할로스 함유 당액이 얻어졌다고 하더라도, 그러한 당액으로부터 결정을 석출한 트레할로스 이수화물 결정을 채취하여 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하여도, 전분대비 수율이 크게 저하되는 것은 피할 수 없다.

[0009] 또한, 단순히 전분대비 수율을 높이는 것이라면, 석출한 결정을 원심분리로 채취하는 분밀 방식 대신에, 석출한 결정을 포함하는 마세큐트를 용기에 꺼내어 그 전량을 결정화/고화시켜 이를 분쇄하거나, 또는 마세큐트를 분무 건조시켜 분말을 얻는, 소위 전당(全糖) 방식을 채택하는 것도 생각할 수 있다. 그러나 전당방식에 의한 경우에는 결정 석출한 트레할로스와 함께, 마세큐트에 포함되는 글루코오스와 같은 제조법에 특유한 불순물까지도 함께 분말화되므로, 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 중의 트레할로스 함량은 마세큐트에서의 트레할로스 함량 이상으로 높아지지 않고, 고순도의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 얻을 수 없다는 문제가 있다.

[0010] 전분은 현재 비교적 풍부하게 존재하여, 저렴하고 용이하게 입수할 수 있는 원료이지만, 결코 무진장으로 존재하는 물질이 아니고, 1년간 지구상에서 인간에 의해 생산되는 전분의 총량에는 한계가 있다. 한편, 전분의 용도는 넓고, 종래부터의 공업적 용도, 식료용, 사료용 혹은 식품원료로서의 용도뿐만 아니라, 근래에는 클린 에너지의 수요 증가로 인해, 새로이 바이오 에탄올 등의 연료원료로서도 사용되도록 되어 있다. 이러한 상황 하에서, 제품, 즉 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 전분대비 수율을 향상시키는 것은 유한한 자원을 유효하게 이용한다는 점에서 볼 때 매우 중요하다.

③ 해결하려는 과제

[0013] 본 발명은 상기 종래의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법에서 발생하는 문제를 해소하고, 트레할로스의 순도를 유지하면서, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 전분대비 수율을 보다 높이는 것을 목적으로 하여 이루어진 것으로, 고순도의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을, 전분을 원료로 일관된 공정으로 수율 좋게 공업적 규모로 제조하는 것을 가능하게 하는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법과, 그 제조방법에 의해 제조되는 신규한 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제공하는 것을 과제로 한다.

④ 과제의 해결 수단

[0014] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명자들은 특허문헌 3, 4에 개시된 상기 제조방법에서 사용되는 복수의 효소의 조합에 대해 여러 가지 검토와 시행착오를 거듭한 결과, (중략) CGTase로서, 지금까지 사용해온 지오바실러스 스테아로써모필루스(*Geobacillus stearothermophilus*) Tc-91주(FERM BP-11273) 유래의 CGTase 대신에, 패니바실러스(*Panibacillus*)속 미생물 유래의 천연형 또는 재조합형 CGTase 또는 그들의 변이체 효소를 사용함으로써, 트레할로스 생성반응이 더욱 효율적으로 진행되고, 글루코아밀라아제 처리 공정 후의 트레할로스 함유 당액 중의 트레할로스 함량을, 칼럼 크로마토그래피에 의한 분획공정을 거치지 않고, 무수물 환산으로 86.0질량%를 초과하는 레벨까지, 바람직하게는 87.0질량% 이상으로까지 향상시킬 수 있음을 발견하였다. 그리고 이와 같이 하여 얻어진 트레할로스 함유 당액을 통상적인 방법에 따라서 탈색, 탈염, 농축하고, 트레할로스 이수화물 결정을 석출시켜, 얻어지는 결정을 원심분리에 의해 채취하며, 이를 숙성, 건조시킴으로써, 무수물 환산으로 트레할로스를 98.0질량% 이상 함유하는 고순도의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 종래보다도 높은 전분대비 수율로 제조할 수 있음을 발견하여, 본 발명을 완성하였다.

[0015] 즉, 본 발명은 액화 전분에 전분 분지절단효소 및 CGTase와 함께, 아쓰로박터속 미생물 유래의 α -글리코실트레할로스 생성효소와 아쓰로박터속 미생물 유래의 트레할로스 유리효소를 작용시키고, 이어서, 글루코아밀라아제를 작용시켜 트레할로스 함유 당액을 얻는 공정, 상기 당액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출시키는 공정, 및 석출한 트레할로스 이수화물 결정을 원심분리로 채취하여, 이를 숙성, 건조시키는 공정을 포함하는 트

레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법으로서, 상기 CGTase로서 패니바실러스속 미생물 유래의 천연형 또는 재조합형 효소 또는 그들의 변이체 효소를 사용함으로써, 칼럼 크로마토그래피에 의한 분획공정을 거치지 않고, 상기 당액 중의 트레할로스 함량을 무수물 환산으로 86.0질량 초과로 하는 것을 특징으로 하는, 무수물 환산으로 트레할로스 98.0질량% 이상 함유하는 트레할로스 이수화물 결정의 제조방법을 제공함으로써, 상기 과제를 해결하는 것이다.

[0016] 상기 본 발명의 제조방법에 의해 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은, 본 발명자들이 확인한 바에 따르면, 트레할로스 순도는 물론 유동성이 양호한 점에서, 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에 비해 아무런 손색이 없는 분말이고, 해당 분말은 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말과 마찬가지로, 식품 소재, 화장품 소재 등으로서 광범위한 분야에 사용할 수 있다.

[0025] 본 발명자들은 더욱 시행착오를 거듭한 결과, 트레할로스를 무수물 환산으로 86.0 질량% 초과, 바람직하게는 87.0질량% 이상 함유하는 상기 트레할로스 함유 당액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출시킬 때, 후술하는 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용하면, 트레할로스 함유 당액의 온도 저하를 자연에 맡기는 자연냉각법에 의해 트레할로스 이수화물 결정을 석출시키는 경우에 비해, 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 전분대비 수율을 더욱 높일 수 있음을 발견하였다. 즉, 본 발명은 상기 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 트레할로스 이수화물 결정을 석출시키는 공정이, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법에 의해 수행되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법을 제공함으로써, 상기의 과제를 해결하는 것이다.

[0026] 또한, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용하면 전분대비 수율이 향상하는 이유는 확실하지 않지만, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법에 따르면, 결정석출의 초기에는 냉각에 의한 급격한 과포화도의 상승과 이차적인 결정핵의 형성을 억제하고, 크기가 거의 고른 미세한 결정핵을 다수 생성시키며, 미세한 결정핵이 다수 모인 결정석출의 후기에 급속히 냉각함으로써, 크기가 고른 다수의 결정핵을 일제히 성장시키게 되므로, 미세결정이 적고 입자 지름이 고른 결정을 포함하는 마세큐트가 얻어지고, 원심분리에 의한 결정의 채취가 용이하게 되며, 비교적 소량의 물로 채취한 결정을 세정할 수 있으므로, 세정 시 트레할로스의 손실이 적어지기 때문이 아닌가로 추측된다.

[0027] 뿐만 아니라, 본 발명자들은, 상기와 같이 하여 트레할로스 이수화물 결정의 석출시에 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용함으로써, 제조된 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은 뜻밖에도, 자연냉각법으로 제조된 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이나 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에 비해 고결되기 어려운 점에서 우수함을 발견하였다. 그리고, 이와 같은 뛰어난 물성이 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에서의 트레할로스 순도와 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도의 차이에 의해서도 초래되는 것임을 확인하고, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 자체에 대한 본 발명을 완성하였다.

[0028] 즉, 본 발명은 트레할로스 이수화물 결정을 석출시킬 때에 상기 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용하는 본 발명의 제조방법에 의해 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말로서, 무수물 환산으로 트레할로스를 99.0질량% 이상 99.6질량% 이하 함유하고, 분말 X선 회절 프로필에 근거하여 산출되는 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 90.0% 이상 96.0% 이하인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제공함으로써, 상기 과제를 해결하는 것이다.

[0029] 또한, 무수물 환산으로 트레할로스를 99.0질량% 이상 99.6질량% 이하 함유하고, 분말 X선 회절 프로필에 근거하여 산출되는 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 90.0% 이상 96.0% 이하인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은 본 발명자들이 확인한 바에 따르면, 트레할로스 함량이 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말과 같은 정도이거나 약간 높은 정도이면서, 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말보다도 유의적으로 높으며, 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말과는 구별되는 신규한 분말이다.

[0030] 또한, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용함으로써, 고결되기 어려운 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 얻어지는 이유는 확실하지 않지만, 제어냉각법 또는 유사제어법에 따르면, 상술한 바와 같이, 미세결정이 적은 입자 지름이 고른 결정을 포함하는 마세큐트가 얻어지므로, 얻어지는 분말에서의 트레할로스의 순도와 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 높아지는 것이 작용하고 있는 것은 아닌가로 추측된다. 이 점은, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용함으로써 얻어지는 본 발명의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에서의 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가, 자연냉각으로 얻어진 분말이나 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에서의 트레할로스 이수화물 결

정에 대한 결정화도보다도 유의적으로 높다는 사실에 의해서도 뒷받침된다.

5) 발명의 효과

[0031] 본 발명의 제조방법에 따르면, 배양이 용이하고 효소의 생산성도 높은 아쓰로박터 속에 속하는 미생물 유래의 α -글리코실트레할로스 생성효소와 트레할로스 유리효소를 사용하고, 전분을 원료로 하여 일관된 공정으로, 고순도의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 전분대비 수율이 좋게 공업적 규모로 제조할 수 있다. 따라서, 원료인 전분자원의 유효한 이용에 공헌한다는 뛰어난 이점이 초래된다. 특히, 트레할로스 함유 당액으로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출시킬 때, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용하는 경우에는, 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 전분대비 수율을 보다 향상시킬 수 있다는 이점이 있다. 또한, 제어냉각법 또는 유사제어냉각법을 적용하는 본 발명의 제조방법으로 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에 비해 트레할로스 순도 및 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 높고, 고결되기 어렵다는 점에서 우수한 분말이다.

[0035] <전분대비 수율>

[0036] 본 명세서에서 말하는 '전분대비 수율'이란 원료 전분의 무수물 환산에서 단위질량당 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 무수물 환산에 의한 질량의 비율을 백분율(%)로 표시한 것이다. 또한, 본 명세서에서는, 전분을 원료로 하고, 여기에 효소를 작용시켜 트레할로스를 생성시키고, 생성한 트레할로스 결정 석출, 채취, 숙성, 건조시킨다는 일련의 일관된 공정에서, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하는 것을 전제로 하고 있으므로, 본 명세서에서 말하는 '전분대비 수율'이란, 전분에 효소를 작용시켜 얻어지는 트레할로스 함유 당액으로부터 최초로 석출하는, 이른바 1번 결정으로부터 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 전분 대비 수율을 의미하고 있으며, 석출한 결정을 채취한 후에 남은 당액이나, 마세큐트로부터 분리된 꿀 등을 당액으로 되돌려서 재차 석출시키는, 이른바 2번 결정 이후로부터 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 포함한 것은 아니다. 덧붙여 말하면, 종정(seed crystal)을 첨가하여 석출시키는 경우, 전분대비 수율의 산출에 있어 종정의 양은, 본 명세서를 통하여 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 양에 포함된다.

6) 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0051] <결정화도>

[0052] 본 명세서에서 말하는 '트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도'란, 하기 식[3]에 의해 정의되는 수치를 의미한다.

[0053] 식 [3] :

[0054] 수학적 식 3

$$\text{결정화도}(\%) = \frac{H_s - H_0}{H_{100} - H_0} \times 100$$

[0055] H_{100} : 실질적으로 트레할로스 이수화물 결정으로 이루어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 표준시료의 분말 X선 회절 프로파일로부터 구한 결정화도에 대한 해석값

[0056] H_0 : 실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 트레할로스 함유 분말 표준시료의 분말 X선 회절 프로파일로부터 구한 결정화도에 대한 해석값

[0057] H_s : 시험시료가 되는 트레할로스 함유 분말의 분말 X선 회절 프로파일로부터 구한 결정화도에 대한 해석값.

[0058] 식 [3]에 있어서, 해석값 H_{100} , H_0 , H_s 를 구하는 기초가 되는 분말 X선 회절 프로파일은, 통상, 반사식 또는 투과식의 광학계를 구비한 분말 X선 회절장치에 의해 측정할 수 있다. 분말 X선 회절 프로파일은 시험시료 또는 표준시료에 포함되는 트레할로스 이수화물 결정에 대한 회절각 및 회절강도를 포함하고, 이러한 분말 X선 회절 프로파일로부터 결정화도에 대한 해석값을 결정하는 방법으로서의 예를 들면 하만스법(Harmans Method), 본크법(Vonk's Method) 등을 들 수 있다. 이들 해석방법 중, 하만스법을 사용하는 것이 간편함과 정확도 면에서 적합하다. 오늘날, 이들 해석방법은, 모두 컴퓨터 소프트웨어화되어 있기 때문에, 이러한 컴퓨터 소프트웨어 중 어느 하나가 탑재된 해석장치를 구비한 분말 X선 회절장치를 사용하는 것이 바람직하다.

[0059] 또한, 해석값 H_{100} 을 구하는 '실질적으로 트레할로스 이수화물 결정으로 이루어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 표준시료'로서는, 트레할로스에 대한 순도가 99.9질량% 이상(이하, 특별히 언급하지 않는 한, 본 명세서에서는 질량%을 '%'로 약기한다. 단, 본 명세서에서 말하는 결정화도에 붙여진%는 예외이다.)인 분말 또는 단결정으로서, 분말 X선 회절패턴에 있어서, 트레할로스 이수화물 결정에 특유한 회절피크를 나타내고, 실질적으로

트레할로스 이수화물 결정으로 이루어지는 것을 사용한다. 이러한 분말 또는 단결정으로서, 본 출원인이 분석용 시약으로서 판매하고 있는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(상품명 『트레할로스 999』, 코드번호 : TH224, 트레할로스 순도 99.9% 이상, 주식회사 I 판매), 또는 이를 재결정화하여 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정함유 분말 또는 트레할로스 이수화물 결정의 단결정을 들 수 있다. 그리고 실질적으로 트레할로스 이수화물 결정으로 이루어지는 상기 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 표준시료의 분말 X선 회절 프로필을 하만스법에 의한 컴퓨터 소프트웨어로 해석한 경우의 해석값 H_{100} 은 통상 50.6~50.9% 정도가 된다.

[0060] 한편, 해석값 H_0 을 구하는 '실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 트레할로스 함유 분말 표준시료'로서는 트레할로스에 대한 순도가 99.9% 이상이고, 실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 것을 사용한다. 이러한 분말로서는, 예를 들면, 상기한 해석값 H_{100} 을 구하는 표준시료를 적량의 정제수에 용해하고, 농축한 후, 동결건조시키며, 또한 칼 피셔법(Karl Fischer's Method)에 의해 결정되는 수분 함량이 2.0% 이하가 될 때까지 진공건조시킴으로써 얻어진 분말을 들 수 있다. 이러한 처리를 실시한 경우에, 실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 분말이 얻어지는 것은 경험상 알려져 있다. 단, 일반적으로, 실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 분말이더라도, 분말 X선 회절장치에 걸어서, 얻어지는 분말 X선 회절 프로필을 하만스법, 본크법 등으로 해석하면, 그들 각 해석법을 실행하는 컴퓨터 소프트웨어의 알고리즘에 기인하여 무정형 부분에 유래하는 산란광의 일부가 연산되고, 해석값이 반드시 0%가 된다고는 할 수 없다. 덧붙여 말하면, 실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 상기 트레할로스 함유 분말 표준시료의 분말 X선 회절 프로필을 하만스법에 의한 컴퓨터 소프트웨어로 해석한 경우의 해석값 H_0 은, 통상 8.5~8.7% 정도가 된다.

[0071] <환원력>

[0072] 본 명세서에서 말하는 '분말전체의 환원력'이란, D-글루코오스를 표준물질로서 사용하고, 이 분야에서 범용되는 소모기-넬슨법(Somogyi Nelson's Method) 및 안트론 황산법(anthrone-sulfuric acid method)으로 각각 D-글루코오스 환산에 근거하는 환원당량 및 전체당량을 구하여, 분말에 포함되는 전체당량에 대한 환원당량의 백분율(%)을 하기 식[5]를 사용하여 계산함으로써 구할 수 있다.

[0073] 식 [5]:

[0074] 수학적식 5

$$\text{환원력(\%)} = \frac{\text{환원당량}}{\text{전체당량}} \times 100$$

[0077] 2. 본 발명의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법

[0078] 본 발명의 제조방법은 기본적으로 이하의 (a)~(6)의 공정을 포함하고 있다:

[0079] (1) 액화 전분 용액에, 아쓰로박터속에 속하는 미생물 유래의 α -글리코실트레할로스 생성효소와 아쓰로박터속 미생물 유래의 트레할로스 유리효소를 전분 분지절단효소, 및 패니바실러스속 미생물 유래의 천연형 또는 재조합형 CGTase 또는 그들의 변이체 효소와 함께 작용시켜 트레할로스를 생성시키는 트레할로스 생성공정;

[0080] (2) 트레할로스 생성공정에 의해 얻어진 트레할로스를 함유하는 반응액에 글루코아밀라아제를 작용시키는 글루코아밀라아제 처리공정;

[0081] (3) 트레할로스를 함유하는 반응액을 여과, 탈색, 탈염, 농축하는 정제농축공정;

[0082] (4) 트레할로스를 함유하는 농축액에 트레할로스 이수화물 결정의 종정을 함유시켜서, 트레할로스 이수화물 결정을 석출하는 공정;

[0083] (5) 결정석출공정에서 얻어진 마세큐트로부터 원심분리에 의해 트레할로스 이수화물 결정을 채취하는 공정;

[0084] (6) 채취한 트레할로스 이수화물 결정을 숙성, 건조시키고, 필요에 따라 분쇄하는 공정.

[0118] <(6)의 공정(숙성, 건조공정)>

[0119] 이 공정은 채취된 트레할로스 이수화물 결정을 소정의 온도 및 습도 분위기 중에 일정시간 유지하여 결정을 숙성시킴과 함께 열풍건조시켜, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 얻는 공정이다. 숙성 및 건조 공정에서의 결정의 품온(品溫)²⁶⁾이나 분위기의 상대습도, 및 유지시간은 소기의 분말이 얻어지는 한, 특별한 제한은 없지만, 숙성, 건조공정에 있어서, 결정은 그 품온이 20~55℃, 분위기의 상대습도는 60~90%로 유지되는 것이 바람직하며, 숙성, 건조시간은 약 5~24시간으로 하는 것이 바람직하다. 숙성, 건조공정을 거친 분말은 이어서 실온까지 자연방냉된다. 또한, 실온 정도의 청정한 공기를 내뿜어 실온 정도의 품온으로까지 강제냉각하는 것도 유리하게 실시할 수 있다. 얻어진 결정분말은 그대로, 또는 필요에 따라 분쇄하여 제품이 된다.

[0120] 본 발명의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조방법에 따르면, 효소반응에 의해 무수물 환산으로 86.0% 초과라는 높은 트레할로스 함량의 트레할로스 함유 당액을 얻을 수 있으므로, 칼럼 크로마토그래피에 의한 분획 공정이 불필요하고, 분획에 의한 트레할로스의 손실이 없으며, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 전분대비 높은 수율로 얻을 수 있다. 또한, 석출한 결정을 포함하는 마세큐트 전체를 결정석출, 고화 또는 분무 건조시키는 전당(全糖) 방식이 아니라, 석출한 결정을 원심분리하여 불순물을 포함하는 꿀을 제거하는 분밀(분밀) 방식을 채택하고 있으므로, 얻어지는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 중의 트레할로스 함량을 용이하게 98.0% 이상으로 높이고, 고순도의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조할 수 있다.

[0121] 이와 같이 하여 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은, 결정석출이 자연냉각에 의해 이루어진 경우에는, 보존시의 고결성(固結性) 등의 물성에 있어 종래 식품급의 트레할로스 함유 분말과 거의 동등한 분말이고, 통상 입자지름 53 μ m 이상, 425 μ m 미만의 입자가 분말 전체의 70% 이상을 차지하며, 또한 입자지름 53 μ m 이상, 300 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 50% 이상 포함하는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이다. 또한, 결정석출이 제어냉각법 또는 유사제어냉각법에 의해 이루어진 경우에는, 본 발명의 제조방법에 의해 제조되는 트레할로스 이수화물 결정함유 분말은, 종래 식품급의 트레할로스 함유분말보다도 유의적으로 고결되기 어려운 분말이고, 통상 입자지름 53 μ m 이상, 425 μ m 미만의 입자가 분말 전체의 80% 이상을 차지하며, 또한 입자지름 53 μ m 이상, 300 μ m 미만의 입자를 분말 전체의 60% 이상 포함하는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이다. 또한, 본 발명의 제조방법에 의해 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은, 통상 상기 식[5]에서 구해지는 분말 전체의 환원력이 0.5% 이하이고, 식품이나 의약품 등에 배합하여도 갈변에 의한 변색의 우려가 없는 우수한 분말이다.

[0122] 따라서, 본 발명의 제조방법에 의해 제조되는 분말은 그대로, 혹은 입도를 적절히 조정하여 분말형상의 식품 소재, 화장품 소재, 의약부외품 소재 또는 의약품 소재 등으로서 사용할 수 있다. 특히, 결정석출시에 제어냉각법을 적용하는 본 발명의 제조방법에 의해 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은, 상술한 바와 같이 종래 식품급의 트레할로스 함유 분말보다도 유의적으로 고결되기 어려운 분말이고, 종래에는 알려지지 않았던 완전히 신규한 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이라 할 수 있다. 해당 분말은 분말원료를

취급하는 것을 전제로 설계된 제조플랜트를 사용하는 식품 제조, 화장품 제조, 의약부외품 제조, 나아가서는 의약품 제조의 각 분야에서, 다른 단독 또는 복수의 분말형상의 식품소재, 화장품 소재, 의약부외품 소재, 의약품 소재 등에 안심하고 함유시킬 수 있다는 우수한 이점을 구비하고 있다.

[0124] <실험 1 : CGTase 유래가 효소반응액에서의 트레할로스 함량에 미치는 영향>

[0125] 액화 전분에, 아쓰로박터속 미생물 유래의 α -클리코실트레할로스 생성효소와, 마찬가지로 아쓰로박터속 미생물 유래인 트레할로스 유리효소를 전분 분지절단효소 및 CGTase와 함께 작용시키고, 이어서 글루코아밀라아제를 작용시키는 효소반응에 의해 트레할로스를 생성시키는 효소 반응계에 있어서, 사용하는 CGTase의 유래가, 효소반응으로 얻어지는 당액 중의 트레할로스 함량에 어떠한 영향을 미치는 지를 조사하기 위해, 이하의 실험을 실시하였다.

[0145] 표 1

반응액	CGTase 유래	글루코아밀라아제 처리 후 반응액에서의 트레할로스 함량 (질량%, 무수물 환산)
1	대조(CGTase 무첨가)	82.8
2	Geobacillus stearothermophilus Tc-91	84.7
3	Bacillus macerans	85.1
4	Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes	83.4
5	Paenibacillus illinoisensis NBRC15959	87.6
6	Paenibacillus illinoisensis NBRC15379	87.4
7	Paenibacillus Pabuli NBRC13638	87.1
8	Paenibacillus amylolyticus NBRC15957	86.5

[0146] 표 1에 나타낸 바와 같이, 종래부터 트레할로스의 생성에 사용되고 있는 지오바실러스 스테아로써모필루스 Tc-91주 유래의 CGTase를 사용한 경우(반응액 2), 글루코아밀라아제 처리 후의 트레할로스 함량은 84.7%에 그치고, 바실러스 마세란스 유래의 CGTase를 사용한 경우(반응액 3), 트레할로스 함량은 85.1%로 높아졌지만, 그 증가량은 아주 조금이었다. 또한, 테르모아나에로박테리움 테르모술푸리게네스 유래의 CGTase를 사용한 경우(반응액 4)에는 트레할로스 함량은 83.4%가 되고, 종래부터 트레할로스의 생성에 이용되고 있는 지오바실러스 스테아로써모필루스 Tc-91주 유래의 CGTase를 사용한 경우(반응액 2)보다도 저하되었다.

[0147] 이에 반해, 패니바실러스속에 속하는 미생물 유래의 CGTase를 사용한 경우(반응액 5~8)에는 모두 글루코아밀라아제 처리 후의 트레할로스 함량은 무수물 환산으로 86.0%를 웃돌고, 종래부터 트레할로스의 생성에 사용되고 있는 지오바실러스 스테아로써모필루스 Tc-91주 유래의 CGTase를 사용한 경우(반응액 2)보다 유의적으로 증가하였다. 특히, CGTase로서 패니바실러스 일리노이센스 NBRC15959주 유래(반응액 5), 패니바실러스 일리노이센스 NBRC15379주 유래(반응액 6), 및 패니바실러스 파블리 NBRC13638주 유래(반응액 7)의 각 CGTase를 사용한 경우에는 트레할로스 함량은 87.0%를 초과하고, 트레할로스 함량이 높은 트레할로스 함유 당액이 효소반응에 의해 얻어짐이 판명되었다. 또한, 이번 실험을 실시한 중에서는 CGTase로서 패니바실러스 일리노이센시스 유래의 CGTase를 사용한 경우에 가장 높은 트레할로스 함량이 얻어져서, 패니바실러스 일리노이센시스 유래의 CGTase가 가장 바람직한 것이 판명되었다

[0148] <실험 2 : 트레할로스 함량이 다른 각 당액으로부터 제조한 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 트레할로스 순도, 전분대비 수율, 및 물성>

[0149] <실험 2-1 : 피험시료의 조제>

[0150] <피험시료 1~8>

[0151] 실험 1에서 얻은 트레할로스 함량이 다른 반응액 1~8 각각을, 활성탄을 사용하는 탈색처리 및 이온교환수지를 사용하는 탈염처리에 의해 정제하고, 고형물 농도 약 60%까지 농축하여, 반응액 1~8의 각각에 대응하여, 트레할로스 함유 당액 1~8(트레할로스를 무수물 환산으로 82.8~87.6% 함유)을 얻었다.

[0152] 상기 트레할로스 함유 당액 1~8을 각각 감압하에서 고형물 농도 약 85%까지 농축하여 결정화기에 넣고, 각 당액의 용량에 대해 약 1%(w/v)의 트레할로스 이수화물 결정을 종정으로서 첨가하여 교반하면서 60℃에서 20℃까지 약 10시간에 걸쳐 자연냉각하여 결정화하며, 트레할로스 이수화물 결정을 석출시킨 마세큐트를 조제하였다. 상기 마세큐트로부터 통상적인 방법에 의해, 바스켓형 원심분리기에 의해 트레할로스 이수화물 결정을 채취하고, 채취한 트레할로스 이수화물 결정을 마세큐트 중량에 대해 8%의 탈이온수를 사용하여 세정하며, 40℃에서 8시간 숙성, 건조시킨 후, 25℃의 청정한 공기를 30분간 내뿜어 강제냉각하고 분쇄함으로써, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하였다. 트레할로스 함유 당액 1~8의 각각으로부터 얻어진 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 각각 피험시료

1~8로 하였다.

[0153] <시험시료 9>

[0154] 시험시료 9로서, 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(상품명 『트레하』, 로트번호 : 9I131, 주식회사 I제)을 사용하였다.

[0155] <실험 2-2: 시험시료 1~9의 트레할로스 순도, 전분대비 수율, 및 고결성>

[0156] <트레할로스 순도>

[0157] 시험시료 1~9의 트레할로스 순도는 실험 1-3과 동일한 HPLC법으로 구하였다. 결과는 표 2에 나타내었다.

[0158] <전분대비 수율>

[0159] 상기에서 조제한 시험시료 1~8의 전분대비 수율은, 각 시험시료의 조제에 이용한 효소반응액의 질량과 원료 전분 투입시의 농도(30%)로부터 원료 전분의 무수물 환산에 의한 질량을 산출하고, 이 값에서 얻어진 시험시료 1~8의 무수물 환산에 의한 질량을 제한 후, 100을 곱하여 퍼센트로 표시하였다. 결과는 표 2에 함께 나타내었다.

[0160] <고결성 시험>

[0161] 시험시료 1~9의 각각에 대해서, 각각의 분말의 고결성을 조사할 목적으로 다음과 같은 실험을 실시하였다. 즉, 시험시료 1~9를 1그램씩 칭량하고, 이를 각각 별개로 내측 바닥부가 반구형인 14ml 용량의 덮개가 달린 폴리프로필렌제 원통튜브(벡톤 디킨슨사 판매, 상품명 『팔콘 튜브 2059』, 직경 1.7cm, 높이 10cm)의 내부에 충전하며, 튜브를 시험관 꽃이에 직립시킨 상태에서 50℃의 인큐베이터(아드반테크 토요 주식회사 판매, 상품명 『CI-410』)의 내부에 수용하여, 24시간에 걸쳐 정치한 후, 튜브를 인큐베이터 밖으로 꺼내어, 튜브에서 덮개를 벗기고, 튜브를 완만하게 전도(顛倒)시킴으로써, 시험시료를 흑색 플라스틱제 평판상에 고집어내어, 시험시료의 상태를 육안으로 관찰하였다.

[0162] 고결의 유무는 시험시료가 평판 상에서도 튜브 내측 바닥부의 반구형상을 분명하게 유지하고 있는 경우를 '고결있음'(+), 시험시료가 튜브 내측 바닥부의 형상을 약간이긴 하지만 식별할 수 있는 경우를 '약간 고결있음'(\pm), 시험시료가 붕괴하여 튜브 내측 바닥부의 형상을 유지하고 있지 않은 경우를 '고결없음'(-)로 판정하였다. 결과는 표 2의 '고결성'란에 나타내었다.

[0163] 표 2

시험시료	트레할로스 순도(질량%)	전분대비 수율(질량%)	고결성
1	98.4	31	+
2	98.8	38	±
3	99.2	39	±
4	98.7	37	+
5	99.3	42	±
6	99.2	42	±
7	99.2	42	±
8	99.1	41	±
9	99.0	-	±

[0166] 한편, 분말로서의 취급상의 중요한 물성인 고결성에 관해서는, CGTase를 사용하지 않는 트레할로스 함유 당액(1)으로부터 제조된 시험시료 1, 및 CGTase로서 테르모아나에로 박테리움 테르모수풀리게네스 유래의 CGTase를 사용하여 제조된 시험시료 4는 상기 고결성 시험에서 '고결 있음(+)'으로 판정된 것에 반해, 기타 CGTase를 이용하여 제조된 시험시료 2, 3, 5~8은 종래부터 시판되고 있는 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(시험시료 9)과 마찬가지로 상기 고결성 시험에서 '약간 고결있음'(±)으로 판정되는 데에 그쳤다. 이 결과는 패니바실러스속 미생물 유래의 CGTase를 이용하는 본 발명의 제조방법에 의해 제조되는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(시험시료 5~8)은 종래부터 시판되고 있는 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(시험시료 9)에 비해 고결성 면에서 손색이 없는 분말이고, 분말형상의 식품 소재, 화장품 소재, 의약부외품 소재, 또는 의약품 소재로서, 종래부터 시판되고 있는 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말과 마찬가지로 사용할 수 있는 분말인 것을 나타내고 있다.

[0167] <실험 3 : 결정석출시의 유사제어냉각이 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 트레할로스 순도, 전분대비 수율, 및 고결성에 미치는 영향>

[0168] 본 실험에서는 실험 2-1에서 조제된 트레할로스 함유 당액 1~8로부터 트레할로스 이수화물 결정을 석출시킬 때, 유사제어냉각법을 적용하여 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 조제한 경우의, 분말의 트레할로스 순도, 전분대비 수율, 및 고결성에 미치는 영향을 검토하였다.

[0169] <실험 3-1 : 시험시료의 조제>

[0170] 실험 2-1에서 조제한 무수물 환산에 의한 트레할로스 함량이 다른 트레할로스 함유 당액 1~8의 각각을, 감압하에서 고형물 농도 약 85%까지 농축하여 결정화기에 넣고, 당

액의 용량에 대해 약 1%(w/v)의 트레할로스 이수화물 결정을 증정으로서 첨가하여 교반하면서, 60℃에서 20℃까지 약 10시간에 걸쳐 유사제어냉각함으로써 결정화한 것 이외에는 실험 2와 동일한 방법으로, 트레할로스 이수화물 결정을 석출시킨 마세큐트를 조제하였다. 또한, 유사제어냉각은 전체 10시간의 냉각시간을 4시간, 3시간, 3시간의 3구간으로 나누어, 최초 구간에서는 4시간에 걸쳐 액온을 60℃에서 55℃까지, 다음 구간에서는 3시간에 걸쳐 55℃에서 50℃까지, 그리고 마지막 구간에서는 3시간에 걸쳐 액온을 50℃에서 20℃까지, 모두 액온이 시간에 대해 대략 직선형으로 저하되도록 냉각함으로써 실시하였다. 얻어진 마세큐트로부터 통상적인 방법에 의해 바스켓형 원심분리기에 의해 트레할로스 이수화물 결정을 채취하고, 채취한 트레할로스 이수화물 결정을 마세큐트 중량에 대해 8%의 탈이온수를 이용하여 세정하여, 40℃에서 8시간 숙성, 건조시킨 후, 25℃의 청정한 공기를 30분간 내뿜어 강제냉각하고 분쇄함으로써, 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조하였다. 트레할로스 함유 당액 1~8의 각각으로부터 유사제어냉각에 의해 얻어진 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 각각 피험시료 1c~8c로 하였다.

[0171] <실험 3-2 : 피험시료 1c~8c의 트레할로스 순도, 전분대비 수율 및 고결성>

[0172] <트레할로스 순도>

[0173] 피험시료 1c~8c의 트레할로스 순도는 실험 1-3과 동일한 HPLC법으로 구하였다. 결과는 표 3에 나타내었다.

[0174] <전분대비 수율>

[0175] 피험시료 1c~8c의 전분대비 수율은 실험 2-2와 동일한 방법으로 산출하였다. 결과는 표 3에 함께 나타내었다.

[0176] <고결성 시험>

[0177] 피험시료 1c~8c의 고결성은 실험 2-2와 동일한 고결성 시험에 의해 평가하였다. 결과는 표 3에 함께 나타내었다.

[0178] 표 3

피험시료	트레할로스 순도(질량%)	전분대비 수율(질량%)	고결성
1c	99.0	35	±
2c	99.2	40	±
3c	99.4	41	±
4c	99.1	39	±

5c	99.6	45	-
6c	99.6	45	-
7c	99.5	44	-
8c	99.4	43	-

[0181] (전략) 이들 결과는 결정석출시에 유사제어냉각법을 적용하면, 의외로, 얻어지는 분말의 고결성이 자연냉각법으로 결정 석출시킨 경우에 비해 개선되는 경향이 있음을 나타내고 있다. 그 중에서도, 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(시험시료 9)이 고결성 시험에서 '약간 고결있음'(±)(표 2 참조)으로 판정되었던 것에 반해, 트레할로스 함량이 86% 초과로 비교적 높은 트레할로스 함유 당액 5~8로부터 유사제어냉각법을 적용하여 결정석출함으로써 얻어진 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(시험시료 5c~8c)이 '고결없음'(-)으로 판정되었다는 사실은, 트레할로스 함량이 86% 초과로 비교적 높은 트레할로스 함유 당액으로부터 유사제어냉각법을 적용하여 결정 석출함으로써, 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말보다도 유의적으로 고결되기 어려우며, 분말로서의 특성이 우수한 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 제조할 수 있음을 나타내고 있다.

[0182] 상기의 결과로부터, 결정석출공정에서 유사제어냉각법을 적용함으로써, 자연냉각법에 의해 결정석출한 경우에 비해, 트레할로스 순도가 높은 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을, 보다 높은 전분대비 수율로 제조할 수 있음이 판명되었다. 또한, 트레할로스 함량이 86.0% 초과로 비교적 높은 당액으로부터 유사제어냉각법에 의해 결정석출하여 제조한 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말은 자연냉각법으로 제조되는 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 '약간 고결있음'(±)으로 판정되는 조건 하에서도 고결되지 않고 분말로서의 유동성을 유지하고 있다는 점에서, 보다 우수한 분말임이 판명되었다.

[0183] <실험 4 : 분말의 고결성의 차이에 미치는 결정화도 및 평균 결정자 지름의 영향>

[0184] 실험 3에 있어서, 트레할로스 함량이 86% 초과로 비교적 높은 당액으로부터 유사제어냉각법을 적용하여 조제한 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 시험시료 5c~8c는 그 이외의 시험시료에 비해 트레할로스 순도에서 큰 차이가 없음에도 불구하고, 고결되기 어렵다는 우수한 분말특성을 가지고 있었다. 그 이유를 해명할 목적으로, 본 실험에서는 실험 2에서 얻은 시험시료 1~8, 및 실험 3에서 얻은 시험시료 1c~8c에 대해서, 분말의 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도와 평균 결정자 지름을 측정하였다. 또한, 대조용으로서,

시험시료 9에 대해서도 마찬가지로 조사하였다.

[0185] <실험 4-1 : 결정화도의 측정에 사용하는 표준시료의 조제>

[0186] <표준시료 A>

[0187] 시험시료 A로서, 실질적으로 트레할로스 이수화물 결정으로 이루어진 표준시료를 시약급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말(상품명 『트레할로스 999』, 코드번호 : TH224, 순도 99.9% 이상)을 재결정시킴으로써 조제하였다. 즉, 상기 시약급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 1,840g을 1,000g의 정제수에 가열·용해하고, 용해한 용액을 20℃의 항온 챔버에 넣어 하룻밤 방치하여 재결정시켰다. 재결정에 의해 석출한 트레할로스 이수화물 결정을 통상적인 방법에 의해 바스켓형 원심분리기를 이용하여 회수하고, 40℃에서 8시간 건조시켜 트레할로스 이수화물 결정 약 950g을 얻었다. 이를 시험시료 A라 하였다. 시험시료 A의 트레할로스 순도를 실험 1에 기재된 HPLC법으로 측정한 바, 100%였다.

[0188] <표준시료 B>

[0189] 시험시료 B로서, 실질적으로 무정형 부분으로 이루어진 표준시료를 이하의 순서로 조제하였다. 즉, 시험시료 A를 적량의 정제수에 용해하고, 3일에 걸쳐 동결 건조시킨 후, 40℃ 이하에서 하룻밤 진공건조시켜, 실질적으로 무정형 부분으로 이루어지는 분말을 얻었다. 이를 시험시료 B라 하였다. 시험시료 B의 트레할로스 순도를 실험 1에 기재된 HPLC법으로 측정한 바, 100%였다. 또한, 시험시료 B의 수분함량을 칼 피셔법에 의해 측정한 결과, 2.0%였다.

[0190] <실험 4-2: 시험시료 A 및 B, 시험시료 1~9, 및 시험시료 1c~8c의 결정화도>

[0191] <결정화도>

[0192] 시험시료 A 및 B, 시험시료 1~9, 시험시료 1c~8c에서의 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도를 다음과 같이 하여 구하였다. 즉, 시판하는 반사광 방식에 의한 분말 X선 회절장치(스펙트리스 주식회사제, 상품명 『X' Pert PRO MPD』)를 사용하여, Cu 대음극으로부터 방사되는 특성 X선인 CuK α 선(X선관 전류 40mA, X선관 전압 45kV, 파장 1.5405Å)에 의한 분말 X선 회절 프로필에 기초하여, 동 분말 X선 회절장치에 탑재된 전용 해석용 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여, 시험시료 A 및 B, 시험시료 1~9, 및 시험시료 1c~8c의 각각에 대해 하만스법에 의한 결정화도의 해석값을 구하였다. 하만스법에 의한 결정화도의 해석에 앞서, 각 분말 X선 회절패턴에서의 피크끼리의 겹침, 회절강도, 산란강도 등을 감안하

면서, 최적이라고 판단되는 베이스 라인을 얻을 수 있도록, 소프트웨어에 설정된 입상도(粒狀度) 및 밴딩 팩터를 각각 적절한 레벨로 맞추었다. 또한, 하만스법에 관해서는 P.H. Harmans와 A. Weidinger 'Journal of Applied Physics', 제19권, 491~506페이지(1948년), 및 P.H. Harmans와 A. Weidinger, 'Journal of Polymer Science', 제4권, 135~144페이지(1949년)에 상술되어 있다.

[0219] 또한, 표 4에는 시험시료 1~9 및 시험시료 1c~8c에 대해서, 트레할로스 순도와 분말 고결성 시험의 결과를 표 2 및 표 3으로부터 각각 옮겨 적어서 함께 나타내었다. 또한, 결정화도 측정을 위한 표준시료로 삼은 시험시료 A 및 B에 대해서도 각각을 실험 2-2, 실험 3-2와 동일한 고결성 시험에 제공하고, 그 고결성을 평가하였다. 결과는 표 4에 나타내었다.

[0220] 표 4

시험시료	트레할로스 순도(질량%)	결정화도(%)	평균 결정자 지름(Å)	고결성
A	100	100	3910	-
B	100	0	-	+
1	98.4	78.7	2150	+
2	98.8	85.1	2540	±
3	99.2	85.3	2660	±
4	98.7	80.8	2200	+
5	99.3	88.1	2830	±
6	99.2	87.7	2750	±
7	99.2	87.4	2670	±
8	99.1	86.6	2610	±
9	99.0	85.4	2590	±
1c	99.0	85.7	2540	±
2c	99.2	87.3	2780	±
3c	99.4	88.6	2850	±
4c	99.1	88.3	2630	±
5c	99.6	96.0	3580	-
6c	99.6	94.2	3490	-
7c	99.5	93.3	3300	-
8c	99.4	91.0	3210	-

[0223] 또한, 표 4에 나타난 결과는 결정화도가 분말의 고결성과 상관성이 있음을 시사하고 있다. 즉, 표 4에 나타난 바와 같이, 결정화도가 90% 이상인 시험시료 A, 시험시료 5c~8c가 모두 '고결없음'(-)이었음에 반해, 결정화도가 85% 이상 90% 미만인 시험시료 2, 3,

5~9, 및 피험시료 1c~4c는 모두 '약간 고결있음'(±)이었고, 결정화도가 85% 미만인 피험시료 B, 피험시료 1 및 4는 모두 '고결있음'(+)이었다. 이 점은, 결정화도가 고결되기 어려운 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 규정하는 유력한 지표가 될 수 있음을 나타내고 있다.

[0224] 또한, 이 결과는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 제조에 있어서, 반응액 중의 트레할로스 함량을 86.0% 초과로까지 높이고, 그 후의 결정석출공정에서 유사제어냉각법을 적용하면, 얻어지는 분말에서의 트레할로스 이수화물 결정에 대한 결정화도가 90% 이상이 되며, 결과적으로 고결의 측면에서, 종래 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말보다도 유의적으로 고결되기 어려운 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말을 얻을 수 있음을 말하고 있다.

[0228] <실험 5 : 피험시료의 분말특성(보존성, 물에 대한 용해성)>

[0229] 피험시료 1~9 및 피험시료 1c~8c의 분말로서의 성질을 더욱 명료하게 하는 것을 목적으로 하여, 보존성 시험 및 물에 대한 용해성 시험을 실시하였다.

[0230] <실험 5-1 : 보존성 시험>

[0231] 실험 2-2, 실험 3-2 등에서 이루어진 고결성 시험이 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 실제 보존시의 고결성을 평가하는 시험으로서 타당한 것임을 확인하기 위해, 실험 4-1의 방법에서 얻은 피험시료 A 및 B, 실험 2에서 얻은 피험시료 1~9, 및 실험 3에서 얻은 피험시료 1c~8c에 대해, 시장에 유통되는 제품인 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말이 실제로 보존되는 상태, 환경, 기간 등을 상정한 보존성 시험을 실시하였다.

[0232] 즉, 피험시료 A 및 B, 피험시료 1~9, 및 피험시료 1c~8c를 각각 150g씩 취하여, 별도로 폴리에틸렌 주머니(상품명 『유니팩 F-4』, 주식회사 세이산닛폰사제, 17cm×12cm)에 채취하고, 공기를 뺀 상태에서 봉입한 폴리에틸렌 주머니를 각 피험시료에 대해 3개씩 제작하였다. 그 다음, 각 폴리에틸렌 주머니의 편면적 1m² 당 하중이 648kg가 되도록 13.2kg의 추를 각각의 폴리에틸렌 주머니 위에 상면 전체에 하중이 걸리도록 올리고, 그 상태에서, 고온다습을 피한 환경하에서 60일간 보존하였다. 또한, 식품급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말 제품은, 통상 20kg들이 주머니에 넣은 포장 스타일로, 10단 정도 쌓아올린 상태로 창고 등에서 보존되는 바, 폴리에틸렌 주머니의 편면적 1m² 당 648kg이라는 하중은 이 10단 정도 적층한 상태에서 최하단의 제품에 걸리는 하중에 상당하는 것이다. 60일간 보존 후, 각 피험시료를 폴리에틸렌 주머니에서 끄집어내어, 체눈 크기가 425μm인 체에

거르고, 체를 통과한 분말과 통과하지 않았던 분말의 질량을 각각 측정하여, 분말 전체에서 차지하는 입자지름 425 μ m 이상의 입자의 질량비율(%)을 구한 후, 각 피험시료에 대해 시험한 3개의 주머니의 평균값을 취함으로써, 60일간 보존 후의 분말의 고결 유무를 판정하였다. 분말의 고결은 입자지름 425 μ m 이상의 입자가 분말 전체의 30% 미만인 경우를 '고결 없음'(-)으로, 동 입자가 분말 전체의 30% 이상인 경우를 '고결있음'(+)로 각각 판정하였다. 또한, 분말에서 425 μ m 이상인 입자의 비율이 30%를 초과하면, 일반적으로 분말의 용해나 다른 분말형태 조성물과의 혼합, 혼련 등에 지장이 발생하기 때문에, 판정의 기준을 30%로 하였다. 결과를 표 5에 나타내었다.

[0233] <실험 5-2 : 물에 대한 용해성 시험>

[0234] 각 피험시료를 각 0.25g 칭량하고, 각각 내측 바닥부가 반구형인 14ml 용량의 덮개가 달린 폴리프로필렌제 원통튜브(벡톤 디킨슨사 판매, 상품명 '팔콘 튜브 2059')에 넣었다. 각 피험시료를 넣은 튜브에, 탈이온수를 5ml 첨가하고, 50°C의 항온 수조에서 30분간 가온한 후, 2회 전도시키고, 다시 50°C에서 15분간 유지하여, 그 때의 용해성을 조사하였다. 육안으로 분말이 완전히 용해되었다고 간주되는 경우를 용해성 '양호', 불용물의 잔존이 확인되는 경우를 용해성 '불량'으로 각각 판정하였다. 결과를 함께 표 5에 나타내었다.

[0235] 표 5

피험시료	보존성	물에 대한 용해성
A	-	불량
B	+	양호
1	+	양호
2	+	양호
3	+	양호
4	+	양호
5	+	양호
6	+	양호
7	+	양호
8	+	양호
9	+	양호
1c	+	양호
2c	+	양호
3c	+	양호
4c	+	양호
5c	-	양호
6c	-	양호

7c	-	양호
8c	-	양호

[0236] 표 5의 '보존성'란에 나타난 바와 같이, 각 피험시료를 하중을 걸면서 고온다습을 피한 환경하에서 60일간 보존한 보존성 시험에서, 트레할로스에 대한 결정화도가 90.0% 미만이고 평균 결정자 지름이 2,850Å 이하인 피험시료 1~9 및 피험시료 1c~4c가 '고결있음' (+)으로 판단된 것에 대해, 결정화도가 91.0% 이상, 96.0% 이하이고, 평균 결정자 지름이 3,210Å 이상인 피험시료 A, 피험시료 5c~8c는 '고결없음' (-)으로 판단되었다. 이 결과는 실험 2-2, 실험 3-2 등에서 실시한 고결성 시험에서 '고결있음' (+) 또는 '약간 고결있음' (±)으로 판정된 시험시료는 본 보존 시험에서는 '고결있음' (+)으로 판정된 것에 반해, 실험 2-2, 실험 3-2 등에서 실시한 고결성 시험에서 '고결없음' (-)으로 판정된 피험시료는 본 보존시험에서도 마찬가지로 '고결없음' (-)으로 판정되는 것을 나타내고 있다. 이 사실은, 실험 2-2, 실험 3-2 등에서 실시한 고결성 시험이 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 실제 보존환경 하에서의 고결성을 평가하는 시험으로서 타당한 것임을 나타내고 있다.

[0237] 또한, 표 5의 '물에 대한 용해성'란에 나타난 바와 같이, 물에 대한 용해성 시험에서, 결정화도 100%, 평균 결정자 지름 3,910Å의 피험시료 A가 용해성 '불량'으로 판정된 것에 반해, 결정화도가 96.0% 이하이고, 평균 결정자 지름이 3,580Å 이하인 피험시료 1~9 및 피험시료 1c~8c는 모두 용해성 '양호'로 판정되었다. 이 결과는 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말에 있어서, 결정화도 및 평균 결정자 지름이 피험시료 A의 레벨, 바꾸어 말하면, 시약급의 트레할로스 이수화물 결정 함유 분말의 레벨로까지 높아지면 물에 대한 용해성이 나빠진다고 하는, 고결성과는 다른 문제가 발생함을 나타내고 있다.

- 25) 효소 처리에 의해 얻어진 당액은 트레할로스 이수화물 결정과 결정화되지 않은 당(당밀)이 시럽과 같은 형태로 포함되어 있으므로 고체 상태인 결정과 액체 상태인 당밀을 원심분리에 의해 고체상과 액체상을 분리하므로 분밀(分蜜)이라 한다.
- 26) 품온(중심 온도): 식품을 가열 살균할 때 고형식품에서는 열의 전도에 의해 내부까지 충분히 가열되기 위해서는 시간이 걸리기 때문에 가열시간을 길게 잡을 필요가 있다. 살균식품의 안전성면에서 식품의 중심부분이 살균에 필요한 온도와 시간을 유지해야 한다. 식육가공품에서는 이 중심온도가 63℃로 30분간 유지되지 않으면 안 된다(네이버 식품과학기술대사전).

[별지 2]

선행발명의 주요 내용

① 기술분야

[2면 1번째 문단] 본 발명은 의약, 식품 등으로 사용되는 정제, 캡슐, 분말, 미세과립, 과립 등을 제조하는 데에 유용한 부형제, 및 상기 부형제를 함유하는 약제 조성물에 관한 것이다. 더욱 구체적으로는, 본 발명은 특정 트레할로스를 함유하는 부형제 및 상기 부형제를 함유하는 약제 조성물에 관한 것이다.

② 배경기술

[2면 2~4번째 문단] 약물을 약제 조성물로 제형화하는 데에 사용되는 부형제는 직접 압축에 의한 정제의 제조를 위해, 약물에 낮은 반응성을 갖고, 분말의 유동성, 배합성 및 봉해성을 적당히 균형 있게 부여하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 분말, 약제 조성물의 성분을 혼합한 후, 생성된 혼합물을 적당한 습윤 물질의 사용에 의해 과립화와 같은 공정처리를 함으로써 미세 과립 또는 과립과 같은 약제 조성물을 제조하기 위하여, 그리고, 필요하다면, 과립을 압축함으로써 습윤 정제를 제조하기 위하여, 부형제는 예를 들면, 동시에 하기의 특징을 갖는 것이 바람직하다: 부형제는 약물의 함량의 균일함의 관점으로부터 분말 혼합시 양호한 혼화성(miscibility)을 갖고, 부형제는 습윤 물질에 대한 적당한 친화성을 가지며, 양호한 과립성을 가져 그의 입자가 입자의 결합력에 의해 응집될 수 있고, 부형제는 과립의 배합성(compatibility)을 개선시키며, 충분한 봉해성을 부여할 수 있다. 덧붙여, 부형제는 일반적으로 약제 조성물의 주요한 위치를 차지하므로, 약제 조성물의 제조의 비용의 관점으로부터 저렴한 것이 바람직하다.

그러므로 약제 조성물에 바람직한 물성을 부여하기 위해서, 부형제는 동시에 다양한 기능을 갖는 것이 요구된다. 상기 부형제에서, 일반적으로 당 중에서 락토오스, 당알콜 중에서 만니톨, 그리고 천연 다당류 중에서 전분이 사용된다. 그러나, 락토오스는 아미노기를 갖는 약물이 약제 조성물로 제형화되는 경우, 약물과 반응하므로, 상기 약물을 약제 조성물로 제형화하는 데에 사용되는 어려운 단점이 있다. 덧붙여, 락토오스가 습윤 물질에서 낮은 용해도를 가지므로, 입자를 응집하는 능력이 매우 약하고, 그러므로 과립성이 불량하다. (중략) 또한, 만니톨은 습윤 물질에서 불충분한 용해도로 인해 입자를 응집하는 능력이 약하고, 그

러므로 과립성이 불량하다는 단점이 있다. 전분은 봉해성을 부여하지만, 유동성이 낮은 것이 불리하였다. (후략)

상기 기재된 바와 같이, 약물을 약제 조성물로 제형화하는 데에 사용되는 당 및 당알콜 중에서 부형제는 이점 및 결점을 모두 갖고, 부형제의 조합과 같은, 약제 조성물의 바람직한 특징을 달성하기 위한 수단이 필요하다. 그러므로 많은 시간 및 노력이 제형화하는 데에 요구되고, 그러므로 낮은 반응성, 유동성, 혼화성, 배합성, 과립성 등을 적당히 균형있게 갖는 부형제가 요구되고 있다.

트레할로스는 비환원 이당이고, 트레할로스가 약물과 반응성이 없다는 여러 보고가 있다. 그러나, 공지의 트레할로스 제제는 높은 재료비, 낮은 순도 및 제조시 낮은 수율과 같은 이유로 고가이고, 예를 들면, 약물을 약제 조성물을 제형화하는 데에 다량으로 그들을 사용하는 것을 포함하여 부형제로서 그들을 사용하는 방법은 실용적이지 않았다. 덧붙여, 트레할로스를 부형제로서 사용하는 경우, 트레할로스에 낮은 반응성, 유동성, 혼화성, 배합성, 과립성을 적당히 균형있게 부여하기 위한 가장 적당한 물성에 대하여 어떠한 정보도 얻어지지 않았다.

(전략) 국제출원번호 WO 97/9037은 저압 압축에 의해 수득된, 트레할로스, 말티톨, 소르비톨 등으로부터 선택되는 부형제를 포함하는 발포정을 개시한다. 부형제의 특징에 관하여, 상기 문헌은 부형제의 평균 입자 크기를 바람직하게는 약 100 내지 약 125 μm 로 기재한다. 그러나, 상기 문헌들은 75 μm 이상의 입자의 비율 및 부형제의 겉보기비부피를 기재하지 않고 있으며, 상기 문헌에 기재된 범위내의 평균 입자 크기를 갖는 부형제조차도 어떤 경우 유동성 및 혼화성이 충분하지 않다. 예를 들면, 상기 문헌에 기재된 범위내의 평균 입자 크기를 갖는 부형제의 분말은 유동성이 불량하고, 예를 들면, 분말에서 미세 입자의 비율이 높은 경우, 경화되어 보존의 불량한 상태가 된다. 덧붙여, 분말에서 굵은 입자의 비율이 높은 경우, 분말은 약제 조성물의 다른 성분들과 혼화성이 불량하다. 혼화성이 불량한 경우, 약제 조성물은 약물 함량의 균일성을 결핍한다. 상기 문헌은 과립성, 배합성 및 봉해성을 기재하지 않고 있으며, 유동성, 혼화성, 과립성, 배합성, 봉해성 등을 갖는 트레할로스의 물성뿐만 아니라, 약물의 안정성에 대해 고려하지 않고 있다. JP-A-6-217716은 트레할로스를 함유하는 약제 조성물을 제조하기 위한 첨가제를 개시한다. 그러나, 상기에 기재된 트레할로스는 203°C의 용점을 갖고, 무수물이다("리카가쿠-지텐, 4판"의 항목 "트레할로스"를 따

름, IWANAMI-SHOTEN Ltd.(1987), 트레할로스의 융점은 203°C이고, 트레할로스 이수화물의 융점은 97°C이다). 무수물은 약제 조성물의 물성을 변화시키는 시간 경과에 따른 수분을 흡수하기 때문에 바람직하지 않다. 상기 종래 기술 문헌은 200-메쉬 체를 완전히 통과할 수 있는 트레할로스가 바람직한 것으로 개시하지만, 상기 트레할로스는 유동성이 낮은 단점이 있다. 상기 종래 기술 문헌은 트레할로스의 75 μ m 이상의 비율, 평균 입자 크기 및 겔보기비 부피를 기재하지 않고 있고, 유동성, 혼화성, 과립성, 배합성, 봉해성 등을 적당히 균형있게 갖는 트레할로스의 물성뿐만 아니라 약물의 안정성에 대한 고려를 하고 있지 않다.

JP-A-7-143876 및 JP-A-9986은 하나 이상의 전분 분해물을 효소로 처리하는 것을 포함하는 트레할로스의 제조 방법, 및 식품, 화장품 또는 의약으로서 상기 트레할로스를 포함하는 조성물을 개시한다. 상기 문헌에서 개시된 제조 방법은 재료비가 제조 방법에서 저렴하기 때문에, 저렴한 비용으로 트레할로스의 제조를 가능하게 한다. 그러나 상기 문헌에서 개시된 방법에 의해 제조된 트레할로스는 단지 약 95%의 순도를 가지며, 어떤 경우 불순물인 다량의 글루코오스를 함유한다. 상기 불순물이 어떤 경우 약물의 안정성을 악화시킨다는 것은 전혀 공지되어 있지 않았다. 더욱이, 상기 문헌에서 개시된 방법에 의해 제조된 트레할로스는 굵은 결정의 형태이고, 사용시 유동성, 혼화성, 과립성, 배합성, 봉해성 등을 적당히 균형있게 부여할 수 없으며, 이러한 사실은 전혀 고려되어 있지 않다.

③ 발명의 상세한 설명

[3면 하단] 본 발명은 약물과 낮은 반응성을 갖고, 유동성, 혼화성 (약물 함량의 균일성), 배합성, 봉해성, 과립성 등과 같은 약제 조성물 제조에 요구되는 다양한 물성을, 그들 간 적당히 균형있게 부여할 수 있는 트레할로스를 함유하는 부형제를 제공하려는 목적이 있다. (후략)

본 발명자들은 집중적으로 연구한 결과, 부형제로서 특정 물성을 갖는 트레할로스의 적용이 상기 기재된 문제를 해결한다는 것을 발견함으로써, 본 발명을 완성하였다.

즉, 본 발명은 하기에 관한 것이다:

(1) 99.0% 이상의 순도, 2 내지 90 중량%의 75 μ m 이상의 입자의 비율, 10 내지 250 μ m의 평균 입자 크기, 1.5 내지 3.5 ml/g의 겔보기비부피, 및 90% 이상의 백도를 갖는 트레할로스를 함유하는 부형제;

(2) 상기 트레할로스 내의 불순물인 글루코오스의 함량이 1.0% 미만인, 상기 항목 (1)에

따른 부형제;

(3) 트레할로스의 순도가 99.3% 이상이고, 트레할로스에서 불순물인 글루코오스의 함량이 0.5% 이하이고, 트레할로스의 평균 입자 크기가 10 내지 150 μm 인 상기 항목 (1)에 따른 부형제;

(4) 평균 입자 크기가 30 내지 150 μm 인 상기 항목 (1)에 따른 부형제;

(5) 트레할로스가 이수화물인 상기 항목 (1)에 따른 부형제;

(6) 트레할로스가 3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나 이상의 전분 분해물을 효소로 처리함으로써 취득되는 것인 항목 (1)에 따른 부형제;

④ 발명을 수행하기 위한 최량 형태

[4면 중단~하단] 본 발명에서 사용되는 트레할로스로서, α,α -트레할로스, α,β -트레할로스 또는 β,β -트레할로스가 사용될 수 있지만, 자연에 존재하는 α,α -트레할로스가 바람직하다. (중략) 이수화물이 시간의 경과에 따라 수분을 흡수하지 않기 때문에 바람직하다. 특히, 결정질 상태의 이수화물이 바람직하다.

본 명세서에서 언급되는 트레할로스는 3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나 이상의 전분 분해물을 효소로 처리함으로써 취득되는 것이다. 비용의 관점으로부터, 하기 출발물질의 정제, 분쇄, 입자크기조절 등에 의해 취득되는 트레할로스를 사용하는 것이 산업상 유용하므로 바람직하다: 예를 들면, 시판되는 트리하오스("Trehause" Hayashibara Biochemical Laboratories, Inc.시판) 또는 JP-A-7-143876에 개시되고, 예를 들면, 효소를 사용하는 방법에 의해 하나 이상의 전분 분해물로부터 제조된 트레할로스 (3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 것들로부터 선택되는 하나 이상의 환원전분 부분-분해물, 3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나 이상의 환원 전분 부분-분해물로부터 말단에 트레할로스 구조를 갖는 비환원당을 생성할 수 있는 효소로 처리한 후, 글루코아밀라제 또는 α -글루코시다제로 처리하여 트레할로스 및 당을 오염물로서 포함하는 용액을 취득하고, 상기 용액을 강산성 양이온-교환수지를 사용하는 칼럼 크로마토그래피를 실행함으로써 취득되는, 증가된 트레할로스 함량을 갖는 트레할로스 제제).

트레할로스의 순도는 99.0% 이상이다. 트레할로스에서 불순물인 글루코오스의 함량은 바람직하게는 1.0% 미만이다. 트레할로스의 순도가 99.0% 또는 그의 글루코오스 함량이 1.0% 이상인 경우, 트레할로스는 활성성분과의 반응성이 증가되는 경향이 있다. 고-순도의 트레할로

스는 약물에 대한 안정화제로서 기능을 하는 것으로 기대되지만, 불순물인 소량의 글루코오스의 존재가 약물의 안정성을 눈에 띄게 악화시킨다는 것은 공지되어 있지 않다. 트레할로스의 순도는 바람직하게는 99.3% 이상이다. 글루코오스 함량은 바람직하게는 0.5% 미만, 특히 0.3% 미만이다. 트레할로스의 순도 및 글루코오스 함량은 각각 100% 및 0%에 가능한 가까워지는 것이 바람직하지만, 정제가 수율을 감소시키고, 비용을 증가시키기 때문에, 트레할로스는 정제 및 정제의 효과에 대해 요구되는 노력의 관점에서 정제될 수 있다.

트레할로스의 평균 입자 크기는 10 내지 250 μm 이다. 트레할로스의 평균 입자 크기가 10 μm 미만인 경우, 트레할로스의 분말의 응집성이 강화되기 때문에 유동성 및 취급성이 악화된다. 더욱이, 성형물의 공극 함량이 감소되기 때문에 성형물의 붕해성이 악화될 것이다. 평균 입자 크기가 250 μm 을 초과하는 경우, 활성성분 및 다른 첨가제와의 혼화성이 악화되어, 트레할로스의 사용에 의해 수득되는 약제 조성물 중의 활성성분 등 각각의 함량이 균일하지 않게 된다. 또한, 트레할로스의 입자가 굵어서, 처음에 구강에서 거칠게 느껴진다. 트레할로스의 평균 입자 크기가 바람직하게는 20 내지 150 μm , 가장 바람직하게는 30 내지 100 μm 이다.

트레할로스의 분말의 입자 크기에 관하여, 75 μm 이상의 입자 크기를 갖는 입자의 비율은 바람직하게는 2 내지 90 중량%이다. 상기 비율이 2 중량% 미만인 경우, 분말의 유동성이 눈에 띄게 악화된다. 상기 비율이 90 중량%를 초과하는 경우, 활성성분 등과의 혼화성이 악화되어, 트레할로스의 사용에 의해 수득되는 약제 조성물 중에 활성성분 등의 각각의 함량이 균일하지 않다. 75 μm 이상의 입자크기를 갖는 입자의 비율이 바람직하게는 특히 5 내지 80 중량%, 더욱 바람직하게는 10 내지 60 중량%이다. (중략)

그러므로 본 발명에 상술되어 있는 특정 범위내로 트레할로스의 물성을 조절함으로써, 약제 조성물을 제조하는 데에 요구되는 다양한 물성이 그들 간에 적당히 균형 있게 부여될 수 있고, 약제 조성물이 트레할로스와 함께 다른 부형제를 사용하지 않고 제조될 수 있다. (중략)

본 발명에서 사용되는 트레할로스는 예를 들면, 시판되는 트레할로스 결정, 또는 3 이상의 글루코오스 중합도를 갖는 하나 이상의 전분 분해물을 효소로 처리함으로써 수득되는 트레할로스 결정을, 정제, 분쇄, 사별, 결정화 등으로부터 선택되는 가공 단계의 적당한 조합을 실행함으로써 수득될 수 있다. 트레할로스 정제 방법이 이온-교환 수지를 통한 통과, 원액에 포함된 당에 대한 칼럼 분획화 조작의 수의 조절, 결정화, 수소화에 의한 당알콜로의 글루코오스 전환 등과 같은 글루코오스의 제거 방법인한, 특별히 제한되지 않는다. (중략)

사별(sieving)은 연속 진동 체, 공기 운반 체 등을 사용하여 수행된다. 분쇄밀 및 체의 유형은 특히 처리되는 트레할로스의 75 μ m 이상의 입자의 비율, 평균 입자 크기 및 겔보기비부피가 본 발명에서 상술된 범위 내인한 특히 제한되지 않지만, 본 발명에서 상술된 물성 값은 트레할로스가 그들 간에 적당히 균형 있는 부형제로서의 기능(예를 들면, 유동성, 혼화성, 과립성, 흡습성, 배합성 및 봉해성)을 나타내고, 양호한 보존 상태(예를 들면, 경화의 방지)에서 생성물을 유지시키도록 할 수 있기 때문에, 분쇄는 바람직하게는 분쇄하는 동안 충격 에너지를 낮은 값에 고정함으로써 수행된다. (중략) 회전수가 상기 기재된 범위를 초과하는 경우, 보관시 부착 및 응집이 발생하는 경향이 있다. (후략)

본 발명에서 사용되는, 상기 기재된 성질을 갖는 트레할로스는 상기 성질들을 적당히 균형있게 갖는 부형제로서 다양한 기능을 나타내고, 특히 분말을 약제 조성물로 가공하고, 제형화하기 위한 부형제로서 유용하다.

본 명세서에서 언급되는 약제 조성물은 본 발명의 부형제 이외에도, 약제학적 활성성분 분말, 농화학적 활성성분 분말, 비료용 활성성분 분말, 사료용 활성성분 분말, 식품용 활성성분 분말, 화장품용 활성성분 분말, 착색물질 분말, 착향물질 분말, 금속 분말, 세라믹 분말, 촉매 분말, 계면활성제 분말 등을 포함할 수 있다.

[5면 8번째 단락] (전략) 본 발명은 약제 조성물뿐만 아니라, 건강식품, 목용용매질, 동물을 위한 약물, 진단 약물, 농화학물, 비료 등과 같은 성형물의 형태로 사용되는 조성물 또한 포함한다.

[6면 하단] 트레할로스 순도 및 글루코오스 함량

당의 양을 결정화의 물을 제거하여 무수물로 전환하는 하기 방법에 의해 측정하였다.

(1) 1,0 그램의 샘플을 정확하게 측정 후, 물에 용해시켜 정확하게 100 ml의 총 부피를 갖는 용액을 수득하였다.

(2) 20 마이크로리터의 상기 용액을 하기 기재된 조작조건 하에 액체 크로마토그래피에 의해 분석하였다.

(3) 올리고당, 트레할로스 및 글루코오스 각각으로 인한 피크가 상기 순서대로 출현하였다.

(4) 측정을 자동 통합 방법에 의해 수행하였고, 총 피크에 대한 트레할로스 또는 글루코오스의 피크 영역의 비가 계산되었다.

[8면 실시예] 실시예 1

100그램의 시판되는 "트리하오스"("Trehause" Hayashibara Biochemical Laboratories, Inc.)를 약 35중량%의 농도까지 물에 용해시키고, 생성된 용액을 60°C에서 가열하며 감압하에 농축시켜, 약 75중량%의 농도를 갖도록 하고, 실온에 방치시켜 결정을 침전시키고, 50 ml의 물로 세정하였다. 상기 정제 과정을 1회 또는 2회 수행함으로써 글루코오스를 제거하여, 트레할로스 순도를 증가시켰다. 상기 정제과정을 2회 수행하여 결정을 수득하고, 결정을 건조시키고, 건조된 결정을 반탐 밀(회전수 15,000rpm, 공급속도 5kg/시, 체 개구 2.0mmΦ)로 분쇄한 후, 350-μm 체를 통해 분쇄된 결정을 체질함으로써 트레할로스 A를 수득하였다. 상기 정제과정을 1회 수행하여 결정을 수득하고, 결정을 건조시키고, 건조된 결정을 반탐 밀(회전수 10,000rpm, 공급속도 5kg/시, 체 개구 2.00mmΦ)로 분쇄한 후, 350-μm 체를 통해 분쇄된 결정을 체질함으로써 트레할로스 B를 수득하였다. 상기 정제과정을 1회 수행하여 결정을 수득하고, 결정을 건조시키고, 건조된 결정을 반탐 밀(회전수 8,000rpm, 공급속도 5kg/시, 체 개구 2.0mmΦ)로 분쇄한 후, 350-μm 체를 통해 분쇄된 결정을 체질함으로써 트레할로스 C를 수득하였다. 트레할로스 A 내지 C는 표 1에 나타난 물성을 가졌다. 트레할로스 A는 트레할로스 B 및 C에 비해 보관 시 경화되었다. 각각의 트레할로스 A 내지 C를 500kg/cm²의 압축 압력에서 정제로 압축하였고, 압축 직후의 정제 경도 및 압축 후 40°C, 75% 상대습도의 대기하에 3일간 방치한 후의 정제 경도를 비교하였다. 결과를 표 2에 나타내었다. 표 1에 나타난 바와 같이, 트레할로스 A 내지 C는 정지각²⁷⁾에 의해 나타난 양호한 유동성을 갖는다. 표 2에 나타난 바와 같이, 트레할로스 A 내지 C는 보관시 물 함량에 변화가 없었고, 그러므로 그들이 이수화물이기 때문에 정제 경도에서 거의 변화가 없다.

[11면] [표 1]

트레할로스	용점(°C)	트레할로스 순도(%)	글루코오스 함량(%)	75μm 이상의 입자의 비율(%)	평균입자 크기(μm)	겉보기비부피(cm ³ /g)	백도(%)	정지각(°)
A	97	99.5	0.2	15	35	3.1	98	48
B	97	99.3	0.3	46	72	2.2	97	42
C	97	99.2	0.6	73	127	1.9	95	40

27) 안식각(angle of repose)으로도 표현한다.

안식각 분립체(粉粒體)를 깔때기 등에서 조용하게 평면상에 떨어뜨리면 원뿔 모양으로 쌓이는데 이 원뿔의 모선(母線)과 수평면이 이루는 각을 그 분립체의 안식각이라고 하며 분립체의 취급상 중요한 특성이라고 생각되고 있다. 이 안식각은 분립체의 보다 기초적인 특성값인 내부 마찰각(→ 내부 마찰)과 밀접한 관련이 있으며 자주 같은 것으로 취급되는데 부착력이 없는 입체(粒體)에서는 안식각 쪽이 약간 작은 것이 보통이다. 정지각이 큰 분체는 정지각이 낮은 분체보다 유동성이 안 좋은 것으로, 분체의 유동성을 평가하는 대표적인 매개변수이다(네이버지식백과 화학대사전).